

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LICENCIATURA EN QUÍMICA

IMPORTANCIA DE LOS SISTEMAS CARBONÍLICOS α,β -INSATURADOS EN LA SÍNTESIS DE HETEROCICLOS EN DIVERSAS SAPOGENINAS

TESIS

que para obtener el título de:
LICENCIATURA EN QUÍMICA

Presenta:
LUIS ANTONIO MÉNDEZ DELGADO

Asesores de tesis:
DRA. SOCORRO MEZA REYES
DRA. PENÉLOPE MERINO MONTIEL

PUEBLA, PUEBLA

OCTUBRE 2015

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABREVIATURAS	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES	12
2.1 Sapogeninas esteroidales	12
2.2 Importancia del grupo carbonilo	15
2.3 Carbonilos α,β -insaturados	17
2.4 Métodos de obtención de sistemas carbonílicos α,β -insaturados	18
2.4.1 Condensación aldólica	19
2.4.2 Halogenación de H_{α} , seguida de eliminación	20
2.4.3 Oxidación de alcoholes homoalílicos	20
2.4.4 Oxidación de alcoholes alílicos	21
2.4.5 Rearreglos de los anillos E y F	22
2.5 Importancia de los carbonilos α,β -insaturados en la formación de heterociclos	23
2.5.1 Síntesis de pirazolinas	24
2.5.2 Síntesis de pirimidinas	24
2.5.3 Síntesis de Isoxazoles e isoxazolininas	25
3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	26
3.1 Obtención del acetato de (22 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-12,23-dioxo-16,22:22,26 diepoxi-5 α -colestano-3 β -ilo (acetato de 23-oxohecogenina, 16).	26

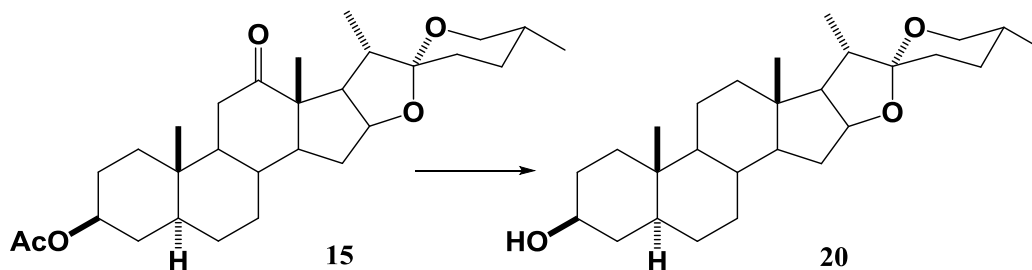
3.2 Obtención del acetato de (23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-12,22-dioxo-16,23:23,26-diepoxi-5 α -colestan-3 β -ilo (17).	28
3.3 Obtención del diacetato de (23 <i>Z</i> , 25 <i>R</i>)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colest-23-eno-3 β ,26-diilo (18).....	31
3.4 (25 <i>R</i>)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano [23,22- d][1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidina (19).....	33
3.5 Reducción de Wolff-Kishner de acetato de hecogenina para la obtención de tigogenina (20).	35
3.6 Obtención de 23-oxotigogenina (21).	38
3.7 Obtención del 22-oxo-23-expiroacetal (22).	39
3.8 Obtención del acetato de (23 <i>Z</i> ,25 <i>R</i>)-22-oxo-16,23-epoxi-5 α -colest-23-eno-3 β ,26-diilo (23)	40
3.9 Obtención de la 12,22-dioxima de hecogenina (24).....	41
3.10 Obtención de la 22-oxima de tigogenina (25).....	43
4. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO.....	44
4.1 Acetato de (22 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-12,23-dioxo-16,22:22,26 diepoxi-5 α -colestan-3 β -ilo (acetato de 23-oxohecogenina, 16).	44
4.2 Acetato de (23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-12,22-dioxo-16,23:23,26-diepoxi-5 α -colestan-3 β -ilo (17).....	50
4.3 Diacetato de (23 <i>Z</i> , 25 <i>R</i>)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colest-23-eno-3 β ,26-diilo (18).	53
4.4 (25 <i>R</i>)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano [23,22- d][1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidina (19).	59
4.5 Tigogenina	62
4.6 23-oxotigogenina (21).	65
4.7 (23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-16 β ,23:23,26-diepoxicolest-22-ona, (22).	70

4.8 Diacetato de (23Z,25R)-22-oxo-16 β ,23-epoxi-5 α -colestano-23-en-3 β ,26-diilo (23)	75
4.9 22-oxima de tigogenina (25)	79
4.10 12,22-dioxima de hecogenina (24).	82
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	85
5.1 Purificación del acetato de hecogenina.....	87
5.2 Obtención del acetato de 23-oxohecogenina.	88
5.3 Obtención del acetato de (23R,25R)-12,22-dioxo-16,23:23,26-diepoxi-5 α -colestano-3 β -ilo.....	90
5.4 Obtención del diacetato de (23Z,25R)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colestano-23-en-3 β ,26-diilo	92
5.5 (25R)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano [23,22-d][1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidina	94
5.6 Obtención de pirimidina.....	95
5.7 Obtención de tigogenina a partir de acetato de hecogenina por reducción de wolff-kishner	96
5.8 Obtención del acetato de 23-oxotigogenina	98
5.9 Obtención del (23R,25R)-22-oxo-16,23:23,26-diepoxi-5 α -colestano-3 β -ilo ..	99
5.10 Obtención del diacetato de (23Z,25R)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colestano-23-en-3 β ,26-diilo	101
5.11 Obtención de la 12,22-dioxima de hecogenina.	102
5.12 Obtención de la 22-oxima de tigogenina.....	103
5.13 Obtención de la 22-oxima α,β -insaturada de tigogenina	104
6. CONCLUSIONES.....	105
7. BIBLIOGRAFÍA	106

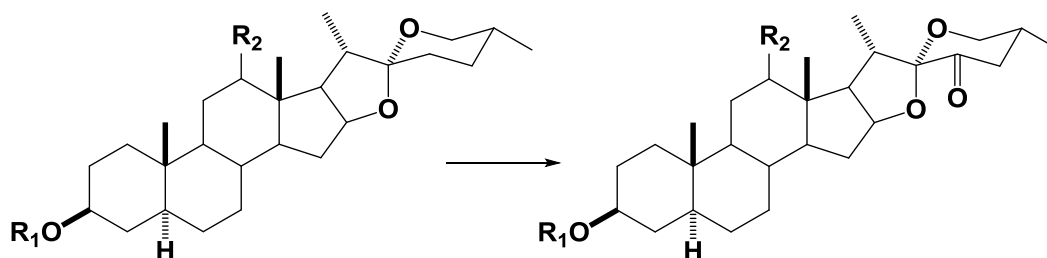
RESUMEN

En el presente trabajo se describen metodologías para la obtención de sistemas carbonílicos α,β -insaturados útiles en la obtención de heteroesteroides utilizando como materias primas acetato de hecogenina (**15**) y tigogenina (**20**).

Debido a la poca disponibilidad de las sapogeninas a nivel comercial, se decidió llevar a cabo la preparación de una segunda materia prima que es la tigogenina (**20**). La metodología implica una reacción tipo Wolff-Kishner sobre **15** que da como resultado la reducción del grupo carbonilo en C-12 y a su vez la hidrólisis del grupo éster para generar el correspondiente alcohol en C-3.



En primer lugar se planteó la introducción de una función cetona sobre C-23 de las sapogeninas esteroidales (**15** y **20**). Esta reacción fue posible realizarla a temperatura ambiente empleando NaNO_2 , $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y ácido acético obteniéndose **16** y **21** con rendimientos cuantitativos.



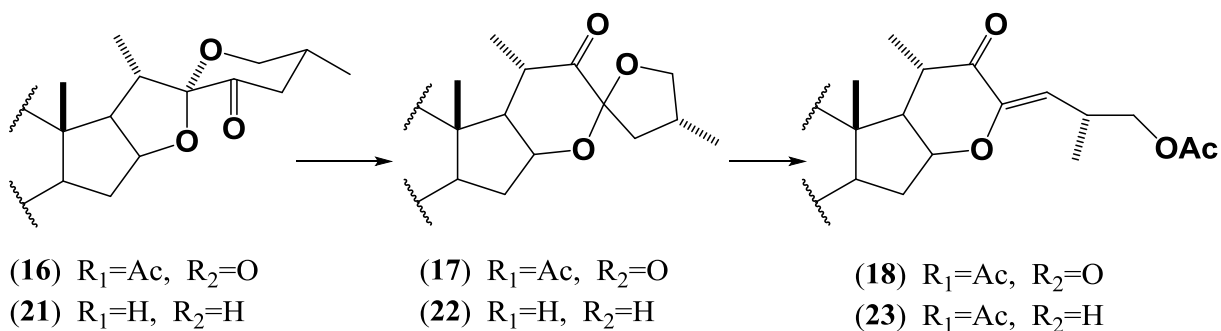
(15) $\text{R}_1=\text{Ac}$, $\text{R}_2=\text{O}$

(20) $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{H}$

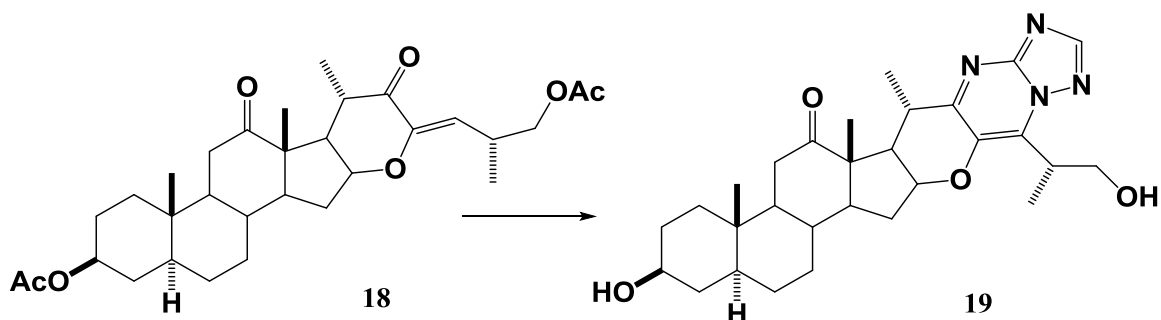
(16) $\text{R}_1=\text{Ac}$, $\text{R}_2=\text{O}$

(21) $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{H}$

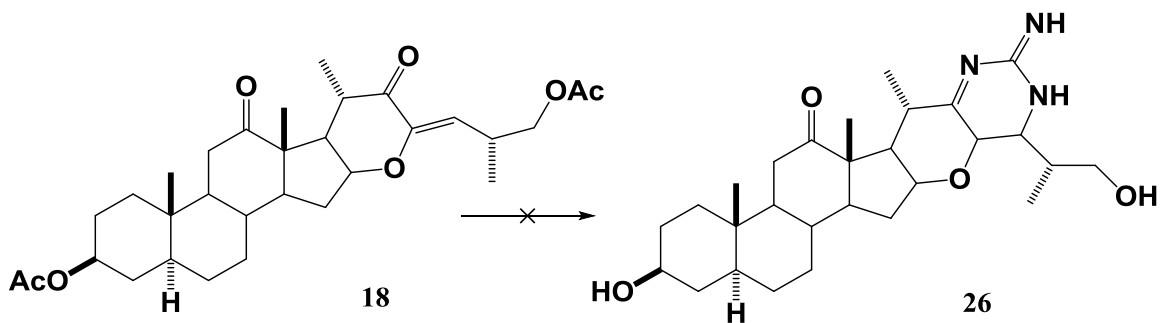
En segundo lugar, se llevó a cabo un rearrreglo de las 23-oxosapogeninas **16** y **21** para formar las cetonas correspondientes **17** y **22**, cuya importancia radica en la apertura regioselectiva del anillo F de 5 miembros para obtener las cetonas α,β -insaturadas **18** y **23**.



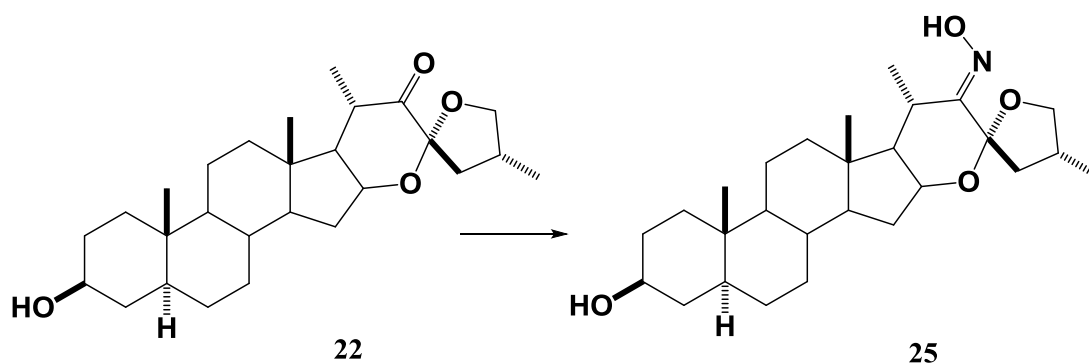
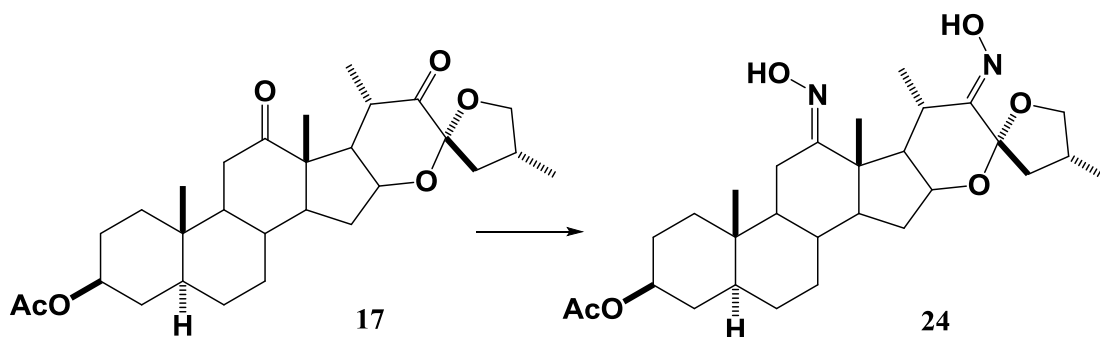
A continuación el derivado **18** se trató con 3-amino-1,2,4-triazol en medio básico para la obtención del derivado esteroidal triazolopirimidina **19**.



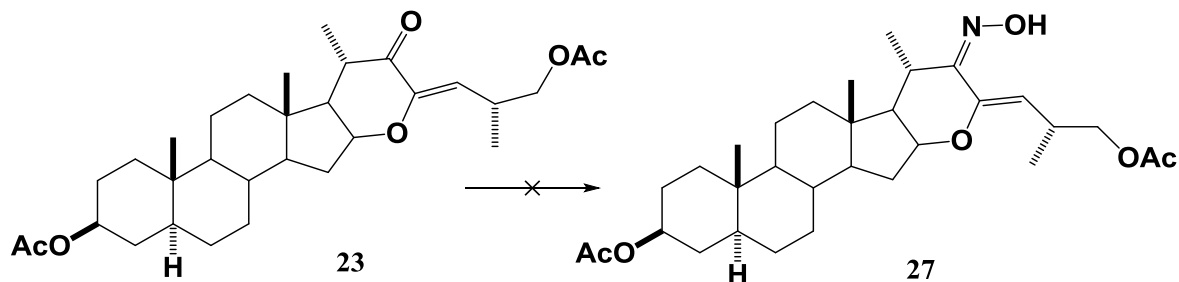
De forma análoga se ensayó la formación del heterociclo de 6 miembros conteniendo N sobre el anillo F del esteroide, sin embargo no fue posible aislar el derivado **26**.



Así mismo, se planteó la formación de oximas para la posterior formación de heterociclos de 5 miembros conteniendo N y O a partir de los derivados 22-oxosapogeninas **17** y **22**.



Por último se propuso llevar a cabo la formación de la oxima α,β -insaturada sobre **23** no obstante no se encontraron las condiciones de reacción adecuadas para la formación del producto deseado.

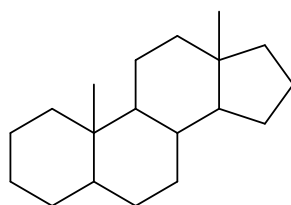


LISTA DE ABREVIATURAS

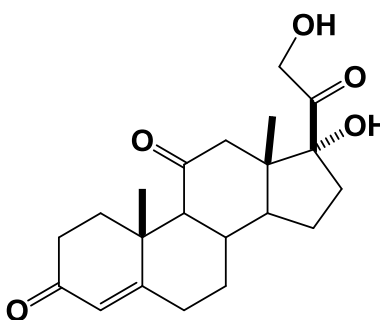
$\bar{\nu}$	Longitud de onda en cm^{-1}
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
COSY	C orrelation S pectroscopy
DEPT	D istortionless E nhancement by P olarization T ransfer
HMBC	H eteronuclear M ultiple B ond C orrelation
HSQC	H eteronuclear S ingle Q uantum C oherence
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
p. f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
Py	Piridina
RMN de ^{13}C	R esonancia M agnética N uclear de ^{13}C
RMN de ^1H	R esonancia M agnética N uclear de ^1H
T. amb.	Temperatura ambiente
TMS	Tetrametilsilano
δ	Desplazamiento químico en RMN

1. INTRODUCCIÓN

Los esteroides son un importante tipo de compuestos naturales, en cuya estructura siempre está presente un sistema tetracíclico de ciclopentanofenantreno (1). Su funcionalización química es muy diversa por lo que desempeñan actividades biológicas muy importantes en los seres vivos. Estos compuestos son muy numerosos y se encuentran en todos los organismos vegetales y animales, siendo de más interés los de estos últimos. El esteroide animal más abundante es el colesterol, que por degradación bioquímica da lugar a otros esteroides indispensables para la vida, como los ácidos biliares o sobre todo la cortisona (2), así como hormonas sexuales.



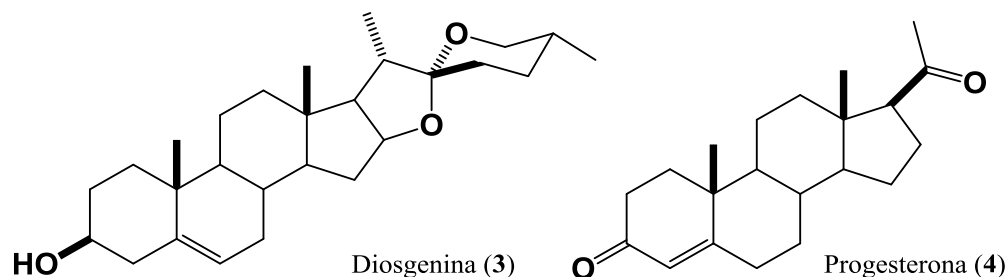
Ciclopentanofenantreno (1)



Cortisona (2)

Este grupo abarca una gran cantidad de fármacos con acción y aplicaciones muy diversas. La mayoría de ellos se sintetiza a partir de esteroides naturales. Así, una importante materia prima de estos es la sapogenina conocida como diosgenina (3) aislada por Marker de la raíz de la planta “cabeza de negro” (*Dioscorea macrostachya*), planta que crece en muchos países tropicales, sobre todo en México. De la diosgenina se obtiene la progesterona (4) y muchos otros compuestos como anticonceptivos entre otros de interés biológico¹.

¹ Miramontes, L. E. *Rev. Soc. Quim. Mex.*, **2001**, 45, 102-104.



Posteriormente Marker aisló a la diosgenina de la *Dioscorea composita*, (conocido como barbasco) y la considero como una materia prima adecuada debido a que es una sustancia que contiene funcionalidades químicas interesantes, útiles en la síntesis de compuestos de interés farmacéutico.

Durante muchos años las sapogeninas se han utilizado como materias primas para la obtención de compuestos biológicamente activos ya que se les han realizado muchas transformaciones tanto en los diferentes anillos del núcleo esteroideal como en la cadena lateral.

Entre los fármacos esteroideos se encuentran las hormonas sexuales, las hormonas adrenocorticales, los anticonceptivos orales, diversos agentes metabólicos y muchos agentes antiinflamatorios.² Los esteroides con heterociclos también tienen importante presencia en la industria farmacéutica por mostrar también actividad biológica.³

En la bibliografía se encuentran una gran variedad de esteroides con heterociclos de piridina, pirazolinas, oxazoles, tiazoles y tiofenos por mencionar algunos, muchos de estos compuestos han sido aislados de productos naturales u obtenidos por diferentes vías sintéticas.⁴

² Barthelemy González, C.; Cornago Ramírez, P.; Esteban Santos, S. (2013). *La química en la vida cotidiana*, Madrid: UNED.

³ Ding, H. X.; Liu, K. K.-C.; Sakya, S. M.; Flick, A. C.; O'Donnell, C. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2795–2825.

⁴ Mohareb, R. M.; Zaki, M. Y.; Abbas, N. S. *Steroids*, **2015**, *98*, 80–91.

Muchos de los fármacos que actualmente se utilizan tienen efectos secundarios o son muy caros. Por lo que es importante desarrollar nuevas estructuras que sean biológicamente activas, que presenten menos daños secundarios al hombre y que a su vez sean mucho más baratos de tal manera que permitan un mayor acceso a la gente de menores recursos.

En el presente trabajo se propuso llevar a cabo la síntesis de derivados de carbonilo α,β -insaturados que sean sintones útiles para la formación de nuevos compuestos heteroesteroidales con posible actividad biológica.

2. ANTECEDENTES

2.1 Sapogeninas esteroidales.

Las sapogeninas, son esteroides de 27 átomos de carbono con una cadena lateral de tipo espiroacetal. Se encuentran en las plantas en forma de glicósidos (saponinas) que se hidrolizan por ácidos o enzimas para generar carbohidratos y una aglicona (sapogenina) la cual puede ser colestánica, furostánica o espirostánica. Con respecto a las últimas, estas mantienen fusionados sus anillos E y F a través de un carbono espiro. Por ejemplo, la hecogenina se obtiene a partir de la hidrólisis ácida de la saponina filiasparosido A.⁵ Aquellos compuestos cuyo anillo F está abierto, se denominan “furostanos”.

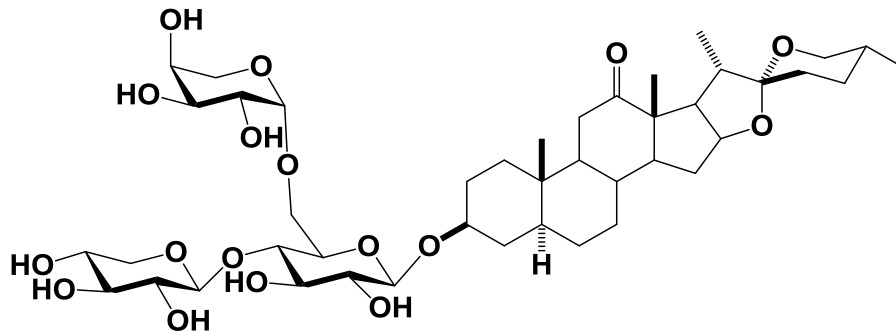


Figura 1. Filiasparosido A.

Las saponinas presentan diversas actividades biológicas entre las que destacan agentes anticancerígenos,⁵ antimicóticos,⁶ antivirales,⁷ antioxidantes⁸ y antibacterianos⁹ entre otros.

⁵ Zhou, L.-B.; Chen, T.-H.; Bastow, K. F.; Shibano, M.; Lee, K.-H., Chen, D.-F. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1263-1267.

⁶ Mostafa, A.; Sudisha, J.; El-Sayed, M.; Ito, S.; Ikeda, T.; Yamauchi, N.; Shigyo, M. *Phytochem. Lett.* **2013**, *6*, 274-280.

⁷ Gosse, B.; Gnabre, J.; Bates, R.; Dicus, C. W.; Nakkiew, P.; Huang, R. C. C. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1942-1944.

⁸ Elekofehinti, O. O.; Kamdem, J. P.; Meinerz, D. F.; Kade, I. J.; Adanlawo, I. G.; Rocha, J. B. T. *Arch. Pharm. Res.* **2015**, *en prensa*.

⁹ Liu, L.; Zhao, Y.-L.; Cheng, G.-G.; Chen, Y.-Y.; Qin, X.-J.; Song, C.-W.; Yang, X.W.; Liu, Y.-P.; Luo, X.-D. *Nat. Prod. Bioprospect.* **2014**, *4*, 335-340.

Algunos de los esteroestanos conocidos contienen una insaturación en C-5, como la diosgenina (**3**); también pueden encontrarse grupos hidroxilo en los carbonos 3, 6 y 12 que pueden ser precursores de una cetona (figura 2) y en C-15, como en el caso de la digitogenina, que parece ser el único esteroide natural que posee un hidroxilo en esta posición.

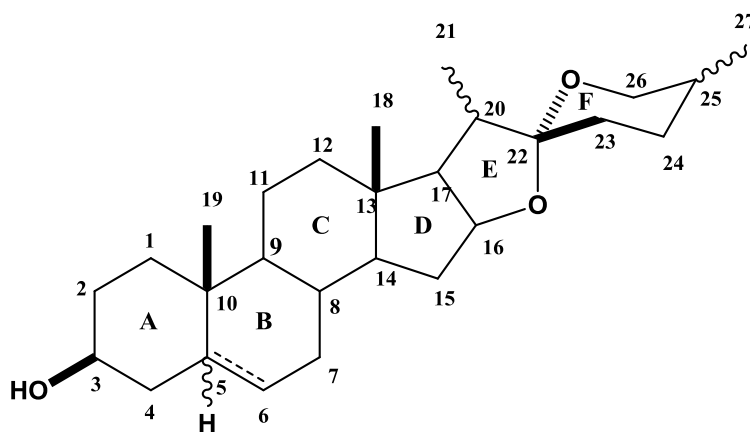
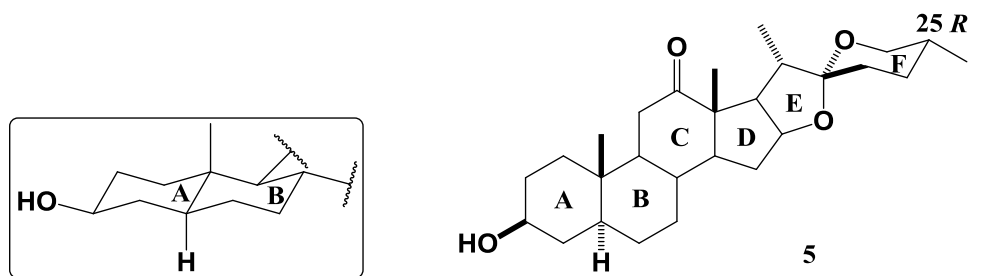


Figura 2. Estructura general de las sapogeninas.

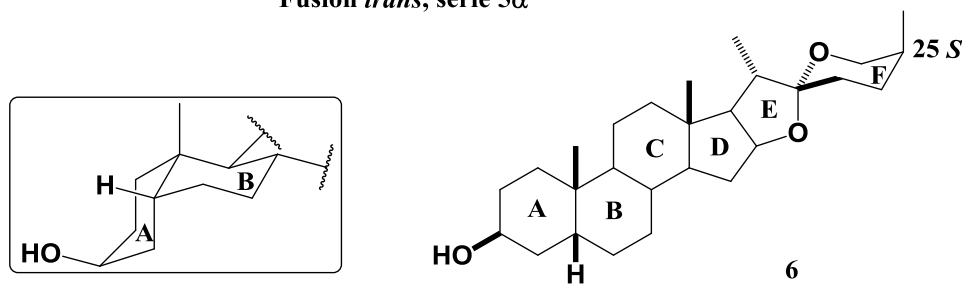
El esteroestano, o grupo esteroacetalo se forma por la unión de dos anillos a través de un solo átomo de carbono, el cual no es común en otra clase de productos naturales. El anillo de cinco eslabones (E) y uno de seis (F), ambos heterocíclicos se unen por el C-22 el cual es un centro estereogénico y se encuentra en la naturaleza generalmente en configuración *R*. La química de los esteroestanos ha sido estudiada intensivamente durante el siglo pasado, ya que estos son usados como materia prima, relativamente barata, para la síntesis de un número importante de esteroideos con fines terapéuticos.

Un aspecto importante al definir la estructura de una sapogenina esterooidal es la estereoquímica de los centros estereogénicos 5 y 25. Se conocen sapogeninas de configuración *R* o *S* en C-25, dando lugar a las series 25*R* y 25*S* como la hecogenina (**5**) o la sarsapogenina (**6**) respectivamente. También, se conocen sapogeninas de las series 5 α y 5 β de acuerdo a la orientación del sustituyente en C-5.

La fusión de los anillos A y B puede ser *cis* o *trans* (figura 3).^{10,11,12}



Fusión *trans*, serie 5 α



Fusión *cis*, serie 5 β

Figura 3. Constitución de las sapogeninas.

¹⁰ Gonzalez, A. G.; Hernández, J. C.; León, F.; Padrón, et.al. *J. Nat. Prod.*, **2003**, 66, 793-798

¹¹ Fieser, L. F.; Fieser, M. (1960). *Steroids*. New York: Reinhold Publishing Corporation.

¹² Dewick, P. M. (2002). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. (2^a ed.). Inglaterra: John Wiley and sons ltd.

2.2 Importancia del grupo carbonilo.

El carbonilo es un grupo funcional muy versátil, a ello se debe su gran importancia en síntesis orgánica, éste se encuentra presente en diversos grupos funcionales como aldehídos, cetonas, ácidos y ésteres, entre otros (figura 4).

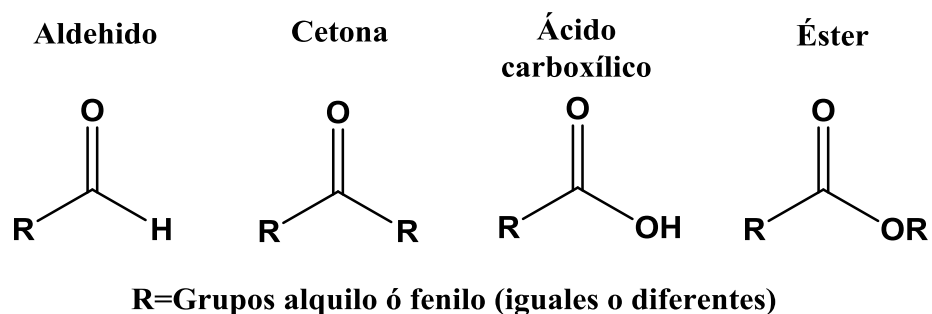


Figura 4. Grupo carbonilo.

Se encuentra en un gran número de compuestos biológicamente activos. En la naturaleza, muchas de las sustancias que requieren los organismos vivos son aquellos que contienen dicho grupo. Por ejemplo, los carbohidratos como la glucosa que es la principal fuente de energía de las células, los aminoácidos como el ácido aspártico, son los principales componentes de las proteínas y las hormonas sexuales como la progesterona, responsable de los caracteres sexuales secundarios en la mujer.

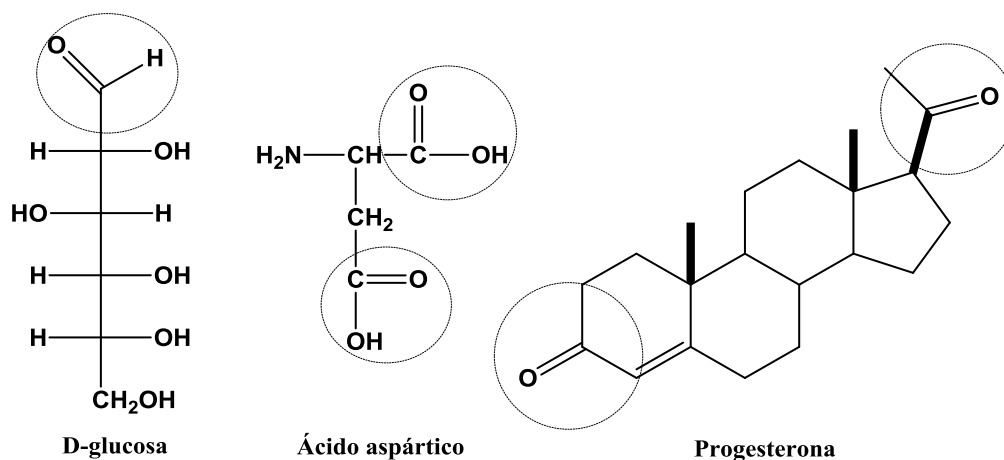
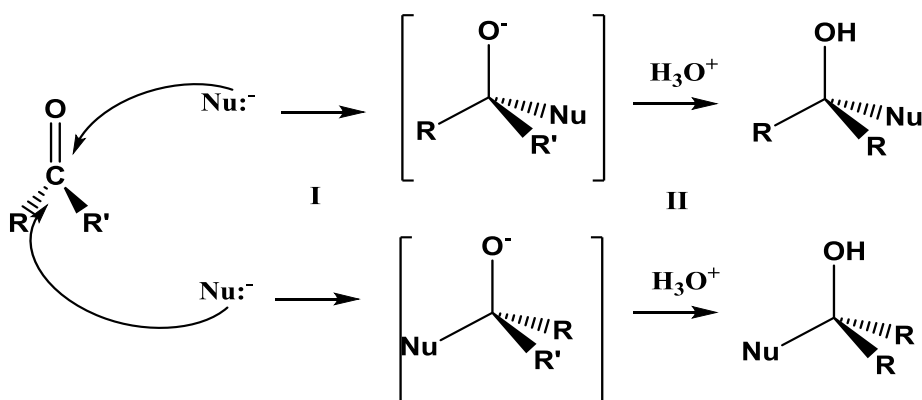


Figura 5. Grupo carbonilo en diversas sustancias.

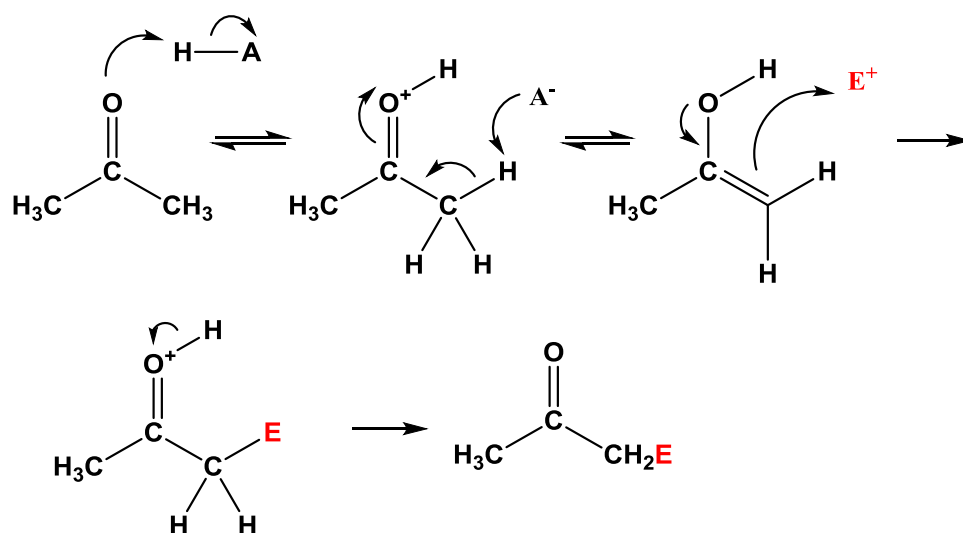
El grupo carbonilo ($C = O$) presenta un enlace doble entre carbono y oxígeno, es un enlace polar y por lo tanto es muy reactivo. La química del grupo carbonilo se puede explicar por cuatro reacciones que son muy típicas: adición nucleofílica acíclica, sustituciones nucleofílicas en el grupo acilo, sustituciones en el carbono α y las condensaciones. Por ejemplo, los aldehídos y cetonas pueden sufrir reacciones de adición nucleofílica siguiendo el siguiente mecanismo (esquema 1).



Esquema 1. Mecanismo de adición nucleofílica acíclica a un aldehído o cetona.

- I. Se adiciona un par de electrones del nucleófilo al carbono electrofílico del grupo carbonilo por una de sus caras (*Re* o *Si*), desplazando un par de electrones del enlace $C=O$ hacia el oxígeno, dando un ion alcóxido como intermediario. El carbono carbonílico cambia de hibridación de sp^2 a sp^3 . Por tanto es un centro proquiral ya que se genera un nuevo centro quiral y con ello la posibilidad de isómeros, en especial estereoisómeros.
- II. La protonación del ion alcóxido intermediario da un alcohol neutro como productos de adición.

Otra reacción muy importante de los carbonilos es la sustitución de hidrógenos α los cuales tienen la característica de tener cierta acidez y por lo tanto pueden ser sustituidos por otros grupos e incluso llevar a cabo reacciones de condensación (esquema 2).



Esquema 2. Mecanismo de sustitución en posición α en medio ácido.

2.3 Carbonilos α,β -insaturados.

La formación de nuevos enlaces carbono-carbono no solo tiene especial interés en química orgánica, sino que es de vital importancia en sistemas biológicos, particularmente en las etapas de síntesis de productos naturales. Muchas de estas reacciones de laboratorio tienen su réplica en plantas y animales¹³. Por ejemplo, el jazmín produce *cis*-jasmona o esencia de jazmín (figura 6), es una sustancia química capaz de repeler a ciertos insectos.

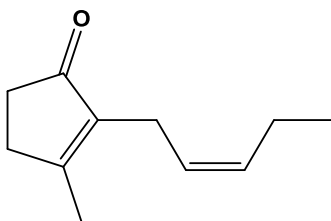


Figura 6. *cis*-jasmona (esencia de jazmín).

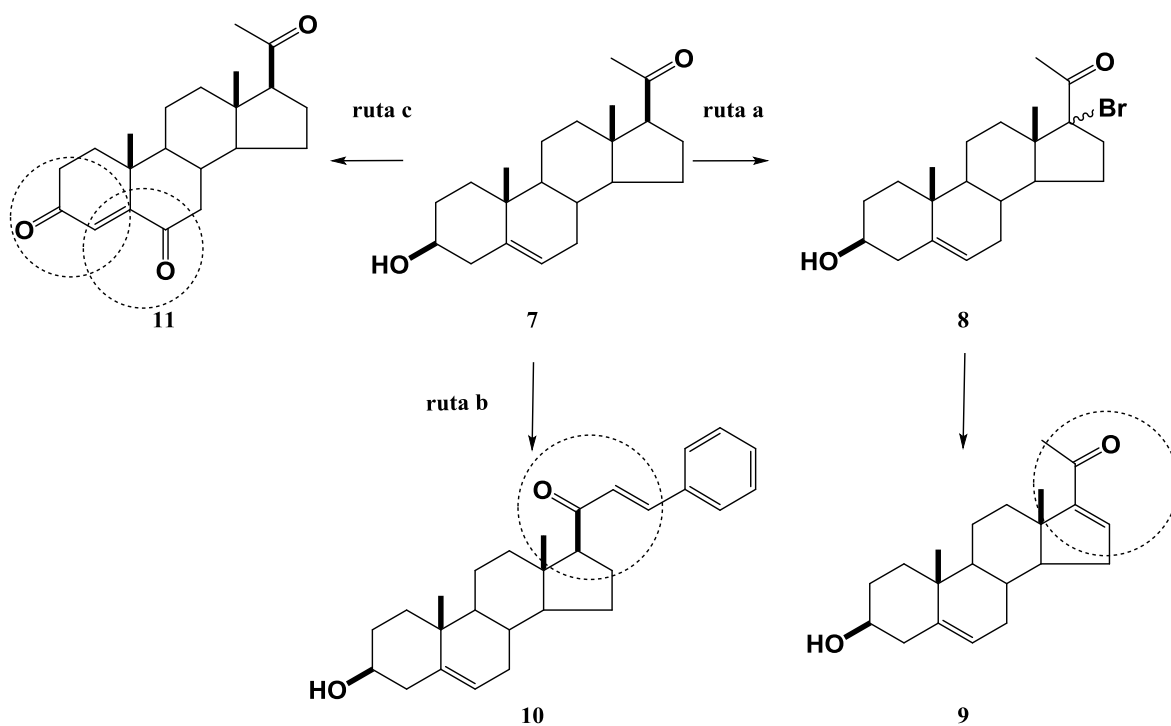
A nivel industrial se utiliza principalmente a la condensación aldólica como vía para la formación del sistemas carbonílicos α,β -insaturados.

¹³ Griffin, R. W. Jr. (1981). *Química orgánica moderna*. Barcelona: Editorial Reverté.

2.4 Métodos de obtención de sistemas carbonílicos α,β -insaturados.

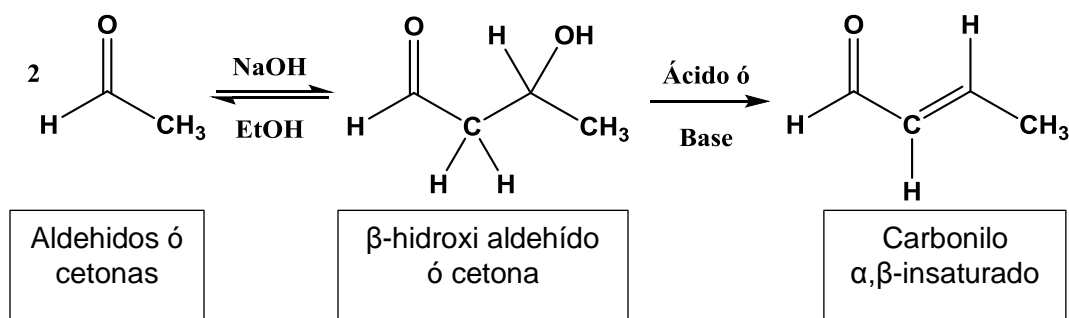
Dentro de los métodos de síntesis más destacados se encuentran:

- Halogenación del carbono α seguida de eliminación (esquema 3^a)
- Condensación aldólica (esquema 3b)
- Oxidación de alcoholes homoalílicos (esquema 3c)
- Oxidación de alcoholes alílicos
- Rearreglos de los anillos E y F en compuestos esteroidales, es un caso muy particular.



Esquema 3. Formación de sistemas carbonílicos α,β -insaturados. **A)** Halogenación de carbono α seguida de una eliminación, **b)** Condensación aldólica, **c)** Oxidación de alcoholes homoalílicos.

2.4.1 Condensación aldólica.



Esquema 4. Reacción general para la condensación aldólica.

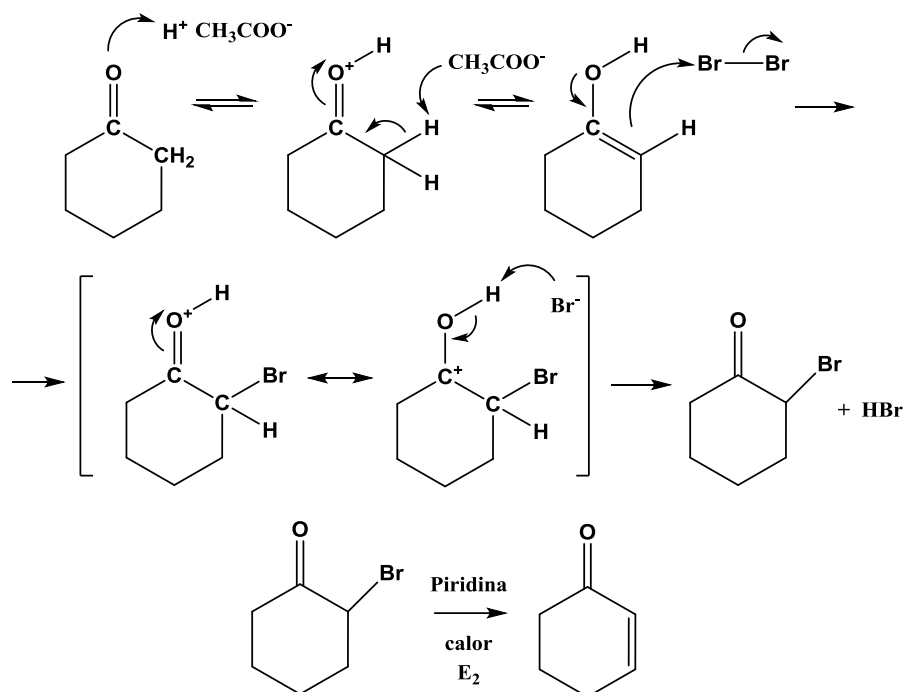
Los aldehídos y las cetonas sufren varias reacciones de condensación, una muy importante es la condensación aldólica que consiste en el tratamiento entre dos carbonilos en medio básico o ácido, donde uno de los carbonilos que tenga H_{α} forma el enolato y experimenta una sustitución en α cuando se adiciona al otro carbonilo. Todas las reacciones de condensación se pueden comprender fácilmente y sistematizar utilizando tres factores: la polarización del grupo carbonilo, la enolización de los hidrógenos en α , y la estabilidad del compuesto carbonílico α,β -insaturado que se forma (esquema 4).

La condensación aldólica puede ser simple donde se utilizan los carbonilos iguales y cruzada también llamada mixta donde se utilizan dos carbonilos diferentes. En este tipo de condensación la elección del tipo de carbonilos debe hacerse cuidadosamente porque si ambos tienen H_{α} se forman cuatro productos, Esta reacción es útil si se limita a:

- solo uno de los carbonilos contenga H_{α} para formar el enolato.
- que uno de los reactivos sea más reactivo hacia la adición nucleofílica.

2.4.2 Halogenación de H_α, seguida de eliminación.

Los aldehídos y las cetonas reaccionan con los halógenos (Cl₂, Br₂ o I₂) en medio ácido, siendo el bromo en ácido acético el más utilizado (esquema 5). La halogenación del H_α es una reacción típica de sustitución y es regioespecífica. Las α-bromo cetonas son útiles en síntesis orgánica puesto que por deshidratación con una base (Py/calor) produce la cetona α,β-insaturada.



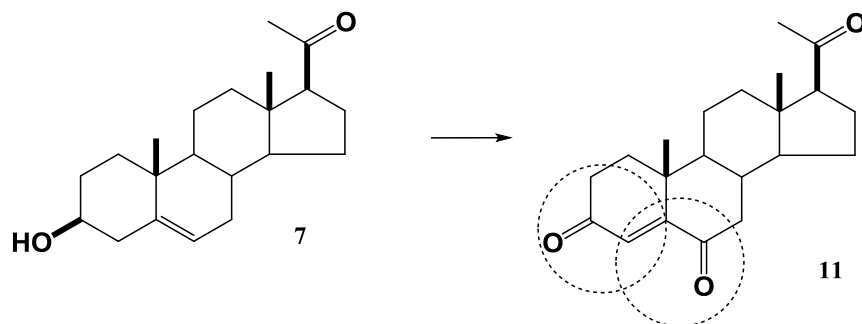
Esquema 5. Mecanismo de bromación catalizada por ácido seguida de eliminación.

2.4.3 Oxidación de alcoholes homoalílicos.

Es muy común encontrar esteroides que contengan en su estructura alcoholes alílicos,¹⁴ los cuales se pueden oxidar con diferentes reactivos como el

¹⁴ Aiello, A.; Fattorusso, E.; Magno, S.; Menna, M.; Pansini, M. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 281-285.

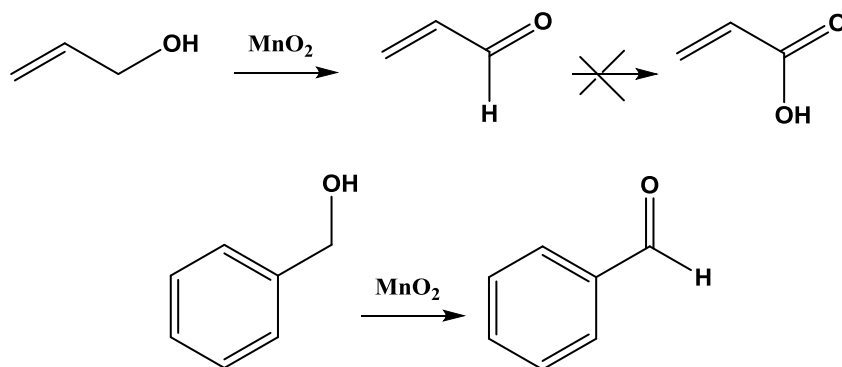
reactivo de Jones ($\text{CrO}_3 / \text{H}_2\text{SO}_4 / \text{H}_2\text{O}$), entre otros para generar sistemas Δ^5 -3,6-dionas (esquema 6).¹⁵



Esquema 6. Oxidación de alcoholes homoalílicos.

2.4.4 Oxidación de alcoholes alílicos.

El tratamiento de alcoholes alílicos o bencílicos con dióxido de manganeso, MnO_2 , preparado in situ, constituye una buena reacción de síntesis para la formación de sistemas carbonílicos α,β -insaturados. Este reactivo es lo suficientemente energético para oxidar el alcohol a aldehído, pero es inhábil para oxidarlo hasta el correspondiente ácido carboxílico. El Mn^{+4} en el MnO_2 se reduce a Mn^{+2} durante la reacción (esquema 7).¹³



Esquema 7. Oxidación de alcoholes con MnO_2 .

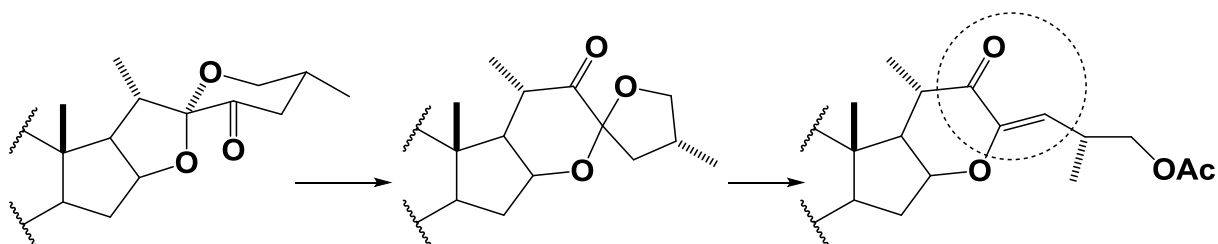
¹⁵ Hunter, A. C.; Priest, S.-M. *Steroids* **2006**, 71, 30-33.

2.4.5 Rearreglos de los anillos E y F.

La síntesis de moléculas biológicamente activas a partir de sapogeninas esteroidales es uno de los objetivos principales de nuestro grupo de investigación; la funcionalización de la cadena espiroacetálica es una de las principales estrategias en la obtención de nuevos compuestos con alto potencial en actividad biológica.

En consecuencia con la funcionalización de la cadena lateral, los rearrreglos que involucran al espirostano están siendo investigados ampliamente.¹⁶ En 1992, el grupo de Suárez publico la isomerización de la 23-oxotigogenina al derivado 22-oxo-23-espirocetálico empleando $TiCl_4$, con un rendimiento del 99%.¹⁷

Una posterior acetólisis sobre los derivados 22-oxosapogeninas conduce a la formación de derivados carbonílicos α,β -insaturados (esquema 8).¹⁸



Esquema 8. Rearreglo de la cetona espirocetálica.

¹⁶ Viñas Bravo, O. (2007). Nuevas metodologías para transformar la cadena lateral de sapogeninas esteroidales. (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.

¹⁷ Hernández, R.; Merrero-Tellado, J. J.; Prout, K.; Suárez, E. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 275-277.

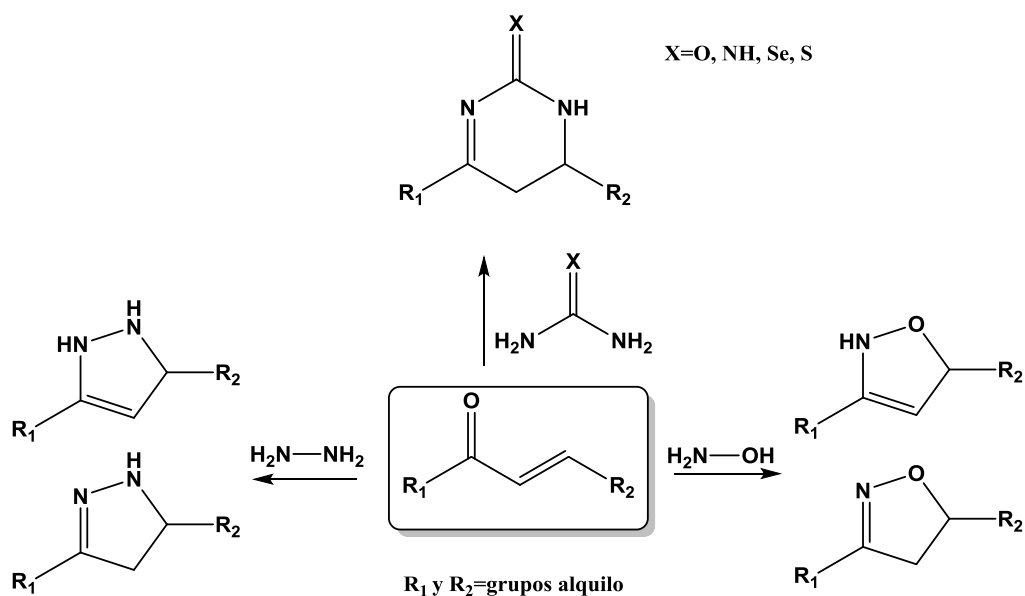
¹⁸ Corona Díaz, A.; García Merinos, J. P.; López, Y.; González Campos, J. B.; del Río, R. E.; Santillan, R.; Farfán, N.; Morzycki, J. W. *Steroids*, **2015**, *100*, 36-43.

2.5 Importancia de los carbonilos α,β -insaturados en la formación de heterociclos.

En la actualidad un gran número de los fármacos comerciales son de naturaleza esteroidea, la fusión con heterociclos que presentan uno o más heteroátomos en los anillos A-D del esqueleto esteroidea les confieren diversas actividades farmacológicas.¹⁹ Por lo que han atraído la atención de muchos grupos de investigación desarrollando metodologías innovadoras con el objetivo de generar nuevos fármacos más económicos, y menos agresivos en sus diversas aplicaciones terapéuticas.

Actualmente son muchos los heteroesteroides que poseen actividad biológica, en particular se encuentran reportes en la literatura de pirazolininas, pirazoles, isoxazoles, isoxasolininas, tiazoles, piridinas, pirimidinas, etc., fusionados o unidos a diversas estructuras esteroidales.

La ciclación de compuestos 1,3 dinucleofílicos con compuestos 1,2 o 1,3 bielectrofilílicos es de especial interés en la formación de sistemas heterocíclicos de 5 o 6 miembros (esquema 9).

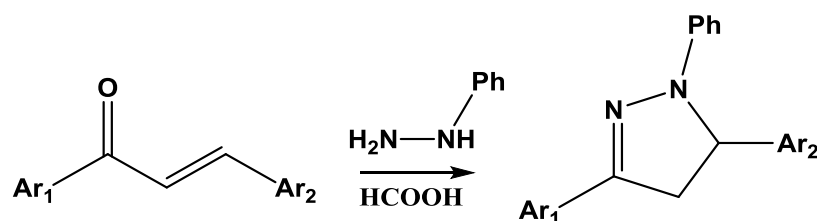


Esquema 9. Síntesis de diversos heterocíclicos a partir de carbonilos α,β -insaturados.

¹⁹ a) Hirschmann R.; Buchschacher P.; Steinberg N. G.; Fried J. H.; Ellis R.; Kent G. J.; Tishler, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1520-1527. b) Abdelhalim M. M.; Kamel E. M.; Rabie S. T.; Mohamed N. R. *Steroids* **2011**, *76*, 78-84.

2.5.1 Síntesis de pirazolinas.

Probablemente el primer ejemplo de formación de un heterociclo de pirazolina fue la síntesis descrita por Fiesher y Knoevenagel, tratándose de una reacción con un compuesto carbonílico α,β -insaturado y fenilhidrazina. Una síntesis clásica de estos heterociclos es realizar una condensación aldólica entre una cetona aromática y un aldehído para obtener la cetona α,β -insaturada y posteriormente realizar una ciclación de esta al reaccionar con hidracina para obtener la 2-pirazolina (esquema 10).²⁰

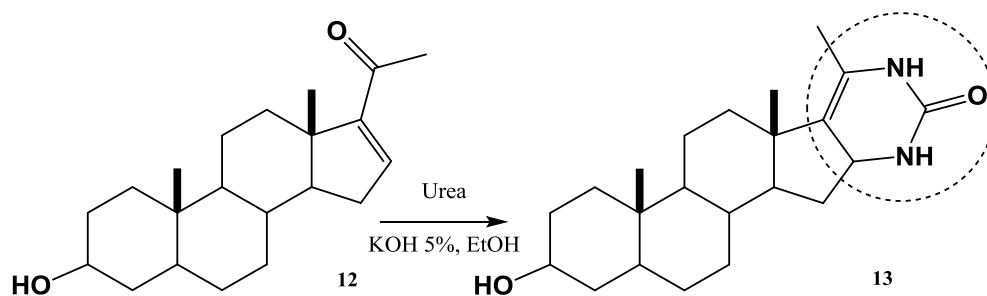


Esquema 10. Síntesis de derivados conteniendo anillos de pirazol.

2.5.2 Síntesis de pirimidinas.

Uno de los métodos para la síntesis de derivados de dihidropirimidinas es el tratamiento de cetonas α,β -insaturadas con urea y sus análogos (tiourea, guanidina y amidinas). Las condiciones de heterociclación con cetonas α,β -insaturadas pueden ser muy variadas y usualmente se usa una catálisis básica. Las bases más utilizadas son hidróxido de sodio o potasio, metóxido y etóxido de potasio o una base más suave como el carbonato de sodio (esquema 11).²⁰

²⁰ Romero López, A. (2014). Síntesis de pirazolinas y pirimidinas esteroidales. (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.



Esquema 11. Síntesis de pirimidinas esteroidales.

2.5.3 Síntesis de Isoxazoles e isoxazolinas.

Derivados esteroidales conteniendo este tipo de sistemas poseen una amplia gama de actividades biológicas,²¹ por ejemplo, anticonceptivos o antiinflamatorios entre otros. Un ejemplo de estos últimos es el Danazol²² **14** (figura 7), un análogo de la etisterona.

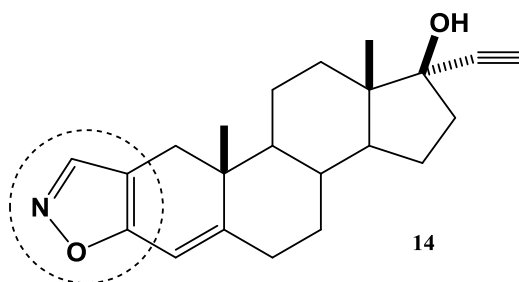


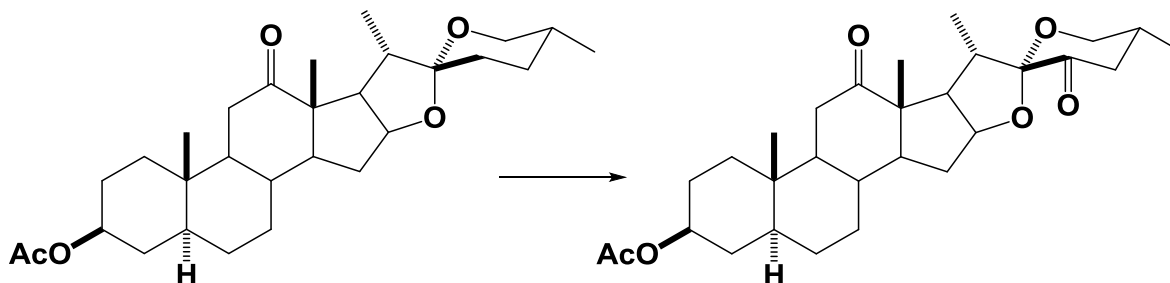
Figura 7. Derivado esteroidal isoxazolínico.

²¹ Gupta R.; Pathak D.; Jindal D. P. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 659-662.

²² Thomas, G. w.; Rael, L. T.; Bar-Or, R.; Mains, C. W.; Slone, D. S. Boyd, S. R.; Bar-Or, D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2012**, *421*, 707-712.

3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Obtención del acetato de (22S,25R)-12,23-dioxo-16,22:22,26 diepoxi-5 α -colestan-3 β -ilo (acetato de 23-oxohecogenina, 16).



La conversión de sapogeninas esteroidales en las correspondientes 23-oxosapogeninas por tratamiento con NaNO_2 y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en ácido acético seguido por cromatografía en columna en Al_2O_3 fue inicialmente descubierto por Barton y colaboradores. Este método fue rápidamente establecido como la alternativa sintética más eficiente para la introducción de funciones oxigenadas en C-23²³.

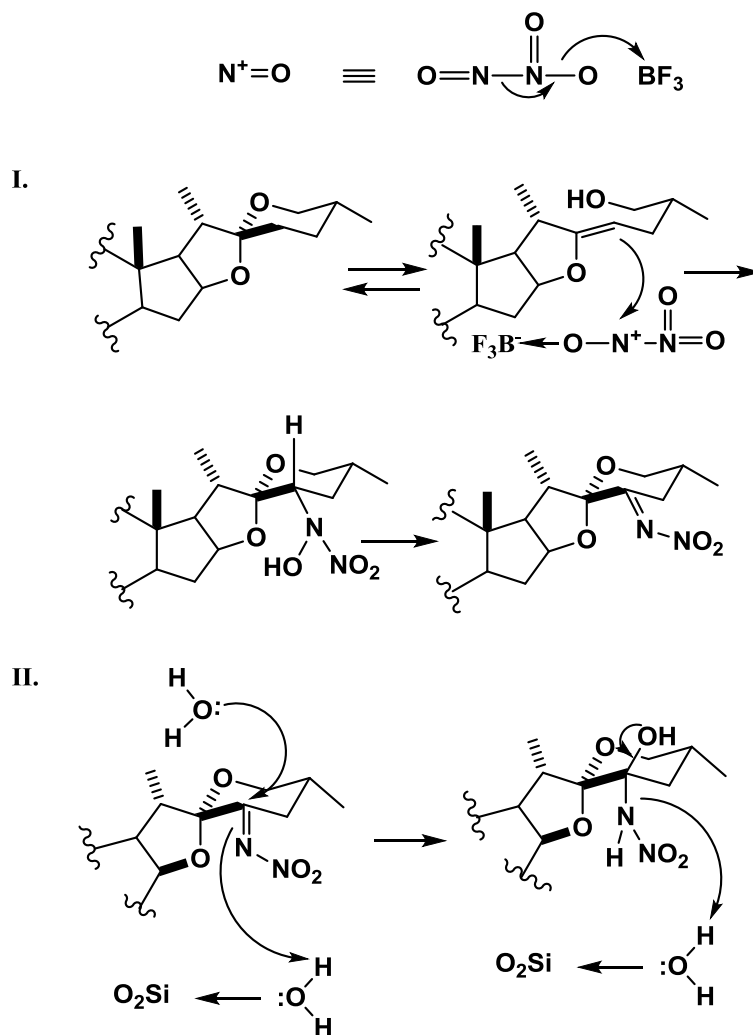
Para la síntesis del derivado 23-oxohecogenina (**16**) se utilizó la metodología reportada en la literatura,^{24,25} esto es, con NaNO_2 , $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, ácido acético y una mínima cantidad CH_2Cl_2 , los rendimientos son relativamente buenos (50-60% de rendimiento).

A continuación se detalla el mecanismo propuesto en la literatura²³.

²³ Yliana López, Marcos Flores-Alamo, Martín A. Iglesias-Arteaga, *Steroids* **2008**, 73, 657-668.

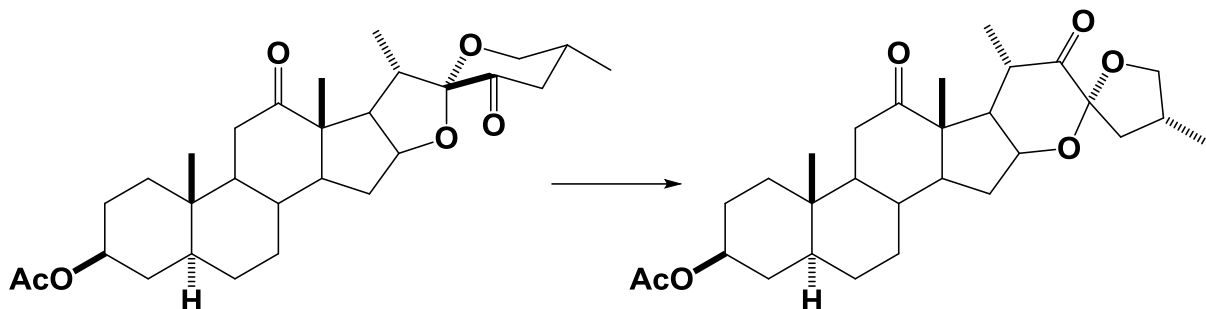
²⁴ Iglesias-Arteaga, m.; Sandoval-Ramírez, J.; Mata-Esma, M.; Viñas-Bravo, O.; Bernes, S. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 4921-4926.

²⁵ Barton, D. H. R.; Sammes, P. G.; Taylor, M. V.; Werstiuk, E. *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 1977-1981.



Esquema 12. Mecanismo de reacción para la obtención de 23-oxosapogeninas.

3.2 Obtención del acetato de (23*R*,25*R*)-12,22-dioxo-16,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-3β-ilo (**17**).



El rearrreglo del acetato de 23-oxohecogenina fue promovida por ácido de Lewis (TiCl_4) que generó el derivado 22-oxo-23-espirocetal (**17**) en rendimientos aceptables. Una alternativa interesante para la generación del compuesto **17** es el uso de un ácido de Lewis diferente como el $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como lo propuso Morzycki²⁶, sin embargo se observó que los tiempos de reacción son muy largos (siete días bajo reflujo de THF) y el rendimiento es de solo 9%.

La presencia de la función cetona en C-23 hace menos reactivo el grupo espirocetalico, a esto se debe que el ácido de Lewis no es lo suficientemente fuerte para promover la apertura de los anillos E y F. Pero, cabe mencionar que la adición de ácido trifluoroacético favorece dicha apertura, esto lo convierte en una alternativa para llevar a cabo el rearrreglo esperado en rendimientos cuantitativos.

En la tabla 1 se presentan los resultados de ambas metodologías para la obtención del derivado **17** donde se observa que ambas rutas usan un ácido de Lewis pero diferente, en distintas concentraciones, el método 1 emplea TiCl_4 con un rendimiento del 50% con consumo total de la materia de partida y con la formación de subproductos que no fueron identificados. El método 2 emplea $\text{F}_3\text{B} \cdot \text{OEt}_2$ como ácido de Lewis y un catalizador que favorece la reacción para aumentar la reactividad del mismo en el cual los rendimientos son del 40% pero sin consumo total de materia prima y con formación de un subproducto minoritario que no se identificó.

²⁶ Cyranski, M. K.; Frelek, J.; Jastrzebska, I.; Morzycki, J. W. *Steroids* **2004**, 69, 395-400.

Metodología	m.p (16) (mol)	Ácido de Lewis (mol)	CF ₃ COOH (mol)	CH ₂ Cl ₂ (mL)	Tiempo (h)	T (°C)	% rendimiento #
1	1	TiCl ₄ (3.3)	-	15	7	ambiente	50
2	1	BF ₃ OEt ₂ (5)	10	10	2	ambiente	40

Tabla 1. Diferentes metodologías para la obtención de **17**.

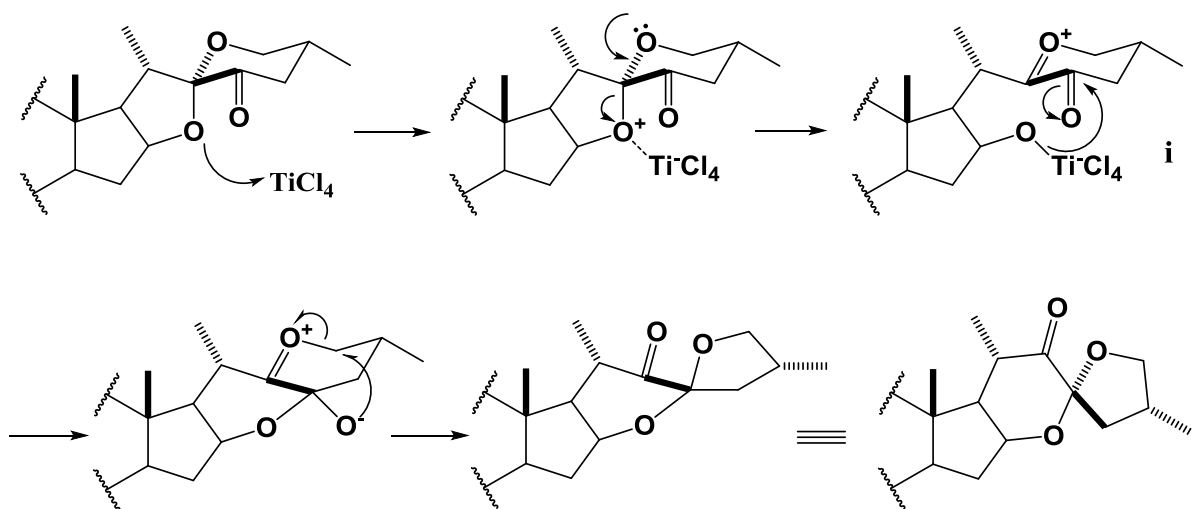
La metodología 1 sugiere únicamente el empleo de TiCl₄ con la ventaja de que es un reactivo más barato comparado con los reactivos usados en la metodología 2 pero altamente tóxico²⁷ debido a que al mínimo contacto con agua este se hidroliza generando HCl por lo cual es conveniente trabajarlo en condiciones de atmosfera inerte. La reacción se presenta a continuación:



De manera contraria, la metodología 2 propone el uso de F₃B•OEt₂ y ácido trifluoroacético los cuales son fáciles de manipular, sin embargo las cantidades empleadas son mayores lo cual sugiere costos.

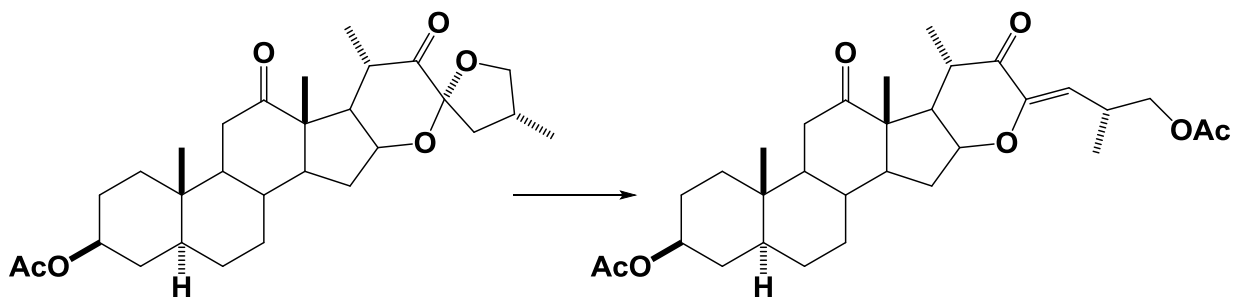
El mecanismo propuesto se presenta en el esquema 15. En la reacción de isomerización sobre el derivado 23-oxosapogenina (**16**), la coordinación del ácido de Lewis (TiCl₄) con el oxígeno del anillo E promueve su apertura para formar **i**, una serie de rearreglos sobre los anillos E y F conducen al derivado de interés.

²⁷ Ficha de datos de seguridad, Solución de tetracloruro de titanio, Sigma Aldrich, Referencia (249866), 2015.



Esquema 13. Mecanismo de reacción propuesto para generar 17.

3.3 Obtención del diacetato de (23Z, 25R)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colest-23-eno-3 β ,26-diilo (18).



En nuestro grupo de trabajo se han llevado a cabo reacciones de acetólisis (ácido de Lewis y anhídrido acético) de diversas sapogeninas y se ha observado que sufren la apertura de los anillos E o F; cuando la apertura se lleva a cabo sobre el anillo F genera un derivado 22,26-epoxicolestanico y si ésta se lleva a cabo en el anillo E produce derivados furostanicos.^{28,29}

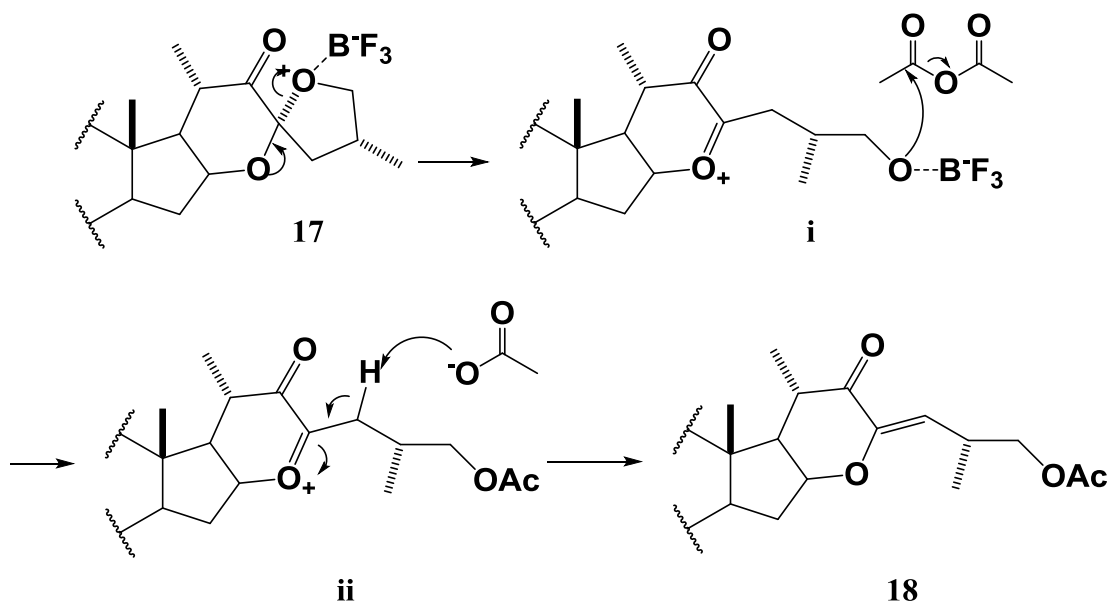
Con estos antecedentes, resulto muy interesante realizar la reacción de acetólisis sobre los derivados 22-oxo-23-espiroderivados. Se procedió a realizar la reacción de acetólisis sobre **17** utilizando Ac_2O y $\text{F}_3\text{B}\cdot\text{OEt}_2$ como ácido de Lewis, la cromatografía en capa fina revelo la formación de un solo compuesto. Cabe destacar que el tiempo de reacción fue de 10 minutos, tiempos más largos no afectan en el rendimiento de la reacción ni supone la formación de suproduetos. Se procedió a purificar el crudo de reacción por cromatografía en columna para eliminar ligeras impurezas, después de purificado, se realizó la caracterización espectroscópica y los datos emanados de esta nos indican que se había llevado a cabo la apertura regioselectiva del anillo F con la consecuente formación del derivado diacetato de (23Z, 25R)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colest-23-eno-3 β ,26-diilo.

Un probable mecanismo de reacción de acetólisis de **17** es mostrado en el esquema 16. Se propone que el oxígeno del epoxido en C-23 / C-26 del anillo F

²⁸ Gould, h. D.; Stabudle, H.; Hersberg, E. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 3685-3688.

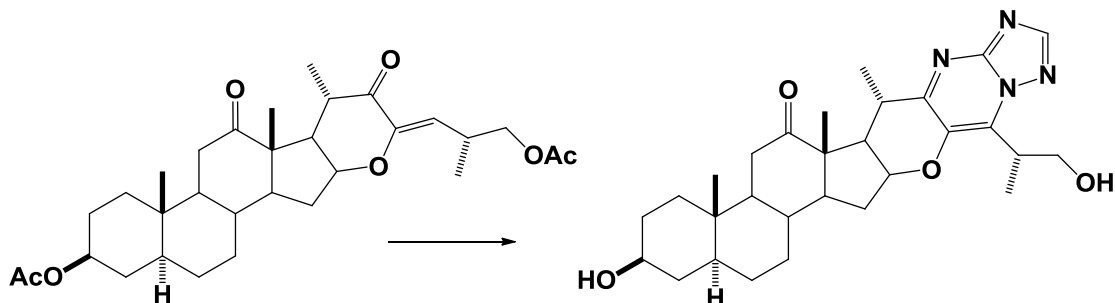
²⁹ Dauben, G. W.; Fonken, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 4618-4619.

del derivado 22-oxo-23-espiro (**17**) se coordina con el ácido de Lewis que promueve su apertura para formar el ion oxacarbenio en C-24 **i**, enseguida ocurre la esterificación en C-26 y generar el derivado **ii**, la eliminación de uno de los protones α en H-24 genera la cetona α,β -insaturada (**18**), este derivado resulto ser bastante estable debido a la formación de un sistema carbonílico α,β -insaturado y aun con exceso de anhídrido acético y tiempos más largos de reacción no continuo reaccionando, sin embargo, este derivado es muy interesante químicamente pues se logra la apertura regioselectiva del anillo F y se logró obtener un derivado esteroidal con una cadena lateral polifuncionalizada que sea útil como intermediario en otras transformaciones.



Esquema 14. Mecanismo de reacción propuesto para generar **18**.

**3.4 (25*R*)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano [23,22-
d][1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidina (19).**

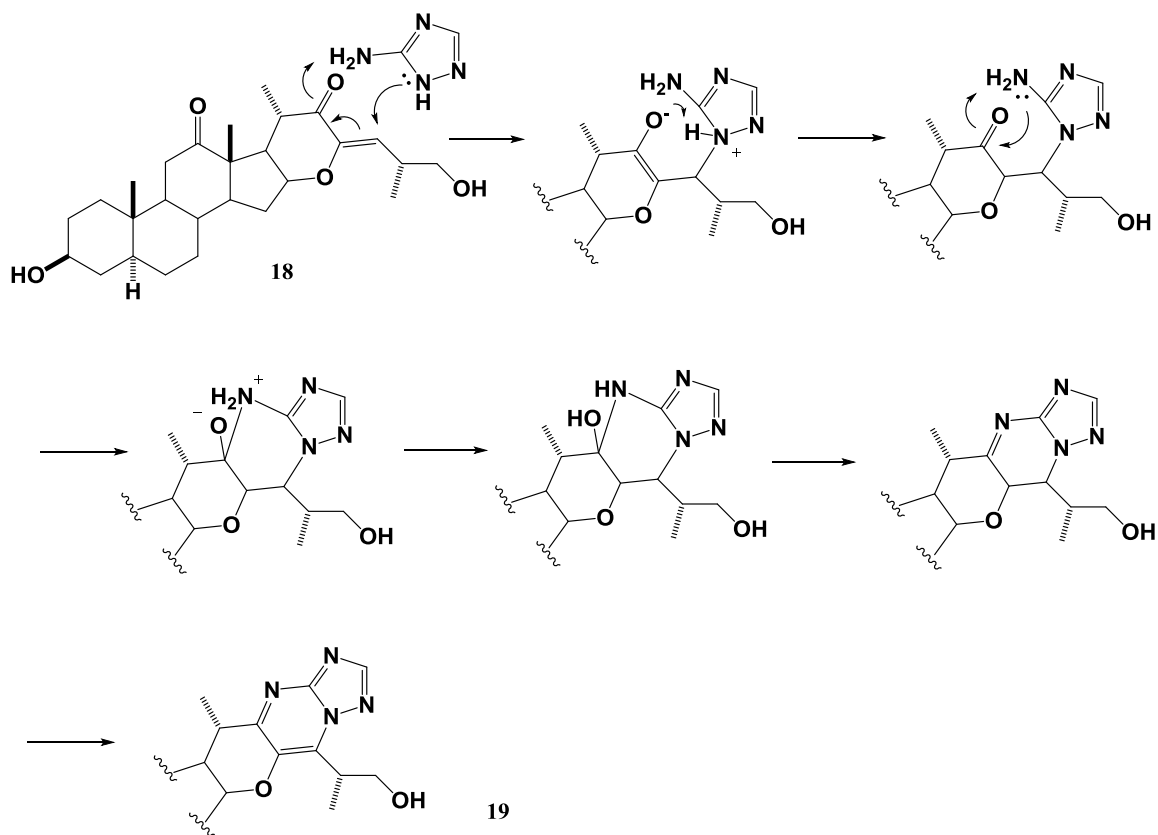


Para la obtención del derivado esteroideal **19** fue necesario controlar los equivalentes que se adicionan de cada uno de los reactivos debido a la presencia del grupo carbonilo en C-12 y del carbonilo α,β -insaturado, es decir de forma equimolar, con ello se llevó acabo la formación del heterociclo de manera regioselectiva sobre el carbonilo en C-22.

18	3-amino-1,2,4-triazol	<i>t</i> -BuOK	<i>n</i> -BuOH
1 eq (100 mg)	1 eq (8 mg)	1 eq (0.08 mL)	5 mL

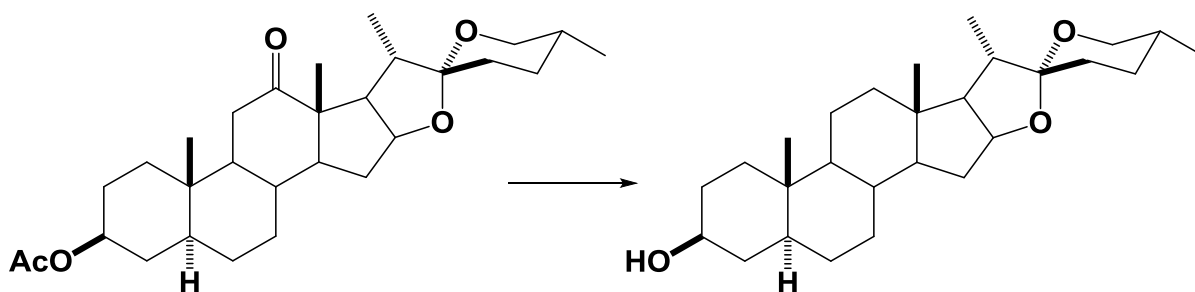
El tamaño del reactivo 3-amino-1,2,4-triazol y el impedimento estérico por parte del metilo 18 hacen menos reactivo al carbonilo en C-12 con lo cual es posible la obtención del derivado **19**.

Las condiciones fuertemente básicas conducen a una heteroaromatización del ciclo de triazolopirimidina haciéndolo un compuesto bastante estable. Así mismo, la hidrolisis de los grupos éster en posiciones C-3 y C-26 es llevada a cabo. A continuación se plantea el posible mecanismo para la formación del derivado **19**.



Esquema 15. Mecanismo de reacción para la obtención del derivado 19.

3.5 Reducción de Wolff-Kishner de acetato de hecogenina para la obtención de tigogenina (20).



Debido a la poca disponibilidad comercial de materias primas fue necesario preparar un segundo derivado de gran importancia a nivel de síntesis y modificación de productos naturales. Para ello el acetato de hecogenina (**15**) se trató en condiciones de reducción del grupo carbonilo en C-12 al correspondiente grupo metileno.

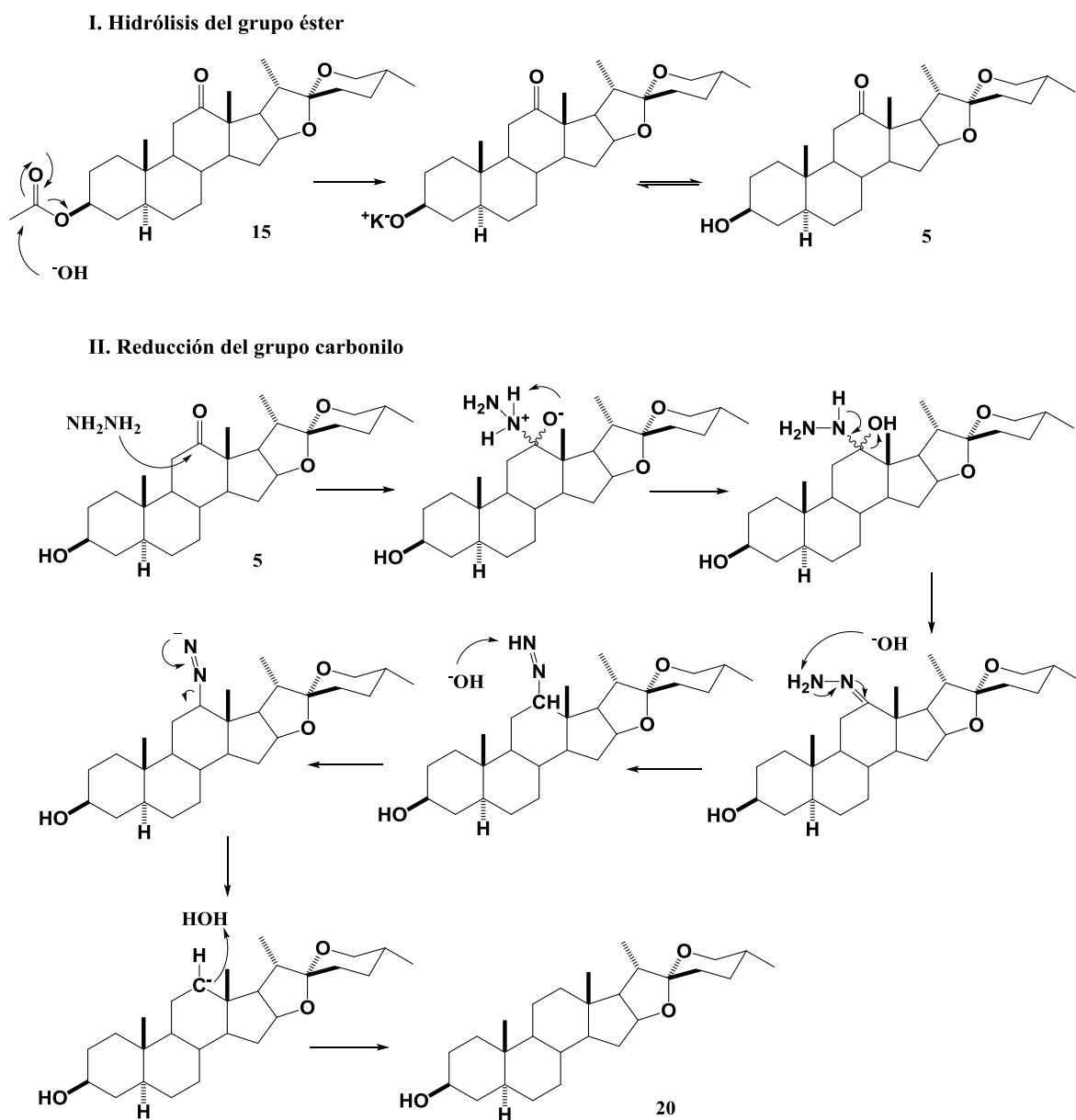
Existen dos grandes metodologías reportadas para la reducción de grupos carbonilos a sus respectivos grupos alquilo. Una de ellas es la reacción de Clemmensen, la cual se efectúa en presencia de una amalgama de zinc, Zn(Hg), en medio ácido, usualmente HCl. Dentro de los inconvenientes que encontramos al utilizar esta reducción es que los esteroides en medios ácidos sufren la apertura de sus anillos E y F dando lugar a una serie de productos que para este trabajo de investigación no es útil. Así mismo, la amalgama Zn(Hg) es una sustancia tóxica para el medio ambiente si no se manipula de manera adecuada.

Por otra parte existe otra reducción llamada de Wolff-Kishner la cual implica el uso de hidracina en un medio fuertemente básico en etilenglicol y a temperaturas elevadas.^{30,31} Al contrario que la reacción de Clemmensen los esteroides no sufren grandes modificaciones dependiendo del tipo de grupos funcionales presentes en él, ambas reducciones son selectivas para grupos

³⁰ Upadhyay SK, Creech CC, Bowdy KL, Stevens ED, Jursic BS, Neumann DM. *Bioorg Med Chem Lett.* **2011**, 2826-31

³¹ Reyes Moreno M., Ruíz García J.L., Jáuregui Haza U., Lora García J., Agüero Agüero J. *CENIC Ciencias Químicas*, **2001**. 32-1.

carbonilo de aldehído y cetona. Para el caso de **15**, se requiere que se reduzca el grupo carbonilo en C-12 pero también está presente una función éster en posición 3, lo cual, bajo las condiciones básicas de reacción, conducirá a su hidrólisis generando el correspondiente alcohol libre en C-3. Así el acetato de hecogenina se trató en condiciones de reducción de Wolff-Kishner para generar la sapogenina **20** (tigogenina). A continuación se presenta el mecanismo propuesto para la reacción.

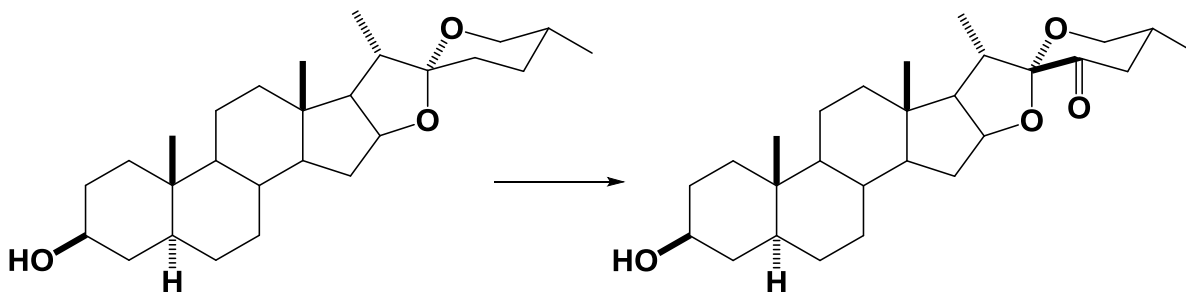


Esquema 16. Mecanismo de la reacción de Wolff-Kishner.

En la etapa I ocurre la hidrólisis del grupo éster en medio básico, el OH^- realiza un ataque acilnucleofílico sobre el carbonilo del grupo éster y genera el alcohol en C-3 del esteroide.

En la etapa II del mecanismo propuesto: la hidracina reacciona nucleofílicamente sobre el carbono del carbonilo para la formación de la hidrazona #, un paso análogo a la formación de una imina. Posteriormente, la eliminación de protones a causa de la base empleada resulta en la formación de nitrógeno y da como resultado el derivado metilénico sobre C-12 y genera **20**.

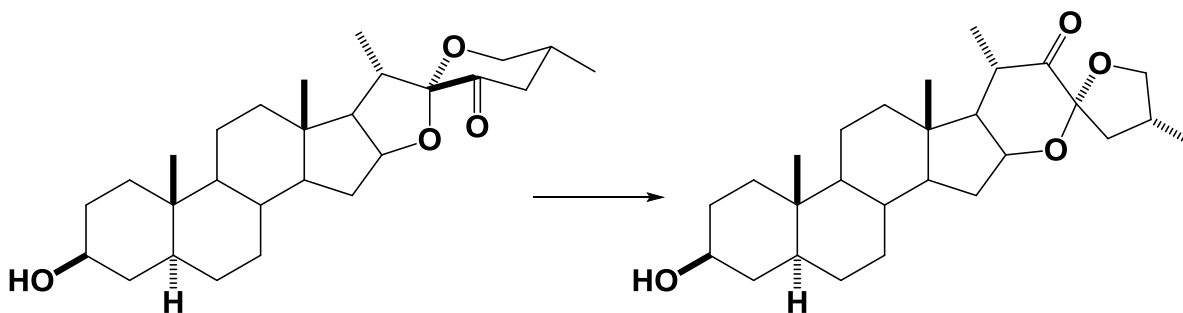
3.6 Obtención de 23-oxotigogenina (21).



La síntesis del derivado 23-oxotigogenina (**21**) se realizó bajo las mismas condiciones de la metodología empleada para el derivado 23-oxohecogenina. Las diferencias principales de las materias de partida involucran, el alcohol libre en C-3 y la ausencia de la función cetona en C-12 para la tigogenina. La reacción transcurre de manera análoga a **16**.

La literatura sugiere el uso de alumina Brockmann (III), esto es, una cantidad de Al_2O_3 mas el 3% en masa de H_2O como tratamiento previo a la reacción¹. Esto supone favorecer el rendimiento de producto deseado por medio de la hidrólisis del grupo nitroimino formado como intermediario de reacción (ver esquema 14) para la generación del grupo cetona en C-23. A diferencia de ello, se decidió utilizar gel de sílice comercial y con lo cual se obtuvieron resultados favorables. Ello se logró mediante su purificación por CC dejando el producto soportado en SiO_2 durante la noche.

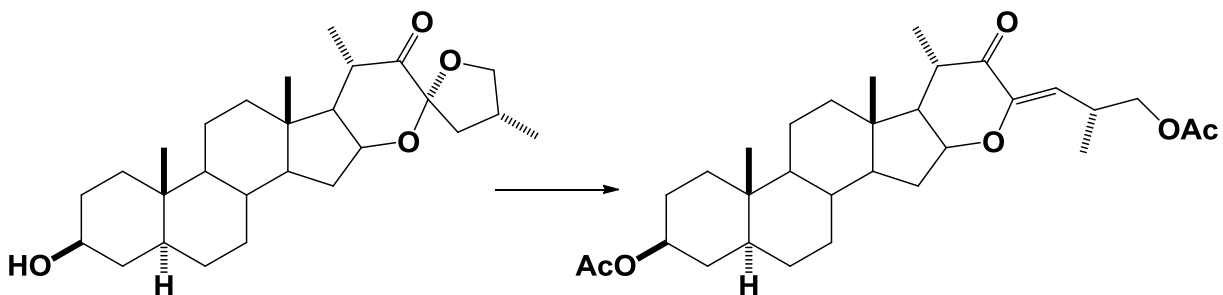
3.7 Obtención del 22-oxo-23-epiroacetal (22).



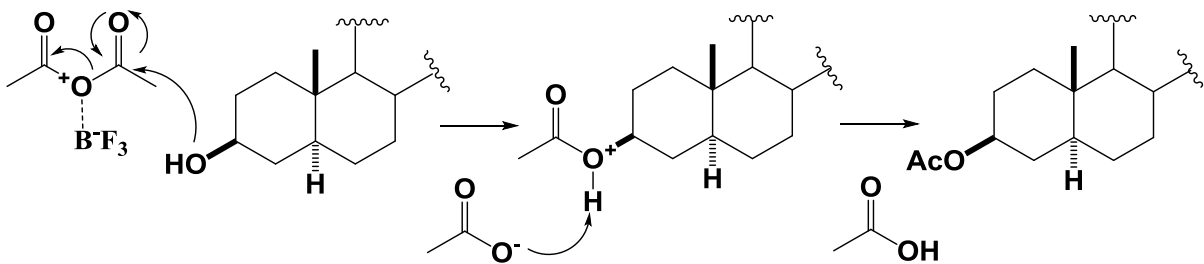
La isomerización de **21** hacia el derivado 22-oxo-23-espirocetal (**22**) se realizó con TiCl_4 bajo las mismas condiciones que para el derivado (**17**). No se llevó a cabo bajo las condiciones descritas en la metodología 2 ($\text{F}_3\text{B}\cdot\text{OEt}_2$ y ácido trifluoroacético), debido a que los rendimientos de reacción son menores de acuerdo a los resultados obtenidos para el derivado **17**. La reacción transcurre de forma similar sin presentar variaciones. Esto nos indica que es una reacción que solo sucede en sistemas de este tipo sin afectar otros grupos tal es el caso del grupo alcohol en C-3 para este derivado.

El mecanismo propuesto es de forma análoga al derivado **16** y se presenta en el esquema 15. La coordinación del ácido de Lewis (TiCl_4) con el oxígeno del anillo E promueve su apertura para formar el intermediario que se propone en el esquema, una serie de rearreglos sobre los anillos E y F conducen al derivado de interés.

3.8 Obtención del acetato de (23Z,25R)-22-oxo-16,23-epoxi-5 α -colest-23-eno-3 β ,26-diilo (23).

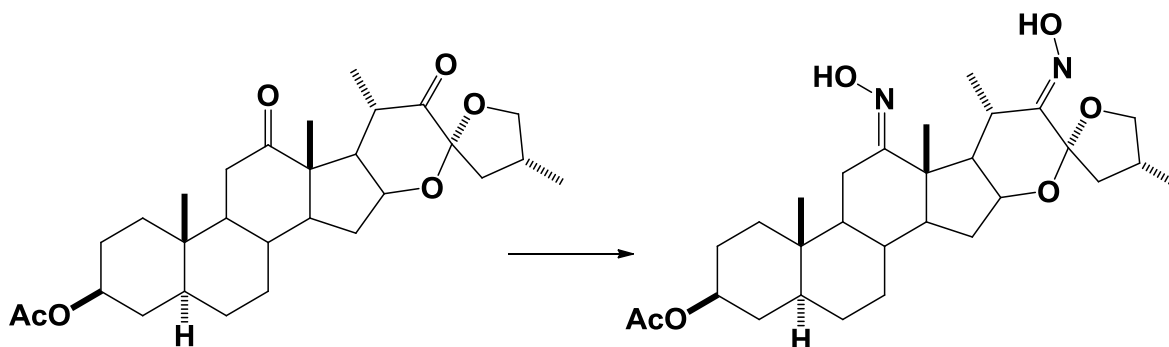


El comportamiento del 22-oxo-23-espirocetal (**22**) frente a la reacción de acetólisis con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y Ac_2O fue bastante similar a lo obtenido en el 22-oxo-23-espirocetal (**17**), es decir, se lleva a cabo la apertura regioselectiva del anillo F y la posterior eliminación de uno de los protones H-24 generando el derivado **23**, este derivado es bastante estable pues aun cuando se agrega un exceso de anhídrido acético y se deja reaccionar por tiempos más prolongados de reacción ya no continua reaccionando. Adicionalmente ocurre la esterificación con el grupo alcohol en C-3 dando del producto diacetilado en C-3 y C-26. A continuación se presenta el mecanismo propuesto para la acetilación del OH en C-3. El BF_3 cataliza la reacción debido a que es un ácido y favorece el proceso de esterificación. Inicialmente se coordina a un átomo de oxígeno del anhídrido acético, posteriormente el par de electrones del oxígeno del alcohol realiza un ataque sobre el carbono del carbonilo donde desplaza el par de electrones pero cuando este vuelve a entrar elimina al fragmento correspondiente al acetato el cual posteriormente extrae el protón para generar el derivado acetilado.



Esquema 17. Mecanismo para la esterificación del grupo OH.

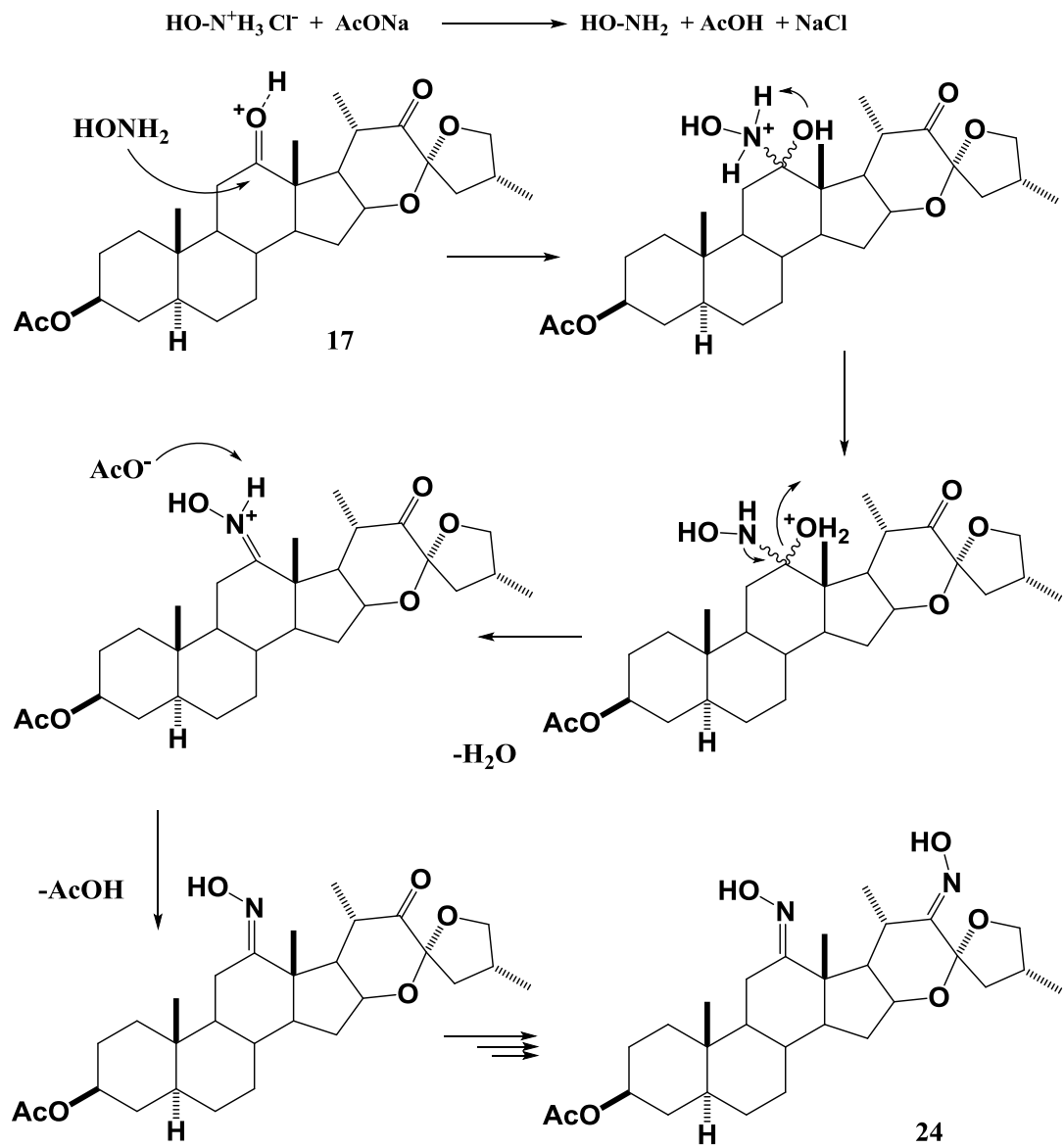
3.9 Obtención de la 12,22-dioxima de hecogenina (24).



La reacción para la formación de la oxima sobre C-12 y C-22 (**24**) se realizó bajo las condiciones reportadas por nuestro grupo de trabajo³², esto es clorhidrato de hidroxilamina, acetato de sodio en etanol a reflujo durante 2 horas. Cuando se llevó a cabo bajo estas condiciones de reacción se observó que después de 2 horas gran parte de la materia prima no se había consumido, por lo que se decidió mantener la reacción hasta que se consumiera la materia prima. Se observó que después de 2 días a reflujo no se consumía la materia prima en su totalidad por lo que se decidió suspenderla y proseguir con el tratamiento. Esto probablemente se deba al impedimento estérico por parte de los grupos metilos C-19 y C-21 vecinos a los carbonilos en C-12 y C-22, y el carbonilo en C-22 además se ve además impedido por el anillo F.

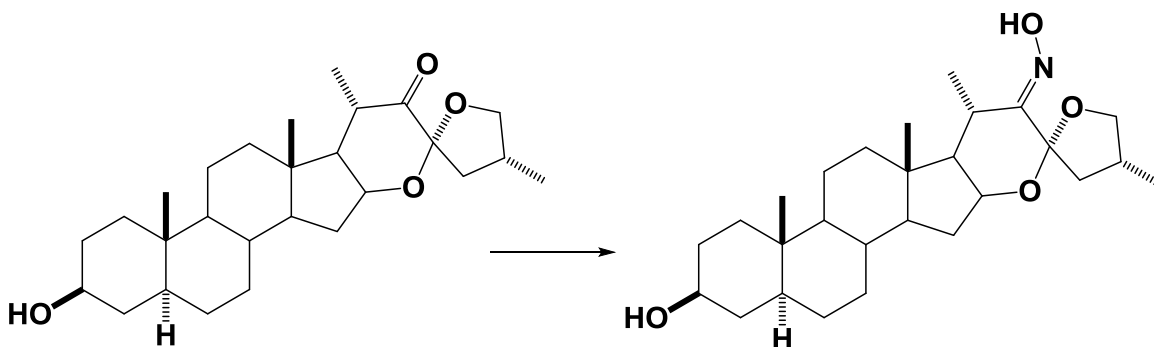
A continuación se describe el posible mecanismo de reacción: el par de electrones del nitrógeno en la hidroxilamina realiza un ataque nucleofílico sobre cualquiera de las caras *Re* o *Si* del carbonilo. A continuación una serie de protonaciones y desprotonaciones ocurre para generar la oxima correspondiente.

³² Iglesias-Arteaga, M. A.; Sandoval-Ramírez, J.; Mata-Esma, M. Y.; Viñas-Bravo, O.; Bernes, S. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 4921-4926,



Esquema 18. Mecanismo para la formación de la dioxima.

3.10 Obtención de la 22-oxima de tigogenina (25).

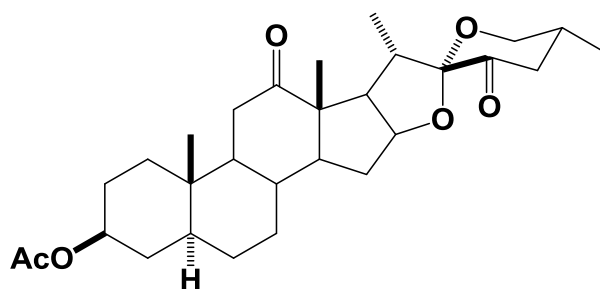


La reacción para la formación de la oxima sobre C-22 (**25**) se realizó bajo las condiciones utilizadas para la formación de la dioxima **24**. Cuando se llevó a cabo bajo estas condiciones de reacción se observó que después de 2 horas gran parte de la materia prima no se había consumido, por lo que se decidió mantener la reacción hasta que se consumiera la materia prima. Se observó que después de 24 horas a reflujo no se consumía la materia prima en su totalidad por lo que se decidió suspenderla y proseguir con el tratamiento. Esto probablemente se deba al impedimento estérico por parte del grupo metilo C-21 vecino al carbonilo en C-22, y el carbonilo en C-22 además se ve además impedido por el anillo F.

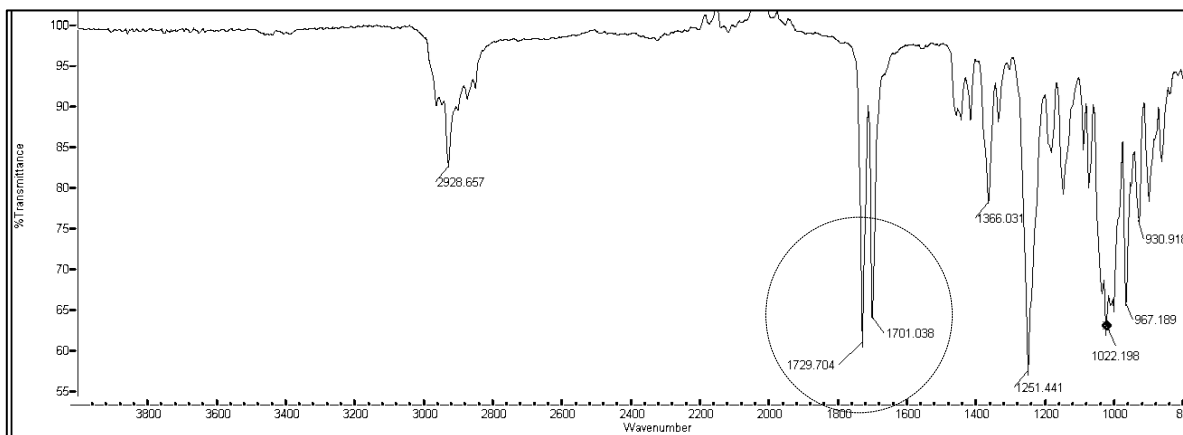
El mecanismo se propone similar al detallado para el derivado **24** en el esquema 18.

4. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO

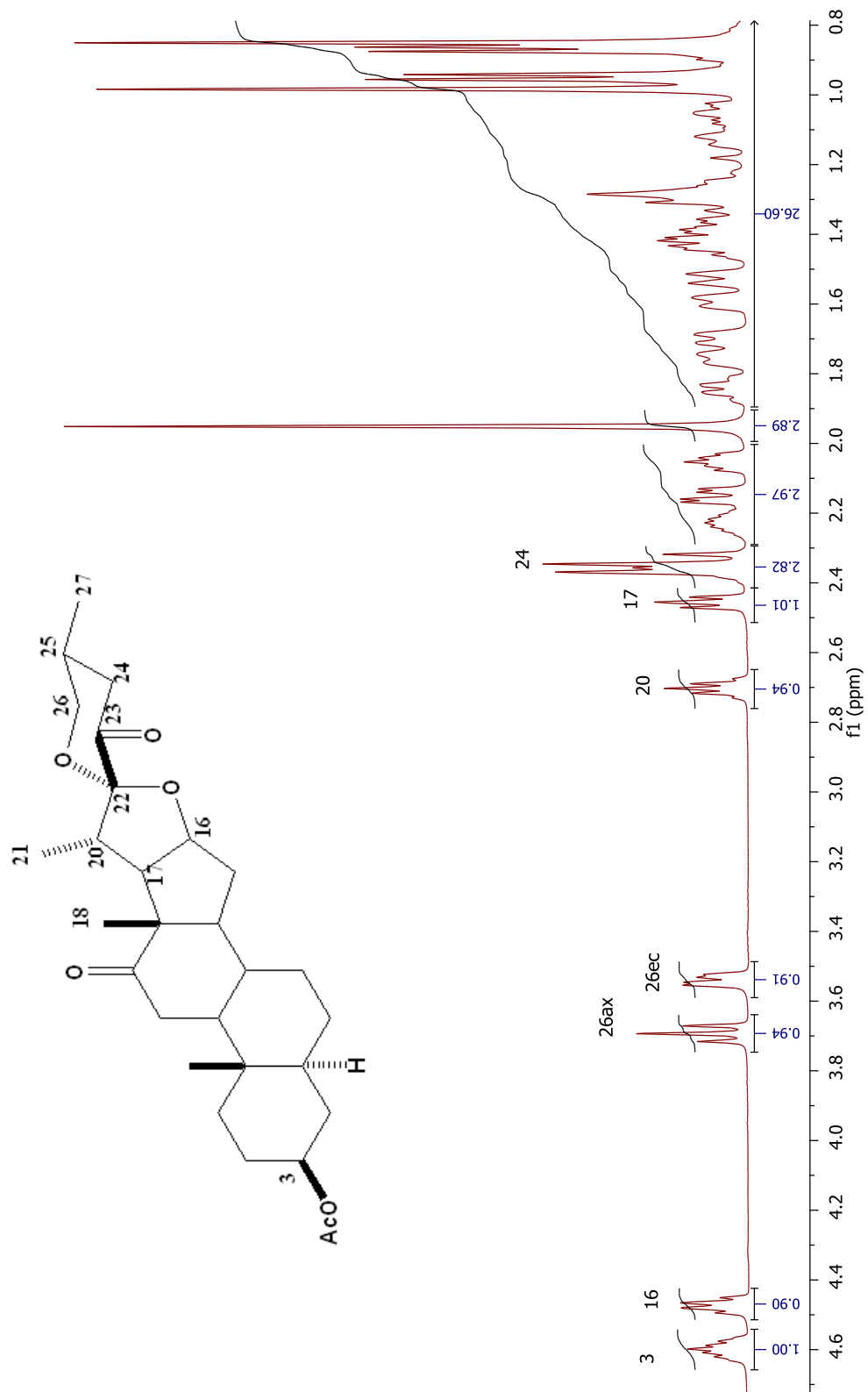
4.1 Acetato de (22*S*,25*R*)-12,23-dioxo-16,22:22,26 diepoxi-5 α -coleston-3 β -ilo (acetato de 23-oxohecogenina, 16).



A continuación se muestra el espectro de IR en el cual se observan bandas características del derivado **16**. Se distinguen dos bandas de absorción fuertes en 1701 y 1729 cm^{-1} las cuales se deben a las vibraciones de tensión (C=O) de los grupos carbonilos en C-12 y C-23 respectivamente. Así mismo, una banda en 1251 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión (C-O) presentes en la estructura, (espectro 1).



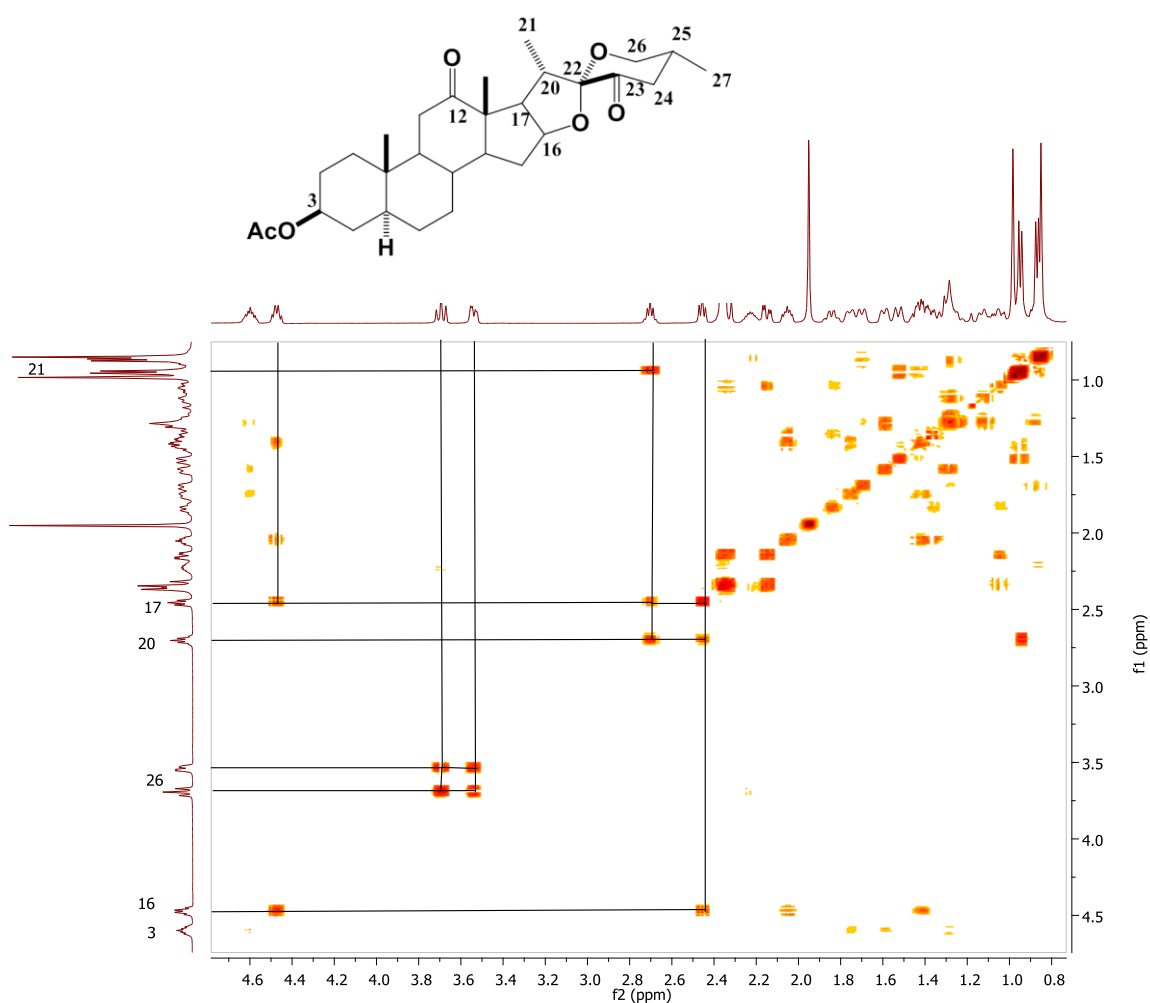
Espectro 1. Espectro IR del compuesto **16**.



Espectro 2. RMN de ¹H del compuesto 16.

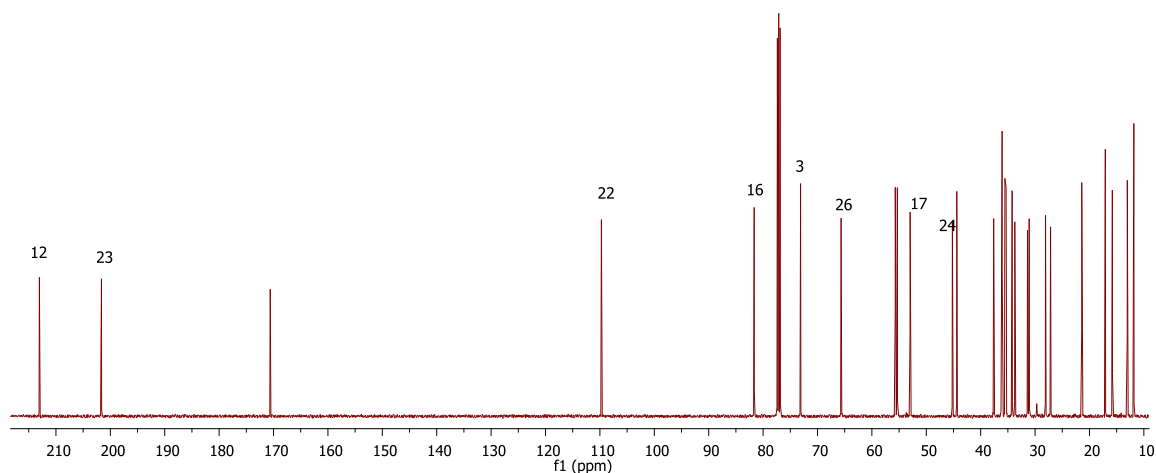
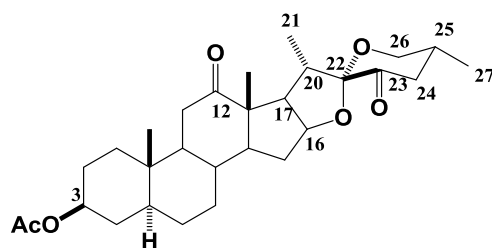
En el espectro de RMN de ^1H (espectro 2) para el derivado **16** a frecuencias altas se observan las señales características para los protones unidos a carbonos directamente enlazados a un átomo de oxígeno, como: C-3, C-16 y C-26. En 4.60 ppm se observa la señal para el protón en C-3, en 4.47 ppm una señal para el protón en C-16 y en 3.69 ppm y 3.54 ppm las señales correspondientes a los protones diasteretópicos en C-26 axial y ecuatorial respectivamente.

En el experimento COSY (espectro 3) podemos observar la relación entre protones vecinos que correlacionan a través de dos o tres enlaces.



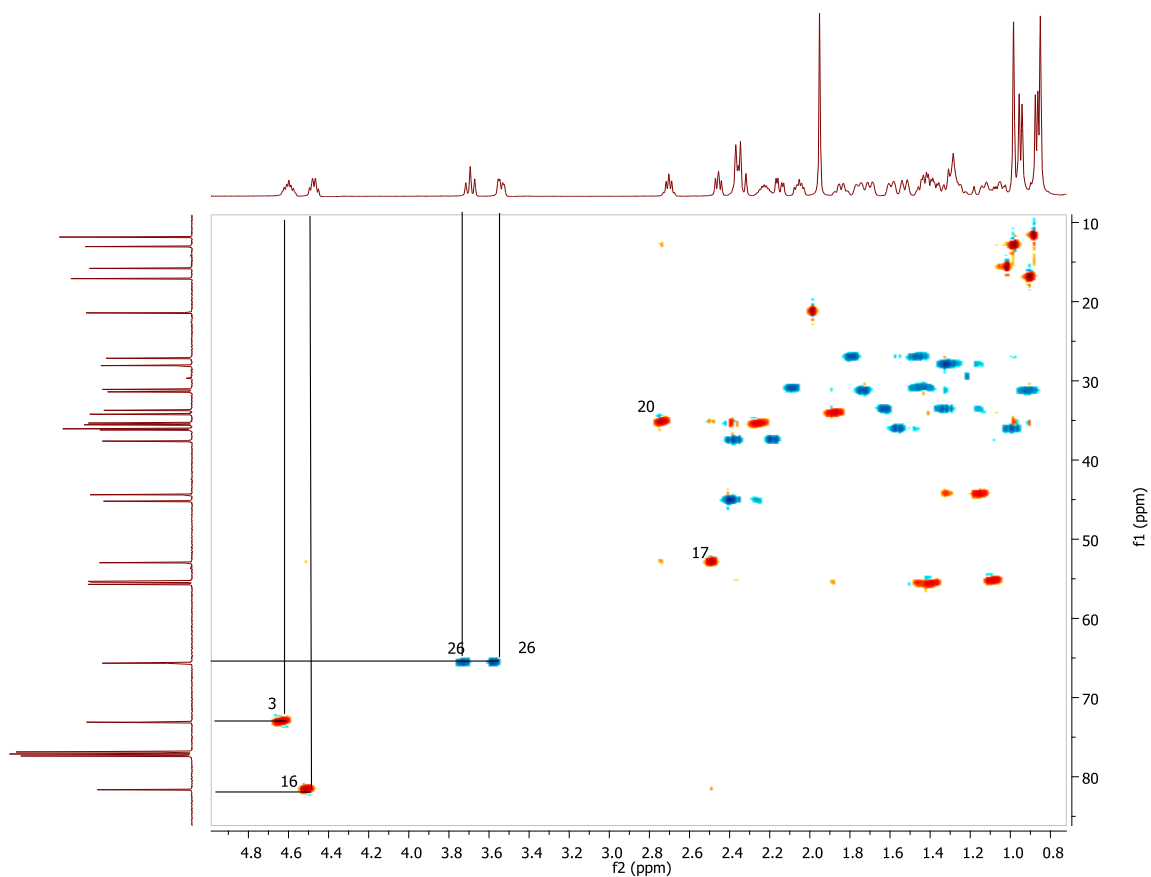
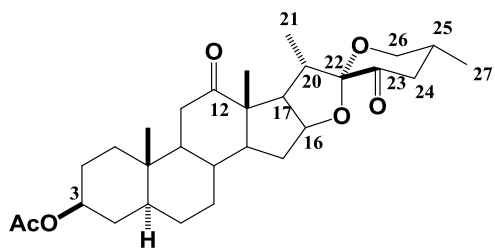
Espectro 3. Experimento COSY del compuesto **16**.

En el espectro de carbono (espectro 4) podemos visualizar las señales para la molécula **16**. A 213 ppm zona de carbonos de carbonilo se distingue la señal correspondiente para C-12, a 201.6 ppm una nueva señal correspondiente a C-23 lo cual indica la presencia del grupo funcional deseado. Así mismo, en 109.7 ppm la señal típica del carbono espiro C-22, los carbonos base oxígeno mediante enlace sigma como C-3, C-16 y C-26 presentan en 73.1, 81.6 y 65.6 ppm respectivamente.



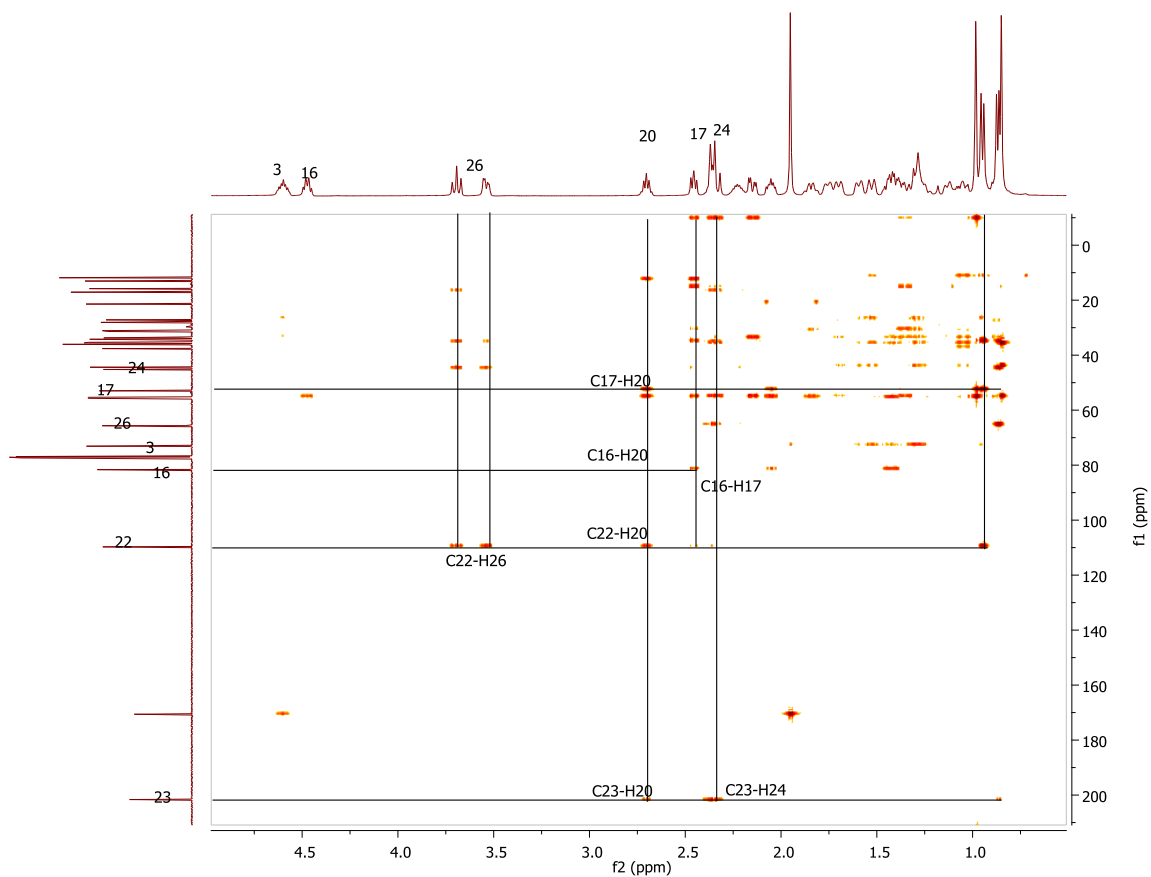
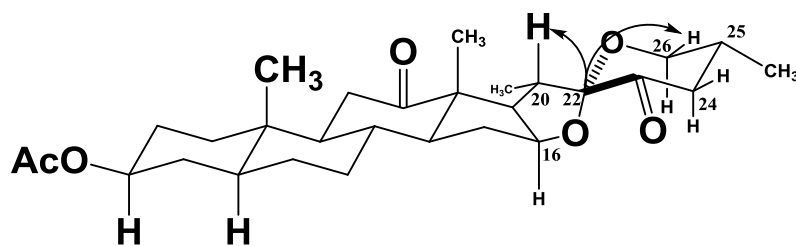
Espectro 4. RMN de ^{13}C del compuesto **16**.

En el experimento HSQC (espectro 5) podemos observar correlaciones de carbonos con sus respectivos hidrógenos, es decir C-H a un enlace, tal es el caso de C-3, C-16 con sus hidrógenos y una señal particular del carbono C-26 correlacionando con sus dos hidrógenos magnéticamente diferentes.



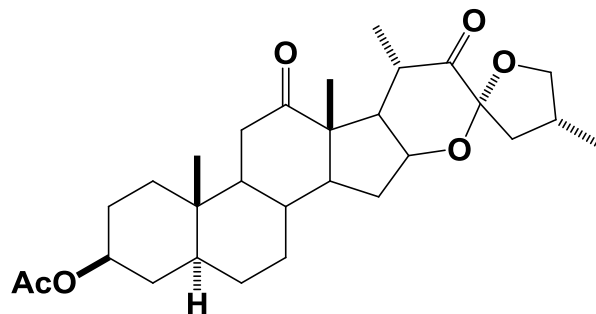
Espectro 5. Experimento HSQC del compuesto **16**.

En el experimento HMBC (espectro 6) se observan correlaciones C-H a dos y tres enlaces. Podemos destacar la relación de C-22 que es típico en los derivados espirocetálicos con hidrógenos de la posición 26 y 20.

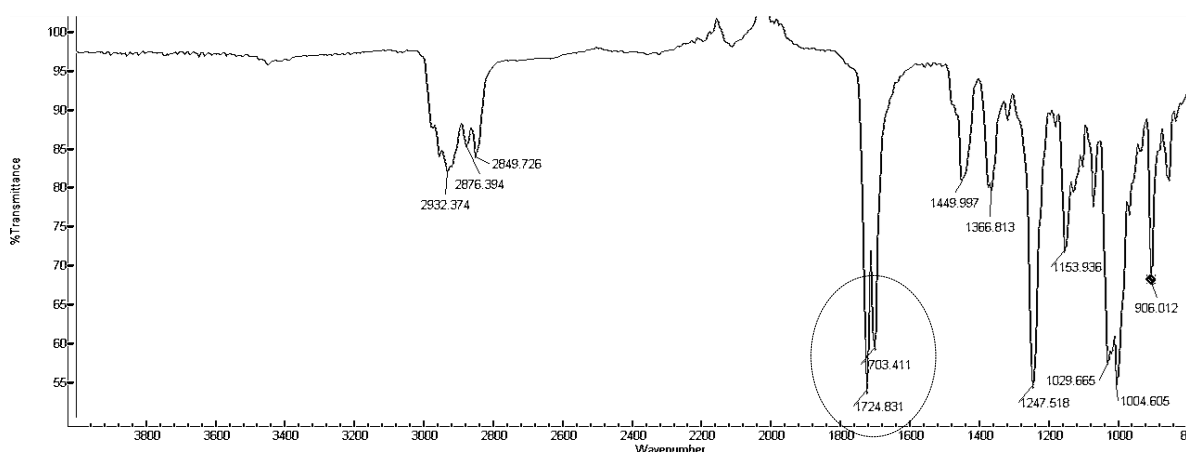


Espectro 6. Experimento HMBC del compuesto **16**.

4.2 Acetato de (23*R*,25*R*)-12,22-dioxo-16,23:23,26-diepoxi-5 α -colestan-3 β -ilo (17).

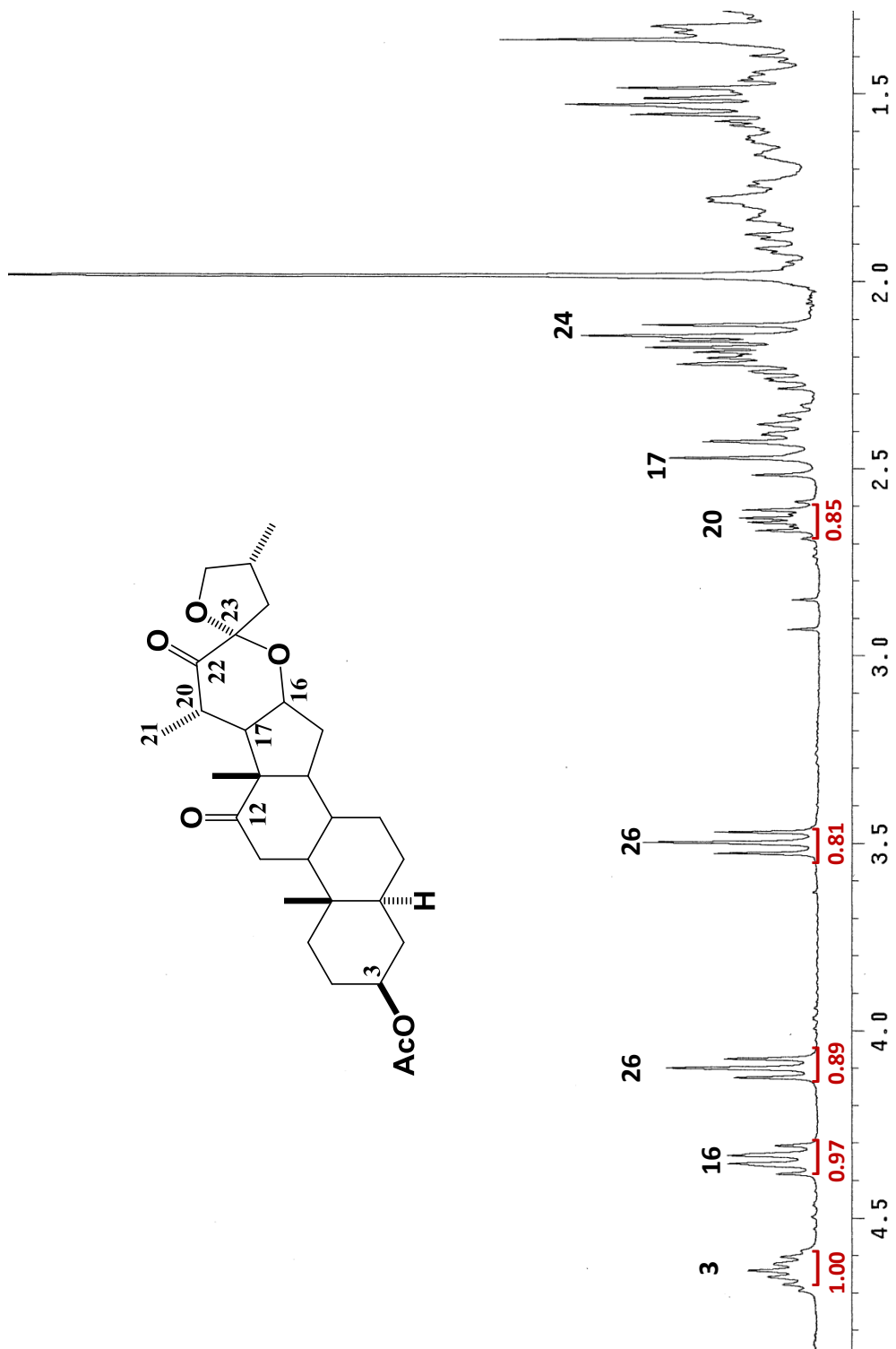


En el espectro de IR (espectro 7) se distinguen dos bandas características en 1703 y 1724 cm^{-1} las cuales se deben a las vibraciones de tensión (C=O) de los grupos carbonilos en C-12 y C-22 respectivamente. Así mismo, una banda de absorción en 1247 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión (C-O).



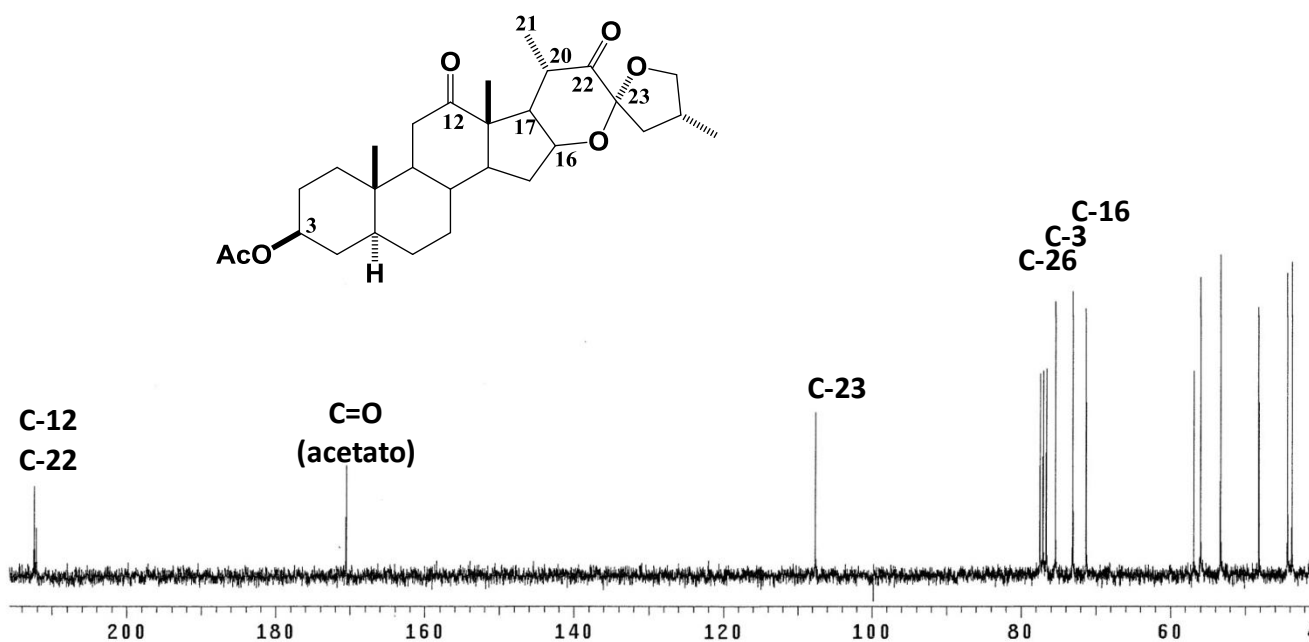
Espectro 7. Espectro IR del compuesto 17.

En el espectro de RMN de ^1H (espectro 8) a frecuencias altas de los espectros de ^1H del acetato de 23-oxohecogenina y 22-oxo-23-espirocetal (2-5 ppm) se observan más claramente las diferencias entre los dos isómeros. Para el derivado 22-oxo-23-espirocetal (17) se observa claramente el cambio en el desplazamiento y patrón de acoplamiento de los protones diasterotópicos H-26 en 4.1 y 3.5 ppm, debido a que ahora se encuentran en un anillo de 5 miembros. Otras señales que se ven afectadas por la isomerización son los protones H-16, H-24 con desplazamientos 4.35 y 2.12 ppm respectivamente.



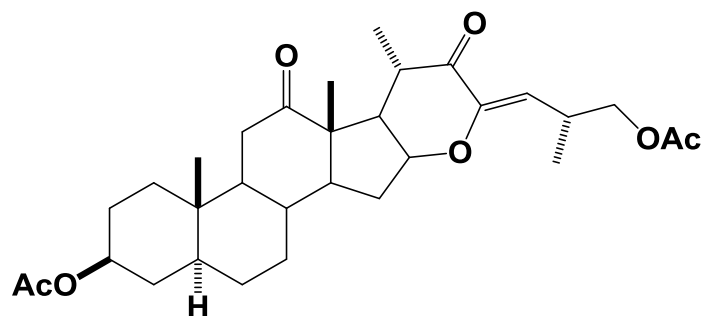
Espectro 8. RMN de ¹H del compuesto 17.

En el espectro de carbono (espectro 9) podemos visualizar 29 señales correspondientes para la molécula **17**. A 212.04 ppm zona de carbonos de carbonilo se distingue la señal correspondiente para C-12 la cual no se ve afectada por la reacción, sin embargo, a 211.78 ppm se desplaza la señal que corresponde al otro grupo carbonilo en C-22. A 107.32 ppm la señal correspondiente al carbono espirocetálico C-23. Los carbonos base oxígeno mediante enlace sigma como C-26, C-3 y C-16 se presentan en 75.09, 72.75 y 70.98 ppm respectivamente.

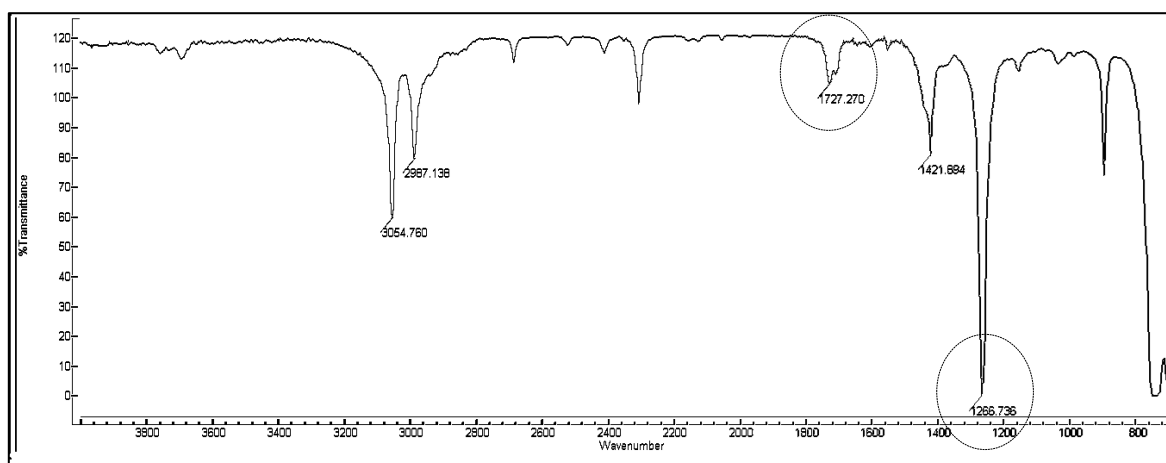


Espectro 9. RMN de ^{13}C del compuesto **17**.

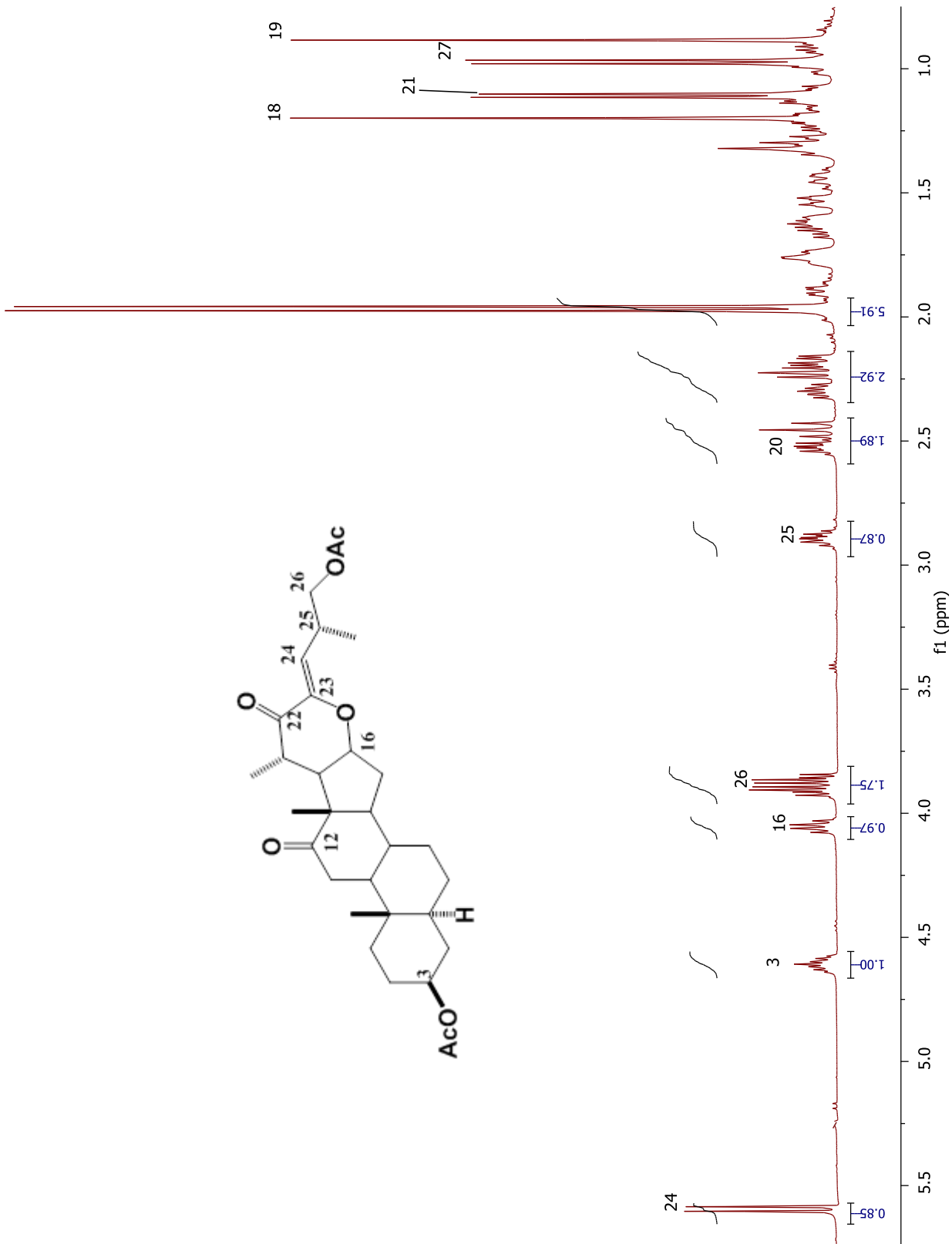
4.3 Diacetato de (23Z, 25R)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colest-23-eno-3 β ,26-diilo (18).



En el espectro de IR (espectro 10) se distingue la señal característica en 1727 cm^{-1} la cual se debe a las vibraciones de tensión (C=O) del grupo carbonilo en C-12 y C-22. Así mismo, una banda de absorción en 1266 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión (C-O).

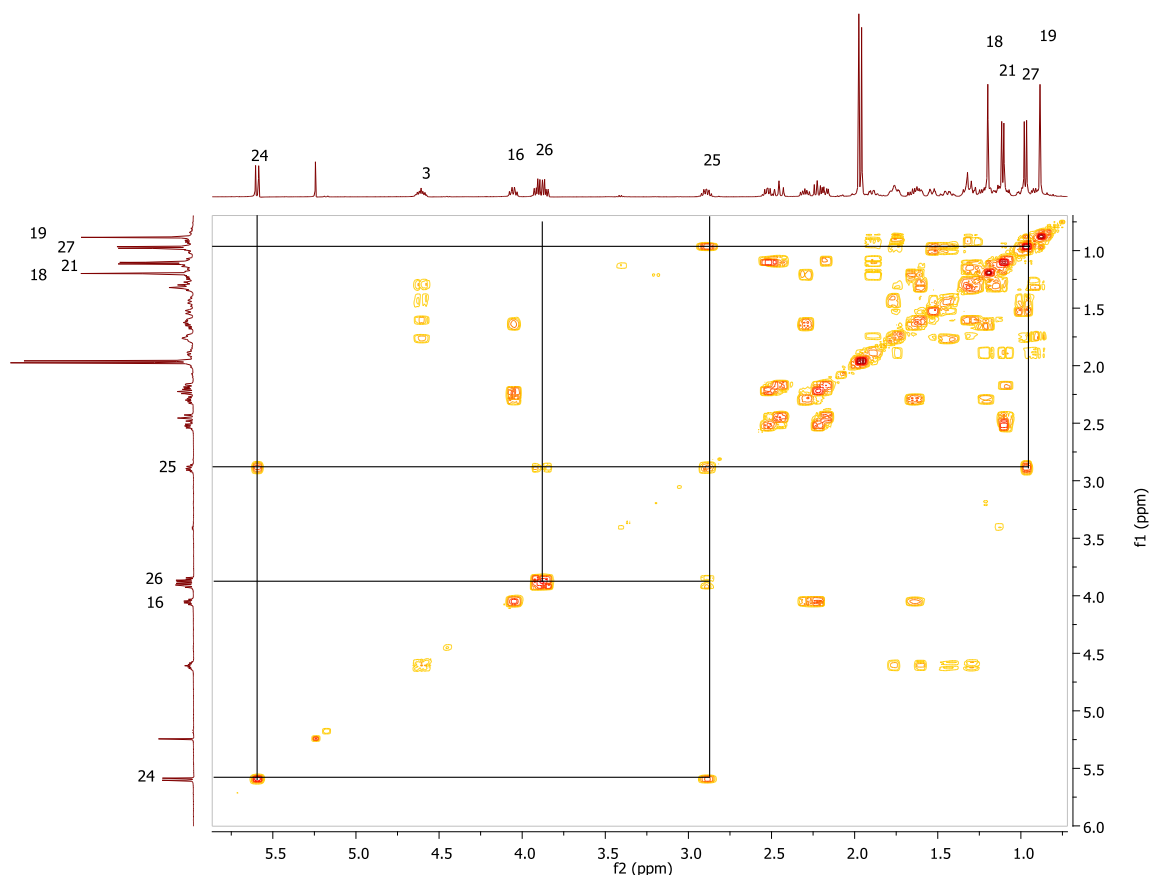
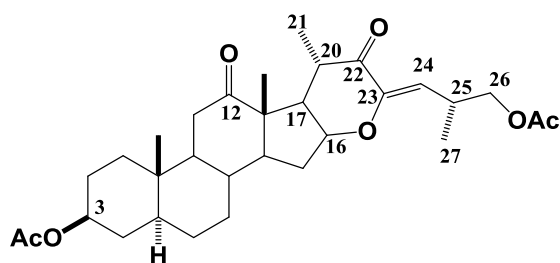


Espectro 10. Espectro IR del compuesto **18**.



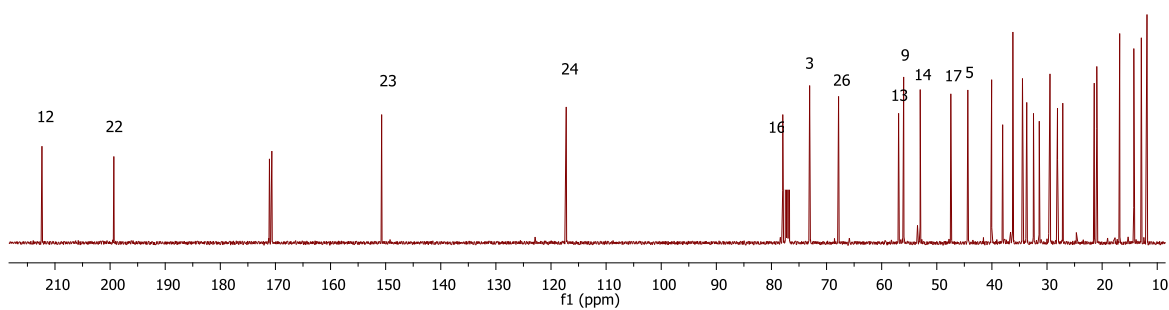
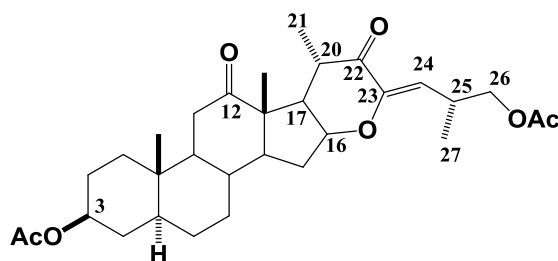
Espectro 11. RMN de ¹H del compuesto **18**.

En el espectro de RMN de ^1H (espectro 11) para el derivado **18** se observa a frecuencias altas el protón vinílico H-24 en 5.59 ppm como una señal doble, debido al acoplamiento con H-25. Con el experimento COSY se pudo establecer la vecindad de los protones en la cadena lateral a través de la correlación del protón vinílico H-24 con el protón H-25 el cual está en 2.9 ppm como una señal múltiple; también se observa la interacción del protón H-25 con los protones diasterotópicos H-26 en 3.9 ppm. Las señales dobles de los metilos 21 y 27 se diferenciaron por la correlación de los protones diasterotópicos H-26 con la señal doble del metilo 27, de la misma manera se observó la correlación del protón H-20 con los protones del metilo 21 en ppm (Espectro 12).



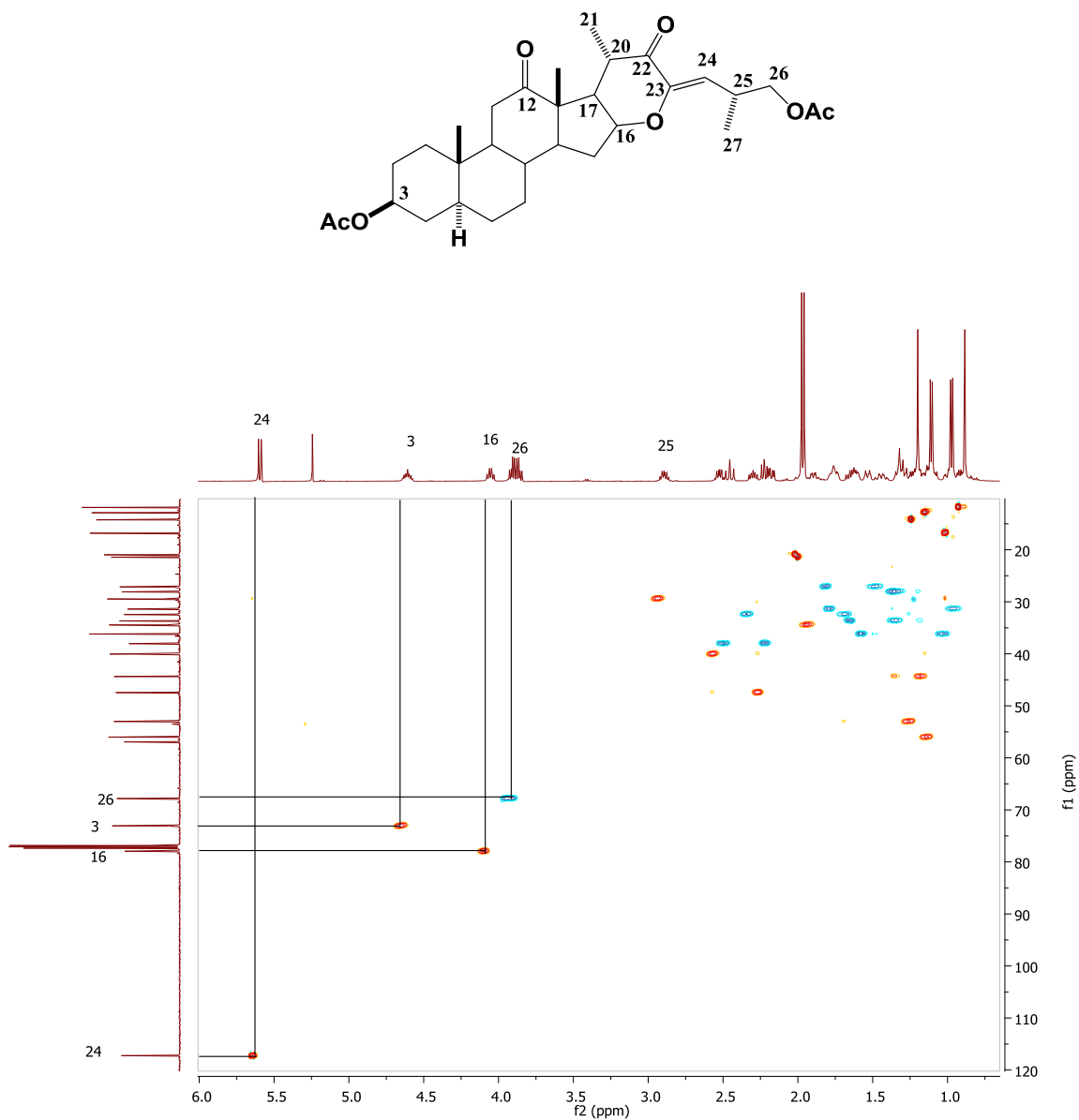
Espectro 12. Experimento COSY del compuesto **18**.

En el espectro de RMN de ^{13}C (espectro 13) se observan 31 señales para carbono, mismo número de carbonos presentes en el derivado 22-oxo- Δ^{23} (**18**), se distinguen las señales de los carbonos vinílicos C-23 y C-24 en 150.7 y 117.2 ppm respectivamente. Además, se observa un cambio en el desplazamiento de C-22 a 199.3 ppm que pasa de ser un carbono de cetona a una cetona α,β -insaturada.



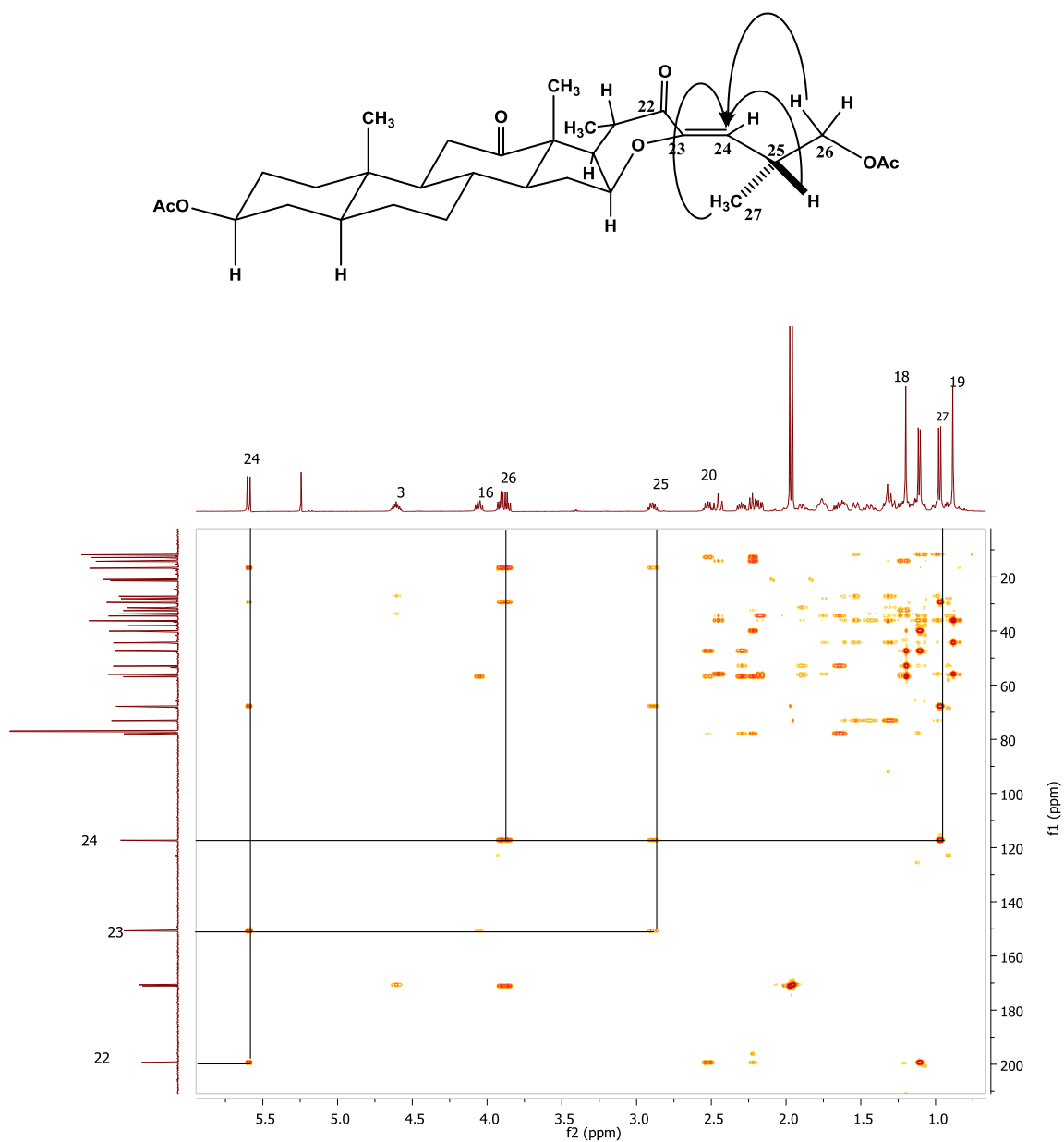
Espectro 13. RMN de ^{13}C del compuesto **18**.

En el experimento HSQC (espectro 14) se observa la señal asignada para C-24 que acopla directamente al protón vinílico en 5.6 ppm confirmando la asignación propuesta. Así mismo, se observa el acoplamiento de C-26 con sus correspondientes protones en 3.9 ppm.



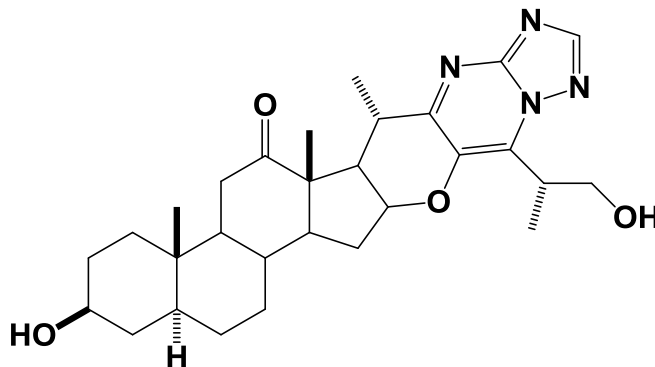
Espectro 14. Experimento HSQC del compuesto **18**.

En el experimento HMBC (espectro 15) se distinguen las correlaciones de C-24 a dos enlaces con el protón H-25 y a tres enlaces con los protones H-26 y H-27. De la misma forma se observan correlaciones importantes de C-22 a tres enlaces con el protón H-24.



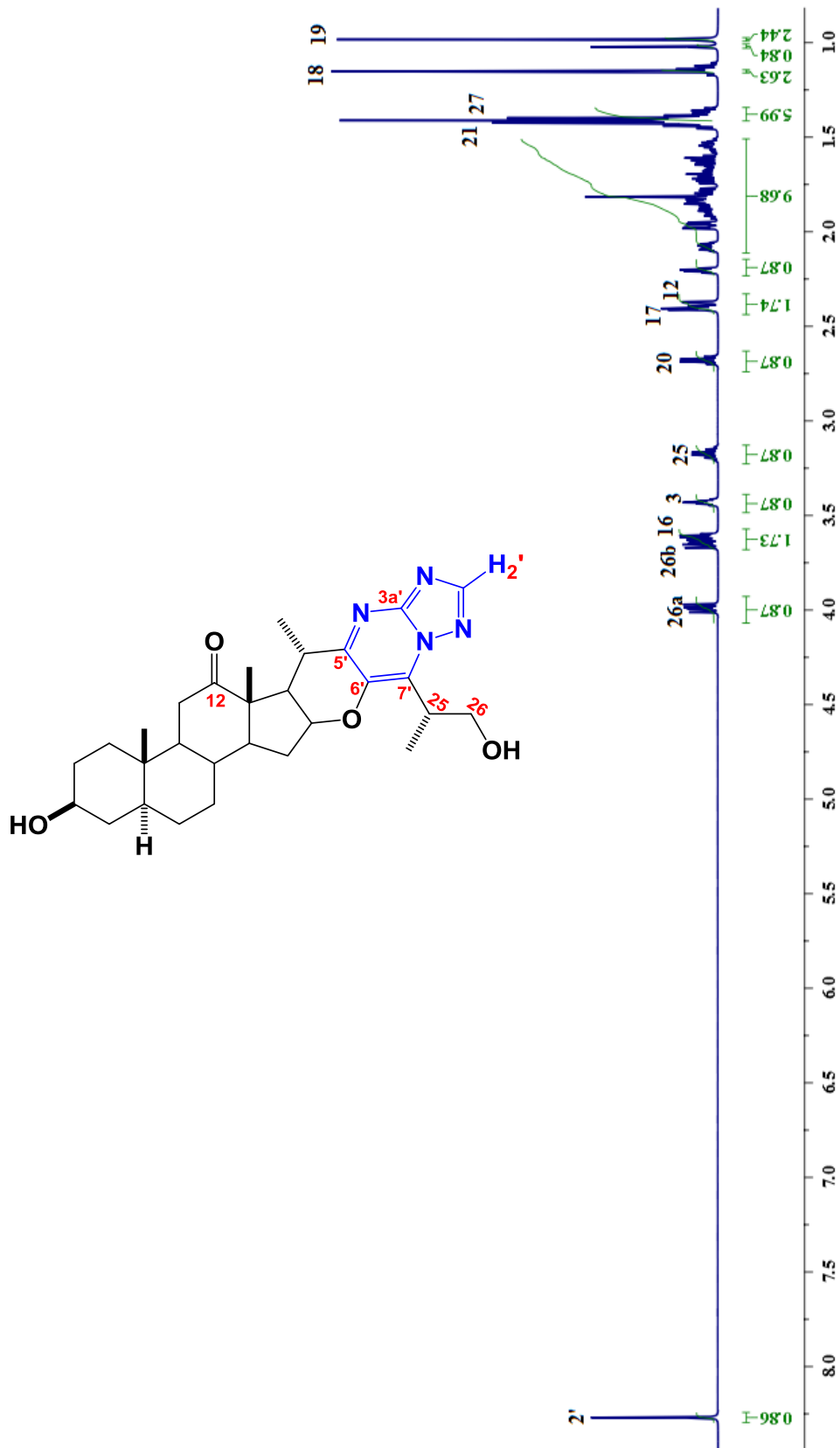
Espectro 15. Experimento HMBC del compuesto **18**.

**4.4 (25*R*)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano [23,22-
d][1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidina (19).**

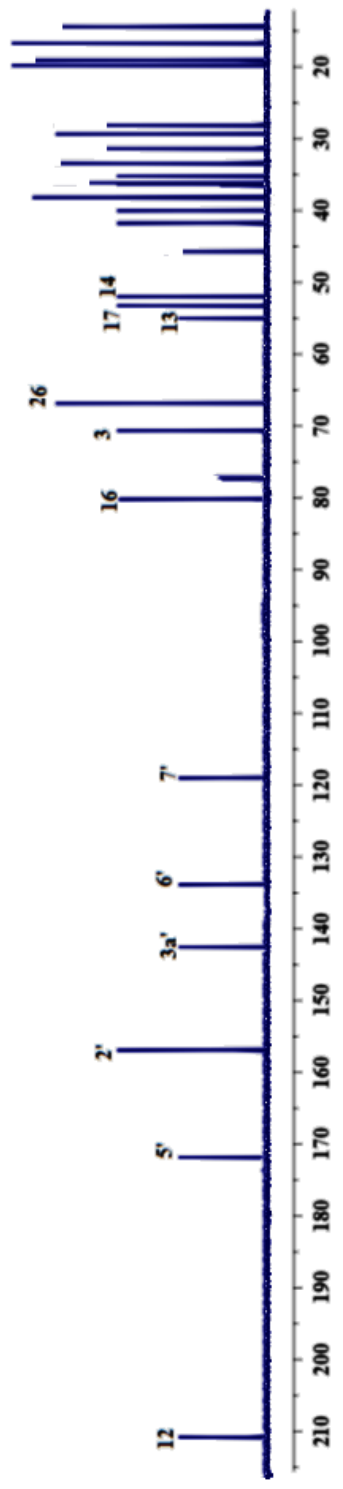
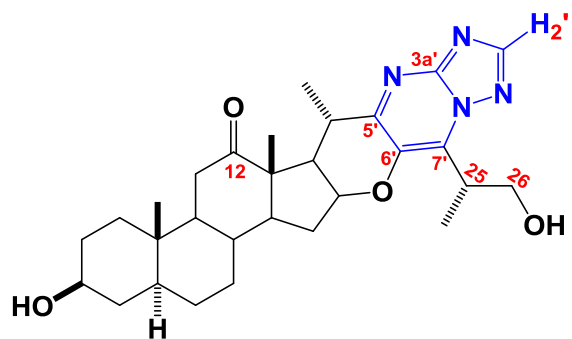


En el espectro de RMN de ^1H (espectro 16) se puede observar a frecuencias altas, en 8.25 ppm una señal simple correspondiente al protón aromático H-2' del anillo de triazol. Una señal múltiple del H-3 hacia 3.8 ppm, Las señales características para los protones unidos a carbonos directamente enlazados a un átomo de oxígeno, como C-3 y C-16. En 3.8 ppm se observa una señal múltiple para el protón en C-3 y en 3.2 ppm una señal para el protón en C-16. Así como los protones diasterotópicos de C-26 en 3.3 ppm y 4.0 ppm.

En el espectro de RMN de ^{13}C (espectro 17) se puede destacar la señal desplazada a frecuencias altas asignada al carbono del carbonilo C-12 en 201 ppm. También se observa la señal del C-2' del anillo de triazol a 157 ppm y los carbonos C-5', C-6' y C7' del heterociclo de triazolopirimidina hacia 172, 134 y 119 ppm respectivamente.

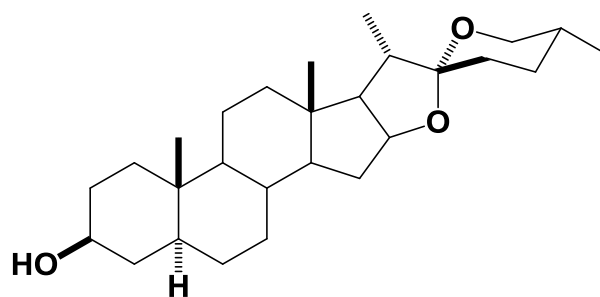


Espectro 16. RMN de ¹H del compuesto **19**.



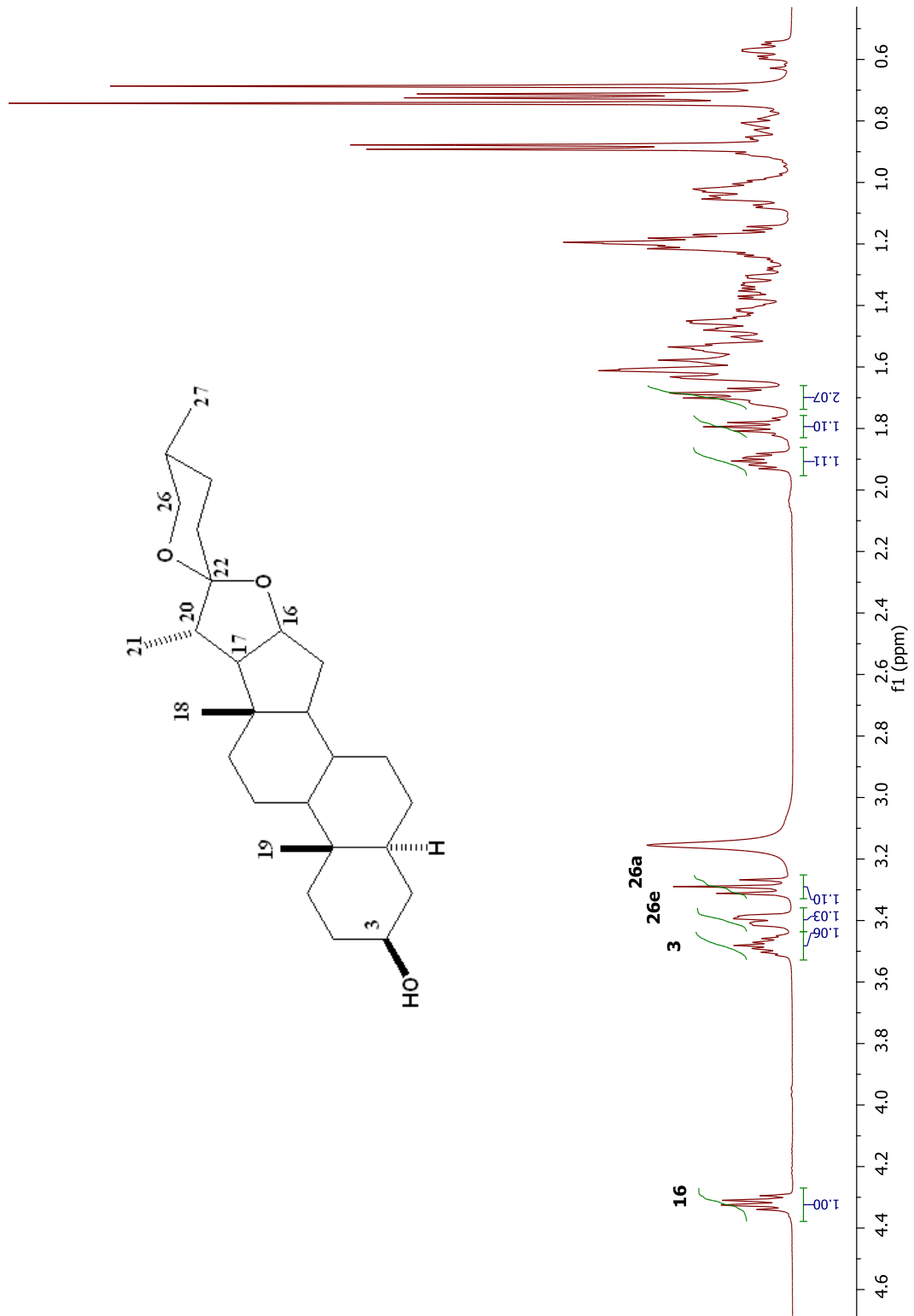
Espectro 17. RMN de ¹³C del compuesto **19**.

4.5 Tigogenina.

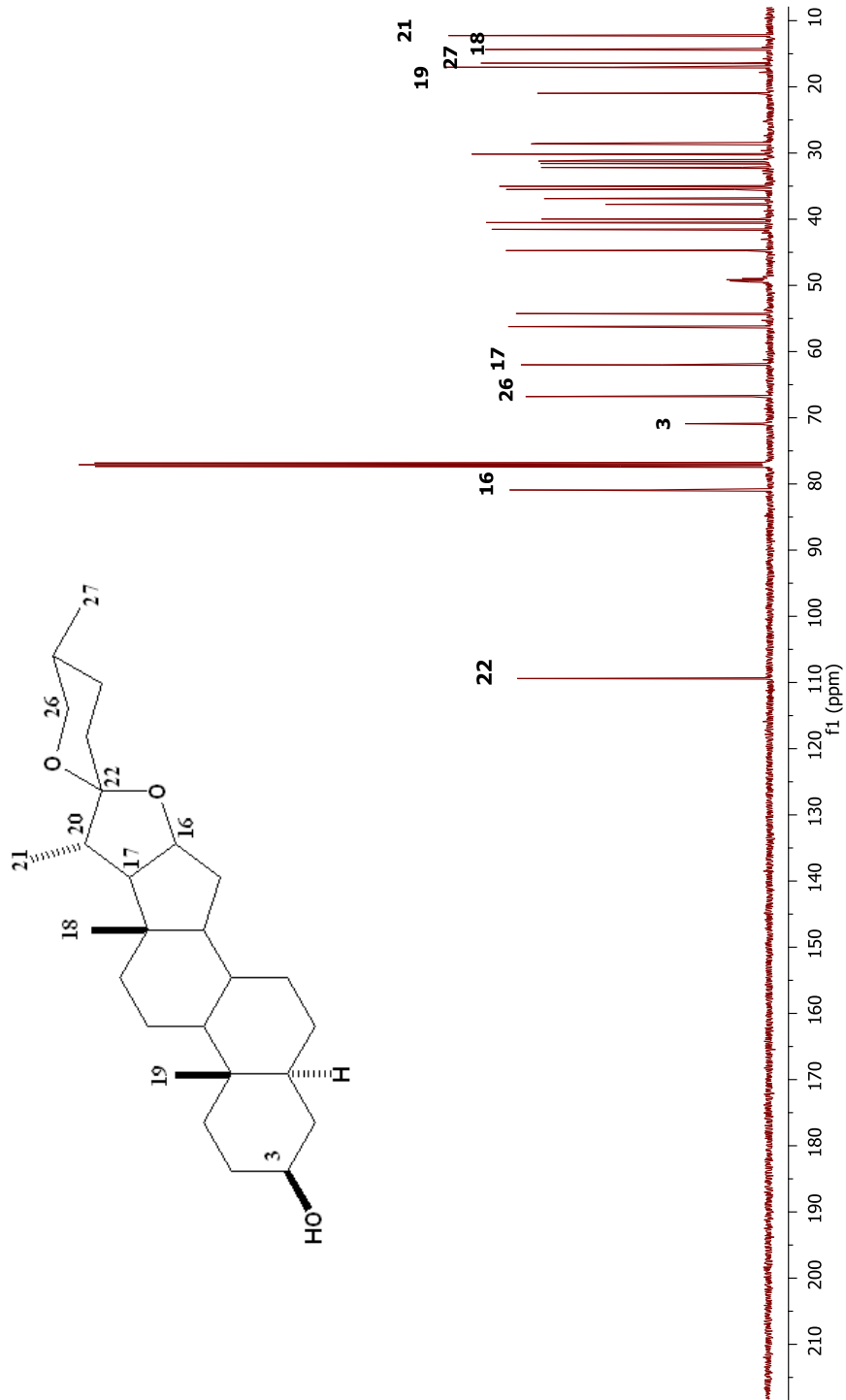


En el espectro de RMN de ^1H (espectro 18) para el derivado **20** a frecuencias altas se observan las señales características para los protones unidos a carbonos directamente enlazados a un átomo de oxígeno, como: C-3, C-16 y C-26. En 4.53 ppm se observa la señal para el protón en C-3, en 3.72 ppm una señal para uno de los protones en C-26 y en 3.51 ppm una señal que integra para dos protones correspondiente a un protón en C-26 y el protón en C-16.

En el espectro de carbono (espectro 19) se observan 27 señales para carbono, mismo número de carbonos presentes en la tigogenina (**20**). Se observa que la señal en 201.9 ppm para el acetato de hecogenina debida al grupo carbonilo en C-12 se ha desplazado a frecuencias más bajas ahora como un grupo metileno. Así mismo, la desaparición de los carbonos del grupo acetato unido a C-3. En 109.4 ppm la señal típica del carbono espiro C-22, los carbonos base oxígeno mediante enlace sigma como C-16, C-3 y C-26 se presentan en 80.9, 70.9 y 66.8 ppm respectivamente.

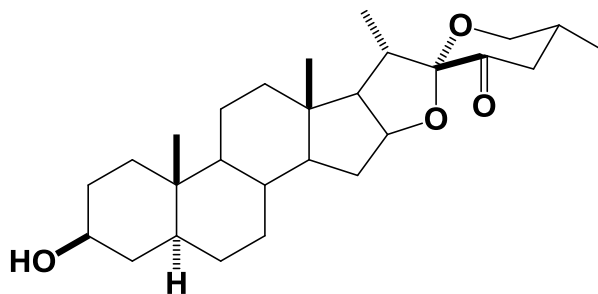


Espectro 18. RMN de ¹H de la tigogenina **20**.

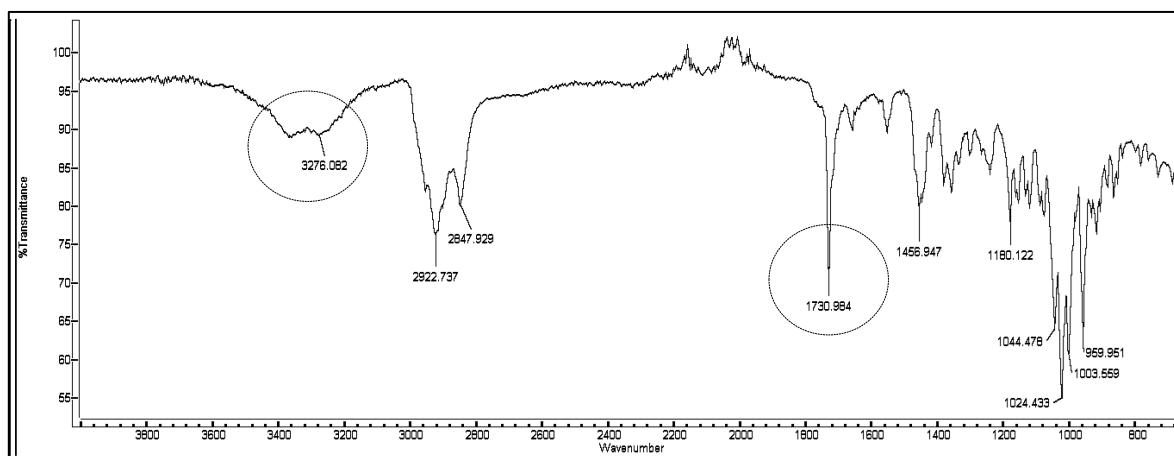


Espectro 19. RMN de ^{13}C del compuesto 20.

4.6 23-oxotigogenina (21).

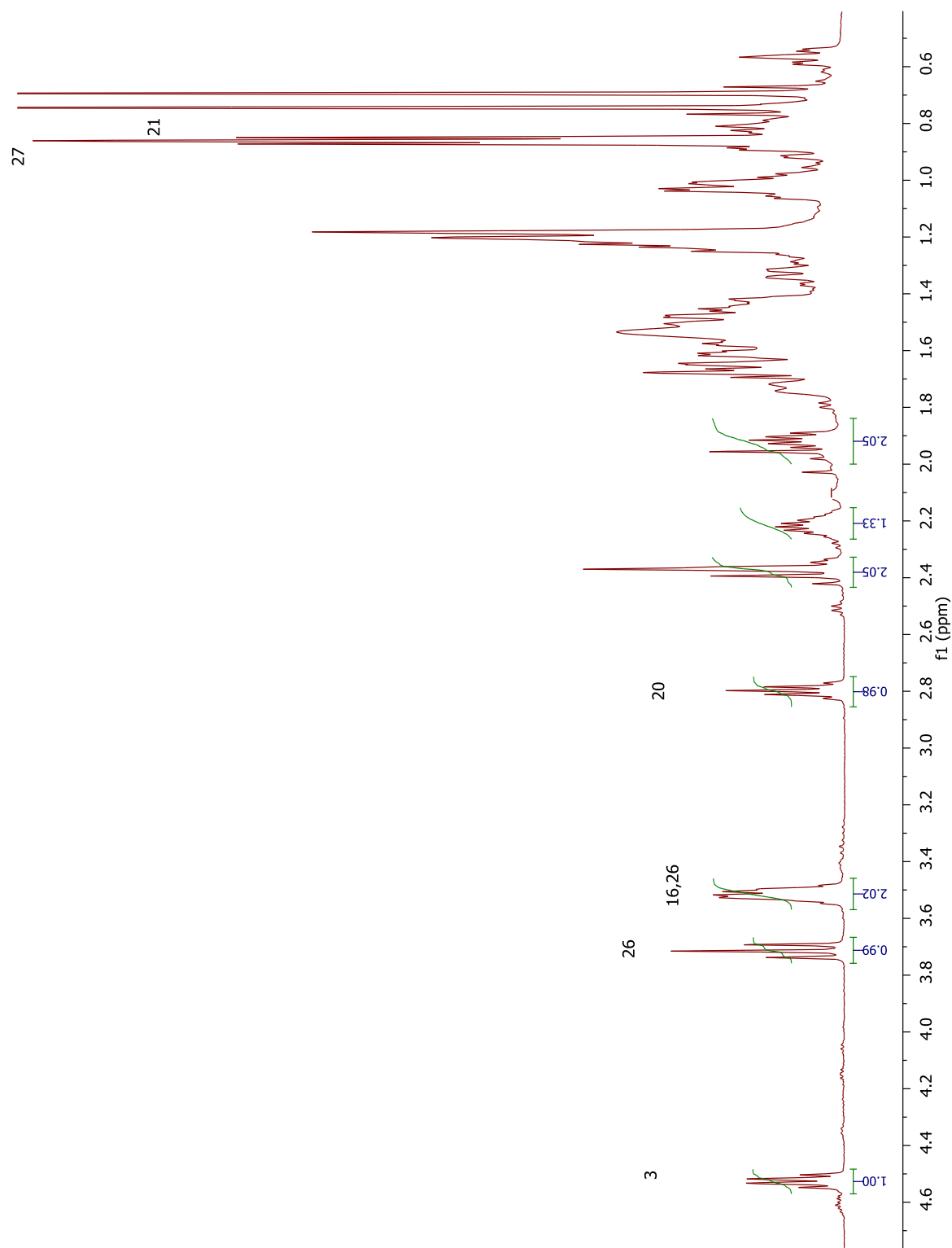


En el espectro de IR (espectro 20) se distinguen la banda de intensidad media en 3276 cm^{-1} debida a la vibración del enlace O-H y la señal intensa característica del grupo carbonilo en 1730 cm^{-1} como una vibración de tensión (C=O).



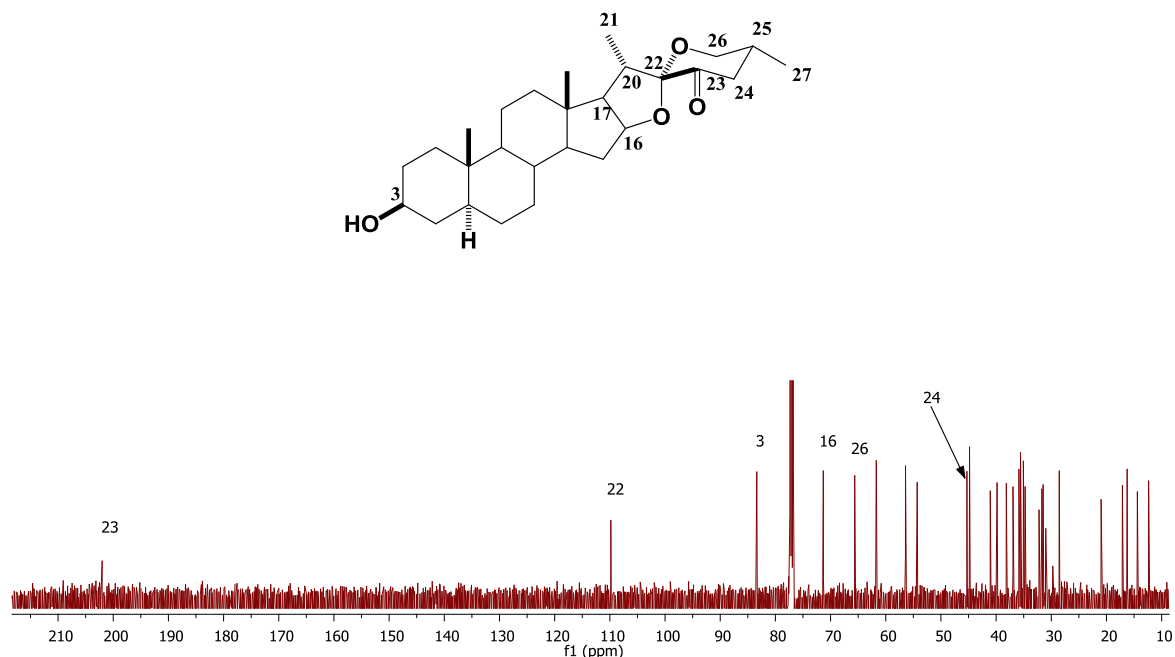
Espectro 20. Espectro IR del compuesto **21**.

En el espectro de RMN de ^1H (espectro 21) para el derivado **21** a frecuencias altas se observan las señales características para los protones unidos a carbonos directamente enlazados a un átomo de oxígeno, como: C-3, C-16 y C-26. En 4.53 ppm se observa la señal para el protón en C-3, en 3.72 ppm una señal para uno de los protones en C-26 y en 3.51 ppm una señal que integra para dos protones correspondiente a un protón en C-26 y el protón en C-16.



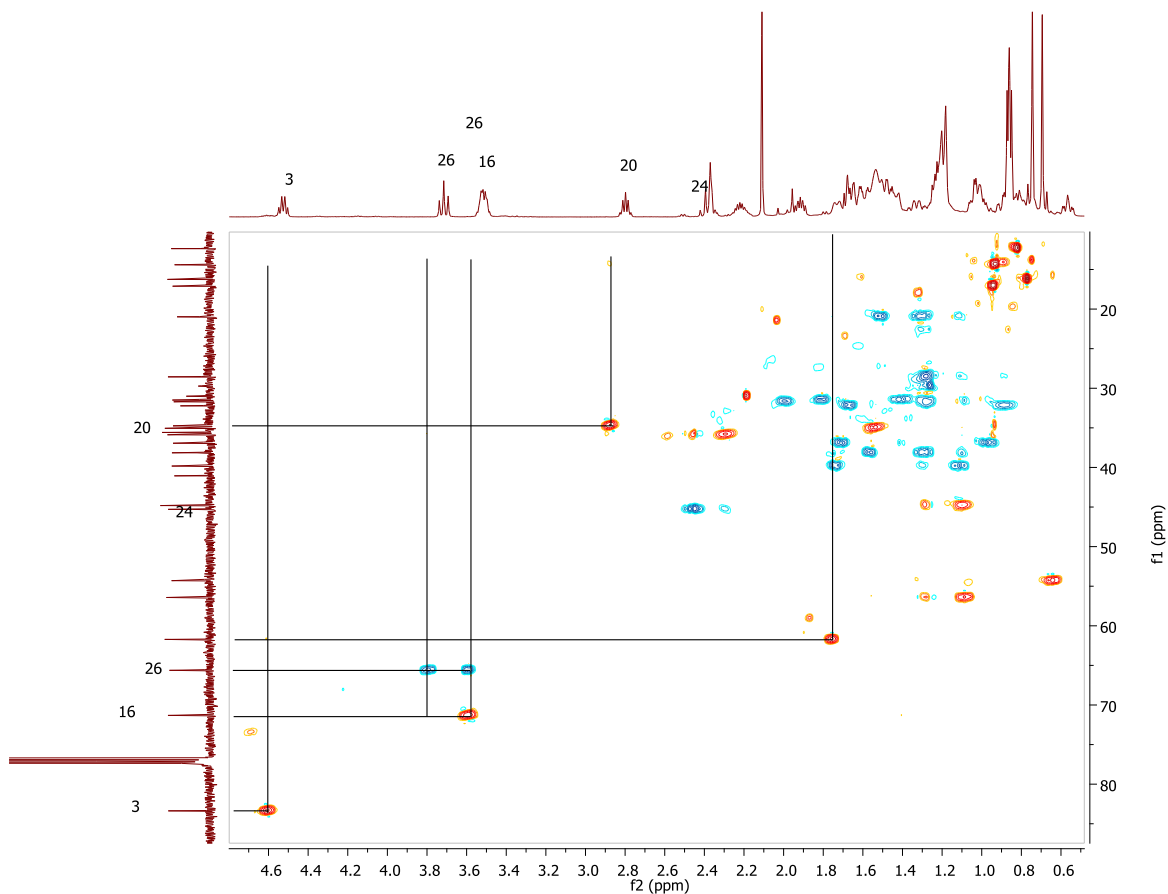
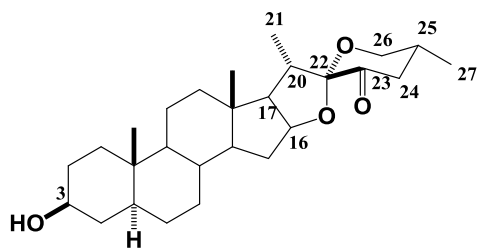
Espectro 21. RMN de ^1H del compuesto **21**.

En el espectro de carbono (espectro 22) se observan 27 señales para carbono, mismo número de carbonos presentes en el derivado 23-oxotigogenina (21). Se observa a 201.9 ppm la señal correspondiente a C-23 lo cual indica la presencia del grupo funcional deseado. Así mismo, en 109.8 ppm la señal típica del carbono espiro C-22, los carbonos base oxígeno mediante enlace sigma como C-3, C-16 y C-26 se presentan en 83.4, 71.3 y 65.6 ppm respectivamente.



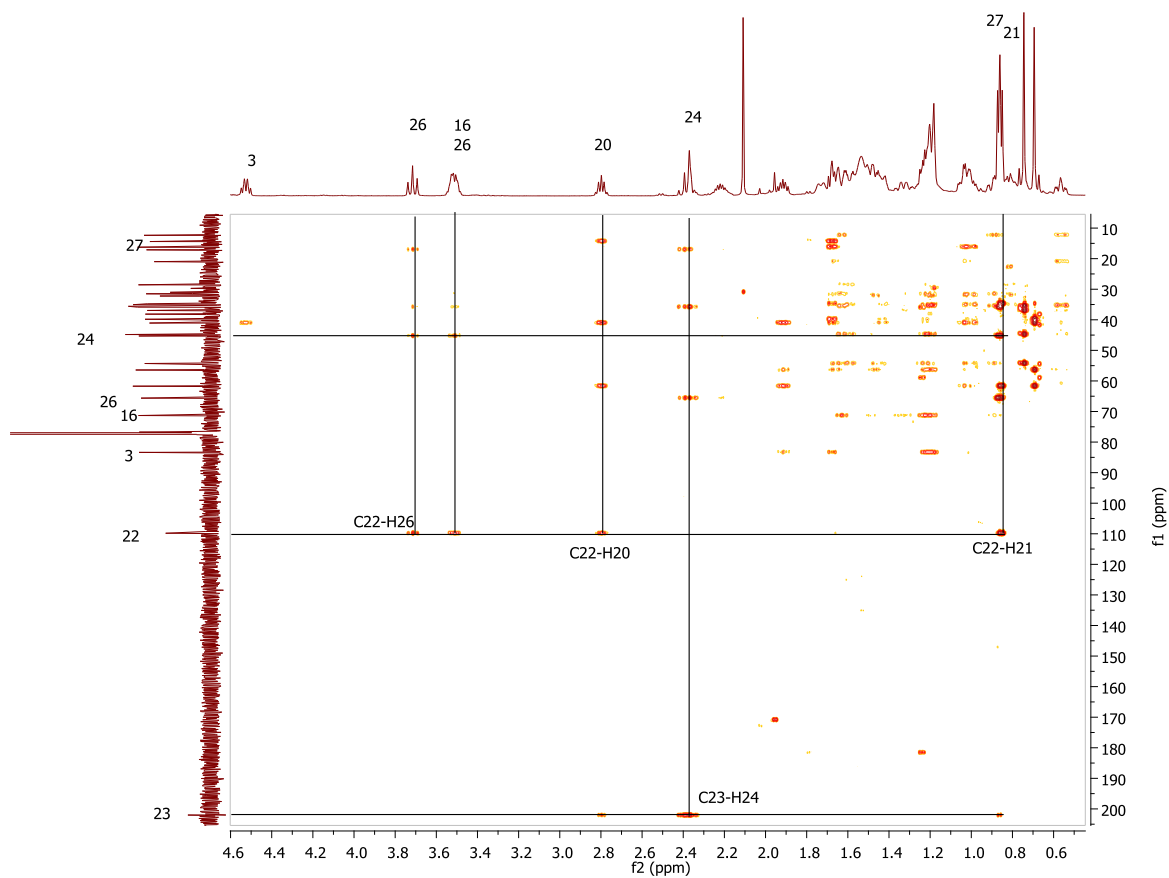
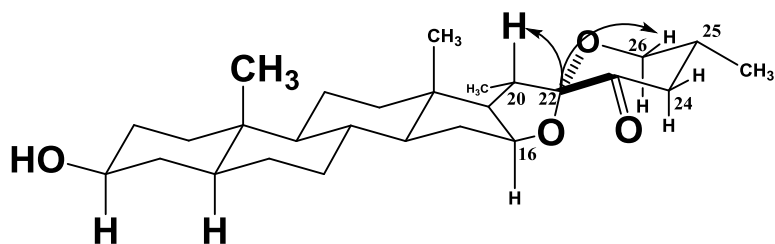
Espectro 22. RMN de ¹³C del compuesto 21.

En el experimento HSQC podemos observar correlaciones de carbonos con sus respectivos hidrógenos, es decir C-H a un enlace, tal es el caso de C-3, C-16 con sus hidrógenos y una señal particular del carbono C-26 correlacionando con sus dos hidrógenos magnéticamente diferentes por lo cual, se observan a desplazamientos distintos como se puede observar en el espectro, donde el carbono C-26 correlaciona con dos señales distintas para protón (espectro 23).



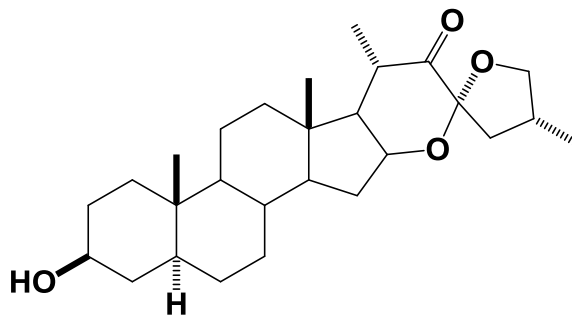
Espectro 23. Experimento HSQC del compuesto **21**.

En el experimento HMBC se observan correlaciones C-H a dos y tres enlaces. Podemos destacar la relación de C-22 que es típico en los derivados espirocetálicos con hidrógenos de la posición 26 y 20 (espectro 24).

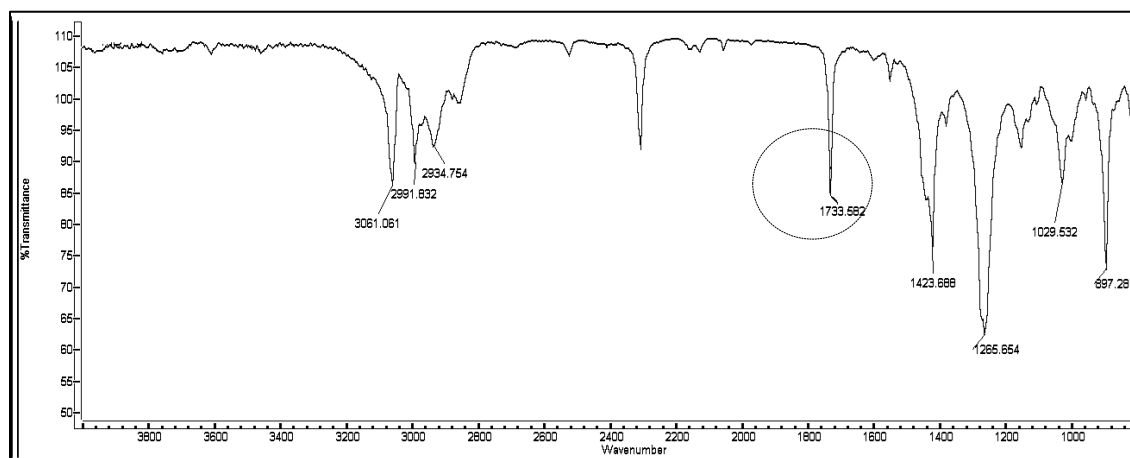


Espectro 24. Experimento HMBC del compuesto 21.

4.7 (23*R*,25*R*)-16 β ,23:23,26-diepoxicolest-22-ona, (**22**).

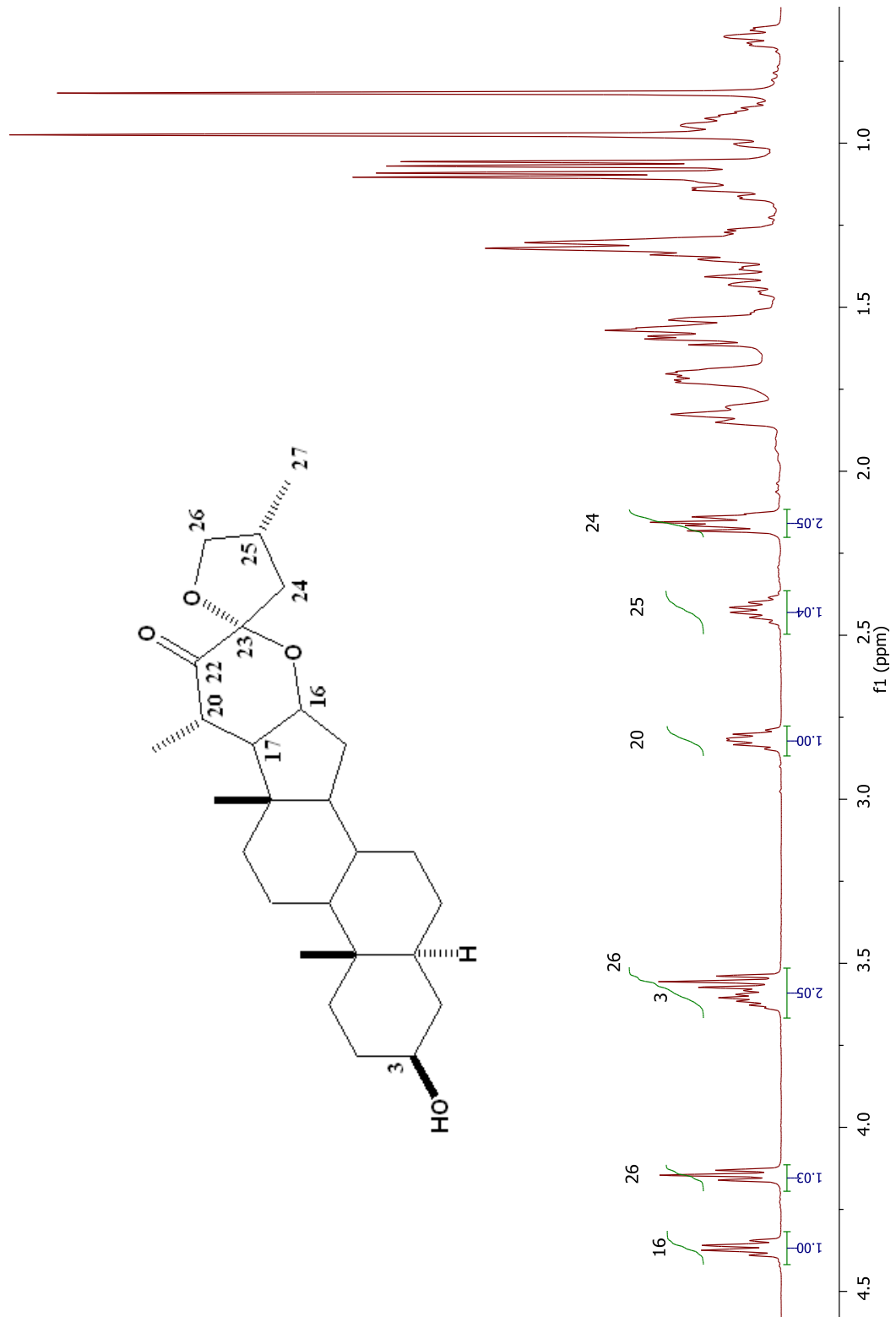


En el espectro de IR se distingue una banda característica en 1733 cm^{-1} la cual se debe a la vibración de tensión (C=O) del grupo carbonilo en C-22. Así mismo, una banda de absorción en 1265 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión (C-O) de los éteres presentes (espectro 25).



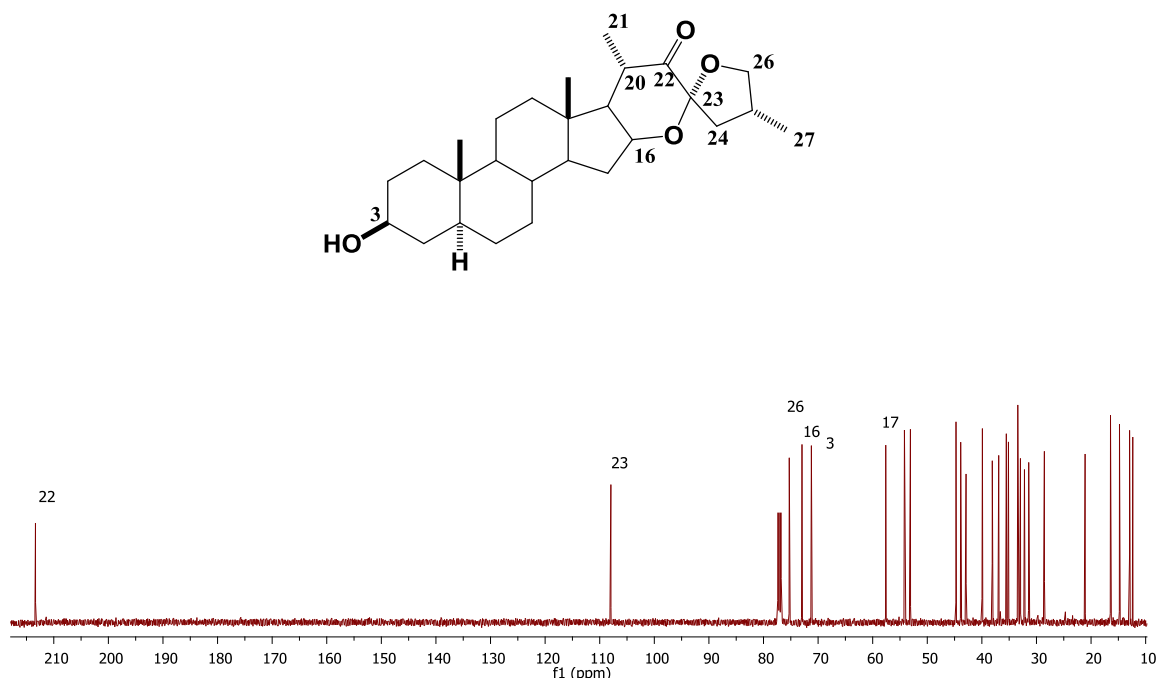
Espectro 25. Espectro IR del compuesto **22**.

En el espectro de RMN de ^1H para el derivado **22** (espectro 26) a frecuencias altas se observan las señales características para los protones unidos a carbonos directamente enlazados a un átomo de oxígeno, como: C-3, C-16 y C-26. En 4.37 ppm se observa la señal para el protón en C-16, en 4.15 ppm una señal para uno de los protones en C-26, en 3.61 ppm la señal para el protón en C-3 y en 3.56 ppm una señal correspondiente a otro de los protones en C-26.



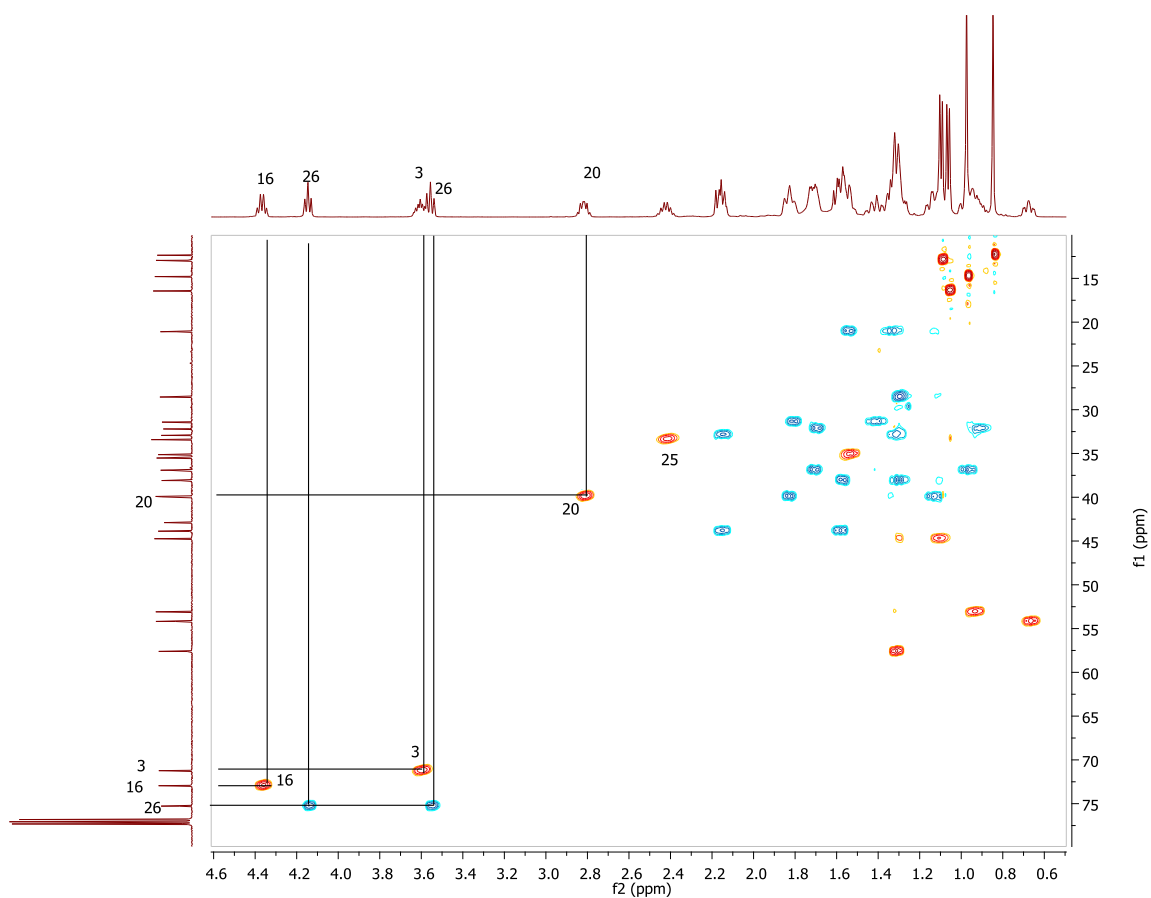
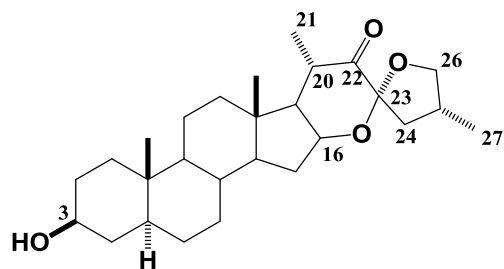
Espectro 26. RMN de ¹H del compuesto **22**.

En el espectro de carbono (espectro 27) se observan 27 señales para carbono, mismo número de carbonos presentes en el derivado 22-oxotigogenina (**22**). Se observa a 213.4 ppm la señal correspondiente a C-23 indicativo de la presencia del grupo carbonilo desplazada a frecuencias más altas respecto al derivado 23-oxotigogenina con un desplazamiento de 201.9 para C-23. Así mismo, un cambio en la señal típica del carbono espiro C-22 la cual ahora aparece en 107.9 ppm lo cual indica el producto deseado, los carbonos base oxígeno mediante enlace sigma como C-3, C-16 y C-26 se presentan en 71.2, 72.9 y 75.3 ppm respectivamente.



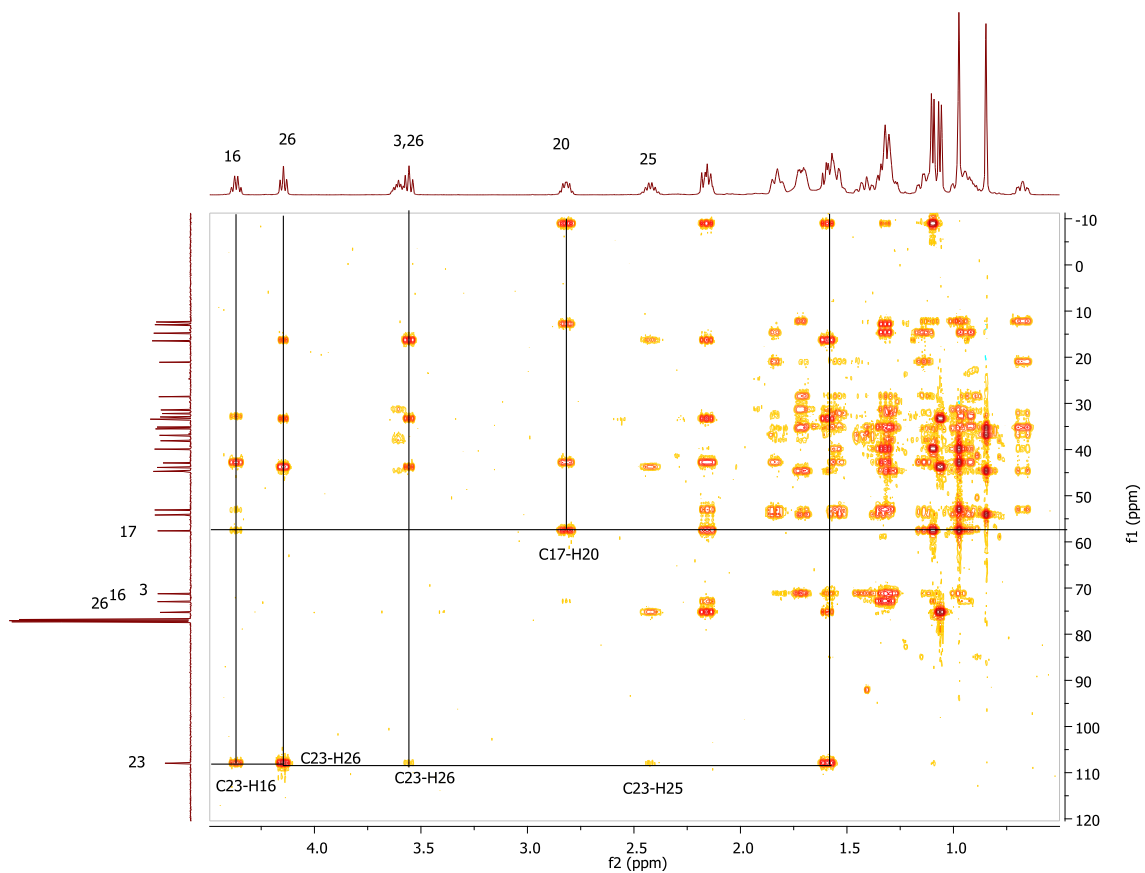
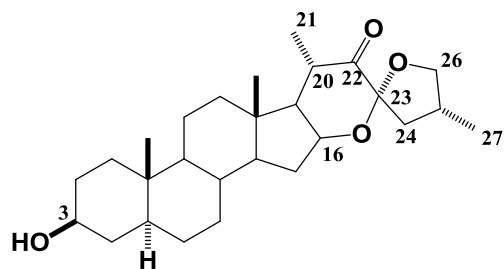
Espectro 27. RMN de ¹³C del compuesto **22**.

En el experimento HSQC (espectro 28) podemos observar correlaciones de carbonos con sus respectivos hidrógenos, es decir C-H a un enlace, tal es el caso de C-3, C-16 con sus hidrógenos y una señal particular del carbono C-26 correlacionando con sus dos hidrógenos magnéticamente diferentes por lo cual, se observan a desplazamientos distintos como se puede observar en el espectro, donde el carbono C-26 correlaciona con dos señales distintas para protón.



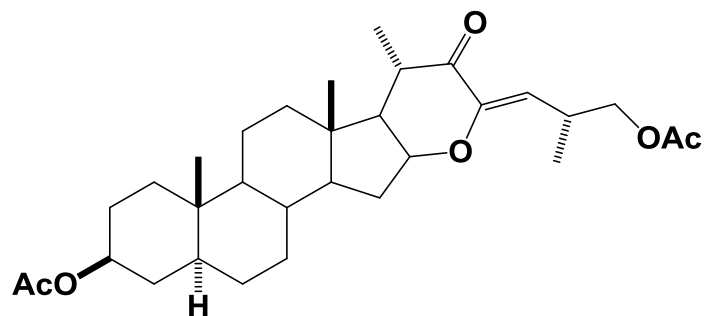
Espectro 28. Experimento HSQC del compuesto **22**.

En el experimento HMBC (espectro 29) se observan correlaciones C-H a dos y tres enlaces. Podemos destacar la relación de C-22 que es típico en los derivados espirocetálicos con hidrógenos de la posición 26 y 20.

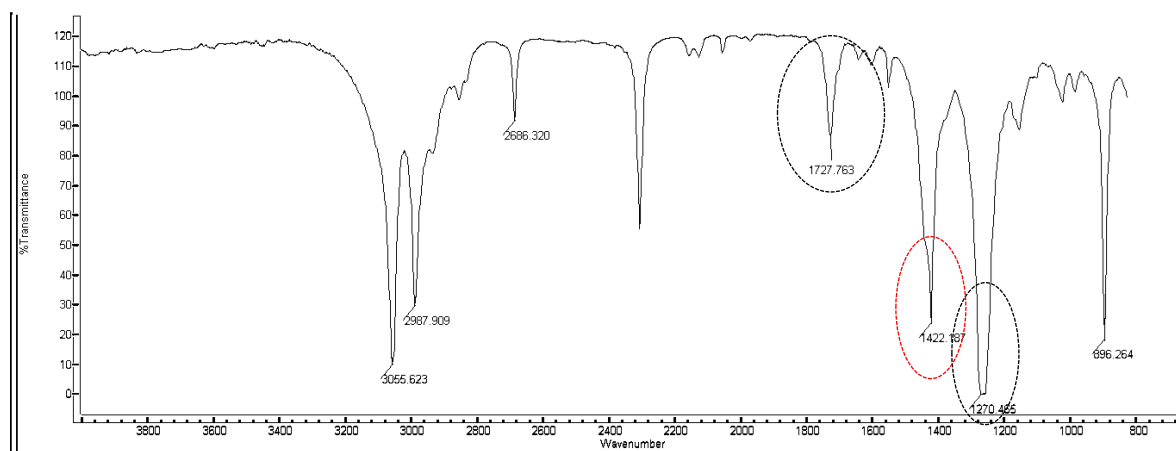


Espectro 29. Experimento HMBC del compuesto 22.

4.8 Diacetato de (23Z,25R)-22-oxo-16 β ,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-3 β ,26-diilo (23).

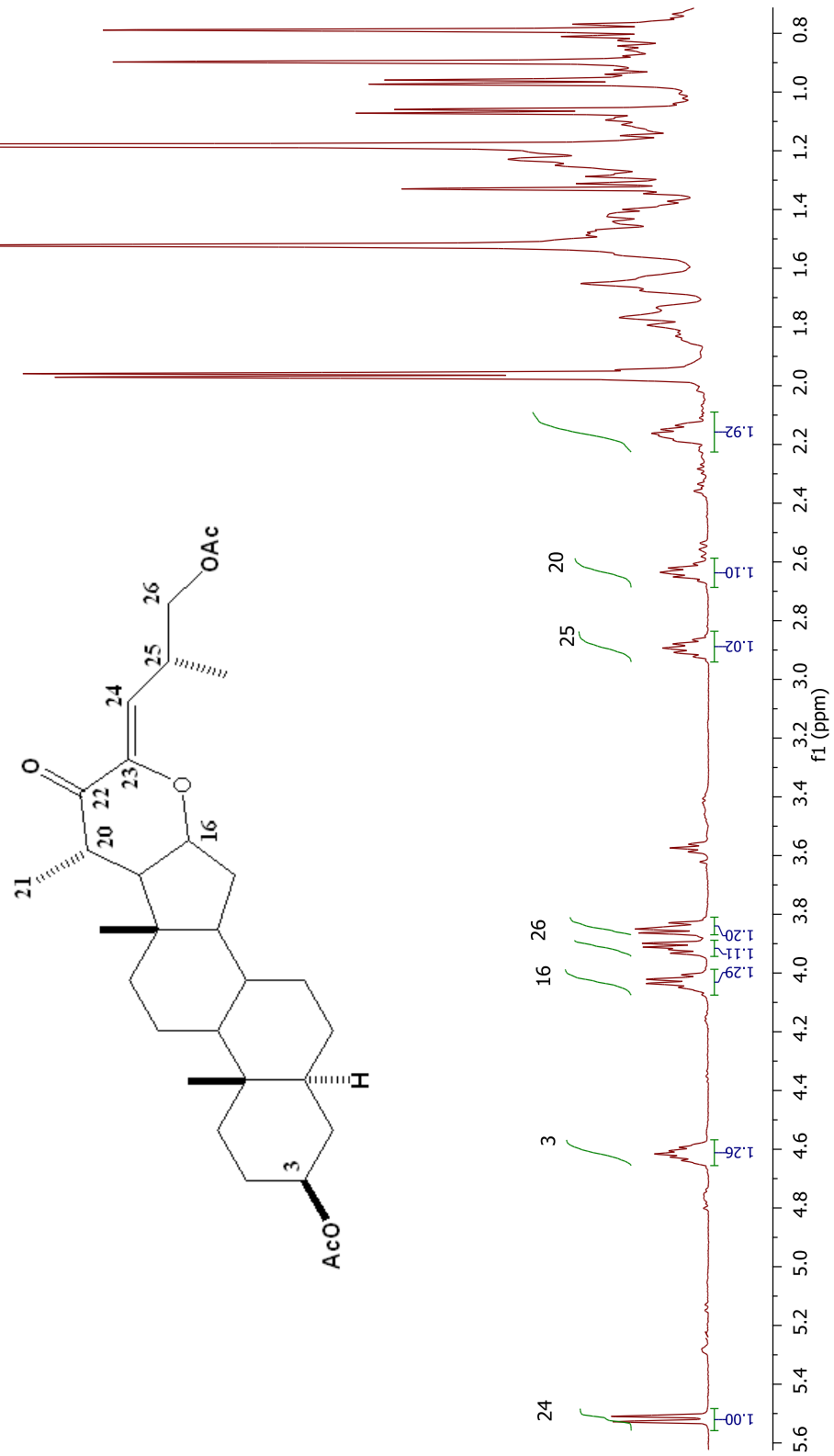


En el espectro de IR (espectro 30) se distingue la señal característica en 1727 cm^{-1} la cual se debe a las vibraciones de tensión (C=O) del grupo carbonilo en C-22. Así mismo, una banda de absorción en 1270 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión (C-O).

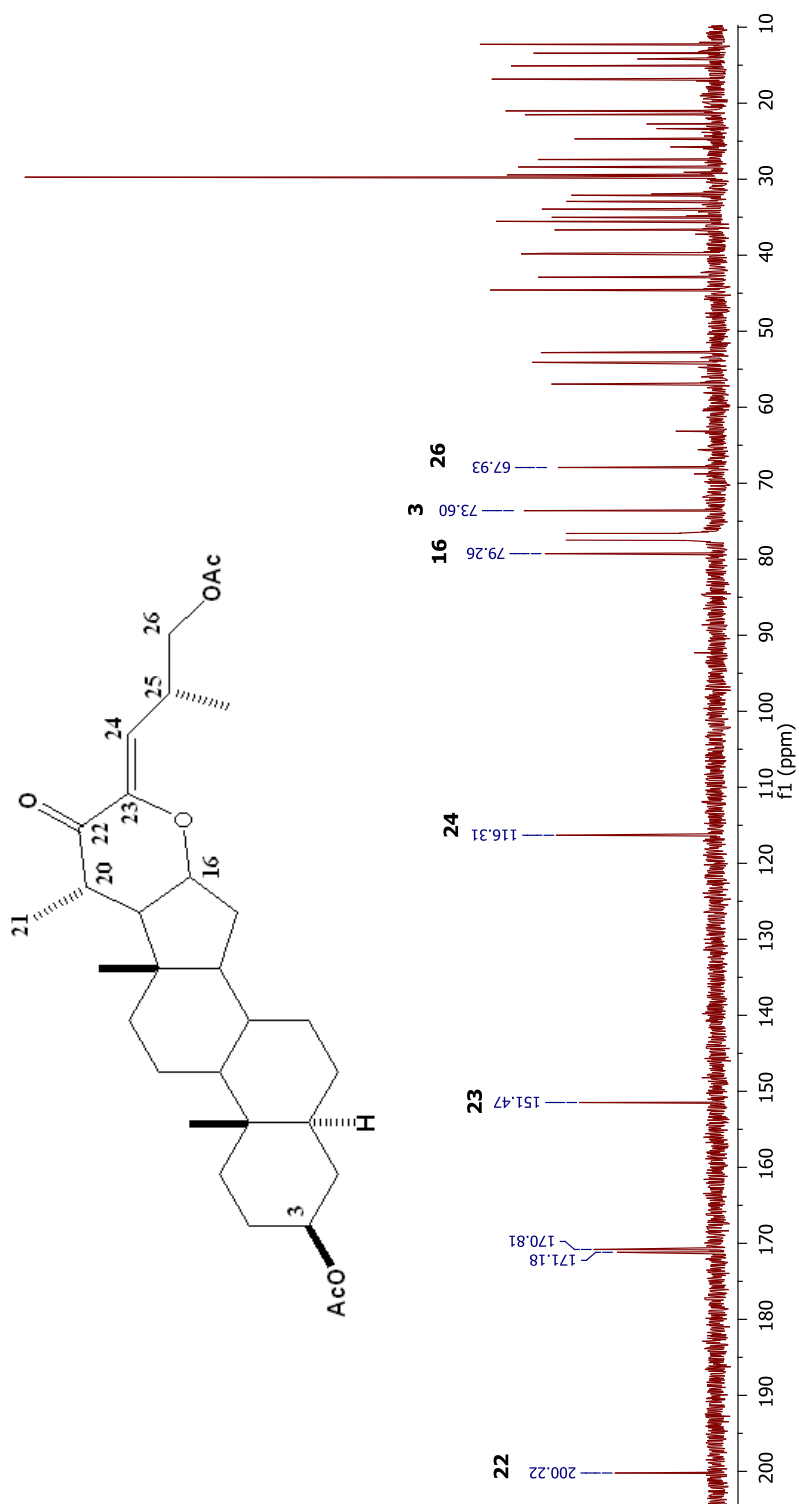


Espectro 30. Espectro IR del compuesto **23**.

En el espectro de RMN de ¹H para el derivado **23** se observa a frecuencias altas en 5.52 ppm el protón vinílico H-24 como una señal doble, debido al acoplamiento con H-25. De manera similar que con el derivado de hecogenina (**18**), se pudo establecer la vecindad de los protones en la cadena lateral a través de las correlaciones entre los protones (espectro 31).



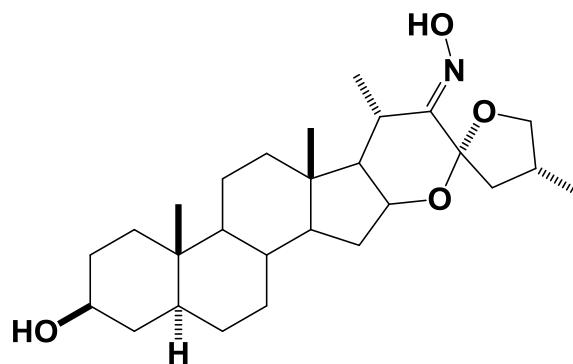
Espectro 31. RMN de ¹H del compuesto **23**.



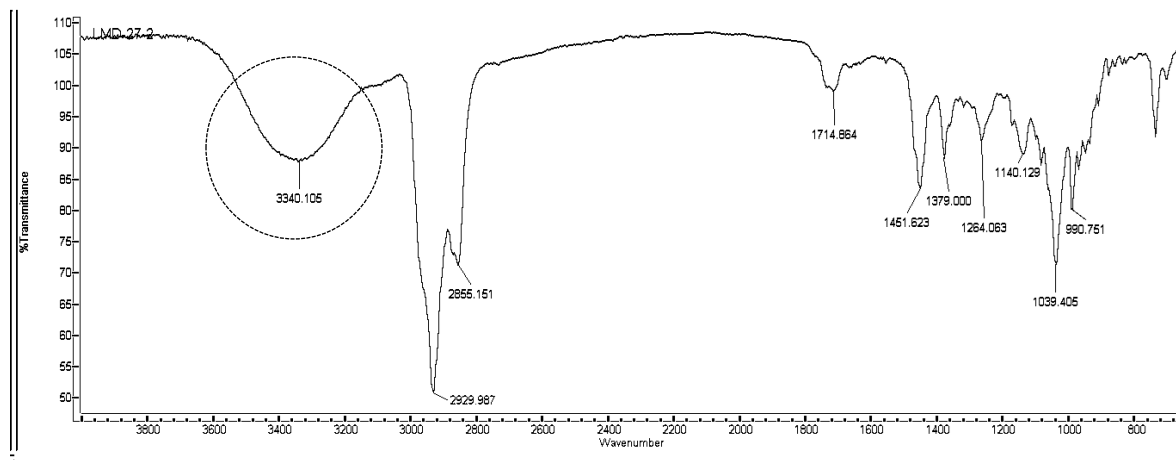
Espectro 32. RMN de ^{13}C del compuesto 23.

En el espectro de RMN de ^{13}C (espectro 32) se observan 31 señales para carbono, mismo número de carbonos presentes en el derivado 22-oxo- Δ^{23} (**23**), se distinguen las señales de los carbonos vinílicos C-23 y C-24 en 151.5 y 116.3 ppm respectivamente. Además, se observa un cambio en el desplazamiento de C-22 a 200.2 ppm que pasa de ser un carbono de cetona a una cetona α,β -insaturada.

4.9 22-oxima de tigogenina (25).

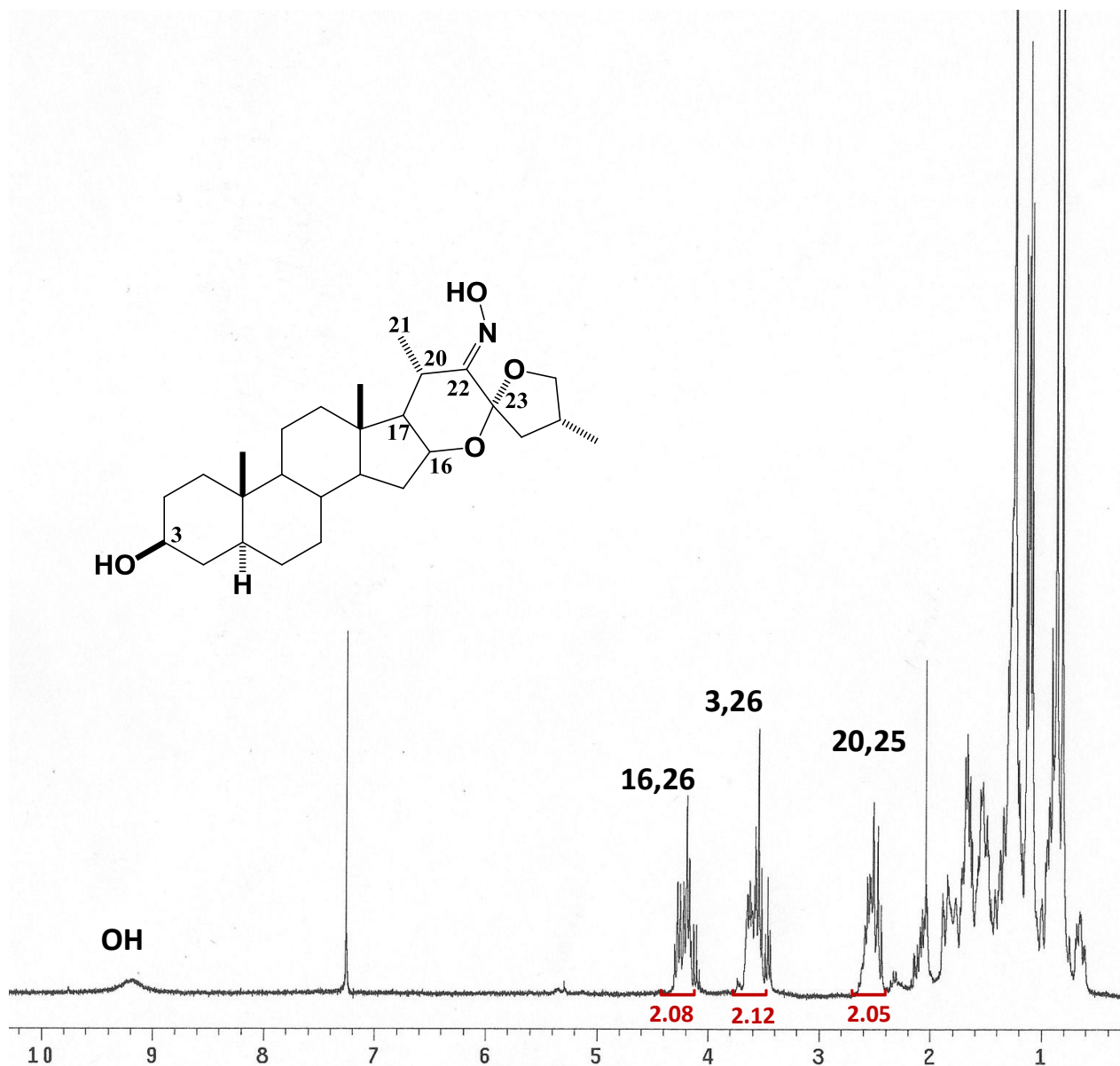


En el espectro de IR (espectro 33) se distingue una banda característica en 3340 cm^{-1} la cual se debe a la vibración del (O-H) del grupo presente en C-3 y en la oxima en C-22. Se observa la desaparición de la señal del grupo carbonilo alrededor de 1700 cm^{-1} . Sin embargo no se observa la vibración debida al enlace C=N.



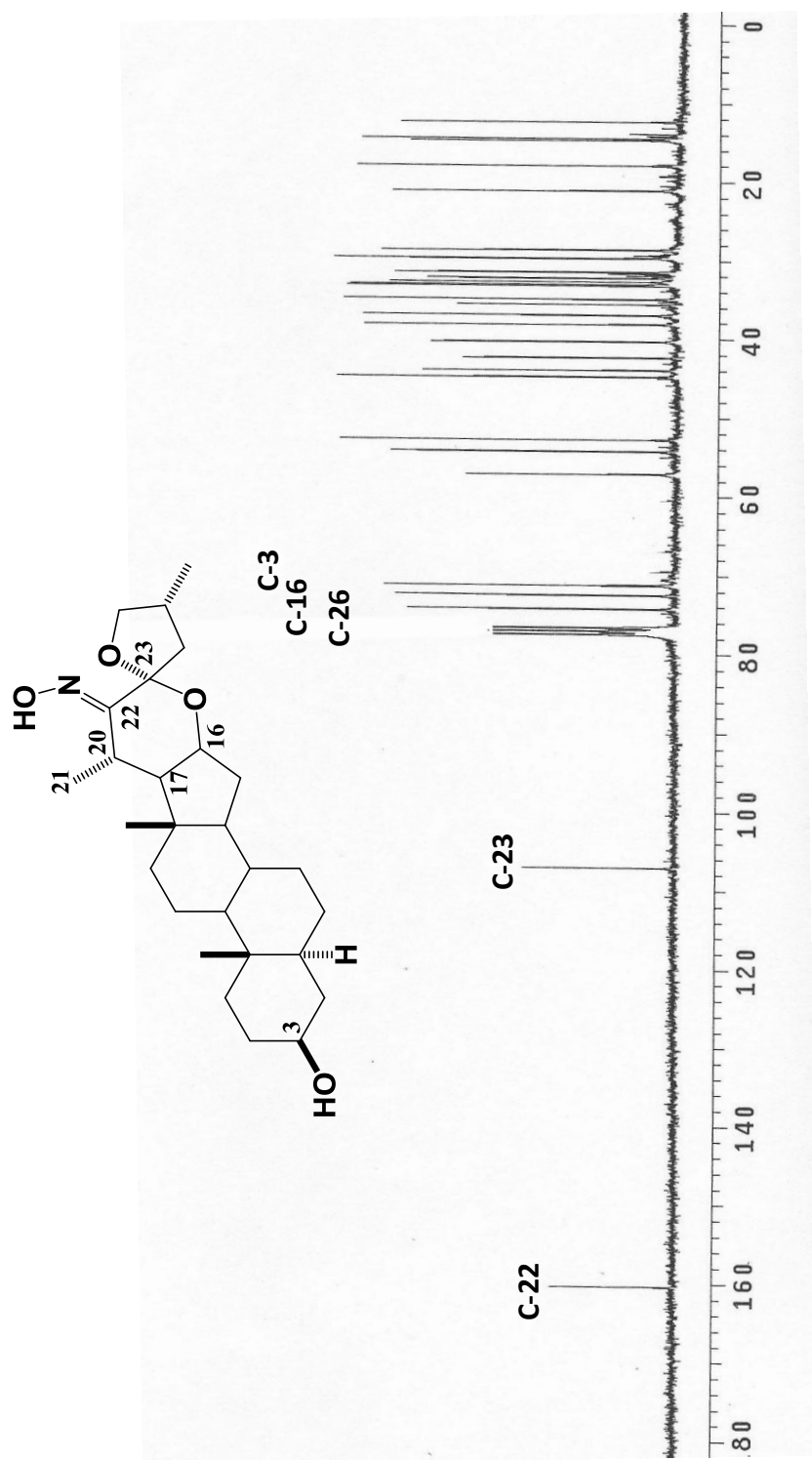
Espectro 33. Espectro IR del compuesto **25**.

En el espectro de RMN de ^1H (espectro 34) para el derivado **25**, a frecuencias altas a 9.21 ppm se observa una señal ancha característica del grupo OH. Por comparación con la materia prima se observa un cambio ligero en el desplazamiento químico de H-20 el cual es vecino a la oxima formada el cual pasa de 2.82 a 2.5 ppm.



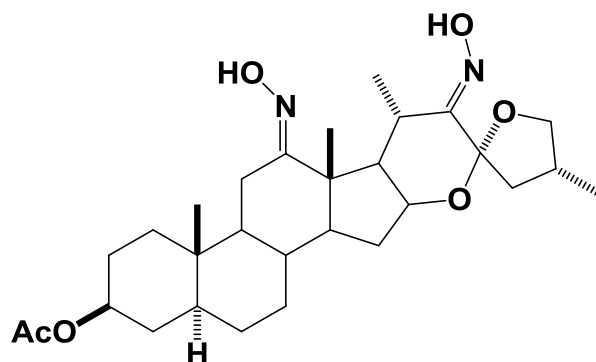
Espectro 34. Espectro de RMN de ¹H del compuesto **25**.

En el espectro de RMN de ¹³C (espectro 35) para el derivado **25**, se observa el cambio significativo en el desplazamiento químico de C-22 que pasa de ser un carbono de carbonilo (C=O) a un carbono de una oxima (C=NOH) de 213.35 a 160.3 ppm. El resto de señales se mantiene casi constante sin cambios importantes.



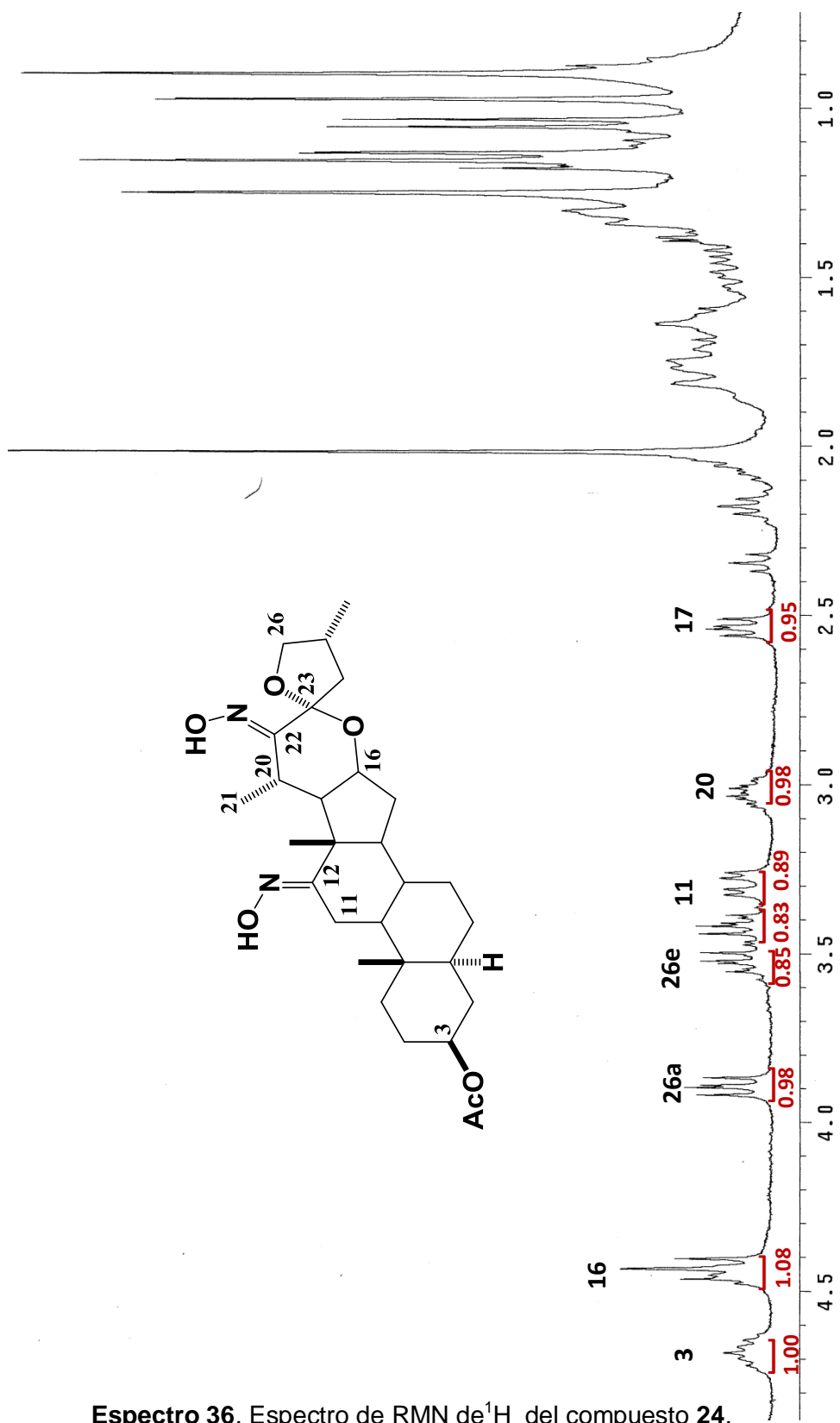
Espectro 35. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **25**.

4.10 12,22-dioxima de hecogenina, (**24**).

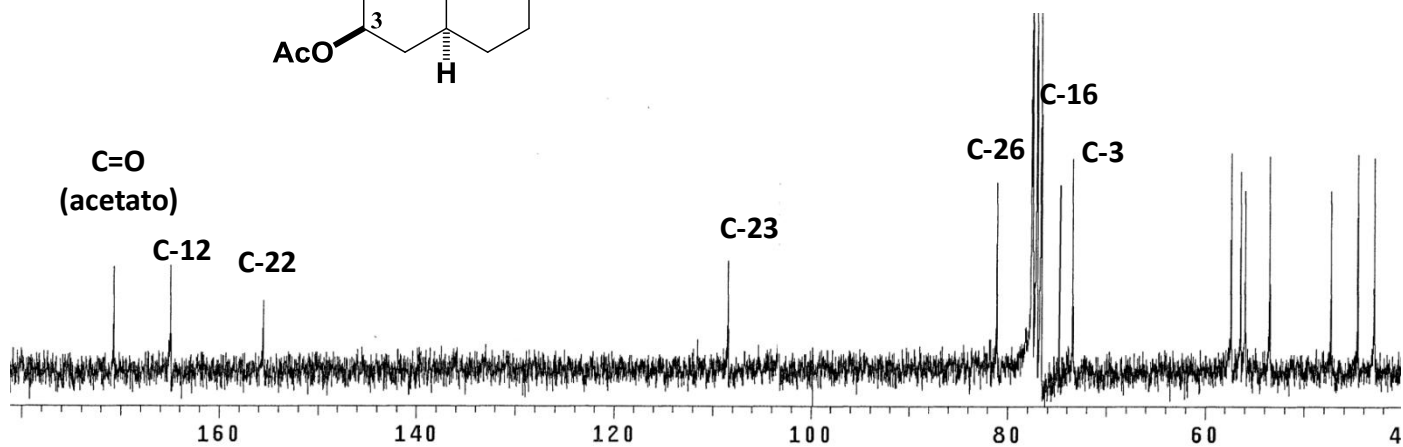
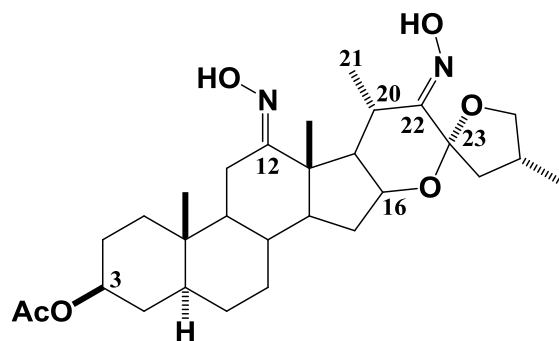


En el espectro de RMN de ^1H (espectro 36) para el derivado **24**, a frecuencias altas se observan las señales características para los protones unidos a carbonos directamente enlazados a un átomo de oxígeno, como: C-3, C-16 y C-26. En 4.68 ppm se observa la señal para el protón en C-3, en 4.45 ppm una señal para el protón en C-16 y en 3.9 y 3.52 ppm las señales correspondientes a los protones diasteretópicos en C-26 axial y ecuatorial respectivamente. Así mismo, a 3.42 y 3.3 ppm se observa las señales de los protones en C-11 afectados por el grupo hidroximino formado en C-12. Así mismo, el protón en C-20 sufre un ligero cambio desplazándose a 3.02 ppm debido a la oxima formada en C-22.

En el espectro de RMN de ^{13}C (espectro 37) para el derivado **24**, se observa el cambio significativo en el desplazamiento químico de C-12 y C-22 que pasa de ser un carbono de carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) a un carbono de una oxima ($\text{C}=\text{NOH}$) en 164.93 y 155.23 ppm respectivamente. A su vez un cambio en el desplazamiento en C-26 a 81.05 ppm. El resto de señales se mantiene casi constante sin cambios importantes.



Espectro 36. Espectro de RMN de ¹H del compuesto 24.



Espectro 37. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **24**.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

EQUIPO Y TECNICAS UTILIZADAS

Puntos de fusión

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Melt-Temp, con escala en grados Celsius, utilizando la técnica de capilar abierto

Cromatografía

Para la cromatografía analítica en capa fina (CCF) se utilizaron placas comerciales de gel de sílice grado 60, con espesor de capa 0.25 mm que contiene indicador, empleando para su revelado una lámpara de luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UVG-54), o bien por calcinación de las placas impregnadas con ácido sulfúrico al 5% ó vainillina aproximadamente al 1 % en etanol.

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

RMN

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se obtuvieron en espectrómetros Varian-Mercury multinuclear a 300 MHz y Broker Avance III a 500 MHz para los espectros de empleando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Los desplazamientos químicos se expresan en ppm (δ) y la multiplicidad se indica de la siguiente manera: s (señal simple), s_a (señal simple ancha), d (señal doble), d_a (señal doble ancha), t (señal triple), c (señal cuádruple), m (señal

múltiple), dd (señal doble de dobles), ddd (señal doble de doble de dobles) y las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz).

IR

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Agilent Cary 630 FTIR los datos se expresan en números de onda ($\bar{\nu}$) en cm^{-1} utilizando interfaces como ATR con punta de diamante y DIAL PATH.

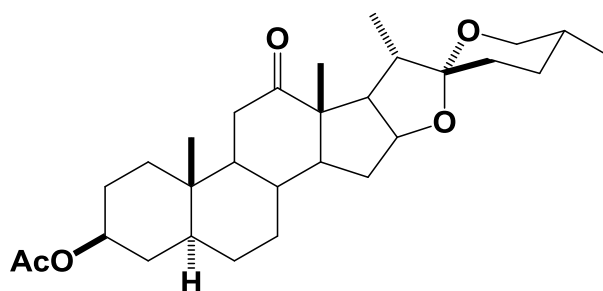
Disolventes y materias primas

Los reactivos que se utilizaron fueron de calidad grado analítico.

Todos los disolventes empleados se purificaron y se secaron según los métodos reportados en la literatura.³³

³³ Perrin. D. P.; Armarego, W. L. F. "Purification of laboratory chemicals" 6a. Ed. USA, 2009

5.1 Purificación del acetato de hecogenina.



El acetato de hecogenina (**15**) comercial se purificó por cromatografía tipo flash y se utilizó como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil un sistema hexano-acetato de etilo 9:1. Se obtiene un polvo amorfo el cual fue caracterizado por los diferentes métodos físicos, espectroscópicos y sus datos coinciden con los reportados en la literatura.³⁴

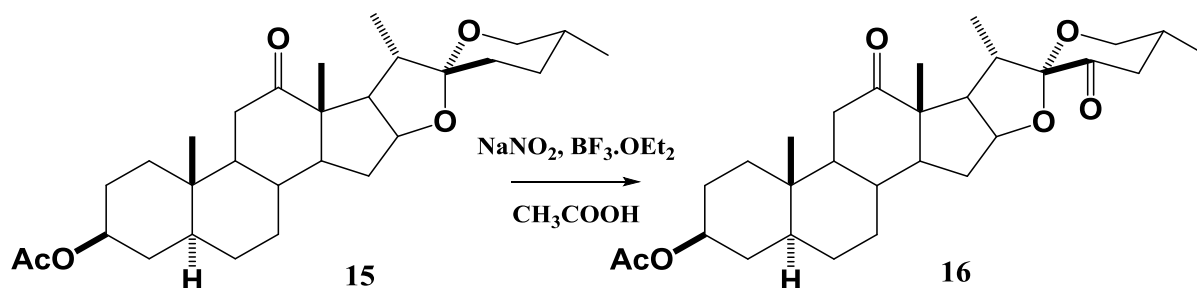
Polvo amorfo blanco, **p.f** = 248 - 250 °C

¹H RMN δ : 4.65 (1H, m, H-3), 4.33 (1H, m, H-16), 3.48 (1H, dd, $J_{26e-26a} = 10.8$ Hz, $J_{26e-25a} = 3.9$ Hz, H-26e), 3.35 (1H, dd, $J_{26a-26e} = 10.8$, $J_{26a-25a} = 10.8$ Hz, H-26a), 2.50 (1H, dd, $J = 6.9$ y 8.7 Hz, H-17), 2.39 (1H, dd, $J_{11a-11e} = 14.1$ Hz, $J_{11a-9a} = 13.2$ Hz, H-11a), 2.21 (1H, dd, $J_{11e-11a} = 14.1$ Hz, $J_{11e-9a} = 4.8$ Hz, H-11e), 2.01 (3H, s, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{COO-3}$), 1.06 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-21), 1.04 (3H, s, H-18), 0.92 (3H, s, H-19), 0.79 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-27).

¹³C RMN δ : 36.6 (C-1), 27.3 (C-2), 73.1 (C-3), 33.9 (C-4), 44.5 (C-5), 28.2 (C-6), 31.5 (C-7), 34.4 (C-8), 55.3 (C-9), 36.1 (C-10), 37.8 (C-11), 212.9 (C-12), 55.1 (C-13), 55.7 (C-14), 31.5 (C-15), 79.1 (C-16), 53.5 (C-17), 16.1 (C-18), 12.0 (C-19), 42.2 (C-20), 13.4 (C-21), 109.1 (C-22), 31.2 (C-23), 28.8 (C-24), 30.3 (C-25), 66.8 (C-26), 17.2 (C-27), 170.3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}\underline{\text{O}}\text{O-3}$), 21.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}\underline{\text{O}}\text{O-3}$).

³⁴ Eggert, H.; Djerassi, C. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *42*, 3635.

5.2 Obtención del acetato de 23-oxohecogenina.



En un matraz de bola de 100 mL provisto de agitación magnética se coloca 0.4306 g (1 mmol) de Acetato de Hecogenina (**15**) y se disuelve con 20 mL de CH_3COOH y 4.0 mL de CH_2Cl_2 . Posteriormente se adicionan 0.8 mL (6.48 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ y se deja agitar por 10 minutos.

A continuación se agrega poco a poco en pequeñas porciones 0.2 g (2.9 mmol) de NaNO_2 y se deja reaccionar durante 4 horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo, el crudo de reacción se vertió en un matraz Erlenmeyer con 30 mL de H_2O en hielo finamente picado, enseguida se realizaron 3 extracciones con 30 mL de CH_2Cl_2 , una neutralización con una solución al 5% de NaHCO_3 hasta un pH entre 6-7 y lavados con agua destilada. La fase orgánica resultante se secó con MgSO_4 y se concentró en el rotavapor. El crudo de reacción se separó por cromatografía en columna utilizando como eluente un sistema 95:5 (hexano-acetato de etilo) y como fase estacionaria gel de sílice, se obtuvieron 340 mg (70 % de rendimiento) de **16**.

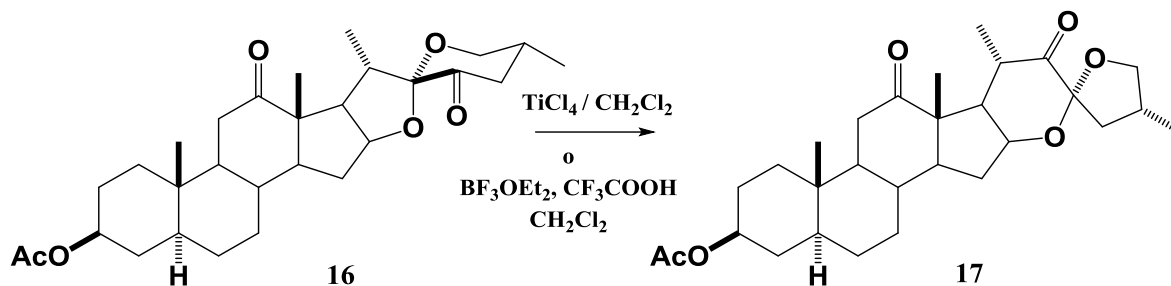
Polvo blanco , p.f = 170-172°C

IR 1701 y 1729 cm^{-1} tensión (C=O), 1251 cm^{-1} tensión (C-O)

¹H RMN δ: 4.60 (1H, m, H-3), 4.47 (1H, m, H-16), 3.69 (1H, t, H-26), 3.54 (1H, dd, H-26), 2.70 (1H, p, H-20), 2.46 (1H, t, H-17), 2.36 (2H, m, H-24).

¹³C RMN δ: 213.04 (C-12), 201.63 (C-23), 170.60 (CH₃CO₂-3), 109.73 (C-22), 81.64 (C-16), 73.11 (C-3), 65.66 (C-26) 55.70, 55.43, 55.32, 52.98, 45.20, 44.39, 37.61, 36.20, 36.06, 35.54, 35.33, 34.21, 33.73, 31.40, 31.08, 28.08, 27.15, 21.42, 17.09, 15.80, 13.05, 11.84.

5.3 Obtención del acetato de (23*R*,25*R*)-12,22-dioxo-16,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-3β-ilo.



Metodología 1

En un matraz de bola de 100 ml provisto de agitación magnética y atmosfera inerte se colocaron 500 mg (1.03 mmol) de acetato de 23-oxohecogenina (**16**) y se disolvieron en 15 mL de CH_2Cl_2 seco, a esta solución se agregaron 0.4 mL (3.3 mmol) de TiCl_4 y se mantuvo en agitación por 7 horas a temperatura ambiente y en atmosfera inerte, después de comprobar por cromatografía en capa fina Hexano/AcOEt (8:2) la transformación total de la materia prima, el crudo de reacción se vertió en un matraz Erlenmeyer conteniendo 30 mL de agua fría, la fase orgánica se extrajo con CH_2Cl_2 (2x20mL), la fase orgánica se lavó con salmuera (1x15mL) y agua destilada (1x50mL), se secó con MgSO_4 y se concentró a sequedad en el rotavapor. El crudo de reacción se separó por cromatografía en columna utilizando como eluente un sistema 9:1 (hexano-AcOEt) y como fase estacionaria gel de sílice. Se obtuvieron 250 mg (50 % de rendimiento) de **17**.

Metodología 2

En un matraz de bola de 100 ml provisto de agitación magnética y atmosfera inerte se colocaron 100 mg (0.205 mmol) de acetato de 23-oxohecogenina (**16**) y se disolvieron en 4.5 mL de CH_2Cl_2 , a esta solución se agregaron 0.126 mL (1.025 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y 0.16 mL (2.05 mmol) de ácido trifluoroacético y se mantuvo en agitación por 2 horas a temperatura ambiente, por cromatografía en capa fina

Hexano/AcOEt (8:2) se observó que no fue completa la transformación total de la materia prima, el crudo de reacción se vertió en un matraz Erlenmeyer conteniendo 30 mL de agua fría, la fase orgánica se extrajo con CH_2Cl_2 (2x20mL), la fase orgánica se lavó con salmuera (1x15mL) y agua destilada (1x30mL), se secó con MgSO_4 y se concentró a sequedad en el rotavapor para posteriormente purificarlo por cromatografía en columna utilizando como eluente un sistema 9:1 (hexano-AcOEt) y como fase estacionaria gel de sílice. Se obtuvieron 40 mg (40 % de rendimiento) de acetato de **17**.

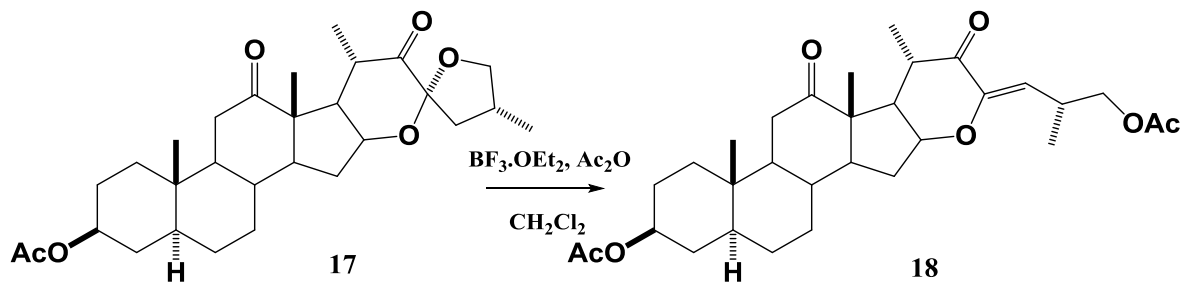
Polvo blanco , p.f = 167-169 °C

IR 1703 y 1724 cm^{-1} tensión (C=O), 1247 cm^{-1} tensión (C-O).

^1H - RMN δ : 4.65 (1H, m, H-3), 4.35 (1H, c, H-16), 4.10 (1H, t, H-26), 3.5 (1H, t, H-26), 2.62 (1H, m, H-20), 2.48 (1H, t, H-17).

^{13}C - RMN δ : 212.04 (C-12), 211.779 (C-22), 170.16 (CH_3CO_2 -3), 107.32 (C-23), 75.09 (C-16), 72.75 (C-3), 70.98 (C-26), 56.58, 55.68, 53.03, 47.91, 44.05, 43.44, 39.76, 37.77, 35.93, 35.85, 34.27, 33.425, 33.06, 32.17, 31.09, 27.85, 26.87, 21.05, 16.36, 13.64, 12.48, 11.55.

5.4 Obtención del diacetato de (23Z,25R)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-3 β ,26-diilo.



En un matraz de bola de 50 mL provisto de agitación magnética y atmosfera inerte se colocaron 300 mg (0.61 mmol) de **17** y se disolvieron en 5.0 mL de CH_2Cl_2 y 0.5 mL (5.2 mmol) de anhídrido acético, enseguida se agregaron 0.5 mL (3.9 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente y bajo atmosfera inerte por 10 minutos. Después de este tiempo, el crudo de reacción se vertió en un matraz Erlenmeyer con 30 mL de agua en hielo finamente picado, enseguida se hizo una extracción con 25 mL de CH_2Cl_2 . Al crudo de la reacción se le hicieron lavados con salmuera, solución saturada de NaHCO_3 y agua destilada. La fase orgánica resultante se secó con MgSO_4 y se concentró en el rotavapor. El crudo de reacción se separó por cromatografía en columna utilizando como eluente un sistema 9:1 hexano-AcOEt y como fase estacionaria gel de sílice, se obtuvieron 274 mg (85 % de rendimiento) de **18**.

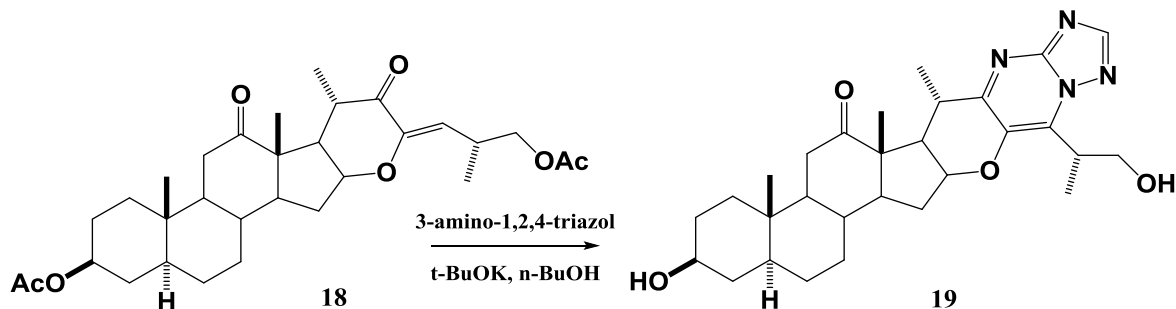
Polvo blanco , p.f = 167-169 °C

IR 1727 cm^{-1} tensión (C=O), 1266 cm^{-1} tensión (C-O).

¹H RMN δ: 5.59 (1H, d, H-24), 4.61 (1H, m, H-3), 4.04 (1H, c, H-16), 3.90 (2H, m, H-26), 2.89 (1H, m, H-25), 2.53 (1H, m, H-20).

¹³C RMN δ: 212.37 (C-12), 199.32 (C-22), 171.09 (CH₃C2O₂-26), 170.66 (CH₃C3O₂-3), 150.73 (C-23), 117.24 (C-24), 77.95 (C-16), 73.08 (C-3), 67.82 (C-26), 56.93, 56.01, 53.01, 47.45, 44.37, 40.05, 38.05, 36.23, 36.19, 34.46, 33.68, 32.45, 31.41, 29.46, 28.10, 27.14, 21.43, 20.97, 16.82, 14.25, 12.89, 11.86.

5.5 (25*R*)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano [23,22-*d*][1,2,4]triazolo-[1,5-*a*]pirimidina.



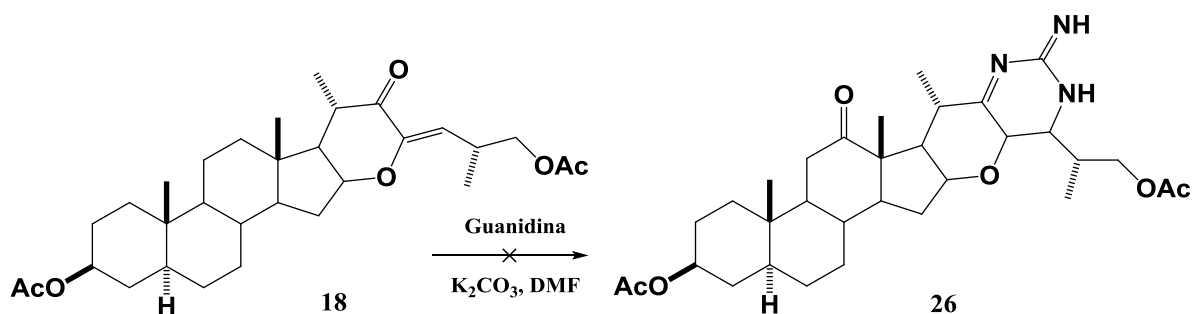
En un matraz de bola provisto de agitación magnética se colocan 100 mg del derivado carbonilo α - β insaturado (**18**) y se disuelve en 5.0 mL de *n*-BuOH anhidro. A esta disolución se adiciona 8.0 mg de 3-amino-1,2,4-triazol y 0.08 mL de *t*-BuOK y se mantiene a reflujo por 1.5 horas. Después de comprobar por cromatografía en capa fina la transformación de la materia prima, al crudo de reacción se le evapora el disolvente a presión reducida en el rotavapor, posteriormente se filtra en un embudo büchner realizando lavados con CH₂Cl₂ para arrastrar la fase orgánica y retener las sales inorgánicas, a continuación se seca con MgSO₄ y se concentra a sequedad. El crudo de reacción se separó por cromatografía en placa preparativa utilizando como eluente un sistema 95:5 (CH₂Cl₂/MeOH), se obtuvieron 19.7 mg (20 % de rendimiento) de **19**.

Propiedades físicas: Aceite amarillo

¹H RMN δ : 8.25 (1H, s, H-2' del anillo de triazol), 3.8 (H1, m, H-3), 3.2 (H1, m, H-16), 3.3 y 4.0 (2H, m, H-26), 3.24 (H1, m, H-25).

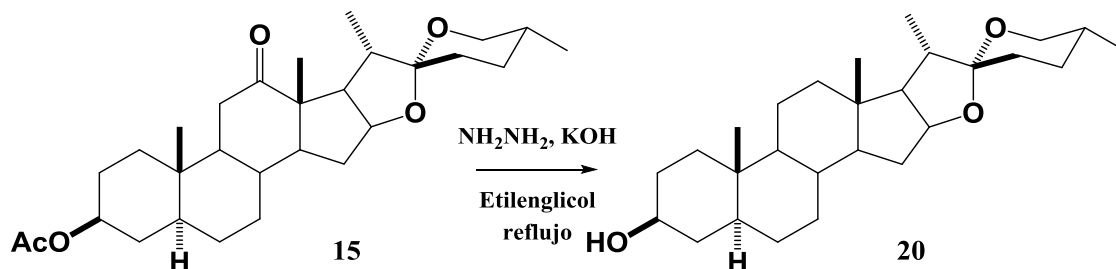
¹³C RMN δ : 201 (C-12), 157(C-2' del anillo de triazol), 172 (C-5'), 134 (C-6'), 119 (C7')

5.6 Obtención de la pirimidina.



En un matraz de bola de 50 mL provisto de agitación magnética y atmosfera inerte se coloca 120 mg del derivado carbonilo α - β insaturado (**18**) y se disuelve en 8 mL de DMF anhidro. A esta disolución se adiciona 0.04 g de carbonato de potasio y 0.0224 g de guanidina y se mantiene a reflujo y en atmosfera de argón por 45 minutos. Por cromatografía en capa fina se observó que la transformación de la materia prima no fue completa y con la aparición de un producto menos polar que la materia prima, después de este tiempo comienzan a aparecer una serie de manchas más polares que la m.p y con r_f muy similar. El crudo de reacción se vierte sobre CH_2Cl_2 y agua en una relación 8/2 y se deja agitar por 30 min. A continuación, se realizan extracciones con CH_2Cl_2 (2x15 mL), la fase orgánica se lava con salmuera (2x20 mL) y agua destilada (1x25 mL), a continuación se seca con $MgSO_4$ y se concentra a sequedad. El crudo de reacción no se pudo separar por CC dopada con trietilamina. Una gran cantidad de productos se forman durante su purificación con factores de retención muy similares obteniendo mezclas de productos, los cuales fueron difíciles de elucidar por RMN.

5.7 Obtención de tigogenina a partir de acetato de hecogenina por reducción de wolff-kishner.



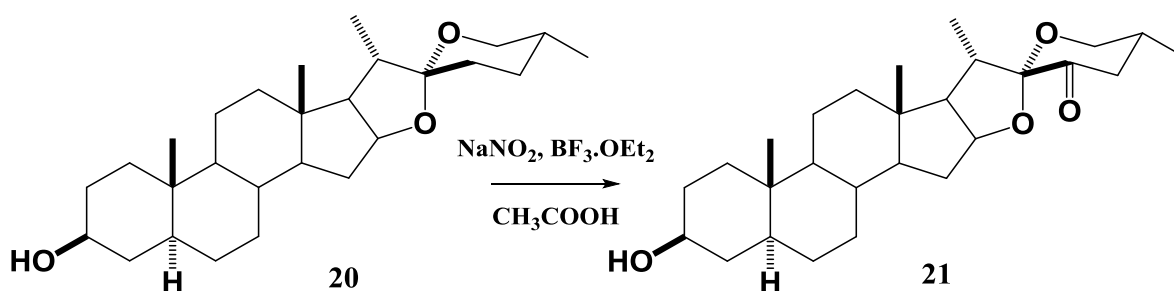
En un matraz de bola de 250 mL se colocan 2.0 g (4.64 mmol) de acetato de hecogenina (**15**) y se disuelven en 30 mL de etilenglicol posteriormente se adicionan 2.0 ml de hidracina y la mezcla se coloca a reflujo durante 20 minutos. Pasado el tiempo se adiciona 1.0 g de KOH (17.3 mmol) y se deja reaccionar a reflujo durante 6 horas más. La reacción es seguida por cromatografía en capa fina hasta que se consuma en su totalidad la materia prima, se observa la formación de varios compuestos más polares que ella. El crudo de reacción se deja enfriar hasta temperatura ambiente, posteriormente se vierte sobre 100 mL de una solución fría de HCl al 5 %. Un producto blanco precipita y se filtra bajo presión reducida, adicionalmente se realizan varios lavados con agua fría. El producto se deja secar al aire libre y se recolecta. El producto de reacción se purifica por cromatografía en columna utilizando como eluente un sistema 7:3 (hexano/AcOEt) y como fase estacionaria gel de sílice, se obtuvieron 0.9 g (50 % de rendimiento) de tigogenina (**20**).

Polvo blanco

$^1\text{H RMN}$ δ : 4.32 (1H, c, H-16), 3.48 (1H, m, H-3), 3.40 (1H, dd, H-26e), 3.29 (1H, t, H-26a).

¹³C RMN δ: 109.41 (C-22), 80.91(C-16), 70.88 (C-3), 66.80 (C-26), 62.00 (C-17),
56.22, 54.26, 44.74, 41.53, 40.51, 39.96, 37.74, 36.88, 35.50, 35.03, 32.17, 31.58,
31.22, 31.06, 30.16, 28.62, 28.54, 20.98, 17.03, 16.41, 14.36, 12.25.

5.8 Obtención del acetato de 23-oxotigogenina.



En un matraz de bola de 100 mL provisto de agitación magnética se coloca 0.4233 g (1 mmol) de tigogenina (**20**) y se disuelve con 20 mL de CH_3COOH y 4.0 mL de CH_2Cl_2 . Posteriormente se adicionan 0.8 mL (6.48 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ y se deja agitar por 10 minutos.

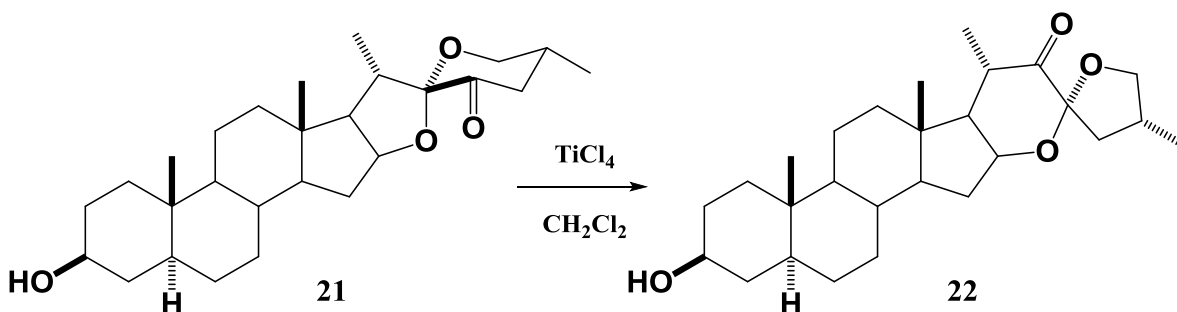
A continuación se agrega poco a poco en pequeñas porciones 0.21g (2.9 mmol) de NaNO_2 y se deja reaccionar durante 5.5 horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo, el crudo de reacción se vertió en un matraz Erlenmeyer con 30 mL de H_2O en hielo finamente picado, enseguida se realizaron 3 extracciones con 10 mL de CH_2Cl_2 , una neutralización con una solución al 5% de NaHCO_3 hasta un pH entre 6-7 y se realizan lavados con agua destilada. La fase orgánica resultante se secó con MgSO_4 y se concentró en el rotavapor. El crudo de reacción se separó por cromatografía en columna utilizando como eluente un fracción inicial de hexano y posteriormente un sistema 95:5 (hexano-acetato de etilo) y como fase estacionaria gel de sílice, se obtuvieron 229 mg (55 % de rendimiento) de **21**.

IR 3276 cm^{-1} (O-H), 1730 cm^{-1} tensión (C=O).

$^1\text{H RMN}$ δ : 4.53 (1H, dd, $J = 14.9, 7.4 \text{ Hz}$, H-3), 3.72 (1H, t, $J = 11.2 \text{ Hz}$, H-26), 3.51 (2H, m, H-16, H-26), 2.80 (1H, m, H-20).

$^{13}\text{C RMN}$ δ : 202.01 (C-23), 202.00 (C-22), 109.82 (C-3), 83.37 (C-16), 71.32 (C-26), 65.63, 61.72, 56.42, 54.31, 45.30, 44.82, 41.06, 39.83, 38.15, 36.94, 35.88, 35.58, 35.06, 34.75, 32.23, 31.71, 31.49, 31.01, 28.56, 20.98, 17.11, 16.26, 14.40, 12.37

5.9 Obtención del (23*R*,25*R*)-22-oxo-16,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-3β-ilo.



En un matraz de bola de 100 ml provisto de agitación magnética y atmosfera inerte se colocaron 200 mg (0.48 mmol) de acetato de 23-oxohecogenina (**21**) y se disolvieron en 15 mL de CH_2Cl_2 seco, a esta solución se agregaron 0.4 mL (3.3 mmol) de TiCl_4 y se mantuvo en agitación por 7 horas a temperatura ambiente y en atmosfera inerte, después de comprobar por cromatografía en capa fina Hexano/AcOEt (8:2) la transformación total de la materia prima, el crudo de reacción se vertió en un matraz Erlenmeyer conteniendo 30 mL de agua fría, la fase orgánica se extrajo con CH_2Cl_2 (2x20mL), la fase orgánica se lavó con salmuera (1x15mL) y agua destilada (1x30mL), se secó con MgSO_4 y se concentró a sequedad en el rotavapor para posteriormente purificarlo por cromatografía en columna usando con eluyente un sistema 85:15 (hexano/AcOEt) y como fase estacionaria gel de sílice. Se obtuvieron 120 mg (60 % de rendimiento) de **22**.

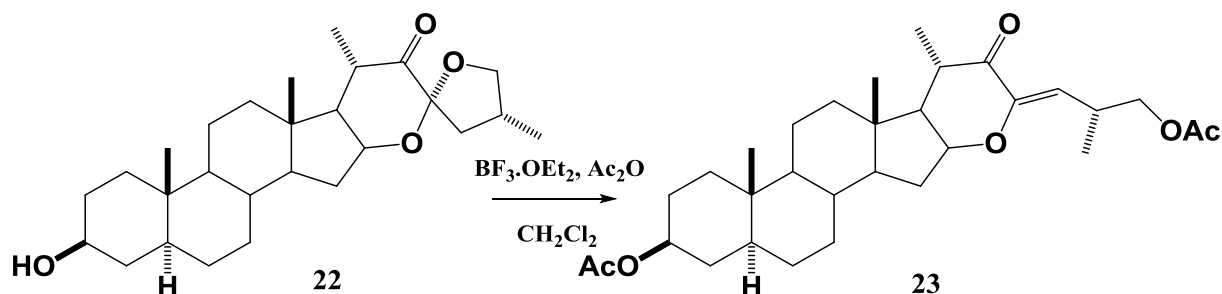
Polvo blanco ,

IR 3276 cm^{-1} (O-H), 1733 cm^{-1} tensión (C=O), 1265 cm^{-1} tensión (C-O).

$^1\text{H RMN}$ δ : 4.37 (1H, q, $J = 7.4\text{ Hz}$, H-16), 4.15 (1H, t, $J = 7.6\text{ Hz}$, H-26), 3.61 (1H, m, H-3), 3.56 (1H, t, $J = 8.6\text{ Hz}$, H-26), 2.82 (1H, m, H-20), 2.42 (1H, m, H-25), 2. (2H, m, H-24).

¹³C RMN δ: 213.35 (C-22), 107.96 (C-23), 75.28 (C-26), 72.95 (C-16), 71.23 (C-3), 57.61, 54.19, 53.09, 44.74, 43.88, 42.89, 39.96, 39.91, 38.10, 36.92, 35.52, 35.14, 33.42, 32.94, 32.20, 31.42, 28.55, 21.09, 16.44, 14.80, 12.94, 12.36.

5.10 Obtención del diacetato de (23Z,25R)-12,22-dioxo-16,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-3 β ,26-diilo.



En un matraz de bola de 50 mL provisto de agitación magnética y atmosfera inerte se colocaron 100 mg (0.24 mmol) de **21** y se disolvieron en 2.0 mL de CH_2Cl_2 y 0.2 mL de anhídrido acético, enseguida se agregaron 0.2 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente y bajo atmosfera inerte por 10 minutos. Después de este tiempo, el crudo de reacción se vertió en un matraz Erlenmeyer con 10 mL de agua en hielo finamente picado, enseguida se hizo una extracción con 10 mL de CH_2Cl_2 . Al crudo de reacción se le hicieron lavados con salmuera, solución saturada de NaHCO_3 y agua. La fase orgánica resultante se secó con MgSO_4 y se concentró en el rotavapor. El producto se separó por cromatografía en columna utilizando como eluente un sistema 8:2 (hexano-AcOEt), se obtuvieron 110 mg (90 % de rendimiento) de **23**.

Polvo blanco, **p.f** = 155-157°C

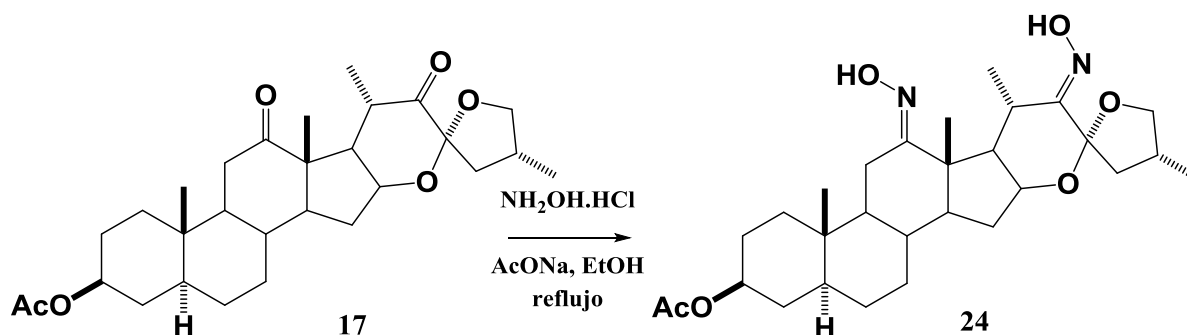
IR 1727 cm^{-1} tensión (C=O), 1270 cm^{-1} tensión (C-O).

^1H RMN δ : 5.52 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-24), 4.62 (1H, m, H-3), 4.03 (dd, $J = 14.2$, 6.9 Hz, H-16), 3.92 (1H, m, H-26), 3.85 (1H, m, H-26), 2.89 (1H, m, H-25), 2.68 – 2.58 (1H, m, H-20).

^{13}C RMN δ : 200.22 (C-22), 171.18 (CH_3CO_2 -26), 170.81 (CH_3CO_2 -3), 151.47(C-23), 116.31 (C-24), 79.26 (C-16), 73.60 (C-3), 67.93 (C-26), 56.96, 54.10, 52.82,

44.58, 42.90, 39.84, 39.75, 36.68, 36.62, 35.54, 35.02, 33.94, 32.93, 32.12, 29.73, 29.44, 28.39, 27.41, 24.70, 21.52, 21.01, 16.84, 15.10, 13.43, 12.26.

5.11 Obtención de la 12,22-dioxima de hecogenina.



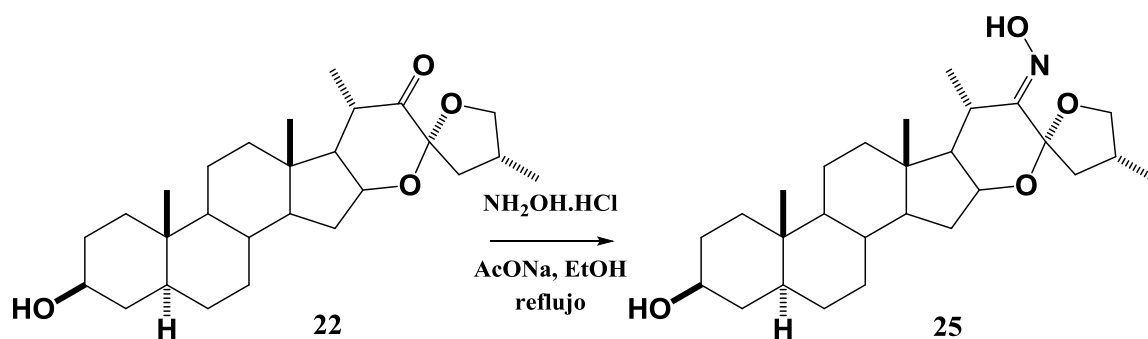
En un matraz de bola de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 100 mg (0.206 mmol) de **17** y se disolvieron en 10 mL de EtOH, enseguida se agregaron 0.1428 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (2.06 mmol) y 0.1696 g de acetato de sodio (2.06 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a reflujo por 24 h. Posteriormente se deja enfriar y se realizan extracciones con CH_2Cl_2 (3x10 mL), se hacen lavados con salmuera (2x10 mL), y uno con agua destilada. La fase orgánica resultante se seca con MgSO_4 , se filtra y se concentra a presión reducida. El crudo de reacción se separó por cromatografía en columna utilizando como eluente un sistema 8:2 (hexano-AcOEt), se obtuvieron 58.5 mg de **24** (55% de rendimiento).

Propiedades físicas: Aceite amarillo

$^1\text{H RMN}$ δ : 4.68 (1H, m, H-3), 4.45 (1H, m, H-16), 3.9(1H, t, H-26), 3.52 (1H, t, H-26), 3.42 (1H, m, H-11), 3.3 (1H, dd, H-11), 3.02 (1H, m, H-20), 2.53 (1H, m, H-17).

^{13}C RMN δ : 170.69 (CH_3CO_2 -3), 164.93 (C-12), 155.23 (C-22), 108.39 (C-23), 81.05 (C-26), 75.1 (C-16), 73.38 (C-3).

5.12 Obtención de la 22-oxima de tigogenina.



En un matraz de bola de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 100 mg (0.232 mmol) de **22** y se disolvieron en 10 mL de EtOH, enseguida se agregaron 0.1612 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (2.32 mmol) y 0.1903 g de acetato de sodio (2.32 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a reflujo por 24 h. Posteriormente se deja enfriar y se realizan extracciones con CH_2Cl_2 (3x10 mL), se hacen lavados con salmuera (2x10 mL), y uno con agua destilada. La fase orgánica resultante se seca con MgSO_4 , se filtra y se concentra a presión reducida. El crudo de reacción se separó por cromatografía en columna utilizando como eluente un sistema 8:2 (hex-AcOEt), se obtuvieron 46.5 mg de **25** (45% de rendimiento).

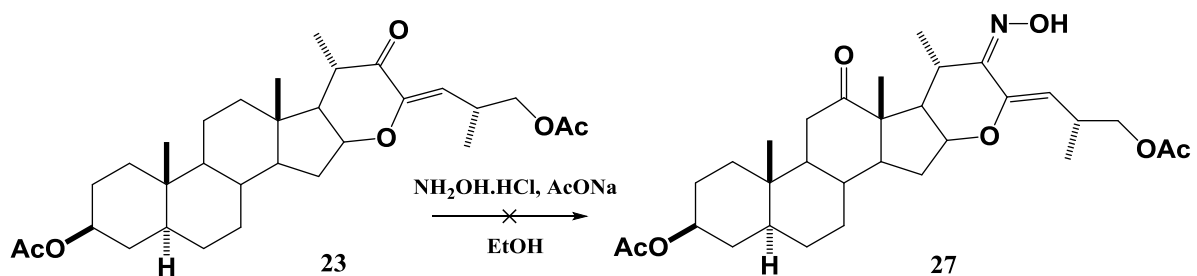
Propiedades físicas: Aceite amarillo claro

IR 3340 cm^{-1} (O-H)

$^1\text{H RMN}$ δ : 9.21 (2H, s, OH), 4.21 (2H, m, H-16, H-26), 3.48 (2H, m, H-3, H-26), 2.5 (2H, m, H-20, H-25).

$^{13}\text{C RMN}$ δ : 160.31 (C-22), 107.07 (C-23), 74.21 (C-26), 72.45 (C-16), 71.26 (C-13).

5.13 Obtención de la 22-oxima α,β -insaturada de tigogenina.



En un matraz de bola de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 100 mg (0.232 mmol) de **18** y se disolvieron en 10 mL de EtOH, enseguida se agregaron 0.1612 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (2.32 mmol) y 0.1903 g de acetato de sodio (2.32 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a reflujo por 24 h. Por CCF no se observa cambio alguno. La placa no revela ningún producto de reacción después de ese tiempo. La materia prima se recupera y se purifica por CC.

6. CONCLUSIONES

- Se obtuvo una materia prima importante a partir del acetato de hecogenina mediante una reacción Wolff-Kishner en rendimientos cuantitativos útil en la síntesis de derivados carbonílicos α,β -insaturados.
- Se desarrolló una metodología de tres etapas para la obtención de sistemas carbonílicos α,β -insaturados derivados de la hecogenina y tigogenina.
- La formación de los derivados 23-oxosapogeninas se realizó siguiendo la metodología reportada en la literatura con pequeñas variaciones, las cuales no afectan en el rendimiento de reacción.
- Se ensayó la posibilidad de utilizar diferentes ácidos de Lewis para la obtención de derivados 22-oxosustituidos siendo el mejor TiCl_4 .
- Se realizó con excelentes rendimientos la apertura regioselectiva del anillo F de los derivados 22-oxosapogeninas para la obtención de los sistemas carbonílicos α,β -insaturados.
- Se procedió a la síntesis de heterociclos fusionados al anillo esteroideal utilizando como reactivos 3-amino-1,2,4-triazol, guanidina e hidroxilamina, dando resultados positivos con el 3-amino-1,2,4-triazol.
- Se llevó a cabo la síntesis de oximas útiles en la obtención de heterociclos fusionados al anillo esteroideal con resultados cuantitativos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Miramontes, L. E. *Rev. Soc. Quim. Mex.*, **2001**, *45*, 102-104.
2. Barthelemy González, C.; Cornago Ramírez, P.; Esteban Santos, S. (2013). *La química en la vida cotidiana*, Madrid: UNED.
3. Ding, H. X.; Liu, K. K.-C.; Sakya, S. M.; Flick, A. C.; O'Donnell, C. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2795–2825.
4. Mohareb, R. M.; Zaki, M. Y.; Abbas, N. S. *Steroids*, **2015**, *98*, 80–91.
5. Zhou, L.-B.; Chen, T.-H.; Bastow, K. F.; Shibano, M.; Lee, K.-H., Chen, D.-F. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1263-1267.
6. Mostafa, A.; Sudisha, J.; El-Sayed, M.; Ito, S.; Ikeda, T.; Yamauchi, N.; Shigyo, M. *Phytochem. Lett.* **2013**, *6*, 274-280.
7. Gosse, B.; Gnabre, J.; Bates, R.; Dicus, C. W.; Nakkiew, P.; Huang, R. C. C. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1942-1944.
8. Elekofehinti, O. O.; Kamdem, J. P.; Meinerz, D. F.; Kade, I. J.; Adanlawo, I. G.; Rocha, J. B. T. *Arch. Pharm. Res.* **2015**, *en prensa*.
9. Liu, L.; Zhao, Y.-L.; Cheng, G.-G.; Chen, Y.-Y.; Qin, X.-J.; Song, C.-W.; Yang, X.W.; Liu, Y.-P.; Luo, X.-D. *Nat. Prod. Bioprospect.* **2014**, *4*, 335-340.
10. Gonzalez, A. G.; Hernández, J. C.; León, F.; Padrón, et.al. *J. Nat. Prod.*, **2003**, *66*, 793-798
11. Fieser, L. F.; Fieser, M. (1960). *Steroids*. New York: Reinhold Publishing Corporation.
12. Dewick, P. M. (2002). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. (2^a ed.). Inglaterra: John Wiley and sons ltd.
13. Griffin, R. W. Jr. (1981). *Química orgánica moderna*. Barcelona: Editorial Reverté.
14. Aiello, A.; Fattorusso, E.; Magno, S.; Menna, M.; Pansini, M. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 281-285.
15. Hunter, A. C.; Priest, S.-M. *Steroids* **2006**, *71*, 30-33.
16. Viñas Bravo, O. (2007). Nuevas metodologías para transformar la cadena lateral de sapogeninas esteroideas. (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.

17. Hernández, R.; Merrero-Tellado, J. J.; Prout, K.; Suárez, E. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 275-277.
18. Corona Díaz, A.; García Merinos, J. P.; López, Y.; González Campos, J. B.; del Río, R. E.; Santillan, R.; Farfán, N.; Morzycki, J. W. *Steroids*, **2015**, *100*, 36-43.
19. a) Hirschmann R.; Buchschacher P.; Steinberg N. G.; Fried J. H.; Ellis R.; Kent G. J.; Tishler, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1520-1527. b) Abdelhalim M. M.; Kamel E. M.; Rabie S. T.; Mohamed N. R. *Steroids* **2011**, *76*, 78-84.
20. Romero López, A. (2014). Síntesis de pirazolinas y pirimidinas esteroidales. (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.
21. Gupta R.; Pathak D.; Jindal D. P. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 659-662.
22. Thomas, G. w.; Rael, L. T.; Bar-Or, R.; Mains, C. W.; Slone, D. S. Boyd, S. R.; Bar-Or, D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2012**, *421*, 707-712.
23. Yliana López, Marcos Flores-Alamo, Martín A. Iglesias-Arteaga, *Steroids* **2008**, *73*, 657-668.
24. Iglesias-Arteaga, m.; Sandoval-Ramírez, J.; Mata-Esma, M.; Viñas-Bravo, O.; Bernes, S. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4921-4926.
25. Barton, D. H. R.; Sammes, P. G.; Taylor, M. V.; Werstiuk, E. *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 1977-1981.
26. Cyranski, M. K.; Frelek, J.; Jastrzebska, I.; Morzycki, J. W. *Steroids* **2004**, *69*, 395-400.
27. Ficha de datos de seguridad, Solución de tetracloruro de titanio, Sigma Aldrich, Referencia (249866), 2015.
28. Gould, h. D.; Stabudle, H.; Hersberg, E. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 3685-3688.
29. Dauben, G. W.; Fonken, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 4618-4619.
30. Upadhyay SK, Creech CC, Bowdy KL, Stevens ED, Jursic BS, Neumann DM. *Bioorg Med Chem Lett.* **2011**, 2826-31
31. Reyes Moreno M., Ruíz García J.L., Jáuregui Haza U., Lora García J., Agüero Agüero J. *CENIC Ciencias Químicas*, **2001**. 32-1.
32. Iglesias-Arteaga, M. A.; Sandoval-Ramírez, J.; Mata-Esma, M. Y.; Viñas-Bravo, O.; Bernes, S. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4921-4926.
33. Perrin. D. P.; Armarego, W. L. F. "Purification of laboratory chemicals" 6a. Ed. USA, 2009.