



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Campus Tuxtepec

**SÍNTESIS DE NUEVOS
AZAESTEROIDES A PARTIR
DE DIOSGENINA**

Tesis

Que para obtener el título de
Maestro en Ciencias Químicas
presenta:

I.Q. Anselmo Aarón Martínez Gallegos

Asesor: Dr. Omar Viñas Bravo
Co Asesor: Dra. María Guadalupe
Hernández Linares

Tuxtepec, Oaxaca, Abril 2014



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
CAMPUS TUXTEPEC

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Tuxtepec, Oaxaca a 7 de Octubre de 2014

I. Q. Anselmo Aarón Martínez Gallegos
Estudiante de la Maestría en Ciencias Químicas
Universidad del Papaloapan

Por este medio le informo que el jurado para su examen para obtener el grado en Maestro en Ciencias Químicas estará integrado por los siguientes investigadores

Dra. Nelda Xanath Martínez Galero	UNPA	Presidente
Dr. Lemuel Pérez Picaso	UNPA	Vocal
Dr. Daniel Díaz Coutiño	UNPA	Secretario
Dra. Sharon Rosete Luna	UV	1er Suplente
Dra. Rosa Elva Norma del Río Torres	UMich	2o Suplente

Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.

Atentamente



Dr. Guillermo Ramírez Galicia
Jefe de la División de Estudios de
Posgrado

Ccp Dr. Omar Viñas Bravo, Asesor
Ccp Dra. María Guadalupe Hernández Linares, Co-asesor
Ccp Archivo



M en C. Héctor López Arjona
Vice-rector Académico
VoBo

CAMPUS TUXTEPEC

C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial.
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax. Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA

Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax. Tel. 01(281)8729230

ÍNDICE

Abreviaturas y símbolos.	III
Índice de figuras.	VI
Índice de esquemas.	X
Índice de tablas.	XII
Resumen.	XIII
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. ANTECEDENTES.	5
2.1 Síntesis de 4-azaesteroides.	5
2.2 Síntesis de 6-azaesteroides.	12
2.3 Síntesis de B-lactamas.	23
3. OBJETIVOS.	26
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
4.1 Secuencia de reacciones para la obtención del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145)	27
4.1.1 Caracterización de la diosgenina.	28
4.1.2 Preparación del compuesto α,β -insaturado 143 .	32
4.1.2.1 Mecanismo de reacción para la obtención del compuesto α,β -insaturado 143 .	33
4.1.3 Caracterización del compuesto α,β -insaturado 143 .	35
4.1.4 Preparación del seco ceto ácido 144 .	38
4.1.4.1 Mecanismo de reacción propuesto para la obtención del seco ceto ácido 144 .	40
4.1.4.2 Caracterización del seco ceto ácido 144 .	41
4.1.5 Preparación del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).	47
4.1.5.1 Mecanismo de reacción para la obtención del azaesteroide 145 .	50
4.1.5.2 Caracterización del azaesteroide 145 .	51
4.2 Secuencia de reacciones propuesta para la obtención del acetato de (25 <i>R</i>)-6-aza-4-spirosten-7-ona (153).	54

4.2.1 Preparación y caracterización del acetato de diosgenina 146 .	57
4.2.2 Preparación del (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).	60
4.2.2.1 Mecanismo de reacción para la síntesis del derivado 147 .	61
4.2.2.2 Caracterización del (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).	63
4.2.3 Mecanismo de reacción de la síntesis del seco ceto ácido 148 .	68
4.2.3.1 Caracterización del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	69
4.2.4 Preparación del seco ceto ácido 149 y 150 .	74
4.2.4.1 Caracterización del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	75
4.2.4.2 Caracterización del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-nor-espirostan-6-oico (150).	79
4.2.5 Preparación de la oxima 151 .	84
4.2.5.1 Caracterización del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	84
4.2.6 Preparación de la B-homo lactama 152 .	89
4.2.6.1. Mecanismo de reacción para la obtención de la B-homo lactama 152 .	89
4.2.6.2 Caracterización del (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	90
5. CONCLUSIONES.	96
6. PARTE EXPERIMENTAL.	98
6.1 Equipos y técnicas utilizadas.	98
6.2 Disolventes y materias primas.	99
7. ANEXO 1. ESPECTRO DE PRODUCTOS PRINCIPALES OBTENIDOS.	116
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	132

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ax	Axial
Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcOH ó CH ₃ CO ₂ H	Ácido acético
AcOEt	Acetato de etilo
AcONa	Acetato de sodio
Al(<i>i</i> PrO) ₃	Isopropóxido de aluminio
Al ₂ O ₃	Trióxido de aluminio
Ar	Aromático
BF ₃ .Et ₂ O	Trifluoruro de boro eterado
Boc ₂ O	Dicarbonato de di- <i>tert</i> -butilo
BSTFA	Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida
Bz-Cl	Cloruro de benzoilo
C ₅ H ₅ N	Piridina
CaCO ₃	Carbonato de calcio
CCF	Cromatografía de capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
CH ₃ COCH ₃	Acetona
ClOH	Hidróxido de cloro
CoCl ₂	Cloruro de cobalto
COSY	Espectroscopía de correlación
CrO ₃	Trióxido de cromo
CuI	Yoduro de cobre
d	Doble
DBU	1,8 diazabicyclo [5,4,0] undeca-7-eno
DCE	Dicloroetano
DCM	Diclorometano
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de dobles de dobles
DEPT	Realce sin Distorsión por Transferencia de Polarización
DMAP	<i>N,N</i> -dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
ec	Ecuatorial
EP	Éter de petróleo
Et	Etilo
Et ₂ O	Éter etílico
EtOH	Etanol
H ₂	Hidrógeno
HCl	Ácido clorhídrico
HCONH ₂	Formamida
HCONHCH ₃	<i>N</i> -metilformamida
HCO ₂ H	Ácido fórmico
HlrcI ₆	Hexacloroiridio (IV)

H ₂ O	Agua
HMBC	Correlación heteronuclear de múltiples enlaces
HOCH ₂ CH ₂ OH	Etilenglicol
H ₃ PO ₃	Ácido fosforoso
HSQC	Espectroscopía de correlación heteronuclear cuántica
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
Hz	Hertz
Im ₂ CS	Tiocarbonilimidazol
(<i>i</i> -Pr) ₃ SiCl	Cloruro de triisopropilsilano
IR	Infrarrojo
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura Aplicada
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
KHCO ₃	Bicarbonato de potasio
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio
KOH	Hidróxido de sodio
KIO ₄	Peryodato de potasio
KMnO ₄	Permanganato de potasio
KNO ₂	Nitrito de potasio
Li	Litio
LiAlH ₄ ó LAH	Hidruro de litio y aluminio
LiOH	Hidróxido de litio
<i>m</i>	Múltiple
<i>ma</i>	Múltiple ancha
<i>m</i> -CPBA	Ácido <i>meta</i> -cloroperoxibenzóico
Me	Metilo
(Me) ₂ CHOH	Isopropanol
Mel	Yoduro de metilo
mmol	Milimol
MnO ₂	Dióxido de manganeso
Me ₃ O ⁻ F ₄ B ⁺	Tetrafluoroborato de trimetiloxonio
MeOH	Metanol
MsCl	Cloruro de mesilo
MW	Microondas
NaH	Hidruro de sodio
Na ₂ HPO ₄	Fosfato disódico
NaCl	Cloruro de sodio
NaClO ₂	Clorito de sodio
NaCN	Cianuro de sodio
NaIO ₄	Peryodato de sodio
NaMnO ₄	Permanganato de sodio
NaN ₃	Azida de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NH ₃	Amoníaco
NH ₄ OAc	Acetato de amonio
NH ₄ OH.HCl	Clorhidrato de hidroxilamina

<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Propil
O ₃	Ozono
ORTEP	Programa de Elipsoide Térmico Oak Ridge
PCC	Clorocromato de piridinio
Pd	Paladio
PDC	Dicromato de piridino
Pd/C	Paladio sobre Carbono activado
p.f	Punto de fusión
Ph	Fenil
Ph ₂ SiH ₂	Difenilsilano
(Ph ₃ P) ₃ RhCl	Cloruro de tris(trifenilfosfina) rodio
POCl ₃	Oxicloriguro de fósforo
PPH ₃	Trifenilfosfina
ppm	Partes por millón
Pt	Platino
PtO ₂	Óxido de platino
Py	Piridina
R	Sustituyente alquilo o arilo
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
TBAF	Fluoruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio
TBDPSCI	Cloruro de terbutildifenilsilano
<i>t</i> -BuOH	<i>Tert</i> -Butanol
TEOF	Trietil ortoformato
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
TMSCH ₂ MgCl	Cloruro de trimetilsililmethylmagnesio
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
s	Simple
sa	Simple ancha
SOCl ₂	Cloruro de tionilo
Zn	Zinc
¹ H RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
¹³ C RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
[α _D]	Alfa D (rotación óptica)
δ	Desplazamiento químico

ÍNDICE DE FIGURAS

Núm. de figura	Título	Pág.
1	Estructura, numeración y estereoquímica de las sapogeninas.	1
2	Estructuras azaesteroidales con actividad biológica.	3
3	Estructura de los derivados 7-alquilados de 77 .	16
4	Espectro de ^1H de diosgenina.	30
5	Espectro HMBC expandido de diosgenina.	31
6	Espectro de ^{13}C de diosgenina.	32
7	Espectro de ^1H del (25 <i>R</i>)-espirost-4-en-3-ona (143).	35
8	Espectro HSQC de (25 <i>R</i>)-espirost-4-en-3-ona (143).	36
9	Espectro de ^{13}C del (25 <i>R</i>)-espirost-4-en-3-ona (143).	37
10	Diagrama ORTEP de la estructura molecular de 143 con elipsoides de probabilidad.	38
11	Espectro de ^1H del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-3,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -espirostan-3-oico (144).	42
12	Espectro COSY del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-3,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -espirostan-3-oico (144).	43
13	Espectro HMBC del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-3,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -espirostan-3-oico (144).	43
14	Espectro de ^{13}C del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-3,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -espirostan-3-oico (144).	44
15	Diagrama ORTEP de la estructura molecular del derivado <i>seco</i> ácido 144 con elipsoides de probabilidad.	45
16	Celda cristalina del <i>seco</i> ácido 144 , que muestra la disposición en “cadena” de las moléculas en el estado sólido.	46
17	Gráfica de la reacción de ciclización en MW.	49

Núm. de figura	Título	Pág.
18	Espectro de ^1H del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).	52
19	Espectro COSY del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).	53
20	Espectro HMBC del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).	53
21	Espectro RMN de ^{13}C del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).	54
22	Espectro de ^1H del acetato de diosgenina.	57
23	Espectro COSY del acetato de diosgenina.	58
24	Espectro HSQC del acetato de diosgenina.	59
25	Espectro HMBC del acetato de diosgenina.	59
26	Espectro RMN de ^{13}C del acetato de diosgenina.	60
27	Distribución espacial de hidrógenos H-4 α x y H-7 α x en el acetato de diosgenina.	63
28	Espectro de ^1H del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)	64
29	Integración de protones del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147).	64
30	Espectro COSY del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)	66
31	Espectro HSQC del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)	66
32	Espectro HMBC del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)	67
33	Espectro de ^{13}C del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147).	68
34	Espectro de ^1H del ácido (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	70
35	Integración de protones del ácido (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	70

Núm. de figura	Título	Pág.
36	Espectro COSY del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	71
37	Espectro HSQC del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	71
38	Espectro HMBC del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	72
39	Espectro de ¹³ C del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	73
40	Espectro de ¹ H del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	76
41	Espectro COSY del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	76
42	Espectro HSQC del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	77
43	Espectro HMBC del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	77
44	Espectro de ¹³ C del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	78
45	Espectro de ¹ H del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	80
46	Integración de protones del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	80
47	Espectro COSY del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	81
48	Espectro HSQC del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	82
49	Espectro HMBC del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	82

Núm. de figura	Título	Pág.
50	Espectro de ^{13}C del ácido (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,7- <i>seco</i> -6- <i>no</i> espirostan-6-oico (150).	83
51	Espectro de ^1H del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	85
52	Integración de protones del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	85
53	Espectro COSY del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	86
54	Espectro HSQC del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	87
55	Espectro HMBC del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	87
56	Espectro de ^{13}C del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	88
57	Espectro de ^1H del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	91
58	Integración de protones del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	91
59	Espectro COSY del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	92
60	Espectro HSQC del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	93
61	Espectro HMBC del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	94
62	Espectro RMN de ^{13}C del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	95

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Núm. de esquema	Título	Pág.
1	Obtención de diosgenina a partir de la dioscina por hidrólisis ácida.	2
2	Síntesis de los derivados 4-azaesteroidales 12a-c, f .	5
3	Síntesis de una serie de derivados 7 β -sustituídos 4-azacolestan-3-onas.	6
4	Ruta de síntesis de los azaesteroides 25a-b .	7
5	Síntesis de la Dutasterida (33).	8
6	Síntesis del azaesteroide tipo espirostánico 38 .	9
7	Ruta de síntesis de la Finasterida (46).	10
8	Síntesis de los derivados 3-oxo-4-azaesteroidales 49a-f .	11
9	Síntesis de los azaesteroides 51 y 52 .	12
10	Síntesis del 6-azacolest-5-eno (58).	12
11	Preparación del derivado azaesteroide 60 .	13
12	Nueva síntesis del 6-azacolesterol 66 .	14
13	Síntesis de los azaesteroides 68, 69 y 70 .	15
14	Síntesis de los derivados 17-acilados de la 6-azaandrost-4-en-3-ona 76 .	16
15	Preparación del derivado 83 .	17
16	Síntesis de los metilados 90α,β .	18
17	Ruta de síntesis para la obtención de los derivados 6-azapregnanos 99a y 99b .	19
18	Ruta de síntesis para la obtención de los derivados 6-azapregnanos 103a, 103b y 103c .	20
19	Síntesis de la sal de oxaziridino 112 .	21
20	Ruta de síntesis de 19-hidroxi-6-azapregnanos 117 y 118 .	22

Núm. de esquema	Título	Pág.
21	Síntesis de la 19-hidroxi-6-azaprogesterona 121 y 6-azaprogesterona 120 .	22
22	Primera ruta de síntesis de la B-D bilactama 127 .	23
23	Segunda ruta de síntesis de la B-D bilactama 127 .	24
24	Síntesis de la enamida tipo lactama 141 .	25
25	Estrategia para la síntesis de derivados 4 y 6-azaesteroidales.	27
26	Secuencia de reacciones para la preparación del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).	28
27	Mecanismo de reacción de la oxidación de la diosgenina.	34
28	Mecanismo de reacción de la isomerización de la diosgenona.	34
29	Mecanismo de reacción propuesto para la oxidación del compuesto 143 .	41
30	Mecanismo de reacción para la formación del azaesteroide 145 .	51
31	Secuencia de reacciones para la preparación del acetato de (25 <i>R</i>)-6-aza-4-spirosten-7-ona (153).	55
32	Secuencia de reacciones que condujeron a 149 .	56
33	Síntesis del derivado B-homo azaesteroide 152 .	56
34	Productos de oxidación del acetato de diosgenina (146).	61
35	Posible mecanismo de oxidación alílica para formar compuestos α,β -insaturados.	62
36	Mecanismo de reacción de la síntesis del seco ceto ácido 148 .	69
37	Mecanismo de reacción para la formación del azaesteroide 152 .	89

ÍNDICE DE TABLAS

Núm. de tabla	Título	Pág.
1	Comparación de parámetros en la formación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.	33
2	Comparación de metodologías empleadas para la oxidación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.	39
3	Comparación de metodologías empleadas para la oxidación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.	48
4	Resultados de la gráfica de la reacción de ciclación.	49
5	Metodologías de oxidación conservando el grupo acetato en C-3.	75



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

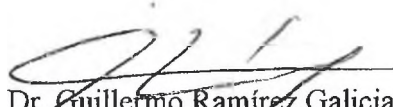
San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca a 4 de Diciembre de 2014

LP Yesenia Barrientos Arenal
Jefa de Servicios Escolares
Universidad del Papaloapan

Sirva la presente para informarle que el jurado para el examen para obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas del IQ. Anselmo Aarón Martínez Gallegos, matrícula 10130001, ha autorizado la impresión del manuscrito que lleva por título “**Síntesis de nuevos azaesteroides a partir de diosgenina**” para su posterior presentación y defensa por parte del sustentante.

Sin otro asunto en particular me despido quedando atento ante cualquier duda o aclaración.

Atentamente,


Dr. Guillermo Ramírez Galicia
Jefe de la División de Estudios de Posgrado
Cubículo 10. gramirez@unpa.edu.mx, memorgal@unpa.edu.mx



Cep IQ. Anselmo Aarón Martínez Gallegos
Cep Archivo

CAMPUS TUXTEPEC

C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial.
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax. Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA

Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax. Tel. 01(281)8729230

El presente trabajo de tesis de investigación fue realizado con el apoyo de la beca CONACYT del proyecto Ciencia Básica CB-2007-01 No. 83049. Agradezco a CONACYT el apoyo otorgado.

Parte de este trabajo de tesis de investigación fue presentado en los siguientes congresos:

- **10a Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales “Dr. Leovigildo Quijano”** con el trabajo titulado: **“Una metodología conveniente para obtención de precursores de polímeros de adición a partir de diosgenina”**, el cual se llevó a cabo en Mérida, Yucatán, México, del 21 al 24 de Mayo del 2014.
- **10a Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica** con el trabajo titulado: **“Uso de sapogeninas para la obtención de azaesteroides espiroestánicos”**, el cual se llevó a cabo en San Luis Potosí, México, del 05 al 09 de Mayo del 2014.
- **8va Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales “Dr. Alfredo Ortega Hernández”** con los trabajos titulados: **“Obtención de tri-esteroides a partir de dioscina extraída de *Dioscorea composita*”**, el cual se llevó a cabo en Huatulco, Oaxaca, México, del 23 al 25 de Mayo del 2012.
- **46vo. Congreso Mexicano de Química**, con el trabajo titulado **“Síntesis rápida de aminoesteroides precursores de antitumorales”**, el cual se llevó a cabo en Querétaro, Qro., México, del 10 al 14 de Septiembre del 2011.

Parte de éste trabajo de investigación fue publicado en los siguientes artículos *in extenso*:

- “Una metodología conveniente para obtención de precursores de polímeros de adición a partir de diosgenina”. Alan Carrasco Carballo, Gabriel Guerrero Luna, Anselmo A. Martínez Gallegos, Ma. Guadalupe Hernández Linares. *Revista Latinoamericana de Química*, **2014**, 42, 183.
- “Obtención de *tri*-esteroides a partir de dioscina extraída de *Dioscorea composita*”. **Ma. Guadalupe Hernández Linares***, Gabriel Guerrero Luna, Omar Viñas Bravo, Anselmo A. Martínez Gallegos. *Revista Latinoamericana de Química*, **2012**, 39, 319.
- “Síntesis de la (20*R*)-20-acetil-7-oxopregnan-3,5-dien-20,16 β -carbolactona por irradiación de microondas”. **Ma. Guadalupe Hernández Linares***, Gabriel Guerrero Luna, Omar Viñas Bravo, Roxana Martínez Pascual, Anselmo A. Martínez Gallegos, Sylvain Bernès. *Revista Latinoamericana de Química*, **2012**, 39, 327.

Parte de éste trabajo de investigación fue publicado en el artículo científico:

- Diosgenin hemihydrate. Hernández-Linares, G.; Bernès, S.; Flores-Álamo, M.; Guerrero-Luna, G.; **Martínez-Gallegos, A. A.** *Acta Cryst.***2012**, E68, o2357.

DEDICATORIA

A mi madre la Sra. Teresa Gallegos Cortés, por nunca dejar de creer en mí y brindarme siempre su confianza y apoyo.

A mi padre, el Sr. Francisco Martínez Ciriaco Q.E.P.D. por demostrarme que se puede llegar tan lejos como uno quiera, por enseñarme que no hay que rendirse nunca y por ser uno de mis principales motivos para seguir adelante....†

“Ya no pudiste ver concluido esta nueva etapa pero sé que desde allá donde te encuentres estarás muy orgulloso de mí, siempre caminarás a mi lado donde el destino me lleve y nunca me dejaras solo....te amo y te extraño mi viejo”

AGRADECIMIENTOS

A mis hermanas, quienes siempre me dieron su confianza y apoyo cuando más lo necesite.

A mi asesora, Dra. María Guadalupe Hernández Linares y al Ing. Gabriel Guerrero Luna, por darme la oportunidad de superarme y por la confianza brindada en todo momento hasta la conclusión de este trabajo.

A mi asesor, Dr. Omar Viñas Bravo y a la M.C. Roxana Martínez Pascual, por compartir sus conocimientos, sus acertadas aportaciones y por el apoyo incondicional brindado en todo momento.

Al Dr. Sylvain Bernès por su ayuda y apoyo en la difracción de rayos X y de Monocristal.

Al estudiante de Ingeniería Química Alan, quien fue colaborador importante para la conclusión de éste trabajo.

Al Dr. Víctor Manuel Rivera Arredondo, por demostrarme el valor de la verdadera amistad.

Al Dr. Mario Alberto Magaña, por brindarme un espacio y amistad incondicional.

A mis compañeros de postgrado Alex, Miguel, Sandra, Diana y Shunashi, con quienes compartí grande momentos durante mi estancia en la universidad.

A mis profesores del postgrado, porque cada enseñanza fue una valiosa aportación.

Al Ing. Clemente Cruz Hernández, por darme la oportunidad de trabajar en su empresa y así apoyarme para terminar éste trabajo.

Al Ing. Joel Escamilla Mar, por el tiempo y apoyo incondicional brindado en todo momento hasta concluir ésta nueva etapa.

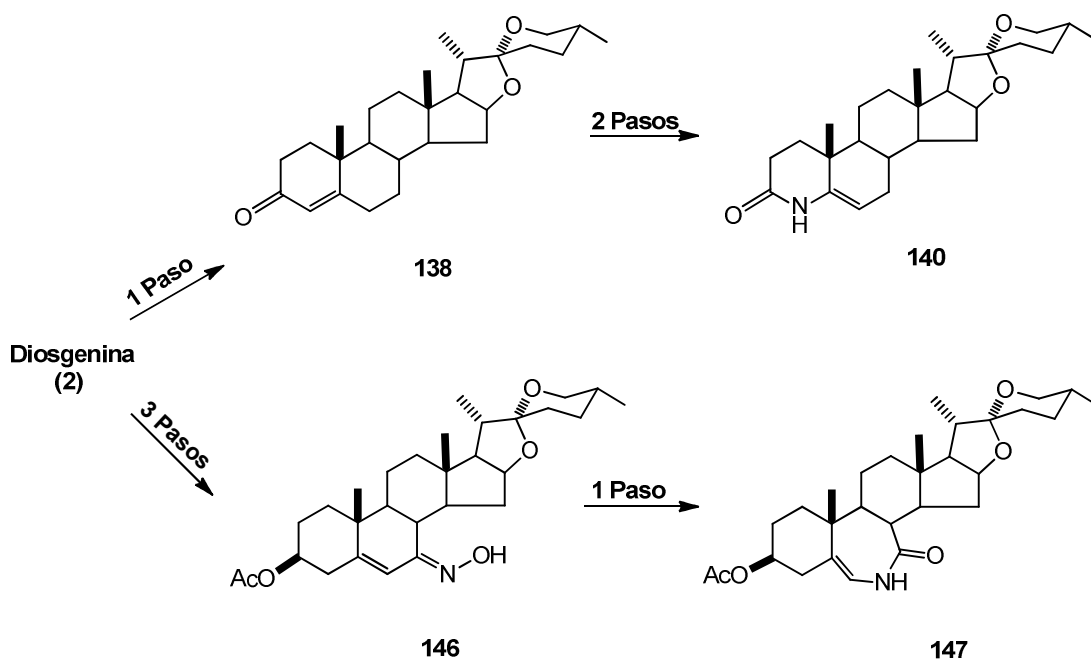
A mis nuevos amigos, estudiantes de la UNISTMO, quienes invirtieron su tiempo y espacio para apoyarme, a quienes les estaré siempre agradecido.

A todas y cada una de las personas que de alguna manera estuvieron involucrados en el proceso de mi formación. A todos muchas gracias.

A CONACYT por la beca otorgada.

RESUMEN.

En el presente trabajo de tesis se reporta la síntesis de dos nuevos azaesteroides a partir de la modificación de los anillos A y B de la diosgenina **2**. El compuesto **140** fue preparado en tres pasos utilizando como precursor al 3-ceto- Δ^4 **138**, el cual fue oxidado con $\text{KMnO}_4/\text{KIO}_4$ seguido de una escisión oxidativa en el anillo A y posteriormente ciclado con una sal de amonio haciendo uso del microondas focalizado. Un segundo azaesteroide fue sintetizado siendo el paso clave el rearrreglo de Beckmann de la oxima **146** en el anillo B con lo cual se obtuvo la enamida tipo lactama **147** en un rendimiento del 51 %. Las metodologías empleadas para la síntesis de los precursores dan mejores rendimientos comparados con los reportados en la literatura^{6,21}. Para la caracterización de los diferentes compuestos se empleó RMN de ^1H , ^{13}C y experimentos bidimensionales, así como también masas de alta resolución (HRMS), IR y, en algunos casos, difracción de rayos X.



ÍNDICE

Abreviaturas y símbolos.	III
Índice de figuras.	VI
Índice de esquemas.	X
Índice de tablas.	XII
Resumen.	XIII
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. ANTECEDENTES.	5
2.1 Síntesis de 4-azaesteroides.	5
2.2 Síntesis de 6-azaesteroides.	12
2.3 Síntesis de B-lactamas.	23
3. OBJETIVOS.	26
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
4.1 Secuencia de reacciones para la obtención del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145)	27
4.1.1 Caracterización de la diosgenina.	28
4.1.2 Preparación del compuesto α,β -insaturado 143 .	32
4.1.2.1 Mecanismo de reacción para la obtención del compuesto α,β -insaturado 143 .	33
4.1.3 Caracterización del compuesto α,β -insaturado 143 .	35
4.1.4 Preparación del seco ceto ácido 144 .	38
4.1.4.1 Mecanismo de reacción propuesto para la obtención del seco ceto ácido 144 .	40
4.1.4.2 Caracterización del seco ceto ácido 144 .	41
4.1.5 Preparación del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).	47
4.1.5.1 Mecanismo de reacción para la obtención del azaesteroide 145 .	50
4.1.5.2 Caracterización del azaesteroide 145 .	51
4.2 Secuencia de reacciones propuesta para la obtención del acetato de (25 <i>R</i>)-6-aza-4-spirosten-7-ona (153).	54

4.2.1 Preparación y caracterización del acetato de diosgenina 146 .	57
4.2.2 Preparación del (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).	60
4.2.2.1 Mecanismo de reacción para la síntesis del derivado 147 .	61
4.2.2.2 Caracterización del (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).	63
4.2.3 Mecanismo de reacción de la síntesis del seco ceto ácido 148 .	68
4.2.3.1 Caracterización del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	69
4.2.4 Preparación del seco ceto ácido 149 y 150 .	74
4.2.4.1 Caracterización del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	75
4.2.4.2 Caracterización del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-nor-espirostan-6-oico (150).	79
4.2.5 Preparación de la oxima 151 .	84
4.2.5.1 Caracterización del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	84
4.2.6 Preparación de la B-homo lactama 152 .	89
4.2.6.1. Mecanismo de reacción para la obtención de la B-homo lactama 152 .	89
4.2.6.2 Caracterización del (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	90
5. CONCLUSIONES.	96
6. PARTE EXPERIMENTAL.	98
6.1 Equipos y técnicas utilizadas.	98
6.2 Disolventes y materias primas.	99
7. ANEXO 1. ESPECTRO DE PRODUCTOS PRINCIPALES OBTENIDOS.	116
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	132

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ax	Axial
Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcOH ó CH ₃ CO ₂ H	Ácido acético
AcOEt	Acetato de etilo
AcONa	Acetato de sodio
Al(<i>i</i> PrO) ₃	Isopropóxido de aluminio
Al ₂ O ₃	Trióxido de aluminio
Ar	Aromático
BF ₃ .Et ₂ O	Trifluoruro de boro eterado
Boc ₂ O	Dicarbonato de di- <i>tert</i> -butilo
BSTFA	Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida
Bz-Cl	Cloruro de benzoilo
C ₅ H ₅ N	Piridina
CaCO ₃	Carbonato de calcio
CCF	Cromatografía de capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
CH ₃ COCH ₃	Acetona
ClOH	Hidróxido de cloro
CoCl ₂	Cloruro de cobalto
COSY	Espectroscopía de correlación
CrO ₃	Trióxido de cromo
CuI	Yoduro de cobre
d	Doble
DBU	1,8 diazabicyclo [5,4,0] undeca-7-eno
DCE	Dicloroetano
DCM	Diclorometano
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de dobles de dobles
DEPT	Realce sin Distorsión por Transferencia de Polarización
DMAP	<i>N,N</i> -dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
ec	Ecuatorial
EP	Éter de petróleo
Et	Etilo
Et ₂ O	Éter etílico
EtOH	Etanol
H ₂	Hidrógeno
HCl	Ácido clorhídrico
HCONH ₂	Formamida
HCONHCH ₃	<i>N</i> -metilformamida
HCO ₂ H	Ácido fórmico
HlrcI ₆	Hexacloroiridio (IV)

H ₂ O	Agua
HMBC	Correlación heteronuclear de múltiples enlaces
HOCH ₂ CH ₂ OH	Etilenglicol
H ₃ PO ₃	Ácido fosforoso
HSQC	Espectroscopía de correlación heteronuclear cuántica
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
Hz	Hertz
Im ₂ CS	Tiocarbonilimidazol
(<i>i</i> -Pr) ₃ SiCl	Cloruro de triisopropilsilano
IR	Infrarrojo
IUPAC	Union Internacional de Química Pura Aplicada
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
KHCO ₃	Bicarbonato de potasio
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio
KOH	Hidróxido de sodio
KIO ₄	Peryodato de potasio
KMnO ₄	Permanganato de potasio
KNO ₂	Nitrito de potasio
Li	Litio
LiAlH ₄ ó LAH	Hidruro de litio y aluminio
LiOH	Hidróxido de litio
<i>m</i>	Múltiple
<i>ma</i>	Múltiple ancha
<i>m</i> -CPBA	Ácido <i>meta</i> -cloroperoxibenzóico
Me	Metilo
(Me) ₂ CHOH	Isopropanol
MeI	Yoduro de metilo
mmol	Milimol
MnO ₂	Dióxido de manganeso
Me ₃ O ⁻ F ₄ B ⁺	Tetrafluoroborato de trimetiloxonio
MeOH	Metanol
MsCl	Cloruro de mesilo
MW	Microondas
NaH	Hidruro de sodio
Na ₂ HPO ₄	Fosfato disódico
NaCl	Cloruro de sodio
NaClO ₂	Clorito de sodio
NaCN	Cianuro de sodio
NaIO ₄	Peryodato de sodio
NaMnO ₄	Permanganato de sodio
NaN ₃	Azida de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NH ₃	Amoníaco
NH ₄ OAc	Acetato de amonio
NH ₄ OH.HCl	Clorhidrato de hidroxilamina

<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Propil
O ₃	Ozono
ORTEP	Programa de Elipsoide Térmico Oak Ridge
PCC	Clorocromato de piridinio
Pd	Paladio
PDC	Dicromato de piridino
Pd/C	Paladio sobre Carbono activado
p.f.	Punto de fusión
Ph	Fenil
Ph ₂ SiH ₂	Difenilsilano
(Ph ₃ P) ₃ RhCl	Cloruro de tris(trifenilfosfina) rodio
POCl ₃	Oxicloruro de fósforo
PPH ₃	Trifenilfosfina
ppm	Partes por millón
Pt	Platino
PtO ₂	Óxido de platino
Py	Piridina
R	Sustituyente alquilo o arilo
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RX	Rayos X
rxn	Reacción
TBAF	Fluoruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio
TBDPSCI	Cloruro de terbutildifenilsilano
<i>t</i> -BuOH	<i>Tert</i> -Butanol
TEOF	Trietil ortoformato
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
TMSCH ₂ MgCl	Cloruro de trimetilsililmagnésio
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
s	Simple
sa	Simple ancha
SOCl ₂	Cloruro de tionilo
Zn	Zinc
¹ H RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
¹³ C RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
[α _D]	Alfa D (rotación óptica)
δ	Desplazamiento químico

ÍNDICE DE FIGURAS

Núm. de figura	Título	Pág.
1	Estructura, numeración y estereoquímica de las sapogeninas.	1
2	Estructuras azaesteroidales con actividad biológica.	3
3	Estructura de los derivados 7-alquilados de 77 .	16
4	Espectro de ^1H de diosgenina.	30
5	Espectro HMBC expandido de diosgenina.	31
6	Espectro de ^{13}C de diosgenina.	32
7	Espectro de ^1H del (25 <i>R</i>)-espirost-4-en-3-ona (143).	35
8	Espectro HSQC de (25 <i>R</i>)-espirost-4-en-3-ona (143).	36
9	Espectro de ^{13}C del (25 <i>R</i>)-espirost-4-en-3-ona (143).	37
10	Diagrama ORTEP de la estructura molecular de 143 con elipsoides de probabilidad.	38
11	Espectro de ^1H del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-3,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -espirostan-3-oico (144).	42
12	Espectro COSY del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-3,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -espirostan-3-oico (144).	43
13	Espectro HMBC del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-3,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -espirostan-3-oico (144).	43
14	Espectro de ^{13}C del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-3,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -espirostan-3-oico (144).	44
15	Diagrama ORTEP de la estructura molecular del derivado <i>seco</i> ácido 144 con elipsoides de probabilidad.	45
16	Celda cristalina del <i>seco</i> ácido 144 , que muestra la disposición en “cadena” de las moléculas en el estado sólido.	46
17	Gráfica de la reacción de ciclización en MW.	49

Núm. de figura	Título	Pág.
18	Espectro de ^1H del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).	52
19	Espectro COSY del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).	53
20	Espectro HMBC del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).	53
21	Espectro RMN de ^{13}C del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).	54
22	Espectro de ^1H del acetato de diosgenina.	57
23	Espectro COSY del acetato de diosgenina.	58
24	Espectro HSQC del acetato de diosgenina.	59
25	Espectro HMBC del acetato de diosgenina.	59
26	Espectro RMN de ^{13}C del acetato de diosgenina.	60
27	Distribución espacial de hidrógenos H-4 α x y H-7 α x en el acetato de diosgenina.	63
28	Espectro de ^1H del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)	64
29	Integración de protones del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147).	64
30	Espectro COSY del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)	66
31	Espectro HSQC del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)	66
32	Espectro HMBC del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)	67
33	Espectro de ^{13}C del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (147).	68
34	Espectro de ^1H del ácido (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	70
35	Integración de protones del ácido (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	70

Núm. de figura	Título	Pág.
36	Espectro COSY del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	71
37	Espectro HSQC del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	71
38	Espectro HMBC del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	72
39	Espectro de ¹³ C del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).	73
40	Espectro de ¹ H del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	76
41	Espectro COSY del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	76
42	Espectro HSQC del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	77
43	Espectro HMBC del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	77
44	Espectro de ¹³ C del ácido (25 <i>R</i>)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).	78
45	Espectro de ¹ H del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	80
46	Integración de protones del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	80
47	Espectro COSY del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	81
48	Espectro HSQC del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	82
49	Espectro HMBC del ácido (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).	82

Núm. de figura	Título	Pág.
50	Espectro de ^{13}C del ácido (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,7- <i>seco</i> -6- <i>no</i> espirostan-6-oico (150).	83
51	Espectro de ^1H del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	85
52	Integración de protones del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	85
53	Espectro COSY del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	86
54	Espectro HSQC del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	87
55	Espectro HMBC del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	87
56	Espectro de ^{13}C del acetato de (25 <i>R</i> , 7 <i>E</i>)-hidroximinoespirost-5-eno (151).	88
57	Espectro de ^1H del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	91
58	Integración de protones del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	91
59	Espectro COSY del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	92
60	Espectro HSQC del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	93
61	Espectro HMBC del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	94
62	Espectro RMN de ^{13}C del (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).	95

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Núm. de esquema	Título	Pág.
1	Obtención de diosgenina a partir de la dioscina por hidrólisis ácida.	2
2	Síntesis de los derivados 4-azaesteroidales 12a-c, f .	5
3	Síntesis de una serie de derivados 7 β -sustituídos 4-azacolestan-3-onas.	6
4	Ruta de síntesis de los azaesteroides 25a-b .	7
5	Síntesis de la Dutasterida (33).	8
6	Síntesis del azaesteroide tipo espirostánico 38 .	9
7	Ruta de síntesis de la Finasterida (46).	10
8	Síntesis de los derivados 3-oxo-4-azaesteroidales 49a-f .	11
9	Síntesis de los azaesteroides 51 y 52 .	12
10	Síntesis del 6-azacolest-5-eno (58).	12
11	Preparación del derivado azaesteroidal 60 .	13
12	Nueva síntesis del 6-azacolesterol 66 .	14
13	Síntesis de los azaesteroides 68, 69 y 70 .	15
14	Síntesis de los derivados 17-acilados de la 6-azaandrost-4-en-3-ona 76 .	16
15	Preparación del derivado 83 .	17
16	Síntesis de los metilados 90α,β .	18
17	Ruta de síntesis para la obtención de los derivados 6-azapregnanos 99a y 99b .	19
18	Ruta de síntesis para la obtención de los derivados 6-azapregnanos 103a, 103b y 103c .	20
19	Síntesis de la sal de oxaziridino 112 .	21
20	Ruta de síntesis de 19-hidroxi-6-azapregnanos 117 y 118 .	22

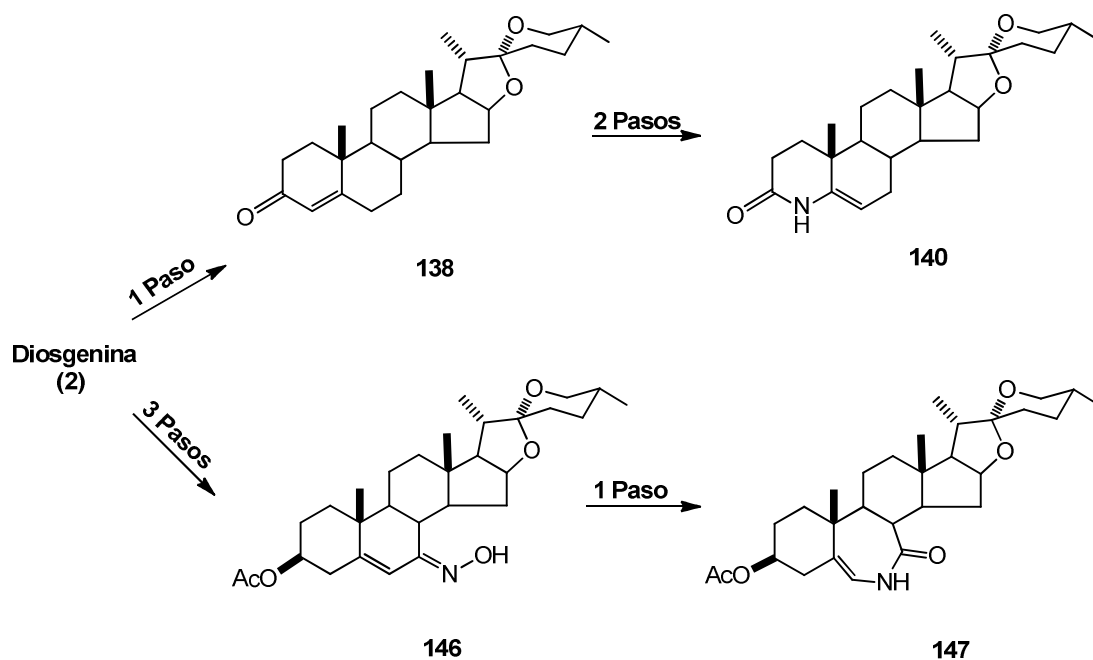
Núm. de esquema	Título	Pág.
21	Síntesis de la 19-hidroxi-6-azaprogesterona 121 y 6-azaprogesterona 120 .	22
22	Primera ruta de síntesis de la B-D bilactama 127 .	23
23	Segunda ruta de síntesis de la B-D bilactama 127 .	24
24	Síntesis de la enamida tipo lactama 141 .	25
25	Estrategia para la síntesis de derivados 4 y 6-azaesteroidales.	27
26	Secuencia de reacciones para la preparación del (25 <i>R</i>)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).	28
27	Mecanismo de reacción de la oxidación de la diosgenina.	34
28	Mecanismo de reacción de la isomerización de la diosgenona.	34
29	Mecanismo de reacción propuesto para la oxidación del compuesto 143 .	41
30	Mecanismo de reacción para la formación del azaesteroide 145 .	51
31	Secuencia de reacciones para la preparación del acetato de (25 <i>R</i>)-6-aza-4-spirosten-7-ona (153).	55
32	Secuencia de reacciones que condujeron a 149 .	56
33	Síntesis del derivado B-homo azaesteroide 152 .	56
34	Productos de oxidación del acetato de diosgenina (146).	61
35	Posible mecanismo de oxidación alílica para formar compuestos α,β -insaturados.	62
36	Mecanismo de reacción de la síntesis del seco ceto ácido 148 .	69
37	Mecanismo de reacción para la formación del azaesteroide 152 .	89

ÍNDICE DE TABLAS

Núm. de tabla	Título	Pág.
1	Comparación de parámetros en la formación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.	33
2	Comparación de metodologías empleadas para la oxidación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.	39
3	Comparación de metodologías empleadas para la oxidación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.	48
4	Resultados de la gráfica de la reacción de ciclación.	49
5	Metodologías de oxidación conservando el grupo acetato en C-3.	75

RESUMEN.

En el presente trabajo de tesis se reporta la síntesis de dos nuevos azaesteroides a partir de la modificación de los anillos A y B de la diosgenina **2**. El compuesto **140** fue preparado en tres pasos utilizando como precursor al 3-ceto- Δ^4 **138**, el cual fue oxidado con $\text{KMnO}_4/\text{KIO}_4$ seguido de una escisión oxidativa en el anillo A y posteriormente ciclado con una sal de amonio haciendo uso del microondas focalizado. Un segundo azaesteroide fue sintetizado siendo el paso clave el rearrreglo de Beckmann de la oxima **146** en el anillo B con lo cual se obtuvo la enamida tipo lactama **147** en un rendimiento del 51 %. Las metodologías empleadas para la síntesis de los precursores dan mejores rendimientos comparados con los reportados en la literatura^{6,21}. Para la caracterización de los diferentes compuestos se empleó RMN de ^1H , ^{13}C y experimentos bidimensionales, así como también masas de alta resolución (HRMS), IR y, en algunos casos, difracción de rayos X.



1. INTRODUCCIÓN

Los esteroides son compuestos orgánicos ampliamente distribuidos en la naturaleza, tienen importantes funciones biológicas en los seres vivos que los producen y cuando son administrados a otros organismos pueden causar efectos fisiológicos, puesto que tienen la habilidad de entrar a las membranas celulares y asociarse con diversos receptores. Según la IUPAC¹, los esteroides se definen como compuestos que poseen un esqueleto ciclopentaperhidrofenantreno o un derivado de éste mediante rupturas, alargamientos o contracciones de los anillos. Cuando se modifica el núcleo o la cadena lateral de los esteroides pueden resultar derivados muy interesantes desde el punto de vista biológico que pueden tener aplicación en el desarrollo de nuevos fármacos.

Los esteroides se clasifican en diversas familias que tienen similitudes estructurales, por ejemplo, brasinoesteroides, ecdisonas, hormonas sexuales y adrenocorticales, ácidos biliares, sapogeninas esteroidales, etc. En particular, las sapogeninas esteroidales son un grupo de compuestos muy importantes porque han servido para síntesis de diversos compuestos bioactivos, el principal de ellos, la noretisterona, principio activo del primer anticonceptivo oral. Desde el punto de vista estructural conforman seis anillos fusionados (A-F) y su numeración, según la IUPAC debe ser como se muestra en la figura 1.

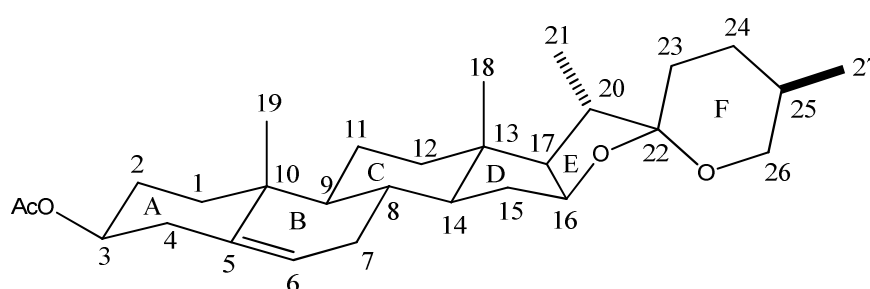
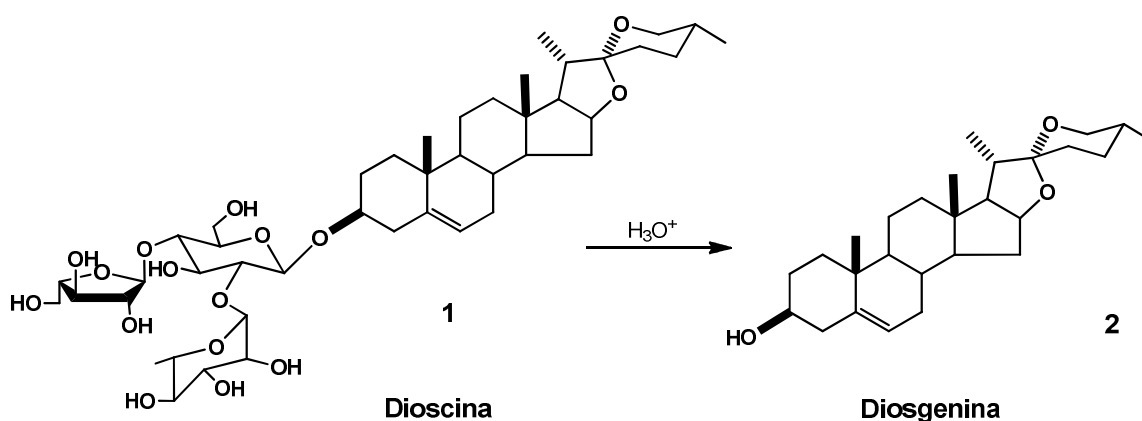


Figura 1. Estructura, numeración y estereoquímica de las sapogeninas.

La mayoría de los estirostanos conocidos pertenecen a la serie 5α (fusión A/B trans) y una minoría a la serie 5β (fusión A/B cis); algunos tienen insaturaciones en C-5 como la diosgenina, que es una de las principales materias primas para la obtención

de hormonas; además pueden encontrarse grupos hidroxilo en las posiciones 2, 6, 12, 15 y 17. Por lo general, las sapogeninas presentan 3 centros estereogénicos adicionales a los comprendidos en la nomenclatura de la IUPAC: el 16S, 22S y en C-26.

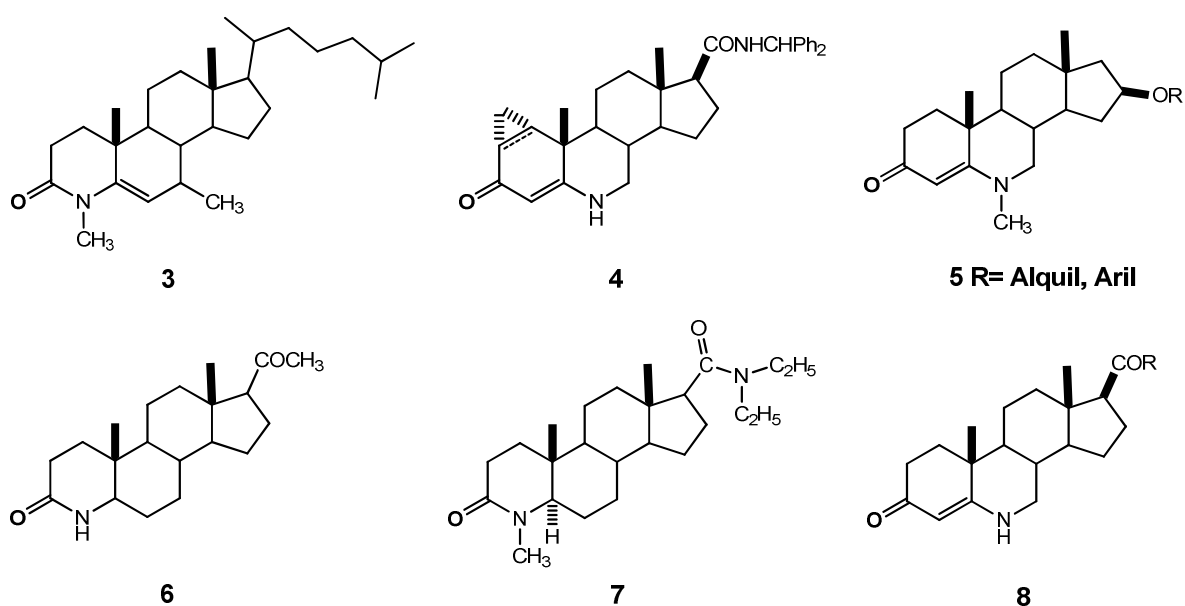
La diosgenina (**2**) es una sapogenina que ha sido aislada de diversos órganos vegetales en las familias de las monocotiledóneas, especialmente en las dioscoreáceas (*Dioscorea*), agaváceas (*Agave*, *Yucca*) y liliáceas (*Smilax* y *Trillium*). La diosgenina se obtiene por medio de hidrólisis enzimática o química a partir de la dioscina (**1**) (esquema 1); el grupo acetal en la cadena lateral y la doble ligadura de C-5 hacen de la diosgenina una molécula atractiva como materia prima en la síntesis de fármacos esteroideos².



Esquema 1. Obtención de diosgenina a partir de la dioscina por hidrólisis ácida.

Algunas modificaciones de la diosgenina han dado como resultado la formación de oxa-, tia- y aza-esteroides³. La introducción de un heteroátomo o sustitución de uno o más átomos de carbono en la molécula del esteroide por un heteroátomo afecta a las propiedades químicas de la molécula y puede alterar su actividad biológica, viéndose en muchas ocasiones incrementada, generando productos de mayor importancia a nivel farmacológico. En los últimos años ha habido un creciente desarrollo en la síntesis de heteroesteroides, en particular de azaesteroides⁴.

Los azaesteroides forman una familia de compuestos de gran interés, debido al amplio rango de actividades biológicas que presentan, un ejemplo de ello es la inhibición de la enzima 5α -reductasa⁵ en la conversión de testosterona a 5α -dihidrotestosterona. La formación de esta última está relacionada con la presencia de enfermedades como la hipertrofia prostática benigna, acné, hirsutismo, calvicie en varones⁶ y permite establecer un tratamiento para estas enfermedades. Otras actividades biológicas encontradas en los azaesteroides son anticancerígena⁷, antiparasitaria⁸, antibacteriana⁹, antifúngica¹⁰, inhibidora de PI-PLC¹¹ y antiinflamatoria¹². Algunas estructuras azaesteroidales bioactivas¹³⁻¹⁸ se muestran en la figura 2.



Inhibidor de enzima 5α -reductasa tipo 1	3, 5, 6 y 7
Inhibidor de enzima 5α -reductasa tipo 1 y 2	4 y 8

Figura 2. Estructuras azaesteroidales con actividad biológica.

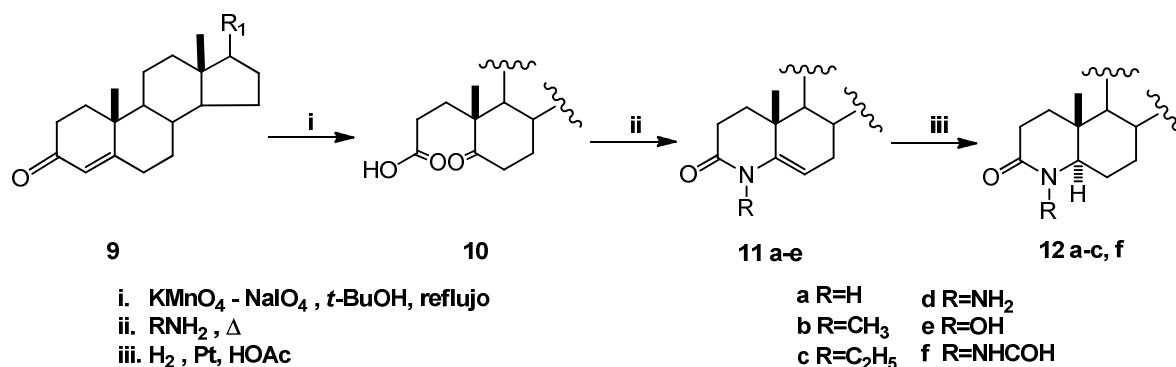
Las propiedades de los azaesteroides muestran la gran importancia en la generación de estructuras novedosas de esta clase de compuestos para su estudio biológico y la necesidad de establecer el desarrollo de nuevas metodologías para su síntesis. En base a lo anterior, el presente trabajo de investigación está dedicado a la síntesis de nuevos azaesteroides a partir de la diosgenina como materia prima versátil modificando los anillos A y B, ya que la obtención de derivados 4-aza y 6-azaesteroidales a partir de dicha molécula genera un gran interés en el estudio de sus reactividades y evaluación de sus actividades biológicas.

2. ANTECEDENTES

En la literatura se encuentran descritas la síntesis de distintos tipos de azaesteroides, los cuales se caracterizan por contener dentro de su esqueleto esteroidal un átomo de nitrógeno que le proporciona actividades biológicas de gran interés¹³⁻¹⁸. A continuación se presenta una revisión sobre los reportes en la síntesis de B-homolactamas y de 4 y 6-azaesteroides dado que en el presente trabajo se prepararon azaesteroides de estos tipos partiendo de diosgenina.

2.1 Síntesis de 4-Azaesteroides.

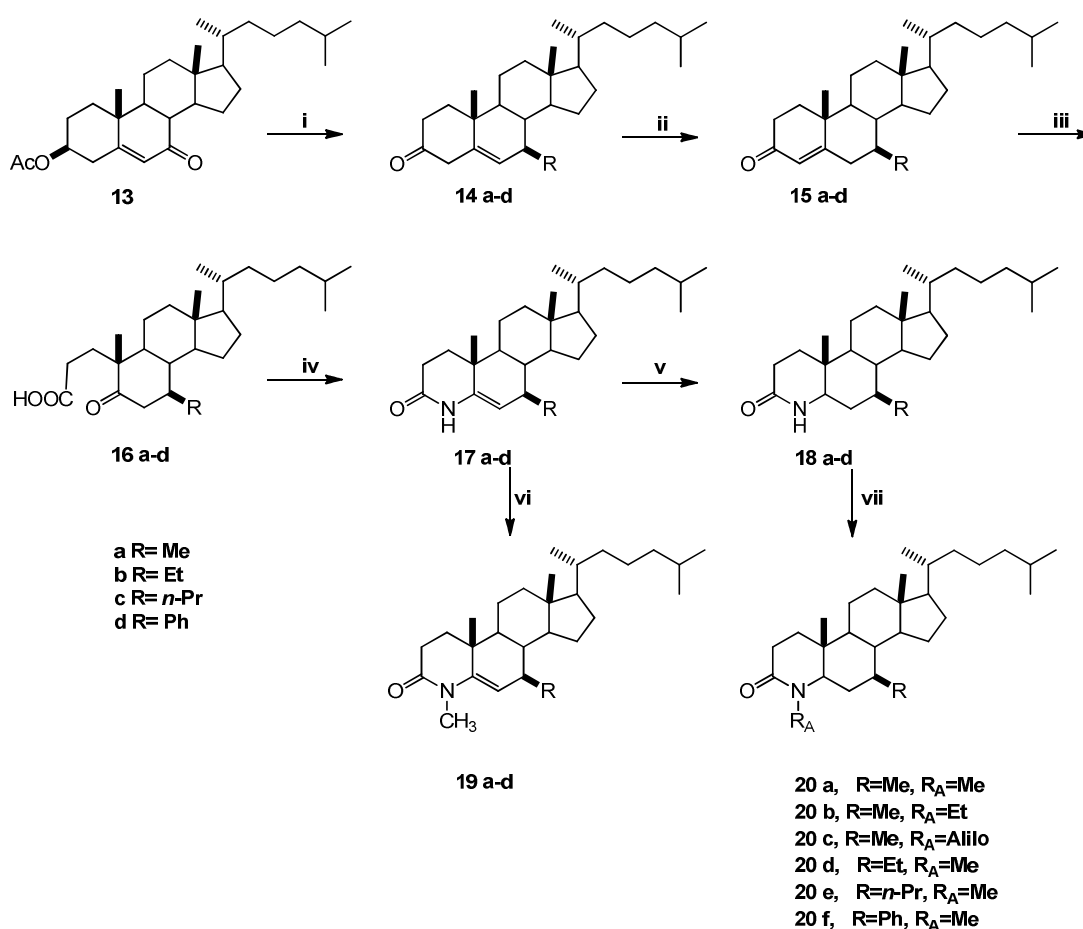
En 1986, Rasmusson¹⁹ preparó una serie de 4-azaesteroides utilizando esteroides 3-ceto- Δ^4 con núcleos de androsteno como precursores (esquema 2). La oxidación del doble enlace produjo *seco ceto* ácidos **10**, los cuales fueron ciclados con una amina apropiada a altas temperaturas para dar las ene lactamas **11 a-e**. La subsecuente hidrogenación catalítica con platino produjo selectivamente los 5α -4-azaesteroides **12 a-c, f**. Los productos 4-azaesteroidales fueron examinados *in vitro* como inhibidores de la 5α -reductasa en próstatas de ratas y posteriormente en humanos, obteniendo mejores resultados en los primeros.



Esquema 2. Síntesis de los derivados 4-azaesteroidales 12 a-c, f.

En 1994, Bakshi²⁰ reportó una síntesis estereoselectiva de una serie nueva de 4-azacolestan-3-onas 7β -sustituídos y su actividad *in vitro* contra enzimas humanas 5α -reductasa tipo 1 y 2 (esquema 3). La síntesis comenzó con la oxidación alílica del acetato de colesterilo produciendo **13**. Para introducir el grupo R en C-7 se hizo

reaccionar a **13** con un reactivo organometálico y la subsecuente reducción del alcohol generado produjo las enonas 7 β -sustituídas **14 a-d** que fueron convertidas a las cetonas α,β -insaturadas **15 a-d** por reacción con DBU en THF. La oxidación del anillo A de los compuestos **15 a-d** se llevó a cabo con KMnO₄/KIO₄ para obtener los *seco ceto* ácidos **16 a-d**, los cuales fueron ciclados a reflujo con una solución de acetato de amonio en ácido acético para dar los correspondientes azaesteroides **17 a-d**. La hidrogenación catalítica de los esteroides **17 a-d** con platino generó los derivados 5 α -reducidos **18 a-d**. La hidrogenación catalítica de los esteroides **17 a-d** con platino generó los derivados 5 α -reducidos **18 a-d**.

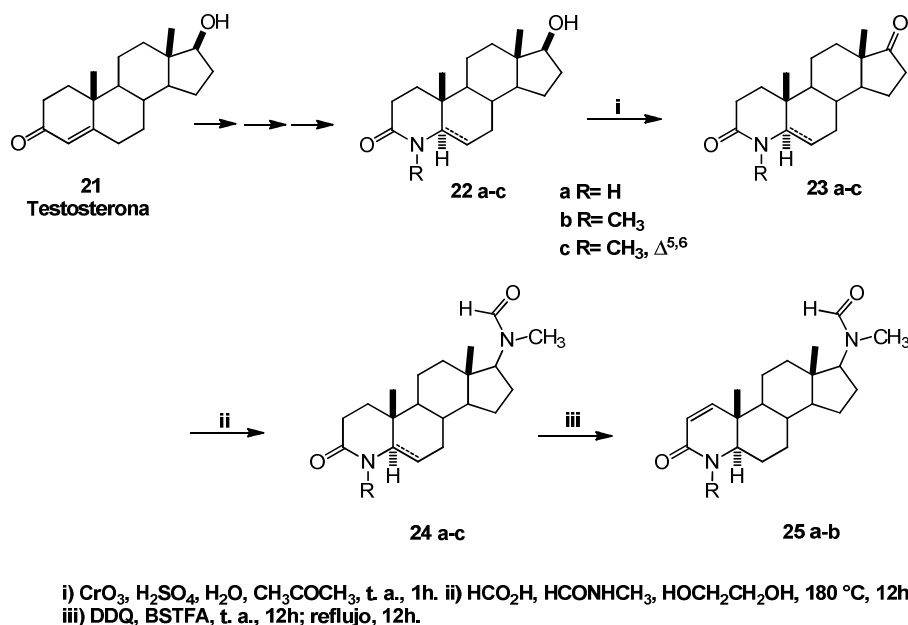


(i) (a) RLi or RMgX/THF, (b) Al(OiPr)₃/tolueno/C₆H₁₀O, (c) Li/THF/NH₃; (ii) DBU/THF/reflujo; (iii) KMnO₄/NaIO₄/t-BuOH/H₂O/70°C; (iv) NH₄OAc/AcOH/reflujo; (v) PtO₂/AcOH/H₂; (vi) MeI/NaH/DMF (vii) MeI ó EtI ó bromuro de alilo/NaH/DMF.

Esquema 3. Síntesis de una serie de derivados 7 β -sustituídos 4-azacolestan-3-onas.

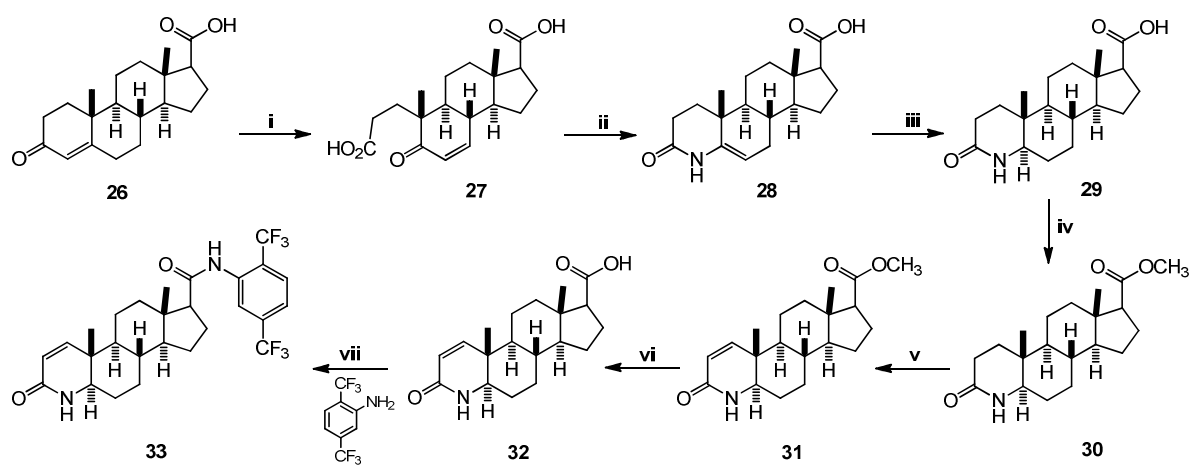
Los azaesteroides insaturados **17 a-c** fueron generalmente menos activos comparados con los correspondientes compuestos saturados. La introducción de un grupo 7 β -metil **20 a** incrementó el potencial del azaesteroide como inhibidor de la enzima tipo 1.

Un año después, Li²¹ reportó la obtención de los azaesteroides **22 a-c** conteniendo nitrógeno tanto en la cadena lateral como en el núcleo esteroidal (esquema 4), siguiendo la metodología establecida por Rasmunsson. Para formar la amida en la cadena lateral, una vez construido el 4-azaesteroide, se oxidó el alcohol en C-17 utilizando el reactivo de Jones o PCC generando las correspondientes 4-aza, 3,17 dionas **23 a-b** mientras que la oxidación de **22 c** dio **23 c**. La aminación reductiva de las cetonas **23 a-b** con ácido fórmico y *N*-metilformamida bajo las condiciones establecidas por Leuckart-Wallach²² generó los correspondientes 17 β -(*N*-metilformamidas) **24 a-b** en buenos rendimientos (58-78 %). Sin embargo, cuando **23 c** fue tratada bajo las mismas condiciones de reacción, obtuvieron un 37 % de **24 b** y solo 24 % de **24 c**. La reacción de **24 a-b** con 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DQB) y *bis*(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) en 1,4-dioxano dio los esteroides 4-aza 1-en **25 a-b** en altos rendimientos (68-72 %).



Esquema 4. Ruta de síntesis de los azaesteroides 25a-b.

En 1996, Batchelor²³ reportó la síntesis de la Dutasterida (**33**) (esquema 5). Nuevamente el paso clave fue la ruptura oxidativa del doble enlace de C4 para formar el ácido 3-oxo-4-androsten-17 β -carboxílico (**26**). El posterior tratamiento con NaMnO₄ acuoso y NaIO₄ a reflujo en *tert*-butanol generó el derivado 5-oxo-A-nor-3,5-secoandrostan-3-oico (**27**). La reacción del compuesto **27** con amoníaco en reflujo de etilenglicol dio el ácido 4-aza-androst-5-en-3-ona (**28**), mismo que se sometió a hidrogenación a una temperatura de 60-70 °C y una presión de 40-60 psi en presencia de un catalizador de óxido de platino, proporcionando el 4-aza-5 α -androstan-3-ona (**29**). La esterificación de **29** con MeOH/H₂SO₄ y su posterior deshidrogenación dió como resultado el compuesto **30**. Usando 2,3-dicloro-5,6-diciano-benzoquinona (DDQ) y bis (trimetilsilil)trifluoro-acetamida (BSTFA) se formó el producto esteroidal **31**. La hidrólisis de **31** con NaOH en agua y metanol generó el intermediario **32**, el cual fue convertido en el haluro de ácido correspondiente y se hizo reaccionar con 2,5-bis (trifluorometil) anilina para dar la Dutasterida (**33**) con un rendimiento total del 5.13 %.

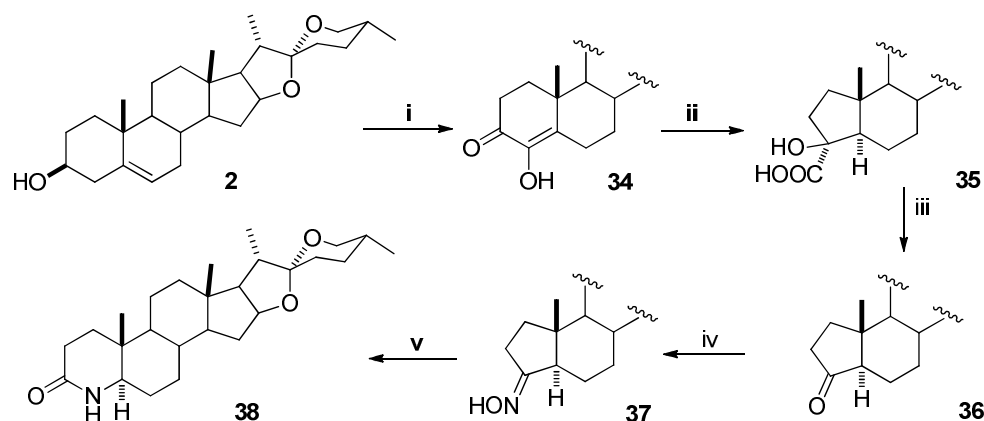


i) aq NaMnO₄, NaIO₄, *tert*-butanol, 75 °C, 30–45 min; ii) etilenglicol seco, NH₃, 180 °C, 1 h; iii) CH₃CO₂H, PtO₂, 60–70 °C, 6 h bajo H₂/50 psi; iv) MeOH, H₂SO₄; v) DDQ, BSTFA en dioxano, 10–12 h; vi) NaOH, MeOH, H₂O; vii) SOCl₂, tolueno/CH₂Cl₂/THF, 9 h, 70 °C.

Esquema 5. Síntesis de la Dutasterida (**33**).

En el 2004, Yadav²⁴ reportó la síntesis de un nuevo azaesteroide a partir de la diosgenina (**2**) la cual fue convertida al derivado **34** (esquema 6) de acuerdo a un método previamente reportado en la literatura²⁵. El rearrreglo del enol **34** generó el

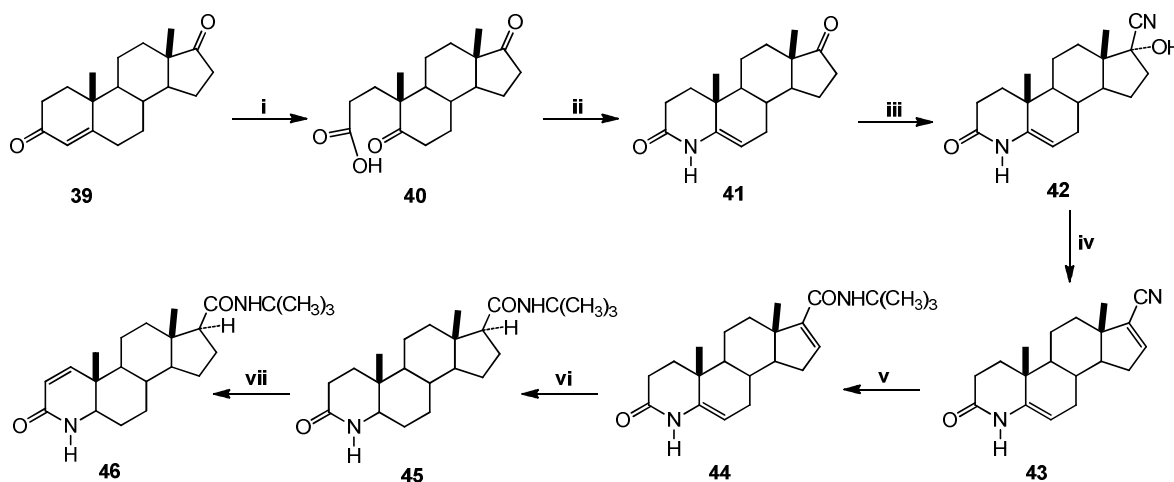
noresteroide **35**, que se oxidó con reactivo de Jones para formar el esteroide **36**. La oxima **37** se obtuvo por tratamiento de la cetona **36** con $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ y acetato de sodio trihidratado, la cual fue finalmente tratada con SOCl_2 en dioxano conduciendo al rearreglo de Beckmann y la expansión del anillo A, generando la lactama **38** en un rendimiento global del 19 %.



i) Ref. 6; ii) $\text{KOH}/n\text{-pentanol}$, 36 h, 15°C ; iii) Reactivo de Jones, 20°C ; iv) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}/\text{AcONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, reflujo 2 h; v) $\text{SOCl}_2/\text{Dioxano}$, $20\text{-}25^\circ\text{C}$ 15 min.

Esquema 6. Síntesis del azaesteroide tipo espiroestánico **38**.

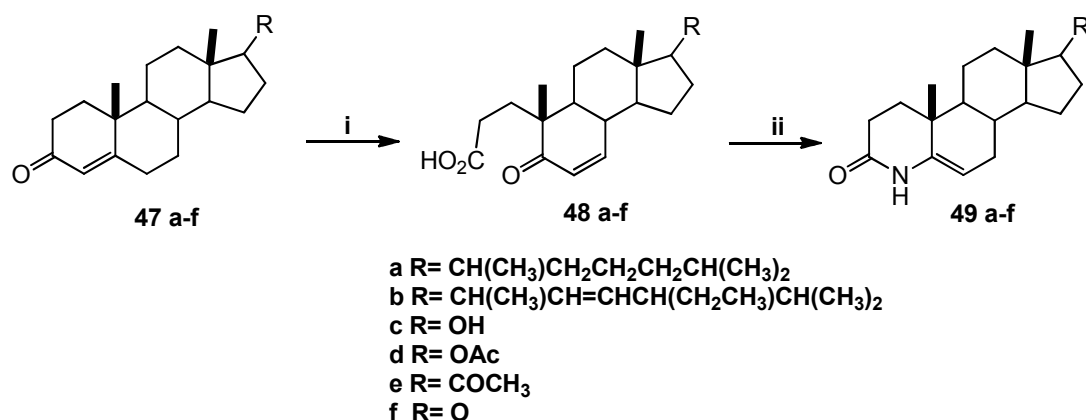
Para el año 2005, Zhong²⁶ reportó la síntesis del 3-oxo-4-aza-5 α -androst-1-eno-17 β -(*N-tert*-butilcarboxamida) mejor conocida como finasterida (**46**) a partir del 4-androsten-3-17-diona en 7 pasos con un rendimiento general del 18.6 % (esquema 7). Como el primer paso en la síntesis se oxidó el derivado androestánico **39** utilizando una solución de Von Rudloff para obtener el seco ceto ácido **40**. La ciclación de **40** se logró utilizando acetato de amonio en ácido acético a reflujo llegando al compuesto azaesteroidal **41**, el cual fue convertido selectivamente a **42** con NaCN en medio ácido seguido de una deshidratación con POCl_3 en piridina obteniendo el carbonitrilo α,β -insaturado **43**. La reacción de Ritter fue usada para introducir el grupo 17 β -(*N-tert*-butilcarboxamida) a partir de **43** con *tert*-butanol en ácido sulfúrico concentrado y ácido acético, el cual generó a **44**. Subsecuentemente, la reducción de **44** con Pd/C en etanol en presencia de hidrógeno generó a **45** que finalmente fue deshidrogenado con DQB en dioxano en presencia de BSTFA dando como resultado la finasterida.



i) NaIO_4 , KMnO_4 , K_2CO_3 ; ii) $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, CH_3COOH ; iii) NaCN , CH_2Cl_2 , CH_3OH , CH_3COOH ; iv) POCl_3 , piridina; v) $(\text{CH}_3)_3\text{COH}$, CH_3COOH , H_2SO_4 ; vi) Pd/C , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, H_2 ; vii) DDQ , BSTFA , dioxano.

Esquema 7. Ruta de síntesis de la finasterida (46).

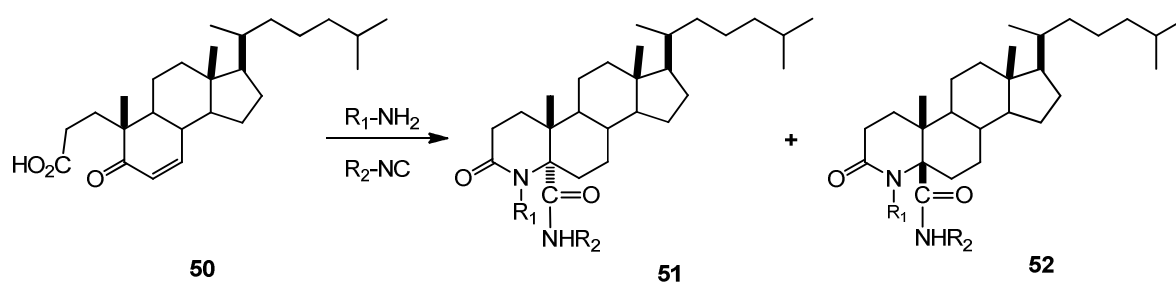
En el 2008, Borthakur²⁷ preparó una serie de 3-oxo-4-azaesteroides **49 a-f** a partir de los ácidos A-nor-3,5-secoesteroides **48 a-f** (esquema 8). La urea fue empleada como fuente generadora de amonio para la reacción de ciclación en presencia de un ácido de Lewis ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) e irradiación de microondas a una temperatura de 140 °C, una potencia al 80 % y un tiempo de 3 minutos, obteniendo un rendimiento del 95 % de los azaesteroides **49 a-f**. Bajo irradiación de microondas, la urea libera amonio, el cual reacciona con el seco ceto ácido correspondiente y forma una imina intermediaria, la cual se tautomeriza a enamina y ésta reacciona con el grupo carbonilo en C-3 para llevar a cabo la ciclación y formar el azaesteroide correspondiente.



i) NaIO₄, KMnO₄, *tert*-butanol; ii) Urea, BF₃·Et₂O, MW

Esquema 8. Síntesis de los derivados 3-oxo-4-azaesteroidales 49 a-f.

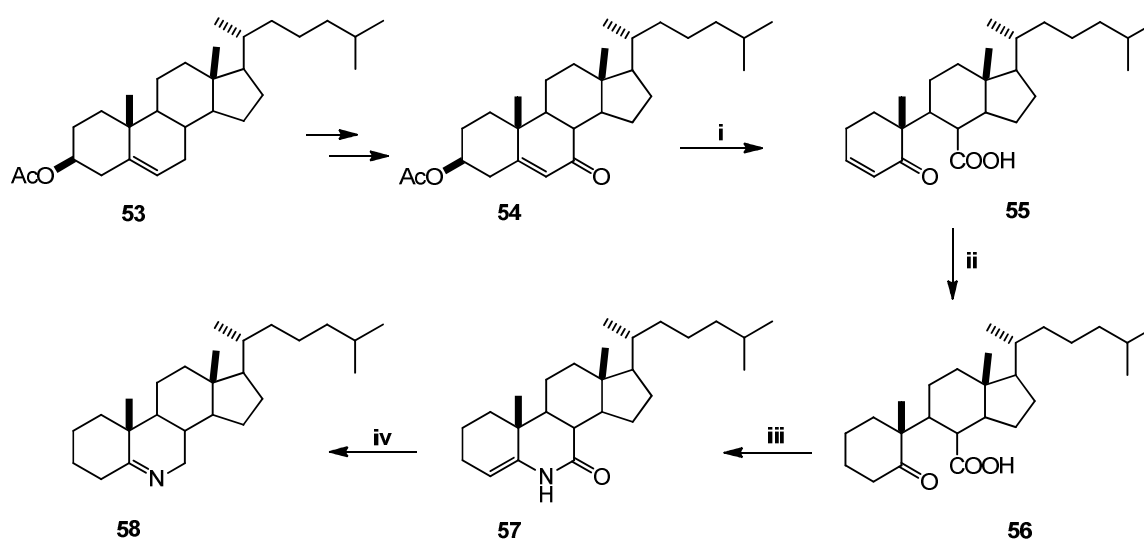
En este mismo año, Alonso²⁸ reportó el uso de una reacción multicomponentes (MCRs) para la síntesis de derivados 4-azaesteroidales (esquema 9). Una de las MCRs más versátiles es la reacción Ugi de 4 componentes (U-4CR), la cual fue utilizada por Ramírez para sintetizar diversos 4-azacolestanos con sustituyentes en N-4 y C-5, a partir de la reacción de un oxoácido esteroidal bifuncional y diversas aminas e isonitrilos con la finalidad de evaluar sus actividades biológicas. El tratamiento del intermediario oxoácido **50** en presencia una amina y un isonitrilo generó la mezcla de epímeros **51** y **52**; se observó que al introducir un isonitrilo voluminoso se favorece al producto con fusión A/B *trans*, concluyendo que el ataque se dio por la cara α . Por otro lado, cuando se utilizó anilina y *tert*-butilamina, se observó que la reacción no se lleva a cabo debido a que, en el caso de la anilina, el ion iminio intermediario se encuentra en muy baja concentración por el efecto que ejerce el anillo aromático sobre el ion iminio, evitando que la reacción proceda. En el caso de la *tert*-butilamina, la baja nucleofilicidad de ésta podría ser la explicación de que la U-4CR haya fracasado.



Esquema 9. Síntesis de los azaesteroides 51 y 52.

2.2 Síntesis de 6-Azaesteroides.

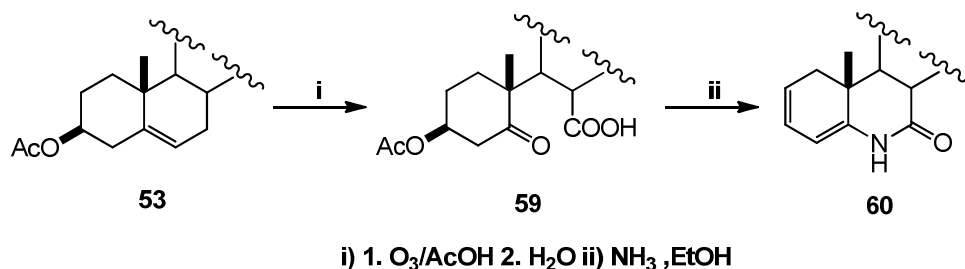
En 1960, Jacobs²⁹ publicó la primera síntesis de derivados 6-azaesteroidales a partir del colesterol (**53**) como se muestra en el esquema 10. Para esta fecha ya se habían sintetizado una gran variedad de azaesteroides tales como 2-aza, 3-aza, 4-aza, 7-aza, 12-aza, 13-aza, 15-aza, 16-aza y 17-azaesteroides, pero aún no había reportes de derivados 6-azaesteroidales. El paso clave para la introducción del nitrógeno fue la escisión oxidativa de la doble ligadura de C-5 en el compuesto **54**, generando al compuesto **55**. Este último fue sometido a una hidrogenación conduciendo al producto **56**, el cual fue ciclado con amoníaco para generar el derivado azaesteroidal **57**.



i) 1. O₃/AcOH 2. NaOH 3. H⁺ ii) H₂PtO₂, AcOEt iii) NH₃, EtOH iv) LiAlH₄, Et₂O

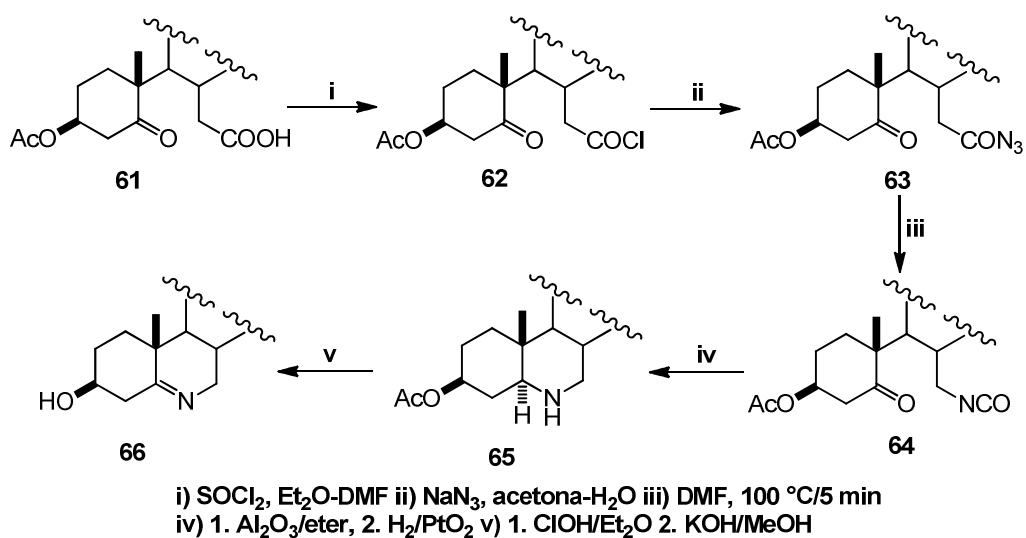
Esquema 10. Síntesis del 6-azacolest-5-eno (58).

En el intento por conservar el grupo acetato en C-3, una vez que se había llevado a cabo la ozonólisis, Jacobs neutralizó la reacción mediante lavados con agua, obteniendo el producto intermediario **59**. Sin embargo, al tratar este derivado con amoníaco para la reacción de ciclación, nuevamente el grupo acetato se eliminó, generando el azaesteroide **60** (esquema 11).



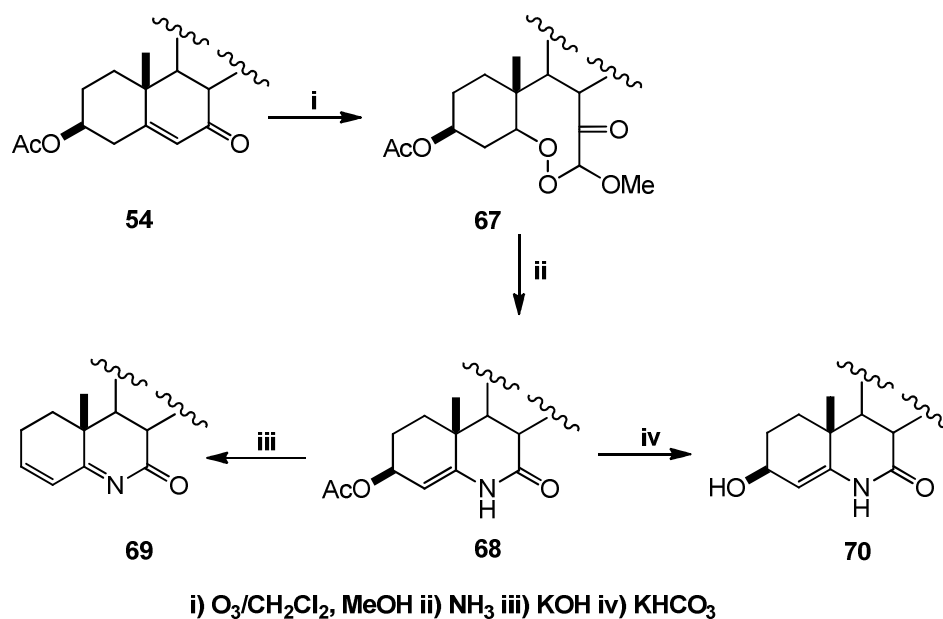
Esquema 11. Preparación del derivado azaesteroide 60.

En ese mismo año, Lettré³⁰ reportó la síntesis del 6-azacolesterol (**66**), como se muestra en el esquema 12. El seco ceto ácido **61** fue transformado en el cloruro de ácido **62**, el cual fue tratado con azida de sodio para obtener la acil azida **63**. Esta última fue sometida a calentamiento, conduciendo al derivado isocianato **64**, el cual generó la reconstrucción del anillo B mediante una reacción de ciclización seguida de una hidrogenación catalítica en medio ácido, generando el azaesteroide **65**. La oxidación del compuesto **65**, en dos etapas, consiste en la formación de la cloramina correspondiente y deshidrohalogenación de la misma mediante tratamiento en medio alcalino generó directamente el 6-azacolesterol **66**, ya que al mismo tiempo de la deshidrohalogenación tiene lugar la saponificación del acetato.



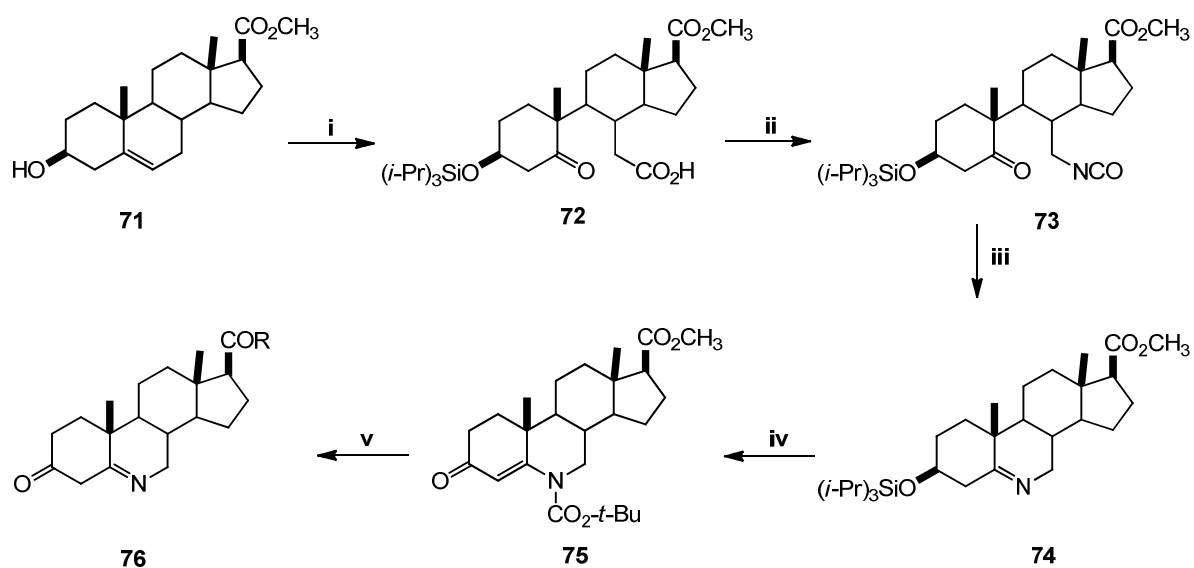
Esquema 12. Nueva síntesis del 6-azacolesterol 66.

En 1987, Brown³¹ reportó la síntesis de los azaesteroides **68**, **69** y **70** mediante una ruta similar a la reportada por Jacobs²⁹, cuya etapa decisiva fue la apertura del producto de ozonólisis con amoníaco (esquema 13). Brown mencionó la dificultad que encontró para conservar el sustituyente en C-3 aplicando la metodología descrita por Lettré³⁰, por tal motivo tuvo que cambiar de estrategia para obtener el compuesto **68**. Cabe mencionar que, aunque no especificaron el rendimiento, este grupo reportó que la hidrólisis del compuesto **68** en condiciones suaves les permitió la obtención del derivado **70** con el hidroxilo libre en la posición 3. Por otro lado, señalaron que cuando la hidrólisis del compuesto **68** se llevó a cabo en condiciones más drásticas, se obtuvo el compuesto **69**, en el cual se observó la eliminación del grupo acetato en C-3.



Esquema 13. Síntesis de los azaesteroides 68, 69 y 70.

Frye^{32,33} reportó otra metodología para la síntesis de derivados azaandrostánicos (**76**), de los cuales algunos resultaron ser potentes inhibidores de enzimas 5 α -reductasa, del tipo 1 y 2. La síntesis comienza a partir del éster metílico del ácido 3 β -hidroxietiénico (**71**) como se muestra en el esquema 14. La estrategia empleada para introducir el átomo de nitrógeno en la posición 6 fue la descrita por Lettré, pero utilizando una metodología diferente para efectuar la ciclización del 5-oxo-5,6-seco isocianato **73** que condujo al derivado azaesteroidal **74**. Frye señaló que la conservación del oxígeno en C-3, es el paso con la mayor dificultad de la estrategia de Lettré ya que el hidroxilo, protegido o libre, se elimina fácilmente. La optimización de la ciclación en medio heterogéneo, inducida por la sílice en suspensión en tolueno, permitió aislar el compuesto **74**. Para llevar a cabo la preparación de los derivados azaesteroidales deseados (**76**), continuó con la secuencia mostrada en el esquema 14.



i) 1. $(i\text{-Pr})_3\text{SiCl}$ 2. O_3 3. Zn , AcOH 4. CrO_3 ii) 1. COCl_2/Py 2. NaN_3 , H_2O 3. Tolueno, Calor iii) SiO_2 , Calor iv) 1. Carbonato de di-*ter*-butilo 2. TBAF 3. PDC v) 1. LiOH 2. SOCl_2 , Py 3. RNH_2 o ROH o RMgX , CuI 4. ATFA

Esquema 14. Síntesis de los derivados 17-acilados de la 6-azaandrost-4-en-3-ona (76).

En 1994, Bakshi²⁰ reportó la síntesis de una serie de compuestos 7-alkil sustituidos de 4-azacolestan-3-ona **77** (figura 3) y sus actividades *in vitro* como inhibidores de las enzimas 5α -reductasa de tipo 1 y 2, demostrando que la presencia de un metilo en posición 7β aumenta la potencia para inhibir la enzima 5α -reductasa del tipo 1 y la selectividad con respecto a la inhibición de la isoenzima de tipo 2.

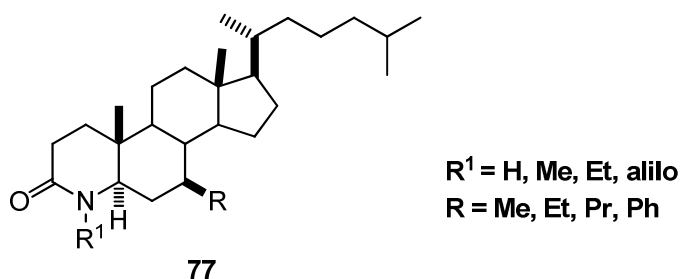
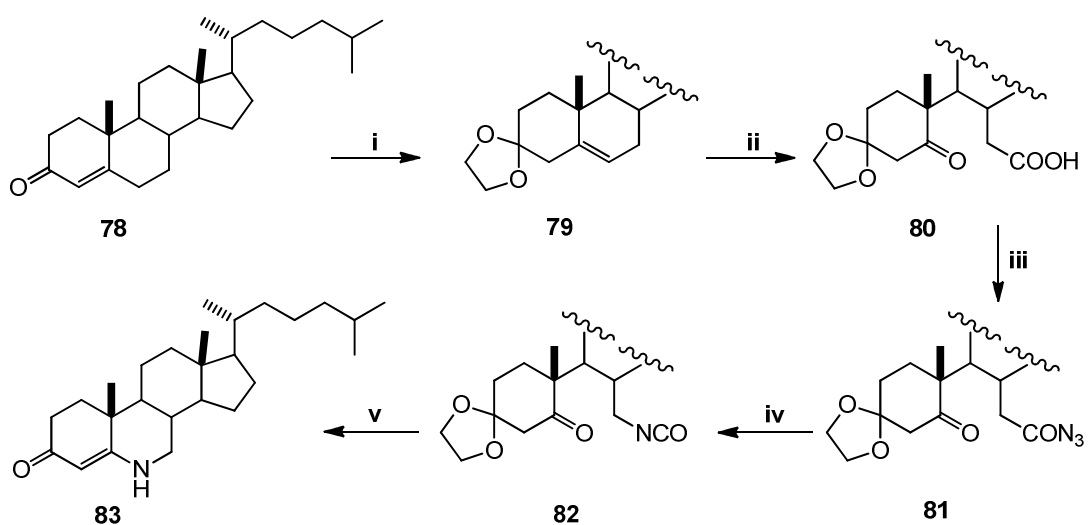


Figura 3. Estructura de los derivados 7-alkilados de 77.

Basándose en este resultado y los descritos por Frye^{32,33}, Haffner³⁴ emitió la hipótesis de que la incorporación de la cadena lateral del colesterol en C-17 y de un

metilo en C-7 al esqueleto de la 6-azaandros-4-en-3-ona podría generar un inhibidor de la 5 α -reductasa de tipo 1 potente y selectivo. Para comprobar su hipótesis, Haffner elaboró la síntesis del 6-azacolest-4-en-3-ona (**83**) para evaluar el efecto de la incorporación de la cadena lateral del colesterol, aplicando la metodología reportada por Frye sin obtener buenos resultados, con lo cual concluyó que la eficacia del método de ciclación inducida por la sílice es fuertemente dependiente de la naturaleza del sustituyente en C-17. Mientras que con un grupo carboetoxi en C-17 realizó una ciclación exitosa en presencia de sílice, la incorporación de la cadena lateral del colesterol (en lugar del grupo éster) fracasó en la etapa de ciclación, por lo que desarrolló una nueva ruta de síntesis para la obtención de **83**. En esta nueva ruta (esquema 15) involucró la formación de la acil azida **81** la cual elimina una molécula de nitrógeno al ser calentada (rearrreglo de Curtius) conduciendo al isocianato correspondiente **82** y finalmente al derivado azaesteroide **83** con THF en medio ácido y calentamiento.

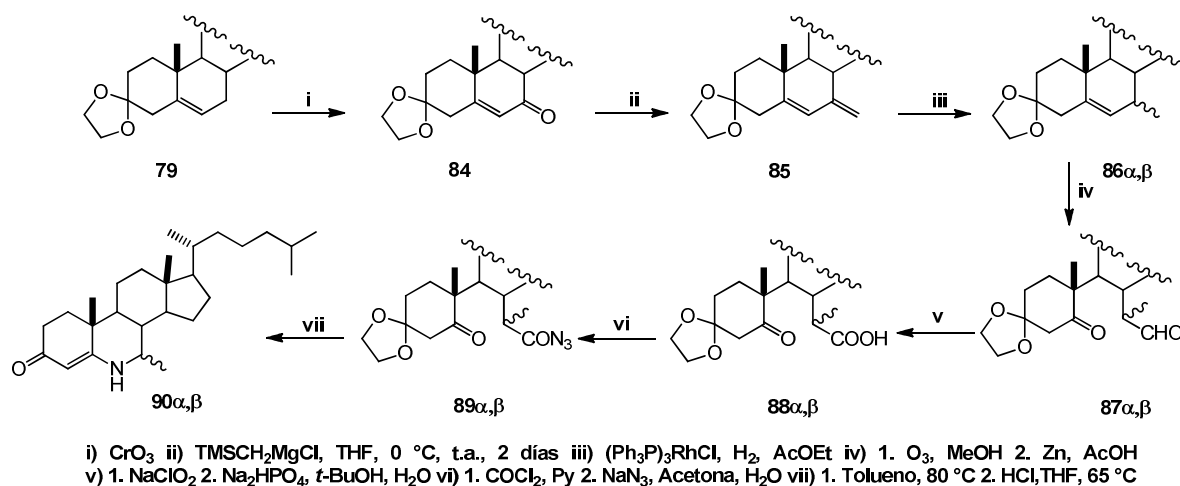


i) Etilenglicol, TsOH ii) 1. O₃, MeOH 2. Zn, AcOH 3. NaClO₂ 4. Na₂HPO₄, *t*-BuOH, H₂O
iii) 1. (COCl₂), Py 2. NaN₃, Acetona, H₂O iv) Tolueno, 80 °C v) HCl, THF, 65 °C

Esquema 15. Preparación del derivado **83**.

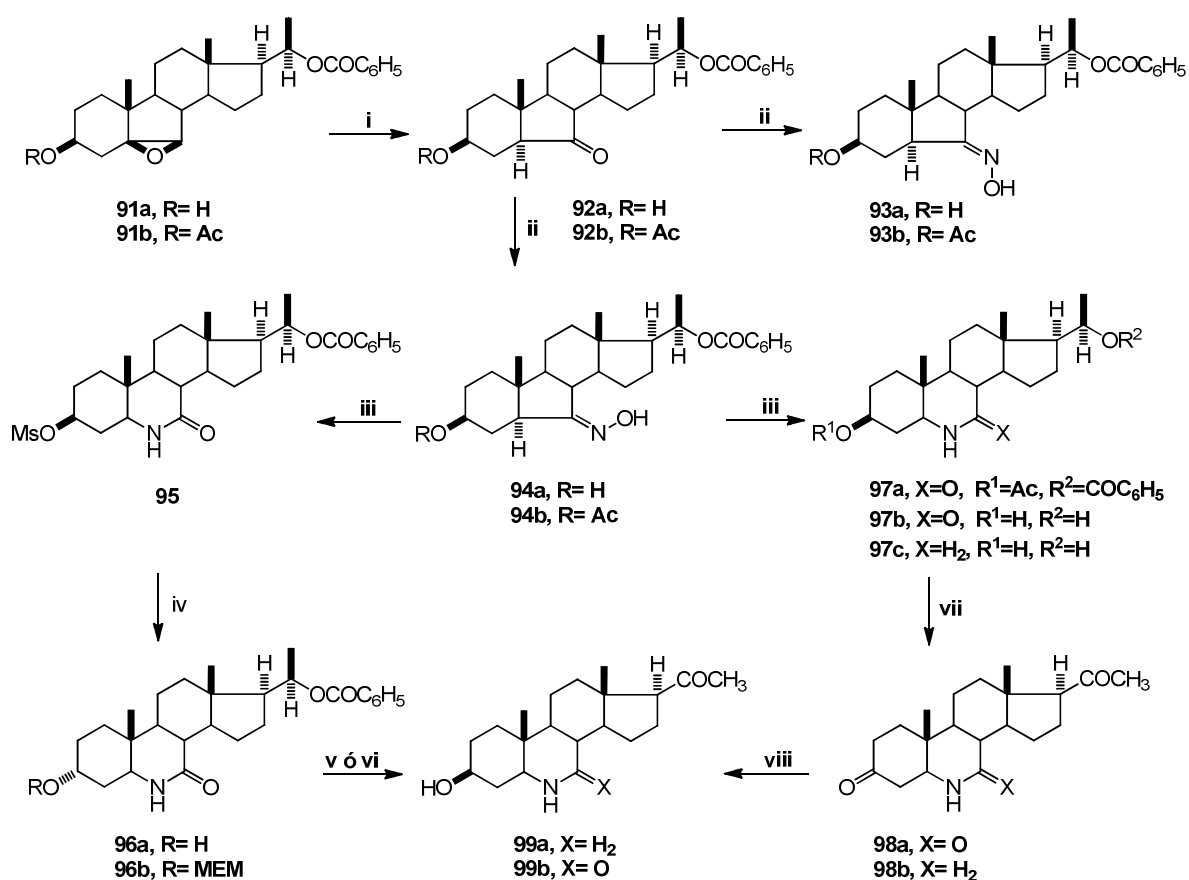
Por otro lado, introdujo el metilo en la posición 7, modificando la metodología anterior partiendo del compuesto **79** (esquema 16). Primero llevó a cabo una oxidación alílica con CrO₃ (en dos etapas) y posteriormente una alquilación para producir una mezcla

de diastereoisómeros α y β . Posteriormente continuó con la metodología del esquema anterior. La mezcla de diastereoisómeros **90 α** y **90 β** fue separada por HPLC preparativa.



Esquema 16. Síntesis de los metilados **90 α,β** .

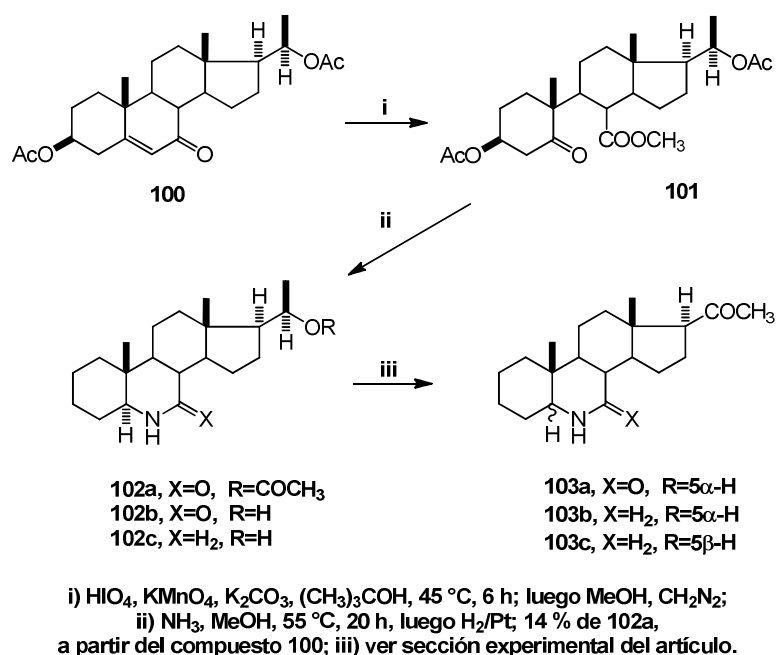
Años después, en 2005, Kasal³⁵ reportó la obtención de derivados 6-azapregnanos **99 a-b** y describe los resultados preliminares de sus actividades neuronales en cerebros de ratas machos. El nitrógeno fue introducido al anillo B usando un rearrreglo de Beckmann en la oxima de derivados 6-oxo-B-nor-5 α -pregnanos **92 a-b** como se muestra en el esquema 17. Los 3 α -hidroxilo **96 a-b** se producen por solvólisis del correspondiente grupo 3 β -mesiloxi en **95** y con una reducción Meerwein-Ponndorf-Verley del grupo 3-oxo en **98 a-b** se obtienen 3 β -hidroxilos, la cual puede llevarse a cabo selectivamente con un derivado desprotegido 3,20-dioxo. Los resultados preliminares de las actividades neuronales mostraron que ni la amina **99a** ni la lactama **99b** mostraron resultados favorables. En contraste, un análogo que mostró ser ligeramente activo fue el que carecía de cualquier grupo funcional con oxígeno en C-3.



i) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, ii) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, KHCO_3 , MeOH , iii) MsCl , Py , 0°C , 4h, iv) KNO_2 , DMSO , 115°C , v) KOH , luego PCC , luego HCl , vi) LAH , luego CrO_3 , luego HCl , vii) CrO_3 , viii) HlrcI_6 , H_3PO_3 , $(\text{Me})_2\text{CHOH}$.

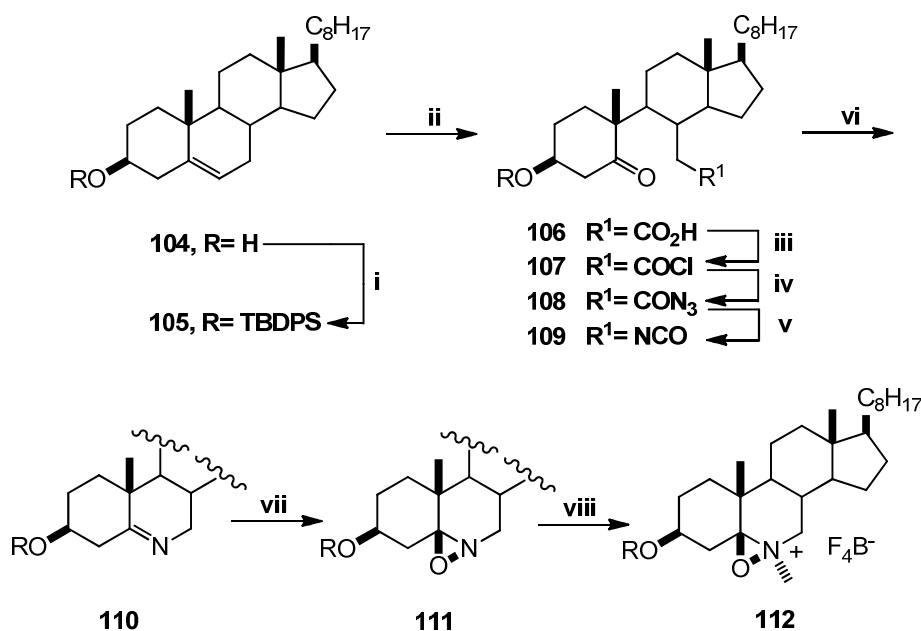
Esquema 17. Ruta de síntesis para la obtención de los derivados 6-azapregnanos 99a y 99b.

De manera comparativa, prepararon derivados azaesteroideos a partir del diacetato de (20*R*)-7-oxopregna-5-en-3 β ,20-diilo (**100**) (esquema 18). El crudo de reacción de la oxidación con $\text{HIO}_4/\text{KMnO}_4$ dio el 5,7-*seco*-6-*nor* ácido **101** que fue tratado con amoniaco seguido de una hidrogenación. El análisis de los espectros de ^1H y ^{13}C de la lactama **102a** mostró la pérdida del sustituyente en C-3. Las lactamas **102a** y **102b** fueron convertidas a las subsecuentes lactamas **103a** y **103b**. Solamente el compuesto **103b** mostró una baja actividad neuronal.



Esquema 18. Ruta de síntesis para la obtención de los derivados 6-azapregnanos 103a, 103b y 103c.

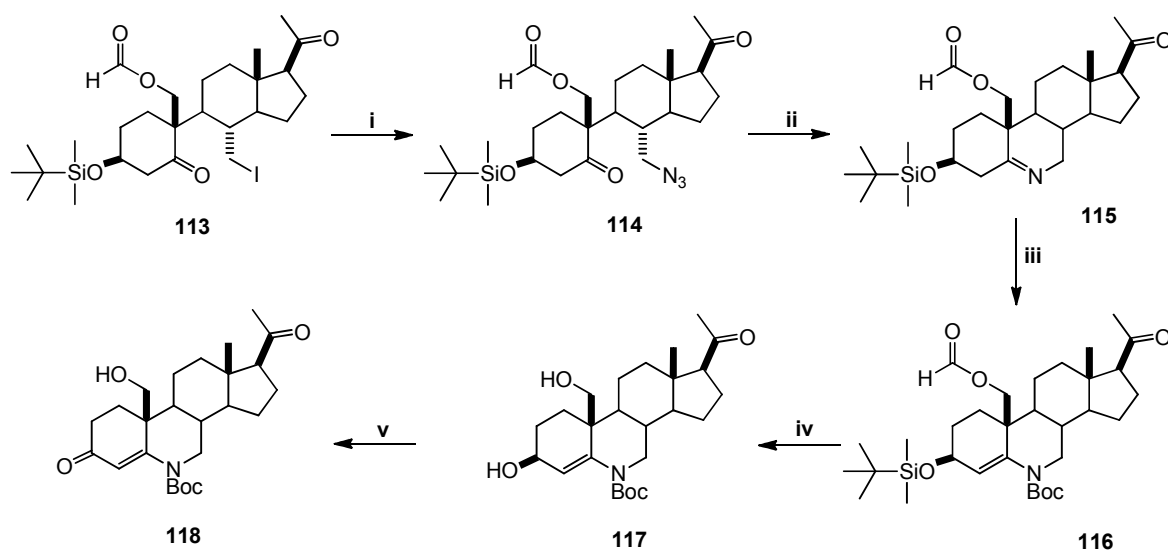
En el 2007, Del Río³⁶ reportó la síntesis de una nueva sal de oxaziridinio partiendo del colesterol (esquema 19) el cual se utilizó como inductor quiral para la oxidación enantioselectiva de sulfuros a sulfóxidos con un $ee > 99\%$, presentando una nueva alternativa a los métodos ya existentes para la sulfonación asimétrica. El colesterol (**104**) fue protegido con *tert*-butildifenil éter y posteriormente el doble enlace de **105** fue oxidado en dos pasos; primeramente fue epoxidado a temperatura ambiente, obteniendo una mezcla de diastéromeros α/β , los cuales fueron oxidados con reactivo de Jones a 50°C para obtener el (5,6-*seco*)-cetoácido **106**. Este cetoácido fue convertido a la acil azida **108** a través del cloruro de ácido **107**. La acil azida fue rearmada al derivado isocianato **109** en tolueno y calentamiento moderado (rearmado de Curtius). La ciclación se llevó a cabo en alúmina básica y éter de petróleo a temperatura ambiente por un tiempo de 3 h, obteniéndose el azaesteroide **110**. La oxidación con un perácido de **110** dió estereoespecíficamente la β -oxaziridina **111** y, finalmente, la metilación de ésta oxaziridina con la sal de Meerwein tetrafluoroborato de trimetiloxonio generó el oxaziridinio **112** con un rendimiento del 90 %.



i) TBDPSCI, DMF, Imidazol, ii) 1. *m*-CPBA, CH₂Cl₂, 2. Jones, 50 °C, iii) SOCl₂, DMF,
 iv) NaN₃ / H₂O, v) Tolueno, 80 °C, vi) Al₂O₃, EP, vii) *m*-CPBA, EP, MeOH, viii) Me₃O⁺F₄B⁻, CH₂Cl₂

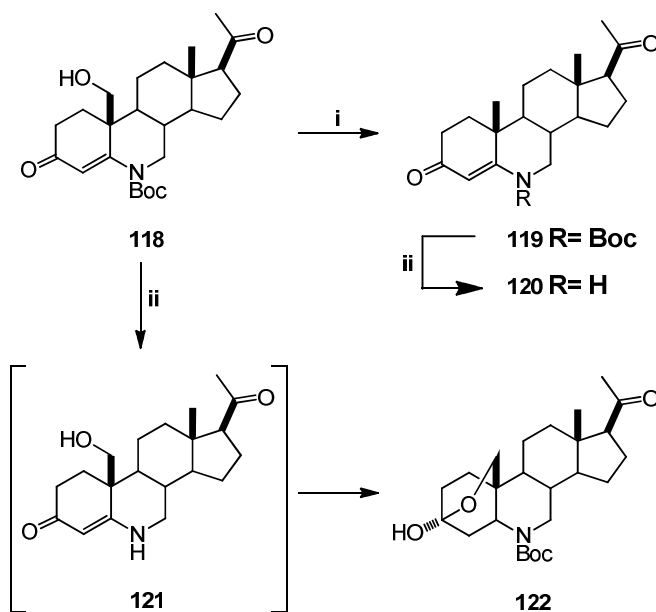
Esquema 19. Síntesis de la sal de oxaziridino 112.

Recientemente, en el año 2013, Martínez³⁷ reportó la síntesis de dos 19-hidroxi-6-azapregnanos partiendo de la pregnenolona a través de un intermediario 7-azido-5-oxo-6-nor-5,7-secopregnano **114**. El seco esteroide **113** fue preparado a partir de la pregnanolona en 4 pasos con un rendimiento del 42 % el cual habían reportado previamente³⁸. El núcleo 6-azapregnano fue construido desde el secoesteroide **114** con un 62 % de rendimiento mediante una reacción Staudinger (aza-Wittig) con trifenilfosfina en THF (esquema 20). Por último el 19-hidroxi-6-azapregnano **118** se transformó en 19-hidroxi-6-azaprogesterona **121** y 6-azaprogesterona **120** (esquema 21). Los resultados preliminares de actividad sobre el receptor de progesterona demuestran que los 6-azaprogesterona **120**, el hemicetal **122** y los derivados *N*-Boc **118** y **119** no mostraron actividad progestagénica significativa. La falta de actividad del compuesto **120** en comparación con la progesterona natural indica que la sustitución de C-6 por un átomo de nitrógeno afecta negativamente la unión al receptor de progesterona.



i) NaN_3 , DMF ii) PPh_3 , THF, Ar, 62 % iii) Boc_2O / K_2CO_3 , THF/ MW iv) 1. TBAF / THF 2. K_2CO_3 / MeOH v) MnO_2 , DCM

Esquema 20. Ruta de síntesis de 19-hidroxi-6-azapregnanos 117 y 118.

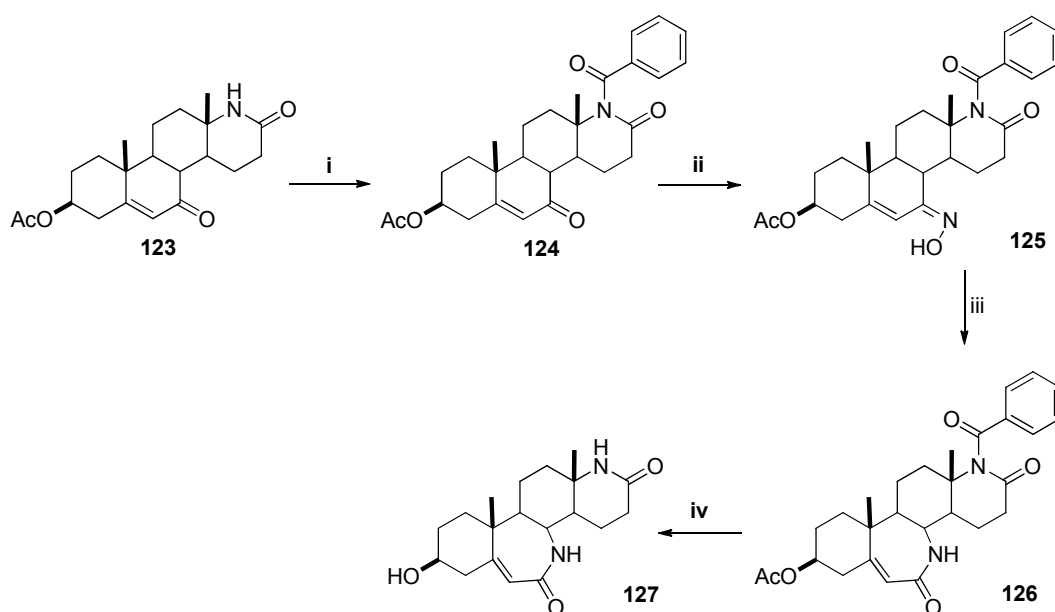


i) 1. Im_2Cs , 1,2-DCE 2. Ph_2SiH_2 /peróxido de lauroilo, tolueno ii) TFA / DCM

Esquema 21. Síntesis de la 19-hidroxi-6-azaprogesterona 121 y 6-azaprogesterona 120.

2.3 Síntesis de B-lactamas.

En el 2003, Koutsourea³⁹ reportó una nueva ruta de síntesis así como la optimización de una metodología previamente reportada⁴⁰ para la síntesis de B-D bilactamas. La modificación de la ruta reportada consistió en la protección del nitrógeno de la D-lactama con cloruro de benzoilo. Posteriormente, la lactama protegida **124** fue convertida a la oxima **125** a temperatura ambiente evitando la desprotección del nitrógeno de la D-lactama, lo cual se observó cuando se llevó a cabo esta reacción a reflujo. El rearreglo de Beckman de la oxima **125** con SOCl_2 en dioxano generó la amida lactámica **126** en un rendimiento del 45 % y la desprotección al alcohol correspondiente **127** fue logrado usando condiciones básicas suaves como se muestra en el esquema 22.

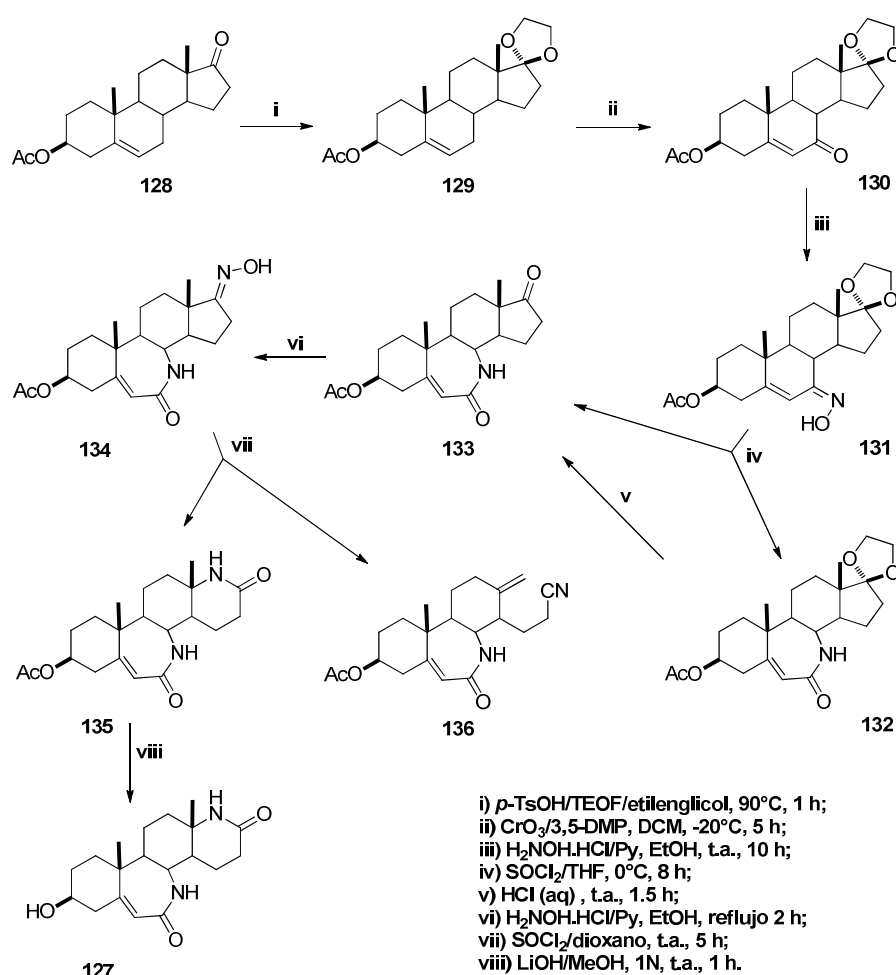


i) Bz/Cl/Benceno, reflujo 18 h ii) $\text{H}_2\text{NOH.HCl/Py}$ iii) EtOH, t.a. 36 h
 iii) $\text{SOCl}_2/\text{Dioxano}$, t.a. 4 h iv) LiOH/MeOH , 1N, 5 h.

Esquema 22. Primera ruta de síntesis de la B-D bilactama 127.

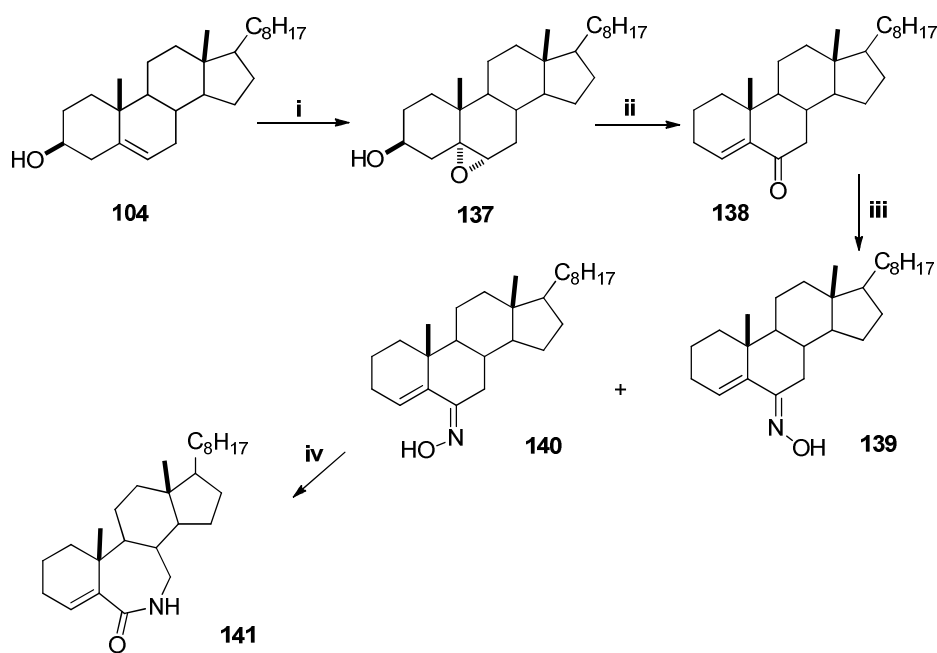
La segunda ruta de síntesis que desarrollaron para la obtención de la molécula objetivo **127** fue partiendo del 3β -hidroxi-5-androsten-17-ona. Primeramente, la materia prima se convirtió al derivado acetoxi **128** y consecuentemente se llevó a cabo la protección del grupo cetónico C-17. La oxidación alílica de **129** se realizó

empleando $\text{CrO}_3/3,5\text{-DMP}$ a baja temperatura para reducir el riesgo de desprotección del grupo acetal, generando la cetona α,β -insaturada deseada **130** en un rendimiento del 78 %. La oxima correspondiente **131** se preparó a temperatura ambiente nuevamente buscando conservar el grupo acetal. Subsecuentemente se realizó el rearrreglo de Beckman, el cual produjo a **133** como producto principal (52 %) y como producto secundario a **132** (16 %), el cual fue fácilmente hidrolizado a **133** con una cantidad equimolar de HCl acuoso en metanol incrementando el rendimiento total a un 67 %. La cetona **133** fue convertida a la correspondiente D-lactama **135** usando las condiciones clásicas descritas en la literatura⁴¹ y, finalmente, el derivado B,D-bilactámico fue hidrolizado en condiciones básicas suaves obteniendo el producto **127** como se muestra en el esquema 23.



Esquema 23. Segunda ruta de síntesis de la B-D bilactama 127.

Para el año 2004, Krstic⁴² preparó una enamida tipo lactama mediante el rearreglo de Beckman de la oxima (*Z*)-cholest-4-en-6-one (**140**) (esquema 24). La enona **138** se preparó convenientemente en un rendimiento del 33 % de acuerdo a la metodología establecida por Miljovic⁴³ en la cual el compuesto **137**, obtenido por epoxidación del colesterol (**104**), se llevó a reflujo en DMSO. La preparación de la oxima de la enona **138** se llevó a cabo con NH₂OH.HCl a reflujo de una solución de etanol-piridina (9:1) por 15 minutos del cual se obtuvo una mezcla de los estereoisómeros (*E*)-oxima **139** (80 %) y (*Z*)-oxima **140** (5 %). Para aumentar el rendimiento del producto **140** a un 34 %, la (*E*)-oxima **139** disuelta en metanol y piridina (9:1) en presencia de NH₂OH.HCl se irradió usando una lámpara de mercurio de alta presión. Una vez incrementado el rendimiento de la (*Z*)-oxima, esta se trató con SOCl₂ en dioxano para obtener la enamida tipo lactama **141** en un 66 % de rendimiento.



i) *m*-CPBA, CH₂Cl₂ ii) DMSO, reflujo iii) NH₂OH.HCl/calor, EtOH/Py (0.6 eq), 15 min
iv) SOCl₂/Dioxano.

Esquema 24. Síntesis de la enamida tipo lactama 141.

3. OBJETIVOS.

Objetivo general:

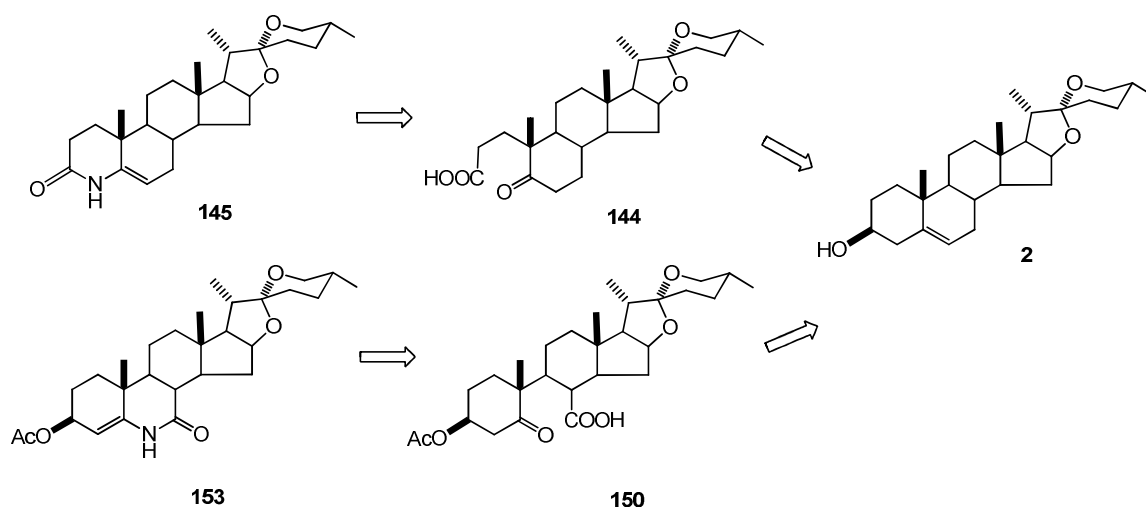
Síntesis de nuevos derivados azaesteroidales modificando los anillos A y B de la diosgenina optimizando metodologías descritas en la literatura.

Objetivos particulares:

1. Obtener derivados 4 y 6-azaesteroidales a partir de diosgenina, utilizando condiciones de reacción que no alteren el espirocetal de la cadena lateral.
2. Proponer los mecanismos de reacción que justifiquen la obtención de los derivados heteroesteroidales.
3. Elucidar las estructuras de los derivados obtenidos mediante el empleo de los diferentes métodos espectroscópicos.
4. Optimizar las metodologías descritas a utilizar para obtener los derivados azaesteroidales en un mayor rendimiento.
5. Utilizar la irradiación de MW para conducir a los azaesteroides a través de reacciones limpias y con una sustancial disminución de los tiempos de reacción.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para realizar la síntesis de los compuestos 4 y 6-azaesteroidales se planteó la retrosíntesis mostrada en el esquema 25 partiendo de la diosgenina (**2**), esto es, se visualizó la obtención de los compuestos **145** y **153** a través de la ciclación de los derivados seco esteroides **144** y **150**²⁷.

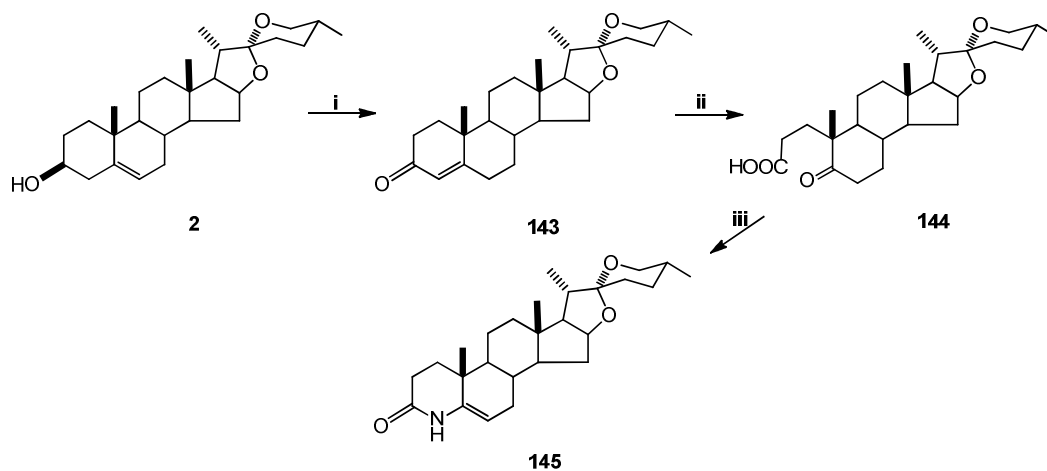


Esquema 25. Estrategia para la síntesis de derivados 4 y 6-azaesteroidales.

4.1 Secuencia de reacciones para la obtención del (25R)-4-aza-5-spirosten-3-ona (**145**)

Para la obtención del derivado 4-azaesteroidal, primeramente se obtuvo el compuesto α,β -insaturado **143** el cual se oxidó para obtener el seco esteroide **144**. Una vez teniendo el seco esteroide, se probaron dos técnicas para el cierre del anillo, en la primera se utilizó sulfato de amonio o acetato de amonio de manera convencional y en la segunda se utilizó acetato de amonio como fuente aportadora de nitrógeno y haciendo la reacción en microondas^{26,27}. De ambas maneras pudimos acceder al 4-azaesteroide derivado de diosgenina como se muestra en el esquema 26. Con esta nueva metodología, de manera convencional se obtuvieron

rendimientos globales del azaesteroide **145** del 39 % con sulfato de amonio y 63 % con acetato de amonio, mientras que al llevar a cabo la reacción en MW por 3 minutos el rendimiento fue del 75 %, que es un rendimiento mayor que el reportado (19 %) ²⁴.



i) PCC, CaCO₃, CH₂Cl₂, TsOH, 1.5 h. ii) KMnO₄, NaIO₄, t-BuOH, ref. 4h. iii) (NH₄)₂SO₄, AcOH, ref. 4h ó AcONH₄, AcOH, ref. 4h o en MW 3 min.

Esquema 26. Secuencia de reacciones para la preparación del (25*R*)-4-aza-5-spirosten-3-ona (**145**).

A continuación se describen y discuten los resultados obtenidos en el desarrollo de ambas rutas de síntesis, así como la caracterización de los nuevos derivados obtenidos.

4.1.1 Caracterización de la diosgenina.

La técnica de resonancia magnética nuclear (RMN) es sin duda la herramienta más poderosa en la elucidación estructural de las moléculas orgánicas, debido a esto, en la caracterización de los compuestos obtenidos se le dará una especial atención a los espectros de RMN, no obstante, para la elucidación inequívoca se emplearon otras técnicas espectroscópicas y físicas que se describen en la parte experimental y cuyos espectros se encuentran en el apéndice.

La diosgenina (**2**) se obtuvo comercialmente, no fue purificada y se elucidó a través de sus espectros de RMN para observar y entender de mejor forma las modificaciones realizadas. A continuación se describen los datos más relevantes de los espectros de RMN en una y dos dimensiones.

Los datos que arroja el espectro de ^1H dan una idea muy clara acerca de la estructura de las moléculas, sin embargo, la gran mayoría de las veces se tiene que recurrir al experimento de ^{13}C y técnicas bidimensionales de correlación homonuclear y heteronuclear. Una de las informaciones más importantes que ofrece el espectro de ^1H es el número de señales, indica el número de protones diferentes que hay en la molécula. El desplazamiento químico también es muy importante, da información del ambiente químico y magnético que rodea a cada protón. La integración de las señales, la multiplicidad y las constantes de acoplamiento complementan la información pues dan la proporción, la vecindad y la conformación de la molécula.

Para el caso de la diosgenina (**2**), con fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_3$, de los cuarenta y dos protones que se tienen, treinta y cuatro son diferentes por lo que se esperan treinta y cuatro señales en el espectro de protón, dado que la mayoría de las señales caen en un rango muy pequeño (entre una y dos ppm), solo con este experimento es casi imposible asignar todas las señales de la estructura. Sin embargo es posible distinguir a los protones más característicos, es decir, aquellos que se encuentran cerca de grupos electronegativos y que se desplazan a campos bajos (a la izquierda del espectro) y aquellos que aunque caen en el área congestionada (campos altos) se pueden diferenciar debido a su multiplicidad o integración como en el caso de los protones de metilo.

En el espectro de ^1H se observa la señal del protón vinílico H-6 en 5.34 ppm. En 4.41 ppm se observa la señal de H-16 como una señal *ddd* con $J_{16-17} = J_{16-15ax} = J_{16-15ec} = 7.6$ Hz. En 3.51 ppm se observa una señal múltiple que se asignó al

protón base de oxígeno H-3. Los protones diastereotópicos H-26 ecuatorial y axial se encuentran en 3.46 y 3.37 ppm; el protón H-26 ecuatorial tiene una multiplicidad ddd con una $J_{gem} = 10.8$ Hz, una $J_{26ec-25ax} = 4.4$ y por último una $J = 2.4$ Hz debido al acoplamiento en W con el protón H-24 ecuatorial. Para el caso de H-26 axial, se observa una señal dd con $J_{gem} = J_{26ax-25ax} = 10.8$ Hz, que al tener el mismo valor se observa como un triplete (figura 4).

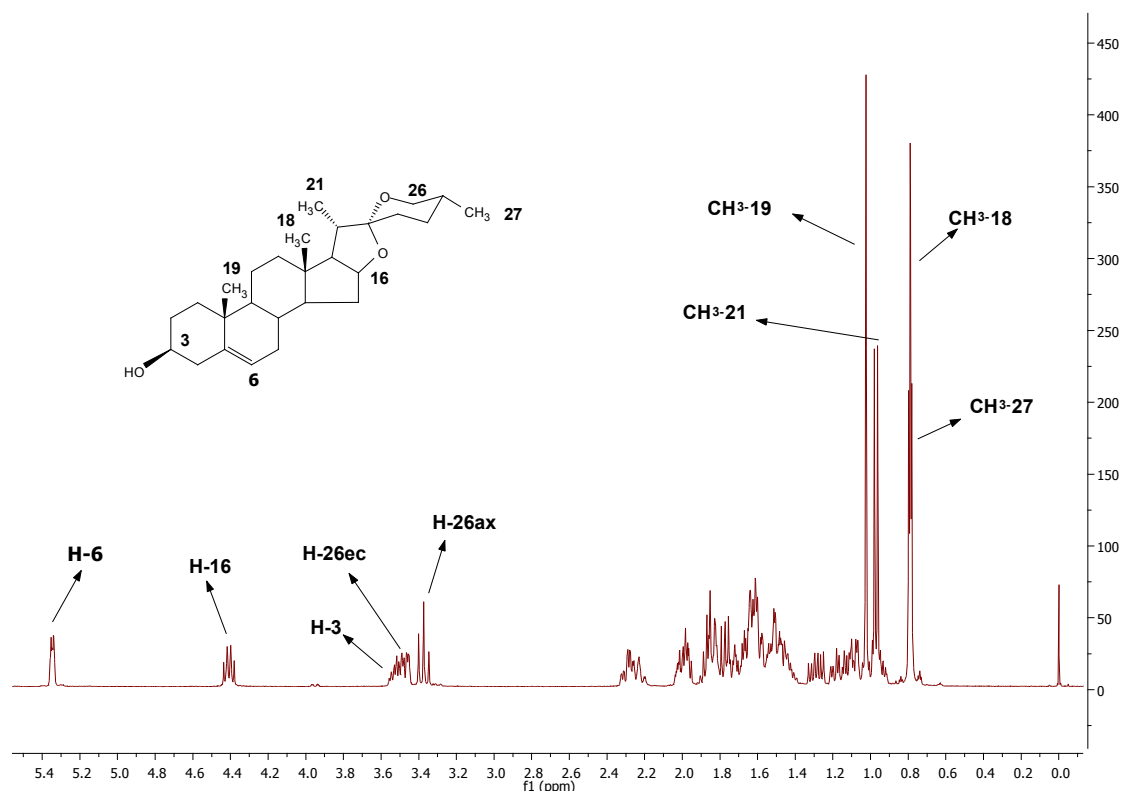


Figura 4. Espectro de ¹H de diosgenina.

Las señales simples en 1.02 y 0.79 ppm se asignaron a los protones de los metilos 19 y 18 respectivamente mediante el experimento bidimensional HMBC, por ejemplo, se observa un acoplamiento entre la señal simple en 1.02 ppm con la señal del carbono vinílico C-5 en 140.8 ppm que permite diferenciar el metilo 18 del 19 (figura 5).

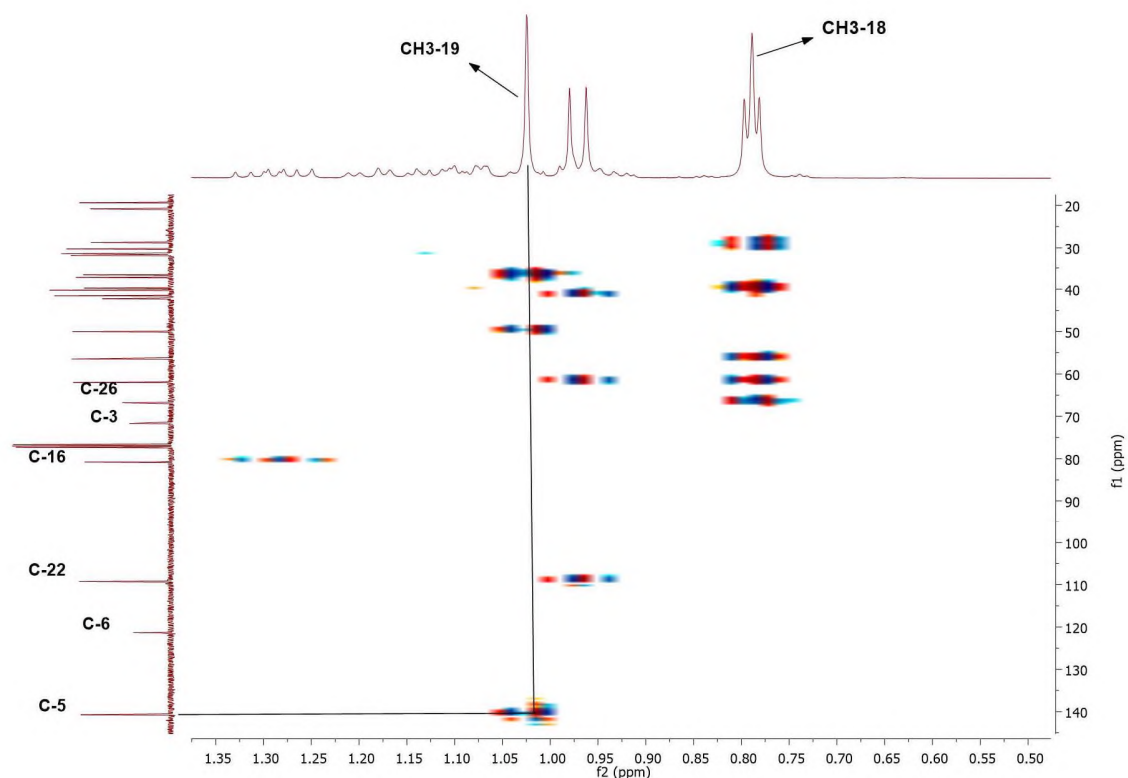


Figura 5. Espectro HMBC expandido de diosgenina.

Por otro lado, hacia campos altos aparecen dos señales dobles en 0.97 y 0.79 ppm con constantes de acoplamiento de 7.2 y 6.4 Hz que se asignaron a los protones de los metilos 21 y 27 respectivamente. Para el caso de estos protones que si tienen acoplamientos es debido a que los protones de 21 se acoplan con el protón de 20, y para el caso de 27 sus protones se acoplan con el de 25 generando así la señal doble para cada uno de ellos (figura 4).

Con respecto al espectro de ^{13}C , se mostraron las 27 señales de carbonos de la molécula. Las señales de los carbonos vinílicos C-5 y C-6 se observan en 140.8 y 121.4 ppm. El desplazamiento en 109.3 ppm es muy característico para carbonos espirocetálicos. Las señales de los carbonos base de oxígeno de C-3, C-16 y C-26 se observaron en 71.7, 80.8 y 66.8 ppm respectivamente (figura 6).

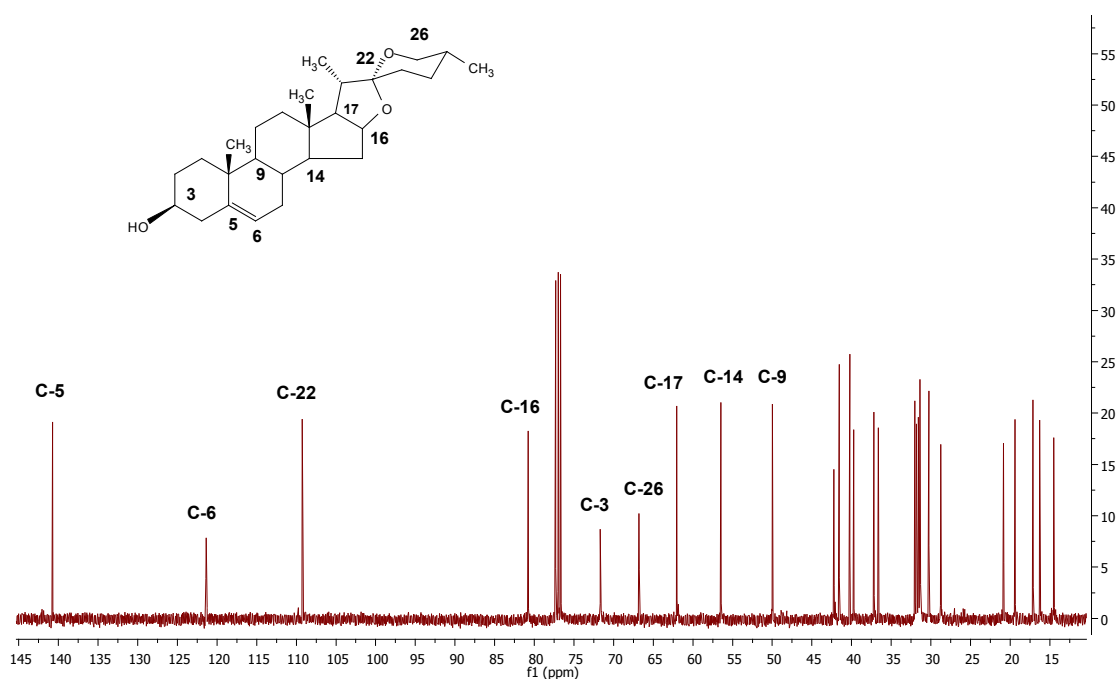


Figura 6. Espectro de ¹³C de diosgenina.

4.1.2 Preparación del compuesto α,β -insaturado 143.

El compuesto α,β -insaturado fue preparado en 2 pasos. Primeramente, el alcohol secundario en C-3 se oxidó con clorocromato de piridino en carbonato de calcio y cloruro de metileno a temperatura ambiente por 1.5 horas. Dado que el crudo de reacción mostró que se trataba del compuesto **142**, la reacción fue extraída para retirar el oxidante y posteriormente se isomerizó con ácido *p*-toluensulfónico en cloruro de metileno a temperatura ambiente por 20 minutos obteniéndose el compuesto deseado **143** como único producto en un rendimiento del 90 %. En la tabla 1 se muestra la optimización de esta reacción comparado con los reportados en la literatura utilizando diferentes esqueletos esteroidales. Como se puede observar, los parámetros de esta nueva metodología mejoran tiempos de reacción, temperatura y rendimiento comparados con esqueletos derivados de androstano⁴⁴ y colesterol^{45,46}. De la misma manera, cuando se utiliza diosgenina como sustrato y PCC como agente oxidante a temperatura ambiente se obtiene un rendimiento

del 90 % comparado con el reportado⁴⁷ de 20 % en el que utilizan reactivo de Jones como oxidante.

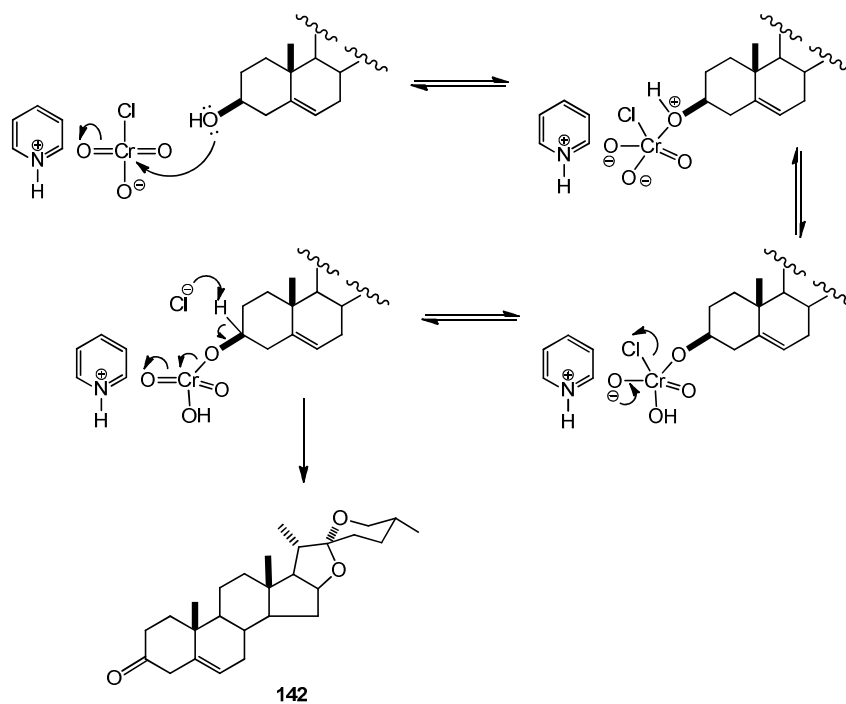
Tabla 1. Comparación de parámetros en la formación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.

Reactivos	Metodologías reportadas				Metodología Empleada
Molécula esteroideal	Derivados de Androstano	Derivado de Colesterol	Colesterol	Diosgenina	Diosgenina
Tiempo de reacción	2-2.5 h	Una noche	5 h	Paso 1. 10 min Paso 2. 15 min	Paso 1. 1.5 h Paso 2. 20 min.
Temperatura	Reflujo	Reflujo	Reflujo bajo atm. N	Paso 1. -10°C Paso 2. t.a.	Ambiente
Oxidante	Al(<i>i</i> -OPr) ₃	Al(<i>i</i> -OPr) ₃	PCC	Jones	PCC
Rendimiento	69-88 %	83 %	89 %	20 %	90 %

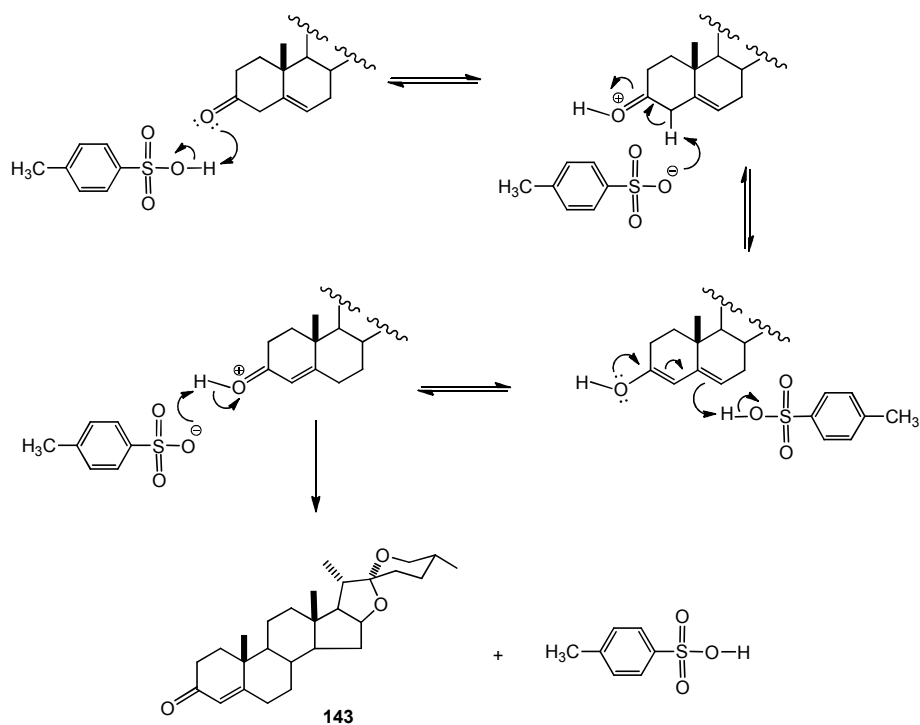
4.1.2.1 Mecanismo de reacción para la obtención del compuesto α,β -insaturado 143.

Como primer paso, el alcohol en C-3 de la diosgenina se coordina con el átomo de cromo (VI) y hay una transferencia del protón del alcohol hacia uno de los oxígenos enlazados al átomo de cromo. Consecuentemente, un segundo átomo de oxígeno enlazado al cromo introduce el par electrónico provocando la expulsión del cloro el cual actúa como una base llevándose el protón de C-3 y consecuentemente la oxidación del alcohol por eliminación del cromo que origina la cetona que posteriormente se protona para dar el ácido cromoso como se muestra en el esquema 27.

Una vez obtenida la diosgenona **142**, el oxígeno de la cetona en C-3 es protonada en medio ácido con TsOH. El ion tosilato liberado actúa como base extrayendo un protón ácido α al grupo carbonilo generando el enol que finalmente se tautomeriza a la cetona α,β -insaturada como se muestra en el esquema 28.



Esquema 27. Mecanismo de reacción de la oxidación de la diosgenina.



Esquema 28. Mecanismo de reacción de la isomerización de la diosgenona.

4.1.3 Caracterización del compuesto α,β -insaturado 143.

En una revisión rápida del espectro del producto de la oxidación se observó la desaparición de las señales del protón vinílico H-6 y del protón base de oxígeno H-3 características de la materia prima. Por otro lado, se observó la aparición de una señal simple en 5.73 ppm que se asignó al protón vinílico H-4 (figura 7).

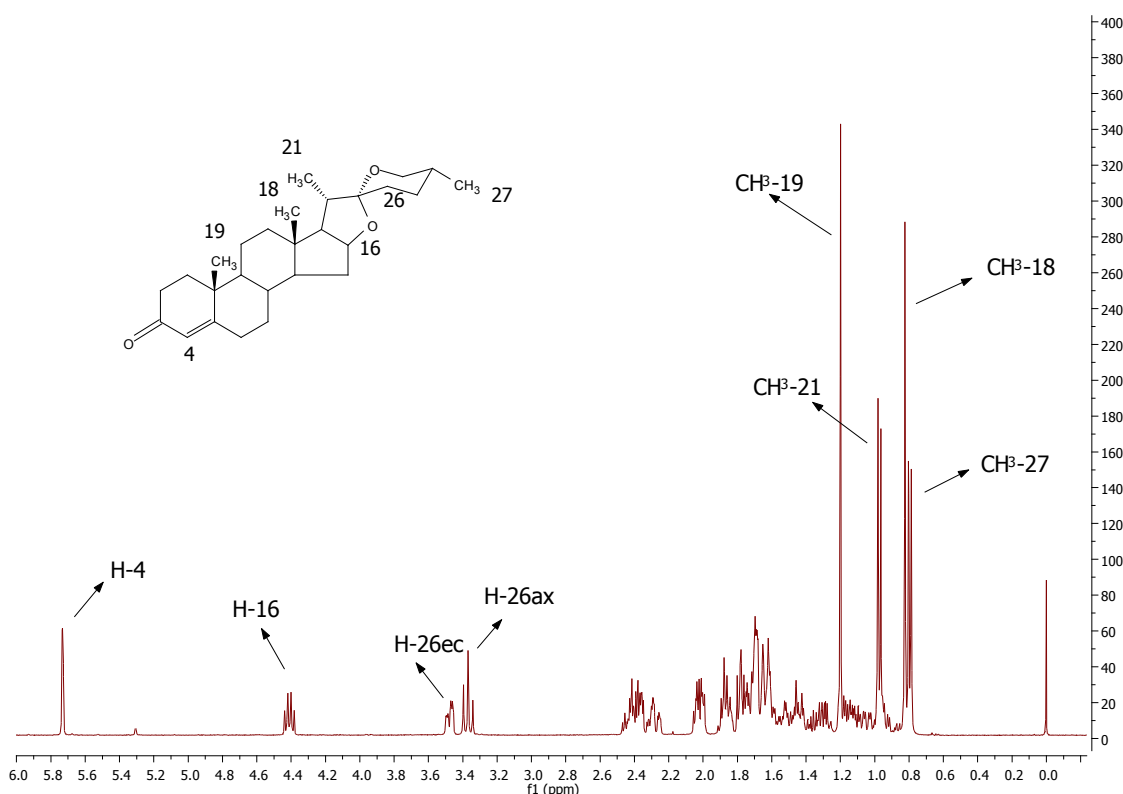


Figura 7. Espectro de ^1H del (25R)-espirost-4-en-3-ona (143).

Esta asignación fue corroborada a través del experimento HSQC donde se observó el acoplamiento que existe entre éste protón y el carbono terciario C-4 (figura 8).

Los protones diastereotópicos H-26 ecuatorial y axial presentan un desplazamiento similar a los de la diosgenina y se encuentran en 3.48 y 3.37 ppm respectivamente. Las señales simples hacia 1.20 y 0.82 ppm se asignaron a los

protones de los metilos 19 y 18 respectivamente. Hacia campos altos aparecen dos señales dobles en 0.97 y 0.79 ppm con constantes de acoplamiento de 7.2 y 6.4 Hz que se asignaron a los protones de los metilos 21 y 27 respectivamente (figura 7).

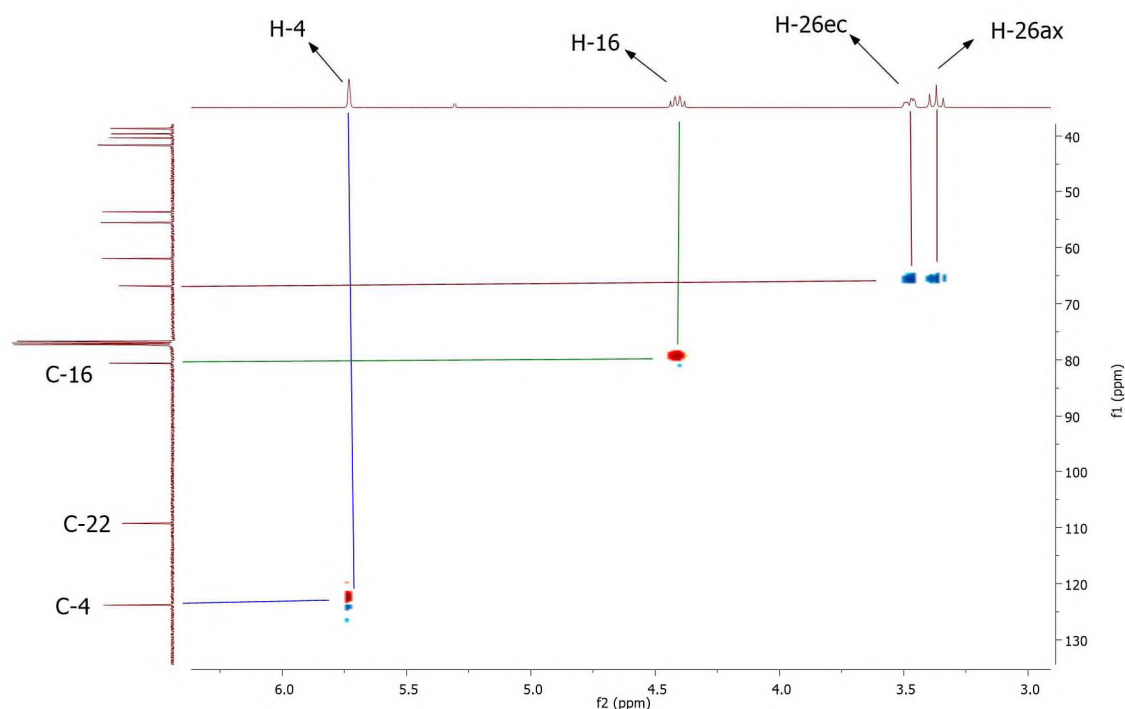


Figura 8. Espectro HSQC de (25R)-espirost-4-en-3-ona (143).

Por su parte, en el espectro de ^{13}C se mostraron las 27 señales consistentes con el número de carbonos de la molécula. Se observó a campos bajos una señal en 199.6 ppm la cual es característica de cetonas α,β -insaturadas. Las señales de los carbonos vinílicos C-4 y C-5 se mostraron en 123.8 y 171.2 ppm. La señal característica del carbono espirocetálico no presentó cambios y se observó nuevamente en 109.2 ppm. Las señales de los carbonos base de oxígeno C-16 y C-26 se observaron a campos bajos hacia 80.6 y 66.8 ppm respectivamente (figura 9).

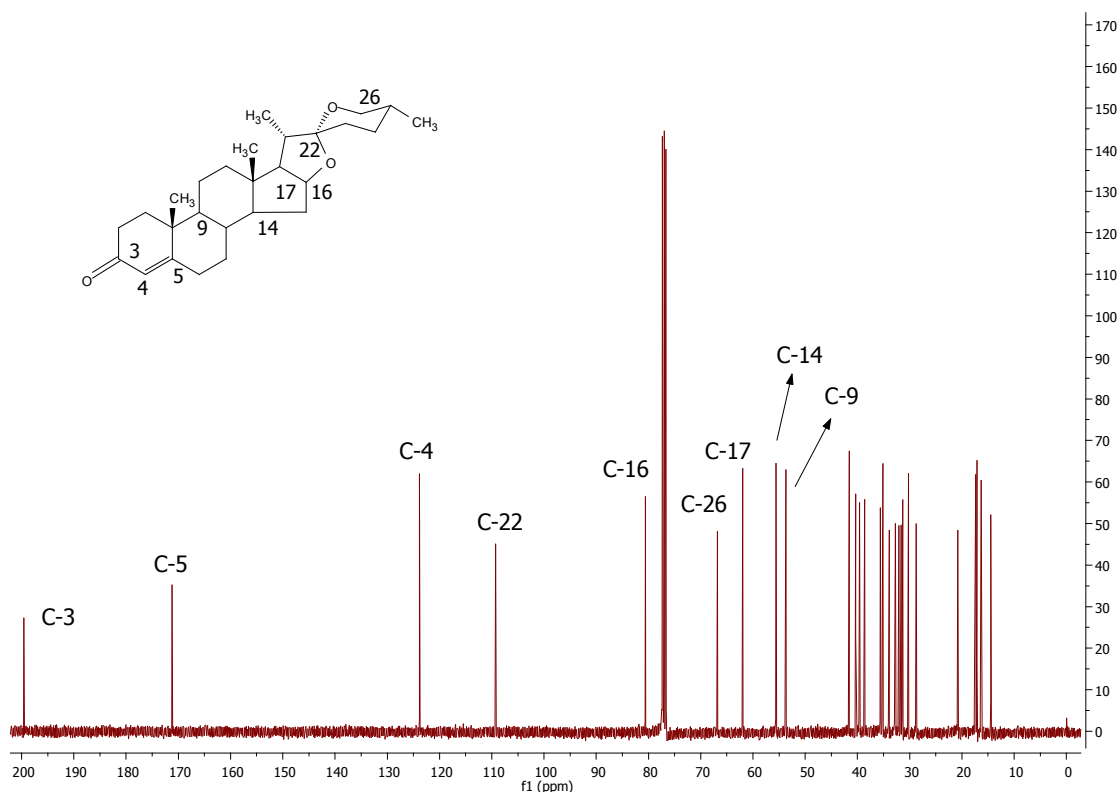


Figura 9. Espectro de ^{13}C del (25*R*)-spirost-4-en-3-ona (143).

Del derivado **143**, se obtuvieron cristales adecuados para su estudio por difracción de RX, con un p.f.= 185-187 °C, donde se puede distinguir la estructura esperada, confirmando la presencia de la cetona en el C-3, la doble ligadura en el C-4 y la estereoquímica del espirocetal (22*R*), que permite corroborar que no ocurrió epimerización de los estereocentros y que pese al medio ácido y las condiciones de reacción no hubo apertura del espirocetal (figura 10).

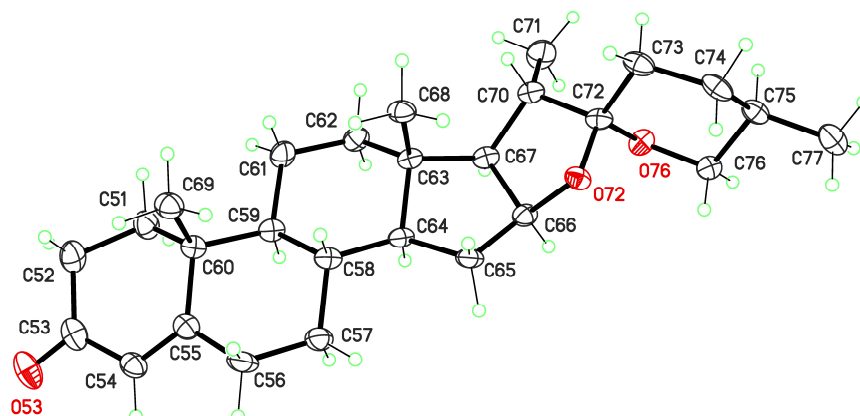


Figura 10. Diagrama ORTEP de la estructura molecular de 143 con elipsoides de probabilidad.

4.1.4 Preparación del seco ceto ácido 144.

El reactivo permanganato de potasio-peryodato de sodio es un combinado oxidante que ha presentado un amplio uso en la actualidad para oxidar compuestos orgánicos y fue descubierto por Lemieux y Von Rudloff⁴⁸. Consiste en una secuencia de reacciones que implican la acumulación de dióxido de manganeso, el cual es evitado debido a que cualquier derivado en estado de valencia inferior al del manganeso se reoxida a iones permanganato por el peryodato. La formación del 1,2-diol es generado por el permanganato seguido de la ruptura del enlace carbono-carbono que contiene el diol, formando una cetona y un ácido carboxílico o aldehído sin degradación.

Actualmente, diversos autores han utilizado este oxidante para la escisión de dobles enlaces en el anillo A de esteroides α,β -insaturados. En la tabla 2 se muestra una comparación de las cantidades de reactivos empleados por distintos autores para llevar a cabo esta oxidación utilizando como base 500 mg de esteroide. Como se puede observar, para este caso, las cantidades de reactivo empleadas por Zhong fueron reproducidas, ya que mostraron ser satisfactorias

para la oxidación del compuesto **143**; de esta manera se obtuvo un rendimiento del 89 % del seco esteroide.

Tabla 2. Comparación de metodologías empleadas para la oxidación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.

Reactivos	Rasmunsson (ref. 19)	Zhong (ref. 26)	Borthakur (ref. 27)	Metodología empleada
Molécula esteroidal	Derivado de Androstano	Androstendiona	Colesterol	Diosgenina
Agua	2.1 mL	9 mL	8 mL	9 mL
2-metil-2-propanol	8.75 mL	-----	-----	-----
Isopropanol	-----	-----	40 mL	-----
Tert-Butanol	-----	10 mL	-----	10 mL
Na₂CO₃	210 mg	375 mg	200 mg	375 mg
NaIO₄	2.37 g	2.11 mg	2 g	2.11 g
KMnO₄	17.37 mg	67 mg	15 mg	67 mg
Temperatura	80°C	60 °C	75 °C	70 °C
Tiempo	1.5 h	3 h	1.5 h	3 h
Rendimiento	72 %	86 %	89 %	89 %

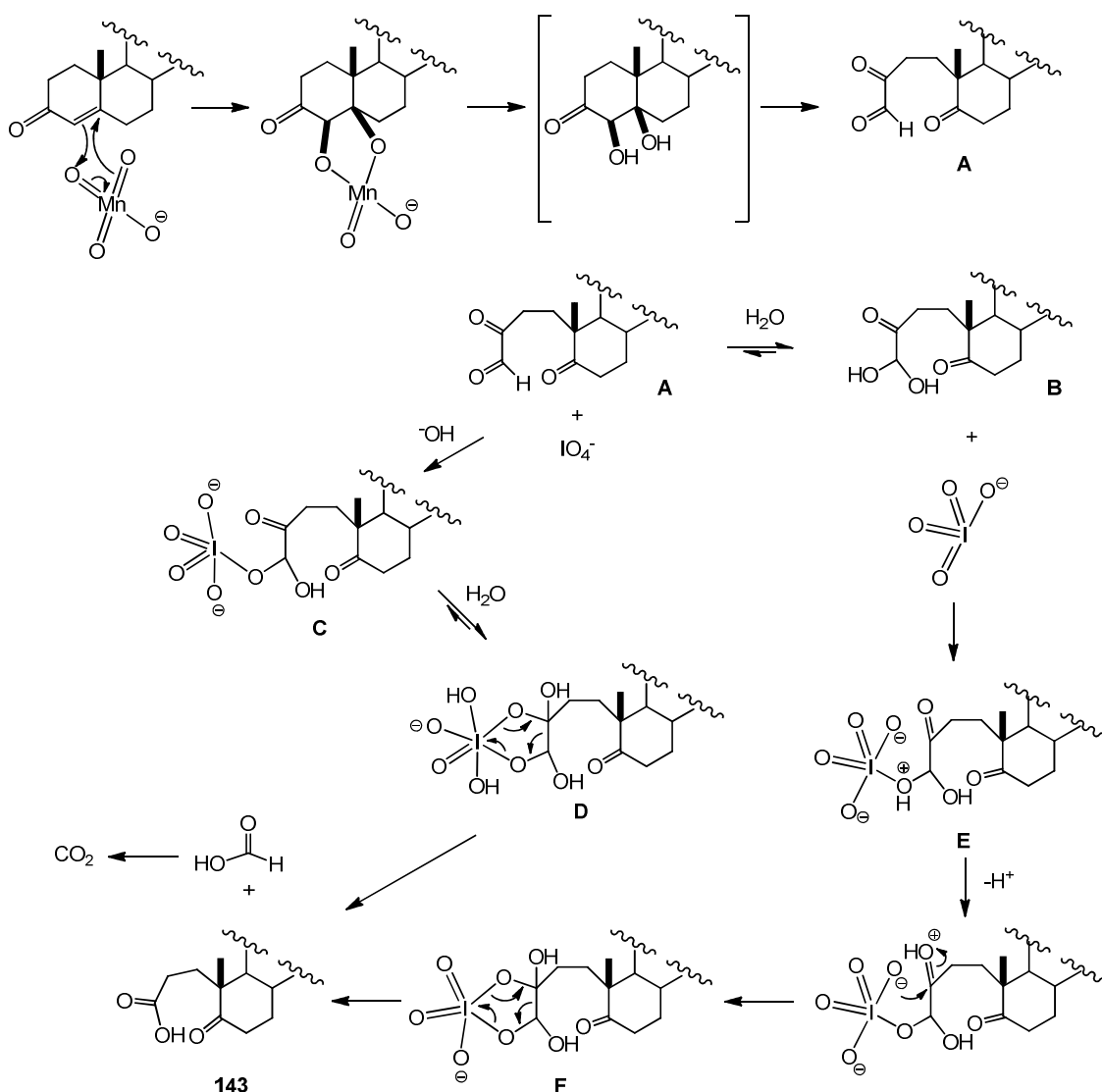
Siguiendo esta metodología, se procedió a realizar la ruptura oxidativa del doble enlace de **143** con permanganato de potasio y peryodato de sodio adicionando esta mezcla gradualmente a una solución del compuesto α,β -insaturado disuelto en *tert*-butanol a reflujo a 70 °C por 3 horas .

4.1.4.1 Mecanismo de reacción propuesto para la obtención del seco ceto ácido 144.

El mecanismo de oxidación propuesto comienza con la formación de un éster de manganato cíclico que se rompe en presencia de agua formando el intermediario diol, seguido de la oxidación de éste que escinde el enlace C-C, generando como resultado el compuesto **A** que contiene por un lado una cetona estable y por el otro un α -ceto aldehído. Las dicetonas y α -hidroxicetonas se escinden a ácidos carboxílicos y se ha reportado que un intermediario cíclico es formado por ataque nucleofílico sobre la dicetona⁴⁹. Basándonos en estos reportes, se propuso que la descomposición del intermediario α -ceto aldehído **A** se debe al peryodato, como se muestra en el esquema 29, generando así el ceto ácido de 28 carbonos.

Se proponen dos mecanismos de oxidación posibles que involucra el α -ceto aldehído **A**. La ruta que va de este intermediario al compuesto **143** vía **A-D** comienza con el ataque nucleofílico de un grupo hidroxilo hacia el carbonilo del aldehído seguido del ataque al yodo (VII) del IO_4^- , generando como consecuencia el mono éster **C**. El grupo cetónico del mono éster se hidrata en medio acuoso y uno de los hidroxilos se adiciona al yodo, obteniéndose así el intermediario diéster **D**, el cual es clave para la obtención del compuesto **143**, resultado del intercambio de tres pares de electrones en el intermediario diéster cíclico.

Una segunda ruta mecanística posible vía **A-F** comienza con la formación del aldehído hidratado **B** que genera el ataque al yodo (VII), formando el monoéster **E**. El diéster **F** se forma posteriormente por el cierre del anillo del mono éster. El ácido fórmico obtenido en ambos casos es oxidado fácilmente a CO_2 .



Esquema 29. Mecanismo de reacción propuesto para la oxidación del compuesto 143.

4.1.4.2 Caracterización del seco ceto ácido 144.

En el espectro de ¹H se observó la desaparición de la señal del protón vinílico en C-4, mientras que se observó una señal en 2.57 ppm que se asignó a H-6 axial con $J_{gem}=J_{6ax-7ax} = 14$ y $J_{6ax-7ec}= 5.6$ Hz. El desplazamiento de este protón es debido al efecto anisotrópico que ejerce el grupo carbonilo en C-5 sobre el protón (figura 11).

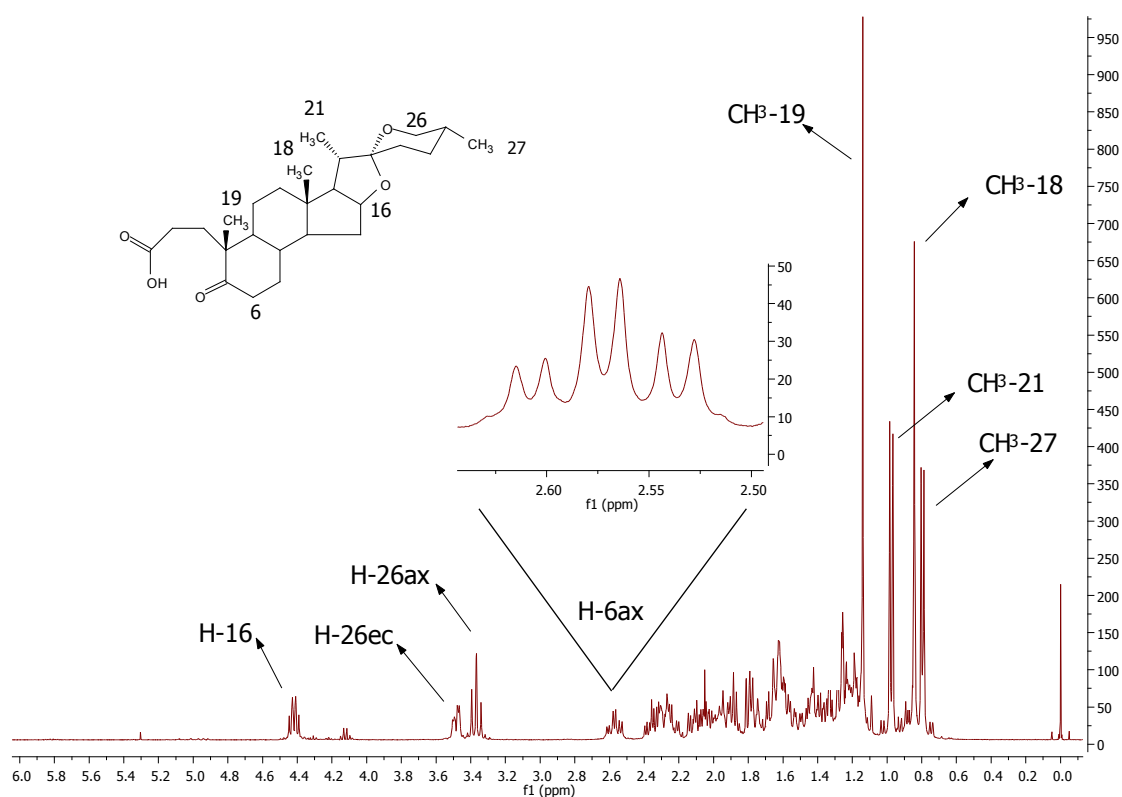


Figura 11. Espectro de ^1H del ácido (25R)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-estriano-3-oico (144).

En el experimento COSY se pudo apreciar el acoplamiento entre los protones H-6 axial y H-6 ecuatorial (figura 12).

Por otra parte, mediante el experimento HMBC se observó la correlación a largo alcance de H-6 axial y CH₃-19 con el carbonilo en C-5 (figura 13).

Las señales que no presentaron un cambio significativo en desplazamiento químico son los protones H-16, H-26ec y H-26ax, CH₃-18, 19, 21 y 27.

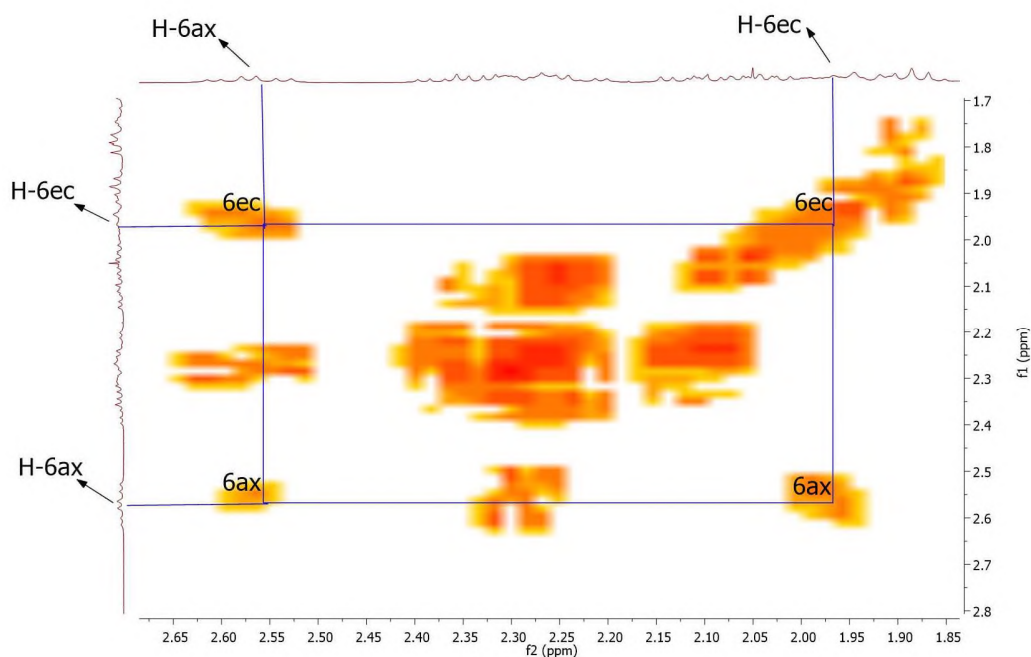


Figura 12. Espectro COSY del ácido (25*R*)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-estriano-3-carboxílico (144).

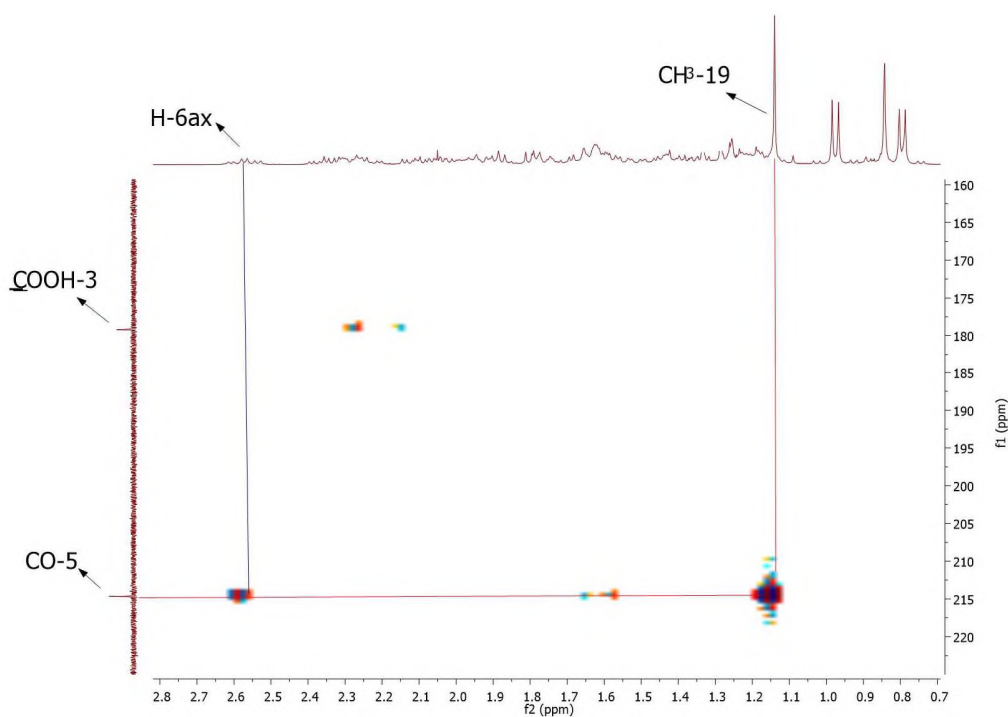


Figura 13. Espectro HMBC del ácido (25*R*)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-estriano-3-carboxílico (144).

En el espectro de ^{13}C se mostraron las 26 señales de los carbonos de la molécula. La señal para carbonilo de cetona se movió de 199.6 (en la materia prima) a 214.7 ppm con lo que se confirmó que se perdió la conjugación con una doble ligadura. Además, aparece una señal en 179.2 ppm que se asignó al carbono C-3, característica de carbonilos de ácidos carboxílicos. Por otro lado, se puede observar la desaparición de la señal correspondiente al carbono C-4 y las señales hacia 109.3, 80.4 y 66.8 ppm que se asignaron al carbono espirocetálico C-22 y a los carbonos base de oxígeno C-16 y C-26, los cuales no presentan cambios significativos en su desplazamiento (figura 14).

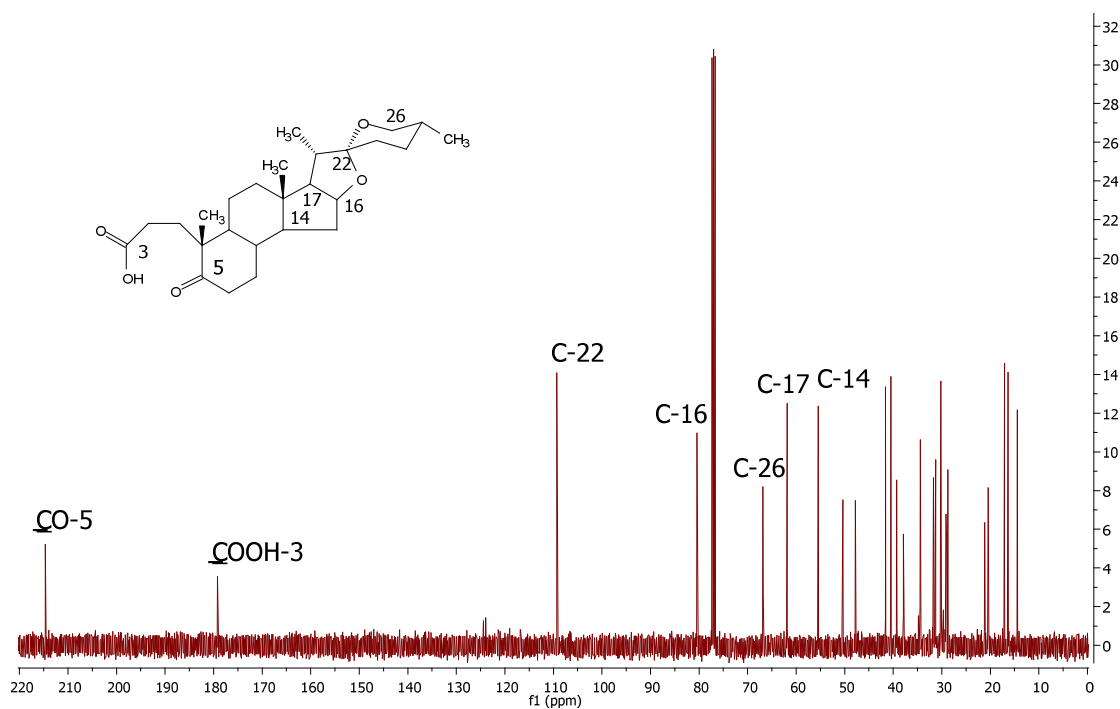


Figura 14. Espectro de ^{13}C del ácido (25R)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-estriano-3-oico (144).

Del derivado **144**, se lograron obtener cristales idóneos para su estudio por difracción de RX, donde se puede observar la estructura esperada y confirmar la estereoquímica de los estereocentros, en el que se corrobora que no hubo epimerización pese a las condiciones de reacción ácidas, sin apertura del espirocetal (figura 15).

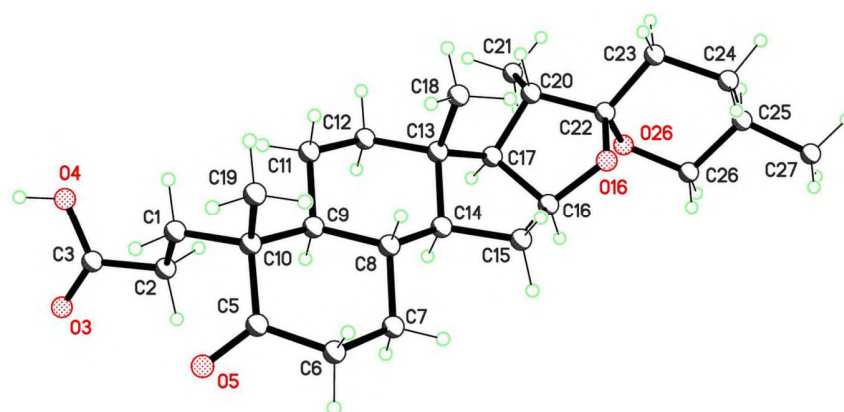


Figura 15. Diagrama ORTEP de la estructura molecular del derivado seco ácido 144 con elipsoides de probabilidad.

El cristal del seco ácido **144** es monoclinico, y en esta estructura fue interesante encontrar que la celda cristalina esta empaquetada en un grupo espacial C2, cuyo empaquetamiento muestra la formación de cadenas de moléculas de ácido, ordenamiento que no es característico de ácidos carboxílicos. Usualmente, las moléculas de ácidos carboxílicos con un solo grupo ácido carboxílico, tienen una tendencia fuerte a formar dímeros en el estado sólido, a través de un doble puente de hidrógeno, donde la ganancia en energía es significativa. Es poco común que los grupos COOH formen cadenas, como en el caso del seco ácido **144** (figura 16).

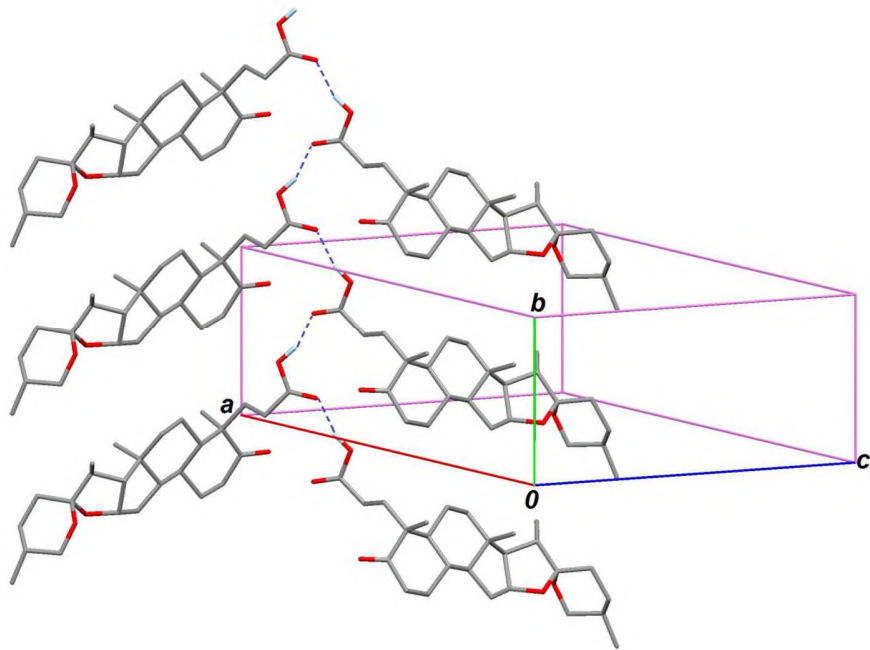


Figura 16. Celda cristalina del seco ácido 144, que muestra la disposición en “cadena” de las moléculas en el estado sólido.

4.1.5 Preparación del (25*R*)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).

Para la preparación del compuesto aza esteroidal **145** se probaron diversas metodologías para obtener las condiciones óptimas que generaran mejores resultados en la reacción de ciclación. Primeramente, se buscó un reactivo que aportara nitrógeno. El sulfato de amonio fue el primer reactivo utilizado, la reacción se llevó a cabo a reflujo de ácido acético glacial por 4 horas siguiendo la metodología reportada por Zhong²⁶. Con esta técnica se obtuvo el compuesto aza esteroidal esperado en un rendimiento del 49 %. Debido a que el rendimiento no fue óptimo, se realizó la misma reacción utilizando acetato de amonio con lo que se obtuvo el aza esteroide **145** con un rendimiento del 79 %. Dado que con el acetato de amonio se habían obtenido buenos resultados, se decidió probar la reacción en un microondas focalizado con acetato de amonio y ácido acético glacial a diferencia de la técnica reportada por Borthakur²⁷, en la que utilizaron trifluoruro de boro eterado y urea. Cabe destacar que para encontrar las mejores condiciones se probaron distintos reactivos y tiempos de reacción. El mejor rendimiento obtenido fue del 94 % utilizando 1 eq. del seco esteroide con 3.8 eq. de acetato de amonio. Por el contrario, cuando se utilizó hidróxido de amonio no hubo reacción.

Cuando se realizó la reacción con trifluoruro de boro y urea utilizando como disolvente N,N-dimetilformamida, el rendimiento de **145** fue del 71 %. De esta última reacción se pudo observar que no es muy estable, ya que al no tratar a tiempo el crudo de reacción se descompone el producto y esto fue observado por RMN. En la tabla 3 se muestra un resumen de las condiciones de reacción utilizadas para la síntesis del compuesto azaesteroidal.

La ventaja del uso de este tipo de MW focalizado es la de poder manipular y controlar la potencia, presión y temperatura en todo momento, lo cual no es muy posible lograr con otros equipos.

Tabla 3. Comparación de metodologías empleadas para la oxidación de esteroides α,β -insaturados en el anillo A.

Condiciones de reacción	Método A	Método B	Método C	Método D	Método E
Reactivos	(NH ₄) ₂ SO ₄ / AcOH	NH ₄ OAc/ AcOH	NH ₄ OAc/ AcOH	NH ₄ (OH) ₂ / AcOH	BF ₃ /Urea DMF
Temperatura	Reflujo	Reflujo	MW	MW	MW
Tiempo	4 h	4 h	3 min.	5 min	5 min
Rendimiento	43 %	79 %	94 %	No hubo rxn	71 %

Por otra parte, en la figura 17 se muestra una gráfica generada por el MW que relaciona tres variables de la reacción: temperatura, presión y tiempo, donde se observa que la reacción se está llevando a cabo al haber un cambio en la presión. De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla 4, la reacción ocurre en los primeros 3 minutos debido a la variación de la presión hasta llegar a una etapa en que se mantiene constante y no hay cambio; después de los 3 minutos se entiende que hay una reacción secundaria que forma un subproducto. Con éstos resultados se estableció que el tiempo óptimo para llevar a cabo la reacción de azaciclación fue de 3 minutos.

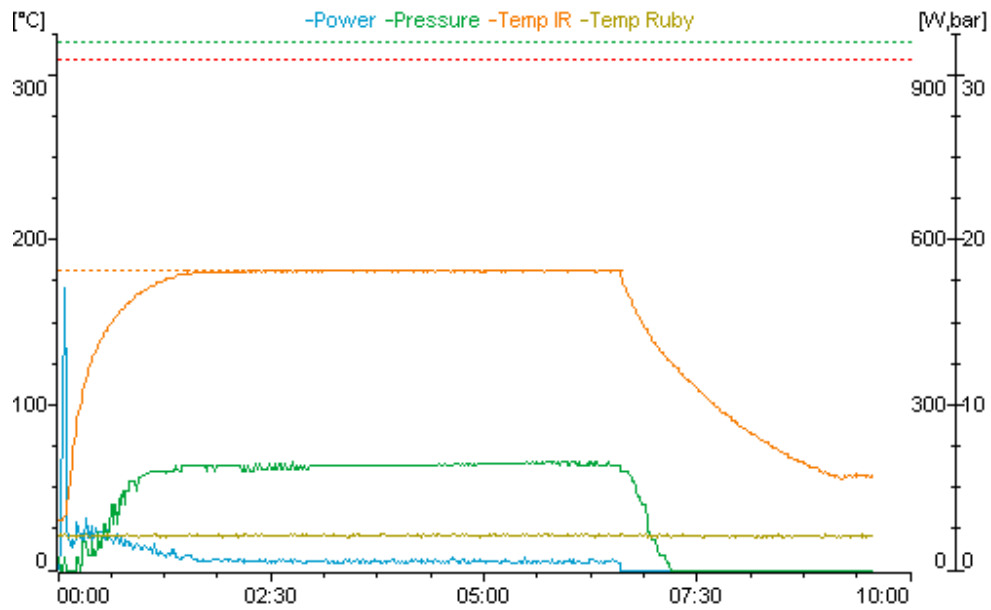


Figura 17. Gráfica de la reacción de ciclización en MW.

Tabla 4. Resultados de la gráfica de la reacción de ciclación.

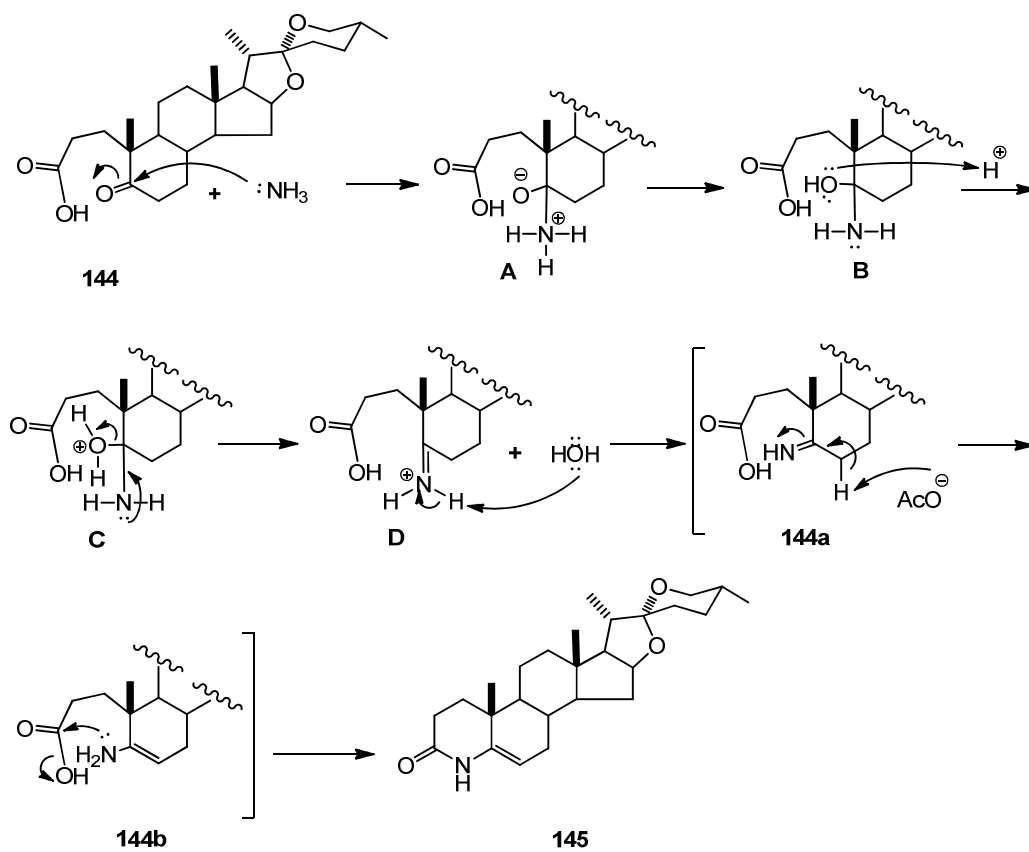
Tiempo hh:mm:ss	Temp. IR °C	Temp. Ruby °C	Presión bar	Potencia W	Agitación
0:00:00	30.23	21.08	0.9	5	On
0:00:10	72.95	20.99	0	58	On
0:00:20	118.34	20.8	0.9	72	On
0:00:30	140.54	21.59	1.4	72	On
0:00:35	147.46	20.86	2.4	59	On
0:00:40	153.53	21.31	4	59	On
0:00:45	158.86	21.59	4.8	47	On
0:00:50	163.01	21.05	5.4	48	On
0:00:55	167.56	20.72	4.8	50	On
0:01:00	169.96	21.08	5.8	46	On
0:01:05	172.34	21.79	6	42	On
0:01:15	176.7	20.65	5.9	26	On
0:01:20	177.72	21.36	6	33	On
0:01:30	179.73	21.02	6.3	28	On
0:01:40	180.98	21.31	6.3	18	On
0:01:50	180.86	21.06	6	20	On
0:01:55	181.2	20.64	6.3	19	On

Tiempo hh:mm:ss	Temp. IR °C	Temp. Ruby °C	Presión bar	Potencia W	Agitación
0:02:10	181.23	22.04	6.3	15	On
0:02:15	181.49	21.28	6	18	On
0:02:20	181.67	21.84	6.2	17	On
0:02:30	181.41	21.45	6.2	19	On
0:02:35	181.41	21.06	6.5	20	On
0:02:40	181.5	21.25	6.2	17	On
0:02:45	181.36	21.38	6.7	15	On
0:02:50	181.76	21.12	6.4	18	On
0:02:55	181.38	22.07	6.2	16	On
0:03:00	181.62	21.05	6.4	18	On
0:03:20	181.78	20.97	6.4	16	On
0:03:40	181.74	20.89	6.4	15	On
0:04:00	181.57	21.43	6.4	15	On

4.1.5.1 Mecanismo de reacción para la obtención del azaesteroide 145.

El mecanismo tiene lugar mediante un ataque nucleofílico del par electrónico del nitrógeno del amoniaco (formado a partir de la desprotonación del ion amonio) al carbono electrofílico en C-5 seguido de la transferencia de un protón del nitrógeno al oxígeno. Posteriormente se protona el grupo OH de la carbinolamina **B** que por pérdida de agua origina el ión intermediario **D**, el cual se estabiliza perdiendo un protón generando la imina **144a**.

Por último, el ion acetato actúa como nucleófilo extrayendo un protón ácido y genera la enamina intermediaria **144b**. El ataque nucleofílico del grupo amino se cataliza en medio ácido, facilitando la azaciclación (esquema 30).



Esquema 30. Mecanismo de reacción para la formación del azaesteroide 145.

4.1.5.2 Caracterización del azaesteroide 145.

En el espectro de ^1H se observó hacia campos bajos una señal simple ancha en 8.22 ppm característica de los protones de una amida. En 4.88 ppm se observó una señal dd con $J_{6-7ax} = 4.8$ y $J_{6-7ec} = 2.4$ Hz que se asignó al próton vinílico H-6. Con respecto a los protones 16, 26ax y 26ec no presentan cambios en cuanto a su desplazamiento con respecto a la diosgenina. Por otro lado, se apreció una señal múltiple en 2.74 ppm, integrando para dos protones; ésta se asignó a los protones axiales y ecuatoriales en C-2, el desplazamiento de estos protones a campos bajos es debido a la influencia que ejerce el grupo carbonilo de la amida adyacente a C-2. A campos altos se aprecian dos señales simples que se asignaron a los metilos 19 y 18 con desplazamientos de 1.11 y 0.81 ppm respectivamente. También se observaron dos señales dobles con constantes de

acoplamiento $J_{21-20}=6.8$ Hz y $J_{27-25}=6.4$ correspondientes a los metilos 21 y 27 (figura 18).

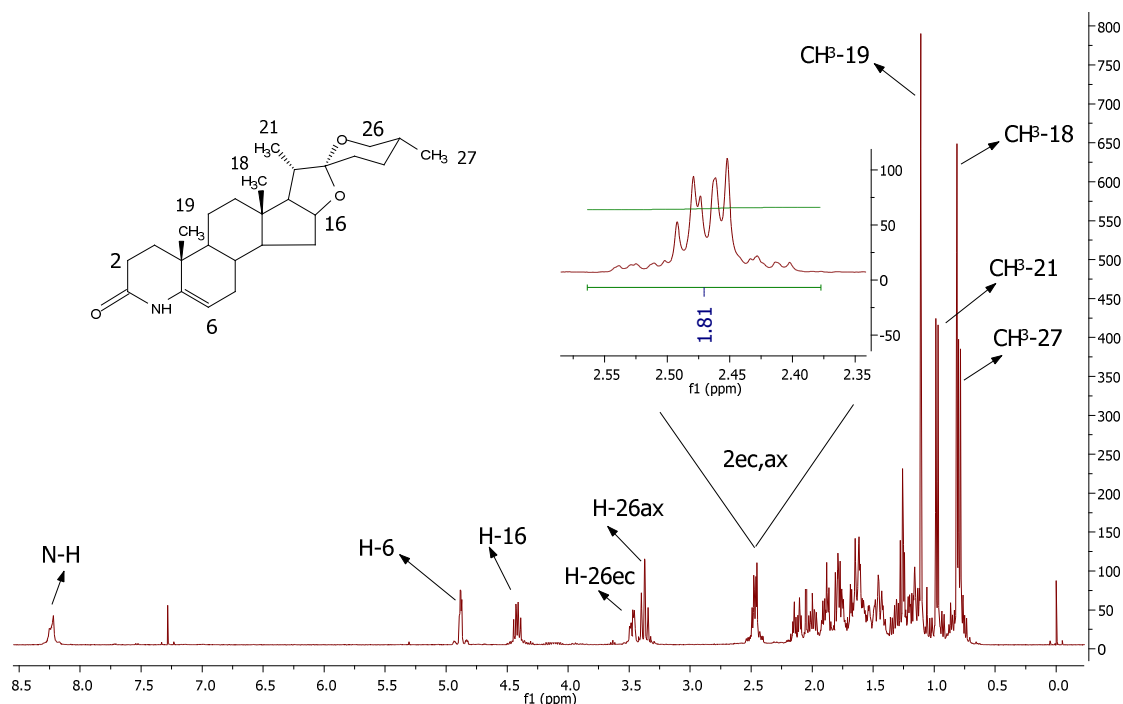


Figura 18. Espectro de ^1H del (25R)-4-aza-5-epirosten-3-ona (145).

Esta asignación se pudo corroborar a través del experimento COSY, donde se observó el acoplamiento existente entre el protón H-6 y un H-7 y, por otro lado, el acoplamiento entre los protones $2ec,ax$ y un H-1 (figura 19).

Por otra parte, en el experimento HMBC se observó el acoplamiento a largo alcance entre el protón de N-H con el carbonilo de la amida, así como también el acoplamiento de este protón con C-5 y C-6. De la misma manera, se aprecia el acoplamiento entre los protones $2ec,ax$ y el carbonilo de la amida y de un protón H-7 con los C-5 y C-6 (figura 20).

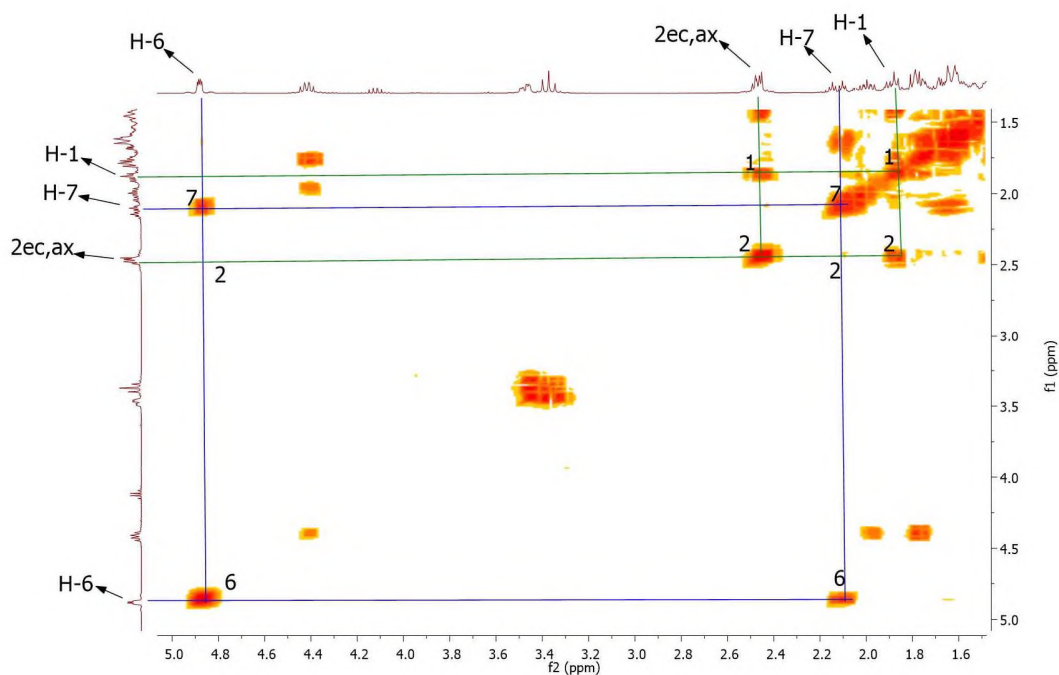


Figura 19. Espectro COSY del (25*R*)-4-aza-5-epiosten-3-ona (145).

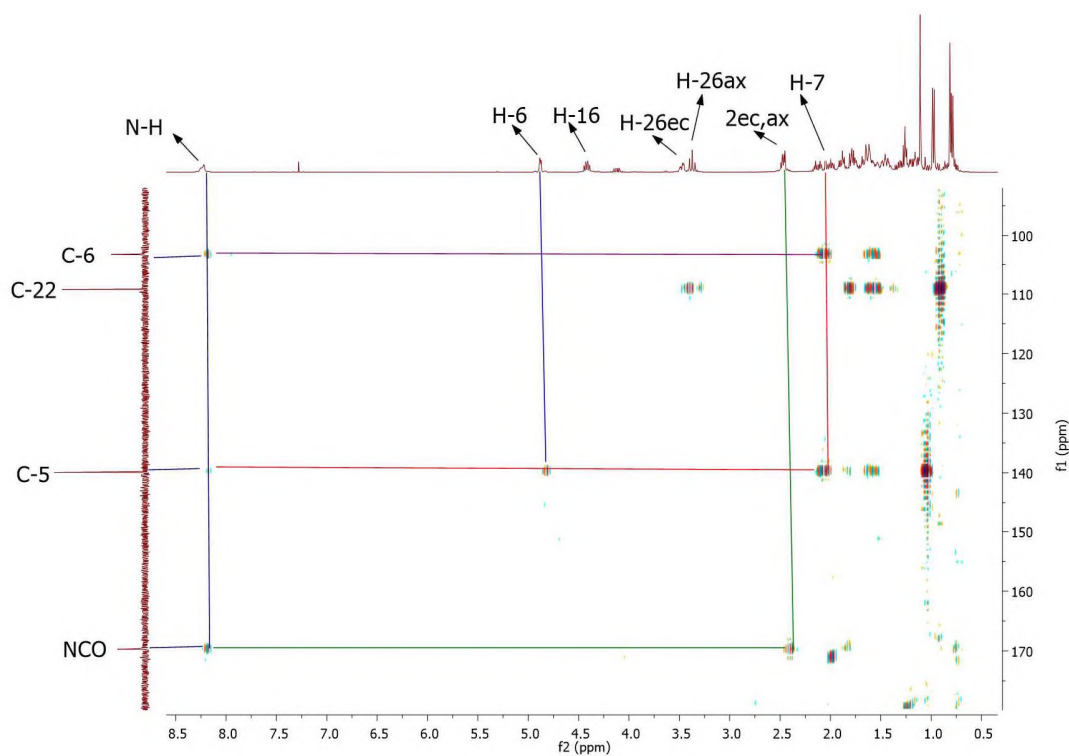


Figura 20. Espectro HMBC del (25*R*)-4-aza-5-epiosten-3-ona (145).

En el espectro de ^{13}C se observaron 26 señales correspondientes al número de carbonos de la molécula. En 169.7 ppm se observó claramente la presencia del grupo carbonilo de amida y los carbonos vinílicos C-5 y C-6, en 139.9 y 103.2 ppm respectivamente. La señal del carbono espirocetálico se observó en 109.2 ppm. Por otro lado, los carbonos base de oxígeno C-16 y C-26 se desplazaron hacia 80.6 y 66.8 ppm (figura 21).

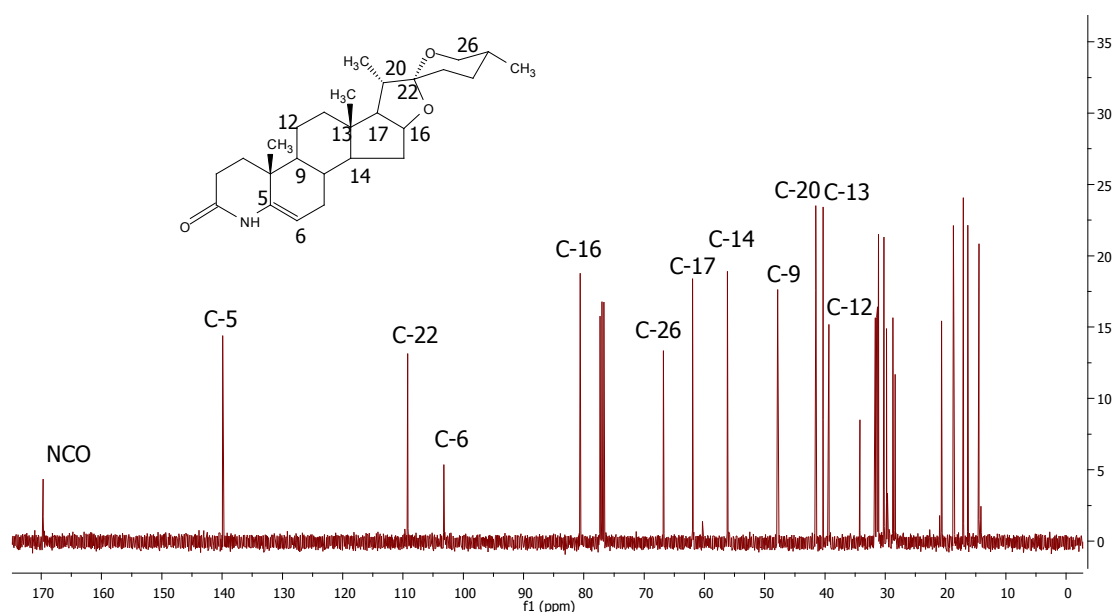


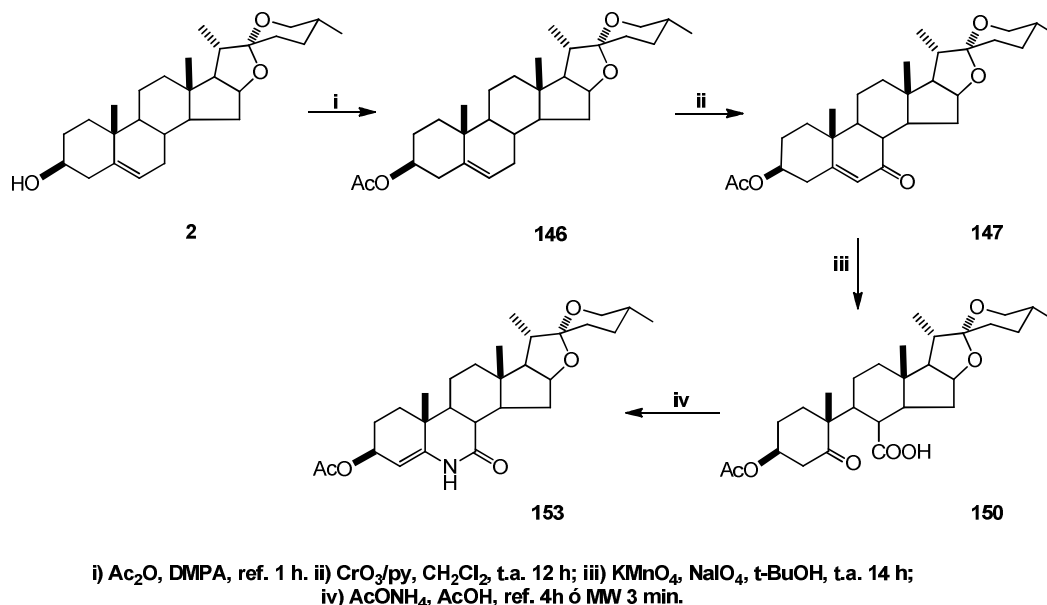
Figura 21. Espectro RMN de ^{13}C del (25R)-4-aza-5-espirosten-3-ona (145).

El compuesto 4-azaesteroidal y sus derivados serán de gran utilidad como compuestos de referencia para estudios posteriores de estructura-actividad y estructura-reactividad.

4.2 Secuencia de reacciones propuesta para la obtención del acetato de (25R)-6-aza-4-espirosten-7-ona (153).

La síntesis del derivado azaesteroidal **153** se llevó a cabo como se muestra en el esquema 31 siguiendo la misma metodología aplicada para la síntesis del

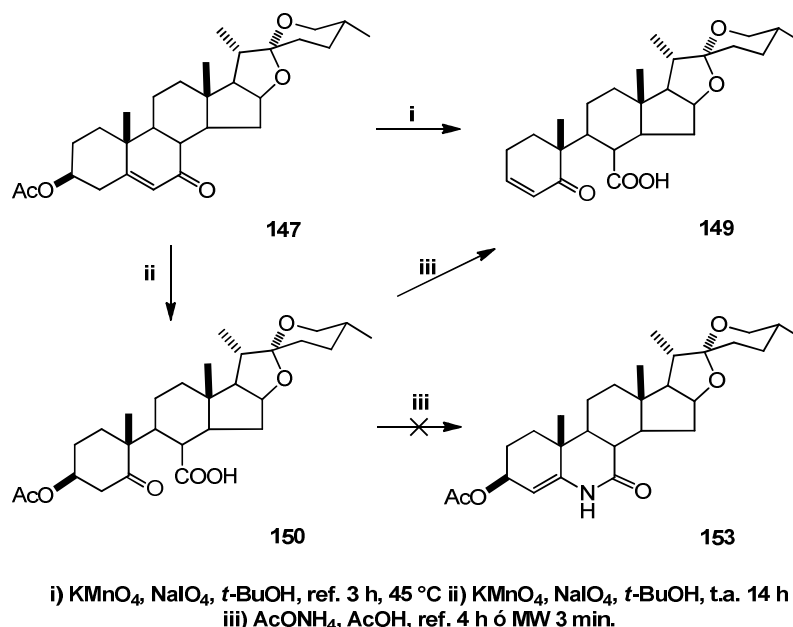
azaesteroide en el anillo A. El acetato de diosgenina **146** se obtuvo por esterificación de la diosgenina **2** utilizando anhídrido acético a reflujo por 1 hora. La oxidación alílica con el reactivo de Collins generó el compuesto α,β -insaturado **147**, cuya subsecuente oxidación con $\text{KMnO}_4/\text{KIO}_4$ a $45\text{ }^\circ\text{C}$ provocó la eliminación del grupo en C-3. Para evitar la eliminación del acetato la reacción tuvo que llevarse a cabo a t. a. con lo cual se accedió al seco ceto ácido esperado **150**.



Esquema 31. Secuencia de reacciones para la preparación del acetato de (25R)-6-aza-4-epiosten-7-ona (153).

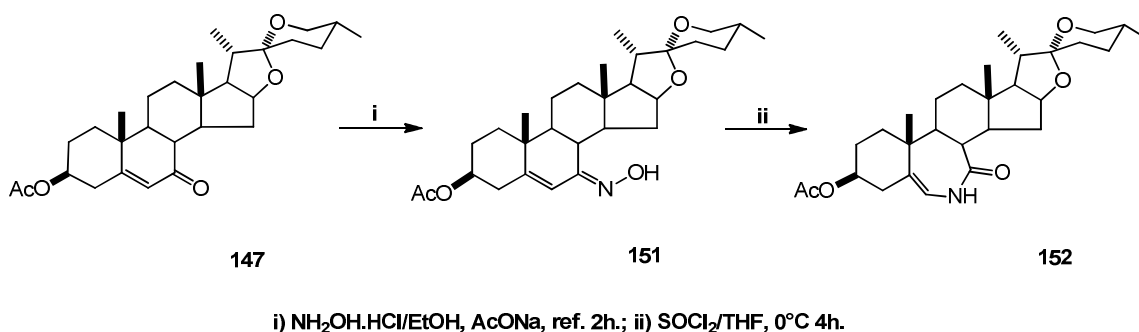
Para lograr la ciclación de **150**, primeramente se probó acetato de amonio a reflujo de ácido acético por 4 horas, sin embargo no se consiguió debido a que el grupo 3-OAc demostró ser muy lábil con el calentamiento, además de que su eliminación se ve favorecida por la conjugación que se genera con la cetona en C-5 (esquema 32). Con la finalidad de conservar el grupo acetato en C-3 se realizaron distintas reacciones variando la temperatura y tiempos de reacción pero los resultados no fueron favorables. Cabe mencionar que con una reducción del doble enlace de **149** y posteriormente la ciclación podría obtenerse un derivado 6-aza pero en nuestro laboratorio no se contaba con las condiciones de reacción

para que se llevara a cabo, con lo cual se optó por cambiar la estrategia de síntesis.



Esquema 32. Secuencia de reacciones que condujeron a 149.

Se planteó una nueva estrategia de expansión de anillo utilizando como precursor al derivado **147**, el cual contiene un grupo cetónico que pudo ser transformado hacia la oxima **151** y subsecuentemente, mediante una reacción tipo Beckmann se accedió a un 7-azaesteroide. La oxima se obtuvo al tratarse **147** con $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ a reflujo en etanol por 2 h. Por otra parte, el rearrreglo tipo Beckmann se indujo con SOCl_2 en THF (esquema 33).



Esquema 33. Síntesis del derivado B-homo azaesteroide 152.

4.2.1 Preparación y caracterización del acetato de diosgenina 146.

La esterificación se llevó a cabo por calentamiento de la diosgenina a reflujo de anhídrido acético y dimetil amino piridino por 1 hora. En el espectro de ^1H se observó que las señales correspondientes a H-6 y H-16 no presentan cambios considerables respecto a la diosgenina. Por el contrario, en 4.59 ppm se observó una señal múltiple que se asignó al protón base de oxígeno H-3, que a diferencia del espectro de diosgenina, esta señal se observa desplazada a campos bajos debido a la desprotección que el grupo acetato ejerce sobre éste protón. Los protones diastereotópicos H-26 ecuatorial y axial presentan un desplazamiento similar que en la diosgenina encontrándose en 3.47 y 3.37 ppm respectivamente. De la misma manera, en 2.31 ppm se observó una señal múltiple ancha que integra para dos protones, asignándose a los protones 4 ecuatorial y 4 axial (figura 22).

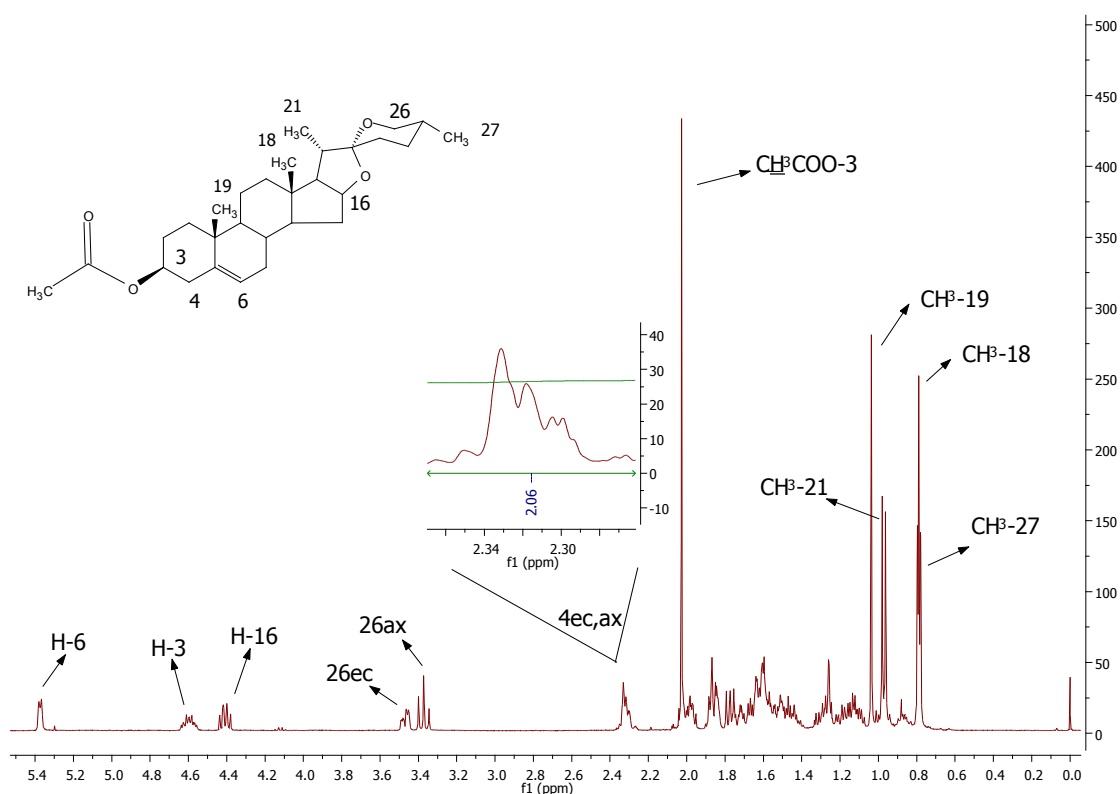


Figura 22. Espectro de ^1H del acetato de diosgenina.

También se observó una señal simple en 2.03 ppm característica de protones metílicos alfa a grupos carbonilo, correspondientes al metilo del acetato. Las señales simples hacia 1.04 y 0.79 ppm se asignaron a los protones de los metilos 19 y 18 respectivamente. Hacia campos altos aparecen dos señales dobles en 0.97 y 0.78 ppm con constantes de acoplamiento de 6.8 y 6.4 Hz que se asignaron a los protones de los metilos 21 y 27 respectivamente (figura 22).

En el experimento COSY se puede apreciar el acoplamiento que hay entre el protón H-3 y los protones H-4 (figura 23). Por otra parte, en HSQC se observó el acoplamiento entre H-6 y C-6, H-3 y C-3, H-16 y C-16, H-4_{ec,ax} y C4 como se muestra debajo (figura 24).

A través del experimento HMBC se mostró el acoplamiento a largo alcance entre los protones H-4 ec,ax y los carbonos C-5, C-6, C-3, entre otros (figura 25).

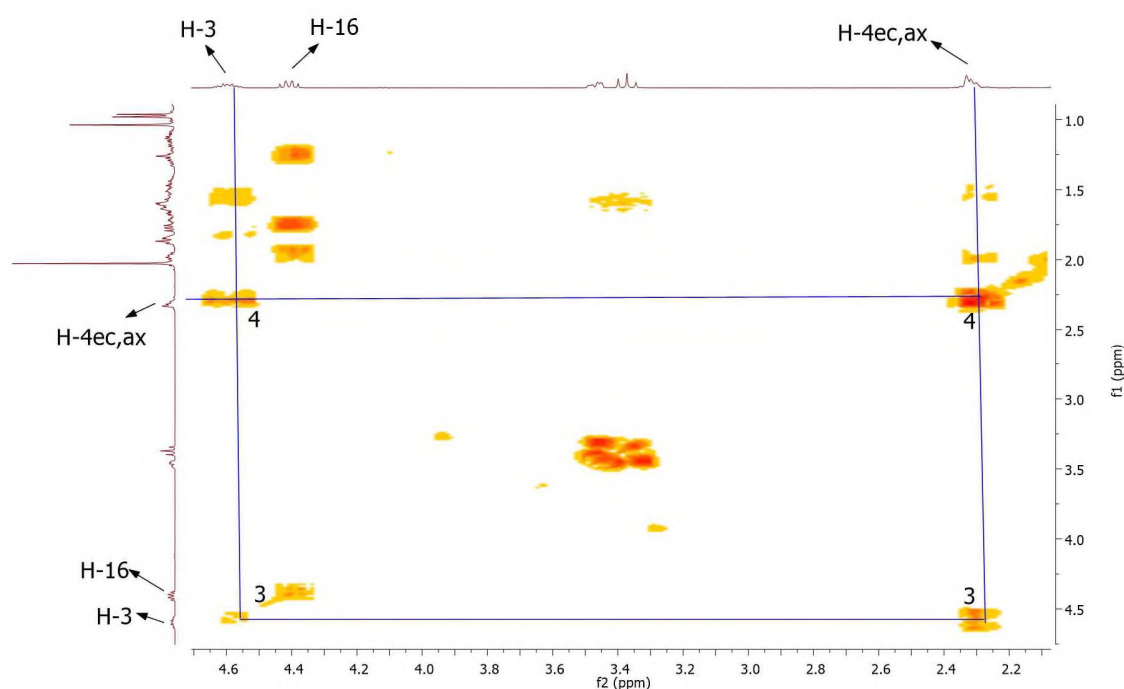


Figura 23. Espectro COSY del acetato de diosgenina.

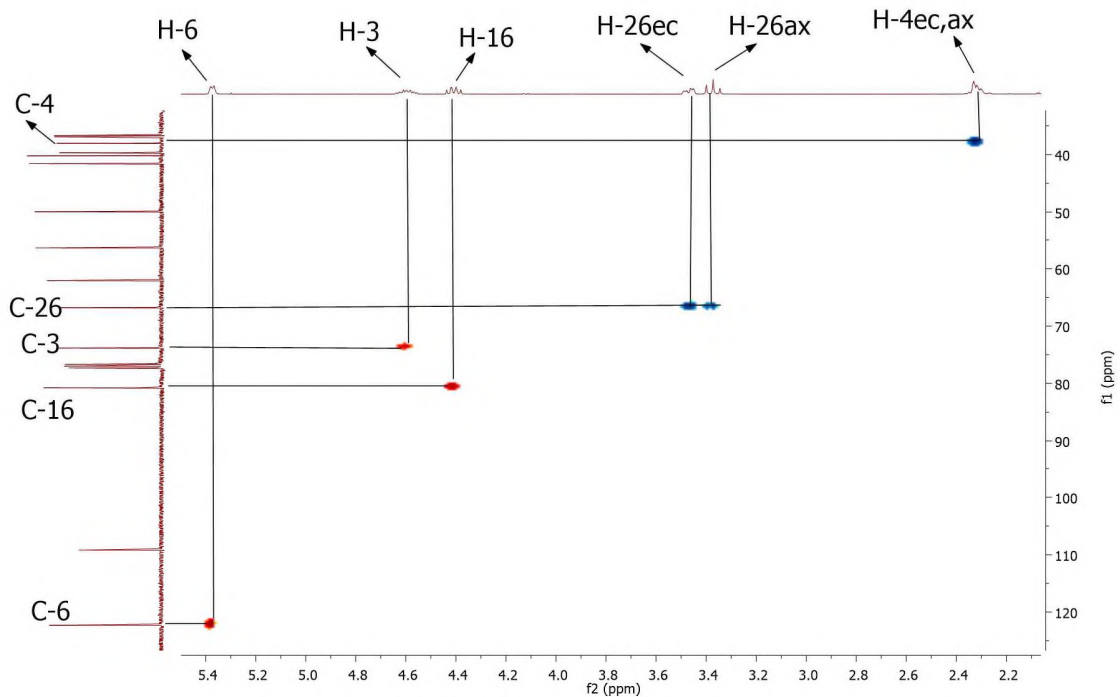


Figura 24. Espectro HSQC del acetato de diosgenina.

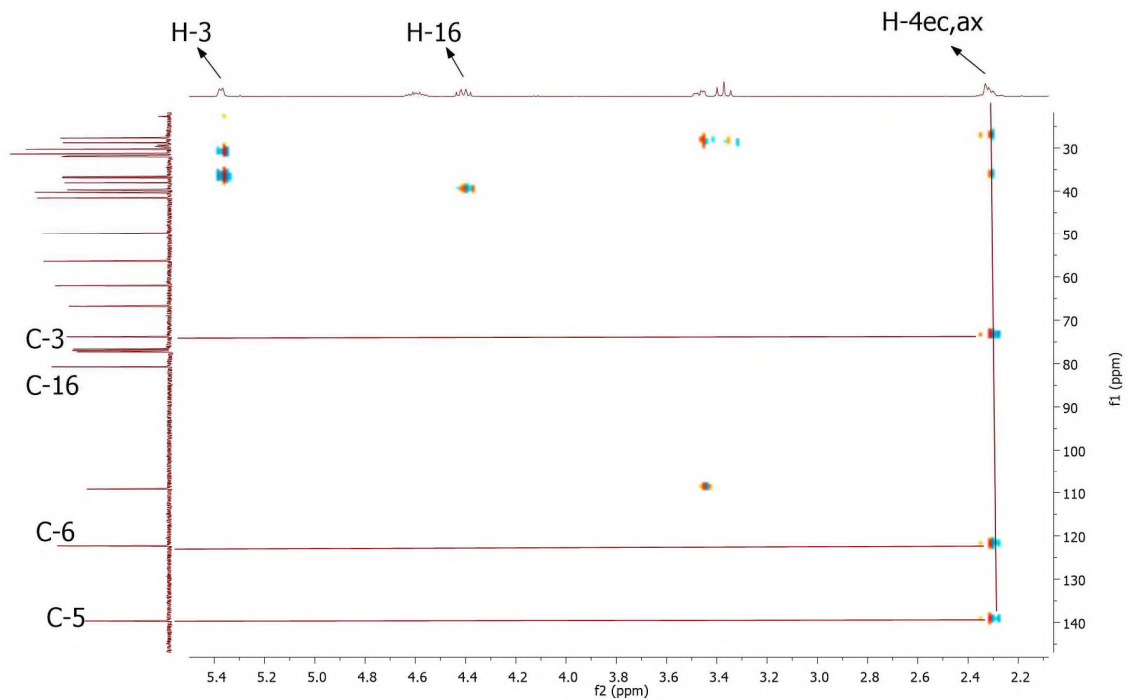


Figura 25. Espectro HMBC del acetato de diosgenina.

Por su parte, en el espectro de ^{13}C , se mostraron las 29 señales que corresponden con el número de carbonos de la molécula. En 170.2 ppm destaca una señal característica del carbonilo de grupo éster. Las señales de los carbonos vinílicos C-5 y C-6 aparecen en 139.5 y 122.2 ppm. El carbono espirocetálico 22 se mostró hacia 109.1 ppm. Las señales de los carbonos base de oxígeno de C-3, C-16 y C-26 se observaron a campos bajos hacia 73.8, 80.7 y 66.8 ppm respectivamente (figura 26).

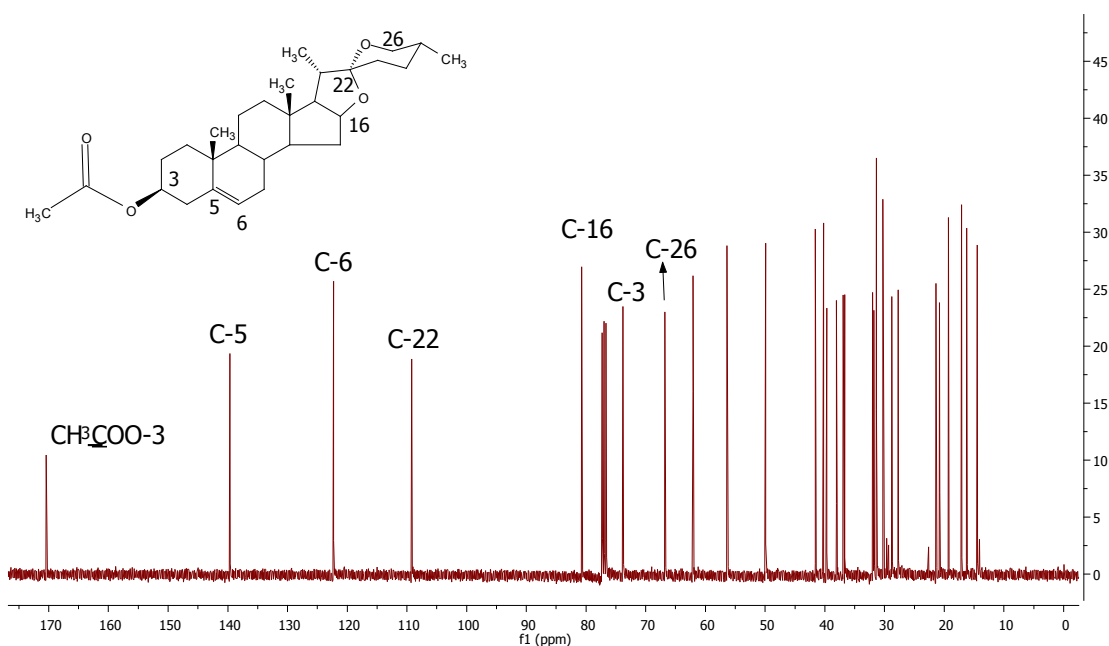
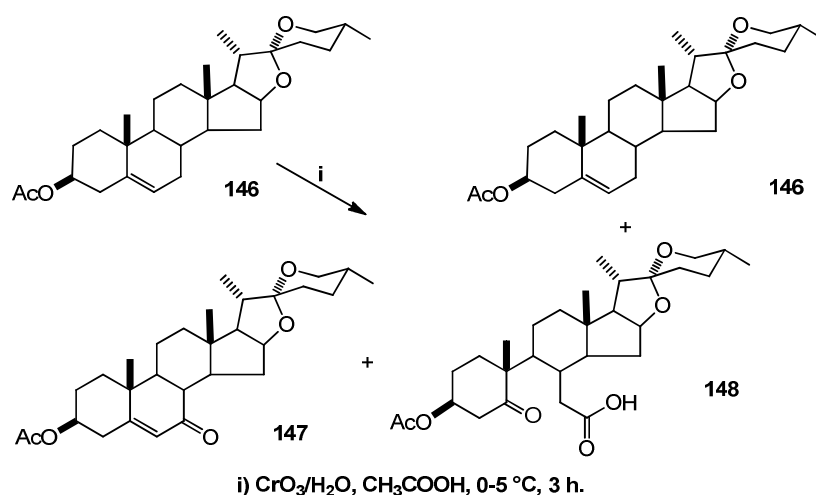


Figura 26. Espectro RMN de ^{13}C del acetato de diosgenina.

4.2.2 Preparación del (25*R*)-3β-acetoxi-5-espirosten-7-ona (147).

La reacción de oxidación alílica que dió mejores rendimientos se logró primeramente preparando el reactivo de Collins disolviendo CrO_3 (29 eq.) en CH_2Cl_2 a 0°C y posteriormente agregando lentamente piridina. Una vez listo el reactivo, se agregó acetato de diosgenina (1 eq.) disuelto en CH_2Cl_2 y se dejó la reacción en agitación por 12 horas. Mediante CCF se observó que la materia prima se encontraba en menor proporción que el producto esperado obtenido en

un 71 % de rendimiento. Una segunda metodología empleada consistió en agregar una solución de trióxido de cromo en ácido acético y agua al acetato de diosgenina disuelto en ácido acético, manteniendo la reacción en agitación a una temperatura entre 0 y 5 °C durante 3 horas. Por CCF se observaron tres manchas; la menos polar era materia prima y las dos restantes, resultaron después de su caracterización en el seco ceto ácido **148** (61 %) y en menor proporción el producto de la oxidación alílica esperado **147** (27 %) que se muestran en el esquema 34. De manera similar, Solaja⁵⁰ reportó la oxidación alílica de dos esteroides utilizando 30 equivalentes de reactivo de Jones, obteniendo rendimientos bajos del 10 y 23 %, con lo que se considera que la oxidación alílica de Δ^5 con ácido crómico se ve favorecida en el rompimiento del enlace doble por encima de la oxidación alílica.

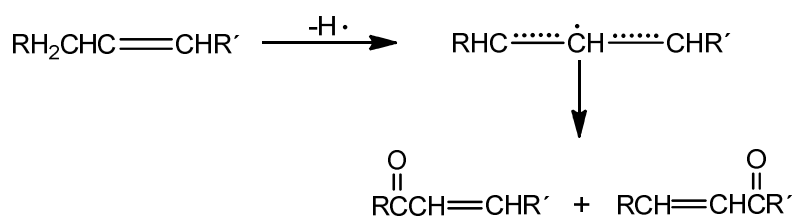


Esquema 34. Productos de oxidación del acetato de diosgenina (146).

4.2.2.1 Mecanismo de reacción para la síntesis del derivado 147.

Los métodos más comunes de oxidación de Δ^5 -esteroides son aquellos que se basan en el uso de reactivos de cromo (VI). Gran variedad de estos esteroides han sido convertidos en cetonas α,β -insaturadas empleando diferentes procedimientos oxidativos; sin embargo, el mecanismo de reacción a través del cual esto ocurre, no ha sido completamente elucidado. Algunos autores⁵¹ han

propuesto que la reacción ocurre vía radicales libres iniciando con la extracción de un átomo de hidrógeno (o ion hidruro) de un carbón alílico para formar un radical (o ion carbonio). Posteriormente las especies resultantes son oxidadas en ambos carbonos adyacentes al radical alílico para formar una cetona α,β -insaturada. La formación de estos productos puede ser debido a diversos factores como la accesibilidad estérica de los hidrógenos alílicos para ser extraídos, las energías relativas de posibles intermediarios alílicos y el control esteroelectrónico en la transferencia de oxígeno hacia los sitios competentes (esquema 35).



Esquema 35. Posible mecanismo de oxidación alílica para formar compuestos α,β -insaturados.

Basándonos en esta propuesta, para el caso del acetato de diosgenina hay dos carbonos que contienen hidrógenos alílicos los cuales pueden ser extraídos, C-4 y C-7. Es de esperar que los hidrógenos axiales, por su disposición espacial, sean extraídos preferentemente sobre los hidrógenos ecuatoriales debido a los efectos estereo electrónicos sobre la reactividad de la molécula⁵². En este caso, el hidrógeno axial de C-4 se encuentra por encima del plano de la molécula del esteroide y la aproximación de las especies de cromo se ven obstaculizadas por el grupo metilo en C-10. Por otra parte, el hidrógeno axial en C-7 está por debajo del plano de la molécula y libre de impedimento estérico (figura 24), por lo que la reacción transcurre en esta posición dando como resultado la formación del compuesto α,β -insaturado **147**.

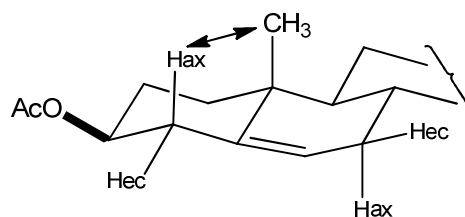


Figura 27. Distribución espacial de hidrógenos H-4ax y H-7ax en el acetato de diosgenina.

4.2.2.2 Caracterización del (25R)-3β-acetoxi-5-espirosten-7-ona (147).

En el espectro de ^1H se observó a campos bajos una señal simple ancha en 5.71 ppm que se asignó al protón H-6. Los protones H-3 y H-16 se desplazaron hacia 4.71 y 4.48 ppm mientras que los protones diastereotópicos H-26ec y H-26ax no presentan cambios en su desplazamiento. Los cambios más significativos con referencia al espectro de la materia prima fueron la presencia de cuatro señales a campos bajos; una señal múltiple que integra para un protón en 2.88 ppm que se asignó al protón H-15ec; una señal *ddd* que integra para un protón en 2.56 ppm asignada a H-4ec cuyas constantes de acoplamiento fueron $J_{gem}=14$, $J_{4ec-3ax}= 7.2$ y $J_{4ec-2ec}= 2$ Hz, una señal *dd* que integra para un protón en 2.49 ppm con $J_{gem}=11.2$ y $J_{4ax-3}=1.6$ Hz asignada al protón H-4ax y una señal múltiple en 2.41 ppm que se asignó al protón α al grupo carbonilo H-8 (figura 29). Los desplazamientos a campos bajos de estos protones se explican debido al apantallamiento que ejerce el grupo carbonilo y del doble enlace. Hacia 2.05 ppm se pudo observar una señal simple que se asignó al metilo del grupo acetato en C-3. A campos altos se mostraron las señales simples hacia 1.23 y 0.79 ppm que se asignaron a los protones de los metilos 19 y 18 respectivamente. De la misma manera, las dos señales dobles en 0.98 y 0.79 ppm con constantes de acoplamiento de 6.8 y 6.4 Hz se asignaron a los protones de los metilos 21 y 27 respectivamente (figura 28).

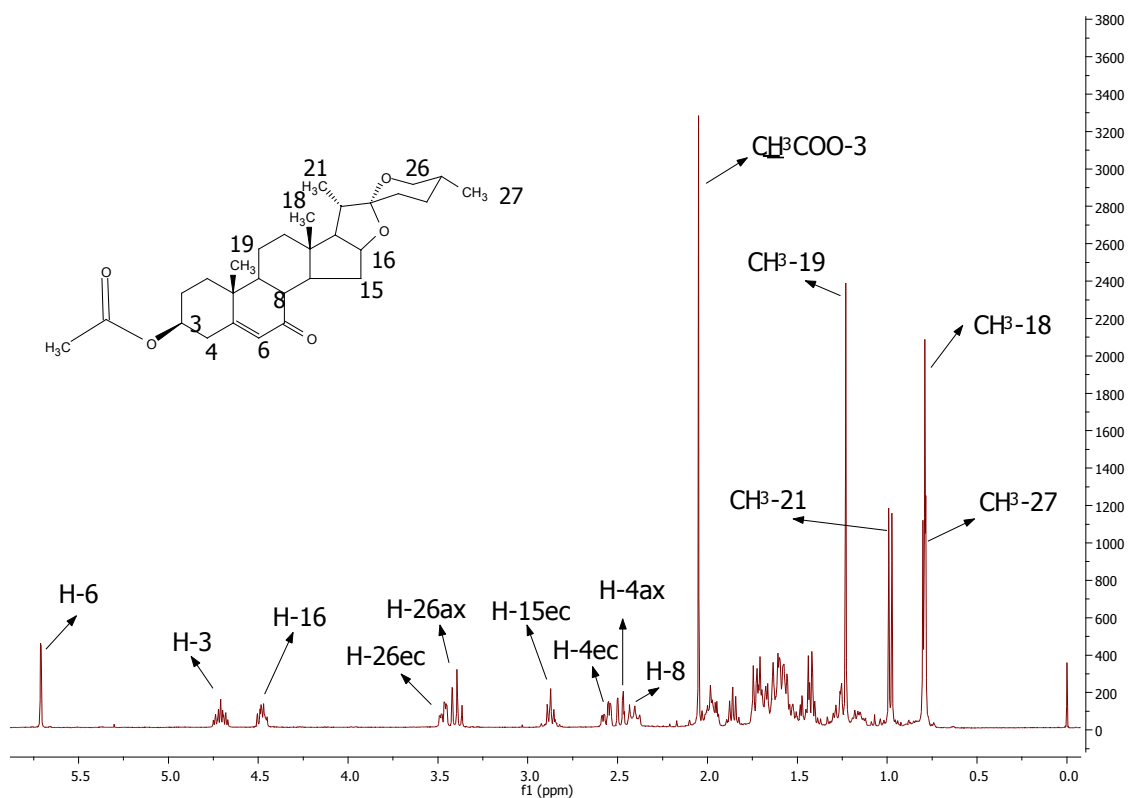


Figura 28. Espectro de ¹H del (25R)-3β-acetoxi-5-estirosten-7-ona (147)

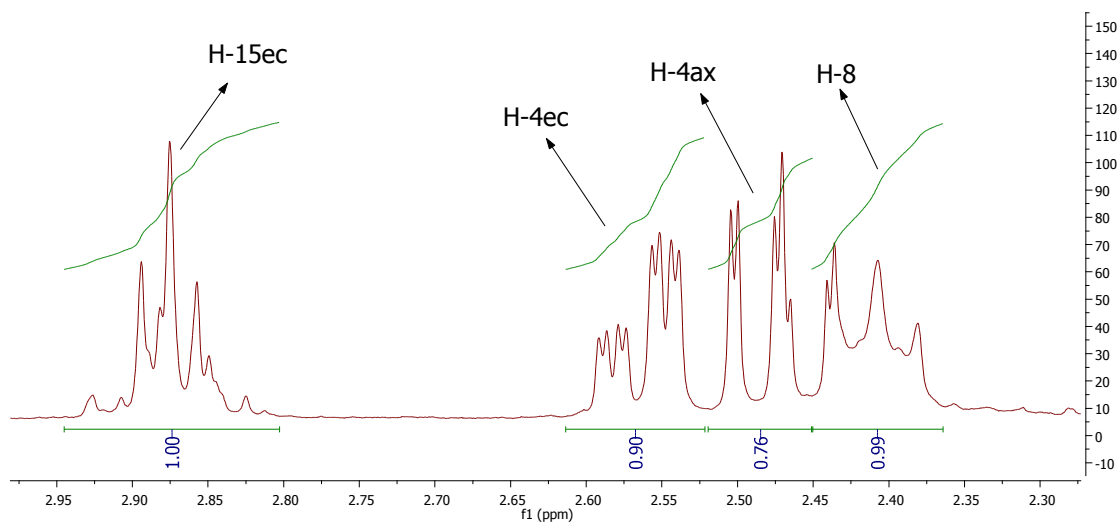
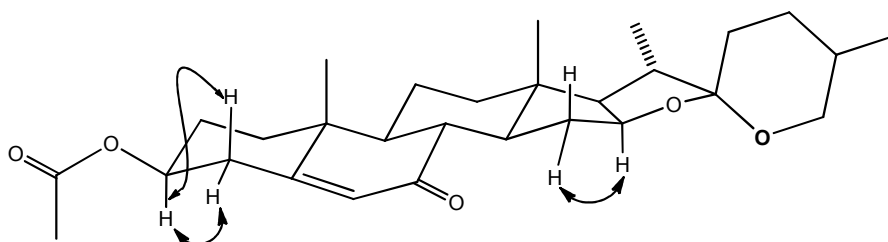


Figura 29. Integración de protones del (25R)-3β-acetoxi-5-estirosten-7-ona (147).

Con ayuda del experimento DEPT se confirmaron el número de carbonos metílicos, metilénicos, metínicos y cuaternarios correspondientes de la molécula.

En el experimento COSY se observó el acoplamiento ^1H - ^1H que hay entre el protón H-3 y los protones H-4. De la misma manera, este experimento ayudó a corroborar el acoplamiento que hay entre los protones H-16 y H-15 (figura 30). Mediante el HSQC se pudieron asignar inequívocamente las señales correspondientes a los protones 4 $_{ec}$, 4 $_{ax}$, 15 $_{ec}$ y 8 (figura 31), las cuales fueron corroboradas con ayuda del experimento HMBC a través de las correlaciones que hay entre los protones 4 y los carbonos C-3, C-5 y C-6, 15 $_{ec}$ con C-14, C-16, C-17 y el protón 8 con C-7 y C-9 (figura 32).



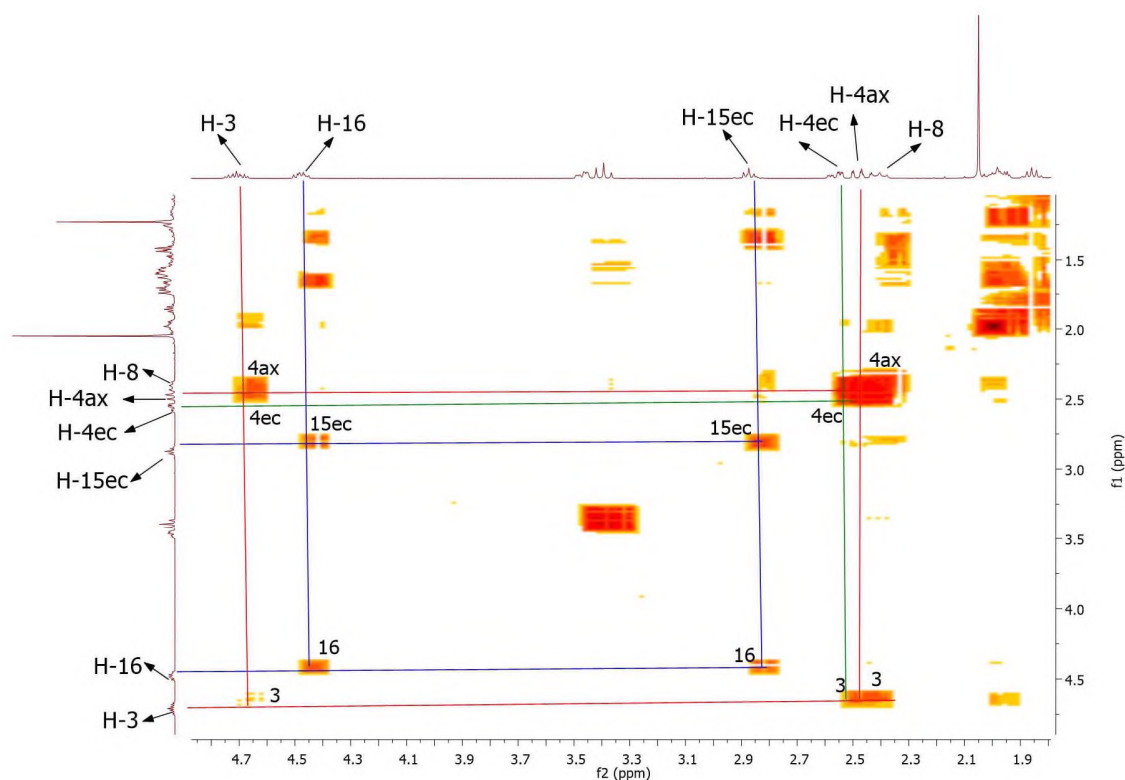


Figura 30. Espectro COSY del (25R)-3β-acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)

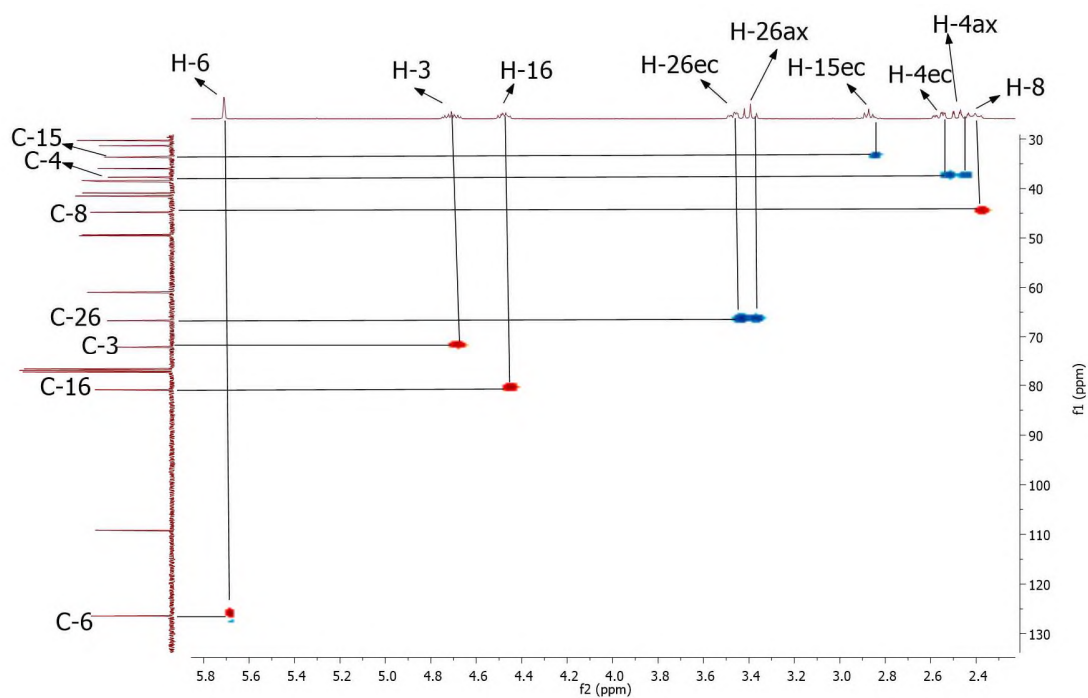


Figura 31. Espectro HSQC del (25R)-3β-acetoxi-5-espirosten-7-ona (147)

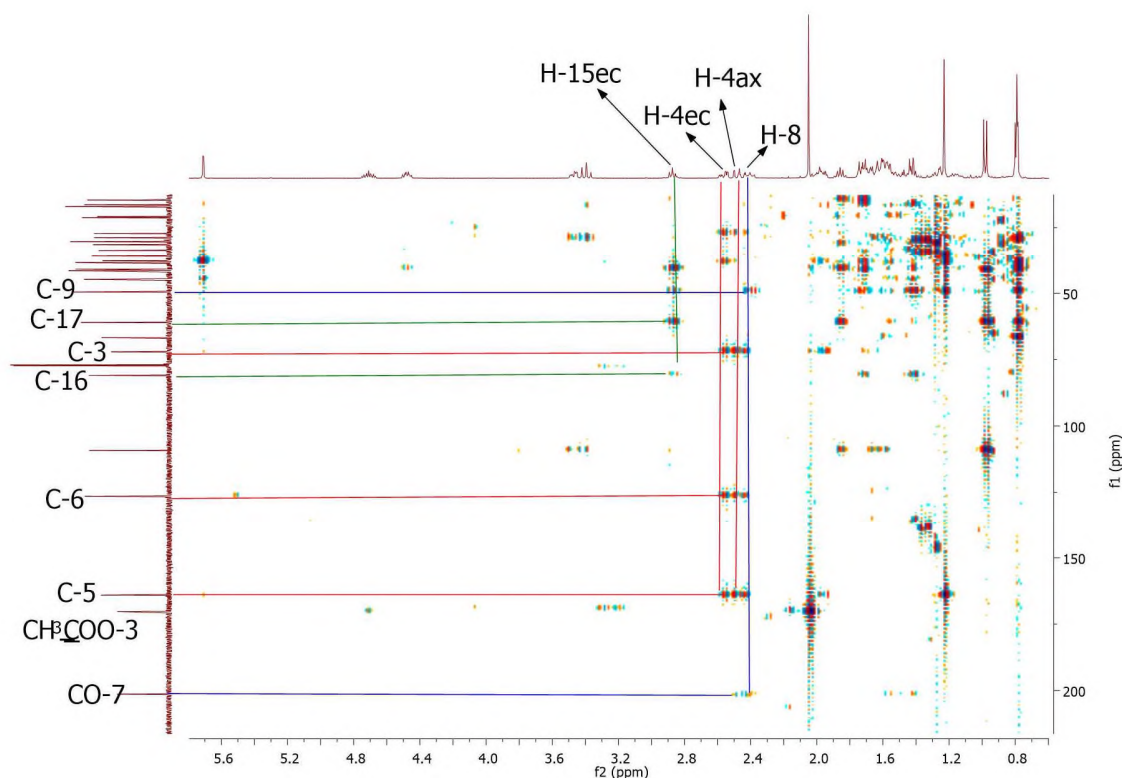


Figura 32. Espectro HMBC del (25R)-3β-acetoxi-5-estirosten-7-ona (147)

En el espectro de ^{13}C se observaron 29 señales que corresponden al número de carbonos de la molécula. La señal en 201.4 se asignó a C-7, ya que el desplazamiento químico es característico de cetonas α,β -insaturadas. En 170.3 ppm se observó una señal que fue asignada al carbonilo del grupo acetato. Por otro lado, las señales en 164.0 y 126.4 ppm se asignaron a los carbonos vinílicos C-5 y C-6. El desplazamiento del carbono espirocetálico no presenta cambios significativos apareciendo en 109.2 ppm, mientras que los carbonos base de oxígeno C-16, C-3 y C-26 se desplazan hacia 80.9, 72.1 y 66.7 ppm respectivamente (figura 33).

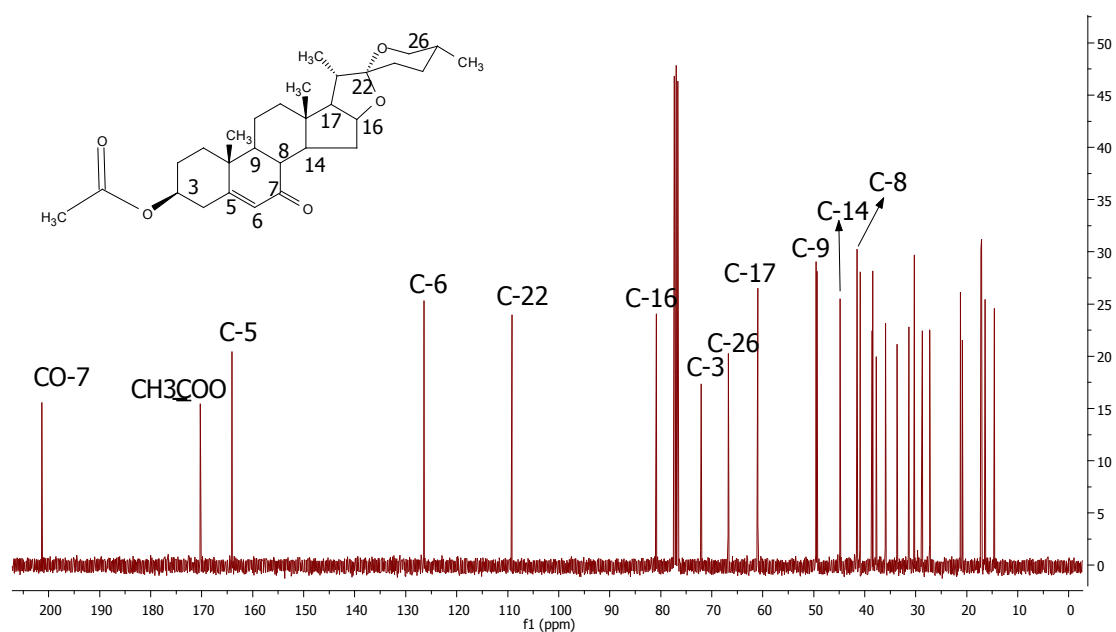
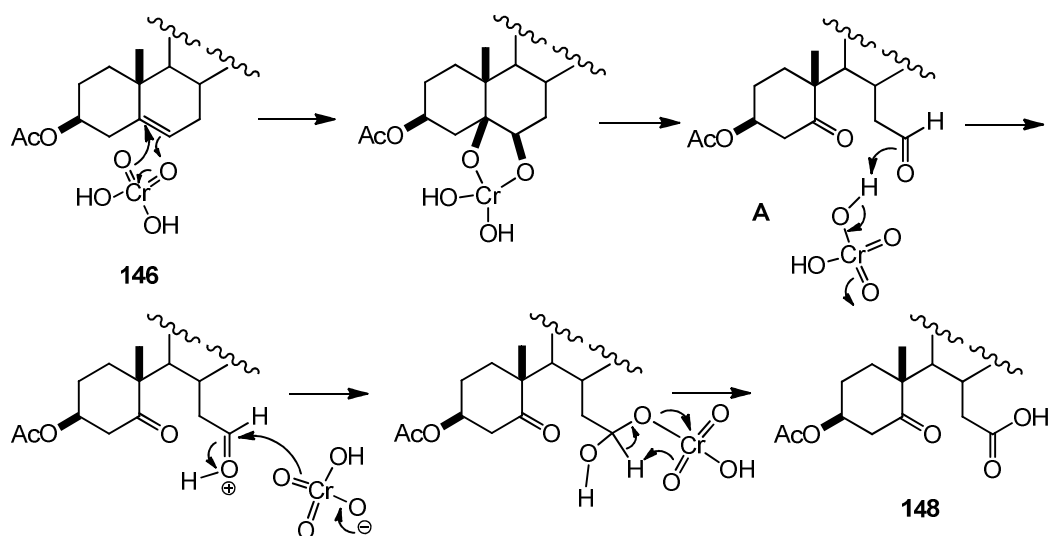


Figura 33. Espectro de ^{13}C del (25*R*)-3 β -acetoxi-5-estirosten-7-ona (**147**).

4.2.3 Mecanismo de reacción de la síntesis del seco ceto ácido **148**.

El mecanismo comienza con la formación del ácido crómico que resulta de la reacción entre el CrO_3 y H_2O . A través de la ruptura del éster de cromo cíclico se genera el aldehído terminal en el compuesto **A** que consecuentemente se oxida a ácido carboxílico dando como resultado el seco ceto ácido **148** mostrado en el esquema 36.



Esquema 36. Mecanismo de reacción de la síntesis del seco ceto ácido 148.

4.2.3.1 Caracterización del ácido (25*R*)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).

En el espectro de ^1H se observó en campos bajos una señal simple ancha en 5.39 ppm asignado al protón H-3. El protón H-16 se desplaza hacia 4.41 ppm mientras que los protones diastereotópicos H-26 $_{ec}$ y H-26 $_{ax}$ aparecieron en 3.46 y 3.35 ppm respectivamente. Hacia 3.16 y 2.47 apareció una señal dd con $J_{gem}=14.8$ Hz y $J_{4ec-3\equiv}$ 4.8 Hz asignada al protón 4 $_{ec}$ y una señal doble con $J_{gem}=14.4$ Hz asignada al protón 4 $_{ax}$ (figura 34). En la figura 35 se muestran claramente tres señales que integran para un protón, de las cuales dos fueron asignadas a los H-4 y una señal dd en 2.26 ppm con $J_{gem}=16$ Hz y $J_{7ec-8}=4$ Hz que integró para un protón asignándose a H-7 $_{ec}$.

En el experimento COSY (figura 36) se observó el acoplamiento de los protones H-4 $_{ec}$ y H-4 $_{ax}$ con H-3, mientras que en el experimento HSQC se observó claramente el acoplamiento de los C-H entre H-3 y C-3, H-16 y C-16, H-26 $_{ec}$ y C-26, H-26 $_{ax}$ y C-26, H-4 $_{ec}$ y C-4, H-4 $_{ax}$ y C-4, y H-7 $_{ec}$ con C-7 identificando así que éste último correspondía a un CH₂ (figura 37).

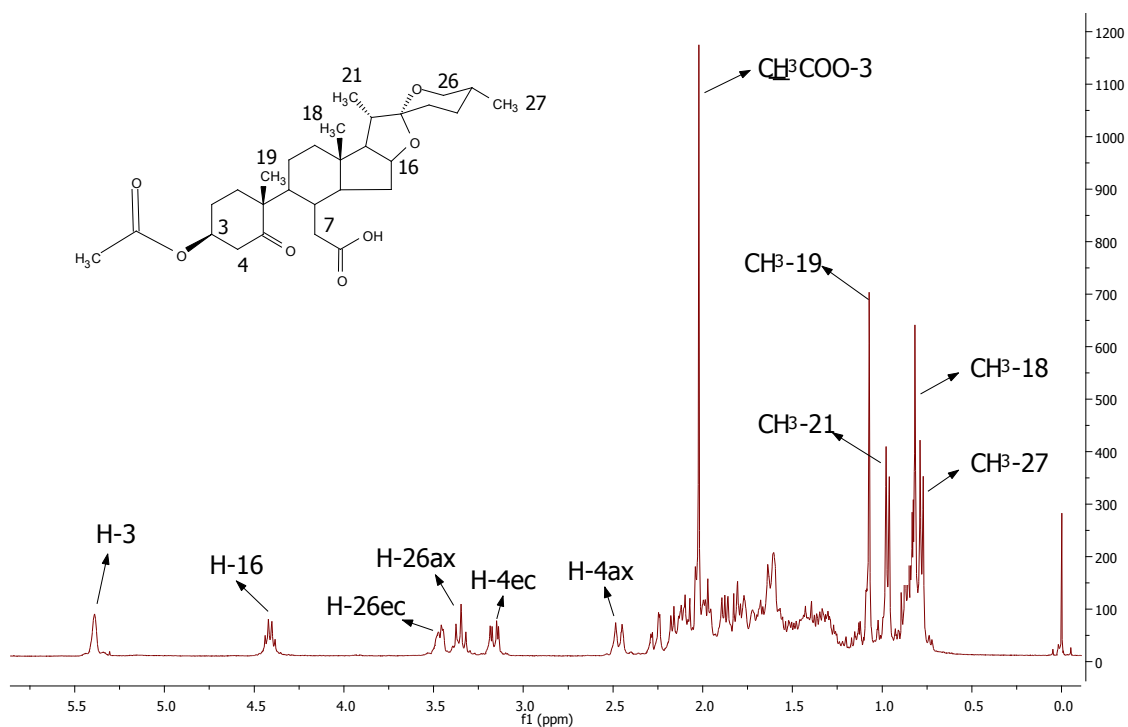


Figura 34. Espectro de ^1H del ácido (25*R*)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,6-secoestirostan-6-oico (148).

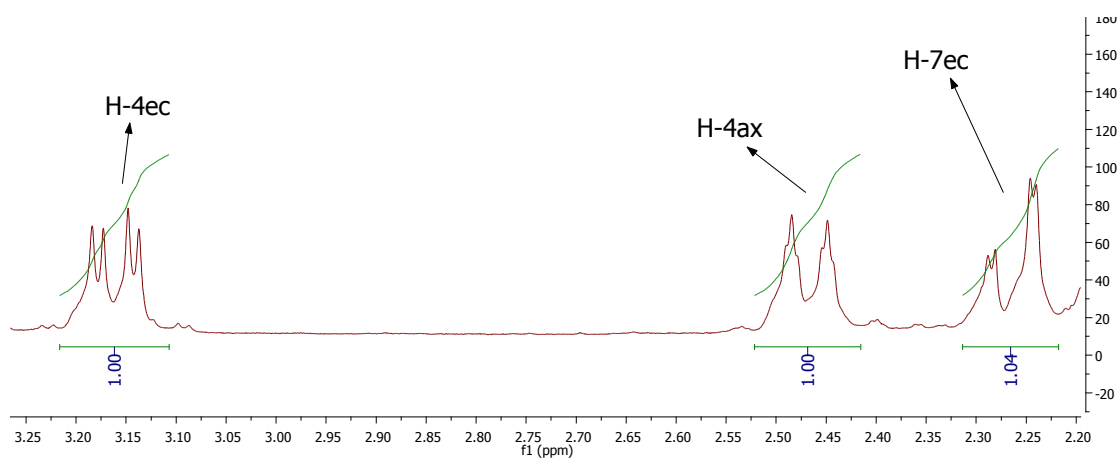


Figura 35. Integración de protones del ácido (25*R*)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,6-secoestirostan-6-oico (148).

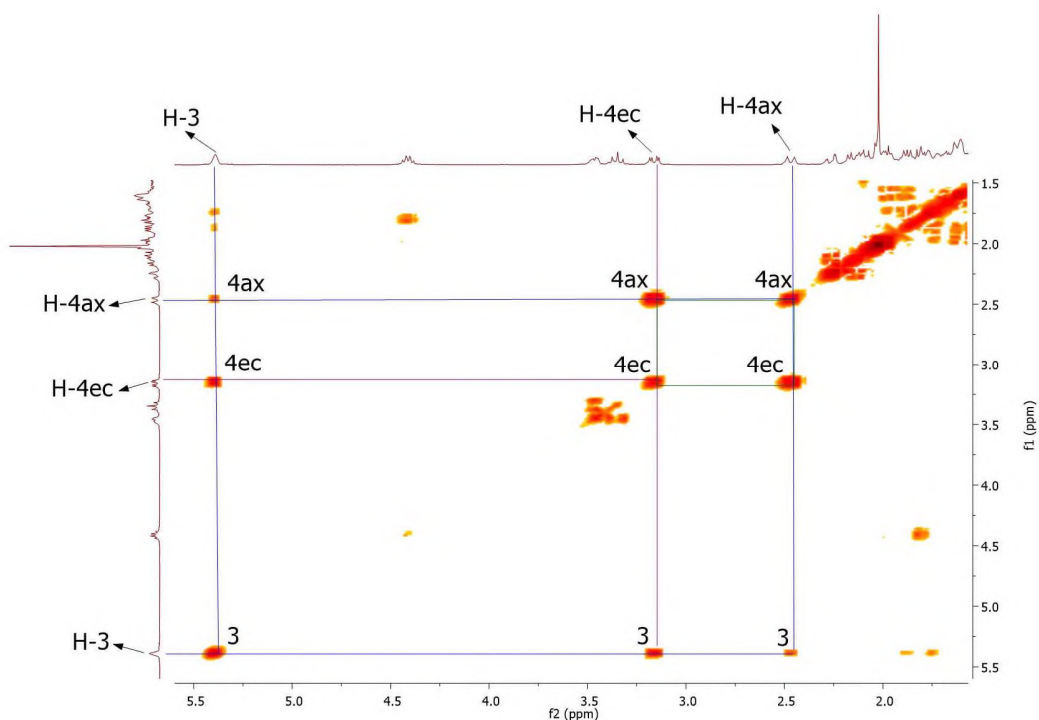


Figura 36. Espectro COSY del ácido (25*R*)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoestirostan-6-oico (148).

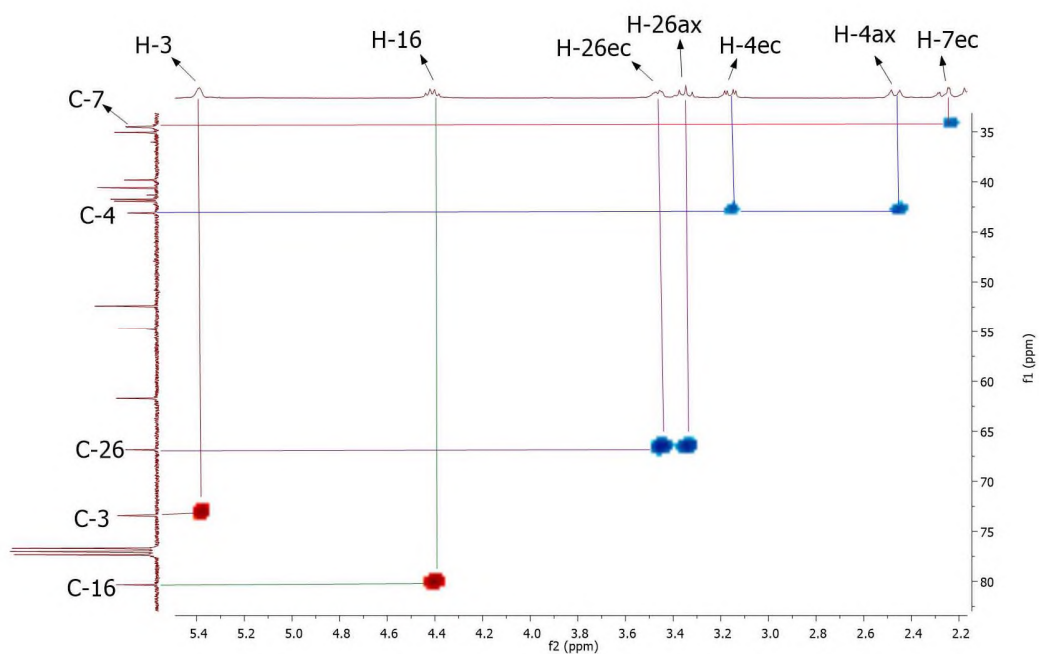


Figura 37. Espectro HSQC del ácido (25*R*)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoestirostan-6-oico (148).

A través del experimento HMBC se pudo apreciar el acoplamiento a largo alcance de los protones H-4_{ec} y H-4_{ax} con el carbonilo de cetona C-5 y del protón asignado al H-7_{ec} con el carbonilo del ácido en C-6, corroborando de esta manera la asignación de los mismos (figura 38).

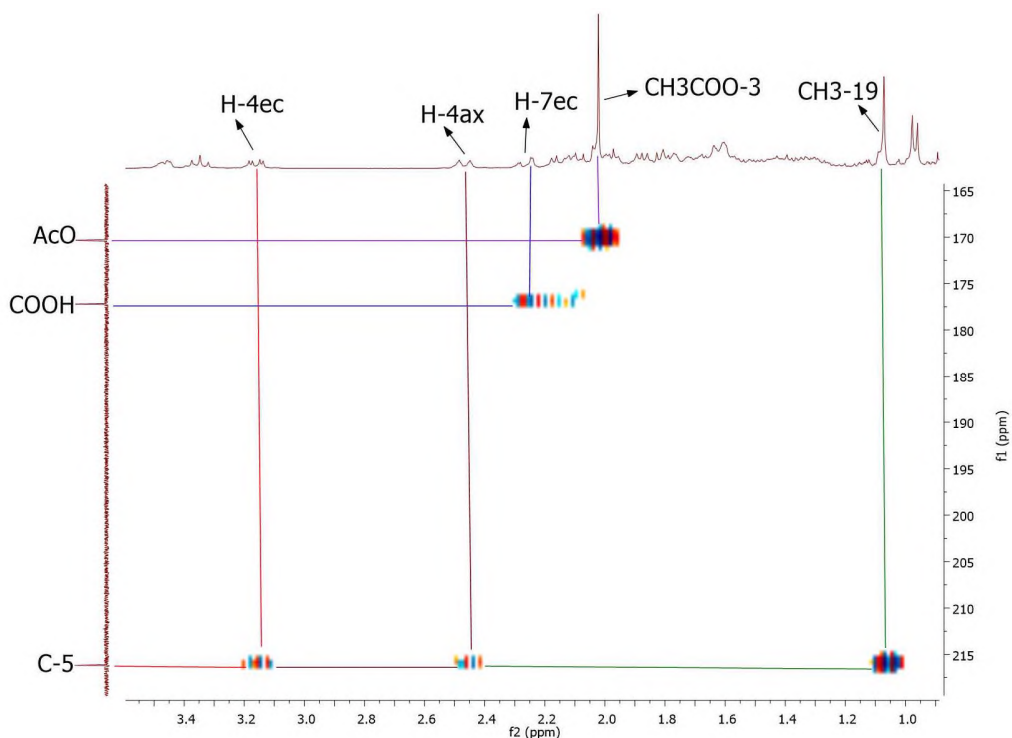


Figura 38. Espectro HMBC del ácido (25R)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).

Por su parte, en 2.05 ppm se pudo observar la señal simple correspondiente al metilo del grupo acetato en C-3 y, en campos altos, se mostraron las señales simples hacia 1.07 y 0.82 ppm que se asignaron a los protones de los metilos 19 y 18 respectivamente. De la misma manera, las dos señales dobles en 0.97 y 0.78 ppm con constantes de acoplamiento de 6.8 y 6.4 Hz se asignaron a los protones de los metilos 21 y 27 respectivamente (figura 34).

Por otro lado, en espectro de ^{13}C se observaron las 29 señales correspondientes al número de carbonos de la molécula. La señal en 216.1 ppm es característica de cetonas y se asignó al carbonilo en C-5. Hacia 177.2 ppm se observa una señal que corresponde a un carbonilo de ácido carboxílico el cual se asignó al carbono C-6, mientras que en 170.3 ppm se observó una señal propia de carbonilo de éster corroborando el acetato en C-3. El desplazamiento del carbono espirocetálico no presenta cambios significativos y aparece hacia 109.3 ppm, mientras que los carbonos base de oxígeno C-16, C-3 y C-26 se desplazan hacia 80.3, 73.4 y 66.8 ppm respectivamente (figura 39).

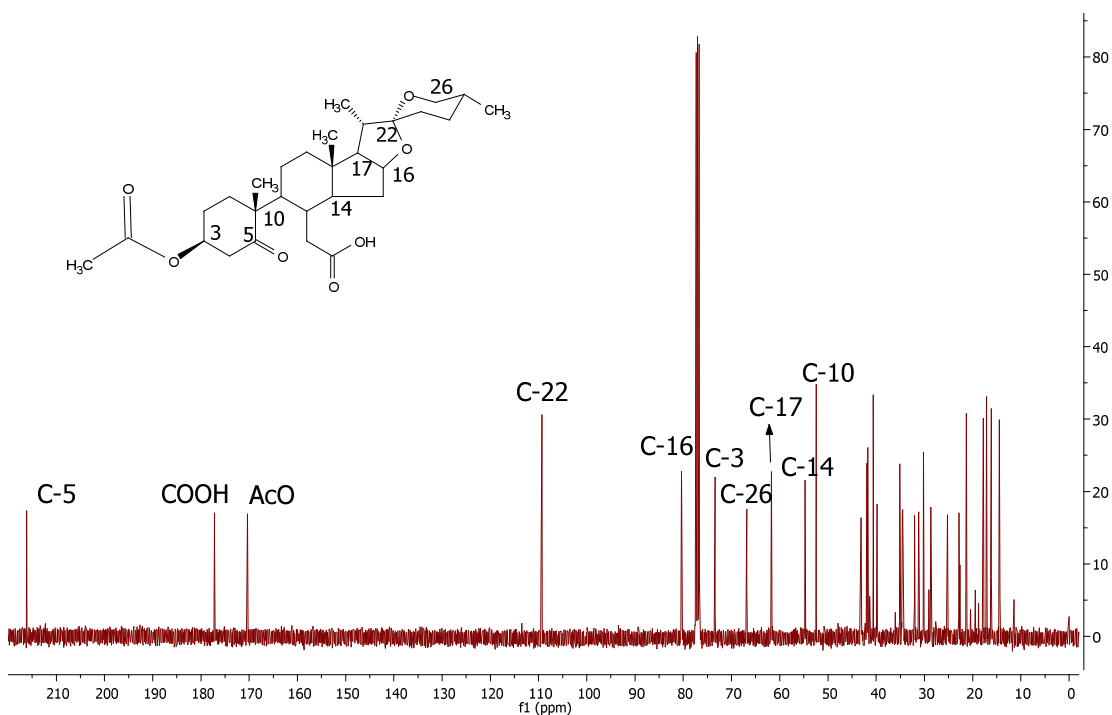


Figura 39. Espectro de ^{13}C del ácido (25*R*)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoestirostan-6-oico (148).

4.2.4 Preparación del seco ceto ácido **149** y **150**.

La oxidación del doble enlace del compuesto α,β -insaturado **147** se realizó utilizando $\text{KMnO}_4/\text{KIO}_4$ a reflujo de *tert*-BuOH a 45 °C para obtener el seco ceto ácido **150**¹⁹. Después de la caracterización se observó que se había llevado a cabo la apertura del anillo B, obteniéndose así un seco ceto ácido de 26 carbonos con un rendimiento del 86 %, el cual resultó ser el seco esteroide **149** y no el esperado, como se muestra anteriormente en el esquema 32. En el intento de mantener el grupo acetato, se varió la temperatura entre 30-50 °C, pero no se logró la conservación de éste, dando como resultado una cetona α,β -insaturada en el anillo A. Por otro lado, Jacobs³ logra mantener el grupo acetato en C-3 realizando la oxidación a temperatura ambiente por un tiempo de 48 h y posteriormente neutralizando mediante lavados con agua, por lo que se decidió llevar la reacción a temperatura ambiente, logrando acceder de esta manera al seco esteroide **150**.

En la tabla 5 se muestra una comparación de las metodologías reportadas con el método empleado para oxidar compuestos similares a **147** conservando el acetato en C-3 al final de la oxidación. Kasal³⁵ no reporta el rendimiento del producto oxidado debido a que el crudo obtenido lo utiliza para un siguiente paso. Por otra parte, Jacobs reporta un rendimiento del 32 % en un tiempo de reacción de 2 días a temperatura ambiente. Como se puede apreciar, 12 h a temperatura ambiente fue suficiente para aumentar el rendimiento hasta un 62 % empleando otros agentes oxidantes.

Tabla 5. Metodologías de oxidación conservando el grupo acetato en C-3.

Reactivos	Kasal (ref. 17)	Jacobs (ref. 11)	Metodología Empleada
Molécula esteroidal	Derivado de Androstano	Derivado de Colesterol	Compuesto 150
Tiempo de reacción	6 h	48 h	12 h
Temperatura	45 °C	Ambiente	Ambiente
Oxidante	HIO ₄ /KMnO ₄	O ₃	KMnO ₄ /KIO ₄
Rendimiento	No reportado	32 %	62 %

4.2.4.1 Caracterización del ácido (25*R*)-5-oxo-5,7-seco-6-*nor*-3-espirosten-7-oico (149).

En el espectro de ¹H se observó a campos bajos una señal múltiple en 6.82 ppm asignado al protón vinílico H-3 y una señal doble en 5.93 ppm con una $J_{4-3}=10\text{Hz}$ que se asignó al protón H-4, confirmando la eliminación del grupo acetato en C-3. Por otro lado, el protón H-16 y los protones diastereotópicos H-26_{ec} y H-26_{ax} no presentan cambios significativos en su desplazamiento químico y aparecen hacia 4.48, 3.46 y 3.34 ppm respectivamente. De la misma manera, puede apreciarse en 2.51 ppm una señal dd con $J_{8-14}=J_{8-9}=11.2\text{Hz}$ que integra para un protón la cual se asignó al H-8. Hacia campos altos se mostraron las señales simples correspondientes a los metilos 19 y 18 en 1.11 y 0.78 ppm y las dos señales dobles en 0.96 y 0.78 ppm con constantes de acoplamiento de 7.2 y 6.0 Hz asignados a los metilos 21 y 27 respectivamente (figura 40).

En el experimento COSY se observó claramente el acoplamiento de los protones H-3 y H-4 con lo que se verificó la eliminación del grupo acetato (figura 41). En HSQC se mostraron los acoplamientos entre los H-3 y C-3, H-4 y C-4, entre otros (figura 42). Finalmente, en HMBC se corroboró la señal asignada a H-8 por acoplamiento con los carbonos C-14 y C-7 (figura 43).

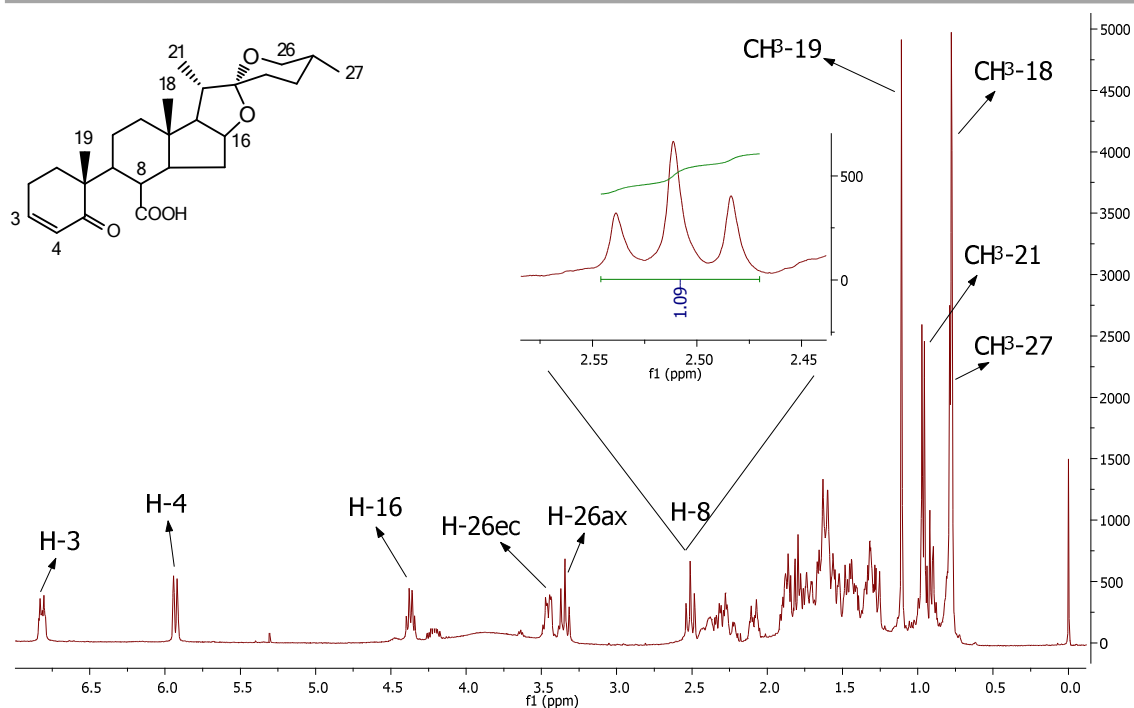


Figura 40. Espectro de ^1H del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-epirosten-7-oico (149).

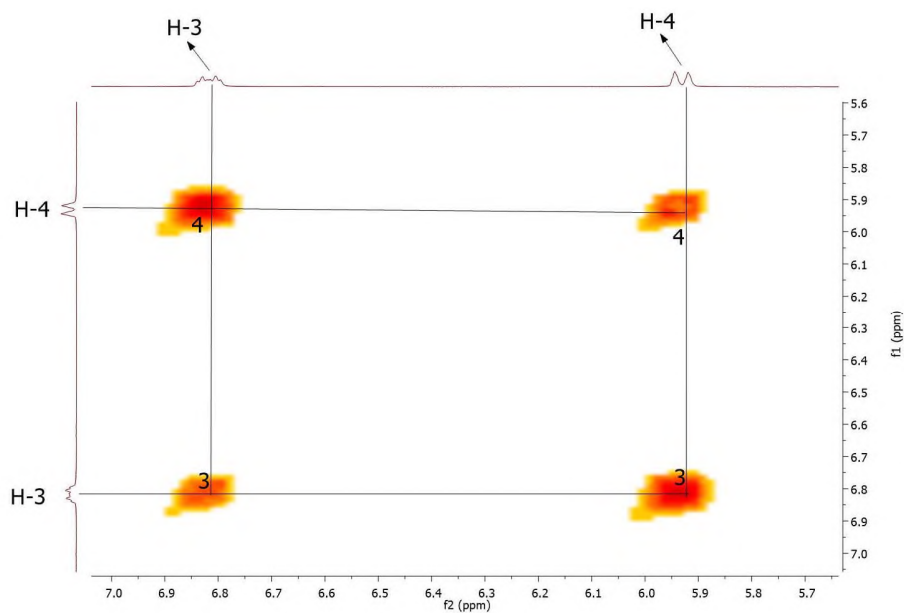


Figura 41. Espectro COSY del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-epirosten-7-oico (149).

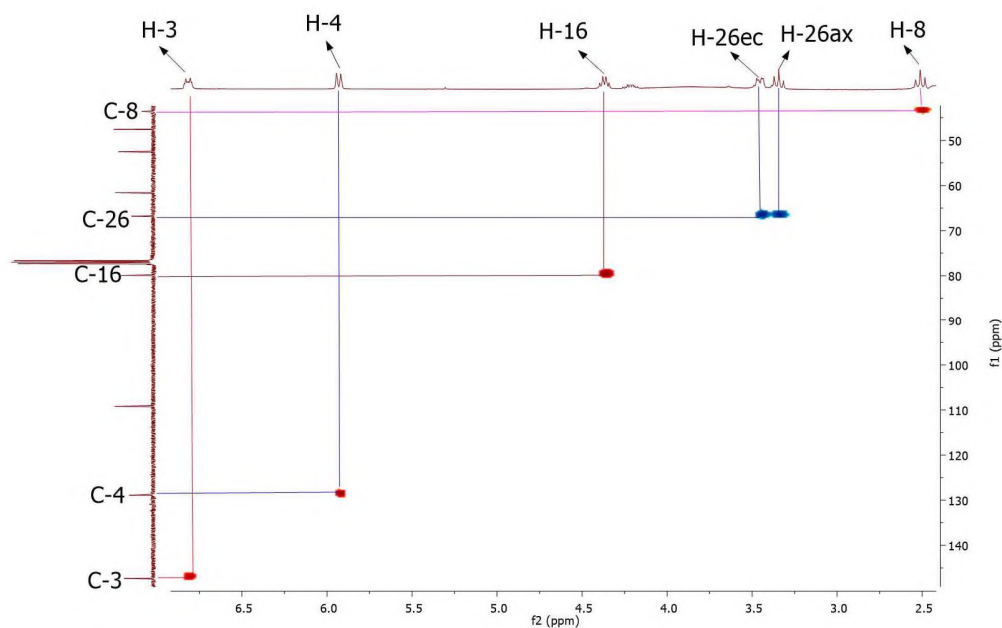


Figura 42. Espectro HSQC del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-epiandrosten-7-oico (149).

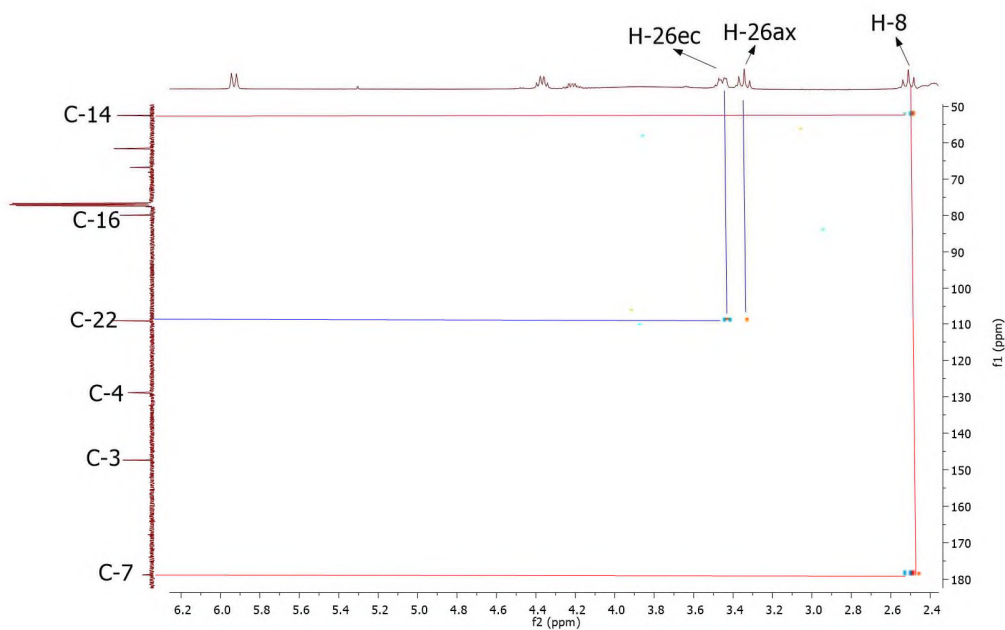


Figura 43. Espectro HMBC del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-epiandrosten-7-oico (149).

En el espectro de ^{13}C se observaron 26 señales que corresponden al número de carbonos de la molécula. La señal en 205.3 corresponde a una cetona α,β -insaturada y se asignó al carbonilo en C-5. El desplazamiento de este carbonilo arriba de los 200 ppm no es muy común y puede deberse a una interacción con el hidroxilo del ácido carboxílico, lo cual podría ser la causa de una mayor desprotección de C-5. En 178.8 ppm se aprecia una señal asignada al carbonilo del ácido carboxílico C-7 y ya no se observa la señal característica de los ésteres confirmando la eliminación del grupo acetato. Por otra parte, se perciben dos señales particulares de carbonos vinílicos en 147.4 y 128.9 ppm las cuales fueron asignadas a los carbonos C-3 y C-4. El desplazamiento del carbono espirocetálico se encuentra en 109.2 ppm, mientras que los carbonos base de oxígeno C-16 y C-26 se desplazan hacia 79.9 y 66.8ppm respectivamente (figura 44).

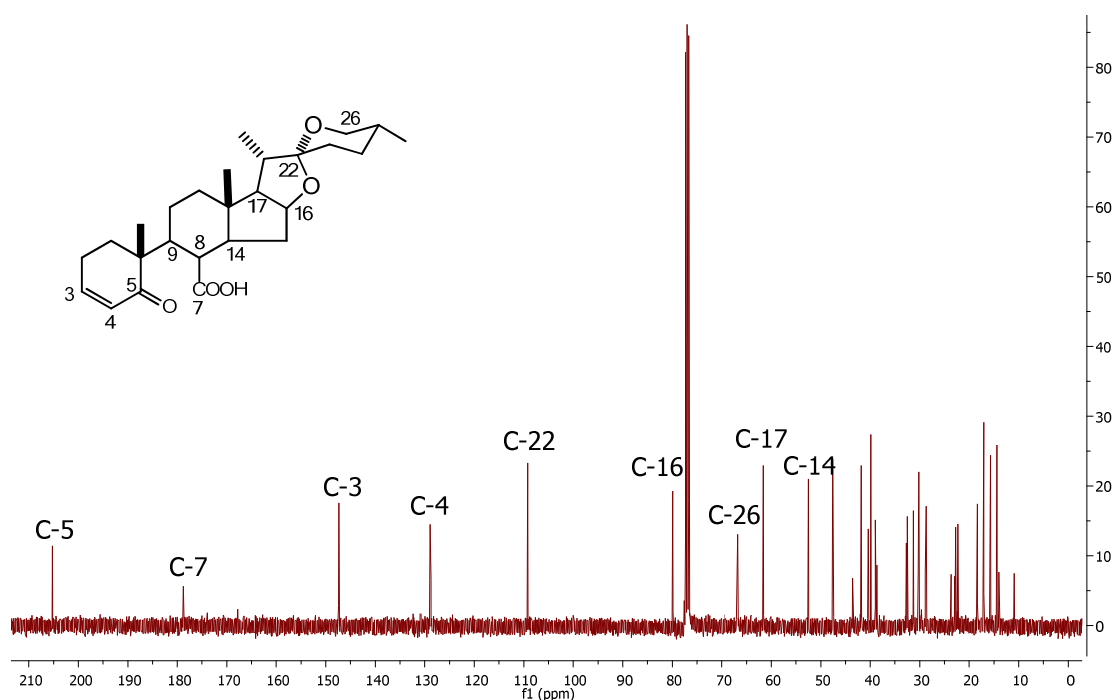


Figura 44. Espectro de ^{13}C del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).

4.2.4.2 Caracterización del ácido (25*R*)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-nor-espirostan-6-oico (150).

En el espectro de ^1H se confirmó la oxidación del doble enlace debido a que ya no se observó la señal del protón vinílico H-6. El protón H-3 sufrió un cambio en su desplazamiento con respecto a la materia prima y apareció como una señal simple ancha en 5.38 ppm mientras que los H-16 se desplazaron a 4.44 ppm. Los protones diastereotópicos H-26_{ec} y H-26_{ax} no presentaron cambios en su desplazamiento. Por otra parte, se observó el corrimiento del protón 4_{ec} hacia 3.25 ppm mostrándose como una señal dd con $J_{gem}=16$ Hz y $J_{4ec-3}=4.4$ Hz, la desaparición de la señal correspondiente al protón 15_{ec} que se observó en el espectro de la materia prima y el desplazamiento de H-8 hacia 2.58 ppm que se aprecia como una señal doble de dobles con $J_{8-9}=J_{8-14}=11.2$ Hz. El protón 4_{ax} apareció como una señal doble con $J_{gem}=15.6$ Hz en 2.46 ppm y una señal múltiple en 2.35 ppm fué asignada al protón H-9 (figura 46). La señal simple hacia 2.07 ppm corresponde al metilo del grupo acetato, con lo cual se confirmó la presencia de este grupo en C-3. En campos altos se mostraron las señales simples hacia 1.12 y 0.84 ppm que se asignaron a los protones de los metilos 19 y 18 respectivamente mientras que las dos señales dobles en 1.02 y 0.84 ppm con constantes de acoplamiento de 6.4 Hz se asignaron a los protones de los metilos 21 y 27 (figura 45).

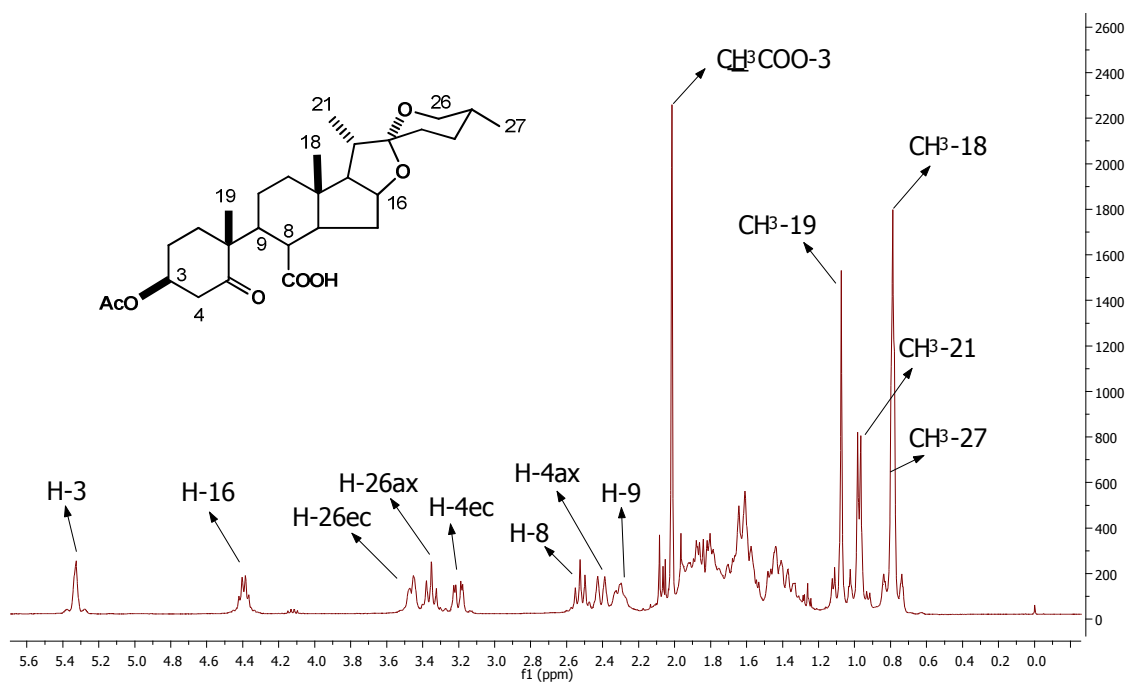


Figura 45. Espectro de ^1H del ácido (25*R*)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).

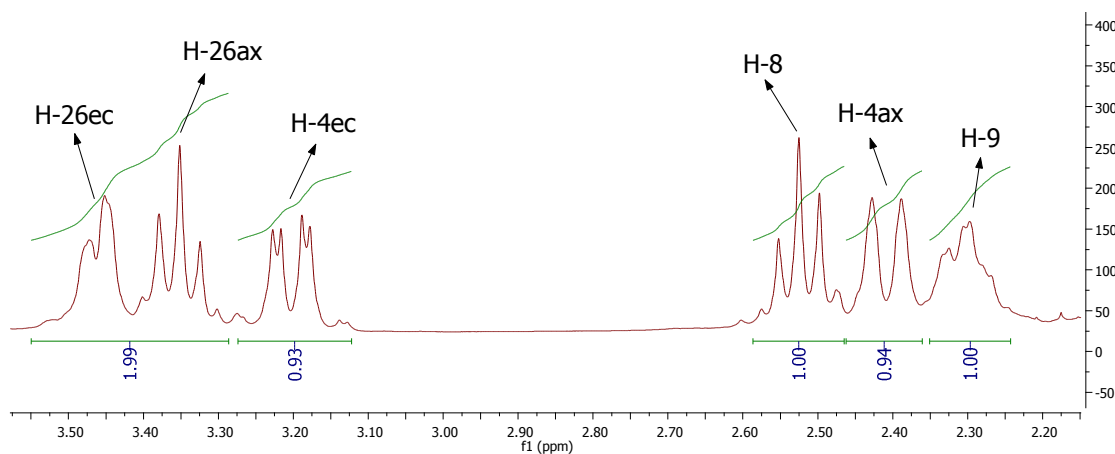


Figura 46. Integración de protones del ácido (25*R*)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).

En el experimento COSY se apreció el acoplamiento de los protones H-4 con H-3, así como también las señales asignadas a H-8 y H-9 (figura 47).

Por otra parte, en el experimento HSQC se observó el acoplamiento entre los protones H-4, H-8 y H-9 con sus respectivos carbonos, entre otros (figura 48). De la misma manera, a través del experimento HMBC se observó el acoplamiento entre el protón H-4ec con C-5 y H-4ax con C-5 y C-3. También se apreció el acoplamiento entre la señal asignada a H-8 con COOH y H-9 con C-11 como se muestra en la figura 49.

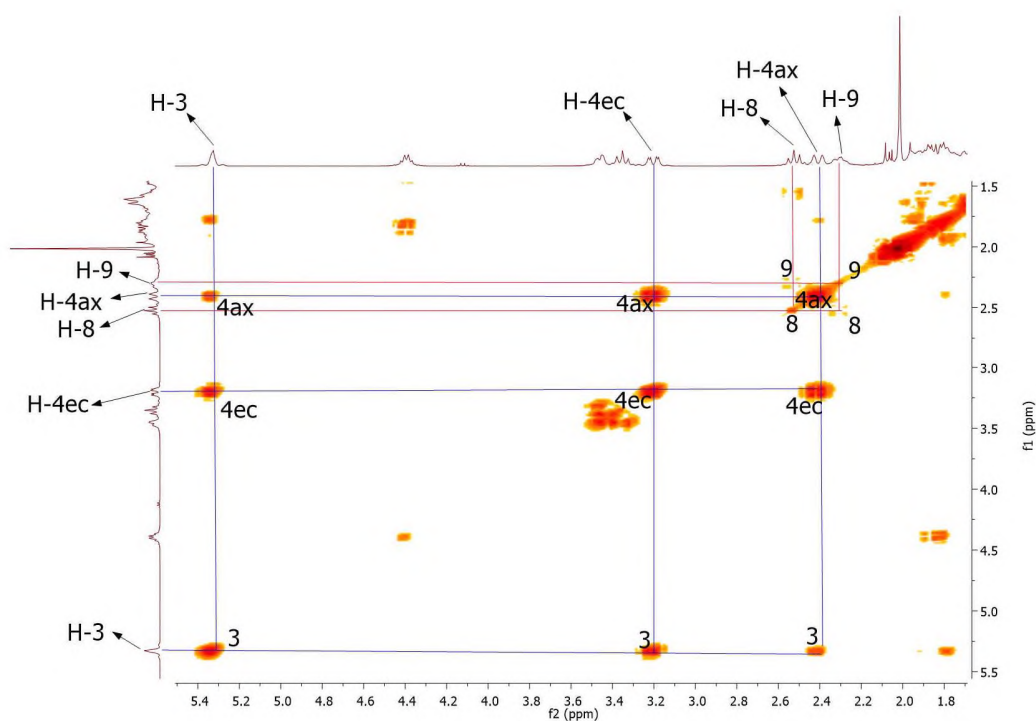


Figura 47. Espectro COSY del ácido (25R)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).

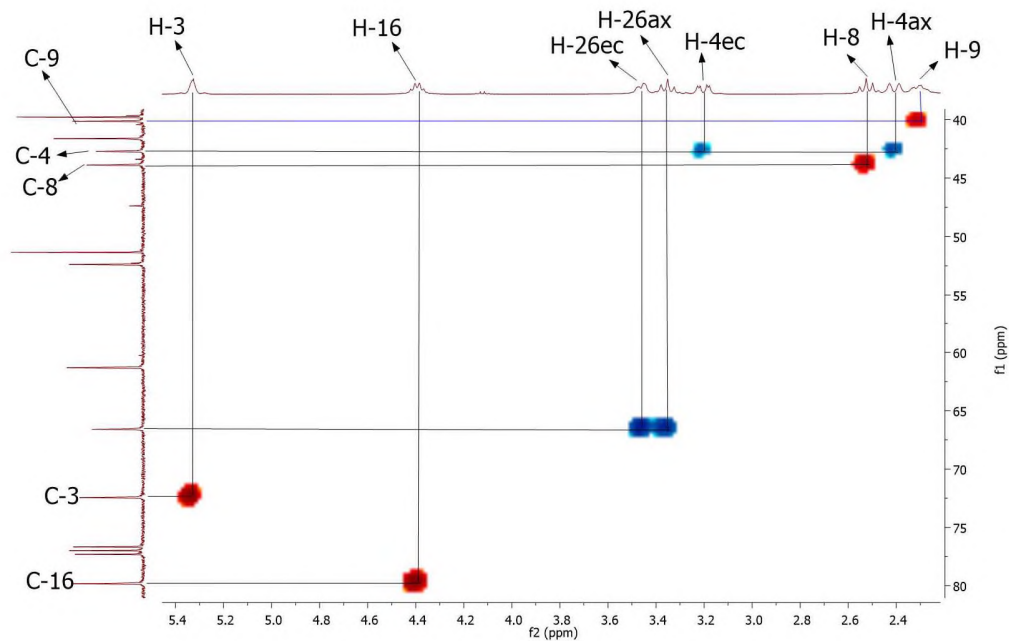


Figura 48. Espectro HSQC del ácido (25R)-3β-acetoxy-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).

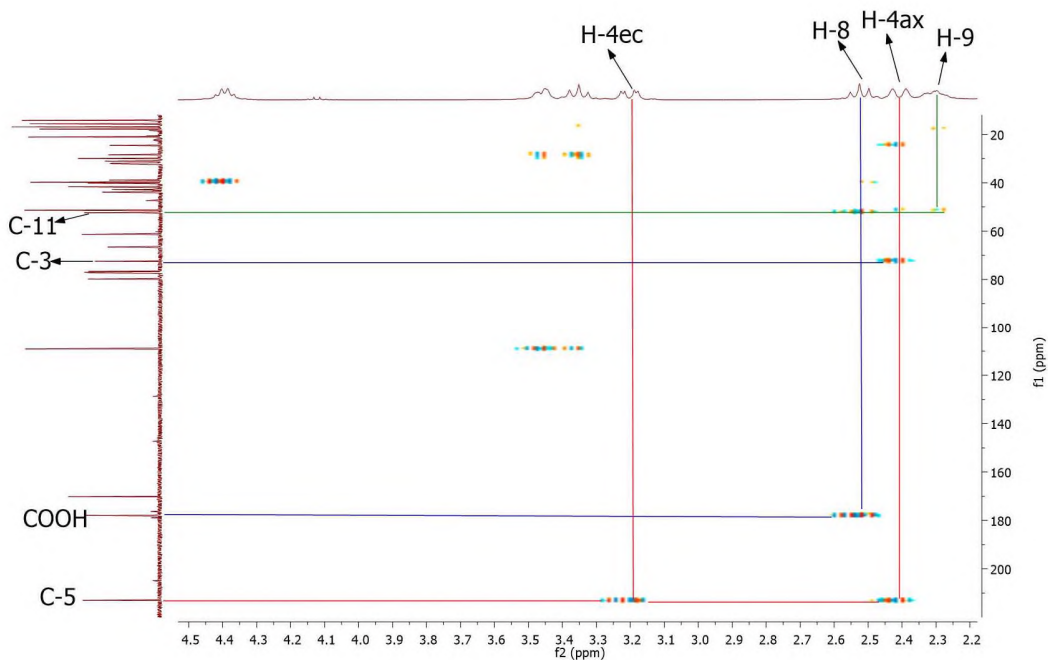


Figura 49. Espectro HMBC del ácido (25R)-3β-acetoxy-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).

En el espectro de ^{13}C se observaron 28 señales que corresponden al número de carbonos de la molécula. La aparición de las señales en 213.0 y 177.9 ppm confirmaron la oxidación, la primera es característica de cetonas y se asignó al carbonilo en C-5; la segunda pertenece a un carbonilo de ácido carboxílico y se asignó al carbonilo en C-7. La señal en 170.2 ppm fue asignada al carbonilo del grupo acetato mientras que el carbono espirocetálico apareció en 109.1 ppm. Los carbonos base de oxígeno C-16, C-3 y C-26 se desplazaron hacia 79.8, 72.4 y 66.6 ppm respectivamente (figura 50).

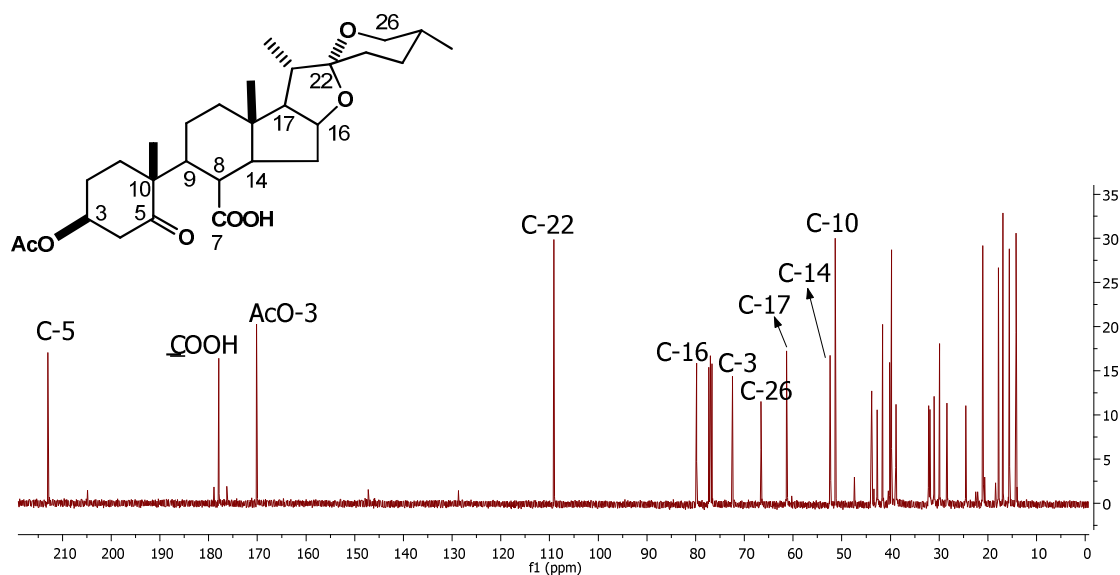


Figura 50. Espectro de ^{13}C del ácido (25R)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).

4.2.5 Preparación de la oxima 151.

La formación de la oxima a partir de la enona **147** se llevó a cabo con $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ a reflujo de una solución de etanol y acetato de sodio por dos horas. Los mejores resultados fueron utilizando 1 eq. de la oxima por 1.5 eq. de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$. La caracterización mostró la presencia de una sola oxima que se obtuvo en un rendimiento del 91 %.

4.2.5.1 Caracterización del acetato de (25*R*, 7*E*)-hidroximinoespirost-5-eno (151).

En el espectro de IR se apreció una banda en 3345 cm^{-1} que indica la presencia de un grupo hidroximino. Por otro lado en el espectro de ^1H se observaron dos señales simples anchas en 8.46 y 6.59 ppm que corresponden al protón del hidroxilo de la oxima y al protón H-6 con respecto al espectro de ^1H de la materia prima. Los protones base de oxígeno 3 y 16 presentaron ligeros cambios en su desplazamiento y aparecieron en 4.68 y 4.61 ppm mientras que los protones diastereotópicos 26*ec* y 26*ax* se desplazaron hacia 3.50 y 3.45 ppm respectivamente apareciendo como una señal que integra para dos protones como se aprecia en la figura 52. El protón 15*ec* se vio afectado por el grupo hidroxilo de la oxima, y apareció como una señal múltiple integrando para un protón hacia 2.85 ppm. Un ligero cambio se presentó en el desplazamiento de los protones 4*ec*, 4*ax* y 8 los cuales se ven como señales múltiples hacia 2.54, 2.45 y 2.42 ppm. La señal simple hacia 2.04 ppm corresponde al metilo del grupo acetato, mientras que a campos altos se mostraron las señales simples hacia 1.14 y 0.80 ppm que se asignaron a los protones de los metilos 19 y 18 respectivamente. Las dos señales dobles en 1.01 y 0.80 ppm con constantes de acoplamiento de 7.2 y 5.6 Hz se asignaron a los protones de los metilos 21 y 27 (figura 51).

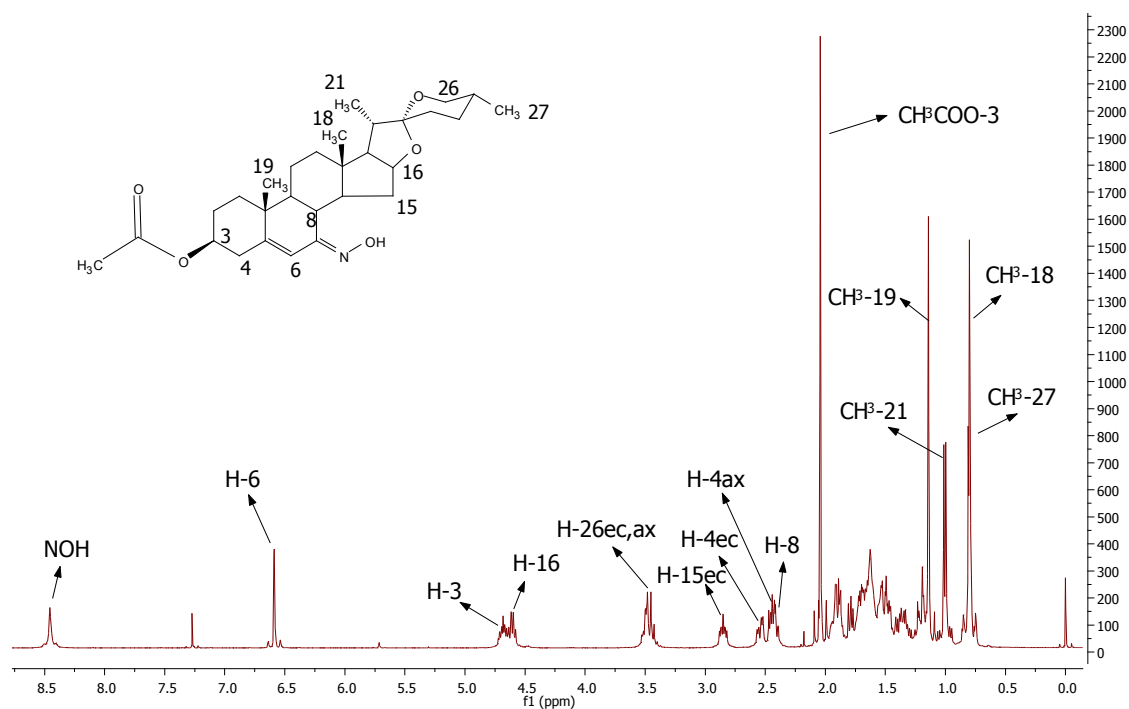


Figura 51. Espectro de ^1H del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).

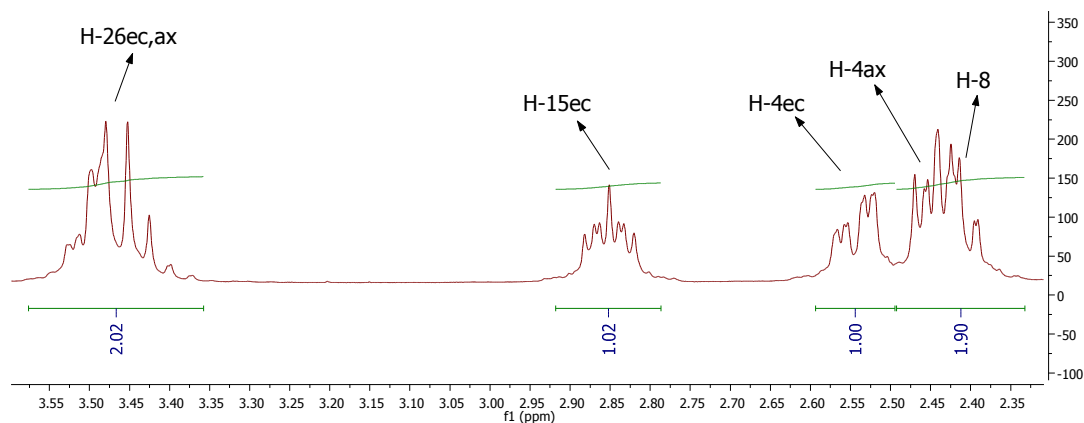


Figura 52. Integración de protones del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).

En el experimento COSY se puede apreciar la correlación que hay entre los protones H-3 y H-4. De la misma manera, se muestra claramente la correlación de H-16 con H-15ec y H-17. Con ayuda de este experimento se corroboró que las

señales asignadas a los protones H-4_{ec} y H-4_{ax} fueron correctas, ya que se mostró claramente la correlación entre ambas (figura 53).

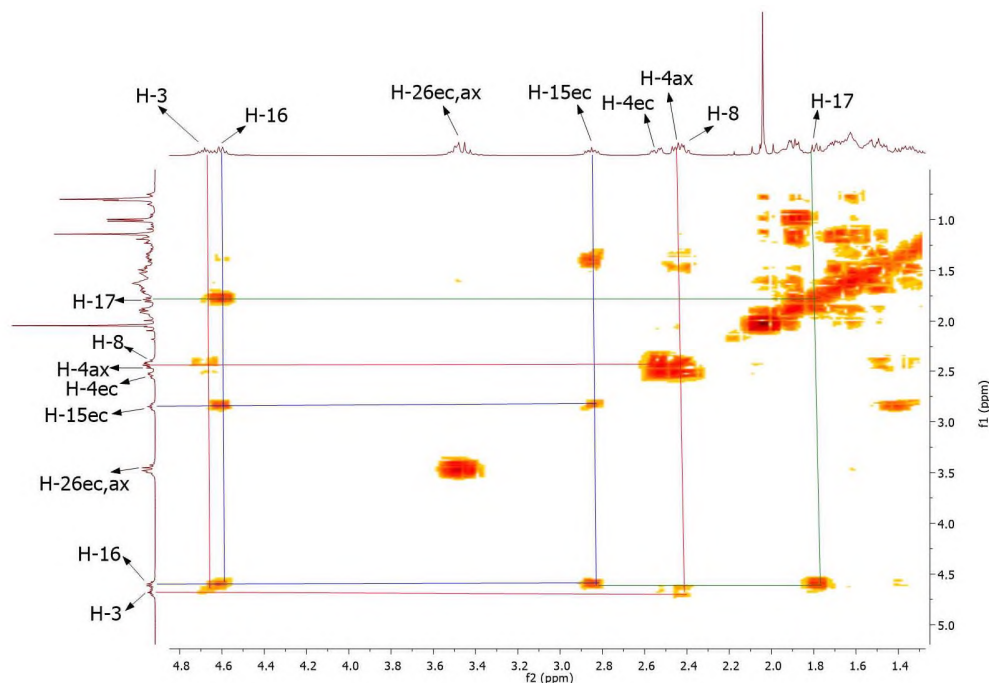


Figura 53. Espectro COSY del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).

Con el experimento HSQC se apreciaron las correlaciones C-H, con lo que se apreció claramente que la señal asignada a H-8 pertenecía a un metino y, para el caso de los H-4, ambas señales correlacionaron con C-4 apareciendo como metilenos (figura 54).

Por otra parte, en el experimento HMBC se observó claramente la correlación entre los protones H-4 y C-3, C-5 y C-6, así como también la correlación entre el protón C-8 y C-7 (figura 55).

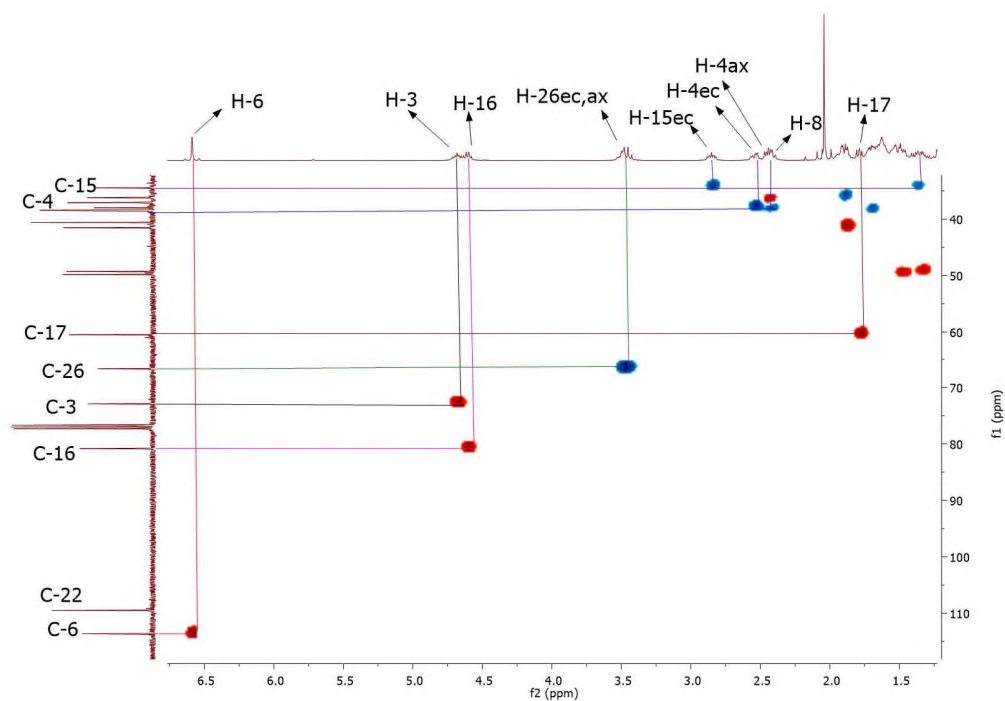


Figura 54. Espectro HSQC del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).

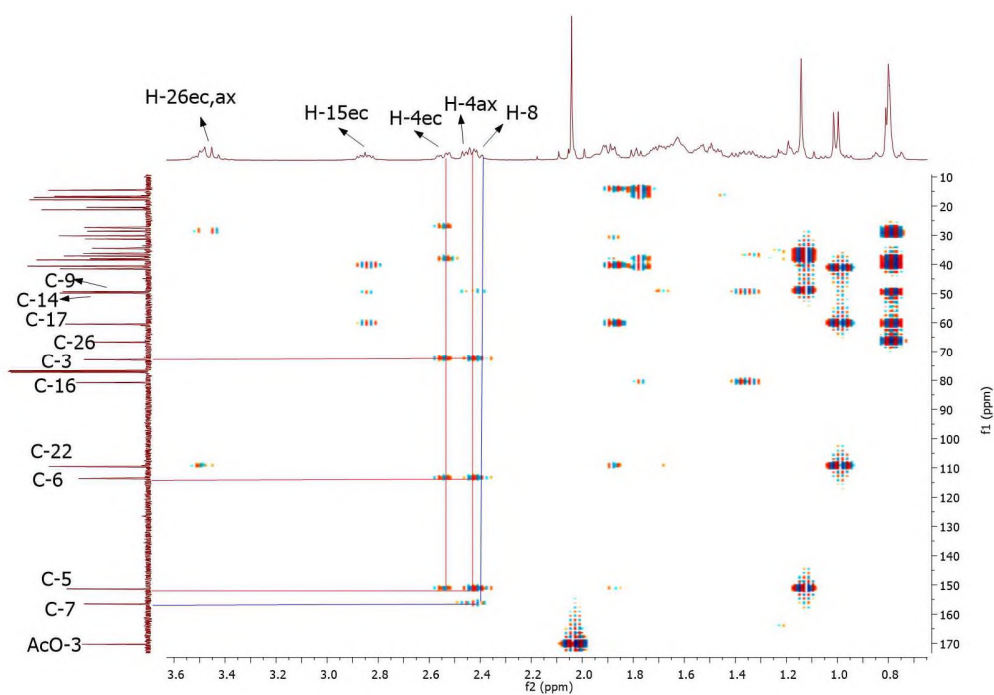


Figura 55. Espectro HMBC del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).

En el espectro de ^{13}C se apreciaron las 29 señales correspondientes al número de carbonos de la molécula. Primeramente, la señal que correspondía a la enona en C-7 dejó de observarse y se notó una señal en 156.5 ppm característico de oximas, la cual fue asignada al carbono de la oxima en C-7. En 170.3 ppm aparece una señal que fue asignada al carbonilo del grupo acetato en C-3 mientras que los carbonos vinílicos C-5 y C-6 se muestran en 151.4 y 113.6 ppm. El carbono espirocetálico no presentó cambios en su desplazamiento mostrándose hacia 109.5 ppm. Los carbonos base de oxígeno se apreciaron en 80.8 y 72.9 ppm respectivamente (figura 56).

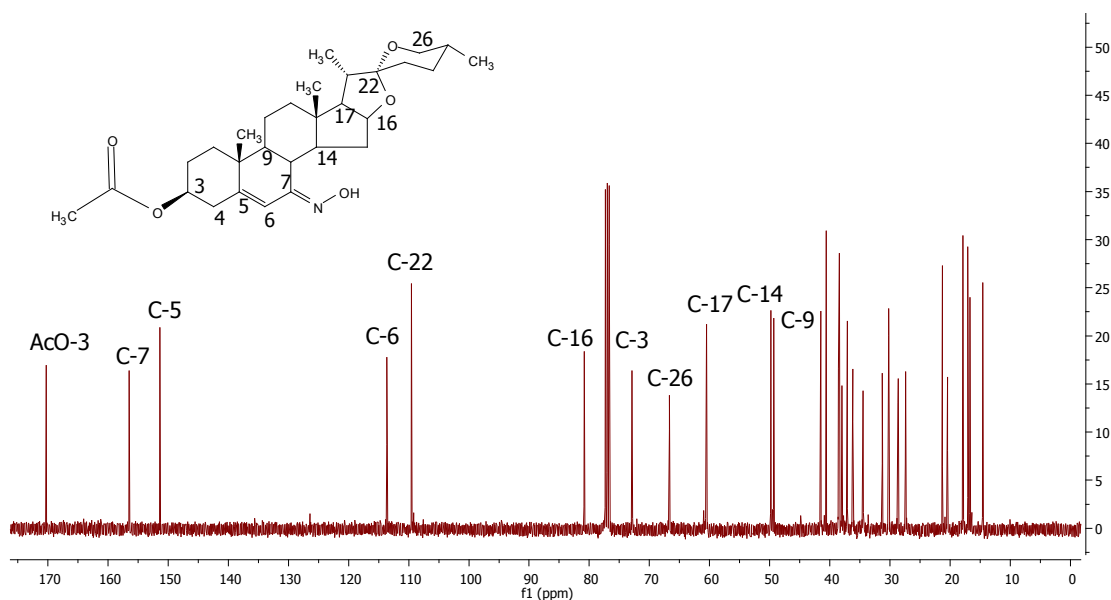


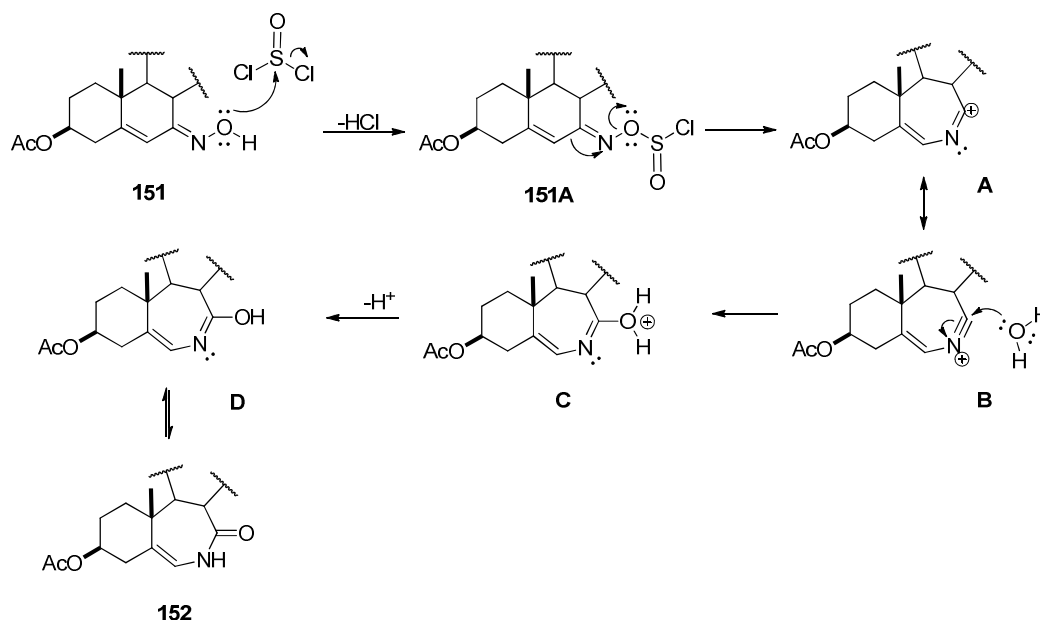
Figura 56. Espectro de ^{13}C del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoestrost-5-eno (151).

4.2.6 Preparación de la B-homo lactama 152.

El tratamiento del acetato de(25*R*, 7*E*)-hidroximinoespirost-5-eno (**151**) con una solución de cloruro de tionilo en tetrahidrofurano a una temperatura de 0 °C por 4 h dio un producto que se trató de la enamida tipo lactama **152** con un 52 % de rendimiento y materia prima sin reaccionar.

4.2.6.1. Mecanismo de reacción para la obtención de la B-homo lactama 152.

Como se muestra en el esquema 36, el mecanismo para el rearrreglo de Beckmann con SOCl_2 , implica como primer paso el ataque del grupo hidroxilo de la oxima al sulfóxido que se encuentra parcialmente positivo forzando la salida del cloro con lo cual se genera el intermediario **151A**. Simultáneamente a la salida del cloro ocurre la migración del grupo contiguo al nitrógeno, generando el intermediario **A**. Se llega así a un grupo nitrilo cuaternizado (**B**) con cierto carácter carbocatiónico que provoca el ataque de una molécula de agua (**C**). Tras la pérdida de un protón se genera el tautómero de la amida (**D**) y finalmente la amida **152** como producto del rearrreglo.



Esquema 37. Mecanismo de reacción para la formación del azaesteroide 152.

4.2.6.2 Caracterización del (25*R*)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).

En el espectro de IR se apreció una banda en 3273 cm⁻¹ que indica la presencia de una amina secundaria. Por otro lado en el espectro de ¹H se observó una señal simple en 5.84 ppm correspondiente al protón vinílico H-6 y una señal simple ancha en 5.72 ppm que se asignó al protón de la enamida. De los protones base de oxígeno, el H-3 no presenta cambios y apareció en 4.69 ppm mientras que el protón H-16 presentó ligeros cambios en su desplazamiento y se mostró en 4.43 ppm. Los protones diastereotópicos 26*ec* y 26*ax* se desplazaron hacia 3.47 y 3.37 ppm y el protón H-8 se vio más afectado por el grupo carbonilo de la enamida, por lo cual fue desplazado hasta 3.42 ppm. Los protones 4*ax* y 4*ec* se mostraron como una señal dd con $J_{gem}=J_{4ax-3}=11.6$ Hz en 2.60 ppm y una señal múltiple en 2.46 ppm respectivamente (figura 58). El protón 15*ec* se vió ligeramente afectado por el carbonilo de la enamida y se desplazó como una señal múltiple hacia 2.23 ppm. El metilo del grupo acetato en C-3 se mostró en 2.04 ppm y los metilos 19 y 18 como señales simples en 1.29 y 0.78 ppm. Los metilos 21 y 27 se mostraron como señales dobles en 0.98 y 0.79 ppm con $J_{21-20}= 6.0$ Hz y $J_{27-25}= 6.0$ Hz respectivamente (figura 57).

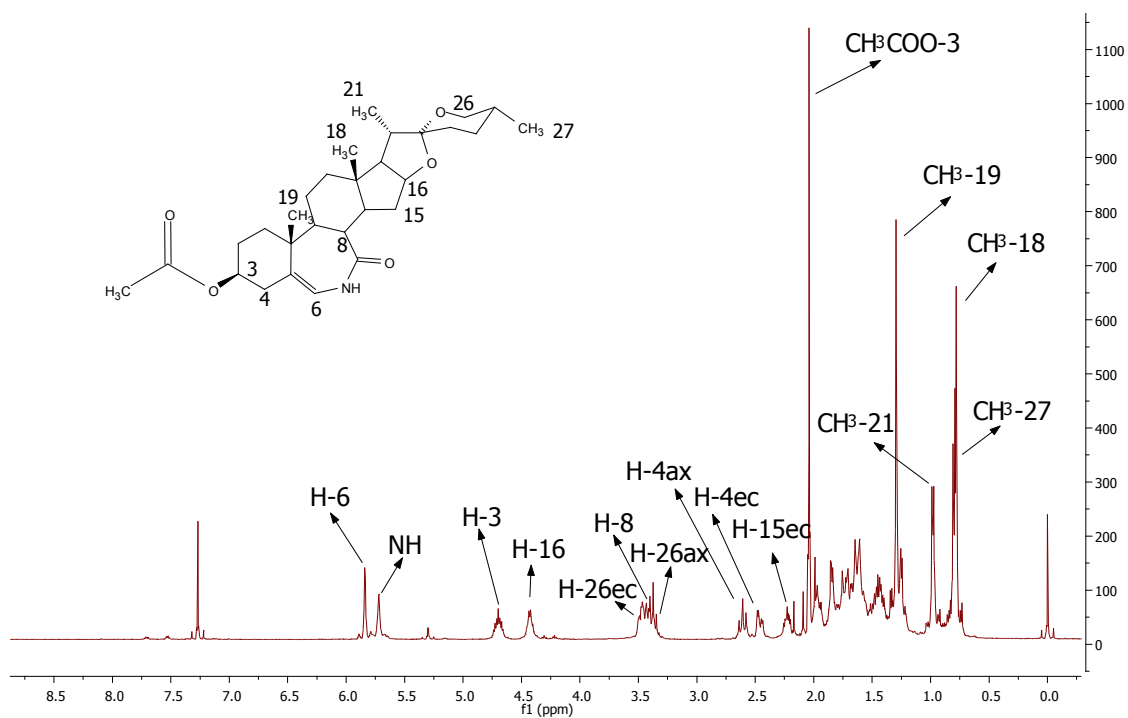


Figura 57. Espectro de ^1H del (25*R*)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).

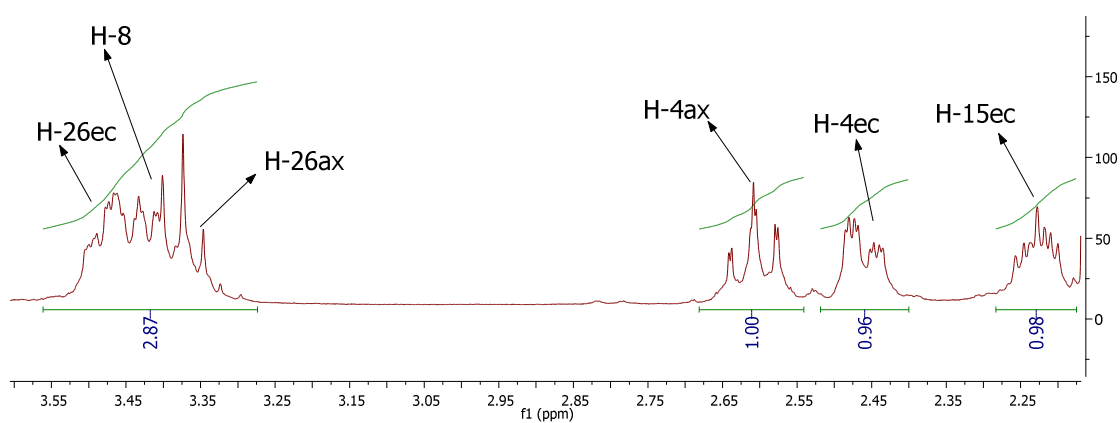


Figura 58. Integración de protones del (25*R*)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).

En el experimento COSY se apreció la correlación ^1H - ^1H que hay entre el protón vinílico H-6 y el protón de la enamida N-H. Esto ayudo a corroborar que el átomo de nitrógeno estaba en posición alfa al carbono C-6 (figura 59).

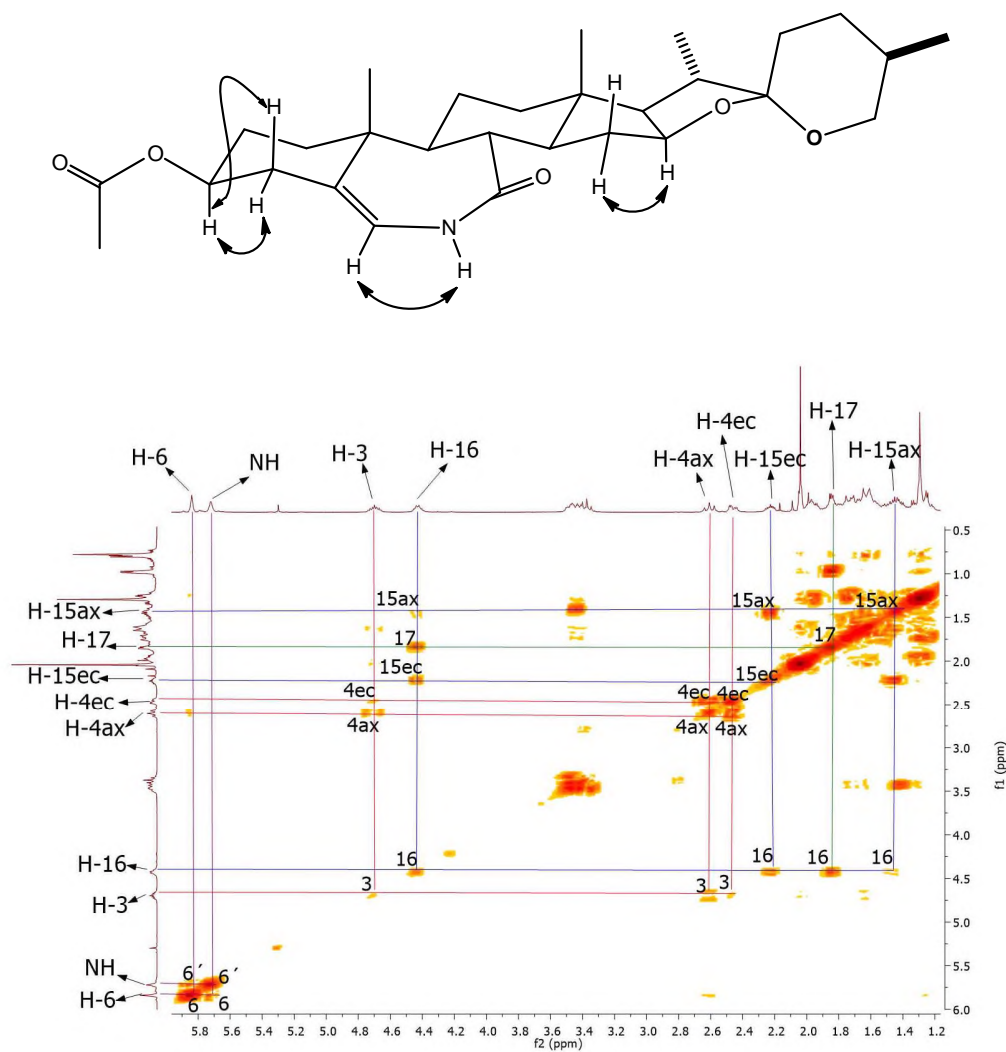


Figura 59. Espectro COSY del (25R)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-epiosten-7-ona (152).

En el experimento HSQC se apreciaron las correlaciones C-H entre los H-15 y C-15, H-4 y C-4, H-8 y C-8, entre otros (figura 60). Por otra parte, a través del experimento HMBC se observó la correlación entre el protón de la enamida N-H y C-6, H-6 con C-5, C-4 y C-10, H-4 axial y ecuatorial con C-1, C-3, C-5 y C-6, H-15 ecuatorial con C-12, C-14 y C-17, como se aprecia en la figura 61.

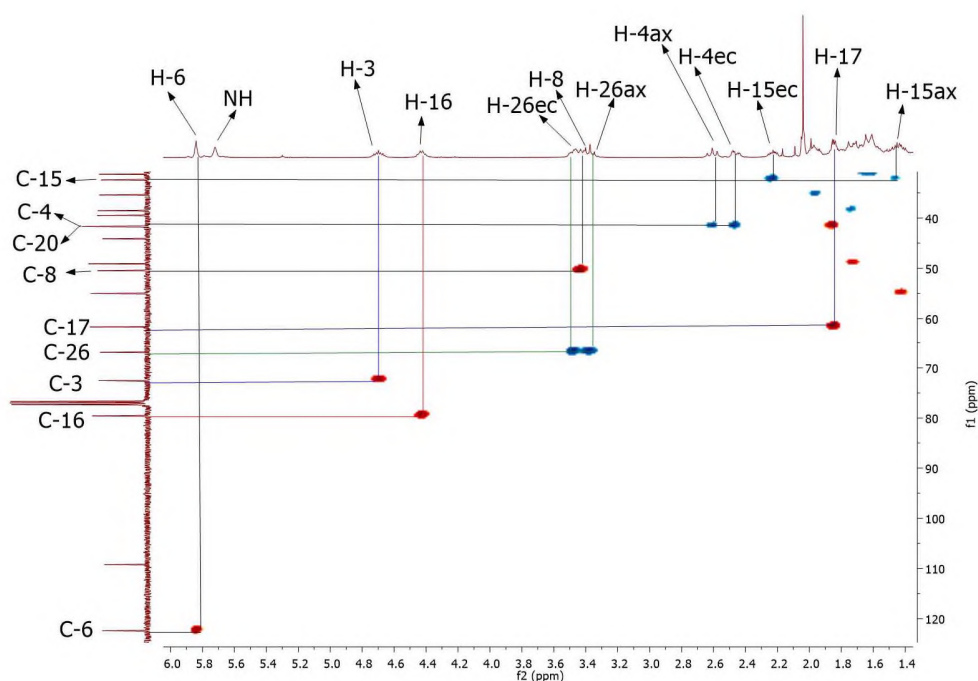


Figura 60. Espectro HSQC del (25R)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).

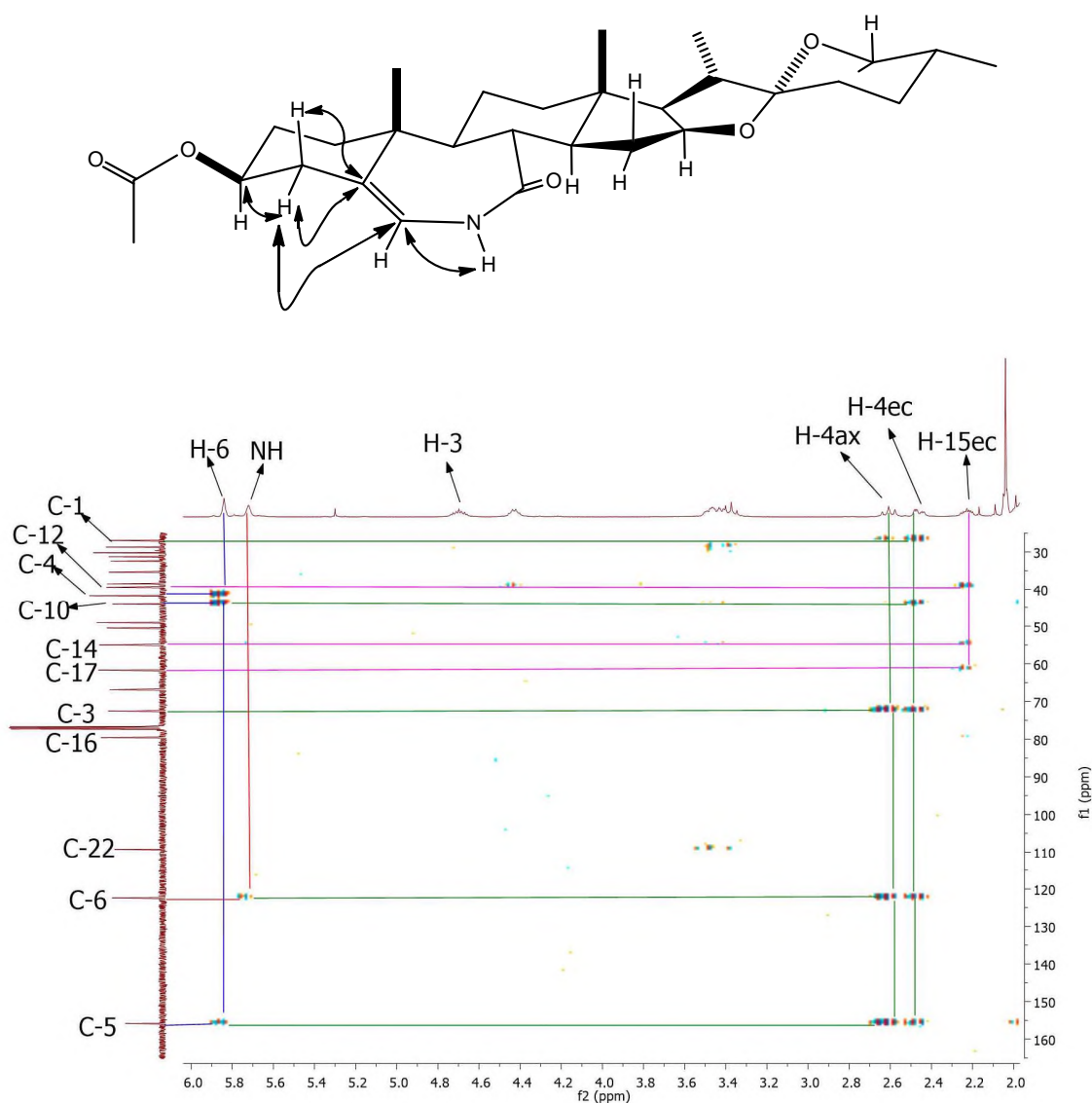


Figura 61. Espectro HMBC del (25R)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).

En el espectro de ^{13}C se apreciaron 29 señales correspondientes al número de carbonos de la molécula. La señal correspondiente a la oxima en C-7 ya no se observó y se mostró una nueva señal en 167.4 ppm que se asignó al carbonilo de la enamida. En 170.2 ppm permaneció la señal asignada al carbonilo del grupo acetato en C-3 mientras que los carbonos vinílicos C-5 y C-6 presentaron ligeros cambios y se mostraron en 155.8 y 122.4 ppm. El carbono espirocetálico se

desplazó hacia 109.3 ppm mientras que los carbonos base de oxígeno se apreciaron en 79.6 y 72.5 ppm respectivamente (figura 62).

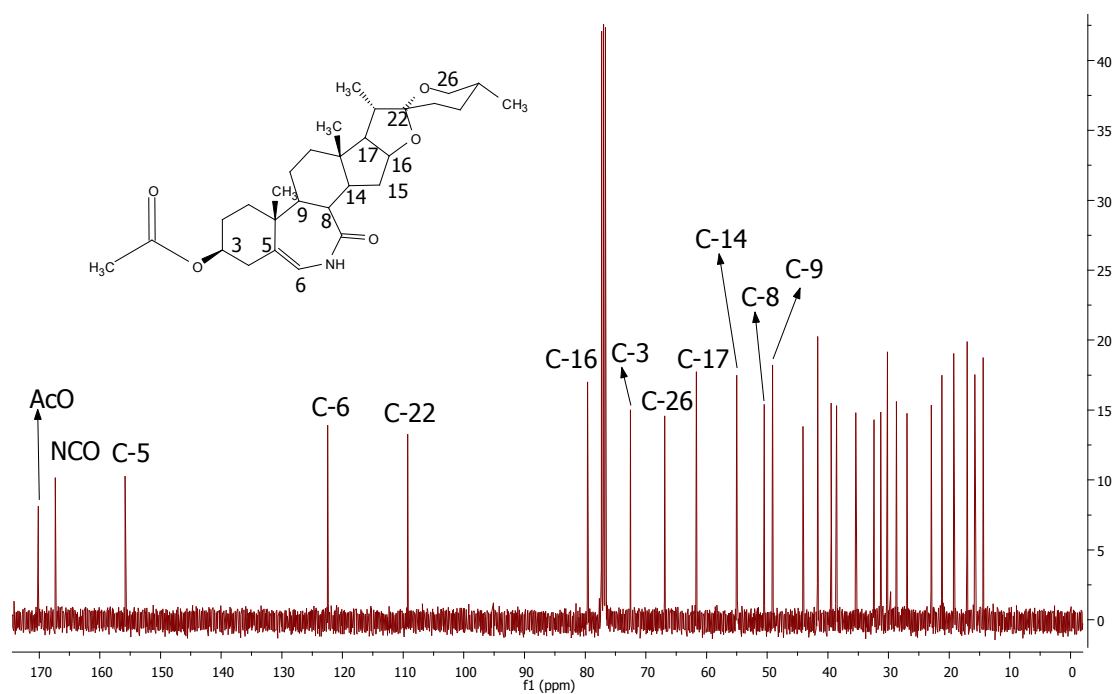
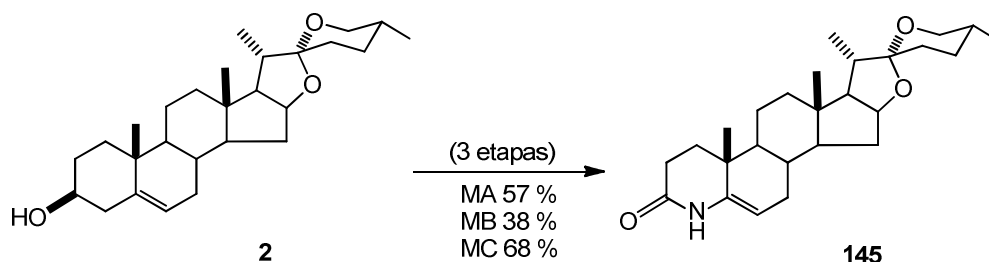


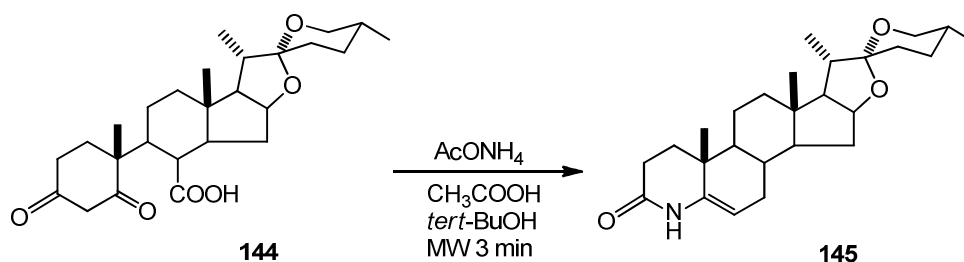
Figura 62. Espectro RMN de ^{13}C del (25R)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-estirosten-7-ona (152).

III. CONCLUSIONES

Se logró sintetizar el nuevo derivado 4-azaesteroideal **145** a partir de la diosgenina (**2**) en 3 etapas a través de tres métodos de ciclación diferentes con rendimientos globales del 57, 38 y 68 %.

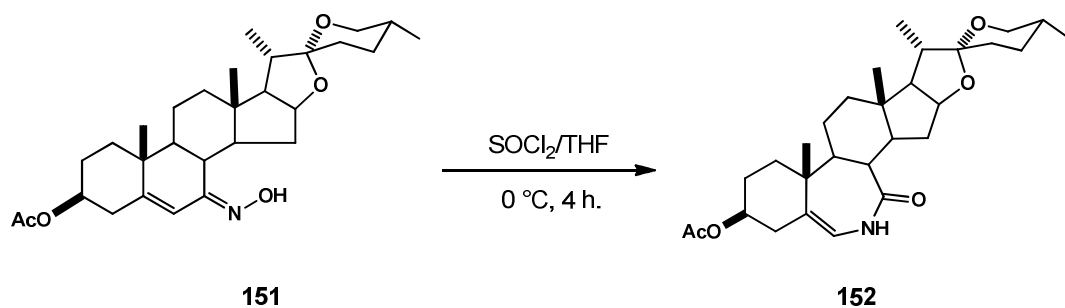


La optimización de la ciclación del seco ceto ácido se logró empleando una nueva metodología que incluye el uso de microondas focalizado, equipo con el cual se alcanzan rendimientos altos y reacciones muy limpias.

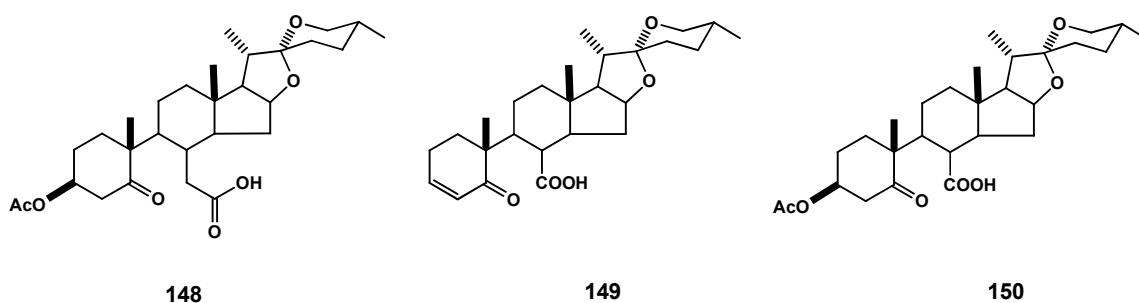


El rendimiento global de **145** es mayor comparado con el reportado por Yadav. (antecedentes, esquema 6) en el que parten de la misma molécula y obtienen un rendimiento global del 19 % en 7 etapas, mientras que en esta nueva metodología se sintetiza el derivado azaesteroideal en solo 3 etapas.

También se preparó la B-homo lactama **152** en un rendimiento global del 28 % mediante el rearreglo de Beckman de la (*E*)-oxima **151**. Es bien sabido que el rearreglo de oximas esteroidales con la configuración (*E*), provenientes de cetonas α,β -insaturadas da como resultado enaminas tipo lactamas como en el caso de **152**. La estereoquímica de ambos fue determinada mediante diferentes datos espectroscópicos básicos (IR, RMN-1D, RMN-2D, Masas de alta resolución).



Los seco esteroides **148**, **149** y **150** pueden ser empleados posteriormente para la preparación de derivados 6-azaesteroidales estableciendo nuevas metodologías que incluyan el uso de reactivos adecuados que ofrezcan mejores resultados.



Los derivados aza esteroidales **145** y **152** son moléculas que pueden presentar una actividad biológica de gran interés, por lo cual serán consideradas para estudios posteriores.

Se propusieron los mecanismos de reacción de la obtención de los derivados aza esteroidales y fueron caracterizados por los diferentes métodos espectroscópicos.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 EQUIPOS Y TÉCNICAS UTILIZADAS.

Puntos de Fusión

Los puntos de fusión fueron determinados por la técnica de capilar abierto en un equipo automatizado Stanford Research Systems EZ-Melt MPA 120, utilizando la escala de grados Celsius y no fueron corregidos.

Resonancia Magnética Nuclear

Los Espectros de Resonancia Magnética Nuclear se adquirieron con un aparato VARIAN MR, a 400 MHz para espectros de ^1H y a 100 MHz para los espectros de ^{13}C . Se utilizó cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Microondas Focalizado

La metodología de ciclación no convencional, fue desarrollada en un microondas focalizado marca Anton Paar, modelo Monowave 300, donde las reacciones fueron llevadas a cabo en un vial cerrado neumáticamente a presión, y monitoreada la presión y la potencia de salida entregada; la temperatura fue monitoreada por un sensor infrarrojo y un termómetro de ruby. El enfriamiento del vial fue realizado con aire seco comprimido. Se utilizaron viales de 10 y 30 mL de vidrio borosilicato con septa. Se ensayaron diversos solventes polares grado reactivo transparentes a las MW.

Espectroscopía de Infrarrojo

Se utilizó un Espectrómetro de infrarrojo con transformada de Fourier e Interferómetro Dynascan Perkin Elmer Spectrum 100. Los datos se expresan en números de onda ν (cm^{-1}).

Polarimetría

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 241 empleando soluciones clorofórmicas en una microcelda de 10 cm de longitud y utilizando la línea de emisión D del Na (= 589 nm) a temperatura ambiente. Las desviaciones levo- y dextrógiras se acompañan con el valor de la concentración empleada.

Cromatografía

Para la cromatografía analítica en capa fina (CCF) se utilizaron placas comerciales de gel de sílice grado 60 de 0.2 mm de espesor ALUGRAM Xtra SIL G/UV₂₅₄ de Macherey-Nagel, Alemania y como fase móvil sistemas de elución de acetato de etilo – éter de petróleo. Para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UVG-11) y por calcinación de las placas, previo tratamiento con ácido sulfúrico al 50%.

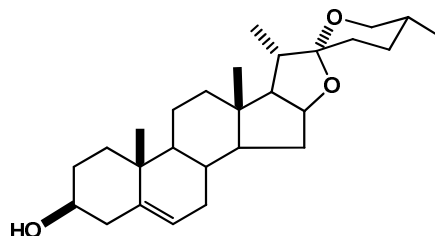
Para la cromatografía en columna, se empleó gel de sílice de 230-400 mallas MN Kieselgel 60 de Macherey-Nagel, Alemania , utilizando un sistema de eluyente de acetato de etilo – éter de petróleo en diversas proporciones.

6.2 DISOLVENTES Y MATERIAS PRIMAS

La Diosgenina (**2**) comercial no fue necesario purificarla, previamente se le hicieron análisis como: punto de fusión, cromatografía por placa fina, resonancia magnética nuclear en los cuales no mostró ninguna impureza. Los reactivos utilizados fueron de grado analítico. Todos los disolventes se purificaron de acuerdo con las técnicas publicadas en la literatura⁵³.

La materia prima fue diosgenina (**2**), la cual se caracterizó por las diferentes técnicas espectroscopias, para contar de manera inicial con los espectros, a fin de poder compararlos con los productos de transformaciones posteriores, y fácilmente identificar los cambios en los compuestos esteroidales.

Caracterización de la diosgenina (2).



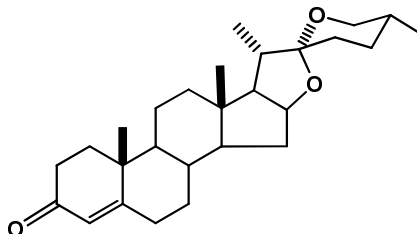
La diosgenina (2) se caracterizó por métodos físicos y espectroscópicos, los datos fueron comparados con los de la literatura. Polvo amorfo, p.f. = 199-202 °C (lit⁵⁴ 203-205 °C), $[\alpha]_D = -129.0^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃); lit⁵⁴ - 129.0° ($c = 1.4$, CHCl₃).

RMN ¹H

δ : 5.34 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-6), 4.41 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.6$ Hz, H-16), 3.51 (1H, ma, H-3), 3.46 (1H, ddd, $J_{gem} = 10.8$, $J_{26e-25a} = 4.4$, $J_{26e-24e} = 2.4$ Hz, H-26e), 3.37 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25a} = 10.8$ Hz, H-26a), 1.02 (3H, s, CH₃-19), 0.97 (3H, d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH₃-21), 0.79 (3H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH₃-27), 0.79 (3H, s, CH₃-18).

RMN ¹³C

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

(25*R*)-espirost-4-en-3-ona (143).

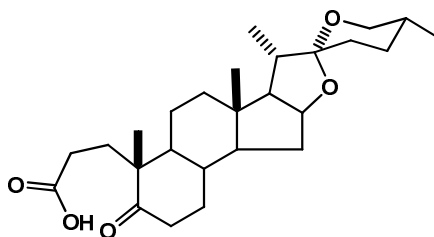
Al Clorocromato de Piridino (1.7 g, 4.0 mmol) fue agregada una mezcla de CaCO_3 (4.0 g, 4.0 mmol) pulverizado y diosgenina (2.0 g, 4.8 mmol) en CH_2Cl_2 (50 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó por 1.5 h. Una vez transcurrido el tiempo, se extrajo con éter dietílico (50 mL), se filtró por una columna de florisil y se concentró a presión reducida. Una vez seca, se disolvió en CH_2Cl_2 (20 mL) y se agregaron cantidades catalíticas de TsOH dejándolo en agitación a temperatura ambiente por 20 minutos. Posteriormente se hicieron lavados con agua destilada, se secó con sulfato de sodio (Na_2SO_4) y se concentró en el rotavapor. La mezcla de reacción fue purificada en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 9:1 hexano/AcOEt). Se obtuvo 1.8 g (90 %) de un sólido blanco con p. f. = 185-187 °C (lit⁵⁵ 186-188 °C) correspondiente al compuesto **143**. HRMS: m/z 413.2775 $[\text{M}+1]^+$ (calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_3$, 413.3056).

¹H RMN

δ ¹H: 5.73 (1H, s, H-4), 4.41 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.2$ Hz, H-16), 3.48 (1H, ddd, $J_{\text{gem}} = 11.2$, $J_{26e-25a} = 4.4$ $J_{26e-24e} = 2.0$ Hz, H-26e), 3.37 (1H, dd, $J_{26-26} = J_{26a-25a} = 10.8$ Hz, H-26a), 1.20 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH_3 -21), 0.82 (3H, s, H-18), 0.79 (3H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH_3 -27).

¹³C RMN

δ ¹³C: 35.6 (C-1), 33.9 (C-2), 199.6 (C-3), 123.8 (C-4), 171.2 (C-5), 32.8 (C-6), 32.1 (C-7), 35.2 (C-8), 53.7 (C-9), 38.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.6 (C-12), 40.3 (C-13), 55.6 (C-14), 31.7 (C-15), 80.6 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 17.4 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.8 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

Ácido (25*R*)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-espirostan-3-oico (144).

A una solución de la 4-en-3-ona **143** (500 mg, 1.2 mmol) en *tert*-butanol (10 mL) fue agregada una solución de Na₂CO₃ (375 mg, 3.5 mmol) en agua (1.5 mL). La mezcla se llevó a reflujo y se le agregó gradualmente (20 min) una solución de NaIO₄ (2.11 g, 9.8 mmol) y KMnO₄ (67 mg, 0.4 mmol) en agua caliente (7.5 mL, 70 °C). La reacción se mantuvo a reflujo a una temperatura de 70 °C por 3 h. Al transcurrir este tiempo, la mezcla de reacción se enfrió a 30 °C y después de 15 minutos los sólidos fueron removidos por filtración. Los sólidos fueron lavados con agua y la combinación de filtrados se concentró a presión reducida para remover todo el *tert*-butanol. Los residuos acuosos fueron enfriados y acidificados (pH=2) con una solución concentrada de HCl. El crudo de reacción se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó con agua destilada, se secó con Na₂SO₄ y se evaporó a presión reducida. La mezcla de reacción fue purificada en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 5:5 hexano/AcOEt). Se obtuvo 470 mg (89 %) de un sólido blanco con p. f. = 212-213 °C (lit^{48,56,57} 210-213 °C) correspondiente al compuesto seco ceto ácido **144**. HRMS: *m/z* 433.2794 [M+1]⁺ (calculado para C₂₆H₄₁O₅, 433.2954).

IR

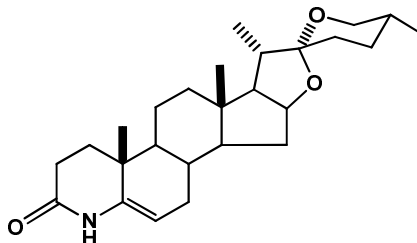
(cm⁻¹): 2938, 2900, 2852, 1719, 1708, 1647, 1456, 1375, 1248, 1206, 1177, 1075, 1051, 979, 971, 920, 894, 725.

¹H RMN

δ: 4.42 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.6$ Hz, H-16), 3.49 (1H, ddd, $J_{gem} = 11.2$, $J_{26e-25a} = 4.4$ $J_{26e-24e} = 2$ Hz, H-26e), 3.37 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25a} = 11.2$ Hz, H-26a), 2.57 (1H, ddd, $J_{gem} = J_{6a-7a} = 14$, $J_{6a-7e} = 5.6$ Hz, H-6a), 1.14 (3H, s, CH₃-19), 0.98 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH₃-21), 0.84 (3H, s, CH₃-18), 0.79 (3H, d, $J_{27-25} = 6.0$ Hz, CH₃-27).

¹³C RMN

δ: 29.1 (C-1), 28.9 (C-2), 179.2 (C=O-COOH-3), 214.7 (C-5), 37.9 (C-6), 31.4 (C-7), 34.4 (C-8), 47.8 (C-9), 50.3 (C-10), 21.2 (C-11), 39.3 (C-12), 40.5 (C-13), 55.5 (C-14), 31.7 (C-15), 80.4 (C-16), 61.8 (C-17), 16.3 (C-18), 20.4 (C-19), 41.6 (C-20), 14.4 (C-21), 109.3 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

(25*R*)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).

Método A. Una mezcla del seco ceto ácido **144** (400 mg, 0.92 mmol) y sulfato de amonio (405 mg, 3.1 mmol) en ácido acético glacial (15 mL) fueron agitados y calentados a reflujo por 4 h. Transcurrido este tiempo, el crudo se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó con agua destilada, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó a sequedad en el rotavapor. La mezcla de reacción fue purificada en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 5:5 hexano/AcOEt). Se obtuvo 190 mg (49 %) de una laca blanca correspondiente al azaesteroide **145**. $[\alpha]_D = -131.24^\circ$ ($c = 0.0029$, CHCl₃), HRMS: m/z 414.2458 [M+1]⁺ (calculado para C₂₆H₄₀N₁O₃, 414.3008).

Método B. Una mezcla del seco ceto ácido **144** (470 mg, 1.1 mmol) y acetato de amonio (476 mg, 6.2 mmol) en ácido acético glacial (18 mL) fueron agitados y calentados a reflujo por 4 h. Transcurrido este tiempo, el crudo se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó con agua destilada, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó a sequedad en el rotavapor. La mezcla de reacción fue purificada en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 5:5 hexano/AcOEt). Se obtuvo 357 mg (79 %) de un sólido blanco con p. f. = 167-169 °C correspondiente al azaesteroide **145**.

Método C. Una mezcla del seco ceto ácido **144** (50 mg, 0.12 mmol), acetato de amonio (33.6 mg, 0.44 mmol) y ácido acético glacial (2 mL) provistos con agitación magnética fueron irradiados en un horno de microondas focalizado Monowave 300 Anton Par a una temperatura de 180 °C y una presión de 6.4 bares por 3 minutos.

Al término de la reacción, el crudo fue enfriado y vertido en agua destilada. La fase orgánica fue extraída con CH_2Cl_2 , lavado con agua, secado con Na_2SO_4 anhidro, filtrado y evaporado a sequedad en el rotavapor obteniéndose 45 mg (94 %) de un sólido blanco correspondiente al azaesteroide **145**.

IR

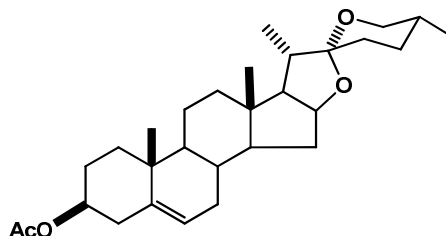
(cm^{-1}): 3195, 2930, 1692, 1452, 1377, 1241, 1053, 981, 899, 732.

^1H RMN

δ : 8.22 (1H, sa, N-H), 4.88 (1H, dd, $J_{6-7a}= 4.8$, $J_{6-7e}= 2.4$ Hz, H-6), 4.42 (1H, ddd, $J_{16-15a}=J_{16-15e}=J_{16-17}= 7.6$ Hz, H-16), 3.47 (1H, ddd, $J_{\text{gem}}=11.2$, $J_{26e-25a}= 4.4$, $J_{26e-24e}= 1.6$ Hz, H-26e), 3.37 (1H, dd, $J_{\text{gem}}=J_{26a-25a}=11.2$ Hz, H-26a), 2.47 (2H, m, H-2), 1.11 (3H, s, CH_3 -19), 0.98 (3H, d, $J_{21-20}= 6.8$ Hz, CH_3 -21), 0.79 (3H, d, $J_{27-25}=6.4$ Hz, CH_3 -27), 0.81 (3H, s, CH_3 - 18).

^{13}C RMN

δ : 31.4 (C-1), 28.3 (C-2), 169.7 (C-3), 139.9 (C-5), 103.2 (C-6), 29.8 (C-7), 31.1 (C-8), 47.8 (C-9), 34.2 (C-10), 20.7 (C-11), 39.4 (C-12), 40.3 (C-13), 56.2 (C-14), 31.7 (C-15), 80.6 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 18.7 (C-19), 41.5 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

Acetato de diosgenina (146).

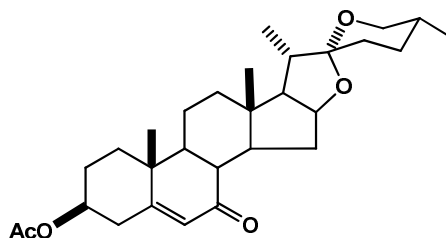
Una solución de diosgenina **2** (5 g, 12 mmol) en 50 mL de anhídrido acético y DMAP (100 mg, 0.815 mmol) se calentó a reflujo por 1 h. Transcurrido este tiempo, se le adicionó agua fría (50 mL) para que la fase orgánica precipitara. Los sólidos fueron filtrados y lavados con una solución saturada de bicarbonato de sodio para neutralizar el ácido. El producto fue secado en una mufla a 80 °C. Se obtuvieron 4.7 g (85 %) de un sólido blanco con p. f. = 194-196 °C (lit⁵⁴ 195-196 °C) correspondiente al acetato de diosgenina **146**. $[\alpha]_D^{25} = -122^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃) (lit⁵⁴-118°).

RMN ¹H

δ ¹H: 5.37 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-6), 4.59 (1H, m, H-3), 4.41 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.6$, Hz, H-16), 3.47 (1H, ddd, $J_{gem} = 11.2$, $J_{26e-25a} = 4.8$ $J_{26e-24e} = 2.0$ Hz, H-26e), 3.37 (1H, dd, $J_{26a-25a} = J_{26a-26e} = 10.8$ Hz, H-26a), 2.03 (3H, s, CH₃COO-3), 1.04 (3H, s, CH₃-19), 0.97 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH₃-21), 0.79 (3H, s, CH₃-18), 0.78 (3H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH₃-27).

RMN ¹³C

δ ¹³C: 37.0 (C-1), 27.7 (C-2), 73.8 (C-3), 38.1 (C-4), 139.6 (C-5), 122.3 (C-6), 32.0 (C-7), 31.4 (C-8), 49.9 (C-9), 36.7 (C-10), 20.8 (C-11), 39.7 (C-12), 40.2 (C-13), 56.4 (C-14), 31.8 (C-15), 80.8 (C-16), 62.1 (C-17), 16.2 (C-18), 19.3 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.4 (C-23), 28.8 (C-24), 30.3 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27), 170.4 (CH₃COO-3), 21.4 (CH₃COO-3).

(25R)-3 β -acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).

Método A. A una solución de acetato de diosgenina **146** (1 g, 2.2 mmol) en 10 mL de ácido acético fue agregado lentamente a una solución de trióxido de cromo CrO₃ (1.36 g, 13.6 mmol) disuelto en 7 mL de ácido acético y 1.2 mL de H₂O, manteniendo la reacción en agitación a una temperatura entre 0-5 °C durante 3 h. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ y se pasó por una columna con florisil para retirar el oxidante. La solución fue lavada con agua destilada, neutralizada con bicarbonato de sodio, separada, secada con sulfato de sodio anhidro y evaporada a sequedad en el rotavapor. La purificación se llevó a cabo en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 9:1 hexano/AcOEt). Se obtuvo 280 mg (27 %) de un sólido blanco con p. f.= 193-195 °C correspondiente al producto **147**, el resto fue materia prima sin reaccionar. $[\alpha]_D = -123.05^\circ$ ($c = 0.0063$, CHCl₃), HRMS: m/z 471.3323 [M+1]⁺ (calculado para C₃₃H₄₃O₂, 471.3263).

Método B. *Preparación del reactivo de Collins.* Se disolvió CrO₃ (9.5 g, 0.095 mmol) en 40 mL de CH₂Cl₂ y se introdujo a un baño a 0 °C. Posteriormente se agregó lentamente 15 mL de piridina durante 10 minutos y después de este tiempo, se dejó en agitación a temperatura ambiente por 20 minutos.

Al reactivo de Collins se agregó una solución de acetato de diosgenina **146** (1.5 g, 3.3 mmol) disuelto en 15 mL de CH₂Cl₂ llevando la reacción en agitación a

temperatura ambiente por 12 h. El crudo de reacción se extrajo con CH_2Cl_2 y se pasó por una columna con SiO_2 para retirar el oxidante. La solución fue lavada con agua destilada y neutralizada con una solución de HCl al 15 % en agitación por 30 minutos. El crudo de reacción fue separado, secado con sulfato de sodio anhidro y evaporado a sequedad en el rotavapor. La purificación se llevó a cabo en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 9:1 hexano/AcOEt). Se obtuvo 732 mg (71 %) de un sólido blanco con p. f.= 193-195 °C correspondiente al producto **147**.

IR

(cm^{-1}): 2949, 1733, 1671, 1455, 1375, 1239, 1176, 1036, 981, 899, 731.

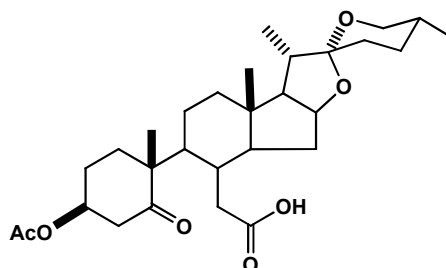
^1H RMN

δ : 5.71 (1H, sa, H-6), 4.71 (1H, m, H-3), 4.48 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 6.4$ Hz, H-16), 3.47 (1H, ddd, $J_{\text{gem}}=11.2$, $J_{26e-25a} = 4.4$ $J_{26e-24e} = 1.6$ Hz, H-26e), 3.39 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = J_{26a-25a} = 11.2$ Hz, H-26a), 2.88 (1H, m, H-15e), 2.56 (1H, ddd, $J_{\text{gem}}=14$, $J_{4e-3a} = 7.2$ $J_{4e-2e} = 2$ Hz, H-4e), 2.49 (1H, dd, $J_{\text{gem}}=11.2$, $J_{4a-3} = 1.6$ Hz, H-4a), 2.41 (1H, m, H-8), 2.05 (3H, s, $\text{CH}_3\text{COO-3}$), 1.23 (3H, s, CH_3-19), 0.98 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH_3-21), 0.79 (3H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH_3-27), 0.79 (3H, s, CH_3-18).

^{13}C RMN

δ : 35.9 (C-1), 27.3 (C-2), 72.1 (C-3), 170.3 ($\text{CH}_3\text{C}\underline{\text{O}}\text{O-3}$), 21.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}\underline{\text{O}}\text{O-3}$), 37.7 (C-4), 164.0 (C-5), 126.4 (C-6), 201.4 (C-7), 44.8 (C-8), 49.6 (C-9), 38.4 (C-10), 20.8 (C-11), 38.6 (C-12), 40.9 (C-13), 49.4 (C-14), 33.6 (C-15), 80.9 (C-16), 61.0 (C-17), 16.4 (C-18), 17.2 (C-19), 41.5 (C-20), 14.6 (C-21), 109.2 (C-22), 31.4 (C-23), 28.7 (C-24), 30.3 (C-25), 66.7 (C-26), 17.1 (C-27).

Ácido (25*R*)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148)



A una solución de acetato de diosgenina **146** (1 g, 2.2 mmol) en 10 mL de ácido acético fue agregado lentamente a una solución de trióxido de cromo CrO_3 (1.36 g, 13.6 mmol) disuelto en 7 mL de ácido acético y 1.2 mL de H_2O , manteniendo la reacción en agitación a una temperatura entre 0-5 °C durante 3 h. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se extrajo con CH_2Cl_2 y se pasó por una columna con florisil para retirar el oxidante. La solución fue lavada con agua destilada, neutralizada con bicarbonato de sodio, separada, secada con sulfato de sodio anhidro y evaporada a sequedad en el rotavapor. La purificación se llevó a cabo en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 7:3 hexano/AcOEt). Se obtuvo 630 mg (61 %) de una laca blanca correspondiente al producto **148**. $[\alpha]_{\text{D}} = -45.96^\circ$ ($c = 0.0048$, CHCl_3).

IR

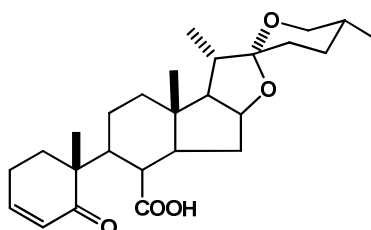
(cm^{-1}): 2953, 1703, 1376, 1241, 1054, 980, 906, 726, 647.

^1H RMN

δ : 5.39 (1H, sa, H-3), 4.41 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.6$ Hz, H-16), 3.46 (1H, m, H-26e), 3.35 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = J_{26a-25a} = 10.8$ Hz, H-26a), 3.16 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = 14.8$ Hz, $J_{4e-3} = 4.8$ Hz, H-4e), 2.47 (1H, d, $J_{\text{gem}} = 14.4$ Hz, H-4a), 2.02 (3H, s, CH_3COO -3), 1.07 (3H, s, CH_3 -19), 0.97 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH_3 -21), 0.82 (3H, s, CH_3 -18), 0.78 (3H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH_3 -27).

¹³C RMN

δ : 34.4 (C-1), 25.1 (C-2), 73.4 (C-3), 170.3 (CH₃C=O-3), 43.1 (C-4), 216.1 (C-5), 177.2 (C=O-6), 34.5 (C-7), 41.9 (C-8), 35.0 (C-9), 52.4 (C-10), 22.8 (C-11), 39.8 (C-12), 40.6 (C-13), 54.7 (C-14), 32.0 (C-15), 80.3 (C-16), 61.7 (C-17), 16.1 (C-18), 17.7 (C-19), 41.7 (C-20), 14.4 (C-21), 109.3 (C-22), 31.2 (C-23), 28.6 (C-24), 30.1 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

Ácido (25*R*)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-espirosten-7-oico (149).

A una solución de la 5-en-7-ona **147** (500 mg, 1.1 mmol) en *tert*-butanol (10 mL) fue agregada una solución de Na₂CO₃ (375 mg, 3.5 mmol) en agua (1.5 mL). La mezcla se llevó a reflujo y se le agregó lentamente una solución de NaIO₄ (2.11 g, 9.8 mmol) y KMnO₄ (67 mg, 0.4 mmol) en agua caliente (7.5 mL, 45 °C). La reacción se mantuvo a reflujo a una temperatura de 45 °C por 3 h. Al transcurrir este tiempo, la mezcla de reacción se enfrió a 30 °C y después de 15 minutos los sólidos fueron removidos por filtración. Los sólidos fueron lavados con agua y la combinación de filtrados se concentró a presión reducida para remover todo en *tert*-butanol. Los residuos acuosos fueron enfriados y acidificados (pH=2) con una solución concentrada de HCl. El crudo de reacción se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó con agua destilada, se secó con Na₂SO₄ y se evaporó a presión reducida. La mezcla de reacción fue purificada en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 5:5 hexano/AcOEt). Se obtuvo 396 mg (86 %) de una laca blanca correspondiente al compuesto seco ceto ácido **149**. $[\alpha]_D = -19.40^\circ$ ($c = 0.0038$, CHCl₃), HRMS: m/z 431.3429 [M+1]⁺ (calculado para C₂₆H₃₉O₅, 431.2797).

IR

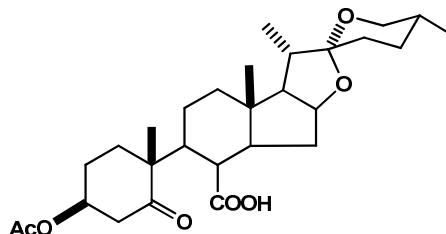
(cm⁻¹): 2952, 2872, 1728, 1704, 1674, 1455, 1384, 1290, 1241, 1174, 1097, 1052, 1010, 980, 949, 918, 899, 865, 796, 731, 646.

¹H RMN

δ: 6.82 (1H, m, H-3), 5.93 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-4), 4.48 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.6$ Hz, H-16), 3.46 (1H, m, H-26e), 3.34 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25a} = 11.2$ Hz, H-26a), 2.51 (1H, dd, $J_{8-9} = J_{8-14} = 11.2$ Hz, H-8), 1.11 (3H, s, CH₃-19), 0.96 (3H, d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH₃-21), 0.78 (3H, d, $J_{27-25} = 6.0$ Hz, CH₃-27), 0.78 (3H, s, CH₃-18).

¹³C RMN

δ: 32.7 (C-1), 22.7 (C-2), 147.4 (C-3), 128.9 (C-4), 205.3 (C-5), 178.8 (C-7), 43.5 (C-8), 40.4 (C-9), 47.6 (C-10), 22.3 (C-11), 39.0 (C-12), 39.9 (C-13), 52.5 (C-14), 32.5 (C-15), 79.9 (C-16), 61.6 (C-17), 15.7 (C-18), 18.4 (C-19), 41.8 (C-20), 14.4 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

Ácido (25*R*)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-*seco*-6-*n*orespirostan-6-oico (150).

A una solución de la 5-en-7-ona **147** (1 g, 2.1 mmol) en *tert*-butanol (60 mL) fue agregada una solución de K₂CO₃ (0.625 g, 2.9 mmol) en agua (17.5 mL), KMnO₄ (87.5 mg, 0.56 mmol) en agua (2.5 mL) y KIO₄ (0.875 g, 3.8 mmol). La mezcla fue agitada 30 minutos a temperatura ambiente y transcurrido este tiempo se agregó una solución de KIO₄ (3.5 g, 15.2 mmol) en agua (44 mL) y cristales de KMnO₄. La reacción se dejó en agitación por 14 h a temperatura ambiente. Al transcurrir este tiempo, la mezcla de reacción se extrajo con agua y fue parcialmente evaporada. Los residuos acuosos fueron enfriados y acidificados con H₂SO₄ (1 mL). El crudo de reacción se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó con agua destilada, se secó con Na₂SO₄ y se evaporó a presión reducida. La mezcla de reacción fue purificada en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 7:3 hexano/AcOEt). Se obtuvo 646 mg (62 %) de una laca blanca correspondiente al compuesto *seco* ceto ácido **150**. [α]_D = -19.01° (*c* = 1.0, CHCl₃), HRMS: *m/z* 491.2828 [M+1]⁺ (calculado para C₂₈H₄₆O₇, 491.3009).

IR

(cm⁻¹): 2956, 2254, 1727, 1709, 1455, 1376, 1243, 1177, 1100, 1052, 980, 904, 723, 648.

¹H RMN

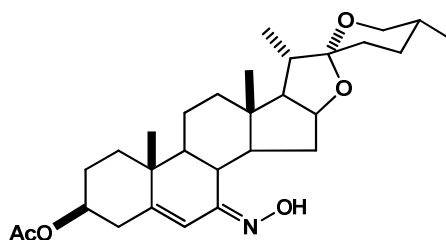
δ: 9.43 (1H, sa, OH-7), 5.38 (1H, sa, H-3), 4.44 (1H, ddd, *J*_{16-15a} = *J*_{16-15e} = *J*₁₆₋₁₇ = 7.6 Hz, H-16), 3.51 (1H, m, H-26e), 3.40 (1H, dd, *J*_{gem} = *J*_{26a-25a} = 11.2 Hz, H-26a), 3.25

(1H, dd, $J_{gem}=16$ Hz, $J_{4e-3}=4.4$ Hz, H-4e), 2.58 (1H, dd, $J_{8-9}=J_{8-14}=11.2$ Hz, H-8), 2.46 (1H, d, $J_{gem}=15.6$ Hz, H-4a), 2.35 (1H, m, H-9), 2.07 (3H, s, $\text{CH}_3\text{COO-3}$), 1.12 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$), 1.02 (3H, d, $J_{21-20}=6.4$ Hz, $\text{CH}_3\text{-21}$), 0.84 (3H, d, $J_{27-25}=6.4$ Hz, $\text{CH}_3\text{-27}$), 0.84 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$).

^{13}C RMN

δ : 32.1 (C-1), 31.9 (C-2), 72.4 (C-3), 170.2 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$), 21.0 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$), 42.7 (C-4), 213.0 (C-5), 177.9 (COOH-7), 43.9 (C-8), 40.1 (C-9), 51.3 (C-10), 24.5 (C-11), 20.9 (C-12), 39.8 (C-13), 52.4 (C-14), 38.9 (C-15), 79.8 (C-16), 61.3 (C-17), 15.6 (C-18), 17.8 (C-19), 41.6 (C-20), 14.2 (C-21), 109.1 (C-22), 31.0 (C-23), 28.4 (C-24), 29.9 (C-25), 66.6 (C-26), 16.9 (C-27).

Acetato de (25*R*, 7*E*)-hidroximinoespirost-5-eno (151).



A una solución de la 5-en-7-ona **147** (500 mg, 1.1 mmol) en 20 mL de EtOH y AcONa (0.131g, 1.6 mmol) fue agregado $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (0.11 g, 1.6 mmol). La reacción se mantuvo a reflujo por 2 h y, una vez transcurrido ese tiempo se separó la fase orgánica realizando de 2 a 3 lavados con agua destilada, se secó con Na_2SO_4 anhidro, se concentró y se purificó en columna de cromatografía con gel de sílice utilizando sistema 7:3 (hexano/AcOEt). Se obtuvo 470 mg (91 %) de un sólido blanco con p.f. = 207-209 °C correspondiente a la oxima **151**. $[\alpha]_D = -80.50^\circ$ ($c = 0.0014$, CHCl_3), HRMS: m/z 486.2845 $[\text{M}+1]^+$ (calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_1\text{O}_5$, 486.3219).

IR

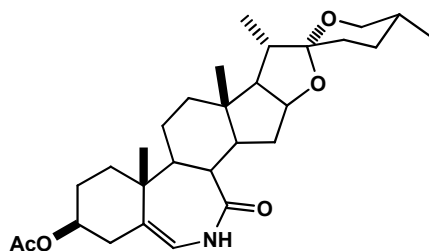
(cm⁻¹): 3345, 2950, 1731, 1455, 1375, 1240, 1176, 1034, 979, 907, 864, 727, 646.

¹H RMN

δ: 8.46 (1H, s, NOH), 6.59 (1H, sa, H-6), 4.68 (1H, m, H-3), 4.61 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.6$ Hz, H-16), 3.50 (1H, m, H-26e), 3.45 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25a} = 11.2$ Hz, H-26a), 2.85 (1H, m, H-15e), 2.54 (1H, m, H-4e), 2.45 (1H, m, H-4a), 2.42 (1H, m, H-8), 2.04 (3H, s, CH₃COO-3), 1.14 (3H, s, CH₃-19), 1.01 (3H, d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH₃-21), 0.80 (3H, d, $J_{27-25} = 5.6$ Hz, CH₃-27), 0.80 (3H, s, CH₃-18).

¹³C RMN

δ: 36.2 (C-1), 27.4 (C-2), 72.9 (C-3), 170.3 (CH₃COO-3), 21.3 (CH₃COO-3), 38.0 (C-4), 151.4 (C-5), 113.6 (C-6), 156.5 (C-7), 37.1 (C-8), 49.3 (C-9), 38.4 (C-10), 20.4 (C-11), 38.5 (C-12), 40.6 (C-13), 49.8 (C-14), 34.5 (C-15), 80.8 (C-16), 60.5 (C-17), 17.0 (C-18), 17.9 (C-19), 41.5 (C-20), 14.6 (C-21), 109.5 (C-22), 31.3 (C-23), 28.6 (C-24), 30.2 (C-25), 66.7 (C-26), 17.0 (C-27).

(25R)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).

A una solución de la oxima **151** (360 mg, 0.74 mmol) en THF (10 mL) enfriado a 0°C fue agregado SOCl₂ (1.5 mL) en THF (3 mL). La reacción se mantuvo en agitación a 0 °C por 4 h. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se vertió en agua con hielo y se extrajo con CH₂Cl₂. Se hicieron de 7 a 8 lavados con salmuera, se separó la fase orgánica, se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró y se purificó en columna cromatográfica con gel de sílice utilizando sistema 1:9 (hexano/AcOEt). Se obtuvo 187 mg (52 %) de una sólido blanco con p.f.= 213-215

°C correspondiente a la enamida **152**. $[\alpha]_D = -122.28^\circ$ ($c = 0.0043$, CHCl_3), HRMS: m/z 486.2650 $[\text{M}+1]^+$ (calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_1\text{O}_5$, 486.3219).

IR

(cm^{-1}): 3193, 2952, 2872, 2241, 1732, 1660, 1617, 1452, 1369, 1236, 1178, 1157, 1124, 1098, 1050, 1034, 1008, 980, 948, 898, 872, 813, 787, 729, 685, 646, 617, 587, 560.

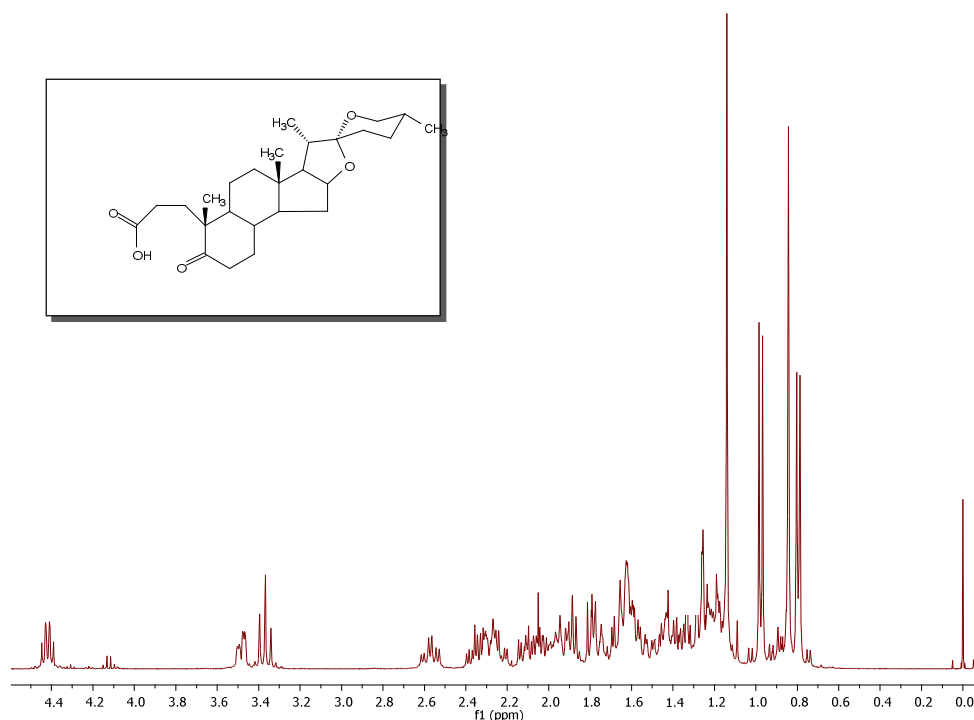
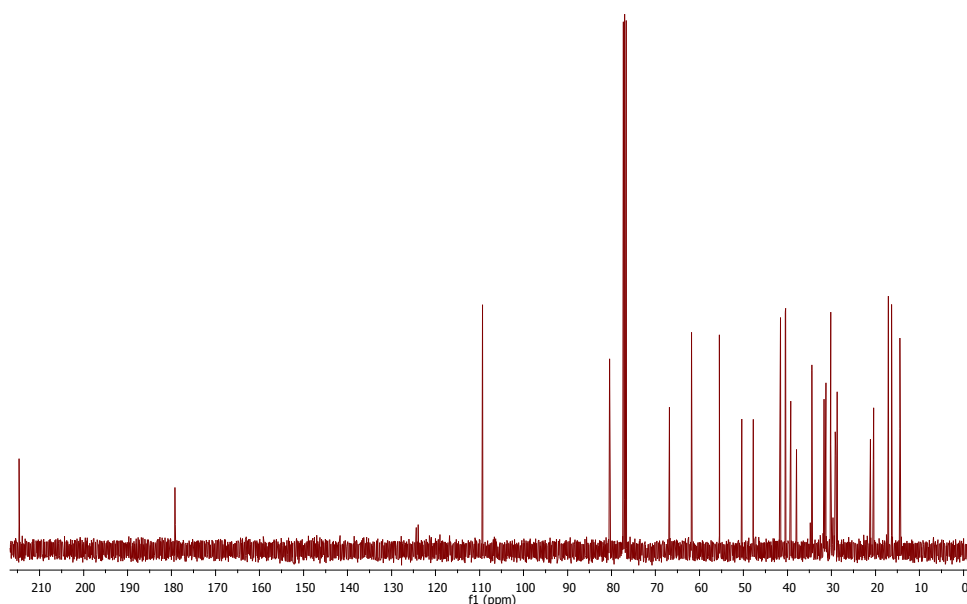
^1H RMN

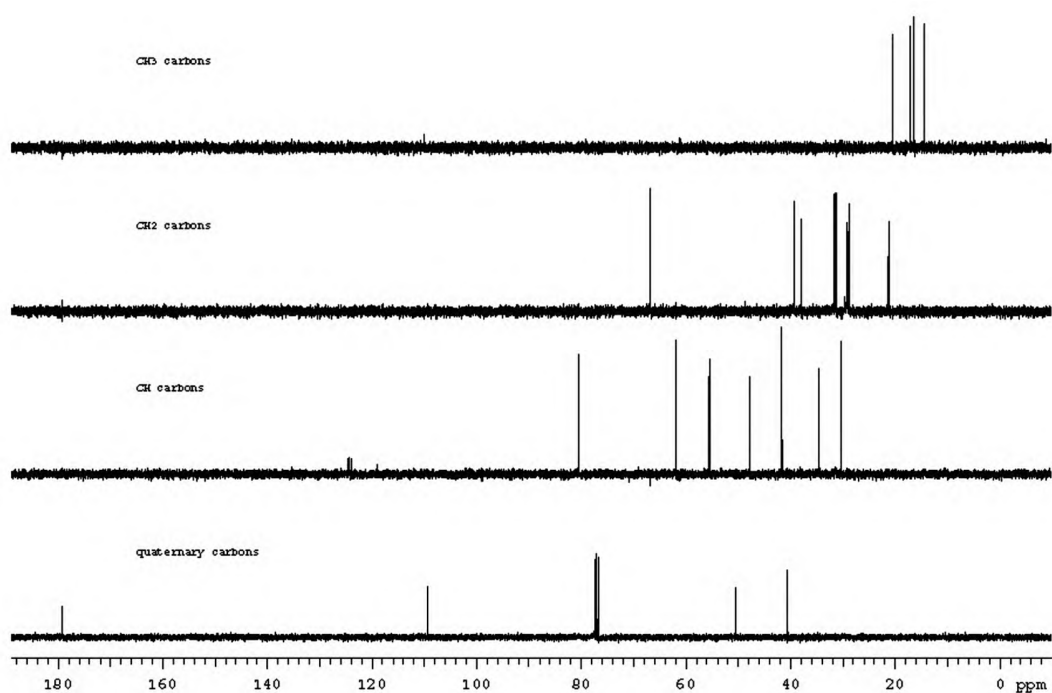
δ : 5.84 (1H, s, H-6), 5.72 (1H, sa, NH-7), 4.69 (1H, m, H-3), 4.43 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.2$ Hz, H-16), 3.47 (1H, m, H-26e), 3.42 (1H, m, H-8), 3.37 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = J_{26a-25a} = 11.2$ Hz, H-26a), 2.60 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = J_{4a-3} = 11.6$ Hz, H-4a), 2.46 (1H, m, H-4e), 2.23 (1H, m, H-15e), 2.04 (3H, s, $\text{CH}_3\text{COO-3}$), 1.29 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.98 (3H, d, $J_{21-20} = 6.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{-21}$), 0.79 (3H, d, $J_{27-25} = 6.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{-27}$), 0.78 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$).

^{13}C RMN

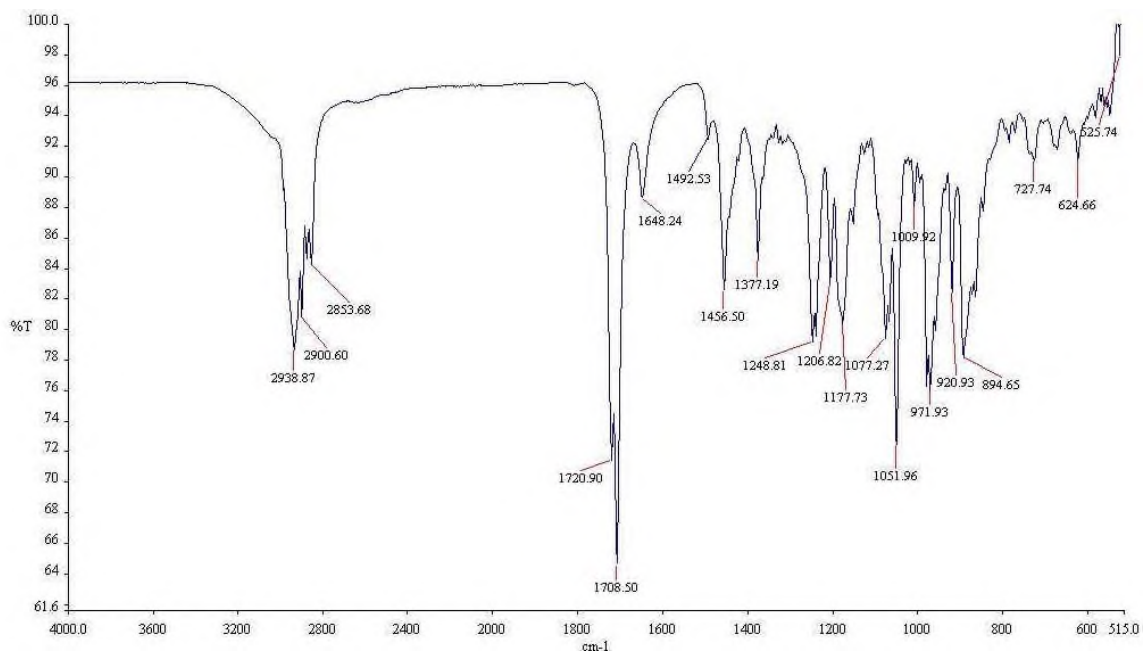
δ : 26.9 (C-1), 35.4 (C-2), 72.5 (C-3), 170.2 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$), 21.2 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$), 41.7 (C-4), 155.8 (C-5), 122.4 (C-6), 167.4 (C-7), 50.5 (C-8), 49.1 (C-9), 44.1 (C-10), 22.9 (C-11), 38.5 (C-12), 39.5 (C-13), 55.0 (C-14), 32.4 (C-15), 79.6 (C-16), 61.7 (C-17), 15.7 (C-18), 19.2 (C-19), 41.7 (C-20), 14.4 (C-21), 109.3 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.9 (C-26), 17.1 (C-27).

7. ANEXO 1. ESPECTROS DE PRODUCTOS PRINCIPALES OBTENIDOS.

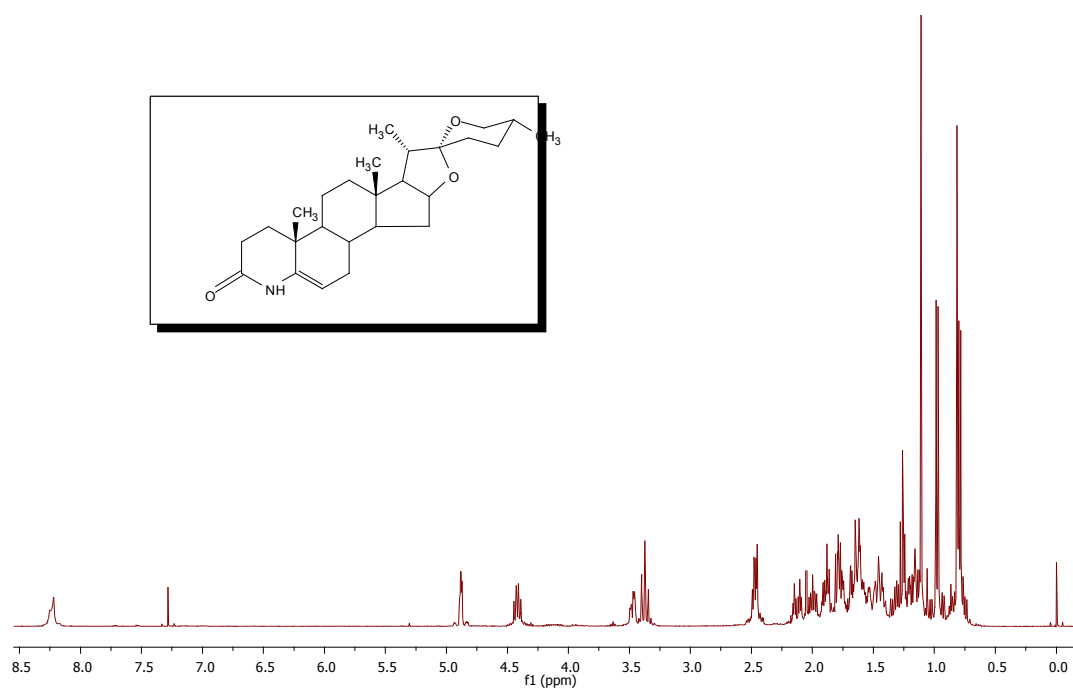
Espectro ¹H del ácido (25R)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-estriano-3-oico (144).Espectro ¹³C del ácido (25R)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-estriano-3-oico (144).



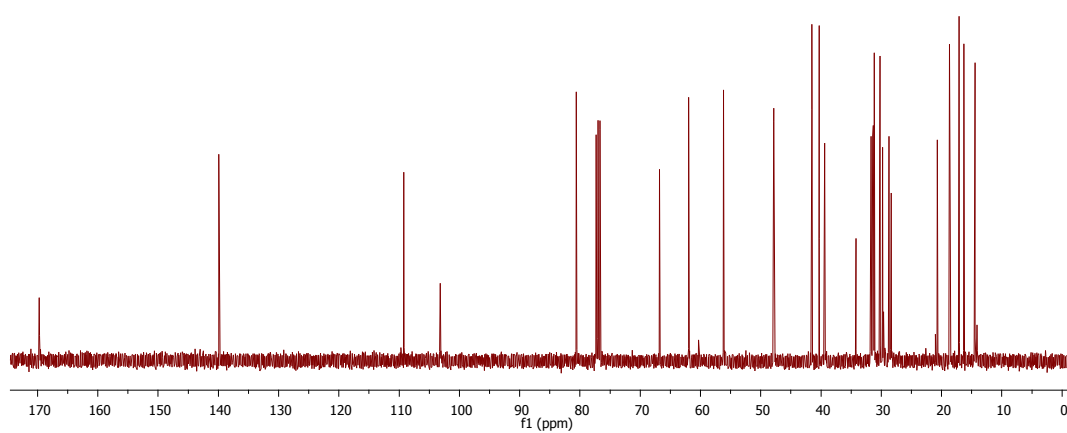
Espectro DEPT del ácido (25R)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-espirostan-3-oico (144).



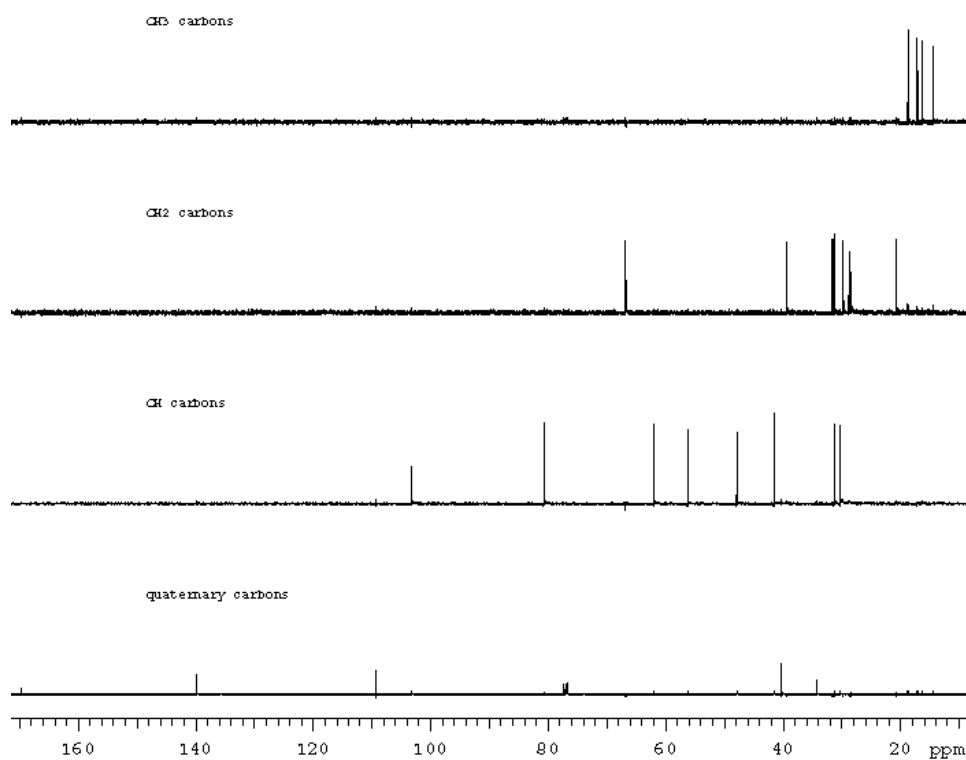
Espectro IR del ácido (25R)-5-oxo-3,5-seco-4-nor-espirostan-3-oico (144).



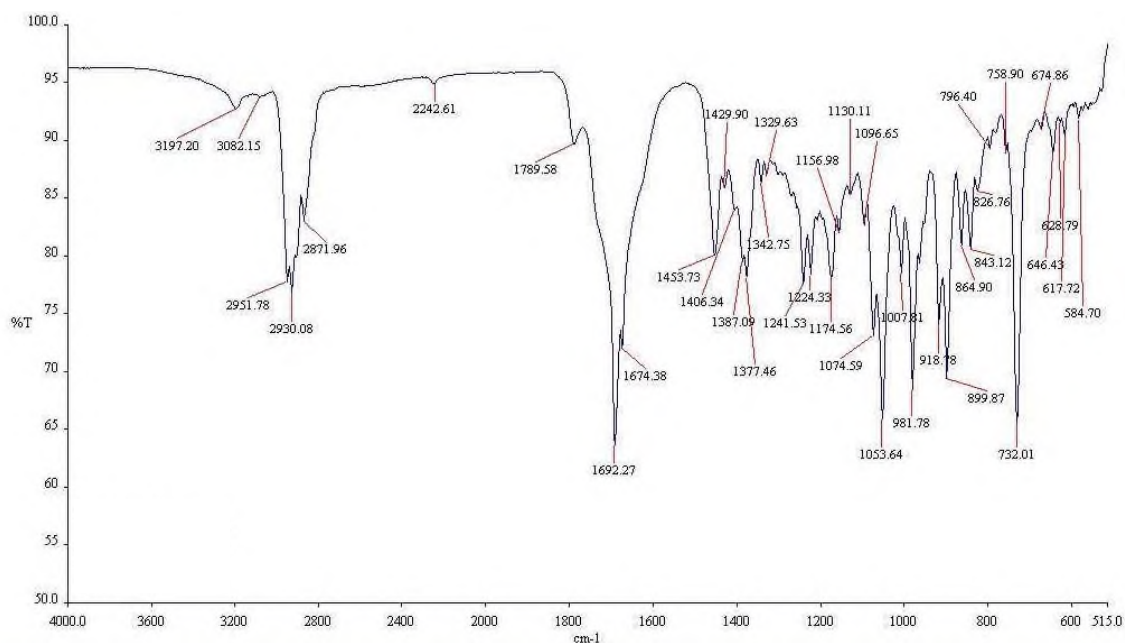
Espectro ¹H del (25R)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).



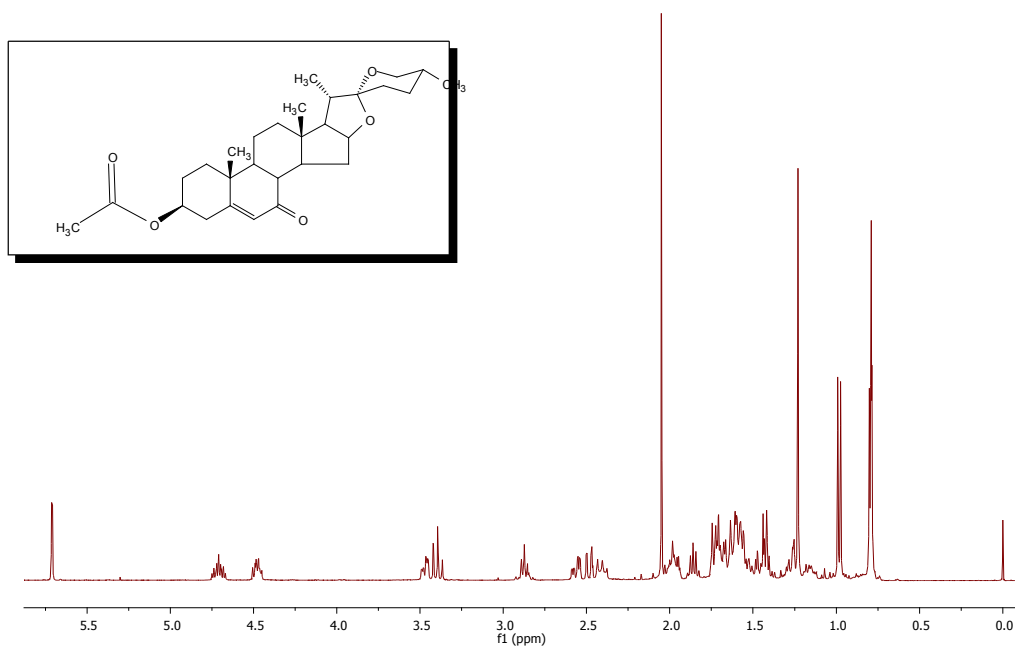
Espectro ¹³C del (25R)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).



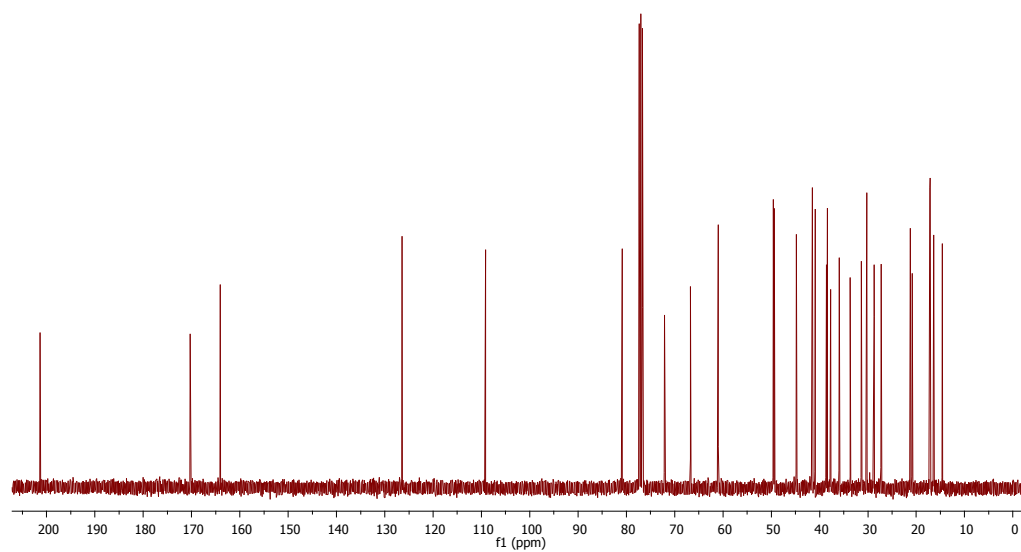
Espectro DEPT del (25R)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).



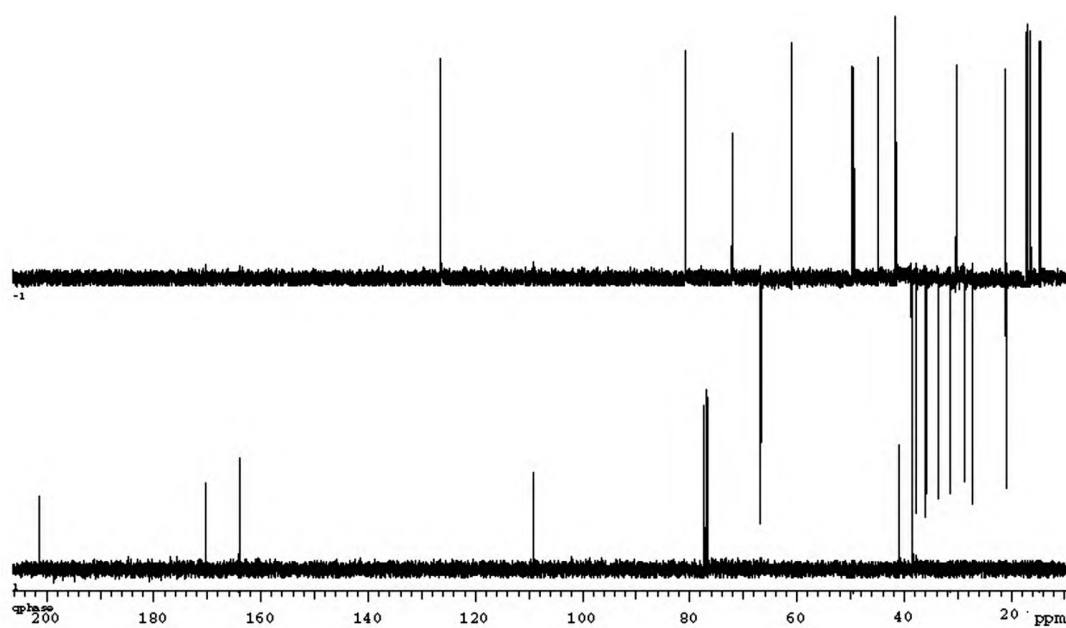
Espectro IR del (25R)-4-aza-5-spirosten-3-ona (145).



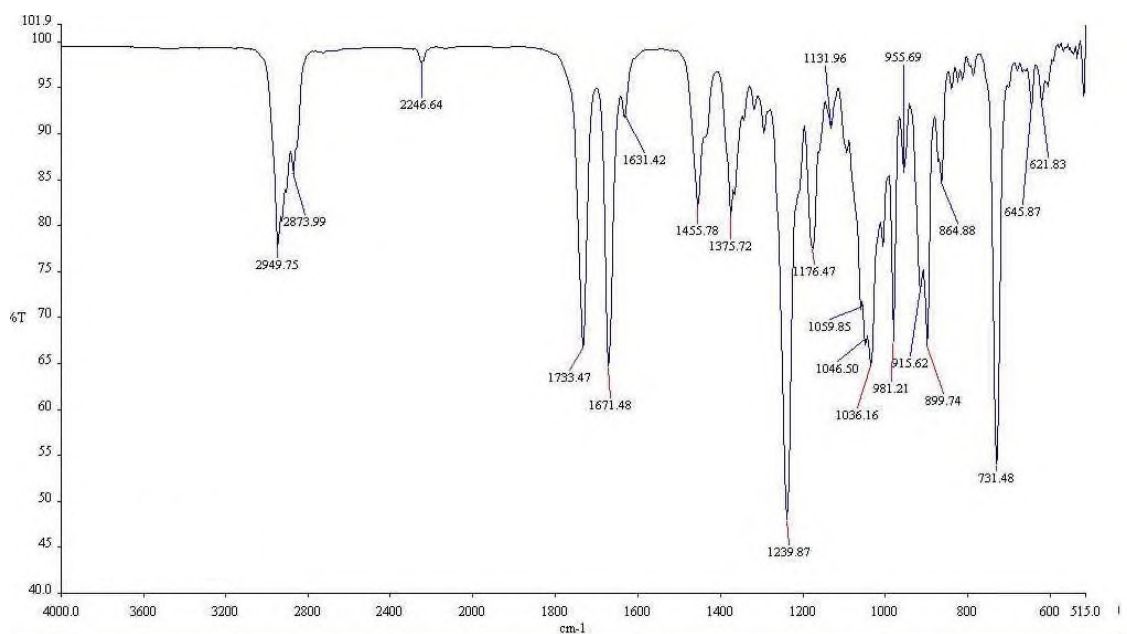
Espectro ^1H del (25*R*)-3 β -acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).



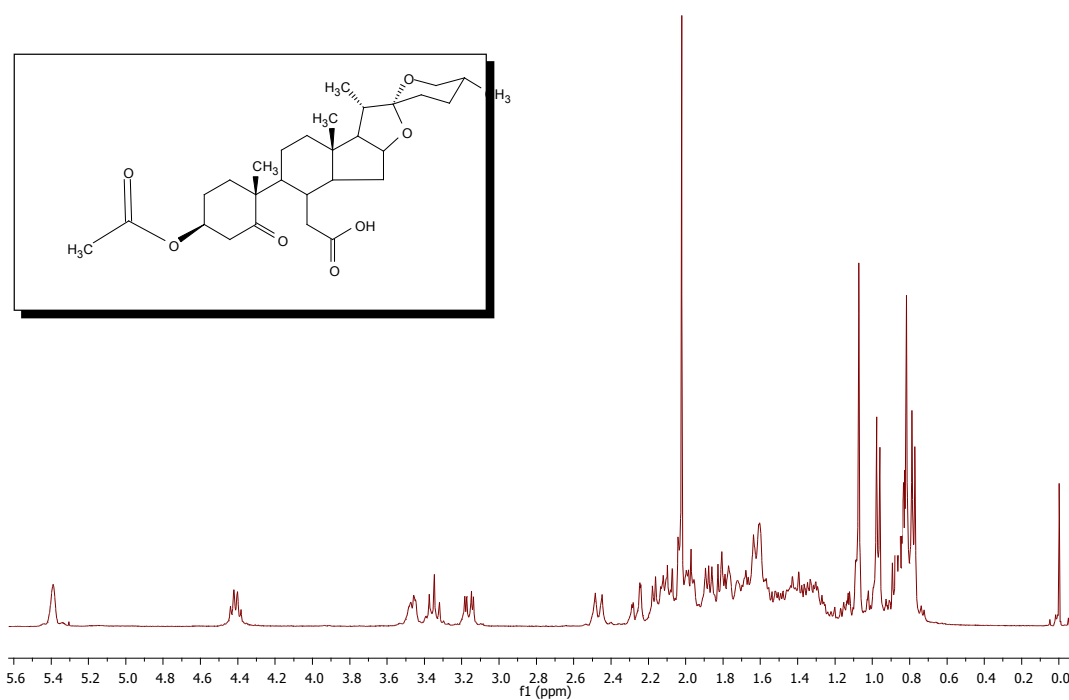
Espectro ^{13}C del (25*R*)-3 β -acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).



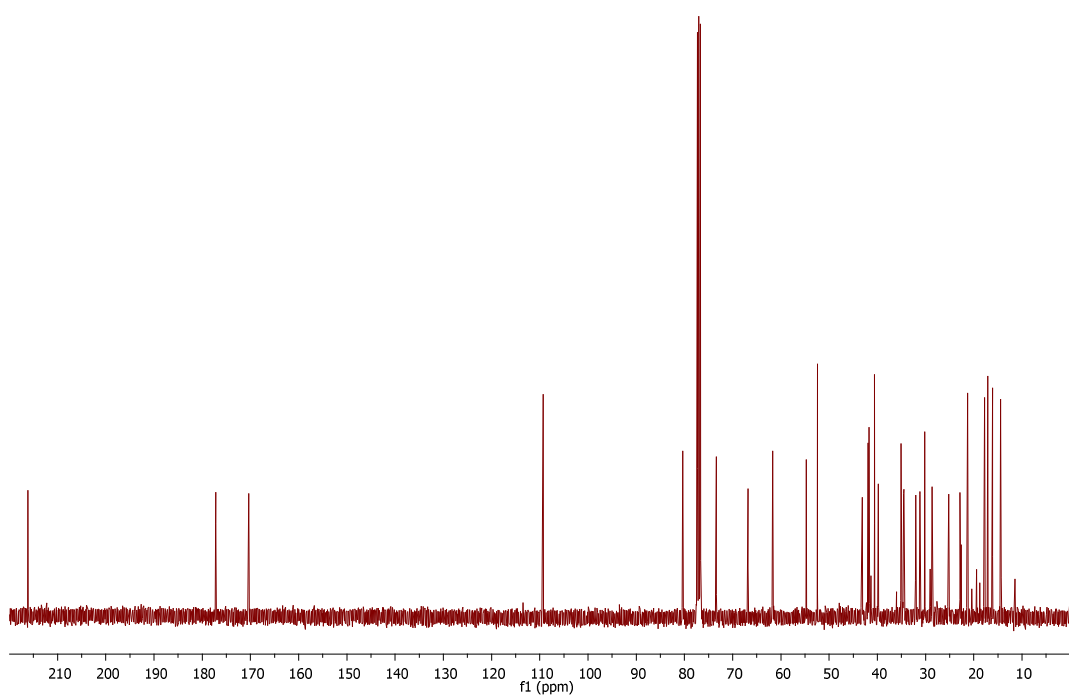
Espectro DEPT del (25R)-3β-acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).



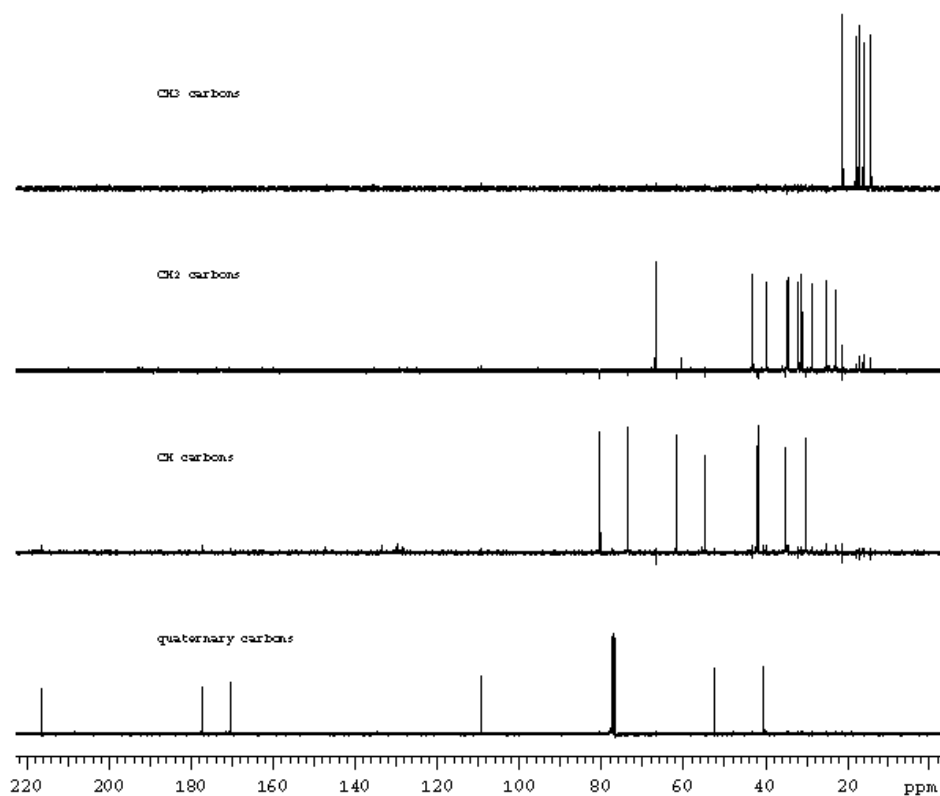
Espectro IR del (25R)-3β-acetoxi-5-spirosten-7-ona (147).



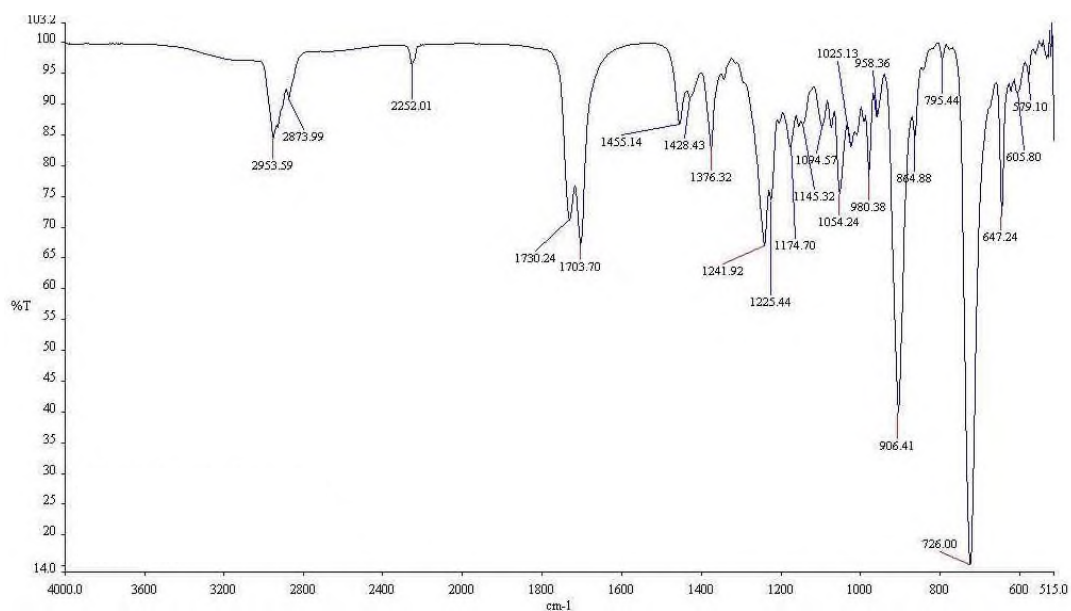
Espectro ¹H del ácido (25R)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoestriano-6-oico (148)



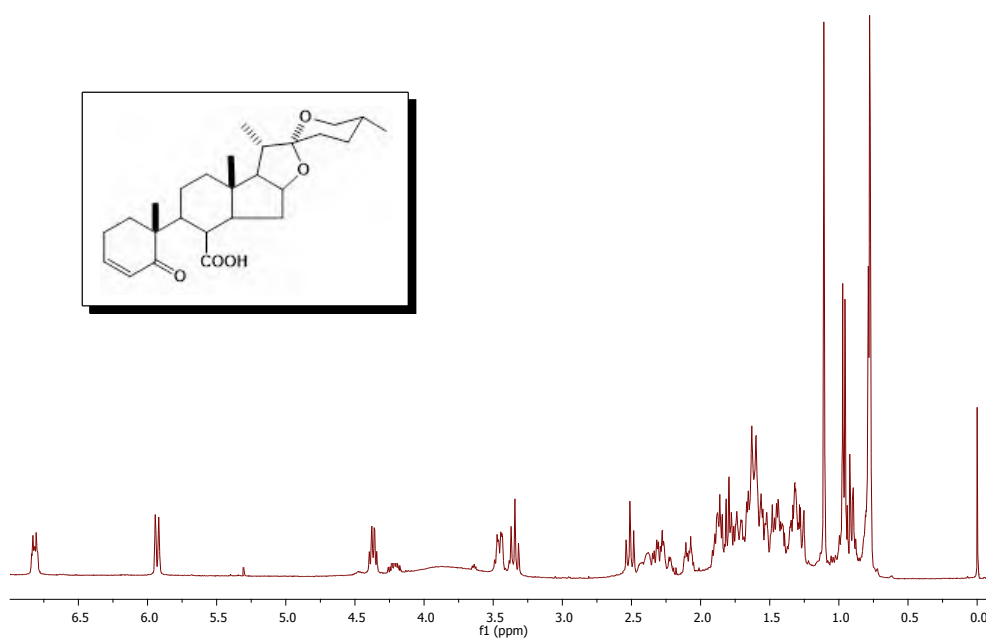
Espectro ¹³C del ácido (25R)-3β-acetoxi-5-oxo-5,6-secoestriano-6-oico (148)



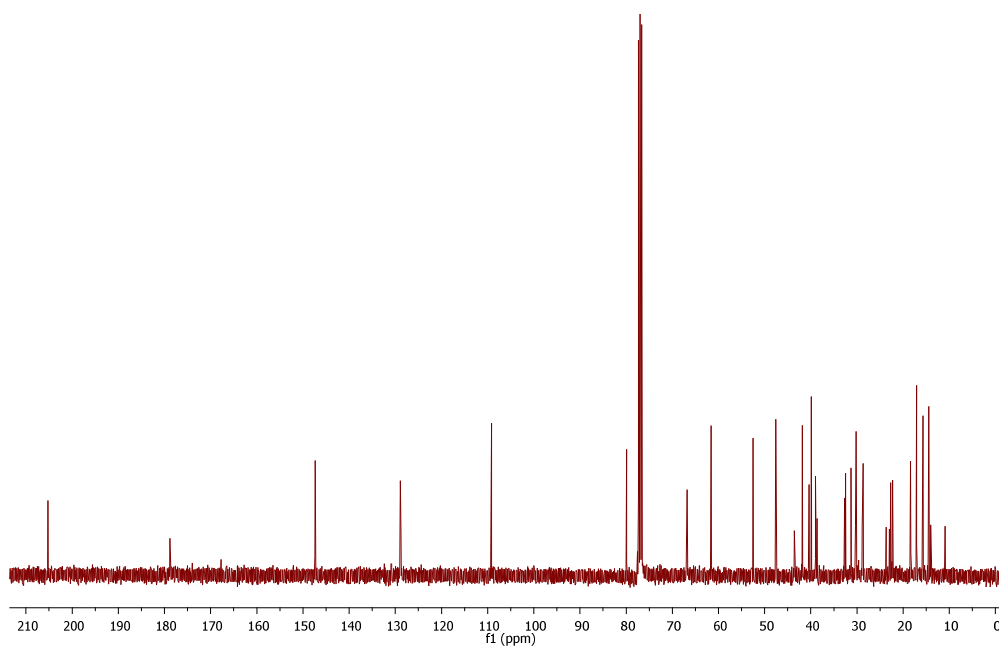
Espectro DEPT del ácido (25*R*)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).



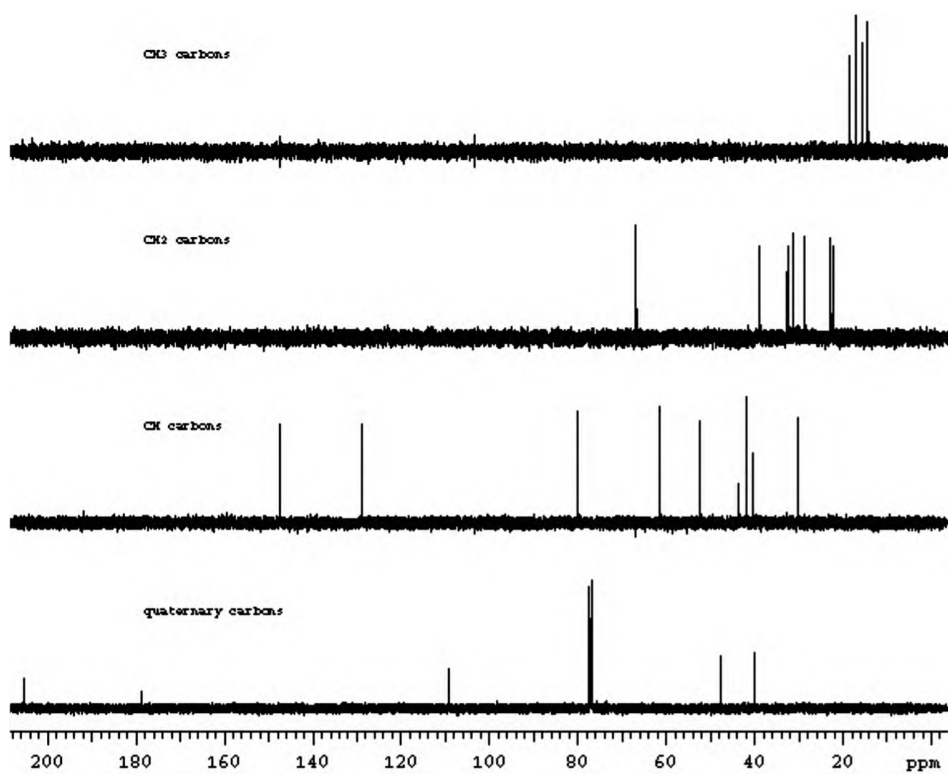
Espectro IR del ácido (25*R*)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,6-secoespirostan-6-oico (148).



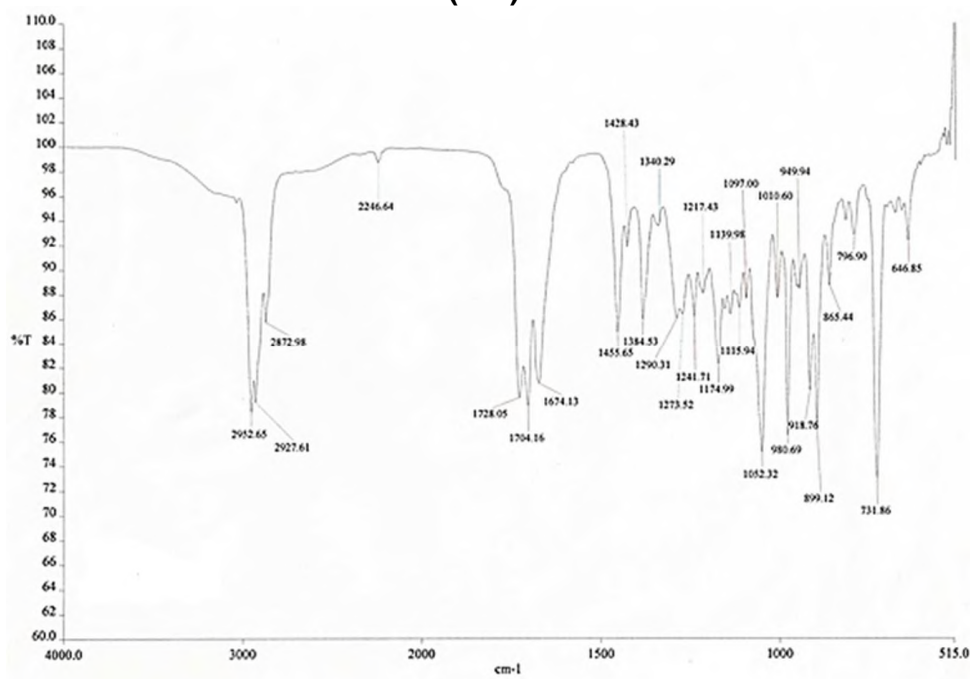
Espectro ^1H del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-epiandrosterone-7-oico (149).



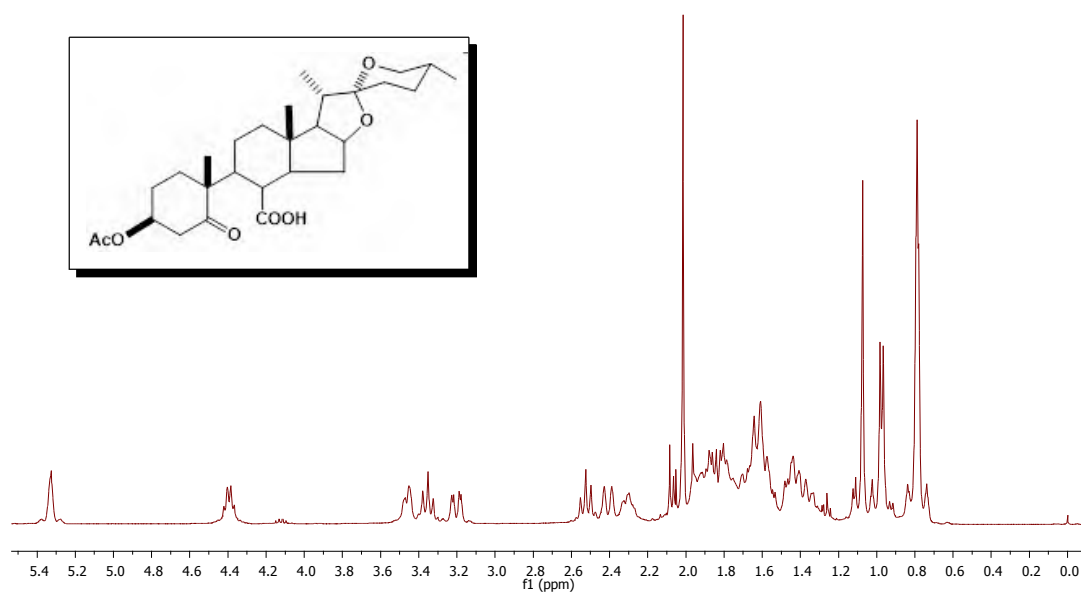
Espectro ^{13}C del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-epiandrosterone-7-oico (149).



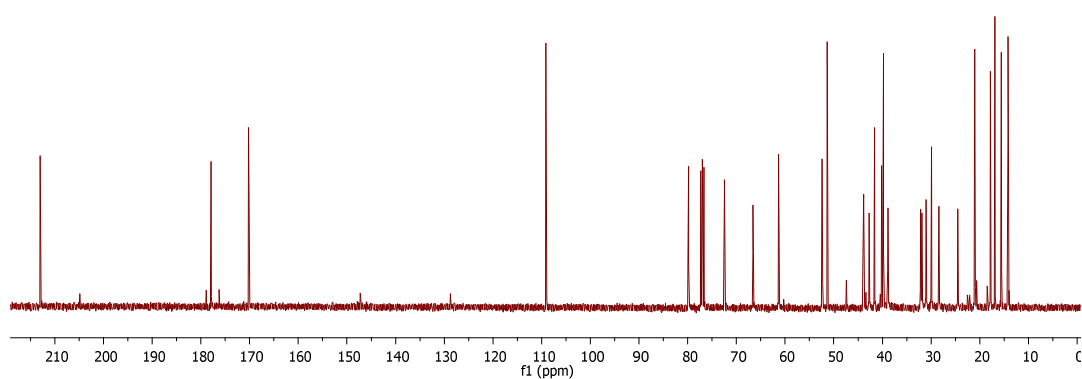
Espectro DEPT del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-epiosten-7-ico (149).



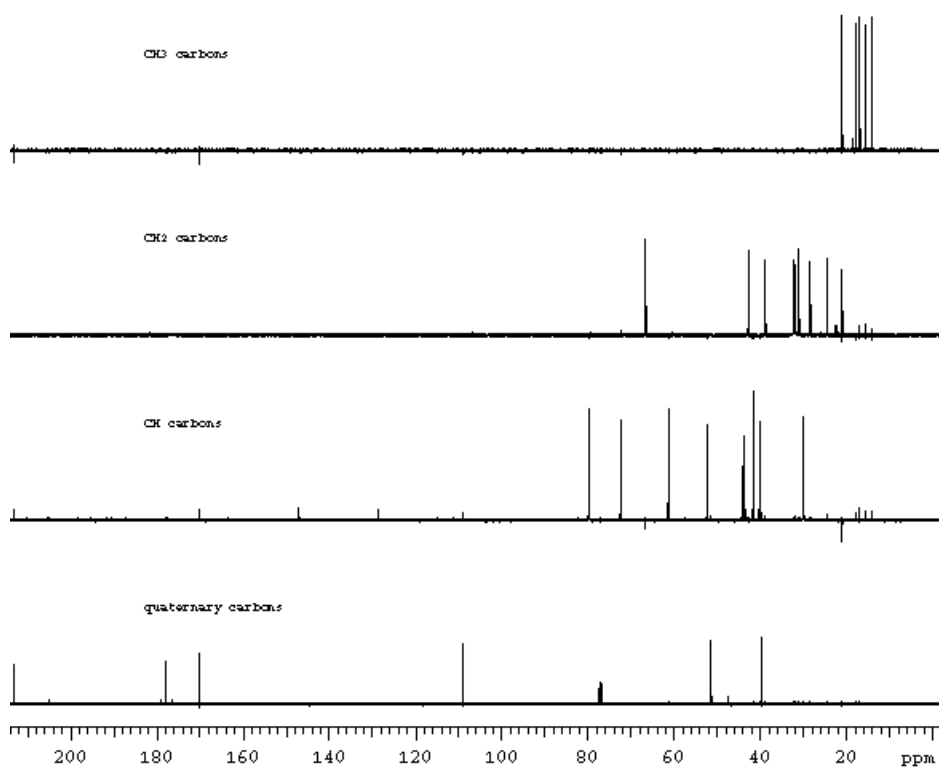
Espectro IR del ácido (25R)-5-oxo-5,7-seco-6-nor-3-epiosten-7-ico (149).



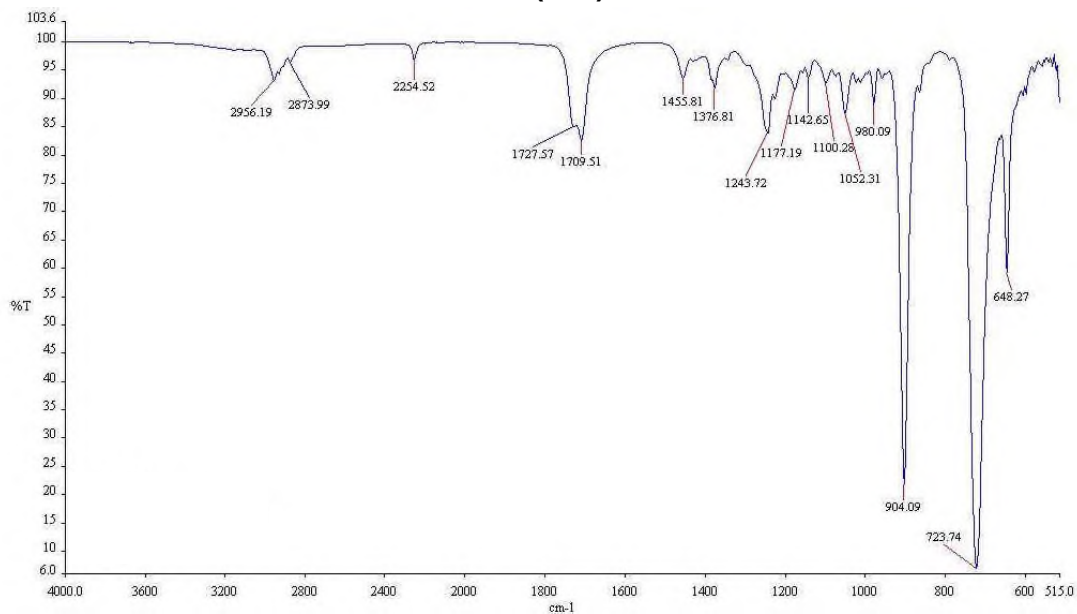
Espectro ¹H del ácido (25R)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).



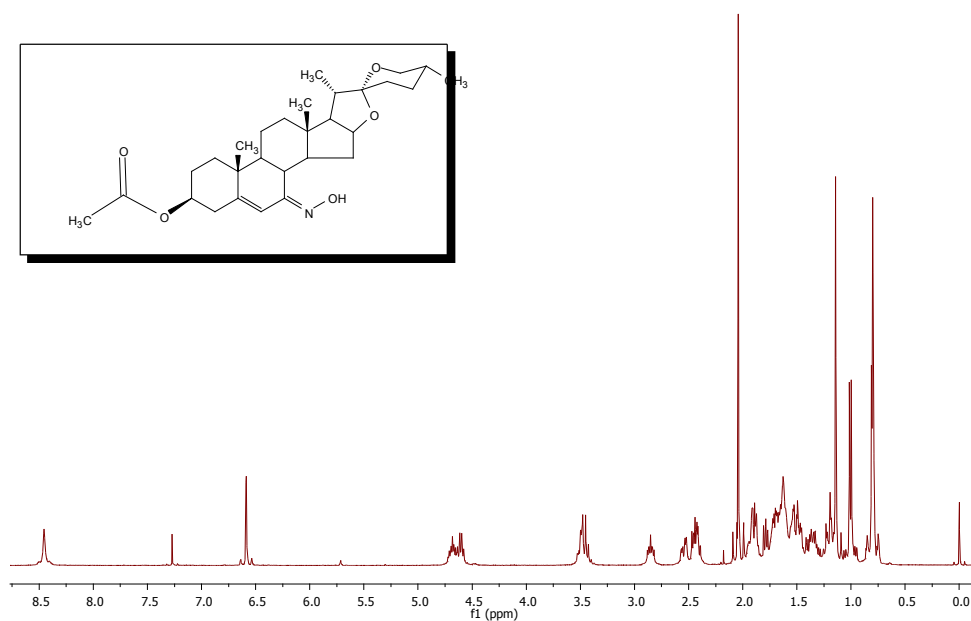
Espectro ¹³C del ácido (25R)-3β-acetoxi-5-oxo-5,7-seco-6-norespirostan-6-oico (150).



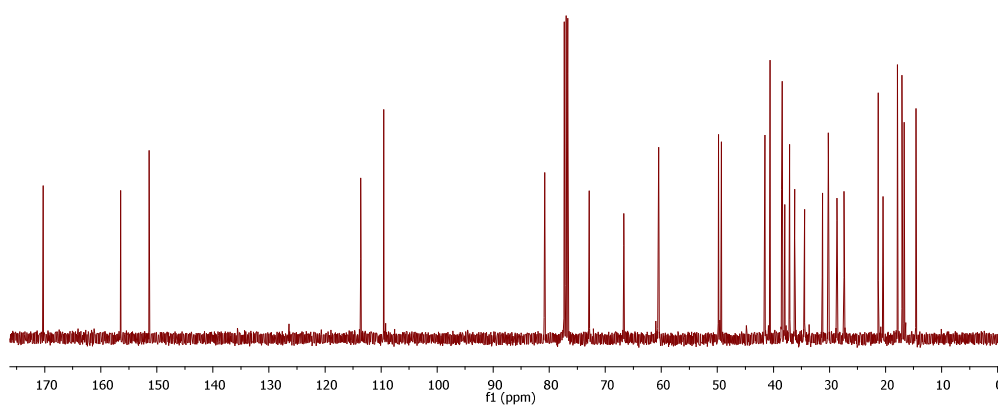
Espectro DEPT del ácido (25*R*)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,7-*seco*-6-*nore*spirostan-6-oico (150).



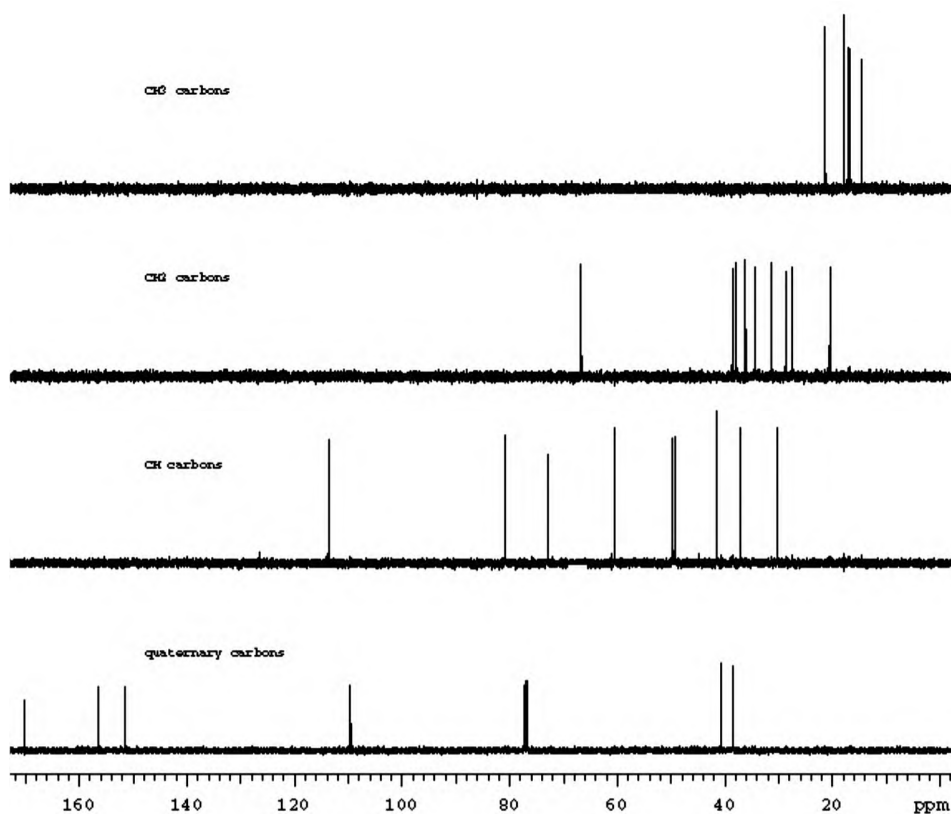
Espectro IR del ácido (25*R*)-3 β -acetoxi-5-oxo-5,7-*seco*-6-*nore*spirostan-6-oico (150).



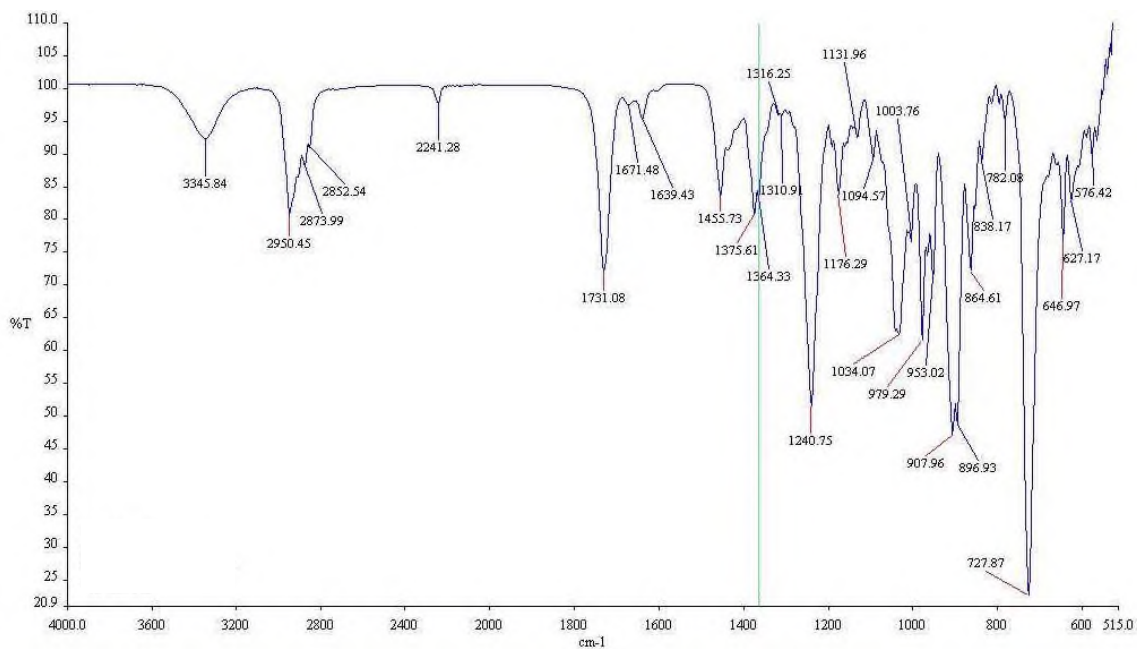
Espectro ¹H del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).



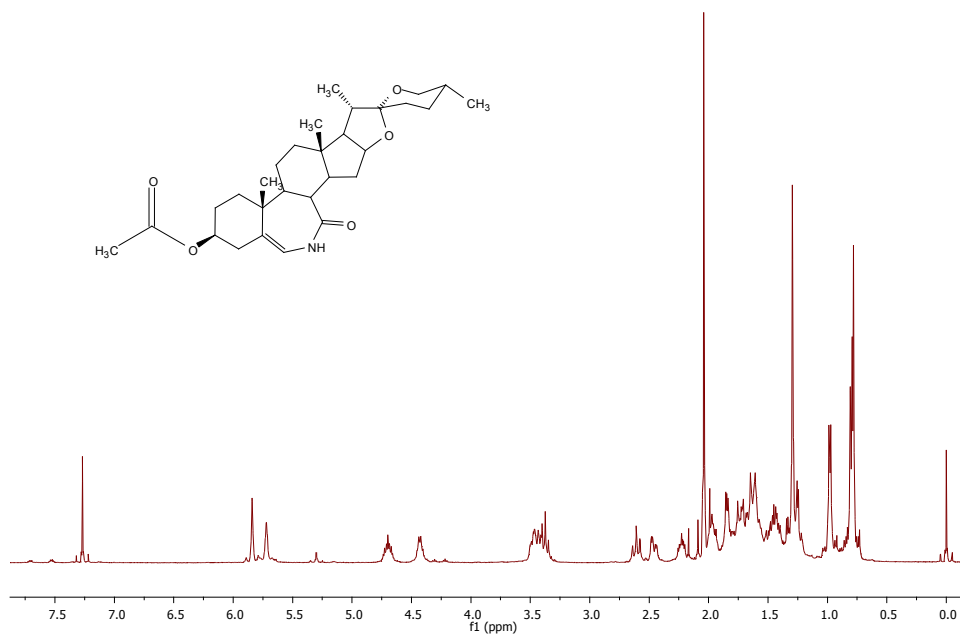
Espectro ¹³C del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).



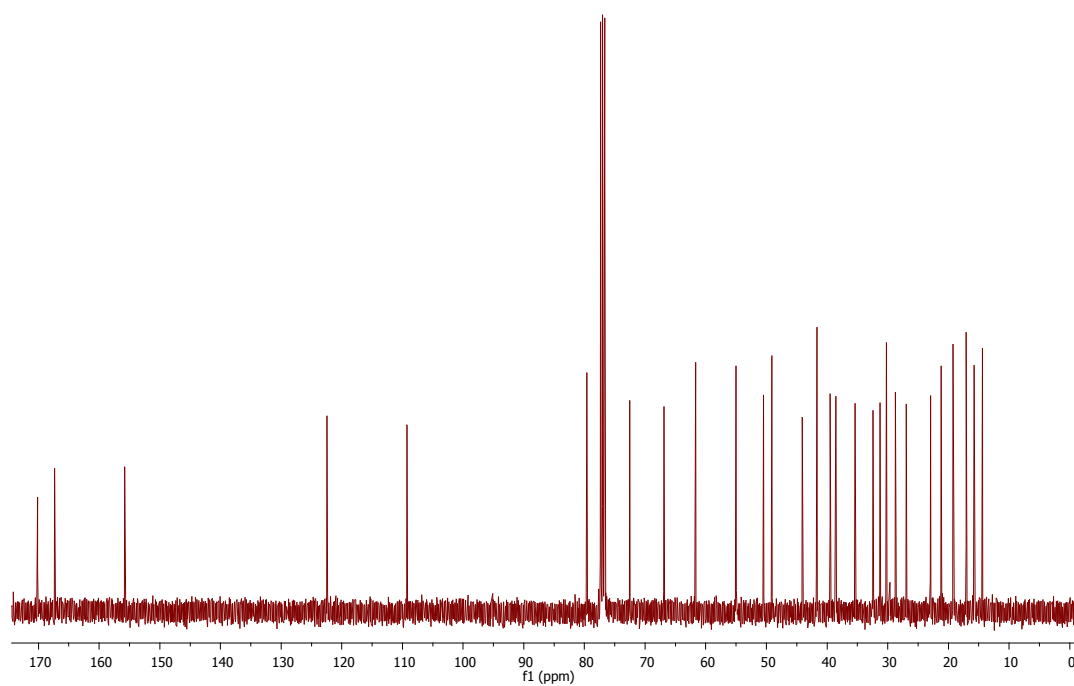
Espectro DEPT del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).



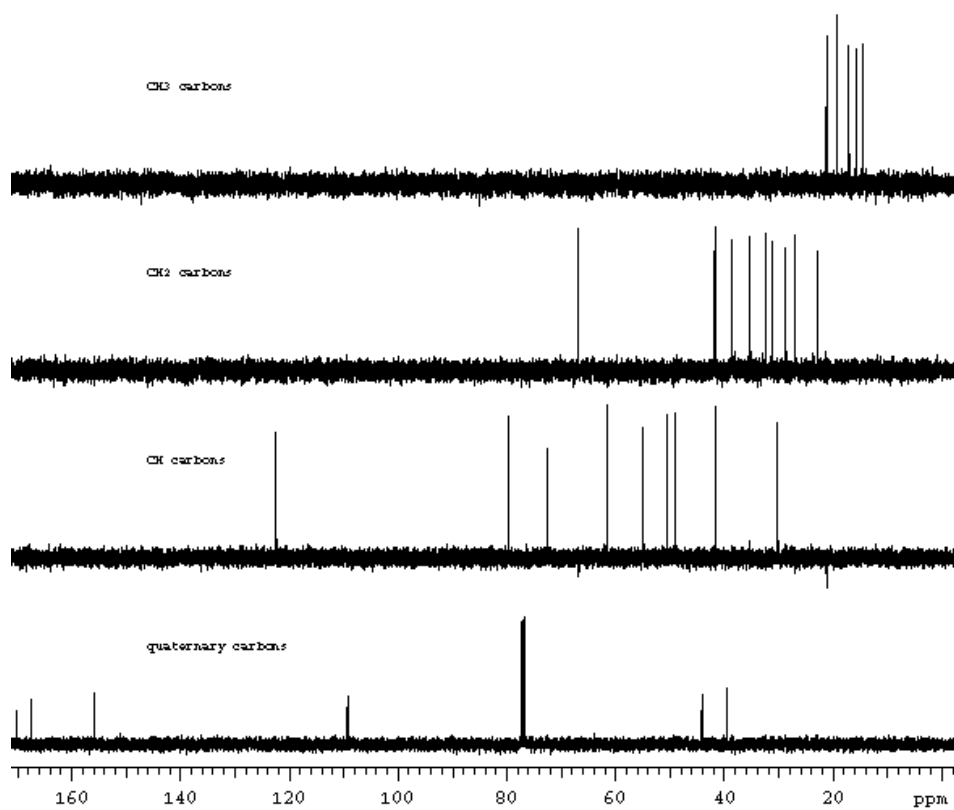
Espectro IR del acetato de (25R, 7E)-hidroximinoespirost-5-eno (151).



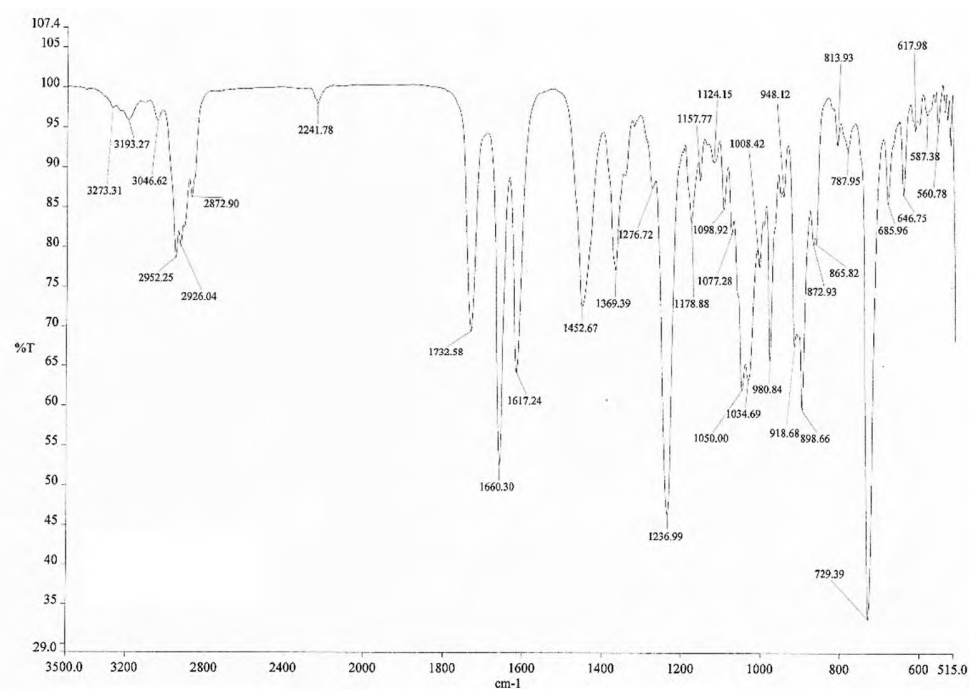
Espectro ¹H del (25R)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).



Espectro ¹³C del (25R)-3β-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).



Espectro DEPT del (25*R*)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).



Espectro IR del (25*R*)-3 β -acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (152).

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Klyne, W.; Química de los Esteroides 1^a. Ed., CECSA, **1970**.
2. Cheng, M.; Wang, Q.; Tian, Q.; Song, H.; *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 3658.
3. Jacobs, T. L.; Brownfield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 4033.
4. Ibrahim-Ouali, M.; Rocheblave, L.; *Steroids* **2008**, 73, 375.
5. Singh, H.; Jindal, D. P.; Yadav, M. R.; Kumar, M. *Prog. Med. Chem.* **1991**, 28, 233.
6. Rasmusson, G. H.; Reynolds, G. F.; Utne, T.; Jobson, R. B.; Primka, R. L.; Berman, C.; Brooks, J. R. *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 1690.
7. Schmidt, L. J.; Tindall, D. J. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2011**, 125, 32.
8. Gros, L.; Lorente, S. O.; Jimenez, C.; Yardley, V.; Rattray, L.; Wharton, H.; Little, S.; Croft, S. L.; Ruiz-Perez, L. M.; Gonzalez-Pacanowska, D.; Gilbert, I. *H.J. Med. Chem.* **2006**, 49, 6094.
9. Karnik, A. V.; Malviya, N. J.; Kulkarni, A. M.; Jadhav, B. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, 41, 891.
10. Burbiel, J.; Bracher, F. *Steroids* **2003**, 68, 587.
11. Xie, W.; Peng, H.; Kim, D.I.; Kunkel, M.; Powis, G.; Zalkow, L.H. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 5, 1073.
12. Gupta, R.; Pathak, D.; Jindal, D. P. *Eur. J. Med. Chem.* **1996**, 31, 3, 241.
13. Bakshi, R. K.; Patel, G. F.; Rasmusson, G. H.; Baginsky, W. F.; Cimis, G.; Ellsworth, K.; Chang, B.; Bull, H.; Tolman, R. L.; Harris, G. S. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 3871.
14. Frye, S. V.; Haffner, C. D.; Maloney, P. R.; Mook, R. A.; Dorsey, G. F.; Hiner, N. R.; Cribbs, C. M.; Wheeler, T. N.; Ray, J. A.; Andrews, R. C.; Batchelor, K. W.; Bramson, H. N.; Stuart, J. D.; Schweiker, S. L.; Arnold, J. V.; Groom, S.; Bickett, D. M.; Moss, L. M.; Tian, G.; Unwalla, R. J.; Lee, F. W.; Tippin, T. K.; James, M. K.; Grizzle, M. K.; Long, J. E.; Schuster, S. V. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2352.

15. Hirschmann, R.; Steinberg, N. G.; Schoenevaldt, E. F.; Paleveda, W. J.; *J. Med. Chem.* **1964**, 7, 352.
16. Rasmusson, G. H.; Reynolds, G. F.; Utne, T.; Jobson, R. B.; Primka, R. L.; Berman, C.; Brooks, J. R. *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 1690.
17. a) Liang, T.; Heiss, E. *J. Biol. Chem.* **1981**, 7998. b) Kadohama, N.; Karr, J. P.; Murphy, G. P.; Sandberg, A. A. *Cancer Res.* **1984**, 44, 4947.
18. Frye, S. V.; Haffner, C. D.; Maloney, P. R.; Mook, R. A.; Dorsey, G. F.; Hiner, N. R.; Batchelor, K. W.; Bramson, H. N.; Stuart, J. D.; Schweiker, S. L.; Arnold, J.; Groom, S.; Bickett, D. M.; Moss, L. M.; Tian, G.; Unwalla, R. J.; Lee, F. W.; Tippin, T. K.; James, M. K.; Grizzle, M. K.; Long, J. E.; Schuster, S. V. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 4313.
19. Rasmusson, G. H.; Reynolds, G. F.; Steinberg, N. G.; Walton, E.; Patel, G. F.; Liang, T.; Cascieri, M. A.; Cheung, A. H.; Brooks, J. R.; Berman, C. *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 2298.
20. Bakshi, R. K.; Patel, G. F.; Rasmusson, G. H.; Baginsky, W. F.; Cimis, G.; Ellsworth, K.; Chang, B.; Bull, H.; Tolman, R. L.; Harris, G. S. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 3871.
21. Li, X.; Singh, S. M.; Labrie, F. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 1158.
22. a) Ito, K.; Oba, H.; Sekiya, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1976**, 49, 2485. (b) Noyce, D. S.; Bachelor, F. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 4577. (c) Lukasiewicz, A. *Tetrahedron*, **1963**, 19, 1789.
23. Batchelor, K. W.; Frye, S. V.; Dorsey, Jr., G. F.; Mook, Jr., R. A. *U.S. Patent* **1996**, 5, 565, 467.
24. Yadav, M. R.; Ganesh, M. M.; Giridhar, R.; Kumar, M. *Asian J. Chem.* **2004**, 16, 2, 1027.
25. Singh, H.; Bedi, K. L. *Indian J. Chem.* **1966**, 4, 377.
26. Zhong-Xing J.; Jing-Quan Y.; Li J.; Ying-Sheng Z. *Steroids* **2005**, 70, 690.
27. Borthakur, M.; Boruah, R. C. *Steroids* **2008**, 73, 637.
28. Alonso, F.; Acevedo, S. L.; Bruttomesso, A. C.; Ramírez, J. A. *Steroids* **2008**, 73, 1270.
29. Jacobs, T. L.; Brownfield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 4033.

30. Lettré, H.; Knof, L. *Chem. Ber.* **1960**, 93, 2860.
31. Brown, L.; Lyall, W. J. S.; Suckling, C. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* **1987**, 595.
32. Frye, S. V.; Haffner, C. D.; Maloney, P. R.; Mook, R. A.; Dorsey, G. F.; Hiner, R. N.; Batchelor, K. W.; Bramson, H. N.; Stuart, J. D.; Schweiker, S. L.; Arnold, J.; Bickett, D. M.; Moss, M. L.; Tian, G.; Unwalla, R. J.; Lee, F. W.; Tippin, T. K.; James, M. K.; Grizzle, M. K.; Long, J. E.; Schuster, S. V. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 4313.
33. Frye, S. V.; Haffner, C. D.; Maloney, P. R.; Mook, R. A.; Dorsey, G. F.; Hiner, R. N.; Cribs, C. M.; Wheeler, T. N.; Ray, J. A.; Andrews, R. C.; Batchelor, K. W.; Bramson, H. N.; Stuart, J. D.; Schweiker, S. L.; Arnold, J.; Croom, S.; Bickett, D. M.; Moss, M. L.; Tian, G.; Unwalla, R. J.; Lee, F. W.; Tippin, T. K.; James, M. K.; Grizzle, M. K.; Long, J. E.; Schuster, S. V. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2352.
34. Haffner, C. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4039.
35. Kasal, A.; Matyáš, L.; Budešinský, M. *Tetrahedron* **2005**, 61, 2269.
36. Del Río, R. E.; Wang, B.; Achab, S.; Bohe, L. *Org. Lett.* **2007**, 9, 12, 2265.
37. Martínez, M. D.; Edelsztejn, V. C.; Duran, F. J.; Di Chenna, P. H.; Burton, G. *Steroids* **2013**, 78, 1, 34.
38. F. J. Duran, F. J.; Ghini, A. A.; Coirini, H.; Burton, G. *Tetrahedron* **2006**, 62, 4762.
39. Koutsourea, A. I.; Arsenou, E. S.; Fousteris, M. A.; Nikolaropoulos, S. S. *Steroids* **2003**, 68, 659.
40. Singh, H.; Gupta, S. K.; Padmanabhan, D. P.; Bhardwaj, T. R. *Indian J. Chem.* **1977**, 15B, 101.
41. Regan, B. M.; Hayes, F. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 634.
42. Krstić, N. M.; Bjelaković, M. S.; Dabović, M. M.; Lorenc, L. B.; Pavlović, V. D. *J. Serb. Chem. Soc.* **2004**, 69, 6, 413.
43. Gaspić, K.; Sakac, Z.; Arcson, O.; Stanković, S.; Ribar, B.; Szilagyi, L.; Miljković, D. *J. Serb. Chem. Soc.* **1991**, 56, 699.
44. Ibrahim, O. M. *Steroids* **2008**, 73, 775.

-
45. Gioiello, A.; Sabbatini, P.; Rosatelli, E.; Macchiarulo, A.; Pellicciari, R. *Tetrahedron* **2011**, 67, 1924.
 46. Parish, E. J.; Honda, H.; Chitrakorn, S.; Livant, P. *Lipids* **1991**, 26, 8, 675.
 47. Rodriguez, M. A. M. *Tesis: Síntesis de esteroides nitrogenados precursores de antitumorales a partir de diosgenina*, México **2010**.
 48. Lemieux, R. U.; Von Rudloff, E. V. *Can. J. Chem.* **1955**, 33, 11, 1701.
 49. a) Bunton, C. A.; Shiner, V. J. *J. Chem. Soc.* **1960**, 1593. b) Carey, F. A.; Sundberg, R. J. *Advanced Organic Chemistry Part B: Reactions and Synthesis* 4th ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York **2001**.
 50. S'olaja, B. A.; Milic', D. R.; Dos'en-Micóvic', L. I. *Steroids* **1994**, 59, 330.
 51. a) Wiberg, K. B. *Oxidation in Organic Chemistry*, Academic Press Inc.: New York, N. Y. **1965**. b) Sisler, H. H.; Accountius, C. E. *J. Amer. Chem. Soc.* **1948**, 70, 3827. c) Collins, J. C.; Hess, W. W.; Frank, F. J. *Tetrahedron Lett.* **1968**, 3363. d) Wiberg, K. B.; Nielson, S. D. *J. Org. Chem.* **1964**, 19, 3353.
 52. a) E. J. Corey, E. J.; Sneen, R. H. *J. Amer. Chem. Soc.* **1956**, 78, 6269. b) Turner, A. B.; Ringold, H. L. *J. Chem. Soc.* **1967**, 1, 720.
 53. Perrin, P. D.; Armarego, W. D. F. *Purification of Laboratory Chemicals* 3^a ed. Pergamon Press: Oxford **1989**.
 54. Kaufman, S.; Rosenkranz, G. *J. Org. Chem.* **1978**, 70, 3502.
 55. Marker, R. E.; Tsukamoto, T.; Turner, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62, 2525.
 56. Singh, H.; Sharma, P. P.; Mathur, R. B. *Indian J. Chem.* **1973**, 11, 1254.
 57. Rudloff, E. V. *Can. J. Chem.* **1965**, 43, 1784.