

153



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS DE NUEVOS DERIVADOS DE DIOSGENINA Y TIGOGENINA.

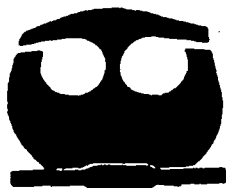
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

L U I S R E N E S A N T O S R U B I O



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES FACULTAD DE QUIMICA

2002

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente: MA. del Carmen Rivera Muñoz

Vocal: Santiago Capella Viscaino

Secretario: Adolfo García Osuna

1er suplente: Lucía Hernández Garcíadiego

2do suplente: Gergina Artemisa Duarte Lisci

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 126 Departamento de Farmacia Conjunto E,
Facultad De Química, Ciudad Universitaria México, D.F.

Sustentante: Santos Rubio Luis René



Asesor del tema: Dra. MA. del Carmen Rivera Muñoz



Busca siempre la verdad

Solo aquel que tiene profundos sentimientos puede tener profundos pensamientos. *Hume*

Estar muy alegre: el que esta muy alegre debe ser un buen hombre, pero quizá no sea tan inteligente, aunque alcanza aquello a que aspira el más inteligente con toda la fuerza de su inteligencia que es la felicidad y tan solo en eso es infinitamente superior a los demás. *Friedrich Nietzsche*

Conocemos la verdad no solo por la razón sino también por el corazón. *Blas Pascal*

El corazón tiene razones que la propia razón nunca entenderá.
Blas Pascal

DEDICATORIAS

Este trabajo se realizó en el laboratorio 126 del Departamento de Farmacia, edificio E de la Facultad de Química, Ciudad Universitaria, México D.F. con el apoyo económico de una beca del instituto Biosen y el seminario " Dr. José Giral Pereira" coordinado por el Dr. Francisco Giral González, a quien agradezco su ayuda.

Este trabajo eta dedicado con un profundo agradecimiento a todas aquellas personas que colaboraron conmigo, y me ayudaron en alguna etapa de mi vida especialmente a mi padre, mi madre a mis hermanos y a la Dra. Carmen quien me brindo su ayuda en la realización de este trabajo.

Quisiera agradecer a todos mis amigos y compañeros que estuvieron conmigo y a todas aquellas personas que compartieron unos momentos de su vida conmigo.

Como se que es muy dificil nombrar a todos ellos y por el temor de no incluir a unos y excluir a otros he tomado la necesidad de abrir un espacio en blanco para abarcar a todas aquellas personas que así lo consideren.....

.....gracias.

ABREVIATURAS

En el presente trabajo se han utilizado las siguientes abreviaturas:

ccf: cromatografía en capa fina

°C: grados centígrados

cm: centímetros

ml: mililitros

mm: milímetros

Pf: punto de fusión

g: Gramos

hrs: Horas

pH: potencial de hidrógeno

IR: Infrarrojo

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

EM: Espectro de Masas

FAB (*siglas en ingles*) Bombardeo rápido de átomos

d: dextrógiro

l: levógiro

Rf: distancia del punto de aplicación al centro de la mancha/
distancia del punto de aplicación a la frontera del
disolvente

CHCl₃ :Cloroformo

AcOEt: Acetato de Etilo

Hex : Hexano

MeOH : Metanol

A: Ácido Bencílico

D: Diosgenina

T : Tigogenina

R : Mezcla de reacción

↕ : calentar a reflujo

Ⓟ : transferencia de un protón

F: señal fuerte

M: señal mediana

D: señal débil

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Este trabajo es el primero de una serie de síntesis que se desea realizar para obtener bencilatos de sapogeninas esteroidales basándose en lo descrito en la literatura (1) en la cual se producen bencilatos sencillos como el de alilo cuya técnica sirvió de base para el presente trabajo de tesis.

El grupo funcional que se espera obtener es un éster, por una esterificación sencilla, pero debido a las estructuras de los reactivos, esta reacción está muy impedida estéricamente, además de estar limitada por la poca cantidad de reactivos con que se cuenta para su obtención.

Se pretende formar tres compuestos como lo son el Bencilato de Diosgenina, el Bencilato de Tigogenina y el Difenil Acetato de Tigogenina, derivados esteroidales que no han sido reportados hasta este momento al final se pretende reportar los espectros de Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno y Espectrometría de Masas por el método de bombardeo rápido de átomos.

CAPÍTULO II

PARTE TEÓRICA

PARTE TEÓRICA

GENERALIDADES DE LAS SAPONINAS

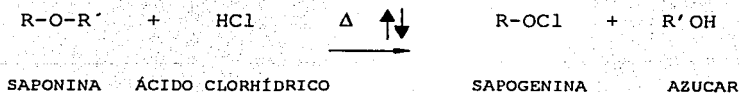
Las saponinas atrajeron la atención de diversos y nutridos grupos de científicos por causa de los efectos anestésicos locales encontrados en el sitio de aplicación, esto originó que se incrementara en forma vertiginosa el aislamiento de estos compuestos.

El término "*saponina*" proviene del latín (*sapo = jabón*) y fue empleado por vez primera en el año de 1811 por Bucholtz(21) para designar a ciertas sustancias de carácter heterocíclico, cuya principal virtud es la formación de espuma al ser agitadas con agua.

En México los aztecas designaron a las saponinas con el nombre de "*amolli*" utilizadas para lavar sus telas ya que no alteraban los colores de las mismas y observaron una clara distinción entre estas sustancias designándolas con el nombre de "*amoles bravos*" para aquellas que producían una picazón en la piel y "*amoles mansos*" a las que no producían ningún efecto cutáneo.(21)

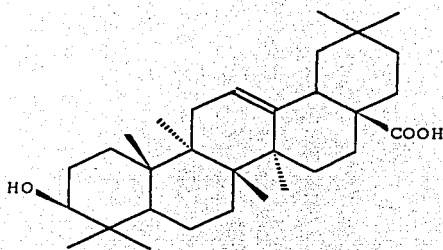
Las saponinas son glucósidos formados por una aglicona y diversos azúcares; la saponina químicamente están formados por el derivado del ciclopentanoperhidrofenantreno, o ciclohexanoperhidrofenantreno que sirve de estructura base; pueden presentar dobles enlaces o algunos grupos orgánicos importantes como cetonas, aldehidos, éter entre otros, presentándose en diferentes posiciones en el anillo esteroidal. El azúcar o los azucars que se unen a la aglicona lo hacen mediante la unión de enlaces glucosídicos en la posición 3 de la cadena esteroidal. Los azúcares que pueden estar presentes son las pentosas especialmente *d* y *l* arabinosa, *d*-xilosa, *l*-ramnosa, también hay hexosas como la *d*-glucosa y *d*-galactosa y los ácido *d*-glucorónico y *d*-galacturónico. (8)

Mediante, la hidrólisis las saponinas liberan carbohidratos y una aglicona la cual se le conoce con el nombre de sapogenina: esto se ilustra mejor mediante esta reacción.

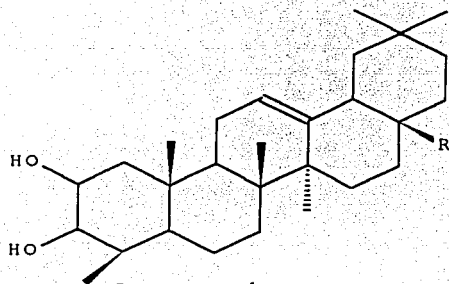


La diferencia entre una saponina y una sapogenina se ilustra mejor con los siguientes ejemplos; (6,8,21,23)

SAPOGENINAS



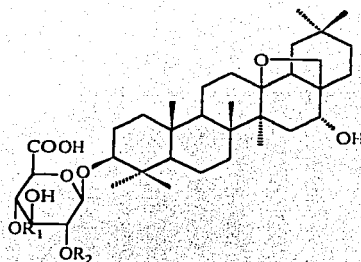
ÁCIDO OLEANÓLICO



R = COOH ÁCIDO MEDICAGÉNICO

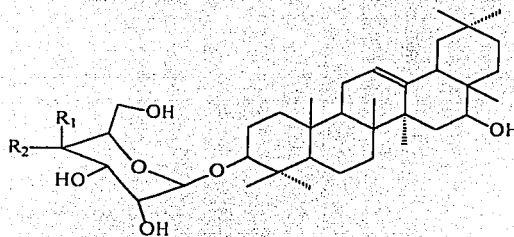
R = CH₂OH HEDERAGENINA

SAPONINAS



1 R1 = β -DGL-(1-3)- β -DGAL; R2 = α -LRha

2 R1 = α -LRha-(1-4)-O- α -LRha-(1-4)-[O- α -LRha-(1-2)]-D-GLC; R2 = H



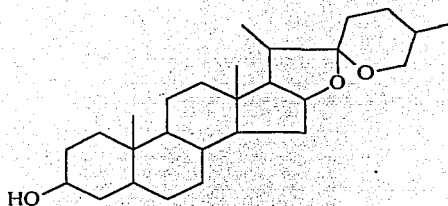
1 R1=H, R2=OH

2 R1=OH, R2=H

Se observa en los ejemplos anteriores que la ausencia o presencia de azúcares en la posición 3 hace la diferencia entre saponinas y sapogeninas y ambas también comparten una característica en común, que es la presencia del anillo del perhidrofenantreno.

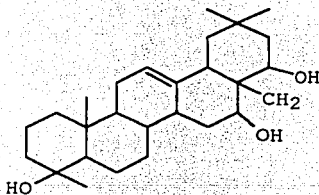
Después de la hidrólisis la aglicona (sapogenina) presenta un esqueleto tipo:

esteroidal tipo colano como la Esmilagenina



a) Esmilagenina

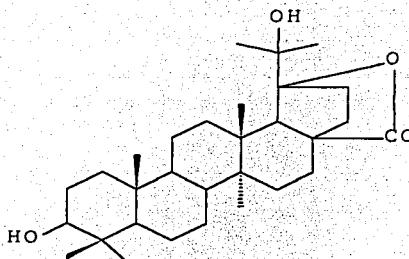
tipo triterpeno como la chichipegénina



b) Chichipegénina

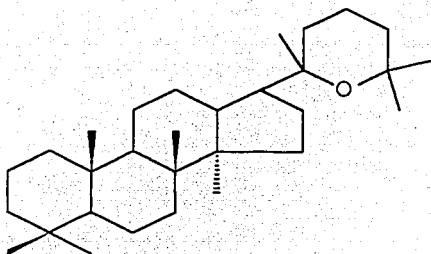
Entre los triterpenos podemos tener esqueletos tipo lupeol

como la Estallogenina



c) Estallogenina

Tipo tetracíclico como el panaxodiol

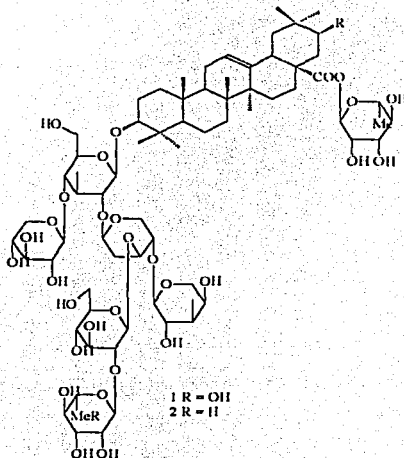


d) Panaxodiol

Las saponinas se encuentran en la naturaleza en forma de glucósidos, son en su mayoría amorfas, producen espuma al ser agitadas con agua, reducen fuertemente la tensión superficial puesto que pueden estabilizar las emulsiones grasosas, por lo general son incoloras, de difícil cristalización, de sabor acre o amargo el cual es persistente, son solubles en agua, en alcohol parcialmente, y en disolventes orgánicos como el cloroformo la disolución es total. (8,22,23,24,)

Los efectos biológicos causados por las saponinas, se deben a que presentan la capacidad de disminuir la tensión superficial, además de presentar una gran habilidad para formar complejos con esteroides y proteínas, pueden producir irritación en la piel, además de presentar la peculiaridad de hemolizar los glóbulos rojos de la sangre, son tóxicas para los peces y anfibios.

El siguiente ejemplo es de una nueva saponina encontrada en una planta medicinal, (*Mimosa tenuiflora*) que es usada contra quemaduras y como antiinflamatorio (16)



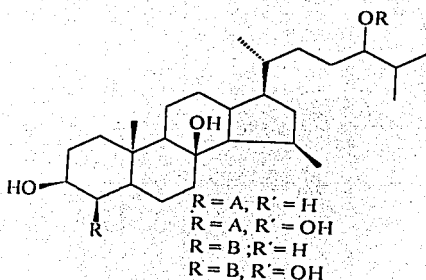
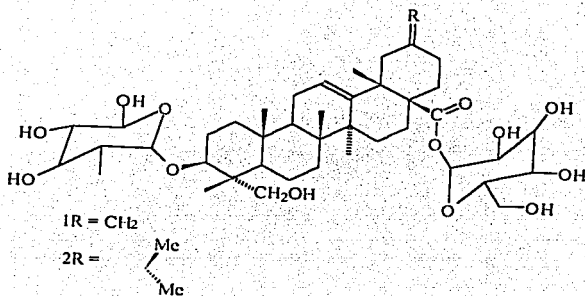
Otra actividad biológica que se muestra en estos compuestos es que inducen la absorción de los ácidos biliares. Según parece las saponinas incrementan la pérdida de ácidos biliares por excreción fecal, esta disminución es balanceada por una conversión de colesterol en ácidos biliares por el hígado, se sabe además que las saponinas pasan a través del tracto digestivo y pueden provocar varias lesiones de envenenamiento y una vez que llegan al torrente sanguíneo el

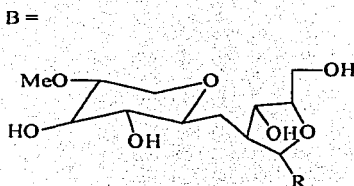
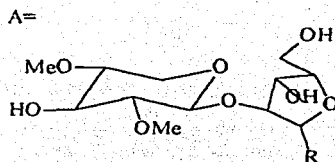
daño es letal, afectando tanto al hígado, como a los glóbulos rojos, puede producir deficiencia respiratoria, convulsiones y coma. (21)

La función de las saponinas en las plantas aún es desconocida; sin embargo, se sabe que algunas de ellas sirven como reserva de carbohidratos, mientras que otras están ahí presentes como factores de resistencia al ataque de insectos, otras tantas al parecer son simplemente desechos metabólicos, aunque de estas posturas la más favorable es la de que las saponinas actúan como antibióticos puesto que son capaces de inhibir la germinación de las semillas, el crecimiento de algunos microorganismos y protozoarios patógenos (21).

Se han utilizado como remedios tradicionales puesto que contienen propiedades que sirven para el tratamiento de quemaduras, y como antiinflamatorios, como expectorantes y contra virus especialmente el Herpes tipo I y tipo II (16,19) y en el tratamiento de úlceras.

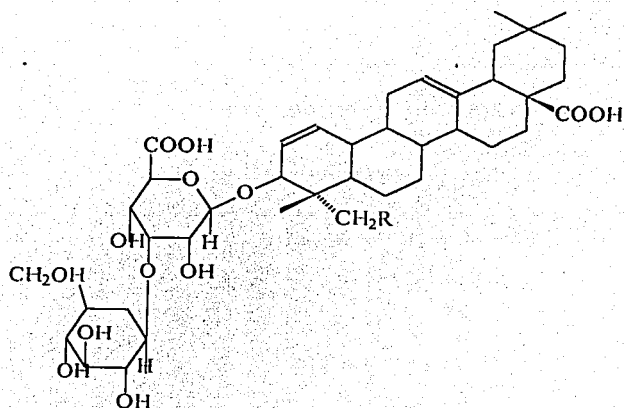
Las saponinas aparecen casi en su totalidad en plantas, los únicos organismos del reino animal a los que se les conoce que contengan saponinas son ciertas especies como la estrella de mar(8) como los siguientes ejemplos. (17,18)



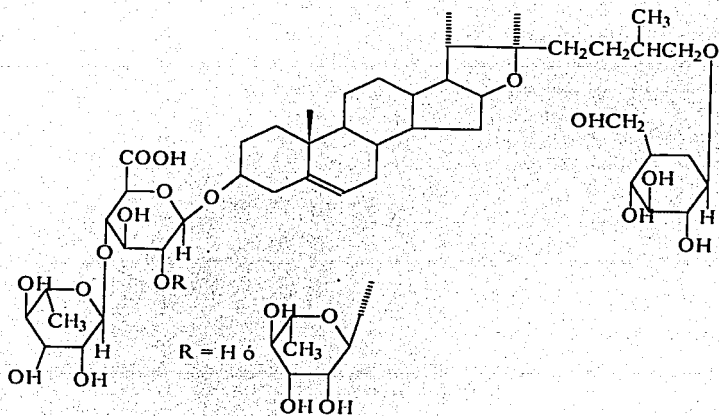


Existe una gran variedad entre las saponinas de diferentes fuentes. Hay que tener presente que en una misma planta pueden encontrarse distintos tipos de saponinas compartiendo la misma actividad biológica, aunque cada una presente estructuras distintas.

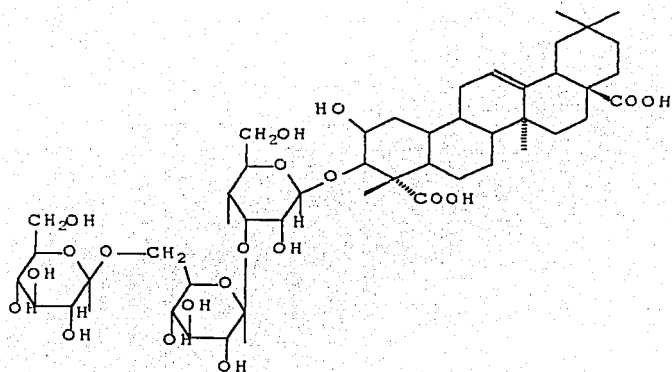
Entre las principales plantas donde podemos encontrar estos compuestos están los forrajes tales como: espinacas, semillas de soya, betabel, remolacha azucarera, sorgo, trébol, agave y alfalfa, (22,23) como lo muestran los siguientes ejemplos:



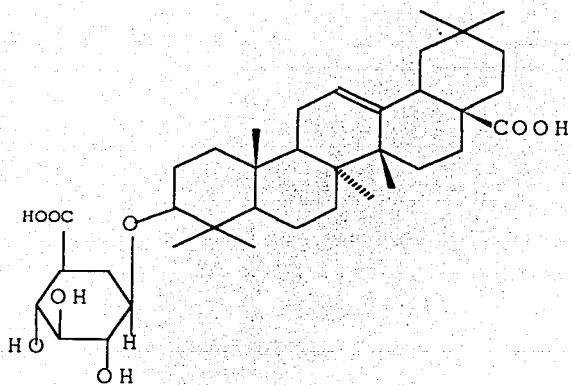
SAPONINA DE ESPINACA, R = H ó OH



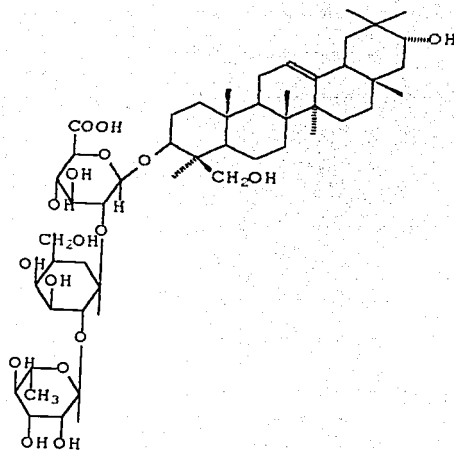
SAPONINAS DE ESPARRAGOS



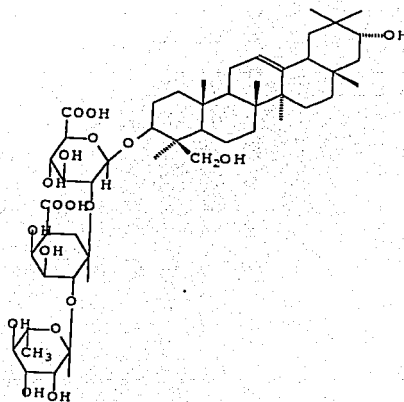
SAPONINA DE ALFALFA



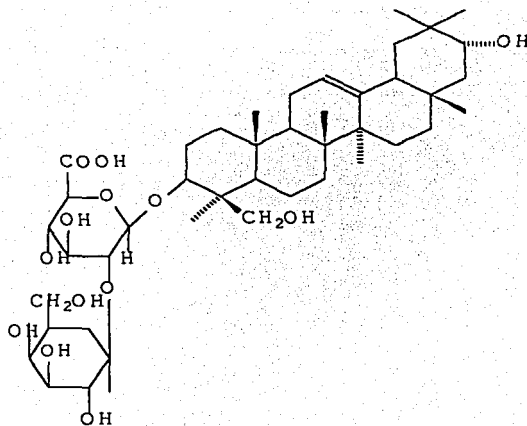
SAPONINA DE REMOLACHA



SAPONINA I DE SOYA



SAPONINA II DE SOYA



SAPONINA III DE SOYA

En la actualidad las saponinas son de mucha importancia en la industria cervecera (4) en la elaboración de extinguidores de fuego, para disminuir la tensión superficial, en la elaboración de detergentes, champúes, aditivos o correctores de sabores para alimentos y bebidas como precursores de materia prima para la síntesis de hormonas (progesterona y cortisona) y otros derivados esteroidales. (7,8,20)

La presencia de saponinas se realiza mediante las pruebas de hemólisis y de espuma. La identificación de los carbohidratos se efectúa mediante el uso de la cromatografía en papel ó cromatografía de gas-líquido. Existen otras pruebas que confirman la presencia, de estos compuestos, con ayuda de reactivos como el de Liebermann-Burchard, Salkowski, cloruro de tionilo y cloruro de antimonio, con la prueba de Rossenthaler da positivo, lo mismo que con la Noller. (6)

El aplicar técnicas instrumentales áltamente específicas como U.V. I.R, R.M.N y EM (6) son de gran ayuda para comprobar la existencia de estos compuestos y elucidar su estructura.

PROPIEDADES DE LAS SAPOGENINAS

Como se mencionó anteriormente las sapogeninas son estructuras derivadas del anillo ciclopentano y ciclohexanoperhidrofentantreno. A esta parte del anillo se le conoce como aglicona, en la estructura base puede presentar distintos grupos funcionales colocados en distintas posiciones y en la posición 3 esta presente un grupo -OH. Son solubles en solventes orgánicos como acetona, cloroformo e insolubles en agua.

Los efectos biológicos causados por las sapogeninas son conocidos para ciertas agliconas como la Digitoxigenina, que se usa contra el tratamiento de enfermedades cardiacas, la importancia de estos compuestos es su amplia utilización como materia inicial para la síntesis de hormonas.

Las sapogeninas provienen de la hidrólisis de las saponinas y se han aislado de las familias; Liliáceas, Amarilidáceas y Dioscóreas. (20)

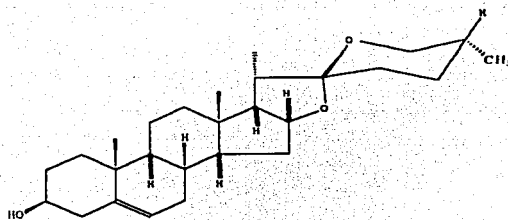
Es precisamente en esta familia Dioscórea, (21) que se han encontrado la mayoría de estos compuestos en proporciones variables que van desde 1 a 20% y las principales

sapogeninas que se han aislado son la Diosgenina, Tigogenina, Yamogenina y Criptogenina.

La siguiente lista muestra las distintas familias que proporcionan estos derivados esteroidales, resaltando que se trata de plantas que producen la Tigogenina y Diosgenina que van a ser utilizadas en el presente trabajo. Fue aislada de la *Dioscorea tokoto* y después en las siguientes especies:

Planta	Lugar
<i>Balatos aegyptica</i>	Sur de México
<i>Dioscorea glauca</i>	Sur de Georgia, USA.
<i>Dioscorea bulbifera</i>	Puebla, México
<i>Dioscorea capillaria</i>	Oaxaca, México
<i>Dioscorea floridiana</i>	Sur de Georgia, USA.
<i>Dioscorea composita</i>	Oaxaca, México

Su fórmula desarrollada es:



DIOSGENINA

Formula condensada: $C_{27}H_{42}O_3$

Nombre: Diosgenina ($\Delta 5,22$ -isoespirosten-ol 3 β)

C_5 : $\Delta 5$

C_{25} : iso

Substituyentes: 3 β (OH), $\Delta 5$

Punto de fusión: 204-207 °C

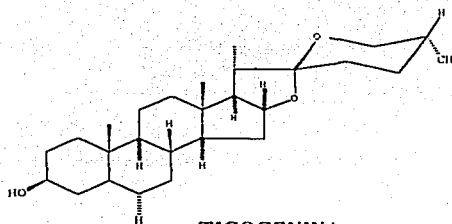
Peso molecular: 414 g/mol

Cristales blancos en forma de aguja, soluble en diferentes disolventes orgánicos, insoluble en agua

La tigoquina fué aislada originalmente de *Chlorogalum pomeridianum* y *Digitalis lanata* y *purpurea* y después de las siguientes especies.

Planta	Lugar
Agave lophantha	Monterrey, México
Agave purpurea	Laredo Texas, USA.
Agave schottii	Tucson, Arizona, USA.
Hesperaloe parviflora	San Antonio Texas, USA.
Magüey cañón del Abra	Cd. Victoria, México

Su fórmula desarrollada es :



TIGOQUINA

Formula condensada: $C_{27}H_{42}O_3$

Nombre: tigogenina (22 isocaloespirostanan-ol 3 β)

C_5 : α

C_{25} :iso

Substituyentes: 3 β (OH)

Punto de fusión: 204-205 °C

Peso molecular: 416 g/mol

Cristales blancos en forma de aguja insoluble en agua y muy soluble en acetona cloroformo y diferentes disolventes orgánicos

MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE ESTERES

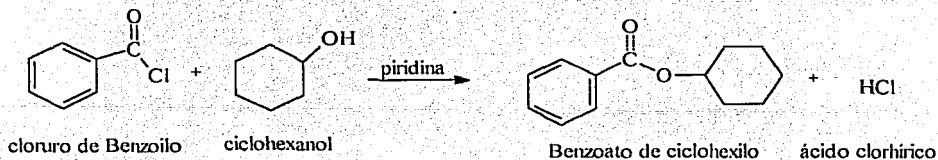
Existen varios caminos para llegar a la formación de un éster, debido a que en este trabajo se realizó una esterificación surge la necesidad de revisar las principales fuentes que dan como resultado este grupo funcional.

REACCIÓN CON HALOGENUROS DE ÁCIDO:

La reacción de un cloruro de ácido con un alcohol da lugar a la liberación de una mol de HCl por cada mol de éster formado, en esta reacción, se utiliza piridina como disolvente para neutralizar el HCl e impedir que se formen reacciones colaterales.

Si no se hiciera esto el alcohol podría reaccionar con el HCl y formar un cloruro de alquilo o podría unirse a un doble enlace carbono-carbono que estuviera presente en la molécula.

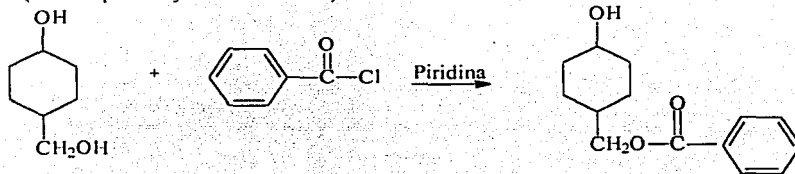
Ejemplo:



La esterificación de los alcoholes con cloruro de ácido es fuertemente afectada por el impedimento estérico. Los grupos voluminosos en cualquiera de los dos grupos reactivos reducen la velocidad de formación en grado considerable lo que da como resultado un orden de reactividad, en primer lugar reaccionan los alcoholes primarios, luego los secundarios, y por último los terciarios.

Ejemplo:

2° (más impedido y menos reactivo)



1° (menos impedido y más reactivo)

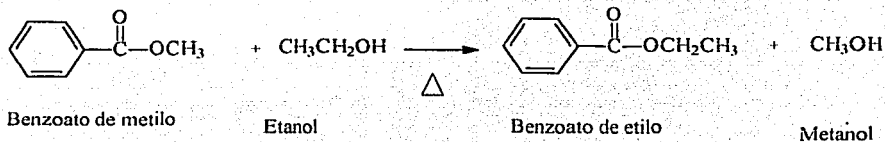
REACCIÓN DE ALCOHOL CON ANHIDRIDOS DE ÁCIDO:

Aquí se utiliza un anhídrido para formar un éster y sólo se esterifica uno de sus grupos acilo; el otro se convierte en un grupo carboxilo. La química de los anhídridos de ácido es similar a la de los cloruros de ácido, aunque reaccionan más lentamente ambos grupos sufren los mismos tipos de reacción, formándose un ácido.

REACCIONES DE TRANSESTERIFICACIÓN:

La transesterificación es un proceso que involucra la transformación de un éster en otro éster por calentamiento de un éster inicial con un exceso de otro alcohol, o de otro ácido carboxílico en presencia de un catalizador. Se trata de una reacción de equilibrio en la que se obtiene como coproducto el alcohol o el ácido del éster original. (9)

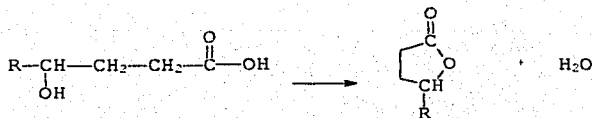
Ejemplo:



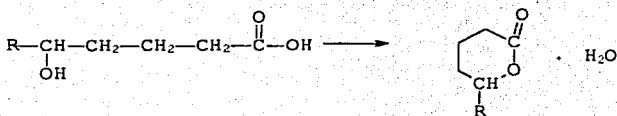
REACCIONES INTRAMOLECULARES

Esta reacción se da cuando un hidroxiaácido tiene en un extremo un alcohol (OH) y en el otro un ácido carboxílico (COOH) no es de sorprendernos que alguno de ellos forme un éster cíclico, ya sea espontáneamente o bajo la influencia del calor, la unión entre ellos da la formación de un anillo cíclico llamado lactona. El anillo resultante está favorecido si es de 5 ó 6 miembros.

Ejemplos:



γ -Lactona, un éster de 5 miembros



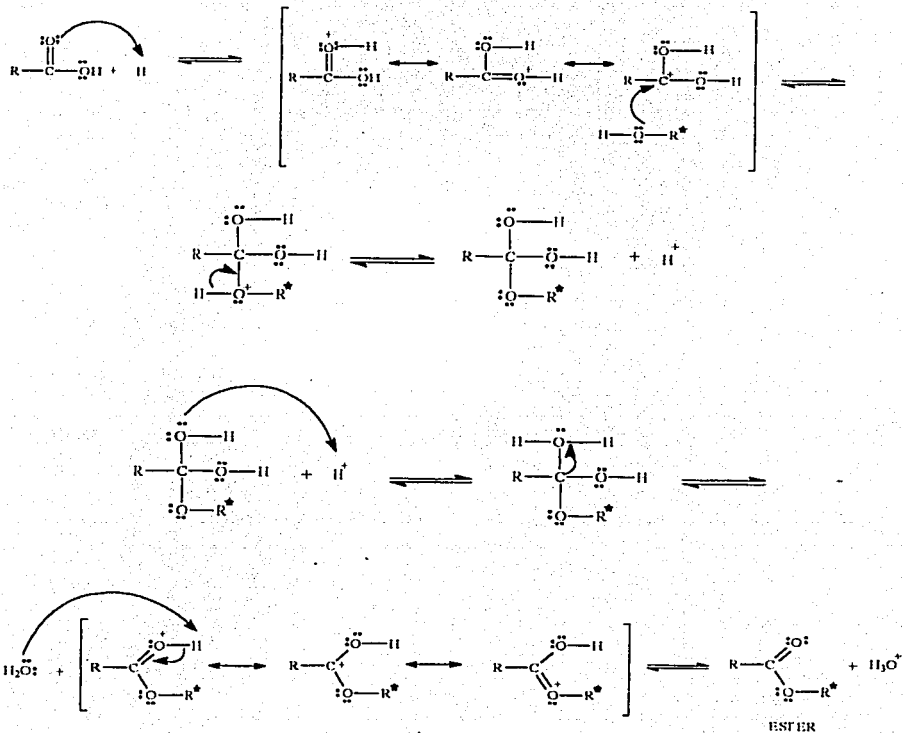
δ -Lactona, un éster de 6 miembros

ESTERIFICACIÓN DE FISHER

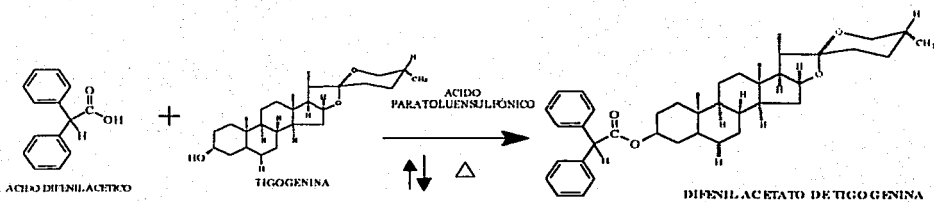
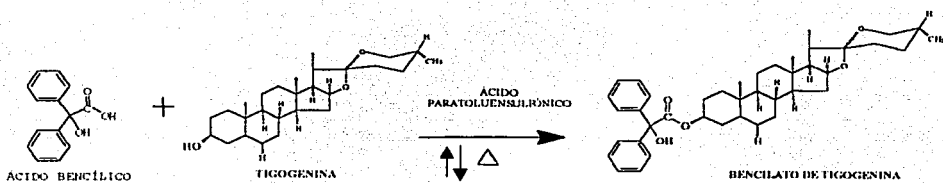
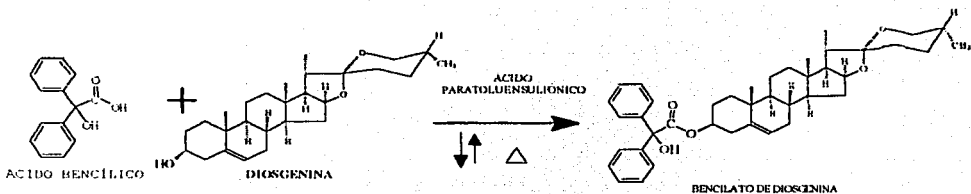
La esterificación de Fisher se utiliza solo con alcoholes primarios y secundarios. El equilibrio de esterificación es sensible al impedimento estérico, por lo tanto la reacción de un alcohol terciario con un ácido no se da en la práctica.

En esta reacción se obtienen buenos rendimientos, pero la necesidad de usar un alcohol como solvente limita el método a pesar de que los ácidos carboxílicos no son lo suficientemente reactivos para ser atacados por la mayoría de los nucleófilos. Pueden hacerse mucho más reactivos en presencia de un ácido mineral como el HCl o el H₂SO₄, las reacciones son llevadas a cabo a través de un mecanismo de tipo S_N2.

El mecanismo de reacción para la formación de un éster es el siguiente:



En los derivados esteroidales que se prepararon se emplearon las siguientes reacciones:



CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

Todos los espectros de IR, RMN^H Y EM-FAB se corrieron en la USAI (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación) de la Facultad de Química, UNAM.

Los espectros se trabajaron con los siguientes equipos:

El equipo de infrarrojo es un FTIR Perkin Elmer 1605 en el que se corrieron los espectros bajo las siguientes condiciones;

Resolución: 4

Apodización: fuerte

Rango: 4000-400 cm⁻¹

Modo: % de transmitancia

N° de barridos: 16

El equipo de Resonancia Magnética Nuclear de protones utilizado fue un equipo Varian Modelo UNITY IVOVA de 300 MHz para H en el que se corrieron los espectros bajo las siguientes condiciones;

Frecuencia de observación: 300-234 MHz

Núcleo observado: H

Tiempo de adquisición: 3.744 segundos

Número de puntos: 29952

Ventana espectral: 4000.0 ppm.

Potencia utilizada: 55

Pulso 45: 8.6

Número de barrido: 128

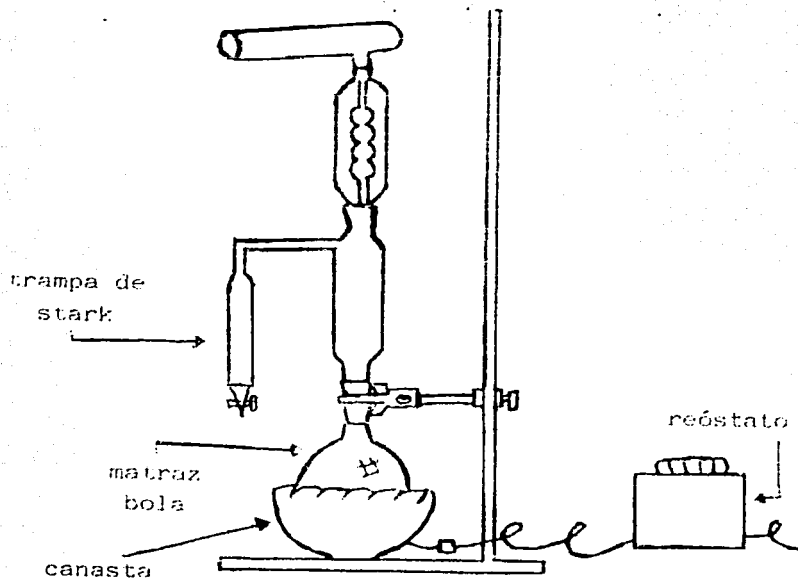
En el equipo de espectrometría de masas por bombardeo rápido de átomos (FAB) es un equipo JEOL Modelo SX-102, de doble sector de geometría inversa, el gas utilizado para el cañón fue Xenón de alta pureza, la matriz utilizada fue alcohol 3-nitrobencílico con un intervalo de 0-2200 UMA.

PARTE EXPERIMENTAL

PREPARACIÓN DE BENCILATO DE DIOSGENINA

En la síntesis del Bencilato de Diosgenina se partió de la sapogenina proporcionada por el Dr Francisco Giral extraída de Dioscorea composita con un punto de fusión (pf) de 200-208°C de color blanco y de aspecto cristalino. Se corrió una ccf en el medio AcoEt-Hex (7:3) dando una sola mancha. El Ácido Bencilico que se empleó en la reacción fue donado por el laboratorio de química orgánica de la licenciatura de la Facultad de Química y proviene de prácticas hechas por los alumnos en diferentes años, presentó un punto de fusión de 148-150°C, de color blanco y cristales en forma de agujas.

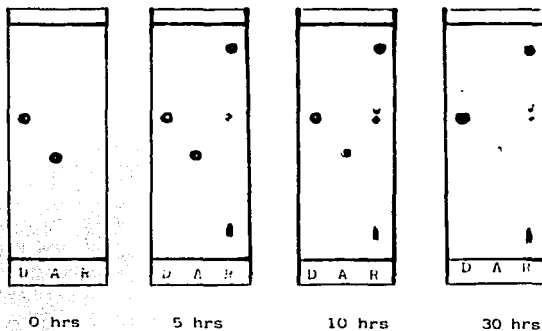
En la síntesis se utilizó 25ml de tolueno secado previamente, durante 8 horas a reflujo continuo para eliminar el agua que pudiera contener empleando una trampa de Stark para este propósito. En la parte superior se colocó una trampa con gel de sílice e indicador de cobalto como lo muestra la figura.



Se pesaron 0.5160g de Diosgenina y 0.441g de Ácido Bencílico, que es el reactivo limitante. Se eligió poca cantidad para ver como sería el comportamiento de la reacción y también por el poco reactivo que había. La materia prima se introdujo a un matraz bola con 25ml de tolueno previamente secado en el aparato descrito con anterioridad.

En dicha mezcla se adicionó ácido paratoluensulfónico como catalizador y una piedra de ebullición. La mezcla se agitó hasta disolver los reactivos.

Para calentar la reacción se empleó un reóstato a reflujo constante durante 30 horas, este tiempo de calentamiento estuvo en función de los resultados que se obtuvieron en la cromatografía en capa fina. (ccf) En el transcurso de la reacción se tomó una muestra cada hora y se corrió una placa de ccf utilizando el medio AcoEt-Hex (7: 3) y se obtuvieron los siguientes resultados:



A = Ácido Bencílico D = Diosgenina R = mezcla de reacción

La ccf fué hecha en gel de sílice neutra, 60 f-254 01-180163 en placa de vidrio preparadas por Merck y cortadas por uno mismo con medida aproximadas de 8cm de largo por 3cm de ancho.

Se empleó una cámara saturada cubierta previamente en toda la pared con papel filtro, las placas se revelaron con H_2SO_4 5N calentándolas en una estufa a $105^\circ C$.

Las placas se tomaron de la siguiente manera; cada hora se apago el reóstato, se abrió la campana de extracción para dejar enfriar luego se desmontó el dispositivo con una mano se tomó la muestra utilizando un capilar y se aplicó en la cromatoplaca.

Después de mantener por 30hrs la síntesis a reflujo constante se dejó enfriar la reacción y se evaporó a sequedad el tolueno en un rotavapor. El residuo se disolvió en $CHCl_3$, se evaporó a sequedad y luego con acetona alternando cada uno de los disolventes en cantidad suficiente para disolver la mezcla, con la finalidad de eliminar el tolueno. La mezcla se dejó en un desecador para impedir que entre la humedad al mismo.

La mezcla libre de tolueno, quedó con una consistencia sólida, fué neutralizado en frío con una solución saturada de K_2CO_3 hasta obtener un pH de 9, para eliminar las trazas de ácido Bencílico que no reaccionó, la mezcla se extrajo con 30ml de $CHCl_3$, se lavó la capa clorofórmica con agua destilada varias veces hasta obtener el pH del agua con valor de 6.

Terminada esta operación, se separó la capa de cloroformo pasándola por un filtro de papel marca Whatman n°1. A la fase clorofórmica se le adicionó Na_2SO_4 anhidro para eliminar el agua y se dejó secar la solución en el mismo matraz. En seguida se filtró el Na_2SO_4 y se evaporó a sequedad el cloroformo en el rotavapor, se añadió acetona en cantidad suficiente para poder disolver el producto y se dejó cristalizando en el refrigerador (se dejó ahí porque el enfriamiento favorece la formación de los cristales).

Se separaron los cristales formados de las aguas madres. Este último paso de cristalizar y recristalizar se repitió varias veces hasta obtener cristales blancos. Con una ccf se observó que los cristales no presentaron otras manchas como las que se habían presentado en el transcurso de la reacción, se le

tomó el pf. dando un resultado de 204-206 °C en un aparato Fisher. Se obtuvo un peso de 0.158 gramos (g) con un rendimiento de 21.0% se esperaba un peso máximo de 0.753g se obtuvieron los espectros de IR (espectro n°1), RMN^h (espectro n°2), y Masas-FAB (espectro n°3).

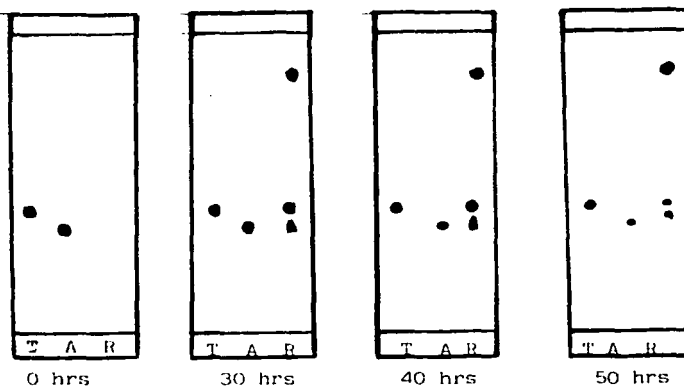
Esta misma síntesis se repitió siguiendo la misma metodología, ahora la Diosgenina utilizada se purificó antes de utilizarla. Se pesaron 3.5g de Diosgenina y 2.8g de Ácido Bencílico, el reactivo limitante de esta reacción fué el Ácido Bencílico se esperaba obtener 5.2g de producto se aumentó la cantidad de los reactivos, para obtener una mayor cantidad de producto, para realizar pruebas biológicas posteriormente. Se calentó la reacción por 40 horas, tiempo en el cual los reactivos se consumieron y se formó el nuevo producto repitiendo los pasos anteriores. Se determinó el pf dando un resultado de 204-206 °C en un aparato Fisher, se pesaron los cristales obteniendo 0.5443g con un rendimiento de 10.32% y se mandaron muestras para realizar IR (espectro n°1), RMN (espectro n°2), EM-FAB(espectro n°3).

PREPARACIÓN DEL BENCILATO DE TIGOGENINA

Para realizar la síntesis de Bencilato de Tigogenina, se utilizó el Ácido Bencilico del mismo lote que se empleó en la reacción anterior, se empleó la Tigogenina con un pf 187-190°C, proporcionada por el Dr. Francisco Giral esta Tigogenina presentó dos manchas en la ccf, en ACOEt-Hex (7:3) y se recristalizó varias veces hasta obtener una sola mancha.

Antes de iniciar la reacción se puso a reflujo 140ml de tolueno durante 8 horas, utilizando una trampa de Stark para eliminar el agua. Se adicionaron 2.6391g de Tigogenina y 2.00g de Ácido Bencilico, que es el reactivo limitante y se esperaba 3.9g de el nuevo producto. Se adicionaron al matraz con tolueno previamente secado, se adicionó ácido paratoluensulfónico como catalizador y una piedra de ebullición. Esta síntesis se dejó durante 50 horas, la mezcla de reacción cambió de una tonalidad anaranjada que tenía al inicio a una tonalidad negra a partir de las primeras 10 horas de haber iniciado el calentamiento.

La reacción se siguió mediante tcf. En esta ocasión fué cada 4 horas debido a que ya se sabía por las reacciones anteriores que en una hora no había mucha diferencia entre la formación del producto y el consumo de los reactivos, como se muestra en las siguientes placas tomadas. Utilizando el medio AcOEt-Hex (7:3)



Al final de la reacción, se evaporó a sequedad el tolueno en un rotavapor. El residuo se disolvió en CHCl_3 , se evaporó a sequedad y después con acetona, alternando los disolventes con la cantidad suficiente para eliminar el tolueno. Al final la mezcla libre de tolueno fué neutralizada en frío con una

solución saturada de K_2CO_3 hasta obtener un pH de 9, para eliminar las trazas de Ácido Bencílico que no reaccionó.

La mezcla se disolvió con 30ml de $CHCl_3$ se lavó con agua destilada varias veces hasta obtener el pH de 6. Terminada esta operación, se filtró la capa de cloroformo, por filtración rápida. A la fase clorofórmica se le adicionó Na_2SO_4 anhidro en cantidad suficiente para eliminar el agua, se dejó secar la solución en el mismo matraz.

Se filtró el Na_2SO_4 y se evaporó el cloroformo en el rotavapor, se añadió acetona en cantidad suficiente para poder disolver el producto y se dejó cristalizando por enfriamiento.

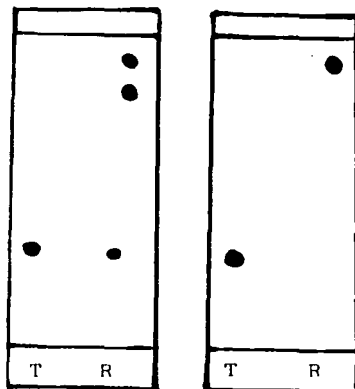
Se utilizó acetona para la cristalización y recrystalizar del nuevo producto. Se obtuvieron 8.7 mg del Bencilato de Tiogenina con un pf fue $204-206^\circ C$ y un rendimiento de 0.220% y el nuevo producto sintetizado no fué el suficiente para confirmar su presencia mediante las pruebas espectroscópicas por lo que se tuvo que repetir esta misma síntesis ya que sólo se obtuvo el espectro de masas. (espectro n°5).

El Ácido Bencílico empleado en la síntesis anteriores, se terminó, y el nuevo reactivo con que se trabajó grado técnico proveniente de otro lote, por eso se cristalizaron

previamente con agua hasta dar una mancha en una ccf en el medio AcOEt-Hex (7:3) Las características finales del Ácido Bencílico fueron las siguientes: cristales en forma de aguja de color amarillo con un pf. De 148-150°C. Y las características que presentó la Tigogenina fueron: cristales en forma de aguja, de color blanco con un pf de 187-190 C°.

En una nueva síntesis se pesaron 3.00g de Tigogenina y 1.999g de ácido Bencílico el reactivo limitante es el Ácido Bencílico, se esperaba 4.5g del nuevo producto se adicionó todo en un matraz con 140ml de tolueno, previamente secado; también el ácido paratoluensulfónico como catalizador, la mezcla se agitó hasta disolver los reactivos calentando con un reóstato a reflujo continuo. Esto se continuó por 75hrs, y se monitoreo cada 4hrs mediante ccf y al final se eliminó el tolueno los demás pasos se siguieron de manera similar a las reacciones anteriores. Al final se añadió acetona para cristalizar, lo cual no se logró posiblemente debido a que el producto de la reacción se quemó ya que se encontró una gran cantidad de materia sólida de color café y negra que no cristalizó se obtuvo un peso de 2.7g de la mezcla, con un rendimiento del 59.86%.

Se preparó una cromatografía en columna para cristalizar el Bencilato de Tigogenina utilizando 130g de gel de sílice 60 de marca Merck con gránulos de 0.2mm a 0.05mm del lote 107734 909390R utilizando 600ml de la mezcla Hex-AcoEt. (7:3) como medio de elución ya que ahí presentó una mejor resolución. Se recolectaron fracciones de 1ml en tubos de ensayo para poder separar el producto, y se corrió una ccf para asegurar que sólo se tenía la presencia del Bencilato de Tigogenina. La figura muestra las manchas encontradas.



ANTES

DESPUES

Las fracciones donde se encontró el Bencilato de Tigogenina se juntaron y se cristalizaron en acetona. Se obtuvieron 0.042g con un pf. de 204-206 °C así como los correspondientes espectros de IR, (espectro n°4) y EM-FAB (espectro n°5) con un rendimiento total de 0.93%. Debido a que no alcanzó el producto para realizar las tres pruebas espectroscópicas y con la finalidad de mejorar el rendimiento se montó una última reacción, se pesó 1.2 g de Ácido Bencilico y 1.7g de Tigogenina, el reactivo limitante es el Ácido Bencilico en un matraz con 140ml de tolueno, se adicionó Ácido Paratoluensulfónico como catalizador. en la menor cantidad posible, debido a que en las 4 primeras síntesis no se había tenido ningún problema como en la última reacción, es por este motivo que se decidió no agregar mucho Ácido Paratoluensulfónico.

La reacción se calentó continuamente y sin interrumpirse por 75hrs, todos los demás pasos fueron idénticos. La mezcla pesó 1.6g que representa un rendimiento del 64% se pasó a través de una columna utilizando 100g de gel de sílice 60 empleando 700ml de la mezcla Hex-AcOEt (7:3)

Se corrió una ccf para separar el producto deseado sin embargo se encontraron más fracciones las cuales corrieron

muy cerca las unas de las otras sobresaliendo una mancha que fué más grande que las demás, sólo se separó la mancha principal y las mas próximas a ella, estas fracciones se juntaron y se dejaron cristalizando en acetona, los cristales no se formaron debido a que contenía una gran cantidad de subproductos que no permitieron la formación de los cristales. Por tal motivo se montó otra columna.

La mezcla cruda pesó, 1.0g y se pesó 20g de gel de sílice utilizándose 200ml del medio Hex-AcOEt (8:2) probado previamente en una ccf. Ahí se observó una mejor resolución y separación de las manchas. Las condiciones en que se trabajó la columna fueron idénticas a la última, el flujo que corrió a través de ella fue lento y se recogieron fracciones de un 1ml. Se recolectó sólo hasta obtener el Bencilato de Tigogenina, identificándose las fracciones donde estaba el producto y se cristalizó en acetona, hasta quedar cristales blancos, obteniendo un peso final de 0.0512g con un rendimiento total de 2.048% el pf. fue de 204-206 °C y obteniendo como resultados los correspondientes espectros de IR (espectro n°4), y EM-FAB (espectro n°5).

PREPARACIÓN DEL DIFENIL ACETATO DE TIGOGENINA

Para hacer esta reacción se partió con la Tigogenina del mismo lote empleado en la síntesis anterior y cristales de Ácido Difenil Acético de color blanco con un pf de 144-147°C de marca Merck de lote 34313572 con una pureza de 98%.

Antes de iniciar la reacción se calentaron 140ml de tolueno durante 8hrs a reflujo constante utilizando una trampa de Stark para eliminar el agua. Se pesaron 1.389g de Tigogenina y 0.6996g de Ácido Difenil Acético, que es el reactivo limitante, esta cantidad fué propuesta debido a que sólo se realizaria un intento por obtener este producto, y porque se contaba con poca Tigogenina. Toda la materia prima se introdujo al matraz con el tolueno previamente secado, adicionando ácido paratoluensulfónico como catalizador en la mínima cantidad para evitar con esto que se quemé el producto de la reacción, como pasó en la síntesis anterior. La reacción se mantuvo a reflujo constante durante 74hrs y se monitoreó cada 4hrs en una ccf en un medio de AcoEt-Hex (7:3)

Al término de la reacción se evaporó a sequedad el tolueno en un rotavapor con acetona y CHCl_3 , luego se neutralizó en frío con una solución saturada de K_2CO_3 hasta llegar a un pH de 9 con la finalidad de neutralizar las trazas del Ácido Difenil Acético que no se consumió durante la síntesis. La mezcla se disolvió con 30ml de CHCl_3 , se lavó varias veces con agua destilada, al final de este paso se filtró la capa de cloroformo, por filtración rápida, a la fase clorofórmica se le adicionó Na_2SO_4 anhidro, con el fin de eliminar el agua que quedó al lavar la fase clorofórmica.

Se filtró el Na_2SO_4 y el cloroformo se evaporó en el rotavapor, se adicionó acetona y se dejó cristalizando en frío. El Difenil Acétato de Tigogenina no cristalizó posiblemente porque contenía una gran cantidad de impurezas, el producto se secó, y se obtuvo un peso de 0.7g con un rendimiento de 34.8%. La mezcla se pasó a través de una cromatografía en columna utilizando 300ml de la mezcla hex-AcoEt (7:3) como medio de elución. Al final se verificó la presencia del Difenil Acétato de Tigogenina por medio de una ccf.

Las fracciones donde se encontró el producto esperado se juntaron y se cristalizaron con acetona, se obtuvo un peso de 0.011g y se esperaba un peso de 2.01g y un rendimiento final de 0.55% con un pf de (165-167°C) se corrieron los espectros de IR (espectro n°6) RMN^H (espectro n°7) y EM-FAB (espectro n°8)

BENCILATO DE DIOSGENINA

El Bencilato de Diosgenina presentó cristales de color blanco y un pf de 204-207 °C con fórmula molecular de $C_{41}H_{52}O_5$ y un peso molecular de 624 g/mol. El espectro de IR muestra las siguientes bandas

cm ⁻¹	Intensidad	Interpretación
3449	M	O-H
3060	D	Aromático ó Alifático C=C-H
3027	D	Aromático ó Alifático C=C-H
2845	F	C-H Alifático
1724	F	C=O del éster
1600	D	-C=C- Aromático
1448	M	C-CH ₂ , C-CH ₃
1376	M	C-CH ₃
1255	F	C-O del éster
1169	M	OH Terciario ó C-O-C
1051	F	C-O- Del éster
757	F	Anillo aromático monosustituído
699	F	Anillo aromático monosustituído

En el espectro de IR ($n^{\circ}1$) en 3060 cm^{-1} y 3027 cm^{-1} hay la presencia de ligadura C-H que bien pueden ser aromáticas o alifáticas, en 1600 cm^{-1} se comprueba que la señal es de aromáticos además en 757 cm^{-1} y 699 cm^{-1} hay dos bandas que indican que el anillo aromático es monosustituído. La aromaticidad también se observa en el espectro de RMN H ($n^{\circ}2$) en 7.4 ppm (e) hay una señal que integra para 10 protones del anillo aromático y en 5.4 ppm hay multiplete que integra para un protón del doble enlace del anillo B (g) y por EM ($n^{\circ}3$) tenemos $m/z\ 77$ corresponde a $C_6H_5^+$ característico de compuestos aromáticos y $m/z\ 105$ corresponde a $C_7H_5O^+$ también de compuestos aromáticos.

En IR hay una señal intensa en 3449 cm^{-1} que indica la existencia de la ligadura O-H de un alcohol y en 1169 cm^{-1} una señal que indica que la unión es de un C-OH terciario. En RMN H la señal del protón del grupo OH (f) esta en 3.5 ppm junto con los hidrógenos de los carbonos C_{23} , C_{27} y C_{16} . En el EM encontramos el fragmento $m/z\ 607$ que corresponde a la pérdida de 17 unidades de masa, confirmando la presencia del hidróxilo, así mismo el fragmento $m/z\ 183$ (a) pierde a su vez 17 unidades de masa con transferencia de un protón dando $m/z\ 167$. Indicando la presencia de OH (esquema $n^{\circ}1$)

De 2942cm^{-1} a 2828cm^{-1} hay señales que corresponden a la unión C-H de grupos metinos, metilenos y/o metilos. En 1448cm^{-1} una señal mediana que confirma la presencia de metilenos y/o metilos finalmente en 1376cm^{-1} una señal que confirma la presencia de metilos. Por RMN^H de 1 a 2.5ppm se ven multipletes característicos de los grupos C-H Y CH₂ de los anillos esteroidales. De 0.8 a 1.2ppm hay cuatro señales que corresponden a los metilos angulares C₁₈ (a) y C₁₉ (b) y a los metilos de C₂₁ (d) y C₂₆ (c). En 4.4ppm se encuentra una señal múltiple e integra para 4H que corresponde a los H de los C₂ y C₄ y en 4.8ppm hay un multiplete que se encuentra corrido debido que es la base del grupo benciloxi que integra para un H del carbono C₃.

En IR hay una banda fuerte (F) en 1724cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo C=O de un éster aromático, así mismo la señal fuerte en 1051cm^{-1} corresponde a la ligadura C-O del grupo éster. En el espectro de masas encontramos el fragmento m/z 211 (b) que corresponde al rompimiento de la ligadura α al carbonilo de un grupo éster de acuerdo con el esquema n°1.

En el espectro de masas (n°3) se observa que el ion molecular es m/z 624 obteniéndose m/z 625 que corresponde a $(M+H)^+$ como principales fragmentos se tiene m/z 41, 77, 105, 154, 395, 397, 625

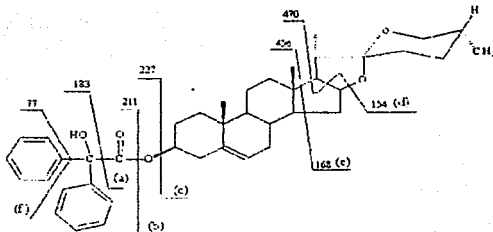
- m/z 41 corresponde a $C_3H_5^+$ que es característico de compuestos policíclicos como los esteroides.

- m/z 154 es el pico base del espectro y corresponde a las rupturas simultáneas de $C_{16}-C_{17}$ y $C_{13}-C_{17}$ y la ligadura de C-O del anillo E dando el fragmento 154 con pérdida de 470 unidades de masa (esquema n°1)

- m/z 397 corresponde a la pérdida de 227 unidades de masa del ion molecular (fragmentación diagrama n°1).

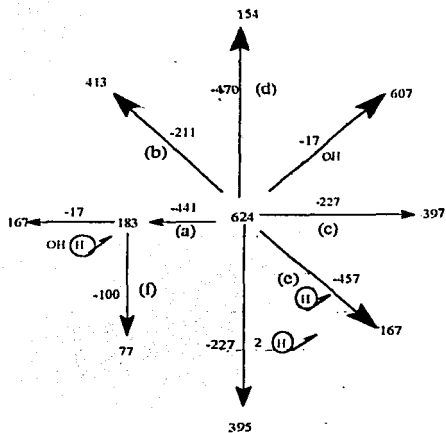
- m/z 625 corresponde a $(M + H)^+$ y es el ion molecular más un átomo de hidrógeno, característico de los espectros de masas por FAB.

ESQUEMA n° 1



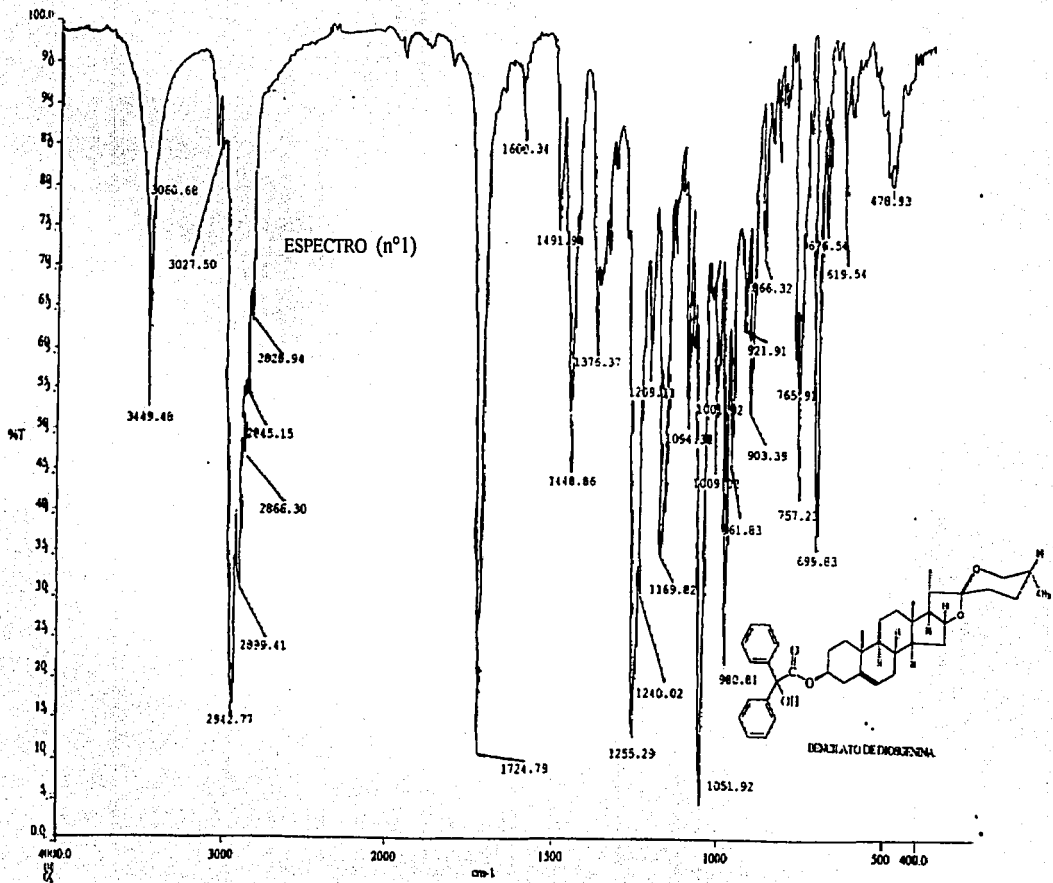
Todos estas fragmentaciones pueden verse también en el diagrama n°1

DIADRAMA (n°1)

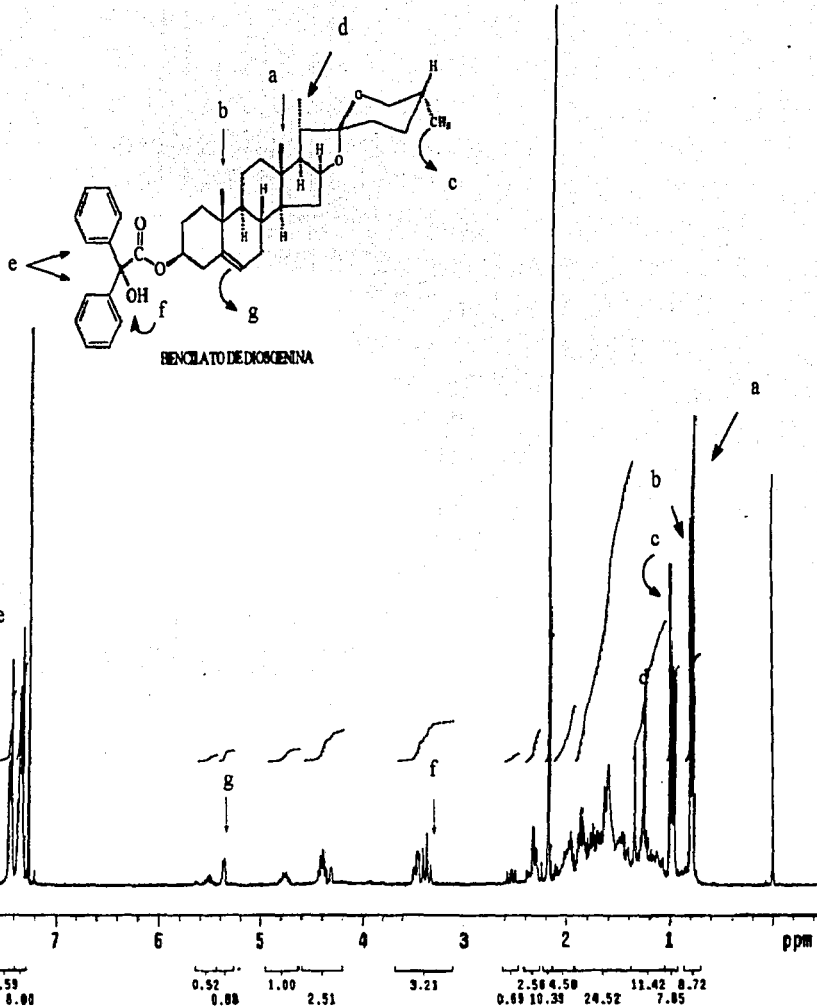


El Bencilato de Diosgenina presentó un rendimiento de 21.0%.y en la segunda reacción se obtuvo 10.32% el bajo rendimiento se debe posiblemente a que en el momento de efectuarse la extracción del compuesto con CHCl_3 no se halla realizado completamente.

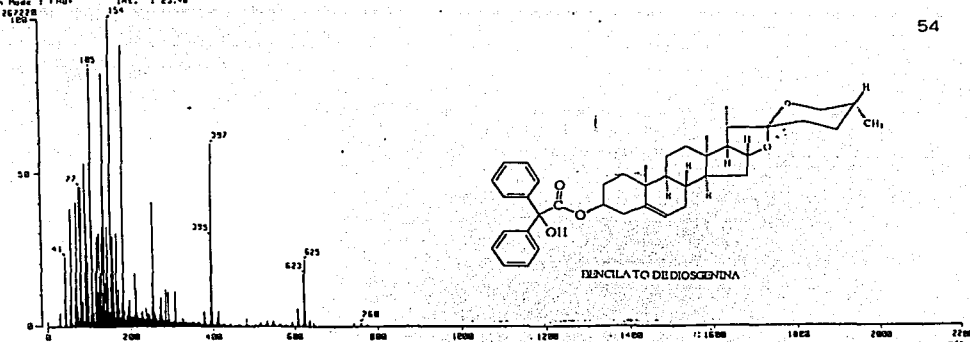
La interpretación de los tres espectros obtenidos indica que el compuesto que se sintetizó es el Bencilato de Diosgenina.



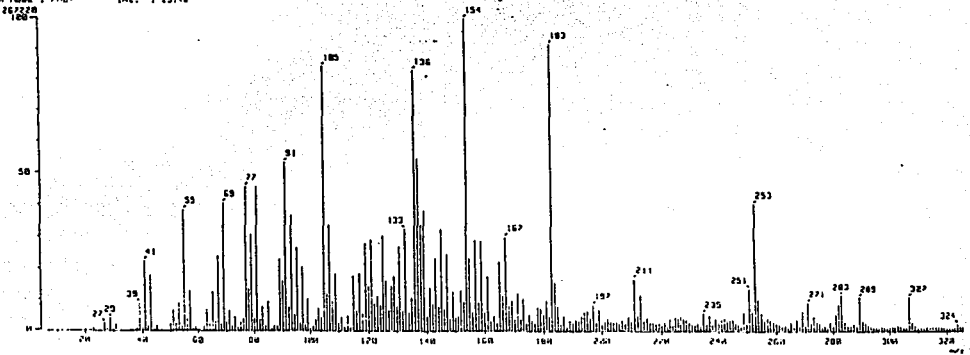
ESPECTRO (n°2)



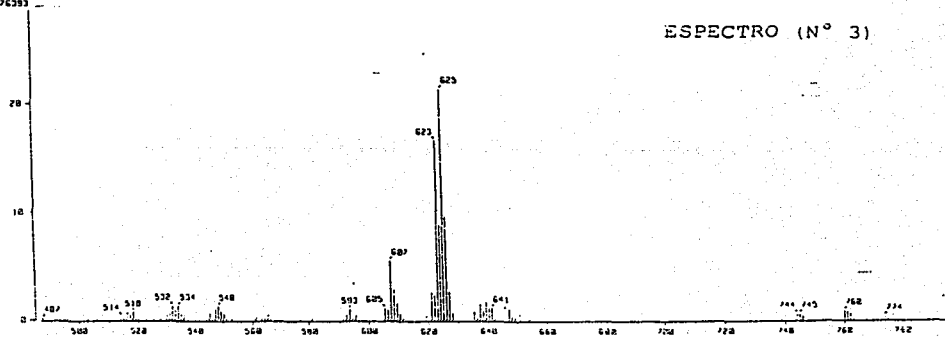
[Mass Spectrum]
 RT : 1.00 min Scan# : (7,9)
 Ion Mode : FRB Int. : 25.48
 267228



[Mass Spectrum]
 RT : 1.00 min Scan# : (7,9)
 Ion Mode : FRB Int. : 25.48
 267228



[Mass Spectrum]
 RT : 1.00 min Scan# : (7,9)
 Ion Mode : FRB Int. : 25.48
 267228



BENCILATO DE TIGOGENINA

El compuesto obtenido en todas estas síntesis presentó cristales de color blanco de pf. de 204-207°C con una fórmula molecular $C_{11}H_{14}O_5$ y un peso molecular de 626g/mol.

En el espectro (n°4) de IR se observa las siguientes señales

cm ⁻¹	Intensidad	Interpretación
3063	D	Aromático C=C-H
1756	S	C=O del éster
1491	D	C-C aromático
1449	M	C-CH ₂
1256	F	C-O de éster
1178	M	C-O-C
1011	M	C-O-C
913	D	C-O del éster
743	M	Anillo Aromático monosustituído
695	M	Anillo Aromático monosustituído

En el espectro de IR (N°4) hay una señal de baja intensidad en 3060cm⁻¹ que da la certeza de la presencia de la ligadura C-H que pueden ser alifática o aromática, en 1600cm⁻¹ hay una señal que comprueba la existencia de un anillo aromático y en 743cm⁻¹ y 695cm⁻¹ hay dos señales que indican que el anillo es

monosustituido. En el espectro de masas ($n^{\circ}5$) hay dos fragmentos que son m/z de 77 y 105 que indican la presencia del anillo aromático.

En IR hay una banda fuerte en 1756 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo $\text{C}=\text{O}$ de un éster aromático, así mismo las señales en 913 cm^{-1} y 1256 cm^{-1} que corresponden a la unión $\text{C}-\text{O}$ del grupo éster. En el espectro de masas está el fragmento m/z 211 que corresponde a la ruptura de la ligadura α al carbonilo. En 1449 cm^{-1} esta señal nos indica la presencia de metilos y metilenos

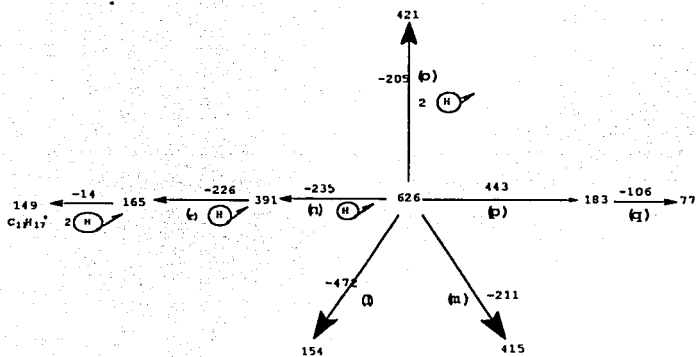
Las bandas en 1178 cm^{-1} y 1011 cm^{-1} son propias de la unión $\text{C}-\text{O}-\text{C}$.

En el espectro de masas se muestra el ion molecular de 626 que corresponde a la fórmula $\text{C}_{11}\text{H}_5\text{O}_5$ y presenta como principales fragmentos m/z 57, 77, 105, 149, 154, 183, 211, 391, 421, 626 cuyos fragmentos se explican a continuación.

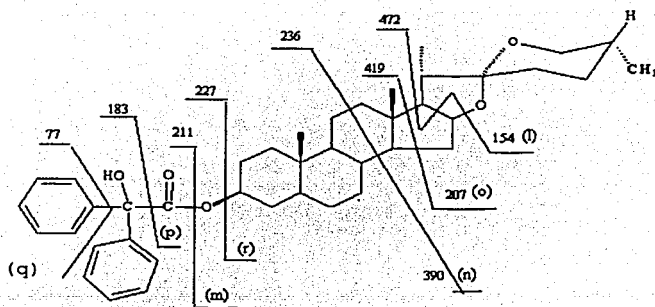
- m/z 57 corresponde a $C_4H_9^+$ y proviene del anillo esteroidal.
- m/z 149 que corresponde al fragmento $C_{11}H_{17}^+$ de los anillos A y B explicado en el esquema (n°2)
- m/z 154 corresponde a la fragmentación simultánea del anillo D y E en las uniones $C_{16}-C_{17}$ y C-O del anillo E (1).
- m/z 183 corresponde a la ruptura (p) del esquema n°2
- m/z 211 corresponde a la fragmentación de la ligadura C-O del éster (m) característica en los ésteres.
- m/z 391 corresponde a la ruptura (n) del ion molecular con transferencia de un átomo de hidrógeno.
- m/z 421 corresponde a la ruptura del anillo D con transferencias de 2 átomos de hidrógeno (o) y m/z 626 es el ion molecular.

De la interpretación de los dos espectros obtenidos se concluye que se obtuvo el compuesto que se quería sintetizar.

DIAGRAMA n° 2 FRAGMENTACIÓN DEL BENCIATO DE TIGOGENINA



ESQUEMA (n° 2)

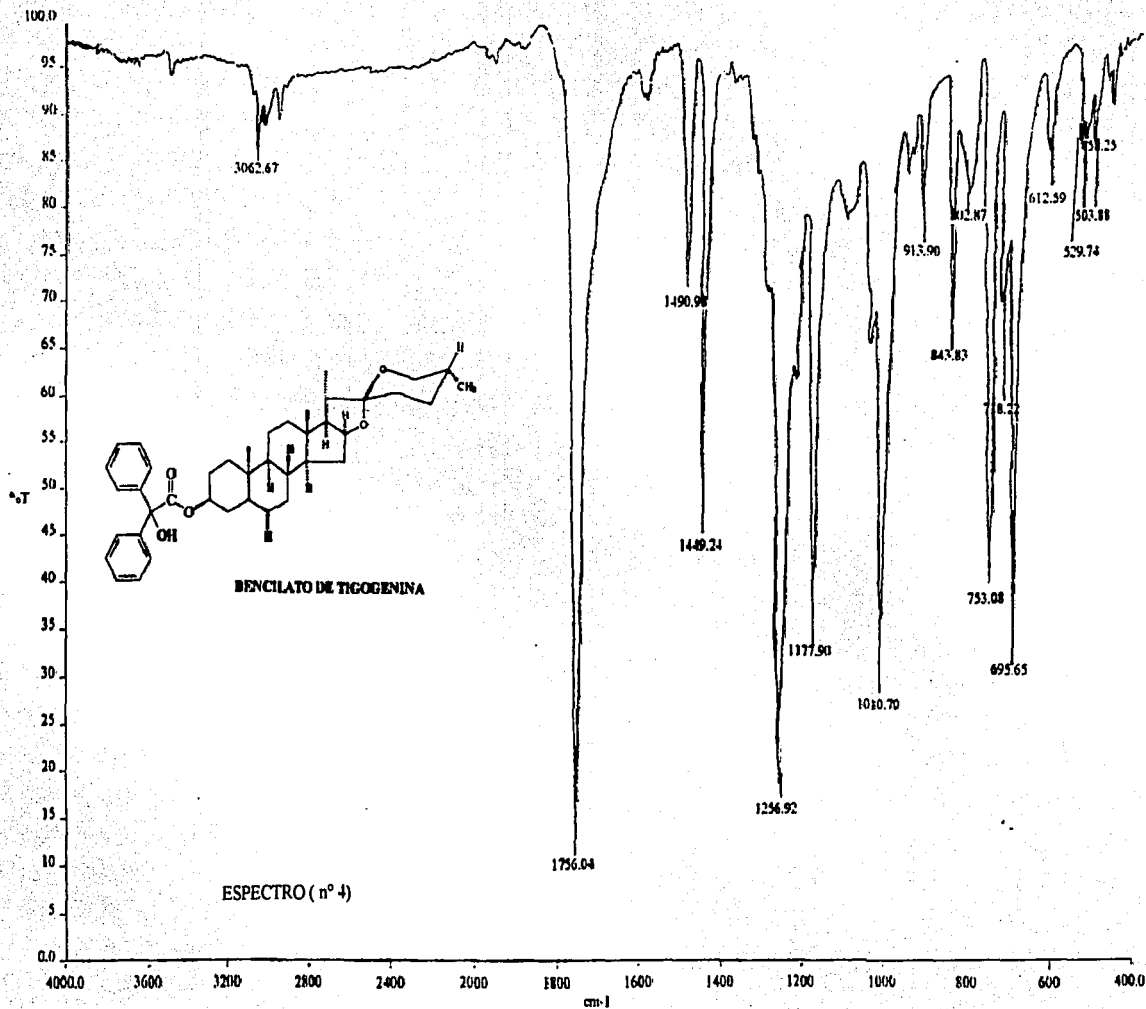


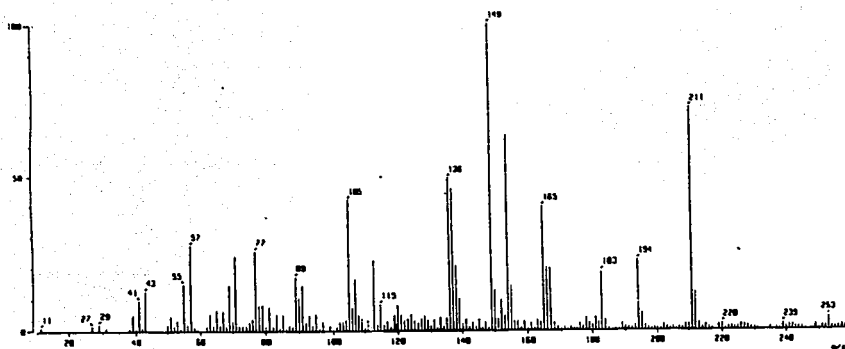
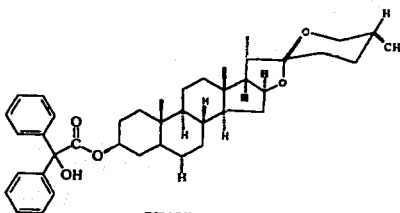
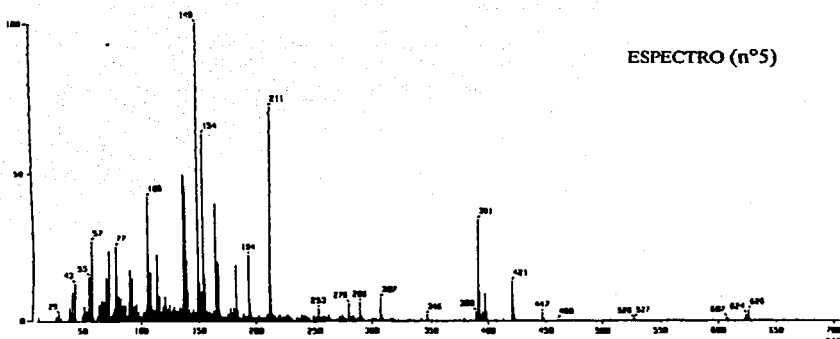
Para el Bencilato de Tigogenina en las tres reacciones que se realizaron los resultados no fueron los que se esperaban, en la primera síntesis se obtuvo un rendimiento total de 0.22% para la segunda un rendimiento de 59.886% de la mezcla cruda y un rendimiento total de 0.933% y en la última el rendimiento que fue de 64% de la mezcla cruda y un rendimiento total de 2.04%. En la primera reacción se tuvo problemas desde el inicio cuando la tonalidad de la reacción cambio de anaranjada a una tonalidad oscura lo cual se explica sólo si consideramos que la Tigogenina a pesar de haberse cristalizado varias veces antes de ponerla a reaccionar pudo haber contenido más impurezas y de esto no nos percatamos pues la ccf daba una sola mancha en el sistema de elucción que en ese momento se empleó, esa mancha pudo contener una cantidad de impurezas que reaccionaron con el ácido Bencílico lo que ocasionó que el rendimiento bajara.

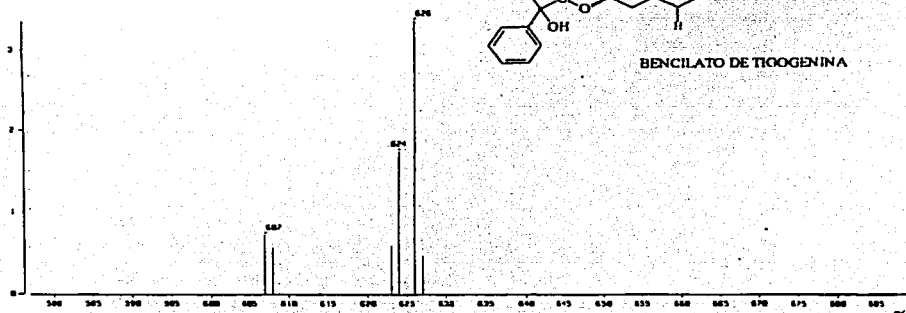
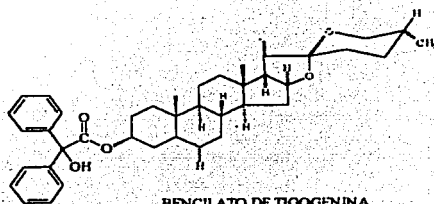
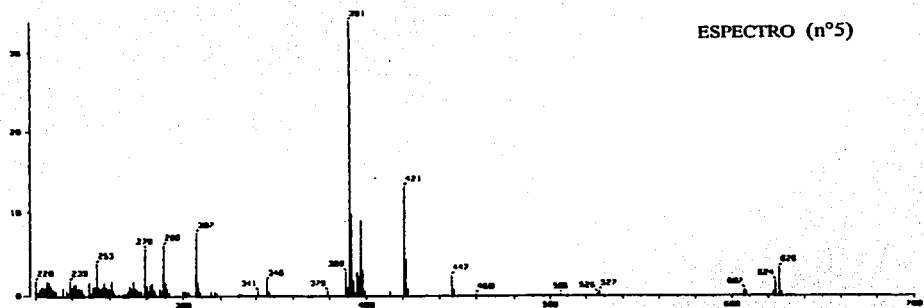
En la segunda reacción el poco rendimiento está en función de la cantidad de materia de color café y oscura que se encontró al final de la reacción la cual fué muy considerable, ocasionado posiblemente por el catalizador que se añadió el cual pudo abrir los anillos de espirostano ocasionando que el producto no se formara en su totalidad bajando con esto el rendimiento. También si consideramos que

se cambió de Ácido Bencílico, siendo prácticamente el mismo exceptuando el color amarillo que presentó este último, además de la pérdida que se tuvo cuando se paso el producto por la cromatografía en columna.

En la última reacción se obtuvo también un bajo rendimiento eso se debió en parte a que se trabajó con el mismo Ácido Bencílico utilizado en la síntesis anterior lo que ocasionó que se formará otros subproductos aparte del esperado, bajando con esto el rendimiento. Otro factor que influyó mucho en las reacciones y fué una constante en todas las reacciones, es que el Ácido Bencílico por estar impedido estericamente no reaccionó adecuadamente con la sapogenina para que se formara el nuevo compuesto.







DIFENIL ACETATO DE TIGOGENINA

El Difenil Acetato de Tigogenina obtenido presentó cristales de color blanco con un pf de 165-167 °C y una fórmula molecular de $C_{11}H_{10}O_2$, y un peso molecular de 610g/mol. El espectro de IR muestra las siguientes bandas

IR de Difenil Acetato de Tigogenina (n°6)

cm ⁻¹	Intensidad	Interpretación
3018	D	C=C-H, Aromático
2950	D	C-H de metinos, metilenos y metilos
2927	F	C-H, C-H ₂ , C-H ₃
2912	F	C-H, C-H ₂ , C-H ₃
1736	D	C-O del éster
1654	D	Aromático
1456	M	C-CH ₂ , C-CH ₃
1378	M	C-CH ₃
1338	D	C-O del éster
1260	M	C-O-C
1124	M	C-O-C
1177	M	C-O-C
1073	M	C-O-C ó C-O del éster
981	M	C-O del éster
889	M	Anillo Aromático monosustituído

En el espectro de IR (n°6) en 3018cm^{-1} hay una señal intensa que indica la presencia de la ligadura C-H que puede ser aromática o alifática, en 1654cm^{-1} hay una señal débil que confirma la presencia del anillo aromático y en 889cm^{-1} una señal que indica que el anillo aromático es monosustituído, esto está respaldado por la señal que aparece en el espectro de RMN^H (n°7) donde en 7.4ppm hay una señal que integra para 10 hidrógenos de un anillo aromático (e) y por espectrometría de masa (n°8) se sabe que está presente el fragmento m/z 77 y m/z 105 corresponde a $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$ e indica la presencia de anillos aromáticos.

En el espectro de IR de 2950 a 2912cm^{-1} indican la presencia de metilenos, metinos y/o metilos, en 1456cm^{-1} una señal que muestra la presencia de metilenos ó metilos. En 1378cm^{-1} se confirma la presencia de metilos, esto está apoyado en RMN^H donde en la región de 1.0 a 2.5ppm se ven múltiples señales características de los grupos C-H Y CH_2 de los anillos esteroidales. De 0.8 a 1.2ppm hay cuatro señales que corresponden a los metilos angulares C_{18} (a) y C_{19} (b) Y a los metilos de C_{21} (d) y C_{26} (c) en 3.4ppm hay dos señales que corresponden a 4 hidrógenos de los C_{23} Y C_{27} , en 3.7ppm está un cuadruplete que corresponde al protón unido al C_{16} , y en 4.4ppm hay una señal múltiple que corresponde a 4 protones

unidos a los carbonos C₂ y C₄. Por último en 4.8 ppm hay un multiplete que corresponde al protón del C₃

En 1736 cm⁻¹ hay una señal intensa que corresponde al grupo carbonilo C=O de éster aromático, en 1338 cm⁻¹ una señal de unión C-O del éster lo mismo que en 1073 y 981 cm⁻¹. En el espectro de masas hay una fragmentación de m/z 211 que corresponde a la fragmentación de la ligadura C-O del éster (IV) característica en los ésteres (esquema n° 3)

Las señales de 1260, 1124 y 1177 cm⁻¹ indican en IR la presencia de la unión C-O-C del espiroetano. Se puede complementar con la información que da el EM donde hay una fragmentación de m/z 154 que corresponde a la ruptura del anillo E en la unión C-O y C₁₇-C₂₀

También en el espectro de masas (n°9) se observa que el ion molecular (m+1)⁺ es m/z 611 indicando que se obtuvo el compuesto deseado con un peso molecular de 610, como fragmentos principales están m/z 91, 105, 139, 154, 255, 397, 611

- m/z 91 corresponde a C₇H₇⁺ y proviene del anillo esteroidal esta señal es el pico base
- m/z 397 corresponde a la ruptura del ion molecular (IV) con transferencia de dos átomos de hidrógeno (diagrama n°3)

- m/z 611 es el ion molecular.

ESQUEMA (n°3)

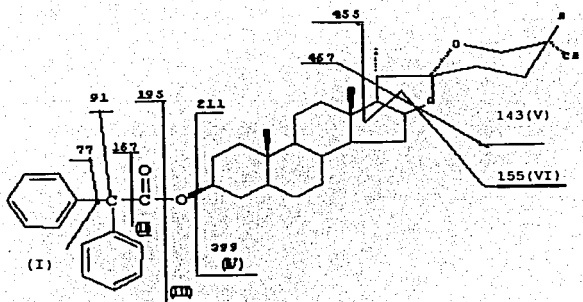
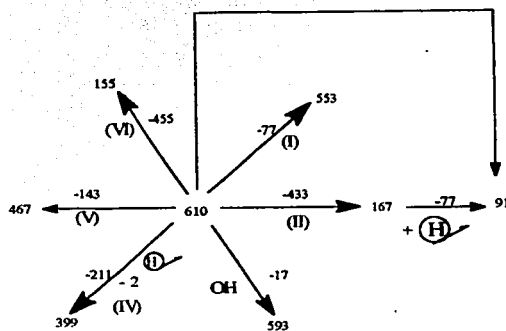
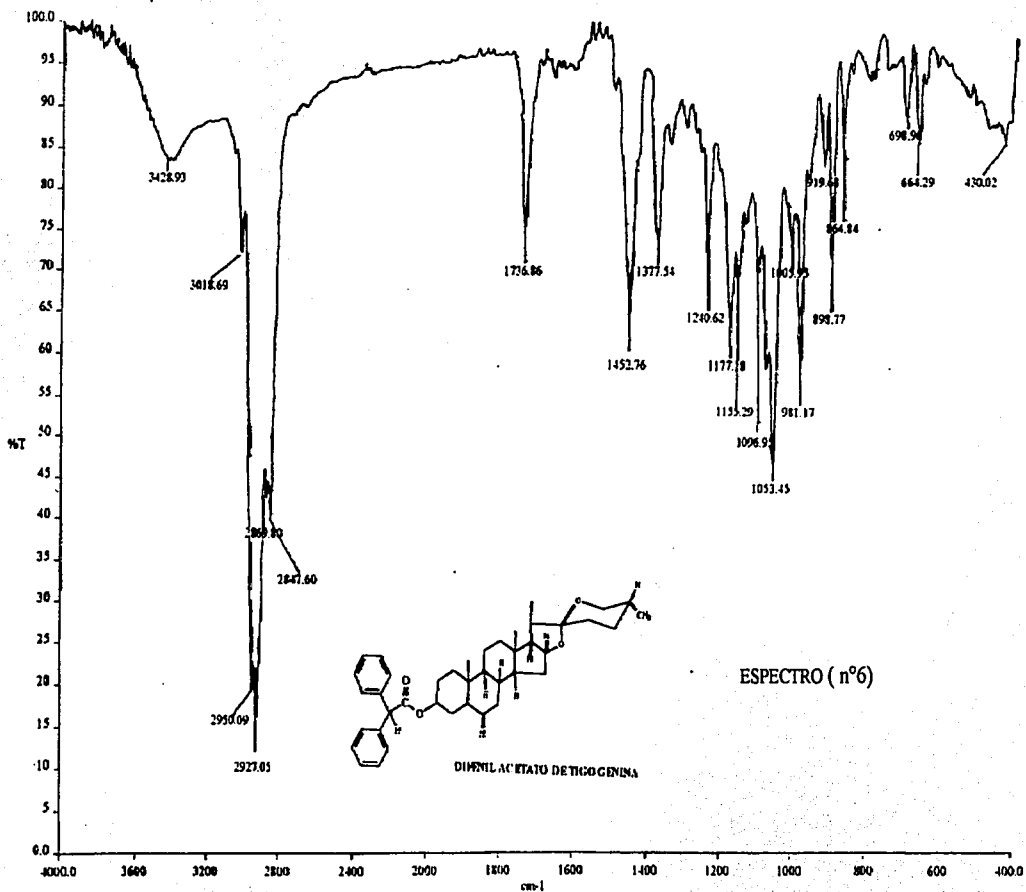


DIAGRAMA n°3

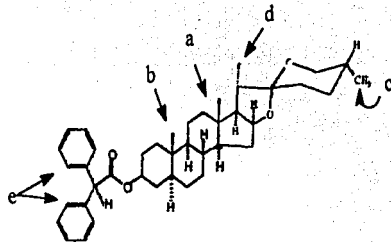


La interpretación de los tres espectros indica que el compuesto que se sintetizó es el Difenil Acetato de Tigogenina.

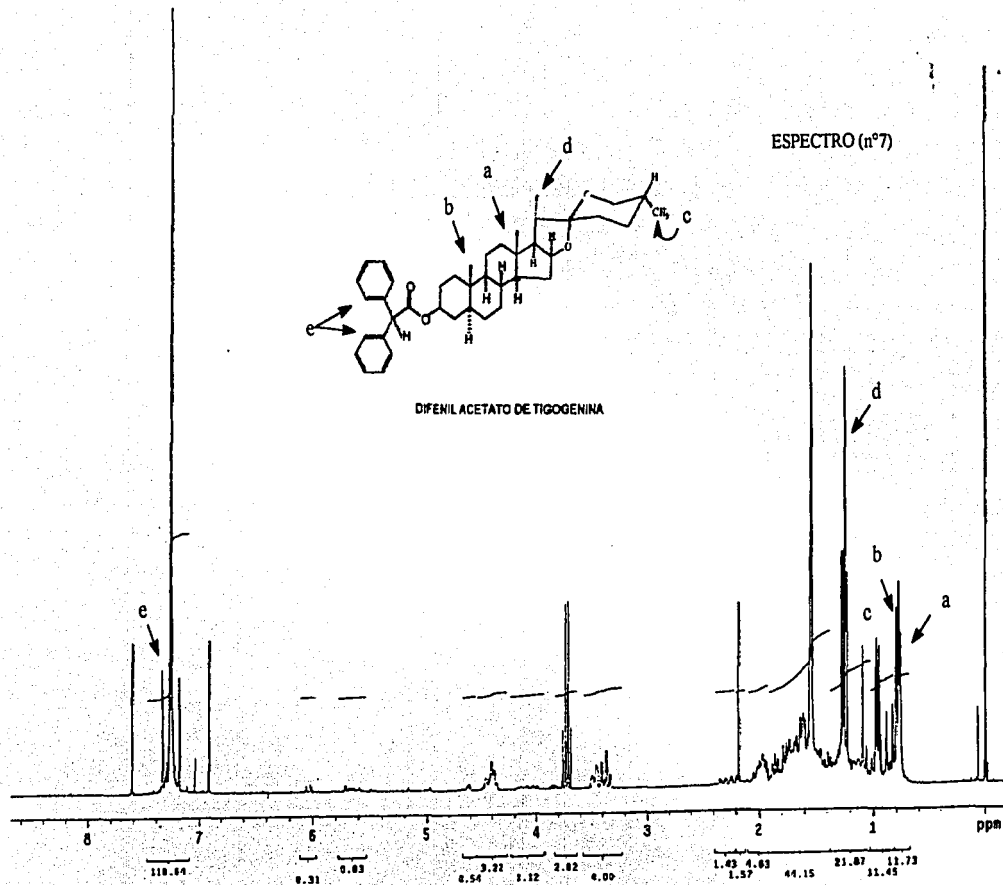
El rendimiento para el Difenil Acetato de Tigogenina fue de 34.8% en mezcla cruda y rendimiento total fue de 0.55% que siguió siendo bajo como en el caso de las reacciones anteriores, debido posiblemente a que al momento de efectuarse la extracción con CHCl_3 no se halla efectuado eficientemente. Así también el rendimiento bajó porque quedó mucha mezcla cruda atrapada en la columna, y la cantidad de compuesto puro recuperado de la cromatografía en columna fue muy pequeña. Otro factor que influyó en el bajo rendimiento es que en las aguas madres de las diferentes cristalizaciones quedó una parte del compuesto en solución.

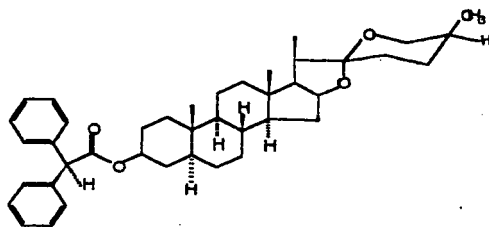
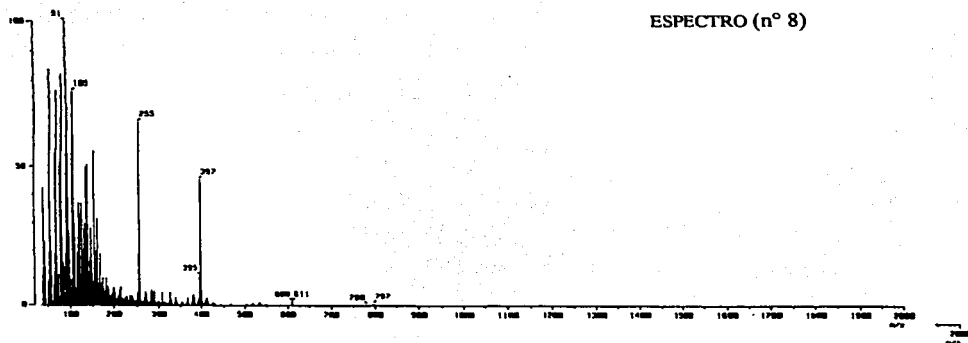


ESPECTRO (n°7)

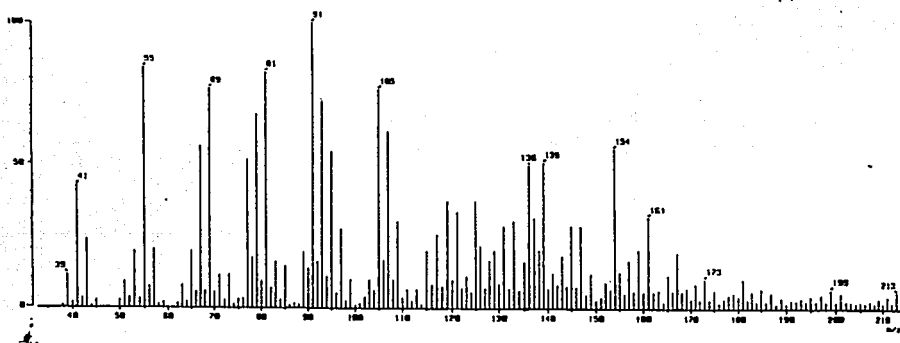


DIFENIL ACETATO DE TIGOGENINA

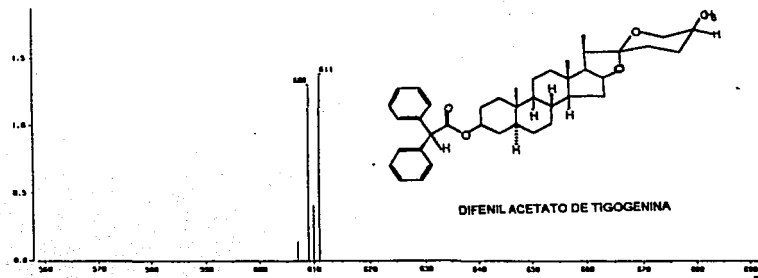
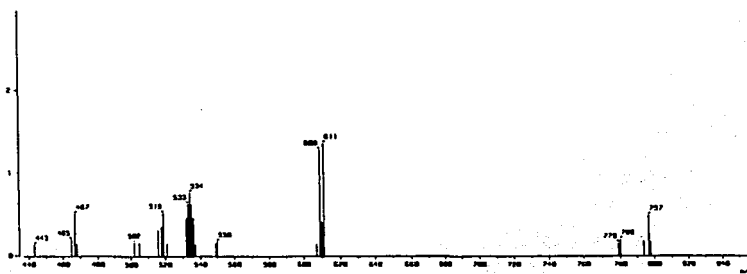
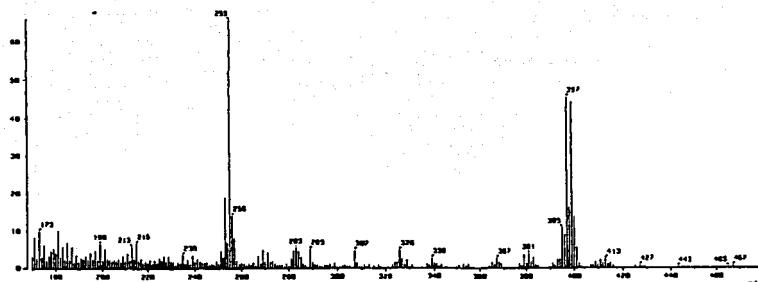




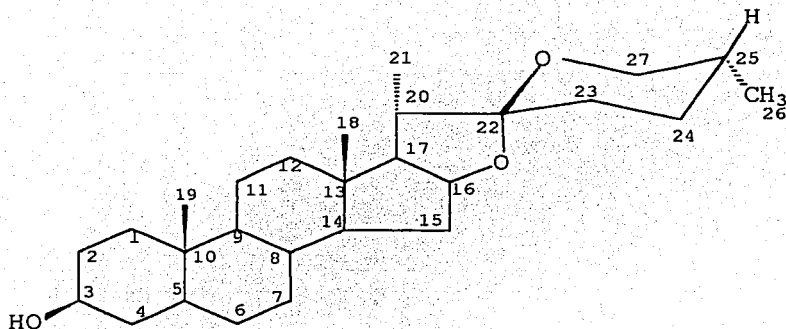
DIFENIL ACETATO DE TIGOGENINA



ESPECTRO (n° 8)



Numeración de las sapogeninas esteroidales



CAPÍTULO V

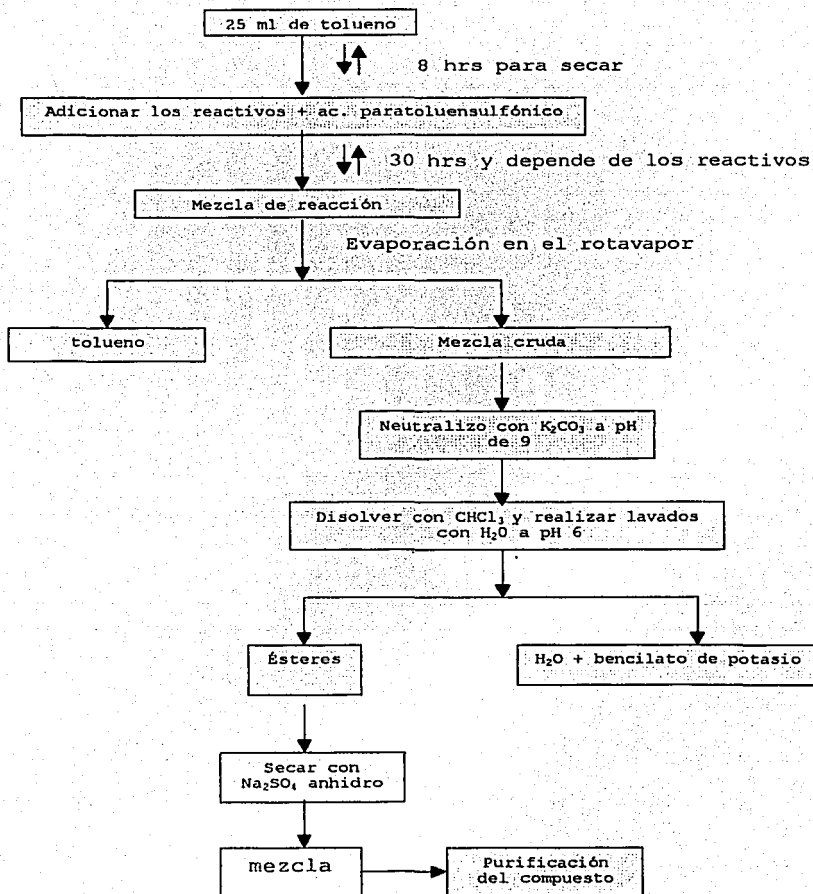
CONCLUSIONES

Se prepararon por primera vez a partir de las sapogeninas de origen natural los siguientes nuevos compuestos, Bencilato de Diosgenina, Bencilato de Tigogenina, y Difenil Acetato de Tigogenina ya que no se encuentran reportados en la literatura química.

- Para el Bencilato de Diosgenina; se reportan sus constantes físicas así como sus espectros de IR, RMN^H y EM-FAB. los rendimientos obtenidos fueron de 21.0% y 10.32% de compuesto puro.
- Para el Bencilato de Tigogenina; se reportan sus constantes físicas, se identificó por sus espectros de IR, y EM-FAB, se efectuaron tres síntesis y el máximo rendimiento obtenido fue 64% en mezcla cruda. Este compuesto necesita prepararse otra vez con el objeto subir los rendimientos y completar, los estudios espectroscópicos con el espectro de RMN^H. En este derivado el exceso de calentamiento por 75hrs originó junto con el exceso de ácido paratoluensulfónico que parte del producto se quemara.
- Para el Difenil Acetato de Tigogenina; se reportan igualmente sus constantes físicas y la identificación se realizó por IR, RMN^H y EM-FAB. el rendimiento obtenido en producto crudo fue de 34.8% y un rendimiento total de 0.55%

- Es necesario estudiar la reacción partiendo de un Ácido Bencilico reactivo analítico, calentar la reacción con ebullición suave sin prolongar el calentamiento más de 50hrs y controlar la cantidad, necesaria de Ácido Paratoluensulfónico, no excediendo de 3% con relación al Ácido Bencilico. El rendimiento puede mejorarse, si las sapogeninas de que se parte presentan una sola mancha en ccf. Purificándose previamente.
- Se concluye que este método para la obtención de derivados esteroidales no es muy bueno por los bajos rendimientos que presenta, sin embargo se implemento una nueva técnica para obtener bencilatos de compuestos esteroidales de alto peso molecular, que se resume en el siguiente esquema.

Esquema



CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

1. Windaus tokoro, *Physiol. Chem.* 150, 205 (1925)
2. Morrison A.L. Königstein, and A. Cohen, *The Synthesis of Neurotropic and Musculotropic Stimulators and Inhibitors Part IV. Benzilic Acid Derivatives.* *J. Chemistry soc.* 45, 2887-2890 (1950)
3. Tsukamoto, *J. Pharm. Soc. Japan* 56, 135 (1936)
4. Linder, Ernest. "Toxicología de los alimentos" 2ª edición Ed. Acribia España Zaragoza Pp 10-12 (1995)
5. Coppola p. "Estudios de la saponina del maguey" tesis profesional facultad de Química U.N.A.M. (1928)
6. Domínguez X.A. Métodos de investigación Fitoquímica Ed. Limusa, México 2ª edición Pp. 149-159 (1979)
7. Muñoz Rivera Mirian. Determinación de saponinas y taninos y acción antibiótica en algunas plantas silvestres mexicanas. tesis profesional facultada de química U.N.A.M (1979)
8. Bazu N. And Rastogi R.P. Triterpenoids saponis and sapogenins. *Phytochemistry*, 6, 1249-1270 (1967)
9. Index Merck
10. Martindale the Pharmacopeia 26 th edn, Pharmaceutical press, London 393 (1972)
11. Shoppee W. Charles, *Chemistry of the steroids* 2ª edición. Ed. Butterworths, London 419-423 (1964)
12. McMurry John, *Química Orgánica*, Ed. Iberoamericana, 3ª Edición México D.F. 767-796 (1994)
13. Malinow. M.R. Mc Laughlin, p., Kohler, G.O. Prevention of elevated cholesterolemia in monkeys. *Steroids*, 29 105-110, (1977)
14. J.Kouam.A. Epherem Nkengrack. Z. Taneé Fomum two new triterpoid saponins from *erythrina sigmoidea*. *J. Of Natural product.* 54 1288-1292 (1991)
15. Geroge R. Pettit, Dennis L. Delbert L. Herald, Isolation and structure of cytostatic steroidal saponins from african medicinal plant *Balanites Aegyptica*, *J. Of Natural product*, 54 1491-1502 (1991)
16. Yulin Jiang, Micheline Haag-Berrurier, Robert Anton, structure of a new saponin from the bark of *mimosa tenuiflora* 54 1247-1253 (1991)
17. María Iorizzi, Luigi Minale Raffaele Riccio, starfish saponins, *J. Of Natural product.* part 46 steroidal glycosides and polyhydroxysteroids from the starfish *culcita novaeguineae* *J. Of Natural products*, 54 1254-1264 (1991)

18. Alfonso Espada and Ricardo Riguera, Boussingnoside E, a new triterpenoids saponins from the tubers of Boussingaultia baselloides, J. Of Natural products, 60 17-19 (1991)
19. M. Amoros B. Fauconnier, and R.L. Gire, effect of saponin from Anagallis arvensis on experimental Herpes simplex Keratitis in rabbits. Planta medica, 54 128-131 (1988)
20. William Charles Evans, and Trease, Farmacognosia 13ª edición, editorial Iiteramerican, McGraW-Hill, 519-559 (1989)
21. Uribe Lamas, Angel, Métodos usados para determinación de saponinas, tesis profesional de la U.N.A.M., Fac. de Química, (1987)
22. J. Adrian -R- Frangne, la Ciencia de los alimentos de la A a la Z editorial. Aribia S.A. Zaragoza (España) 254 (1990)
23. Owen R. Fennema, Química de los alimentos, editorial Acribia S.A. Zaragoza (España) 779-781 (1993)
24. Louis f. Fieser and Mary Fieser, steroids, Reinhold publishing corporation, 2ª edición 547-554 and 810-846 (1976)
25. Armando Nogelli, Química Orgánica, edición, Buenos Aires, 835-888 (1954)
26. K.Peter C. Volhardt, química orgánica ediciones omega S.A. Barcelona (España) 319-320 (1994)
27. Egar Stall, Thin layer chromatography, Spinger Verlang, New York, 40 (1965)
28. Pretsch. Clerc. Seibl. Simon, tables of espectral data for structure determination of organic compounds 2º edition, springer-verlag (1989)