



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“LA REDUCCIÓN DE 23E-BENCILIDEN  
ESPIROSTANOS CON  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  EN ÁCIDO ACÉTICO  
COMO FUENTE DE DERIVADOS FUROSTÁNICOS Y  
ESPIROSTÁNICOS”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:**

**MANUEL ANTONIO RAMOS ENRÍQUEZ**



**MÉXICO, D.F.**

**AÑO 2013**



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:** José Manuel Méndez Stivalet

**Vocal:** Blas Flores Pérez

**Secretario:** Martín Andrés Iglesias Arteaga

**1er Suplente:** Elena Guadalupe Ramírez López

**2do Suplente:** José Norberto Farfán García

Sitio donde se desarrolló el tema:

Facultad de Química. División de Estudios de Posgrado. Edificio B.  
Laboratorio 201. Departamento de Química Orgánica.

**Asesor del tema:**

\_\_\_\_\_  
Dr. Martín Andrés Iglesias Arteaga

**Supervisor técnico:**

\_\_\_\_\_  
M. en C. Margarita Romero Ávila

**Sustentante:**

\_\_\_\_\_  
Manuel Antonio Ramos Enríquez

# LA REDUCCIÓN DE 23*E*-BENCILIDEN ESPIROSTANOS CON NaBH<sub>3</sub>CN EN ÁCIDO ACÉTICO COMO FUENTE DE DERIVADOS FUROSTÁNICOS Y ESPIROSTÁNICOS

## ÍNDICE

1. Justificación.....	1
2. Objetivos .....	1
2.1. General.....	1
2.2. Particulares.....	1
3. Hipótesis .....	1
4. Introducción .....	2
5. Antecedentes .....	3
5.1. Sapogeninas Esteroidales (SE) .....	3
5.1.1. Generalidades.....	3
5.1.2. Características estructurales .....	4
5.2. Fuentes naturales de obtención de SE .....	5
5.3. Reactividad de SE .....	7
5.4. Reactividad de la cadena lateral espirocetálica .....	7
5.4.1. Reacciones características de sustitución en C-23 de SE.....	10
5.4.2. Reacciones de apertura del sistema espirocetálico.....	13
5.5. Caracterización de SE con técnicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) .....	16
6. Desarrollo Experimental y Resultados .....	17
6.1. General.....	17
6.2. Método general de síntesis de bencilidenespirostanos .....	17
6.3. Método general de reducción de benciliden espirostanos .....	19
7. Discusión de resultados .....	23
7.1. Síntesis de 23-bencilidenespirostanos .....	23
7.2. Reducción de 23-bencilidenespirostanos.....	23
7.3. Caracterización RMN .....	24

7.3.1. Derivados [23(23')E]-bencilidenfurostánicos 48a y 48b.....	25
7.3.2. Derivados 23-bencilespirostánicos.....	27
7.3.3. Derivado 23-bencil-furostánico 50b.....	30
7.4. Mecanismo de reacción.....	32
8. Conclusiones .....	35
9. Bibliografía.....	36

## 1. Justificación

La modificación de la cadena lateral de las Sapogeninas Esteroidales ha recibido considerable atención desde hace más de 60 años, debido a que este proceso está involucrado en la síntesis de diferentes esteroides bioactivos que incluyen hormonas sexuales y adrenocorticales, así como compuestos con actividad citotóxica o estimuladores del crecimiento vegetal entre muchos otros.

Es por este motivo que el presente trabajo está dirigido al estudio de la reducción de 23*E*-benciliden espirostanos como forma de introducir modificaciones en la cadena lateral de las sapogeninas esteroidales.

## 2. Objetivos

### 2.1. General

- Estudiar la reducción de 23*E*-benciliden espirostanos de las series 25*R* y 25*S* con NaBH<sub>3</sub>CN en ácido acético.

### 2.2. Particulares

- Identificar y caracterizar los derivados obtenidos utilizando las técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear y Difracción de Rayos X.
- Hacer propuestas de mecanismos de reacción para los procesos de reducción observados.

## 3. Hipótesis

La presencia de la agrupación benciliden en la posición C-23 de la cadena lateral espiroestánica, debe producir variaciones en la reactividad de este fragmento, induciendo procesos de reducción no descritos hasta el presente.

#### 4. Introducción

Los esteroides comprenden un grupo de productos naturales de gran importancia debido a su amplia distribución en la naturaleza y relevancia dentro de muchas funciones en los organismos vivos. Dentro de esta extensa familia de compuestos se encuentran las Sapogeninas Esteroidales (SE), cuyo uso como materias primas en la síntesis de esteroides bioactivos es de gran importancia.

El descubrimiento de que las SE pueden emplearse como materias primas en la síntesis de hormonas sexuales, glicósidos cardiotónicos, promotores del crecimiento vegetal, y recientemente antitumorales como cefalostatinas y ritterazinas, ha hecho que el diseño de métodos para modificar la cadena lateral de las SE sea un campo intensamente explorado.

En el presente trabajo se describe el estudio de la reducción de 23*E*-benciliden espirostanos como forma de introducir modificaciones en la cadena lateral SE.

## 5. Antecedentes

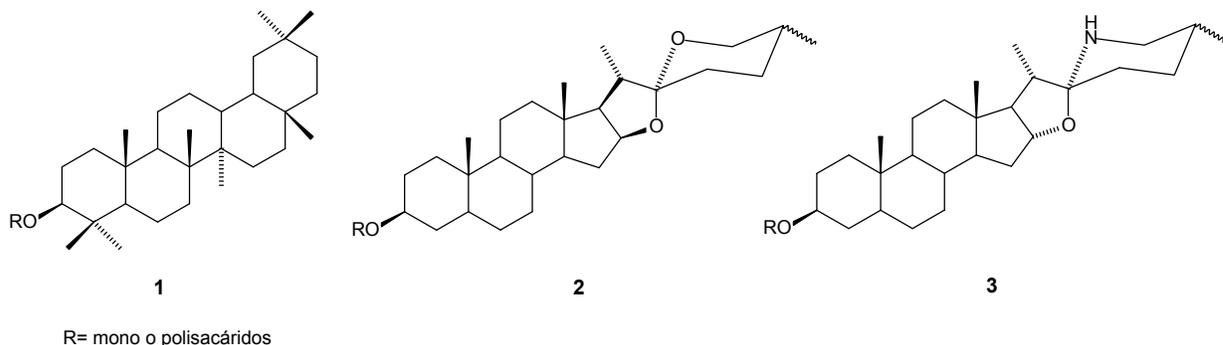
### 5.1. Sapogeninas Esteroidales

#### 5.1.1. Generalidades

Las Sapogeninas Esteroidales (SE) son metabolitos distribuidos en la naturaleza en forma de glicósidos de alto peso molecular llamados saponinas. Estos glicósidos están formados por uno o más carbohidratos, entre los que se encuentran la D-glucosa, D-galactosa, D-xilosa, L-arabinosa, L-fucosa, L-ramnosa, ácido glucurónico y ácido galacturónico, que están unidos a una parte denominada “aglicón” o “aglicona” a través de un enlace glicosídico.<sup>1-5</sup>

La mayoría de las saponinas reduce la tensión superficial de las disoluciones acuosas formando espumas estables lo que permite que la savia de algunas plantas que contienen saponinas se emplee como jabón; de ahí el nombre de saponina (del latín sapon = jabón).<sup>1-3</sup>

El aglicón o porción no glicosídica de la saponina es llamada genina o sapogenina. Dependiendo del tipo de sapogenina presente, las saponinas se clasifican en dos clases o familias (Figura 1): glicósidos triterpénicos **(1)** y glicósidos esteroidales **(2)**; sin embargo, Hostettman y Martson distinguen una tercera categoría que son los glicósidos de alcaloides esteroidales **(3)**.<sup>2-4</sup>

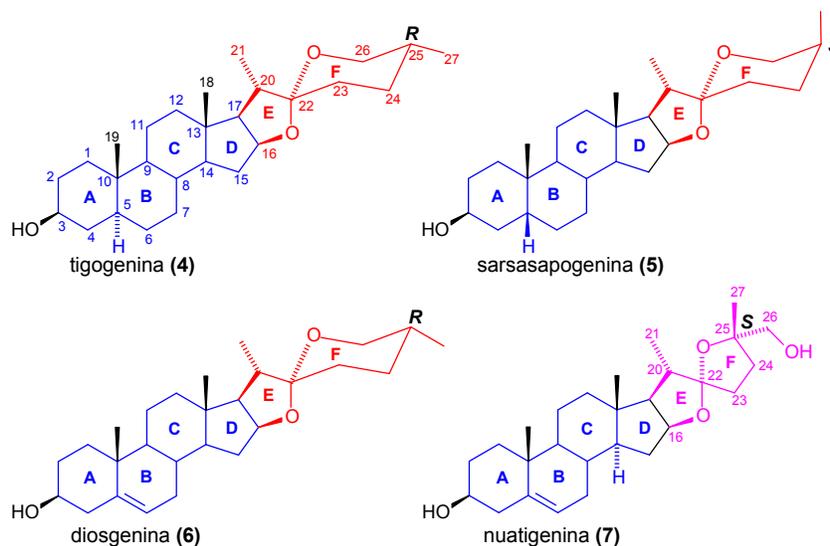


**Figura 1.** Estructuras de las tres principales clases de saponinas<sup>2</sup>

Las saponinas han sido ampliamente estudiadas en los campos de la fitoquímica y la farmacología debido a sus propiedades medicinales, además de que estos compuestos tienen importancia industrial como materias primas para la síntesis parcial de fármacos esteroidales.<sup>3,6</sup>

### 5.1.2. Características estructurales

Todas las SE tienen un esqueleto de 27 átomos de carbono y poseen un núcleo de **ciclopentanoperhidrofenantreno**, además de una cadena lateral espirocetálica que está formada por dos fragmentos heterocíclicos unidos a través del carbono C-22. Los heterociclos E y F son consecuencia de una cetalización intramolecular que tiene lugar después de la introducción de un grupo carbonilo en C-22 y de los grupos hidroxilos en C-16 y C-26.<sup>3,6</sup> En general estos compuestos se dividen en **16,22:22,26-diepoxicolestanos** o **espirostanos (4-6)** y **16,22:22,25-diepoxicolestanos** o **furoespirostanos (7)** (Figura 2).<sup>7</sup>



**Figura 2.** Algunos ejemplos de saponinas con cadenas laterales **espiroestánicas** y **furoespiroestánicas**<sup>7,8</sup>

Aunque es posible encontrar otros tipos de SE en la naturaleza, las estructuras de **espiroestano (4-6)** y **furoespiroestano (7)** son las que se presentan con mayor frecuencia.<sup>7,9</sup> En plantas frescas, es común que el hidroxilo de C-26 se encuentre

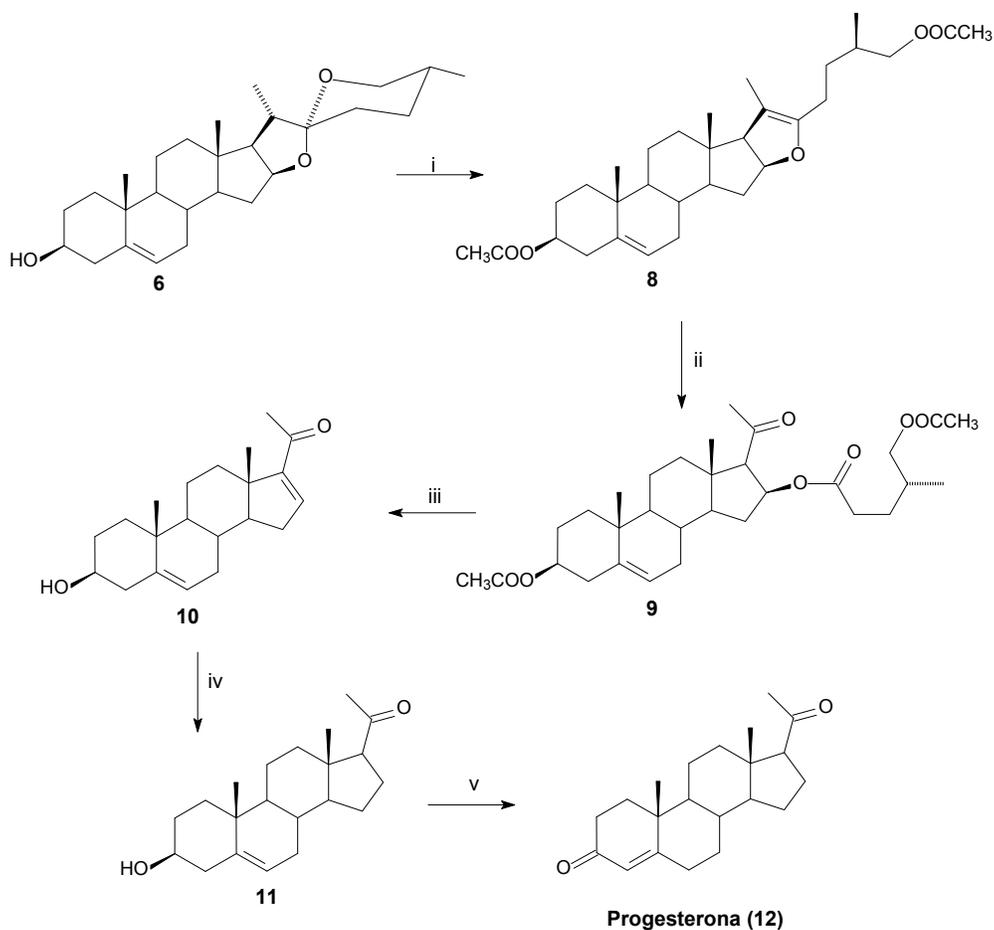
unido a un azúcar, dejando un esqueleto de tipo furostánico, que por hidrólisis, conduce espontáneamente a un derivado espirostánico.<sup>3</sup>

Si bien el esqueleto hexacíclico de los espirostanos puede ser portador de diferentes grupos funcionales en distintas posiciones, las principales variaciones estereoquímicas pueden encontrarse en las posiciones C-5 y C-25. Dependiendo de la configuración en C-5 las SE, como los esteroides en general, se agrupan en las series  $5\alpha$  (**4**) o  $5\beta$  (**5**), aunque existe un grupo adicional en el que C-5 es  $sp^2$ , que es clasificado como  $\Delta^5$  (**6,7**). Las SE pueden clasificarse adicionalmente, según la orientación ecuatorial o axial del metilo enlazado a C-25, en las series  $25R$  (**4,6**) o  $25S$  (**5**) respectivamente (Figura 2).<sup>3,7,10</sup>

## 5.2. Fuentes naturales de obtención de SE

Las SE están presentes principalmente en las monocotiledóneas de las familias: Asparagaceae, Costaceae, Poaceae, Dioscoraceae, Amaryllidaceae, Agavaceae y Liliaceae; y dicotiledóneas de las familias Solanaceae y Fabaceae. Algunas especies como *Strophantus* y *Digitalis*, contienen tanto SE como glicósidos cardiotónicos.<sup>4,5,10</sup>

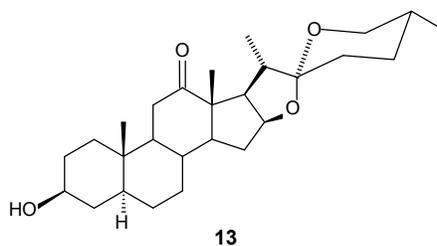
Sin duda la sapogenina esteroidal más utilizada debido a su interés como materia prima en la síntesis de derivados esteroidales que poseen actividad biológica es la diosgenina (**6**), que fue aislada originalmente de la planta *Dioscorea tokoro* Makino por Tsukamoto y colaboradores en el año 1936.<sup>11</sup> Este metabolito está disponible en grandes cantidades (5-10%) en los rizomas de diferentes plantas y es utilizado como materia prima en el proceso industrial de fabricación de hormonas sexuales como la progesterona (**12**) (Esquema 1).<sup>4</sup> La diosgenina se extrae principalmente de especies de América Central (*Dioscorea composita*, *Dioscorea floribunda*, *Dioscorea mexicana*, *Dioscorea spiculiflora*) así como de las especies asiáticas *Dioscorea deltoidea* y *Dioscorea zingiberensis*.<sup>3,10</sup>



i:  $\text{Ac}_2\text{O}/ 200^\circ\text{C}$ ; ii:  $\text{CrO}_3/ \text{AcOH}$ ; iii:  $\text{NaOH}/ \text{EtOH}$ ; iv:  $\text{H}_2/\text{Pd}$ ; v: 1)  $\text{Br}_2$ , 2)  $\text{CrO}_3$ , 3)  $\text{Zn}/ \text{AcOH}$

**Esquema 1.** Aplicación de la degradación de Marker de la cadena lateral de SE a la síntesis de progesterona (12).<sup>12,13</sup>

La hecogenina (13) es otra SE con importancia sintética e industrial que fue aislada por primera vez de *Hechtia texensis* (Bromeliaceae) y que actualmente se obtiene de diversos tipos de *Agaves* como *Agave sisalana* (sisal) y *Agave fourcroydes* (Figura 3).<sup>3,10,14</sup>



**Figura 3.** Estructura química de la hecogenina<sup>10</sup>

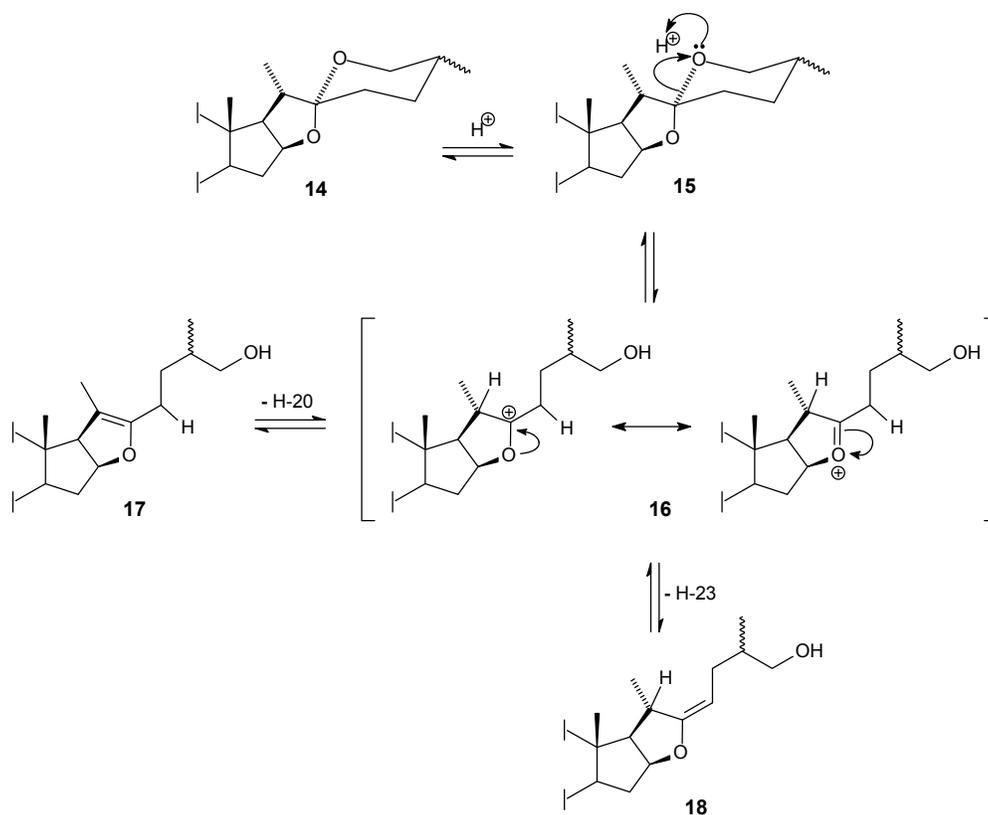
La síntesis de esteroides bioactivos como hormonas sexuales, anticonceptivos, cefalostatinas y ritterazinas, promotores del crecimiento vegetal, entre otros, a partir de SE implica modificaciones tanto en el núcleo esteroideal como en la cadena lateral.<sup>15-18</sup>

### 5.3. Reactividad de SE

El perfil de reactividad del núcleo de [ciclopentanoperhidrofenantreno](#) de las SE es semejante a lo descrito para los esteroides en general. Las características distintivas de reactividad de las sapogeninas esteroidales están condicionadas por la presencia de la cadena lateral espirocetálica.

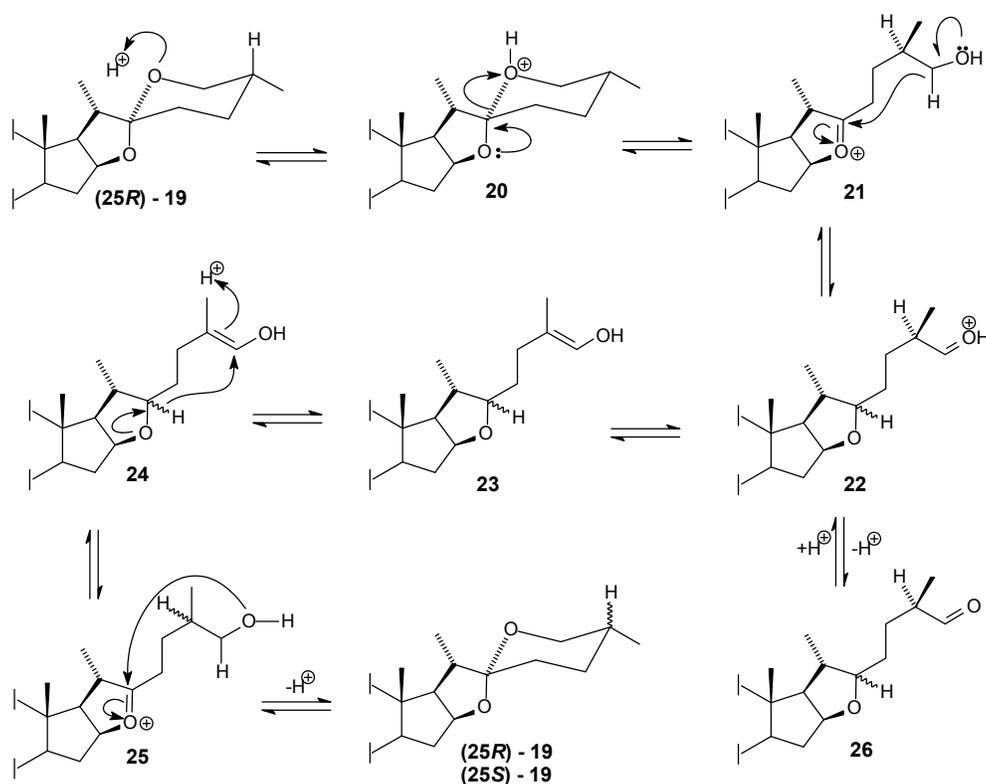
### 5.4. Reactividad de la cadena lateral espirocetálica

Se conoce que en disolución ácida la cadena lateral espirocetálica experimenta la apertura reversible del anillo F, a través de un equilibrio, que incluye dos formas enónicas posibles (**17**, **18**).<sup>20,21,22</sup> El éter de enol **18**, producto de dicho equilibrio, ha sido señalado como el intermediario responsable de una gran variedad de reacciones de la cadena lateral, haciendo susceptible la posición C-23 a ataques electrofílicos (Esquema 2).



**Esquema 2.** Equilibrio en medio ácido de la cadena lateral espirocetálica<sup>21,22</sup>

Las primeras investigaciones en el campo de las SE hicieron evidente que el tratamiento en medio ácido de estos compuestos producía la isomerización de C-25, dejando intacto el carbono espirocetálico.<sup>15</sup> Woodward y colaboradores postularon un mecanismo de óxido-reducción para este proceso, concluyendo que el paso clave es la transferencia reversible de un hidruro entre C-22 y C-26 que involucra la formación de iones oxonio (Esquema 3).<sup>23</sup>

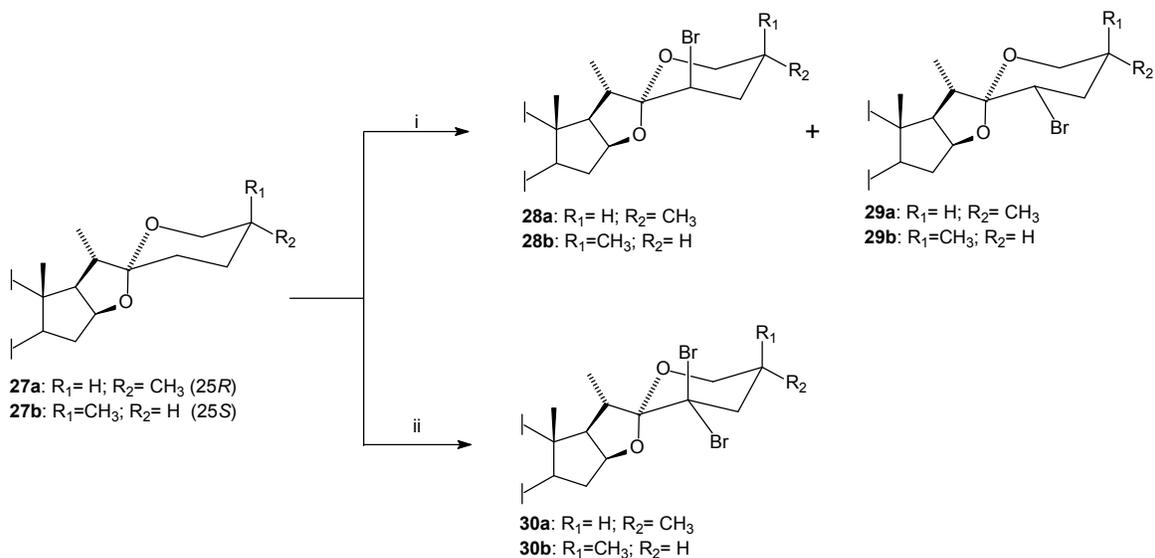


**Esquema 3.** Mecanismo de epimerización del C-25 de SE propuesto por Woodward y colaboradores<sup>23</sup>

La configuración absoluta del C-25 tiene relevancia en algunas de las transformaciones de la cadena lateral, pues los productos y los rendimientos pueden variar dependiendo de la configuración de dicho centro quiral. Del mismo modo, las SE que tienen un sustituyente en la posición C-23 muestran diferentes perfiles de reactividad, modificando el espectro de reacciones en los que el fragmento espiroacetálico puede participar.<sup>24-26</sup>

### 5.4.1. Reacciones características de sustitución en C-23 de SE

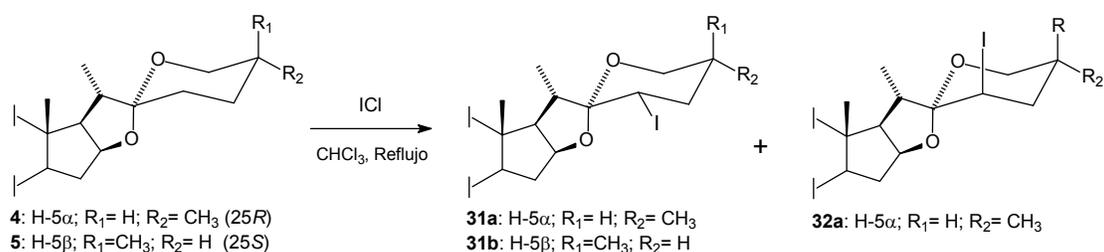
Marker y Rohrmann descubrieron que al tratar las SE con bromo en ácido acético, se producían los isómeros axial (**28a/b**) y ecuatorial (**29a/b**) de los compuestos bromados. Otros investigadores demostraron que era posible también la dibromación en C-23 (**30a/b**) agregando un exceso de bromo al medio de reacción (Esquema 4).<sup>27-30</sup>



i: Br<sub>2</sub>/ AcOH; ii: Exceso Br<sub>2</sub> / AcOH

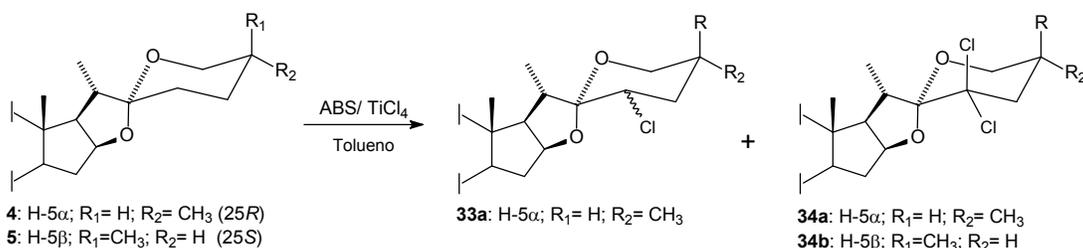
#### Esquema 4. Bromación de sapogeninas esteroidales<sup>27-30</sup>

En 1966 Callow y colaboradores describieron que el tratamiento de 25R y 25S-espirostanos con cloruro de yodo en cloroformo a reflujo, producía la introducción estereoselectiva de un átomo de yodo ecuatorial en la posición C-23. En trabajos más recientes se demostró que la tigogenina (25R) (**4**), bajo estas condiciones de reacción, producía la formación de los isómeros 23R y 23S mientras que en el caso de la sarsasapogenina (25S) (**5**) se obtenía únicamente el isómero 23S (Esquema 5).<sup>25</sup>



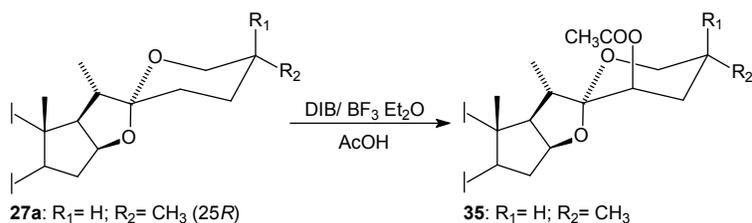
**Esquema 5.** Síntesis de 23-yodoespirostanos de tigogenina (**4**) y sarsasapogenina (**5**)<sup>25</sup>

Recientemente se ha informado que el uso de anhídrido bencenselénico (ABS) en presencia de tetracloruro de titanio produce la cloración de SE en C-23, al parecer, debido a que la reacción entre ABS y el cloruro de titanio genera una fuente del electrófilo Cl<sup>+</sup> que se introduce a la cadena lateral (Esquema 6).<sup>17</sup>



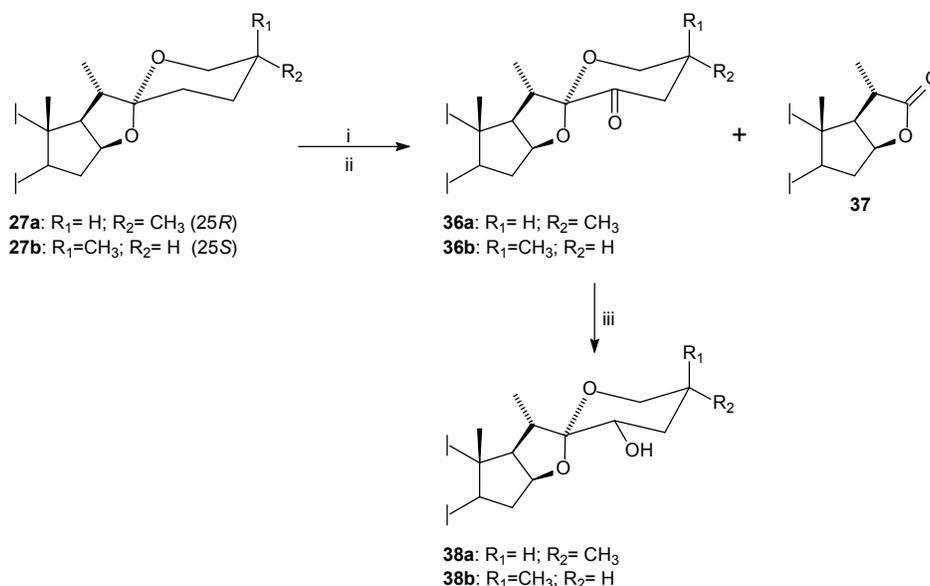
**Esquema 6.** Síntesis de 23-clorosapogeninas con ABS y tetracloruro de titanio<sup>17</sup>

Las sapogeninas de la serie 25*R* reaccionan con diacetoxiyodosobenceno (DIB) en presencia de un ácido de Lewis en ácido acético produciendo la acetoxilación estereoselectiva en el C-23 en un sólo paso (**35**) (Esquema 7).<sup>31</sup>



**Esquema 7.** Síntesis de (25*R*)-23*R*-acetoxi-espirostanos<sup>31</sup>

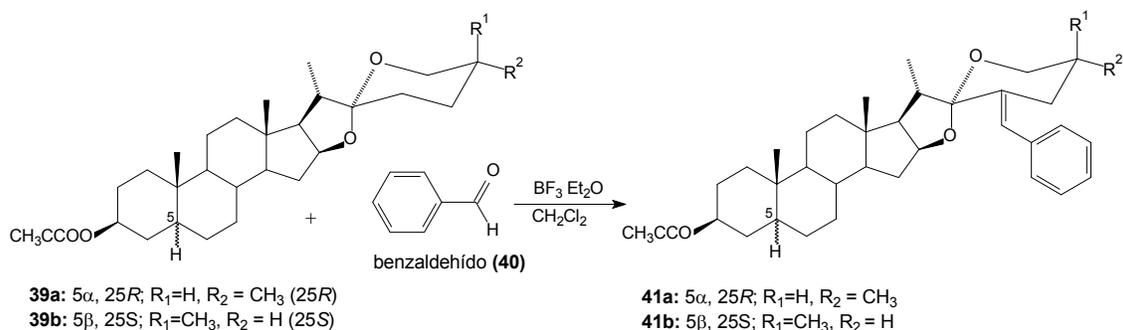
El tratamiento de acetatos de sapogeninas con nitrito de sodio y eterato de trifluoruro de boro, seguido de una cromatografía en columna usando como soporte alúmina neutra (Actividad de Brockmann III) produce la 23-oxosapogenina (**36a/b**) correspondiente y en menor proporción la lactona dinorcolánica (**37**).<sup>32</sup> Las 23-oxosapogeninas resultantes pueden reducirse con borohidruro de sodio en metanol, para introducir un hidroxilo en la posición C-23 (**38a/b**) (Esquema 8).<sup>33</sup>



i: NaNO<sub>2</sub>/ BF<sub>3</sub> Et<sub>2</sub>O;<sup>32</sup> ii: Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Brockmann III;<sup>32</sup> iii: NaBH<sub>4</sub>/ MeOH<sup>33</sup>

**Esquema 8.** Algunas reacciones de oxidación y reducción en C-23 de SE.<sup>32,33</sup>

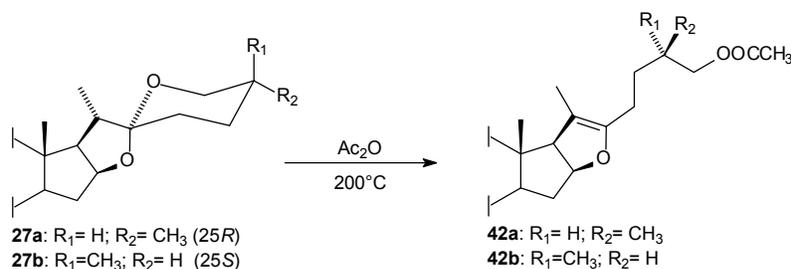
Muy recientemente se reportó que los acetatos de tigogenina (**39a**) y sarsasapogenina (**39b**) reaccionan estereoselectivamente con benzaldehído (**40**) produciendo una condensación aldólica, inducida por la presencia de eterato de trifluoruro de boro (Esquema 9). Esta reacción produce la introducción de un grupo *E*-benciliden en la posición C-23 de la cadena lateral espirocetálica (**41a/b**), dando lugar a derivados útiles para la síntesis de lactonas dinorcolánicas funcionalizadas.<sup>34</sup>



**Esquema 9.** Síntesis de 23*E*-beniliden espirostanos de las series 25*R* y 25*S*<sup>34</sup>

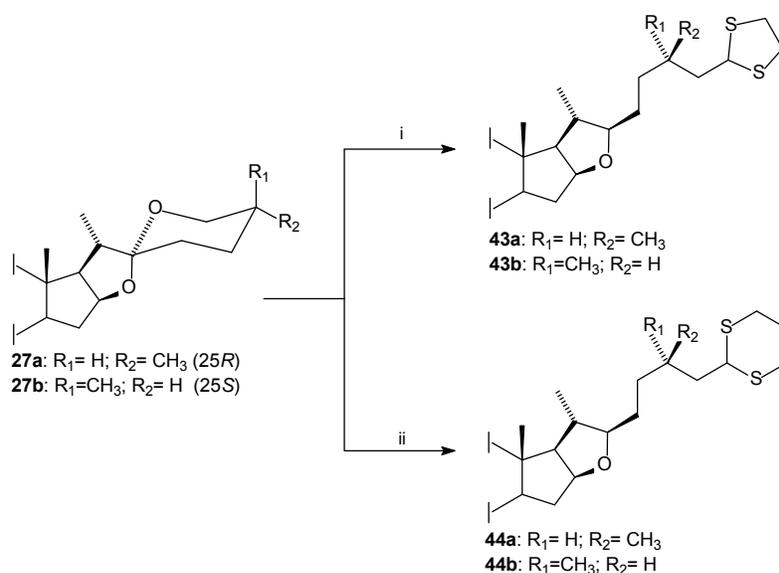
#### 5.4.2. Reacciones de apertura del sistema espirocetálico

El proceso de degradación de Marker de la cadena lateral espirocetálica para la obtención de derivados tipo 20-cetopregnanos (Esquema 1), implica como primer paso el tratamiento de SE con anhídrido acético a 200°C, lo que produce derivados de furostano, o pseudosapogeninas (**42a/b**) con buenos rendimientos (Esquema 10).<sup>12,26</sup>



**Esquema 10.** Apertura de la cadena lateral espirocetálica con anhídrido acético<sup>26</sup>

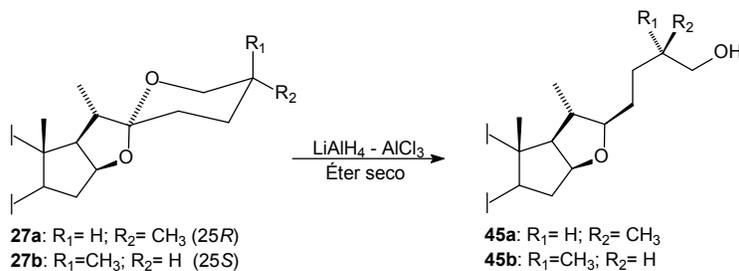
Djerassi y colaboradores descubrieron que al tratar las SE con etanoditiol o 1,3-propanoditiol en presencia de eterato de trifluoruro de boro producían los 26-tioacetales **43a/b** y **44a/b** (Esquema 11).<sup>35</sup>



i: Etanoditiol/ BF<sub>3</sub> Et<sub>2</sub>O, T.A.; ii: 1,3-propanoditiol/ BF<sub>3</sub> Et<sub>2</sub>O, T.A

**Esquema 11.** Método de Djerassi para la obtención de 26-tioacetales de SE de las series 25*R* y 25*S*<sup>35</sup>

El tratamiento de SE con hidruro de litio aluminio y cloruro de aluminio en éter seco produce la apertura reductiva del anillo F generando la dihidrosapogenina correspondiente (**45a/b**) (Esquema 12).<sup>36</sup>



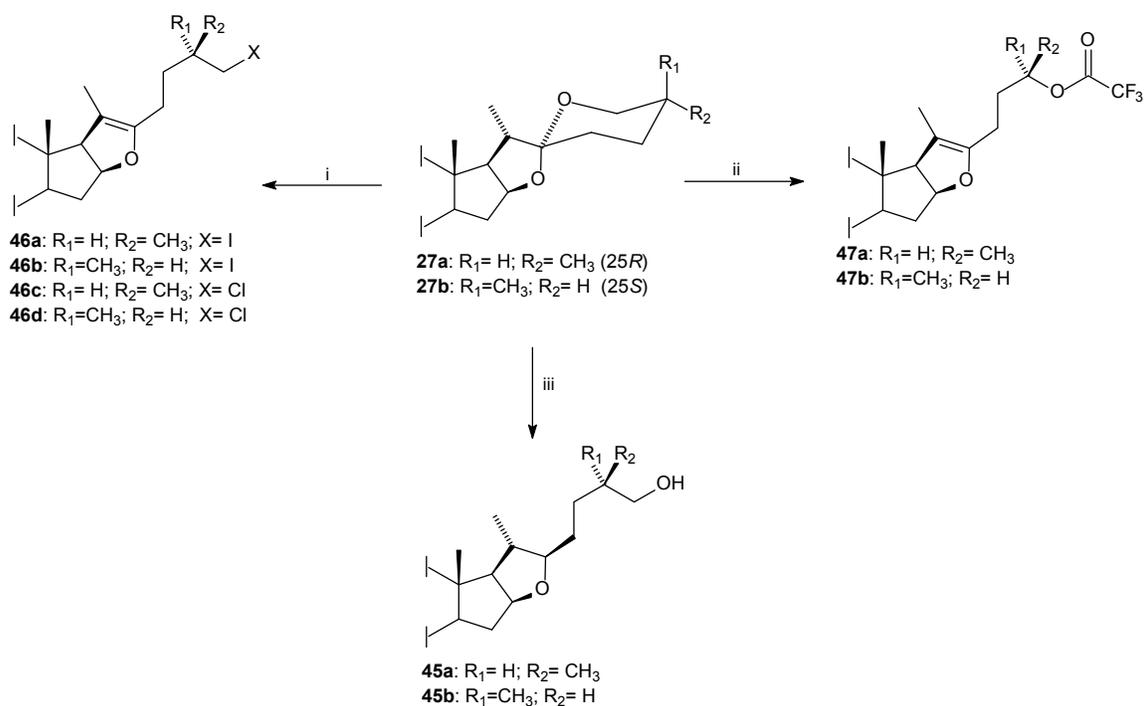
**Esquema 12.** Apertura de la cadena lateral espirocetálica utilizando LiAlH<sub>4</sub>-AlCl<sub>3</sub><sup>36</sup>

El interés que actualmente existe en la síntesis de análogos de cefalostatinas y ritterazinas se debe a su potente actividad antitumoral, esto motivó a muchos investigadores a diseñar nuevas reacciones que permitieran modificar la cadena espirocetálica de las SE en condiciones más suaves y resolviendo inconvenientes de los métodos previamente estudiados.

LaCour y Fuchs, reportaron que las SE tratadas con haluros de trifenilfosfina ( $\text{Ph}_3\text{P}\cdot\text{X}_2$ ) en condiciones esencialmente neutras, producen los éteres de  $\omega$ -halo-enoles **46a-d** con rendimientos entre 75 y 93% (Esquema 13).<sup>37</sup>

Posteriormente se reportó un método de apertura del anillo espirocetálico utilizando sulfonato de trifluoroacetyl trifluorometano (TFAT por sus siglas en inglés), que permite la obtención de las pseudosapogeninas **47a/b** con un grupo trifluoroacetilo en el C-26. Este método, además de tener buenos rendimientos, permite diferenciar los grupos protectores de la cadena lateral espirocetálica y del núcleo esteroidal en la caracterización y manipulación química (Esquema 13).<sup>38</sup>

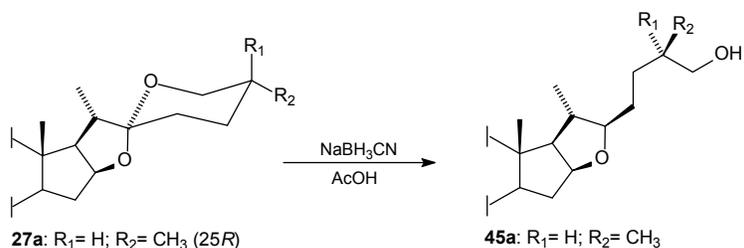
Lee y colaboradores describieron que el tratamiento de SE con eterato de trifluoruro de boro y trietilsilano en cloruro de metileno, producía la dihidrosapogenina **45a/b** a través de una apertura reductiva estereoselectiva del anillo F (Esquema 13).<sup>39</sup>



i:  $\text{Ph}_3\text{P X}_2$  ( $\text{X} = \text{I}$  ó  $\text{Cl}$ ) / 2,6-dimetilpiridina,  $140^\circ\text{C}$ .<sup>37</sup> ii: TAFT /  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $30 - 40^\circ\text{C}$ .<sup>38</sup> iii:  $\text{Et}_3\text{SiH} / \text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$ .<sup>39</sup>

**Esquema 13.** Algunos métodos actuales de apertura de la cadena lateral espirocetálica

Winterfeldt desarrolló un método para la apertura reductiva del anillo F en SE de la serie 25*R* utilizando cianoborohidruro de sodio en ácido acético obteniendo la dihidrosapogenina correspondiente **45a** (Esquema 14).<sup>40</sup>



**Esquema 14.** Apertura de la cadena lateral con NaBH<sub>3</sub>CN<sup>40</sup>

### 5.5. Caracterización de SE con técnicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Actualmente los experimentos de RMN mono- y bidimensionales son las herramientas más comúnmente utilizadas para la caracterización de SE ya que suministran la más completa información estructural de la molécula, aún cuando no se tenga conocimiento previo de la estructura.<sup>7,9</sup> Hoy en día cada nueva molécula descrita se acompaña en su caracterización de datos adquiridos utilizando estas técnicas, lo que permite tener un antecedente que facilita el establecimiento de la estructura de nuevos derivados, además de que ya existen trabajos en donde se tabulan los corrimientos químicos observados en RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de las SE.<sup>9,41,42</sup>

## 6. Desarrollo Experimental y Resultados

### 6.1. General

El curso de las reacciones se siguió mediante cromatografía en capa delgada (CCD), usando placas ALUGRAM<sup>®</sup>SIL G/UV<sub>254</sub> de MACHEREY-NAGEL. Las placas cromatográficas se sumergieron en una disolución de vainillina al 1% en HClO<sub>4</sub> al 50%, y se calentaron hasta la aparición de color. Los productos se purificaron por cromatografía en columna, empleando gel de sílice de KIESELGEL 60 MACHEREY-NAGEL. Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Electrothermal Engineering LTD. Los espectros de RMN se registraron en equipos Varian INOVA 400MHz, utilizando las señales del CDCl<sub>3</sub> en 7.26 ppm y 77.00 ppm como referencias para <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C respectivamente. La asignación de las señales de RMN se hizo con ayuda de la combinación de técnicas de RMN mono y bidimensional que incluyeron, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, COSY, NOESY, HSQC y HMBC. Todos los espectros de RMN 2D se registraron con las secuencias de pulsos y los parámetros recomendados por el fabricante y fueron procesados empleando el programa MestreNova.

### 6.2. Método general de síntesis de bencilidenespirostanos

A una disolución de la sapogenina esteroideal acetilada (**39a/b**) (1 mmol) y benzaldehído (**40**) (212 mg, 2 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (30 mL) se le adicionó BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O recién destilado (6 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que la materia prima se consumió totalmente. La mezcla de reacción se lavó con agua (8 x 50 mL), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro) y el disolvente se evaporó a sequedad. El residuo amarillo producido se purificó por cromatografía en columna empaquetada con gel de sílice (25 g) utilizando como eluyente mezclas de hexano/ acetato de etilo de composición 99/1 a 90/10 para producir los correspondientes bencilidenespirostanos (**41a/b**).

**Tabla 1** Rendimiento de las reacciones de preparación de **41a** y **41b**

Material de partida	Tiempo de reacción (h)	Producto	Rendimiento (%)
<b>39a</b>	6	<b>41a</b>	90
<b>39b</b>	2	<b>41b</b>	88

**Acetato de [23(23')E,25R]-23(23')-benciliden-5 $\alpha$ -espirostan-3 $\beta$ -ol (41a).**

Rendimiento 491 mg (90 %). Pf. 213.8-214.8°C (*recristalizado de acetato de etilo*) Lit.<sup>34</sup> 215-216 °C. **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 7.37 – 7.30 (m, 2H, H-meta), 7.27 – 7.19 (m, 3H, H-orto and H-para), 6.57 (s, 1H, H-23'), 4.69 (ddd,  $J$  = 16.2, 11.2, 4.9 Hz, 1H, H-3), 4.44 (dd,  $J$  = 16.0, 7.2 Hz, 1H, H-16), 3.61 – 3.49 (m, 2H, H-26 ax./eq.), 2.78 (dd,  $J$  = 13.3, 3.7 Hz, 1H, H-24, eq.), 2.59 (dq,  $J$  = 6.9 Hz, 1H, H-20), 2.14 – 2.06 (m, 1H, H-24 ax.), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub> acetilo), 1.90 (dd,  $J$  = 8.9, 7.2 Hz, 1H, H-17), 1.10 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.85 (s, 3H, H-19), 0.83 (s, 3H, H-18), 0.80 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3H, H-27). **<sup>13</sup>C RMN** (100 MHz)  $\delta$  ppm: 36.7 C-1, 27.4 C-2, 73.6 C-3, 34.0 C-4, 44.6 C-5, 28.5 C-6, 32.2 C-7, 35.0 C-8, 54.2 C-9, 35.6 C-10, 21.1 C-11, 40.2 C-12, 40.8 C-13, 56.2 C-14, 31.6 C-15, 80.4 C-16, 61.6 C-17, 16.7 C-18, 12.3 C-19, 37.3 C-20, 14.8 C-21, 110.5 C-22, 137.1 C-23\*, 32.9 C-24, 33.1 C-25, 66.1 C-26, 17.2 C-27, 170.7 C=O acetilo, 21.4 CH<sub>3</sub> acetilo, 122.8 C-23', 137.2 *ipso\**, 129.1 *orto*, 128.1 *meta*, 126.5 *para*.

**Acetato de [23(23')E,25S]-23(23')-benciliden-5 $\beta$ -espirostan-3 $\beta$ -ol (41b).**

Rendimiento 481 mg (88%). Pf. 197.0-198.2°C (*recristalizado de acetato de etilo*) Lit.<sup>34</sup> 197-198 °C. **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 7.32 (m, 2H, H-meta), 7.21 (m, 3H, H-orto and H-para), 6.72 (s, 1H, H-23'), 5.07 (m, 1H, H-3), 4.47 (dd,  $J$  = 16.0, 7.2 Hz, 1H, H-16), 4.05 (dd,  $J$  = 11.0, 4.2 Hz, 1H, H-26 ax.), 3.32 (d,  $J$  = 11.0 Hz, 1H, H-26 eq.), 2.72 (ddd,  $J$  = 13.6, 5.6, 1.2 Hz, 1H, H-24 eq.), 2.54 – 2.45 (m, 1H, H-20), 2.29 (dd,  $J$  = 13.6, 5.2 Hz, 1H, H-24 ax.), 1.92-1.84 (m, 1H, H-17) 2.04 (s, 1H, CH<sub>3</sub> acetilo), 1.11 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.99 (s, 3H, H-19), 0.99 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 3H, H-27), 0.85 (s, 3H, H-18). **<sup>13</sup>C RMN** (100 MHz)  $\delta$  ppm: 30.6 C-1, 25.0 C-2, 70.7 C-3, 31.6 C-4, 39.3 C-5, 26.4 C-6, 26.4 C-7, 35.2 C-8, 40.0 C-9, 35.0 C-10, 20.9 C-11, 40.4 C-12, 40.9 C-13, 56.4 C-14, 30.7 C-15, 81.0 C-16, 61.8 C-17, 16.7 C-18, 23.9 C-19, 39.8 C-20, 14.7 C-21, 111.4 C-22, 136.8 C-23\*, 30.9 C-24,

30.3 C-25, 65.1 C-26, 18.3 C-27, 170.7 C=O acetilo, 21.5 CH<sub>3</sub> acetilo, 122.8 C-23', 137.2 *ipso\**, 129.1 *orto*, 128.0 *meta*, 126.5 *para*.

### 6.3. Método general de reducción de benciliden espirostanos

A una disolución de acetato de [23(23')*E*,25*R*]-23(23')-benciliden-5 $\alpha$ -espirostan-3 $\beta$ -ol (**41a**) (273 mg, 0.5 mmol) en ácido acético (5 mL) y cloruro de metileno (2 mL), se le agregó NaBH<sub>3</sub>CN (63 mg, 1 mmol) y la mezcla se agitó hasta desaparición de la materia prima (CCD, hexano/acetato de etilo 8/1 dos eluciones, tiempo de reacción 30 min.) La mezcla de reacción se vertió sobre agua (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 mL). La fase orgánica se lavó con agua (5 x 30 mL) y con disolución saturada de NaCl (3 x 20 mL), se secó y se evaporó al vacío para producir 287 mg de la mezcla de los compuestos **48a** y **49a** que fueron separados en una columna cromatográfica empacada con gel de sílice (9 g) utilizando una mezcla de hexano/ acetato de etilo 8/1 como sistema de elución

**3-Monoacetato de [23(23')*E*,22*S*,25*R*]-23(23')-benciliden-5 $\alpha$ -furostan-3 $\beta$ ,26-diol (48a).** Rendimiento 176.3 mg (0.32 mmol, 64%). Pf. 139.8-142.7 °C (*recristalizado de acetato de etilo*) <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm: 7.32 (d, *J*=1.5 Hz, 2H, H-orto), 7.31 (d, *J*=1.0 Hz, 2H, H-meta), 7.21 (dt, *J*=5.6, 3.8 Hz, 1H, H-para), 6.45 (d, *J*=1.8 Hz, 1H, H-23'), 4.68 (tt, *J*=11.3, 4.9 Hz, 1H, H-3 $\alpha$ ), 4.39 (ddd, *J*=8.7, 7.6, 5.8 Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 3.87 (d, *J*=9.2 Hz, 1H, H-22 $\alpha$ ), 3.55 (ddd, *J*=11.2, 5.3, 3.0 Hz, 1H, H-26a), 3.42 (dd, *J*=8.7, 5.5 Hz 1H, OH), 3.18 (ddd, *J*=12.0, 8.5, 3.7 Hz, 1H, H-26b), 2.53 (ddd, *J*=14.3, 4.6, 2.0 Hz, 1H, H-24a), 2.19 (dd, *J*=14.3, 10.9 Hz, 1H, H-24b), 2.12 – 2.04 (m, 1H, H-20), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub> acetilo), 1.01 (d, *J*=6.7 Hz, 3H, H-21), 0.91 (s, 3H, H-18), 0.87 (d, *J*=6.7 Hz, 3H, H-27), 0.84 (s, 3H, H-19), 0.67 (ddd, *J*=12.0, 10.3, 4.1 Hz, 1H, H-9 $\alpha$ ). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 36.7 C-1, 27.4 C-2, 73.6 C-3, 33.9 C-4, 44.6 C-5, 28.4 C-6, 32.0 C-7, 35.0 C-8, 54.1 C-9, 35.6 C-10, 20.8 C-11, 39.7 C-12, 41.4 C-13, 56.7 C-14, 31.8 C-15, 83.6 C-16, 63.8 C-17, 17.0 C-18, 12.2 C-19, 36.9 C-20, 17.7 C-21, 97.1 C-22, 139.0 C-23\*, 29.8 C-24, 34.3 C-25, 65.3 C-26, 18.2 C-27, 21.4 CH<sub>3</sub>

acetato, 170.7 C=O acetato, 128.9 C-23', 137.4 *ipso*, 128.5 *orto*, 128.3 *meta*, 126.7 *para*. **EM (IE, 70 eV):** 548 M<sup>+</sup> (12.3), 489 (24.2), 476 (15.3), 475 (41.0), 470 (13.3), 416 (13.6), 415 (36.1), 315 (32.9), 256 (21.6), 255 (95.7), 253 (13.7), 188 (15.8), 187 (100.0), 173 (10.7), 169 (10.0), 161 (27.8), 159 (16.6), 157 (12.4), 147 (22.3), 145 (22.2), 143 (18.4), 141 (11.1), 133 (13.4), 131 (48.5), 129 (21.8), 128 (12.2), 121 (14.3), 119 (14.0), 117 (25.1), 115 (15.0), 109 (10.5), 107 (23.4), 105 (26.7), 95 (15.0), 93 (21.1), 91 (43.2), 81 (17.4), 79 (16.4), 67 (10.2).

**Acetato de (23S,25R)-23-bencil-5 $\alpha$ -espirostan-3 $\beta$ -ol (49a).** Rendimiento 88.9 mg (0.16 mmol 32%). Pf. 207.0-209.7 °C. (*recristalizado de acetona/cloruro de metileno*) **<sup>1</sup>H RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm: 7.28 (dd, *J*=8.4, 7.0 Hz, 2H, H-orto), 7.21 – 7.16 (m, 1H, H-para), 7.16 – 7.12 (m, 2H, H-meta), 4.68 (tt, *J*=11.5, 4.9 Hz, 1H, H-3 $\alpha$ ), 4.41 (dt, *J*=9.0, 7.1 Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 3.43 (ddd, *J*=10.9, 4.6, 2.0 Hz, 1H, H-26 eq.), 3.30 (dd, *J*=11.0, 11.0 Hz, 1H, H-26 ax.), 2.97 (dd, *J*=13.8, 3.4 Hz, 1H, H-23'a), 2.43 – 2.35 (m, 1H, H-20), 2.34 – 2.27 (m, 1H, H-23'b), 1.89 (m, 1H, H-23), 2.01 (s, CH<sub>3</sub> acetilo), 1.00 (d, *J*=7.0 Hz, 3H, H-21), 0.83 (s, 3H, H-19), 0.81 (s, 3H, H-18), 0.71 (d, *J*=6.6 Hz, H-27). **<sup>13</sup>C RMN** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 36.7 C-1, 27.4 C-2, 73.6 C-3, 34.0 C-4, 44.6 C-5, 28.5 C-6, 32.2 C-7, 34.9 C-8, 54.2 C-9, 35.6 C-10, 21.0 C-11, 40.1 C-12, 41.0 C-13, 56.1 C-14, 31.6 C-15, 80.8 C-16, 61.6 C-17, 16.7 C-18, 12.3 C-19, 36.9 C-20, 14.4 C-21, 111.2 C-22, 40.3 C-23, 34.3 C-24, 30.7 C-25, 66.0 C-26, 16.9 C-27, 21.4 CH<sub>3</sub> acetato, 170.6 C=O acetato, 37.2 C-23', 140.9 *ipso*, 129.1 *orto*, 128.2 *meta*, 125.8 *para*. **EM (IE, 70 eV):** 548 M<sup>+</sup> (2.9), 470 (11.8), 389 (17.3), 379 (21.4), 329 (20.1), 316 (10.8), 315 (41.7), 269 (11.5), 256 (22.0), 255 (100.0), 254 (17.8), 253 (14.8), 229 (28.4), 216 (13.0), 215 (11.7), 214 (23.7), 205 (23.1), 199 (15.4), 187 (15.9), 161 (21.5), 160 (10.7), 159 (18.3), 149 (12.0), 147 (29.8), 145 (18.6), 133 (11.5), 131 (17.1), 129 (10.6), 121 (11.5), 119 (13.0), 118 (19.5), 117 (24.7), 107 (19.6), 105 (16.4), 95 (13.4), 93 (16.8), 91 (51.6), 81 (12.9), 79 (12.3).

La aplicación del método general de reducción de benciliden espirostanos al acetato de [23(23')E,25S]-23(23')-benciliden-5 $\beta$ -espirostan-3 $\beta$ -ol (**41b**) (546 mg, 1 mmol) produjo 578.8 mg de la mezcla de los compuestos **48b**, **49b** y **50b**, que fueron separados en una columna cromatográfica empacada con gel de sílice (17.5 g) utilizando una mezcla hexano/ acetato de etilo de composición 10/1 a 4/1 como sistema de elución.

**3-Monoacetato de [23(23')E,22S,25S]-23(23')-benciliden-5 $\beta$ -furostan-3 $\beta$ ,26-diol (48b).** Rendimiento 283.3 mg (0.52 mmol 52%). Pf. 147.9-149.8°C (*recristalizado de acetato de etilo/cloruro de metileno*). **<sup>1</sup>H RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm: 7.33 (d,  $J=7.7$  Hz, 2H, H-meta), 7.29 – 7.25 (m, 2H, H-orto), 7.21 (t,  $J=7.3$  Hz, 1H, H-para), 6.65 (s, 1H, H-23'), 5.07 (m, 1H, H-3 $\alpha$ ), 4.38 (td,  $J=7.9, 5.3$  Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 3.91 (d,  $J=8.8$  Hz, 1H, H-22 $\alpha$ ), 3.33 (m, 2H, H-26), 2.43 (dd,  $J=13.9, 8.1$  Hz, 1H, H-24a), 2.27 (dd,  $J=13.9, 6.5$  Hz, H-24b), 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub> acetilo), 1.09 (d,  $J=6.8$  Hz, 3H, H-21), 0.99 (s, 3H, H-19), 0.87 (s, 3H, H-19), 0.79 (d,  $J=6.8$  Hz, 3H, H-27). **<sup>13</sup>C RMN** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 30.6 C-1, 25.0 C-2, 70.7 C-3, 30.8 C-4, 37.3 C-5, 26.4 C-6, 26.3 C-7, 35.4 C-8, 40.0 C-9, 35.0 C-10, 20.7 C-11, 39.9 C-12, 41.4 C-13, 56.9 C-14, 32.1 C-15, 83.3 C-16, 64.8 C-17, 16.7 C-18, 23.8 C-19, 37.2 C-20, 18.9 C-21, 94.4 C-22, 139.2 C-23\*, 31.3 C-24, 35.0 C-25, 67.2 C-26, 17.3 C-27, 21.5 CH<sub>3</sub> acetato, 170.7 C=O acetato, 127.7 C-23', 137.9 *ipso*, 128.8 *orto*, 128.2 *meta*, 126.5 *para*. **EM (IE, 70 eV):** 548 M<sup>+</sup> (10.5), 489 (18.1), 475 (23.8), 470 (10.4), 429 (13.5), 416 (18.6), 415 (49.1), 315 (14.6), 256 (21.6), 255 (100.0), 188 (10.9), 187 (69.7), 161 (14.6), 159 (10.5), 147 (15.4), 145 (13.3), 131 (36.4), 129 (11.7), 117 (15.6), 107 (14.8), 105 (15.8), 93 (14.1), 91 (26.0), 83 (14.0), 81 (10.8), 79 (10.4).

**Acetato de (23S,25S)-23-bencil-5 $\beta$ -espirostan-3 $\beta$ -ol (49b).** Rendimiento 98.7 mg (0.18 mmol 18%). Pf. 180.3-181.1°C (*recristalizado de acetona/cloruro de metileno*). **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 7.27 (dd,  $J = 10.0, 4.7$  Hz, 2H, H-orto), 7.18 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H, H-para), 7.13 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H, H-meta), 5.07 (s, 1H, H-3 $\alpha$ ), 4.43 (dd,  $J = 15.9, 7.2$  Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 3.88 (dd,  $J = 10.9, 2.4$  Hz, 1H, H-26

ax.), 3.26 (d,  $J = 11.3$  Hz, 1H, H-26 eq.), 2.97 (dd,  $J=13.7, 3.5$  Hz 1H, H-23'a), 2.33 (m, 2H, H-20, H-23'b), 2.16 – 2.07 (m, 1H, H-23), 2.04 (s, 3H, CH<sub>3</sub> acetilo), 1.03 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 0.99 (s, 3H, H-19), 0.97 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3H, H-27), 0.80 (s, 3H, H-18). **<sup>13</sup>C RMN** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 30.6 C-1, 25.0 C-2, 70.7 C-3, 30.7 C-4, 37.3 C-5, 26.4 C-6, 26.5 C-7, 35.2 C-8, 40.0 C-9, 35.0 C-10, 20.9 C-11, 40.3 C-12, 41.1 C-13, 56.3 C-14, 31.6 C-15, 81.0 C-16, 61.5 C-17, 16.7 C-18, 23.9 C-19, 37.3 C-20, 14.2 C-21, 111.8 C-22, 34.6 C-23\*, 31.8 C-24, 28.0 C-25, 64.3 C-26, 16.6 C-27, 21.5 CH<sub>3</sub> acetato, 170.6 C=O acetato, 37.1 C-23', 140.9 *ipso*, 129.0 *orto*, 128.2 *meta*, 125.7 *para*. **EM (IE, 70 eV):** 548 M<sup>+</sup> (2.2), 470 (10.5), 429 (10.3), 397 (13.9), 379 (17.2), 329 (25.4), 256 (21.9), 255 (100.0), 229 (23.1), 214 (14.2), 205 (17.7), 161 (12.6), 159 (11.2), 149 (13.5), 147 (13.7), 145 (10.5), 118 (11.5), 117 (10.9), 107 (13.0), 105 (13.0), 93 (11.6), 91 (30.2).

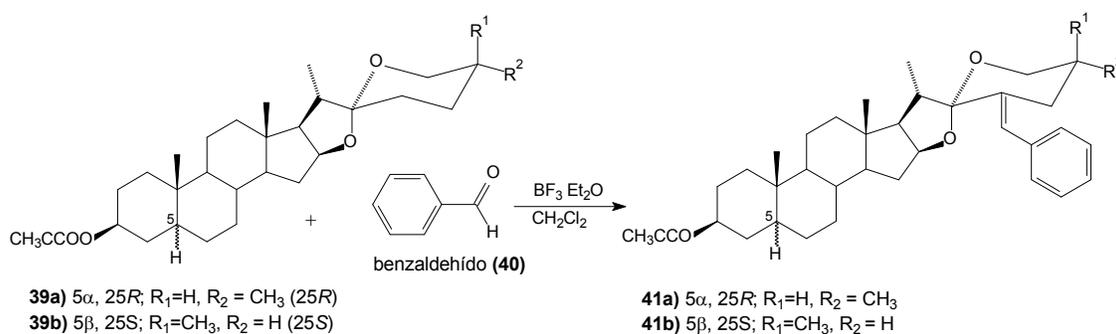
**3-Monoacetato de (22R,23S,25S)-23-bencil-5 $\beta$ -furostan-3 $\beta$ ,26-diol (50b).**

Rendimiento 22.5 mg (0.04 mmol 4%). *Aceite*. **<sup>1</sup>H RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  ppm: 7.33 – 7.24 (m, 2H, H-meta), 7.20 – 7.15 (m, H-orto y H-para), 5.06 (m, H-3 $\alpha$ ), 4.31 (td,  $J=7.6, 4.8$  Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 3.45 (dd,  $J=10.8, 5.0$  Hz, 1H, H-26a), 3.30 (m 2H, H-26b y H-22 $\alpha$ ), 2.87 (dd,  $J=13.0, 5.4$  Hz, 1H, H-23'a), 2.47 – 2.30 (m, 1H, H-23'b), 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub> acetilo), 2.01 (m, 1H, H-20), 1.93 (m, 1H, H-23), 1.02 (d,  $J=6.6$  Hz, 3H, H-21), 0.98 (s, 3H, H-19), 0.86 (s, 3H, H-18), 0.67 (d,  $J=6.6$  Hz, 3H, H-27). **<sup>13</sup>C RMN** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 30.6 C-1, 25.0 C-2, 70.7 C-3, 30.8 C-4, 37.3 C-5, 26.4 C-6, 26.3 C-7, 35.4 C-8, 40.0 C-9, 35.0 C-10, 20.6 C-11, 39.6 C-12, 41.5 C-13, 56.8 C-14, 32.2 C-15, 82.8 C-16, 66.1 C-17, 16.5 C-18, 23.8 C-19, 35.3 C-20, 20.4 C-21, 92.9 C-22, 41.4 C-23, 34.5 C-24, 34.8 C-25, 67.2 C-26, 17.8 C-27, 21.5 CH<sub>3</sub> acetato, 170.7 C=O acetato, 39.5 C-23', 140.7 *ipso*, 129.2 *orto*, 128.2 *meta*, 125.9 *para*. **EM (IE, 70 eV):** 550 M<sup>+</sup> (0.6), 315 (17.8), 256 (20.5), 255 (100.0), 189 (30.7), 161 (10.2), 147 (10.1), 105 (10.4), 91 (37.3).

## 7. Discusión de resultados

### 7.1. Síntesis de 23-bencilidenespirostanos

El tratamiento de las SE (**39a/b**) con benzaldehído (**40**) y  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  según el procedimiento descrito recientemente por nuestro grupo de investigación produjo los 23-bencilidenespirostanos (**41a/b**) con rendimientos entre moderados y buenos (Esquema 13, Tabla 1). El escalado de las cantidades hasta 5 mmol no afectó significativamente el rendimiento obtenido.



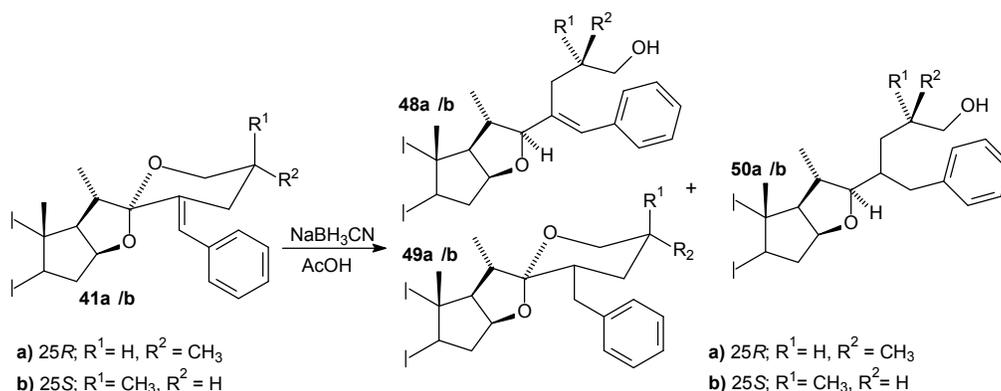
**Esquema 13.** Síntesis de los 23-bencilidenespirostanos **41a** y **41b**

### 7.2. Reducción de 23-bencilidenespirostanos

EL tratamiento del  $[23(23')E,25R]$ -23(23')-bencilidenespirostanos **41a** con  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  en ácido acético produjo una mezcla de dos compuestos que fueron separados e identificados como el  $[23(23')E,25R]$ -23(23')-bencilidenfurostano **48a** y el (23*S*,25*R*)-23-bencilidenespirostanos **49a**.

Al someter al  $[23(23')E,25S]$ -23(23')-bencilidenespirostanos **41b** al mismo tratamiento se obtuvo una mezcla de tres compuestos que tras la separación fueron identificados como el  $[23(23')E,25S]$ -23(23')-bencilidenfurostano **48b**, el (23*S*,25*S*)-23-bencilidenespirostanos **49b** y el (23*S*,25*S*)-23-bencilidenfurostano **50b** (Esquema 14, Tabla 2).

Los intentos de aislar el 23-bencilfurostano **50a** aumentando las cantidades de materia prima **41a** fueron infructuosos y demostraron que, en las condiciones estudiadas, este compuesto no se produce. Las reacciones fueron efectuadas en la escala de 0.5 a 1 mmol de material de partida.



**Esquema 14.** Reacciones de reducción de **41a** y **41b**

**Tabla 2.** Rendimiento de las reacciones de reducción de **41a** y **41b**

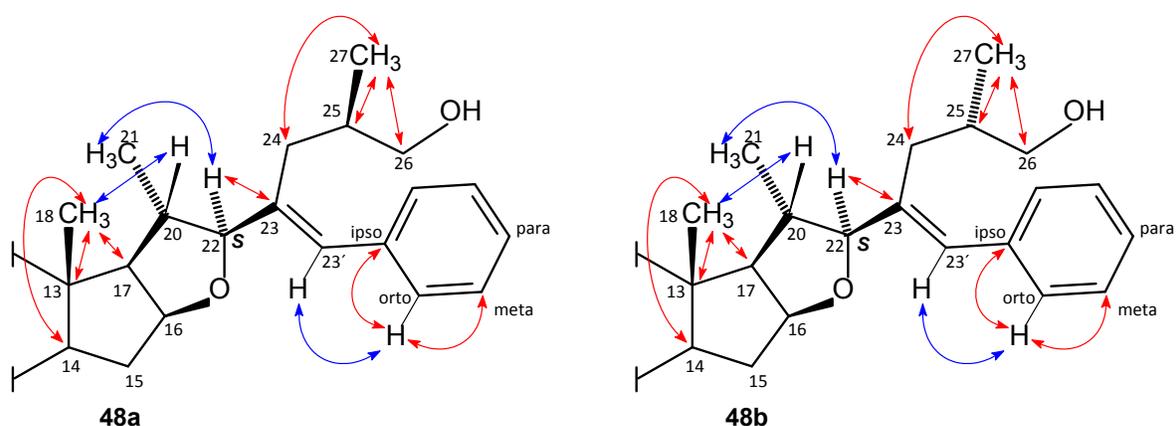
Materia prima	Productos (rendimiento %)		
<b>41a</b>	<b>48a</b> (64)	<b>49a</b> (32)	<b>50a</b> (0)
<b>41b</b>	<b>48b</b> (52)	<b>49b</b> (18)	<b>50b</b> (4)

### 7.3. Caracterización RMN

Las transformaciones realizadas pueden verificarse por la observación de las variaciones en las señales de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C asociadas a los núcleos de los fragmentos modificados. Las correlaciones homonucleares y heteronucleares observadas (Figuras 8, 10 y 12) permitieron determinar la estructura de las cadenas laterales de los compuestos obtenidos. Las Tablas 3 a la 8 muestran las señales de RMN asociadas a las cadenas laterales de los compuestos obtenidos. Para facilitar la comparación en cada una de las tablas se incluyen las señales correspondientes a las materias primas **41a** y **41b**.

### 7.3.1. Derivados [23(23')E]-bencilidenfurostánicos 48a y 48b.

La reducción del carbono 22 espirocetálico y la resultante apertura del anillo F producen cambios drásticos en los espectros RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Tablas 3 y 4). En el espectro de RMN  $^1\text{H}$ , la reducción puede reconocerse por la aparición de una nueva señal correspondiente a H-22 (Tabla 3). El efecto NOE observado entre la señal de los protones del metilo 21 situado en la cara alfa del anillo tetrahydrofuránico y el protón H-22 indican su orientación alfa y se determinó la configuración 22S (Figura 8).



**Figura 8.** Algunas correlaciones **NOE** y **HMBC** en las cadenas laterales de los derivados furostánicos **48a** y **48b**

**Tabla 3.** Señales RMN  $^1\text{H}$  de las cadenas laterales de los derivados furostánicos **48a** y **48b**

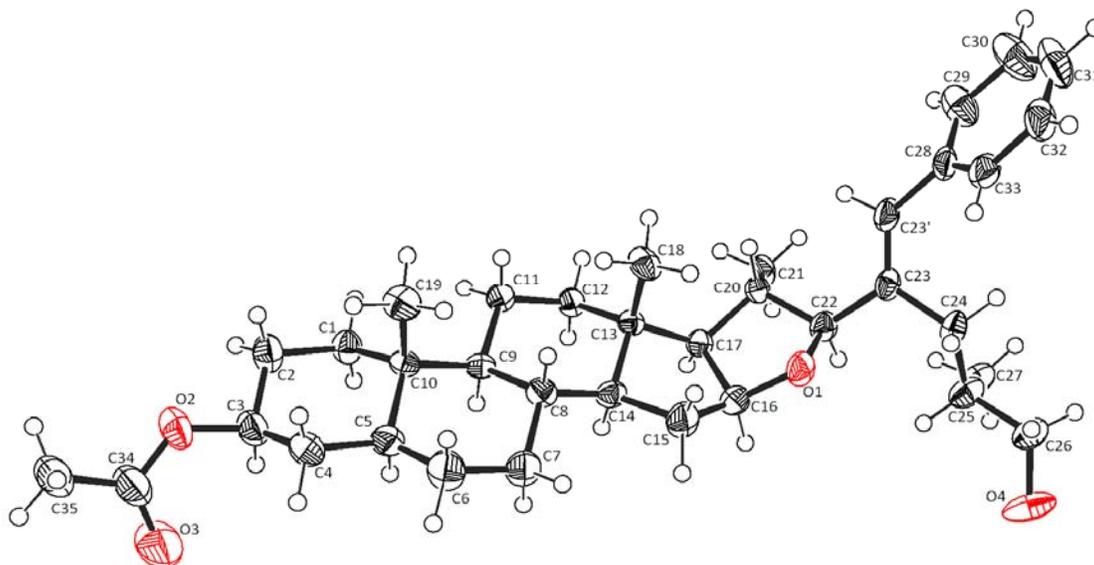
H	41a	48a	41b	48b
H-16	4.44 (dd)	4.39 (ddd)	4.47 (dd)	4.38 (td)
H-18	0.83 (s)	0.91 (s)	0.85 (s)	0.80 (s)
H-20	2.59 (dq)	2.12 – 2.04 (m)	2.54 – 2.45 (m)	2.12
H-21	1.10 (d)	1.01 (d)	1.11 (d)	1.09 (d)
H-22 $\alpha$	-	3.87 (d)	-	3.91 (d)
H-23'	6.57 (s)	6.45 (s)	6.72 (s)	6.65 (s)
H-24 a	2.14 – 2.06 (m) ax.	2.53 (ddd)	2.29 (dd) ax.	2.43 (dd)
H-24 b	2.78 (dd) ec.	2.19 (dd)	2.72 (ddd) ec.	2.27 (dd)
H-26 a	3.61 – 3.49 (m)	3.55 (ddd)	4.05 (dd) ax	3.33 (m)
H-26 b		3.18 (ddd)	3.32 (d) ec.	
H-27	0.80 (d)	0.87 (d)	0.99 (d)	0.79 (d)
H-orto	7.27 – 7.19 (m)	7.32 (d)	7.21 (m)	7.25 (m)
H-meta	7.37 – 7.30 (m)	7.31 (d)	7.32 (m)	7.33 (d)
H-para	7.27 – 7.19 (m)	7.21 (dt)	7.21 (m)	7.21 (t)

En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , la principal evidencia de la reducción efectuada es el corrimiento a campos más altos de las señales de C-22, que en los materiales de partida espirocetálicos aparecen en 110.5 (**41a**) y 111.4 ppm (**41b**) mientras que en los productos de reducción, en los que C-22 ahora forma parte del éter cíclico, aparecen en 97.1 (**48a**) y 94.4 ppm (**48b**) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Señales RMN  $^{13}\text{C}$  de las cadenas laterales de los derivados furostánicos **48a** y **48b**

<b>C</b>	<b>41a</b>	<b>48a</b>	<b>41b</b>	<b>48b</b>
16	80.4	83.6	81.0	83.3
17	61.6	63.8	61.8	64.8
18	16.7	17.0	16.7	16.7
20	37.3	36.9	39.8	37.2
21	14.8	17.7	14.7	18.9
22	110.5	97.1	111.4	94.4
23	137.1	139.0	136.8	139.2
23'	122.8	128.9	122.8	127.7
24	32.9	29.8	30.9	31.3
25	33.1	34.3	30.3	35.0
26	66.1	65.3	65.1	67.2
27	17.2	18.2	18.3	17.3
ipso	137.2	137.4	137.2	137.9
orto	129.1	128.5	129.1	128.8
meta	128.1	128.3	128.0	128.2
para	126.5	126.7	126.5	126.5

La presencia de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  asociadas a la agrupación benciliden indica que este fragmento no fue afectado en la reacción de reducción. Estudios de Difracción de Rayos-X efectuados en un monocristal del compuesto **48a** confirmaron la estructura propuesta (Figura 9).



**Figura 9.** Estructura cristalina de **48a** con los elipsoides térmicos trazados al 50% de probabilidad

### 7.3.2. Derivados 23-bencilespiroestánicos

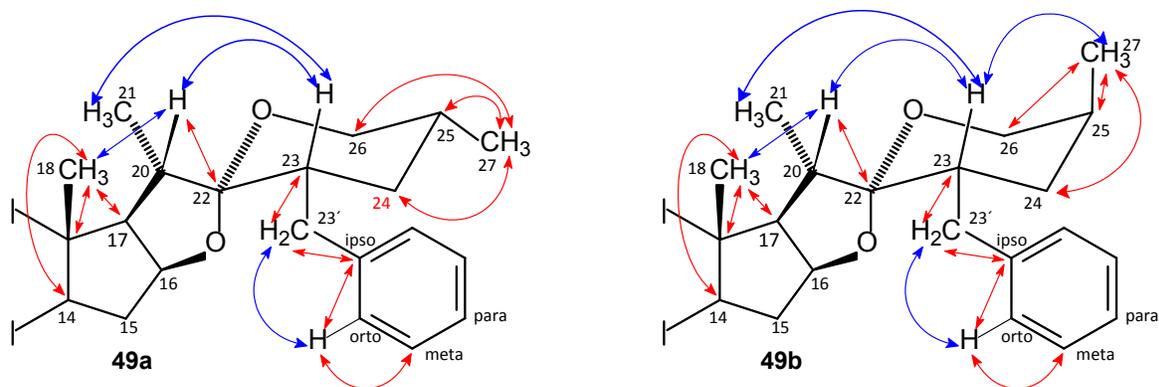
En RMN  $^1\text{H}$  la principal evidencia de la reducción del doble enlace C-23–C23' es la desaparición de la señal correspondiente al protón olefínico C-23', que en los materiales de partida aparecen en 6.57 (**41a**) y 6.72 ppm (**41b**). Adicionalmente, la aparición de nuevas señales correspondientes al par de protones diastereotópicos H-23'a y H-23'b, además de las señales de H-23, hacen evidente la reducción del doble enlace (Tabla 5).

**Tabla 5.** Señales RMN  $^1\text{H}$  de las cadenas laterales de los derivados espiroestánicos **49a** y **49b**

H	41a	49a	41b	49b
H-16	4.44 (dd)	4.41 (dt)	4.47 (dd)	4.43 (dd)
H-18	0.83 (s)	0.81 (s)	0.85 (s)	0.80 (s)
H-20	2.59 (dq)	2.43 – 2.35 (m)	2.54 – 2.45 (m)	2.33 (m)
H-21	1.10 (d)	1.00 (d)	1.11 (d)	1.03 (d)
H-23	-	1.89 (m)	-	2.16 – 2.07 (m)
H-23'a		2.97 (dd)		2.97 (dd)
H-23'b	6.57 (s)	2.34 – 2.27 (m)	6.72 (s)	2.33 (m)
H-26 ax.		3.30 (dd)	4.05 (dd) ax	3.88 (dd)
H-26 ec.	3.61 – 3.49 (m)	3.43 (ddd)	3.32 (d) ec.	3.26 (d)
H-27	0.80 (d)	0.71 (d)	0.99 (d)	0.97 (d)
H-orto	7.27 – 7.19 (m)	7.28 (dd)	7.21 (m)	7.27 (dd)
H-meta	7.37 – 7.30 (m)	7.16 – 7.12 (m)	7.32 (m)	7.13 (d)
H-para	7.27 – 7.19 (m)	7.21 – 7.16 (m)	7.21 (m)	7.18 (t)

Las correlaciones NOE H-23 $\leftrightarrow$ H-20 y H-23 $\leftrightarrow$ H-21 en el compuesto **49a** indican la cercanía espacial de estos núcleos, sólo posible si el protón H-23 se encuentra en posición axial, lo que permite asignar la configuración S al centro quiral C-23. En el caso del compuesto **49b**, la asignación de la configuración 23S puede realizarse de la misma forma, pero en este caso existe una correlación NOE adicional entre H-23 y H-27, que permite corroborar la asignación realizada (Figura 10).

La desaparición de las señales correspondientes a los carbonos olefínicos C-23 y C-23' constituye la principal evidencia de la reducción del doble enlace aportada por la RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 6).

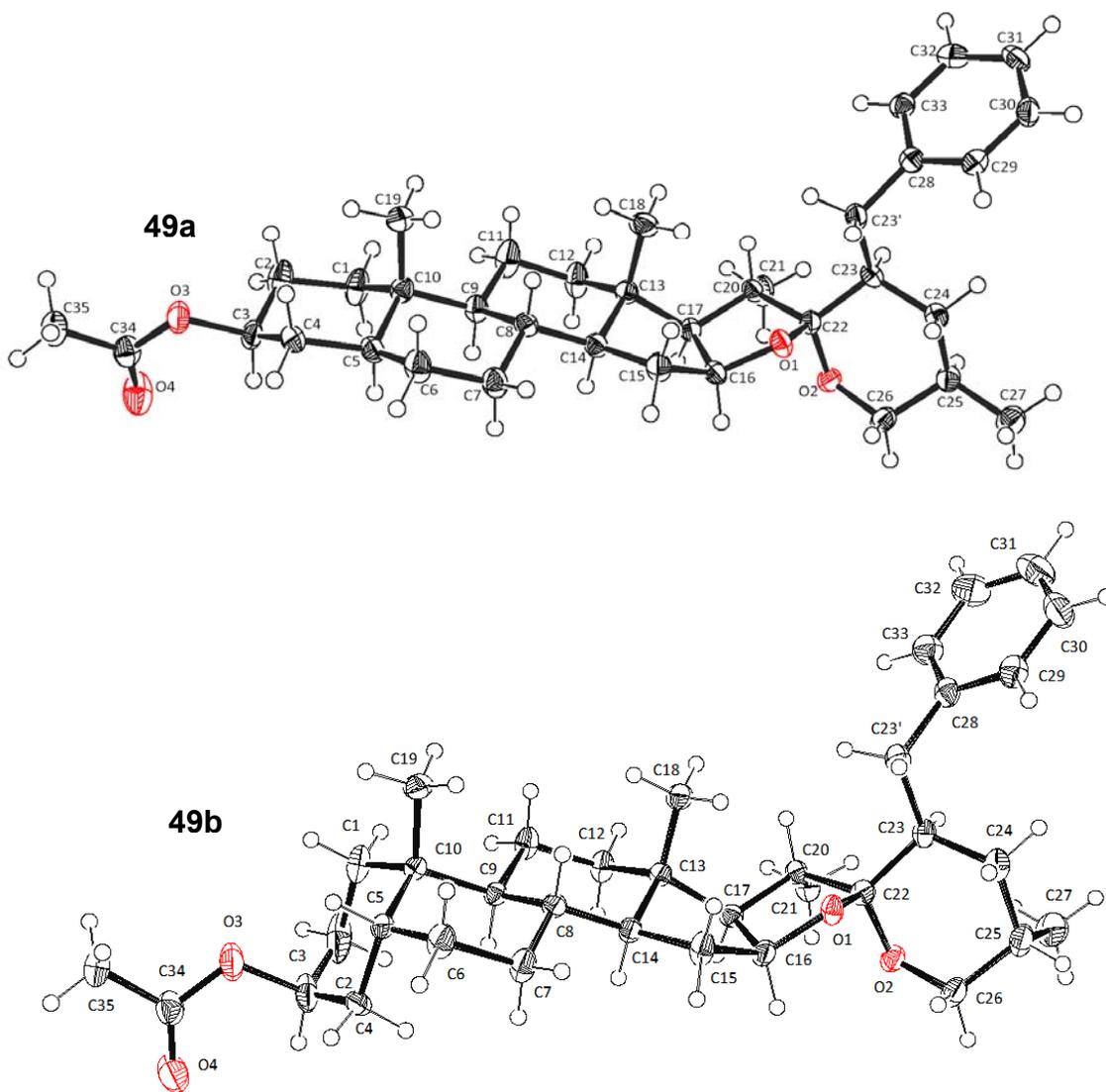


**Figura 10.** Algunas correlaciones **NOE** y **HMBC** en las cadenas laterales de los derivados espirostánicos **49a** y **49b**

**Tabla 6.** Señales RMN  $^{13}\text{C}$  de las cadenas laterales de los derivados espirostánicos **49a** y **49b**

C	41a	49a	41b	49b
16	80.4	80.8	81.0	81.0
17	61.6	61.6	61.8	61.5
18	16.7	16.7	16.7	16.7
20	37.3	36.9	39.8	37.3
21	14.8	14.4	14.7	14.2
22	110.5	111.2	111.4	111.8
23	137.1	40.3	136.8	34.6
23'	122.8	37.2	122.8	37.1
24	32.9	34.3	30.9	31.8
25	33.1	30.7	30.3	28.0
26	66.1	66.0	65.1	64.3
27	17.2	16.9	18.3	16.6
ipso	137.2	140.9	137.2	140.9
orto	129.1	129.1	129.1	129.0
meta	128.1	128.2	128.0	128.2
para	126.5	125.8	126.5	125.7

La integridad del anillo aromático puede verificarse por observación de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  asociadas a esta subestructura. Estudios de Difracción de Rayos-X efectuados en monocristales de los 23-bencilspirostanos **49a** y **49b** confirmaron las estructuras propuestas (Figura 11).

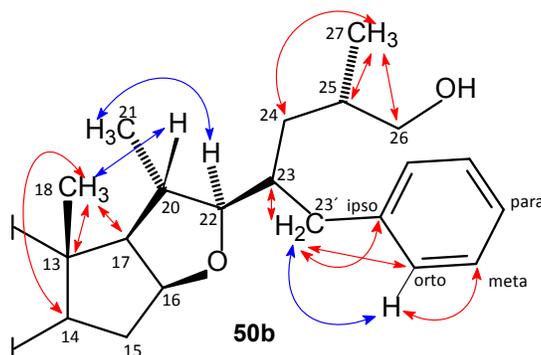


**Figura 11.** Estructura cristalina de los compuestos **49a** (superior) y **49b** (inferior) con los elipsoides térmicos trazados al 50% de probabilidad

### 7.3.3. Derivado 23-bencil-furostánico **50b**

En el espectro RMN  $^1\text{H}$  del compuesto **50b** la presencia de la señal correspondiente H-22 indica la reducción del sistema espirocetálico, mientras que la desaparición de la señal del protón olefínico H-23' (6.72 ppm) característico de la materia prima **41b** y la presencia de las señales correspondientes a H-23, H-23'a y H-23'b evidencian la reducción del doble enlace (Tabla 7). La configuración C-22 puede determinarse por observación de la correlación NOE H-21 $\leftrightarrow$ H-22 que

indica la orientación alfa del protón enlazado a C-22 y se determinó la configuración 22S (Figura 12).



**Figura 12.** Algunas correlaciones **NOE** y **HMBC** en la cadena lateral del derivado furostanico **50b**

**Tabla 7.** Señales RMN  $^1\text{H}$  de la cadena lateral del derivado furostánico **50b**

H	<b>41b</b>	<b>50b</b>
H-16	4.47 (dd)	4.31 (td)
H-18	0.85 (s)	0.86 (s)
H-20	2.54 – 2.45 (m)	2.01 (m)
H-21	1.11 (d)	1.02 (d)
H-22 $\alpha$	-	3.30 (m)
H-23	-	1.93 (m)
H-23'a	6.72 (s)	2.87 (dd)
H-23'b		2.47 – 2.30 (m)
H-26a	4.05 (dd) ax	3.45 (dd)
H-26b	3.32 (d) ec.	3.30 (m)
H-27	0.99 (d)	0.67 (d)
H-orto	7.21 (m)	7.20 – 7.15 (m)
H-meta	7.32 (m)	7.33 – 7.24 (m)
H-para	7.21 (m)	7.20 – 7.15 (m)

En el espectro RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto **50b** la desaparición de las señales olefínicas derivadas del doble enlace C-23–C-23' indican la reducción del doble enlace, mientras que la sustitución de la señal del carbono espirocetálico C-22 (111.4 ppm) por otra que indica la presencia de un éter cíclico (92.9 ppm), hace evidente la reducción efectuada en el C-22 (Tabla 8).

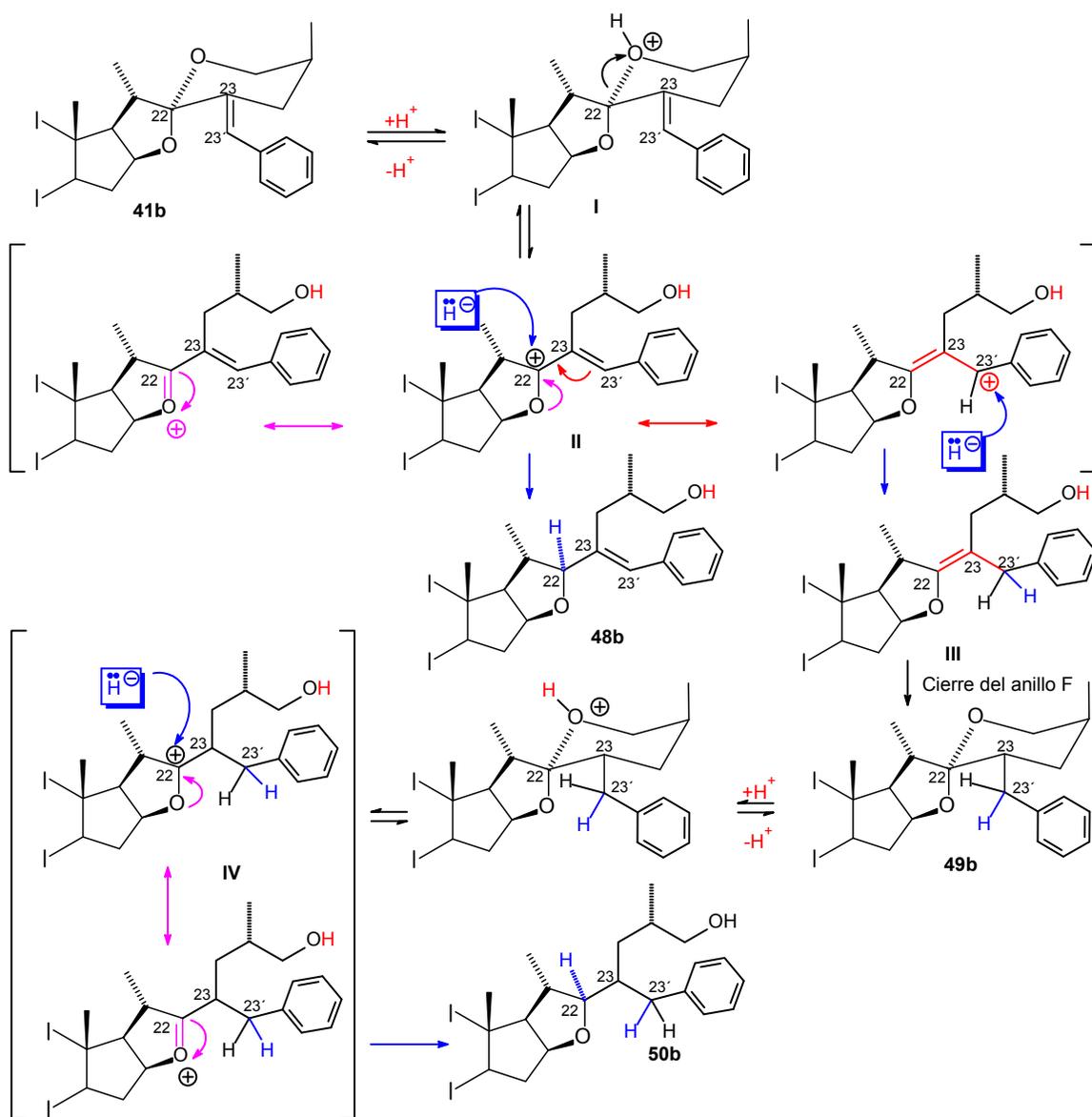
**Tabla 8.** Señales RMN  $^{13}\text{C}$  de la cadena lateral del derivado furostánico **50b**

<b>C</b>	<b>41b</b>	<b>50b</b>
16	81.0	82.8
17	61.8	66.1
18	16.7	16.5
20	39.8	35.3
21	14.7	20.4
22	111.4	92.9
23	136.8	41.4
23'	122.8	39.5
24	30.9	34.5
25	30.3	34.8
26	65.1	67.2
27	18.3	17.8
ipso	137.2	140.7
orto	129.1	129.2
meta	128.0	128.2
para	126.5	125.9

La presencia de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  asociadas al anillo aromático permite verificar la integridad de este fragmento.

#### 7.4. Mecanismo de reacción

Los procesos de reducción observados pueden justificarse si se considera que la protonación del oxígeno en C-26 produce la ruptura del puente etéreo C-22-O-C-26, dando lugar al intermediario **II** que puede estabilizarse por resonancia. La observación de las estructuras resonantes indica que mientras que la adición de un hidruro a C-22 produce el derivado 23-bencilfurostánico **48b**, la reducción en C-23' conduce al intermediario **III** en el que la ciclación da lugar al derivado 23-bencilespirostánico **49b**.



**Esquema 13.** Posible mecanismo de reacción

La protonación del oxígeno en C-26 en **49b** produce la ruptura del puente etéreo C-22-O-C-26, dando lugar al intermediario **III** en el que la adición de un hidruro a C-22 produce el derivado 23-bencilfurostánico **50b**. La configuración 23S de **50b** puede asumirse con suficiente certeza, si se considera que éste se obtiene a partir del derivado 23-bencilspirostánico **49b** cuya configuración en C-23 fue determinada por observación de correlaciones NOE concluyentes y verificada mediante Difracción de Rayos X.

El hecho de que en la serie *25R* no se observe el producto de tipo 23-bencilfuros-tánico **50a** correspondiente puede explicarse considerando que en la serie *25R* el proceso de apertura del sistema espirocetálico, que da lugar al ion oxonio en C-22 que se reduce, está algo menos favorecido que en la serie *25S* en la que este proceso es más rápido debido a la tensión acumulada por la presencia del metilo 27 en posición axial, que es liberada al abrirse el anillo F.

## 8. Conclusiones

- En la reducción de 23*E*-bencilidenespirostanos pertenecientes a las series 25*R* y 25*S* con NaBH<sub>3</sub>CN en ácido acético existen dos modos de reacción involucrados.
- El primer modo implica la reducción de un ion oxonio sobre la posición C-22 para producir los derivados de tipo [23(23')*E*]-bencilidenfurostanos.
- El segundo modo involucra la reducción de un carbocatión en C-23' que da lugar a los derivados de tipo 23*S*-bencilespirostanos.
- Adicionalmente se encontró que exclusivamente en la serie 25*S* es observable un proceso que involucra las reducciones consecutivas en C-22 y C-23' para producir 23*S*-bencilfurostanos.

## 9. Bibliografía

1. Kuklinski, C. *Farmacognosia*. Ed. Ediciones Omega, Barcelona, **2003**, 147-152.
2. Hostettmann, K. et., al. *Saponins*. Ed. Cambridge University Press, New York, **1995**, 1-5.
3. Bruneton, J. *Farmacognosia*. 2ª Edición. Ed. Technique et Documentation-Lavoisier, España, **2001**, 664-681.
4. Anaya-Lang, A. L. *Ecología Química*. Ed. Plaza y Valdés, México, **2003**, 53-59.
5. Marcano D., et., al. *Fitoquímica Orgánica*. 2ª Edición. Ed. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela, Venezuela, **2002**, 361-364.
6. Lew. M.; Liu, H.W.; *Comprehensive Natural Products II, Vol. 1*. Ed. Elsevier, Reino Unido, **2010**, 771-772.
7. Waller, G.R; Yamazaki, K. *Saponins used in food and agriculture*. Plenum Press. New York, **1996**, 299-315.
8. Saijo, R.; Fuke, C.; Marakami, K.; Nohara, T.; Tomimatsu, T. Two steroidal glycosides, aculeatiside A and B from *Solanum aculeatissimum*. *Phytochemistry* **1983**, 22(3), 733-736.
9. Agrawal P.K.; Jain, D.C.; Gupta, R.K.; Thakur, R.S. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins. Review Article. *Phytochemistry* **1985**, 24(11), 2479-2496.
10. Dewick, P.M. *Medicinal Natural Products*. Ed. John Wiley & Sons Ltd. Inglaterra, **2001**, 237-241.
11. Marker, R.E.; Tsukamoto, T.; Turner, D.L.; Diosgenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62, 2525-2532.
12. Marker, R.E.; Krueger, J.; The Preparation of Trillin and its Conversion to Progesterone *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62(12), 3349–3350.
13. University Park, Pennsylvania, USA; Laboratorio Syntex, México. “*Marker Degradation*”: *Creation of the Mexican Steroid Hormone Industry 1938-1945*. *American Chemical Society*. Estados Unidos, **1999**, 1-4.

14. Romo-de Vivar, A; *Química de la Flora Mexicana*. Instituto de Química UNAM. México, **2006**, 145-148.
15. Perron F.; Albizati K.F. Chemistry of Spiroketal. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1617-1661.
16. Marker, R.E; Wagner, R.B; Ulshafer, P.R; Wittbecker E.L.; Goldsmith, D.P.J; Ruof, C.H. Steroidal Sapogenins. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 2167-2230.
17. Jastrzebska, I.; Dobrogowska, A.; Lutostańska, E.; Morzycki. J.W. On reactions of spirostane sapogenins with benzeneseleninic anhydride. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5024-5029.
18. Macías-Alonso, M.; Flores-Álamo, M.; Iglesias-Arteaga, M.A.; Beckmann reactions of steroidal spirocyclic oximes derived from the 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-22-oxo moiety. *Steroids* **2009**, *74*, 112-120.
19. Macías-Alonso, M.; Morzycki, J.W.; Iglesias-Arteaga, M.A.; Studies on the BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O catalyzed Baeyer-Villiger reaction of spiroketalic steroid ketones. *Steroids* **2011**, *76*, 317-323.
20. Marker, R.E.; Rohrmann, E. The Structure of the Side Chain of Sarsasapogenin. *J. Am. Chem. Soc* **1939**, *61*, 846-851.
21. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Gil, R., Coll-Manchado, F.; Aspectos de interés sobre la cadena lateral de las sapogeninas esteroidales. *CENIC Ciencias Químicas* **1997**, *28(2)*. 67-72
22. Jastrzebska, I. Chemistry of Steroidal Sapogenins – New Advances in a Classical Field. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 353-372.
23. Woodward, R.B.; Sondheimer, F.; Mazur, Y. The Mechanism of the isomerization of steroidal sapogenins at C-25. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80(24)*, 6693-6694.
24. Macías-Alonso, M.; Morzycki, J.W.; Iglesias-Arteaga, M.A.; Studies on the BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O catalyzed Baeyer-Villiger reaction of spiroketalic steroid ketones. *Steroids* **2011**, *76*, 317-323.
25. Ruíz-Pérez, K.M.; Romero-Ávila, M.; Flores-Pérez, B.; Flores-Álamo, M.; Moreno-Esparza, R.; Iglesias-Arteaga, M.A. Revisiting 23-iodospirostanes. New facts and full characterization. *Steroids* **2009**, *74*, 996-1002.

26. Fernández-Huerta, M.A.; Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; Montiel-Smith, S. Side-chain opening of steroidal sapogenins to form 22-oxocholestanic skeletons. An approach to analogues of the aglycone of the potent anticancer agent OSW-1. *J. Mex. Chem. Soc.* **2009**, *53*(3), 126-130.
27. Marker, R.E.; Rohrmann, E. Sarsasapogenin Derivatives. Bromo compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*(7), 1921-1922.
28. Marker, E.R.; Turner, D.L.; Shabica, A.C. Bromosarsasapogenin and bromodiosgenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63*(4), 1032-1034.
29. Wall, M. E.; Jones, H.W.; Side Chain Bromination Isomers of Diosgenin and Tigogenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*(12), 3222-3227.
30. Djerassi, C.; Martinez, H.; Rosenkranz, G. Experiments in the hecogenin series (Part 1). *J. Org. Chem.* **1951**, *16*(2), 303-308.
31. Iglesias-Arteaga, M.A.; Arcos-Ramos, R.O.; One-step axial acetoxilation at C-23. A new method for the functionalization of the side chain of steroid sapogenins. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 8029-8031
32. Iglesias-Arteaga, M.A.; Velázquez-Huerta, G.A.; Méndez-Stivalet, J.M.; Galano, A.; Álvarez-Idaboy, J.R. The Baeyer-Villiger reactions of 23-oxosapogenins. *Arkivok* **2005**, *vi*, 109-126.
33. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Martínez, C.; Coll-Manchado, F. Spirostanic analogues of castasterone. *Steroids* **2002**, *67*, 159-163.
34. Ruíz-Pérez, K.M.; Romero-Ávila, M.; Tinajero-Delgado, V.; Flores-Álamo, M.; Iglesias-Arteaga, M.A. BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O-induced stereoselective aldol reaction with benzaldehyde, and steroid sapogenins and its application to a convenient synthesis of dinorcholanic lactones. *Steroids* **2012**, *77*, 819-828.
35. Djerassi, C.; Halpern, O.; Pettit, G.R.; Reaction of the Steroidal Sapogenin Spiroketal System with Ethanedithiol. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*(1), 1-6.
36. Pettit, G.R.; Bowyer, W.J.; Aluminum Chloride-Catalyzed Opening of the Steroidal Sapogenin Spiroketal System. *J. Org. Chem.* **1960**, *25*(1), 84-86.
37. LaCour, T.G.; Tong, Z.; Fuchs, P.L. Consequences of Acid Catalysis in Concurrent Ring Opening and Halogenation of Spiroketal. *Org. Lett.* **1999**, *1*(11), 1815-1818.

38. Lee, J.S.; Fuchs, P.L. Efficient Protocol for Ring Opening of Spiroketal Using Trifluoroacetyl Trifluoromethanesulfonate (TFAT). *Org. Lett.* **2003**, *5*(20), 3619-3622.
39. Lee, S.; LaCour, T.G.; Lantrip, D.; Fuchs, P.L. Redox Refunctionalization of Steroid Spiroketal. Structure Correction of Ritterazine M. *Org. Lett.* **2002**, *4*(3), 313-316.
40. Bäsler, S.; Brunck, A.; Jautelat, R.; Winterfeldt, E. Synthesis of cytostatic tetradecacyclic pyrazines and novel reduction-oxidation sequence for spiroketal opening in sapogenins. *Helv. Chim. Acta*, **2000**, *83*, 1854-1880.
41. Agrawal, P.K.; Bunsawansong, P.; Morris, G.A. Complete Assignment of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  Spectra of Steroidal Sapogenins: Smilagenin and Sarsasapogenin. *Magn Reson Chem.* **1997**, *35*, 441-446.
42. Tori, K.; Seo, S.; Terui, Y.; Nishikawa, J.; Yasuda, F. Carbon-13 NMR spectra of  $5\beta$ -steroidal sapogenins. Reassignment of the F-ring carbon signal of (25S)-spirostan. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*(25) 2405-2408.