



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD DE ESTEROIDES CON CADENAS

LATERALES ESPIROCETÁLICAS REORDENADAS

## TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA

M. EN C. MARIANA MACÍAS ALONSO

TUTOR

DR. MARTÍN ANDRÉS IGLESIAS ARTEAGA. FACULTAD DE QUÍMICA. UNAM

COMITÉ TUTOR

DR. ROBERTO MATÍNEZ. INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

DR. EDUARDO PEÑA CABRERA. PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS, UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO.

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2014



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

## PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD DE ESTEROIDES CON  
CADENAS LATERALES ESPIROCETÁLICAS REORDENADAS

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**DOCTORA EN CIENCIAS**

PRESENTA

M. EN C. MARIANA MACÍAS ALONSO



TUTOR: Dr. Martín A. Iglesias Arteaga

AÑO: 2014

## AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por todo el apoyo brindado para mi desarrollo personal y profesional. El proyecto se realizó en laboratorio 100 del Edificio de Posgrado de la Facultad de Química en Ciudad Univesitaria.

A mi tutor el Dr. Martín Andres Iglesias Arteaga por mostrarme el camino para plantearme nuevos retos y por demostrarme que con disciplina todo es posible y a los miembros de mi comité tutelar el Dr. Roberto Matínez y el Dr. Eduardo Peña Cabrera por acompañarme durante el desarrollo de este proyecto.

Al personal Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) por ser mucho más que simples compañeros y brindarme desinteresadamente su experiencia y amistad. A la Dra. Georgina Duarte Lisci y la M. en C. Margarita Guzmán Villanueva por la realización de los espectros de Masas, a la Dra. Nuria Esturau Escofet y la M. en C. Rosa Isela del Villar Morales por la obtención de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear, a la M. en C. Nayeli López Balbiaux y el M. en C. Victor Lemus Neri por la realización de los Análisis Elementales y al Dr. Marcos Flores Álamo por la elucidación de estructuras mediante difracción de Rayos X.

A mis sinodales el Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo, el Dr. Cecilio Álvarez Toledano, el Dr. José Federico del Río Portilla, el Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez y el Dr. Eduardo Peña Cabrera por la revisión del documento y el examen de grado.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) por el apoyo brindado a través de los proyectos IN-200105 e IN-204008-3.

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada, con número de registro 204586.

A mis padres, Rosa Marcela Alonso e Hildeberto Macías por brindarme todo su apoyo y amor para conseguir mis objetivos; a mis hermanos Rafael, Rosa Marcela y Begoña por el cariño y paciencia que siempre me recuerdan lo extraordinario de mi familia; a mi esposo Joaquín González por darme cada día una buena razón para seguir adelante y no dejarme vencer ante las circunstancias.

A la M. en C. Margarita Romero y el M. en C. José Manuel Méndez Stivalet por sus consejos y aportaciones en mi formación. A mis maestros el Dr. Raúl Álvarez Idaboy y el Mtro. Eduardo Marambio Denett por estar siempre dispuestos a escucharme y compartir conmigo sus experiencias que me han resultado de gran utilidad.

A los doctores, Rafael Moreno Esparza, Jesús Gracia Mora y Armando Marín Becerra por sus innumerables enseñanzas y por alojarme amablemente en el laboratorio 100 del edificio B de Posgrado. A todos mis compañeros del laboratorio, por compartir conmigo buenos y malos ratos, por aguantarme y por ser mis cómplices en muchas ocasiones.

*Dedico este trabajo a mi madre*

## ARTICULOS PUBLICADOS

1. Vázquez-Ramírez I., Macías-Alonso M., Arcos-Ramos R.O., Ruíz-Pérez K.M., Solano-Ramírez D. O., Iglesias-Arteaga M.A. “<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR characteristics of synthetic derivatives of steroid sapogenins Part III. 16β,23:23,26-Diepoxy side chains”. *Steroids* **2008**, *73*, 642–651.
2. Macías-Alonso M., Iglesias-Arteaga M.A. “Beckmann reactions of steroidal spirocyclic oximes derived from the 16β,23:23,26-diepoxy-22-oxo moiety”. *Steroids* **2009**, *74*, 112–120.
3. Macías-Alonso M., Esturau-Escofet N., Flores-Álamo M., Iglesias-Arteaga M. A., Moreno-Esparza R. “The crystal structure of 3-epismilagenin acetate and 23-oxo-3-epismilagenin acetate”. *J. Chem. Cryst.* **2011**, *41*, 1476-1482.
4. Macías-Alonso M., W. Morzycki J., Iglesias-Arteaga M. A., “Studies on the BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O catalyzed Baeyer–Villiger reaction of spiroketalic steroidal ketones”. *Steroids*. **2011**, *76*, 317-323.
5. Macías-Alonso M., Flores-Álamo M., Iglesias-Arteaga M. A., “On the reactivity of 23-methoxycarbonyl furospirostanes”. *Steroids* **2011**, *76*, 1021-1031.
6. Macías-Alonso M., Esturau-Escofet N., Flores-Álamo M., Moreno-Esparza R., Iglesias-Arteaga M. A., Moreno-Esparza R. “NMR and X-Ray characterization of steroids with furospirostane side chains”. *ARKIVOC*, **2011**, *xi*, 165-182.
7. Macías-Alonso M., Flores-Álamo M., Iglesias-Arteaga Martín A. “Mechanistic insights on the reactivity of furospirostanes with the 16β,22:22,25-diepoxy-23-acetoxymethyl-24-methyl side chain”. *Steroids* **2013**, *78*, 787–797.

## TRABAJOS PRESENTADOS EN CONGRESOS

1. Mariana Macías Alonso y Martín Iglesias Arteaga. “Reordenamiento de Beckmann de oximas derivadas de la (23R, 25R)-3α-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxicoprostan-22-ona”. *4ª Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica*. Pátzcuaro, Michoacán, Abril de 2008
2. Martín Iglesias Arteaga y Mariana Macías Alonso. “Estudio de la reactividad de furoespirostanos derivados del reordenamiento de Favorskii de 23-oxo-sapogeninas”. *4ª Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica*. Pátzcuaro, Michoacán, Abril de 2008.
3. Mariana Macías Alonso, Blas Flores Pérez, Marcos Flores Álamo, Rafael Moreno Esparza y Martín Iglesias Arteaga. “Caracterización de sapogeninas con cadenas laterales modificadas”. *44º Congreso Mexicano de Química*. Puebla, Puebla, Septiembre de 2009.
4. Mariana Macías Alonso y Martín Iglesias Arteaga. “Reactividad de esteroides con cadenas espirocetálicas reordenadas”. *45º Congreso Mexicano de Química*. Riviera Maya, Q. Roo, Septiembre de 2010.

## RESUMEN

Las sapogeninas espirostánicas son un tipo especial de derivados esteroidales que ha atraído la atención de los investigadores por más de 70 años. La apertura del anillo espirocetálico de este tipo de compuestos efectuada en una gran variedad de condiciones de reacción, proporciona una amplia gama de esqueletos.

El objetivo del trabajo fue sintetizar diferentes esteroides con cadenas laterales de tipo 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona, 23-carboximetilfuroespirostánica y 23-hidroxiometilfuroespirostánica.

Las reacciones de Baeyer-Villiger de los 23-oxoespirocetales y las 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-onas son una excelente metodología para la obtención de lactonas dinorcolánicas. La reacción de Beckmann de las oximas derivadas de la 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona indican que, mientras que la oxima *anti* siempre produce la fragmentación, el isómero *syn* produce tanto la fragmentación, como la transposición o una mezcla de ambas, dependiendo de las condiciones de reacción.

En cuanto a la cadena lateral furoespirostánica, los resultados demuestran que, bajo catálisis ácida, la apertura produce únicamente el intermediario  $\Delta^{22}$ -furosténico y el experimento de deuteración mostró que la incorporación del deuterio ocurre únicamente en C-23. La presencia del grupo acetoxilo en C-23' confiere una reactividad especial a la cadena lateral furoespirostánica, ya que la apertura del anillo F produce al intermediario  $\Delta$ -furosténico en el que el acetoxilo está ubicado en posición alílica.

La asignación de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  mediante experimentos de resonancia magnética nuclear y la difracción de rayos x proporcionaron información suficiente para la determinación de las estructuras.

Las reactividades características de las cadenas laterales estudiadas ofrecen nuevas y útiles posibilidades para la transformación de la cadena lateral de las sapogeninas esteroidales.

## ABSTRACT

Spirostanic sapogenins are a special kind of steroidal derivatives that have attracted the attention of scientists for over the last 70 years. The spiroketal ring-opening of these types of compounds, under a variety of reaction conditions, provides a wide range of new skeletons.

The objective of this work was the synthesis of new structures with different sides chains from 16 $\beta$ ,23:23-diepoxycholestan-22-one, 23-carboxymethylfurospirostanic and 23-hydroxymethylfurospirostanic moieties.

Baeyer Villiger reactions of 23-oxospioketals and 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxycholestan-22-one are an excellent method to obtain dinorcolanic lactones. Beckmann reaction of oximes, obtained from 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxycholestan-22-ones, displays while the *anti* oxime always produce fragmentation, the *syn* isomer produce both fragmentation and transposition or both depending on the reaction conditions.

Moreover, the results of the study in furospirostanic side chain shows that acid catalysis opening produce only the intermediate  $\Delta^{22}$ -furostenic, and deuteration experiment showed that the deuterium incorporation occurs only in C-23. The presence of an acetoxy group in C-23' confieres a special reactivity in the furostanic side chain, because the ring opening produce the  $\Delta$ -furostenic compound where the acetoxy group is located in allylic position.

$^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals assignment, by nuclear magnetic resonance and x-ray diffraction, provide enough information for structures determination.

The characteristic reactivities of side chains gives new and useful transformations of steroidal sapogenins side chains.



# INDICE

Capitulo 1. Introducción.	1
Capitulo 2. Revisión Bibliográfica.	5
2.1 Esteroides y su clasificación.	7
2.2 Sapogeninas esteroidales.	11
2.2.1 Nomenclatura de sapogeninas espiroestánicas.	12
2.3 Sapogeninas naturales con actividad antitumoral.	13
2.3.1 Estructura y origen de las sapogeninas naturales con actividad antitumoral.	13
2.3.2 Modo de acción de sapogeninas antitumorales.	15
2.4 Reactividad característica de las sapogeninas espiroestánicas.	17
2.4.1 Reacción de epimerización en medio ácido: Reacción Iso.	17
2.4.2 Reacciones de sustitución.	19
2.4.3 Reacciones de apertura de la cadena lateral.	23
2.4.4 Reacciones de transposición y degradación de la cadena lateral.	25
2.5 Síntesis de sapogeninas con actividad biológica.	32
Capitulo 3. Hipótesis y Objetivos.	39
3.1 Hipótesis.	41
3.2 Objetivos.	44
3.2.1 Objetivos Generales.	44
3.2.2 Objetivos específicos.	45
3.2.2.1 Derivados de la (23R,25R)-3 $\alpha$ -acetoxi-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxi-5 $\beta$ -coleston-22-ona (158).	45
3.2.2.2 Derivados del acetato (23R,24R)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-carboximetil-24-metil-dinorcoleston-3 $\alpha$ -ol (119).	45
3.2.2.3 Derivados del diacetato de (22S, 23S, 24R)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-hidroximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -coleston-3 $\alpha$ -ol (160).	45
Capitulo 4. Parte Experimental.	47
4.1 Condiciones Generales.	49
4.2 Síntesis de Materias Primas.	49
4.2.1 Acetato de (25R)-5 $\beta$ -espirostan-3 $\alpha$ -ol o acetato de 3- <i>epi</i> -esmilagenina (3 $\alpha$ -163).	49
4.2.2 (25R)-3 $\alpha$ -acetoxi-5 $\beta$ -espirostan-23-ona o acetato de 23-oxo-3- <i>epi</i> -esmilagenina (151).	52
4.2.3 (25S)-3 $\beta$ -acetoxi-5 $\beta$ -espirostan-23-ona o 23-oxo-sarsasapogenina (165).	54
4.2.4 (23R,25R)-3 $\alpha$ -acetoxi-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxi-5 $\beta$ -coleston-22-ona (158).	54
4.2.5 (23R,25S)-3 $\beta$ -acetoxi-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxi-5 $\beta$ -coleston-22-ona (166).	55
4.2.6 (22S,23R,24R)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-carboximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -coleston-3 $\alpha$ -ol (119).	56
4.2.7 Acetato de (22S,23R,24R)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-carboximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -coleston-3 $\alpha$ -ol (167).	57
4.2.8 (22S,23S,24R)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-hidroximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -coleston-3 $\alpha$ -ol (168).	59
4.2.9 Diacetato de (22S,23S,24R)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-hidroximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -coleston-3 $\alpha$ -ol (23S-160).	61
4.3 Derivados de la cadena lateral de tipo 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxi-22-ona.	62
4.3.1 Oxidación de Baeyer-Villiger catalizada con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O.	62
4.3.1.1 Oxidación de Baeyer-Villiger del 23-oxoespirostanano 151.	62
4.3.1.2 Oxidación de Baeyer-Villiger de la 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicoleston-22-ona 158.	62
4.3.1.3 Oxidación de Baeyer-Villiger del del 23-oxoespirostanano 165.	63
4.3.1.4 Oxidación de Baeyer-Villiger de la 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicoleston-22-ona 166.	63
4.3.1.5 Experimentos de Isomerización.	64
4.3.2 Transposición de Beckman.	65
4.3.2.1 Síntesis de oximas.	65
4.3.2.2 Transposición de Beckmann de <i>anti</i> -159.	66
4.3.2.2.1 Tratamiento con POCl <sub>3</sub> .	66
4.3.2.2.2 Tratamiento con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O.	68
4.3.2.3 Transposición de Beckmann de <i>syn</i> -159.	69
4.3.2.3.1 Tratamiento con POCl <sub>3</sub> .	69
4.3.2.3.2 Tratamiento con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O.	69
4.4 Derivados de furoespirostanos 23-metoxicarbonílicos.	70
4.4.1 Reacciones catalizadas con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O.	70
4.4.1.1 Reacción con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O en ácido acético.	70
4.4.1.2 Reacción con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O y anhídrido acético.	71
4.4.2 Reacciones catalizadas con ácidos de Brønsted.	72
4.4.2.1 Bromación con PirHBr·Br <sub>2</sub> en ácido acético.	72
4.4.2.2 Experimento de Deuteración.	74
4.5 Derivados de furoespirostanos 23-metil acetilados.	74
4.5.1 Reacciones con ácidos de Lewis.	74
4.5.1.1 Reacción con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O en ácido acético.	74

4.5.1.2 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en anhídrido acético.	76
4.5.2 Reacciones con ácidos de Brønsted.	77
4.5.2.1 Bromación con $\text{PirHBr} \cdot \text{Br}_2$ en ácido acético.	77
4.5.2.2 Bromación con $\text{HBr}$ en ácido acético.	80
Capítulo 5. Resultados en la Síntesis de Materias Primas	83
5.1 Síntesis de materias primas.	85
5.2 Características Espectroscópicas de las materias primas.	85
5.2.1 RMN de $^1\text{H}$ .	85
5.2.1.1 Características de RMN de $^1\text{H}$ de la cadena lateral tipo de la cadena lateral espiroestánica.	87
5.2.1.2 Características de RMN de $^1\text{H}$ de la cadena lateral tipo $16\beta, 23:23, 26$ -diepoxicoleston-22-ona.	91
5.2.1.3 Características de RMN de $^1\text{H}$ de la cadena lateral tipo 23-carboximetilfuroespiroestánica.	93
5.2.2 Discusión de las señales de RMN de $^{13}\text{C}$ .	98
5.2.2.1 Características de RMN de $^{13}\text{C}$ derivadas de la cadena lateral espiroestánica.	98
5.2.2.2 Características de RMN de $^{13}\text{C}$ derivadas de la cadena lateral tipo $16\beta, 23:23, 26$ -diepoxicoleston-22-ona.	99
5.2.2.3 Características de RMN de $^{13}\text{C}$ derivadas de la cadena lateral 23-carboximetilfuroespiroestánica.	100
5.2.3 Estructuras confirmadas mediante Difracción de Rayos X.	103
Capítulo 6. Reactividad de Derivados con cadena lateral tipo $16\beta, 23:23, 26$ -diepoxicoleston-22-ona.	105
6.1 Oxidación de Baeyer-Villiger.	107
6.1.1 Experimentos en la serie 25R.	107
6.1.2 Experimentos en la serie 25S.	110
6.2 Transposición de Beckmann.	113
6.2.1 Transposición de Beckmann de <i>anti</i> -159.	114
6.2.2 Transposición de Beckmann de <i>syn</i> -159.	116
Capítulo 7. Reactividad de Furoespirostanos 23-metoxicarbonílicos.	119
7.1 Reacciones catalizadas con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .	121
7.1.1 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.	121
7.1.2 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en anhídrido acético.	123
7.2 Reacciones catalizadas con ácidos de Brønsted.	125
7.2.1 Bromación con $\text{PirHBr} \cdot \text{Br}_2$ en ácido acético.	125
7.2.2 Experimento de Deuteración.	128
Capítulo 8. Reactividad de Furoespirostanos 23-metil acetilados.	131
8.1 Reacciones con ácidos de Lewis.	133
8.1.1 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.	133
8.1.2 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en anhídrido acético.	136
8.2 Reacciones catalizadas con ácidos de Brønsted.	136
8.2.1 Bromación con $\text{PirHBr} \cdot \text{Br}_2$ en ácido acético.	136
8.2.2 Bromación con $\text{HBr}$ .	141
Capítulo 9. Conclusiones.	145
Capítulo 10. Referencias Bibliográficas.	149
Anexos. Artículos Publicados	159

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura de los esteroides.	7
Figura 2.	Esqueleto base de los esteroides (7) y esteroides (8).	7
Figura 3.	Algunos esteroides con los esqueletos base estrano, androstano y pregnano.	8
Figura 4.	Algunos esteroides con los esqueletos base colano y colestano.	9
Figura 5.	Espirostano y espirosolano.	9
Figura 6.	Algunos esteroides integrantes de las familias de las cardenólidas, bufanólidas y witanólidas.	10
Figura 7.	Esteroides sintéticos de interés para la medicina.	11
Figura 8.	Cadena lateral de sapogeninas esteroidales.	12
Figura 9.	Numeración y estereoquímica de los espirostanos.	12
Figura 10.	Saponinas esteroidales.	13
Figura 11.	Espirostanos con actividad antiproliferativa de células cancerosas.	13
Figura 12.	Algunas Cefalostatinas.	14
Figura 13.	Algunas Ritterazinas.	14
Figura 14.	Hippuristanoles.	15
Figura 15.	OSW-1 y análogos naturales.	15
Figura 16.	Función alcohólica de la castasterona (70) y función cetálica del espirobrasinoesteroide (69).	22
Figura 17.	Unidades esteroidales básicas de pirazinas bisesteroidales.	33
Figura 18.	Esteroides con cadenas laterales espirocetálicas reordenadas.	44
Figura 19.	Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 3 $\alpha$ -163.	88
Figura 20.	Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 3 $\alpha$ -163.	88
Figura 21.	Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 151.	90
Figura 22.	Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 151.	90
Figura 23.	Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 158.	92
Figura 24.	Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 158.	92
Figura 25.	Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 119.	94
Figura 26.	Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 119.	94
Figura 27.	Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 168.	95
Figura 28.	Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 168.	96
Figura 29.	Espectros de <sup>13</sup> C de 3 $\alpha$ -163 y 151.	99
Figura 30.	Espectros de <sup>13</sup> C de 151 y 158.	100
Figura 31.	Espectros de <sup>13</sup> C de 119 y 151.	101
Figura 32.	Estructura cristalina del compuesto 3 $\alpha$ -163 con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.	103
Figura 33.	Estructura cristalina del compuesto 167 con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.	103
Figura 34.	Estructura cristalina del compuesto 151 con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.	104
Figura 35.	Estructura cristalina del compuesto 168 con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.	104
Figura 36.	Integración relativa 3.93:1 de las señales de H-26 <i>Pro-S</i> (158) y H-26 <i>Pro-R</i> (151).	108
Figura 37.	Integración relativa 9.79:1 de las señales de H-26 <i>Pro-S</i> (165) y H-26 <i>Pro-S</i> (166).	111
Figura 38.	Correlaciones NOE seleccionadas y estructuras de las cadenas laterales de los derivados 158, <i>anti</i> -159 y <i>syn</i> -159.	113
Figura 39.	Estructura cristalina del nitrilo clorado 170 con elipsoides térmicos dibujados al 30% de probabilidad.	115
Figura 40.	Correlaciones COSY y NOE seleccionadas de la cadena lateral de <i>E</i> -173	122
Figura 41.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 174.	123
Figura 42.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de <i>E</i> -175.	124
Figura 43.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>R</i> -176.	126
Figura 44.	Estructura cristalina de 23 <i>R</i> -176 con elipsoides térmicos dibujados al 30% de probabilidad.	126
Figura 45.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>S</i> -176.	127
Figura 46.	Deuteración del compuesto 167 con AcOD/DCI.	129
Figura 47.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>R</i> -160.	134
Figura 48.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 178.	134
Figura 49.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>S</i> -179.	134
Figura 50.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>R</i> -179.	135
Figura 51.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>R</i> -180.	137
Figura 52.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>S</i> -180.	137
Figura 53.	Estructura cristalina de 23 <i>R</i> -180 con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.	138
Figura 54.	Estructura cristalina de 23 <i>S</i> -180 con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.	138
Figura 55.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>R</i> -181.	140
Figura 56.	Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23 <i>S</i> -181.	140
Figura 57.	Correlaciones NOE y COSY observadas en 23 <i>R</i> -182.	142
Figura 58.	Correlaciones NOE y COSY observadas en 23 <i>S</i> -182.	142

## INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1.	Formación del ión oxacarbenio de la cefalostatina 1 y el OSW-1.	16
Esquema 2.	Saponinas y sapogeninas esteroidales con actividad antiproliferativa en células cancerosas.	16
Esquema 3.	Tautomerismo ceto-enólico de sapogeninas esteroidales.	17
Esquema 4.	Mecanismo de la reacción Iso.	18
Esquema 5.	Formación del tiocetal a partir de una sapogenina.	18
Esquema 6.	Migración reversa de hidruro.	19
Esquema 7.	Mecanismo de sustitución en la posición C-23.	19
Esquema 8.	Halogenación de sapogeninas espiroestánicas.	20
Esquema 9.	Formación y oxidación de sapogeninas 23-hidroxiladas.	20
Esquema 10.	Formación de 23-oxo sapogeninas mediante el método de Barton.	21
Esquema 11.	Formación de 23-oxo sapogeninas mediante el método de Fuchs.	21
Esquema 12.	Síntesis diastereoselectiva de derivados 23S-hidroxilados.	22
Esquema 13.	Reducción de 23-oxo sapogeninas.	22
Esquema 14.	23R-Acetoalación de sapogeninas esteroidales.	23
Esquema 15.	Apertura oxidativa de sapogeninas espiroestánicas.	23
Esquema 16.	Apertura y halogenación de sapogeninas espiroestánicas.	24
Esquema 17.	Apertura reductiva del anillo F de sapogeninas espiroestánicas.	24
Esquema 18.	Apertura de la cadena lateral espiroestánica.	24
Esquema 19.	Obtención de la pseudosapogenina 85 con TFAT.	25
Esquema 20.	Obtención del colesteno 87 y los furostenos 88-90 mediante acetólisis con ácidos de Lewis.	25
Esquema 21.	Transposición de la cadena lateral de la hecogenina mediante acetólisis.	26
Esquema 22.	Tratamiento de la hecogenina (34) con $\text{Ph}_3\text{P}\cdot\text{I}_2$ .	26
Esquema 23.	Obtención del bisfurostano 99 y los productos de oxidación 65 y 67.	27
Esquema 24.	Sustitución en C-23 y transposición de sapogeninas con BSA.	27
Esquema 25.	Transposiciones de 23-metanosulfonatos.	27
Esquema 26.	Transposición y degradación de 23-bromosapogeninas.	28
Esquema 27.	Apertura y transposición de la $\alpha$ -23,24-epoxisapogeninas.	28
Esquema 28.	Apertura y transposición de la $\beta$ -23,24-epoxisapogenina.	29
Esquema 29.	Síntesis de 22-oxosapogeninas por transposición del derivado 23-oxo catalizada con ácidos de Lewis.	29
Esquema 30.	Transposición del derivado 23-oxo con TMSOTf.	30
Esquema 31.	Reacción del anillo F de sapogeninas con DIB.	30
Esquema 32.	Obtención del 23-benciliden 116 espirostanos y la lactona dinorcolánica 67.	30
Esquema 33.	Reacción de Baeyer-Villiger de 23-oxosapogeninas.	31
Esquema 34.	Fragmentación de Beckmann en 23-hidroximino espirostanos.	31
Esquema 35.	Transposición de Favorskii en 23-oxoespirostanos.	31
Esquema 36.	Degradación de Marker.	32
Esquema 37.	Síntesis total de la cefalostatina 1.	34
Esquema 38.	Síntesis del OSW-1 de Tian.	34
Esquema 39.	Síntesis del Certonardosterol D <sub>2</sub> .	35
Esquema 40.	Síntesis del compuesto estimulador de crecimiento vegetal 145.	36
Esquema 41.	Síntesis de espirobrasinoesteroides con actividad estimuladora del crecimiento vegetal.	37
Esquema 42.	Oxidación de Baeyer-Villiger de acetatos de 23-oxo-sapogeninas.	41
Esquema 43.	Mecanismo de reacción de Baeyer-Villiger en 23-oxo-sapogeninas.	41
Esquema 44.	Reacción de Baeyer-Villiger de 158.	42
Esquema 45.	Transposición y fragmentación de Beckmann.	42
Esquema 46.	Reacción de Beckmann esperada para las oximas <i>anti</i> -159 y <i>syn</i> -159.	43
Esquema 47.	Tautomerismo propuesto para los furoespirostanos 119 y 160.	44
Esquema 48.	Síntesis de materias primas.	85
Esquema 49.	Reacción de Baeyer-Villiger de 151.	107
Esquema 50.	Isomerización de la cadena lateral espiroestánica a la cadena lateral tipo 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona.	108
Esquema 51.	Reacción de Baeyer-Villiger de la cadena tipo 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona e Isomerización a la cadena espiroestánica	109
Esquema 52.	Mecanismo de la reacción de Baeyer-Villiger en cetonas de la serie 25R.	110
Esquema 53.	Reacción de Baeyer-Villiger en cetonas de la serie 25S.	111
Esquema 54.	Formación del producto de eliminación 183.	112
Esquema 55.	Síntesis de oximas.	113
Esquema 56.	Transposición de Beckmann de <i>anti</i> -159.	115
Esquema 57.	Mecanismo de la transposición de Beckmann de <i>anti</i> -159.	116
Esquema 58.	Transposición de Beckmann de <i>syn</i> -159.	117
Esquema 59.	Mecanismo de las transposiciones de Beckmann de <i>syn</i> -159.	117
Esquema 60.	Mecanismo de la isomerización de <i>syn</i> -159 a <i>anti</i> -159.	118
Esquema 61.	Reacción de 167 con $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.	121

Esquema 62.	Mecanismo de formación de la lactona <i>E</i> -173.	122
Esquema 63.	Reacción de 167 con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O en anhídrido acético	123
Esquema 64.	Mecanismo de formación del éter de enol endocíclico 174.	124
Esquema 65.	Mecanismo de formación del furosteno diacetilado <i>E</i> -175.	125
Esquema 66.	Bromación del furospirostano 167.	125
Esquema 67.	Mecanismo de formación de los derivados bromados 23 <i>S</i> -176 y 23 <i>R</i> -176.	127
Esquema 68.	Deuteración de 167.	128
Esquema 69.	Mecanismo de deuteración de 167.	128
Esquema 70.	Reacción del diacetato 23 <i>S</i> -160 con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O en ácido acético.	133
Esquema 71.	Posible mecanismo de la reacciones epimerización y eliminación.	135
Esquema 72.	Reacción de 23 <i>S</i> -160 con BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O en anhídrido acético.	136
Esquema 73.	Bromación del compuesto diacetilado 23 <i>S</i> -160.	136
Esquema 74.	Mecanismo de reacción de bromación en C-23.	139
Esquema 75.	Posible mecanismo de dibromación de 23 <i>S</i> -160.	140
Esquema 76.	Mecanismo de reacción alternativa para la dibromación de 23 <i>S</i> -160.	141
Esquema 77.	Reacción de 23 <i>S</i> -160 con HBr en ácido acético.	141
Esquema 78.	Posible mecanismo de sustitución del grupo acetoxilo en C-23'.	143

### INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Rendimiento de reacción de Oxidación de Bayer-Villiger.	41
Tabla 2.	Resultados de la Transposición de Beckmann de 23-hidroxiiminosapogeninas.	42
Tabla 3.	Datos cristalográficos y de refinamiento de 3α-163.	51
Tabla 4.	Datos cristalográficos y de refinamiento de 151.	53
Tabla 5.	Datos cristalográficos y de refinamiento de 167.	58
Tabla 6.	Datos cristalográficos y de refinamiento de 168.	60
Tabla 7.	Datos cristalográficos y de refinamiento de 170.	67
Tabla 8.	Datos cristalográficos y de refinamiento de 23 <i>R</i> -176.	73
Tabla 9.	Datos cristalográficos y de refinamiento de 23 <i>R</i> -180.	78
Tabla 10.	Datos cristalográficos y de refinamiento de 23 <i>S</i> -180.	79
Tabla 11.	Principales correlaciones hetero y homonucleares del derivado 3α-163.	86
Tabla 12.	Principales correlaciones hetero y homonucleares del derivado 119.	86
Tabla 13.	Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 3α-163.	87
Tabla 14.	Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 151.	89
Tabla 15.	Desplazamientos químicos de <sup>1</sup> H de los compuestos 3α-163 y 151.	91
Tabla 16.	Principales correlaciones homonucleares de la cadena lateral del compuesto 158.	91
Tabla 17.	Desplazamientos químicos de <sup>1</sup> H de los compuestos 151 y 158.	93
Tabla 18.	Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 119.	93
Tabla 19.	Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 168.	95
Tabla 20.	Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 23 <i>S</i> -160.	96
Tabla 21.	Desplazamientos químicos de <sup>1</sup> H de los compuestos 119, 167, 168 y 23 <i>S</i> -160.	97
Tabla 22.	Desplazamientos químicos de <sup>13</sup> C de los compuestos 158, 167, 23 <i>S</i> -160, 3α-163, 151, 119 y 168.	102
Tabla 23.	Desplazamientos químicos de <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de 158, <i>anti</i> -159 y <i>syn</i> -159.	114
Tabla 24.	Transposición de Beckmann de <i>anti</i> -159.	114
Tabla 25.	Desplazamientos químicos fundamentales de <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de los nitrilos 170 y 171.	115
Tabla 26.	Señales características de RMN de la amida 172.	116

## LISTA DE ABREVIATURAS

2D	dos dimensiones	IQ	ionización química
Å	Ångström	IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
Ac <sub>2</sub> O	anhídrido acético	Kg	kilogramo
AcOD	ácido acético deuterado	L	litro
AcOEt	acetato de etilo	LiHMDS	hexametildisililazida de litio
AcOH	ácido acético	M	molar
ADP	acetato de deshidropregnenolona	m	multiplete
AMCPB	ácido <i>m</i> -cloroperoxibenzóico	m <sup>3</sup>	metro cúbico
An. Elem.	análisis elemental	mg	miligramo
ax.	axial	min.	minutos
BSA	anhídrido bencenoselenínico	mL	mililitro
BV	Baeyer-Villiger	mm	milímetros
CCD	cromatografía de capa delgada	mmol	milimol
CCP	clorocromato de piridinio	MsCl	cloruro de mesilo
cd	cuadruple de dobles	N	normal
CG-EM	cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	NaOAc	acetato de sodio
COI	comité olímpico internacional	NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
COSY	<i>correlation spectroscopy</i>	NMMO	óxido de <i>N</i> -metilmorfolina
dc	doble de cuartetos	NOESY	<i>nuclear Overhauser effect spectroscopy</i>
DCI	ácido clorhídrico deuterado	P. Fus.	punto de fusión
dd	doble de doblete	Ph <sub>3</sub> CBF <sub>4</sub>	tetrafluoroborato de tritilo
ddd	doblete de doblete de doblete <i>distortionless enhancement by polarization transfer</i>	PhSiH <sub>2</sub>	fenilsilano
DEPT	<i>distortionless enhancement by polarization transfer</i>	pir.	piridina
DFS	<i>double focus sector</i>	PirHBr·Br <sub>2</sub>	perbromuro de hidrobromuro de piridinio
DHEA	deshidroepiandrosterona	ppm	partes por millón
DIB	diacetoxiyodosobenceno	p-TsOH	ácido <i>p</i> -toluensulfónico
DIBALH	hidruro de diisobutilaluminio	R. F.	relación frontal
DMAP	dimetilaminopiridina	RMN	resonancia magnética nuclear
DMDO	dimetildioxirano	Rx	rayos X
DME	1,2-dimetoxietano	s	singulete
DMF	dimetilformamida	T.A.	temperatura ambiente
DMSO	dimetilsulfóxido	TBDPS	<i>ter</i> -butildifenilsilil
ec.	ecuatorial	TBS	<i>ter</i> -butildimetilsilil
EM	espectrometría de masas	TBSCl	cloruro de <i>ter</i> -butildimetilsililo
EM-AR	espectrometría de masas de alta resolución	<i>t</i> -BuNO <sub>2</sub>	nitrito de <i>ter</i> -butilo
FAB	<i>fast atom bombardment</i>	td	triple de dobles
g	gramo	TFAT	trifluorometanosulfonato de trifluoroacetilo
HETCOR	<i>heteronuclear correlation</i>	THF	tetrahidrofurano
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond coherence</i>	TMS	tetrametilsilano
hrs.	horas	TMSCl	cloruro de trimetilsililo
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>	TMSOTf	trifluorometanosulfonato de trimetilsililo
Hz.	Hertzio	TOCSY	<i>total correlation spectroscopy</i>
IE	impacto electrónico	TsCl	cloruro de tosilo
		tt	triplete de tripletes

# **CAPITULO 1**

## **INTRODUCCIÓN**





## 1. INTRODUCCIÓN

Los metabolitos secundarios de plantas, hongos, invertebrados y microorganismos constituyen una de las fuentes fundamentales de fármacos y agentes terapéuticos. Trabajos recientes indican que los productos naturales y sus derivados forman parte de aproximadamente el 35-40% del total de medicamentos que se comercializan en la actualidad. En las familias de los antibióticos y los agentes anticancerígenos, más del 75% de los fármacos son derivados de sustancias de origen natural. Estos datos evidencian que los productos naturales son una fuente muy importante de nuevos compuestos, que pueden ser modificados estructuralmente para potenciar su actividad biológica.

Las saponinas son un vasto grupo de glicósidos de origen natural, ampliamente distribuido en el reino vegetal, aunque también se pueden encontrar en algunos invertebrados marinos. Se suelen dividir en glicósidos esteroidales y triterpénicos, caracterizados porque al disolverse en agua forman espuma, debido a la combinación de elementos polares y no polares en su estructura.

Este tipo de compuestos tiene un especial interés para la industria farmacéutica, debido a sus amplias y variadas aplicaciones médicas, biológicas y sintéticas. Muchos de estos compuestos poseen actividades antifúngicas, antiinflamatorias, antivirales y citotóxicas; por lo que constituyen puntos de partida para el desarrollo de nuevos fármacos, con una actividad farmacológica incrementada.

Las sapogeninas espirostánicas son un tipo especial de derivados esteroidales que ha atraído la atención de los investigadores por más de 70 años. La fácil transformación de estos compuestos en los correspondientes  $\Delta^{16}$  20-cetoesteroides descubierta por Marker y Rohrmann ha tenido enorme repercusión, tanto en el campo teórico como en el industrial. Así, la diosgenina, abundante en los rizomas de algunas especies mexicanas y centroamericanas del género *Dioscorea*, ha desplazado el colesterol y los ácidos biliares como materia prima en la síntesis de hormonas sexuales y corticosteroides, fabricándose en gran escala progesterona, y a partir de ésta, toda la gama de progestágenos, corticoides, andrógenos, estrógenos y anabólicos.

La apertura del anillo espirocetálico de este tipo de compuestos efectuada en una gran variedad de condiciones de reacción, proporciona una amplia gama de esqueletos. La reactividad especial de la cadena lateral espirocetálica ha abierto un amplio espectro de reacciones novedosas. La búsqueda de nuevas reacciones de este fragmento, inició a mediados del siglo pasado, ofreciendo la mayoría de los métodos de preparación para compuestos esteroidales bioactivos. Recientemente se han descrito nuevas reacciones del sistema espirocetálico que aportan alternativas sintéticas que enriquecen la diversidad de metodologías para obtener esteroides activos. En este contexto, el estudio de la reactividad de sapogeninas esteroidales y sus derivados es una fuente de reacciones novedosas y de compuestos de interés biológico y/o sintético.

En la actualidad, una de las principales causas de muerte a nivel mundial son los diferentes tipos de cáncer, por lo que la investigación se ha centrado en aislar y sintetizar productos útiles para el tratamiento de esta afección. Se ha demostrado que algunos compuestos de la familia de las sapogeninas espirostánicas presentan actividad antiproliferativa de células cancerosas, ya que inducen la apoptosis celular.

Nuestro grupo de investigación ha dedicado especial atención al estudio de la reactividad de sapogeninas portadoras de diferentes grupos funcionales en la posición C-23 de la cadena lateral espirocetálica. En el presente trabajo se estudió la reactividad de sapogeninas esteroidales que presentan la cadena lateral reordenada y que contienen diferentes grupos funcionales, con la finalidad de ampliar el número de compuestos espirostánicos con potencial actividad biológica.

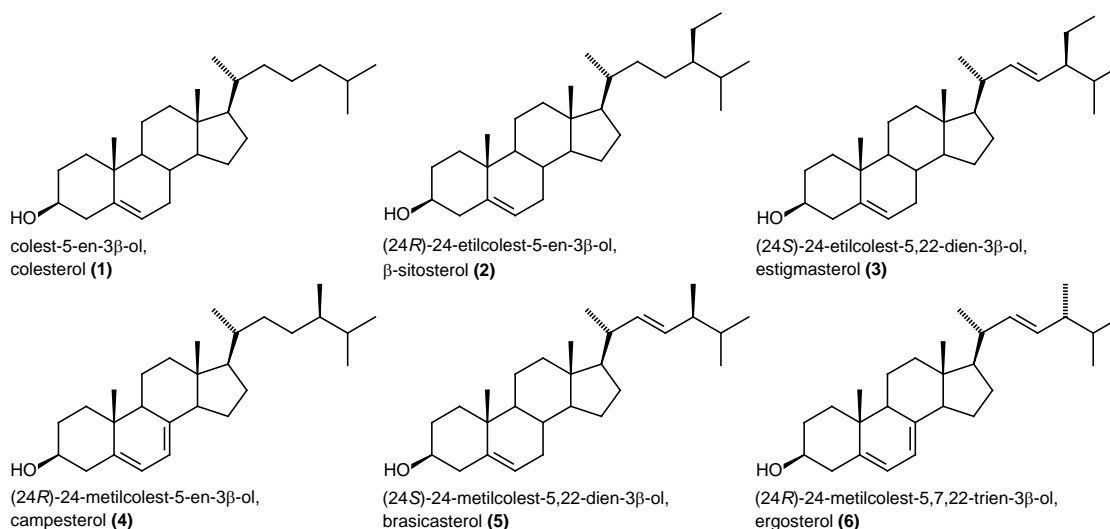
# **CAPITULO 2**

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**



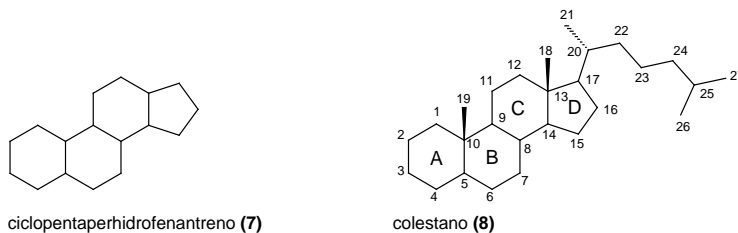
### 2.1 Esteroides y su clasificación.

Los esteroides son alcoholes sólidos insolubles en agua. El más común de origen animal es el colesterol (1), cuyo nombre significa alcohol sólido de la bilis (*cole* “bilis”, *esteros* “sólido” y *-ol* del alcohol). También existen esteroides de origen vegetal como el  $\beta$ -sitosterol (2), estigmasterol (3), campesterol (4) y el brasicasterol (5), además del ergosterol (6), que proviene de algunas especies de hongos (Figura 1).<sup>1-3</sup>



**Figura 1. Estructura de los esteroides.**

Los esteroides contienen un núcleo de ciclopentanoperhidrofenantreno (7), con un grupo hidroxilo en C-3 y la cadena lateral del colestano (8), que es el hidrocarburo fundamental del colesterol (1).<sup>4</sup> Existe una gran variedad de compuestos con características parecidas a los esteroides, pero que no presentan exactamente la misma estructura, por lo que se les denomina **esteroides** (del sufijo *-oide* “parecido a”), que significa “parecidos a los esteroides”. En 1971 la IUPAC estableció la definición de esteroides como aquellos compuestos que poseen como núcleo básico al ciclopentanoperhidrofenantreno (7) (Figura 2).<sup>4,5</sup>

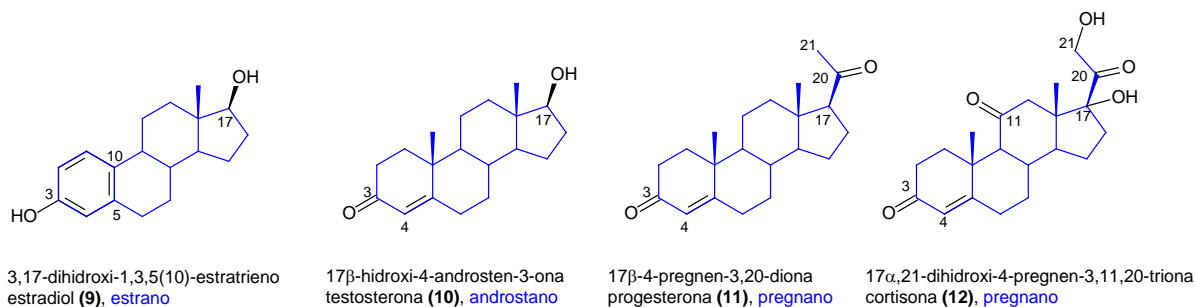


**Figura 2. Esqueleto base de los esteroides (7) y esteroides (8).**

El aislamiento de esteroides de fuentes naturales permite reconocer la gran diversidad estructural de estos compuestos, por esta razón la IUPAC definió los núcleos básicos estrano, androstano, pregnano, colano y colestano, entre muchos otros, para facilitar la clasificación de estos compuestos en función de las similitudes estructurales que presentan (**Figuras 3 y 4**).

El estrano es el núcleo básico de los estrógenos, hormonas sexuales encargadas del desarrollo de los órganos reproductivos y las características sexuales secundarias femeninas. Un ejemplo de estrógeno es el estradiol (**9**). La testosterona (**10**) es una hormona involucrada en el desarrollo de los órganos reproductivos y las características sexuales secundarias masculinas, ésta hormona pertenece a la familia de los andrógenos y se caracteriza por contener al androstano como núcleo básico (**Figura 3**).<sup>6</sup>

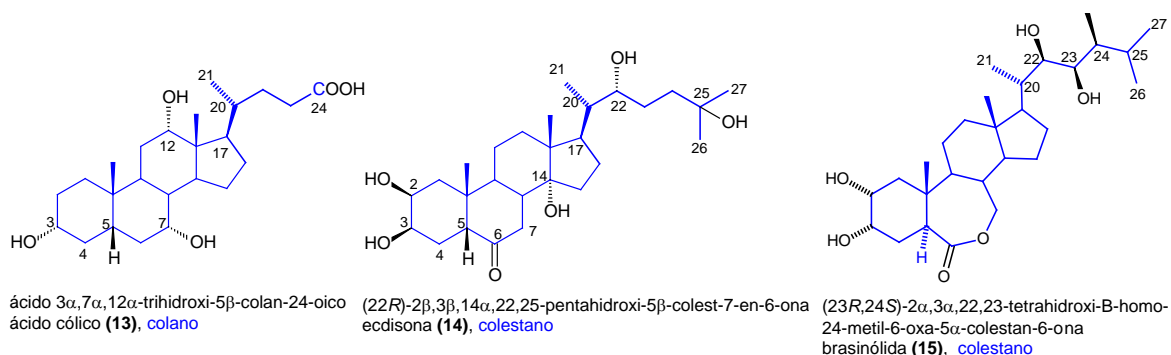
El pregnano es el núcleo básico de una diversidad de compuestos como los progestágenos y los corticoesteroides. La progesterona (**11**), una hormona que está relacionada con el embarazo, pertenece a la familia de los progestágenos y la cortisona (**12**) que reduce la respuesta inflamatoria y regula el metabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas, pertenece al grupo de los corticoesteroides (**Figura 3**).<sup>6</sup>



**Figura 3. Algunos esteroides con los esqueletos base estrano, androstano y pregnano.**

El ácido cólico (**13**) es un esteroide derivado del colano. Éste ácido pertenece a la familia de los ácidos biliares que reciben este nombre pues se encuentran en la bilis segregada en el intestino para emulsionar las grasas ingeridas y facilitar su absorción (**Figura 4**).<sup>6</sup>

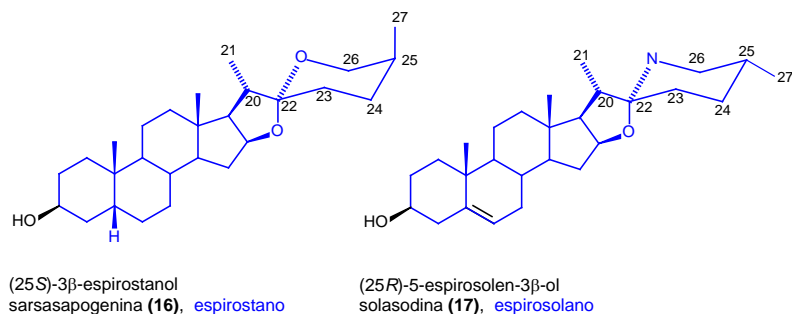
El núcleo básico colestano está presente en compuestos esteroidales como la ecdisona (**14**), una hormona encargada de regular la muda de exoesqueletos y la metamorfosis de los insectos<sup>7</sup> y la brasinólida (**15**), una hormona de crecimiento vegetal aislada del polen de la canola (*Brassica napus*).<sup>8</sup> Ésta hormona pertenece a la familia de los brasinoesteroides y que se caracteriza por regular la elongación y división de las células.<sup>9</sup>



**Figura 4. Algunos esteroides con los esqueletos base colano y colestano.**

Algunos esteroides naturales, además de los núcleos básicos contienen uno o más heterociclos unidos al anillo D conformando cadenas laterales particulares. Por esta razón, estos compuestos son clasificados de manera independiente, en función de sus estructuras, en espirosolanos, espirostanos, cardenólidas, bufanólidas y witanólidas, entre otros (**Figuras 5 y 6**).<sup>4,10</sup>

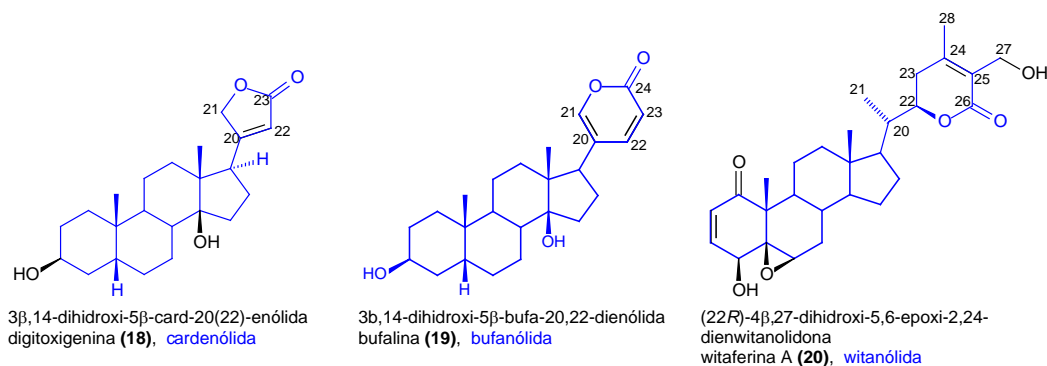
La sarsasapogenina (**16**) es un espirostan, aislado por primera vez de la zarzaparrilla (*Smilax aspera*, spp),<sup>11</sup> una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la sífilis, el reumatismo y enfermedades de la piel. Este compuesto es actualmente utilizado como saborizante de bebidas no alcohólicas y como materia prima de medicamentos.<sup>12</sup> Los espirosolanos, como la solasodina (**17**) aislada del poroporo (*Solanum laciniatum*),<sup>13</sup> son alcaloides esteroidales parecidos a los espirostanos y son ampliamente utilizados como materia prima en la síntesis de fármacos (**Figura 5**).<sup>14,15</sup>



**Figura 5. Espirostano y espirosolano.**

Las cardenólidas y bufanólidas son compuestos esteroidales caracterizados por mostrar actividad estimuladora en el músculo cardiaco de mamíferos. La diferencia estructural entre estas radica en que las primeras contienen una  $\delta$ -butirolactona insaturada como cadena lateral y las segundas una  $\gamma$ -valerolactona di-insaturada. La digitoxigenina (**18**) es una cardenólida presente en plantas del género *Digitalis* cuya importancia medicinal está dada por el efecto cardiotónico que produce.<sup>1</sup> Las bufanólidas se encuentran principalmente en el veneno de los sapos *Bufo vulgaris* y son utilizadas desde hace siglos por la medicina tradicional china. Un compuesto característico de esta familia es la bufalína (**19**) (**Figura 6**).<sup>16</sup>

Otra familia de compuestos, análoga a las cardenólidas y las bufanólidas, son las witanólidas que presentan en la cadena lateral una  $\gamma$ -valerolactona monoinsaturada. Un compuesto de la familia es la witaferina A (**20**), obtenida de la bufera (*Witania somnifera*)<sup>17</sup> y es conocida por presentar un efecto inhibitorio, tanto *in vitro* como *in vivo*, del crecimiento de células cancerosas (**Figura 6**).<sup>18-20</sup>

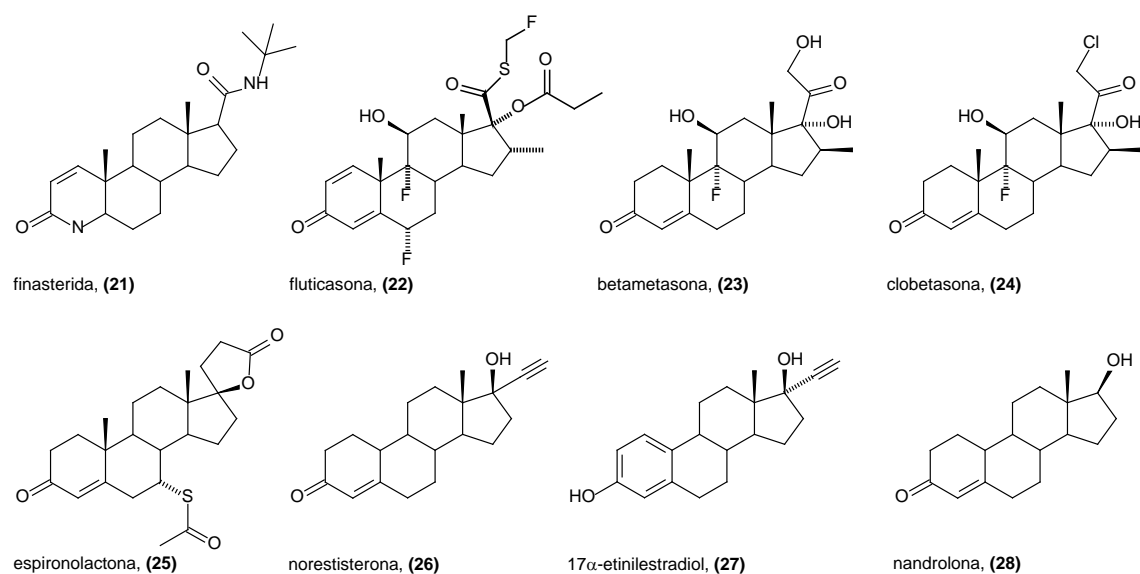


**Figura 6. Algunos esteroides integrantes de las familias de las cardenólidas, bufanólidas y witanólidas.**

Además de los esteroides de origen natural, existen muchos de origen sintético que se utilizan como principios activos de una diversidad de medicamentos con variedad de actividades farmacológicas interesantes (**Figura 7**). La finasterida (**21**) se utiliza en el tratamiento de la alopecia androgénica, y alivia los síntomas de la hiperplasia prostática benigna.<sup>21</sup> La fluticasona (**22**) es útil en el tratamiento del asma y de la rinitis alérgica.<sup>22</sup> La betametasona (**23**) y la clobetasona (**24**) muestran actividad antiinflamatoria, antirreumática y antialérgica.<sup>21</sup> La espironolactona (**25**) se usa para tratar niveles bajos de potasio, edema (retención de líquidos) y para tratar la presión arterial alta.<sup>22</sup>

La noretisterona (**26**) se usa para el tratamiento de los signos y síntomas de la menopausia, la prevención de la osteoporosis postmenopáusicas y como anticonceptivo femenino. También el etinilestradiol (**27**) es un anticonceptivo, ya que promueve la inhibición de la ovulación y modifica las condiciones de la mucosa uterina.<sup>22</sup> Por otra parte, la nandrolona (**28**) es un anabolizante que estimula la síntesis proteica y produce el aumento de la masa muscular, y que es utilizado en el tratamiento regenerativo de tejidos musculares después de la radioterapia, cirugía mayor o traumatismo, así como para tratar la desnutrición. Este compuesto está prohibido por el COI ya que incrementa artificialmente la fuerza, la velocidad, la potencia y la capacidad de recuperación tras una competición o entrenamiento de los deportistas.<sup>22</sup>





**Figura 7. Esteroides sintéticos de interés para la medicina.**

En México, una de las principales causas de muerte es el cáncer,<sup>23</sup> por lo que el desarrollo de tratamientos efectivos contra esta afección resulta un tema de interés para la investigación. Estudios recientes muestran que algunos miembros de la familia de las sapogeninas esteroidales presentan actividad citotóxica contra células cancerosas humanas.<sup>24</sup>

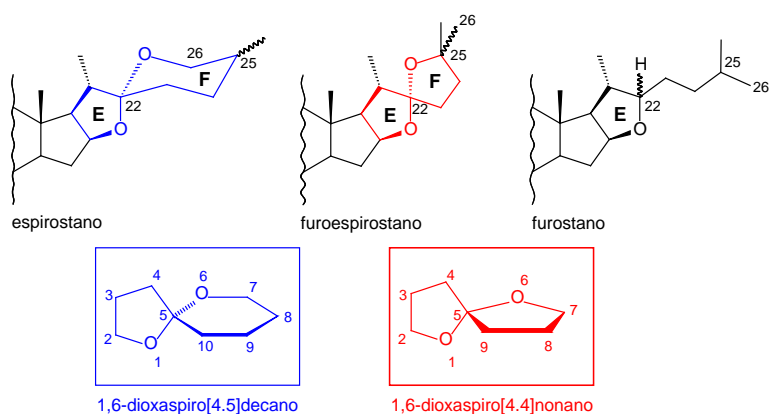
## 2.2 Sapogeninas esteroidales.

Las sapogeninas esteroidales son los aglicones de las saponinas, que son compuestos aislados de plantas tanto de origen marino como terrestre.<sup>12</sup> Según el tipo de esqueleto carbonado que presenten, estos compuestos pueden ser clasificados como espirostanos, furoespirostanos y furostanos (**Figura 8**).<sup>25,26</sup>

Los espirostanos constan de un esqueleto de ciclopentanoperhidrofenantreno unido a una cadena lateral constituida por dos anillos oxigenados unidos través de un enlace cetálico que involucra las posiciones C-16, C-22 y C-26 formando una agrupación 16 $\beta$ ,22:22,26-diepoxi, por lo que pueden ser considerados como derivados del espirocetal 1,6-dioxaspiro[4.5]decano (**Figura 8**).<sup>25,27</sup> El término espirostando tiene su origen en la disposición espacial que ocupa el anillo F de tipo tetrahidropiránico, con respecto al anillo E de tipo tetrahydrofuránico, debido a la hibridación sp<sup>3</sup> del C-22, que es común a ambos anillos, estos quedan dispuestos en planos perpendiculares semejando una espiral.

Los furoespirostanos se caracterizan de la misma forma que los espirostanos por la unión espirocetálica entre los anillos oxigenados, con la diferencia de que tanto el anillo E como el F son ciclos tetrahydrofuránicos que contienen la agrupación 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi por la que pueden ser clasificados con derivados del espirocetal 1,6-dioxaespiro[4.4]nonano (**Figura 8**).<sup>27</sup>

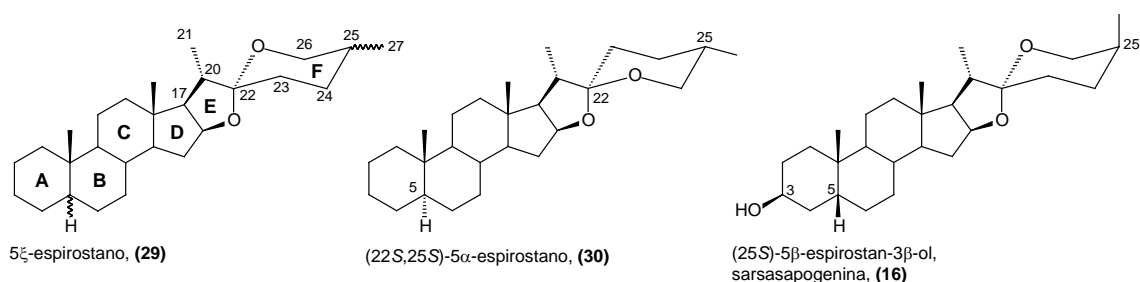
En el caso de los furostanos, la función espirocetálica no está presente ya que solo presentan el anillo E de cinco miembros y el resto de la cadena lateral es acíclica (**Figura 8**).<sup>25,26</sup>



**Figura 8. Cadena lateral de sapogeninas esteroidales.**

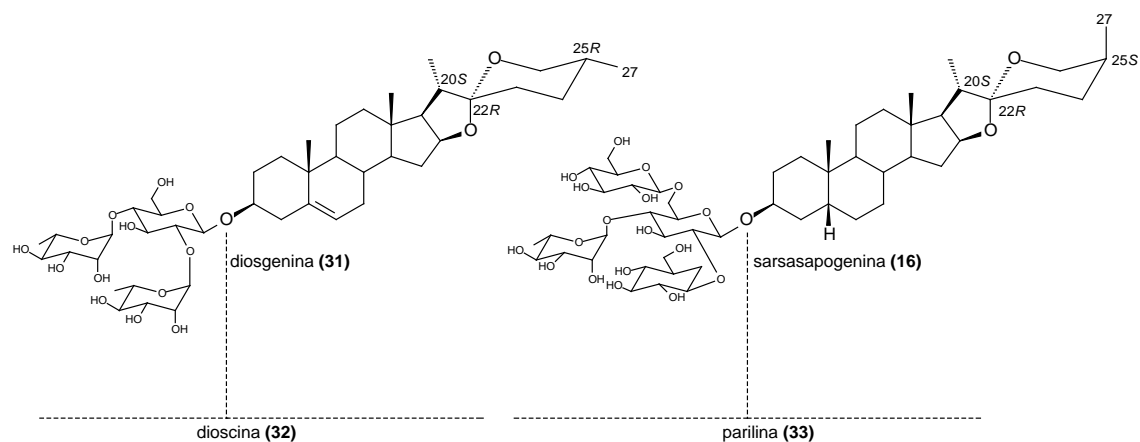
### 2.2.1 Nomenclatura de sapogeninas espiroestánicas.

Los espirostanos se pueden considerar como 16,22:22,26-diepoxicolestanos ya que contienen 27 átomos de carbono. La nomenclatura IUPAC de los espirostanos indica que, para la posición C-5, la configuración del centro asimétrico siempre es asignada por las letras griegas  $\alpha$  y  $\beta$  para mostrar respectivamente, la orientación hacia arriba y hacia abajo del plano del sustituyente, mientras que para C-25 se usan los descriptores  $R$  o  $S$  según las reglas de Cahn-Ingold-Prelog. En aquellas estructuras en las que las configuraciones de C-20 y C-22 están invertidas respecto a la estructura del colestano (7), las configuraciones de estos carbonos se denotan con los descriptores  $R$  o  $S$  correspondientes (Figura 9).<sup>4</sup>



**Figura 9. Numeración y estereoquímica de los espirostanos.**

Las sapogeninas espiroestánicas pueden presentar muchos isómeros dependiendo de los centros asimétricos C-20, C-22 y C-25, pero la mayoría de las sapogeninas naturales presentan la configuración 20*S*, 22*R*. Se han aislado sapogeninas tanto con la configuración  $R$ , como con la  $S$  en C-25. La diosgenina (31) es el aglicón de la saponina dioscina (32) y presenta al metilo C-27 con orientación ecuatorial (25*R*) y la sarsasapogenina (16) es el aglicón de la saponina parilina (33) y presenta al metilo C-27 con orientación axial (25*S*) (Figura 10).<sup>28</sup>

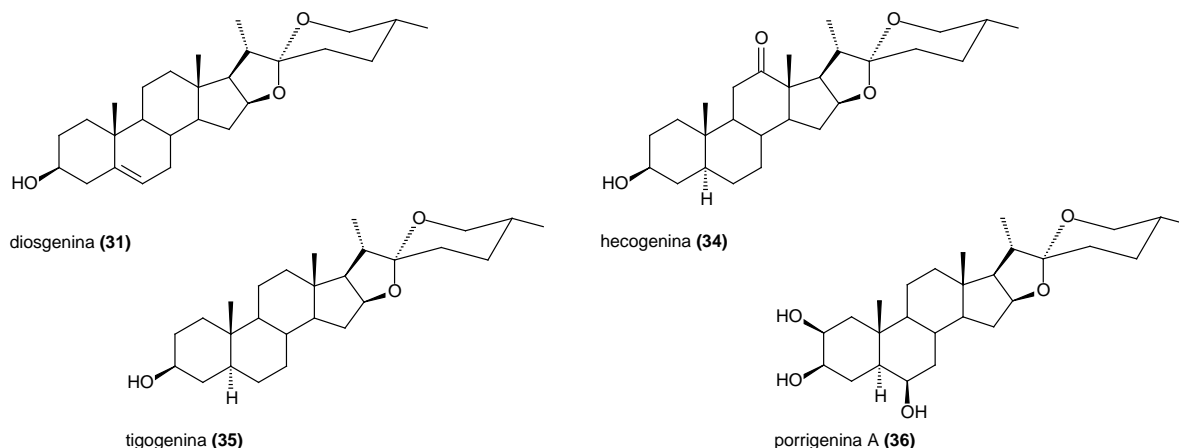


**Figura 10. Saponinas esteroidales.**

## 2.3 Sapogeninas naturales con actividad antitumoral.

### 2.3.1 Estructura y origen de las sapogeninas naturales con actividad antitumoral.

Algunos espirostanos como la diosgenina (31), la hecogenina (34), la tigogenina (35) y la porrigenina A (36) presentan actividad antiproliferativa de células cancerosas ya que inducen la apoptosis celular (**Figuras 10 y 11**).<sup>27,29-35</sup>



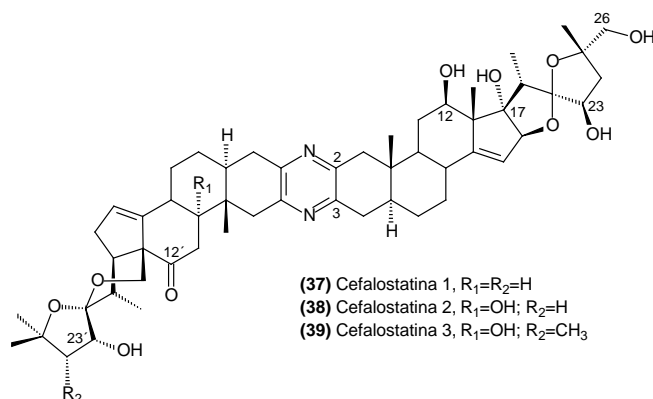
**Figura 11. Espirostanos con actividad antiproliferativa de células cancerosas.**

Las sapogeninas sirven como materiales de partida para la síntesis de compuestos bioactivos tales como las hormonas sexuales y adrenocorticales,<sup>3</sup> ecdiesteroides,<sup>36</sup> estimuladores de crecimiento vegetal,<sup>37-43</sup> y esteroides citotóxicos,<sup>44-50</sup> entre muchos otros.<sup>27,29,51</sup>

Los organismos marinos son una fuente natural de compuestos espirostánicos como las cefalostatinas (37-39) (**Figura 12**),<sup>46-50</sup> ritterazinas (40-42) (**Figura 13**),<sup>48-50</sup> y furoespirostánicos como los hippuristanoles (43-45) (**Figura 14**),<sup>52-56</sup> que presentan propiedades antitumorales.

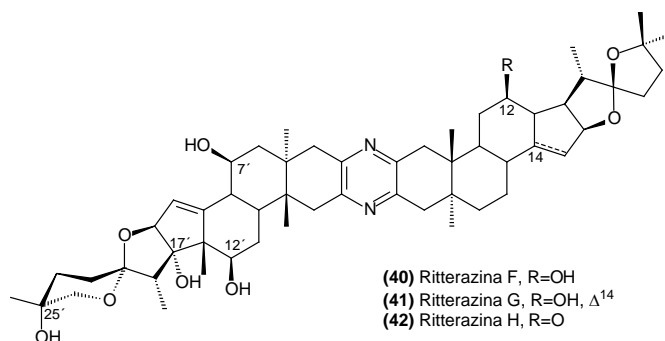
A finales de los años 80's Pettit y colaboradores aislaron del gusano marino *Cephalodiscus gilchristi* que habita en el océano Índico,<sup>57</sup> una familia de compuestos trisdecacíclicos conformados por dos unidades esteroidales

unidas a través de un anillo de pirazina a los que denominaron cefalostatinas. Los estudios de actividad biológica realizados mostraron que la cefalostatina 1 (**34**) presentó una actividad extraordinariamente alta contra un amplio espectro de líneas celulares de cáncer y demostró ser (*in vitro*) más activa que el paclitaxel<sup>®</sup>, considerándose así uno de los inhibidores del crecimiento celular más potentes evaluados en el Instituto Nacional del Cáncer.<sup>50,58</sup> Hasta el momento se han aislado y caracterizado diversas cefalostatinas que han mostrado perfiles de citotoxicidad muy parecidos al de la cefalostatina 1 (**37**) (**Figura 12**).<sup>24</sup>



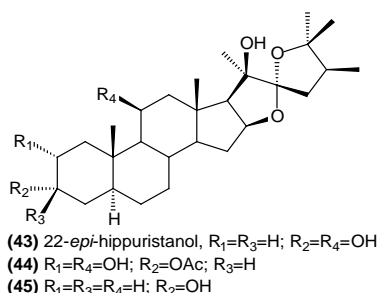
**Figura 12. Algunas Cefalostatinas.**

Por otra parte, Fusetani y colaboradores aislaron del tunicado *Ritterella tokioka*, nativo de las costas japonesas, una familia de compuestos estructuralmente similares a las cefalostatinas denominadas ritterazinas (**Figura 13**).<sup>59,60</sup> Las ritterazinas y las cefalostatinas comparten muchas características estructurales, tales como que ambas contienen dos núcleos esteroidales espiroestánicos o furoespiroestánicos altamente oxigenados y unidos por un anillo de pirazina en las posiciones C-2 y C-3. Las cefalostatinas generalmente se encuentran más oxigenadas en la unidad norte mientras que las ritterazinas lo están en la unidad sur. En las cefalostatinas, los grupos hidroxilos se encuentran en las posiciones C-12, C-17, C-23, C-26, C-12' y C-23' (**Figura 12**), mientras que en las ritterazinas se encuentran en las posiciones C-12, C-7', C-12', C-17' y C-25' (**Figura 13**). En cuanto a la actividad inhibitoria de crecimiento de células cancerosas, las cefalostatinas presentan mayor potencia que las ritterazinas.<sup>61</sup>



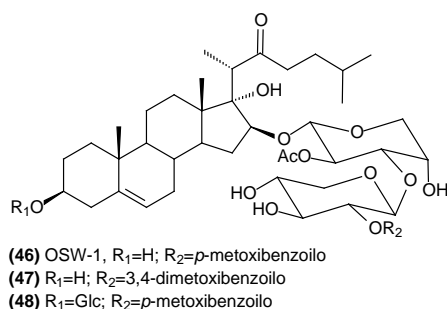
**Figura 13. Algunas Ritterazinas.**

Asimismo, varios investigadores aislaron del gorgonáceo *Isis hippuris* un interesante grupo de esteroides llamados hippuristanoles que presentan una potente actividad citotóxica *in vitro* y que estructuralmente contienen la agrupación furoespiroestánica en la cadena lateral (**Figura 14**).<sup>24,50,62</sup>



**Figura 14. Hippuristanoles.**

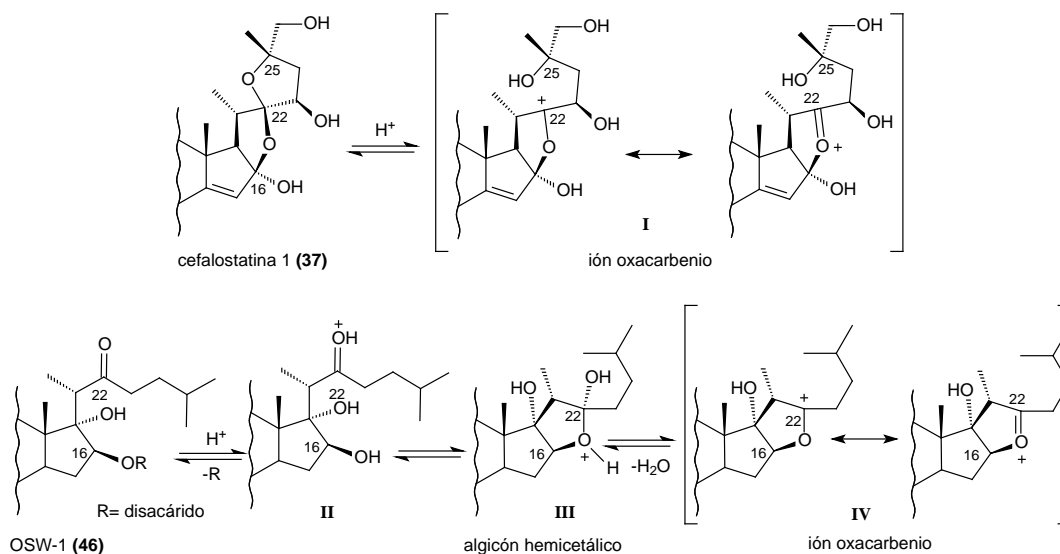
Un hallazgo interesante del grupo de Sashida es la saponina esteroidea OSW-1 (**46**) y sus análogos naturales aislados de la planta perenne *Ornithogalum saundersiae* que habita en el Sur de África.<sup>63,64</sup> Estos productos pertenecen a la familia de glicósidos derivados del colestano y contienen una estructura esteroidea del tipo 3 $\beta$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -trihidroxicolest-5-en-22-ona unida a un disacárido en la posición C-16 (**Figura 15**). El perfil citotóxico del OSW-1 (**46**) es muy similar al de las cefalostatinas y las ritterazinas.



**Figura 15. OSW-1 y análogos naturales.**

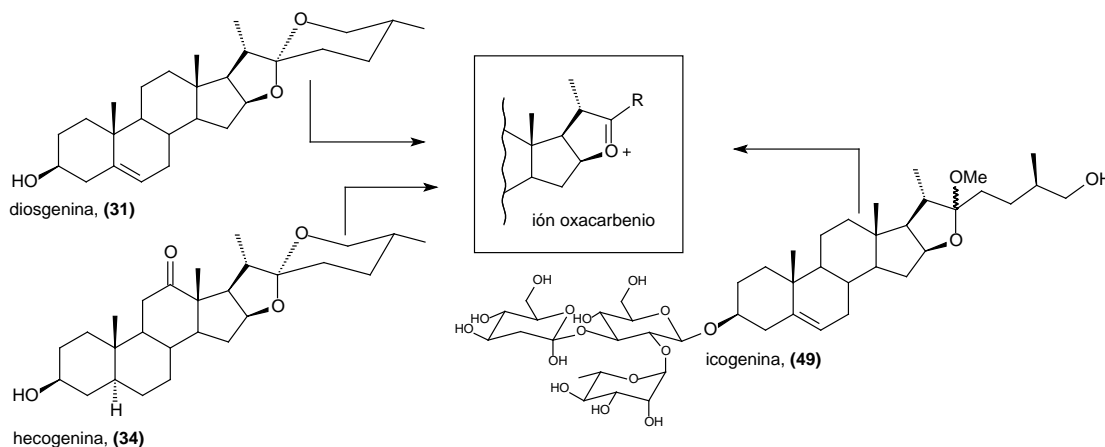
### 2.3.2 Modo de acción de saponinas antitumorales.

La actividad antitumoral del OSW-1(**46**), 100 veces mayor que el Taxol<sup>®</sup> y la evidencia de un perfil citotóxico y una potencia similar a la de la cefalostatina 1 (**37**), motivó a que Fuchs y colaboradores sugirieran que el oxacarbenio en C-22 pudiera actuar como un agente alquilante. En el caso de la cefalostatina 1 (**37**), la formación del ión oxacarbenio **I** ocurre a través de un mecanismo que incluye la apertura en medio ácido del puente cetálico C-16–C-22–C-25. De manera similar, para el OSW-1 (**46**) se propuso un mecanismo que implica la pérdida del disacárido unido a C-16 (**II**), que genera el aglicón hemicetálico **III** que, al deshidratarse, forma al ión oxacarbenio **IV** (**Esquema 1**).<sup>24, 65-68</sup>



**Esquema 1. Formación del ión oxacarbenio de la cefalostatina 1 y el OSW-1.**

La diosgenina (31), la hecogenina (34) y la icogenina (49) muestran actividad antiproliferativa e inducen apoptosis en varias líneas celulares, por lo tanto puede suponerse que la actividad se debe a la formación de un ión oxacarbenio (Esquema 2).<sup>65</sup>



**Esquema 2. Saponinas y sapogeninas esteroidales con actividad antiproliferativa en células cancerosas.**

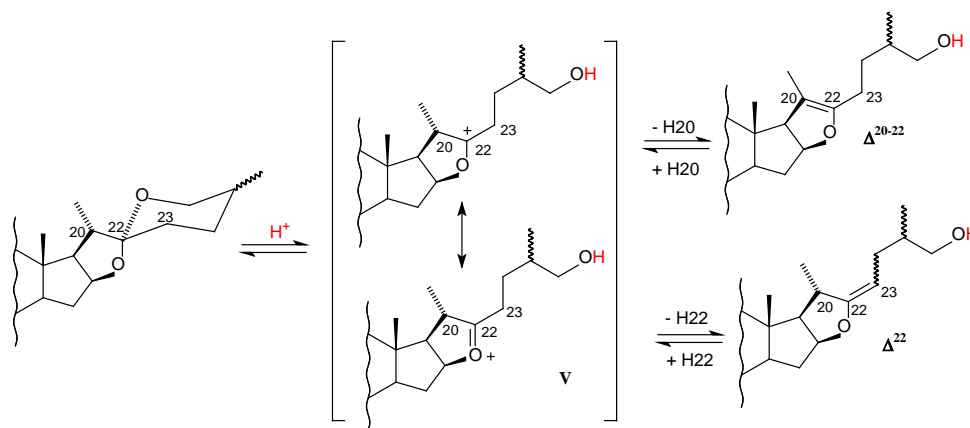
De acuerdo con la hipótesis de Fuchs, el ión oxacarbenio es el responsable de la actividad antiproliferativa, y el hecho de que compuestos portadores de espirocetales en C-22 como las cefalostatinas, ritterazinas, hipuristanoles,<sup>52-56</sup> sapogeninas esteroidales<sup>30-35</sup> y el OSW-1 (46) presentan una actividad biológica semejante constituye una invitación al estudio de la reactividad y la actividad biológica de otros derivados espirocetálicos que sean capaces de generar iones oxacarbenio alrededor de la posición C-22.

La muy limitada disponibilidad y poca accesibilidad de los compuestos marinos a partir de sus fuentes naturales<sup>61</sup> (se obtienen aproximadamente 100 mg de cefalostatina 1 (37) de 160 kg de gusanos) y la excepcional

actividad del OSW-1 (**46**) son la causas principales para la búsqueda de nuevas rutas sintéticas para obtenerlos a mayor escala y sintetizar análogos que permitan entender las relaciones estructura-actividad. La síntesis parcial del OSW-1 (**46**) y sus análogos se realiza a partir de esqueletos derivados del pregnano y del colestano, pero en muy bajo rendimientos debido a la dificultad de construir la cadena lateral 22-oxocolestánica y la introducción del grupo hidroxilo en C-17.<sup>67</sup>

## 2.4 Reactividad característica de las sapogeninas espiroestánicas.

Es conocido que, en medio ácido, las sapogeninas espiroestánicas presentan un tautomerismo en el que la cadena lateral espirocetálica se abre formando el ión oxacarbenio **V** que al perder un protón de C-20 o de C-23 produce el éter de enol  $\Delta^{20-22}$  ó  $\Delta^{22}$  correspondiente (**Esquema 3**).<sup>3</sup> La mayor parte de la reactividad de la cadena lateral espiroestánica puede ser justificada en base a estas dos formas enólicas y a la formación del ión oxacarbenio **V**.



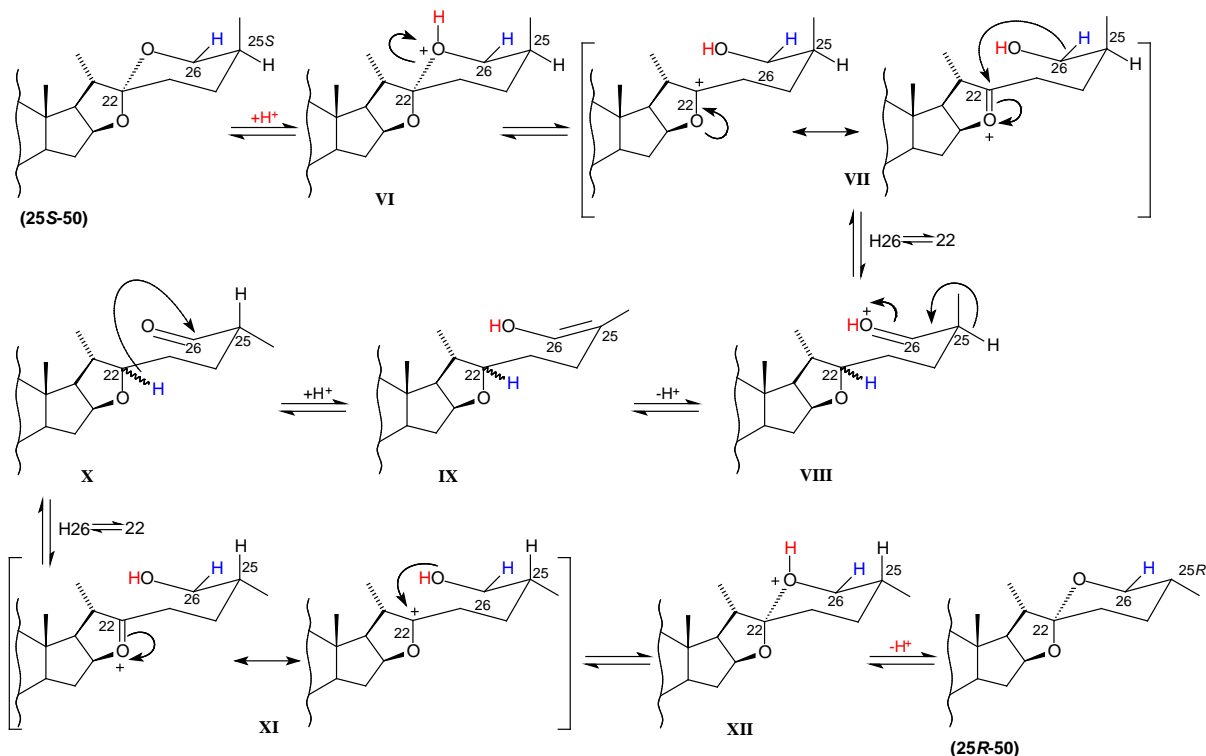
### Esquema 3. Tautomerismo ceto-enólico de sapogeninas esteroidales.

La existencia de este tautomerismo sugiere que estas formas enólicas pueden ser atacadas por un electrófilo lo suficientemente fuerte, para producir diferentes reacciones donde pueden incorporarse sustituyentes a la posición C-20 y C-23. Con fundamento en los resultados experimentales se puede concluir que la formación del éter de enol  $\Delta^{22}$  está más favorecida que la del éter de enol  $\Delta^{20-22}$ , favoreciendo por tanto la sustitución en C-23.<sup>25</sup>

#### 2.4.1 Reacción de epimerización en medio ácido: Reacción Iso.

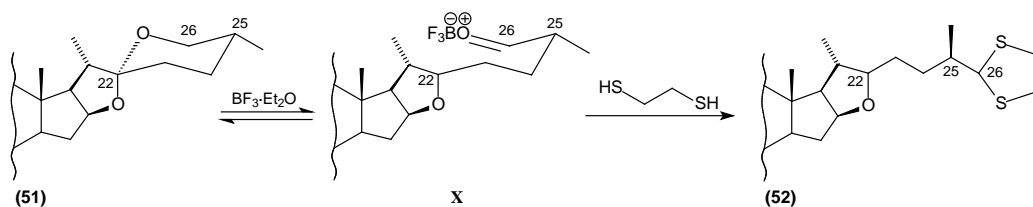
Marker y Rohrmann describieron que al tratar la 25*S*-sapogenina (**25*S*-50**) con una disolución de etanol y HCl a reflujo se obtiene el isómero 25*R* correspondiente (**25*R*-50**).<sup>69</sup> Años después Wall y colaboradores establecieron que esta reacción es reversible, de forma tal que tanto la sapogenina **25*S*-50** como la **25*R*-50** dan lugar a una mezcla que contiene aproximadamente un 20% de la primera y un 80% de la segunda.<sup>70</sup> Posteriormente, Woodward y colaboradores propusieron que la isomerización procede por un mecanismo de oxidación-reducción reversible que justifica el cambio de configuración en C-25.<sup>71</sup>

El proceso consiste en una sucesión de pasos de equilibrio que se inicia con la protonación del oxígeno sobre C-26 para producir el intermediario protonado **VI**. La apertura de la cadena conduce al ión oxacarbenio **VII** en el que la carga positiva sobre C-22 puede deslocalizarse contribuyendo a su estabilización. El mecanismo que explica la inversión de la configuración de C-25 es la migración de un hidruro de C-26 a C-22 que genera el aldehído protonado **VIII**, cuya forma enólica **IX** involucra la formación de un doble enlace entre la posición C-25 y C-26 provocando la pérdida de la configuración en C-25.<sup>25</sup> El paso clave para la isomerización en C-25 es la transferencia reversible de hidruro involucrada en los oxonios **VII**↔**VIII** y **X**↔**XI** (Esquema 4).<sup>71</sup>



**Esquema 4. Mecanismo de la reacción Iso.**

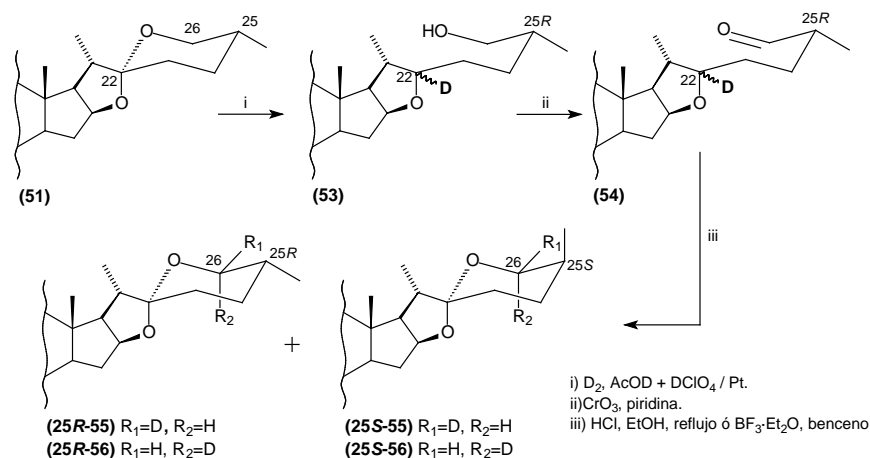
Este mecanismo de reacción fue demostrado por Djerassi y colaboradores al encontrar que el acetato de tigenina (**51**) reacciona con el etanoditiol en la presencia de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  para formar el 26-tiocetal (**52**) demostrando así la existencia del aldehído intermediario **X** (Esquema 5).<sup>72</sup>



**Esquema 5. Formación del tiocetal a partir de una sapogenina.**



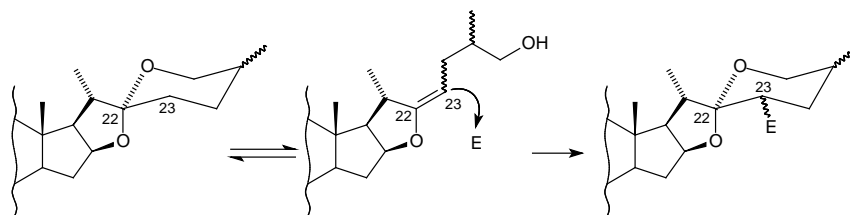
Seo y colaboradores describieron que la deuteración catalítica del acetato de tigogenina (**51**) en disolventes polares próticos deuterados y medio ácido, produce el compuesto furostánico deuterado en C-22 (**53**) que al oxidarse con el complejo CrO<sub>3</sub>-piridina forma el aldehído **54**. El tratamiento del aldehído **54** con HCl en etanol a reflujo o con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O en benceno a temperatura ambiente, forma la mezcla de sapogeninas esteroideas **25R-55**, **25S-55**, **25R-56** y **25S-56** deuteradas en C-26 (**Esquema 6**). Estos resultados constituyen argumentos que pueden considerarse concluyentes a favor del mecanismo propuesto por Woodward y al carácter reversible de la migración de hidruro de C-22 a C-26 (VII⇌VIII) (**Esquema 4**).<sup>73</sup>



**Esquema 6. Migración reversa de hidruro.**

### 2.4.2 Reacciones de sustitución.

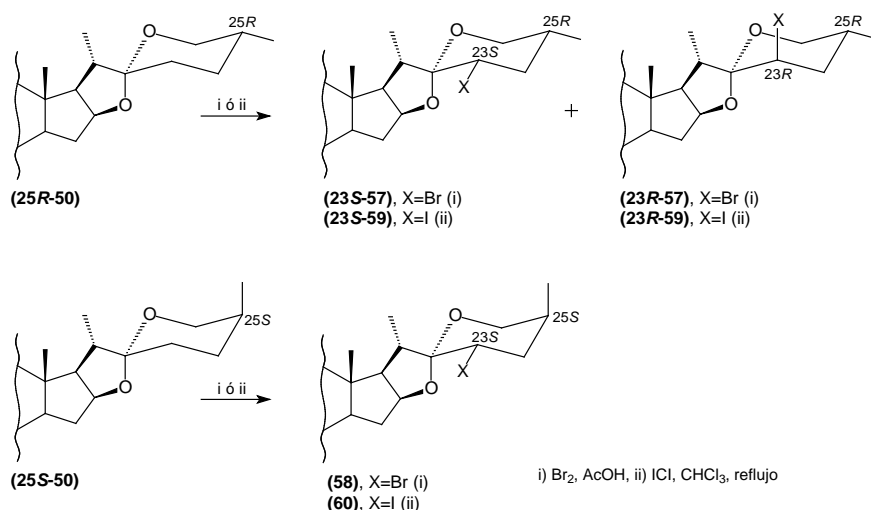
La formación favorecida del éter de enol  $\Delta^{22}$  y la incorporación de sustituyentes electrofílicos a la posición C-23 constituye el paso clave para la transformación de la cadena lateral (**Esquema 7**).



**Esquema 7. Mecanismo de sustitución en la posición C-23.**

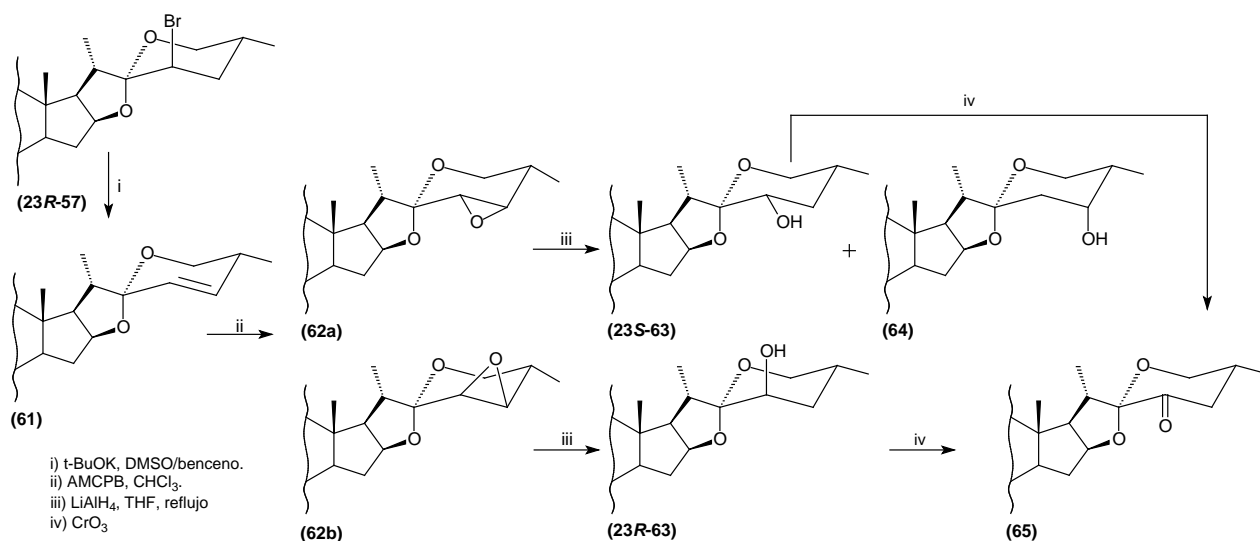
El tratamiento de sapogeninas espiroestánicas con bromo produce los epímeros bromados 23S (ecuatorial) y 23R (axial). En el caso de los 25R espirostanos, la bromación forma la mezcla de compuestos bromados **23S-57** y **23R-57**, donde predomina el epímero ecuatorial **23S-57**, mientras que el compuesto 25S forma exclusivamente el bromuro ecuatorial **58**.<sup>74</sup> Iglesias-Arteaga describió que al tratar sapogeninas con ICl se forma la mezcla de

epímeros yodados **23S-59** y **23R-59** en una proporción 0.82/1 **23S-59/23R-59** cuando la sapogenina pertenece a la serie **25R**, mientras que cuando se realiza la misma reacción con una sapogenina **25S** se obtiene exclusivamente el isómero **23S (60)** (**Esquema 8**).<sup>75</sup>



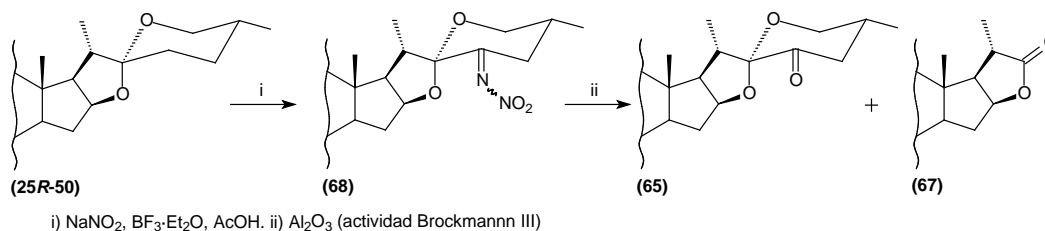
### Esquema 8. Halogenación de sapogeninas esteroideas.

La olefina **61** obtenida mediante la deshidrohalogenación de la bromosapogenina **23R-57**, forma los epóxidos  $\alpha$  y  $\beta$  **62a** y **62b** con rendimientos del 41% y 26% respectivamente mediante el tratamiento con AMCPB. La reducción del epóxido  $\beta$  (**62b**) forma el alcohol **23R-63** con excelentes rendimientos y el epóxido  $\alpha$  (**62a**) forma los alcoholes **23S-63** y **64** con rendimientos del 15% y 49% respectivamente.<sup>76,77</sup> El tratamiento de la sapogenina 23-hidroxiada **23R-63** ó **23S-63** con CrO<sub>3</sub> forma el derivado 23-oxo **65** (**Esquema 9**).<sup>77</sup>



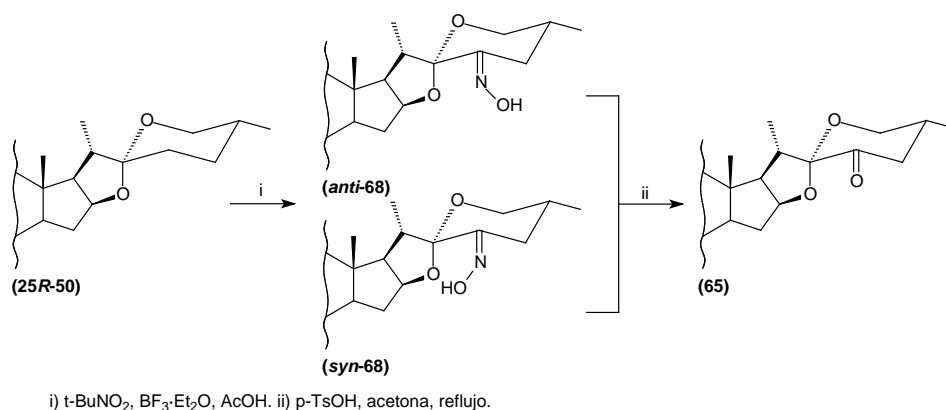
### Esquema 9. Formación y oxidación de sapogeninas 23-hidroxiadas.

Los métodos descritos para la obtención de 23-oxosapogeninas resultan de poca utilidad sintética debido a los bajos rendimientos que originan. La conversión de sapogeninas esteroidales en las correspondientes 23-oxosapogeninas se realiza efectivamente mediante la metodología descrita por Barton que consiste en el tratamiento con nitrito de sodio y  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en ácido acético, seguido de una cromatografía en columna con  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .<sup>41,42,78</sup> Las evidencias experimentales demuestran que el producto de la reacción es el 23-nitroimino **66** que se hidroliza con el  $\text{Al}_2\text{O}_3$  dando lugar a la 23-oxosapogenina **65** con un 50-60% de rendimiento y la lactona dinorcolánica **67** como producto secundario (**Esquema 10**).<sup>79-81</sup>



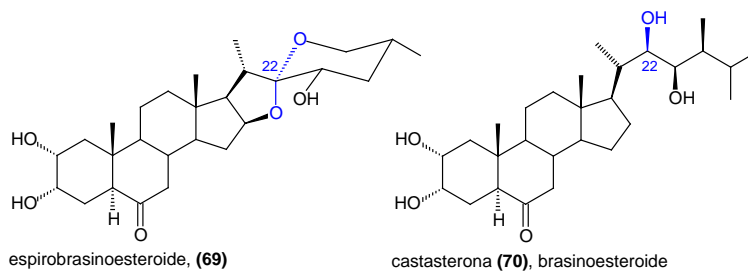
### Esquema 10. Formación de 23-oxo sapogeninas mediante el método de Barton.

Fuchs describió la oxidación de sapogeninas espiroestánicas a través de un método que consiste en la nitrosilación de C-23 con *t*- $\text{BuNO}_2$  en medio ácido para obtener la mezcla de oximas *anti*-**68** y *syn*-**68**, que al reaccionar con *p*- $\text{TsOH}$  forma el 23-oxo derivado **65** (**Esquema 11**).<sup>82</sup>



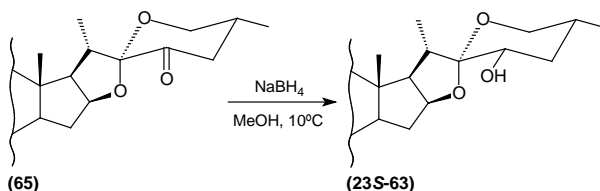
### Esquema 11. Formación de 23-oxo sapogeninas mediante el método de Fuchs.

La introducción diastereoselectiva de grupos hidroxilos para formar derivados 23*S*-OH es importante para la síntesis de análogos de brasinoesteroides.<sup>38,41,42</sup> Los análogos espiroestánicos de brasinoesteroides o espirobrasinoesteroides, como el compuesto **69**, muestran una potente actividad estimuladora del crecimiento vegetal; lo que sugiere que la agrupación cetálica sobre la posición C-22 de la cadena espiroestánica, produce efectos cualitativamente semejantes a los de la función alcohólica en C-22, de la cadena lateral de los brasinoesteroides, como la castasterona (**70**) (**Figura 16**).<sup>38</sup>



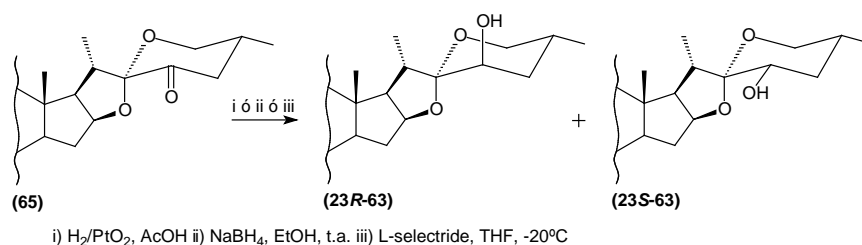
**Figura 16. Función alcohólica de la castasterona (70) y función cetálica del espirobrasinosteroide (69).**

Iglesias-Arteaga y colaboradores describieron la síntesis del derivado con el hidroxilo ecuatorial en C-23 (**23S-63**) mediante la reducción con NaBH<sub>4</sub> en metanol de la 23-oxosapogenina **65**, con buenos rendimientos (**Esquema 12**).<sup>38,41,42</sup>



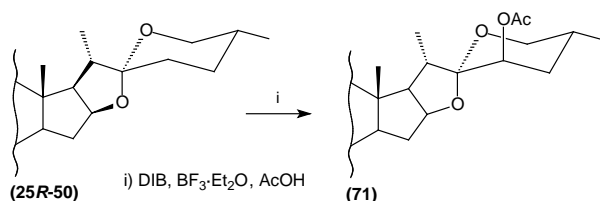
**Esquema 12. Síntesis diastereoselectiva de derivados 23S-hidroxilados.**

A pesar de la variedad de alternativas sintéticas para la obtención de sapogeninas 23-hidroxiladas, la preparación diastereoselectiva del isómero natural 23R, característico de las cefalostatinas, es difícil de efectuar.<sup>38,41,42,46,47,49,83</sup> La síntesis de 23R-OH sapogeninas descrita por Djerassi limita las posibilidades de emplear este tipo de derivados con fines sintéticos ya que sólo es posible producir la deshidrohalogenación del isómero 23R (axial) (**23R-57**), que sólo se produce en la reacción de bromación en un 35-40% (**Esquema 8**). Además, la olefina **61** produce una mezcla de epóxidos y de solo uno de estos se puede obtener el derivado 23R-OH (**Esquema 9**). La hidrogenación del 23-oxo derivado **65** con PtO<sub>2</sub> en medio ácido<sup>25,73</sup> o la reducción con hidruros metálicos forma la mezcla de alcoholes **23R-63** y **23S-63** en una relación que va desde 63/37 hasta 5/95, respectivamente (**Esquema 13**).<sup>38,41,42,46,83</sup>



**Esquema 13. Reducción de 23-oxo sapogeninas.**

Recientemente, Iglesias-Arteaga<sup>84</sup> describió que al tratar una sapogenina de la serie 25*R* con DIB y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O en ácido acético, se obtiene la 23*R*-acetoxisapogenina **71** correspondiente, con rendimientos del 63-67%. Ésta reacción resulta de gran utilidad para la producción diastereoselectiva de 23*R*-acetoxisapogeninas convenientes para la síntesis de cefalostatinas,<sup>46,47</sup> además de ampliar la posibilidad de realizar reacciones estereoespecíficas del epímero 23*R* (**Esquema 14**).<sup>83</sup>

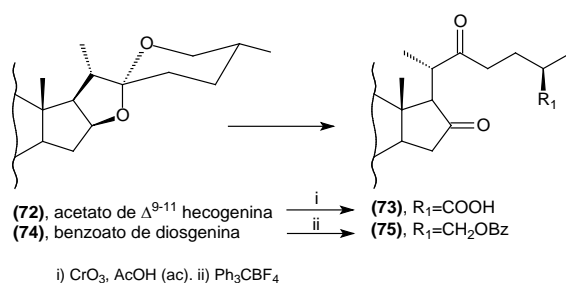


#### Esquema 14. 23*R*-Acetoxilación de sapogeninas esteroideas.

Como se ha mostrado, la formación reversible del éter de enol  $\Delta^{22}$  en las sapogeninas esteroideas permite la introducción de diversidad de sustituyentes en C-23. Sin embargo, éste intermediario enólico no sólo promueve la sustitución electrofílica, sino que además representa un sitio reactivo que permite la formación de muchos otros derivados.

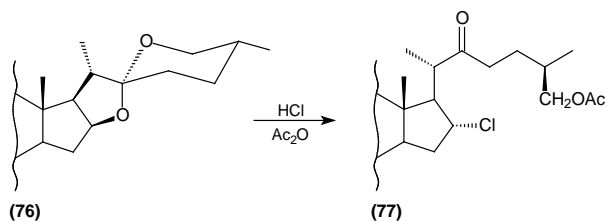
#### 2.4.3 Reacciones de apertura de la cadena lateral.

Barton descubrió que al tratar al acetato de 9(11)-deshidrohecogenina (**72**) con trióxido de cromo en ácido acético acuoso se produce el correspondiente ácido sapogenónico **73**,<sup>85</sup> con rendimientos superiores al 90% y que la reacción del benzoato de diosgenina (**74**) con Ph<sub>3</sub>CBF<sub>4</sub> da lugar al derivado de kriptogenina **75** (**Esquema 15**).<sup>86</sup>



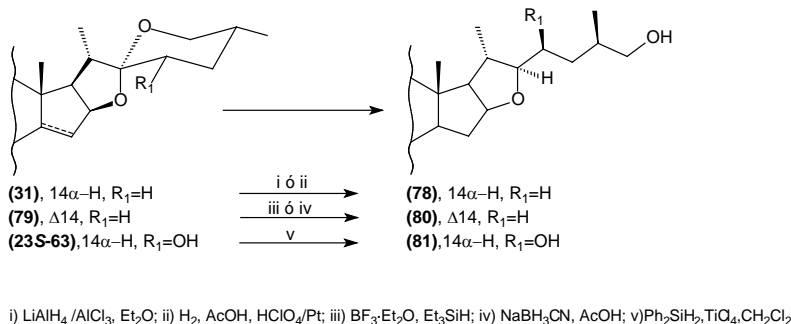
#### Esquema 15. Apertura oxidativa de sapogeninas espirotánicas.

Miner y Wallis describieron que al pasar una corriente de ácido clorhídrico a través de una disolución de acetato de diosgenina (**76**) en anhídrido acético se produce el 3,26-diacetato de 16 $\alpha$ -cloro-22-oxo-colesterol (**77**) (**Esquema 16**).<sup>87</sup>



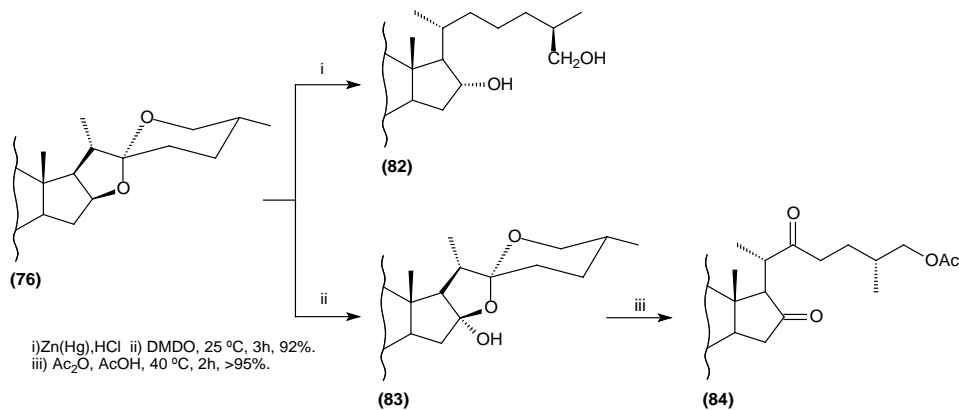
### Esquema 16. Apertura y halogenación de sapogeninas espiroestánicas.

Por otra parte, el tratamiento de **31** con  $\text{LiAlH}_4/\text{AlCl}_3$  en éter etílico<sup>88</sup> así como la hidrogenación catalítica con Pt en medio ácido,<sup>73</sup> producen la dihidroxisapogenina **78**. La apertura reductiva del espirocetal **79** con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}/\text{Et}_3\text{SiH}$ <sup>89</sup> o con  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  en ácido acético<sup>90</sup> forma únicamente el alcohol **80** con excelentes rendimientos, mientras que, la apertura de la sapogenina 23S-hidroxiada **23S-63** mediante el tratamiento con  $\text{Ph}_2\text{SiH}_2$  y  $\text{TiCl}_4$  conduce al diol furostánico **81** (Esquema 17).<sup>46</sup>



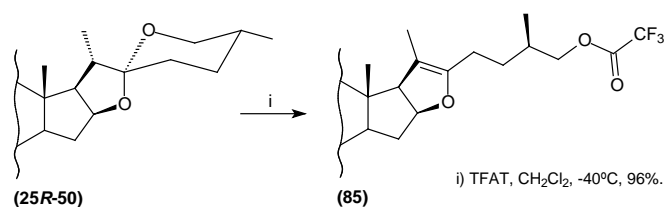
### Esquema 17. Apertura reductiva del anillo F de sapogeninas espiroestánicas.

La reducción de Clemensen del acetato de diosgenina (**76**) produce el derivado colestánico **82**<sup>91</sup> y el tratamiento con DMDO forma el compuesto  $16\alpha$ -hidroxilado **83**<sup>92</sup> que se transforma en la dicetona colestánica **84** cuando se trata con  $\text{AcOH}$  (Esquema 18). Este método de síntesis es una buena alternativa para la degradación de sapogeninas en condiciones suaves de reacción.<sup>93-95</sup>



### Esquema 18. Apertura de la cadena lateral espiroestánica.

Existen varios métodos que utilizan la catálisis ácida para realizar la apertura del anillo F de sapogeninas y obtener pseudosapogeninas,<sup>95-99</sup> un método eficiente es el tratamiento con TFAT que forma la pseudosapogenina **85** (Esquema 19).<sup>100</sup>

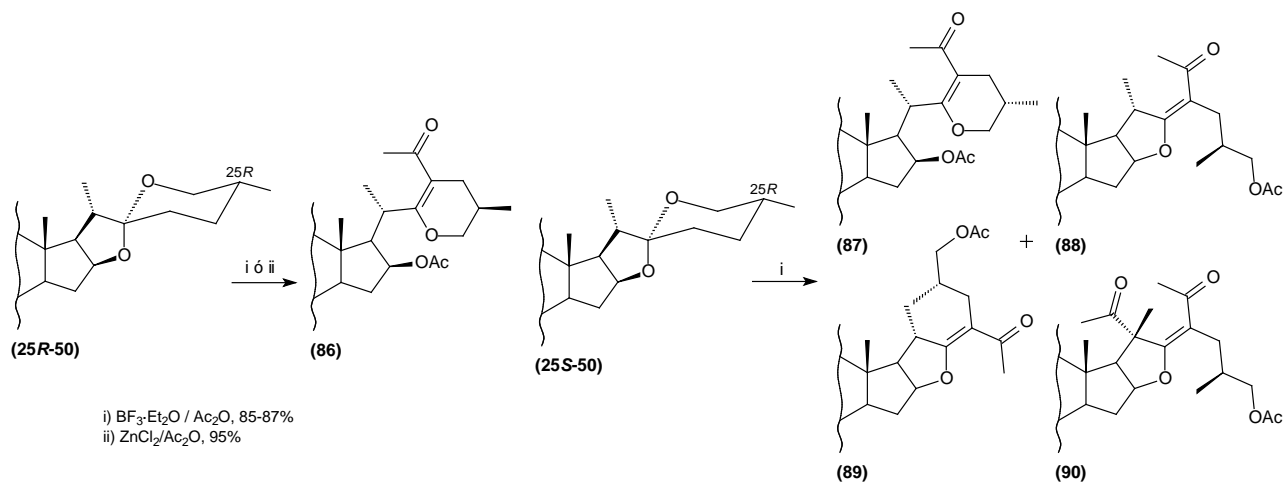


Esquema 19. Obtención de la pseudosapogenina **85** con TFAT.

#### 2.4.4 Reacciones de transposición y degradación de la cadena lateral.

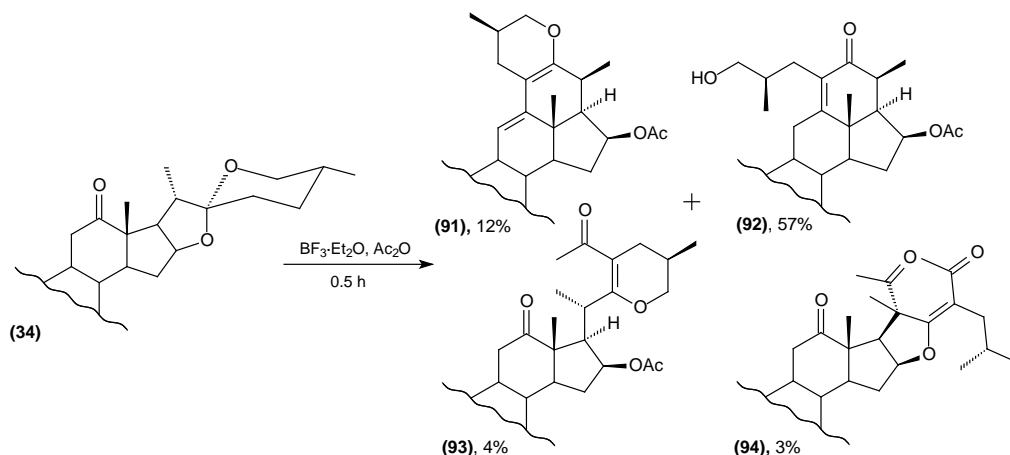
La obtención de análogos de pirazinas bisesteroidales, del OSW-1 y muchos otros compuestos, mediante la degradación de la cadena lateral y la subsecuente adición de nuevos fragmentos funcionalizados, implica largos procedimientos y bajos rendimientos. Por esta razón la transformación de este fragmento mediante reacciones de transposición resulta una alternativa conveniente para reducir el número de pasos de síntesis y mejorar los rendimientos.

La ruptura y transposición de la cadena lateral de 25S-sapogeninas realizada con ZnCl<sub>2</sub>/Ac<sub>2</sub>O forma el 22,26-epoxicolest-22-eno (**86**) con excelente rendimiento.<sup>101</sup> El efecto de la orientación del grupo metilo C-27 (25S ó 25R) en la acetólisis catalizada con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O de las sapogeninas muestra que, mientras que las 25R-sapogeninas forman exclusivamente al colesteno **86**,<sup>102</sup> las 25S-sapogeninas producen tanto el epoxicolesteno **87** como los furostenos **88** a **90** (Esquema 20).<sup>103,104</sup>



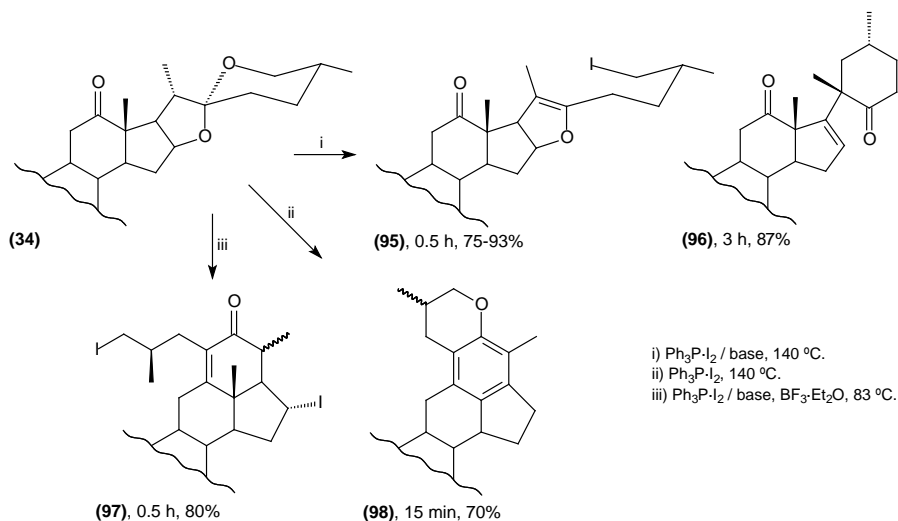
Esquema 20. Obtención del colesteno **87** y los furostenos **88-90** mediante acetólisis con ácidos de Lewis.

La transposición de la hecogenina (**34**) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O} / \text{Ac}_2\text{O}$  produce los compuestos hexacíclicos **91** a **94** con retención de la configuración de todos los centros estereogénicos (**Esquema 21**).<sup>105</sup>



### Esquema 21. Transposición de la cadena lateral de la hecogenina mediante acetólisis.

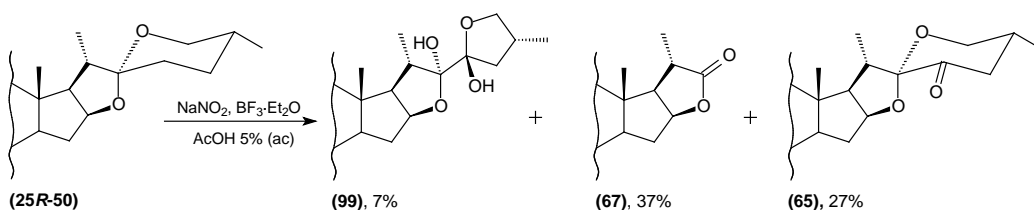
LaCour y colaboradores describieron que el tratamiento de la hecogenina (**34**) con  $\text{Ph}_3\text{P} \cdot \text{I}_2$ , produce el éter de enol yodado **95** y los productos de transposición **96** a **98**, dependiendo de las condiciones y el tiempo de reacción (**Esquema 22**).<sup>106,107</sup>



### Esquema 22. Tratamiento de la hecogenina (**34**) con $\text{Ph}_3\text{P} \cdot \text{I}_2$ .

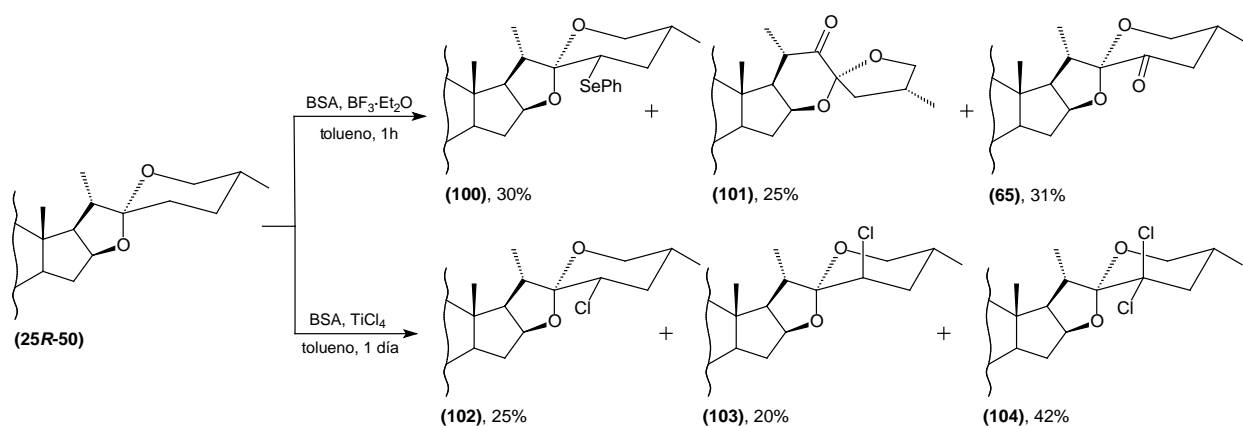
Se conoce que la oxidación de sapogeninas con  $\text{NaNO}_2 / \text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en ácido acético glacial produce las 23-oxo sapogeninas correspondientes. (**Esquema 10**).<sup>79-81</sup> Sin embargo, si la reacción se realiza en ácido acético acuoso al 5% forma el derivado bisfurostánico (22*S*,23*S*)-22,23-dihidroxi-23,26-epoxifurostano (**99**) además de la lactona dinorcolánica **67** y el derivado 23-oxo **65** (**Esquema 23**).<sup>108</sup>





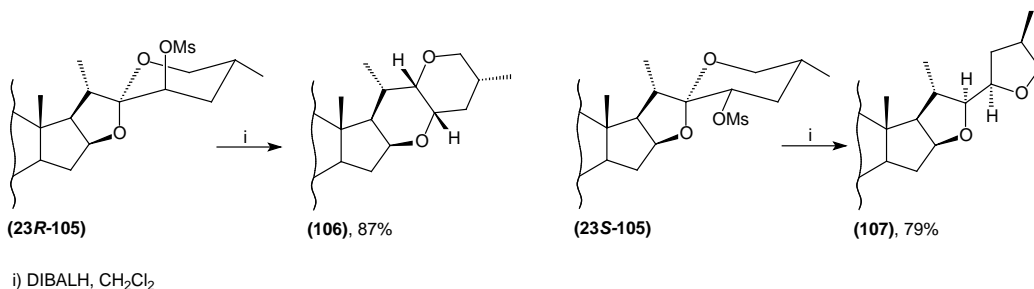
**Esquema 23. Obtención del bisfurostano 99 y los productos de oxidación 65 y 67.**

Por otra parte, la adición del BSA a sapogeninas espirostánicas en presencia de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  produce tres compuestos, el 23-fenilselenuro **100**, el 23-oxoespirostano **65** y su isómero, el 22-oxoespirostano **101**. Si la reacción se realiza con BSA en presencia de  $\text{TiCl}_4$  se obtienen los productos clorados **102** a **104** (Esquema 24).<sup>109</sup>



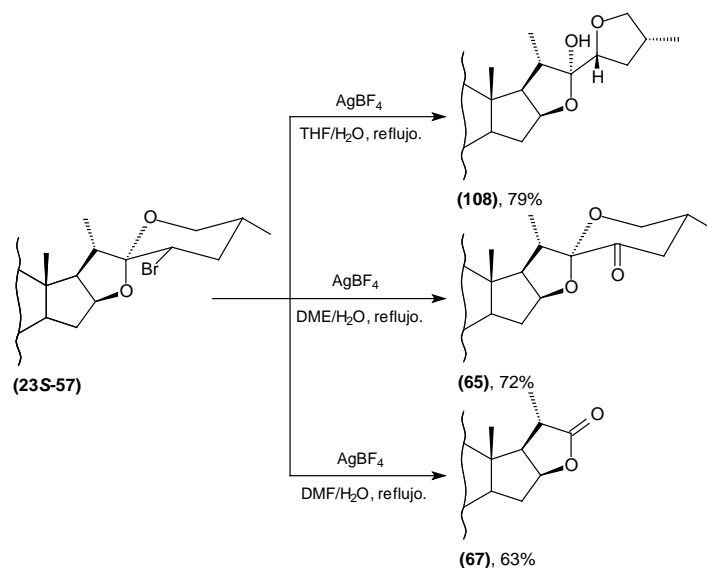
**Esquema 24. Sustitución en C-23 y transposición de sapogeninas con BSA.**

Las reacciones de espirostanos 23-bromados o 23-metanosulfonatos implican transposiciones interesantes.<sup>74,110</sup> Los metanosulfonatos **23R-105** y **23S-105** reaccionan con DIBALH formando el derivado *cis*-1,5-dioxodecalina **106** y el bistetrahidrofurano **107**, respectivamente. (Esquema 25).<sup>83</sup>



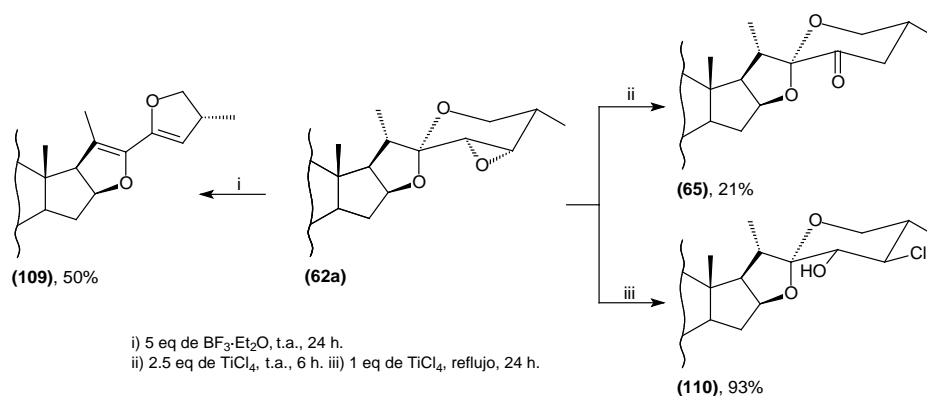
**Esquema 25. Transposiciones de 23-metanosulfonatos.**

El tratamiento del bromuro ecuatorial **23S-57** con  $\text{AgBF}_4$ , produce diferentes compuestos dependiendo del disolvente: en THF da lugar al bisfurano **108**; en DME forma el compuesto 23-oxo **65**; y en DMF la lactona dinorcolánica **67** (Esquema 26).<sup>74,110</sup>



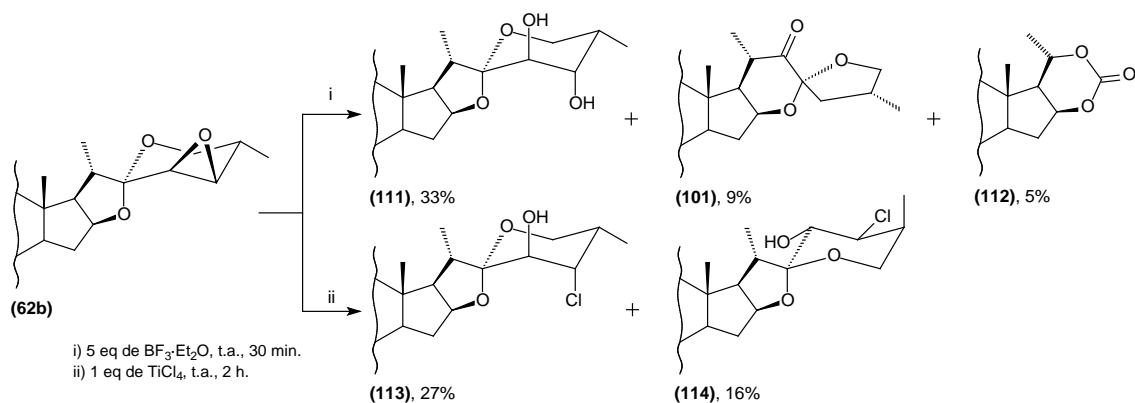
**Esquema 26. Transposición y degradación de 23-bromosapogeninas.**

Las reacciones de las 23,24-epoxisapogeninas **62a** y **62b** con ácidos de Lewis permiten la obtención de derivados bifurostánicos y productos 23,24-disustituídos. La reacción del  $\alpha$ -epóxido **62a** con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  forma el bisfurano **109**, mientras que la reacción con  $\text{TiCl}_4$  forma el compuesto 23-oxo **65** o la clorhidrina **110** dependiendo de la temperatura (Esquema 27).<sup>111</sup>



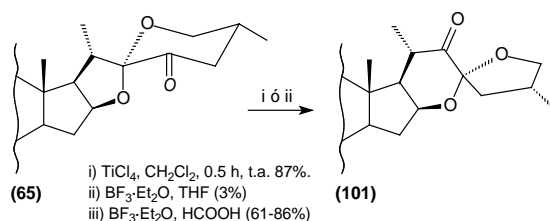
**Esquema 27. Apertura y transposición de la  $\alpha$ -23,24-epoxisapogeninas.**

La reacción del  $\beta$ -epóxido **62b** con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  forma el producto principal **111** y como subproductos el derivado 22-oxo **101** y el carbonato cíclico **112**. El tratamiento de **62b** con  $\text{TiCl}_4$  forma las clorhidrinas **113** y **114** (Esquema 28).<sup>111,112</sup>



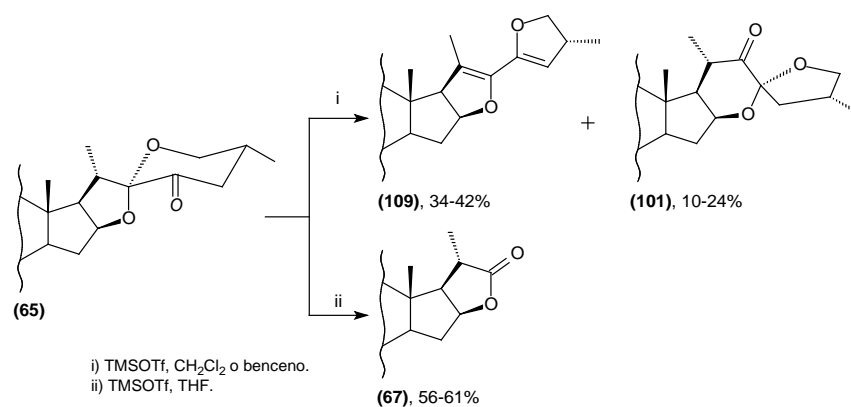
**Esquema 28. Apertura y transposición de la  $\beta$ -23,24-epoxisapogenina.**

Suárez describió la obtención del isómero 22-oxo **101** a partir de 23-oxosapogeninas **65** mediante el tratamiento con ácidos de Lewis utilizando  $\text{TiCl}_4$  en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .<sup>113</sup> Una metodología similar con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en THF fue descrita por Morzycki, pero los rendimientos fueron muy bajos.<sup>114</sup> Recientemente, Iglesias-Arteaga describió que el tratamiento de sapogeninas esteroidales con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en ácido fórmico constituye una alternativa conveniente para esta isomerización (**Esquema 29**).<sup>115</sup>



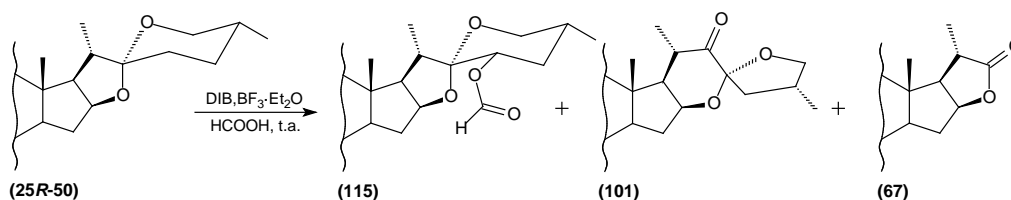
**Esquema 29. Síntesis de 22-oxosapogeninas por transposición del derivado 23-oxo catalizada con ácidos de Lewis.**

La anterior transposición también se observa cuando la 23-oxosapogenina **65** se trata con TMSOTf en disolventes no polares. En esta reacción, el producto principal formado es el bisfurano **109** y el producto secundario es el compuesto 22-oxo **101**. El tratamiento de la 23-oxosapogenina **65** con TMSOTf en THF, da lugar a la lactona dinorcolánica **67** como único producto (**Esquema 30**).<sup>111</sup>



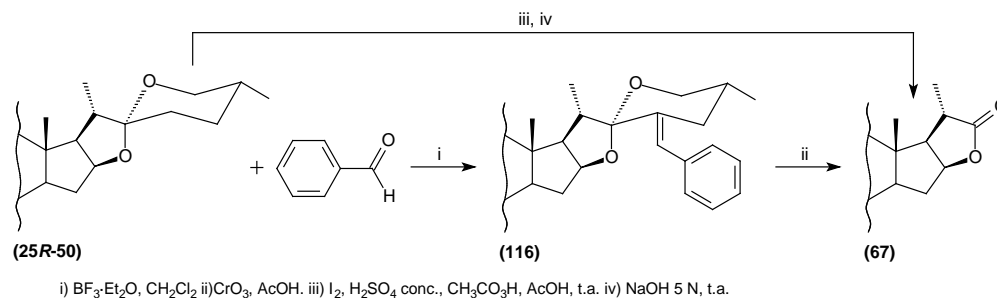
**Esquema 30. Transposición del derivado 23-oxo con TMSOTf.**

Por otra parte, se ha descrito que la reacción del anillo F de sapogeninas con DIB en la presencia de BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O y ácido fórmico conduce tanto al producto de sustitución 23S-formilado **115** como al producto de transposición **101** y la lactona dinorcolánica **67** (Esquema 31).<sup>115</sup>



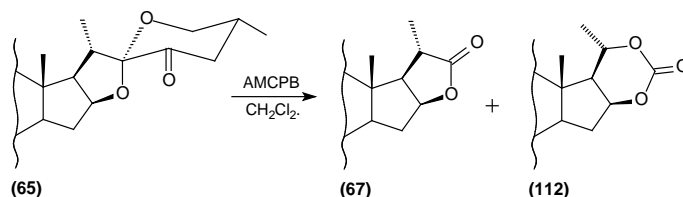
**Esquema 31. Reacción del anillo F de sapogeninas con DIB.**

Tian describió un procedimiento eficiente en dos etapas para la degradación de la cadena lateral espiroestánica y la obtención de la lactona mediante el uso de I<sub>2</sub> en presencia de CH<sub>3</sub>CO<sub>3</sub>H (Esquema 32).<sup>44</sup> Sin embargo, ésta metodología no es aplicable a sapogeninas esteroidales portadoras de dobles enlaces o grupos carbonilos. Recientemente Iglesias-Arteaga describió que el tratamiento de una sapogeninas esteroidal con benzaldehído y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O produce el *E*-23(23')-benciliden-espirostanos **116**, que al reaccionar con CrO<sub>3</sub> en ácido acético forma la lactona dinorcolánica **67** con buenos rendimientos, lo que constituye un procedimiento que puede utilizarse en compuestos portadores de dobles enlaces o grupos carbonilos.<sup>116</sup>



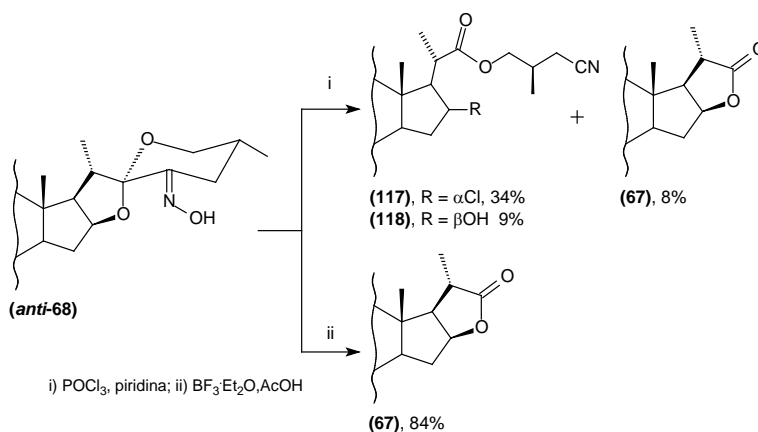
**Esquema 32. Obtención del 23-benciliden 116 espirostanos y la lactona dinorcolánica 67.**

Por otra parte, la reacción de transposición de Baeyer-Villiger de 23-oxo sapogeninas forma la lactona dinorcolánica **67** y el carbonato cíclico **112** (**Esquema 33**).<sup>119,120</sup>



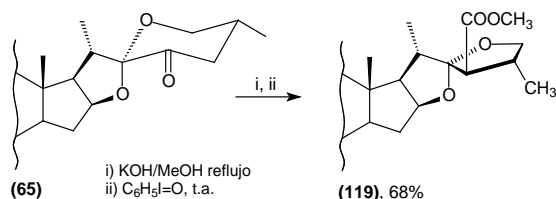
**Esquema 33. Reacción de Baeyer-Villiger de 23-oxosapogeninas.**

La fragmentación de Beckmann de la 23-hidroxiiminosapogenina *anti*-**68** muestra que, si la reacción se realiza con POCl<sub>3</sub>/piridina produce la mezcla de los nitrilos **117** y **118**, y la lactona dinorcolánica **67**;<sup>121</sup> mientras que si se lleva a cabo con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O/AcOH produce exclusivamente la lactona **67** (**Esquema 34**).<sup>122</sup>



**Esquema 34. Fragmentación de Beckmann en 23-hidroximino espirostanos.**

Se ha descrito que las reacciones con yodosobenceno, generado a partir del DIB en medio ácido, siguen diferentes rutas dependiendo del impedimento estérico.<sup>123,124</sup> Con este antecedente, Iglesias-Artega llevó a cabo la síntesis del (22*S*,23*R*,24*R*)-16β,22:22,25-diepoxi-23-carboximetil-24-metil-dinorcolestan-3α-ol **119** mediante una transposición de Favorskii (**Esquema 35**).<sup>125</sup>



**Esquema 35. Transposición de Favorskii en 23-oxoespirostanos.**

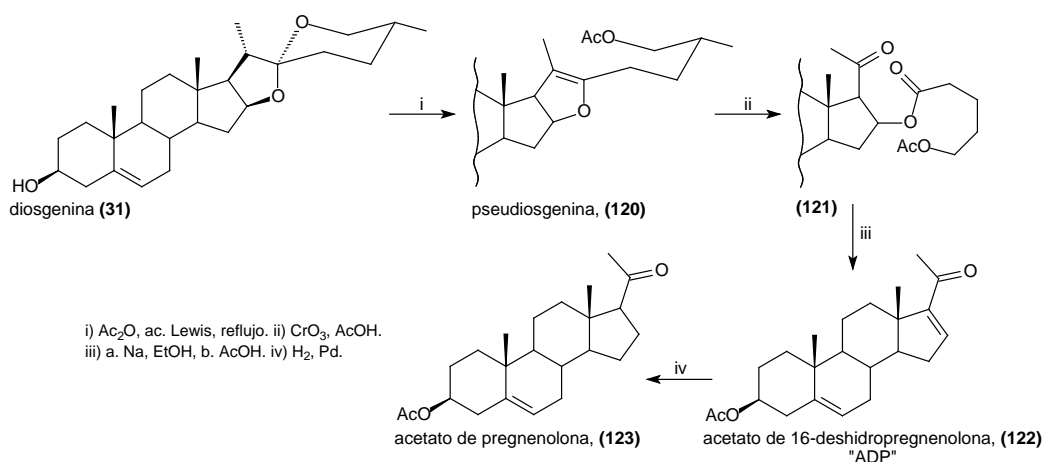
Como puede observarse, las cadenas espirocetálicas producen una gran variedad de reacciones que dan lugar a compuestos útiles para la síntesis de diversidad de compuestos portadores de cadenas laterales con agrupaciones, donde el anillo E es tetrahidropiránico y el anillo F tetrahidrofuránico (agrupación 6-5) (**101**, **Esquema 31**), o donde tanto el anillo E como el F son tetrahidrofuránicos (agrupación 5-5) (**119**, **Esquema 35**), que resultan atractivas para realizar un estudio de la reactividad, tanto desde el punto de vista mecanístico, como de la potencial aplicación para la síntesis de compuestos bioactivos.

## 2.5 Síntesis de sapogeninas con actividad biológica.

La obtención de nuevos compuestos a partir de sapogeninas naturales ha interesado a los químicos orgánicos desde hace décadas. Probablemente el hecho histórico más destacado en el campo de la síntesis de esteroides es el establecimiento de la empresa Syntex® en México, una industria dedicada a la producción a gran escala de hormonas sexuales partiendo de la diosgenina (**31**) obtenida de una planta de la especie *Dioscorea* conocida por los nativos como “cabeza de negro”. Dentro de las múltiples aportaciones a la ciencia que trajo consigo este acontecimiento, se pueden destacar dos grandes descubrimientos: el primero, la obtención de la progesterona con procedimientos de bajo costo; y, el segundo la síntesis del primer anticonceptivo oral, noretisterona (**26**).<sup>126-128</sup>

La transformación de la diosgenina (**31**) en las diferentes hormonas inicia con la obtención del ADP (**122**) mediante un proceso actualmente conocido como la “degradación de Marker” en honor al científico que la desarrolló.<sup>93,94,129</sup> Esta ruta sintética consiste en tratar la diosgenina (**31**) con un ácido de Lewis en anhídrido acético a reflujo para dar lugar a la pseudodiosgenina (**120**),<sup>95-98</sup> compuesto furostánico portador de una insaturación de tipo  $\Delta^{20-22}$ , que al oxidarse produce el éster (**121**). La hidrólisis alcalina de **121** origina al ADP (**122**) que al hidrogenarse forma al acetato de pregnenolona (**123**) (**Esquema 36**).<sup>129</sup>

El ADP (**122**) es el precursor sintético de hormonas sexuales como la progesterona (**11**)<sup>83</sup> y la noretisterona (**26**) (**Figuras 3 y 6**).<sup>126-131</sup>

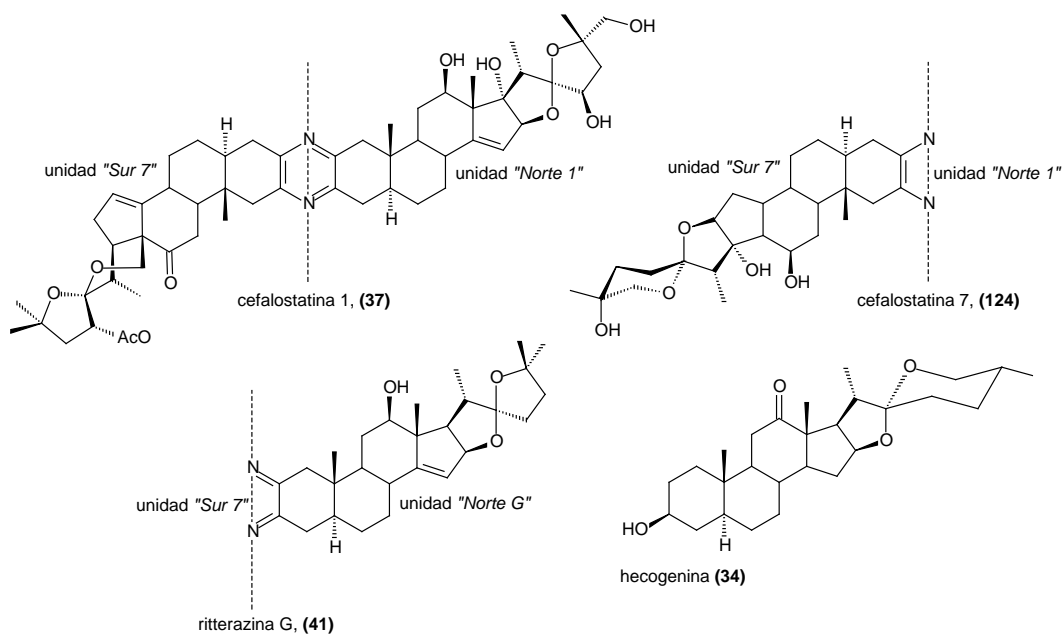


**Esquema 36. Degradación de Marker.**

Las sapogeninas esteroidales son utilizadas como materia prima en la síntesis de derivados de pirazinas bisesteroidales (cefalostatinas y ritterazinas),<sup>24,48,49,66,132-134</sup> sapogeninas anticancerígenas,<sup>135-138</sup> y del aglicón del OSW-1,<sup>45,67,139-143</sup> entre otros. La funcionalización selectiva de los anillos E y F y la reorganización de la agrupación espirocetálica de las sapogeninas esteroidales son fundamentales para construir estos derivados.<sup>24,49</sup>

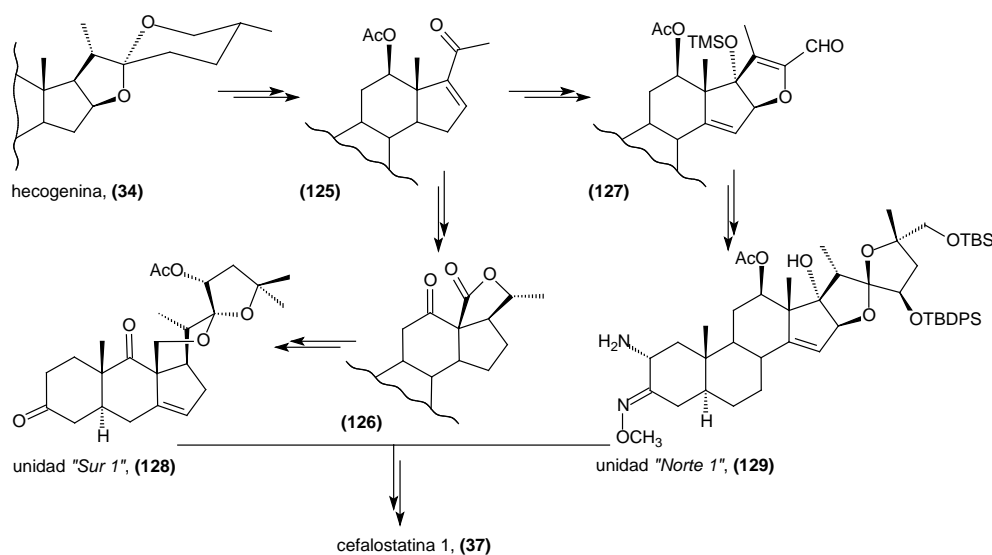
Los primeros acercamientos para resolver los problemas de funcionalización y reagrupación son las síntesis totales de la cefalostatina 1 (**37**)<sup>48,133</sup> y la cefalostatina 7 (**124**).<sup>132</sup>

Las pirazinas bisesteroidales son consideradas derivados de la hecogenina (**34**), ya que están constituidas por dos “unidades” unidas a través de esqueletos carbonados similares a ésta sapogenina. Las cefalostatina 1 (**37**), la cefalostatina 7 (**124**) y la ritterazina G (**41**) son particularmente interesantes por tratarse de los compuestos más activos de la familia. Es relevante que sólo cuatro unidades (unidad norte 1, unidad sur 1, unidad norte 7 y unidad norte G), de las seis comunes a las pirazinas bisesteroidales naturales, están presentes en los compuestos más activos (**Figura 17**).<sup>24</sup>



**Figura 17. Unidades esteroidales básicas de pirazinas bisesteroidales.**

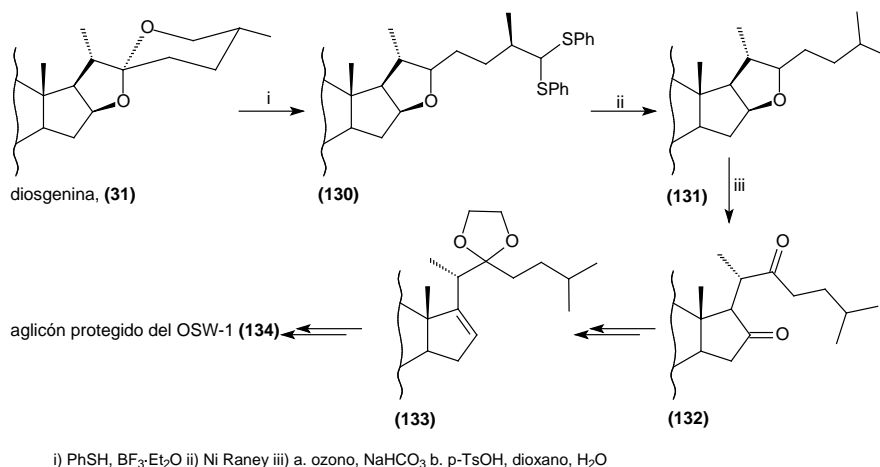
La síntesis total de cefalostatina 1 (**37**) inicia con la degradación de la cadena lateral de la hecogenina (**34**) para obtener el pregnano **125**, precursor tanto de la lactona **126** como del aldehído **127** que dan lugar a la cetona **128** (unidad sur 1) y la amino metiloxima **129** (unidad norte 1), respectivamente. La ruta de síntesis involucra 35 pasos de reacción para la obtención de la cetona **128**, 33 pasos para la obtención de la amino metiloxima **129** y cuatro pasos para la fusión de ambas unidades, obteniendo un rendimiento total inferior al 1% (**Esquema 37**)<sup>48,49,144,145</sup>



### Esquema 37. Síntesis total de la cefalostatina 1.

De forma análoga, el interés por la síntesis del OSW-1 ha llevado al desarrollo de diversas metodologías sintéticas. A pesar de que la estructura del aglicón de la saponina OSW-1 no es tan complicada como la de las cefalostatinas y las ritterazinas, su síntesis presenta el problema de introducir los grupos hidroxilos en el anillo D con la configuración apropiada.<sup>49</sup>

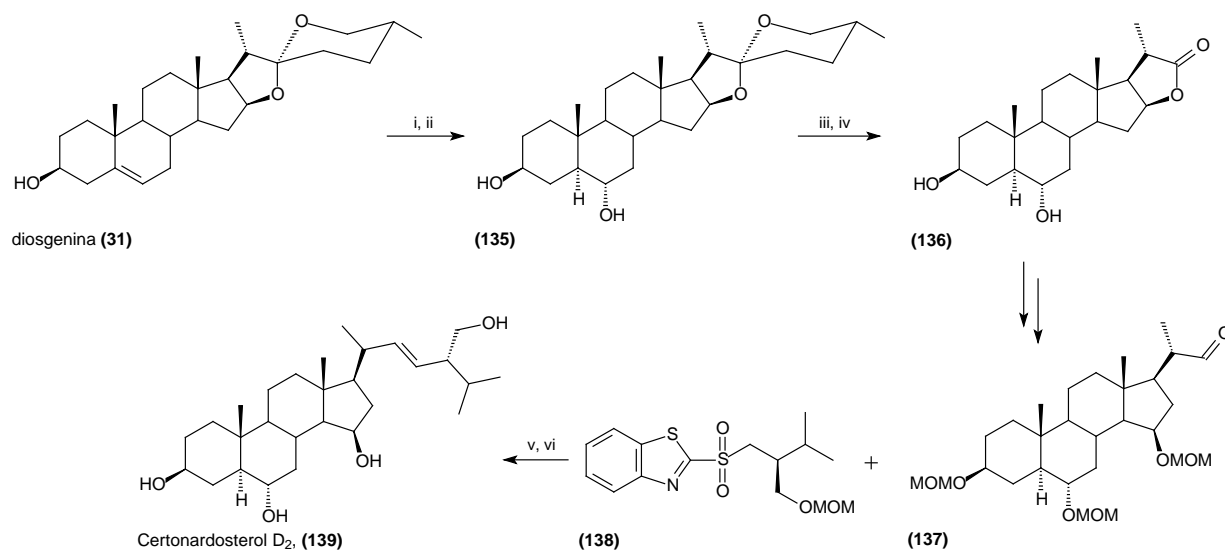
El grupo de Tian<sup>45</sup> obtuvo el aglicón del OSW-1 (**134**) mediante la apertura de las cadenas laterales de las sapogeninas esteroidales en lugar de utilizar los productos de degradación como hicieron Fuchs,<sup>140</sup> y Morzycki.<sup>49,139,146</sup> El tratamiento de la diosgenina (**31**) con PhSH y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O produce el furostano **130** que mediante desulfuración con níquel Raney produce el furostano **131**. La oxidación del compuesto **131** con dimetildioxirano produce la dicetona **132**, precursora del cetol **133** que mediante el tratamiento descrito por Fuchs<sup>140</sup> conduce al aglicón del OSW-1 (**134**). Esta ruta se lleva a cabo en 13 pasos de síntesis con un rendimiento total del 9.5 % (Esquema 38).<sup>139</sup>



### Esquema 38. Síntesis del OSW-1 de Tian.



Por otra parte, el Certonardosterol D<sub>2</sub> (**139**), un polihidroxiesteroide con una potente actividad antitumoral aislado de la estrella de mar *Certonardoa semiregularis*, se sintetizó a partir de la diosgenina (**31**). La ruptura directa del enlace C-22–C-23 de las sapogeninas para formar la lactona dinorcolánica **136** se logra mediante el tratamiento de la sapogenina con ácido peroxiacético en presencia de cantidades catalíticas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y I<sub>2</sub>. Con la intención de encontrar una metodología universal para la síntesis estereoselectiva de las cadenas laterales de certonardosteroides, Jian y colaboradores establecieron una estrategia sintética que incluye la olefinación del aldehído **137** con una alquilsulfona quiral **138** y la introducción estereoselectiva del grupo 24*R*-hidroximetil (**Esquema 39**).<sup>44</sup>



i) BH<sub>3</sub>, THF, 0 °C. ii) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, NaOH, 0 °C. iii) I<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc., CH<sub>3</sub>CO<sub>3</sub>H, AcOH. iv) NaOH 5N. v) LiHMDS, THF, -78°C. vi) HCl 6M, THF.

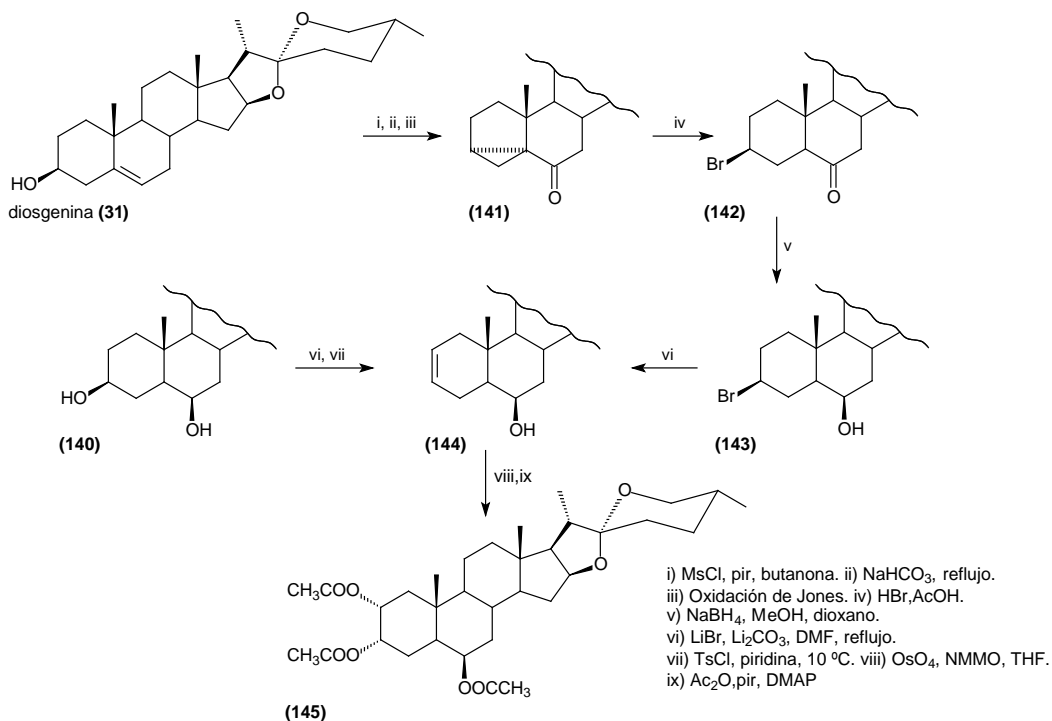
### Esquema 39. Síntesis del Certonardosterol D<sub>2</sub>.

Los brasinoesteroides naturales promueven el crecimiento de las plantas cuando son aplicados en muy bajas concentraciones y a pesar de que los requisitos estructurales para que exista la actividad biológica son ampliamente conocidos, un grupo de compuestos sintéticos con cadenas laterales modificadas han mostrado una potente actividad estimuladora del crecimiento vegetal.

Iglesias-Arteaga y colaboradores describieron una metodología sintética para la obtención de algunos compuestos estimuladores del crecimiento vegetal, que poseen los anillos A/B de los brasinoesteroides naturales y la cadena lateral espiroestánica de las sapogeninas.<sup>38,41,42</sup>

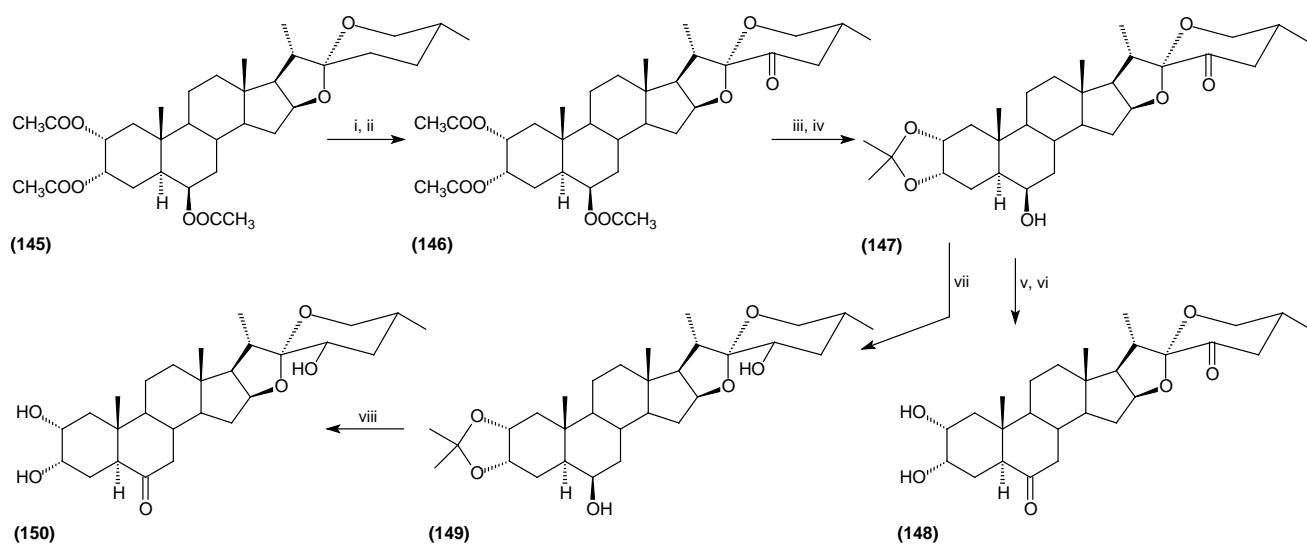
El tratamiento de la diosgenina (**31**) en butanona con MsCl y piridina produce el metansulfonato que inmediatamente es solvolisado y oxidado con NaHCO<sub>3</sub> y el reactivo de Jones, produciendo la 3α-5-ciclocetona **141**. La adición de HBr a una disolución de **141** en ácido acético produce la bromocetona **142**, que, al reducirse con NaBH<sub>4</sub>, produce principalmente el alcohol 6β **143**. La deshidrohalogenación de **143** produce la olefina **144** que también se puede obtener a partir de la β-clorogenina (**140**). La osmilación catalítica del alcohol insaturado

**144** en la presencia de NMMO seguida de una acetilación exhaustiva produce el compuesto **145** con rendimientos del 47.3% partiendo de diosgenina (**31**) y del 64.8% partiendo de  $\beta$ -clorogenina (**140**) (**Esquema 40**).<sup>147</sup>



#### Esquema 40. Síntesis del compuesto estimulador de crecimiento vegetal **145**.

El tratamiento de **145** con NaNO<sub>2</sub> y Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> produce el 23-ceto compuesto **146** que tras una saponificación y una cetalización se transforma en el acetónido **147**. La oxidación de **147** en la posición 6 $\beta$ -OH y la hidrólisis ácida del grupo protector forman la (25*R*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,dihidroxi-5 $\alpha$ -espirostan-6,23-di-ona (**148**) con un rendimiento total del 51.9 %. Adicionalmente, la reducción de **147** con NaBH<sub>4</sub> produce el alcohol 23-ecuatorial **149** mayoritariamente. La oxidación selectiva del 6 $\beta$ -hidroxilo de **149** con NBS seguida de la hidrólisis ácida del cetal forma la (23*S*,25*R*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihidroxi-5 $\alpha$ -espirostan-6-ona (**150**) con un rendimiento total del 46.2%. (**Esquema 41**). Los compuestos **148** y **150** muestran una potente actividad estimuladora del crecimiento vegetal.<sup>42</sup>



i)  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{AcOH}$ . ii)  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . iii)  $\text{KOH}$ ,  $\text{MeOH}$ , reflujo iv) 2,2-dimetoxipropano,  $p\text{-TsOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .  
 v)  $\text{CCP}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . vi) metanol/agua/ $\text{AcOH}$  6/3/1. vii)  $\text{NaBH}_4$ , metanol,  $10^\circ\text{C}$ . viii)  $\text{NBS}$ , acetona, agua,  $\text{AcOH}$ .

### Esquema 41. Síntesis de spirobrasinosteroides con actividad estimuladora del crecimiento vegetal.

Como se puede apreciar el estudio de la reactividad de la cadena lateral ha dado lugar a métodos útiles para la síntesis de derivados bioactivos tanto en células animales [cefalostatina 1 (37) y el OSW-1 (46)] como en las vegetales (análogos de brasinoesteroides) involucrando una gran variedad de reacciones dentro de las que se incluyen las degradaciones y transposiciones de la cadena lateral.



# **CAPITULO 3**

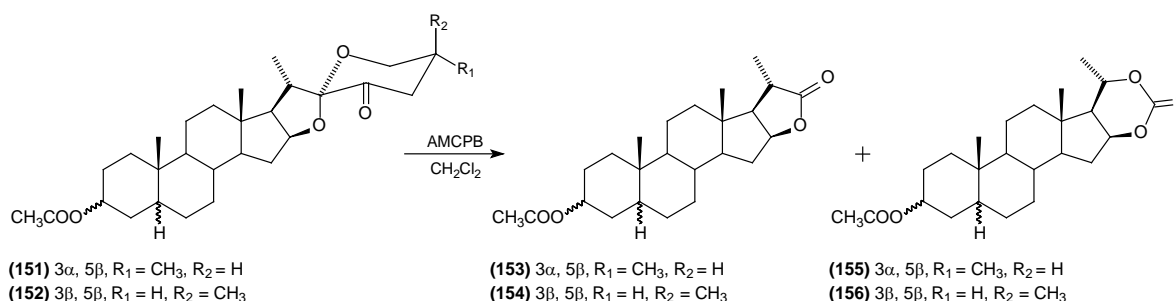
## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



### 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### 3.1 Hipótesis.

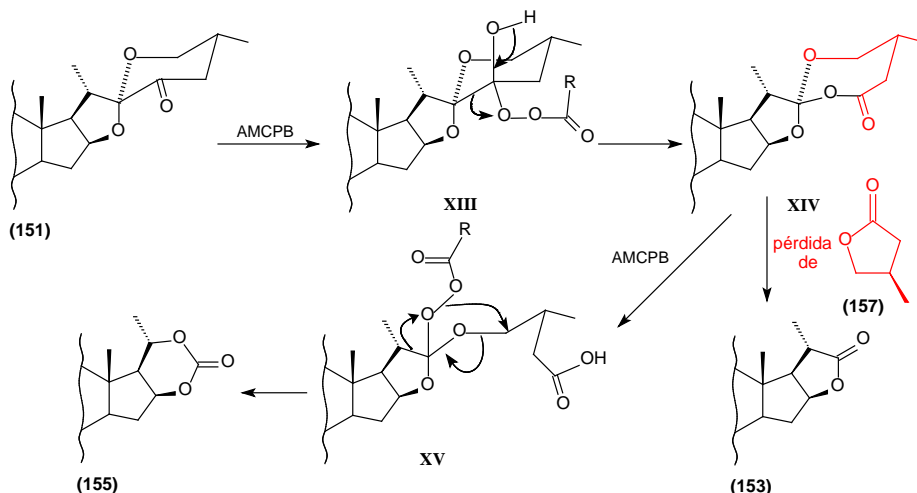
Se ha descrito que la reacción de BV del acetato de 23-oxo-3-*epi*-esmilagenina (**151**) y del acetato de 23-oxo-sarsapogenina (**152**) con AMCPB en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> produce la mezcla de las lactonas dinorcolánicas **153** y **154** y los carbonatos cíclicos **155** y **156** respectivamente, en una proporción que depende de la temperatura en la que se realiza la reacción (**Esquema 42 y Tabla 1**)<sup>119,120</sup>



**Esquema 42. Oxidación de Baeyer-Villiger de acetatos de 23-oxo-sapogeninas.**

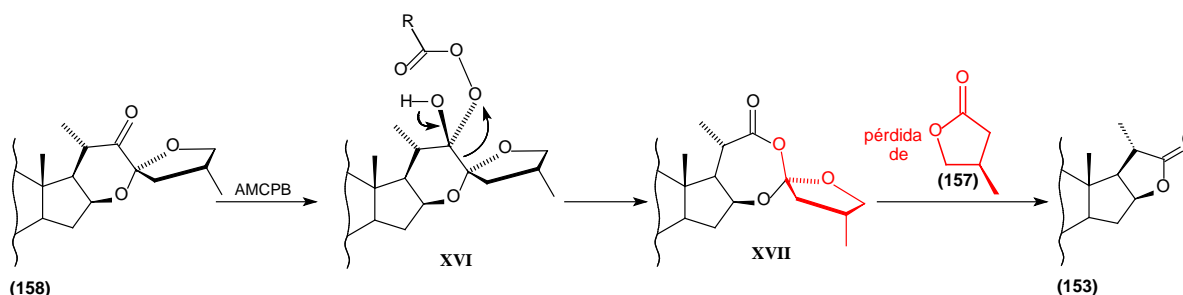
Tabla 1. Rendimiento de reacción de Oxidación de Bayer-Villiger.			
Materia prima	Temperatura	Tiempo de reacción	Productos (Rendimiento %)
<b>151</b>	Ambiente	29 días	<b>153</b> (63), <b>155</b> (26)
<b>152</b>	Ambiente	66 días	<b>154</b> (54), <b>156</b> (24)
<b>152</b>	Reflujo	24 hrs.	<b>154</b> (13), <b>156</b> (32)

El resultado de la reacción puede ser explicado por un ataque nucleofílico inicial de peroxiacido a C-23 para producir el intermediario de Criegee **XIII**. La transposición del enlace C-22–C-23 forma el ortoéster inestable **XIV** que puede fragmentarse para formar las lactona dinorcolánica **153** y la 3-metilbutirolactona (**157**) o puede ser atacado nuevamente por el peroxiacido para formar el intermediario **XV**, que se transpone al carbonato cíclico **155** (**Esquema 43**).



**Esquema 43. Mecanismo de reacción de Baeyer-Villiger en 23-oxo-sapogeninas.**

Con estos antecedentes, se espera que el tratamiento de la cetona **158** en las mismas condiciones siga un mecanismo similar al descrito en el **Esquema 43**, formando la lactona dinorcolánica **153** como único producto (**Esquema 44**).

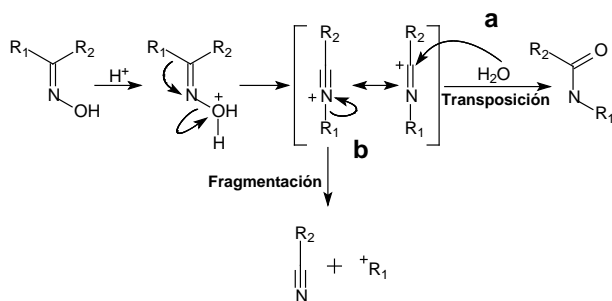


#### Esquema 44. Reacción de Baeyer-Villiger de **158**.

Los estudios sobre la transposición de Beckmann de 23-hidroxiiminopogeninas muestran que mientras el tratamiento del acetato de 23-hidroxiiminodiosgenina (*anti*-**68**) con  $\text{POCl}_3/\text{piridina}$  produce una mezcla de los nitrilos **117**, **118** y la lactona dinorcolánica vespertilina **67**.<sup>121</sup> El rendimiento de **67** mejora cuando se trata a la misma oxima con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en ácido acético (**Esquema 34 y Tabla 2**).<sup>122</sup>

Tabla 2. Resultados de la Transposición de Beckmann de 23-hidroxiiminopogeninas.		
Producto	$\text{POCl}_3/\text{piridina}$	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$
<b>117</b>	34%	-
<b>118</b>	9%	-
<b>67</b>	8%	84%

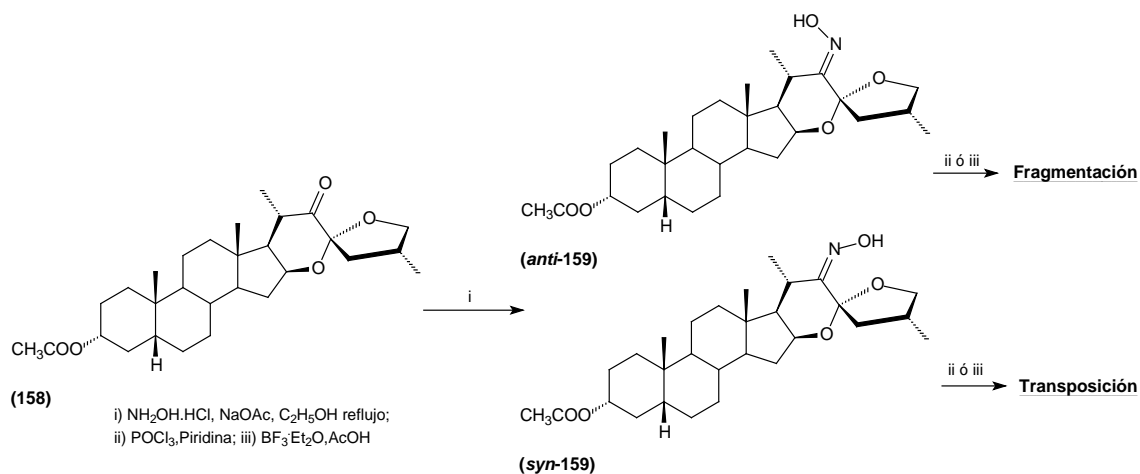
La transposición (**a**) y fragmentación (**b**) de Beckmann son reacciones en competencia que transcurren a través de los mismos intermediarios de reacción. La selectividad observada depende de las características estructurales del material de partida y de las condiciones de reacción. La fragmentación se encontrará favorecida cuando el carbono en posición  $\alpha$ , respecto al enlace que se rompe para migrar, produzca un carbocatión estable (**Esquema 45**).<sup>148</sup>



#### Esquema 45. Transposición y fragmentación de Beckmann.



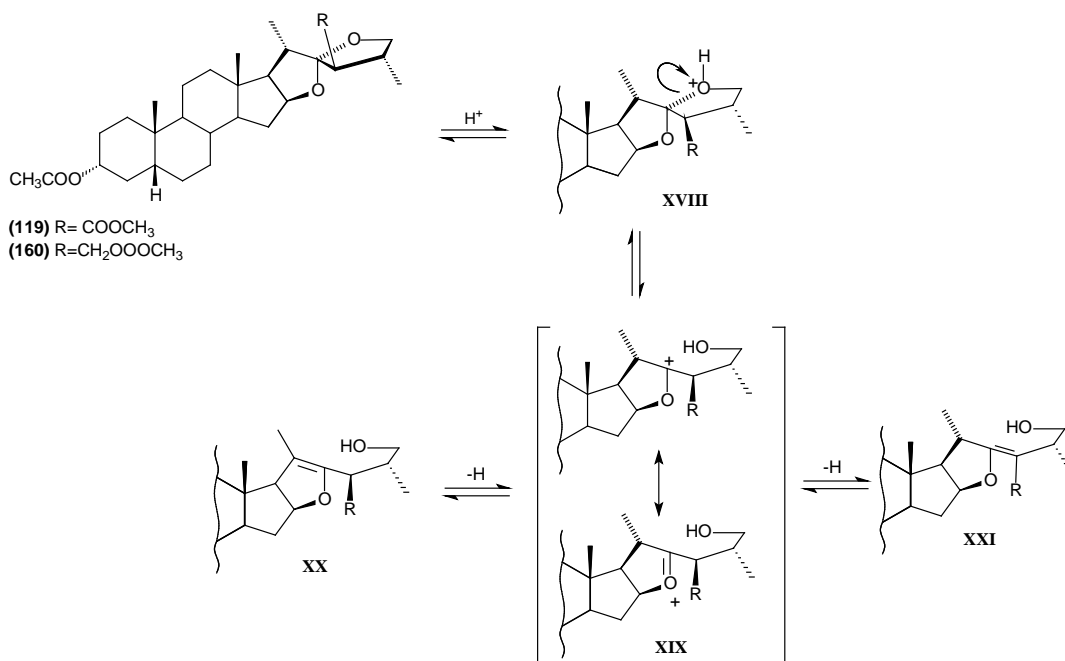
Dados estos antecedentes, se espera que mediante el tratamiento con  $\text{POCl}_3$  en piridina y con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en  $\text{AcOH}$  se obtengan el producto de fragmentación a partir de la oxima *anti*-159 y el producto de transposición a partir de la oxima *syn*-159 (**Esquema 46**).



**Esquema 46. Reacción de Beckmann esperada para las oximas *anti*-159 y *syn*-159.**

Por otra parte, como se describe en el **Esquema 3**, las sapogeninas esteroidales presentan un proceso de tautomerismo que implica la apertura reversible del anillo F y la formación del éter de enol  $\Delta^{22}$  que permite el ataque electrofílico en C-23. Con fundamento en esto y tomando en cuenta que el compuesto **119**, obtenido mediante una transposición de Favorskii (**Esquema 35**), contiene también una agrupación espirocetálica; se espera que ésta muestre una reactividad similar (**Esquema 47**).

Debido a que en el mecanismo de apertura del anillo F del compuesto **119** se involucra la formación del doble enlace C-22–C-23 que pertenece a un éster  $\alpha, \beta$  insaturado (**XXI**), también se estudiará el producto diacetilado **160** en las mismas condiciones que **119**, para observar la reactividad del furoespiroestano sin la influencia del grupo carboximetilo (**Esquema 47**).

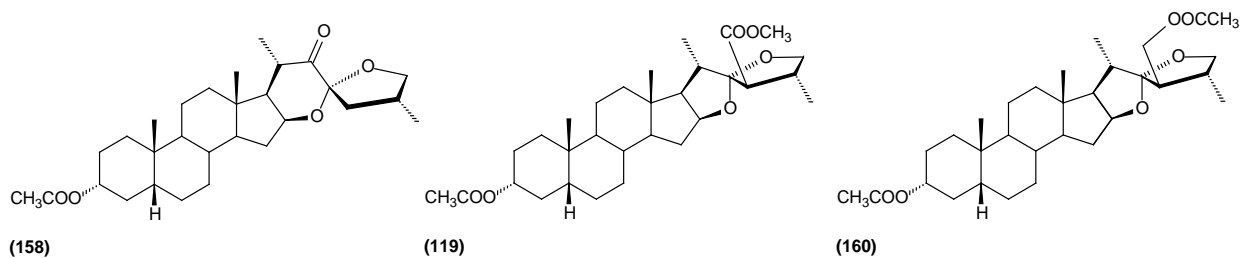


**Esquema 47. Tautomerismo propuesto para los furoespirostanos 119 y 160.**

### 3.2 Objetivos.

#### 3.2.1 Objetivos Generales.

Sintetizar diferentes derivados tanto de la (23*R*,25*R*)-3 $\alpha$ -acetoxi-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxi-5 $\beta$ -colestán-22-ona (**158**) (cadena lateral 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestán-22-ona), como del acetato de (23*R*,24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-carboximetil-24-metil-dinorcolestán-3 $\alpha$ -ol (**119**) (cadena lateral 23-carboximetilfuroespiroestánica) y el diacetato de (22*S*,23*S*,24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-hidroximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colestán-3 $\alpha$ -ol (**160**) (cadena lateral 23-hidroximetilfuroespiroestánica) para el estudio de la reactividad de sus cadenas laterales (**Figura 18**).



**Figura 18. Esteroides con cadenas laterales espirocetálicas reordenadas.**

### **3.2.2 Objetivos específicos.**

#### **3.2.2.1 Derivados de la (23*R*,25*R*)-3 $\alpha$ -acetoxi-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxi-5 $\beta$ -colestano-22-ona (158).**

- Estudiar la reacción de Baeyer-Villiger de la cetona **158**.
- Obtener las oximas derivadas de la cetona **158**.
- Estudiar la transposición de Beckmann, de las oximas obtenidas, tanto con POCl<sub>3</sub> en piridina como con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O en ácido acético.
- Aislar y caracterizar los productos de reacción.

#### **3.2.2.2 Derivados del acetato (23*R*,24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-carboximetil-24-metil-dinorcolestano-3 $\alpha$ -ol (119).**

- Estudiar la reacción del derivado **119** con ácido acético y anhídrido acético usando BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O como catalizador.
- Obtener los productos de bromación en C-23 del derivado **119**.
- Aislar y caracterizar los productos de reacción.

#### **3.2.2.3 Derivados del diacetato de (22*S*, 23*S*, 24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-hidroximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colestano-3 $\alpha$ -ol (160).**

- Estudiar la reacción del derivado **160** con ácido acético y anhídrido acético usando BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O como catalizador.
- Obtener los productos de bromación en C-23 del derivado **160**.
- Aislar y caracterizar los productos de reacción.



**CAPITULO 4**  
**PARTE EXPERIMENTAL**



## 4. PARTE EXPERIMENTAL

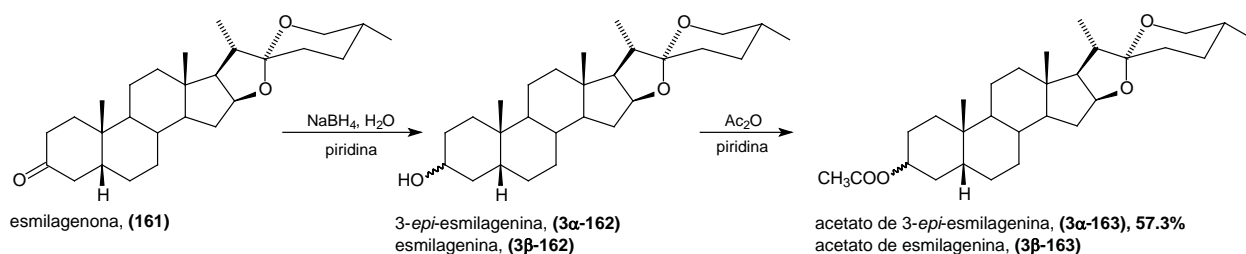
### 4.1 Condiciones Generales.

El curso de las reacciones se siguió usando CCD en placas ALUGRAM® SIL G/UV254 de MACHEREY-NAGEL. La placas se revelaron por calentamiento después de ser sumergidas en una disolución de vainillina al 0.5% en HClO<sub>4</sub> al 30%. Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Melt-Temp II®. Los espectros de RMN se adquirieron en CDCl<sub>3</sub> en los espectrómetros Varian INOVA® de 400 y 300 MHz, usando la señal del disolvente como referencia (7.26 ppm para <sup>1</sup>H y 77.0 ppm para <sup>13</sup>C). La asignación de la señales se realizó mediante una combinación de técnicas en una dimensión, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y DEPT; en dos dimensiones homonucleares (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H), COSY, NOESY y TOCSY; y en dos dimensiones heteronucleares (<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C), HSQC y HMBC. Todos los espectros se adquirieron usando secuencias de pulsos estándar y parámetros recomendados por el fabricante. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro termoelectrónico modelo DFS.

La difracción de rayos X se realizó en un difractómetro Gemini "A" (Oxford Diffraction)® con un detector de área *Charged-Couple-Device*, con una fuente de radiación incrementada de molibdeno ( $\lambda_{\text{MoK}\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$ ) y un monocromador de grafito. Para coleccionar y reducir los datos se utilizaron los paquetes CrysAlisPro y CrysAlis RED.<sup>149</sup> Las estructuras se resolvieron y refinaron utilizando los programas SHELXS97 y SHELXL97.<sup>150</sup> Los parámetros de *Puckering* se calcularon según los criterios descritos por Cremer y Pople<sup>151</sup> con los programas PLATON<sup>152,153</sup> y MERCURY.<sup>154</sup>

### 4.2 Síntesis de Materias Primas.

#### 4.2.1 Acetato de (25R)-5β-espirostan-3α-ol o acetato de 3-*epi*-esmilagenina (3α-163).



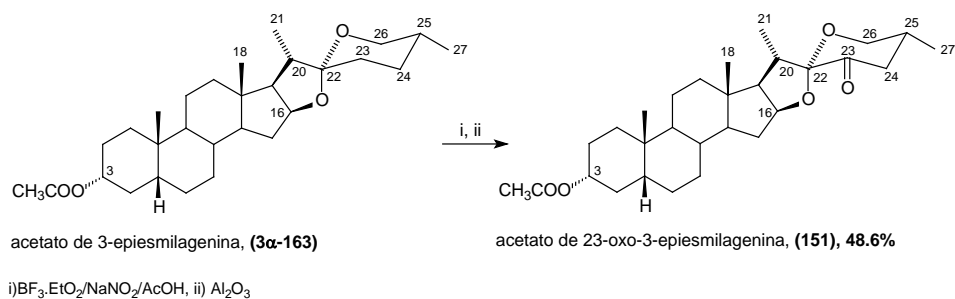
A una disolución de esmilagenona (**161**) (8.3 g, 20 mmol) en piridina (40 mL), se le adiciona, durante 15 minutos, una disolución de NaBH<sub>4</sub> (900 mg, 23 mmol) en piridina (40 mL) y agua (15 mL) y la mezcla se deja agitando durante toda la noche. Una vez concluida la reacción, la mezcla se vierte sobre una disolución de HCl al 10% (200 mL), se filtra al vacío y se lava con abundante agua. El sólido obtenido se disuelve en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL); se lava con disolución de HCl al 5% (5x60 mL) y con agua (3x50 mL); se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora, obteniendo una mezcla de los alcoholes **3α-162** y **3β-162** (8.31 g, 19.95 mmol, 99.8%). La mezcla de alcoholes se disuelve en piridina (70 mL), se adiciona anhídrido acético (20 mL, 209.7 mmol) y DMAP (en cantidades

catalíticas) y se agita durante toda la noche. Una vez concluida la reacción, la mezcla se vierte sobre HCl al 10% con hielo (500 mL); se filtra al vacío; se lava con agua (5 L); se disuelve en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 mL); se lava con disolución de CuSO<sub>4</sub> al 10% (2x100 mL) y con agua (3x100 mL). La fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora para obtener **3 $\alpha$ -163** y **3 $\beta$ -163** (10.25 g, 22.35 mmol, 93.1%). Los productos se separan por recristalización fraccionada en acetona y agua para obtener la mezcla de los acetatos **3 $\alpha$ -163** y **3 $\beta$ -163** (3.9 g, 8.5 mmol, 35.4%) y el acetato de 3-*epi*-esmilagenina (**3 $\alpha$ -163**) puro (6.3 g, 13.74 mmol, 57.3%). **P. Fus.** 162-163 °C de acetona. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 1.80 (t, J = 12.9 Hz, 1H, H-1 $\alpha$ ), 1.01 (td, J = 14.2 Hz, 3.1, 1H, H-1 $\beta$ ), 1.40 (m, 1H, H-2 $\alpha$ ), 1.67 (d, J = 12.1 Hz, 1H, H-2 $\beta$ ), 4.71 (ddd, J = 16.1, 11.3, 4.7 Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 1.81 (m, 1H, H-4 $\alpha$ ), 1.53 (d, J = 12.4 Hz, 1H, H-4 $\beta$ ), 1.44 (d, J = 13.1 Hz, 1H, H-5 $\beta$ ), 1.24 (1H, H-6 $\alpha$ ), 1.85 (1H, H-6 $\beta$ ), 1.08 (1H, H-7 $\alpha$ ), 1.36 (1H, H-7 $\beta$ ), 1.57 (1H, H-8 $\beta$ ), 1.42 (1H, H-9 $\alpha$ ), 1.38 (1H, H-11 $\alpha$ ), 1.24 (m, 1H, H-11 $\beta$ ), 1.17 (1H, H-12 $\alpha$ ), 1.70 (dd, J = 24.3, 10.4 Hz, 1H, H-12 $\beta$ ), 1.19 (m, 1H, H-14 $\alpha$ ), 1.97 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.20 (m, 1H, H-15 $\beta$ ), 4.38 (dd, J = 14.4, 7.7 Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 1.75 (t, J = 7.7 Hz, 1H, H-17 $\alpha$ ), 0.74, (s, 3H, H-18), 0.93 (s, 3H, H-19), 1.85 (p, J = 6.9 Hz, 1H, H-20 $\beta$ ), 0.95 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-21), 1.67 (1H, H-23 $\alpha$ ), 1.59 (1H, H-23  $\beta$ ), 1.62 (1H, H-24 *Pro-S*), 1.45 (m, 1H, H-24 *Pro-R*), 1.61 (m, 1H, H-25), 3.46 (ddd, J = 10.7, 4.4, 1.6 Hz, 1H, H-26 *Pro-S*), 3.36 (dd, J = 10.9 Hz, 1H, H-26 *Pro-R*), 0.77 (d, J = 6.3 Hz, 3H, H-27), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.2, C-13 40.6, C-14 56.3, C-15 31.8, C-16 80.9, C-17 62.3, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 41.6, C-21 14.5, C-22 109.2, C-23 31.4, C-24 28.8, C-25 30.3, C-26 66.8, C-27 17.1, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4. **EM (70 eV):** 458 M<sup>+</sup>, 380, 365, 329, 284, 256, 255, 254, 239, 161, 147, 139. **EM-AR (70 eV):** observado 458.3391; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O<sub>4</sub> 458.3396. **Rx. (Tabla 3)** Los datos se encuentran registrados en *Cambridge Crystallographic Data Center* con el número CCDC 773327. [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).



<b>Tabla 3. Datos cristalográficos y de refinamiento de 3α-163.</b>	
<b>Formula empírica</b>	C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>
<b>Peso formula</b>	458.66
<b>Temperatura (K)</b>	298(2)
<b>Longitud de onda (Å)</b>	0.71073
<b>Sistema cristalino</b>	Ortorrómbico
<b>Grupo espacial</b>	<i>P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub></i>
<b>Dimensiones de la celda unitaria</b>	<i>a</i> = 10.5350(4) (Å), <i>α</i> = 90° <i>b</i> = 13.7750(6) (Å), <i>β</i> = 90° <i>c</i> = 18.3470(7) (Å), <i>γ</i> = 90°
<b>Volumen (Å<sup>3</sup>)</b>	26662.51(18)
<b>Z</b>	4
<b>Densidad (calculada) (mg/m<sup>3</sup>)</b>	1.144
<b>Coefficiente de absorción (/mm)</b>	0.074
<b>Difractómetro/escáner</b>	<i>Oxford diffraction atlas (Gemini)</i>
<b>Radiación/longitud de onda (Å)</b>	Mo K <sub>α</sub> /0.71073
<b>F(000)</b>	1008
<b>Rango de <i>θ</i> para la colección de datos (°)</b>	3.16-26.06
<b>Rangos de referencia</b>	-12 ≤ <i>h</i> ≤ 13, -17 ≤ <i>k</i> ≤ 16, -17 ≤ <i>l</i> ≤ 22
<b>Reflexiones colectadas</b>	9313
<b>Reflexiones independientes</b>	2960 [ <i>R</i> (int) = 0.0310]
<b>Integridad de teta= 67.70°</b>	99.7 %
<b>Método de refinamiento</b>	<i>Full-matrix least-squares on F<sup>2</sup></i>
<b>Datos/restricciones/parámetros</b>	2960 / 0 / 304
<b>Calidad de ajuste en <i>F</i><sup>2</sup></b>	0.972
<b>Índices <i>R</i> finales [<i>I</i> &gt; 2σ(<i>I</i>)]</b>	<i>R</i> 1 = 0.0363, <i>wR</i> 2 = 0.0876
<b>Índices <i>R</i> (todos los datos)</b>	<i>R</i> 1 = 0.0503, <i>wR</i> 2 = 0.0920
<b>Parámetros de la estructura absoluta</b>	-0.006(13)
<b>Coefficiente de extinción</b>	0.0104(13)
<b>Mayor diferencia. Cresta y valle (e/Å<sup>3</sup>)</b>	0.137 y -0.110

#### 4.2.2 (25*R*)-3 $\alpha$ -acetoxi-5 $\beta$ -espirostan-23-ona o acetato de 23-oxo-3-*epi*-esmilagenina (**151**).

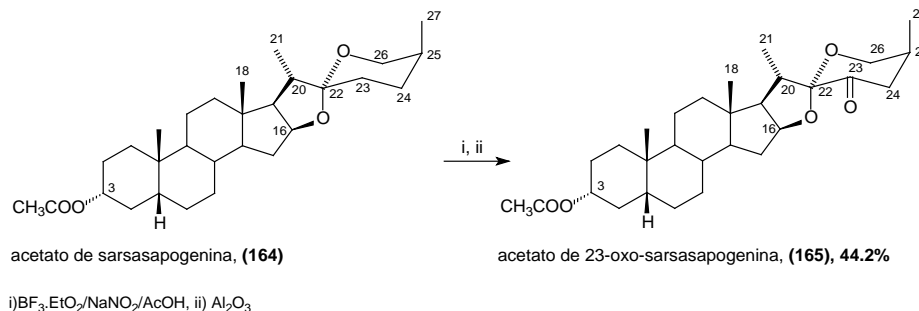


A una disolución de **3 $\alpha$ -163** (1.0 g, 2.18 mmol) en ácido acético glacial (18 mL) se le adiciona, durante 20 minutos, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (0.9 mL, 2.6 mmol) y NaNO<sub>2</sub> (176 mg, 2.55 mmol). Se hace una segunda adición de BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O y NaNO<sub>2</sub> con las mismas cantidades y en el mismo tiempo y se agita durante 1.5 horas. Una vez concluida la reacción, la mezcla se vierte sobre agua con hielo (200 mL); se filtra al vacío; se extrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL); se lava con disolución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% (3x50 mL) y con agua (2x50 mL); se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora. El aceite obtenido se disuelve en benceno (15 mL); se le adiciona hexano (5 mL); y se fija en una columna empaquetada con Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (actividad Brockmann III) (40 g), se deja reposar durante toda la noche y se eluye con una mezcla hexano/acetato de etilo 10/1, para obtener 23-oxo-3-*epi*-esmilagenina (**151**) (499.6 mg, 1.06 mmol, 48.6%).

**P. Fus.** 184-186 °C de acetato de etilo/hexano. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 1.80 (1H, H-1 $\alpha$ ), 1.02 (1H, H-1 $\beta$ ), 1.38 (1H, H-2 $\alpha$ ), 1.67 (1H, H-2 $\beta$ ), 4.71 (m, 1H, H-3 $\beta$ ), 1.80 (1H, H-4 $\alpha$ ), 1.53 (1H, H-4 $\beta$ ), 1.44 (1H, H-5 $\beta$ ), 1.23 (1H, H-6 $\alpha$ ), 1.85 (1H, H-6 $\beta$ ), 1.07 (1H, H-7 $\alpha$ ), 1.38 (1H, H-7 $\beta$ ), 1.57 (1H, H-8 $\beta$ ), 1.40 (1H, H-9 $\alpha$ ), 1.38 (1H, H-11 $\alpha$ ), 1.23 (1H, H-11 $\beta$ ), 1.13 (1H, H-12 $\alpha$ ), 1.74 (1H, H-12 $\beta$ ), 1.15 (1H, H-14 $\alpha$ ), 1.98 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.27 (1H, H-15 $\beta$ ), 4.59 (td, J = 7.6, 6.2 Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 1.74 (1H, H-17 $\alpha$ ), 0.74 (s, 3H, H-18), 0.93 (s, 3H, H-19), 2.86 (p, J = 6.9 Hz, 1H, H-20 $\beta$ ), 0.92 (d, J = 7.0 Hz, 3H, H-21), 2.42 (m, 1H, H-24 *Pro-S*), 2.47 (dd, J = 10.7, 10.7 Hz, 1H, H-24 *Pro-R*), 2.27 (m, 1H, H-25), 3.57 (ddd, J = 11.2, 4.6, 1.4 Hz, 1H, H-26 *Pro-S*), 3.77 (dd, J = 11.3, 11.3 Hz, 1H, H-26 *Pro-R*), 0.92 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-27), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 40.0, C-13 41.1, C-14 56.4, C-15 31.7, C-16 83.4, C-17 61.8, C-18 16.1, C-19 23.3, C-20 34.7, C-21 14.4, C-22 109.8, C-23 201.8, C-24 45.2, C-25 35.8, C-26 65.6, C-27 17.1, CH<sub>3</sub>COO-3 170.5, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4. **EM (FAB):** 473 MH<sup>+</sup>, 444, 389, 329, 255. **EM-AR (FAB):** observado 473.3260; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>45</sub>O<sub>5</sub> 473.3267. **Rx.** (Tabla 4). Los datos se encuentran registrados en *Cambridge Crystallographic Data Center* con el número CCDC 773329. [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).

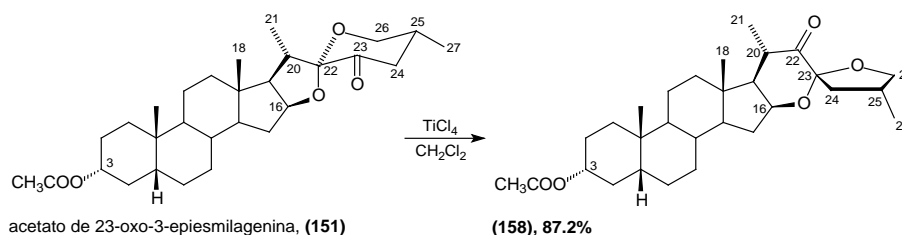
<b>Tabla 4. Datos cristalográficos y de refinamiento de 151.</b>	
<b>Formula empírica</b>	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>
<b>Peso formula</b>	472.64
<b>Temperatura (K)</b>	293(2)
<b>Longitud de onda (Å)</b>	0.71073
<b>Sistema cristalino</b>	Monoclínico
<b>Grupo espacial</b>	<i>P2<sub>1</sub></i>
<b>Dimensiones de la celda unitaria</b>	<i>a</i> = 10.3800(5) (Å), $\alpha$ = 90° <i>b</i> = 7.3270(3) (Å), $\beta$ = 99.56(1) ° <i>c</i> = 17.8810(8) (Å), $\gamma$ = 90 °
<b>Volumen (Å<sup>3</sup>)</b>	1341.02(10)
<b>Z</b>	2
<b>Densidad (calculada) (mg/m<sup>3</sup>)</b>	1.171
<b>Coefficiente de absorción (/mm)</b>	0.078
<b>Difractómetro/escáner</b>	<i>Oxford diffraction atlas (Gemini)</i>
<b>Radiación/longitud de onda (Å)</b>	Mo K $\alpha$ /0.71073
<b>F(000)</b>	516
<b>Rango de <math>\theta</math> para la colección de datos (°)</b>	3.29-26.05
<b>Rangos de referencia</b>	-12 $\leq h \leq$ 12, -9 $\leq k \leq$ 6, -22 $\leq l \leq$ 18
<b>Reflexiones colectadas</b>	7025
<b>Reflexiones independientes</b>	2857 [ <i>R</i> (int) = 0.0242]
<b>Integridad de teta= 67.70°</b>	99.8 %
<b>Método de refinamiento</b>	<i>Full-matrix least-squares on F<sup>2</sup></i>
<b>Datos/restricciones/parámetros</b>	2857 / 1 / 312
<b>Calidad de ajuste en F<sup>2</sup></b>	0.962
<b>Índices R finales [I &gt; 2<math>\sigma</math>(I)]</b>	<i>R</i> 1 = 0.0358, w <i>R</i> 2 = 0.0837
<b>Índices R (todos los datos)</b>	<i>R</i> 1 = 0.0495, w <i>R</i> 2 = 0.0869
<b>Parámetros de la estructura absoluta</b>	-0.006(13)
<b>Coefficiente de extinción</b>	Ninguno
<b>Mayor diferencia. Cresta y valle (e/Å<sup>3</sup>)</b>	0.125 y -0.147

#### 4.2.3 (25S)-3β-acetoxi-5β-espirostan-23-ona o 23-oxo-sarsasapogenina (165).



Como se describe en el punto 4.2.2. A una disolución de acetato de sarsasapogenina (**164**) (1 g, 2.18 mmol) en ácido acético glacial (18 mL) se le adicionan  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0.9 mL, 2.6 mmol) y  $\text{NaNO}_2$  (176 mg, 2.55 mmol). Se repite la adición de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  y  $\text{NaNO}_2$  en las mismas cantidades y una vez concluida la reacción se trata de la misma forma descrita en el punto 4.2.2 para obtener el acetato de 23-oxo-sarsasapogenina (**165**) (454.3 mg, 1.06 mmol, 44.2%). **P. Fus.** Reportado 168-170 °C.<sup>120</sup> 168-170 °C de hexano/acetato de etilo. **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ppm): 5.05 (m, 1H, H-3), 4.60 (m, 1H, H-16), 4.26 (dd,  $J = 2.8, 11.2$  Hz, 1H, H-26 *Pro-R*), 3.401 (td,  $J = 2.0, 11.1$  Hz, 1H, H-26 *Pro-S*), 2.88 (m, 1H, H-20), 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.06 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3H, H-21), 0.97 (s, 3H, H-19), 0.94 (d  $J = 7.0$  Hz, 1H, H-27), 0.76 (s, 3H, H-18). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ppm): C-1 30.6, C-2 25.0, C-3 70.6, C-4 30.7, C-5 37.3, C-6 26.4, C-7 26.4, C-8 35.2, C-9 40.0, C-10 35.0, C-11 20.8, C-12 40.0, C-13 41.2, C-14 56.5, C-15 31.7, C-16 83.5, C-17 61.8, C-18 16.2, C-19 23.8, C-20 35.1, C-21 14.2, C-22 110.7, C-23 202.3, C-24 43.9, C-25 33.7, C-26 64.5, C-27 17.7,  $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{COO-3}$  21.5,  $\text{CH}_3\text{C}\underline{\text{O}}\text{-3}$  170.7.

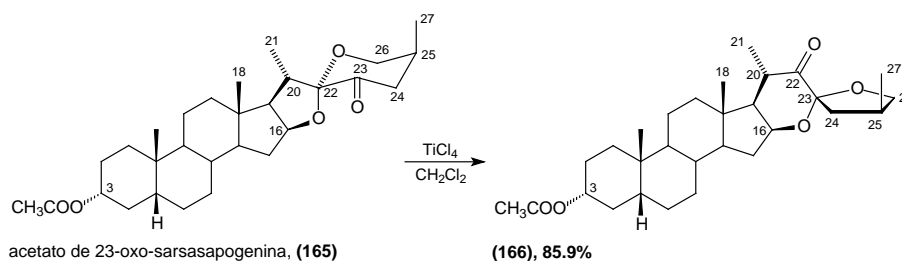
#### 4.2.4 (23R,25R)-3α-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5β-colestan-22-ona (158).



A una disolución de **151** (980 mg, 2.08 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (60 mL), se le adiciona  $\text{TiCl}_4$  (1 mL, 8.9 mmol) y la mezcla se agita durante 3 horas. Una vez concluida la reacción, la mezcla se vierte sobre una disolución de HCl al 10% con hielo (100 mL); se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 mL); se lava con agua (2x50 mL) y disolución de NaCl saturada (3x50 mL); se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ; se filtra en una columna empaquetada con gel de sílice (2 g); y el disolvente se evapora para obtener el 22-oxo derivado **158** (856.9 mg, 1.81 mmol, 87.02%). **P. Fus.** 184-186 °C de acetato de etilo/hexano. **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.70 (m, 1H, H-3), 4.35 (ddd,  $J = 6.3, 8.1, 8.1$  Hz, 1H, H-16), 4.12 (dd,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, 1H, H-26 *Pro-S*), 3.52 (dd,  $J = 8.2, 9.0$  Hz, 1H, H-26 *Pro-R*), 2.79 (dc,  $J = 1.5, 1.5$  Hz, 2H, H-23, H-25).

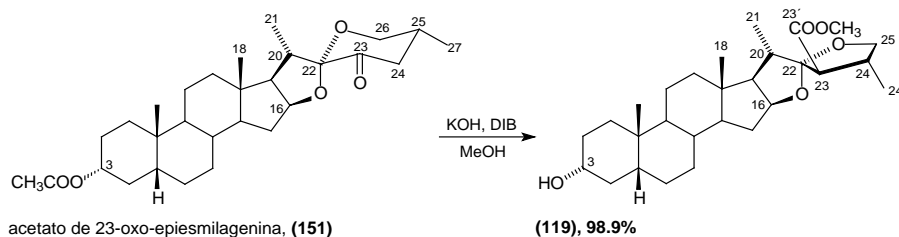
= 9.96, 6.45, 6.43, 6.43 Hz, 1H, H-20), 2.40 (m, 1H, H-25), 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.07 (d, 3H, J = 6.4 Hz, 1H, H-21), 1.03 (d, 3H, J = 6.7 Hz, 1H, H-27), 0.94 (s, 6H, H-18 y H-19). **RMN** <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 34.9, C-2 26.5, C-3 74.1, C-4 32.9, C-5 41.7, C-6 26.5, C-7 26.8, C-8 35.4, C-9 40.4, C-10 34.6, C-11 20.6, C-12 40.1, C-13 42.9, C-14 53.1, C-15 32.1, C-16 72.9, C-17 57.6, C-18 14.7, C-19 23.3, C-20 39.9, C-21 12.9, C-22 213.1, C-23 107.9, C-24 43.8, C-25 33.3, C-26 75.2, C-27 16.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4. **EM (FAB)**: 473 MH<sup>+</sup>, 315, 284, 255, 107, 91, 55. **EM-AR (FAB)**: observado 473.3263; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>45</sub>O<sub>5</sub> 473.3267.

#### 4.2.5 (23R,25S)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5β-colestan-22-ona (166).



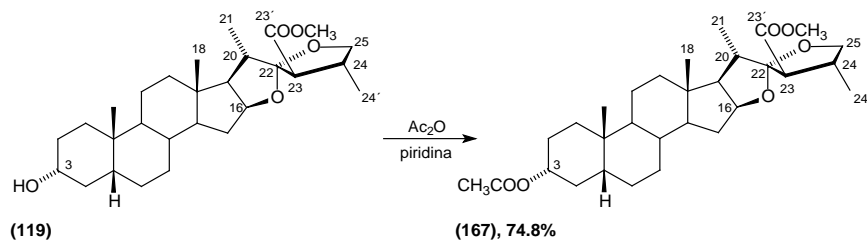
De la misma forma que en punto 4.2.4 se hace reaccionar **165** (400 mg, 0.85 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (30 mL), con TiCl<sub>4</sub> (0.5 mL, 4.5 mmol) y la mezcla se agita durante 3 horas. Una vez concluida la reacción, la mezcla se trata igual que en el punto 4.2.4 con disolución de HCl al 10% con hielo (50 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL), agua (2x30 mL) y disolución de NaCl saturada (3x50 mL); se seca, se filtra y el disolvente se evapora para obtener el 22-oxo derivado **166** (343.3 mg, 0.73 mmol, 85.9%). **P. Fus.** Reportado 169-171 °C.<sup>114</sup> 169-171 °C de hexano/acetato de etilo. **RMN** <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 5.06 (m, 1H, H-3), 4.36 (ddd, J = 8.09, 8.08, 6.34 Hz, 1H, H-16), 4.14 (dd, J = 7.67, 7.67 Hz, 1H, H-26 *Pro-R*), 3.62 (dd, J = 7.86, 7.86 Hz, 1H, H-26 *Pro-S*), 2.77 (dc, J = 9.88, 6.36 Hz, 1H, H-20), 2.57 (m, 1H, H-25), 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.09 (d, J = 6.44 Hz, 3H, H-21), 1.06 (d, J = 6.69 Hz, 3H, H-27), 1.00 (s, 3H, H-19), 0.95 (s, 3H, H-18). **RMN** <sup>13</sup>C C-1 30.5, C-2 24.9, C-3 70.5, C-4 30.6, C-5 37.2, C-6 26.3, C-7 26.3, C-8 35.2, C-9 40.5, C-10 34.9, C-11 20.8, C-12 40.0, C-13 42.9, C-14 53.1, C-15 32.8, C-16 72.1, C-17 57.4, C-18 14.7, C-19 23.8, C-20 39.8, C-21 13, C-22 213.3, C-23 107.6, C-24 44.3, C-25 32.7, C-26 76.1, C-27 17.1, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5, CH<sub>3</sub>COO-3 170.7.

#### 4.2.6 (22*S*,23*R*,24*R*)-16 $\beta$ ,22,25-diepoxi-23-carboximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colestan-3 $\alpha$ -ol (**119**).



A una disolución de acetato de 23-oxo-3-*epi*-esmilagenina (**151**) (1.35 g, 2.85 mmol) en metanol (90 mL) se le adiciona KOH (1.5 g, 24.06 mmol), DIB (950 mg, 2.89 mmol) y la mezcla se agita durante 30 min. Una vez concluida la reacción, la mezcla se vierte sobre agua con hielo (200 mL), el sólido obtenido se filtra al vacío y se lava con agua (500 mL) obteniendo el producto **119**, (1.3 g, 2.82 mmol, 98.9%). **P. Fus.** 117-119 °C de acetato de etilo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 1.79 (1H, H-1 $\alpha$ ), 0.96 (1H, H-1 $\beta$ ), 1.29 (1H, H-2 $\alpha$ ), 1.66 (1H, H-2 $\beta$ ), 3.62 (m, 1H, H-3 $\beta$ ), 1.73 (1H, H-4 $\alpha$ ), 1.51 (1H, H-4 $\beta$ ), 1.40 (1H, H-5 $\beta$ ), 1.25 (1H, H-6 $\alpha$ ), 1.85 (tt, J = 14.2, 4.7 Hz, 1H, H-6 $\beta$ ), 1.09 (1H, H-7 $\alpha$ ), 1.43 (1H, H-7 $\beta$ ), 1.57 (1H, H-8 $\beta$ ), 1.40 (1H, H-9 $\alpha$ ), 1.39 (1H, H-11 $\alpha$ ), 1.21 (1H, H-11 $\beta$ ), 1.12 (1H, H-12 $\alpha$ ), 1.71 (1H, H-12 $\beta$ ), 1.13 (1H, H-14 $\alpha$ ), 1.98 (ddd, J = 12.6, 9.1, 5.4 Hz, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.26 (1H, H-15 $\beta$ ), 4.42 (td, J = 7.7, 6.0 Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 1.71 (1H, H-17 $\alpha$ ), 0.75 (s, 3H, H-18), 0.92 (s, 3H, H-19), 2.11 (p, J = 6.8 Hz, 1H, H-20 $\beta$ ), 0.93 (d, J = 7.4 Hz, 3H, H-21), 2.84 (d, J = 9.4 Hz, 1H, H-23), 2.65 (m, 1H, H-24), 1.03 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-24'), 4.03 (dd, J = 7.7, 7.7 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.47 (m, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.3, C-2 30.5, C-3 71.7, C-4 36.4, C-5 42.0, C-6 27.1, C-7 26.6, C-8 35.5, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 40.0, C-13 41.1, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.4, C-17 62.7, C-18 16.0, C-19 23.3, C-20 37.4, C-21 15.5, C-22 119.3, C-23 59.7, C-23' 172.5, C-24 37.5, C-24' 15.4, C-25 72.5, CH<sub>3</sub>O-23' 51.8. **EM (FAB):** 461 MH<sup>+</sup>, 429, 427, 273, 255, 183, 95, 91, 83. **EM-AR (FAB):** observado 461.3285; estimado para C<sub>28</sub>H<sub>45</sub>O<sub>5</sub> 461.3267.

#### 4.2.7 Acetato de (22*S*,23*R*,24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-carboximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colestan-3 $\alpha$ -ol (**167**).

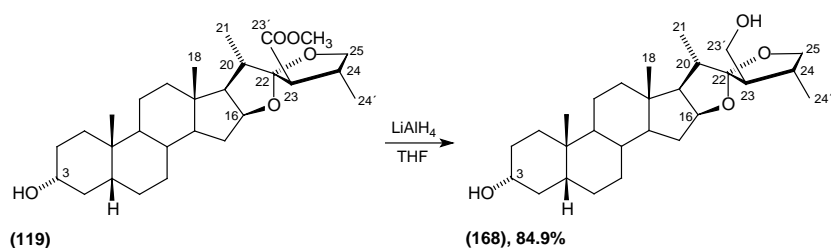


A una disolución del derivado **119** (1.3 g, 2.82 mmol) en piridina (8 mL) se le adiciona anhídrido acético (0.8 mL, 8.4 mmol) y la mezcla se agita toda la noche. Una vez concluida la reacción, se adiciona una disolución de HCl al 10% con hielo (25 mL); se extrae con acetato de etilo (2x40 mL); se lava con disolución de HCl al 10% (2x25 mL), disolución de CuSO<sub>4</sub> al 5% (3x25 mL) y agua (2x30 mL); se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora para obtener el producto acetilado **167** (1.06 g, 2.11 mmol, 74.8%). **P. Fus.** 172-174 °C de acetona/hexano. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 1.78 (1H, H-1 $\alpha$ ), 1.01 (1H, H-1 $\beta$ ), 1.37 (1H, H-2 $\alpha$ ), 1.66 (1H, H-2 $\beta$ ), 4.69 (m, 1H, H-3 $\beta$ ), 1.79 (1H, H-4 $\alpha$ ), 1.52 (1H, H-4 $\beta$ ), 1.43 (1H, H-5 $\beta$ ), 1.23 (1H, H-6 $\alpha$ ), 1.84 (1H, H-6 $\beta$ ), 1.07 (1H, H-7 $\alpha$ ), 1.37 (1H, H-7 $\beta$ ), 1.57 (1H, H-8 $\beta$ ), 1.39 (1H, H-9 $\alpha$ ), 1.70 (1H, H-11 $\alpha$ ), 1.21 (1H, H-11 $\beta$ ), 1.12 (1H, H-12 $\alpha$ ), 1.69 (1H, H-12 $\beta$ ), 1.14 (1H, H-14 $\alpha$ ), 1.95 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.23 (1H, H-15 $\beta$ ), 4.40 (td, J = 7.7, 6.0 Hz, 1H, H-16 $\alpha$ ), 1.69 (1H, H-17 $\alpha$ ), 0.74 (s, 3H, H-18), 0.92 (s, 3H, H-19), 2.10 (p, J = 6.8 Hz, 1H, H-20 $\beta$ ), 0.92 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-21), 2.82 (d, J = 9.3 Hz, 1H, H-23), 2.64 (m, 1H, H-24), 1.01 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-24'), 4.01 (dd, J = 7.7, 7.7 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.46 (m, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.5, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.5, C-9 40.4, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 39.9, C-13 41.1, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.4, C-17 62.7, C-18 16.0, C-19 23.3, C-20 37.4, C-21 15.5, C-22 119.3, C-23 59.6, C-23' 172.4, C-24 37.5, C-24' 15.4, C-25 72.5, CH<sub>3</sub>COO-3 170.5, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4, CH<sub>3</sub>O-23' 51.8. **EM (70eV):** 503 MH<sup>+</sup>, 471, 469. **An. Elem.:** observado C 71.61, H 9.31; estimado para C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>6</sub> C 71.68, H 9.22. **Rx.** (Tabla 5). Los datos se encuentran registrados en *Cambridge Crystallographic Data Center* con el número CCDC 773328. [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).

<b>Tabla 5. Datos cristalográficos y de refinamiento de 167.</b>	
<b>Formula empírica</b>	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>6</sub>
<b>Peso formula</b>	502.67
<b>Temperatura (K)</b>	293(2)
<b>Longitud de onda (Å)</b>	0.71073
<b>Sistema cristalino</b>	Ortorrómbico
<b>Grupo espacial</b>	<i>P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub></i>
<b>Dimensiones de la celda unitaria</b>	<i>a</i> = 7.1858(2) Å, $\alpha$ = 90° <i>b</i> = 15.7502(5) Å, $\beta$ = 90° <i>c</i> = 25.0072(8) Å, $\gamma$ = 90°
<b>Volumen (Å<sup>3</sup>)</b>	2830.26(15)
<b>Z</b>	4
<b>Densidad (calculada) (mg/m<sup>3</sup>)</b>	1.180
<b>Coefficiente de absorción (/mm)</b>	0.080
<b>Difractómetro/escáner</b>	<i>Oxford diffraction atlas (Gemini)</i>
<b>Radiación/longitud de onda (Å)</b>	Mo K $\alpha$ /0.71073
<b>F(000)</b>	1096
<b>Rango de <math>\theta</math> para la colección de datos (°)</b>	3.06 - 26.05
<b>Rangos de referencia</b>	-8 ≤ <i>h</i> ≤ 7, -19 ≤ <i>k</i> ≤ 15, -20 ≤ <i>l</i> ≤ 30
<b>Reflexiones colectadas</b>	9398
<b>Reflexiones independientes</b>	3185 [ <i>R</i> (int) = 0.0317]
<b>Integridad de teta= 67.70°</b>	99.8 %
<b>Método de refinamiento</b>	<i>Full-matrix least-squares on F<sup>2</sup></i>
<b>Datos/restricciones/parámetros</b>	3185 / 0 / 331
<b>Calidad de ajuste en F<sup>2</sup></b>	0.918
<b>Índices R finales [I &gt; 2<math>\sigma</math>(I)]</b>	<i>R</i> 1 = 0.0358, w <i>R</i> 2 = 0.0669
<b>Índices R (todos los datos)</b>	<i>R</i> 1 = 0.0629, w <i>R</i> 2 = 0.0708
<b>Parámetros de la estructura absoluta</b>	-10(10)
<b>Coefficiente de extinción</b>	Ninguno
<b>Mayor diferencia. Cresta y valle (e/Å<sup>3</sup>)</b>	0.099 y -0.137



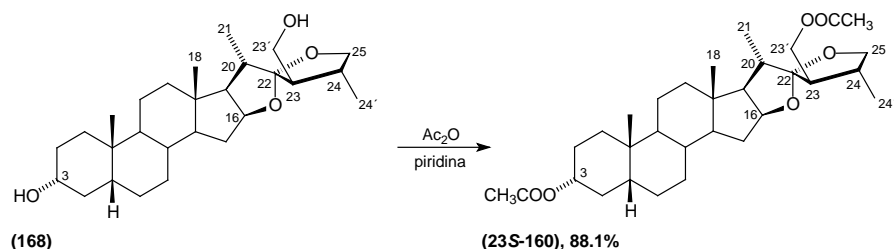
#### 4.2.8 (22*S*,23*S*,24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-hidroximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -coleston-3 $\alpha$ -ol (168).



A una suspensión de  $\text{LiAlH}_4$  (643 mg, 1.39 mmol) en THF (25 mL) en atmósfera de nitrógeno, a reflujo, se le adiciona una disolución del producto reordenado **119** (643 mg, 1.39 mmol) en THF (15 mL). Una vez finalizada la adición, la mezcla se mantiene a reflujo durante 2 hrs. Una vez concluida la reacción, la mezcla se enfría hasta temperatura ambiente y adiciona acetato de etilo (30 mL) y agua (30 mL). La fase orgánica se extrae con acetato de etilo (2x50 mL), se lava con agua (5x30 mL), se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se evapora para obtener el diol **168**, (512.5 mg, 1.18 mmol, 84.9 %). **P. Fus.** 177-178°C de acetato de etilo/hexano. **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.78 (1H, H-1 $\alpha$ ), 0.97 (1H, H-1 $\beta$ ), 1.30 (1H, H-2 $\alpha$ ), 1.66 (1H, H-2 $\beta$ ), 3.62 (ddd,  $J = 15.7, 10.9, 4.7$  Hz, 1H, H-3 $\beta$ ), 1.74 (1H, H-4 $\alpha$ ), 1.51 (1H, H-4 $\beta$ ), 1.39 (1H, H-5 $\beta$ ), 1.53 (1H, H-6 $\alpha$ ), 1.84 (1H, H-6 $\beta$ ), 1.10 (1H, H-7 $\alpha$ ), 1.40 (1H, H-7 $\beta$ ), 1.57 (1H, H-8 $\beta$ ), 1.41 (1H, H-9 $\alpha$ ), 1.40 (1H, H-11 $\alpha$ ), 1.24 (1H, H-11 $\beta$ ), 1.17 (1H, H-12 $\alpha$ ), 1.73 (1H, H-12 $\beta$ ), 1.17 (1H, H-14 $\alpha$ ), 1.99 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.22 (1H, H-15 $\beta$ ), 4.43 (m, 1H, H-16 $\alpha$ ), 1.74 (1H, H-17 $\alpha$ ), 0.79 (s, 3H, H-18), 0.93 (s, 3H, H-19), 2.41 (p,  $J = 6.8$  Hz, 1H, H-20 $\beta$ ), 1.00 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 1.99 (m, 1H, H-23), 3.78 (dd,  $J = 10.9, 7.1$  Hz, 1H, H-23'a), 3.71 (dd,  $J = 10.9, 5.5$  Hz, 1H, H-23'b), 1.99 (m, 1H, H-24), 1.07 (d,  $J = 6.3$  Hz, 3H, H-24'), 3.95 (d,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.43 (m, 1H, H-25 *Pro-R*). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.3, C-2 30.5, C-3 71.8, C-4 36.4, C-5 42.0, C-6 27.1, C-7 26.7, C-8 35.5, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.1, C-13 41.2, C-14 56.2, C-15 31.9, C-16 81.0, C-17 62.9, C-18 16.4, C-19 23.4, C-20 35.8, C-21 16.2, C-22 120.2, C-23 55.7, C-23' 62.5, C-24 36.9, C-24' 16.3, C-25 72.2. **EM (70eV):** 433  $\text{MH}^+$ , 415, 397, 385, 367, 285, 255, 155, 137, 125. **EM-AR:** observado 433.3321  $\text{MH}^+$ ; estimado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{O}_4$  433.3318. **Rx.** (Tabla 6). Los datos se encuentran registrados en *Cambridge Crystallographic Data Center* con el número CCDC 773330. [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).

<b>Tabla 6. Datos cristalográficos y de refinamiento de 168.</b>	
<b>Formula empírica</b>	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>
<b>Peso formula</b>	432.62
<b>Temperatura (K)</b>	298(2)
<b>Longitud de onda (Å)</b>	1.54184
<b>Sistema cristalino</b>	Ortorrómbico
<b>Grupo espacial</b>	<i>P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub></i>
<b>Dimensiones de la celda unitaria</b>	<i>a</i> = 6.6355(7) Å, $\alpha$ = 90° <i>b</i> = 11.8948(8) Å, $\beta$ = 90° <i>c</i> = 31.5751(19) Å, $\gamma$ = 90°
<b>Volumen (Å<sup>3</sup>)</b>	2492.2(3)
<b>Z</b>	4
<b>Densidad (calculada) (mg/m<sup>3</sup>)</b>	1.153
<b>Coefficiente de absorción (/mm)</b>	0.589
<b>Difractómetro/escáner</b>	<i>Oxford diffraction atlas (Gemini)</i>
<b>Radiación/longitud de onda (Å)</b>	Mo K $\alpha$ /0.71073
<b>F(000)</b>	952
<b>Rango de <math>\theta</math> para la colección de datos (°)</b>	3.97 - 68.10
<b>Rangos de referencia</b>	-5 ≤ <i>h</i> ≤ 7, -13 ≤ <i>k</i> ≤ 14, -38 ≤ <i>l</i> ≤ 35
<b>Reflexiones colectadas</b>	9161
<b>Reflexiones independientes</b>	4502 [R(int) = 0.0221]
<b>Integridad de teta= 67.70°</b>	99.8 %
<b>Método de refinamiento</b>	<i>Full-matrix least-squares on F<sup>2</sup></i>
<b>Datos/restricciones/parámetros</b>	4502 / 0 / 290
<b>Calidad de ajuste en F<sup>2</sup></b>	1.056
<b>Índices R finales [I &gt; 2<math>\sigma</math>(I)]</b>	R1 = 0.0386, wR2 = 0.0986
<b>Índices R (todos los datos)</b>	R1 = 0.0497, wR2 = 0.1046
<b>Parámetros de la estructura absoluta</b>	0.0(2)
<b>Coefficiente de extinción</b>	Ninguno
<b>Mayor diferencia. Cresta y valle (e/Å<sup>3</sup>)</b>	0.125 y -0.147

**4.2.9 Diacetato de (22*S*,23*S*,24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-hidroxi-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colestan-3 $\alpha$ -ol (23*S*-160).**

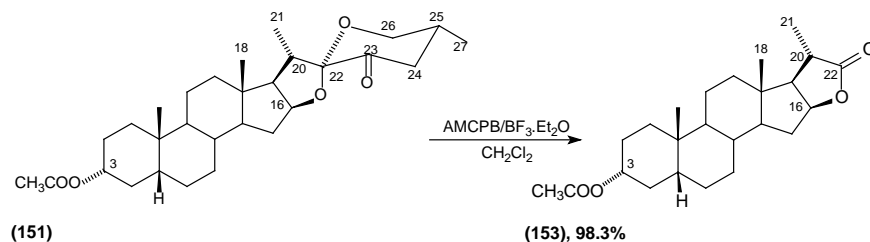


A una disolución del diol **168** (512 mg, 1.18 mmol) en piridina (4 mL) se le adiciona anhídrido acético (1.5 mL, 15.7 mmol) y la mezcla se agita durante toda la noche. Una vez concluida la reacción, se adiciona una disolución de HCl al 10% con hielo (25 mL); se extrae con acetato de etilo (2x15 mL); se lava con disolución de HCl al 10% (2x15 mL), disolución de CuSO<sub>4</sub> al 5% (2x30 mL) y agua (2x30 mL); se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora. El aceite obtenido se purifica mediante una columna cromatográfica empaquetada con gel de sílice (15 g) utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 6/1, obteniendo el producto diacetilado **23*S*-160** (538.3 mg, 1.04 mmol, 88.1%), **P. Fus.** 160-162 °C de acetato de etilo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 1.79 (1H, H-1 $\alpha$ ), 1.01 (1H, H-1 $\beta$ ), 1.38 (1H, H-2 $\alpha$ ), 1.67 (1H, H-2 $\beta$ ), 4.70 (m, 1H, H-3 $\beta$ ), 1.80 (1H, H-4 $\alpha$ ), 1.53 (1H, H-4 $\beta$ ), 1.44 (1H, H-5 $\beta$ ), 1.23 (1H, H-6 $\alpha$ ), 1.84 (1H, H-6 $\beta$ ), 1.07 (1H, H-7 $\alpha$ ), 1.38 (1H, H-7 $\beta$ ), 1.56 (1H, H-8 $\beta$ ), 1.40 (1H, H-9 $\alpha$ ), 1.38 (1H, H-11 $\alpha$ ), 1.22 (1H, H-11 $\beta$ ), 1.16 (1H, H-12 $\alpha$ ), 1.72 (1H, H-12 $\beta$ ), 1.15 (1H, H-14 $\alpha$ ), 1.96 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.22 (1H, H-15 $\beta$ ), 4.42 (m, 1H, H-16 $\alpha$ ), 1.71 (1H, H-17 $\alpha$ ), 0.78 (s, 3H, H-18), 0.93 (s, 3H, H-19), 2.28 (p, J = 6.7 Hz, 1H, H-20 $\beta$ ), 0.97 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-21), 2.17 (m, 1H, H-23), 4.13 (m, 1H, H-23'), 1.89 (m, 1H, H-24), 1.05 (d, J = 6.5 Hz, 3H, H-24'), 3.93 (dd, J = 7.7, 7.7 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.41 (dd, J = 10.1, 8.3 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-23'). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.5, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.7, C-6 26.8, C-7 26.5, C-8 35.4, C-9 40.4, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 40.0, C-13 41.2, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.0, C-17 62.9, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 35.8, C-21 16.1, C-22 119.7, C-23 52.5, C-23' 63.6, C-24 37.5, C-24' 15.6, C-25 71.8, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5, CH<sub>3</sub>COO-23' 171.0, CH<sub>3</sub>COO-23' 20.9. **EM (70 eV):** 516 M<sup>+</sup>, 498, 470, 441, 426, 389, 344, 329, 284, 269, 355. **EM-AR:** observado 516.3516; estimado para C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>O<sub>6</sub> 516.3451.

### 4.3 Derivados de la cadena lateral de tipo 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxi-22-ona.

#### 4.3.1 Oxidación de Baeyer-Villiger catalizada con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O.

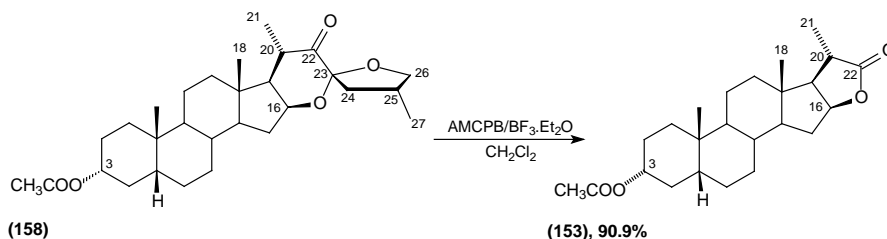
##### 4.3.1.1 Oxidación de Baeyer-Villiger del 23-oxoespirostanos 151.



A una disolución de 23-oxo-3-*epi*-esmilagenina (**151**) (56.2 mg, 0.12 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL), se le adiciona AMCPB (74.2 mg, 0.33 mmol) y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (0.2 mL, 1.6 mmol) y la mezcla se agita durante 10 minutos. Una vez concluida la reacción se adiciona agua (20 mL) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 mL); la fase orgánica se lava con disolución saturada de NaHSO<sub>3</sub> (2x20 mL), disolución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 10% (2x20 mL) y agua (2x20 mL); se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora para obtener la lactona dinorcolánica **153** (45.7 mg, 0.118 mmol, 98.3%)

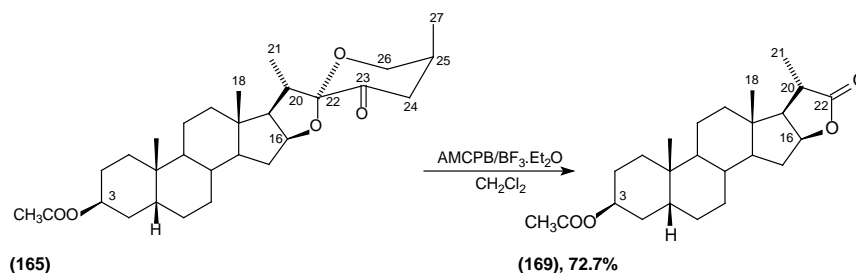
**22→16 lactona del ácido 3 $\alpha$ -acetoxi-16 $\beta$ -hidroxi-5 $\beta$ -dinorcolánico (153). P. Fus.** Reportado 153-155 °C.<sup>120</sup> 153-155 °C de hexano/acetato de etilo. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 4.95 (ddd, J= 4.6, 7.8, 7.8 Hz, 1H, H-16), 4.73 (m, 1H, H-3), 2.58 (cd, J= 1.1, 7.6 Hz, 1H, H-20), 2.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.32 (d, J= 7.6 Hz, 3H, H-21), 0.95 (s, 3H, H-19), 0.74 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 34.9, C-2 26.5, C-3 74.1, C-4 32.1, C-5 41.6, C-6 26.7, C-7 26.5, C-8 35.4, C-9 40.6, C-10 34.6, C-11 20.1, C-12 38.4, C-13 41.8, C-14 54.6, C-15 33.0, C-16 82.7, C-17 59.1, C-18 13.8, C-19 23.2, C-20 36.0, C-21 17.9, C-22 181.2. CH<sub>3</sub>COO-3 21.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.5.

##### 4.3.1.2 Oxidación de Baeyer-Villiger de la 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona 158.



Cuando la cetona reordenada **158** (50 mg, 0.11 mmol) es sometida a la reacción de BV con AMCPB (70 mg, 0.31 mmol) y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (0.2 mL, 0.12 mmol) durante 10 minutos, se obtiene la lactona **153** (38.9 mg, 0.10 mmol, 90.9%)

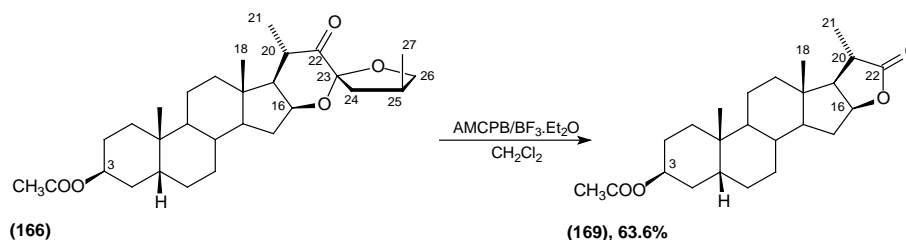
### 4.3.1.3 Oxidación de Baeyer-Villiger del del 23-oxoespirostanano 165.



Cuando el acetato de 23-oxosarsasapogenina (**165**) (50 mg, 0.11 mmol) es sometido a la reacción de BV con AMCPB (70 mg, 0.31 mmol) y  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  (0.2 mL, 0.12 mmol) durante 10 minutos, se obtiene la lactona **169** (31.7 mg, 0.08 mmol, 72.7%).

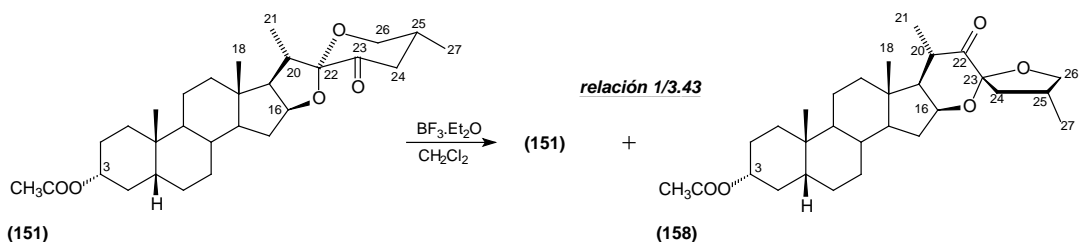
**22→16 lactona del ácido 3β-acetoxi-16β-hidroxi-5β-dinorcolánico (169).** P. Fus. Reportado 187-188 °C.<sup>120</sup> 187-188 °C de hexano/acetato de etilo. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , δppm): 5.05 (m, 1H, H-3), 4.92 (ddd, J = 4.6, 7.7 Hz, 1H, H-16), 2.56 (1H, H-20), 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ -3), 1.30 (d, J = 7.6 Hz, 3H, H-21), 0.97 (s, 3H, H-19), 0.72 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , δppm): C-1 30.5, C-2 25.0, C-3 70.4, C-4 30.7, C-5 37.1, C-6 26.3, C-7 26.2, C-8 35.0, C-9 40.1, C-10 34.9, C-11 20.3, C-12 38.5, C-13 41.8, C-14 54.6, C-15 33.0, C-16 82.8, C-17 59.1, C-18 13.8, C-19 23.7, C-20 36.2, C-21 17.9, C-22 181.4,  $\text{CH}_3\text{COO}$ -3 21.4,  $\text{CH}_3\text{COO}$ -3 170.6.

### 4.3.1.4 Oxidación de Baeyer-Villiger de la 16β,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona 166.

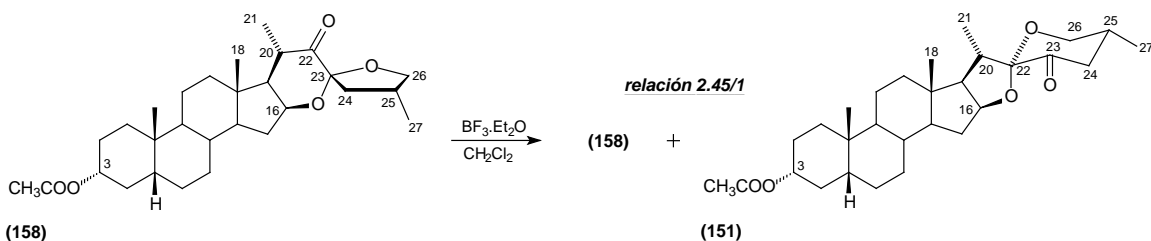


Cuando la cetona reordenada **166** (50 mg, 0.11 mmol) es sometida a la reacción de BV con AMCPB (70mg, 0.31 mmol) y  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  (0.2 mL, 0.12 mmol) durante 10 minutos, se obtiene la lactona **169** (27.2 mg, 0.07 mmol, 63.6%)

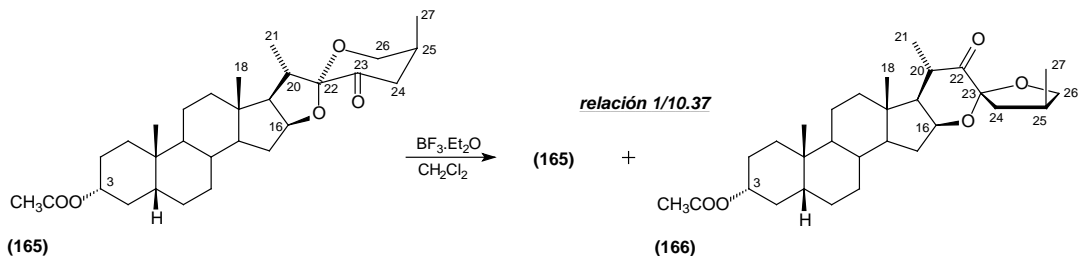
### 4.3.1.5 Experimentos de Isomerización.



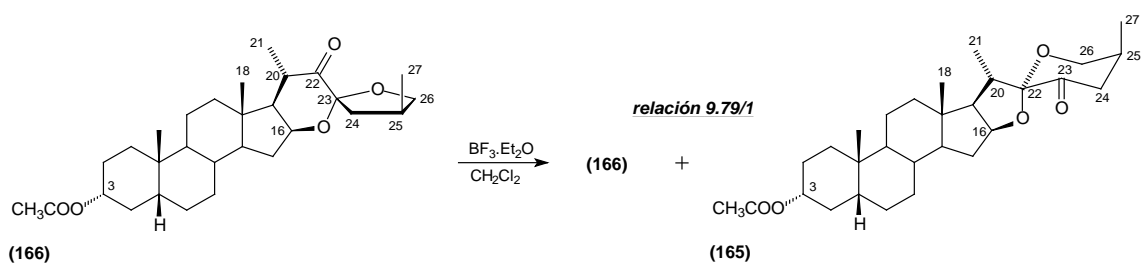
A una disolución de acetato de 23-oxo-3-*epi*-esmilagenina (**151**) (50 mg, 0.11 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) se le adiciona  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0.2 mL, 1.6 mmol); la mezcla se agita durante 10 minutos; se adiciona agua (20 mL) y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL). La fase orgánica se lava con agua (3x25 mL); se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se evapora para producir una mezcla de **151** y **158** (47 mg, 0.10 mmol, 90.9%) con relación 1/3.4 (la relación se determina mediante la integración de las señales de H-26 *Pro-R* en **151** y H-26 *Pro-S* en **158**).



Cuando la cetona reordenada **158** (50 mg, 0.11 mmol) es sometida al mismo procedimiento con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0.2 mL, 1.6 mmol), se forma la mezcla de **151** y **158** (45 mg, 0.10 mmol, 90.9%) con una relación 1/2.45.



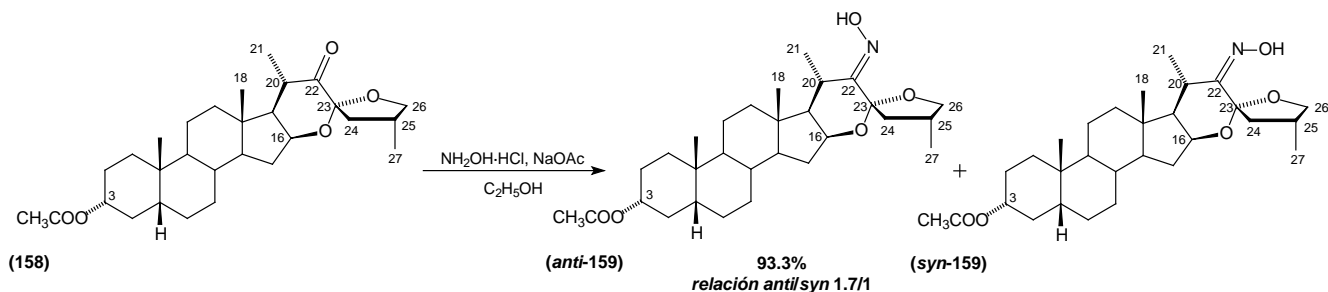
Cuando el acetato de 23-oxo-sarsasapogenina (**165**) (50 mg, 0.11 mmol) reacciona con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0.2 mL, 1.6 mmol) se obtiene una mezcla 1/10.37 (la relación se determina por la integración de los protones H-26 *Pro-S* de **165** y **166**) de los productos **165** y **166** (45 mg, 0.10 mmol, 90.9%).



Cuando la cetona reordenada **166** (50 mg, 0.11 mmol) es sometida al mismo procedimiento con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0.2 mL, 1.6 mmol) se obtiene una mezcla 1/9.79 (relación determinada por la integración de las señales de H-26 *Pro-S* de **165** y **166**) de **165** y **166** (47 mg, 0.10 mmol, 90.9%).

### 4.3.2 Transposición de Beckman.

#### 4.3.2.1 Síntesis de oximas.



A una suspensión de la cetona **158** (945 mg, 2 mmol) en etanol (80 mL); se le adiciona una disolución de clorhidrato de hidroxilamina (2.085 g, 30 mmol) en agua (5 mL) y una disolución de acetato de sodio (2.470 g, 30.1 mmol) en agua (5 mL); y la mezcla se calienta a reflujo durante 4 horas. Una vez concluida la reacción, el disolvente se evapora hasta obtener 25 mL y se adiciona agua fría (100 mL). El sólido obtenido se filtra al vacío, se lava con abundante agua y se seca en corriente de aire para producir 910 mg (93.3%) de la mezcla de oximas **anti-159** y **syn-159** en una relación 1.7/1 respectivamente (La relación se determina por comparación de la integración de las señales de H-26 *Pro-S* en ambos isómeros). Los isómeros se separan en una columna cromatográfica, empaquetada con gel de sílice utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 6/1 para obtener **anti-159** (559.8 mg, 1.15 mmol, 57.5 %) y el compuesto más polar **syn-159** (337.2 mg, 0.69 mmol, 34.5 %).

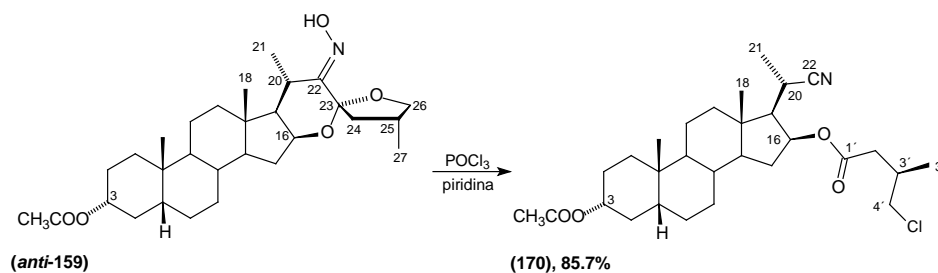
**Acetato de anti-(23*R*,25*R*)-22-hidroxiimino-16*β*,23:23,26-diepoxi-5*β*-colestano-3*α*-ol (anti-159).** P. Fus. 186-188 °C (de acetona-hexano). **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.72 (m, 1H, H-3), 4.62 (ddd,  $J = 7.68, 7.61, 3.55$  Hz, 1H, H-16), 4.04 (dd,  $J = 7.79, 7.79$  Hz, 1H, H-26 *Pro-S*), 3.48 (dd,  $J = 8.39, 8.39$  Hz, 1H, H-26 *Pro-R*), 3.37 (m, 1H, H-20), 2.84 (dd,  $J = 13.11, 9.30$  Hz, 1H, H-24 *Pro-R*), 2.33 (m, 1H, H-25), 2.15 (td,  $J = 13.13, 7.73, 7.73$  Hz, 1H, H-15 $\alpha$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.31 (d,  $J = 7.40$  Hz, 3H, H-21), 1.06 (d,  $J = 6.72$  Hz, 3H, H-27),

0.93 (s, 3H, H-19), 0.68 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.1, C-2 26.4, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.9, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.5, C-9 41.0, C-10 34.7, C-11 20.0, C-12 37.3, C-13 43.2, C-14 57.2, C-15 33.8, C-16 69.7, C-17 53.6, C-18 13.1, C-19 23.3, C-20 24.5, C-21 20.8, C-22 159.0, C-23 106.0, C-24 41.6, C-25 32.6, C-26 74.7, C-27 17.8, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.7. **EM (70 eV)**: 487 M<sup>+</sup>, 470 (100 %), 310, 255, 168, 152, 107, 93, 55, 43. **EM-AR IE** observado 487.3306 M<sup>+</sup>; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>5</sub> 487.3298.

**Acetato de *syn*-(23*R*,25*R*)-22-hidroxiimino-16β,23:23,26-diepoxi-5β-colestan-3α-ol (*syn*-159).** Aceite incoloro. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.28 (ddd, J= 8.10, 8.09, 8.09 Hz, 1H, H-16), 4.19 (dd, J= 7.68, 7.68 Hz, 1H, H-26 *Pro-S*), 3.54 (dd, J= 8.16, 8.16 Hz, 1H, H-26 *Pro-R*), 2.52 (m, 1H, H-20), 2.55 (m, 1H, H-25), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.13 (d, J= 6.42 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>-21), 1.09 (d, J= 6.52 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>-27), 0.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19), 0.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 34.9, C-2 26.5, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.7, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.1, C-9 40.4, C-10 34.6, C-11 20.6, C-12 40.4, C-13 42.4, C-14 56.9, C-15 32.6, C-16 72.3, C-17 52.7, C-18 14.4, C-19 23.3, C-20 33.2, C-21 14.7, C-22 160.4, C-23 106.9, C-24 43.9, C-25 33.1, C-26 74.3, C-27 17.9, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.7. **EM (70 eV)**: 487 M<sup>+</sup>, 470, 310, 255, 83 (100 %), 43. **EM-AR IE** observado 487.3298 M<sup>+</sup>; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>5</sub> 487.3298.

#### 4.3.2.2 Transposición de Beckmann de *anti*-159.

##### 4.3.2.2.1 Tratamiento con POCl<sub>3</sub>.



A una disolución de *anti*-159 (100 mg, 0.21 mmol) en piridina (5 mL), se le adiciona POCl<sub>3</sub> (0.3 mL) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante una hora. Una vez concluida la reacción, se adiciona agua (15 mL); la fase orgánica se extrae con acetato de etilo (2x25 mL); se lava con disolución de HCl al 10% (2x20 mL) y agua (5x20 mL). La mezcla obtenida se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora. El producto obtenido se purifica en una columna cromatográfica empaquetada con gel de sílice utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 9/1 para obtener el nitrilo clorado **170** (91.1mg, 0.18 mmol, 85.7%).

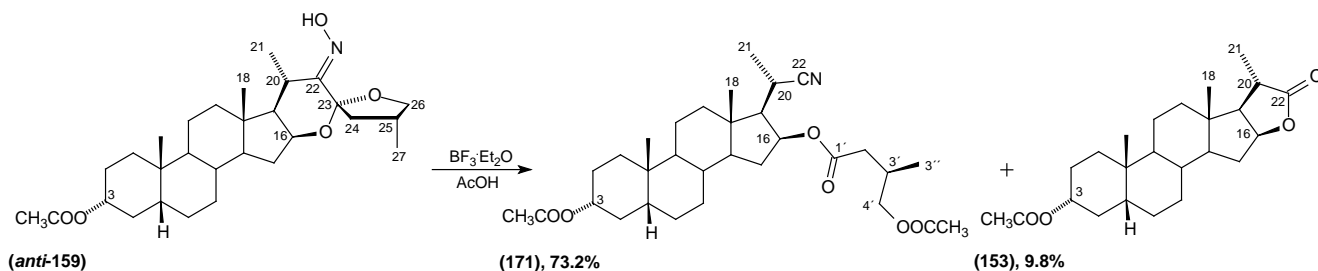
**(3'*R*)-(4'-cloro-3'-metil) pentanoato de (20*S*)-3α-acetoxi-20-ciano-5β-pregnan-16β-ol (170).** **P. Fus.** 130-132 °C de acetato de etilo. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 5.27 (ddd, J= 7.93, 7.88, 4.14 Hz, 1H, H-16), 4.72 (m, 1H, H-3), 3.59 (dd, J= 10.88, 4.93 Hz, 1H, H-26), 3.50 (dd, J= 10.85, 5.35 Hz, 1H, H-26), 2.91 (m, 1H, H-20), 2.56 (dd, J= 15.12, 6.07 Hz, 1H, H-2'), 2.29 (dd, J= 15.12, 7.15 Hz, 1H, H-2'), 2.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.40 (d,



J = 7.08 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>-21), 1.09 (d, J = 6.55 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>-3''), 0.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19), 0.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 34.9<sup>#</sup>, C-2 26.0, C-3 74.0, C-4 32.1, C-5 41.6, C-6 26.7, C-7 26.5, C-8 35.2, C-9 40.4, C-10 34.5, C-11 20.4, C-12 39.5, C-13 42.8, C-14 56.8, C-15 34.8<sup>#</sup>, C-16 74.8, C-17 53.9, C-18 12.9, C-19 23.2, C-20 23.0, C-21 17.4, C-22 122.8, C-1' 171.3, C-2' 38.3, C-3' 32.3, C-3'' 17.9, C-4' 50.1, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4, CH<sub>3</sub>C=O-3 170.6. # intercambiables. **EM (70 eV)**: 506 M<sup>+</sup>, 445, 309 (100%), 294, 255, 215, 119, 93, 93, 55, 43. **An. Elem.:** observado C 68.87, H 8.97, N 2.52; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>ClNO<sub>4</sub> C 68.77, H 8.91, N 2.50. **Rx. (Tabla 7).** Los datos se encuentran registrados en *Cambridge Crystallographic Data Center* con el número CCDC 685265. [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).

<b>Tabla 7. Datos cristalográficos y de refinamiento de 170.</b>	
<b>Formula empírica</b>	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> ClNO <sub>4</sub>
<b>Peso formula</b>	506.10
<b>Temperatura (K)</b>	298(2)
<b>Longitud de onda (Å)</b>	0.71073
<b>Sistema cristalino</b>	Monoclínico
<b>Grupo espacial</b>	<i>P2<sub>1</sub></i>
<b>Dimensiones de la celda unitaria</b>	<i>a</i> = 12.1460(12) Å, <i>α</i> = 90° <i>b</i> = 6.3530(12) Å, <i>β</i> = 92.855(9)° <i>c</i> = 18.553(2) Å, <i>γ</i> = 90°
<b>Volumen (Å<sup>3</sup>)</b>	1429.8(3)
<b>Z</b>	2
<b>Densidad (calculada) (mg/m<sup>3</sup>)</b>	1.176
<b>Coefficiente de absorción (/mm)</b>	0.166
<b>Difractómetro/escáner</b>	<i>Oxford diffraction atlas (Gemini)</i>
<b>Radiación/longitud de onda (Å)</b>	Mo K <sub>α</sub> /0.71073
<b>F(000)</b>	548
<b>Rango de θ para la colección de datos (°)</b>	1.96 - 29.03°.
<b>Rangos de referencia</b>	-1 ≤ <i>h</i> ≤ 16, -1 ≤ <i>k</i> ≤ 8, -25 ≤ <i>l</i> ≤ 25
<b>Reflexiones colectadas</b>	5358
<b>Reflexiones independientes</b>	4764 [R(int) = 0.0236]
<b>Integridad de teta= 67.70°</b>	99.4 %
<b>Método de refinamiento</b>	<i>Full-matrix least-squares on F<sup>2</sup></i>
<b>Datos/restricciones/parámetros</b>	4764 / 1 / 321
<b>Calidad de ajuste en F<sup>2</sup></b>	1.025
<b>Índices R finales [I &gt; 2σ(I)]</b>	R1 = 0.0589, wR2 = 0.1160
<b>Índices R (todos los datos)</b>	R1 = 0.1258, wR2 = 0.1427
<b>Parámetros de la estructura absoluta</b>	-0.08(12)
<b>Coefficiente de extinción</b>	Ninguno
<b>Mayor diferencia. Cresta y valle (e/Å<sup>3</sup>)</b>	0.192 y -0.220

#### 4.3.2.2 Tratamiento con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .

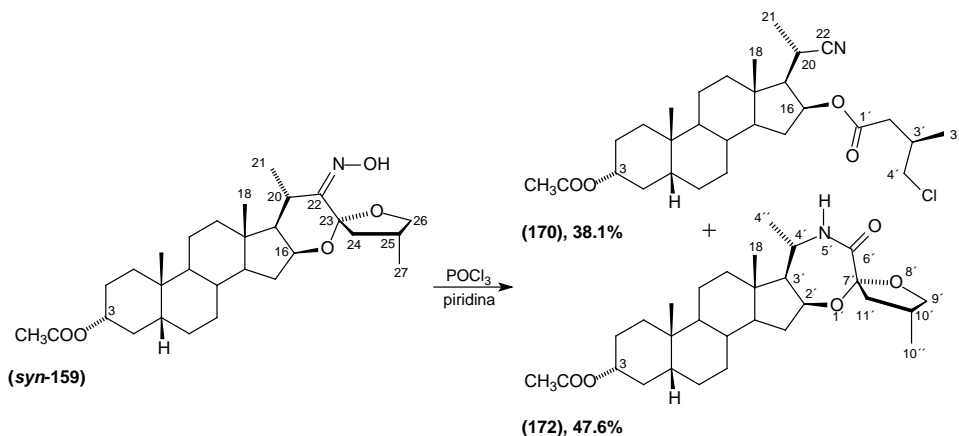


A una suspensión de **anti-159** (200 mg, 0.4 mmol) en ácido acético (4.5 mL) se le adiciona  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (1.5 mL) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 72 horas. Una vez concluida la reacción, se adiciona agua; se extrae con acetato de etilo (2x30 mL); la fase orgánica se lava con disolución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10% (porciones de 20 mL, hasta que cesa la emisión de  $\text{CO}_2$ ) y con agua (2x30 mL); se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se evapora. La mezcla obtenida se separa en una columna cromatográfica empaquetada con gel de sílice utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 10/1 obteniendo el nitrilo acetoxilado **171** (157 mg, 0.3 mmol, 73.2 %) y la lactona dinorcolánica **153** (14 mg, 0.04 mmol 9.8 %).

**(3'R)-(4'-acetoxi-3'-metil)-pentanoato de (20S)-3 $\alpha$ -acetoxi-20-ciano-5 $\beta$ -pregnan-16 $\beta$ -ol (171).** Aceite incoloro. **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 5.26 (ddd,  $J = 12.08, 4.99, 2.86$  Hz, 1H, H-16), 4.70 (m, 1H, H-3), 3.99 (dd,  $J = 10.87, 5.53$  Hz, 1H, H-26), 3.89 (dd,  $J = 10.88, 6.29$  Hz, 1H, H-26), 2.89 (m, 1H, H-20), 2.04 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-4}'$ )<sup>#</sup>, 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ )<sup>#</sup>, 1.38 (d,  $J = 7.09$  Hz, 3H, H-21), 1.00 (d,  $J = 6.58$  Hz, 3H, H-3''), 0.92 (s, 3H, H-19), 0.84 (s, 3H, H-18). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 34.9, C-2 26.0, C-3 74.0, C-4 32.1, C-5 41.6, C-6 26.7, C-7 26.5, C-8 35.2, C-9 40.3, C-10 34.5, C-11 20.4, C-12 39.5, C-13 42.8, C-14 56.7, C-15 34.8, C-16 74.7, C-17 53.9, C-18 12.9, C-19 23.2, C-20 22.9, C-21 17.5, C-22 122.7, C-1' 171.4, C-2' 38.2, C-3' 29.7, C-4' 68.2, C-3'' 16.7,  $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{COO-3}$  21.4<sup>#</sup>,  $\text{CH}_3\text{COO-4}'$  20.4<sup>#</sup>,  $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{COO-3}$  170.5<sup>#</sup>,  $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{COO-4}'$  171.0<sup>#</sup>. # intercambiables **EM (70 eV)**: 530  $\text{MH}^+$ , 469, 369, 309 (100 %), 255, 215, 101, 43. **EM-AR IE** observado 530.3491  $\text{MH}^+$ ; estimado para  $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{NO}_6$  530.3482.

### 4.3.2.3 Transposición de Beckmann de *syn*-159.

#### 4.3.2.3.1 Tratamiento con POCl<sub>3</sub>.



El tratamiento de la oxima *syn*-159 (100 mg, 0.21 mmol) con POCl<sub>3</sub> (0.3 mL) en piridina (5 mL), produce el nitrilo clorado **170**, (42.7 mg, 0.08 mmol, 38.1 %) y la amida **172** (50.4 mg, 0.1 mmol, 47.6 %).

**(4'S,7'R,10'R)-3 $\alpha$ -acetoxi-[16 $\beta$ ,17 $\beta$ :2',3']-1',8'-dioxaspiro-[6,4]-5'aza-4',10'-dimetilundecen-5 $\beta$ -andros-tan-6'-ona (172).** Aceite incoloro. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 5.96 (d, J = 4.55 Hz, 1H, NH, intercambiable con D<sub>2</sub>O), 4.69 (m, 1H, H-3), 4.32 (ddd, J = 8.06, 8.03, 5.47 Hz, 1H, H-2'), 4.17 (dd, J = 7.61, 7.61 Hz, 1H, H-9' *Pro-S*), 3.96 (m, 1H, H-4'), 3.48 (dd, J = 8.16, 8.16 Hz, 1H, H-9' *Pro-R*), 2.45 (m, 1H, H-10') 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.21 (d, J = 6.69 Hz, 3H, H-4''), 1.05 (d, J = 6.62 Hz, 3H, H-10''), 0.91 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19), 0.82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 34.9, C-2 26.5, C-3 74.2, C-4 32.1, C-5 41.7, C-6 26.8, C-7 26.3, C-8 34.9, C-9 40.3, C-10 34.5, C-11 20.3, C-12 39.6, C-13 41.4, C-14 53.7, C-15 34.1, C-18 13.3, C-19 23.2, C-2' 75.4, C-3' 63.2, C-4' 47.0, C-4'' 19.5, C-6' 172.9, C-7' 108.1, C-9' 74.8, C-10' 33.0, C-10'' 17.5, C-11' 45.3, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.7. **EM (70 eV):** 488 MH<sup>+</sup>, 387, 327, 315, 284 (100 %), 255. **EM-AR IE** observado 488.3374 MH<sup>+</sup>; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>NO<sub>5</sub> 488.3376.

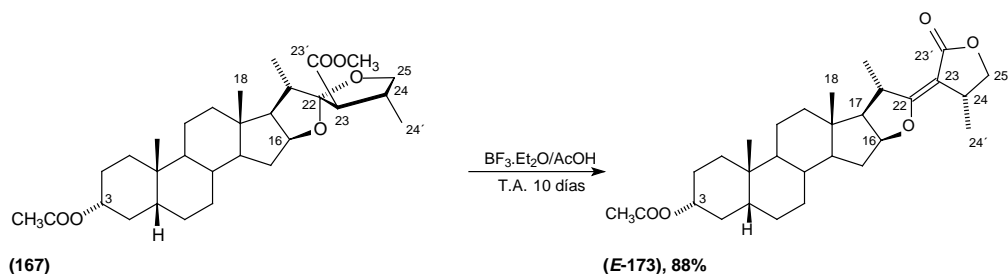
#### 4.3.2.3.2 Tratamiento con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O.

Como se describe para *anti*-159, el tratamiento de la oxima *syn*-159 (200 mg, 0.41 mmol) con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (1.5 mL) en ácido acético (4.5 mL), produce el nitrilo acetoxilado **171** (159.6 mg, 0.3 mmol 73.2 %) y la lactona dinorcolánica **153** (14 mg, 0.04 mmol, 9.8 %) idénticos a los descritos en el epígrafe 4.3.2.2.2.

#### 4.4 Derivados de furospirostanos 23-metoxycarbonílicos.

##### 4.4.1 Reacciones catalizadas con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .

##### 4.4.1.1 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.

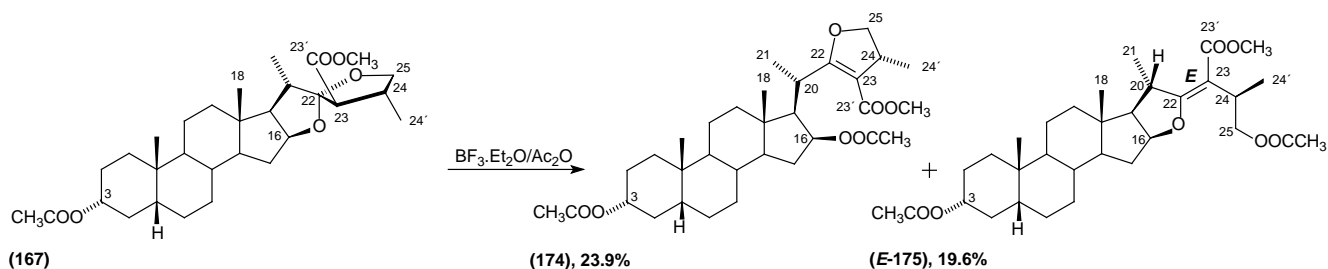


A una disolución de **167** (251.4 mg, 0.5 mmol) en ácido acético (5 mL, 87.3 mmol) se le adiciona  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (1 mL, 3.8 mmol) y la mezcla se agita durante diez días a temperatura ambiente. Una vez concluida la reacción, se adiciona agua con hielo (50 mL) y la mezcla se extrae con acetato de etilo (2x25 mL). La fase orgánica se lava con agua (5x50 mL), se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se evapora. El aceite obtenido se purifica en una columna cromatográfica a presión, empaquetada con gel de sílice (7.5 g) utilizando una mezcla de disolventes hexano/acetato de etilo 15/1, para obtener 206.3 mg de la lactona insaturada **E-173** (0.44 mmol, 88 %).

**(22E,24R)-3 $\alpha$ -acetoxi-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -furost-22-en-23,25-carbolactona (E-173).** Aceite incoloro.

**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 5.04 (ddd,  $J = 7.4, 7.4, 4.1$  Hz, 1H, H-16), 4.71 (m, 1H, H-3), 4.33 (dd,  $J = 8.6, 8.6$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.81 (dd,  $J = 8.8, 4.2$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.65 (m, 1H, H-20), 3.14 (m, 1H, H-24), 2.23 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.24 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, H-21), 1.18 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H, H-24'), 0.92 (s, 3H, H-19), 0.57 (s, 3H, H-18). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.7, C-6 26.8, C-7 26.5, C-8 35.2, C-9 40.6, C-10 34.7, C-11 20.2, C-12 38.3, C-13 41.7, C-14 55.4, C-15 33.5, C-16 88.1, C-17 62.1, C-18 13.3, C-19 23.2, C-20 36.8, C-21 19.2, C-22 177.4, C-23 97.4, C-23' 172.5, C-24 32.5, C-25 72.5, C-24' 20.1,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  170.5,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  21.4. **EM (IE 70 eV):** 471  $\text{MH}^+$ , 410, 255, 193 (100%), **EM-AR (IE 70 eV)** observado 470.3014  $\text{M}^+$ ; estimado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_5$  470.3032.

#### 4.4.1.2 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ y anhídrido acético.



A una disolución de **167** (460 mg, 0.92 mmol) en anhídrido acético (15 mL, 157.2 mmol), se le adiciona  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (2 mL, 7.6 mmol), la mezcla se agita durante 45 min. a temperatura ambiente. Una vez concluida la reacción, se adiciona agua con hielo (60 mL). La mezcla resultante se extrae con acetato de etilo (2x50 mL), la fase orgánica se lava con agua (2x50 mL), se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se evapora. Los componentes del aceite resultante se separan en una columna cromatográfica, a presión, empaquetada con gel de sílice (15 g) utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 20/1 para obtener 118 mg (0.22 mmol, 23.9 %) del éter de enol cíclico diacetilado **174** y 99.8 mg (0.18 mmol, 19.6 %) del furosteno diacetilado **E-175**.

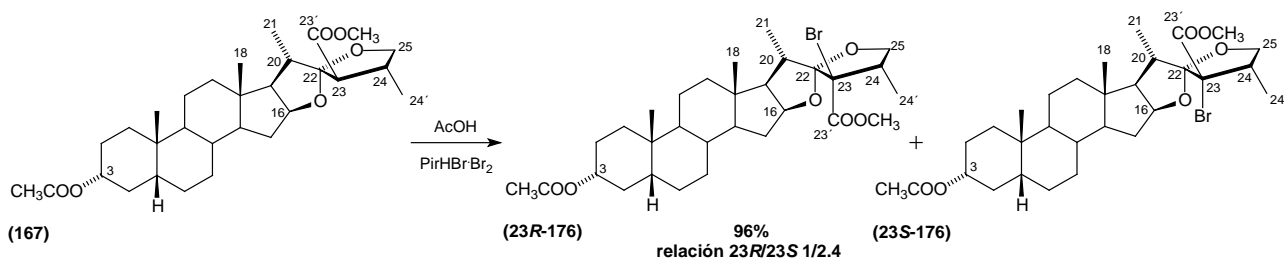
**Diacetato de (24R)-22,25-epoxi-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colest-22-en-3 $\alpha$ ,16 $\beta$ -diol (174).** Aceite amarillo. **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 5.04 (m, 1H, H-16), 4.71 (m, 1H, H-3), 4.36 (t,  $J = 9.2$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.99 (dd,  $J = 8.9, 4.8$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.90 (1H, H-20), 3.69 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.12 (m, 1H, H-24), 2.33 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.85 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-16}$ ), 1.18 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 1.09 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H, H-24'), 0.93 (s, 3H, H-19), 0.89 (s, 3H, H-18). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 42.7, C-6 26.8, C-7 26.1, C-8 35.3, C-9 40.4, C-10 34.6, C-11 20.6, C-12 40.1, C-13 41.7, C-14 54.1, C-15 34.9, C-16 75.2, C-17 55.6, C-18 12.9, C-19 23.2, C-20 29.9, C-21 18.3, C-22 176.2, C-23 104.9, C-23' 166.3, C-24 36.5, C-24' 19.8, C-25 77.9,  $\text{CH}_3\text{O}$  50.5,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO-25}$  170.7,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  21.4,  $\text{CH}_3\text{COO-16}$  20.9. **EM (IE 70eV):** 544  $\text{MH}^+$ , 484, 470, 424, 409, 377, 315, 256, 255 (100%). **EM-AR (IE)** observado 544.3400  $\text{MH}^+$ ; estimado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_4$  544.3400

**Diacetato de (22Z,24R)-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -furost-22-en-3 $\alpha$ ,25-diol (E-175).** Aceite amarillo. **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.95 (ddd,  $J = 7.5, 7.5, 4.0$  Hz, 1H, H-16), 4.67 (m, 1H, H-3), 4.11 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H, H-25), 3.65 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.59 (m, 1H, H-20), 3.21 (m, 1H, H-24), 2.19 (td,  $J = 14.0, 7.2$  Hz, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.99 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.96 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-25}$ ), 1.15 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H, H-21), 1.08 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H, H-24'), 0.89 (s, 3H, H-19), 0.56 (s, 3H, H-18). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 34.9, C-2 26.7, C-3 74.3, C-4 32.1, C-5 41.7, C-6 26.7, C-7 26.5, C-8 35.1, C-9 40.5, C-10 34.6, C-11 20.1, C-12 38.3, C-13 41.7, C-14 55.3, C-15 33.4, C-16 86.7, C-17 62.1, C-18 13.2, C-19 23.2, C-20 38.5, C-21 20.1, C-22 179.1, C-23 100.8, C-

23' 168.9, C-24 31.1, C-25 67.7, C-24' 15.3, CH<sub>3</sub>O 50.7, CH<sub>3</sub>COO-3 170.8, CH<sub>3</sub>COO-25 171.5, CH<sub>3</sub>COO-3 21.3, CH<sub>3</sub>COO-25 20.9. **EM (IE 70 eV):** 544 MH<sup>+</sup>, 484, 471, 452, 410, 315, 255, 207, 193 (100%). **EM-AR (IE)** observado 544.3388 MH<sup>+</sup>; estimado para C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub> 544.3400.

#### 4.4.2 Reacciones catalizadas con ácidos de Brønsted.

##### 4.4.2.1 Bromación con PirHBr·Br<sub>2</sub> en ácido acético.



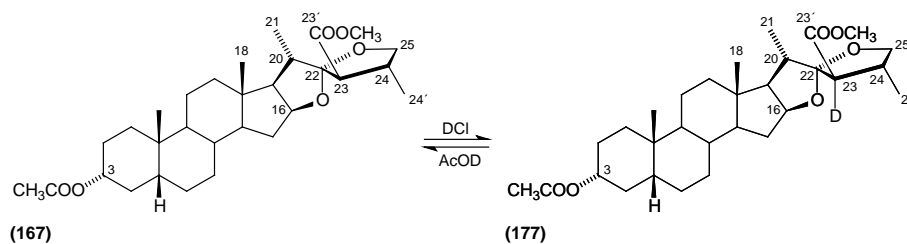
A una disolución tibia (50 °C) de **167** (126 mg, 0.25 mmol) en ácido acético (5 mL, 87.3 mmol), se le adiciona PirHBr·Br<sub>2</sub> (255.7 mg, 0.8 mmol) y la mezcla resultante se agita a 50 °C durante 30 min. Se adiciona agua fría (15 mL) a la mezcla y el sólido producido se filtra y se lava con abundante agua obteniendo 141 mg (0.24 mmol, 96%) de la mezcla de los productos bromados diastereoméricos **23R-176** y **23S-176** en una relación 1/2.4 (la relación se determina por la integración relativa de las señales de H-25 *Pro-S* de ambos epímeros). La mezcla de compuestos se separa en una columna cromatográfica, empaquetada con gel de sílice (20 g), a presión, utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 19/1 para obtener las muestras analíticas de ambos compuestos.

**Acetato de (22S,23R,24S)-16β,22:22,25-diepoxi-23-bromo-23-carboximetil-24-metil-26,27-dinor-5β-colestan-3α-ol (23R-176).** **P. Fus.** 195-196 °C, de hexano/acetato de etilo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.70 (m, 1H, H-3), 4.48 (m, 1H, H-16), 4.14 (dd, J = 7.6, 7.6 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.77 (dd, J = 8.2, 6.5 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 2.92 (p, J = 6.7, 6.7 Hz, 1H, H-20), 2.85 (m, 1H, H-24), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 1.30 (d, J = 7.1 Hz, 3H, H-24'), 1.17 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.85 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.2, C-2 26.7, C-3 74.3, C-4 32.4, C-5 42.0, C-6 27.0, C-7 26.7, C-8 35.5, C-9 40.7, C-10 34.8, C-11 20.7, C-12 40.4, C-13 41.4, C-14 56.2, C-15 32.0, C-16 82.4, C-17 63.2, C-18 16.2, C-19 23.3, C-20 40.1, C-21 17.0, C-22 119.0, C-23 69.3, C-23' 167.3, C-24 48.0, C-24' 15.2, C-25 72.4, CH<sub>3</sub>O 52.3, CH<sub>3</sub>COO-3 170.4, CH<sub>3</sub>COO-3 21.3. **EM (FAB)** 583 MH<sup>+</sup>, 581 MH<sup>+</sup>, 579, 534, 518, 503, 458, 401, 385, 355, 341, 327 (100%). **An. Elem.:** observado C 61.48, H 7.63; estimado para C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>BrO<sub>6</sub> C 61.96, H 7.80. **Rx.** (Tabla 8). Los datos se encuentran registrados en *Cambridge Crystallographic Data Center* con el número CCDC 792938. [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk)

<b>Tabla 8. Datos cristalográficos y de refinamiento de 23R-176.</b>	
<b>Formula empírica</b>	C <sub>30</sub> H <sub>45</sub> BrO <sub>6</sub>
<b>Peso formula</b>	581.57
<b>Temperatura (K)</b>	293(2)
<b>Longitud de onda (Å)</b>	0.71073
<b>Sistema cristalino</b>	Monoclínico
<b>Grupo espacial</b>	<i>P2<sub>1</sub></i>
<b>Dimensiones de la celda unitaria</b>	<i>a</i> = 12.9040(4) Å, $\alpha$ = 90° <i>b</i> = 7.8060(2) Å, $\beta$ = 96.824(2)° <i>c</i> = 14.4940(3) Å, $\gamma$ = 90°
<b>Volumen (Å<sup>3</sup>)</b>	1449.62(7)
<b>Z</b>	2
<b>Densidad (calculada) (mg/m<sup>3</sup>)</b>	1.332
<b>Coefficiente de absorción (/mm)</b>	1.458
<b>Difractómetro/escáner</b>	<i>Oxford diffraction atlas (Gemini)</i>
<b>Radiación/longitud de onda (Å)</b>	Mo K $\alpha$ /0.71073
<b>F(000)</b>	616
<b>Rango de <math>\theta</math> para la colección de datos (°)</b>	3.18 - 26.05°.
<b>Rangos de referencia</b>	-15 ≤ <i>h</i> ≤ 15, -6 ≤ <i>k</i> ≤ 9, -17 ≤ <i>l</i> ≤ 17
<b>Reflexiones colectadas</b>	11476
<b>Reflexiones independientes</b>	4313 [R(int) = 0.0267]
<b>Integridad de teta= 67.70°</b>	99.7 %
<b>Método de refinamiento</b>	<i>Full-matrix least-squares on F<sup>2</sup></i>
<b>Datos/restricciones/parámetros</b>	4313 / 1 / 340
<b>Calidad de ajuste en F<sup>2</sup></b>	0.910
<b>Índices R finales [I &gt; 2<math>\sigma</math>(I)]</b>	R1 = 0.0270, wR2 = 0.0561
<b>Índices R (todos los datos)</b>	R1 = 0.0377, wR2 = 0.0575
<b>Parámetros de la estructura absoluta</b>	0.001(6)
<b>Coefficiente de extinción</b>	Ninguno
<b>Mayor diferencia. Cresta y valle (e/Å<sup>3</sup>)</b>	0.172 y -0.296

Acetato de (22*S*,23*S*,24*S*) -16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-bromo-23-carboximethyl-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colestan-3 $\alpha$ -ol (23*S*-176). Aceite amarillo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 4.69 (m, 1H, H-3), 4.49 (m, 1H, H-16), 4.03 (dd, J = 7.8, 7.8 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.67 (dd, J = 8.7, 8.1 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.91 (m, 1H, H-24), 2.20 (p, J = 6.7 Hz, 1H, H-20), 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.13 (d, J = 6.6 Hz, 3H, H-24'), 0.94 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-21), 0.92 (s, 3H, H-19), 0.79 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.1, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.3, C-5 41.9, C-6 27.0, C-7 26.7, C-8 35.5, C-9 40.6, C-10 34.8, C-11 20.6, C-12 40.7, C-13 41.6, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.6, C-17 63.5, C-18 15.8, C-19 23.3, C-20 37.6, C-21 16.2, C-22 117.8, C-23 71.7, C-23' 169.3, C-24 40.2, C-25 71.6, C-24' 16.5, CH<sub>3</sub>O 53.1, CH<sub>3</sub>COO-3 170.4, CH<sub>3</sub>COO-3 21.3. **EM (IE)** 471 [MH<sup>+</sup> - (CH<sub>3</sub>O) - (Br)] , 443 , 344, 329, 284, 269, 255, 183, 152, 107, 83, 69, **EM-AR (IQ)** observado 581.2457 MH<sup>+</sup>; estimado para C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>Br<sup>(79)</sup>O<sub>6</sub> 581.2478.

#### 4.4.2.2 Experimento de Deuteración.

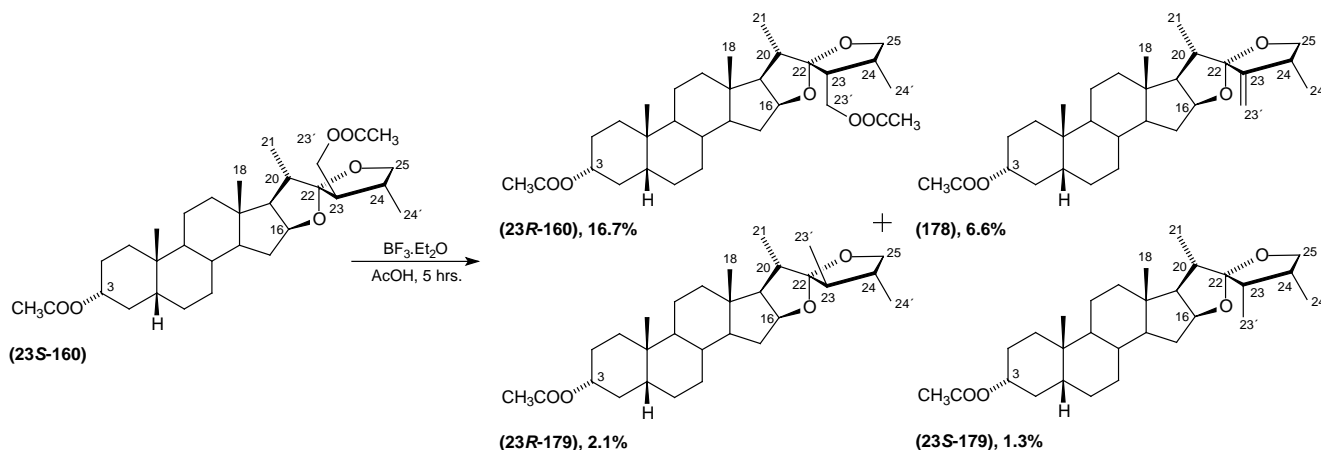


De una disolución 0.1 M de **167** (50 mg en 1 mL de  $\text{D}_3\text{CCOOD}$ ) se registra el espectro de  $^1\text{H}$  inmediatamente después de la preparación de la disolución y otro espectro después de 24 horas (**Figura 46**). Después se adiciona  $\text{DCl}$  (10  $\mu\text{L}$ , 99% D, 35% en  $\text{D}_2\text{O}$ ) a la mezcla y se registran espectros de  $^1\text{H}$  cada 5 min. durante 3 hrs (**Figura 46**), donde se observa la presencia de del furoespiroetano deuterado **177**.

#### 4.5 Derivados de furoespirostanos 23-metil acetilados.

##### 4.5.1 Reacciones con ácidos de Lewis.

##### 4.5.1.1 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.



A una disolución de **23S-160** (518 mg, 1.0 mmol) en  $\text{AcOH}$  (25 mL, 436.7 mmol), se le adiciona  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (1.5 mL, 12.2 mmol) y la mezcla se agita durante 5 horas. Una vez concluida la reacción, se adiciona disolución de  $\text{NaHCO}_3$  al 10 % (20 mL); se extrae con acetato de etilo (25 mL); se lava con disolución de  $\text{NaHCO}_3$  al 10 % (8x20 mL) y agua (3x20 mL); se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se evapora. Los compuestos obtenidos se separan en una columna cromatográfica, a presión, empaquetada con gel de sílice (15 g) utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 97/3, obteniendo los compuestos **23R-160** (86.1 mg, 0.167 mmol, 16.7 %), **178** (30.2 mg, 0.066 mmol, 6.6 %), **23R-179** (9.5 mg, 0.021 mmol, 2.1 %) y **23S-179** (5.9 mg, 0.013 mmol, 1.3 %).



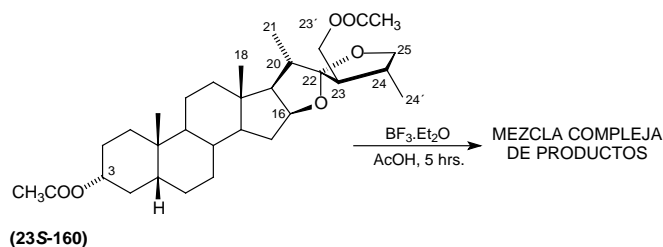
**Diacetato de (22S,23R,24R)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-hidroximetil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colestano-3 $\alpha$ -ol (23R-160).** Aceite amarillo. **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.72 (m, 1H, H-3), 4.45 (m, 1H, H-16), 4.18 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H, H-23'), 3.95 (dd,  $J = 8.2, 6.7$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.56 (dd,  $J = 8.3, 3.6$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.38 (m, 1H, H-23), 2.38 (m, 1H, H-24), 2.23 (p,  $J = 6.9$  Hz, 1H, H-20), 2.04 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-23}'$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.05 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H, H-24'), 0.97 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.76 (s, 3H, H-18). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.2, C-13 40.9, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.6, C-17 61.2, C-18 16.6, C-19 23.3, C-20 38.2, C-21 14.4, C-22 118.4, C-23 44.1, C-23' 61.5, C-24 33.6, C-24' 14.7, C-25 73.9,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  21.5,  $\text{CH}_3\text{COO-23}'$  171.0,  $\text{CH}_3\text{COO-23}'$  21.0. **EM (FAB)** 457 [ $\text{M}^+\text{-CH}_3\text{COO}$ ], 455, 397, 327, 281, 255, 207, 193, 147, 136, 91, 73(100%). **EM-AR (FAB)** observado 457.3319 [ $\text{M}^+\text{-CH}_3\text{COO}$ ]; estimado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{O}_4$  457.3318.

**Acetato de (22S,24S)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-metilen-5 $\beta$ -colestano-3 $\alpha$ -ol (178).** Aceite amarillo. **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 5.26 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H, H-23'a), 5.05 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H, H-23'b), 4.71 (m, 1H, H-3), 4.49 (m, 1H, H-16), 4.03 (dd,  $J = 7.9, 7.9$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.42 (dd,  $J = 10.3, 8.0$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.67 (m, 1H, H-24), 2.30 (p,  $J = 7.0$  Hz, 1H, H-20), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.11 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H, H-24'), 0.95 (s, 3H, H-19), 0.93 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 0.87 (s, 3H, H-18). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.2, C-13 41.1, C-14 56.4, C-15 31.9, C-16 82.4, C-17 61.6, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 41.1, C-21 14.6, C-22 118.3, C-23 153.9, C-23' 107.1, C-24 38.3, C-24' 14.7, C-25 72.1,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  21.4. **EM (IE)** 457 [ $\text{MH}^+$ ], 456, 426, 396, 366, 329, 315, 284, 269, 255, 215, 161, 149, 137(100%). **EM-AR (IE)** observado 456.3250 [ $\text{M}^+$ ]; estimado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_4$  456.3240.

**Acetato de (22S,23R,24S)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-metil-5 $\beta$ -colestano-3 $\alpha$ -ol (23R-179).** Aceite amarillo. **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.72 (m, 1H, H-3), 4.46 (m, 1H, H-16), 3.92 (dd,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.40 (dd,  $J = 10.3, 8.1$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.20 (p, 1H, H-20), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.87 (m, 1H, H-23), 1.72 (m, 1H, H-24), 1.06 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H, H-23'), 0.99 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H, H-24'), 0.96 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.79 (s, 3H, H-18). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.1, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.2, C-13 41.2, C-14 56.2, C-15 31.9, C-16 81.3, C-17 62.5, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 36.1, C-21 15.9, C-22 121.4, C-23 48.0, C-23' 14.2, C-24 41.8, C-24' 15.0, C-25 72.3,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  21.5. **EM (FAB)** 459 [ $\text{MH}^+$ ], 457, 399, 327, 281, 255, 221, 207, 147(100%). **EM-AR (FAB)** observado 459.3454 [ $\text{MH}^+$ ]; estimado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{O}_4$  459.3474.

**Acetato de (22S,23S,24S)-16β,22:22,25-diepoxi-23-metil-5β-colestan-3α-ol (23S-179).** Aceite Amarillo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.45 (m, 1H, H-16), 3.93 (dd, J = 8.2, 7.1 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.51 (dd, J = 8.2, 4.3 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.22 (m, 1H, H-24), 2.10 (m, 1H, H-20), 2.10 (m, 1H, H-23), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 0.99 (d, J = 7.1 Hz, 3H, H-24'), 0.95 (d, J = 6.1 Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.93 (d, J = 5.5 Hz, 3H, H-23'), 0.77 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.1, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.2, C-13 41.1, C-14 56.2, C-15 31.9, C-16 81.3, C-17 61.5, C-18 16.3, C-19 23.3, C-20 37.4, C-21 14.7, C-22 119.6, C-23 40.0, C-23' 9.3, C-24 35.0, C-24' 15.0, C-25 73.7, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5. **EM (FAB)** 459 [MH<sup>+</sup>], 457, 399, 329, 315, 255, 147, 139, 105, 91, 77, 55(100%). **EM-AR (FAB)** observado 459.3474 [MH<sup>+</sup>]; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>47</sub>O<sub>4</sub> 459.3474.

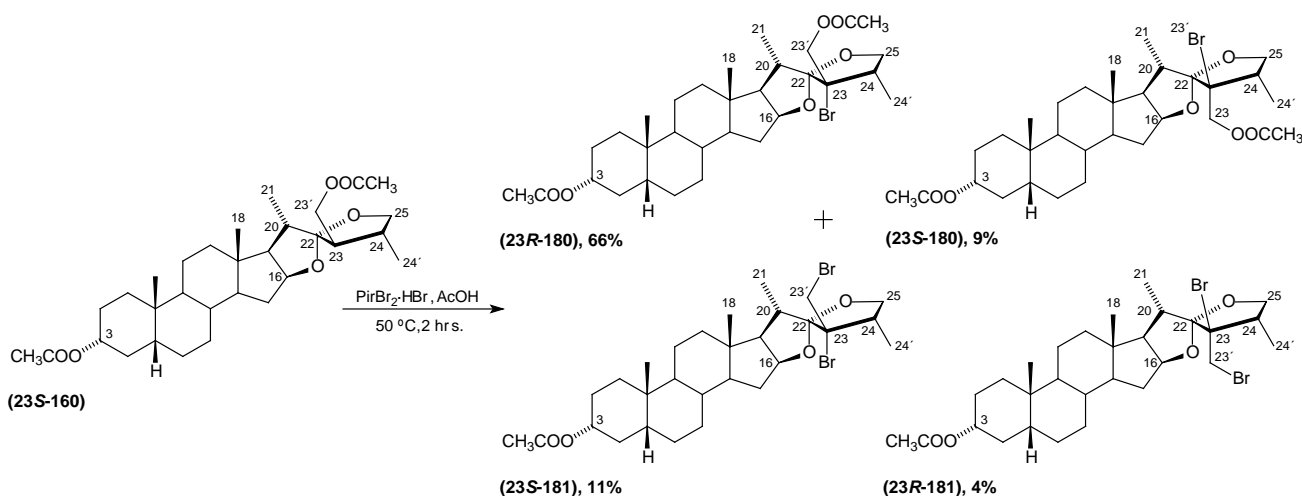
#### 4.5.1.2 Reacción con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O en anhídrido acético.



Cuando a una disolución de **23S-160** (450 mg, 0.87mmol) en anhídrido acético (15 mL, 157.2 mmol), se le adiciona BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (2 mL, 7.6 mmol) y la mezcla se agita durante 45 min. a temperatura ambiente se observa una mezcla compleja de productos. Cuando se repite la reacción con las mismas cantidades en un baño de hielo, durante 12 hrs, se observa la formación de varios productos que no pudieron ser separados.

## 4.5.2 Reacciones con ácidos de Brønsted.

### 4.5.2.1 Bromación con PirHBr·Br<sub>2</sub> en ácido acético.



A una disolución de **23S-160** (518 mg, 1.0 mmol) en  $\text{AcOH}$  (25 mL), se le adiciona  $\text{PirHBr} \cdot \text{Br}_2$  (1.28 g, 3.6 mmol). La disolución se calienta en un baño de agua y se agita durante 1 hora. Una vez concluida la reacción, la mezcla se vierte sobre agua con hielo (200 mL), se filtra al vacío, se lava con agua (4 L) y el sólido obtenido se disuelve en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL), se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se evapora obteniendo 590 mg de un aceite amarillo. Los compuestos se separan en una columna cromatográfica, a presión, empaquetada con gel de sílice (18.5 g) utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 15/1, obteniendo los derivados **23R-180** (391.7 mg, 0.658 mmol, 65.8%), **23S-180** (53.4 mg, 0.09 mmol, 9.0%), **23R-181** (24.3 mg, 0.039 mmol, 3.9%) y **23S-181** (66.0 mg, 0.107 mmol, 10.7%).

**Diacetato de (22S,23R,24S)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-bromo-23-hidroxi-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -colestano-3 $\alpha$ -ol (23R-180).** **P. Fus.** 262-264 °C de hexano/acetato de etilo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.44 (ddd,  $J = 8.6, 7.6, 6.1$  Hz, 1H, H-16), 4.35 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H, H-23'a), 4.23 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H, H-23'b), 4.06 (dd,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.55 (dd,  $J = 8.2, 7.1$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.44 (p,  $J = 6.7, 6.7$  Hz, 1H, H-20), 2.29 (m, 1H, H-24), 2.11 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-23}'$ ), 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.18 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-24'), 1.02 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.88 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 40.1, C-13 41.6, C-14 56.2, C-15 31.7, C-16 81.0, C-17 63.3, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 35.5, C-21 16.3, C-22 117.4, C-23 73.4, C-23' 69.2, C-24 38.1, C-24' 19.0, C-25 70.7,  $\text{CH}_3\text{COO-23}'$  170.5,  $\text{CH}_3\text{COO-23}'$  20.8,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  21.4. **EM (IE)** 515 [ $\text{M}^+ - \text{Br}$ ], 454, 426, 394, 366, 344, 329, 284, 269, 255, 215, 161, 147, 137(100%). **EM-AR (IE)** observado 515.3379 [ $\text{M}^+ - \text{Br}$ ]; estimado para  $\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{O}_6$  515.3372. **Rx.** (Tabla 9). Los datos se encuentran registrados en *Cambridge Crystallographic Data Center* con el número CCDC 928325. [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).

<b>Tabla 9. Datos cristalográficos y de refinamiento de 23R-180.</b>	
<b>Formula empírica</b>	C <sub>31</sub> H <sub>47</sub> BrO <sub>6</sub>
<b>Peso formula</b>	595.60
<b>Temperatura (K)</b>	298(2)
<b>Longitud de onda (Å)</b>	1.54184
<b>Sistema cristalino</b>	Monoclínico
<b>Grupo espacial</b>	P2 <sub>1</sub>
<b>Dimensiones de la celda unitaria</b>	a = 11.0378(4) Å, α = 90° b = 7.8265(3) Å, β = 104.658(4)° c = 17.8645(6) Å, γ = 90°
<b>Volumen (Å<sup>3</sup>)</b>	1493.04(9)
<b>Z</b>	2
<b>Densidad (calculada) (mg/m<sup>3</sup>)</b>	1.325
<b>Coefficiente de absorción (/mm)</b>	2.202
<b>Difractómetro/escáner</b>	Oxford diffraction atlas (Gemini)
<b>Radiación/longitud de onda (Å)</b>	Mo K <sub>α</sub> /0.71073
<b>F(000)</b>	632
<b>Rango de θ para la colección de datos (°)</b>	4.14 - 68.11°.
<b>Rangos de referencia</b>	-11 ≤ h ≤ 13, -8 ≤ k ≤ 9, -20 ≤ l ≤ 21
<b>Reflexiones colectadas</b>	10014
<b>Reflexiones independientes</b>	4696 [R(int) = 0.0451]
<b>Integridad de teta= 67.70°</b>	100.0 %
<b>Método de refinamiento</b>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
<b>Datos/restricciones/parámetros</b>	4696 / 1 / 349
<b>Calidad de ajuste en F<sup>2</sup></b>	0.964
<b>Índices R finales [I &gt; 2σ(I)]</b>	R1 = 0.0405, wR2 = 0.0939
<b>Índices R (todos los datos)</b>	R1 = 0.0551, wR2 = 0.1004
<b>Parámetros de la estructura absoluta</b>	-0.009(19)
<b>Coefficiente de extinción</b>	Ninguno
<b>Mayor diferencia. Cresta y valle (e/Å<sup>3</sup>)</b>	0.299 y -0.255

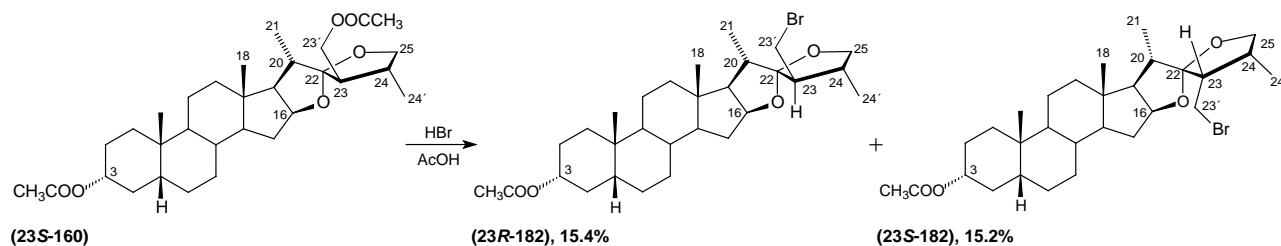
**Diacetato de (22S,23S,24S)-16β,22:22,25-diepoxi-23-bromo-23-hidroximetil-24-metil-26,27-dinor-5β-colestan-3α-ol (23S-180).** P. Fus. 266-267 °C de hexano/acetato de etilo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.71(m, 1H, H-3), 4.47 (m, 1H, H-16), 4.47 (s, 2H, H-23'), 4.31 (dd, J = 7.9 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.57 (dd, J = 8.2, 3.9 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.89 (m, 1H, H-24), 2.52 (m, 1H, H-20), 2.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-23'), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.26 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-21), 1.16 (d, J = 7.3 Hz, 3H, H-24'), 0.93 (s, 3H, H-19), 0.81 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.0, C-2 26.5, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.4, C-12 39.7, C-13 41.3, C-14 56.3, C-15 31.9, C-16 81.6, C-17 63.9, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 39.4, C-21 18.2, C-22 119.1, C-23 73.8, C-23' 65.9, C-24 46.5, C-24' 16.7, C-25 72.6, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-23' 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5, CH<sub>3</sub>COO-23' 21.0. **EM (IE)** 515 [M<sup>+</sup>-Br], 454, 426, 329, 315, 284, 269, 255, 215, 159, 147, 137 (100%). **EM-AR (IE)** observado 515.3377 [M<sup>+</sup>-Br]; estimado para C<sub>31</sub>H<sub>47</sub>O<sub>6</sub> 515.3372. **Rx. (Tabla 10).** Los datos se encuentran registrados en *Cambridge Crystallographic Data Center* con el número CCDC 92832. [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).

Tabla 10. Datos cristalográficos y de refinamiento de 23S-180.	
Formula empírica	C <sub>31</sub> H <sub>47</sub> BrO <sub>6</sub>
Peso formula	595.60
Temperatura (K)	293(2)
Longitud de onda (Å)	1.54184
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 <sub>1</sub>
Dimensiones de la celda unitaria	a = 13.2911(4) Å, α = 90° b = 7.7902(2) Å, β = 98.487(2)° c = 14.5238(3) Å, γ = 90°
Volumen (Å <sup>3</sup> )	1487.33(7)
Z	2
Densidad (calculada) (mg/m <sup>3</sup> )	1.330
Coefficiente de absorción (/mm)	2.211
Difractómetro/escáner	Oxford diffraction atlas (Gemini)
Radiación/longitud de onda (Å)	Mo K <sub>α</sub> /0.71073
F(000)	632
Rango de θ para la colección de datos (°)	4.21 - 68.07°.
Rangos de referencia	-10 ≤ h ≤ 15, -7 ≤ k ≤ 9, -17 ≤ l ≤ 17
Reflexiones colectadas	5346
Reflexiones independientes	3737 [R(int) = 0.0220]
Integridad de teta= 67.70°	94.6 %
Método de refinamiento	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Datos/restricciones/parámetros	3737/1/349
Calidad de ajuste en F <sup>2</sup>	1.103
Índices R finales [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0369, wR2 = 0.0870
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0455, wR2 = 0.0919
Parámetros de la estructura absoluta	0.00(2)
Coefficiente de extinción	Ninguno
Mayor diferencia. Cresta y valle (e/Å <sup>3</sup> )	0.485 y -0.453

Acetato de (22S,23S,24S)-16β,22:22,25-diepoxi-23-bromo-23-bromometil-24-metil-26,27-dinor-5β-colestan-3α-ol (23R-181). Aceite amarillo. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.48 (ddd, J = 7.8, 7.8, 5.1 Hz, 1H, H-16), 4.36 (dd, J = 8.1, 7.1 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 4.03 (d, J = 11.6 Hz, 1H, 23'a), 3.70 (d, J = 11.6 Hz, 1H, 23'b), 3.66 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.80 (pd, J = 7.2, 7.2, 2.3 Hz, 1H, H-24), 2.42 (m, 1H, H-20), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.28 (d, J = 7.3 Hz, 3H, H-24'), 1.27 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.77 (s, 3H, H-18). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.5, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.4, C-12 39.6, C-13 41.5, C-14 56.3, C-15 32.0, C-16 81.6, C-17 63.8, C-18 16.3, C-19 23.3, C-20 39.4, C-21 18.7, C-22 119.3, C-23 77.3, C-23' 38.1, C-24 46.6, C-24' 17.0, C-25 73.2, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4. EM (IE) 535 [M<sup>+</sup>- Br], 537 [M<sup>+</sup>-Br], 456, 426, 344, 329, 284, 269, 255, 227, 215, 175, 149, 137 (100%). EM-AR (IE) observado 535.2415 [M<sup>+</sup>-HBr]; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>Br<sup>(79)</sup>O<sub>4</sub> 535.2423.

**Acetato de (22*S*,23*R*,24*S*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-bromo-23-bromometil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -coleston-3 $\alpha$ -ol (23*S*-181).** Aceite amarillo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 4.72 (m, 1H, H-3), 4.44 (m, 1H, H-16), 4.08 (dd, J = 8.2, 8.2 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.88 (d, J = 10.8 Hz, 1H, H-23'a), 3.75 (d, J = 10.8 Hz, 1H, H-23'b), 3.54 (dd, J = 8.2, 6.8 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.53 (m, 1H, H-24), 2.47 (m, 1H, H-20), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.18 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-21), 1.06 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-24'), 0.95 (s, 1H, H-19), 0.92 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.5, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 40.1, C-13 41.7, C-14 56.2, C-15 31.7, C-16 81.1, C-17 63.5, C-18 16.42, C-19 23.3, C-20 35.4, C-21 16.8, C-22 117.5, C-23 75.6, C-23' 43.9, C-24 39.5, C-24' 19.7, C-25 70.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5. **EM (IE)** 535 [M<sup>+</sup>-Br], 537 [M<sup>+</sup>-Br], 456, 426, 344, 329, 315, 269, 255, 159, 149, 137 (100%). **EM-AR (IE)** observado 535.2413 [M<sup>+</sup>-HBr]; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>Br<sup>(79)</sup>O<sub>4</sub> 535.2423.

#### 4.5.2.2 Bromación con HBr en ácido acético.



Una disolución de HBr en AcOH (5 mL, 27.2 mmol) se adiciona a **23*S*-160** (258.4 mg, 0.5 mmol) disuelto en AcOH (5 mL) y la mezcla se agita durante 45 minutos. Una vez concluida la reacción, la mezcla se vierte sobre agua con hielo (25 mL); se extrae con acetato de etilo (40 mL); se lava con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% (4x25 mL) y con agua (2x25 mL); se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora obteniendo 195 mg de un aceite. Los productos obtenidos se separan en una columna cromatográfica, a presión, empaquetada con gel de sílice (12 g) utilizando una mezcla hexano/acetato de etilo 40/1, obteniendo a **23*R*-182** (41.5 mg, 0.077 mmol, 15.4%) y **23*S*-182** (40.6 mg, 0.076 mmol, 15.2%).

**Acetato de (22*S*,23*R*,24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxi-23-bromometil-24-metil-26,27-dinor-5 $\beta$ -coleston-3 $\alpha$ -ol (23*R*-182).** Aceite amarillo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 4.72 (m, 1H, H-3), 4.41 (ddd, J = 8.5, 7.6, 6.0 Hz, 1H, H-16), 3.97 (dd, J = 8.0 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.57 (dd, J = 10.1, 6.4 Hz, 1H, H-23'a), 3.43 (dd, J = 9.2, 8.3 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.34 (dd, J = 10.1, 8.3 Hz, 1H, H-23'b), 2.36 (m, J = 13.4, 6.8 Hz, 1H, H-20), 2.27 (m, 1H, H-23), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.13 (d, J = 6.7 Hz, 3H, H-24'), 1.00 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.95 (s, 3H, H-19), 0.82 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.1, C-13 41.2, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.0, C-17 62.9, C-18 16.6, C-19 23.3, C-20 36.1, C-21 16.2, C-22 119.5, C-23 55.7, C-23' 33.5, C-24 39.9, C-

24' 17.2, C-25 71.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5. **EM (FAB)** MH<sup>+</sup> 539, MH<sup>+</sup> 537, 459, 457, 255, 147, 133, 91, 83, 73, 57 (100%). **EM-AR (FAB)** observado 537.2500 [MH<sup>+</sup>]; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>Br<sup>(79)</sup>O<sub>4</sub> 537.2579.

**Acetato de (22S,23S,24R)-16β,22:22,25-diepoxi-23-bromometil-24-metil-26,27-dinor-5β-colestan-3α-ol (23S-182).** Aceite amarillo. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.44 (m, 1H, H-16), 3.95 (dd, J = 8.3, 6.4 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.63 (dd, J = 8.3, 2.7 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.44 (m, 2H, H-23'), 2.47 (m, 1H, H-24), 2.47 (m, 1H, H-23), 2.14 (m, 1H, H-20), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.13 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-24'), 0.97 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.75 (s, 3H, H-18). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.3, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.1, C-13 41.0, C-14 56.1, C-15 31.8, C-16 81.7, C-17 61.1, C-18 16.6, C-19 23.3, C-20 38.2, C-21 14.4, C-22 118.3, C-23 48.9, C-23' 29.2, C-24 34.0, C-24' 14.3, C-25 73.9, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5. **EM (FAB)** MH<sup>+</sup> 539, MH<sup>+</sup> 537, 457, 455, 397, 315, 255, 147, 133, 107, 95, 91, 69, 57, 55 (100%). **EM-AR (FAB)** observado 537.2495 [MH<sup>+</sup>]; estimado para C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>Br<sup>(79)</sup>O<sub>4</sub> 537.2579.





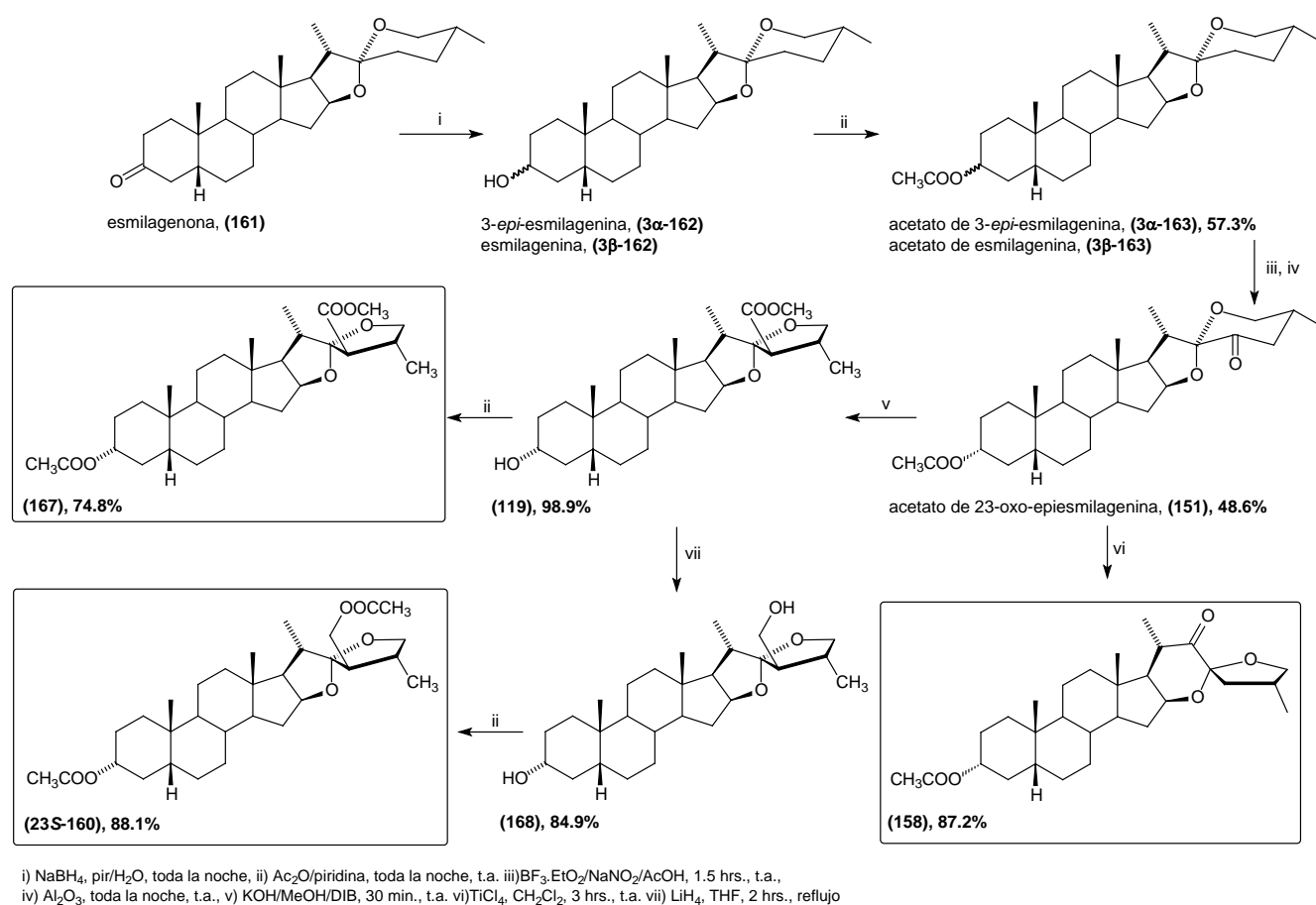
**CAPITULO 5**  
**RESULTADOS EN LA SÍNTESIS DE**  
**MATERIAS PRIMAS**



## 5. RESULTADOS EN LA SÍNTESIS DE MATERIAS PRIMAS

### 5.1 Síntesis de materias primas.

La reducción de la esmilagenona (**161**) produjo los alcoholes **3 $\alpha$ -162** y **3 $\beta$ -162** que al acetilarse originaron los acetatos **3 $\alpha$ -163** y **3 $\beta$ -163** respectivamente, que fueron separados. La reacción del acetato de 3-*epi*-esmilagenina (**3 $\alpha$ -163**) con NaNO<sub>2</sub> y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O en ácido acético seguida de una hidrólisis con Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Actividad Brockman III) dio lugar a la cetona **151** que mediante el tratamiento con TiCl<sub>4</sub> en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> produjo la cetona reordenada **158**. La transposición de Favorskii de **151**, con NaOH y DIB en metanol, produjo el furoespiroetano **119** que al reducirse con LiAlH<sub>4</sub> en THF a reflujo formó el diol **168**. La acetilación de los alcoholes **119** y **168** con Ac<sub>2</sub>O en piridina generó los productos acetilados **167** y **23S-160** respectivamente (Esquema 48).



Esquema 48. Síntesis de materias primas.

### 5.2 Características Espectroscópicas de las materias primas.

#### 5.2.1 Discusión de las señales de RMN de <sup>1</sup>H.

Algunos autores como Kirk<sup>155</sup> y Agrawal<sup>156</sup> proporcionaron excelentes artículos de referencia para asignar las señales de los protones asociados al esqueleto esteroide, así como una variedad de elementos útiles en la metodología de asignación. Aunque la cantidad de datos reportados es abundante, debido a los múltiples patrones

de sustitución que son posibles, la adición de datos asociados a un tipo diferente de sustitución siempre es útil. En la **Tabla 11** se muestran las correlaciones en 2D homo y heteronucleares que permiten la asignación inequívoca de la mayoría de las señales de  $^1\text{H}$  del núcleo esteroideal del compuesto (**3 $\alpha$ -163**) y que se pueden aplicar también, en general, a todos los derivados espiroestánicos.

<b>Tabla 11. Principales correlaciones hetero y homonucleares del derivado 3<math>\alpha</math>-163.</b>				
<b>H</b>	COSY		HMBC H-C	
	H-H		2 enlaces	3 enlaces
<b>3<math>\beta</math></b>	2 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 4 $\alpha$ , 4 $\beta$	1 $\beta$ , 2 $\beta$ , 4 $\beta$ , 5 $\beta$	2, 4	-
<b>5<math>\beta</math></b>	**	3 $\beta$ , 19	6	3, 7
<b>6<math>\alpha</math></b>	6 $\beta$ , 7 $\alpha$	6 $\beta$	7	8
<b>6<math>\beta</math></b>	6 $\alpha$	6 $\alpha$ , 19	7	4, 10
<b>7<math>\alpha</math></b>	6 $\alpha$ , 8 $\beta$	9 $\alpha$	6	9, 14
<b>15<math>\alpha</math></b>	14 $\alpha$ , 15 $\beta$ , 16 $\alpha$	14 $\alpha$ , 15 $\beta$ , 16 $\alpha$	14, 16	13, 17
<b>16<math>\alpha</math></b>	15 $\alpha$ , 15 $\beta$ , 17 $\alpha$	14 $\alpha$ , 15 $\alpha$ , 17 $\alpha$ , 26 <i>Pro-R</i>	-	13
<b>18</b>	-	8 $\beta$ , 11 $\beta$ , 12 $\beta$ , 15 $\beta$ , 20 $\beta$	13	14, 17
<b>19</b>	-	5 $\beta$ , 6 $\beta$ , 8 $\beta$ , 11 $\beta$	10	1, 5, 9
** Superpuesto con 24 <i>Pro-R</i>				

La asignación del resto de los protones es complicada debido a la superposición de las señales. Las señales de H-1, H-11 y H-12 se asignan por las correlaciones HSQC con sus respectivos carbonos. Los H-7 se asocian a C-7 a través de la correlación HSQC, el H-7 $\alpha$  se diferencia del H-7 $\beta$  por la correlación NOE de H-7 $\alpha$  con 9 $\alpha$ .

En la **Tabla 12** se muestran las correlaciones homo y heteronucleares que permiten la asignación inequívoca de la mayoría de las señales de  $^1\text{H}$  del núcleo esteroideal del compuesto **119** y que pueden ser aplicadas, en general, a todos los derivados 23-carboximetilfuroespiroestánicos.

<b>Tabla 12. Principales correlaciones hetero y homonucleares del derivado 119.</b>				
<b>H</b>	COSY		HMBC H-C	
	H-H		2 enlaces	3 enlaces
<b>3<math>\beta</math></b>	2 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 4 $\alpha$ , 4 $\beta$	1 $\beta$ , 2 $\beta$ , 4 $\beta$ , 5 $\beta$	-	-
<b>5<math>\beta</math></b>	6 $\alpha$ , 6 $\beta$	3 $\beta$ , 6 $\beta$ , 19	6, 10	7, 9, 19
<b>6<math>\alpha</math></b>	6 $\beta$ , 7 $\alpha$ , 5 $\beta$	4 $\beta$ , 6 $\beta$ , 9 $\alpha$	7	8, 10
<b>6<math>\beta</math></b>	5 $\beta$ , 6 $\alpha$	5 $\beta$ , 6 $\alpha$ , 19	5, 7	4
<b>7<math>\alpha</math></b>	6 $\alpha$ , 7 $\beta$	9 $\alpha$	6	14
<b>15<math>\alpha</math></b>	14 $\alpha$ , 15 $\beta$ , 16 $\alpha$	9 $\alpha$ , 14 $\alpha$ , 15 $\beta$ , 16 $\alpha$	14, 16	13, 17
<b>16<math>\alpha</math></b>	15 $\alpha$ , 15 $\beta$ , 17 $\alpha$	14 $\alpha$ , 15 $\alpha$ , 17 $\alpha$	-	13
<b>18</b>	-	8 $\beta$ , 11 $\beta$ , 12 $\beta$ , 15 $\beta$ , 20 $\beta$ , 23, CH <sub>3</sub> O-	13	12, 14, 17
<b>19</b>	-	5 $\beta$ , 6 $\beta$ , 8 $\beta$ , 11 $\beta$	10	1, 5, 9

### 5.2.1.1 Características de RMN de $^1\text{H}$ de la cadena lateral espiroestánica.

Las señales características de RMN de la cadena lateral tipo espiroestánica han sido claramente identificadas y discutidas.<sup>156</sup> La cadena lateral espiroestánica no funcionalizada del compuesto **3 $\alpha$ -163** se distingue por las señales de H-16 $\alpha$  y H-20 $\beta$  situados en el anillo-E tetrahidrofuránico, la señal de H-20 $\beta$  puede ser fácilmente reconocida por el fuerte efecto NOE que presenta con los protones del grupo metilo 18 y del metilo 21. La señal desprotegida de H-16 $\alpha$  puede ser reconocida por la correlación COSY con las señales de H-15 $\alpha$ , H-15 $\beta$  y H-17 $\alpha$ ; además, las correlaciones NOE de H-16 $\alpha$  con H-15 $\alpha$  y H-17 $\alpha$  corroboran esta asignación. El espectro del anillo F del compuesto **3 $\alpha$ -163** presenta señales desprotegidas correspondientes a los protones H-26 *Pro-R* (axial) y H-26 *Pro-S* (ecuatorial) que se reconocen por los intensos efectos NOE con el metilo 27 ecuatorial que aparece como un doblete debido al acoplamiento con el protón axial H-25. Los protones diastereotópicos H-26 *Pro-S* y H-26 *Pro-R* se pueden diferenciar por los efectos NOE observados, en la señal de H-26 *Pro-S* se distingue una correlación con la señal de H-25 (que no está presente con H-26 *Pro-R*), mientras que la señal de H-26 *Pro-R* tiene una correlación con H-16 $\alpha$  y (que no está presente con H-26 *Pro-S*). También los protones H-26 se pueden distinguir por la comparación de la multiplicidad de las dos señales, en el caso de H-26 *Pro-R* aparece como un dd colapsado debido a la similitud de las constantes de acoplamiento geminal con H-26 *Pro-S* y del acoplamiento axial-axial con H-25. El H-26 *Pro-S* presenta una multiplicidad de dd bien definida que muestra la constante de acoplamiento geminal con H-26 *Pro-S* y una más pequeña que corresponde al acoplamiento ecuatorial-axial con H-25. La **Tabla 13** concentra las correlaciones en 2D homo y heteronucleares que permiten la asignación inequívoca de la señales de  $^1\text{H}$  asociadas a la cadena lateral del compuesto **3 $\alpha$ -163** (**Figuras 19 y 20**)

<b>Tabla 13. Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 3<math>\alpha</math>-163.</b>					
<b>H</b>	<b>COSY</b>		<b>NOESY</b>	<b>HMBC H-C</b>	
	<b>H-H</b>		<b>H-H</b>	<b>2 enlaces</b>	<b>3 enlaces</b>
<b>20<math>\beta</math></b>	21	15 $\beta$ , 18, 21		17, 21, 22	13, 23
<b>21</b>	20 $\beta$	17 $\alpha$ , 20 $\beta$		20	17, 22
<b>24 <i>Pro-R</i></b>	24 <i>Pro-S</i> , 25	26 <i>Pro-R</i> , 27		23	22, 26, 27
<b>24 <i>Pro-S</i></b>	**	27		23, 25	22
<b>26 <i>Pro-R</i></b>	25	16 $\alpha$ , 24 <i>Pro-R</i> , 27		25	24, 27
<b>26 <i>Pro-S</i></b>	25	25, 27		25	24
<b>27</b>	25	24 <i>Pro-R</i> , 24 <i>Pro-S</i> , 26 <i>Pro-R</i> , 26 <i>Pro-S</i>		25	24, 26
** superpuesto con 25					

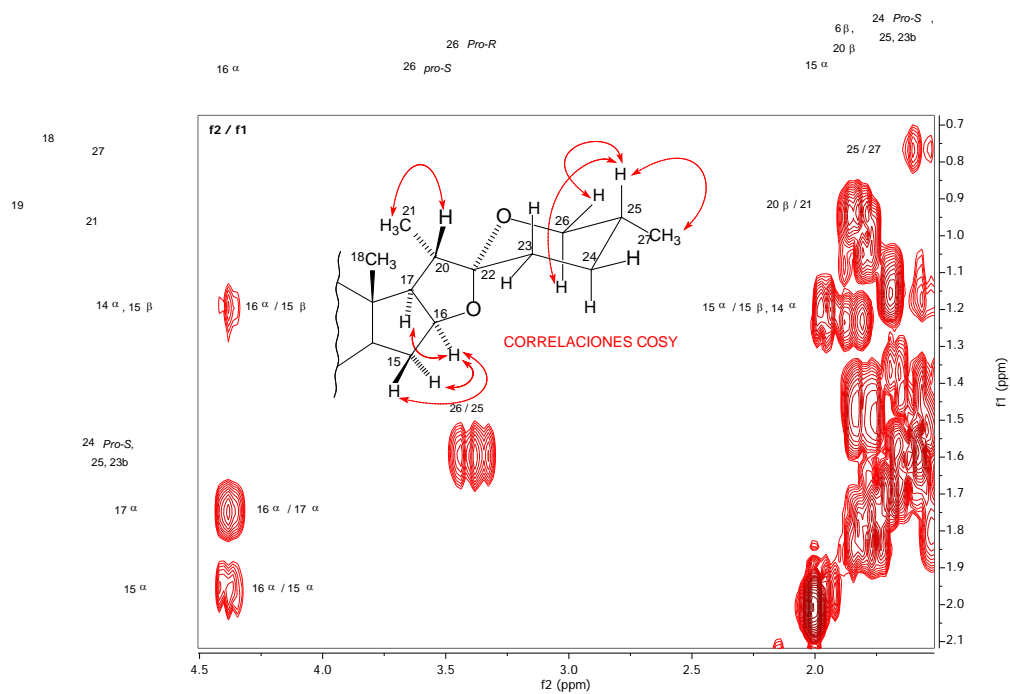


Figura 19. Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 3 $\alpha$ -163.

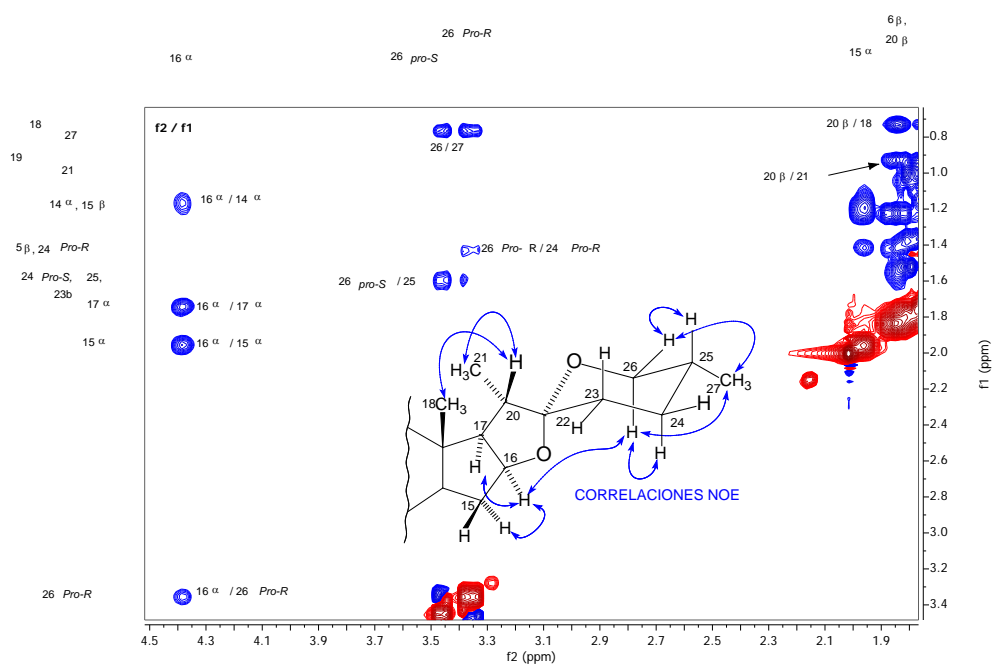


Figura 20. Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 3 $\alpha$ -163.

La introducción de un grupo carbonilo en C-23 produce la desprotección e inversión de las posiciones relativas de las señales de los protones de H-26. Esto indica que a pesar de que ambos protones están bajo el efecto de anisotropía magnética provocado por el grupo carbonilo, el H-26 *Pro S* (axial) se encuentra más afectado por este efecto que el H-26 *Pro-R* (ecuatorial).<sup>157</sup>

Como era de esperar, la introducción del carbonilo también produce el desplazamiento a campo bajo de las dos señales de los protones H-24 situados en posición  $\alpha$  respecto al grupo carbonilo. La presencia del grupo carbonilo en C-23 se caracteriza por la desprotección de H-20 atribuida tanto a la compresión electrónica, como a la anisotropía magnética ocasionada por el doble enlace C=O del carbonilo.<sup>157</sup> La desprotección de H-25 se puede explicar también por la anisotropía magnética del doble enlace carbonílico. La **Tabla 14** muestra las correlaciones en 2D homo y heteronucleares que permiten la asignación inequívoca de la mayoría de las señales de <sup>1</sup>H asociadas a la cadena lateral del compuesto **151**. (**Figuras 21 y 22**). La **Tabla 15** muestra la asignación total de los protones de los compuestos **3 $\alpha$ -163** y **151**.

<b>Tabla 14. Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 151.</b>				
<b>H</b>	<b>COSY</b>		<b>NOESY</b>	
	<b>H-H</b>		<b>H-H</b>	
			<b>HMBC H-C</b>	
			<b>2 enlaces</b>	<b>3 enlaces</b>
<b>20<math>\beta</math></b>	17 $\alpha$ , 21	12 $\beta$ , 18, 21	17, 22	13, 23
<b>21</b>	20 $\beta$	17 $\alpha$ , 20 $\beta$	20	17, 22
<b>24 <i>Pro-R</i></b>	25	-	23, 25	22, 26, 27
<b>24 <i>Pro-S</i></b>	25	26, 27	23, 25	22, 26, 27
<b>26 <i>Pro-R</i></b>	25	27, 16 $\alpha$	25	22, 24
<b>26 <i>Pro-S</i></b>	25	25, 27	25	22, 24, 27
<b>27</b>	25	26 <i>Pro-R</i> , 26 <i>Pro-S</i> , 24 <i>Pro-S</i> , 25	-	24, 26

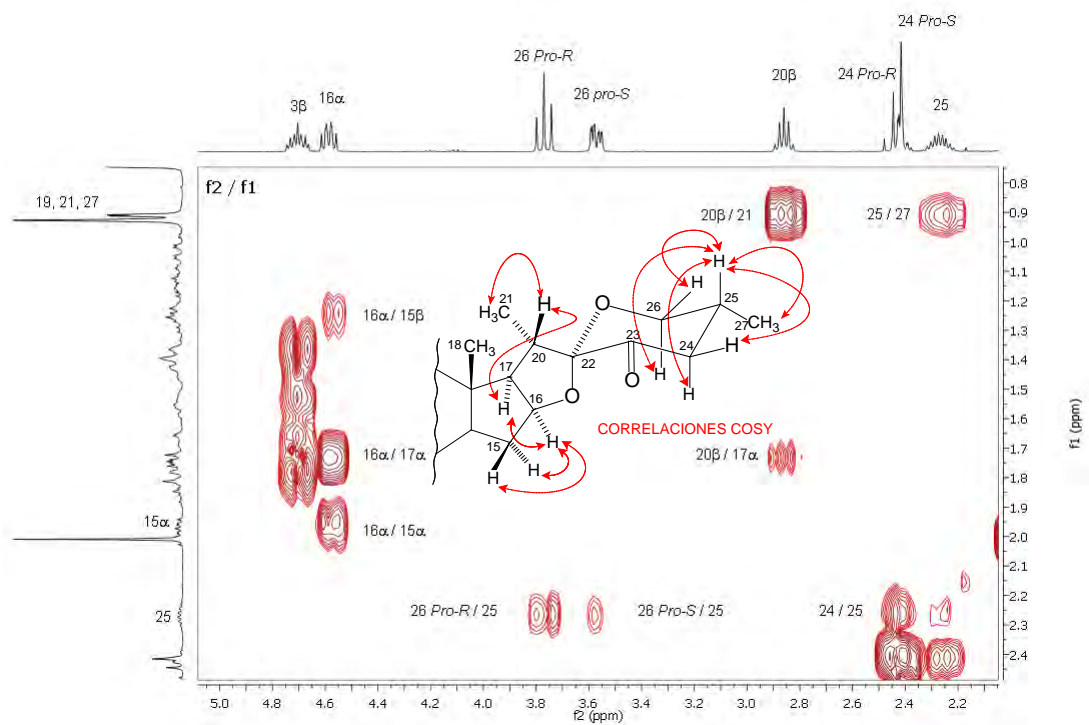


Figura 21. Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 151.

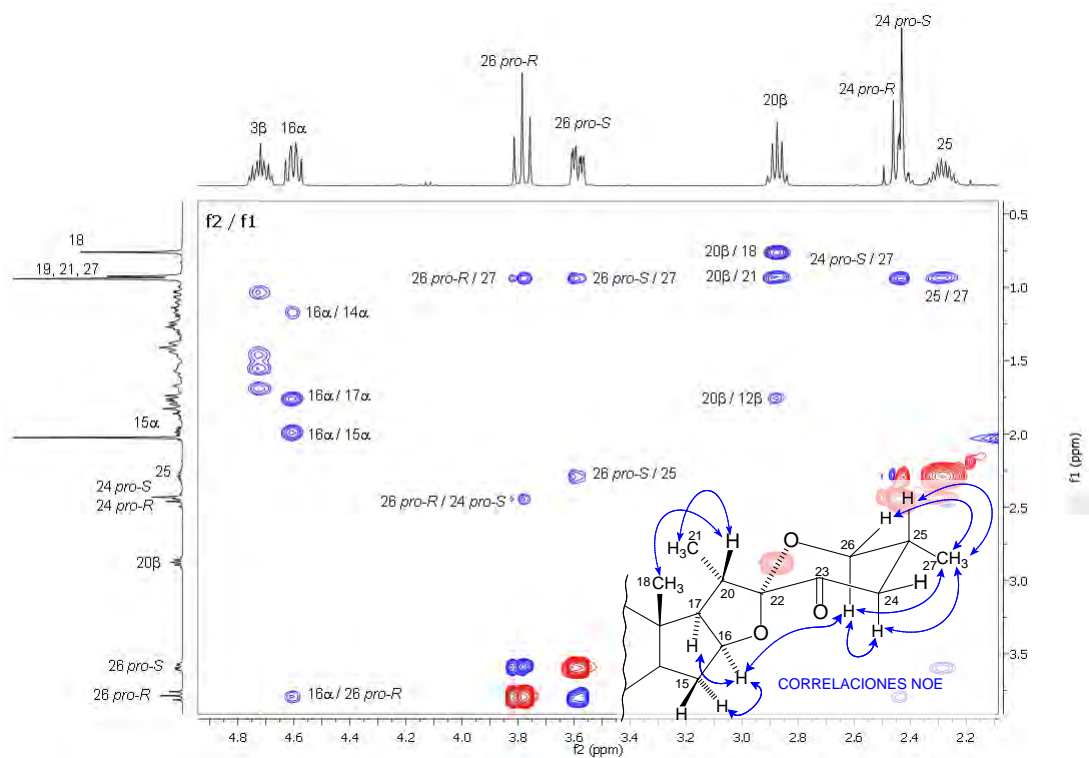


Figura 22. Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 151.



Tabla 15. Desplazamientos químicos de $^1\text{H}$ de los compuestos <b>3<math>\alpha</math>-163</b> y <b>151</b> .					
H	3 $\alpha$ -163	151	H	3 $\alpha$ -163	151
<b>1<math>\alpha</math></b>	1.8	1.8	<b>12<math>\beta</math></b>	1.7	1.74
<b>1<math>\beta</math></b>	1.01	1.02	<b>14<math>\alpha</math></b>	1.19 (m)	1.15
<b>2<math>\alpha</math></b>	1.4	1.38	<b>15<math>\alpha</math></b>	1.97 (m)	1.98 (m)
<b>2<math>\beta</math></b>	1.67	1.67	<b>15<math>\beta</math></b>	1.2 (m)	1.27
<b>3<math>\beta</math></b>	4.71 (m)	4.71 (m)	<b>16<math>\alpha</math></b>	4.38 (m)	4.59 (m)
<b>4<math>\alpha</math></b>	1.81 (m)	1.8	<b>17<math>\alpha</math></b>	1.75	1.74
<b>4<math>\beta</math></b>	1.53	1.53	<b>18 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.74 (s)	0.74 (s)
<b>5<math>\beta</math></b>	1.44	1.44	<b>19 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.93 (s)	0.93 (s)
<b>6<math>\alpha</math></b>	1.24	1.23	<b>20<math>\beta</math></b>	1.85	2.86 (m)
<b>6<math>\beta</math></b>	1.85	1.85	<b>21 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.95 (d, J=6.9)	0.92 (d, J=7.0)
<b>7<math>\alpha</math></b>	1.08	1.07	<b>23<sup>a</sup></b>	1.67	–
<b>7<math>\beta</math></b>	1.36	1.38	<b>23<sup>b</sup></b>	1.59	–
<b>8<math>\beta</math></b>	1.57	1.57	<b>24 Pro-S (ax.)</b>	1.62	2.42 (m)
<b>9<math>\alpha</math></b>	1.42	1.4	<b>24 Pro-R (ec.)</b>	1.45 (m)	2.47 (dd, J=10.7, 10.7)
<b>11<math>\alpha</math></b>	1.38	1.38	<b>25</b>	1.61 (m)	2.27 (m)
<b>11<math>\beta</math></b>	1.24 (m)	1.23	<b>26 Pro-S (ec.)</b>	3.46 (ddd, J=10.7, 4.4, 1.6)	3.57 (ddd, J=11.2, 4.6, 1.4)
<b>12<math>\alpha</math></b>	1.17	1.13	<b>26 Pro-R (ax.)</b>	3.36 (dd, J=10.9, 10.9)	3.77 (dd, J=11.3, 11.3)

### 5.2.1.2 Características de RMN de $^1\text{H}$ de la cadena lateral tipo **16 $\beta$ ,23:23,26**-diepoxicolestan-22-ona.

Mientras que la identificación de los protones diasterotópicos en C-26 del compuesto **151**, se puede realizar fácilmente mediante la observación de sus patrones de acoplamiento,<sup>38,41,42,157-159</sup> la diferenciación de los protones diasterotópicos unidos a C-26 en el compuesto reordenado **158** no es trivial debido a su orientación pseudoecuatorial de éstos. Afortunadamente, los experimentos COSY y NOESY proveen un criterio adecuado para la diferenciación del par diasterotópico H-26 *Pro-R* y H-26 *Pro-S* (Figuras 23 y 24, Tabla 16). La Tabla 17 muestra la asignación de las señales de  $^1\text{H}$  del compuesto reordenado **158**.

Tabla 16. Principales correlaciones homonucleares de la cadena lateral del compuesto <b>158</b> .		
H	COSY	
	H-H	
H	NOESY	
	H-H	
<b>20<math>\beta</math></b>	21	18, 21
<b>21</b>	20 $\beta$	20 $\beta$
<b>25</b>	26 <i>Pro-R</i> , 26 <i>Pro-S</i>	26 <i>Pro-S</i>
<b>26 Pro-R</b>	25	27
<b>26 Pro-S</b>	25	25
<b>27</b>	25	26 <i>Pro-R</i>

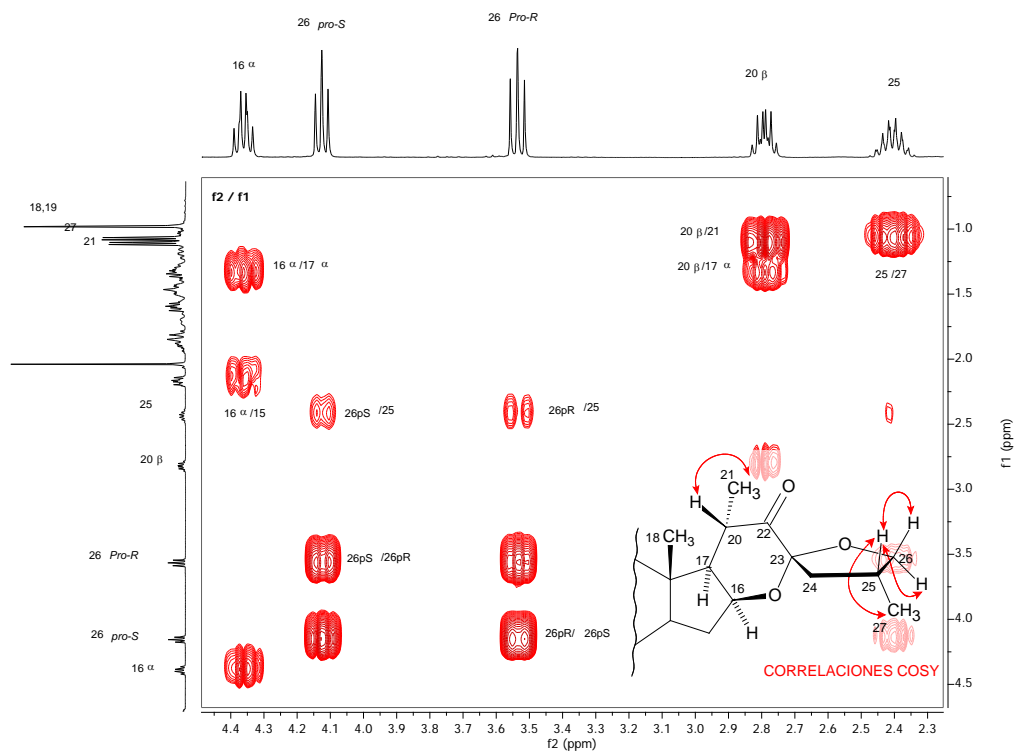


Figura 23. Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 158.

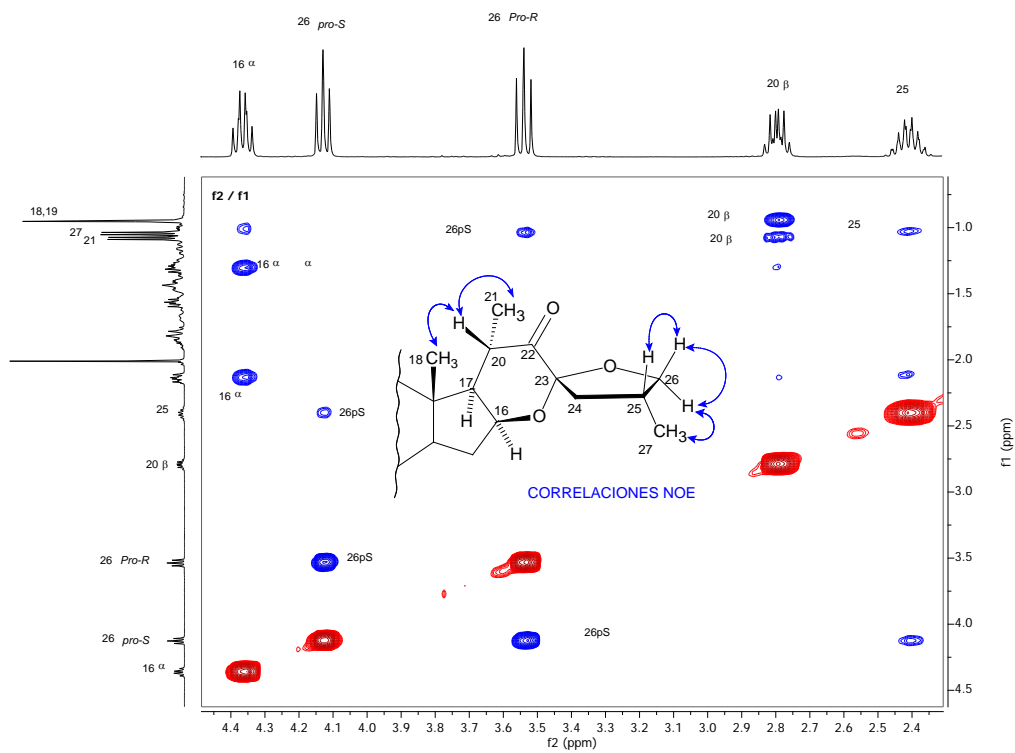


Figura 24. Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 158.

Tabla 17. Desplazamientos químicos de <sup>1</sup> H de los compuestos 151 y 158.		
H	151	158
3	4.71 (m)	4.70 (m)
16	4.59 (td, J = 7.6, 6.2)	4.35 (ddd, J = 8.10, 8.09, 6.32)
18	0.74 (s)	0.94 (s)
20	2.86 (p, J = 6.9)	2.79 (dc, J = 9.96, 6.45, 6.43, 6.43)
21 (CH3)	0.92 (d, J = 7.0)	1.07 (d, 3H, J = 6.43)
25	2.27 (m)	2.40 (m)
26 <i>Pro-S</i>	3.57 (ddd, J = 11.2, 4.6, 1.4)	4.12 (dd, J = 7.59, 7.59)
26 <i>Pro-R</i>	3.77 (dd, J = 11.3, 11.3)	3.52 (dd, J = 8.95, 8.20)
27 (CH3)	0.92 (d, J = 6.6)	1.03 (d, J = 6.68)
CH <sub>3</sub> COO-3	2.01 (s)	2.00 (s)

### 5.2.1.3 Características de RMN de <sup>1</sup>H de la cadena lateral tipo 23-carboximetilfuroestriánica.

La contracción del anillo F, produce cambios significativos en las señales de los protones correspondientes a la cadena lateral. El espectro de <sup>1</sup>H del compuesto furoestriánico **119** se caracteriza por la presencia de una nueva señal desprotegida correspondiente al H-23 ubicado en posición  $\alpha$  respecto tanto a la función espirocetálica en C-22 como al grupo carboximetilo unido a C-23. La señal de H-23' presenta una correlación NOE H-23 $\leftrightarrow$ H-24' que indica su orientación en la cara  $\alpha$  y por lo tanto la configuración *R* de C-23. La conversión del anillo F a un ciclo de 5 miembros produce una fuerte desprotección de H-25 *Pro-S* (antes H-26 *Pro-S* en **151**) y la protección de H-25 *Pro-R*, (antes H-26 *Pro-R* en **151**), además de la protección de H-20 y la desprotección de H-24 (antes H-25 en **151**) y de H-24' (antes H-27 en **151**). La **Tabla 18** muestra las correlaciones en 2D homo y heteronucleares que permiten la asignación inequívoca de las señales de <sup>1</sup>H asociadas a la cadena lateral del compuesto **119** (**Figuras 25 y 26**).

Tabla 18. Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 119.				
H	COSY	NOESY	HMBC H-C	
	H-H	H-H	2 enlaces	3 enlaces
20 $\beta$	17 $\alpha$ , 21	12 $\beta$ , 18, 21, CH <sub>3</sub> O	17, 21, 22	13, 23
21	20 $\beta$	20 $\beta$ , 24, CH <sub>3</sub> O	20	17, 22
23	24	18, 24, 24'	22, 23', 24	24'
24	23, 25 <i>Pro-R</i> , 25 <i>Pro-S</i>	21, 23, 25 <i>Pro-S</i>	23, 25	23'
24'	24	23, 24, 25 <i>Pro-R</i>	24	23, 25
25 <i>Pro-R</i>	24	24'	24	23, 24'
25 <i>Pro-S</i>	24	24	24	22, 23

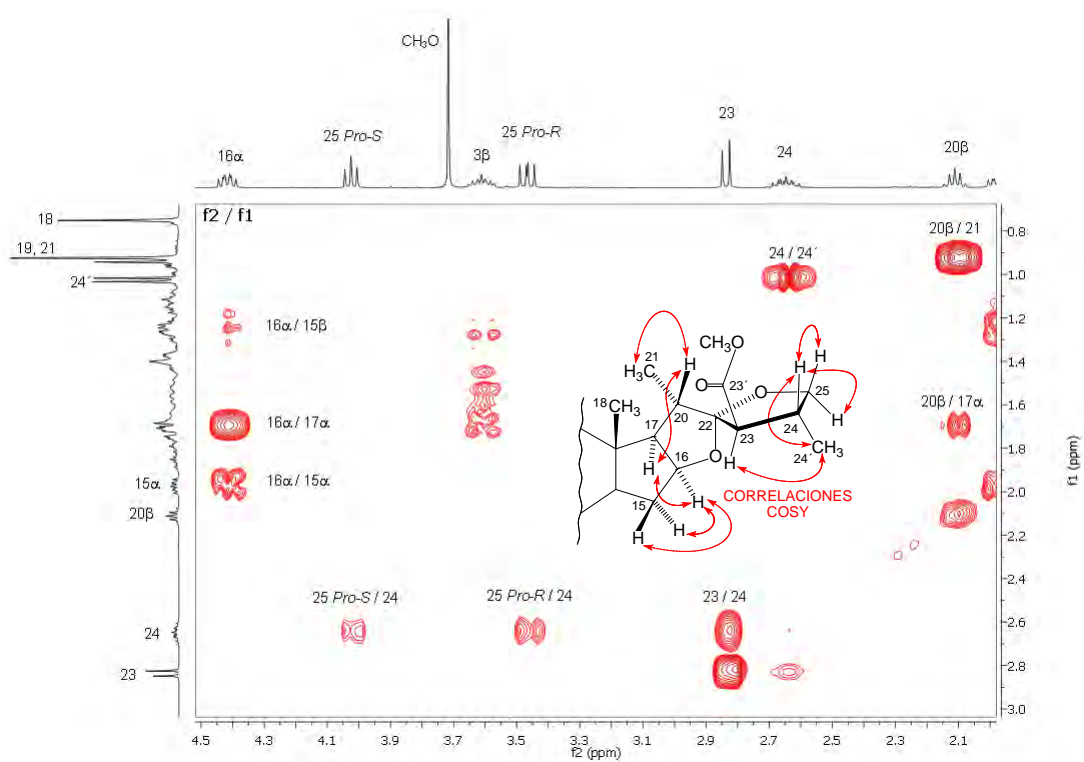


Figura 25. Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 119.

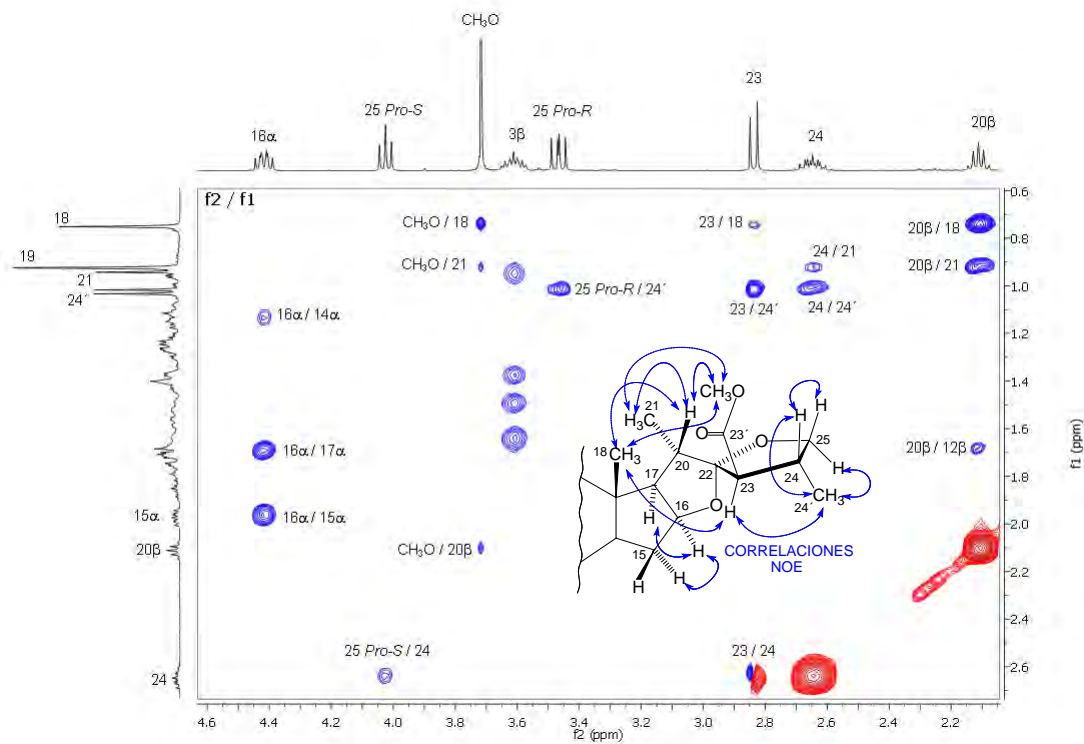
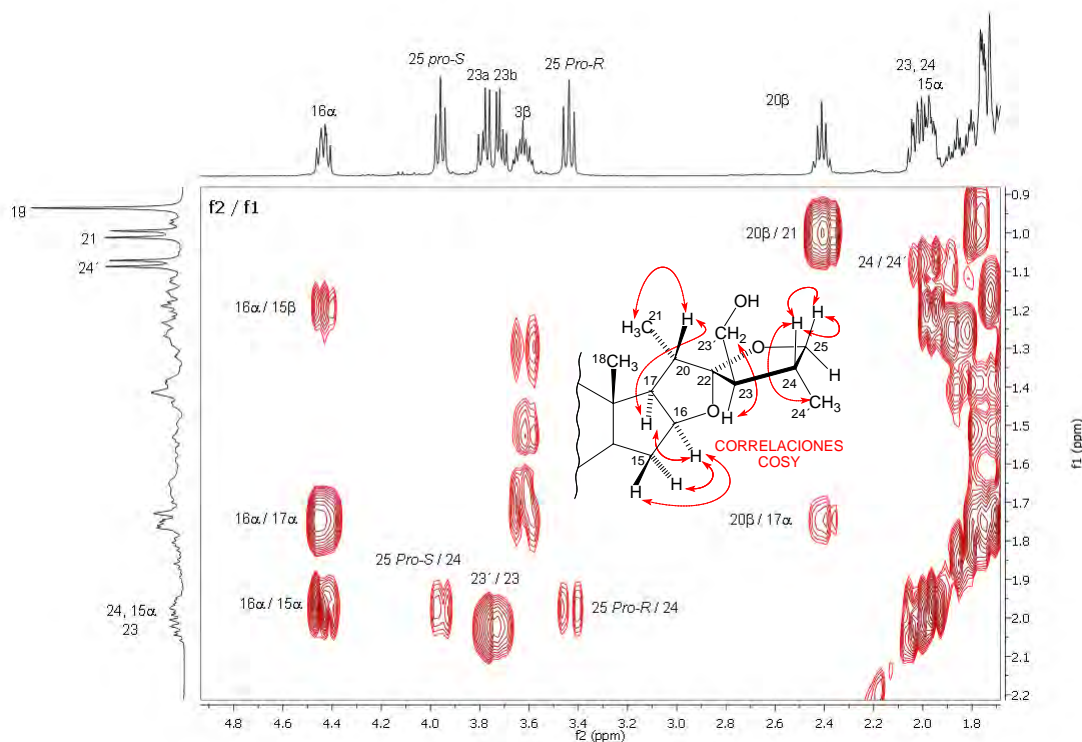


Figura 26. Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 119.

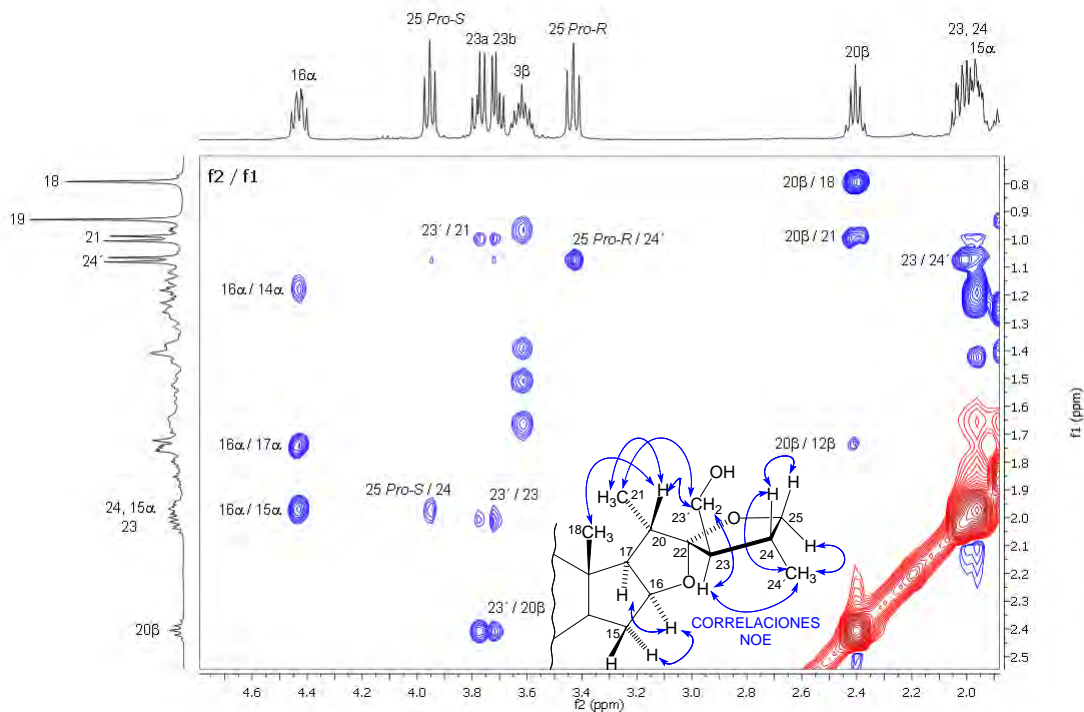
La reducción del grupo carboximeto en **119** para producir el diol **168** provoca la desprotección de H-20 y la protección de H-23. El espectro de  $^1\text{H}$  del diol **168** muestra dos nuevas señales correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos unidos a C-23', que presentan el típico patrón de acoplamiento AB-X. La **Tabla 19** muestra las correlaciones en 2D homo y heteronucleares que permiten la asignación inequívoca de las señales de  $^1\text{H}$  asociadas a la cadena lateral del compuesto **168** (**Figuras 27 y 28**).

<b>Tabla 19. Principales correlaciones hetero y homonucleares de la cadena lateral del compuesto 168.</b>				
<b>H</b>	<b>COSY</b>	<b>NOESY</b>	<b>HMBC H-C</b>	
	<b>H-H</b>	<b>H-H</b>	<b>2 enlaces</b>	<b>3 enlaces</b>
<b>20<math>\beta</math></b>	17 $\alpha$ , 21	12 $\beta$ , 18, 21	17, 21, 22	13, 23,
<b>21</b>	20 $\beta$	20 $\beta$ , 23'a, 23'b	20	17, 22
<b>23 ** 24</b>	23'a, 23'b	23'a, 23'b, 24'	24	-
<b>23' a</b>	23	21, 23, 20 $\beta$	23	22
<b>23' b</b>	23	21, 23, 20 $\beta$	23	22, 24
<b>24 ** 23</b>	25 <i>Pro-R</i> , 25 <i>Pro-S</i>	25 <i>Pro-S</i>	23, 25	-
<b>24'</b>	24	23, 25 <i>Pro-R</i>	24	23, 25
<b>25 <i>Pro-R</i></b>	24	24'	24	24'
<b>25 <i>Pro-S</i></b>	24	24	24	22, 23

\*\* superpuesto con



**Figura 27. Correlaciones COSY de la cadena lateral del compuesto 168.**



**Figura 28. Correlaciones NOE de la cadena lateral del compuesto 168.**

Además de la desprotección de los protones de H-23', la acetilación del grupo carbinol C-23' exocíclico produce la coalescencia de las señales de ambos protones diastereotópicos H-23', esto indica que a pesar del gran volumen grupo acetoxi unido a C-23', es posible la libre rotación alrededor del enlace C-23-C-23'. La **Tabla 20** muestra las correlaciones en 2D homo y heteronucleares que permiten la asignación inequívoca de las señales de  $^1\text{H}$  asociadas a la cadena lateral del compuesto **23S-160**. La **Tabla 21** muestra la asignación de todos los protones de los compuestos **167**, **23S-160**, **119** y **168**.

H	COSY		NOESY		HMBC H-C	
	H-H		H-H		2 enlaces	3 enlaces
<b>20β</b>	17α, 21		12β, 18, 21		17, 21, 22	13, 23
<b>21</b>	20β		20β, 23'		20	17, 22
<b>23</b>	23', 24		23', 24, 24', 25 Pro-R		22, 23', 24	24'
<b>23'</b>	23		18, 20β, 21, 23, 24, 24'		23, CH <sub>3</sub> COO	22, 24
<b>24</b>	24', 25 Pro-R, 25 Pro-S		23, 23', 24', 25 Pro-S		23, 25	23'
<b>24'</b>	24		23', 24, 25 Pro-S, 25 Pro-R		24	23, 25
<b>25 Pro-R</b>	24		24, 24'		24	24'
<b>25 Pro-S</b>	24		23, 24'		24	22

<b>Tabla 21. Desplazamientos químicos de <sup>1</sup>H de los compuestos 119, 167, 168 y 23S-160.</b>				
<b>H</b>	<b>119</b>	<b>167</b>	<b>168</b>	<b>23S-160</b>
<b>1α</b>	1.79	1.78	1.78	1.79
<b>1β</b>	0.96	1.01	0.97	1.01
<b>2α</b>	1.29	1.37	1.30	1.38
<b>2β</b>	1.66	1.66	1.66	1.67
<b>3β</b>	3.62 (m)	4.69 (m)	3.62 (ddd, J=15.7, 10.9, 4.7)	4.70 (m)
<b>4α</b>	1.73	1.79	1.74	1.80
<b>4β</b>	1.51	1.52	1.51	1.53
<b>5β</b>	1.40	1.43	1.39	1.44
<b>6α</b>	1.25	1.23	1.53	1.23
<b>6β</b>	1.85	1.84	1.84	1.84
<b>7α</b>	1.09	1.07	1.10	1.07
<b>7β</b>	1.43	1.37	1.40	1.38
<b>8β</b>	1.57	1.57	1.57	1.56
<b>9α</b>	1.40	1.39	1.41	1.40
<b>11α</b>	1.39	1.70	1.40	1.38
<b>11β</b>	1.21	1.21	1.24	1.22
<b>12α</b>	1.12	1.12	1.17	1.16
<b>12β</b>	1.71	1.69	1.73	1.72
<b>14α</b>	1.13	1.14	1.17	1.15
<b>15α</b>	1.98	1.95	1.99	1.96 (m)
<b>15β</b>	1.26	1.23	1.22	1.22
<b>16α</b>	4.42 (td, J=7.7, 6.0)	4.40 (td, J=7.7, 6.0)	4.43 (m)	4.42 (m)
<b>17α</b>	1.71	1.69	1.74	1.71
<b>18 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.75 (s)	0.74 (s)	0.79 (s)	0.78 (s)
<b>19 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.92 (s)	0.92 (s)	0.93 (s)	0.93 (s)
<b>20β</b>	2.11 (p, J=6.8)	2.10 (p, J=6.8)	2.41 (p, J=6.8)	2.28 (p, J = 6.7)
<b>21 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.93 (d, J=7.4)	0.92 (d, J=6.9)	1.00 (d, J=6.9)	0.97 (d, J = 6.9)
<b>23</b>	2.84 (d, J=9.4)	2.82 (d, J=9.3)	1.99 (m)	2.17 (m)
<b>23' a</b>	-	-	3.78 (dd, J=10.9, 7.1)	4.13 (m)
<b>23' b</b>	-	-	3.71 (dd, J=10.9, 5.5)	
<b>24</b>	2.65 (m)	2.64 (m)	1.99 (m)	1.89 (m)
<b>25 Pro-S</b>	4.03 (dd, J=7.7, 7.7)	4.01 (dd, J=7.7, 7.7)	3.95 (d, J=7.6, 7.6)	3.93 (dd, J = 7.7, 7.7)
<b>25 Pro-R</b>	3.47 (dd, J=10.1, 8.1)	3.46 (dd, J=10.1, 8.1)	3.43 (dd, J=9.3, 8.2)	3.41 (dd, J = 10.1, 8.3)
<b>24' (CH<sub>3</sub>)</b>	1.03 (d, J=6.6)	1.01 (d, J=6.6)	1.07 (d, J=6.3)	1.05 (d, J = 6.5)
<b>CH<sub>3</sub>O</b>	3.72 (s)	3.71 (s)	-	-
<b>CH<sub>3</sub>COO-3</b>	-	2.00 (s)	-	2.05 (s)
<b>CH<sub>3</sub>COO-23'</b>	-	-	-	2.01 (s)

## 5.2.2 Discusión de las señales de RMN de $^{13}\text{C}$ .

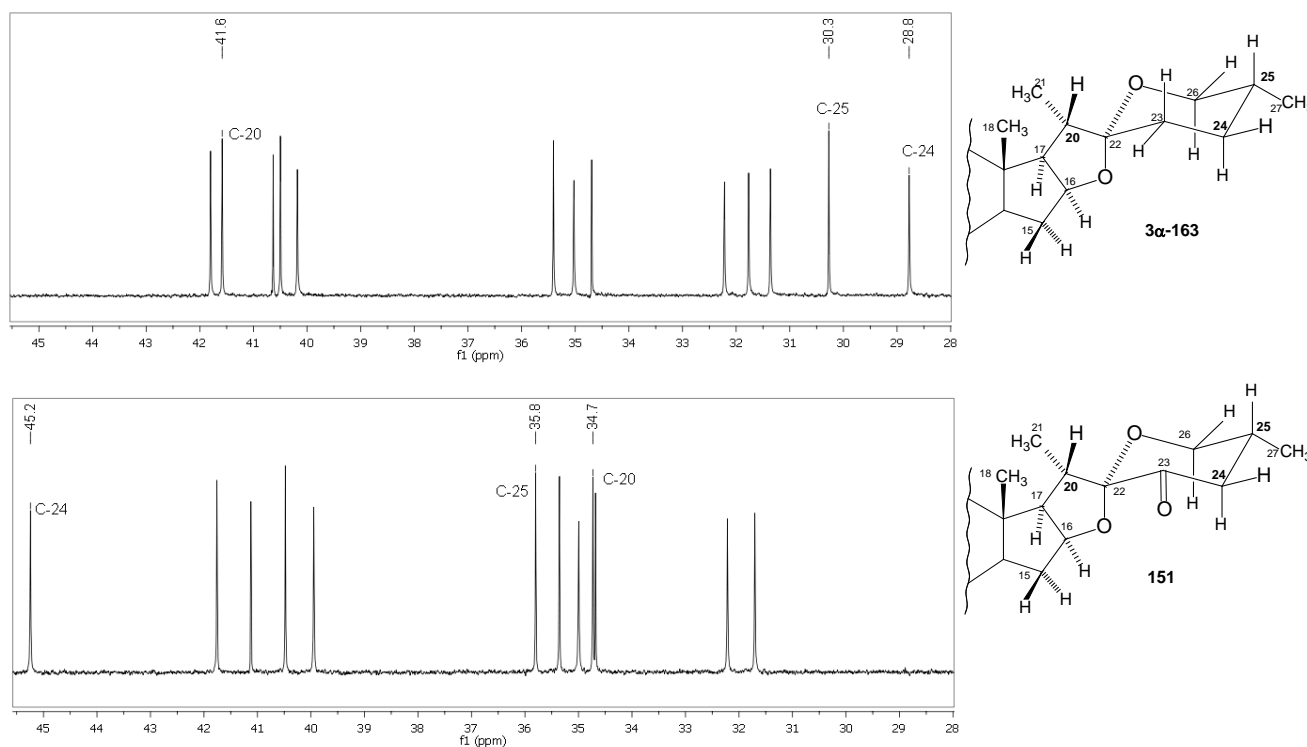
Blunt y Stother además de describir los desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  de alrededor de 400 esteroides, aportaron un sistema de reglas que permite el cálculo de los desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  a partir de un valor base que caracteriza a un esqueleto en particular y adiciona el cambio positivo o negativo en el valor del desplazamiento inducido por los grupos unidos o cercanos.<sup>160</sup> Agrawal aportó una excelente revisión que comprende la asignación de los desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  de 66 sapogeninas esteroidales.<sup>26</sup> Algunos de los trabajos publicados por Iglesias-Arteaga y colaboradores acerca del tema, también establecen reglas para la sistematización de los efectos ejercidos por la funcionalización de la cadena lateral espiroestánica.<sup>157,158</sup> En consecuencia, tras una breve discusión introductoria de las características principales de la cadena lateral espiroestánica y los efectos ejercidos por la introducción de un grupo carbonilo en la posición C-23, la discusión se centrará en los cambios inducidos por la reagrupación del anillo E y F de las materias primas obtenidas.

### 5.2.2.1 Características de RMN de $^{13}\text{C}$ derivadas de la cadena lateral espiroestánica.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  de la cadena lateral tipo espiroestánica se caracteriza por la presencia de las señales desprotegidas correspondientes al carbono espirocetálico C-22 (109.2 ppm), C-16 (80.9 ppm) en el anillo E tetrahidrofuránico y C-26 (66.8 ppm) en el anillo F tetrahidropiránico. Además, las señales de C-17 (62.3 ppm) y C-20 (41.6 ppm) son características de esta agrupación.

La presencia del grupo carbonilo en C-23 produce la protección de C-20 (34.7 ppm), que puede atribuirse a una interacción  $\delta$ -syn entre la función carbonílica en C-23 y H-20 $\beta$ . La desprotección de C-24 (45.2 ppm) se debe a la presencia, en posición  $\alpha$ , del grupo carbonilo en C-23, mientras que la desprotección de C-25 (35.8 ppm) es el resultado de la pérdida de la interacción  $\gamma$ -diaxial entre H-25 axial y H-23 axial presente en el compuesto **3 $\alpha$ -163** y ausente en **151** (Figura 29 y Tabla 22).

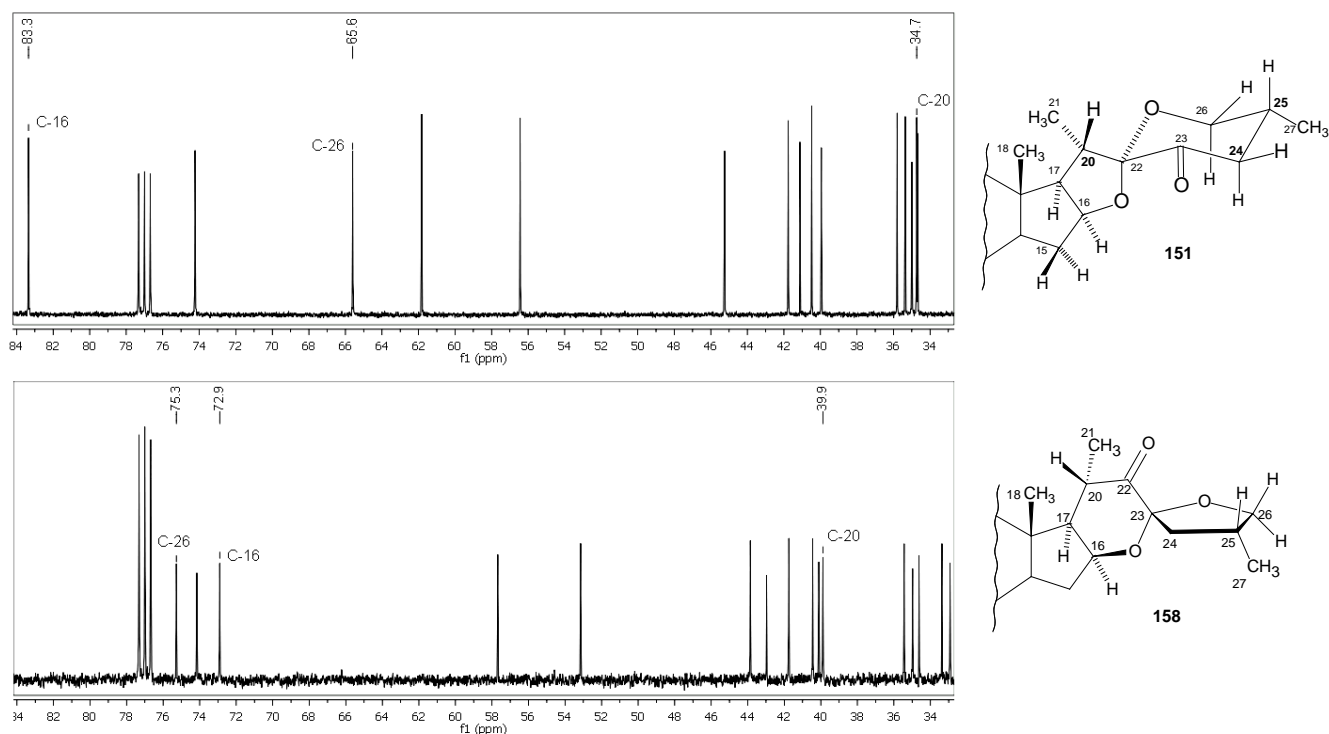




**Figura 29. Espectros de  $^{13}\text{C}$  de  $3\alpha\text{-163}$  y  $151$ .**

### 5.2.2.2 Características de RMN de $^{13}\text{C}$ derivadas de la cadena lateral tipo $16\beta,23:23,26\text{-diepoxicolestan-22-ona}$ .

Además de los efectos esperados en las posiciones C-22 (desprotección) y C-23 (protección), la conversión de la cadena 23-oxoespirostánica en la agrupación  $16\beta,23:23,26\text{-diepoxi-22-ona}$  produce cambios significativos en las señales de otros núcleos de  $^{13}\text{C}$  de la cadena lateral. La transformación del anillo E en un anillo de seis miembros origina una interacción 1,3 diaxial entre el O-26 y el H-16 que provoca un fuerte efecto de protección en C-16. Este reordenamiento implica también la transformación del anillo F en un anillo de cinco miembros que conduce a la pérdida de la interacción 1,3-diaxial entre O-16 y H-26 *Pro-R*, que justifica la desprotección de C-26. Además, la desprotección observada en C-20 corresponde claramente al efecto de la función carbonílica en C-22 (**Figura 30**). La **Tabla 22** muestra las señales de  $^{13}\text{C}$  de los derivados **151** y **158**.

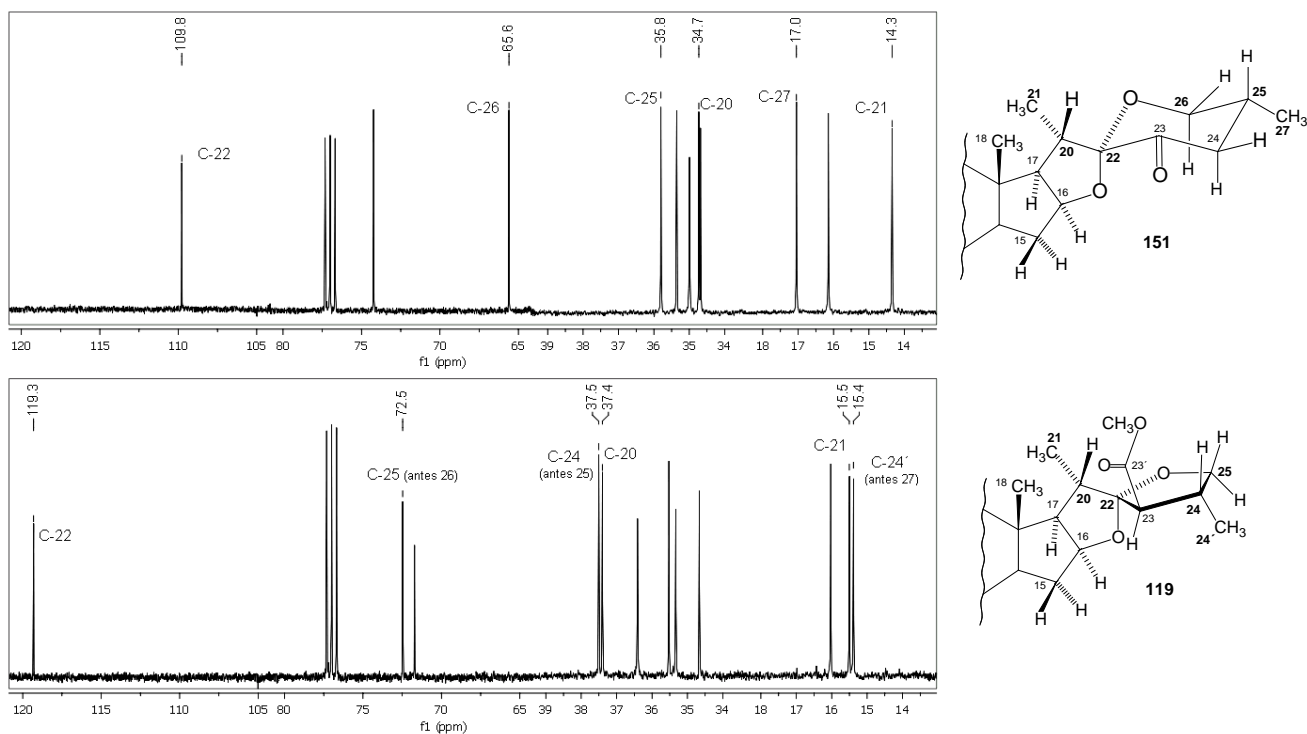


**Figura 30.** Espectros de <sup>13</sup>C de **151** y **158**.

### 5.2.2.3 Características de RMN de <sup>13</sup>C derivadas de la cadena lateral 23-carboximetilfuroespiroestánica.

En general, la conversión del anillo F a un ciclo de cinco miembros origina la desprotección de C-25 (antes C-26 en los compuestos **3α-163** y **151**) que ahora se observa entre 71.8 y 72.5 ppm como resultado de la pérdida de la protección proporcionada por las interacciones 1,3-diaxiales presentes en los anillos F de seis miembros de los compuestos **3α-163** y **151**. Además, la cadena lateral del tipo furoespiroestánica de los compuestos **167**, **23S-160**, **119** y **168**, se caracteriza por la presencia de señales desprotegidas correspondientes al carbono espirocetálico C-22 entre 119 y 120 ppm (**Figura 31** y **Tabla 22**).

En particular, los espectros de <sup>13</sup>C de los compuestos **167** y **119** se caracterizan por la presencia de las señales correspondientes a C-23 alrededor de 59.7 ppm y las correspondientes al grupo carboximetilo exocíclico C-23' en 170 ppm (C=O) y 51.8 ppm (OCH<sub>3</sub>). La contracción del anillo F también produce un ligero desplazamiento a campo alto de C-24' (antes C-27 en el compuesto **151**), así como el desplazamiento a campo bajo de las señales de C-20, C-21 y C-24 (antes C-25 en el compuesto **151**) (**Figura 31** y **Tabla 22**).



**Figura 31. Espectros de  $^{13}\text{C}$  de 119 y 151.**

Como era de esperarse, la reducción del éster produce la protección de las señales de C-23 y C-23'. Los cambios de desplazamientos en otros núcleos de carbono pueden atribuirse a los cambios conformacionales y en los efectos de anisotropía magnética asociados a la conversión del carboximetilo a hidroximetilo. Por último, la acetilación del hidroxilo unido a C-23 provoca la desprotección de la señal de C-23' y la protección de C-23 (**Tabla 22**).

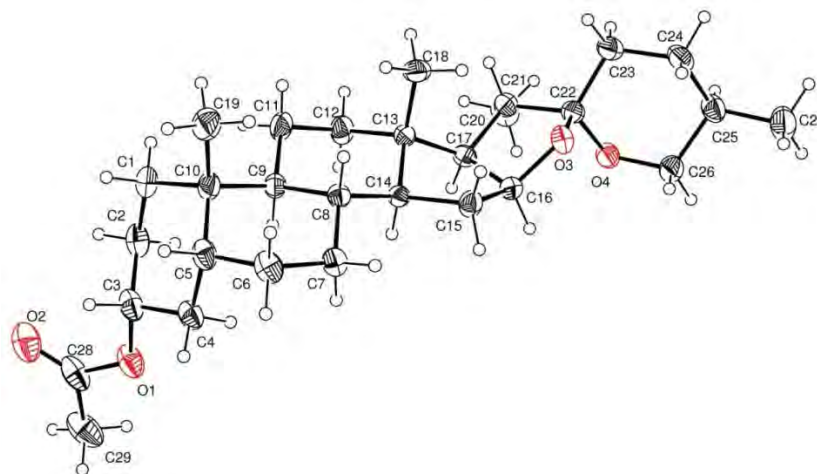
En la **Tabla 22** se muestran los valores del desplazamiento de los carbonos de la cadena lateral de los compuestos **167**, **23S-160**, **3 $\alpha$ -163**, **151**, **119** y **168**.

Tabla 22. Desplazamiento químicos de $^{13}\text{C}$ de los compuestos 158, 167, 23S-160, 3 $\alpha$ -163, 151, 119 y 168.								
C	3 $\alpha$ -163	151 <sup>a</sup>	158 <sup>b</sup>	C	119 <sup>b</sup>	167	168 <sup>c</sup>	23S-160 <sup>d</sup>
1	35.0	35.0	34.9	1	35.3	35.0	35.3	35.0
2	26.6	26.6	26.5	2	30.5	26.5	30.5	26.5
3	74.3	74.2	74.1	3	71.7	74.2	71.8	74.2
4	32.2	32.2	32.9	4	36.4	32.2	36.4	32.2
5	41.8	41.8	41.7	5	42.0	41.8	42.0	41.7
6	26.9	26.9	26.5	6	27.1	26.9	27.1	26.8
7	26.6	26.5	26.8	7	26.6	26.5	26.7	26.5
8	35.4	35.4	35.4	8	35.5	35.5	35.5	35.4
9	40.5	40.5	40.4	9	40.5	40.4	40.5	40.4
10	34.7	34.7	34.6	10	34.7	34.7	34.7	34.7
11	20.6	20.5	20.6	11	20.5	20.5	20.6	20.5
12	40.2	40.0	40.1	12	40.0	39.9	40.1	40.0
13	40.6	41.1	42.9	13	41.1	41.1	41.2	41.2
14	56.3	56.4	53.1	14	56.2	56.2	56.2	56.2
15	31.8	31.7	32.1	15	31.8	31.8	31.9	31.8
16	80.9	83.4 (+2.5)	72.9 (-10.5)	16	81.4 (-2.0)	81.4	81.0 (-0.4)	81.0
17	62.3	61.8 (-0.5)	57.6 (-4.2)	17	62.7 (+0.9)	62.7	62.9 (+0.2)	62.9
18	16.4	16.1 (-0.3)	14.7 (-1.4)	18	16.0 (-0.1)	16.0	16.4 (+0.4)	16.4
19	23.3	23.3	23.3	19	23.3	23.3	23.4	23.3
20	41.6	34.7 (-6.9)	39.9 (+5.2)	20	37.4 (+2.7)	37.4	35.8 (-1.6)	35.8
21	14.5	14.4 (-0.1)	12.9 (-1.5)	21	15.5 (+1.1)	15.5	16.2 (+0.7)	16.1 (-0.1)
22	109.2	109.8 (+0.6)	213.1 (+103.3)	22	119.3 (+9.5)	119.3	120.2 (+0.9)	119.7 (-0.5)
23	31.4	201.8 (+170.4)	107.9 (-93.9)	23	59.7 (-142.1)	59.6	55.7 (-3.9)	52.5 (-3.2)
24	28.8	45.2 (+16.4)	43.8 (-1.4)	23'	172.5	172.4	62.5 (-109.9)	63.6 (+1.1)
25	30.3	35.8 (+5.5)	33.3 (-2.5)	24	37.5 (+1.7)	37.5	36.9 (-0.6)	37.5 (+0.6)
26	66.8	65.6 (-1.2)	75.2 (+9.6)	25	72.5 (+6.9)	72.5	72.2 (-0.3)	71.8 (-0.4)
27	17.1	17.1	16.4 (-0.7)	24'	15.4 (-1.7)	15.4	16.3 (+0.9)	15.6 (-0.7)
<u>CH<sub>3</sub>COO-3</u>	170.6	170.5	170.6 (+0.1)	<u>CH<sub>3</sub>COO-3</u>	-	170.5	-	170.6
<u>CH<sub>3</sub>COO-3</u>	21.4	21.4	21.4	<u>CH<sub>3</sub>COO-3</u>	-	21.4	-	21.5
				<u>CH<sub>3</sub>O-23'</u>	51.8	51.8	-	-
				<u>CH<sub>3</sub>COO-23'</u>	-	-	-	171.0
				<u>CH<sub>3</sub>COO-23'</u>	-	-	-	20.9

<sup>a</sup> Entre paréntesis:  $\delta$  ppm asociados a los cambios de la cadena lateral utilizando al 3 $\alpha$ -163 como referencia.  
<sup>b</sup> Entre paréntesis:  $\delta$  ppm asociados a los cambios de la cadena lateral utilizando al 151 como referencia.  
<sup>c</sup> Entre paréntesis:  $\delta$  ppm asociados a los cambios de la cadena lateral utilizando al 119 como referencia.  
<sup>d</sup> Entre paréntesis:  $\delta$  ppm asociados a los cambios de la cadena lateral utilizando al 168 como referencia

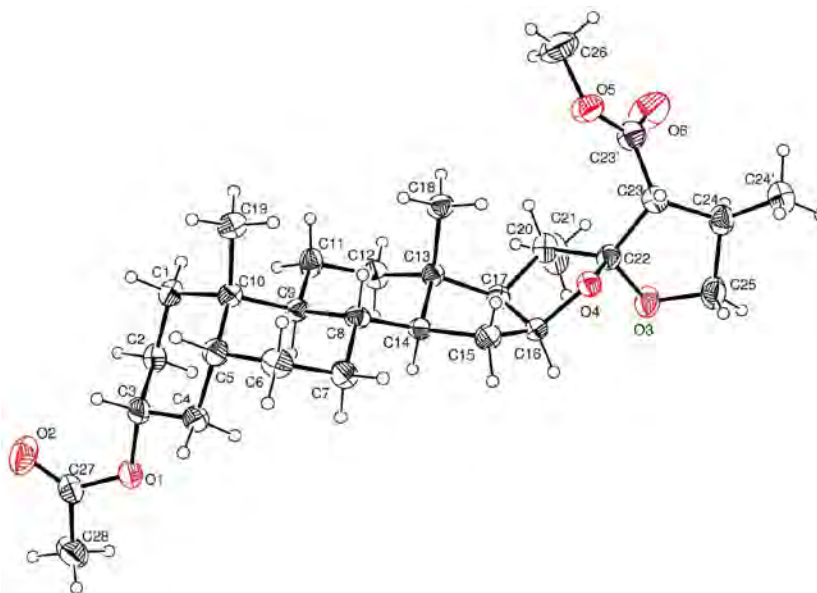
### 5.2.3 Estructuras confirmadas mediante Difracción de Rayos X.

La estructura de **3 $\alpha$ -163** asignada mediante RMN fue confirmada con los estudios de difracción de rayos X del monocristal obtenido de la cristalización en acetona (**Figura 32**).



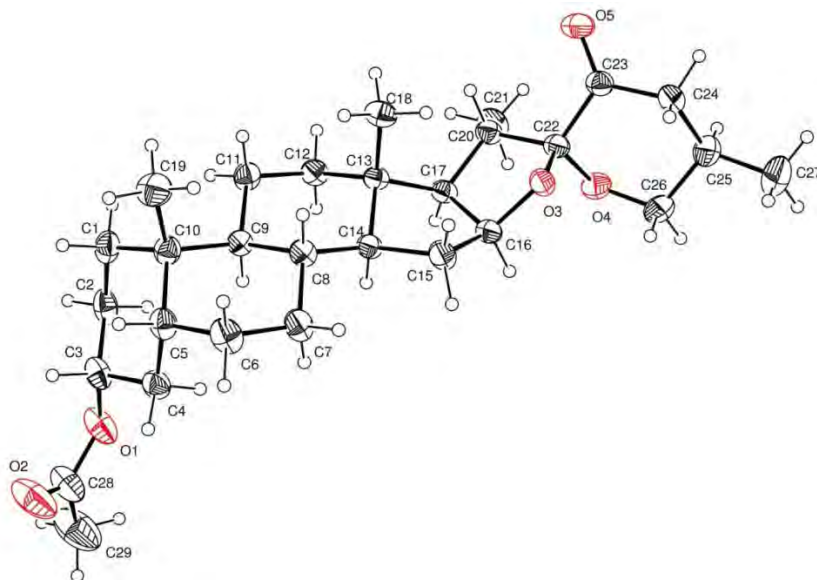
**Figura 32.** Estructura cristalina del compuesto **3 $\alpha$ -163** con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.

La estructura de **167** asignada mediante RMN fue confirmada con los estudios de difracción de rayos X del monocristal obtenido de la cristalización en una mezcla de disolventes hexano/acetato de etilo 10:1. (**Figura 33**)



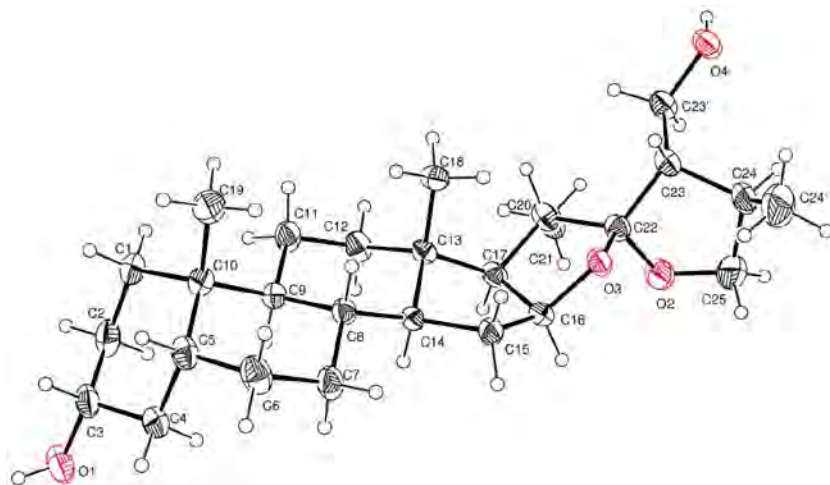
**Figura 33.** Estructura cristalina del compuesto **167** con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.

La estructura de **151** asignada mediante RMN fue confirmada con los estudios de difracción de rayos X del monocristal obtenido de la cristalización en acetato de etilo (**Figura 34**).



**Figura 34.** Estructura cristalina del compuesto **151** con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.

La estructura de **168** asignada mediante RMN fue confirmada con los estudios de difracción de rayos X del monocristal obtenido de la cristalización en acetona (**Figura 35**).



**Figura 35.** Estructura cristalina del compuesto **168** con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.

**CAPITULO 6**  
**REACTIVIDAD DE DERIVADOS**  
**CON CADENA LATERAL TIPO**  
**16 $\beta$ ,23:23,26-DIEPOXICOLESTAN-22-ONA**



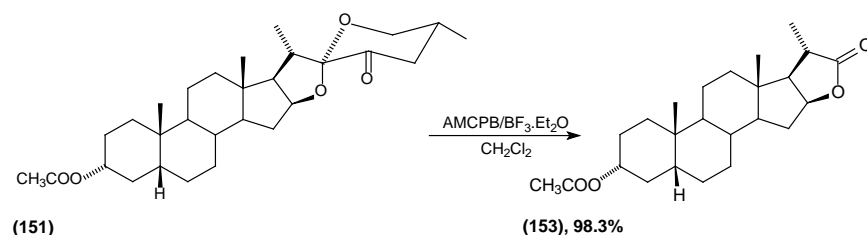


## 6. REACTIVIDAD DE DERIVADOS CON CADENA LATERAL TIPO 16 $\beta$ ,23:23,26-DIEPOXICOLESTAN-22-ONA

### 6.1 Oxidación de Baeyer-Villiger.

#### 6.1.1 Experimentos en la serie 25R.

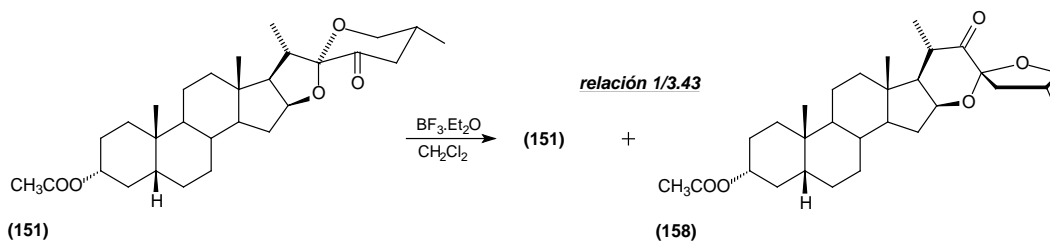
Como se mencionó con anterioridad, el tratamiento de 23-oxosapogeninas con AMCPB en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> produce lactonas dinorcolánicas en tiempos prolongados de reacción y con bajos rendimientos (**Esquema 42 y Tabla 1**).<sup>119,120</sup> Por el contrario, el tratamiento del acetato de 23-oxo-*epi*-esmilagenina (**151**) con AMCPB y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> produce la lactona dinorcolánica (**153**) con un rendimiento del 98.3% en sólo 10 minutos (**Esquema 49**).



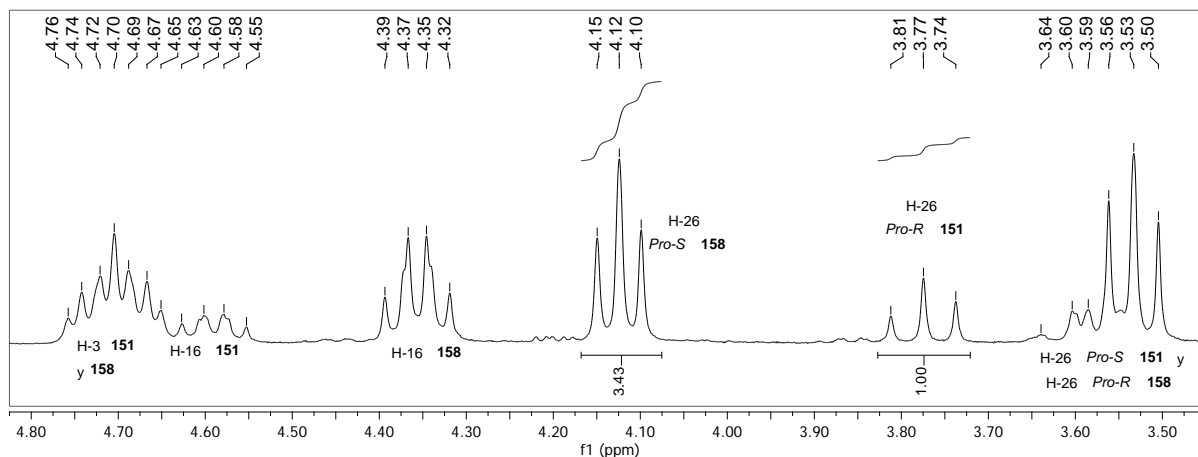
#### Esquema 49. Reacción de Baeyer-Villiger de **151**.

Los resultados de la reacción de BV catalizada con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O del derivado **151** pueden ser explicados por el mismo mecanismo mostrado en el **Esquema 43**, donde la coordinación del BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O al carbonilo en C-23 cataliza el ataque del peroxiácido a esta posición conduciendo a la rápida producción del intermediario de Criegee **XIV**. Una vez que la transposición del ortoéster **XIV** ha ocurrido, el BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O cataliza rápidamente la formación de la lactona **153** y la 3-metilbutirolactona (**157**) (cuya formación fue confirmada por CG-EM), evitando el segundo ataque nucleofílico del peroxiácido y evitando, en consecuencia, la formación del carbonato cíclico **155**.

Las placas de CCD mostraron que después de cinco minutos de reacción, en la mezcla se encontraban el material de partida **151**, la lactona **153** más polar y un producto adicional con polaridad intermedia que desaparece cuando el material de partida se consume. Un experimento blanco en el que **151** fue tratado solo con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, durante 10 minutos, produjo una mezcla 1/3.43 de la materia prima **151** y el producto antes mencionado identificado como la cetona **158** (**Esquema 50 y Figura 36**). Cuando la mezcla de **151**, **158** y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O se deja toda la noche se produce una mezcla compleja de los compuestos **151**, **153** y **158**.



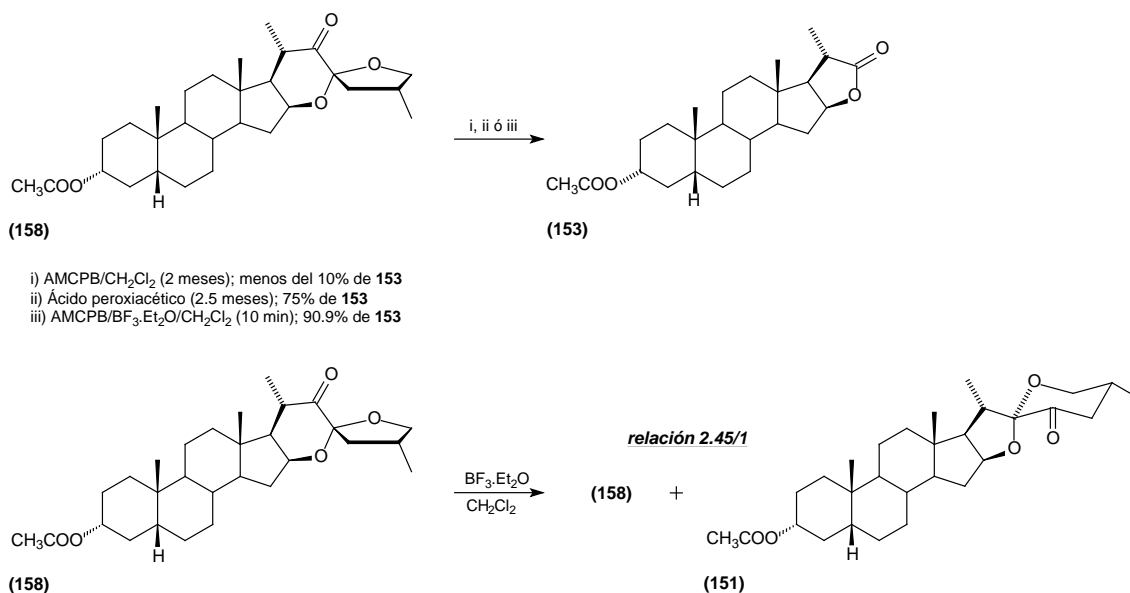
**Esquema 50. Isomerización de la cadena lateral esteroestánica a la cadena lateral tipo 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestano-22-ona.**



**Figura 36. Integración relativa 3.43:1 de las señales de H-26 *Pro-S* (158) y H-26 *Pro-R* (151).**

Se ha descrito que la formación de 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestano-22-onas procede mediante una transposición de alta estereoselectividad (el carbono del nuevo sistema espiro sólo se forma con la configuración *R*). Esta reacción, inicialmente descrita por Suárez (usando  $\text{TiCl}_4$ ),<sup>113</sup> también procede bajo catálisis con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en ácido fórmico o THF.<sup>114,115</sup>

Con base en los resultados anteriores, se investigó la reacción de Baeyer-Villiger de la cetona **158** bajo las mismas condiciones que las exploradas para **151**, encontrando que **158** es inerte al tratamiento con AMCPB, que al hacer reaccionar a **158** con ácido peroxiacético produce la lactona **153** (2.5 meses, 75% de rendimiento) y que el tratamiento de **158** con AMCPB y  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  produce también la lactona **153** (10 minutos, 90.9% de rendimiento). Además, se observó que al adicionar  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  a una disolución de **158** en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se forma una mezcla 2.45/1 de **158** y **151** (Esquema 51).

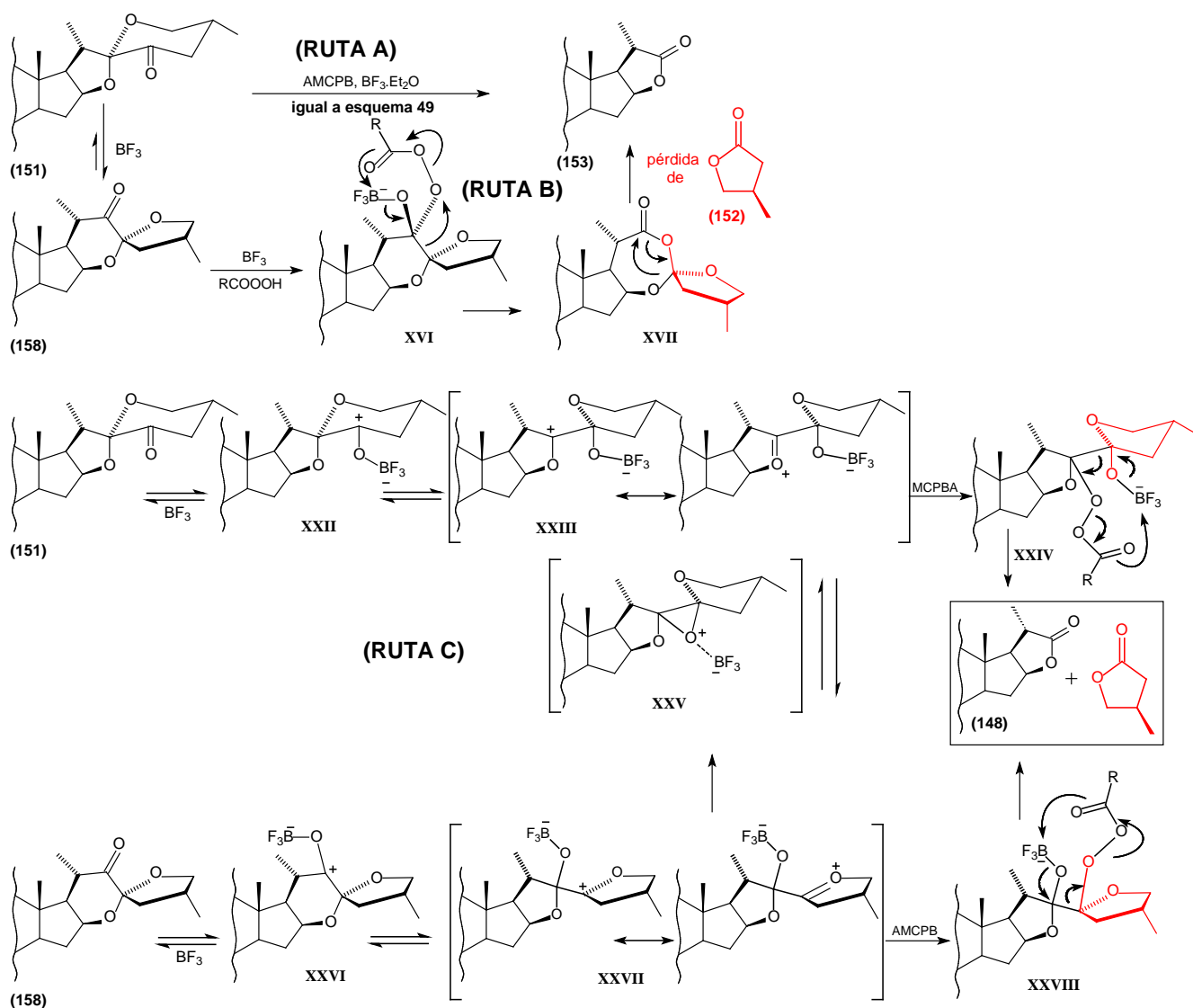


### Esquema 51. Reacción de Baeyer-Villiger de la cadena tipo 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona e Isomerización a la cadena espiroestánica

La poca reactividad de **158** frente a la reacción de Baeyer-Villiger con AMCPB puede explicarse si se toma en cuenta que la aproximación del peroxiácido hacia C-22 está fuertemente impedida por el anillo-F unido a C-23 y por los grupos metilos 18 y 21 ubicados respectivamente en la cara  $\beta$  y  $\alpha$  del esqueleto esteroidal.

Los resultados obtenidos de la reacción de **158** catalizada con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O pueden ser explicados por un mecanismo que implica la formación del intermediario de Criegee **XVI** y el ortoéster **XVII** (**Esquema 52, ruta B**). Sin embargo, si se considera el fuerte impedimento estérico alrededor de C-22, y que el BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O cataliza la interconversión de **151** y **158**, es más razonable asumir que la reacción de **158** sigue la **ruta A** en la que **158** se convierte al derivado 23-oxoespiroestánico **151**, que es más accesible al ataque del peroxiácido y que rápidamente se convierte en la lactona **153**, desplazando el equilibrio **158**  $\rightleftharpoons$  **151** hacia **151** hasta que **158** está completamente consumido (**Esquema 52**).

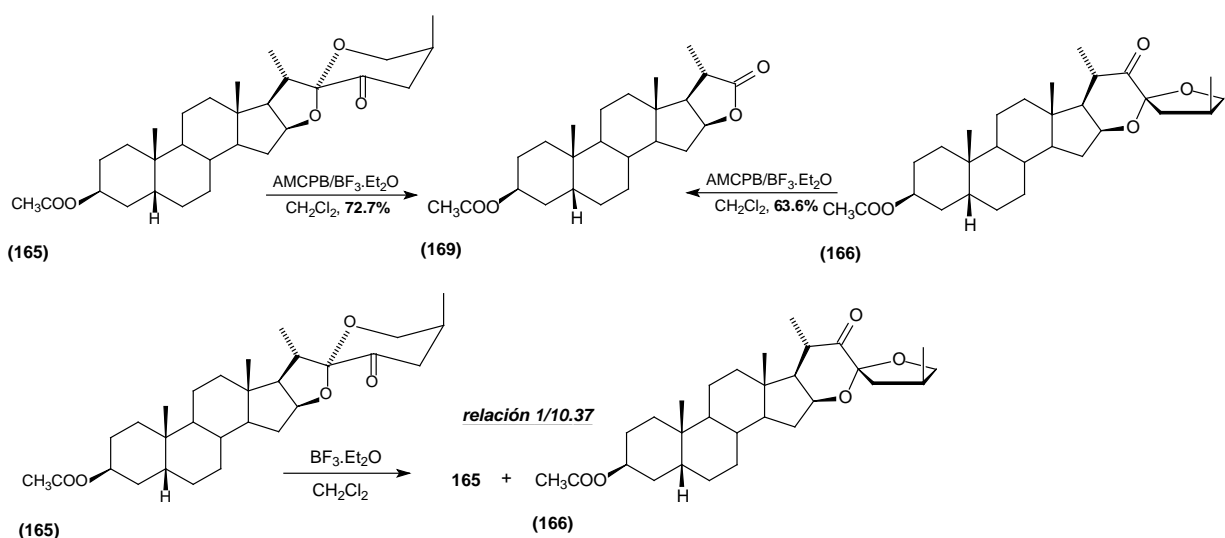
Alternativamente los intermediarios **XXIII** y **XXVII**, involucrados en el equilibrio **158**  $\rightleftharpoons$  **151**, pueden recibir el ataque nucleofílico del peroxiácido formando **XXIV** y **XVIII** respectivamente que se transponen para formar la lactona **153** (**Esquema 52, ruta C**).



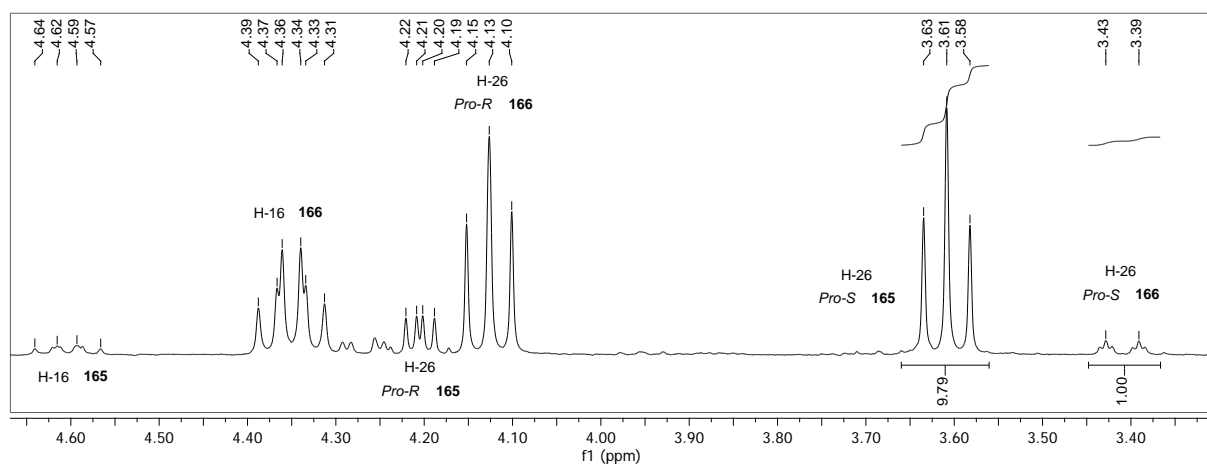
Esquema 52. Mecanismo de la reacción de Baeyer-Villiger en cetonas de la serie 25R.

### 6.1.2 Experimentos en la serie 25S.

Las reacciones de Baeyer-Villiger catalizadas con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O del acetato de 23-oxo-sarsasapogenina **165** y de la cetona reordenada **166** produjeron la lactona dinorcolánica **169** con rendimientos del 72.7% y 63.6%, respectivamente (Esquema 53). Tal como se describe para **151**, un experimento blanco, donde **165** fue tratado únicamente con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O durante 10 minutos, produjo una mezcla 1/10.37 de **165** y **166** (Figura 37). El mismo tratamiento con **166** dio lugar a una mezcla 1/9.79 de **165** y **166**.



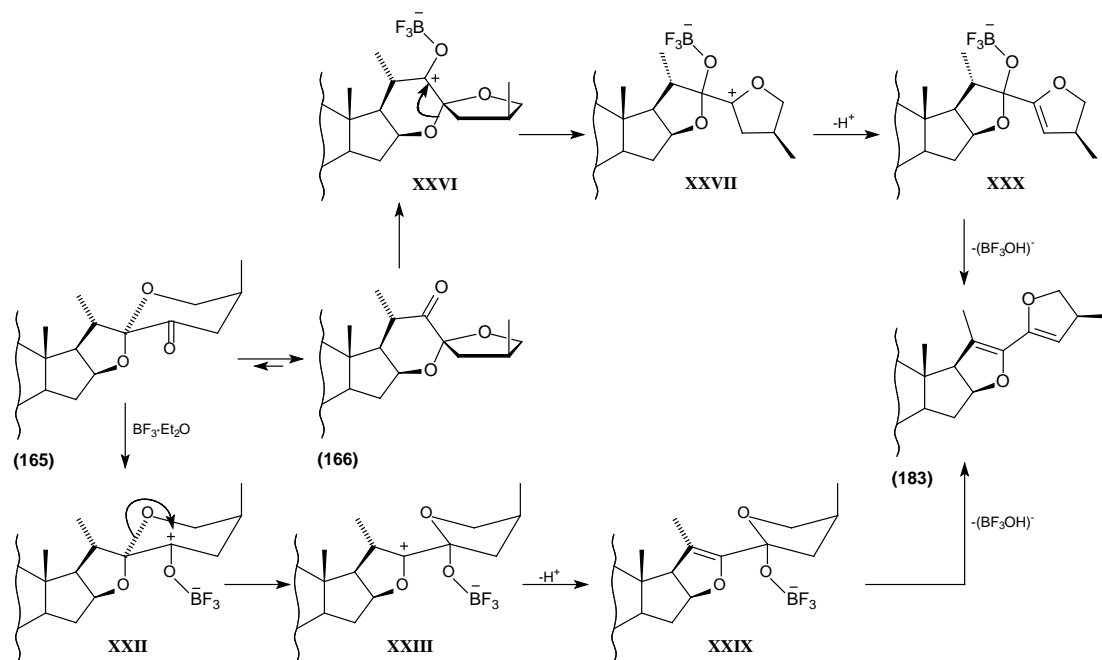
**Esquema 53. Reacción de Baeyer-Villiger en cetonas de la serie 25S.**



**Figura 37. Integración relativa 9.79:1 de las señales de H-26 *Pro-S* (165) y H-26 *Pro-S* (166).**

Se observa que los rendimientos de la lactona dinorcolánica **169** de la serie 25S son considerablemente más bajos cuando se compara con su lactona análoga **153** proveniente de las cetonas de la serie 25R (**158** ó **151**), lo que implica que la interconversión de las cetonas isoméricas de la serie 25S esta significativamente desplazada hacia la 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona (**166**) menos reactiva. Esto probablemente debido al impedimento estérico del grupo metilo unido a C-25, que se convierte en axial como resultado de la transformación, lo que justifica el menor rendimiento de formación de la lactona **169** observado en esta serie.

Adicionalmente, se sabe que el tratamiento de 23-oxosapogeninas con triflato de trimetilsililo forma dienos reordenados como **183**.<sup>111</sup> Por consiguiente, es posible que estos dienos se puedan obtener como productos minoritarios de las reacciones catalizadas con  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  ya que pueden ocurrir reacciones de eliminación en los intermediarios los **XXIII** y **XXVII** y que reaccionen con el perácido presente en el medio (**Esquema 54**).

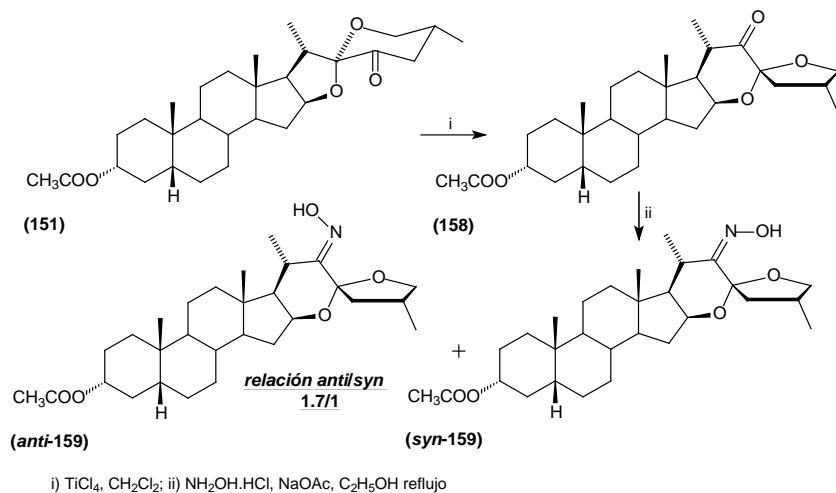


**Esquema 54. Formación del producto de eliminación 183.**

Debido a que en la serie *25S* la transposición de la cetona no reactiva (**166**), a la cetona reactiva (**165**) es aparentemente más lenta que en la serie *25R* y que es posible la formación de productos secundarios provenientes de la eliminación, es razonable que el rendimiento de la reacción de BV en la serie *25S* sea más bajo que en la serie *25R*.

## 6.2 Transposición de Beckmann.

La reacción del acetato de 23-oxo-3-*epi*-esmilagenina (**151**) con  $\text{TiCl}_4$  en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>113</sup> conduce a la formación de la cetona **158**,<sup>161</sup> que al ser tratada con clorhidrato de hidroxilamina y acetato de sodio en etanol a reflujo durante 4 horas produce una mezcla de las oximas *anti*-**159** y *syn*-**159**, con rendimientos del 57.4% y 34.6%, respectivamente (Esquema 55).



### Esquema 55. Síntesis de oximas.

Una metodología de asignación de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  similar a la descrita para la cetona **158** (Tabla 16, Figuras 23 y 24)<sup>161</sup> permite la asignación de las señales de la cadena lateral de las oximas *syn*-**159** y *anti*-**159** (Figura 38 y Tabla 23).

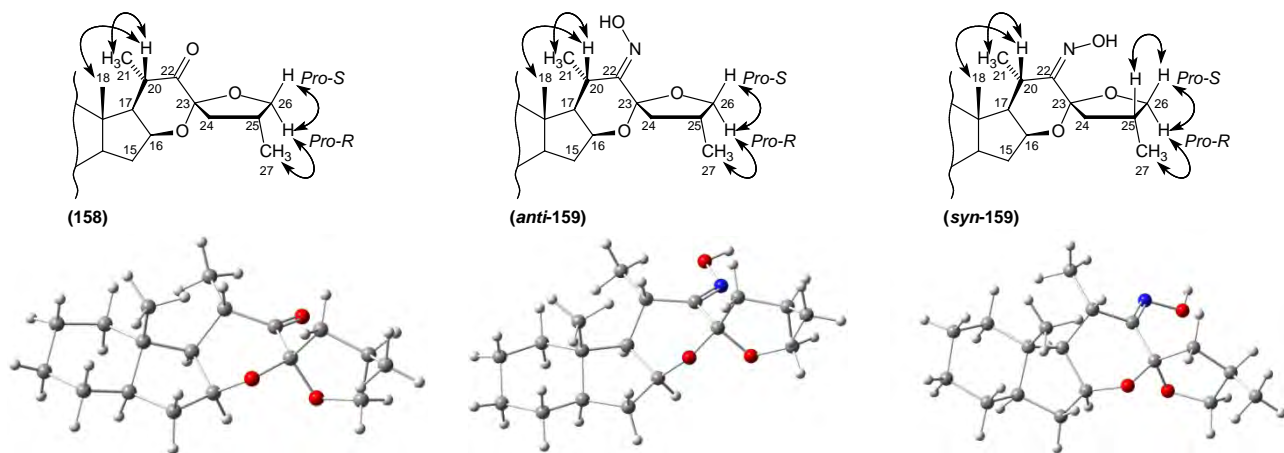


Figura 38. Correlaciones NOE seleccionadas y estructuras de las cadenas laterales de los derivados **158**, *anti*-**159** y *syn*-**159**.

De acuerdo con reportes previos,<sup>158,162</sup> la diferenciación de las oximas isoméricas *anti* y *syn* derivadas de cetonas no simétricas se realiza basándose en el hecho de que los protones ubicados en la posición *syn* respecto al grupo hidroxilo de la agrupación hidroxilimino se encuentran desprotegidos debido a la compresión estérica ejercida por el grupo hidroxilo, este efecto también provoca la protección del átomo de carbono ubicado en la posición *syn*. La desprotección de H-20 y H-21 así como la protección de C-20 y C-21 en ***anti*-159** son consecuencia de la compresión estérica ejercida por el grupo hidroxilo de la oxima sobre H-20 y H-21 debido a las interacciones  $\gamma$ - y  $\delta$ - *syn* (Tabla 23).

Tabla 23. Desplazamientos químicos de <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de 158, <i>anti</i> -159 y <i>syn</i> -159.								
	H-16	C-16	H-18	C-18	H-20	C-20	H-21	C-21
<b>158</b>	4.35 (ddd)	72.9	0.94 (s)	14.3	2.79 (m)	39.9	1.07 (d)	12.9
<b><i>anti</i>-159</b>	4.62 (ddd)	69.7	0.68 (s)	13.1	3.37 (m)	24.5	1.32 (d)	20.8
<b><i>syn</i>-159</b>	4.28 (ddd)	72.3	0.86 (s)	14.4	2.52 (m)	33.2	1.15 (d)	14.7

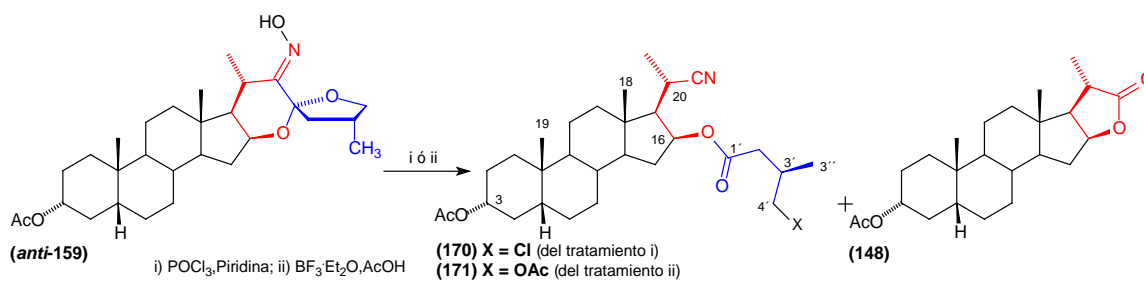
	C-22	H-25	C-25	H-26 <i>Pro-R</i>	H-26 <i>Pro-S</i>	C-26	H-27	C-27
<b>158</b>	213.1	2.40 (m)	33.3	3.52 (dd)	4.12 (dd)	75.2	1.03 (d)	16.4
<b><i>anti</i>-159</b>	159.0	2.33 (m)	32.6	3.48 (dd)	4.04 (dd)	74.7	1.06 (d)	17.8
<b><i>syn</i>-159</b>	160.4	2.55 (m)	33.1	3.54 (dd)	4.19 (dd)	74.3	1.04 (d)	17.9

### 6.2.1 Transposición de Beckmann de *anti*-159.

Cuando ***anti*-159** fue tratada con POCl<sub>3</sub> en piridina a temperatura ambiente se obtuvo el nitrilo clorado **170** como único producto. Por otra parte, el tratamiento de ***anti*-159** con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O en ácido acético a temperatura ambiente produjo una mezcla del nitrilo acetoxilado **171** y la lactona dinorcolánica **153** (Tabla 24 y Esquema 56). Ambos nitrilos pueden ser reconocidos por sus espectros de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C (Tabla 25).

Tabla 24. Transposición de Beckmann de <i>anti</i> -159.		
Producto	POCl <sub>3</sub> /piridina	BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O/AcOH
Nitrilo Clorado 170	85.7 %	-
Nitrilo Acetoxilado 171	-	73.2 %
Lactona Dinorcolánica 153	-	9.8 %





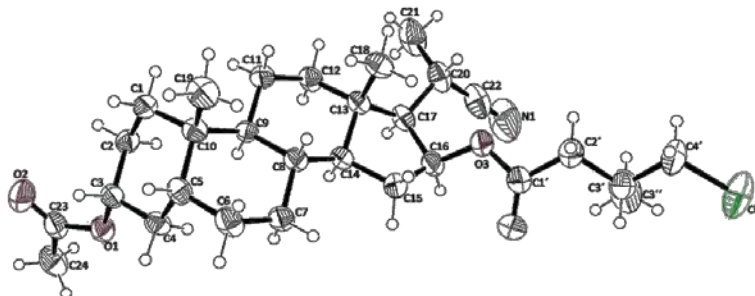
**Esquema 56. Transposición de Beckmann de *anti*-159.**

Tabla 25. Desplazamientos químicos fundamentales de $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ de los nitrilos <b>170</b> y <b>171</b> .								
	H-16	C-16	H-18	C-18	H-20	C-20	H-21	C-21
<b>Nitrilo Clorado 170</b>	5.27 (ddd)	74.8	0.86 (s)	12.9	2.91 (m)	23.0	1.40 (d)	17.4
<b>Nitrilo Acetoxilado 171</b>	5.26 (ddd)	74.7	0.84 (s)	12.9	2.89 (m)	22.9	1.38 (d)	17.5

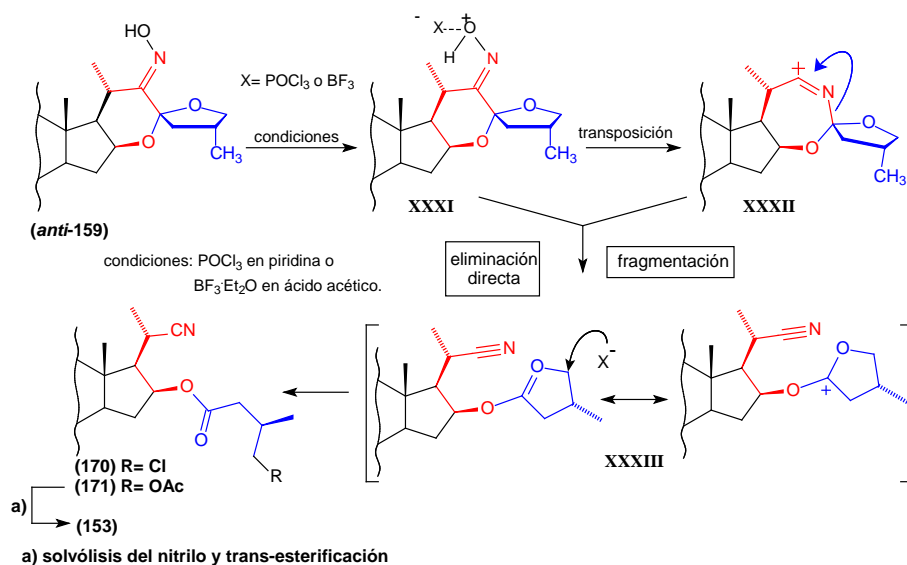
	C-22	C-1'	C-3''	H-3''	H-4'	C-4'
<b>Nitrilo Clorado 170</b>	122.8	171.3	17.9	1.09 (d)	3.59 (dd)	3.50 (dd)
<b>Nitrilo Acetoxilado 171</b>	122.7	171.4	16.7	1.00 (d)	3.99 (dd)	3.89 (dd)

El nitrilo **170** cristalizó en acetato de etilo, lo que permitió realizar estudios cristalográficos que confirmaron la estructura propuesta por RMN (**Figura 39**).



**Figura 39. Estructura cristalina del nitrilo clorado 170 con elipsoides térmicos dibujados al 30% de probabilidad.**

Como se muestra en el **Esquema 45**, cuando un grupo capaz de estabilizar una carga positiva está localizado en posición  $\alpha$  a la función hidroxiiiminio, el curso preferido es la fragmentación de Beckmann, que involucra la ruptura del enlace C-C situado en posición antiperiplanar respecto al enlace N-OH. En este caso particular, el enlace C-22–C-23 es el que cumple esta condición y su ruptura puede seguir la ruta **XXXI**→**XXXII**→**XXXIII** (migración-fragmentación) o la ruta **XXXI**→**XXXIII** (eliminación directa). En este punto, el ataque nucleofílico a C-4' en **XXXIII** conduce al nitrilo clorado **170** (tratamiento con  $\text{POCl}_3$ /piridina) o al nitrilo acetilado **171** (tratamiento con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ /AcOH). La solvólisis del nitrilo **171** producida por las condiciones ácidas debidas al tratamiento con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ /AcOH, seguida de una trans-esterificación da lugar a la lactona **153** (**Esquema 57**).



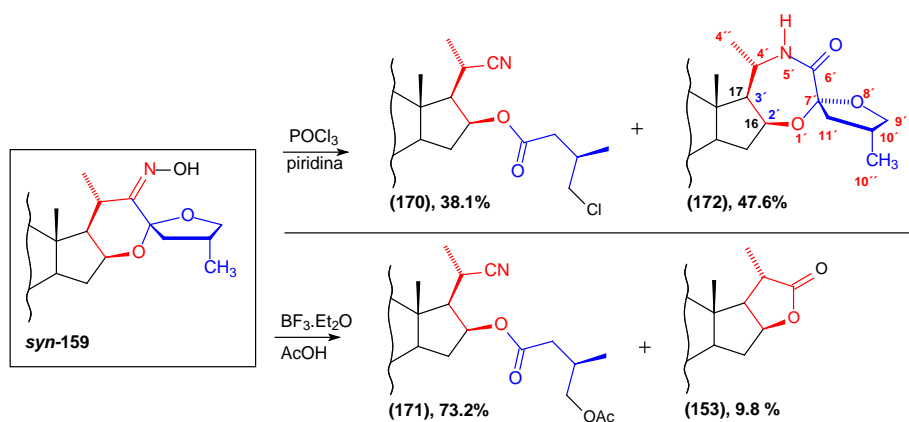
**Esquema 57. Mecanismo de la transposición de Beckmann de *anti*-159.**

### 6.2.2 Transposición de Beckmann de *syn*-159.

El tratamiento de *syn*-159 con POCl<sub>3</sub> en piridina, produce una mezcla de la amida **172** y el nitrilo **170**. Sorprendentemente la reacción de *syn*-159 con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O en AcOH produce una mezcla del nitrilo **171** y la lactona dinorcolánica **153** de la misma forma que *anti*-159 (Esquema 58).

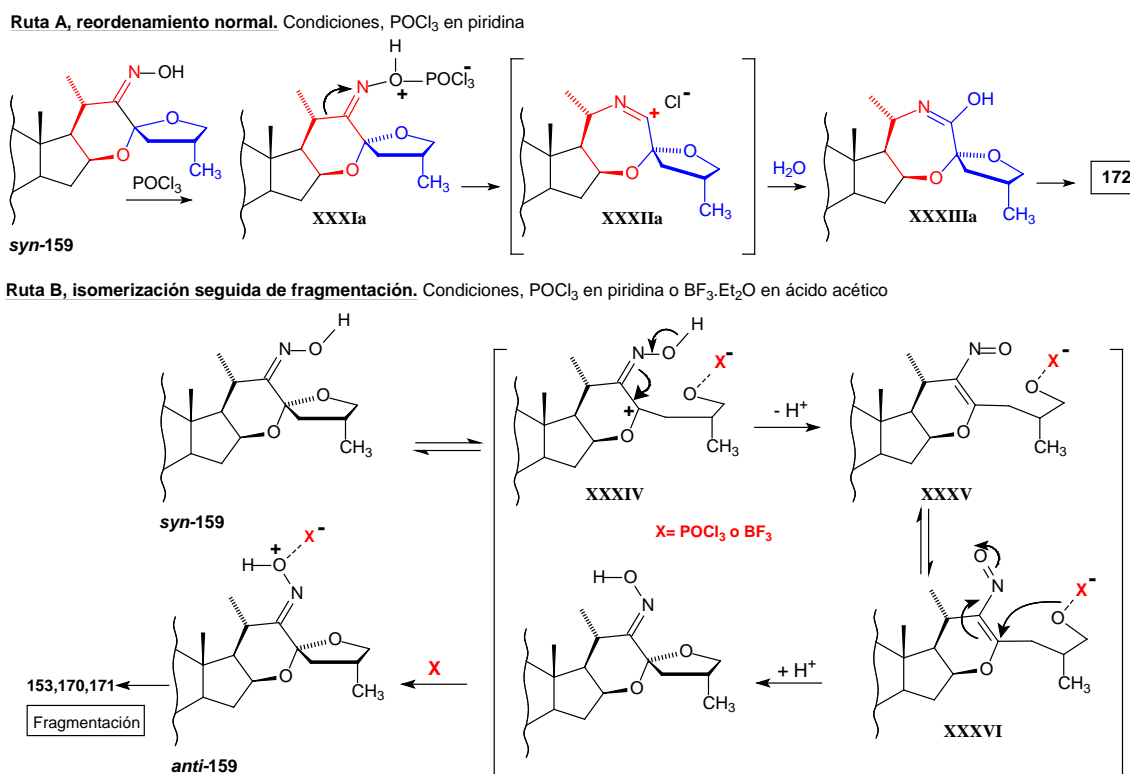
Como se describe para la cetona reordenada **158** y las oximas *anti*-159 y *syn*-159, los experimentos de RMN bidimensionales combinados permiten la asignación de los desplazamientos químicos de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de la cadena lateral de **172**. La amida heterocíclica **172** puede ser reconocida por las señales correspondientes al carbonilo C-6' (172.9 ppm), el carbono espiro C-7' (108.1 ppm), el C-4' (47.0 ppm), el H-4' (3.96 ppm) y el N-H (5.96 ppm), que desaparece al realizarse intercambio con D<sub>2</sub>O (Tabla 26).

Tabla 26. Señales características de RMN de la amida 172.			
C	δ ppm	H	δ ppm
C-2'	74.5	H-2'	4.32 ddd
C-18	13.3	H-18	0.82 s
C-4'	47.0	H-4'	3.96 m
C-4''	19.5	H-4''	1.21 d
C-6'	172.9	-	-
C-7'	108.1	-	-
C-10'	33.0	H-10'	2.45 m
C-9'	74.8	H-9'	4.17 dd/3.48 dd
C-10''	17.5	H-10''	1.05 d
-		N-H	5.96 d



### Esquema 58. Transposición de Beckmann de *syn*-159.

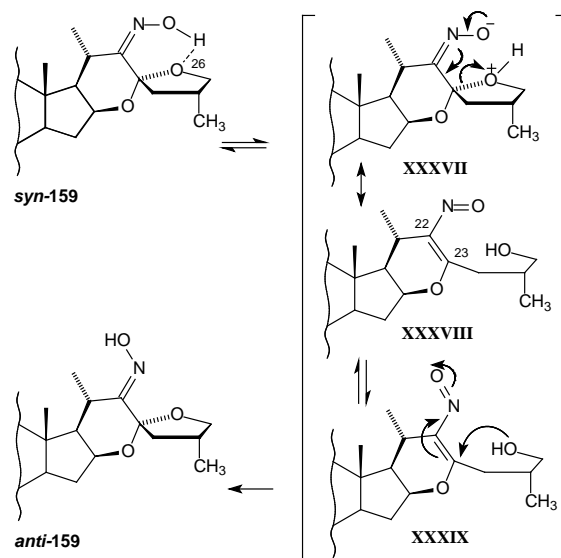
La amida **172** es resultado de la transposición normal de Beckmann de *syn*-159 (**Esquema 59, ruta A**), mientras que la obtención de **170** ( $\text{POCl}_3/\text{piridina}$ ), **171** y **153** ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}/\text{AcOH}$ ) puede ser explicada únicamente mediante la isomerización de *syn*-159 a *anti*-159 (**Esquema 59, ruta B**), seguida de la fragmentación de Beckmann mostrada en el **Esquema 57**.



### Esquema 59. Mecanismo de las transposiciones de Beckmann de *syn*-159.

Se demostró mediante RMN que, en solución, *syn*-159 se isomeriza lentamente a *anti*-159, sugiriendo un mecanismo en el que el protón de la función hidroxiiiminio migra a O-26 generando el nitroso compuesto

insaturado **XXXVIII**. La rotación del enlace C-22–N=O, seguida del tautomerismo nitroso-oxima (**XXXIX**) y el cierre del anillo-F, produce el isómero *anti*-**159** (**Esquema 60**).



**Esquema 60. Mecanismo de la isomerización de *syn*-159 a *anti*-159.**

Los resultados obtenidos indican que, mientras que el tratamiento de *anti*-**159** siempre produce la fragmentación de Beckmann, el isómero *syn*-**159** produce tanto la fragmentación, como la transposición o una mezcla de ambas, dependiendo de las condiciones de reacción. Debido a los grupos funcionales presentes en los nitrilos **170**, **171** y la amida **172**, estos compuestos pueden ser de utilidad para la síntesis de nuevos compuestos esteroideos. Además, la estructura de la amida **172** puede presentar propiedades biológicas interesantes.

**CAPITULO 7**  
**REACTIVIDAD DE**  
**FUROESPIROSTANOS 23-**  
**METOXICARBONÍLICOS**



## 7. REACTIVIDAD DE DERIVADOS DE FUROESPIROSTANOS 23-METOXICARBONÍLICOS

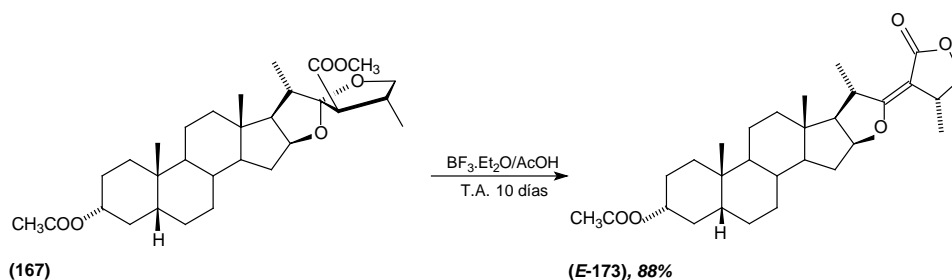
En la exploración de la reactividad de esteroides con cadenas laterales espirocetálicas se encontró que el tratamiento de 23-oxoespirostanos con DIB y KOH en metanol produce la contracción quasi-Favorskii del anillo F para formar 23-carboximetilfuroespirostanos (**Esquema 35**).<sup>125</sup>

Basándose en este antecedente se inició el estudio de la reactividad del derivado **167**. A continuación se presentan los resultados obtenidos del estudio de la reactividad de la cadena lateral 23-carboximetilfuroespiroestánica bajo catálisis con ácidos de Lewis y de Brønsted.

### 7.1 Reacciones catalizadas con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .

#### 7.1.1 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.

El tratamiento del furoespiroetano **167** con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en AcOH durante 10 días produjo la lactona insaturada **E-173** con un rendimiento del 88.0% (**Esquema 61**).



#### Esquema 61. Reacción de **167** con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.

La presencia del doble enlace conjugado en la lactona **E-173** se evidencia por las dos señales olefínicas en  $^{13}\text{C}$  que son diferenciadas y asignadas como C-22 y C-23 mediante un experimento HETCOR (con una  $J = 9 \text{ Hz}$ ) donde se observa la correlación de H-21 con C-22 y H-27 con C-23 corroborando la estructura propuesta para el éster insaturado **E-173**. Adicionalmente, el doblete que presenta H-21 descarta el regioisómero que contiene un doble enlace entre C-20 y C-22 en el que la ausencia del H-20 resultaría en que H-21 tuviera una multiplicidad de singulete. La presencia de la cadena lateral cíclica en **E-173** puede ser corroborada por los diferentes desplazamientos químicos y la multiplicidad dd del par de protones diasterotópicos unidos a C-25 así como por la diferentes correlaciones NOE (H-25 *Pro-S*  $\leftrightarrow$  H-24) y (H-25 *Pro-R*  $\leftrightarrow$  H-24'). El efecto NOE observado entre H-24' y H-16 $\alpha$  es posible únicamente en el isómero *E* por lo que comprueba la geometría propuesta para el doble enlace entre C-22 y C-23 (**Figura 40**).

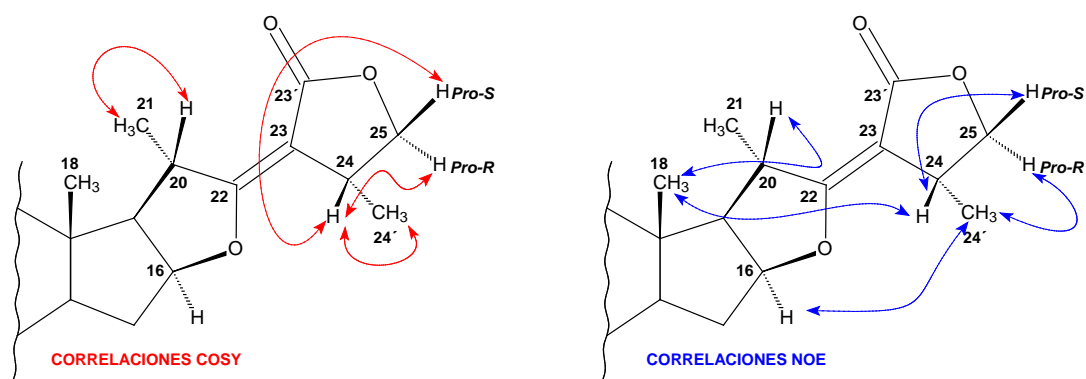
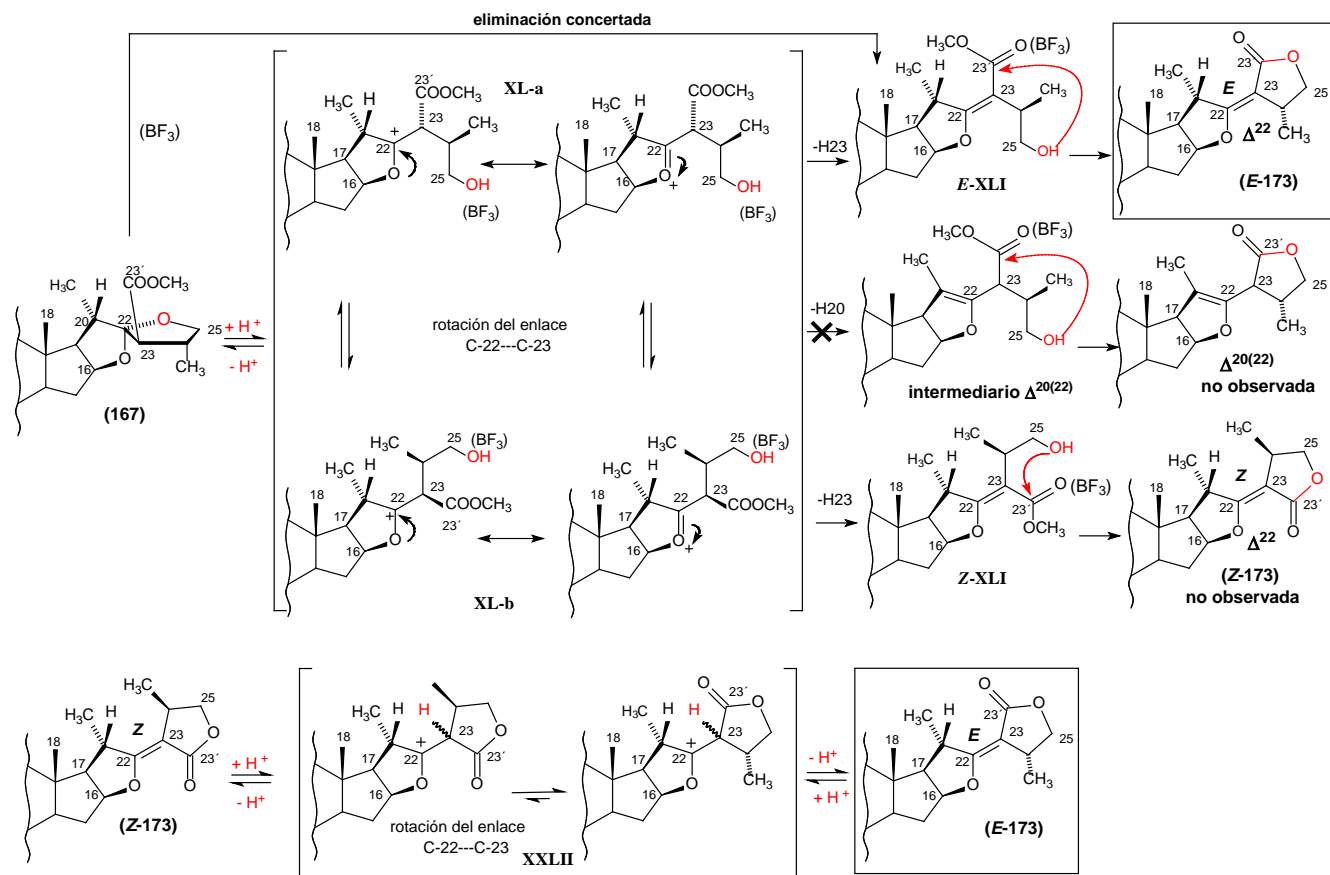


Figura 40. Correlaciones COSY y NOE seleccionadas de la cadena lateral de *E*-173.

La coordinación del  $\text{BF}_3$  con el O-25 seguida de la apertura del anillo F y la pérdida favorecida del H-23 sobre el H-20, justificada por el impedimento estérico que presenta la abstracción de H-20 y la formación de un éster  $\alpha,\beta$ -insaturado más estable, conduce a los intermediarios furostánicos *E*-XLI y *Z*-XLI, que al transesterificarse formarían las lactonas correspondientes. Sin embargo, la formación exclusiva del isómero *E*-173 se explica ya sea por la preferencia conformacional del oxacarbenio XL-a que forma a *E*-XLI o por la isomerización *Z*-173  $\rightarrow$  *E*-173, además de la posibilidad de tratarse de un proceso de eliminación en un solo paso, en el que la ruptura del enlace C-22–O-16 y la pérdida de H-23 es concertada (**Esquema 62**).

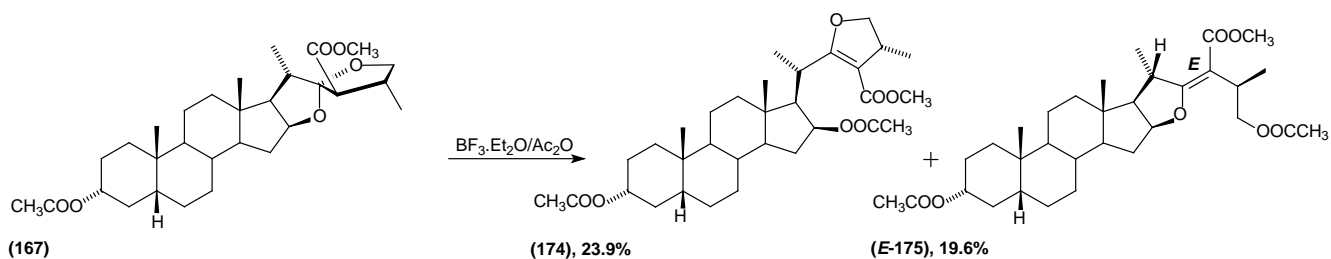


Esquema 62. Mecanismo de formación de la lactona *E*-173.



### 7.1.2 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en anhídrido acético.

El tratamiento de **167** con  $\text{Ac}_2\text{O}$  y  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  durante 45 minutos produce una mezcla compleja de compuestos de donde se aislaron e identificaron el éter de enol cíclico diacetilado **174** y el furosteno diacetilado *E*-**175** (Esquema **63**).



### Esquema 63. Reacción de **167** con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en anhídrido acético.

De forma semejante que para *E*-**173**, en el éter de enol endocíclico **174** la asignación de las señales olefinicas del doble enlace entre C-22 y C-23 se corroboraron por la multiplicidad doblete de H-21 que descarta al regioisómero que contiene al doble enlace entre C-20 y C-22 y asegura que la posición del doble enlace se encuentra entre C-22 y C-23. Una vez más, los diferentes desplazamientos químicos y la multiplicidad doble del par de protones diastereotópicos unidos a C-25, así como las diferentes correlaciones NOE (H-25 *Pro-S*  $\leftrightarrow$  H-24) y (H-25 *Pro-R*  $\leftrightarrow$  H-24') permiten la identificación y comprobación de la naturaleza cíclica de la cadena lateral de **174** (Figura **41**).

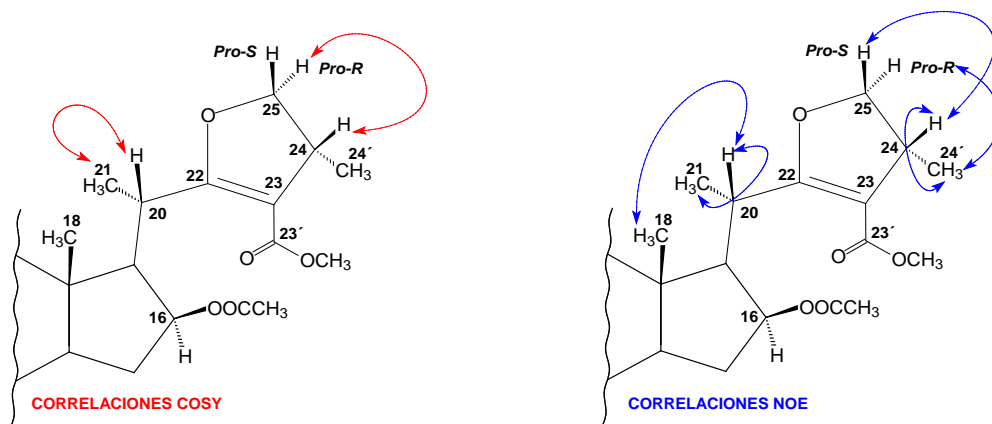
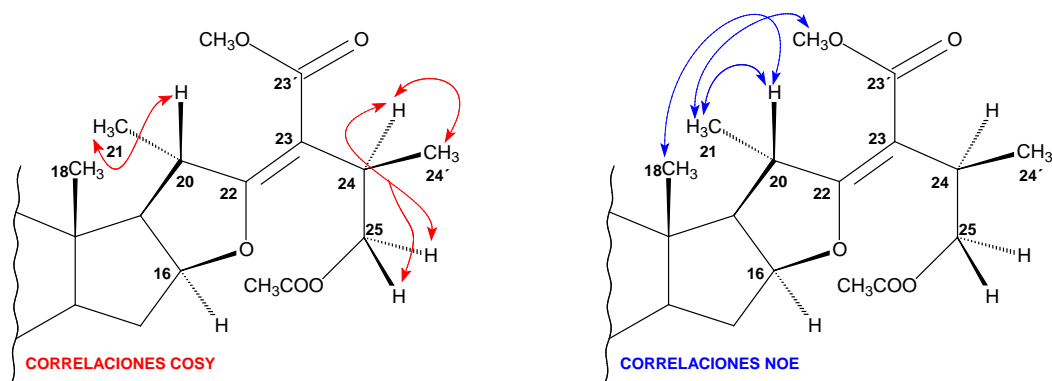


Figura 41. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de **174**.

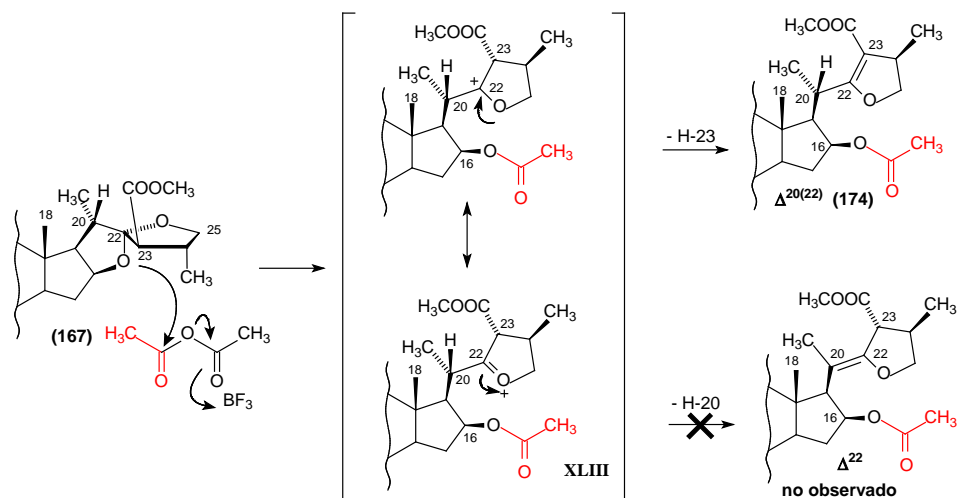
En el furosteno diacetilado *E*-**175** las dos señales de  $^{13}\text{C}$  olefinicas asignadas al doble enlace entre C-22 y C-23 y el doblete de H-21 que descarta al regioisómero  $\Delta^{20-22}$ , muestran que la estructura contiene un doble enlace exocíclico. El efecto NOE observado entre H-21 y el  $-\text{OCH}_3$  indica la proximidad existente entre estos dos grupos

que sólo es posible en el isómero *E* con lo que se comprueba la geometría *E* propuesta para el compuesto (**Figura 42**).



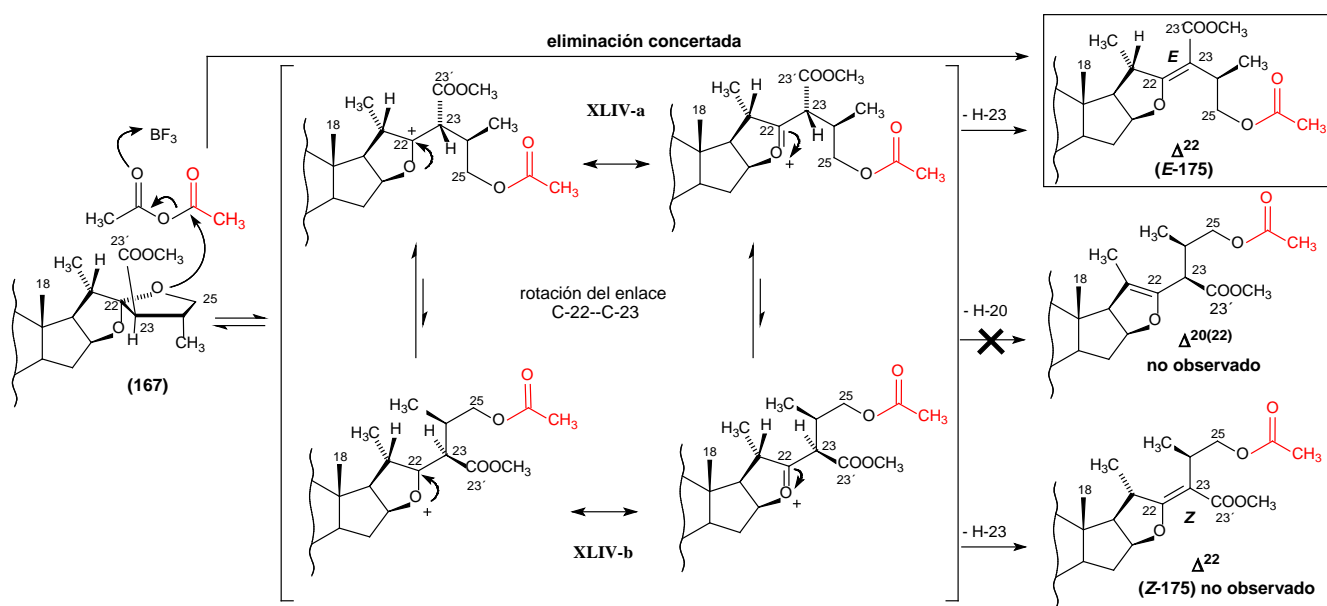
**Figura 42.** Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de *E*-175.

La activación del  $\text{Ac}_2\text{O}$  por el  $\text{BF}_3$  produce la acetilación del O-16 que resulta en la ruptura del enlace O-16-C-22 y la pérdida de H-23 para producir el éter de enol endocíclico **174**. La regioselectividad observada puede ser justificada en término de la preferencia de la pérdida de H-23 como se explicó anteriormente (**Esquema 64**).



**Esquema 64.** Mecanismo de formación del éter de enol endocíclico **174**.

De forma similar al mecanismo descrito para *E*-173, el  $\text{Ac}_2\text{O}$  activado acetila al O-25 produciendo la ruptura del enlace O-25-C-22 y la pérdida del H-23 originando el furosteno diacetilado *E*-175. La producción estereoselectiva puede ser explicada por la formación favorecida del conformero **XLIV-a**, pero una vez más, la eliminación en un sólo paso del furosteno puede ser una mejor explicación (**Esquema 65**).

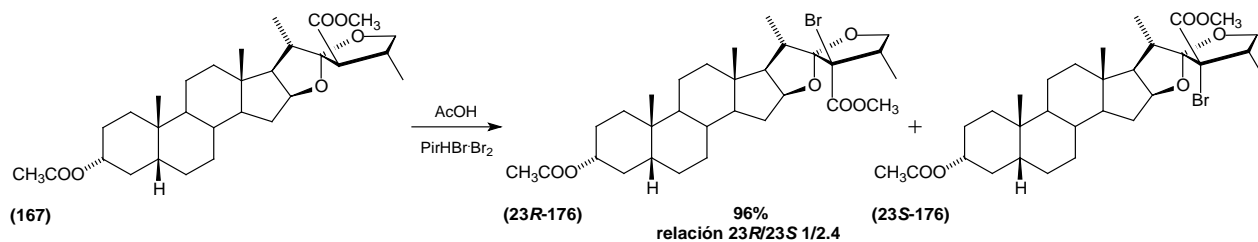


**Esquema 65. Mecanismo de formación del furosteno diacetilado *E*-175.**

## 7.2 Reacciones catalizadas con ácidos de Brønsted.

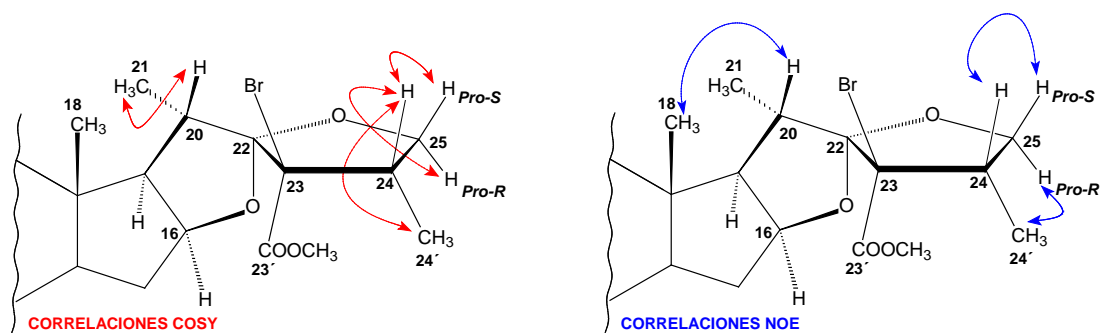
### 7.2.1 Bromación con PirHBr·Br<sub>2</sub> en ácido acético.

El tratamiento de **167** con PirHBr·Br<sub>2</sub> en ácido acético a 50 °C forma una mezcla 1/2.4 de los compuestos disaterómeros 23-bromados **23R-176** y **23S-176** con un 96% de rendimiento (**Esquema 66**).



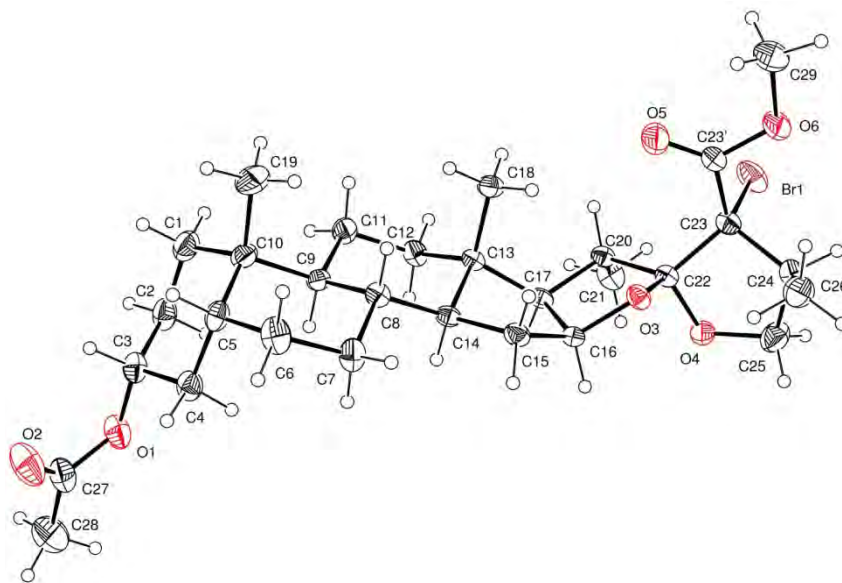
**Esquema 66. Bromación del furoespirostano 167.**

La ausencia de la señal correspondiente a H-23 en el espectro de <sup>1</sup>H del furoespirostano **23R-176** indica la naturaleza cuaternaria del C-23. Todas las señales de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C y las correlaciones en 2D corroboran la integridad de la cadena lateral del furoespirostano (**Figura 43**), pero no proporcionan evidencia de la orientación de los sustituyentes unidos a C-23.



**Figura 43. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23R-176.**

La imposibilidad de asignar la configuración de C-23 empleando RMN se supera al obtener cristales adecuados para estudios de difracción de rayos X del epímero **23R-176** mediante una lenta cristalización en una disolución de hexano/acetato de etilo. La **Figura 44** muestra que la estructura cristalina de **23R-176**, dónde se puede observar que el átomo de bromo unido a C-23 está en una posición *trans* respecto al grupo metilo C-24', en consecuencia la configuración de C-23 es *R*.



**Figura 44. Estructura cristalina de 23R-176 con elipsoides térmicos dibujados al 30% de probabilidad.**

Las señales de RMN correspondientes a la cadena lateral de **23S-176** junto con las correlaciones en 2D observadas (**Figura 45**) corroboran la integridad de la cadena lateral furoespiroestánica donde nuevamente, la ausencia de la señal de H-23 sugiere la presencia de un átomo diferente de hidrógeno unido a esta posición.

Dado que el compuesto **23S-176** no se pudo cristalizar, la determinación de la orientación de los sustituyentes unidos a C-23 empleando difracción de rayos X no fue posible. Sin embargo, la configuración de C-23 puede ser indirectamente inferida por la observación del efecto NOE entre H-24 y H-21 que es posible únicamente en el compuesto con la configuración de C-22 como **23R-176**. Como consecuencia, los epímeros con la configuración

invertida en C-22 pueden ser descartados, dejando al isómero  $22S,23S$  como la única estructura posible para  $23S$ -176.

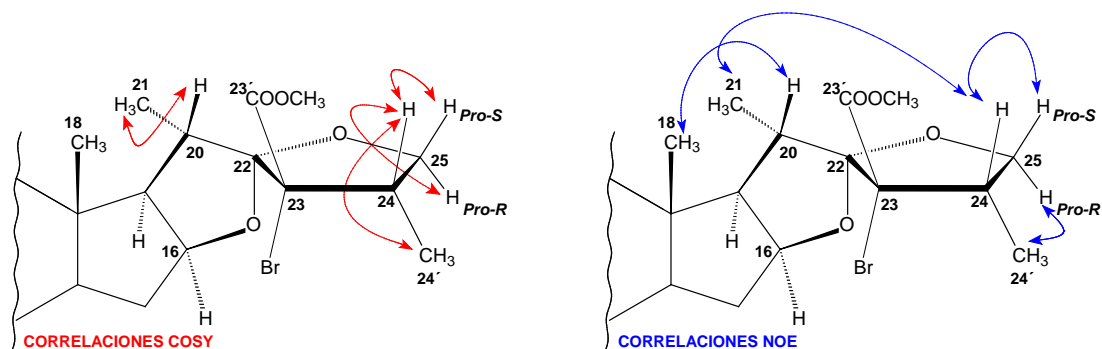
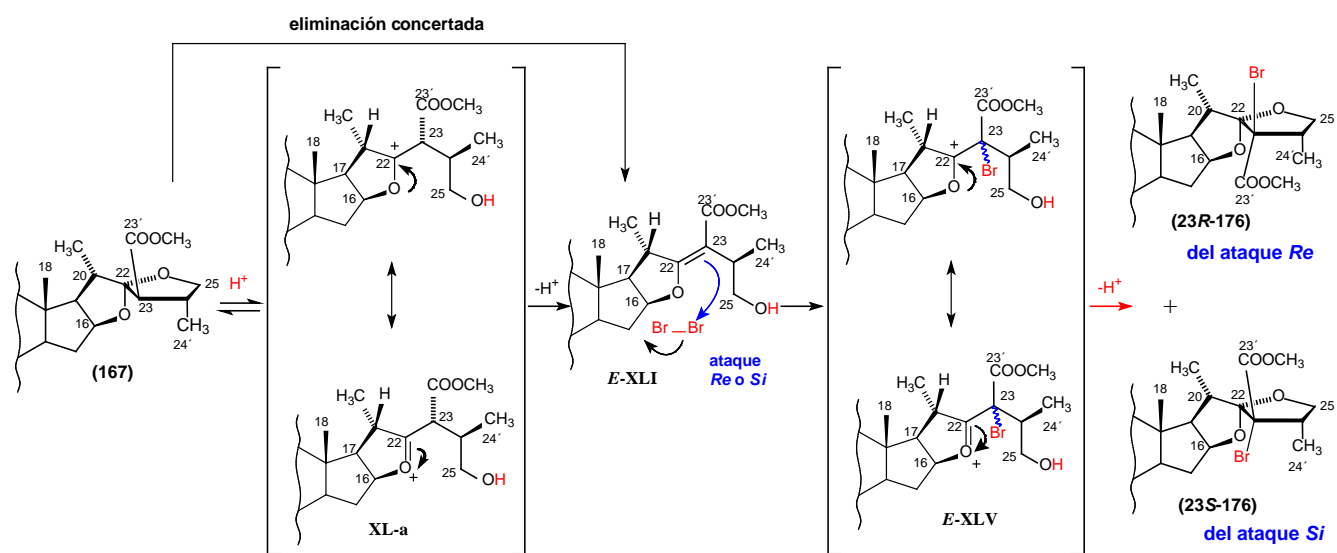


Figura 45. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de  $23S$ -176.

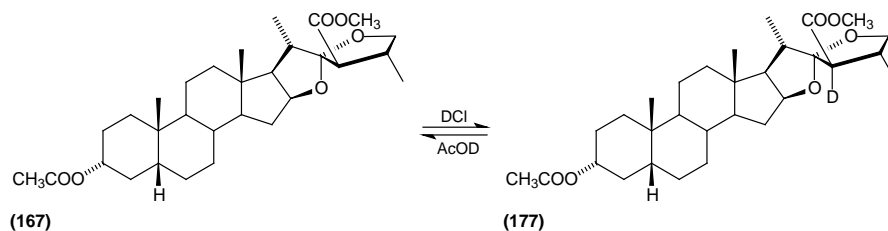
Considerando toda la evidencia anterior, se asume la producción del intermediario  $E$ -XLI más favorecido y, de ésta forma, la relación diastereomérica de los compuestos bromados  $23S$ -176 y  $23R$ -176 puede ser explicada en función del ataque electrofílico del bromuro sobre el intermediario furostánico  $E$ -XLI. El acercamiento del bromuro a la cara *Si* de C-23 está más favorecido que el acercamiento por la cara *Re* impedido por la presencia del grupo metilo C-21 formando al derivado  $23S$ -176, preferentemente (Esquema 67). Un proceso similar que implicara a  $Z$ -XLI habría producido la relación diastereomérica inversa  $23S$ -176/ $23R$ -176 que no se observa.



Esquema 67. Mecanismo de formación de los derivados bromados  $23S$ -176 y  $23R$ -176.

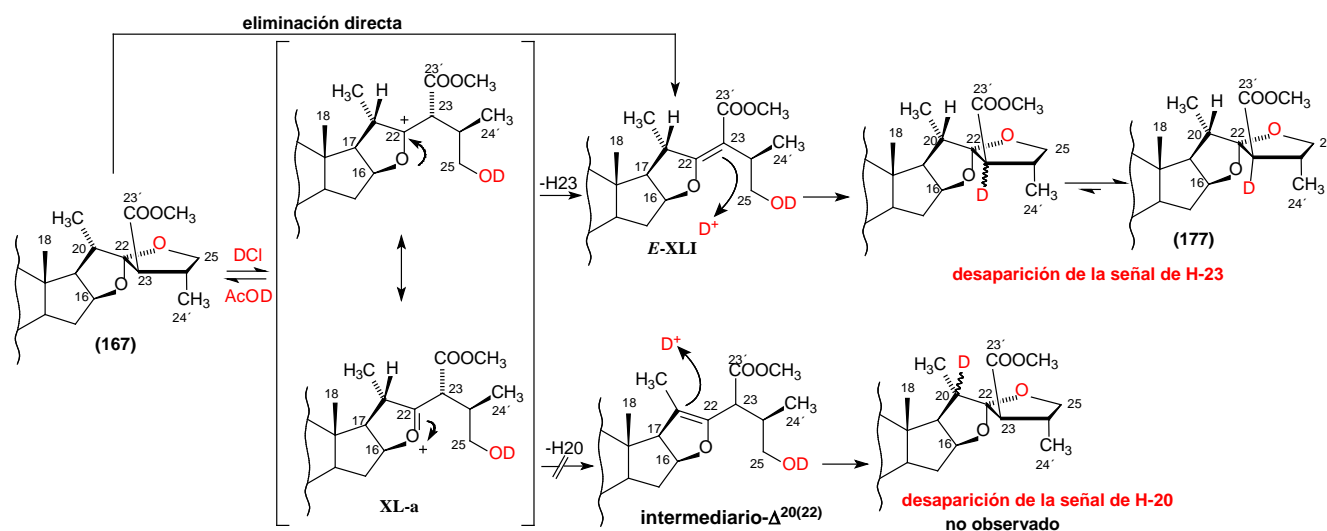
## 7.2.2 Experimento de Deuteración.

Dado que los derivados obtenidos indican la preferencia de la pérdida de H-23, a través de los correspondientes intermediarios  $\alpha,\beta$ -insaturados, se decidió estudiar el perfil de deuteración del compuesto **167** para obtener evidencia que permitiera descartar la presencia del intermediario  $\Delta^{20(22)}$ -furostánico (**Esquema 68**).

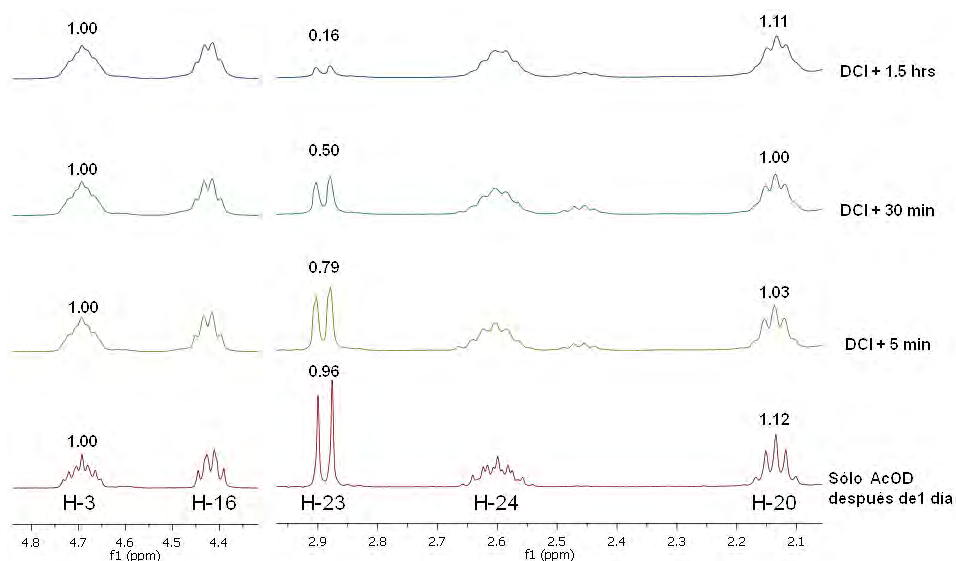


### Esquema 68. Deuteración de 167.

Considerando que la deuteración en cualquiera de los dos carbonos C-20 ó C-22 implica la apertura del anillo F para producir los intermediarios furostánico  $\Delta^{20(22)}$  ó  $\Delta^{22}$  (**Esquema 69**), el hecho de que el compuesto **167** en una disolución de  $\text{CD}_3\text{COOD}$  no muestre evidencia de la incorporación del deuterio después de 24 horas (**Figura 46, espectro A**) indica que, a temperatura ambiente, la cadena lateral estudiada no es propensa a la apertura del anillo F en las condiciones producidas por el medio ácido provisto por el  $\text{CD}_3\text{COOD}$ . La adición de una disolución de DCl en  $\text{D}_2\text{O}$  al 35% (pureza isotópica 99%) resulta en una lenta incorporación de deuterio en C-23 y por tanto en la desaparición de la señal de H-23. Es claro que al observar que, después de 24 horas, no exista una variación en la señal de H-20, se puede descartar la presencia del intermediario  $\Delta^{20(22)}$  (**Figura 46, espectro B a E**). La lenta precipitación del compuesto estudiado explica la pérdida de la resolución de las señales de  $^1\text{H}$  obtenidas en el espectro.



### Esquema 69. Mecanismo de deuteración de 167.



**Figura 46. Deuteración del compuesto 167 con AcOD/DCI.**

Los resultados obtenidos demuestran que, tanto bajo catálisis ácida de Brønsted como de Lewis, la cadena lateral furoespiroestánica produce únicamente al isómero geométrico *E* del intermediario  $\Delta^{22}$ -furosténico. Los experimentos de deuteración indican que, contrario a las sapogeninas esteroidales donde el orden de incorporación del deuterio es C-23 (a través del intermediario- $\Delta^{22}$ )  $\gg$  C-20 (a través del intermediario- $\Delta^{20(22)}$ )  $\gg\gg$  C-25 (a través de la reacción Iso)<sup>77</sup> a temperatura ambiente, la cadena lateral estudiada incorpora exclusivamente el deuterio en C-23. Otro hecho interesante es la ausencia de la incorporación del deuterio incluso en el medio ácido provisto por el  $D_3CCOOD$ , mostrando la resistencia del anillo F a la apertura, ya sea a través de un proceso de eliminación concertado o a través de la formación de un ión oxacarbenio alrededor de C-22.





**CAPITULO 8**  
**REACTIVIDAD DE**  
**FUROESPIROSTANOS**  
**23-METIL ACETILADOS**



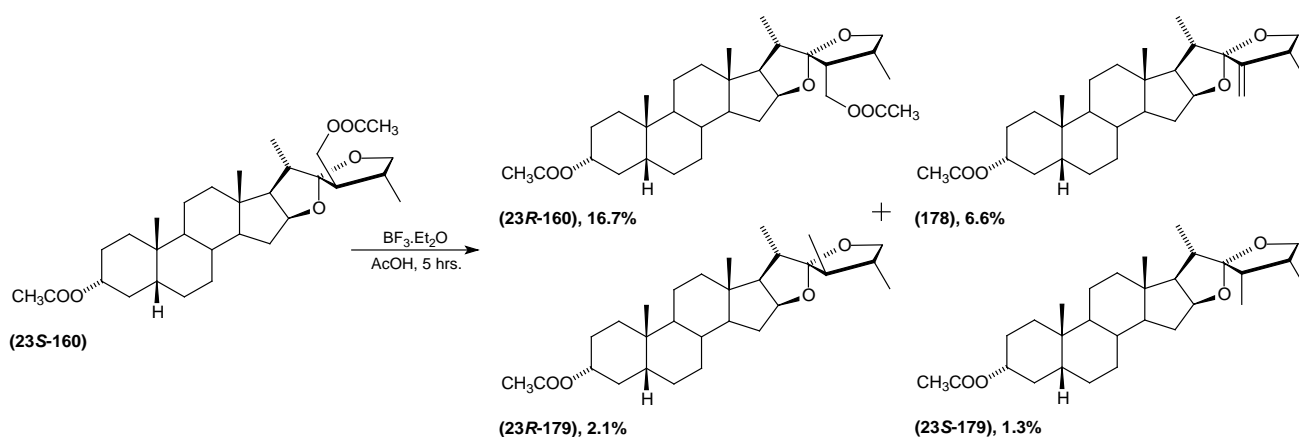
## 8. REACTIVIDAD DE FUROESPIROSTANOS 23-METIL ACETILADOS

Debido que la apertura de la cadena lateral del compuesto **199** forma el intermediario  $\alpha,\beta$  insaturado (**XXI**) (**Esquema 47**), se realizó el estudio de la reactividad de la cadena lateral 23-hidroxiacetilmetilfuroespirostánica bajo catálisis con ácidos de Lewis y de Brønsted con la finalidad de observar la reactividad de la cadena furoespirostánica sin la estabilidad que representa el doble enlace C-22–C-23 en posición  $\alpha$ , respecto al grupo acetilo unido a C-23.

### 8.1 Reacciones con ácidos de Lewis.

#### 8.1.1 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.

La reacción del diacetato **23S-160** con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en ácido acético, formó una mezcla compleja de compuestos de los que se pudieron identificar el producto de inversión **23R-160**, el de eliminación **178** y los derivados **23R-179** y **23S-179** (**Esquema 70**).



#### Esquema 70. Reacción del diacetato **23S-160** con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en ácido acético.

La estructura de las cadenas laterales de los compuestos **23R-160**, **178**, **23R-179** y **23S-179**, se identifica mediante la observación de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  correspondientes, así como por las correlaciones COSY y NOESY.

La configuración de C-23 en el compuesto **23R-160** se comprueba por la correlación NOE ( $\text{H-23}' \leftrightarrow \text{H-24}'$ ) (**Figura 47**). La cadena del alqueno **178** se reconoce por la ausencia de las señales correspondientes al grupo acetoxilo (antes presente en C-23'), además de las nuevas señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  correspondientes al doble enlace exocíclico (**Figura 48**).

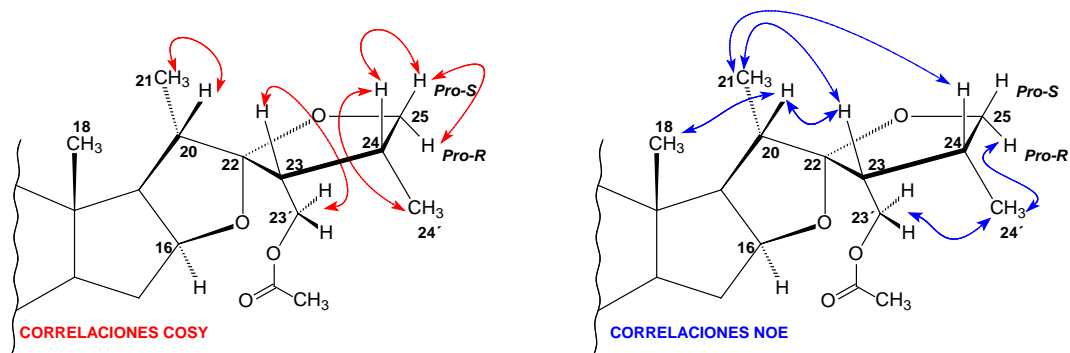


Figura 47. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23R-160.

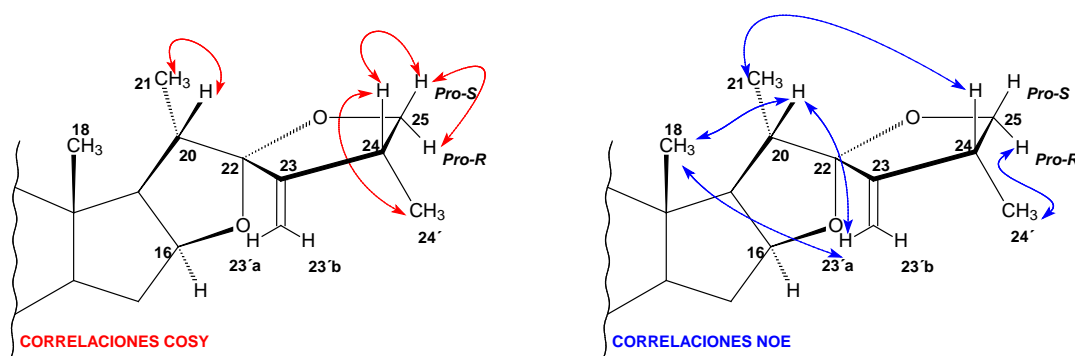


Figura 48. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 178.

Las estructuras de **23R-179** y **23S-179** se caracterizan por la ausencia de las señales del grupo acetoxilo y la presencia de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  características de los grupos metilos. La conformación de **23S-179** se asigna mediante la observación de los efectos NOE ( $\text{H-23} \leftrightarrow \text{H-24}$ ) y ( $\text{H-23} \leftrightarrow \text{H-25 Pro-S}$ ) (**Figura 49**), mientras que la orientación de **23R-179** se identifica por las correlaciones NOE ( $\text{H-23} \leftrightarrow \text{H-25 Pro-R}$ ) y ( $\text{H-23}' \leftrightarrow \text{H-20}$ ) (**Figura 50**).

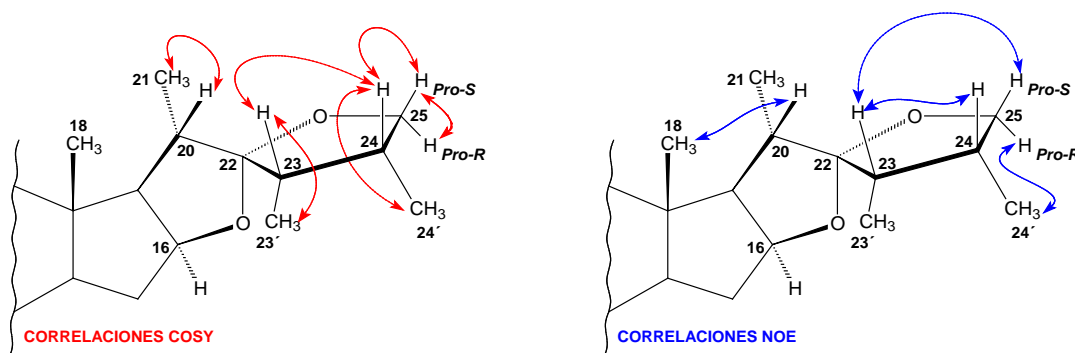
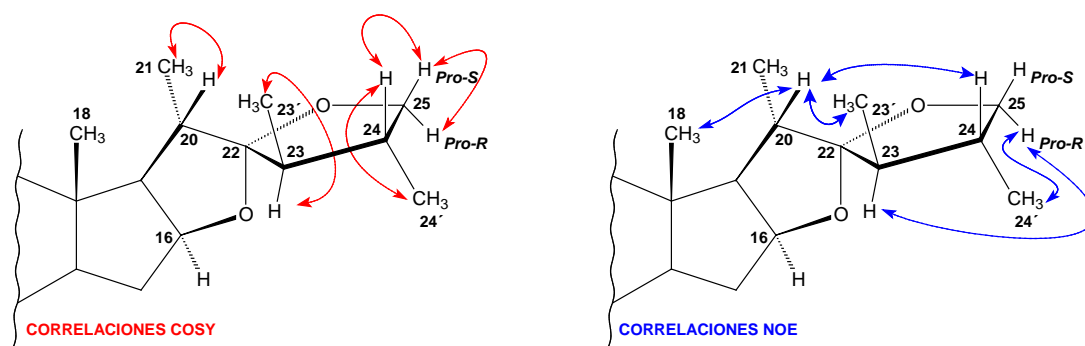
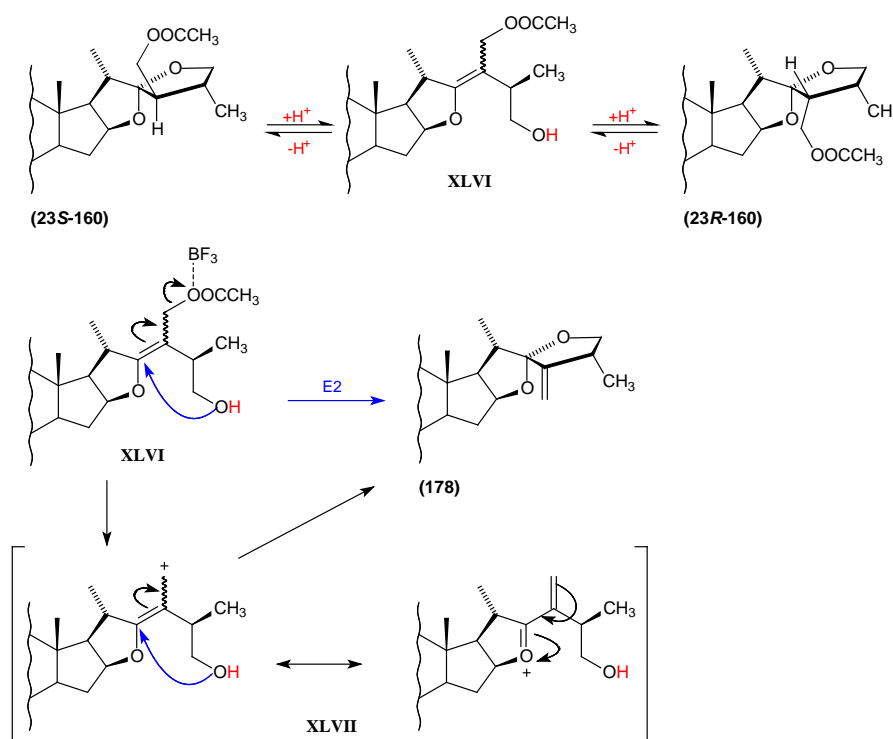


Figura 49. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23S-179.



**Figura 50. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23R-179.**

La protonación del intermediario **XLVI** por la cara *Re* o la *Si* del C-23 seguida del cierre del anillo F explica la formación de la mezcla de **23R-160** y **23S-160**. Además, la eliminación concertada y el cierre del anillo F pueden justificar la formación del alqueno **178**. De manera alternativa la olefina **178** puede producirse a través del cierre del anillo en el carbocatión alílico **XLVII** (Esquema 71).

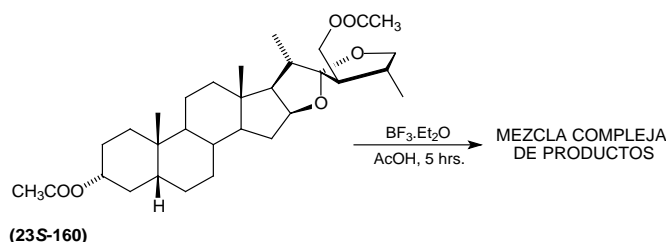


**Esquema 71. Posible mecanismo de la reacciones epimerización y eliminación.**

Los productos reducidos minoritarios **23R-179** y **23S-179** observados no pueden ser explicados por un mecanismo razonable dado las condiciones de reacción.

### 8.1.2 Reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ en anhídrido acético.

La reacción de **23S-160** con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en anhídrido acético generó una mezcla compleja de productos que no se lograron separar (**Esquema 72**).

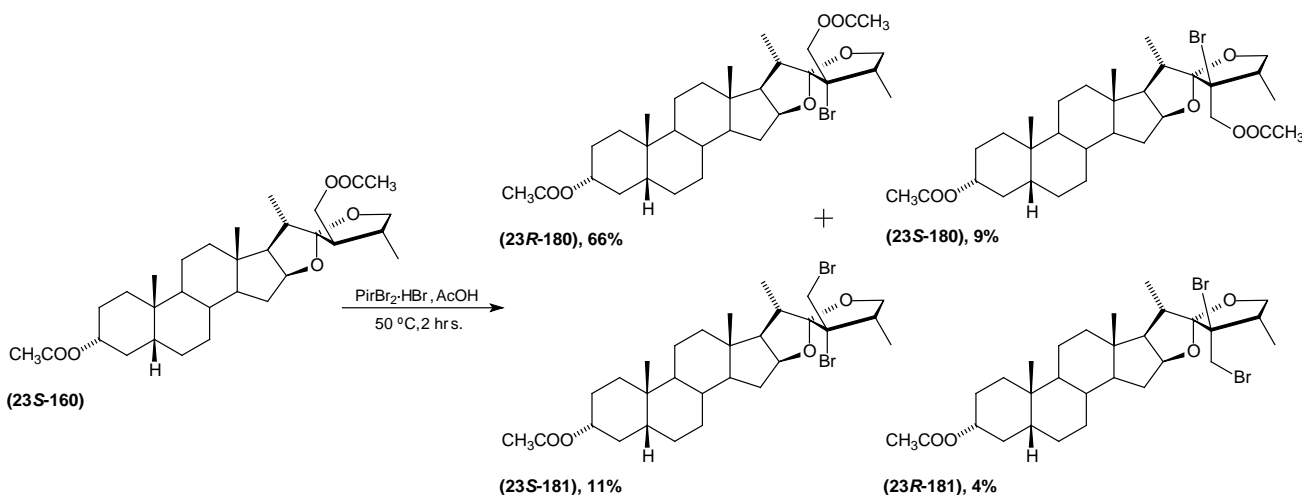


**Esquema 72.** Reacción de **23S-160** con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en anhídrido acético.

## 8.2 Reacciones catalizadas con ácidos de Brønsted.

### 8.2.1 Bromación con $\text{PirHBr} \cdot \text{Br}_2$ en ácido acético.

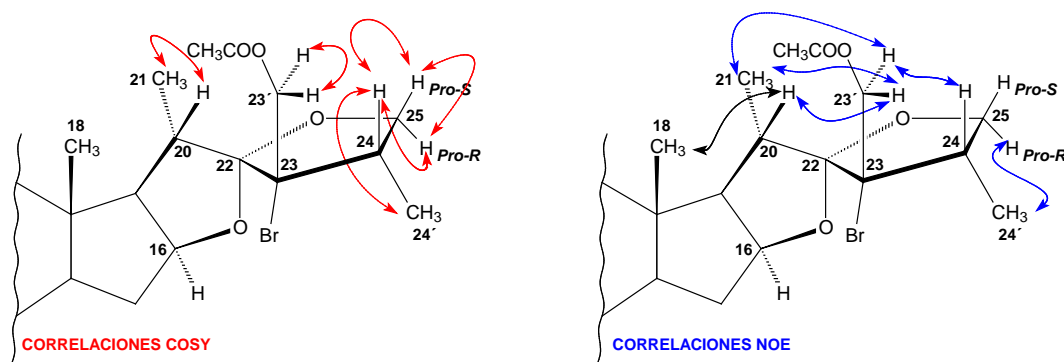
La reacción del diacetato **23S-160** con  $\text{PirBr}_2 \cdot \text{HBr}$  en AcOH formó los epímeros bromados **23R-180** y **23S-180** junto con los compuestos dibromados **23R-181** y **23S-181** (**Esquema 73**).



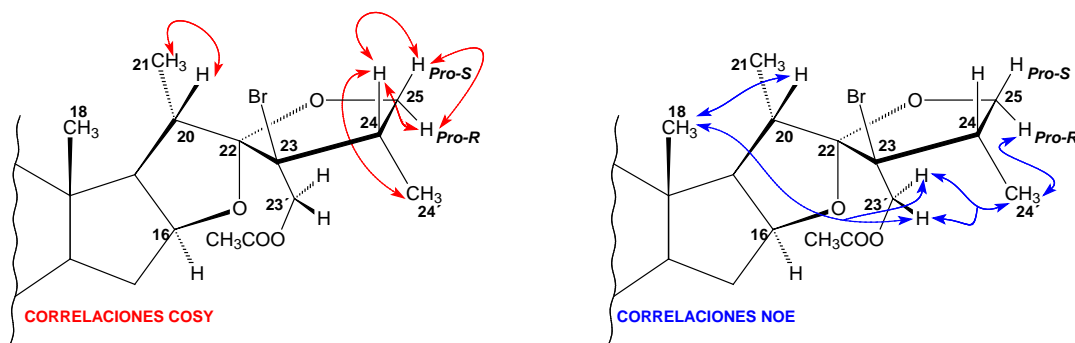
**Esquema 73.** Bromación del compuesto diacetilado **23S-160**.

Aunque el espectro de espectrometría de masas del compuesto **23S-180** no muestra un ión molecular que compruebe la presencia de un átomo de bromo, el fragmento con  $m/z$  515 observado puede ser el producto de la pérdida de Br del ión molecular ( $M^+ - \text{Br}$ ). Las señales de C-16, C-22 y C-26 en el espectro de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **23S-180** muestran la estructura de la cadena lateral tipo furoespiroestánica. La señal a campo bajo de C-23 sugiere que el H-23 se sustituyó por un átomo más electronegativo que, de acuerdo con las condiciones de reacción, no puede ser otro más que el átomo de bromo. Adicionalmente, la sustitución de H-23 se determina por la desaparición de la señal de  $^1\text{H}$  correspondiente y la transformación del sistema AB-X de H-23' a un doblete producido por el

acoplamiento geminal H-23'a ↔ H-23'b ( $J=11.8$  Hz). Las correlaciones COSY y NOE observadas corroboran la estructura propuesta (**Figura 51**). En particular, las correlaciones NOE de cada H-23' con H-20 y H-24 en las respectivas caras  $\beta$  de los anillos E y F muestran la proximidad espacial que sólo es posible si el grupo acetoximetilo que contiene al par diasterotópico H-23', está ubicado en la cara  $\beta$ , lo que resulta en una configuración *R* para C-23. Los espectros de EM y RMN del compuesto **23R-180** permiten llegar a las mismas conclusiones que para el epímero **23S-180**. Las correlaciones NOE observadas entre el grupo metilo H-24' en la cara  $\alpha$  del anillo F y el par diasterotópico H-23' indican la orientación  $\alpha$  del grupo acetoximetilo exocíclico y por lo tanto la configuración *S* de C-23 (**Figura 52**).

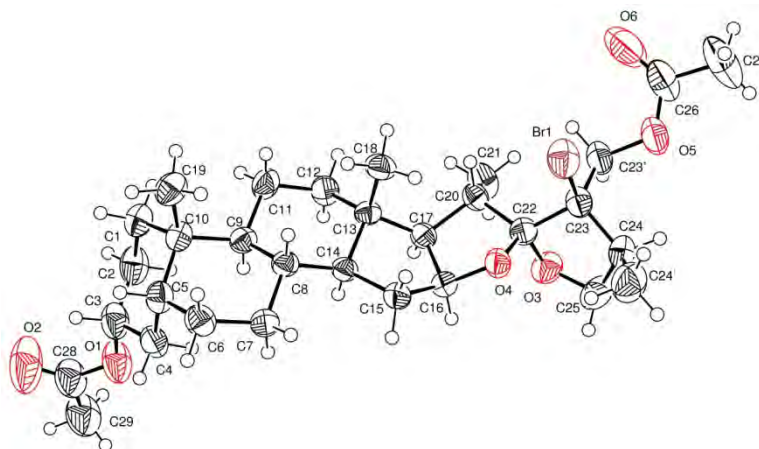


**Figura 51. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23R-180.**

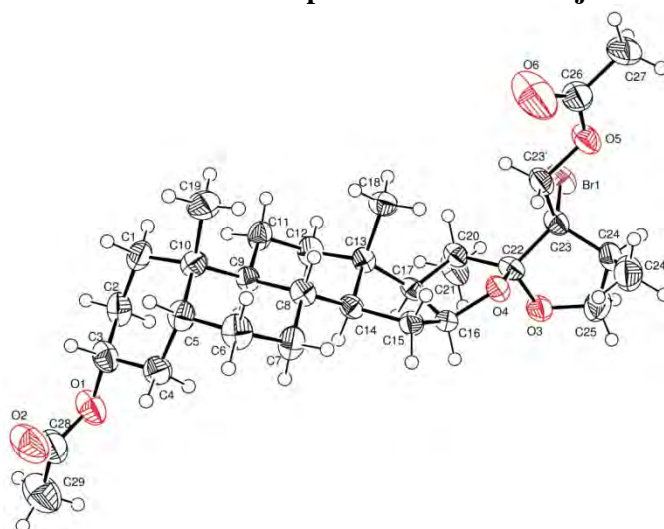


**Figura 52. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23S-180.**

Los estudios de difracción de rayos X de ambos diasterómeros **23R-180** y **23S-180** comprueban las estructuras propuestas y la configuración de C-23 (**Figuras 54 y 55**).



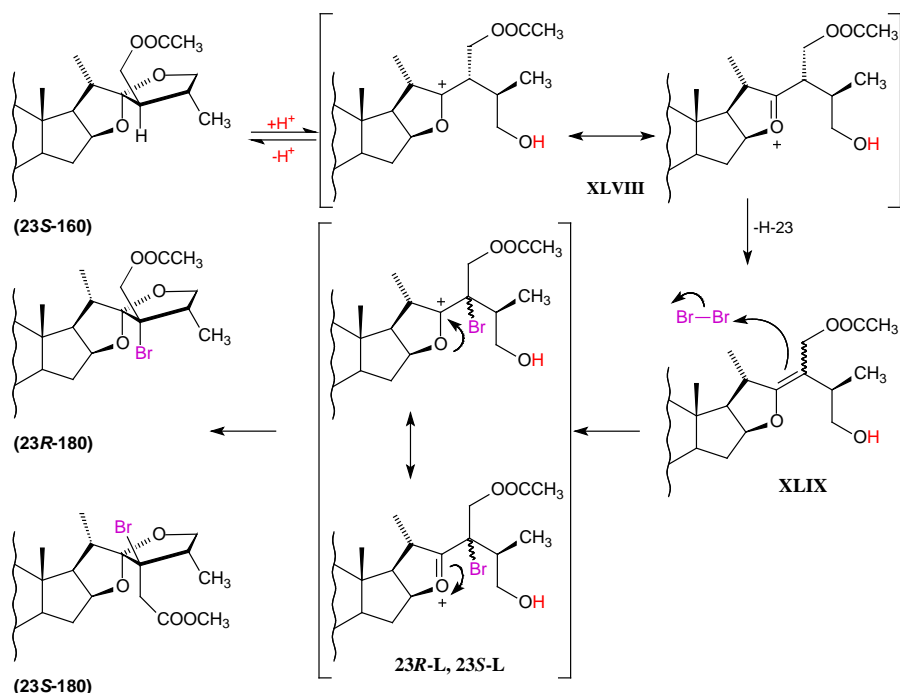
**Figura 53. Estructura cristalina de 23R-180 con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.**



**Figura 54. Estructura cristalina de 23S-180 con elipsoides térmicos dibujados al 50% de probabilidad.**

La formación de los diastereómeros **23R-180** y **23S-180** puede ser justificada mediante un mecanismo que involucra la apertura del anillo F, catalizada por el ácido, del compuesto **23S-160** que conduce al intermediario **XLVIII** seguida de la bromación de C-23 generando la mezcla de intermediarios diastereoméricos **23R-L** y **23S-L** que tras el cierre del anillo F produce los compuestos **23R-180** y **23S-180** (Esquema 74).





**Esquema 74. Mecanismo de reacción de bromación en C-23.**

De forma similar que para los derivados monobromados **23R-180** y **23S-180**, los espectros de <sup>1</sup>H de los compuestos dibromados **23R-181** y **23S-181** no presentan la señal correspondiente a H-23 y los protones diastereotópicos unidos a C-23' son un doblete por lo que se infiere la ausencia de un átomo de hidrógeno en C-23. En los espectros de masas, la presencia de los fragmentos monobromados con m/z 535 y 537 se interpretan como la pérdida de Br de los iones moleculares (M<sup>+</sup>-Br) de los compuestos dibromados. Adicionalmente el cambio en las señales de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C asociadas al metileno C-23' exocíclico (comparado con los del material de partida **23R-160** y los compuestos monobromados **23R-181** y **23S-181**), así como la desaparición de las señales asociadas al grupo acetoxilo unido a C-23, demuestran la presencia de un átomo diferente a H en C-23 que, de acuerdo a las condiciones de reacción, no puede ser otro más que bromo. Las correlaciones NOE y COSY observadas en los compuestos **23R-181** y **23S-181** comprueban la estructura de la cadena lateral y la configuración de C-23. En particular, para el compuesto **23R-181** se observa una correlación NOE (H-23' ↔ H-24') que indica la orientación α del metileno exocíclico C-23' y por lo tanto la configuración R de C-23 (**Figura 55**). En cuanto al compuesto **23S-181**, las correlaciones NOE (H-23' ↔ H-20) y (H-23' ↔ H-24) indican la orientación β del metileno exocíclico C-23' y en consecuencia la configuración S de C-23 (**Figura 56**).

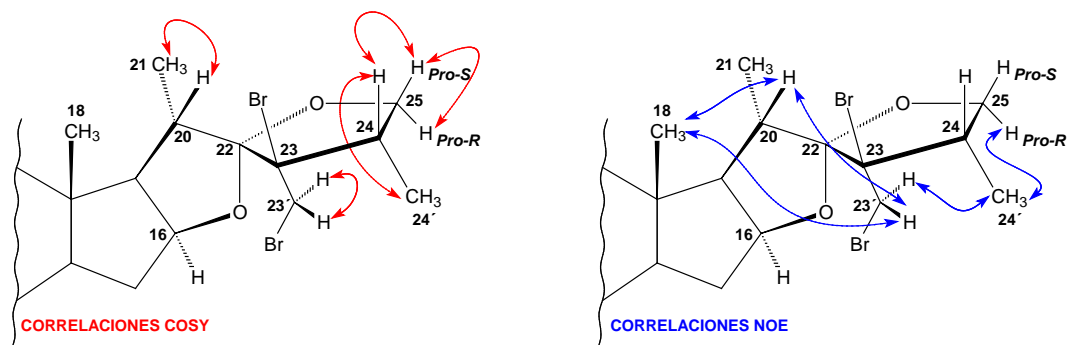


Figura 55. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23R-181.

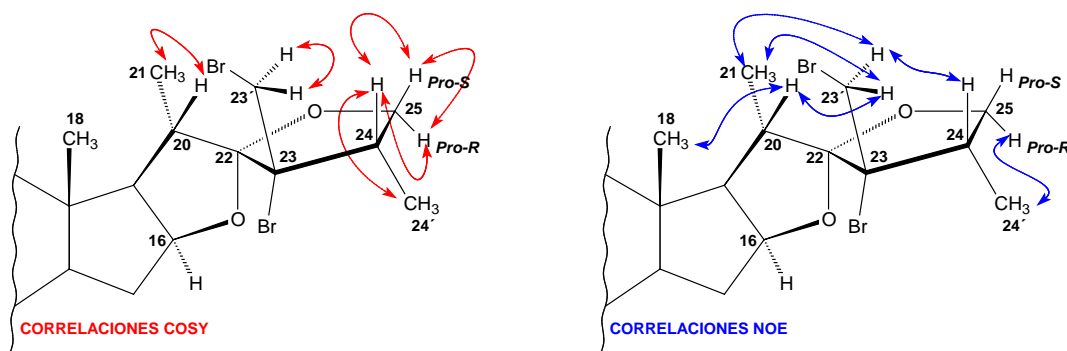
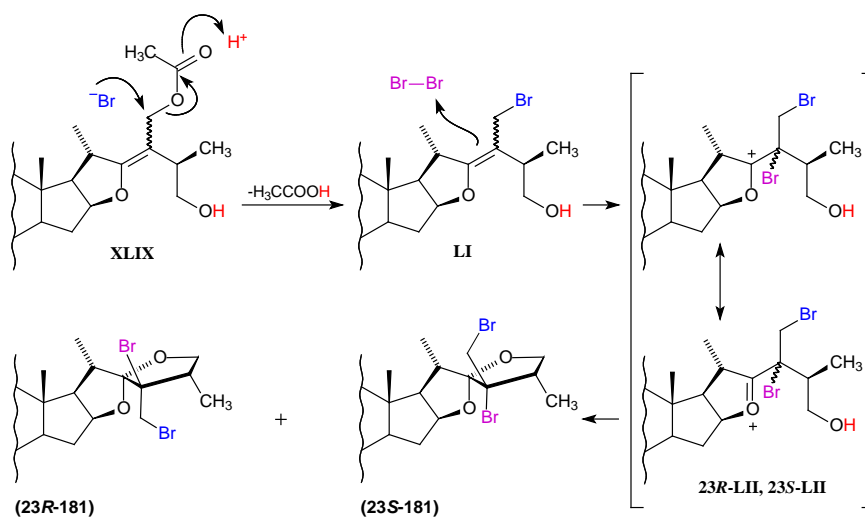


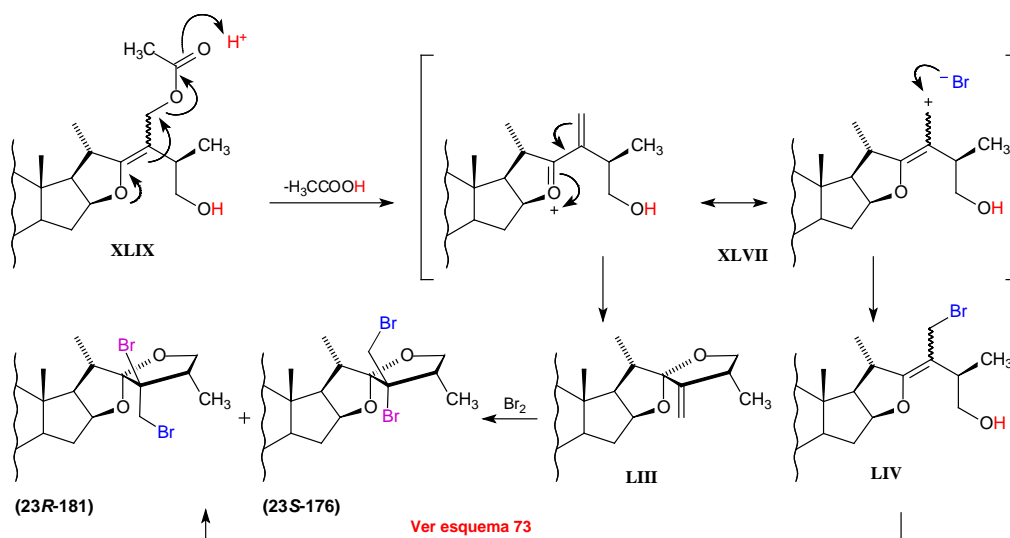
Figura 56. Correlaciones NOE y COSY de la cadena lateral de 23S-181.

La inesperada formación de los compuestos dibromados **23R-181** y **23S-181** puede ser explicada mediante diferentes mecanismos. La protonación del grupo 23'-acetoxilo en el intermediario **XLIX** puede favorecer la sustitución alílica  $S_N2$  para formar el intermediario **LI** que tras bromarse, cierra el anillo F de la misma forma como se describió en el **Esquema 74** (**Esquema 75**).



Esquema 75. Posible mecanismo de dibromación de 23S-160.

Alternativamente la eliminación del acetato alílico en el intermediario **XLIX** puede formar el carbocatión **XLVII** que después de cerrar el anillo F (formando el alqueno **LIII**) y bromarse produce los compuestos **23R-181** y **23S-181**. Otra posibilidad es el ataque del anión bromuro al carbocatión alílico en C-23' para formar el intermediario **LIV** que al bromarse en C-23 y cerrar el anillo genera los derivados dibromados (**Esquema 76**).

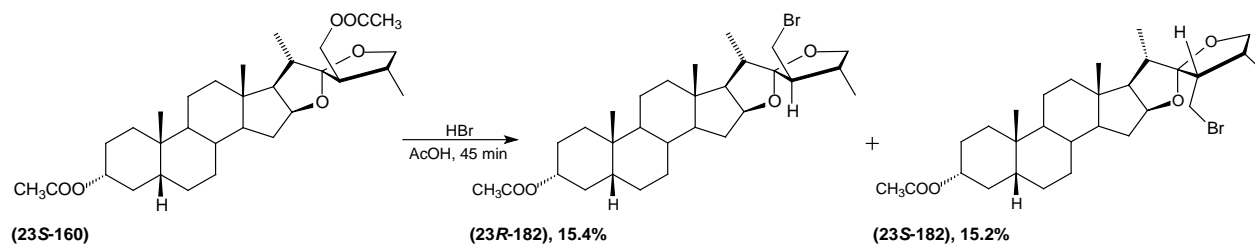


**Esquema 76. Mecanismo de reacción alternativa para la dibromación de 23S-160.**

Con el objetivo de verificar la posibilidad de sustitución en la posición alílica, se realizó la sustitución del grupo acetoxilo en C-23 con HBr.

### 8.2.2 Bromación con HBr.

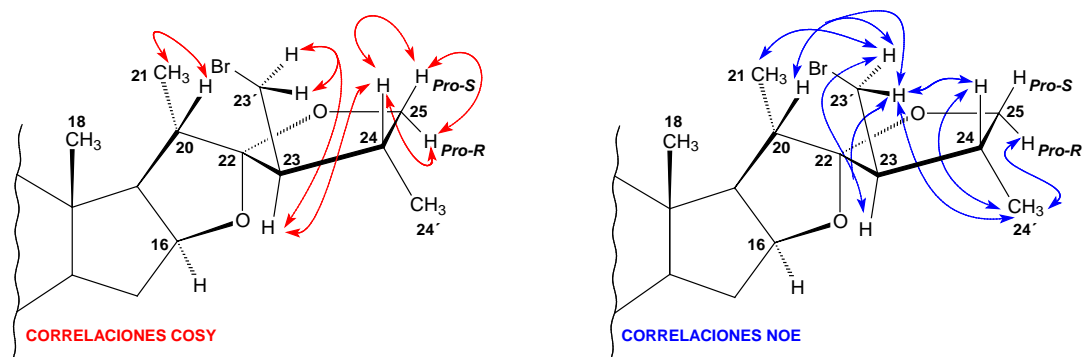
Con fundamento en los resultados anteriores, se realizó la reacción del diacetato **23S-160** con HBr en AcOH obteniendo los compuestos **23R-182** y **23S-182** con bajos rendimientos (**Esquema 77**).



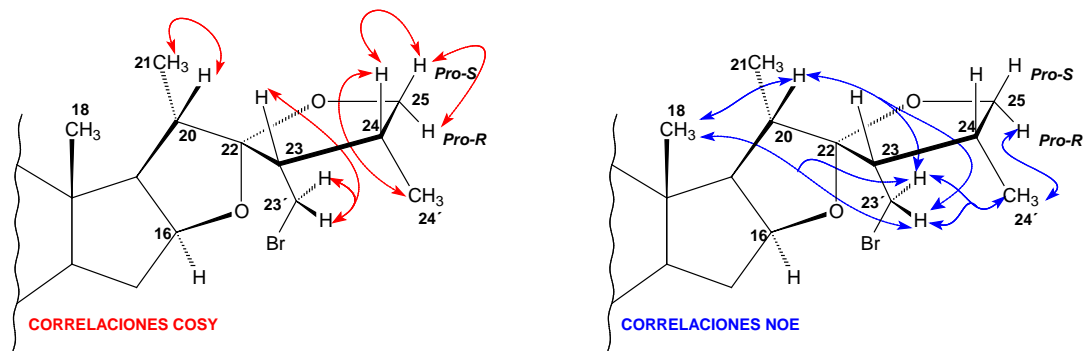
**Esquema 77. Reacción de 23S-160 con HBr en ácido acético.**

Los espectros de masas de ambos compuestos bromados en C-23' muestran la presencia de iones moleculares ( $MH^+$ ,  $m/z$  539 y 537) que indican la incorporación de un átomo de bromo. La desaparición de las señales de  $^1H$  y  $^{13}C$  correspondientes al grupo acetoxilo unido a C-23' demuestra la ausencia del acetoxilo. De la misma forma

que para los compuestos bromados anteriores, la estructura de la cadena lateral y la configuración de C-23 en los compuestos **23R-182** y **23S-182** puede ser confirmada por la presencia de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , así como por las correlaciones NOE y COSY observadas (**Figuras 58 y 59**).

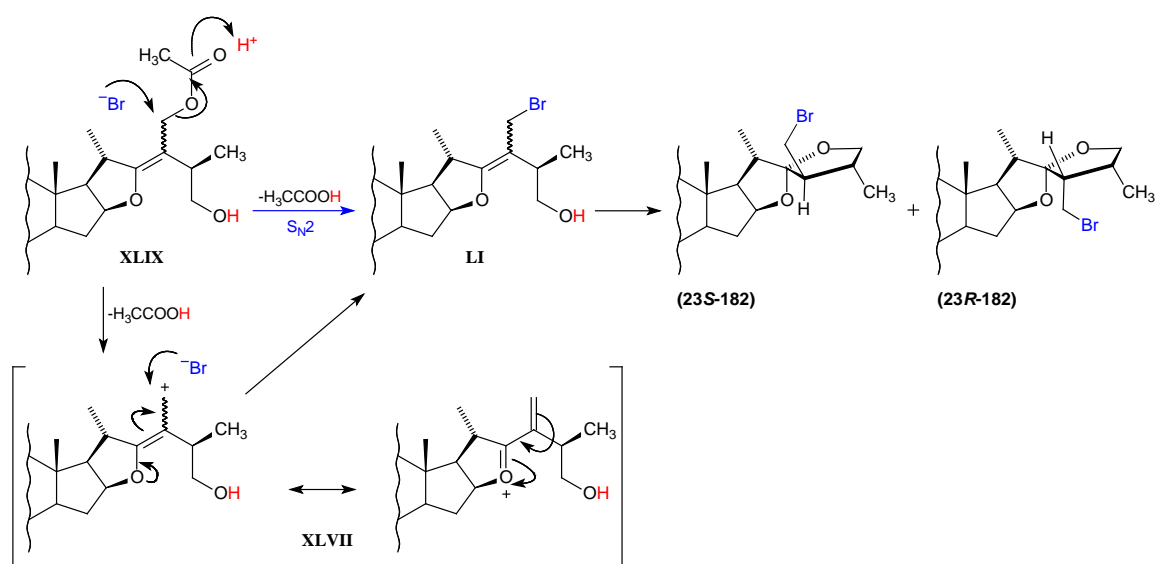


**Figura 57. Correlaciones NOE y COSY observadas en 23R-182.**



**Figura 58. Correlaciones NOE y COSY observadas en 23S-182.**

La obtención de los derivados bromados en C-23' **23R-182** y **23S-182** comprueba la sustitución del grupo acetoxilo unido a C-23' y demuestra la existencia de los intermediarios **XLIX**, **XLVII** y **LII** en ésta y en las reacciones descritas anteriormente (**Esquema 78**).



### Esquema 78. Posible mecanismo de sustitución del grupo acetoxilo en C-23'.

Los resultados obtenidos indican que la presencia del grupo acetoxilo en C-23' confiere una reactividad especial a la cadena lateral furoestirostánica. La apertura del anillo F furostánico produce el intermediario  $\Delta^{22}$ -furosténico donde el grupo acetoxilo está ubicado en una posición alílica permitiendo la sustitución. Esta reactividad característica ofrece nuevas y útiles posibilidades para la transformación de la cadena lateral tipo 23-hidroximetilfuroestirostánica.



# **CAPITULO 9**

## **CONCLUSIONES**





## 9. CONCLUSIONES

Las reacciones de Baeyer-Villiger de los 23-oxoespirocetales y las 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-onas son una excelente metodología sintética para la obtención de lactonas dinorcolánicas, observándose que en la serie 25S el rendimiento es menor que en la serie 25R dado que el equilibrio entre el 23-oxoespirocetal y la 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona está desplazado hacia el segundo y éste es el menos reactivo (**Esquemas 51 y 53, páginas 109 y 111**).

Los resultados obtenidos de la reacción de Beckmann de las oximas derivadas de la 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxicolestan-22-ona **158** indican que, mientras que la oxima *anti*-**159** siempre produce la fragmentación, el isómero *syn*-**159** produce tanto la fragmentación, como la transposición o una mezcla de ambas, dependiendo de las condiciones de reacción.

En cuanto a la cadena lateral furoespirostánica, los resultados obtenidos demuestran que tanto bajo catálisis ácida de Brønsted como de Lewis, la apertura de la cadena produce únicamente el intermediario  $\Delta^{22}$ -furosténico. El experimento de deuteración mostró que la incorporación del deuterio ocurre únicamente en C-23 y que el anillo F presenta resistencia a la apertura en ácido acético. La presencia del grupo acetoxilo en C-23' confiere una reactividad especial a la cadena lateral furoespirostánica, ya que la apertura del anillo F produce al intermediario  $\Delta^{22}$ -furosténico en el que el acetoxilo está ubicado en posición alílica facilitando la sustitución.

Las reactividades características de las cadenas laterales estudiadas ofrecen nuevas y útiles posibilidades para la transformación de la cadena lateral de las sapogeninas esteroideas. Además, los grupos funcionales presentes en los derivados obtenidos, en los que se involucra la formación de iones oxacarbenio, pueden presentar propiedades biológicas interesantes asociadas a la citotoxicidad en células cancerosas.

La asignación de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  mediante experimentos de RMN en una y dos dimensiones proporciona información suficiente para la determinación de las estructuras mediante el análisis de la conectividad de los átomos y la orientación de los sustituyentes. La difracción de Rayos X de los compuestos cristalinos obtenidos confirmó las estructuras determinadas mediante RMN.



# **CAPITULO 10**

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bhat, S.V.; Nagasampagi, B.A.; Sivakumar, M. Chemistry of natural products. *Narosa*, India, **2005**, 28,103.
2. Battaner-Arias, E. Biomoléculas. *Ediciones Universidad de Salamanca*, España, **2000**, 136-138.
3. Fieser, L.; Fieser, M. Steroids. *Reinhold*. Estados Unidos, **1959**.
4. Moss, G.P. Nomenclature of steroids. *Pure & Appl. Chem.* **1989**, 61(10), 1783-1822.
5. Beyer, H.; Barluenga, J.; Wolfgang, W. Manual de química orgánica. *Reverté*, España, **1987**, 737-738.
6. Baynes, J.W.; Dominiczak, M.H. Bioquímica médica. *Elsevier*, España, **2005**, 213-227.
7. Smaghe, G. Ecdysone: Structures and functions. *Springer*, Bélgica, **2009**, 48.
8. Grove, Michael D.; Spencer, Gayland F.; Rohwedder, William K.; Mandava, N.; Worley, J.F.; Warthen, J.D.Jr.; Steffens, G.L.; Flippen-Anderson, J.L.; Cook, J.; Carter, Jr. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*. **1979**, 281(5728), 216-217.
9. Belles, X. Insecticidas biorracionales. *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*, España, **1988**, 209.
10. Dictionary of natural products database: <http://dnp.chemnetbase.com/intro/index.jsp>
11. Askew, F.A.; Farmer, S.N.; Kon, G.A.R. Sapogenins. Part I. The sapogenins of sarsaparilla root. *J. Chem. Soc.* **1936**, 1399-1403.
12. Dewick, P.M. Medicinal natural products. A biosynthetic approach. *Wiley*, Inglaterra, **2009**, 261-264.
13. Timor, C.; Pyatin, B. Isolation of solasodine from *Solanum laciniatum*. *Rev. Cubana de Farm.* **1975**, 9(2), 103-114.
14. Brady, N.C.; Mann, J.D. Advances in agronomy. *Academic Press. Inc.* Inglaterra, **1978**, vol. 30, 225.
15. Eich, E. Solanaceae and Convolvulaceae: secondary metabolites. *Springer*, Alemania, **2008**, 453-460.
16. Primo-Yúfera, E. Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria. *Reverté*, España, **1995**, Vol. 2, 958.
17. Xu, Y.; Marron, M.T.; Seddon, E.; McLaughlin, S.P.; Ray, D.T.; Whitesell, L.; Gunatilaka, A.A.L.: 2,3-dihydrowithaferin A-3 $\beta$ -O-sulfate, a new potential prodrug of withaferin A from aeroponically grown *Withania somnifera*. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17(6), 2210-2214.
18. Atta-ur-Rahman, F.R.S. Studies in natural products chemistry. Structure and chemistry (part F). *Elsevier*, Países Bajos, **1998**, vol. 20, 244.
19. Arora, R. Herbal radiomodulators: applications in medicine, homeland defence and space. *CAB International*, Inglaterra, **2008**, 273.
20. Yousuf, S.K.; Majeed, R.; Ahmad, M.; Sangwan, P.; Purnima, B.; Saxsena, A.K.; Suri, K.A.; Mukherjee, D.; Taneja, S.C. Ring A structural modified derivatives of withaferin A and the evaluation of their cytotoxic potential. *Steroids*. **2011**, 76(10-11), 1213-1222.
21. Diccionario de especialidades farmacéuticas. PLM. **2010**. <http://www.medicamentosplm.com/>
22. La enciclopedia ilustrada de salud (health illustrated encyclopedia) de A.D.A.M. **2012**. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/encyclopedia.html>
23. INEGI. Boletín de estadísticas vitales **2008**. <http://www.inegi.org.mx>
24. Lee, S.; LaCour, T.G.; Fuchs P.L. Chemistry of trisdecacyclic pyrazine antineoplastics: the cephalostatins and ritterazines. *Chem. Rev.* **2009**, 109(6), 2275-2314.
25. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Gil, R.; Coll-Manchado, F. Aspectos de interés sobre la cadena lateral de las sapogeninas esteroidales. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. **1997**, 28, 67-72.
26. Agrawal, P.K.; Jain, D.C.; Gupta, R.K.; Yhakur, R.S. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins. *Phytochemistry*. **1985**, 24(11), 2479-2496.
27. Perron, F.; Albizati, K.F. Chemistry of spiroketals. *Chem. Rev.*; **1989**, 89(7), 1617-1661.
28. Agrawal, P.K. Determining ring-F configuration in spirostane-type steroidal sapogenins by <sup>1</sup>H NMR. *Indian J. Chem.* **2005**, 44B, 1092-1094.
29. Jacobs, M.F.; Kitching, W. Spirocetals of marine origin. *Curr. Org. Chem.* **1998**, 2(4), 395-436.

30. Corbiere, C.; Liagre, B.; Terro, F.; Beneytout, J.L. Induction of antiproliferative effect by diosgenin through activation of p53, release of apoptosis-inducing factor (AIF) and modulation of caspase-3 activity in different human cancer cells. *Cell Research*. **2004**, *14*(3), 188-196.
31. Corbiere, C.; Liagre, B.; Bianchi, A.; Bordji, K.; Dauca, M.; Netter, P.; Beneytout, J.L. Different contribution of apoptosis to the antiproliferative effects of diosgenin and other plant steroids, hecogenin and tigogenin, on human 1547 osteosarcoma cells. *Int. J. Oncol.* **2003**, *22*(4), 899-905.
32. Raju, J.; Patlolla, J.M.R.; Swamym, M.V.; Rao, C.V. Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek), inhibits azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2004**, *13*, 1392-1398.
33. Fattorusso, E.; Lanzotti, V.; Magno, S.; Tagliatela-Scafati, O. Sapogenins of *Allium porrum* L. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*(12), 4904-4908.
34. Carotenuto, A.; Fattorusso, E.; Lanzotti, V.; Magno, S.; De Feo, V.; Carnuccio, R.; D'Acquisto, F. Porrigenins A and B, novel cytotoxic and antiproliferative sapogenins isolated from *Allium porrum*. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*(10), 1003-1007.
35. Carotenuto, A.; Fattorusso, E.; Lanzotti, V.; Magno, S.; Carnuccio, R.; D'Acquisto, F. 12-keto-porrigenin and the unique 2,3-seco-porrigenin, new antiproliferative sapogenins from *Allium porrum*. *Tetrahedron*. **1997**, *53*(9), 3401-3406.
36. Lee, E.; Liu, Y.T.; Solomon, P.H.; Nakanishi, K. Stereospecific conversion of diosgenin to  $\alpha$ -ecdysone. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*(6), 1634-1635.
37. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Gil, R.; Leliebre-Lara, V.; Pérez-Martínez, C.S.; Coll-Manchado F. Synthesis and biological activity of (22R,25R)-5 $\alpha$ -furostan-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,26-triol. *J. Chem. Res. (S)*. **1996**, 504-505.
38. Iglesias-Arteaga, M.A.; Leliebre-Lara, V.; Pérez-Martínez, C.S.; Coll-Manchado, F. Síntesis de espirobrasinoesteroides análogos de la 6-desoxocastasterona. *Quim. Nova* **1997**, *20*(4), 361-364.
39. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Gil, R.; Leliebre-Lara, V.; Pérez-Martínez, C.S.; Coll-Manchado, F.; Rosado, A. Synthesis of (22R,25R)-3 $\beta$ ,26-dihydroxy-5 $\alpha$ -furostan-6-one. *Synth. Commun.* **1998**, *28*(8), 1381-1386.
40. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Gil, R.; Leliebre-Lara, V.; Pérez-Martínez, C.S.; Coll-Manchado, F. Synthesis of (22R,25R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,26-trihydroxy-5 $\alpha$ -furostan-6-one. *Synth. Commun.* **1998**, *28*(10), 1779-1784.
41. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Gil, R.; Pérez-Martínez, C.S.; Coll-Manchado, F. Spirostanic analogues of teasterone. Synthesis, characterization and biological activity of laxogenin, (23S)-hydroxylaxogenin and 23-ketolaxogenin (23-oxolaxogenin). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **2001**, 261-266.
42. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez Martínez, C.; Coll Manchado, F. Spirostanic analogues of castasterone. *Steroids*, **2002**, *67*(3-4), 159-163.
43. Romero-Ávila, M.; de Dios-Bravo, G.; Méndez-Stivalet, J.M.; Rodríguez-Sotres, R.; Iglesias-Arteaga, M.A. Synthesis and biological activity of furostanic analogues of brassinosteroids bearing the 5 $\alpha$ -hydroxy-6-oxo moiety. *Steroids*. **2007**, *72*(14), 955-959.
44. Jiang B.; Shi H.; Tian W.; Zhou, W. The convergent synthesis of novel cytotoxic certonardosterol D<sub>2</sub> from diosgenin. *Tetrahedron*, **2008**, *64*(3), 469-476.
45. Xu, Q-H.; Peng, X-W.; Tian, W-S. A new strategy for synthesizing the steroids with side chains from steroidal sapogenins: synthesis of the aglycone of OSW-1 by using the intact skeleton of diosgenin. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*(52), 9375-9377.
46. Betancor, C.; Freire, R.; Perez-Martin, I.; Prange, T.; Suárez, E. A convenient synthesis of C-22 and C-25 stereoisomers of cephalostatin north 1 side chain from spirostan sapogenins. *Org. Lett.* **2002**, *4*(8), 1295-1297.
47. Lee, J.S.; Fuchs, P.L. New oxidative tools for the functionalization of the cephalostatin north 1 hemisphere. *Org. Lett.* **2003**, *5*(13), 2247-2250.
48. LaCour, T.G.; Guo, C.; Bhandaru, S.; Boyd, M.R.; Fuchs, P.L. Interphylal product splicing: the first total syntheses of cephalostatin 1, the north hemisphere of ritterazine G, and the highly active hybrid analogue, ritterostatin G<sub>N1N1</sub>. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*(4), 692-707.

49. Gryszkiewicz-Wojtkielewicz, A.; Jastrzębska, I.; Morzycki, J.W.; Romanowska, D.B. Approaches towards the synthesis of cephalostatins, ritterazines and saponins from *Ornithogalum saundersiae*-new natural products with cytostatic activity. *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*(12), 1257-1277.
50. Moser, B.R. Review of cytotoxic cephalostatins and ritterazines: isolation and synthesis. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*(3), 487-491.
51. Kluge, A.F. Synthesis of 1,7-dioxaspiro[5.5]undecanes. *Heterocycles.* **1986**, *24*(6), 1699-1740.
52. Rao, Ch.B.; Ramana, K.V.; Rao, D.V.; Fahy, E.; Faulkner, D.J. Metabolites of the gorgonian *Isis hippuris* from India. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*(5), 954-958.
53. González, N.; Barral, M.A.; Rodríguez, J.; Jiménez, C. New cytotoxic steroids from the gorgonian *Isis hippuris*. Structure-activity studies. *Tetrahedron.* **2001**, *57*(16), 3487-3497.
54. Sheu, J-H.; Chao, C-H.; Wang, G-H.; Hung, K-C.; Duh, C-Y.; Chiang, M.Y.; Wu, Y-C.; Wud, C-C. The first A-nor-hippuristanol and two novel 4,5-secosuberosanoids from the gorgonian *Isis hippuris*. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*(34), 6413-6416.
55. Chao, C-H.; Huang, L-F.; Yang, Y-L.; Su J-H.; Wang, G-H.; Chiang, M.Y.; Wu, Y-C.; Dai, C-F.; Sheu, J-H. Polyoxygenated steroids from the gorgonian *Isis hippuris*. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*(6), 880-885.
56. Faulkner, D. Marine natural products. *J. Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*(1), 7-55.
57. Pettit, G.R.; Inoue, M.; Kamano, Y.; Herald, D.L.; Arm, C.; Dufrense, C.; Christie, N.D.; Schmidt, J.M.; Doubek, D.L.; Krupa, T.S. Antineoplastic agents. 147. Isolation and structure of the powerful cell growth inhibitor cephalostatin 1. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*(6), 2006-2007.
58. Rudy, A.; López-Antón, N.; Dirsch, V.M.; Vollmar, A.M. The cephalostatin way of apoptosis. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*(3), 482-486.
59. Fukuzawa, S.; Matsunaga, S.; Fusetani, N. Ritterazine A, a highly cytotoxic dimeric steroidal alkaloid, from the tunicate *Ritterella tokioka*. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*(21), 6164-6166.
60. Fukuzawa, S.; Matsunaga, S.; Fusetani, N. Isolation of 13 new ritterazines from the tunicate *Ritterella tokioka* and chemical transformation of ritterazine B<sup>1</sup>. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*(13), 4484-4491.
61. Poza, J.J.; Rodríguez, R.; Jiménez, C. Synthesis of a new cytotoxic cephalostatin/ritterazine analogue from hecogenin and 22-*epi*-hippuristanol. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*(1), 58-63.
62. Higa, T.; Tanaka, J.; Tsukitani, Y.; Kikuchi, H. Hippuristanols, cytotoxic polyoxygenated steroids from the Gorgonian *Isis hippuris*. *Chem. Lett.* **1981**, *10*(11), 1647-1650.
63. Kubo, S.; Mimaki, Y.; Terao, M.; Sashida, Y.; Nikaida, T.; Ohmoto, T. Acylated cholestane glycosides from the bulbs of *Ornithogalum saundersiae*. *Phytochemistry.* **1992**, *31*(11), 3969-3973.
64. Mimaki, Y.; Kuroda, M.; Kameyama, A.; Sashida, Y.; Hirano, T.; Oka, K.; Maekawa, R.; Wada, T.; Sugita, K.; Beutler, J.A. Cholestane glycosides with potent cytostatic activities on various tumor cells from *Ornithogalum saundersiae* bulbs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*(6), 633-636.
65. Chuangxing G.; Thomas G.; LaCour, T.G.; Fuchs, P.L. On the relationship of OSW-1 to the cephalostatins. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*(3), 419-424.
66. Bhandaru, S.; Fuchs, P. L. Synthesis of a C<sub>14,15</sub> dihydro derivative of the south hexacyclic steroid unit of cephalostatin 1. Part II: spiroketal synthesis and stereochemical assignment by NMR spectroscopy. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*(46), 8351-8354.
67. Yu, W.S.; Jin, Z.D. Total Synthesis of the anticancer natural product OSW-1. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*(3), 6576-6583.
68. Morzycki, J.W.; Wojtkielewicz, A. Synthesis of a cholestane glycoside OSW-1 with potent cytostatic activity. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*(14), 1269-1274.
69. Marker, R.E.; Rohrmann, E. Sterols. LIII. The Structure of the side chain of sarsasapogenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*(4), 846-851.
70. Wall, M.E.; Serota, S.; Witnauer, L.P. Steroidal sapogenins. XXIV. The hydrochloric acid catalyzed equilibration of 22 $\xi$ ,25D- and 22 $\xi$ -25L-spirostanes. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*(11), 3086-3089.
71. 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.
72. Djerassi, C.; Halpern, O.; Pettit, G.R.; Thomas, G.H. Reaction of the steroidal sapogenin spiroketal system with ethanedithiol. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*(1), 1-6.
73. Seo, S.; Uomori, A.; Takeda, K. Direct observation of the reverse 1,5-hydride shift: the mechanism of acid-catalyzed isomerization at C-25 of spirostanols. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*(20), 3823-3827.

74. Anulewicz-Ostrowska, R.; Jastrzębska, I.; Morzycki, J.W.; Wójcik, J. An assisted solvolysis of 23-spirostanyl bromides and tosylates. A new rearrangement of spirostanes to the bisfuran systems. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6916-6924.
75. 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*(12), 996-1002.
76. Callow, R.K.; James, V.H.T.; Kennard, O.; Page, J.E.; Paton, P.N.; Riva di Sanseverino, L. The structure of the steroidal bromosapogenins. *J. Chem. Soc. C*, **1966**, *3*, 288-297.
77. Faul, W.H.; Failli, A.; Djerassi, C. Side-chain transformations and deuterium labeling in the steroidal sapogenin series. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*(8), 2571-2585.
78. Barton, D.H.R.; Sammes, P.G.; Taylor, M.V.; Werstiuk, E. Transformation of the steroidal sapogenin side chain. Part I. Reactions of 9(11)-dehydrohecogenin acetate with nitrous acid and with paraformaldehyde. *J. Chem. Soc. C*, **1970**, 1977-1981.
79. González, A.G.; Freire, R.; García-Estrada J.A.; Suárez E. New sources of steroid sapogenins—XIV: 25S-ruscogenin and sansevierigenin, two new spirostan sapogenins from *Sansevieria trifasciata*. *Tetrahedron*, **1972**, *28*(5), 1289-1297.
80. González, A.G.; Freire, R.; García-Estrada, M.G.; Salazar, J.A.; Suárez, E. Reaction of spirostan sapogenins with nitrous acid. 23-nitrimines as intermediates in the formation of 23-ketospirostan sapogenins. *Ann. Quim.* **1971**, *67*, 903-905.
81. López, Y.; Ruíz-Pérez, K.M.; Yépeza, R.; Santillán, R.; Flores-Álamo, M.; Iglesias-Arteaga, M.A. Mechanistic insights and new products of the reaction of steroid sapogenins with NaNO<sub>2</sub> and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in acetic acid. *Steroids*, **2008**, *73*(6), 657-668.
82. Lee, S.; Fuchs, P.L. In situ nitrosonium ion generation -a-oximinylation of enol ethers from steroidal spiroketals: introduction of C23 (*R*)-OH in cephalostatin intermediates. *Can. J. Chem.* **2006**, *84*(10), 1442-1447.
83. Betancor, C.; Dorta, R.L.; Freire, R.; Martin, A.; Prange, T.; Suárez, E. Stereospecific synthesis of 1,6-dioxodecalins and 2,2'-linked ditetrahydrofurans by rearrangement of steroidal spiroacetals. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*(18), 6355-6362.
84. Iglesias-Arteaga, M.A.; Arcos-Ramos, R.O. One-step axial acetoxylation at C-23. A new method for the functionalization of the side chain of steroid sapogenins. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*(46), 8029-8031.
85. Barton, D.H.R.; Kulkarni, Y.D.; Sammes P.G.J. Transformation of the steroidal sapogenin side chain. Part II. A new method for the preparation of 16-alkylated-pregn-16-en-20-ones. *Chem. Soc. C*, **1971**, 1149-1156.
86. Barton, D.H.R.; Magnus, P.D.; Smith, G.; Zurr, D. Oxidation of ketone acetals by hydride transfer. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1971**, 861-863.
87. Miner, R.S.; Wallis, E.E. Molecular rearrangements in the steroids. XIII. The non-reductive scission of rings E and F of the steroidal sapogenins. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*(7), 715-720.
88. Petit, G.R.; Bowyer, W.J. Aluminum chloride-catalyzed opening of the steroidal sapogenin spiroketal system. *J. Org. Chem.* **1960**, *25*(1), 84-86.
89. LaCour, T.G.; Lantrip D.; Fuchs, P.L. Redox refunctionalization of steroid spiroketals. Structure correction of ritterazine M. *Org. Lett.* **2002**, *4*(3), 313-316.
90. Bäsler, S.; Brunck, A.; Winterfeldt, E. Synthesis of cytostatic tetradecacyclic pyrazines and novel reduction-oxidation sequence for spiroketal opening in sapogenins. *Helv. Chim. Acta*, **2000**, *83*(8), 1854-1880.
91. Marker, R.E.; Turner, D.L. Sterols. CXV. Sapogenins. XLIV. The relation between diosgenin and cholesterol. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63*(3), 767-771.
92. Bovicelli, P.; Lupatelli, P.; Fracassi, D. Sapogenins and dimethyldioxirane: a new entry to cholestanes functionalized at the side chain. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*(6), 935-938.
93. Marker, R.E.; Rorhmann, E. Sterols. LXXXI. Conversion of sarsasapogenin to pregnanediol-3(a), 20(a). *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*(12), 3592-3593.
94. Marker, R.E.; Rorhmann, Sterols. LXXXVIII. Pregnanediols from sarsasapogenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 518-520.



95. Dauben, W.G.; Fonken, G.J. Isomerization of isospirostans to furostenols with pyridine hydrochloride as the catalyst. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*(18), 4618-4619.
96. Gould, D.H.; Staeudle, H.; Hershberg, E.B. Catalytic isomerization of spirostans to furostenols. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*(14), 3685-3688.
97. Cameron, A.F.B.; Evans, R.M.; Hamlet, J.C.; Hunt, J.S.; Jones, P.G.; Long, A.G. Studies in the synthesis of cortisone. Part XII. Improvements in the conversion of sapogenins into pregnan-20-ones. *J. Chem. Soc.* **1955**, 2807-2816.
98. Wall, M.E.; Kenney, H.E.; Rothman, E.S. Steroidal sapogenins. XXVIII. Conversion of steroidal sapogenins to 16-20-keto-pregnenes. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*(21), 5665-5668.
99. Micovic I.V.; Vanovic, M.D.; Piatak, D.M. Simplified preparation of 16-dehydropregnenolone acetate. *Synthesis*. **1990**, (7), 591-592.
100. Lee, J.S.; Fuchs, P.L. Efficient protocol for ring opening of spiroketals using trifluoroacetyl trifluoromethanesulfonate (TFAT). *Org. Lett.* **2003**, *5*(20), 3619-3622.
101. Rincón, S.; del Río, R.E.; Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; Montiel-Smith, S.; Fernández, M.A.; Farfán, N.; Santillán, R. A new route for the preparation of the 22,23-dioxocholestane side chain from diosgenin and its application to the stereocontrolled construction of the 22*R*,23*S*-diol function. *Tetrahedron*, **2006**, *62*(11), 2594-2602.
102. González, A.G.; Francisco, C.G.; Freire, R.; Hernández, R.; Salazar, J.A.; Suárez, E. Regioselective opening of ring E in spirostan sapogenins. *Tetrahedron. Lett.* **1976**, *17*(16), 1325-1328.
103. Sandoval-Ramírez, J.; Castro-Méndez, A.; Meza-Reyes, S.; Reyes-Vázquez, F.; Santillán, R.; Farfán, N. Preparation of 22,26-epoxycholest-22-ene steroids. Novel transformation of the side chain in sapogenins. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*(28), 5143-5146.
104. Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; del Río, R.E.; Hernández-Linares, G.; Suárez-Rojas, A.; Rincón, S.; Farfán, N.; Santillan, R.L. Regioselective cleavage of rings E and F in sarsasapogenin. *Steroids*, **2003**, *68*(2) 199-204.
105. Pérez-Díaz, J.O.H.; Vega-Baez, J.L.; Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; Montiel-Smith, S.; Farfán, N.; Santillán, R. Novel steroidal penta- and hexacyclic compounds derived from 12-oxospirostan sapogenins. *Steroids*, **2010**, *75*(13-14), 1127-1136.
106. LaCour, T.G.; Fuchs, P.L. Concurrent ring opening and halogenation of spiroketals. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*(25), 4655-4658.
107. LaCour, T.G.; Tong, Z.; Fuchs, P.L. Consequences of acid catalysis in concurrent ring opening and halogenation of spiroketals. *Org. Lett.* **1999**, *1*(11), 1815-1818.
108. López, Y.; Santillán, R.; Farfán, N. New bisfuran derivative from sarsasapogenin. An X-ray and NMR analysis. *Steroids*, **2006**, *71*(1), 12-17.
109. Jastrzębska, I.; Dobrogowska, A.; Lutostańska, E.; Morzycki, J.W. On reactions of spirostane sapogenins with benzeneseleninic anhydride. *Tetrahedron*, **2010**, *66*(27-28), 5024-5029.
110. Morzycki, J.W.; Jastrzębska, I. Novel transformation of 23-bromosapogenins. Synthesis of (22*S*,23*R*)-22-hydroxy-23,26-epoxyfurostanes. *Tetrahedron. Lett.* **2001**, *42*(34), 5989-5991.
111. Jastrzębska, I.; Siergiejczyk, L.; Tomkiel, A.M.; Urbańczyk-Lipkowska, Wójcik, D.; Morzycki, J.W. On reaction of steroid 23-oxo and 23,24-epoxysapogenins with Lewis acids. *Steroids*, **2009**, *74*, 675-683.
112. Jastrzębska, I. Chemistry of steroidal sapogenins - new advances in a classical field. *Current Organic Chemistry*, **2012**, *16*, 353-372.
113. Hernández, R.; Marrero-Tellado, J.J.; Prout, K.; Suárez, E. Lewis acid-mediated isomerisation of (25*R*)-3β-acetoxy-5α-spirostan-23-one, a C-22 spiroacetal: an approach to the synthesis of C-23 spiroacetal steroidal sapogeninas. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 275-277.
114. Cyrański, M.K.; Frelek, J.; Jastrzębska, I.; Morzycki, J.W. Rearrangement of 23-oxospirostanes to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids—X-ray crystal structure of (23*R*,25*S*)-3β-acetoxy-16β,23:23,26-diepoxy-5β-cholestan-22-one. *Steroids*. **2004**, *69*(6), 395-400.
115. Iglesias-Arteaga, M.A.; Arcos-Ramos, R.O.; Mendel-Stivalet, J.M. The unexpected course of the reaction of steroid sapogenins with diacetyxiodobenzene and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in formic acid. *Tetrahedron. Lett.* **2007**, *48*(42), 7485-7488.

116. 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(7), 819-828.
117. Iglesias, M.; Pérez, C.; Álvarez, R.; Coll, F. Reacción del acetato de 23-yodotigogenina y el ácido metacloroperoxibenzoico. XIV Conf. Quím, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, **1994**.
118. Callow, R.K.; Massy-Beresford, P.N. The stereochemistry of the side-chain of the steroidal sapogenins: configuration at C<sub>(22)</sub> of normal and *iso*-sapogenins. *J. Chem. Soc.* **1957**, 4482-4488.
119. Jastrzębska, I.; Morzycki, J.W. Unusual Baeyer-Villiger oxidation of 23-oxosarsapogenin acetate. *Polish J. Chem.* **2005**, 79(7), 1245-1248.
120. Iglesias-Arteaga, M.A.; Velázquez-Herta, G.A.; Mendez-Stivalet, J.M.; Galano, A.; Alvarez-Idaboy, J.M. The Baeyer-Villiger reaction of 23-oxosapogenins. *Arkivoc*, **2005**, (vi), 109-126.
121. Iglesias-Arteaga, M.A.; Sandoval-Ramírez, J.; Mata-Esma, M.Y.; Viñas-Bravo, O.; Bernés, S. Abnormal Beckmann rearrangement in 23-hydroxyiminodiosgenin acetate. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45(25), 4921-4926.
122. Iglesias-Arteaga, M.A.; Alvarado-Nuño, A.A. BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O-induced Beckmann rearrangement of 23-hydroxyiminosapogenins. A shortcut to bisnorcholanic lactones. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47(30), 5351-5353.
123. Daum, S.J.A. Favorskii reaction using iodosobenzene. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25(42), 4725-4728.
124. Moriarty, R.M.; Prakash, I. Steric effects in the hypervalent iodine oxidation of ketones. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25(51), 5867-5870.
125. Iglesias-Arteaga, M.A.; Velázquez-Huerta, G.A. Favorskii rearrangement of 23-oxo-3-epi-smilagenin acetate induced by iodosobenzene. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46(40), 6897-6899.
126. Lehmann, F.P.A. Early history of steroid chemistry in Mexico: the story of three remarkable men. *Steroids*. **1992**, 57(8), 403-408.
127. Hogg, J.A. Steroids, the steroid community, and Upjohn in perspective: a profile of innovation. *Steroids*. **1992**, 57(12), 593-616.
128. Hemog, H.; Olivetot, E.P. A history of significant steroid discoveries and developments originating at the Schering Corporation (USA) since 1948. *Steroids*. **1992**, 57(12), 617-623.
129. Marker, R.E.; Wagner, R.B.; Ulshafer, P.R.; Wittbecker, E.L.; Goldsmith, D.P.J.; Rouf C.H. Steroidal sapogenins. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, 69(9), 2167-2230.
130. Wilds, A.L.; Nelson, N.A. The facile synthesis of 19-nortestosterone and 19-norandrostenedione from estrone. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75(21), 5366-5369.
131. Djerassi, C.; Miramontes, L.; Rosenkranz, G.; Sondheimer, F. Steroids. LIV. Synthesis of 19-nor-17 $\alpha$ -ethynyltestosterone and 19-nor-17 $\alpha$ -methyltestosterone. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76(16), 4092-4094.
132. Jeong, J.U.; Guo, C.; Fuchs, P.L. Synthesis of the south unit of cephalostatin 7. Total syntheses of (+)-cephalostatin 7, (+)-cephalostatin 12, and (+)-ritterazine K. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121(10), 2071-2084.
133. Bhandaru, S.; Fuchs, P.L. Synthesis of a C<sub>14,15</sub> dihydro derivative of the south hexacyclic steroid unit of cephalostatin 1. Part I: regiospecific Rh[III]-mediated intermolecular oxygen alkylation of a primary neopentyl alcohol *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36(46), 8347-8350.
134. Kim, S.; Sutton, S.C.; Guo, C.; LaCour, T.G.; Fuchs, P.L. Synthesis of the north 1 unit of the cephalostatin family from hecogenin acetate. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121(10), 2056-2070.
135. Fernández-Herrera, M.A.; López-Muñoz, H.; Hernández-Vázquez, J.M.V.; López-Dávila, M.; Escobar-Sánchez, M.L.; Sánchez-Sánchez, L.; Pinto, B.M.; Sandoval-Ramírez, J. Synthesis of 26-hydroxy-22-oxocholestanic frameworks from diosgenin and hecogenin and their *in vitro* antiproliferative and apoptotic activity on human cervical cancer CaSki cells. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18(7), 2474-2484.
136. Fernández-Herrera, M.A.; Mohan, S.; López-Muñoz, H.; Hernández-Vázquez, J.M.V.; Pérez-Cervantes, E.; Escobar-Sánchez, M.L.; Sánchez-Sánchez, L.; Regla, I.; Pinto, B.M.; Sandoval-Ramírez, J. Synthesis of the steroidal glycoside (25*R*)-3 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoxy-12,22-dioxo-5 $\alpha$ -cholestan-26-yl  $\beta$ -D-glucopyranoside and its anti-cancer properties on cervicouterine HeLa, CaSki, and ViBo cells. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45(11), 4827-2437.

137. Fernández-Herrera, M.A.; López-Muñoz, H.; Hernández-Vázquez, J.M.V.; López-Dávila, M.; Mohan, S.; Escobar-Sánchez, M.L.; Sánchez-Sánchez, L.; Pinto, B.M.; Sandoval-Ramírez, J. Synthesis and biological evaluation of the glycoside (25*R*)-3 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoxy-22-oxocholest-5-en-26-yl  $\beta$ -D-glucopyranoside: A selective anticancer agent in cervicouterine cell lines. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*(9), 3877-3886.
138. Wang, H.; Su, F.; Zhou, L.; Chen, X.; Lei, P. Synthesis and cytotoxicities of icogenin analogues with disaccharide residues. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*(10), 2796-2800.
139. Morzycki, J.W.; Wojtkielewicz, A. Synthesis of highly potent antitumor saponin OSW-1 and its analogues. *Phytochem. Rev.* **2005**, *4*, 259-277.
140. Guo, C.X.; Fuchs, P.L. The first synthesis of the aglycone of the potent anti-tumor steroidal saponin OSW-1. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*(10), 1099-1102.
141. Deng, S.J.; Yu, B.; Lou, Y.; Hui, Y.Z. First total synthesis of an exceptionally potent antitumor saponin, OSW-1. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*(1), 202-208.
142. Yu, W.S.; Jin, Z.D. Asymmetric aldol reaction via a dinuclear zinc catalyst:  $\alpha$ -hydroxyketones as donors. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*(14), 3367-3370.
143. Chen, L.-J.; Xu, Q.-H.; Huang, H.; Lin, J.-R.; Tian, W.-S. Synthesis of 5(6)-dihydro-OSW-1 by using the intact skeleton of tigogenin. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*(19), 3475-3477.
144. Kim, S.; Fuchs, P.L. Application of the Reich iodoso syn-elimination for the preparation of an intermediate appropriate for the synthesis of both hexacyclic steroidal units of cephalostatin 7. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*(39), 7163-7166.
145. Jeong, J.U.; Sutton, S.C.; Kim, S.; Fuchs, P.L. Biomimetic total syntheses of (+)-cephalostatin 7, (+)-cephalostatin 12, and (+)-ritterazine K. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(40), 10157-10158.
146. Morzycki, J.W.; Gryszkiewicz, A.; Jastrzębska, I. Some reactions of 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -oxido-steroids: a study related to the synthesis of the potent anti-tumor saponin OSW-1 aglycone. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*(19), 3751-3754.
147. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Gil, R.; Leliebre-Lara V.; Coll-Manchado, F.; Pérez-Martínez C.S. Synthesis of (25*R*)-5 $\alpha$ -spirostan-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trioletriacetate. *Synt. Comm.* **1998**, *28*(1), 75-81.
148. Rappoport, Z.; Liebman J.F. The Chemistry of hydroxylamines, oximes and hydroxamic acids Part 1. *John Wiley & Sons*, Inglaterra, **2008**, 460.
149. Oxford Diffraction. CrysAlis CCD and CrysAlis RED. Oxford Diffraction Ltd, Abingdon, Inglaterra, **2007**.
150. Sheldrick, G.M. SHELXS97 and SHELXL97. University of Göttingen, Alemania, **1997**.
151. Cremer, D.; Pople, J.A. General definition of ring puckering coordinates. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1354-1358.
152. Spek, A.L. PLATON, An Integrated Tool for the Analysis of the Results of a Single Crystal Structure Determination. *Acta Cryst., Sect. A.* **1990**, *46*, C34.
153. Spek, A.L. PLATON, A Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht University, Utrecht, Países bajos, **1998**.
154. Macrae, C.F.; Bruno I.J.; Chisholm, J.A.; Edgington, P.R.; McCabe, P.; Pidcock, E.; Rodríguez-Monge, L.; Taylor, R.; Van de Streek, J.; Wood, P.A. Mercury CSD 2.0 - new features for the visualization and investigation of crystal structures. *J. Appl. Crystallogr.* **2008**, *41*, 466-470.
155. Kirk, D.N.; Toms, H.C.; Douglas, C.; White, K.A.; Smith, K.E.; Latif, S.; Hubbard, R.W.P. A survey of the high-field <sup>1</sup>H NMR spectra of the steroid hormones, their hydroxylated derivatives, and related compounds. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* **1990**, *9*, 1567-1594.
156. Agrawal, P.K.; Bunsawansong, P.; Morris, G.A. Complete assignment of the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of steroidal sapogenins: smilagenin and sarsasapogenin. *Magn. Reson. Chem.* **1997**, *35*(7), 441-446.
157. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Martínez, C.S.; Pérez-Gil, R.; Coll-Manchado, F. <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR spectra of synthetic (25*R*)-5 $\alpha$ -spirostanes. *J. Chem. Res. (S)* **1999**, 48-49.
158. Viñas-Bravo, O.; Hernández-Linares, G.; Mata-Esma, M.Y.; Martínez-Pascual, R.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Bernès, S.; Sandoval-Ramírez, J.; Iglesias-Arteaga, M.A. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR of synthetic steroid sapogenins. Part II. C-23 Substituted derivatives of (25*S*)-spirostanes. *Arkivoc*, **2003**, (xi), 163-171.

159. Agrawal, P.K.; Morris, G.A; Bunsawansong, D. Dependence of the  $^1\text{H}$  NMR chemical shifts of ring F resonances on the orientation of the 27-methyl group of spirostane-type steroidal sapogenins. *Phytochemistry*, **1998**, 47(2), 255-257.
160. Blunt, J.W.; Stothers, J.B.  $^{13}\text{C}$  N.M.R. spectra of steroids—a survey and commentary. *Org. Magn. Resonance*, **1977**, 9(8), 439-464.
161. Vázquez-Ramírez, I.; Macías-Alonso M.; Arcos-Ramos, R.O.; Ruiz-Pérez, K.; Perez-Solano, D.O.; Iglesias-Arteaga, M.A.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR characteristics of synthetic derivatives of steroid sapogenins Part III.  $16\beta,23:23,26$ -diepoxy side chains. *Steroids*, **2008**, 73(6), 642-651.
162. Levy, G.C.; Nelson, G.L. Carbon-13 NMR study of aliphatic amides and oximes. Spin-lattice relaxation times and fast internal motions. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94(14), 4897-4901.

**ANEXOS**  
**ARTÍCULOS PUBLICADOS**



available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)journal homepage: [www.elsevier.com/locate/steroids](http://www.elsevier.com/locate/steroids)

# $^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}$ NMR characteristics of synthetic derivatives of steroid sapogenins

## Part III. $16\beta,23:23,26$ -Diepoxy side chains

Ignacio Vázquez-Ramírez, Mariana Macías-Alonso, Rafael O. Arcos-Ramos,  
Karen M. Ruíz-Pérez, Diana O. Solano-Ramírez,  
Martín A. Iglesias Arteaga\*

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad Nacional  
Autónoma de México, Ciudad Universitaria,  
04510 México, D.F., Mexico

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 9 November 2007

Received in revised form

22 January 2008

Accepted 28 January 2008

Published on line 12 February 2008

Dedicated to Professor José Luís  
Mola Garate on occasion of his 75th  
birthday.

#### Keywords:

NMR,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ 

COSY

HetCor

NOESY

23-Oxosapogenins

 $16\beta,23:23,26$ -Diepoxy-coprostanes

### ABSTRACT

The full assignments of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR signals of steroids bearing the  $16\beta,23:23,26$ -diepoxy side chain are provided. Differentiation of the diastereotopic H-26 pair was achieved with the aid of NOESY experiments. The main substituent and steric effects associated with this moiety and their influence on the chemical shifts of the neighboring atoms are discussed.

© 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.

## 1. Introduction

Over nearly a century steroid sapogenins (SS) have attracted considerable interest due their intrinsic biological activity [2–8] or their suitability as starting materials for the synthesis of biologically active compounds such as sex hormones [9], ecdysteroids [10], and more recently, spirostane [11–13] and

furostane analogs [14–17] of brassinosteroids and cephalostatins [18].

Structurally, spirostane SS are grouped into two classes, the 25R- and 25S-spirostanes, both characterized by the presence of the spiroketal moiety that results from the ketalization of a 22-keto function involving the hydroxyl groups at positions  $16\beta$  and 26 (Fig. 1) [19].

\* Corresponding author. Tel.: +52 55 56223704; fax: +52 55 56223722.

E-mail address: [martin.iglesias@servidor.unam.mx](mailto:martin.iglesias@servidor.unam.mx) (M.A. Iglesias Arteaga).  
0039-128X/\$ – see front matter © 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.  
doi:10.1016/j.steroids.2008.01.027

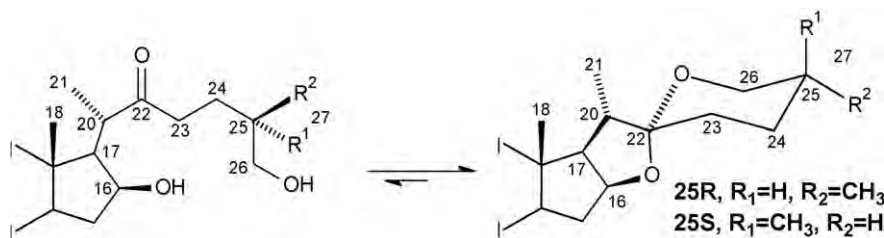


Fig. 1 – The spirostane side chain.

This structural fragment confers a special reactivity on SS. The search of new reactions of the spirostane side chain has converted this family into an important source of new compounds [20–39] that can be of biological or synthetic interest. In particular, Suarez and coworkers reported that treatment of 23-oxosapogenins with  $\text{TiCl}_4$  produces the rearrangement of the 5/6 spiroketal characteristic of SS into a new skeleton bearing a  $16\beta,23:23,26$ -diepoxy-22-one moiety [21,22]. The same rearrangement has been observed when 23-oxosapogenins were treated with  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in THF [27] or formic acid (Fig. 2) [28].

Although previous reports related with the synthesis and reactivity of the  $16\beta,23:23,26$ -diepoxy side chain have provided clear evidence on the identity of such compounds [20,21,26–28], no detailed assignments of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  chemical shifts related to this moiety have been made. As a part of our project on the synthesis of bioactive compounds derived from SS we became interested on the full characterization of a series of steroids that are used as starting materials in the synthesis of new potentially bioactive steroids. Herein, we report on the detailed assignment of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals associated with the rearranged 25R and 25S- $16\beta,23:23,26$ -diepoxy side chains bearing different oxygenated groups at position C-22.

## 2. Discussion

The rearrangement of (25R)-23-oxosapogenin **1a**, carried out as described by Suarez [20], afforded the corresponding (25R)- $16\beta,23:23,26$ -diepoxy-22-one **2a**. Reduction of **2a** with  $\text{NaBH}_4$  in methanol led to an easily separable mixture of the epimeric 22-hydroxy compounds **3a** and **4a**. A similar sequence applied to the (25S)-23-oxosapogenin **1b** afforded the corresponding compounds **2b**, **3b** and **4b** (Scheme 1).

Several reports have dealt with the NMR characteristics of naturally occurring steroid and synthetic SS and the copi-

ous data available have been collected, analyzed and the effects of structural modifications have been discussed and systematized [1,40–47]. Meanwhile the identification of the diastereotopic protons at C-26 in 23-oxo-SS **1a** and **1b** can easily be carried out by observation of their coupling patterns [1,11–13,44,45], the differentiation of the diastereotopic protons attached to C-26 in the rearranged compounds **2** to **4** is not trivial due their pseudoequatorial orientation. Fortunately NOESY experiments with the rearranged compounds **2** to **4** of both the 25R and 25S series provided an appropriate criterion for the differentiation of the H-26 diastereotopic pair (see Figs. 3–6). Tables 1 and 2 show the assignment of the  $^1\text{H}$  signals of the (25R)- and (25S)-derivatives **1** to **4**. Table 3 shows the assignments of the  $^{13}\text{C}$  signals of compound **1** to **4**.

## 3. Effects of the rearrangement (see Table 4)

In addition to the expected effects on positions C-22 (deshielding) and C-23 (shielding), the conversion of the 23-oxosapogenins to the  $16\beta,23:23,26$ -diepoxy-22-ones produces significant changes on the signals of other  $^{13}\text{C}$  nuclei of the side chain. The transformation of the E-ring into a six-membered ring results on a 1,3 diaxial interaction between O-26 and H-16 which produces a strong shielding effect in C-16. This rearrangement also implies the transformation of the F ring into a five-membered ring which leads to the loss of the 1,3-diaxial shielding interaction between O-16 and pro-R H-26, which justifies the observed deshielding of C-26. In addition, the observed deshielding of the C-20 signal clearly corresponds to the effect of the vicinal carbonyl function.

## 4. Effects of the reduction (see Table 4)

In addition to the expected upfield shift of C-22, the reduction of the carbonyl at C-22 also produces the shielding of C-20 that

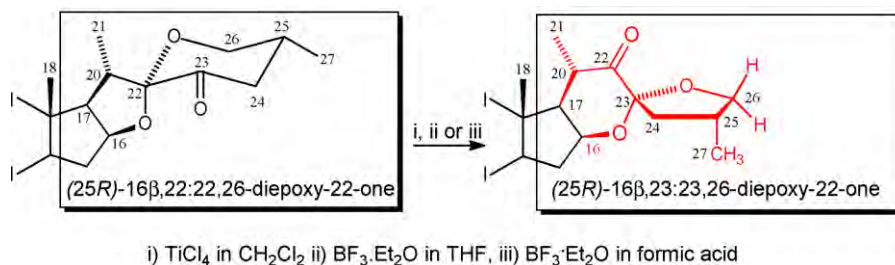
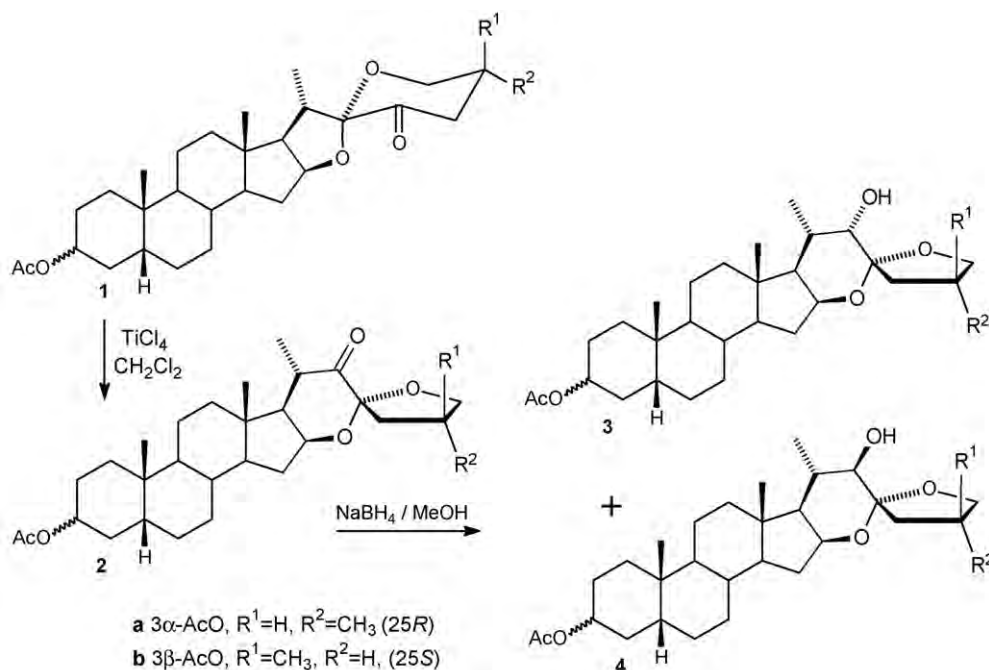


Fig. 2 – Rearrangement of 23-oxosapogenins.





Scheme 1

Table 1 – <sup>1</sup>H chemical shifts (ppm) of (25R)-derivatives

Proton	1a	2a	3a	4a
H-3	4.70 (m)	4.70 (m)	4.70 (m)	4.70 (m)
H-16	4.59 (m)	4.35 (dt, <i>J</i> = 8.10, 8.09, 6.32)	4.31 (dt, <i>J</i> = 7.88, 7.84, 5.63)	4.18 (dt, <i>J</i> = 7.74, 7.62, 5.48)
CH <sub>3</sub> -18	0.74 (s)	0.94 (s) <sup>a</sup>	0.75 (s)	0.80 (s)
CH <sub>3</sub> -19	0.93 (s)	0.94 (s) <sup>a</sup>	0.93 (s)	0.93 (s)
H-20	2.86 (q, <i>J</i> = 7.0)	2.79 (qd, <i>J</i> = 9.96, 6.45, 6.43, 6.43)	2.79 (qd, <i>J</i> = 9.96, 6.45, 6.43, 6.43)	2.79 (qd, <i>J</i> = 9.96, 6.45, 6.43, 6.43)
CH <sub>3</sub> -21	0.93 (d, <i>J</i> = 6.6)	1.07 (d, <i>J</i> = 6.43)	1.13 (d, <i>J</i> = 6.89)	1.03 (d, <i>J</i> = 6.59) <sup>a</sup>
H-22	–	–	3.45 (d, <i>J</i> = 1.60)	3.51 (d, <i>J</i> = 11.77)
H-25	2.27 (m)	2.40 (m)	2.21 (m)	2.15 (m)
H-26 <i>pro</i> -S	3.57 (dd, <i>J</i> = 11.2, 4.2)	4.12 (dd, <i>J</i> = 7.59, 7.59)	3.97 (dd, <i>J</i> = 7.45, 7.45)	3.90 (dd, <i>J</i> = 7.48, 7.48)
H-26 <i>pro</i> -R	3.77 (dd, <i>J</i> = 11.2, 11.2)	3.52 (dd, <i>J</i> = 8.95, 8.20)	3.55 (dd, <i>J</i> = 10.22, 8.17)	3.41 (dd, <i>J</i> = 10.25, 8.27)
CH <sub>3</sub> -27	0.92 (d, <i>J</i> = 6.4)	1.03 (d, <i>J</i> = 6.68)	1.02 (d, <i>J</i> = 6.49)	1.01 (d, <i>J</i> = 6.67) <sup>a</sup>
CH <sub>3</sub> -acetyl	2.01 (s)	2.00 (s)	2.02 (s)	2.01 (s)

NMR spectrum of compound **4a** also shows the signal of H-24 *pro*-R (2.59 (dd, *J* = 12.91, 8.48) deshielded by a  $\delta$ -syn interaction with the  $\beta$ -hydroxyl group attached to H-22.

<sup>a</sup> overlapped.

Table 2 – <sup>1</sup>H chemical shifts (ppm) of 25S-derivatives

Proton	1b	2b	3b	4b
H-3	5.05 (m)	5.06 (m)	5.06 (m)	5.05 (m)
H-16	4.60 (dt, <i>J</i> = 6.2, 7.7 Hz)	4.36 (dt, <i>J</i> = 8.09, 8.08, 6.34)	4.32 (dt, <i>J</i> = 7.96, 7.86, 5.58)	4.18 (dt, <i>J</i> = 7.84, 7.80, 5.36)
CH <sub>3</sub> -18	0.76 (s)	0.95 (s)	0.75 (s)	0.80 (s)
CH <sub>3</sub> -19	0.97 (s)	1.00 (s)	0.97 (s)	0.97 (s)
H-20	2.88 (m)	2.77 (qd, <i>J</i> = 9.88, 6.43, 6.36, 6.36)	2.77 (qd, <i>J</i> = 9.88, 6.43, 6.36, 6.36)	2.77 (qd, <i>J</i> = 9.88, 6.43, 6.36, 6.36)
CH <sub>3</sub> -21	1.06 (d, <i>J</i> = 7.0)	1.09 (d, <i>J</i> = 6.44)	1.13 (d, <i>J</i> = 6.91)	1.04 (d, <i>J</i> = 4.13) <sup>a</sup>
H-22	–	–	3.62 (d, <i>J</i> = 1.85)	3.58 (d, <i>J</i> = 11.77)
H-25	2.38 (m)	2.57 (m)	2.59 (qd, <i>J</i> = 14.26, 7.02, 6.98, 6.98)	2.55 (qd, <i>J</i> = 14.23, 7.13, 7.13, 7.10)
H-26 <i>pro</i> -S	3.40 (dd, <i>J</i> = 2.0, 11.1)	3.62 (dd, <i>J</i> = 7.86, 7.86)	3.44 (dd, <i>J</i> = 8.05, 6.70)	3.38 (m)
H-26 <i>pro</i> -R	4.26 (dd, <i>J</i> = 2.8, 11.2)	4.14 (dd, <i>J</i> = 7.67, 7.67)	4.11 (dd, <i>J</i> = 8.04, 7.00 Hz)	4.04 (dd, <i>J</i> = 7.75, 7.75)
CH <sub>3</sub> -27	0.94 (d, <i>J</i> = 7.0)	1.06 (d, <i>J</i> = 6.69)	1.02 (d, <i>J</i> = 6.79)	1.02 (d, <i>J</i> = 4.42) <sup>a</sup>
CH <sub>3</sub> -acetyl	2.03 (s)	2.05 (s)	2.04 (s)	2.03 (s)

<sup>a</sup> overlapped.

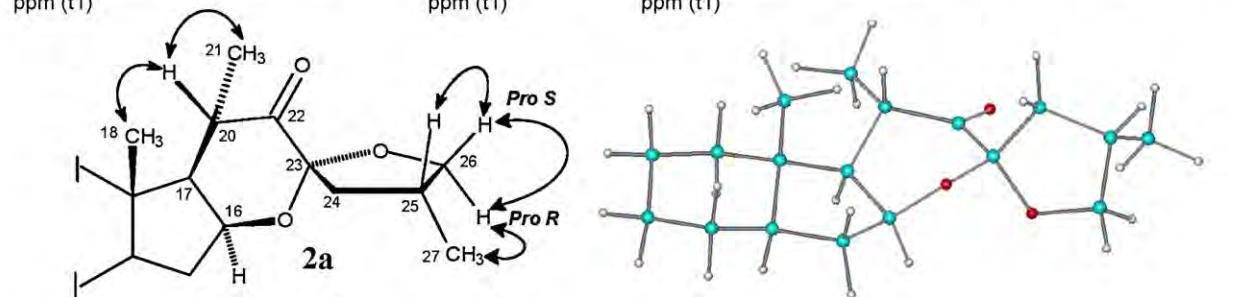
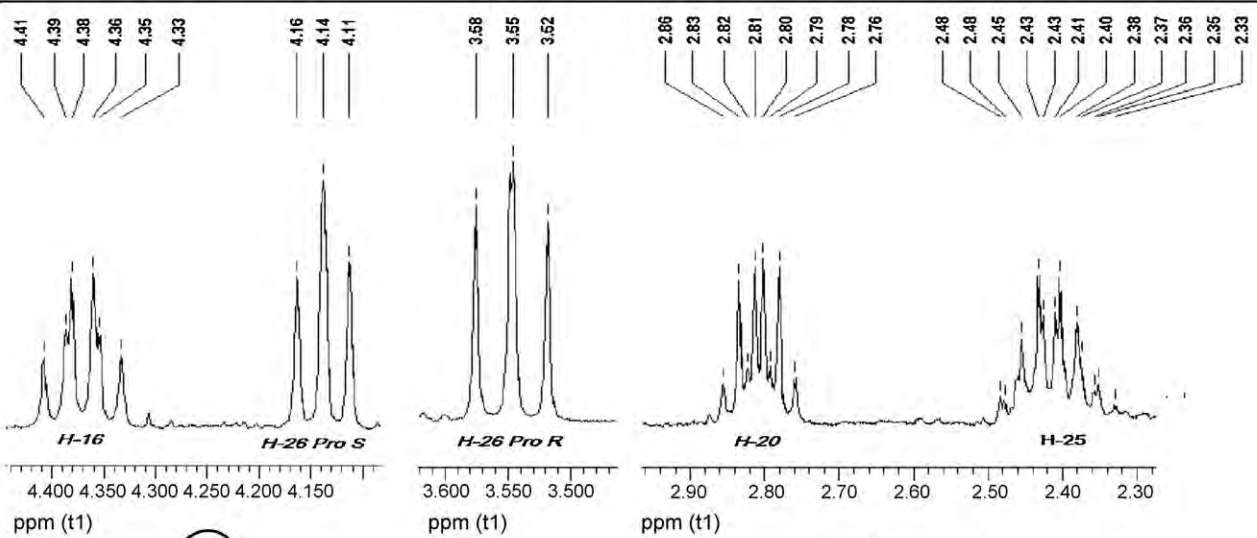
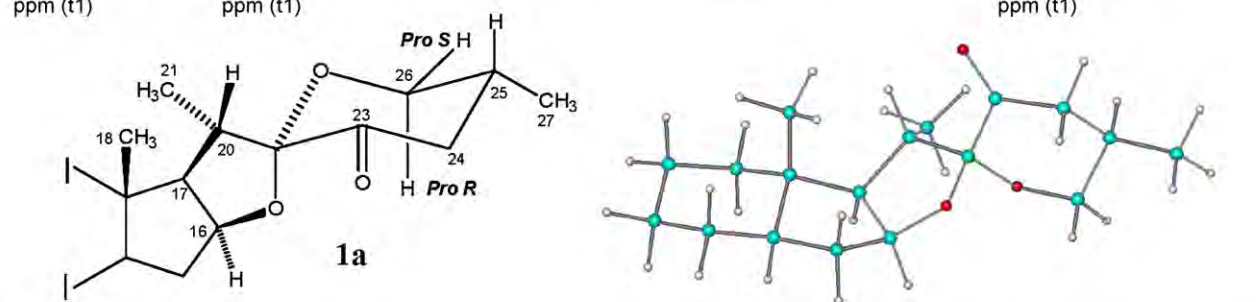
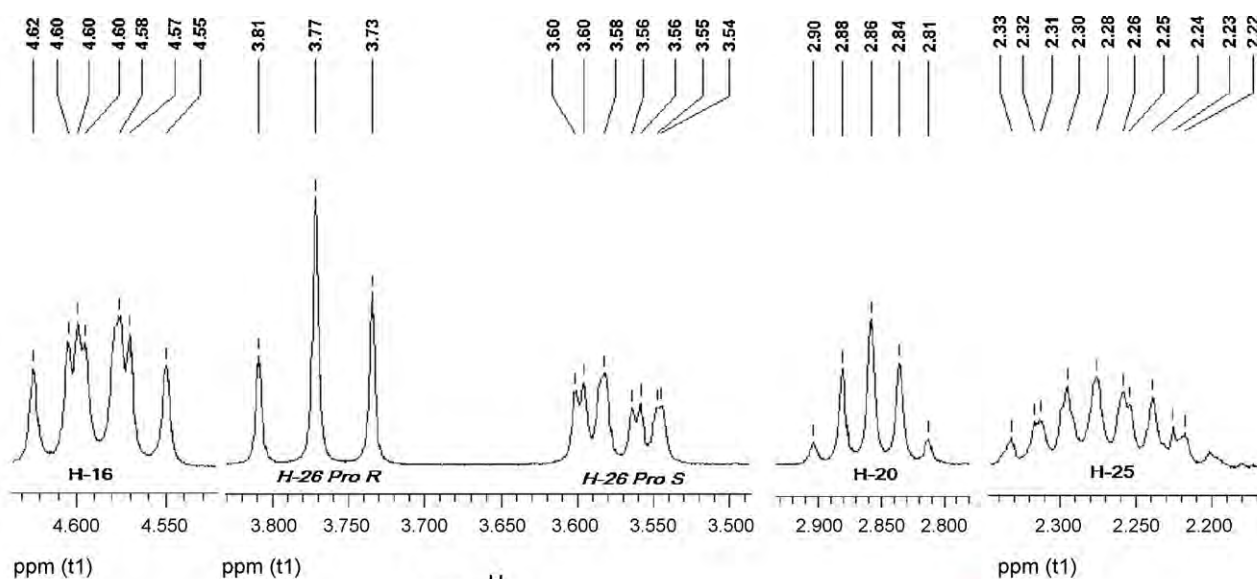


Fig. 3 – Selected  $^1\text{H}$  signals [48], NOE correlations and models [49,50] of the side chains of (25R)-ketones 1a and 2a.

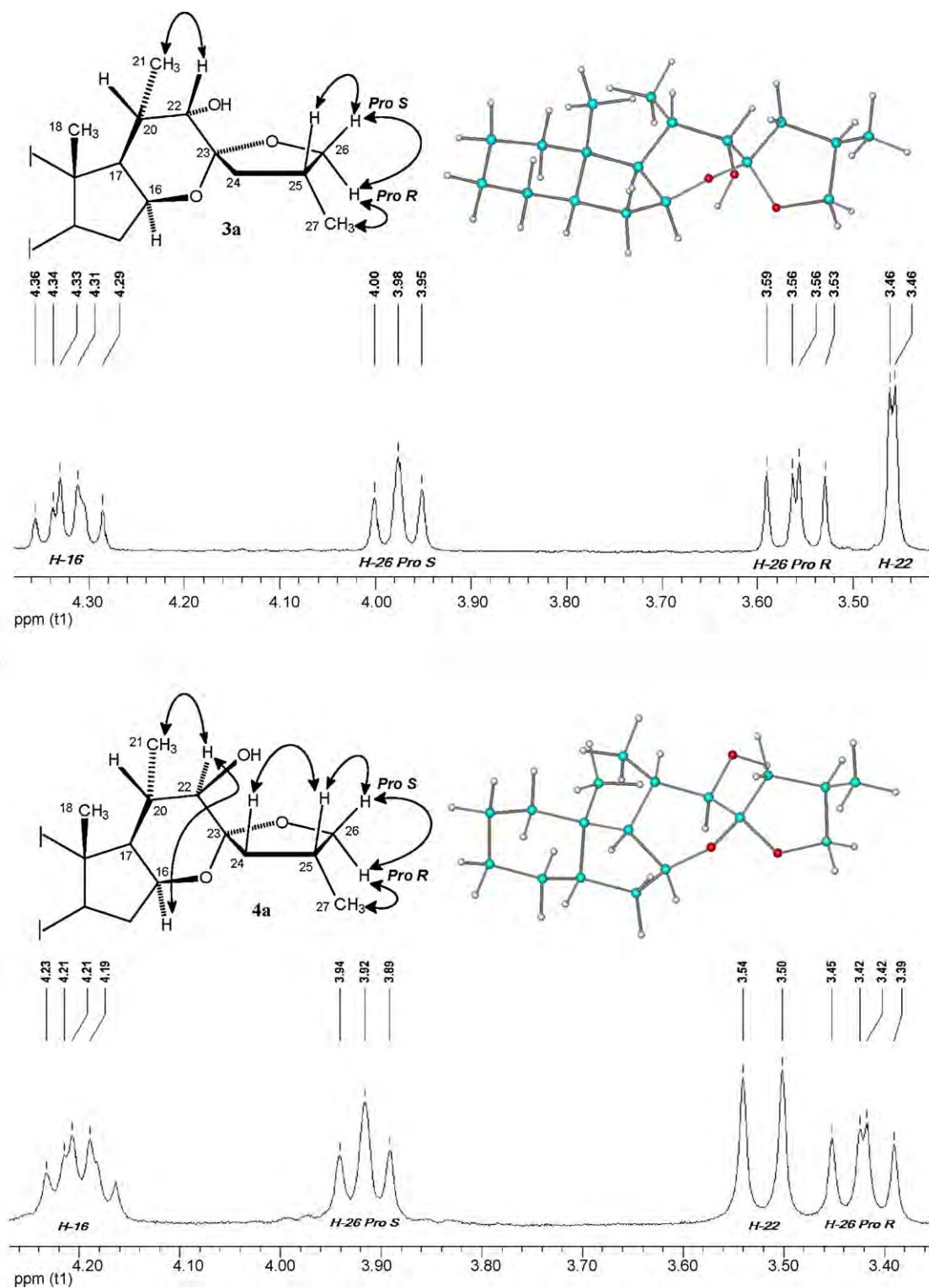


Fig. 4 – Selected  $^1\text{H}$  signals [48], NOE correlations and models [49,50] of the side chains of (25R)-alcohols 3a and 4a.

is associated with the lower electronegativity of the vicinal function. Deshielding of C-21 in the alcohols 3a,b and 4a,b may be attributed to the absence of the shielding effect of the magnetic anisotropy of carbonyl function (see shieldings in C-21 of 1a,b compared to this of 2a,b). Meanwhile a similar deshielding effect can be claimed to justify the downfield shift

of C-17 in 4a and 4b, in compounds 3a and 3b; the  $\alpha$ -axial hydroxyl group at C-22 produces electronic compression in H-17 that explains the upfield shift of C-17. Shielding of C-24 in compounds 4a and 4b may be attributed to the electronic compression exerted over H-24 pro-R by the  $\beta$ -hydroxyl group at C-22.

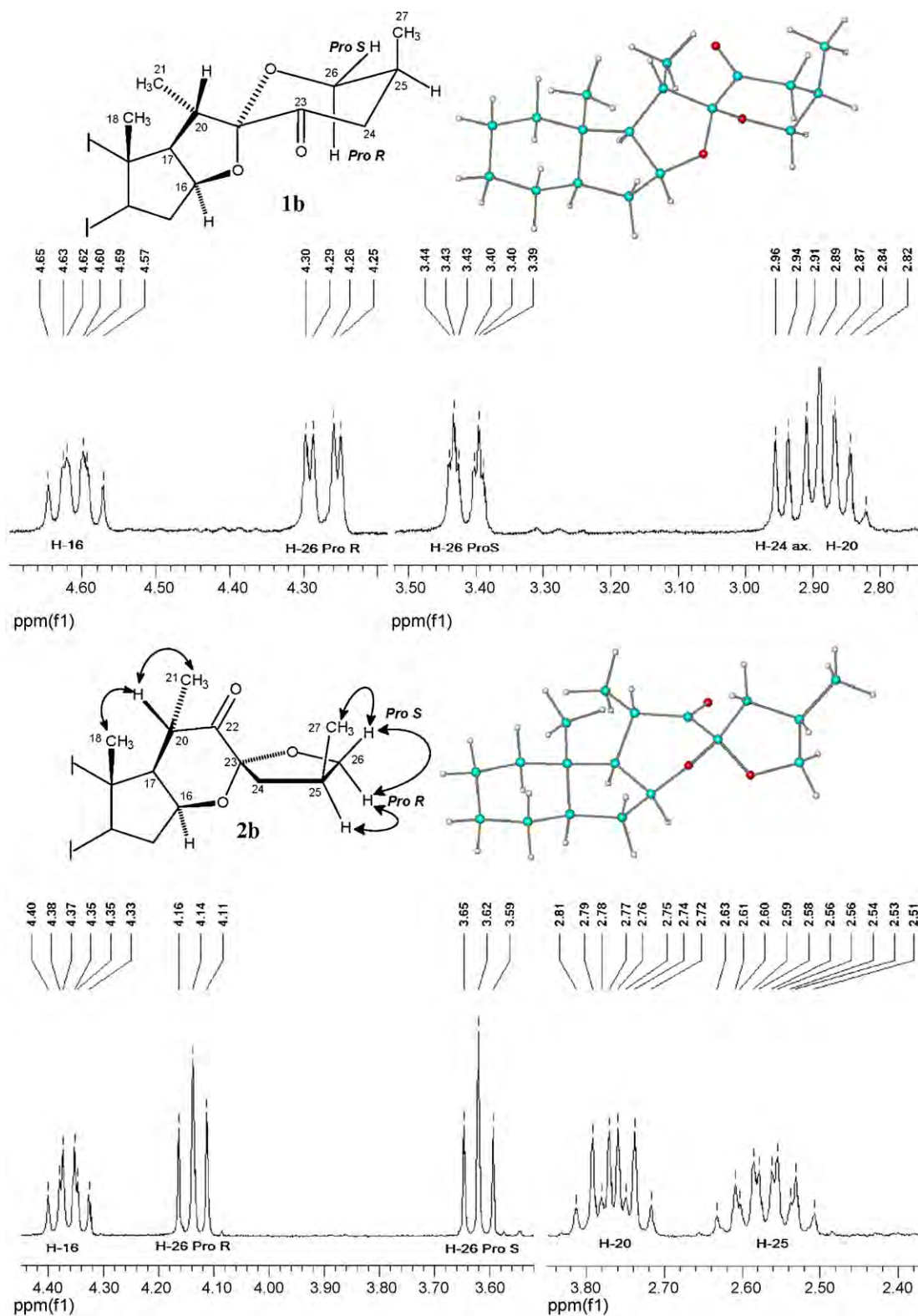


Fig. 5 – Selected <sup>1</sup>H signals [48], NOE correlations and models [49,50] of the side chains of 25S-ketones 1b and 2b.

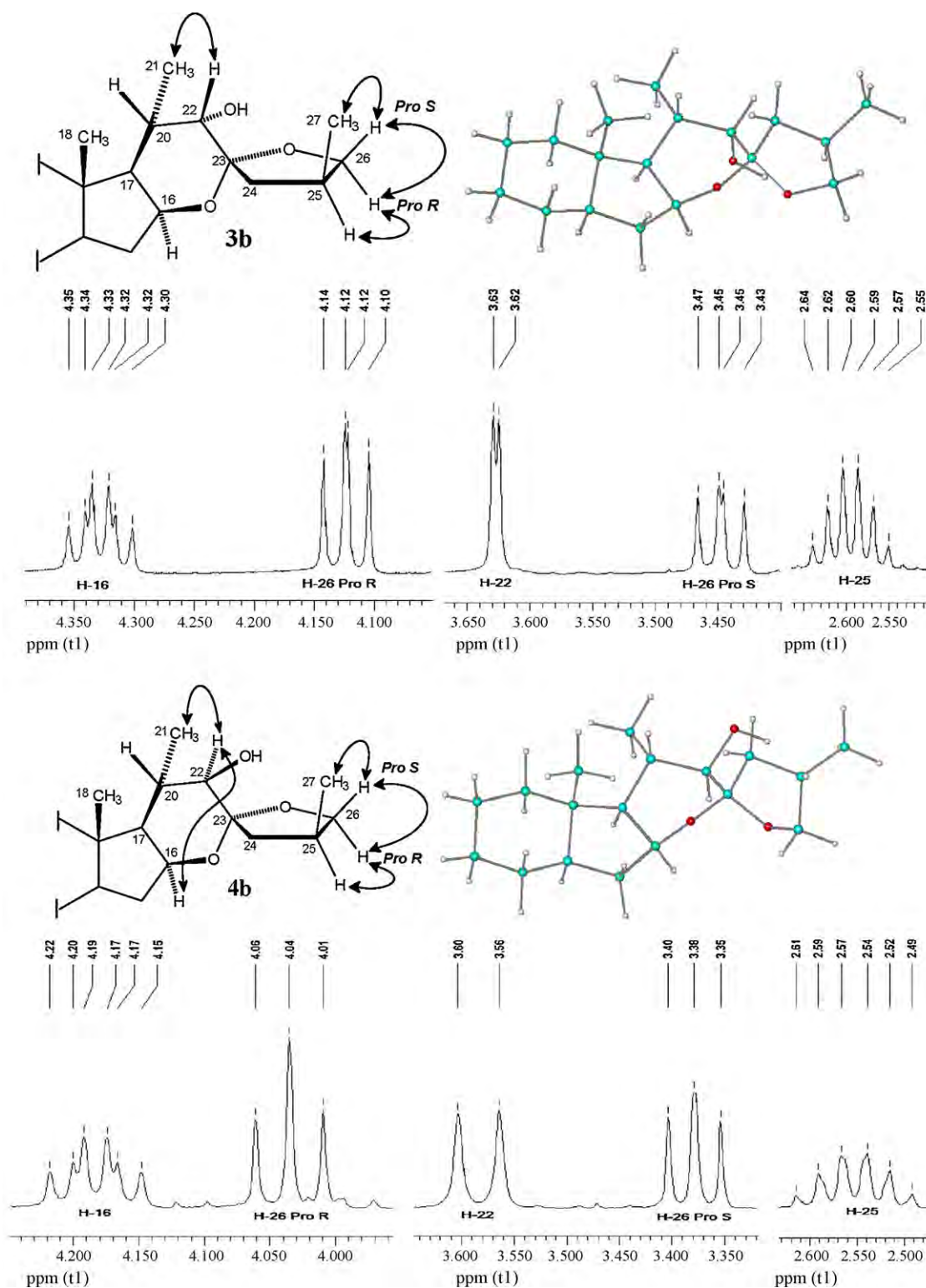


Fig. 6 – Selected  $^1\text{H}$  signals [48], NOE correlations and models [49,50] of the side chains of (25S)-alcohols **3b** and **4b**.

**Table 3 –  $^{13}\text{C}$  chemical shifts (ppm) of 23-oxosapogenins and rearranged products**

C#	25R				25S			
	1a	2a	3a	4a	1b	2b	3b	4b
1	35.0	34.9	35.0	35.0	30.6	30.5	30.6	30.5
2	26.5	26.5	26.6	26.6	25.0	24.9	25.0	24.9
3	74.2	74.1	74.1	74.3	70.6	70.5	70.7	70.7
4	32.2	32.9	32.2	32.2	30.7	30.6	30.7	30.7
5	41.6	41.7	41.8	41.8	37.3	37.2	37.3	37.3
6	26.9	26.5	26.9	26.9	26.4	26.3	26.4	26.3
7	26.6	26.8	26.5	26.4	26.4	26.3	26.5	26.4
8	35.4	35.4	35.3	35.3	35.2	35.2	35.2	35.1
9	40.5	40.4	40.6	40.5	40.0	40.5	40.1	40.0
10	34.7	34.6	34.7	34.6	35.0	34.9	35.0	34.9
11	20.5	20.6	20.6	20.5	20.8	20.8	20.8	20.7
12	39.9	40.1	40.4	40.3	40.0	40.0	40.4	40.3
13	41.1	42.9	41.4	41.9	41.2	42.9	41.5	41.9
14	56.4	53.1	53.3	53.5	56.5	53.1	53.4	53.5
15	31.7	32.1	33.6	33.5	31.7	32.8	33.6	33.4
16	83.4	72.9	73.3	71.7	83.5	72.1	72.5	70.8
17	61.8	57.6	52.8	60.3	61.8	57.4	52.9	60.2
18	16.1	14.7	14.8	14.9	16.2	14.7	14.8	14.9
19	23.3	23.3	23.3	23.3	23.8	23.8	23.9	23.8
20	34.7	39.9	33.8	34.8	35.1	39.8	33.3	31.5
21	14.3	12.9	15.4	15.9	14.2	13.0	17.8	17.1
22	109.8	213.1	76.3	76.0	110.7	213.3	76.8	74.7
23	201.8	107.9	108.3	112.2	202.3	107.6	107.9	111.9
24	45.2	43.8	45.1	40.4	43.9	44.3	45.6	38.5
25	35.8	33.3	29.4	30.9	33.7	32.7	30.1	32.1
26	65.6	75.2	74.3	73.4	64.5	76.1	74.3	74.1
27	17.0	16.4	18.0	16.9	17.7	17.1	17.9	18.1
CH <sub>3</sub> Ac	21.4	21.4	21.5	21.4	21.5	21.5	21.5	21.5
C=O Ac	170.5	170.6	170.7	170.6	170.7	170.7	170.7	170.7

**Table 4 – Effects of different transformations on  $^{13}\text{C}$  NMR of the side chain ( $\Delta$ , ppm)**

C#	25R			25S		
	2a (22-C-O) <sup>a</sup>	3a (22 $\alpha$ -OH) <sup>b</sup>	4a (22 $\beta$ -OH) <sup>b</sup>	2b (22-C-O) <sup>a</sup>	3b (22 $\alpha$ -OH)	4b (22 $\beta$ -OH) <sup>b</sup>
16	-10.5	+0.4	-1.2	-11.4	+0.4	-1.3
17	-4.2	-4.8	+2.7	-4.4	-4.5	+2.8
18	-1.4	+0.1	+0.2	-1.5	+0.1	+0.2
20	+5.2	-6.1	-5.1	+4.7	-6.5	-8.3
21	-1.4	+2.5	+3.0	-1.2	+4.8	+4.1
22	+103.3	-136.8	-137.1	+102.6	-136.5	-138.6
23	-93.9	+0.4	+4.3	-94.7	+0.3	+4.3
24	-1.4	+1.3	-3.4	+0.4	+1.3	-5.8
25	-2.5	-3.9	-2.4	-1.0	-2.6	-0.6
26	+9.6	-0.9	-1.8	+11.6	-1.8	-2.0
27	-0.6	+1.6	+0.5	-0.6	+0.8	+1.0

<sup>a</sup> From the corresponding 23-oxosapogenin **1a** or **1b** (see Table 3).

<sup>b</sup> From the corresponding 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-22-one **2a** or **2b** (see Table 3).

## 5. Conclusions

We here provide and rationalize the main NMR characteristics of steroids bearing the 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy moiety that constitute interesting starting materials for the synthesis of steroids containing highly functionalized side chains. Although steroid sapogenins containing the 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy side chains have not been isolated from natural sources, the results presented in the paper provide useful cri-

teria for the identification and analysis of similar spirocyclic compounds of either natural or synthetic origin.

## Acknowledgements

We thank Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) for financial support via project IN200105. We are indebted to Rosa I. del Villar Morales and Víctor M. Arroyo Sánchez (USAI-UNAM) for registering NMR spectra. One of the

authors, M.M.A., thanks CONACyT for a scholarship. Thanks are due to Professors José M. Mendez-Stivalet and John Boulton for correction of the manuscript.

## REFERENCES

- [1] Viñas-Bravo O, Hernández-Linares G, Mata-Esma MY, Martínez-Pascual R, Montiel-Smith S, Meza-Reyes S, et al. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR of synthetic steroid sapogenins. Part II. C-23 Substituted derivatives of (25S)-spirostanes. *Arkivoc* 2003;XI:163–71.
- [2] Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Tagliatalata-Scafati O. Sapogenins of *Allium porrum* L. *J Agric Food Chem* 1998;46:4904–8.
- [3] Carotenuto A, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, De Feo V, Carnuccio R, et al. Porrigenins A and B, novel cytotoxic and antiproliferative sapogenins isolated from *Allium porrum*. *J Nat Prod* 1997;60:1003–7.
- [4] Carotenuto A, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Carnuccio R, D'Acquisto F. 12-Keto-porrigenin and the unique 2,3-seco-porrigenin, new antiproliferative sapogenins from *Allium porrum*. *Tetrahedron* 1997;53:3401–6.
- [5] Corbiere C, Liagre B, Terro F, Beneytout JL. Induction of antiproliferative effect by diosgenin through activation of p53, release of apoptosis-inducing factor (AIF) and modulation of caspase-3 activity in different human cancer cells. *Cell Res* 2004;14:188–96.
- [6] Corbiere C, Liagre B, Bianchi A, Bordji K, Dauca M, Netter P, et al. Different contribution of apoptosis to the antiproliferative effects of diosgenin and other plant steroids, hecogenin and tigogenin, on human 1547 osteosarcoma cells. *Int J Oncol* 2003;22:899–905.
- [7] Raju J, Patlolla JMR, Swamy MV, Rao CV. Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek), inhibits azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1392–8.
- [8] Liagre B, Vergne-Salle P, Corbiere C, Charissoux JL, Beneytout JL. Diosgenin, a plant steroid, induces apoptosis in human rheumatoid arthritis synoviocytes with cyclooxygenase-2 overexpression. *Arthritis Res Ther* 2004;6:R373–83.
- [9] Torgov IV. Chemistry of spirostanols. Russia: Nauka; 1986.
- [10] Lee E, Liu YT, Solomon PH, Nakanishi K. Stereospecific conversion of diosgenin to  $\alpha$ -ecdysone. *J Am Chem Soc* 1976;98:1634–5.
- [11] Iglesias-Arteaga MA, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Síntesis de Espirobrasinoesteroides análogos de la 6-desoxocastasterona. *Quim Nova* 1997;20:361–4.
- [12] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Spirostanic analogues of testosterone. Synthesis, characterization and biological activity of laxogenin, (23S)-hydroxylaxogenin and 23-ketolaxogenin (23-oxolaxogenin). *J Chem Soc Perkin Trans* 2001;1:261–6.
- [13] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Spirostanic analogues of castasterone. *Steroids* 2002;67:159–63.
- [14] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. (22R,25R)-5 $\alpha$ -furostan-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,26-triol. *J Chem Res (S)* 1996:504–5.
- [15] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Synthesis of (22R,25R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ , 26-trihydroxy-5 $\alpha$ -furostan-6-one. *Synth Commun* 1998;28:1779–84.
- [16] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Rosado A, Coll-Manchado F. Synthesis of (22R,25R)-3 $\beta$ ,26-dihydroxy-5 $\alpha$ -furostan-6-one. *Synth Commun* 1998;28:1381–6.
- [17] Romero-Avila M, de Dios-Bravo MG, Mendez-Stivalet JM, Rodríguez-Sotres R, Iglesias-Arteaga MA. Synthesis and biological activity of furostanic analogues of brassinosteroids bearing the 5 $\alpha$ -hydroxy-6-oxo moiety. *Steroids* 2007;72:955–9.
- [18] Gryszkiewicz-Wojtkielewicz A, Jastrzebska I, Morzycki JW, Romanowska DB. Approaches towards the synthesis of cephalostatins, ritterazines and saponins from *Ornithogalum saundersiae*—new natural products with cytostatic activity. *Curr Org Chem* 2003;7:1257–67.
- [19] Fieser L, Fieser M. *Steroids. USA: Reinhold; 1959.*
- [20] Hernández R, Marrero-Tellado JJ, Prout K, Suárez E. Lewis acid-mediated isomerisation of (25R)-3 $\beta$ -acetoxy-5 $\alpha$ -spirostan-23-one, a C-22 spiroacetal: an approach to the synthesis of C-23 spiroacetal steroidal sapogenins. *J Chem Soc Chem Commun* 1992: 275–7.
- [21] Betancor C, Dorta RL, Freire R, Martin A, Prange T, Suárez E. Stereospecific synthesis of 1,6-dioxadecalins and 2,2'-linked ditetrahydrofurans by rearrangement of steroidal spiroacetals. *J Org Chem* 1998;63:6355–62.
- [22] LaCour TG, Tong Z, Fuchs PL. Consequences of acid catalysis in concurrent ring opening and halogenation of spiroketals. *Org Lett* 1999;1:1815–8.
- [23] Cheng MS, Wang QL, Tian Q, Song HY, Liu YX, Li Q, et al. Total synthesis of methyl protodioscin: a potent agent with antitumor activity. *J Org Chem* 2003;68:3658–62.
- [24] Sandoval-Ramírez J, Meza-Reyes S, del Río RE, Hernández-Linares G, Suárez-Rojas A, Rincón S, et al. Regioselective cleavage of rings E and F in sarsasapogenin. *Steroids* 2003;68:199–204.
- [25] Meza-Reyes S, Sandoval-Ramírez J, Montiel-Smith S, Hernández-Linares G, Viñas-Bravo O, Martínez-Pascual R, et al.  $\beta$ -Alkoxy- $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone systems in steroidal frameworks, and their conversion to 23,24-bisnorcholane lactones. *Arkivoc* 2005;VI:307–20.
- [26] López L, Santillán R, Farfán N. New bisfuran derivative from sarsasapogenin: an X-ray and NMR analysis. *Steroids* 2006;71:12–7.
- [27] Cyranski MK, Frelek J, Jastrzebska I, Morzycki JW. Rearrangement of 23-oxospirostanes to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids—X-ray crystal structure of (23R,25S)-3 $\beta$ -acetoxy-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-22-one. *Steroids* 2004;69:395–400.
- [28] Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO, Méndez-Stivalet JM. The unexpected course of the reaction of steroid sapogenins with diacetoxyiodobenzene and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in formic acid. *Tetrahedron Lett* 2007;48:7485–8.
- [29] Morzycki JW, Jastrzebska I. Novel transformation of 23-bromosapogenins. Synthesis of (22S,23R)-22-hydroxy-23,26-epoxyfurostanes. *Tetrahedron Lett* 2001;42:5989–91.
- [30] Anulewicz-Ostrowska R, Morzycki JW, Jastrzebska I, Wojcik J. An assisted solvolysis of 23-spirostanyl bromides and tosylates. A new rearrangement of spirostanes to the bisfuran systems. *J Org Chem* 2002;67:6916–24.
- [31] Iglesias-Arteaga MA, Sandoval-Ramírez J, Mata-Esma MY, Viñas-Bravo O, Bernès S. Abnormal Beckmann rearrangement in 23-hydroxyiminodiosgenin acetate. *Tetrahedron Lett* 2004;45:4921–6.
- [32] Jastrzebska I, Morzycki JW, Trochimowicz U. Lead tetraacetate-iodine oxidation of 23-spirostanols. *Tetrahedron Lett* 2004;45:1929–32.

- [33] Jastrzêbska I, Morzycki JW. Unusual Baeyer-Villiger oxidation of 23-oxosarsasapogenin acetate. *Polish J Chem* 2005;79:1245–8.
- [34] Morzycki JW, López Y, Płoszyńska J, Santillan R, Siergiejczyk L, Sobkowiak A. *J Electroanal Chem* 2007;610:205–10.
- [35] Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA, Méndez-Stivalet JM, Galano A, Álvarez-Idaboy JR. The Baeyer-Villiger reaction of 23-oxosapogenins. *Arkivoc* 2005;VI:109–26.
- [36] Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA. Favorskii rearrangement of 23-oxo-3-epi-smilagenin acetate induced by iodobenzene. *Tetrahedron Lett* 2005;46:6897–9.
- [37] Iglesias-Arteaga MA, Jastrzêbska I, Morzycki JW. Reactions of sapogenins with *m*-chloroperoxybenzoic acid catalyzed by Lewis acids. *Polish J Chem* 2006;80:667–71.
- [38] Iglesias-Arteaga MA, Alvarado-Nuño AA. BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O induced Beckmann rearrangement of 23-hydroxyiminosapogenins. A shortcut to bisnorcholanolic lactones. *Tetrahedron Lett* 2006;47:5351–3.
- [39] Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO. One-step axial acetoxylation at C-23. A new method for the functionalization of the side chain of steroid sapogenins. *Tetrahedron Lett* 2006;47:8029–31.
- [40] Eggert H, Djerassi C. <sup>13</sup>C NMR spectra of sapogenins. *Tetrahedron Lett* 1975;16:3635–8.
- [41] Tori K, Seo S, Yoshihiro T, Nishikawa J. Carbon-13 NMR spectra of 5β-steroidal sapogenins. Reassignment of the F-ring carbon signals of (25S)-spirostans. *Tetrahedron Lett* 1981;22:2405–8.
- [42] Agrawal PK, Jain DC, Gupta RK, Thakur RS. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins. *Phytochemistry* 1985;24:2479–96.
- [43] Agrawal PK, Jain DC, Pathak AK. NMR Spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins: an update. *Magn Reson Chem* 1995;33:923–53.
- [44] Agrawal PK, Bunsawansong P, Morris GA. Complete assignment of the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of steroidal sapogenins: smilagenin and sarsasapogenin. *Magn Reson Chem* 1997;35:441–6.
- [45] Agrawal PK, Morris GA, Bunsawansong D. Dependence of the <sup>1</sup>H NMR chemical shifts of ring F resonances on the orientation of the 27-methyl group of spirostane-type steroidal sapogenins. *Phytochemistry* 1998;47: 255–7.
- [46] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Martínez CS, Pérez-Gil R, Coll-Manchado F. <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR spectra of synthetic (25R)-5α-spirostanes. *J Chem Res (S)* 1999: 48–9.
- [47] Agrawal PK. 25R/25S stereochemistry of spirostane-type steroidal sapogenins and steroidal saponins via chemical shift of geminal protons of ring-F. *Magn Reson Chem* 2003;41:965–8.
- [48] All NMR spectra were recorded at room temperature using a Varian Unity INOVA spectrometer operating at resonance frequencies of 400 and 100 MHz for <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C nuclei, respectively. Samples were prepared in 0.5 mm tubes by dissolving the steroid (50 mg) in CDCl<sub>3</sub> (0.5 ml). The references employed were TMS for <sup>1</sup>H experiments and the CDCl<sub>3</sub> signal at 77.0 ppm for <sup>13</sup>C experiments. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra were processed and displayed using the NMR processing system MestReC v. 4.9.9.6. [www.mertrelab.com](http://www.mertrelab.com).
- [49] Optimized geometries of the side chains fragment were obtained using PM3 implemented in, MOPAC 6.00, QCPE 455, 1990 Stewart JJP. Optimization of parameters for semiempirical methods. I. Method. *J Comput Chem* 1989;10:209–20.
- [50] All molecular graphics displayed with HyperChem v. 5.02 for Windows 95/NT. HyperCube; 1997.



available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)journal homepage: [www.elsevier.com/locate/steroids](http://www.elsevier.com/locate/steroids)

# Beckmann reactions of steroidal spirocyclic oximes derived from the 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-22-oxo moiety

Mariana Macías-Alonso, Marcos Flores-Alamo, Martín A. Iglesias-Arteaga\*

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 México D.F., Mexico

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 30 July 2008

Received in revised form

20 September 2008

Accepted 26 September 2008

Published on line 17 October 2008

### Keywords:

16 $\beta$ ,23:23,26-Diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-22-one

Isomeric oximes

Beckmann rearrangement

Beckmann fragmentation

## ABSTRACT

The Beckmann rearrangement of the syn and anti isomers of the spirocyclic oxime derived from a 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-22-one was studied. Whereas the anti isomer always follows the Beckmann fragmentation course, the syn isomer, depending on the reaction conditions, follows the normal Beckmann rearrangement course and/or the isomerization to the anti isomer followed by the fragmentation course.

© 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.

## 1. Introduction

For nearly one century, steroid sapogenins have attracted considerable attention due to their intrinsic biological activity or their utility as starting materials for the synthesis of diverse bioactive steroids. Several members of this family have served as starting materials in the synthesis of steroid hormones [1], ecdysteroids [2] and more recently analogues of brassinosteroids [3–8], cephalostatins [9–11] and the potent anticancer agent OSW-1 [12]. The search for new reactions of the spiroketal side chain initiated in the mid part of the last century provided most of the synthetic methods for the preparation of such bioactive compounds. More recently, after a period of relative low activity in this field, new reactions of the spiroketal side chain are being reported [13–31]. Some of those reports have provided new synthetic alternatives that pave the way to known or novel bioactive compounds. In this context, the study of the reactivity of steroid sapogenins and their deriva-

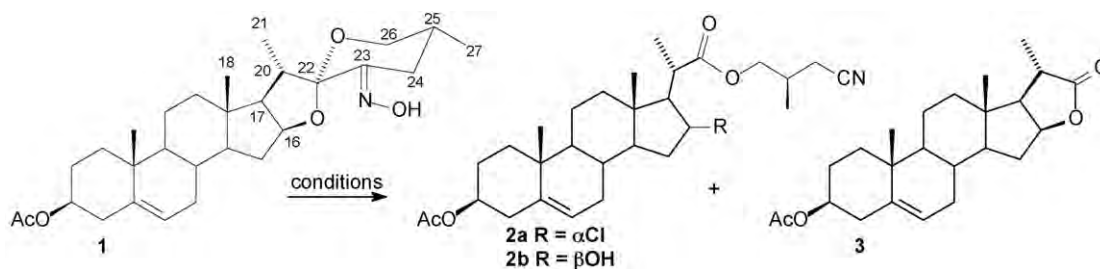
tives is still a source of novel reactions and compounds that may be of biological and/or synthetic interest.

We have devoted particular attention to the study of the reactivity of steroid sapogenins bearing different functional groups at position C-23 of the spiroketal side chain [21,24–31]. In particular, our previous studies on the Beckmann rearrangement of 23-hydroxyiminodiosgenin showed that whereas POCl<sub>3</sub>/pyridine treatment of 23-hydroxyiminodiosgenin acetate (**1**) produces a mixture of the nitriles **2a** and **2b** and the dinorcholanic lactone *vespertiline* **3** [21], an improved yield of **3** can be obtained by treatment of the same oxime with BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in acetic acid (Scheme 1 and Table 1) [26].

Rearrangement of 23-oxosapogenins to 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-22-ones by treatment with TiCl<sub>4</sub> in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was first described by Suárez and co-workers [13]. A similar rearrangement, but with lower yield, was observed by Morzycki when 23-oxosapogenins were treated with BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in THF [18]. We have recently reported that treatment of steroid sapogenins

\* Corresponding author. Tel.: +52 55 56223704; fax: +52 55 56223722.

E-mail address: [martin.iglesias@servidor.unam.mx](mailto:martin.iglesias@servidor.unam.mx) (M.A. Iglesias-Arteaga).  
0039-128X/\$ – see front matter © 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.  
doi:10.1016/j.steroids.2008.09.013



Scheme 1 – Beckmann rearrangement of 23-hydroxyiminosapogenins.

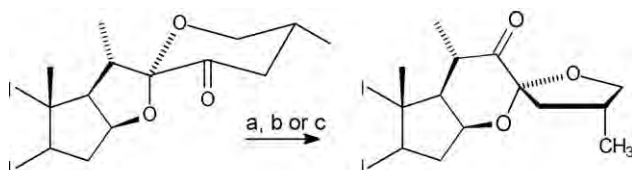
with  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in formic acid constitutes a convenient alternative for this isomerization (Scheme 2) [29].

Those results prompted us to study the Beckmann rearrangement of oximes derived from such a rearranged skeleton; herein we report on the Beckmann rearrangement of oximes derived from 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-22-oxo side chain.

## 2. Experimental

### 2.1. General conditions

Reactions were monitored by TLC on silica gel plates sprayed with a 1% solution of vanillin in 50%  $\text{HClO}_4$  and heated until color developed. 1D and 2D NMR spectra were recorded at 23 °C in  $\text{CDCl}_3$  (300 and 75 MHz for  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ , respectively) using TMS for  $^1\text{H}$  or the solvent signal for  $^{13}\text{C}$  as reference.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR signals assignments were made with the aid of DEPT and a combination of 2D homonuclear ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) and heteronuclear ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) correlation techniques, which included  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  Nuclear Overhauser effect (NOESY),  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HETCOR, Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC) and Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC). All 2D NMR spectra were recorded by using the standard pulse sequences and parameters recommended by the manufacturer. Melting points were measured in open capillary and are uncorrected.



- a)  $\text{TiCl}_4$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (87 %); b)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in THF (3 %);  
c)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in  $\text{HCOOH}$  (61–86 %).

Scheme 2 – Rearrangement of 23-oxosapogenins.

Table 1 – Results of Beckmann rearrangement of 23-hydroxyiminosapogenins.

Product	$\text{POCl}_3/\text{pyridine}$	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}/\text{AcOH}$
2a	34%	–
2b	9%	–
3	8%	84%

(23R, 25R)-3 $\alpha$ -Acetoxy-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-22-one (5).  $\text{TiCl}_4$  (0.8 ml) was added to a solution of 23-oxo-3-epismilagenin acetate (4) [24] (1.4170 g, 3 mmol) in dry  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (60 ml) and the mixture was stirred for 30 min. Water (30 ml) was added and the separated organic layer was washed with 5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ( $3 \times 10$  ml), 10%  $\text{HCl}$  ( $1 \times 15$  ml), and saturated  $\text{NaCl}$  ( $3 \times 15$  ml), dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) and evaporated to afford (1.3034 g, 92%) of the rearranged ketone 5. mp 184–186 °C (recrystallized from ethyl acetate hexane).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 4.70 (m, 1H, H-3); 4.35 (ddd, 1H,  $J = 6.3, 8.1, 8.1$  Hz, 1H, H-16); 4.12 (dd, 1H,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, H-26 *pro-S*); 3.52 (dd, 1H,  $J = 8.2, 9.0$  Hz, H-26 *pro-R*); 2.79 (m, 1H, H-20); 2.40 (m, 1H, H-25); 2.00 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 1.07 (d, 3H,  $J = 6.4$  Hz, H-21); 1.03 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz, H-27); 0.94 (s, 6H, H-18 and H-19).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: C-1 34.9; C-2 26.5; C-3 74.1; C-4 32.9; C-5 41.7; C-6 26.5; C-7 26.8; C-8 35.4; C-9 40.4; C-10 34.6; C-11 20.6; C-12 40.1; C-13 42.9; C-14 53.1; C-15 32.1; C-16 72.9; C-17 57.6; C-18 14.3; C-19 23.3; C-20 39.9; C-21 12.9; C-22 213.1; C-23 107.9; C-24 43.8; C-25 33.3; C-26 75.2; C-27 16.4;  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4; C=O acetyl 170.6. MS-FAB: 473  $\text{MH}^+$ , 315, 284, 255 (100%). 107, 91, 55, 43. HRMS-FAB: observed 473.3263  $\text{MH}^+$ ; estimated for  $\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{O}_5$  473.3267.

(23R, 25R)-22-Hydroxyimino-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol acetate; *anti*-6 and *syn*-6 isomers. Hydroxylamine hydrochloride (2.085 g, 30 mmol dissolved in 5 ml of water) and sodium acetate (2.470 g, 30.1 mmol dissolved in 5 ml of water) were added to a suspension of the ketone 5 (945 mg, 2 mmol) in ethanol (80 ml) and the mixture was refluxed for 4 h. The solvent was reduced by evaporation to 25 ml, cold water (100 ml) was added, the produced solid was filtered off, washed with plenty of water and dried in air steam to afford 910 mg (93.3%) of the mixture of *anti*-6 and *syn*-6 (*anti*/*syn* relation 1.7/1, determined by comparative integration of the signals of H-26 *pro-S* in both isomers). Chromatographic separation in 30 g of silica gel using hexane/ethyl acetate 6/1 mixture for elution afforded 559.8 mg (57.4%) of *anti*-6 and 337.2 mg (34.6%) of the more polar *syn*-6.

*Anti*-(23R, 25R)-22-hydroxyimino-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol acetate (*anti*-6). mp 186–188 °C (recrystallized from acetone hexane).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 4.72 (m, 1H, H-3); 4.62 (ddd,  $J = 7.68, 7.61, 3.55$  Hz, 1H, H-16); 4.04 (dd,  $J = 7.79, 7.79$  Hz, 1H, H-26 *pro-S*); 3.48 (dd,  $J = 8.39, 8.39$  Hz, 1H, H-26 *pro-R*); 3.37 (m, 1H, H-20); 2.84 (dd,  $J = 13.11, 9.30$  Hz, 1H, H-24 *pro-R*); 2.33 (m, 1H, H-25); 2.15 (td,  $J = 13.13, 7.73, 7.73$  Hz, 1H, H-15 $\alpha$ ); 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 1.31 (d,  $J = 7.40$  Hz, 3H, H-21); 1.06 (d,  $J = 6.72$  Hz, 3H, H-27); 0.93 (s, 3H, H-19); 0.68 (s, 3H, H-18).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: C-1 35.1; C-2 26.4; C-3 74.3; C-4 32.2; C-5 41.9; C-6 26.9; C-7 26.6; C-8 35.5; C-9 41.0; C-10 34.7; C-11 20.0; C-12 37.3; C-13 43.2; C-14 57.2; C-15 33.8; C-16 69.7; C-17 53.6; C-18 13.1; C-19 23.3; C-20 24.5; C-21 20.8; C-22 159.0; C-23 106.0; C-24 41.6; C-25 32.6; C-26 74.7; C-27 17.8;  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4; C=O acetyl 170.7. MS (70 eV): 487  $\text{M}^+$ , 470 (100%), 310, 255, 168, 152, 107, 93, 55, 43. HRMS EI: observed 487.3306  $\text{M}^+$ ; estimated for  $\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{NO}_5$  487.3298.

Syn-(23R, 25R)-22-hydroxyimino-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol acetate (*syn-6*). Colorless oil.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 4.71 (m, 1H, H-3); 4.28 (ddd,  $J=8.10, 8.09, 8.09$  Hz, 1H, H-16); 4.19 (dd,  $J=7.68, 7.68$  Hz, 1H, H-26 *pro-S*); 3.54 (dd,  $J=8.16, 8.16$  Hz, 1H, H-26 *pro-R*); 2.52 (m, 1H, H-20); 2.55 (m, 1H, H-25); 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 1.13 (d,  $J=6.42$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ -21); 1.09 (d,  $J=6.52$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ -27); 0.94 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 0.86 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -18).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: C-1 34.9; C-2 26.5; C-3 74.2; C-4 32.2; C-5 41.7; C-6 26.9; C-7 26.5; C-8 35.1; C-9 40.4; C-10 34.6; C-11 20.6; C-12 40.4; C-13 42.4; C-14 56.9; C-15 32.6; C-16 72.3; C-17 52.7; C-18 14.4; C-19 23.3; C-20 33.2; C-21 14.7; C-22 160.4; C-23 106.9; C-24 43.9; C-25 33.1; C-26 74.3; C-27 17.9;  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4; C=O acetyl 170.7. MS (70 eV): 487  $\text{M}^+$ , 470, 310, 255, 83 (100%), 43. HRMS EI: observed 487.3298  $\text{M}^+$ ; estimated for  $\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{NO}_5$  487.3298.

## 2.2. Beckmann rearrangement of anti-6

$\text{POCl}_3$  (0.3 ml) was added dropwise to a solution of *anti-6* (100 mg, 0.21 mmol) in pyridine (5 ml) and the mixture was stirred at room temperature for 1 h before addition of water (15 ml). The mixture was extracted with ethyl acetate (2  $\times$  25 ml) and the organic layer was washed with HCl 10% (2  $\times$  20 ml) and water (5  $\times$  20 ml) the organic layer was dried (anh.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) and evaporated. Chromatographic separation in silica gel (solvent mixture: hexane/ethyl acetate 9/1) of the residue afforded the chlorinated nitrile (**7**) (91.1 mg, 0.18 mmol, 85.7%).

(20S)-3 $\alpha$ -acetoxy-20-cyano-5 $\beta$ -pregnan-16 $\beta$ -yl (3'R)-(4'-chloro-3'-methyl)-pentanoate (**7**). mp 130–132 °C (recrystallized from ethyl acetate).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 5.27 (ddd,  $J=7.93, 7.88, 4.14$  Hz, 1H, H-16); 4.72 (m, 1H, H-3); 3.59 (dd,  $J=10.88, 4.93$  Hz, 1H, H-4'); 3.50 (dd,  $J=10.85, 5.35$  Hz, 1H, H-4'); 2.91 (m, 1H, H-20); 2.56 (dd,  $J=15.12, 6.07$  Hz, 1H, H-2'); 2.29 (dd,  $J=15.12, 7.15$  Hz, 1H, H-2'); 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 1.40 (d,  $J=7.08$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ -21); 1.09 (d,  $J=6.55$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ -3''); 0.94 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 0.86 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -18).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: C-1 34.9 $\#$ ; C-2 26.0; C-3 74.0; C-4 32.1; C-5 41.6; C-6 26.7; C-7 26.5; C-8 35.2; C-9 40.4; C-10 34.5; C-11 20.4; C-12 39.5; C-13 42.8; C-14 56.8; C-15 34.8 $\#$ ; C-16 74.8; C-17 53.9; C-18 12.9; C-19 23.2; C-20 23.0; C-21 17.4; C-22 122.8; C-1' 171.3; C-2' 38.3; C-3' 32.3; C-3'' 17.9; C-4' 50.1;  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4; C=O acetyl 170.6 ( $\#$ interchangeable). MS (70 eV): 506  $\text{M}^+$ , 445, 309 (100%), 294, 255, 215, 119, 93, 93, 55, 43. Anal. calcd. for  $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{ClNO}_4$ : C, 68.77; H, 8.91; N, 2.50. Found: C, 68.87; H, 8.97; N, 2.52. Crystal data for **7**:  $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{ClNO}_4$ ,  $M=506.10$  g mol $^{-1}$ , colorless trigonal prism, 0.50 mm  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.20 mm, monoclinic, space group P2(1), cell parameters  $a=12.1460(12)$  Å,  $b=6.3530(12)$  Å,  $c=18.553(2)$  Å,  $\beta=92.855(9)^\circ$ ,  $Z=2$ ,  $D_c=1.176$  g cm $^{-3}$ . 5358 reflections collected on a Siemens P4 four-cycle diffractometer at room temperature, with the Mo  $K\alpha$  radiation

( $\lambda=0.71073$  Å) in the range  $2\theta=3.92$ – $58.06^\circ$ , of which 4764 are unique ( $R_{\text{int}}=0.0236$ ). Goodness-of-fit on  $F^2=1.025$ , final  $R$  indices [ $I>2\sigma(I)$ ]  $R_1=0.0589$ ,  $wR_2=0.1160$ ,  $R$  indices (all data)  $R_1=0.1258$ ,  $wR_2=0.1427$ , largest difference peak and hole 0.192 and  $-0.220$  e Å $^{-3}$ . The structure was solved using the SIR20048d and refined using SHELXL97 [32]. Hydrogen atoms attached to C atoms were placed in geometrically idealized positions and refined as riding on their parent atoms, with  $C-H=0.93$ – $0.98$  Å and with  $U_{\text{iso}}(H)=1.2U_{\text{eq}}(C)$ , or  $U_{\text{iso}}(H)=1.5U_{\text{eq}}(C)$  for methyl groups. In the absence of significant anomalous scattering, Friedel pairs were merged. The absolute configurations of each chiral center in compound **7** were assumed to be the same as those of the starting material.

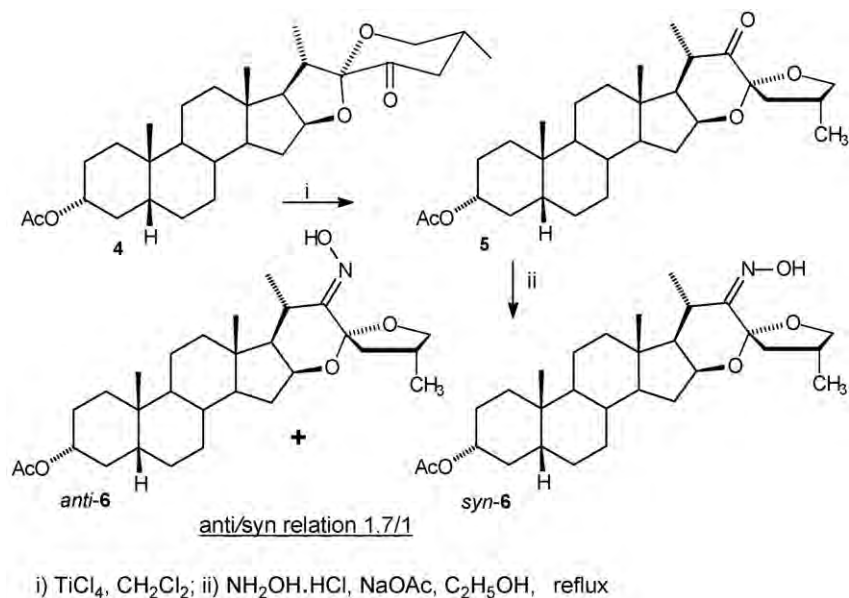
$\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  (1.5 ml) was added to a suspension of *anti-6* (200 mg, 0.4 mmol) in acetic acid (4.5 ml) and the mixture was stirred at room temperature for 72 h before addition of water and extraction with ethyl acetate (2  $\times$  30 ml). The combined organic extract were washed with 10% aqueous  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (5  $\times$  20 ml) until evolution of  $\text{CO}_2$  ceased and water (2  $\times$  30 ml), dried (anh.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) and evaporated. Chromatographic separation in silica gel of the residue (solvent mixture: hexane/ethyl acetate 10/1) afforded the acetylated nitrile **8** (157 mg, 0.3 mmol, 73.2%) and the dinorcholan lactone **9** (14 mg, 0.04 mmol, 9.8%).

(20S)-3 $\alpha$ -Acetoxy-20-cyano-5 $\beta$ -pregnan-16 $\beta$ -yl (3'R)-(4'-acetoxy-3'-methyl)-pentanoate (**8**). Colorless oil.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 5.26 (ddd,  $J=12.08, 4.99, 2.86$  Hz, 1H, H-16); 4.70 (m, 1H, H-3); 3.99 (dd,  $J=10.87, 5.53$  Hz, 1H, H-4'); 3.89 (dd,  $J=10.88, 6.29$  Hz, 1H, H-4'); 2.89 (m, 1H, H-20); 2.04 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 1.38 (d,  $J=7.09$  Hz, 3H, H-21); 1.00 (d,  $J=6.58$  Hz, 3H, H-3''); 0.92 (s, 3H, H-19); 0.84 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: C-1 34.9; C-2 26.0; C-3 74.0; C-4 32.1; C-5 41.6; C-6 26.7; C-7 26.5; C-8 35.2; C-9 40.3; C-10 34.5; C-11 20.4; C-12 39.5; C-13 42.8; C-14 56.7; C-15 34.8; C-16 74.7; C-17 53.9; C-18 12.9; C-19 23.2; C-20 22.9; C-21 17.5; C-22 122.7; C-1' 171.4; C-2' 38.2; C-3' 29.7; C-4' 68.2; C-3'' 16.7; C=O 170.5 acetyl; C=O 171.0 acetyl;  $\text{CH}_3$  acetyl 20.4;  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4. MS (70 eV): 530  $\text{MH}^+$ , 469, 369, 309 (100%), 255, 215, 101, 43. HRMS EI: observed 530.3491  $\text{MH}^+$ ; estimated for  $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{NO}_6$  530.3482.

3 $\alpha$ -Acetoxy-16-hydroxy-5 $\beta$ -dinorcholan acid-(22  $\rightarrow$  16) lactone (**9**). mp 153–155 °C (recrystallized from ethyl acetate hexane) identical as previously described [24].  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 4.95 (ddd,  $J=4.6, 7.8, 7.8$  Hz, 1H, H-16); 4.73 (m, 1H, H-3); 2.58 (dq,  $J=1.1, 7.6$  Hz, 1H, H-20); 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 1.32 (d,  $J=7.6$  Hz, 3H, H-21); 0.95 (s, 3H, H-19); 0.74 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: C-1 34.9; C-2 26.5; C-3 74.1; C-4 32.1; C-5 41.6; C-6 26.7; C-7 26.5; C-8 35.4; C-9 40.6; C-10 34.6; C-11 20.1; C-12 38.4; C-13 41.8; C-14 54.6; C-15 33.0; C-16 82.7; C-17 59.1; C-18 13.8; C-19 23.2; C-20 36.0; C-21 17.9; C-22 181.2.  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4, C=O acetyl 170.5.

## 2.3. Beckmann rearrangements of syn-6

Treatment of the oxime *syn-6* (100 mg, 0.21 mmol) with  $\text{POCl}_3$ /pyridine as described for *anti-6* afforded the chlorinated nitrile **7** (42.7 mg, 0.08 mmol, 38.1%) and the heterocyclic amide **10** (50.4 mg, 0.1 mmol, 47.6%).



Scheme 3 – Synthesis of isomeric oximes.

(4'S, 7'R, 10'R)-3 $\alpha$ -Acetoxy-[16 $\beta$ ,17 $\beta$ :2',3']-1',8'-dioxaspiro-[6,4]-5'-aza-4',10'-dimethylundecene-5 $\beta$ -androstan-6'-one (10). Colorless oil.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 5.96 (d,  $J=4.55$  Hz, 1H, NH, exchangeable with  $\text{D}_2\text{O}$ ); 4.69 (m, 1H, H-3); 4.32 (ddd,  $J=8.06$ , 8.03, 5.47 Hz, 1H, H-2'); 4.17 (dd,  $J=7.61$ , 7.61 Hz, 1H, H-9' *pro-S*); 3.96 (m, 1H, H-4'); 3.48 (dd,  $J=8.16$ , 8.16 Hz, 1H, H-9' *pro-R*); 2.45 (m, 1H, H-10'); 2.00 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 1.21 (d,  $J=6.69$  Hz, 3H, H-4''); 1.05 (d,  $J=6.62$  Hz, 3H, H-10''); 0.91 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -19); 0.82 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -18).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: C-1 34.9; C-2 26.5; C-3 74.2; C-4 32.1; C-5 41.7; C-6 26.8; C-7 26.3; C-8 34.9; C-9 40.3; C-10 34.5; C-11 20.3; C-12 39.6; C-13 41.4; C-14 53.7; C-15 34.1; C-18 13.3; C-19 23.2; C-2' 75.4; C-3' 63.2; C-4' 47.0; C-4'' 19.5; C-6' 172.9; C-7' 108.1; C-9' 74.8; C-10' 33.0; C-10'' 17.5; C-11' 45.3;  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4; C=O acetyl 170.7. MS (70 eV): 488  $\text{MH}^+$ , 387, 327, 315, 284 (100%), 255. HRMS EI: observed 488.3374  $\text{MH}^+$ ; estimated for  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{NO}_5$  488.3376.

Treatment of the oxime *syn*-6 (200 mg, 0.41 mmol) with  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  for 72 h as described for *anti*-6 afforded the acetoxyated nitrile **8** (159.6 mg, 0.3 mmol, 73.2%) and the dinorcholalic lactone **9** (14 mg, 0.04 mmol, 9.8%).

### 3. Results and discussion

The reaction of 23-oxo-3-epismilagenin acetate (**4**) with  $\text{TiCl}_4$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  [13] produced the (23R, 25R)-3 $\alpha$ -acetoxy-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-22-one (**5**) [30] which on

Table 3 – Results of Beckmann rearrangement of *anti*-6.

	$\text{POCl}_3/\text{pyridine}$	$\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}/\text{AcOH}$
Chlorinated nitrile <b>7</b>	85.7%	–
Acetoxyated nitrile <b>8</b>	–	73.2%
Dinorcholalic lactone <b>9</b>	–	9.8%

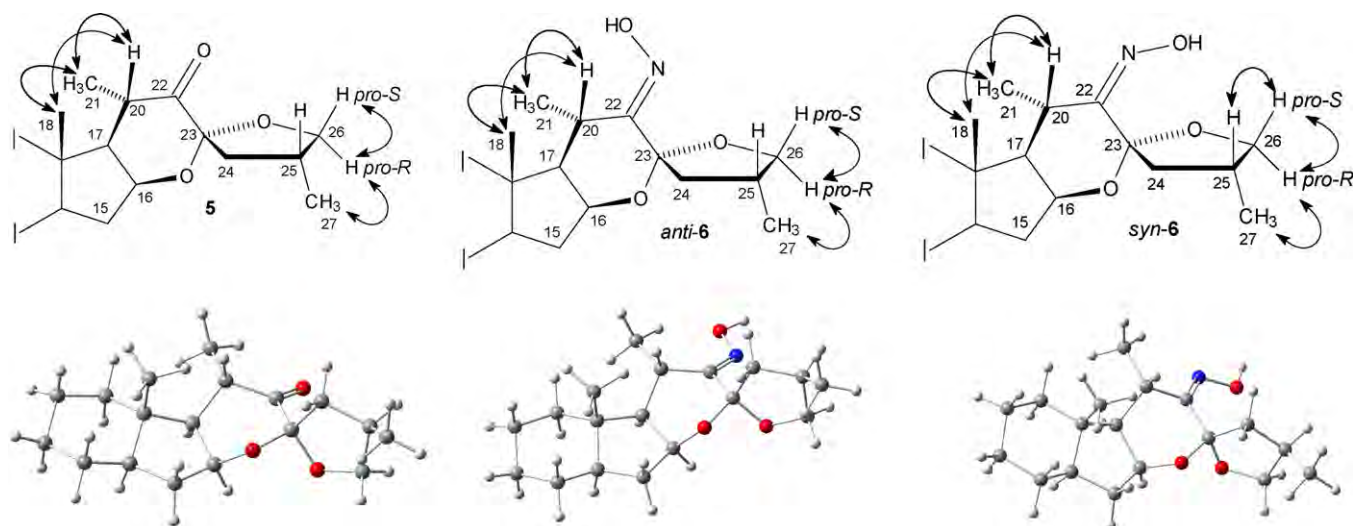
treatment with hydroxylamine hydrochloride and sodium acetate in refluxing ethanol for 4 h led to a mixture of the oximes *anti*-6 and *syn*-6 which were separated in a chromatographic column to afford the pure oximes in 57.4% and 34.6% yields, respectively (Scheme 3).

We have recently reported the assignments of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals corresponding to the side chain in the rearranged ketone **5** assisted by combined bidimensional experiments [30]. Similar methodology allowed the identification of the side chain signals in both *syn*-6 and *anti*-6 (Fig. 1, Table 2).

According to previous reports [33,34], the differentiation of *syn* and *anti* isomers of oximes derived from non-symmetric ketones has been based on the fact that protons placed in *syn* position to the hydroxyl group of the hydroxylimino moiety are deshielded due to steric compression exerted by the hydroxyl group. This effect results also on the shielding of the carbon atom placed in *syn* position and allowed the differentiation of *anti*-6 and *syn*-6. Deshielding of H-20 and H-21 as well as shielding of C-20 and C-21 are the consequence of the steric compression exerted by the hydroxyl group of the oxime over H-20 and H-21 due to  $\gamma$ - and  $\delta$ -*syn* interactions (Table 2).

Table 2 – Representative  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of compounds **5** [30], and the oximes *anti*-6 and *syn*-6 ( $\delta$ , ppm).

	H-16	C-16	H-18	C-18	H-20	C-20	H-21	C-21	C-22	H-25	C-25	H-26 <i>pro-R</i>	H-26 <i>pro-S</i>	C-26	H-27	C-27
<b>5</b>	4.35 ddd	72.9	0.94 s	14.3	2.79 m	39.9	1.07 d	12.9	213.1	2.40 m	33.3	3.52 dd	4.12 dd	75.2	1.03 d	16.4
<i>Anti</i> -6	4.62 ddd	69.7	0.68 s	13.1	3.37 m	24.5	1.32 d	20.8	159.0	2.33 m	32.6	3.48 dd	4.04 dd	74.7	1.06 d	17.8
<i>Syn</i> -6	4.28 ddd	72.3	0.86 s	14.4	2.52 m	33.2	1.15 d	14.7	160.4	2.55 m	33.1	3.54 dd	4.19 dd	74.3	1.04 d	17.9



**Fig. 1** – Selected NOE correlations and structure of the side chains of the ketone **5** [30] and the oximes *syn-6* and *anti-6*. PM3 minimizations done with HyperChem™ for Windows v. 7.1 Hypercube Inc. Molecular graphics displayed with GausView v. 3.0. Gaussian Inc.

### 3.1. Beckmann rearrangement of *anti-6*

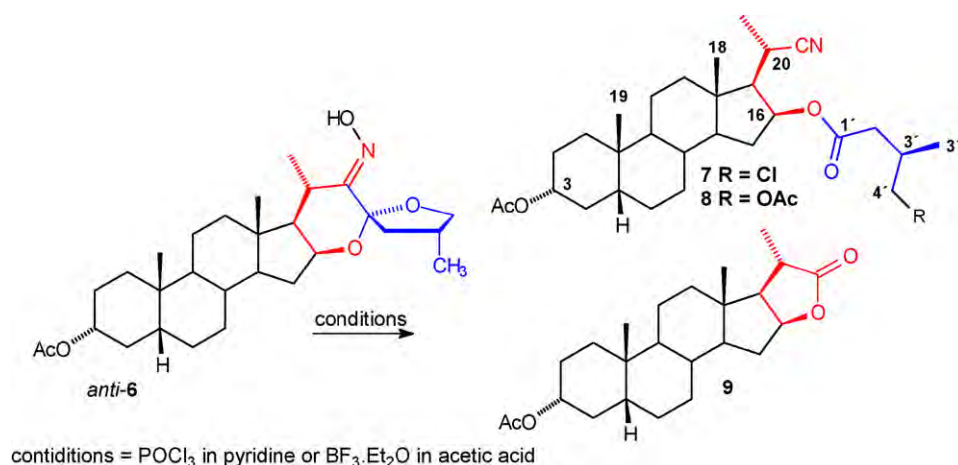
When *anti-6* was treated with  $\text{POCl}_3$  in pyridine at room temperature the hitherto unknown chlorinated nitrile **7** was produced as the sole product. On the other hand, when *anti-6* was treated with  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in acetic acid at room temperature a mixture of the new acetoxyated nitrile **8** and the known dinorcholanic lactone **9** was obtained (Table 3 and Scheme 4). Both nitriles can be easily recognized by their  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra (Table 4 and Scheme 4).

The ester (20*S*)-3 $\alpha$ -acetoxy-20-cyano-5 $\beta$ -pregnan-16 $\beta$ -yl (3'*R*)-(4'-chloro-3'-methyl)-pentanoate (**7**) crystallized from

ethyl acetate in a monoclinic system with space group  $P2_1$  and  $Z=2$ . The asymmetric unit of **7** consists of one molecule in a general position with the expected geometry (Fig. 2) [35]. The absolute configurations correspond to that predicted beforehand from the synthesis route. The A/B and the B/C rings junctions are *cis* and *trans* respectively, while the ring C is *transfused* to the cyclopentane ring D. The ring A has a chair conformation [puckering parameters (C1–C5/C10)Q = 0.549(4) Å,  $\theta = 177.3(4)^\circ$  and  $\varphi = 212(8)^\circ$ ]; all asymmetry parameters less than  $5.4(4)^\circ$ . Rotational symmetry is dominant; a pseudo- $C_2$  axis bisects the C3–C4 bond with asymmetry parameters  $\Delta C_2(\text{C3–C4}) = 2.8(4)^\circ$  and  $\Delta C_s(\text{C3}) = 3.6(3)^\circ$ , of the same

**Table 4** – Main  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of nitriles **7** and **8** ( $\delta$ , ppm).

	H-16	C-16	H-18	C-18	H-20	C-20	H-21	C-21	C-22	C-1'	C-3''	H-3''	H-4'	C-4'
Chlorinated nitrile <b>7</b>	5.27 ddd	74.8	0.86 s	12.9	2.91 m	23.0	1.40 d	17.4	122.8	171.3	17.9	1.09 d	3.59 dd/3.50 dd	50.1
Acetoxyated nitrile <b>8</b>	5.26 ddd	74.7	0.84 s	12.9	2.89 m	22.9	1.38 d	17.5	122.7	171.4	16.7	1.00 d	3.99 dd/3.89 dd	68.2



**Scheme 4** – Beckmann rearrangement of *anti-6*.

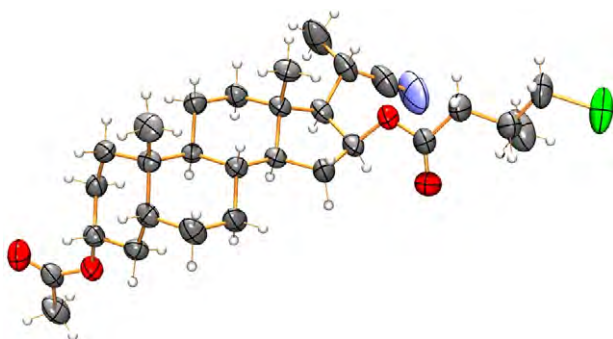
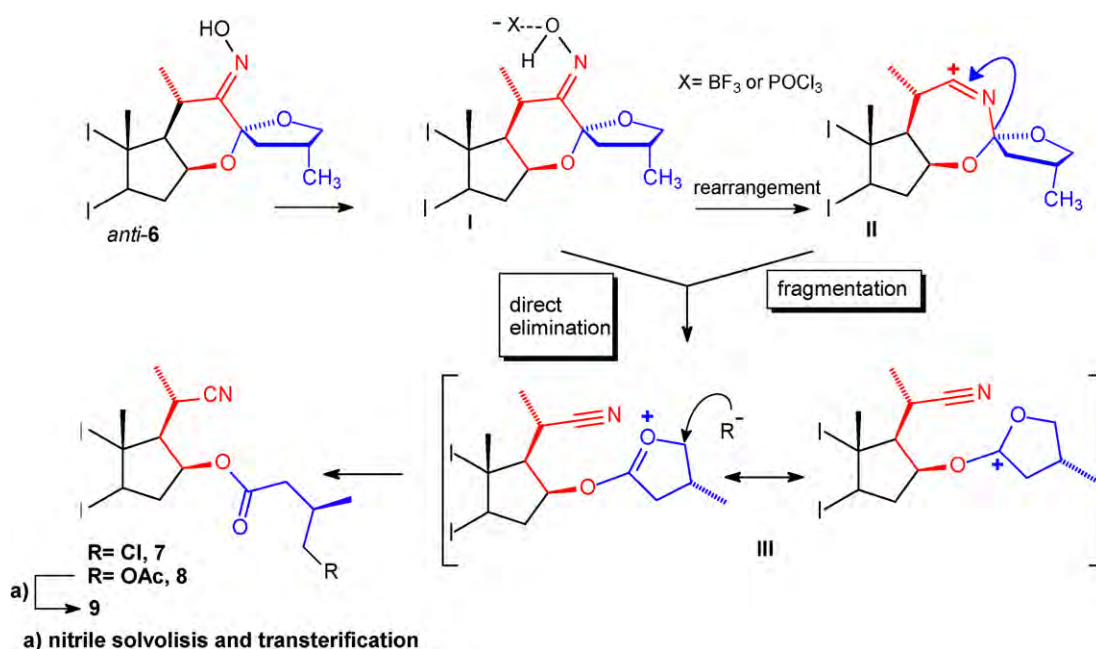


Fig. 2 – Crystal structure of the chlorinated nitrile 7 with thermal ellipsoids drawn at the 30% of probability [35].

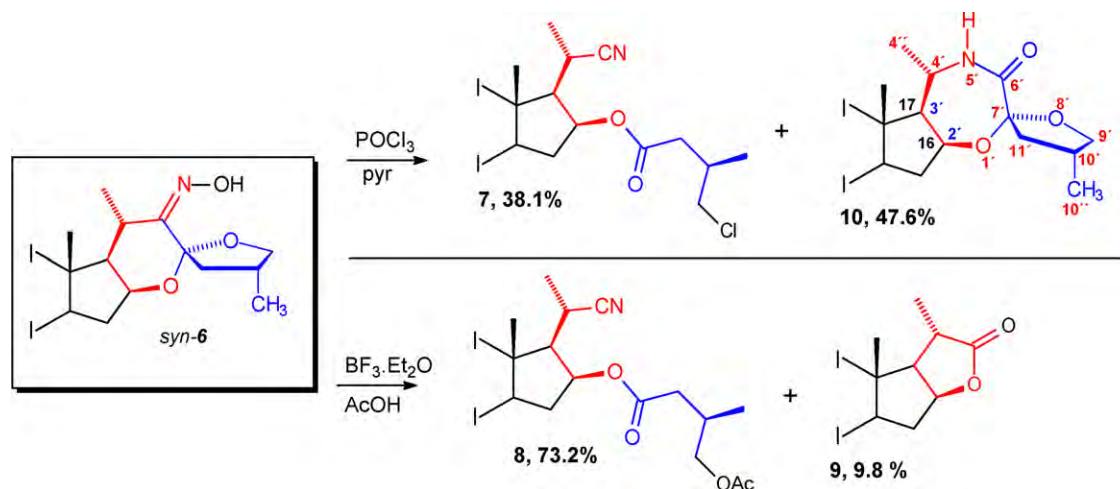
manner the rings B and C assumes an almost perfect chair conformations. The five-membered D ring has a C13–C14 twisted conformation with puckering parameters (C13–C17) $q_2=0.453(4)$  Å and  $\varphi=193.6(5)^\circ$  (pseudorotation and asymmetry parameters:  $\Delta=712.2^\circ$ ,  $\tau_m=46.1(2)^\circ$ ,  $\Delta C_s(14)=20.8(4)$  and  $\Delta C_2(C13-C14)=5.0(4)^\circ$ ). The crystal structure is determined by intermolecular van der Waals interactions forming a ribbon structure along the [101] direction [36–39].

It is known that when a group able to stabilize a positive charge is placed in  $\alpha$  position to the hydroxyimino moiety, the preferred course is the Beckmann fragmentation that produces a variety of compounds depending on the structure and additional functionality present in the oxime [40,41].

In this particular case, the C22–C23 bond in the anti position to the N–OH bond is the one expected to be involved in a process that may follow either the I  $\rightarrow$  II  $\rightarrow$  III



Scheme 5 – Possible mechanism for the Beckmann fragmentation of anti-6.



Scheme 6 – Beckmann rearrangement and fragmentation of syn-6.

rearrangement-fragmentation pathway or the I  $\rightarrow$  III direct elimination course. At this point, nucleophilic attack to C4' in the oxocarbenium III leads to the chlorinated nitrile 7 (POCl<sub>3</sub>/pyridine treatment) or the acetoxyated nitrile 8 (BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O/AcOH treatment). Nitrile solvolysis and transesterification due to the acidic conditions that prevail as a consequence of the AcOH/BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O treatment, justify the occurrence of the lactone 9 (Scheme 5).

### 3.2. Beckmann rearrangement of *syn*-6

Treatment of *syn*-6 with POCl<sub>3</sub> in pyridine afforded a mixture of the new steroidal heterocyclic amide 10 and the chlorinated nitrile 7 (Scheme 6). Surprisingly BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O-induced Beckmann rearrangement of *syn*-6 in AcOH produced a mixture of the acetoxyated nitrile 8 and the dinorcholanic lactone 9 in similar way as *anti*-6.

As described for the rearranged ketone 5 and the oximes *anti*-6 and *syn*-6, combined bidimensional NMR experiments allowed assignment of the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C chemical shifts of the side chain of 10. In addition to the signals corresponding to the new carbonylic C-6' at 172.9 and the spiro carbon C-7' at 108.1 ppm the heterocyclic amide 10 can be recognized by the signals of C-4' (47.0 ppm) and H-4' (3.96 ppm) as well as the N-H resonance at 5.96 ppm (Table 5).

While the heterocyclic amide 10 is the result of the normal course of the Beckmann rearrangement of *syn*-6 (Scheme 7, pathway A), the occurrence of 7 (POCl<sub>3</sub>/pyridine treatment) or

**Table 5 – Characteristic NMR signals of the heterocyclic amide 10.**

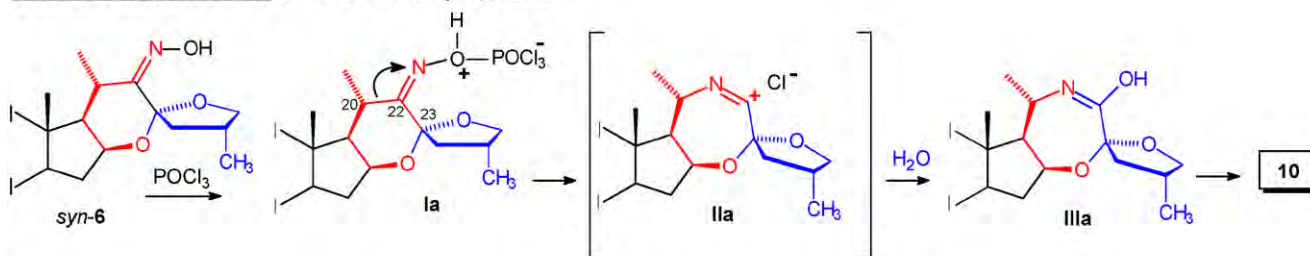
C-#	δ (ppm)	H-#	δ (ppm)
C-2'	74.5	H-2'	4.32 ddd
C-18	13.3	H-18	0.82 s
C-4'	47.0	H-4'	3.96 m
C-4''	19.5	H-4''	1.21 d
C-6'	172.9	–	–
C-7'	108.1	–	–
C-10'	33.0	H-10'	2.45 m
C-9'	74.8	H-9'	4.17 dd/3.48 dd
C-10''	17.5	H-10''	1.05 d
–	–	N-H	5.96 d

8 and 9 (BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O/AcOH treatment) can only be explained by the isomerization of *syn*-6 to *anti*-6 (Scheme 7, pathway B) that then follows the fragmentation course depicted in Scheme 5.

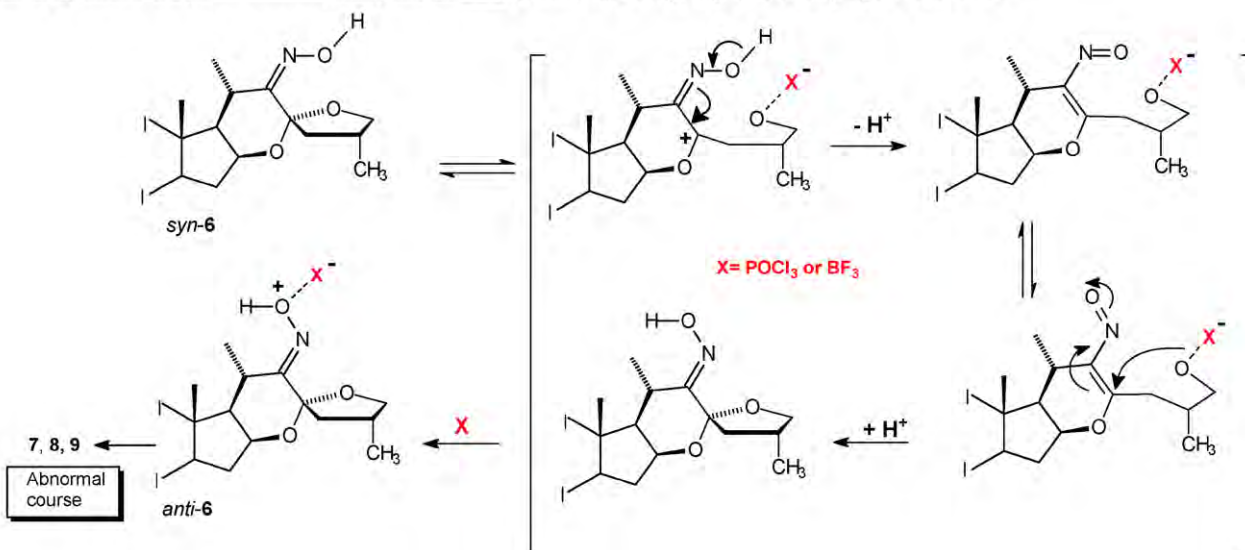
We also observed that, in the NMR probes (CDCl<sub>3</sub> as solvent), *syn*-6, slowly isomerizes to *anti*-6, that may be a consequence of the combination of nitroso  $\leftrightarrow$  oxime tautomerism and rotation of the C22-N=O. By contrast no *anti*  $\rightarrow$  *syn* isomerisation was observed.

In summary, we have found that while *anti*-6 always follows the fragmentation course of the Beckmann rearrangement, *syn*-6 produces the normal Beckmann rearrangement and/or the Beckmann fragmentation depending on the reaction conditions. Due to their functionality, the nitriles 7 and 8 and the steroidal heterocyclic amide 10 may be useful for the synthe-

#### Pathway A, normal course. Conditions, POCl<sub>3</sub> in pyridine



#### Pathway B, isomerization followed by abnormal course. Conditions, POCl<sub>3</sub> in pyridine or BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in acetic acid



**Scheme 7 – Possible mechanism for the normal Beckmann rearrangement and acid catalysed isomerization of *syn*-6.**

sis of novel steroids. Additionally the uncommon functionality present in the heterocyclic amide **10** may result in interesting biological properties that will be evaluated.

## Acknowledgments

The authors thank to the *Dirección General de Asuntos del Personal Académico* (DGAPA-UNAM) for support via project IN204008-3 and to CONACyT for scholarship granted to MMA. Thanks are due to Rosa I. del Villar Morales and Georgina Duarte Lisci (USAI-UNAM) for registering NMR and Mass spectra and to Nayeli López-Balbiaux (USAI-UNAM) for measuring elemental analysis.

## REFERENCES

- [1] Fieser L, Feiser M. Steroids. New York: Reinhold Publishing Corporation; 1959.
- [2] Lee E, Liu YT, Solomon Philippa H, Nakanishi K. Stereospecific conversion of diosgenin to  $\alpha$ -ecdysone. *J Am Chem Soc* 1976;98:1634–5.
- [3] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Synthesis and biological activity of (22R, 25R)-5 $\alpha$ -furostan-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,26-triol. *J Chem Res* 1996;504–5.
- [4] Iglesias-Arteaga MA, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Síntesis de espirobrasinoesteroides análogos de la 6-desoxocasterona. *Quim Nova* 1997;20:361–4.
- [5] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F, Rosado A, et al. Synthesis of (22R, 25R)-3 $\beta$ ,26-dihydroxy-5 $\alpha$ -furostan-6-one. *Synth Commun* 1998;28:1381–6.
- [6] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Synthesis of (22R, 25R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,26-trihydroxy-5 $\alpha$ -furostan-6-one. *Synth Commun* 1998;28:1779–84.
- [7] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Spirostanic analogues of teasterone. Synthesis, characterization and biological activity of laxogenin, (23S)-hydroxylaxogenin and 23-ketolaxogenin (23-oxolaxogenin). *J Chem Soc Perkin Trans* 2001;1:261–6.
- [8] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Spirostanic analogues of castasterone. *Steroids* 2002;67:159–63.
- [9] Betancor C, Freire R, Pérez-Martin I, Prangé T, Suárez E. A convenient synthesis of C-22 and C-25 stereoisomers of cephalostatin north 1 side chain from spirostan sapogenins. *Org Lett* 2002;4:1295–7.
- [10] Lee JS, Fuchs PL. New oxidative tools for the functionalization of the cephalostatin north 1 hemisphere. *Org Lett* 2003;5:2247–50.
- [11] Gryszkiewicz-Wojtkielewicz A, Jastrzëbska I, Morzycki JW, Romanowska DB. Approaches towards the synthesis of cephalostatins, ritterazines and saponins from *Ornithogalum saundersiae*—new natural products with cytostatic activity. *Curr Org Chem* 2003;7:1257–77.
- [12] Xu Q-H, Peng X-W, Tian W-S. A new strategy for synthesizing the steroids with side chains from steroidal sapogenins: synthesis of the aglycone of OSW-1 by using the intact skeleton of diosgenin. *Tetrahedron Lett* 2003;44:9375–7.
- [13] Hernández R, Marrero-Tellado JJ, Prout K, Suárez E. Lewis acid-mediated isomerization of (25R)-3 $\beta$ -acetoxy-5 $\alpha$ -spirostan-23-one, a C-22 spiroacetal: an approach to the synthesis of C-23 spiroacetal steroidal sapogenins. *J Chem Soc Chem Commun* 1992:275–7.
- [14] Betancor C, Dorta RL, Freire R, Martín A, Prangé T, Suárez E. Stereospecific synthesis of 1,6-dioxadecalins and 2,2'-linked ditetrahydrofurans by rearrangement of steroidal spiroacetals. *J Org Chem* 1998;63:6355–62.
- [15] LaCour TG, Tong Z, Fuchs PL. Consequences of acid catalysis in concurrent ring opening and halogenation of spiroketals. *Org Lett* 1999;1:1815–8.
- [16] Jiang B, Shi H-P, Tian W-S, Zhou W-S. The convergent synthesis of novel cytotoxic certonardosterol D<sub>2</sub> from diosgenin. *Tetrahedron* 2008;64:469–76.
- [17] Sandoval-Ramírez J, Meza-Reyes S, del Río RE, Hernández-Linares G, Suárez-Rojas A, Rincón S, et al. Regioselective cleavage of rings E and F in sarsasapogenin. *Steroids* 2003;68:199–204.
- [18] Cyrański MK, Frelek J, Jastrzëbska I, Morzycki JW. Rearrangement of 23-oxospirostanones to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids. X-ray crystal structure of (23R, 25S)-3 $\beta$ -acetoxy-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-22-one. *Steroids* 2004;69:395–400.
- [19] Morzycki JW, Jastrzëbska I. Novel transformation of 23-bromosapogenins. Synthesis of (22S, 23R)-22-hydroxy-23,26-epoxyfurostanones. *Tetrahedron Lett* 2001;42:5989–91.
- [20] Anulewicz-Ostrowska R, Jastrzëbska I, Morzycki JW, Wojcik J. An assisted solvolysis of 23-spirostan-yl bromides and tosylates. A new rearrangement of spirostanones to the bisfuran systems. *J Org Chem* 2002;67:6916–24.
- [21] Iglesias-Arteaga MA, Sandoval-Ramírez J, Mata-Esma MY, Viñas-Bravo O, Bernés S. Abnormal Beckmann rearrangement in 23-hydroxyiminodiosgenin acetate. *Tetrahedron Lett* 2004;45:4921–6.
- [22] Jastrzëbska I, Morzycki JW, Trochimowicz U. Lead tetraacetate-iodine oxidation of 23-spirostanols. *Tetrahedron Lett* 2004;45:1929–32.
- [23] Jastrzëbska I, Morzycki JW. Unusual Baeyer-Villiger oxidation of 23-oxosarsasapogenin acetate. *Polish J Chem* 2005;79:1245–8.
- [24] Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA, Méndez-Stivalet JM, Galano A, Álvarez-Idaboy JR. The Baeyer-Villiger reaction of 23-oxosapogenins. *ARKIVOC* 2005;VI:109–26.
- [25] Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA. Favorskii rearrangement of 23-oxo-3-epi-smilagenin acetate induced by iodobenzene. *Tetrahedron Lett* 2005;46:6897–9.
- [26] Iglesias-Arteaga MA, Alvarado-Nuño AA. BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O induced Beckmann rearrangement of 23-hydroxyiminosapogenins. A shortcut to bisnorcholanic lactones. *Tetrahedron Lett* 2006;47:5351–3.
- [27] Iglesias-Arteaga MA, Jastrzëbska I, Morzycki JW. Reactions of sapogenins with *m*-chloroperoxybenzoic acid catalyzed by Lewis acids. *Polish J Chem* 2006;80:667–71.
- [28] Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO. One-step axial acetoxylation at C-23. A new method for the functionalization of the side chain of steroid sapogenins. *Tetrahedron Lett* 2006;47:8029–31.
- [29] Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO, Méndez-Stivalet JM. The unexpected course of the reaction of steroid sapogenins with diacetoxyiodobenzene and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in formic acid. *Tetrahedron Lett* 2007;48:7485–8.
- [30] Vázquez-Ramírez I, Macías-Alonso M, Arcos-Ramos RO, Ruiz-Pérez K, Solano-Ramírez DO, Iglesias-Arteaga MA. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR characteristics of synthetic derivatives of steroid sapogenins. Part III. 16 $\beta$ ,23:23,26-Diepoxy side chains. *Steroids* 2008;73:642–51.
- [31] López Y, Ruiz-Pérez KM, Yépez R, Santillán R, Flores-Alamo M, Iglesias-Arteaga MA. Mechanistic insights and new



- products of the reaction of steroid sapogenins with  $\text{NaNO}_2$  and  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in acetic acid. *Steroids* 2008;73:657–68.
- [32] Sheldrick GM. SHELXL97. Germany: University of Göttingen; 1997.
- [33] Levy GC, Nelson GL. Carbon-13 NMR study of aliphatic amides and oximes. Spin-lattice relaxation times and fast internal motions. *J Am Chem Soc* 1972;94:4897–901.
- [34] Viñas-Bravo O, Hernández-Linares G, Mata-Esma MY, Martínez-Pascual R, Montiel-Smith S, Meza-Reyes S, et al.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR of synthetic steroid sapogenins. Part II. C-23 substituted derivatives of (25S)-spirostanes. *ARKIVOC* 2003;XI:163–71.
- [35] Complete data have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre CCDC 685265.
- [36] Duax WL, Weeks CM, Rohrer DC. Crystal structures of steroids. *Top Stereochem* 1976;9:271–83.
- [37] Cremer D, Pople JA. A general definition of ring puckering coordinates. *J Am Chem Soc* 1975;97:1354–8.
- [38] Altona C, Geise HJ, Romers C. Conformation of non-aromatic ring compounds. XXV. Geometry and conformation of ring D in some steroids from X-ray structure determinations. *Tetrahedron* 1968;24:13–32.
- [39] Burla MC, Caliandro R, Camalli M, Carrozzini B, Cascarano GL, De Caro L, et al. SIR2004: an improved tool for crystal structure determination and refinement. *J Appl Cryst* 2005;38:381–8.
- [40] Gawley RE. The Beckmann reactions: rearrangements, elimination-additions fragmentations and rearrangement-cyclizations. In: *Organic reactions*, vol. 35:1. New York: John Wiley & Sons; 1988. p. 1–420.
- [41] Ferris AF, Johnson GS, Gould FE.  $\alpha$ -Oximino ketones. VIII. The second order Beckmann rearrangement in alcohols. *J. Org. Chem.* 1960;25:1813–14, and references therein.

# The Crystal Structure of 3-Epismilagenin Acetate and 23-Oxo-3-epismilagenin Acetate

Mariana Macías-Alonso · Nuria Esturau-Escofet ·  
Marcos Flores-Álamo · Martín A. Iglesias-Arteaga ·  
Rafael Moreno-Esparza

Received: 12 October 2010 / Accepted: 7 May 2011 / Published online: 8 June 2011  
© Springer Science+Business Media, LLC 2011

**Abstract** The crystal structure together with unambiguous assignment of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR signals of 3-epismilagenin acetate **4** and 23-oxo-3-epismilagenin acetate **5** are described. Compound **4**, crystallized as orthorhombic system  $a = 10.535(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 13.775(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 18.347(1) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ ; with space group  $P2_12_12_1$ ; while compound **5** crystallized as a monoclinic system  $a = 10.380(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 7.327(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 17.881(1) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \gamma = 90^\circ$ ,  $\beta = 99.56(1)^\circ$ , with a space group  $P2_1$ . The presence a carbonyl group at C(23) in compound **5** produces a significant deviation from the chair conformation observed in compound **4**. The effects of the side chain modifications on the puckering parameters derived from are discussed.

**Keywords** Steroids · Spirostanes · 23-Oxospirostan · NMR · X-ray structure · Puckering parameters · Ring conformation

## Introduction

Steroids bearing different oxygenated spiroketal side chains are wide spread in both the natural and synthetic domains. Steroid sapogenins, which particular reactivity have produced a large variety of interesting reactions and rearrangements [1–21] are characterized by the presence of a 16 $\beta$ ,22:22,26-diepoxy moiety in side chain and can be

regarded as 1,6-dioxaspiro[4.5]decane derivatives. This kind of compounds have been subject of much research due its intrinsic biological activity [22–27] or their usefulness as starting materials for the synthesis of different bioactive compounds as sexual and adrenocortical hormones [1], ecdysteroids [28] plant growth stimulators [29–35] and cytotoxic steroids [36–41], among many others.

As a part of our project to explore the reactivity and applications of steroid bearing spiroketals side chains, we have focused our attention on different steroid sapogenins bearing intact or functionalized side chains that serve as starting materials for the synthesis of bioactive compounds. Consequently we need the detailed characterization of several compounds that are being employed as starting materials for different chemical transformations. Here in we report on the assignments of all  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of 3-epismilagenin acetate **4** and 23-oxo-3-epismilagenin acetate **5**. The structures of compounds **4** and **5** as well as the configuration of all present chiral centers were confirmed with the aid of X-ray studies.

## Experimental

### General

Reactions were monitored by TLC on ALUGRAM<sup>®</sup> SIL G/UV254 plates from MACHEREY–NAGEL. Chromatographic plates were sprayed with a 1% solution of vanillin in 50%  $\text{HClO}_4$  and heated until color developed. Melting points were measured on a Melt-Temp II equipment and are uncorrected. Mass spectra were registered in a thermo-electron spectrometer model DFS (double focus sector). NMR spectra were recorded in  $\text{CDCl}_3$  solution in a Varian INOVA 400 spectrometer using the solvent signal

M. Macías-Alonso · N. Esturau-Escofet · M. Flores-Álamo ·  
M. A. Iglesias-Arteaga · R. Moreno-Esparza (✉)  
Facultad de Química, Edificio B, Universidad Nacional  
Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Coyoacán,  
Mexico, DF 04510, Mexico  
e-mail: moresp@servidor.unam.mx

7.26 ppm for  $^1\text{H}$  and 77.00 ppm for  $^{13}\text{C}$  as references. NMR signals assignments were made with the aid of DEPT and a combination of 2D homonuclear ( $^1\text{H}$ – $^1\text{H}$ ) and heteronuclear ( $^1\text{H}$ – $^{13}\text{C}$ ) correlation techniques, which included  $^1\text{H}$ – $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ – $^1\text{H}$  nuclear overhauser effect (NOESY), Total correlation spectroscopy (TOCSY), heteronuclear single quantum correlation (HSQC) and heteronuclear multiple bond correlation (HMBC). All 2D NMR spectra were recorded using the standard pulse sequences and parameters recommended by the manufacturer.

#### Synthesis, Characterization and Spectroscopy

(25*R*)-5 $\beta$ -spirostan-3 $\alpha$ -ol acetate, namely 3-*epi*-smilagenin acetate (**4**) Ac<sub>2</sub>O (20 mL) and a few crystals of DMAP were added to a solution of **3** in pyridine (40 mL) and the mixture was stirred overnight and poured into a mixture of ice and 10% HCl (300 mL). The produced solid was filtered off and dissolved in ethyl acetate (200 mL). The organic layer was washed with 10% HCl (2  $\times$  70 mL), 10% CuSO<sub>4</sub> aqueous solution (2  $\times$  70 mL) and water (2  $\times$  100 mL), dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to afford the acetylated compound **4** (3.6 g, 7.85 mmol, 98.7%). M.p 162–163 °C from acetone (see Tables 1 and 2 for  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR signals). MS (70 eV): 458 M<sup>+</sup>, 380, 365, 329, 284, 256, 255, 254, 239, 161, 147, 139. HRMS (70 eV): observed 458.3391 required for C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O<sub>4</sub>458.3396.

(25*R*)-3 $\alpha$ -acetoxy-5 $\beta$ -spirostan-23-one, namely 23-*oxo*-3-*epi*-smilagenin acetate (**5**) BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (8 mL, 64.8 mmol) was added to a solution of **4** (8 g, 17.44 mmol) in glacial acetic acid (200 mL). To the stirred mixture NaNO<sub>2</sub> (1.4 g,

**Table 2**  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of compounds **4** and **5**

C (Number)	4	5	C (Number)	4	5 ( $\Delta$ ppm)
<b>1</b>	35.0	35.0	<b>16</b>	80.9	83.4 (+2.5)
<b>2</b>	26.6	26.6	<b>17</b>	62.3	61.8 (–0.5)
<b>3</b>	74.3	74.2	<b>18</b>	16.4	16.1 (–0.3)
<b>4</b>	32.2	32.2	<b>19</b>	23.3	23.3
<b>5</b>	41.8	41.8	<b>20</b>	41.6	34.7 (–6.9)
<b>6</b>	26.9	26.9	<b>21</b>	14.5	14.4 (–0.1)
<b>7</b>	26.6	26.5	<b>22</b>	109.2	109.8 (+0.6)
<b>8</b>	35.4	35.4	<b>23</b>	31.4	201.8 (+170.4)
<b>9</b>	40.5	40.5	<b>24</b>	28.8	45.2 (+16.4)
<b>10</b>	34.7	34.7	<b>25</b>	30.3	35.8 (+5.5)
<b>11</b>	20.6	20.5	<b>26</b>	66.8	65.6 (–1.2)
<b>12</b>	40.2	40.0	<b>27</b>	17.1	17.1 (0)
<b>13</b>	40.6	41.1	<b>CH<sub>3</sub>COO-3</b>	170.6	170.5
<b>14</b>	56.3	56.4	<b>CH<sub>3</sub>COO-3</b>	21.4	21.4
<b>15</b>	31.8	31.7			

$\Delta$  ppm associated to the changes in the side chain are given in parentheses and were calculated using the previous compound as reference

19.7 mmol) was added over 20 min. The additions of BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O and NaNO<sub>2</sub> were repeated, the reaction mixture was poured into ice-water (1 L). The separated solid was filtered off and, washed with water (4 L), dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL), dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated. The produced residue was dissolved in the minimum amount of 1/1 hexane/benzene mixture applied to a chromatographic column packed with Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Brockmann activity III), and eluted with 10/1 hexane/ethyl acetate

**Table 1**  $^1\text{H}$  chemical shifts of steroid sapogenins **4** and **5**

H	4	5	H	4	5
<b>1<math>\alpha</math></b>	1.80	1.80	<b>12<math>\beta</math></b>	<b>1.70</b>	<b>1.74</b>
<b>1<math>\beta</math></b>	1.01	1.02	<b>14<math>\alpha</math></b>	1.19 (m)	1.15
<b>2<math>\alpha</math></b>	1.40	1.38	<b>15<math>\alpha</math></b>	1.97 (m)	1.98 (m)
<b>2<math>\beta</math></b>	1.67	1.67	<b>15<math>\beta</math></b>	1.20 (m)	1.27
<b>3<math>\beta</math></b>	4.71 (m)	4.71 (m)	<b>16<math>\alpha</math></b>	<b>4.38 (m)</b>	<b>4.59 (m)</b>
<b>4<math>\alpha</math></b>	1.81 (m)	1.80	<b>17<math>\alpha</math></b>	1.75	1.74
<b>4<math>\beta</math></b>	1.53	1.53	<b>18 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.74 (s)	0.74 (s)
<b>5<math>\beta</math></b>	1.44	1.44	<b>19 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.93 (s)	0.93 (s)
<b>6<math>\alpha</math></b>	1.24	1.23	<b>20<math>\beta</math></b>	1.85	2.86 (m)
<b>6<math>\beta</math></b>	1.85	1.85	<b>21 (CH<sub>3</sub>)</b>	0.95 (d, $J = 6.9$ )	0.92 (d, $J = 7.0$ )
<b>7<math>\alpha</math></b>	1.08	1.07	<b>23 a</b>	1.67	–
<b>7<math>\beta</math></b>	1.36	1.38	<b>23 b</b>	1.59	–
<b>8<math>\beta</math></b>	1.57	1.57	<b>24 Pro-S (ax.)</b>	1.62	2.42 (m)
<b>9<math>\alpha</math></b>	1.42	1.40	<b>24 Pro-R (eq.)</b>	1.45 (m)	2.47 (dd, $J = 10.7, 10.7$ )
<b>11<math>\alpha</math></b>	1.38	1.38	<b>25</b>	1.61 (m)	2.27 (m)
<b>11<math>\beta</math></b>	1.24 (m)	1.23	<b>26 Pro-S (eq.)</b>	3.46 (ddd, $J = 10.7, 4.4, 1.6$ )	3.57 (ddd, $J = 11.2, 4.6, 1.4$ )
<b>12<math>\alpha</math></b>	1.17	1.13	<b>26 Pro-R (ax.)</b>	3.36 (dd, $J = 10.9, 10.9$ )	3.77 (dd, $J = 11.3, 11.3$ )

mixture. The collected fractions were evaporated to afford the ketone **5** (4.5 g, 9.52 mmol, 54.6%). M.p 184–186 °C from ethyl acetate/hexane (see Tables 1 and 2 for  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR signals). MS (FAB): 473  $\text{MH}^+$ , 444, 389, 329, 255. HRMS (FAB) observed 473.3260 required for  $\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{O}_5$  473.3267.

### Crystallography

Suitable crystals for X-ray diffraction studies were obtained from the analytical samples as follows: crystals of **4** on cooling from a warm acetone solution; crystals of **5** on overnight cooling from a warm ethyl acetate solution. Compound **5** crystallized as a monoclinic system with a space group  $P2_1$ ; while compound **4**, crystallized as orthorhombic systems with space group  $P2_12_12_1$ . X-ray diffraction measurements were performed on an oxford diffraction atlas (Gemini) diffractometer with Mo  $\text{K}_\alpha$  radiation  $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ . Data collection routine and data reduction were carried out with the CrysAlisPro, Oxford Diffraction Ltd., Oxford Diffraction [42]. The structures of all molecules were solved using SIR2004 [43] and refined using SHELXL-97 [44]. All non-hydrogen atoms were refined anisotropically and the hydrogen atoms were found in difference Fourier maps, placed at geometrically calculated positions and refined using the riding model. The obtained bond lengths and angles of each compound are normal and are available from the electronic supporting information (CIF file) for the structure. Crystallographic data have been deposited at the Cambridge Crystallographic Data Center as supplementary material numbers CCDC 773327 **4**, CCDC 773329 **5**. Copies of the data can be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK. E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk.

### Results and Discussion

3-Epismilagenin acetate **4** was obtained by acetylation of 3-epismilagenin **3** following the standard  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine procedure. Treatment of 3-epismilagenin acetate **4** with  $\text{NaNO}_2$  and  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in acetic acid followed by column

chromatography in  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Brockman Activity III) afforded the ketone **5** (Scheme 1).

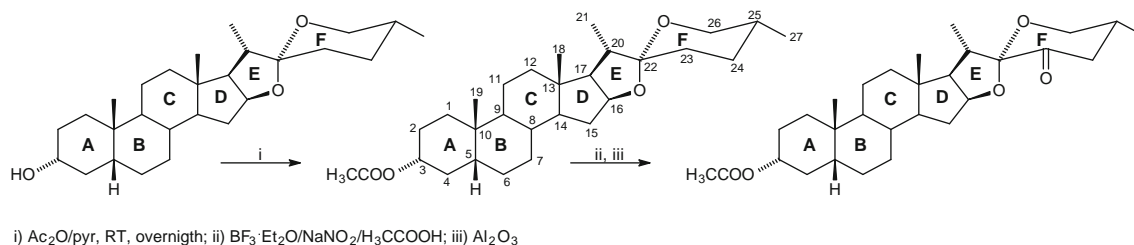
### Crystallographic Studies

The absolute configuration of the studied compound **5** was considered and corroborated as that from the starting material **4**. Both studied compounds contain the steroid ABCD fused framework with the axial methyl groups attached to C(10) and C(13). All compounds show cis A/B, trans B/C and trans C/D ring junctions. Compounds **4** and **5** bear the  $16\beta,22:22,26$ -diepoxy moiety characteristic of the spirostane side chain. Puckering parameters for compounds **4**, and **5**, were calculated as described by Cremer and Pople [45] (Table 3).

In compound **4** the equatorial acetoxy group bonded to C(3) is arranged in such a way that the carbonyl O atom is close to eclipse the axial H atom attached to C(3) and does not disturb A ring, which presents a conformation very similar to a chair. B ring assumes an almost perfect chair conformation while C ring assumes a perfect chair conformation. D ring can be described as cyclopentane twisted on C(13)–C(14). E Ring is an envelope in O(3)-exo with absolute L configuration. The tetrahydrofuran E ring is cis-fused to the cyclopentane D ring. Finally F ring assumes a conformation very similar to a chair, (see Table 4; Fig. 1). The crystal structure of compound **4** is shown in Fig. 2, with the ellipsoid drawn at the 50% of probability [46].

The molecules in the unit cell of **4** show no classic hydrogen bonds and all are linked via short contacts at C–H $\cdots$ O hydrogen bonds, C(18)–H(18B) $\cdots$ O(3) (2.56 H $\cdots$ O, 3.267(3) C $\cdots$ O). The packing of the crystal is assumed to be dictated by van der Waals interactions and intermolecular C–H $\cdots$ O hydrogen bonds. In Fig. 3 two view of the cell packing of this compound is shown. Where it can be observed less symmetrical arrangement than in **5**.

In compound **5**, the equatorial acetoxy group bonded to C(3) is arranged in such a way that the carboxylic oxygen nearly eclipses the axial H atom attached to C(3) and does not disturb A ring, which present a chair conformation. While B ring assumes a perfect chair conformation, C ring is very similar to a chair. D ring can be described as cyclopentane twisted on C(13)–C(14). Finally E ring



**Scheme 1** Synthetic approach, carbon numbering and ring designation of studied compounds

**Table 3** Crystal data and structure refinement for **4** and **5**

Identification code	<b>4</b>	<b>5</b>
Empirical formula	C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>
Formula weight	458.66	472.64
Temperature (K)	298(2)	293(2)
Wavelength (Å)	0.71073	0.71073
Crystal system	Orthorhombic	Monoclinic
Space group	<i>P</i> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	<i>P</i> 2 <sub>1</sub>
Unit cell dimensions	<i>a</i> = 10.5350(4) (Å), $\alpha$ = 90° <i>b</i> = 13.7750(6) (Å), $\beta$ = 90° <i>c</i> = 18.3470(7) (Å), $\gamma$ = 90°	<i>a</i> = 10.3800(5) (Å), $\alpha$ = 90° <i>b</i> = 7.3270(3) (Å), $\beta$ = 99.56(1)° <i>c</i> = 17.8810(8) (Å), $\gamma$ = 90°
Volume (Å <sup>3</sup> )	2662.51(18)	1341.02(10)
Z	4	2
Density (calculated) (Mg/m <sup>3</sup> )	1.144	1.171
Absorption coefficient (/mm)	0.074	0.078
Diffractometer/scan	Oxford diffraction atlas (Gemini)	Oxford diffraction atlas (Gemini)
Radiation/wavelength (Å)	Mo K $\alpha$ /0.71073	Mo K $\alpha$ /0.71073
F(000)	1008	516
$\theta$ range for data collection (°)	3.16–26.06	3.29–26.05
Index ranges	$-12 \leq h \leq 13$ , $-17 \leq k \leq 16$ , $-17 \leq l \leq 22$	$-12 \leq h \leq 12$ , $-9 \leq k \leq 6$ , $-22 \leq l \leq 18$
Reflections collected	9313	7025
Independent reflections	2960 [ <i>R</i> (int) = 0.0310]	2857 [ <i>R</i> (int) = 0.0242]
Completeness to theta = 26.06°, 26.05°	99.7%	99.8%
Refinement method	Full-matrix least-squares on <i>F</i> <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on <i>F</i> <sup>2</sup>
Data/restraints/parameters	2960/0/304	2857/1/312
Goodness-of-fit on <i>F</i> <sup>2</sup>	0.972	0.962
Final <i>R</i> indices [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	<i>R</i> 1 = 0.0363, w <i>R</i> 2 = 0.0876	<i>R</i> 1 = 0.0358, w <i>R</i> 2 = 0.0837
<i>R</i> indices (all data)	<i>R</i> 1 = 0.0503, w <i>R</i> 2 = 0.0920	<i>R</i> 1 = 0.0495, w <i>R</i> 2 = 0.0869
Absolute structure parameter	−0.006(13)	−0.006(13)
Extinction coefficient	0.0104(13)	None
Largest diff. peak and hole (e/Å <sup>3</sup> )	0.137 and −0.110	0.125 and −0.147

**Table 4** Calculated puckering parameters for compound **4**

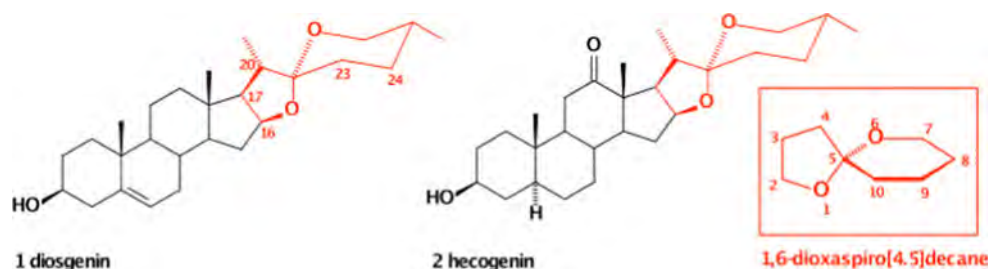
Ring	Q (Å)	$\theta$ (°)	$\varphi$ (°)	Order and direction of the calculation
A	0.552(2)	177.0(2)	213(5)	From C(1) to C(10), counterclockwise
B	0.563(2)	3.5(2)	271(3)	From C(5) to C(10), counterclockwise
C	0.564(2)	3.0(2)	226(5)	From C(8) to C(14), clockwise
F	0.533(2)	171.5 (2)	170(2)	From O(4) to C(26), clockwise
Ring	Q(2) (Å)	$\varphi$ (°)	Order and direction of the calculation	
D	0.488(2)	197.9(2)	From C(13) to C(17), counterclockwise	
E	0.368(2)	182.1(3)	In this order; O(3), C(22) C(20), C(17), C(16)	

presents an envelope O(3)-exo with absolute L configuration. The tetrahydrofuranic E ring is cis-fused to the cyclopentane D ring. The F ring assumes a conformation close to a chair that is somewhat distorted due to the presence of carbonyl function at C(23) (see Table 5). The

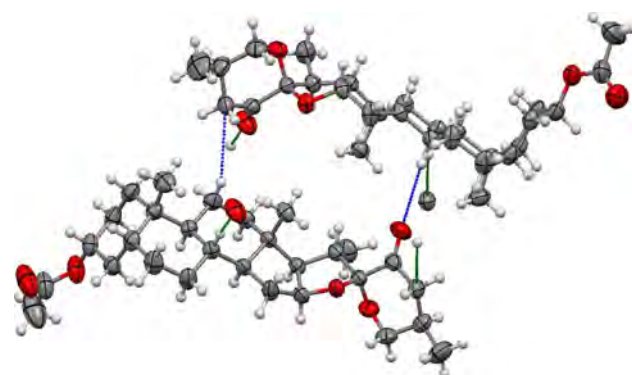
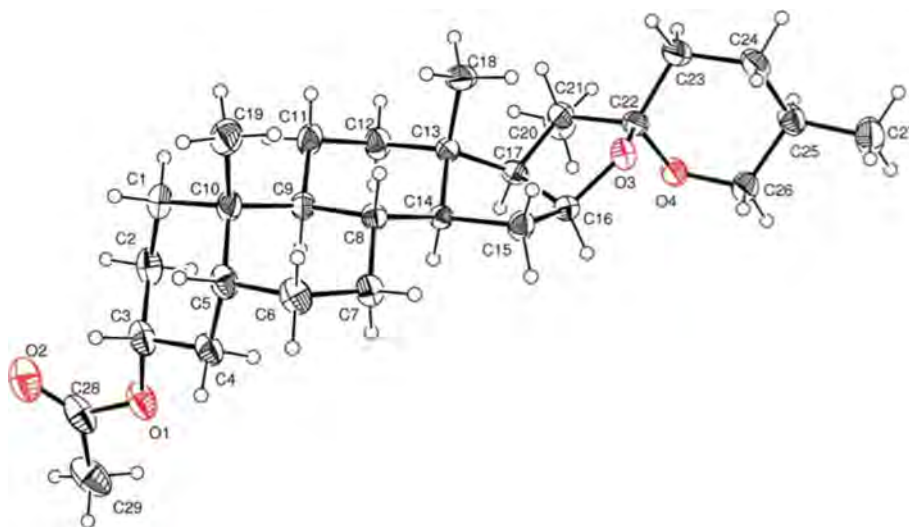
crystal structure of compound **5** is shown in Fig. 4, with the ellipsoid drawn at the 50% of probability [46].

The two molecules in the unit cell of **5** show no classic hydrogen bonds and they are linked via short contacts at: C(8)–H(8)⋯O(5) (2.686 Å H⋯O, 3.606(2) Å C⋯O) and

**Fig. 1** Some naturally occurring steroid saponin



**Fig. 2** Crystal structure of compound **4** with the thermal ellipsoids drawn at the 50% of probability



**Fig. 3** View of the intermolecular interactions in compound **4**

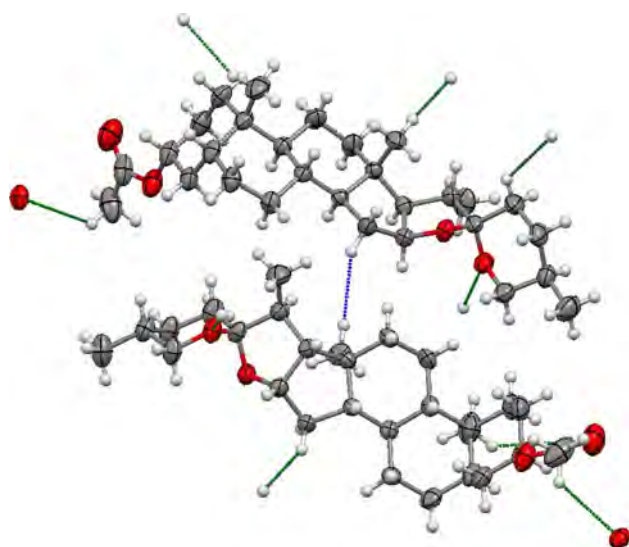
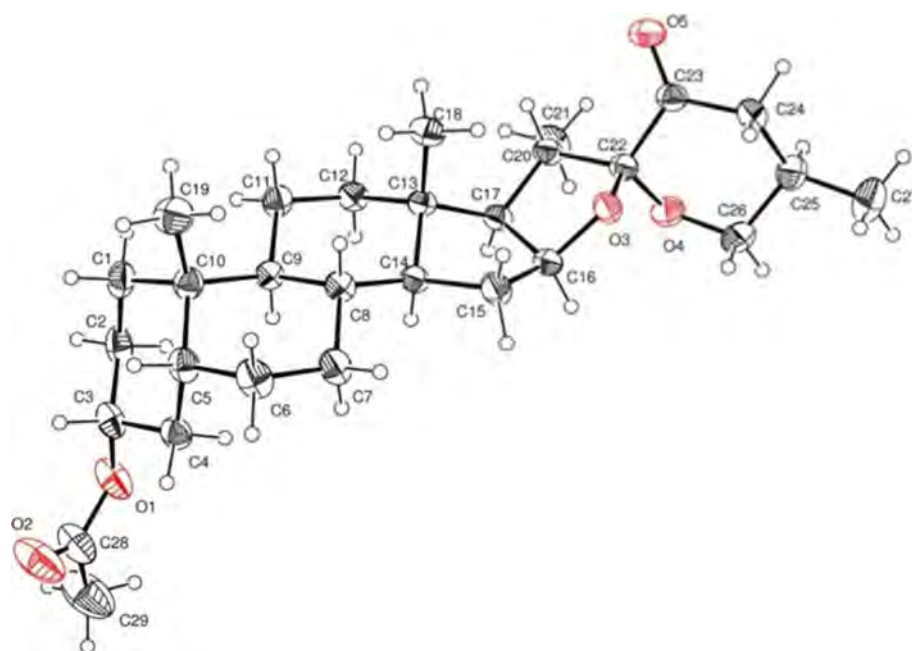
C(11)–H(11B)⋯C(24) (2.870 Å H⋯C, 3.635(2) C⋯C). Each molecule has four of these short contacts and the crystal grows along the *b* axis. The packing of the crystal is assumed to be dictated by van der Waals interactions and intermolecular C–H⋯O hydrogen bonds. In Fig. 5 the cell packing of this compound is shown.

In order to establish quantitative differences among the studied compounds, a least-squares overlay analysis of the structures by pairs is performed. Table 6 shows the results of least-squares overlay analysis obtained with the program Mercury [47]. From the obtained data it is clear that, as expected, the modifications introduced in the side chain do not produce significant conformational changes in the

**Table 5** Calculated puckering parameters for compound **5**

Ring	Q (Å)	$\theta$ (°)	$\varphi$ (°)	Order and direction of the calculation
A	0.550(2)	175.9(2)	234(3)	From C(1) to C(10), counterclockwise
B	0.564(2)	0.0(2)	264(7)	From C(5) to C(10), counterclockwise
C	0.570(2)	3.1(2)	259(3)	From C(8) to C(14), clockwise
F	0.551(2)	176.7(2)	188(1)	From O(4) to C(26), clockwise
Ring	Q(2) (Å)	$\varphi$ (°)	Order and direction of the calculation	
D	0.474(2)	201(1)	From C(13) to C(17), counterclockwise	
E	0.373(2)	110(4)	In this order; O(3), C(22), C(20), C(17), C(16)	

**Fig. 4** Crystal structure of compound **5** with the thermal ellipsoids drawn at the 50% of probability



**Fig. 5** View of the intermolecular interactions in compound **5**

**Table 6** Least-squares overlay analysis of the rings, performed by each pair of structures

Rings	5 vs 4
A	0.0143
B	0.0105
C	0.0095
D	0.0158
E	0.0203
F	0.0322

**Table 7** Puckering descriptors of compound **4** and **5** obtained using the PLATON program

Rings	4	5
A	Very similar to a C-form	Very similar to a C-form
B	Very similar to a C-form	C-form
C	C-form	Very similar to a C-form
D	Twisted on C(13)–C(14)	Twisted on C(13)–C(14)
E	Envelope O(3)-exo	Envelope O(3)-exo
F	Very similar to a C-form	Close to a C-form

steroid framework at least qualitatively, (notice that the observed deviation in rings A to D are less than 0.016).

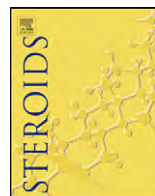
While a small deviation is observed when E ring of compounds **4** and **5** are compared, introduction of the carbonyl group at C(23) in compound **5**, that implies the introduction of a sp<sup>2</sup> atom in the F ring results on a significant deviation from the chair conformation observed in compound **4** (compare the puckering parameters of **4** and **5**). Table 7 shows the puckering descriptors as defined by Cremer and Pople [45] and calculated using the PLATON program [48, 49]. The minor differences observed amongst rings A to D across all compounds may be attributed to the different intermolecular interactions that are, of course, influenced by the changes introduced in the side chain.

**Acknowledgments** The authors thank to the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) for financial support via project IN204008-3 and to CONACyT for scholarship granted to Mariana Macías-Alonso. Thanks are due to Georgina Duarte Lisci (USAI-UNAM) for registering Mass spectra.

## References

1. Fieser L, Feiser M (1959) Steroids. Reinhold Publishing Corporation, New York
2. Callow RK, James VHT, Kennard O, Page JE, Paton PN, di Sanseverino LR (1966) J Chem Soc C 288–97. doi:10.1039/J3960000288
3. Iglesias-Arteaga MA, Sandoval-Ramírez J, Mata-Esma MY, Viñas-Bravo O, Bernes S (2004) Tetrahedron Lett 45:4921–4926
4. Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA, Méndez-Stivalet JM, Galano A, Álvarez-Idaboy JR (2005) Arkivoc 2005(6): 109–126
5. Iglesias-Arteaga MA, Alvarado-Nuño AA (2006) Tetrahedron Lett 47:5351–5353
6. Iglesias-Arteaga MA, Jastrzêbska I, Morzycki JW (2006) Polish J Chem 80:667–671
7. Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA (2005) Tetrahedron Lett 46:6897–6899
8. Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO (2006) Tetrahedron Lett 47:8029–8031
9. Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO, Méndez-Stivalet JM (2007) Tetrahedron Lett 48:7485–7488
10. Hernández R, Marrero-Tellado JJ, Prout K, Suárez E (1992) J Chem Soc Chem Commun VL(3):275–277
11. Betancor C, Dorta RL, Freire R, Martín A, Prangé T, Suárez E (1998) J Org Chem 63:6355–6362
12. LaCour TG, Tong Z, Fuchs PL (1999) Org Lett 1:1815–1818
13. Sandoval-Ramírez J, Meza-Reyes S, del Río RE, Hernández-Linares G, Suárez-Rojas A, Rincón S et al (2003) Steroids 68:199–204
14. Cyrański MK, Frelek J, Jastrzêbska I, Morzycki JW (2004) Steroids 69:395–400
15. Morzycki JW, Jastrzêbska I (2001) Tetrahedron Lett 42:5989–5991
16. Anulewicz-Ostrowska R, Jastrzêbska I, Morzycki JW, Wojcik J (2002) J Org Chem 67:6916–6924
17. Jastrzêbska I, Morzycki JW, Trochimowicz U (2004) Tetrahedron Lett 45:1929–1932
18. Jastrzêbska I, Morzycki JW (2005) Polish J Chem 79:1245–1248
19. López Y, Ruíz-Pérez KM, Yépez R, Santillán R, Flores-Álamo M, Iglesias-Arteaga MA (2008) Steroids 73:657–668
20. Macías-Alonso M, Flores-Álamo M, Iglesias-Arteaga MA (2009) Steroids 74:112–120
21. Ruíz-Pérez KM, Romero-Ávila M, Flores-Pérez B, Flores-Álamo M, Moreno-Esparza R, Iglesias-Arteaga MA (2009) Steroids 74:996–1002
22. Corbiere C, Liagre B, Terro F, Beneytout JL (2004) Cell Res 14:188–196
23. Corbiere C, Liagre B, Bianchi A, Bordji K, Dauca M, Netter P, Beneytout JL (2003) Int J Oncol 22:899–905
24. Raju J, Patlolla JMR, Swamy MV, Rao CV (2004) Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1392–1398
25. Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Tagliatalata-Scafati O (1998) Sapogenins of *Allium porrum* L. J Agric Food Chem 46:4904–4908
26. Carotenuto A, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, De Feo V, Carnuccio R, D'Acquisto F (1997) J Nat Prod 60:1003–1007
27. Carotenuto A, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Carnuccio R, D'Acquisto F (1997) Tetrahedron 53:3401–3406
28. Lee E, Liu YT, Solomon Philippa H, Nakanishi K (1976) J Am Chem Soc 98:1634–1635
29. Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F (1999) J Chem Res (S) 48–49
30. Iglesias-Arteaga MA, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F (1997) Quim Nova 20:361–364
31. Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F, Rosado A et al (1998) Synth Commun 28:1381–1386
32. Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F (1998) Synth Commun 28:1779–1784
33. Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F (2001) J Chem Soc Perkin Trans 1:261–266
34. Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F (2002) Steroids 67:159–163
35. Romero-Ávila M, de Dios-Bravo G, Méndez-Stivalet JM, Rodríguez-Sotres R, Iglesias-Arteaga MA (2007) Steroids 72:955–959
36. Jiang B, Shi H-P, Tian W-S, Zhou W-S (2008) Tetrahedron 64:469–476
37. Xu Q-H, Peng X-W, Tian W-S (2003) Tetrahedron Lett 44:9375–9377
38. Betancor C, Freire R, Pérez-Martin I, Prangé T, Suárez E (2002) Org Lett 4:1295–1297
39. Lee JS, Fuchs PL (2003) Org Lett 5:2247–2250
40. LaCour TG, Guo C, Bhandaru S, Boyd MR, Fuchs PL (1998) J Am Chem Soc 120:692–707
41. Gryszkiewicz-Wojtkielewicz A, Jastrzêbska I, Morzycki JW, Romanowska DB (2003) Curr Org Chem 7:1257–1277
42. CrysAlis CCD and CrysAlis R (2009) Oxford Diffraction, Abingdon
43. Giacovazzo C, Burla MC, Caliandro R, Camalli M, Carrozzini B, Cascarano GL et al (2004) SIR-2004 (v 1.0) a program for automatic solution and refinement of crystal structures. J Appl Crystallogr 38:381
44. Sheldrick GM (2008) Acta Crystallogr A64:112–122
45. Cremer D, Pople JA (1975) J Am Chem Soc 97:1354–1358
46. Farrugia LJ (1997) Appl Crystallogr 30:565
47. Macrae CF, Bruno IJ, Chisholm JA, Edgington PR, McCabe P, Pidcock E, Rodriguez-Monge L, Taylor R, van de Streek J, Wood PA (2008) J Appl Crystallogr 41:466–470
48. Spek AL (1990) Acta Crystallogr Sect A 46:C34
49. Spek AL (1998) PLATON, a multipurpose crystallographic tool. Utrecht University, Utrecht





## Studies on the $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ catalyzed Baeyer–Villiger reaction of spiroketalic steroidal ketones

Mariana Macias-Alonso<sup>a</sup>, Jacek W. Morzycki<sup>b</sup>, Martin A. Iglesias-Arteaga<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F., Mexico

<sup>b</sup> University of Białystok, Institute of Chemistry, al. J. Piłsudskiego 11/4, 15-443 Białystok, Poland

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 28 October 2010

Received in revised form

27 November 2010

Accepted 8 December 2010

Available online 16 December 2010

Dedicated to the memory of Rosa de la Luz Arteaga Borgos.

#### Keywords:

23-Oxosapogenins

16 $\beta$ ,23:23,26-Diepoxy-cholestan-22-ones

Baeyer–Villiger reaction

$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  catalysis

Dinorcholanic lactones

### ABSTRACT

During reactions of 23-oxosapogenins and the corresponding isomeric 22-oxo-23-spiroketal with MCPBA in the presence of  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , equilibration occurs between the ketones. The Baeyer–Villiger type oxidation is followed by fragmentation to the dinorcholanic lactones and 3-methylbutyrolactone. The mechanistic aspects of these reactions in the 25R and 25S series are discussed.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

### 1. Introduction

The study on the reactivity of the spiroketal moiety present in steroid sapogenins has attracted attention of chemists for more than 70 years. The special reactivity of this fragment has provided a wide spectrum of interesting reactions that have proved useful from both, synthetic and mechanistic points of view [1–17].

In particular, steroid sapogenins bearing a substituent at position C-23 show different reactivity profiles compared with the unsubstituted ones. The presence of a substituent enhances the spectrum of reactions in which the spiroketal moiety, depending on the nature of the substituent, can participate including solvolytic, radical, and nucleophilic reactions and sigmatropic rearrangements, etc. [18–29].

We have recently described the Baeyer–Villiger (BV) reaction of 23-oxosapogenins with MCPBA in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , which produces a mixture of a bisnorcholanolic lactone **2** and a cyclic carbonate **3** in a ratio that depends on the temperature at which the reaction was carried out (see Scheme 1 and Table 1) [30,31].

The outcome of the reaction can be explained by an initial nucleophilic attack of the peroxy acid to C-23 to produce the Criegee

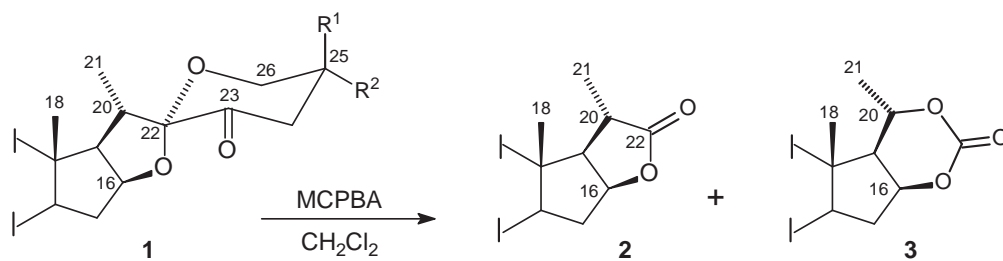
intermediate **I**. Its rearrangement leads to the unstable orthoester **II** that may undergo fragmentation to the dinorcholanic lactone **2a** and 3-methylbutyrolactone (its formation was confirmed by GC–MS) or alternatively may be again attacked by the peroxy acid to afford **III**, which rearranges to the cyclic carbonate **3a** (see Scheme 2).

The fact that the carbonate **3b** predominates over the dinorcholanic lactone, when the reaction was carried out at higher temperature (see entry 3, Table 1), was attributed to the preference of the reaction of MCPBA with the orthoester **II** over its collapse to the lactone **2b**. Similar results were obtained for both 23-oxosarsasapogenins.

Marker reported that treatment of 23-oxosarsasapogenins with the von Baeyer reagent (potassium persulfate, potassium sulfate and concentrated sulfuric acid) in acetic acid for 16 days led to a mixture of a bisnorcholanolic lactone and the pregnan-3 $\beta$ ,16,20-triol that is the product of hydrolysis of the cyclic carbonate [32]. Although the postulated mechanism for the BV brought about by the von Baeyer reagent is in some ways different, the fact that even in the presence of a strong Brønsted acid the observed reaction is slow, accounts for the low reactivity of the C-23 carbonyl towards peroxy acids. There were also reports on direct degradation of tigogenin to pregnan-3 $\beta$ ,16,20-triol with peroxy acids in strongly acidic medium [33,34].

\* Corresponding author. Tel.: +52 55 56223803; fax: +52 55 56223803.

E-mail address: [martin.iglesias@servidor.unam.mx](mailto:martin.iglesias@servidor.unam.mx) (M.A. Iglesias-Arteaga).



- a)  $R^1 = H$ ,  $R^2 = CH_3$  23-oxo-3-epismilagenin acetate  
 b)  $R^1 = CH_3$ ,  $R^2 = H$  23-oxosarsasapogenin acetate

Scheme 1.

**Table 1**  
 Non catalyzed BV reaction of 23-oxosapogenins (see Scheme 1).

Entry	Starting material	Temperature	Reaction time	Yield 2 (%)	Yield 3 (%)	Reference
1	<b>1a</b>	Room	29 days	63	26	[31]
2	<b>1b</b>	Room	66 days	54	24	[31]
3	<b>1b</b>	Reflux	24 h	13	32	[30]

This prompted us to explore the effect of  $BF_3 \cdot Et_2O$  catalysis on the BV reaction of 23-oxosapogenins. Herein we report on the  $BF_3 \cdot Et_2O$  catalyzed BV reaction of 23-oxosapogenins and the related rearranged products bearing the  $16\beta,23:23,26$ -diepoxy-22-oxo-cholestane side chain.

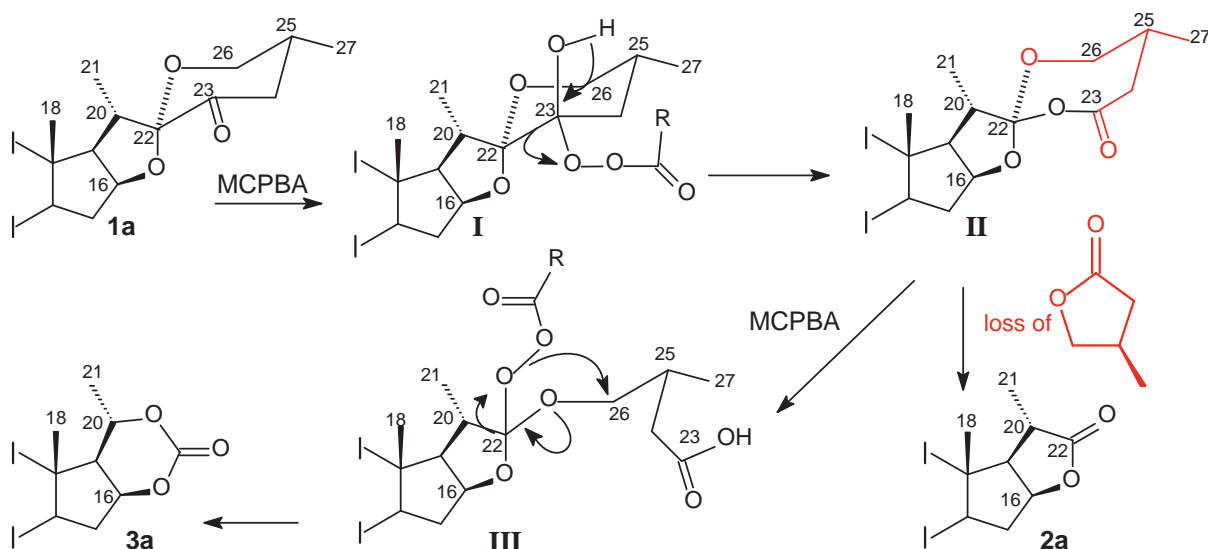
## 2. Experimental

Reactions were monitored by TLC on ALUGRAM® SIL G/UV254 plates from MACHEREY-NAGEL. Chromatographic plates were sprayed with a 1% solution of vanillin in 50%  $HClO_4$  and heated until color developed. Melting points were measured on a Melt-Temp II instrument and are uncorrected. NMR spectra were recorded in  $CDCl_3$  solution with a Varian INOVA 300 and 400 spectrometers using the solvent signal 7.26 ppm for  $^1H$  and 77.00 ppm for  $^{13}C$  as references. The  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR spectra were processed using MestreNova (<http://mestrelab.com>).

(25*R*)-3 $\alpha$ -acetoxy-5 $\beta$ -spirostan-23-one (23-oxo-3-epismilagenin acetate) (**1a**) obtained as described in Ref. [31]. Mp.: 155–157 °C.  $^1H$  NMR: (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 4.71 (m, 1H, H-3),

4.59 (ddd,  $J = 7.6, 7.6, 6.2$  Hz, 1H, H-16), 3.77 (dd,  $J = 11.3, 11.3$  Hz, 1H, H-26 *Pro-R*), 3.57 (ddd,  $J = 11.2, 4.6, 1.4$  Hz, 1H, H-26 *Pro-S*), 2.86 (dq,  $J = 6.9, 6.9$  Hz, 1H, H-20), 2.43 (m, 1H, H-24), 2.27 (m, 1H, H-25), 2.01 (s, 3H,  $CH_3$  acetyl), 0.93 (s, 3H, H-19), 0.92 (d,  $J = 5.8$  Hz, 3H, H-27), 0.92 (d,  $J = 7.6$  Hz, 3H, H-21), 0.74 (s, 3H, H-18).  $^{13}C$  NMR: (100 MHz,  $CDCl_3$ ): C-1 35.0, C-2 26.5, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 40.0, C-13 41.1, C-14 56.4, C-15 31.7, C-16 83.4, C-17 61.8, C-18 16.1, C-19 23.3, C-20 34.7, C-21 14.4, C-22 109.8, C-23 201.8, C-24 45.2, C-25 35.8, C-26 65.6, C-27 17.1,  $CH_3$  acetyl 21.4, C=O acetyl 170.5.

$BF_3 \cdot Et_2O$ -catalyzed BV reaction of 23-oxo-3-epismilagenin acetate (**1a**). MCPBA (74.2 mg, 0.33 mmol) and  $BF_3 \cdot Et_2O$  (0.2 mL, 1.6 mmol) were added to a solution of 23-oxo-3-epismilagenin acetate (**1a**) (56.2 mg, 0.12 mmol) in  $CH_2Cl_2$  (5 mL) and the mixture was stirred for 10 min before addition of water (20 mL) and dilution with  $CH_2Cl_2$  (25 mL). The organic layer was separated and washed with saturated  $NaHSO_3$  (aq.) solution ( $2 \times 20$  mL), 10%  $Na_2CO_3$  (aq.) ( $2 \times 20$  mL) and water ( $2 \times 20$  mL), dried (anh.  $Na_2SO_4$ ) and evaporated to afford the pure 3 $\alpha$ -acetoxy-16 $\beta$ -hydroxy-5 $\beta$ -bisnorcholanoic acid 22  $\rightarrow$  16 lactone **2a** (45.7 mg, 0.118 mmol,



Scheme 2.

98.3%), identical as described in Ref. [31].  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 4.94 (ddd,  $J=7.8, 7.8, 4.6$  Hz, 1H, H-16), 4.72 (dddd,  $J=11.4, 11.4, 4.9, 4.9$  Hz, 1H, H-3), 2.57 (dd,  $J=0.7, 7.5$  Hz, 1H, H-20), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl), 1.31 (d,  $J=7.6$  Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.73 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C NMR}$ : (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.1, C-4 32.2, C-5 41.7, C-6 26.8, C-7 26.5, C-8 35.2, C-9 40.6, C-10 34.7, C-11 20.1, C-12 38.5, C-13 41.8, C-14 54.7, C-15 33.0, C-16 82.8, C-17 59.2, C-18 13.8, C-19 23.3, C-20 36.1, C-21 18.0, C-22 181.3,  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4, C=O acetyl 170.5.

(23*R*,25*R*)-3 $\beta$ -acetoxy-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-22-one (**4a**) obtained as described in Ref. [28]. Mp.: 184–186 °C (from ethyl acetate-hexane).  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 4.71 (m, 1H, H-3); 4.36 (ddd, 1H,  $J=6.3, 8.1, 8.1$  Hz, 1H, H-16); 4.13 (dd, 1H,  $J=7.6, 7.6$  Hz, H-26 Pro-S); 3.54 (dd, 1H,  $J=8.2, 9.0$  Hz, H-26 Pro-R); 2.79 (m, 1H, H-20); 2.41 (m, 1H, H-25); 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl); 1.08 (d, 3H,  $J=6.4$  Hz, H-21); 1.05 (d, 3H,  $J=6.7$  Hz, H-27); 0.95 (s, 6H, H-18 and H-19).  $^{13}\text{C NMR}$ : (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): C-1 30.6, C-2 26.5; C-3 74.2, C-4 32.9; C-5 41.8; C-6 26.6; C-7 26.9; C-8 35.5; C-9 40.5; C-10 34.6; C-11 20.7; C-12 40.1; C-13 43.0; C-14 53.2; C-15 32.2; C-16 72.9; C-17 57.7; C-18 14.7; C-19 23.3; C-20 39.9; C-21 12.9; C-22 213.1; C-23 107.9; C-24 43.9; C-25 33.4; C-26 75.3; C-27 16.5;  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4; C=O acetyl 170.6.

When the rearranged ketone (**4a**) (50 mg, 0.11 mmol) was submitted to the  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -catalyzed BV reaction for 10 min, the pure lactone **2a** (38.9 mg, 0.10 mmol, 90.9%) was produced.

(25*S*)-3 $\beta$ -acetoxy-5 $\beta$ -spirostan-23-one 23-oxosarsapogenin acetate (**1b**) obtained as described in Ref. [31]. Mp.: 168–170 °C.  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 5.06 (m, 1H, H-3), 4.61 (m, 1H, H-16), 4.26 (dd,  $J=11.2, 2.9$  Hz, 1H, H-26 Pro-R), 3.42 (ddd,  $J=11.1, 2.1, 2.1$  Hz, 1H, H-26 Pro-S), 2.89 (m, 1H, H-20), 2.38 (m, 1H, H-25), 2.04 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl), 1.07 (d,  $J=7.1$  Hz, 3H, H-21), 0.98 (s, 3H, H-19), 0.95 (d,  $J=7.0$  Hz, 3H, H-27), 0.77 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): C-1 30.6, C-2 25.0, C-3 70.7, C-4 30.7, C-5 37.3, C-6 26.4, C-7 26.4, C-8 35.3, C-9 40.0, C-10 35.0, C-11 20.8, C-12 40.0, C-13 41.2, C-14 56.5, C-15 31.7, C-16 83.6, C-17 61.8, C-18 16.2, C-19 23.9, C-20 35.1, C-21 14.2, C-22 110.7, C-23 202.4, C-24 43.9, C-25 33.7, C-26 64.6, C-27 17.7,  $\text{CH}_3$  acetyl 21.5, C=O acetyl 170.7.

When 23-oxosarsapogenin acetate (**1b**) (50 mg, 0.11 mmol) was submitted to the  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -catalyzed BV reaction procedure for 10 min the pure lactone **2b** (31.7 mg, 0.08 mmol, 72.7%) was produced. 3 $\beta$ -Acetoxy-16 $\beta$ -hydroxy-5 $\beta$ -bisorcholanolic acid 22  $\rightarrow$  16 lactone (**2b**) identical as described in Ref. [31].  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 5.05 (m, 1H, H-3), 4.93 (ddd,  $J=7.7, 7.7, 4.6$  Hz, 1H, H-16), 2.56 (m, 1H, H-20), 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl), 1.30 (d,

$J=7.6$  Hz, 3H, H-21), 0.97 (s, 3H, H-19), 0.73 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): C-1 30.5, C-2 24.9, C-3 70.5, C-4 30.7, C-5 37.1, C-6 26.3, C-7 26.2, C-8 35.0, C-9 40.1, C-10 35.0, C-11 20.3, C-12 38.5, C-13 41.8, C-14 54.7, C-15 33.0, C-16 82.8, C-17 59.1, C-18 13.8, C-19 23.7, C-20 36.0, C-21 18.0, C-22 181.2,  $\text{CH}_3$  acetyl 21.4, C=O acetyl 170.6.

(23*R*,25*S*)-3 $\beta$ -acetoxy-16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-5 $\beta$ -cholestan-22-one (**4b**) obtained following the procedure described in Ref. [24]. Mp.: 169–171 °C.  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 5.04 (m, 1H, H-3), 4.34 (ddd,  $J=8.1, 8.1, 6.4$  Hz, 1H, H-16), 4.11 (dd,  $J=7.7, 7.7$  Hz, 1H, H-26 Pro-R), 3.60 (dd,  $J=7.9, 7.9$  Hz, 1H, H-26 Pro-S), 2.74 (dq,  $J=9.8, 6.4$  Hz, 1H, H-20), 2.55 (m, 1H, H-25), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  acetyl), 1.07 (d,  $J=6.4$  Hz, 3H, H-21), 1.03 (d,  $J=6.7$  Hz, 3H, H-27), 0.97 (s, 3H, H-19), 0.93 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): C-1 30.5, C-2 24.9, C-3 70.5, C-4 30.6, C-5 37.2, C-6 26.3, C-7 26.3, C-8 35.2, C-9 40.5, C-10 34.9, C-11 20.9, C-12 40.1, C-13 42.9, C-14 53.1, C-15 32.8, C-16 72.1, C-17 57.4, C-18 14.7, C-19 23.8, C-20 39.8, C-21 13.0, C-22 213.2, C-23 107.6, C-24 44.3, C-25 32.7, C-26 76.1, C-27 17.0,  $\text{CH}_3$  acetyl 21.5, C=O acetyl 170.7.

When the rearranged ketone (**4b**) (50 mg, 0.11 mmol) was submitted to the  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -catalyzed BV reaction procedure for 10 min the pure lactone **2b** (27.2 mg, 0.07 mmol, 63.6%) was produced.

## 2.1. Isomerization experiments

$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0.2 mL, 1.6 mmol) was added to a solution of 23-oxo-3-epismilagenin acetate (**1a**) (50 mg, 0.11 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) and the solution was stirred for 10 min before addition of water (20 mL) and dilution with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL). The organic layer was washed with water ( $3 \times 25$  mL), dried (anh.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) and evaporated to afford a 1/3.4 mixture of **1a** and **4a** (ratio determined by relative integration of H-26 Pro-R of **1a** y H-26 Pro-S of **4a**, see Fig. 1 and Supplementary information).

When the rearranged ketone **4a** was submitted to the same procedure, a 1/2.45 mixture of **1a** and **4a** was obtained (ratio determined as described for **1a**, see Supplementary information).

When 23-oxosarsapogenin acetate (**1b**) was submitted to the same procedure a 1/10.37 mixture of **1b** and **4b** was obtained (ratio determined by relative integration of the H-26 Pro-S of **1b** and **4b**, see Fig. 1 and Supplementary information).

When the rearranged ketone **4b** was submitted to the same procedure a 1/9.79 mixture of **1b** and **4b** was obtained (ratio determined by relative integration of the H-26 Pro-S of **1b** and **4b**, see Supplementary information).

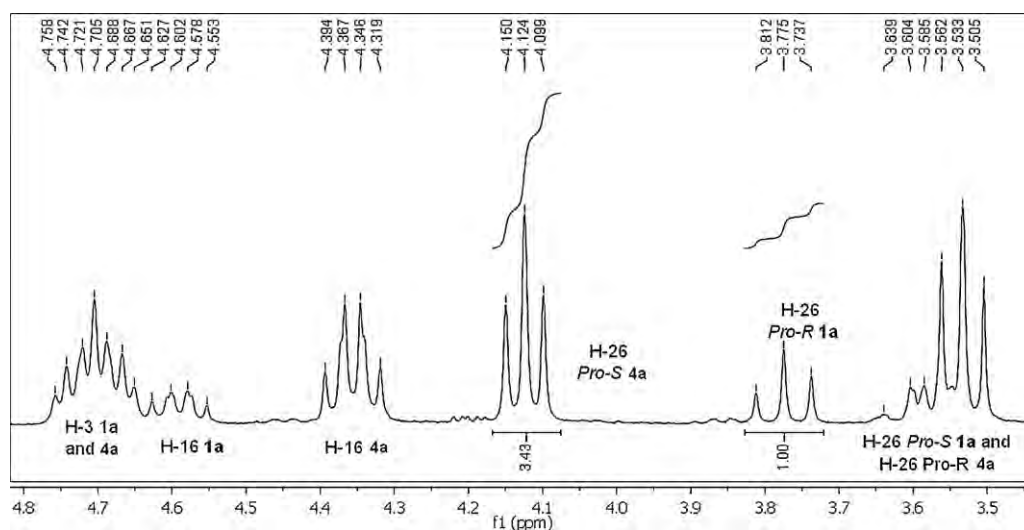
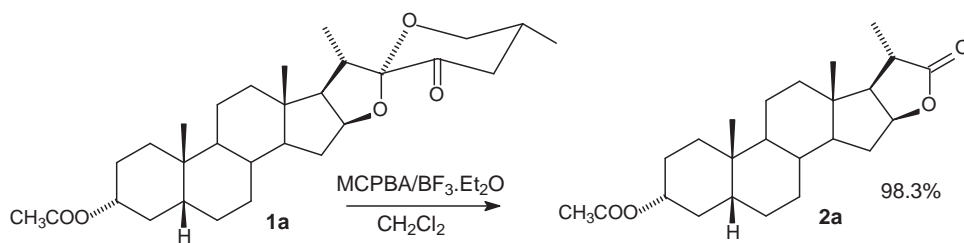
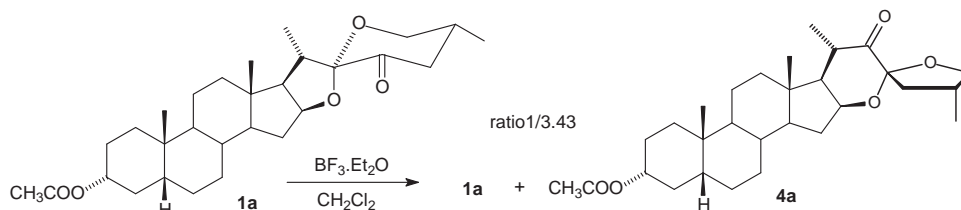


Fig. 1. Relative integration of the H-26 Pro-S (**4a**) and H-26 Pro-R (**1a**) signals.



Scheme 3.



Scheme 4.

### 3. Results and discussion

Treatment of 23-oxosmilagenin acetate **1a** with MCPBA and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> resulted in a very fast BV reaction to produce the dinorcholanolactone **2a** in 98.3% after only 10 min (see Scheme 3).

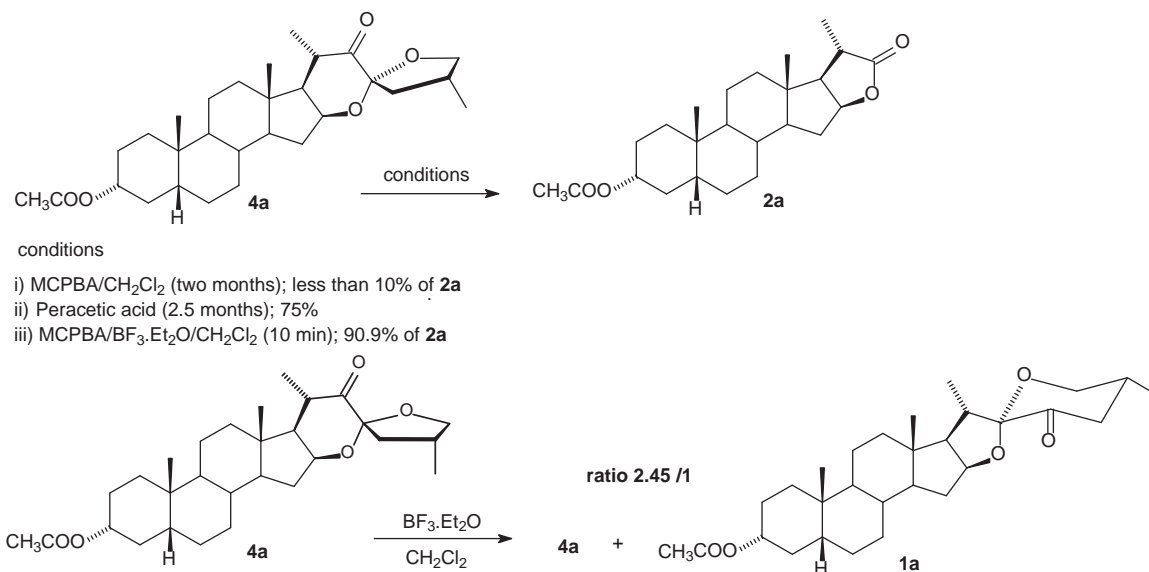
The results of the BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O catalyzed BV reaction of the 23-oxo derivative **2a** can be explained by basically the same mechanism as depicted in Scheme 2, in which coordination of BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O to the C-23 carbonyl catalyzes the attack of the peracid to this position leading to the fast production of the Criegee intermediate **I**. Once the rearrangement to the orthoester **II** has occurred, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O catalyzes its fast collapse to the lactone **2a**, avoiding the second nucleophilic attack of the peroxy acid and preventing the concurrent formation of the cyclic carbonate **3a**.

Examination of the TLC plates after 5 min indicated the presence of the starting material **1a**, the more polar lactone **2a** and an additional product of intermediate polarity which disappeared when the starting material was consumed. A blank experiment, in which the starting material **1a** was treated only with BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O for 10 min produced a 1/3.43 mixture of the starting material **1a** and

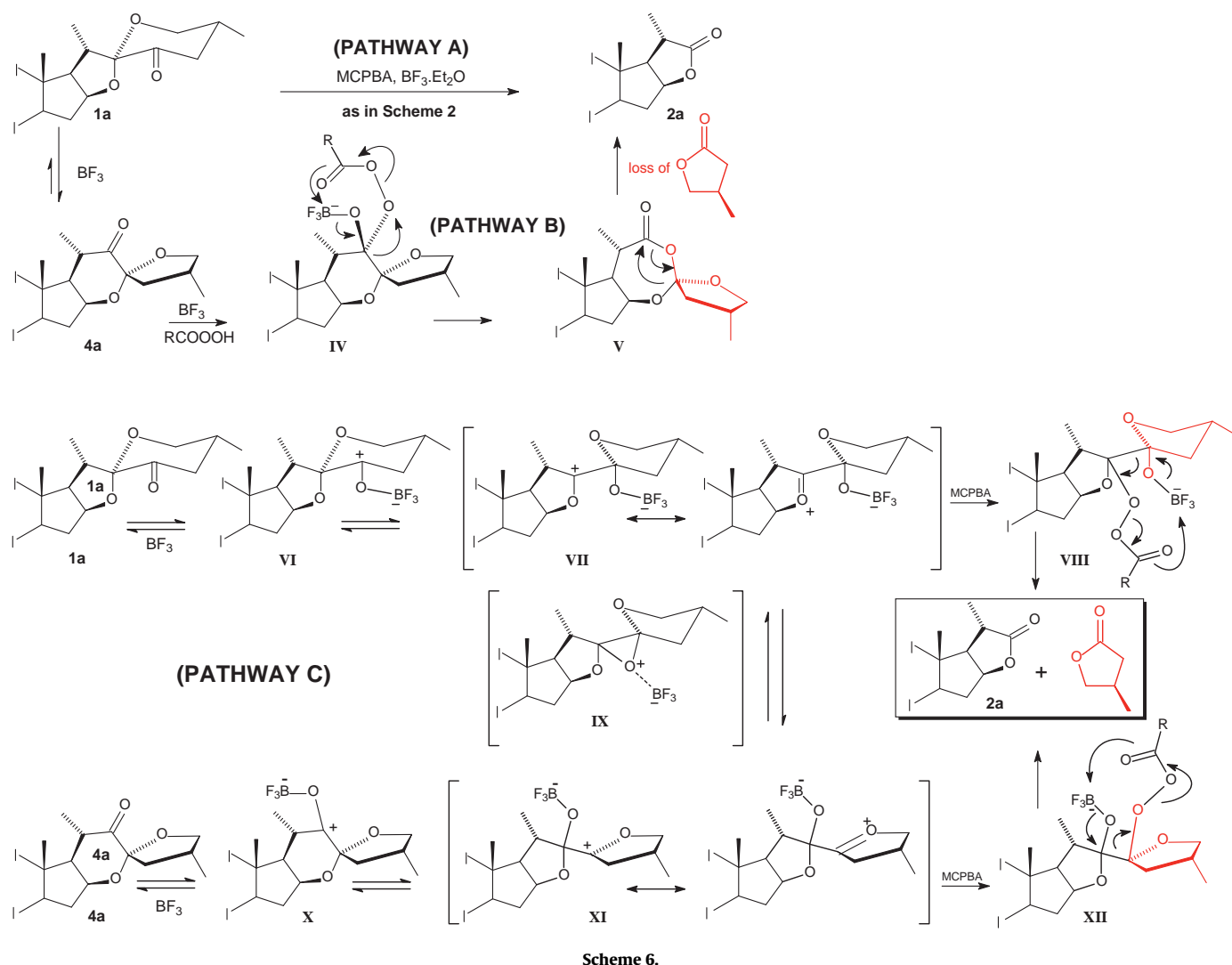
the above mentioned product, which was separated and identified as the known (23*R*,25*R*)-3α-acetoxy-16β,23:23,26-diepoxy-5β-cholestan-22-one **4a** [28] (see Scheme 4 and Fig. 1). When the **1a/4a**/BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O mixture was allowed to stand overnight a mixture of at least three inseparable compounds was produced.

This highly stereoselective (only the *R* configuration is formed at the new spiro carbon atom) rearrangement, for the first time reported by Suárez (employing TiCl<sub>4</sub>) [18], has been also described to proceed under BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O catalysis in different solvents (formic acid, THF) [13,24].

This led us to investigate the BV reaction of **4a** under the same reaction conditions as those explored for **1a**. Meanwhile **4a** proved to be inert to MCPBA after more than 1.5 months, when it was treated with peroxyacetic acid the lactone **2a** was produced in 75% yield after 2.5 months, indicating the considerably low reactivity of **4a** to the peroxy acid attack. In contrast, treatment of **4a** with MCPBA and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> produced the lactone **2a** in 90.9% after only 10 min. A blank experiment showed that the treatment of **4a** in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> solution with BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O for 10 min afforded a 2.45/1 mixture of **4a** and **1a** (see Scheme 5 and supplementary information).



Scheme 5.



In the case of **4a**, the observed slow BV reaction with MCPBA or peracetic acid, can be explained by taking into account that the approach of the peroxy acid to C-22 is strongly hindered by the F-ring attached to C-23 and by the 18- and 21-methyl groups placed in the  $\beta$  and  $\alpha$  sides of the steroid framework, respectively.

For the  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  catalyzed reaction of **4a**, a pathway through the Criegee intermediate **IV** and the orthoester **V** (see Scheme 6, pathway B) may also explain the results, but considering the strong steric hindrance around C-22, and provided that  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  catalyzes the interconversion of **1a** and **4a**, it is more reasonable to assume that the reaction of **4a** follows pathway A consisting of a conversion to the 23-oxo derivative **1a**, which being more accessible to the peroxy acid attack, readily undergoes the  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  catalyzed BV reaction shifting the  $\text{4a} \rightleftharpoons \text{1a}$  equilibrium towards **1a**, until **4a** is completely consumed (see Scheme 6).

Alternatively intermediates **VII** and **XI** involved in the  $\text{1a} \rightleftharpoons \text{4a}$  equilibrium may undergo nucleophilic attack of the peroxy acid respectively leading to **VIII** and **XII** that rearrange to the lactone **2a** with loss of 3-methylbutyrolactone (see Scheme 6, pathway C).

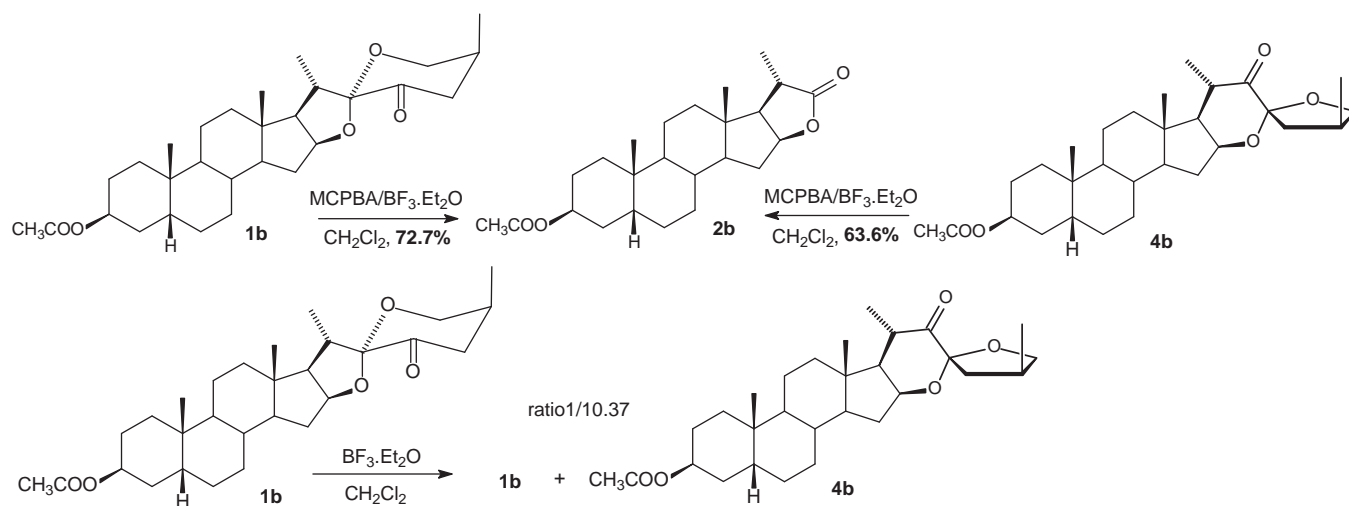
### 3.1. Experiments in the 25S series

The BV reactions of 23-oxosarsapogenin acetate **1b** and the rearranged ketone **4b** catalyzed by  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  afforded the same dinocholanic lactone **2b** in 72.7 and 63.6% yield, respectively (see

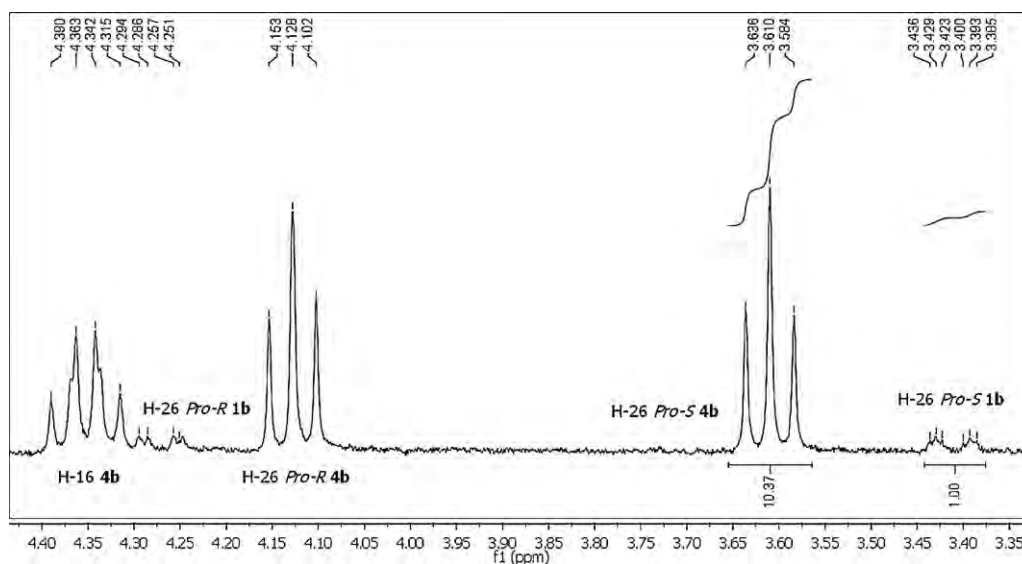
Scheme 7). As described for **1a**, a blank experiment, in which **1b** was treated only with  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  for 10 min, produced a 1/10.37 mixture of **1b** and **4b** (see Fig. 2 and Supplementary information). Similar treatment of **4b** afforded a 1/9.79 mixture of **1b** and **4b** (see Supplementary information).

In the 25S series yields of the dinocholanic lactone **2b** proved considerably lower when compared with yields of analogous lactone **2a** from ketones (**1a** or **4a**) of the 25R series. It seems that in this case the BV reaction is accompanied by a side, rather messy, reaction. We have recently shown [29] that the treatment of 23-oxosapogenins with trimethylsilyl triflate results in the formation of the rearranged dienes (such as **5**, see Fig. 3) in addition to the isoprostanic ketones (analogous to **4**). Such dienes may be also formed in minor amounts in the reactions catalyzed by  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ . The dienes are formed by elimination reactions of some intermediates (e.g. **VII** or **XI**, see Scheme 6).

The elimination reactions are irreversible and affect the equilibrium between **1** and **4**. In addition, dienes may react with peroxy acids leading to a variety of products. In the 25S series the rearrangement of the unreactive ketone (**4b**) to the reactive one (**1b**) is apparently slower than in the 25R series due to a steric hindrance from the methyl group at C-25, which becomes axial as a result of the transformation. That is why the competitive elimination reactions, that reduce the yield of the BV reaction in the 25S series, have time to occur.



Scheme 7.

Fig. 2. Relative integration of the H-26 Pro-S (**4b**) and H-26 Pro-S (**1b**) signals.

### 3.2. Molecular modeling

The experimental results presented above showed that the 23-oxosapogenins readily undergo rearrangement catalyzed by BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O to the isomeric 22-oxo-23-spiroketal. Assuming that the equilibrium between both ketones is reached within 10 min at room temperature (25 °C), we can calculate the  $\Delta G$  value ( $\Delta G = -RT \ln K$ ) from the isomeric ratio ( $K = n(\mathbf{1})/n(\mathbf{4})$ ). In both 25R and 25S series, the 22-oxo-23-spiroketal are isomers of lower energy but the  $\Delta G(\mathbf{1a-4a})$  and  $\Delta G(\mathbf{1b-4b})$  values are substantially different (0.53–0.73 kcal/mol vs. 1.35–1.38 kcal/mol, respectively).

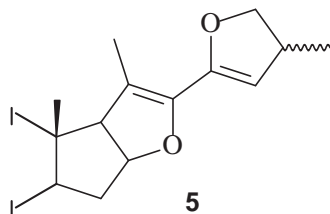


Fig. 3. Rearranged diene.

To justify these results we performed molecular modeling using molecular mechanics (HyperChem TM release 3 from Hypercube, Inc.; employing the MM+ force field and the Polak-Ribiere conjugate gradient algorithm) and results are presented in Table 2.

The Molecular modeling confirmed that the isomeric 22-oxo-23-spiroketal are thermodynamically more stable than the 23-oxosapogenins and that it is clear that release of energy is a driving force for rearrangement. The calculated difference in the 25R series:  $\Delta G(\mathbf{1a-4a}) = 0.33$  kcal/mol proved to be smaller than in the 25S series:  $\Delta G(\mathbf{1b-4b}) = 1.35$  kcal/mol and for this reason the equilibrium in the latter case is more shifted towards the rearranged ketone. The energy release during rearrangement in the 25S series results mainly from change of an axial methyl group at

**Table 2**  
Calculated steric energies for studied compounds **1a**, **1b**, **4a**, and **4b**.

Compound	Steric energy (kcal/mol)
<b>1a</b>	59.86
<b>4a</b>	59.53
<b>1b</b>	60.92
<b>4b</b>	59.57

C-25 in 23-oxosarsapogenin acetate (**1b**) into *pseudo*-equatorial one in the corresponding 22-oxo-23-spiroketal (**4b**). It should be remarked that the agreement between experimental results and MM+ calculated values is quite satisfactory.

#### 4. Conclusions

The  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -catalyzed reactions of 23-oxosapogenins and isomeric 22-oxo-23-spiroketal of both, the 25R and 25S series, with MCPBA rapidly afford analogous lactone products. The BV rearrangement is accompanied by fragmentation into the dinorcholanic lactone and 3-methylburyrolactone. It was proved that fast interconversion of the isomeric ketones occur under the reaction conditions. In the 25S series the equilibrium between them is significantly shifted towards the less reactive 22-oxo-23-spiroketal that justifies the lower yield of the lactone in this case.

#### Acknowledgements

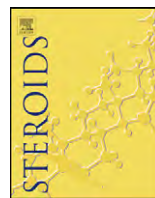
The authors thank the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) for financial support via project IN204008-3 and CONACyT for scholarship granted to MM-A. Financial support from the University of Białystok within the project BST 124 is gratefully acknowledged. Thanks are due to Rosa I. del Villar Morales, Georgina Duarte Lisci (USAI-UNAM) for recording NMR and mass spectra.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.steroids.2010.12.004.

#### References

- [1] Fieser L, Fieser M. Steroids. New York: Reinhold Publishing Corporation; 1959. p. 810–46.
- [2] Torgov IV. Chemistry of spirostanols. Moscow: Nauka; 1986 [in Russian].
- [3] Iglesias-Arteaga MA, Perez-Gil R, Coll-Manchado F. Aspectos de interés sobre la cadena lateral de las sapogeninas esteroidales. CENIC 1997;28:67–72 [in Spanish].
- [4] Djerassi C, Halpern O, Pettit GR, Thomas GH. Reaction of the steroidal sapogenin spiroketal system with ethanedithiol. J Org Chem 1959;24:1–6.
- [5] Zedric JA, Cervantes L, Galván MT. Sapogenins. XLI. A new reaction of the spiroketal side chain. J Am Chem Soc 1962;84:102–6.
- [6] Faul WH, Failli A, Djerassi C. Side-chain transformations and deuterium labeling in the steroidal sapogenin series. J Org Chem 1970;35:2571–85.
- [7] Sandoval-Ramírez J, Castro-Mendez A, Meza-Reyes S, Reyes-Vázquez S, Santillán R, Farfán N. Preparation of 22,26-epoxycholest-22-ene steroids. Novel transformation of the side chain in sapogenins. Tetrahedron Lett 1999;40:5143–6.
- [8] Bäsler S, Brunck A, Jautelat R, Winterfeld E. Synthesis of cytostatic tetracyclic pyrazines and a novel reduction-oxidation sequence for spiroketal opening in sapogenins. Helv Chim Acta 2000;83:1854–80.
- [9] LaCour TG, Tong Z, Fuchs PL. Consequences of acid catalysis in concurrent ring opening and halogenation of spiroketals. Org Lett 1999;1:1815–8.
- [10] Sandoval-Ramírez J, Meza-Reyes S, del Río RE, Hernández-Linares G, Suárez-Rojas A, Rincón S, et al. Regioselective cleavage of rings E and F in sarsapogenin. Steroids 2003;68:199–204.
- [11] Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO. One-step axial acetoxylation at C-23. A new method for the functionalization of the side chain of steroid sapogenins. Tetrahedron Lett 2006;47:8029–31.
- [12] Iglesias-Arteaga MA, Jastrzębska I, Morzycki JW. Reactions of sapogenins with *m*-chloroperoxybenzoic acid catalyzed by Lewis acids. Polish J Chem 2006;80:667–71.
- [13] Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO, Méndez-Stivalet JM. The unexpected course of the reaction of steroid sapogenins with diacetoxyiodobenzene and  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in formic acid. Tetrahedron Lett 2007;48:7485–8.
- [14] López Y, Ruíz-Pérez KM, Yépez R, Santillán R, Flores-Álamo M, Iglesias-Arteaga MA. Mechanistic insights and new products of the reaction of steroid sapogenins with  $\text{NaNO}_2$  and  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in acetic acid. Steroids 2008;73:657–68.
- [15] Jiang B, Shi H-p, Tian W-s, Zhou W-s. Tetrahedron 2008;64:469–76.
- [16] Ruíz-Pérez KM, Romero-Ávila M, Flores-Pérez B, Flores-Álamo M, Moreno-Esparza R, Iglesias-Arteaga MA. Revisiting 23-iodospirostananes. New facts and full characterization. Steroids 2009;74:996–1002.
- [17] Jastrzębska I, Dobrogowska A, Lutostańska E, Morzycki JW. On reactions of spirostane sapogenins with benzeneseleninic anhydride. Tetrahedron 2010;66:5024–9.
- [18] Hernández R, Marrero-Tellado JJ, Prout K, Suárez E. Lewis acid-mediated isomerization of (25R)-3 $\beta$ -acetoxy-5 $\alpha$ -spirostan-23-one, a C-22 spiroacetal: an approach to the synthesis of C-23 spiroacetal steroidal sapogenins. J Chem Soc Chem Commun 1992:275–7.
- [19] Morzycki JW, Jastrzębska I. Novel transformation of 23-bromosapogenins. Synthesis of (22S, 23R)-22-hydroxy-23,26-epoxyfurostanes. Tetrahedron Lett 2001;42:5989–91.
- [20] Anulewicz-Ostrowska R, Jastrzębska I, Morzycki JW, Wojcik J. An assisted solvolysis of 23 spirostanyl bromides and tosylates. A new rearrangement of spirostanes to the bisfuran systems. J Org Chem 2002;67:6916–24.
- [21] Betancour C, Dorta RL, Freire R, Martin A, Prange T, Suárez E. Stereospecific synthesis of 1,6-dioxadecalins and 2,2(-linked) ditetrahydrofurans by rearrangement of steroidal spiroacetals. J Org Chem 1998;63:6355–62.
- [22] Jastrzębska I, Morzycki JW, Trochimowicz U. Lead tetraacetate-iodine oxidation of 23-spirostanols. Tetrahedron Lett 2004;45:1929–32.
- [23] Iglesias-Arteaga MA, Sandoval-Ramírez J, Mata-Esma MY, Viñas-Bravo O, Bernes S. Abnormal Beckmann rearrangement in 23-hydroxyiminodiosgenin acetate. Tetrahedron Lett 2004;45:4921–6.
- [24] Cyrański MK, Frelek J, Jastrzębska I, Morzycki JW. Rearrangement of 23-oxospirostanes to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids. X-ray crystal structure of (23R, 25S)-3-acetoxy-16,23:23,26-diepoxy-5-cholestan-22-one. Steroids 2004;69:395–400.
- [25] Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA. Favorskii rearrangement of 23-oxo-3-epi-smilagenin acetate induced by iodosobenzene. Tetrahedron Lett 2005;46:6897–9.
- [26] Iglesias-Arteaga MA, Alvarado-Nuño AA.  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  induced Beckmann rearrangement of 23 hydroxyiminosapogenins. A shortcut to bisnorcholaniclactones. Tetrahedron Lett 2006;47:5351–3.
- [27] Vázquez-Ramírez I, Macías-Alonso M, Arcos-Ramos RO, Ruíz-Pérez KM, Solano-Ramírez DO, Iglesias Arteaga MA.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR characteristics of synthetic derivatives of steroid sapogenins: Part III. 16 $\beta$ ,23:23,26-Diepoxy side chains. Steroids 2008;73:642–51.
- [28] Macías-Alonso M, Flores-Álamo M, Iglesias-Arteaga MA. Beckmann reactions of steroidal spirocyclic oximes derived from the 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-22-oxo moiety. Steroids 2009;74:112–20.
- [29] Jastrzębska I, Siergiejczyk L, Tomkiel AM, Urbańczyk-Lipkowska Z, Wójcik D, Morzycki JW. On reactions of steroidal 23-oxo and 23,24-epoxysapogenins with Lewis acids. Steroids 2009;74:675–83.
- [30] Jastrzębska I, Morzycki JW. Unusual Baeyer–Villiger oxidation of 23-oxosarsapogenin acetate. Polish J Chem 2005;79:1245–8.
- [31] Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA, Méndez-Stivalet JM, Galano A, Álvarez-Idaboy JR. The Baeyer–Villiger reaction of 23-oxosapogenins. Arkivoc 2005;VI:109–26.
- [32] Marker RE, Shabica A. Sterols. CXXXVII. Sapogenins. LVIII. Oxidation products of sarsapogenin: keto-sarsapogenin. J Am Chem Soc 1942;64:813–6.
- [33] Hunt KW, Grieco PA. Baeyer–Villiger oxidation promoted by reaction of peracids with cyclic oxocarbenium ions generated in situ from internal hemiketals. Org Lett 2000;2:1717–9.
- [34] Marker RE, Turner DL, Wagner RB, Ulshafer PR, Sterols CXVI, Sapogenins XLV. The isosarsapogenin configuration. J Am Chem Soc 1941;63:772–4.



## On the reactivity of 23-methoxycarbonyl furospirostanes

Mariana Macías-Alonso, Marcos Flores-Álamo, Martín A. Iglesias-Arteaga\*

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 Mexico, D.F., Mexico

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 15 March 2011  
Received in revised form 31 March 2011  
Accepted 1 April 2011  
Available online 14 April 2011

#### Keywords:

Furospirostane side chain  
Brønsted acid-catalysed reactions  
Lewis acid-catalysed reactions  
Bromination  
Deuteration  
Rearrangements

### ABSTRACT

Brønsted and Lewis acid-catalysed reactions of the 23-methoxycarbonyl furospirostane side chain are described. While bromination, deuteration and  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}/\text{AcOH}$  treatment involve regioselective F-ring opening with exclusive participation of  $\Delta^{22}$ -furostenic intermediates,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}/\text{Ac}_2\text{O}$  treatment leads to irreversible E- or F-ring cleavage.

© 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

### 1. Introduction

Spiroketal constitute a large family of naturally occurring compounds that have been isolated from both terrestrial and marine organisms. In general the spiroketal moiety is a prevalent structure in a large number of important natural products that have attracted much interest, not only for their wide spectrum of biological activity, but also for their interesting reactivity and usefulness in the preparation of other bioactive compounds [1–3].

Steroids bearing spiroketal side chains are widespread in both the natural and synthetic domains. Spirostanic sapogenins (see Fig. 1) the reactivity of which has produced a wide variety of interesting reactions [4–24] are characterized by the presence of a  $16\beta,22:22,26$ -diepoxy moiety in the side chain, being  $1,6$ -dioxaspiro[4.5] decane derivatives. Such compounds have been subject of much research due to their intrinsic biological activity [25–30] as well as their usefulness as starting materials for the synthesis of bioactive compounds such as sex and adrenocortical hormones, [4] ecdysteroids, [31] plant growth stimulators, [32–38] and cytotoxic steroids, [39–45] among many others.

It is well known that, in acid media, spirostane sapogenins present an equilibrium in which the spiroketal side chain is opened to the oxacarbenium ion **I** that may lose a proton from either C-20 or C-23 to produce  $\Delta^{20}$  or  $\Delta^{22}$  enol ethers (see Scheme 1) [4]. Most of the reactivity of the spirostane side chain can be justified on the basis of these two enolic forms and the oxacarbenium ion **I**.

Furospirostanes, a smaller and somewhat less known family of steroids bearing a  $16\beta,22:22,25$ -diepoxy moiety in the chain, may be considered  $1,6$ -dioxaspiro[4.4]nonane derivatives, and includes compounds with antitumor activity as the ritterazines (**4**), cephalostatins (**5**) [41–45], or hippuristanols (**6–8**) [46–49], among others (see Fig. 2).

Fuchs and coworkers correlated the cytotoxicity of cephalostatins and their synthetic analogues with that of the potent anti-tumor steroid OSW-1 and hypothesized that the cytotoxic activity of such compounds may be connected with the possibility of the generation of oxacarbenium ions around C-22 [50–52]. In the light of this hypothesis, the fact that other furospirostanes with different  $16\beta,22:22,25$ -diepoxy side chains (i.e. hippuristanols **6–8**, Fig. 2) and even steroid sapogenins (**1–3**, Fig. 1) with the  $16\beta,22:22,26$ -diepoxy side chain, (*all theoretically able to produce oxacarbenium ions around C-22*), have shown toxic activity against different cancer cell lines, should not be considered a mere coincidence. On the contrary, this fact supports Fuchs's hypothesis, and constitute an invitation to the study of the biological activity and reactivity of other compounds bearing slightly or even drastically modified side chains that still are able to generate oxacarbenium ions around C-22.

As a part of our project to explore the reactivity of steroid bearing spiroketals side chains, we have found that treatment of 23-oxo-spirostanes with diacetoxyiodobenzene (DIB) and KOH in methanol produces a *quasi*-Favorskii F-ring contraction that leads to 23-methoxycarbonyl-furospirostanes (see Scheme 2) [10].

This has led us to initiate a program to study the reactivity of the derived compounds as well as their usefulness as starting materials for the synthesis of other potentially bioactive steroids bearing

\* Corresponding author. Tel.: +52 55 56223803; fax: +52 55 56223803.  
E-mail address: [martin.iglesias@servidor.unam.mx](mailto:martin.iglesias@servidor.unam.mx) (M.A. Iglesias-Arteaga).



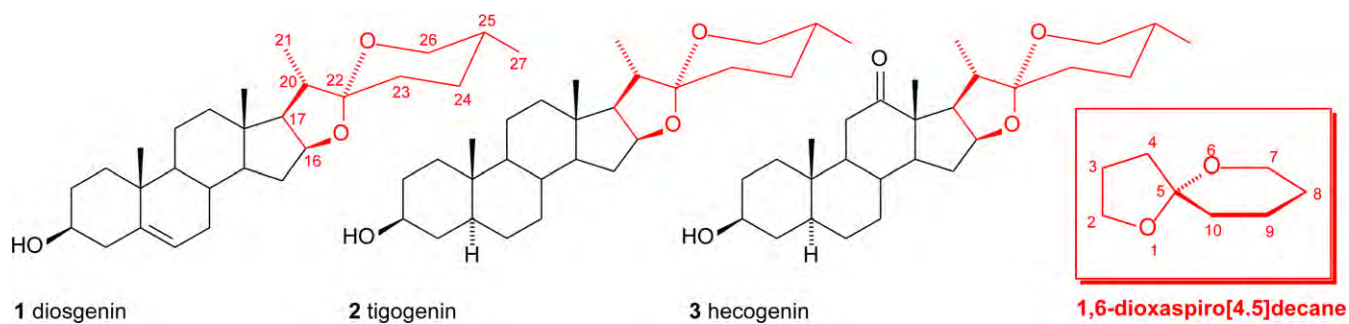


Fig. 1. Some naturally occurring spirostane sapogenins.

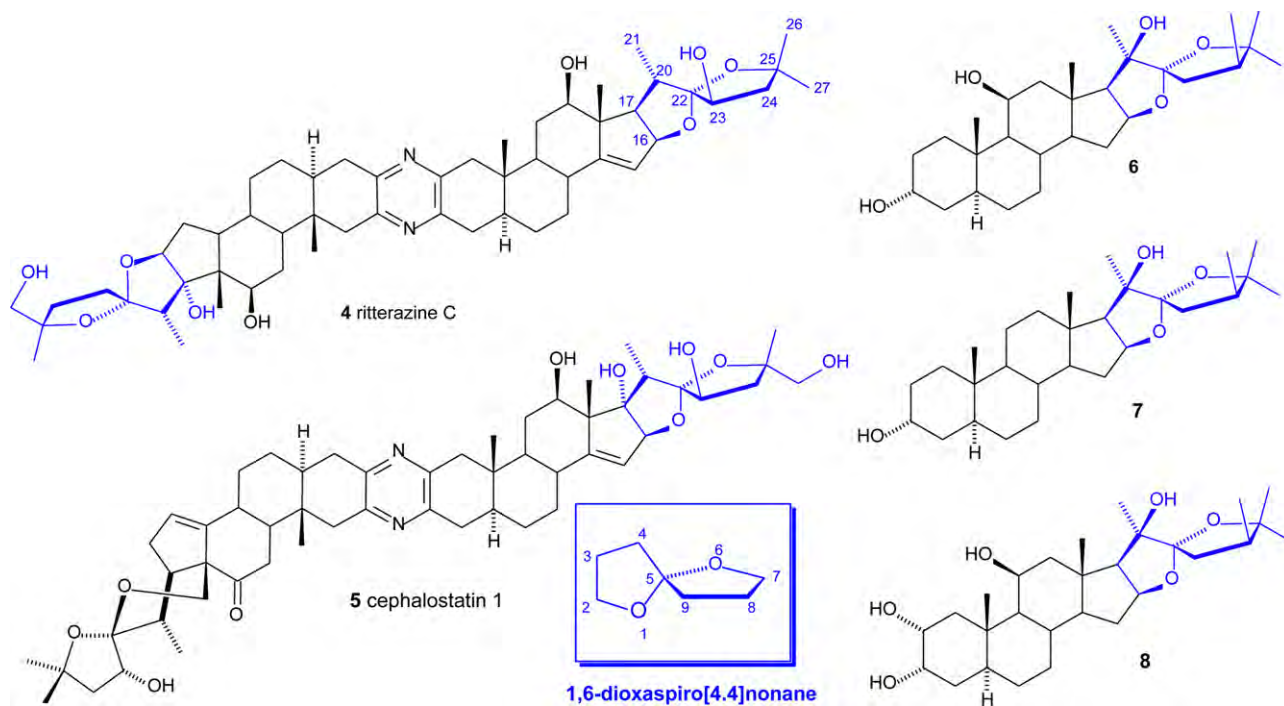
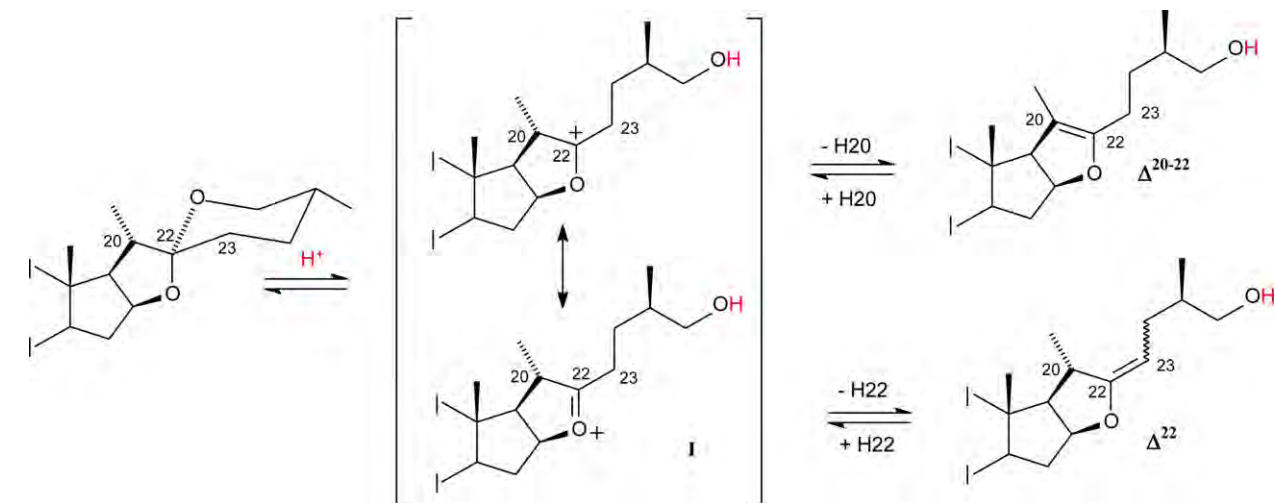
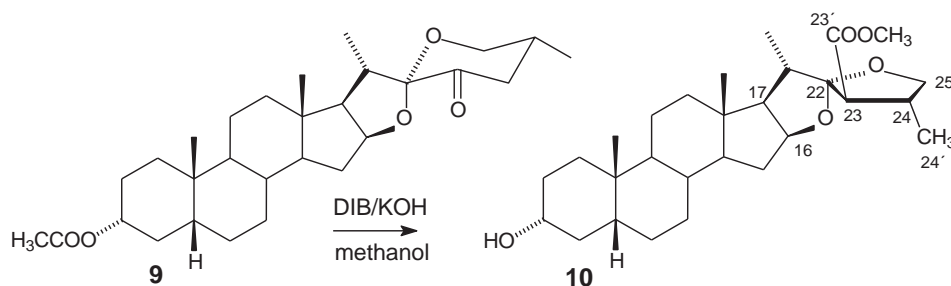


Fig. 2. Some furospirostanes with cytotoxic activity against cancer cells.



Scheme 2.

modified spiroketalic side chains. Herein we report on the reactivity of the 23-methoxycarbonyl-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy side chain under both Lewis and Brønsted acid catalysis.

## 2. Experimental

Reactions were monitored by TLC on ALUGRAM<sup>®</sup> SIL G/UV254 plates from MACHEREY-NAGEL. Chromatographic plates were sprayed with a 1% solution of vanillin in 50% HClO<sub>4</sub> and heated until color developed. Melting points were measured on a Melt-Temp II equipment and are uncorrected. Mass spectra were registered in a Thermo-Electron spectrometer model DFS (Double Focus Sector). NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> solution in a Varian INOVA 400 spectrometer using the solvent signal 7.26 ppm for <sup>1</sup>H and 77.00 ppm for <sup>13</sup>C as references. NMR signals assignments were made with the aid of DEPT and a combination of 2D homonuclear (<sup>1</sup>H–<sup>1</sup>H) and heteronuclear (<sup>1</sup>H–<sup>13</sup>C) correlation techniques, which included <sup>1</sup>H–<sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H–<sup>1</sup>H Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY), and Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC). All 2D NMR spectra were recorded using the standard pulse sequences and parameters recommended by the manufacturer.

(22*S*,23*R*,24*R*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-methoxycarbonyl-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol acetate (**11**). Acetic anhydride 0.8 mL was added to a solution of **10** [**10**] in pyridine (8 mL), the mixture was stirred overnight, poured into a mixture of ice and 50 mL of 10% HCl. The mixture was extracted with ethyl acetate (2  $\times$  40 mL) and the organic layer was washed with 10% HCl solution (2  $\times$  25 mL), 5% CuSO<sub>4</sub> solution (3  $\times$  25 mL), water (2  $\times$  30 mL), dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to afford the acetylated product **11** (1.06 g, 2.11 mmol, 74.8%). m.p. 172–174 °C (acetone/hexane). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 4.69 (m, 1H, H-3), 4.40 (ddd,  $J$  = 7.7, 7.7, 6.0 Hz, 1H, H-16), 4.01 (dd,  $J$  = 7.7, 7.7 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.46 (dd,  $J$  = 10.1, 8.1 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.82 (d,  $J$  = 9.3 Hz, 1H, H-23), 2.64 (m, 1H, H-24), 2.10 (dq,  $J$  = 6.8, 6.8 Hz, 1H, H-20), 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.96 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.01 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3H, H-24'), 0.92 (s, 3H, H-19), 0.92 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.74 (s, 3H, H-18). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.5, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.5, C-9 40.4, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 39.9, C-13 41.1, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.4, C-17 62.7, C-18 16.0, C-19 23.3, C-20 37.4, C-21 15.5, C-22 119.3, C-23 59.6, C-23' 172.4, C-24 37.5, C-25 72.5, C-24' 15.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.5, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4, CH<sub>3</sub>O-23' 51.8. **MS (FAB)**: 503 MH<sup>+</sup>, 471, 469, 425, 409, 315, 255 (100%). Anal: C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub> requires C, 71.68%; H, 9.22%. Found: C, 71.61%; H, 9.31%.

### 2.1. Reactions under BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O catalysis

**Reaction with BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in acetic acid**: BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (1 mL, 3.8 mmol) was added to a solution of **11** (251.4 mg, 0.5 mmol) in acetic acid (5 mL) and the mixture was stirred for ten days at room

temperature. Ice-water (50 mL) was added and the mixture was extracted with ethyl acetate (2  $\times$  25 mL). The organic layer was washed with water (5  $\times$  50 mL), dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated. The produced syrup was purified using a pressurized chromatographic column packed with silicagel (7.5 g) and employing 15/1 hexane/ethyl acetate mixture for elution to afford the syrupy unsaturated lactone **E-12** (206.3 mg, 0.44 mmol, 88%). (22*E*,24*R*)-3 $\alpha$ -acetoxy-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -furost-22-en-23,25-carbolactone (**E-12**). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 5.04 (ddd,  $J$  = 7.4, 7.4, 4.1 Hz, 1H, H-16), 4.71 (m, 1H, H-3), 4.33 (dd,  $J$  = 8.6, 8.6 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.81 (dd,  $J$  = 8.8, 4.2 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.65 (m, 1H, H-20), 3.14 (m, 1H, H-24), 2.23 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 1.24 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 3H, H-21), 1.18 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H, H-24'), 0.92 (s, 3H, H-19), 0.57 (s, 3H, H-18). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.7, C-6 26.8, C-7 26.5, C-8 35.2, C-9 40.6, C-10 34.7, C-11 20.2, C-12 38.3, C-13 41.7, C-14 55.4, C-15 33.5, C-16 88.1, C-17 62.1, C-18 13.3, C-19 23.2, C-20 36.8, C-21 19.2, C-22 177.4, C-23 97.4, C-23' 172.5, C-24 32.5, C-25 72.5, C-24' 20.1, CH<sub>3</sub>COO-3 170.5, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4. **MS (EI 70 eV)**: 471 MH<sup>+</sup>, 410, 255, 193 (100%), HRMS (EI) observed 470.3014 M<sup>+</sup>; required for C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>O<sub>5</sub> 470.3032.

**Reaction with BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O and acetic anhydride**: BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (2 mL, 7.6 mmol) was added to a suspension of **11** (460 mg, 0.92 mmol) in acetic anhydride (15 mL), the mixture was stirred at room temperature for 45 min and poured into ice-water (60 mL). The resulting mixture was extracted with ethyl acetate (2  $\times$  50 mL), the organic layer was washed with water (2  $\times$  50 mL), dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to afford a syrupy residue that was purified in pressurized chromatographic column packed with silicagel (15 g) employing 20/1 hexane/ethyl acetate mixture for elution to afford 118 mg (0.22 mmol, 23.9%) of the diacetylated cyclic enol ether **13** and 99.8 mg (0.18 mmol, 19.6%) of diacetylated furostene **E-14**.

(24*R*)-22,25-epoxy-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -cholest-22-en-3 $\alpha$ ,16 $\beta$ -diol diacetate (**13**). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 5.04 (m, 1H, H-16), 4.71 (m, 1H, H-3), 4.36 (t,  $J$  = 9.2 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.99 (dd,  $J$  = 8.9, 4.8 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.90 (dq,  $J$  = 12.3, 7.1 Hz, 1H, H-20), 3.69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.12 (m, 1H, H-24), 2.33 (m, 1H, H-15 $\alpha$ ), 2.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-16), 1.18 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, H-21), 1.09 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3H, H-24'), 0.93 (s, 3H, H-19), 0.89 (s, 3H, H-18). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 42.7, C-6 26.8, C-7 26.1, C-8 35.3, C-9 40.4, C-10 34.6, C-11 20.6, C-12 40.1, C-13 41.7, C-14 54.1, C-15 34.9, C-16 75.2, C-17 55.6, C-18 12.9, C-19 23.2, C-20 29.9, C-21 18.3, C-22 176.2, C-23 104.9, C-23' 166.3, C-24 36.5, C-24' 19.8, C-25 77.9, CH<sub>3</sub>O 50.5, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-25 170.7, CH<sub>3</sub>COO-3 21.4, CH<sub>3</sub>COO-16 20.9. **MS (70 eV)**: 544 MH<sup>+</sup>, 484, 470, 424, 409, 377, 315, 256, 255 (100%). HRMS (EI) observed 544.3400 M<sup>+</sup>; required for C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub> 544.3400.

(22*E*,24*R*)-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -furost-22-en-3 $\alpha$ ,25-diol diacetate (**E-14**). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 4.95 (ddd,  $J$  = 7.5, 7.5, 4.0 Hz, 1H, H-16), 4.67 (m, 1H, H-3), 4.11 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 2H, H-25), 3.65 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.59 (m, 1H, H-20), 3.21 (tq,  $J$  = 7.4,

7.4 Hz, 1H, H-24), 2.19 (td,  $J = 14.0, 7.2$  Hz, 1H, H-15 $\alpha$ ), 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-25), 1.15 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H, H-21), 1.08 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H, H-24'), 0.89 (s, 3H, H-19), 0.56 (s, 3H, H-18). **<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 34.9, C-2 26.7, C-3 74.3, C-4 32.1, C-5 41.7, C-6 26.7, C-7 26.5, C-8 35.1, C-9 40.5, C-10 34.6, C-11 20.1, C-12 38.3, C-13 41.7, C-14 55.3, C-15 33.4, C-16 86.7, C-17 62.1, C-18 13.2, C-19 23.2, C-20 38.5, C-21 20.1, C-22 179.1, C-23 100.8, C-23' 168.9, C-24 31.1, C-25 67.7, C-24' 15.3, CH<sub>3</sub>O 50.7, CH<sub>3</sub>COO-3 170.8, CH<sub>3</sub>COO-25 171.5, CH<sub>3</sub>COO-3 21.3, CH<sub>3</sub>COO-25 20.9. **MS (EI 70 eV)**: 544 MH<sup>+</sup>, 484, 471, 452, 410, 315, 255, 207, 193 (100%). **HRMS (EI)** observed 544.3388 MH<sup>+</sup>; required for C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub> 544.3400.

## 2.2. Reaction under Brønsted acid catalysis

**Bromination with PyHBr·Br<sub>2</sub> in acetic acid:** PyHBr·Br<sub>2</sub> (255.7 mg, 0.8 mmol) was added to a warm (50 °C) solution of **11** (126 mg, 0.25 mmol) in acetic acid (5 mL), and the resulting mixture was stirred at 50 °C for 30 min. Cold water (15 mL) was added and the produced solid was filtered off and washed with plenty of water to afford 141 mg, (0.24 mmol, 96%) of a 1/2.4 mixture of the diastomeric brominated products **23R-15** and **23S-15**, (relation determined by relative integration of the H-26 *pro-S* signals of both epimers, see [supplementary information](#)). Analytical samples of both compounds were obtained in a pressurized chromatographic column packed with silicagel (20 g) and employing 19/1 hexane/ethyl acetate mixture for elution.

(22*S*,23*R*,24*S*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-bromo-23-methoxycarbonyl-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol acetate (**23R-15**). **m.p.** 195–196 °C, from hexane/ethyl acetate. **<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>  $\delta$  ppm): 4.70 (m, 1H, H-3), 4.48 (m, 1H, H-16), 4.14 (dd,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.77 (dd,  $J = 8.2, 6.5$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 2.92 (dq,  $J = 6.7, 6.7$  Hz, 1H, H-20), 2.85 (m, 1H, H-24), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 1.30 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H, H-24'), 1.17 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.85 (s, 3H, H-18). **<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>  $\delta$  ppm): C-1 35.2, C-2 26.7, C-3 74.3, C-4 32.4, C-5 42.0, C-6 27.0, C-7 26.7, C-8 35.5, C-9 40.7, C-10 34.8, C-11 20.7, C-12 40.4, C-13 41.4, C-14 56.2, C-15 32.0, C-16 82.4, C-17 63.2, C-18 16.2, C-19 23.3, C-20 40.1, C-21 17.0, C-22 119.0, C-23 69.3, C-23' 167.3, C-24 48.0, C-24' 15.2, C-25 72.4, CH<sub>3</sub>O 52.3, CH<sub>3</sub>COO 170.4, CH<sub>3</sub>COO 21.3. **MS (FAB)** 583 MH<sup>+</sup>, 581 MH<sup>+</sup>, 579, 534, 518, 503, 458, 401, 385, 355, 341, 327 (100%). Anal: C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>BrO<sub>6</sub> requires C, 61.96; H, 7.80/. Found: C, 61.48; H, 7.63.

A crystal of compound **23R-15** suitable for X-ray diffraction studies was obtained from a hexane/ethyl acetate solution. Compound **23R-15** crystallized as a monoclinic system with the space group P 2(1);  $a = 12.9040(4)$  Å,  $b = 7.8060(2)$  Å,  $c = 14.4940(3)$  Å,  $\beta = 96.824(2)^\circ$  and  $V = 1449.62(7)$  Å<sup>3</sup>. X-ray diffraction measurements were performed on an Oxford Diffraction Atlas (Gemini) diffractometer with Mo K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073$  Å). Data collection routine and data reduction were carried out with CrysAlisPro [53]. The structure of compound **23R-15** was solved using SIR2004 [54], and refined using SHELXL-97 [55]. All non-hydrogen atoms were anisotropically refined and the hydrogen atoms were found in difference Fourier maps, placed at geometrically calculated positions and refined using the riding model. The obtained bond lengths and angles are normal and are available from the electronic supporting information (CIF file) for the structure. Crystallographic data have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Center as supplementary material numbers CCDC 792938. Copy of the data can be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK. E-mail: [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).

(22*S*,23*S*,24*S*)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-bromo-23-methoxycarbonyl-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol acetate (**23S-15**). **<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>  $\delta$  ppm): 4.69 (m, 1H, H-3), 4.49 (m, 1H, H-16), 4.03 (dd,  $J = 7.8, 7.8$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*),

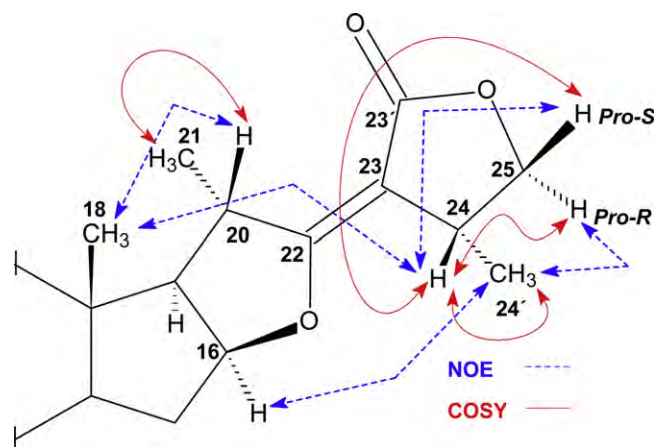


Fig. 3. Selected NOE and COSY correlations in the side chain of compound **E-12**.

3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.67 (dd,  $J = 8.7, 8.1$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.91 (m, 1H, H-24), 2.20 (dq,  $J = 6.7, 6.7$  Hz, 1H, H-20), 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 1.13 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H, H-24'), 0.94 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H, H-21), 0.92 (s, 3H, H-19), 0.79 (s, 3H, H-18). **<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): C-1 35.1, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.3, C-5 41.9, C-6 27.0, C-7 26.7, C-8 35.5, C-9 40.6, C-10 34.8, C-11 20.6, C-12 40.7, C-13 41.6, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.6, C-17 63.5, C-18 15.8, C-19 23.3, C-20 37.6, C-21 16.2, C-22 117.8, C-23 71.7, C-23' 169.3, C-24 40.2, C-25 71.6, C-24' 16.5, CH<sub>3</sub>O 53.1, CH<sub>3</sub>COO 170.4, CH<sub>3</sub>COO 21.3. **MS (EI)** 471 [MH<sup>+</sup>-(CH<sub>3</sub>O<sup>+</sup>)-(Br<sup>+</sup>)], 443, 344, 329, 284, 269, 255, 183, 152107, 83, 69. **HRMS (CI)** observed 581.2457 MH<sup>+</sup> required for C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>Br<sup>(79)</sup>O<sub>6</sub> 581.2478.

**Deuteration experiment:** <sup>1</sup>H NMR of a 0.1 M solution of **11** (50 mg in 1 mL of D<sub>3</sub>CCOOD) was registered shortly after preparation of the solution, and after 24 h, (see Fig. 9, spectrum A). Then DCl (10  $\mu$ L, 99% D, 35% en D<sub>2</sub>O) was added and the <sup>1</sup>H spectra were registered every 5 min during 3 h (see Fig. 9, spectra B to E).

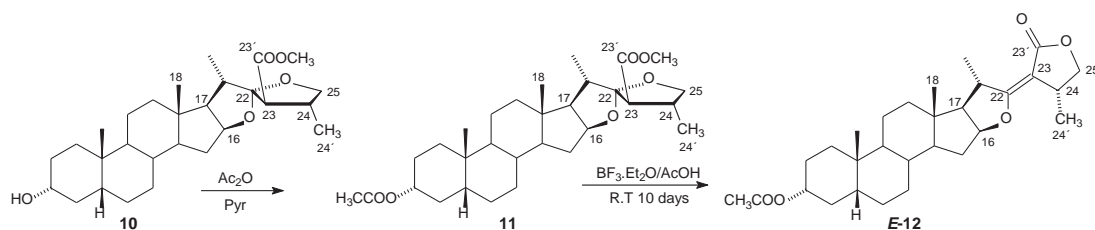
## 3. Results and discussion

### 3.1. Reactions under BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O catalysis

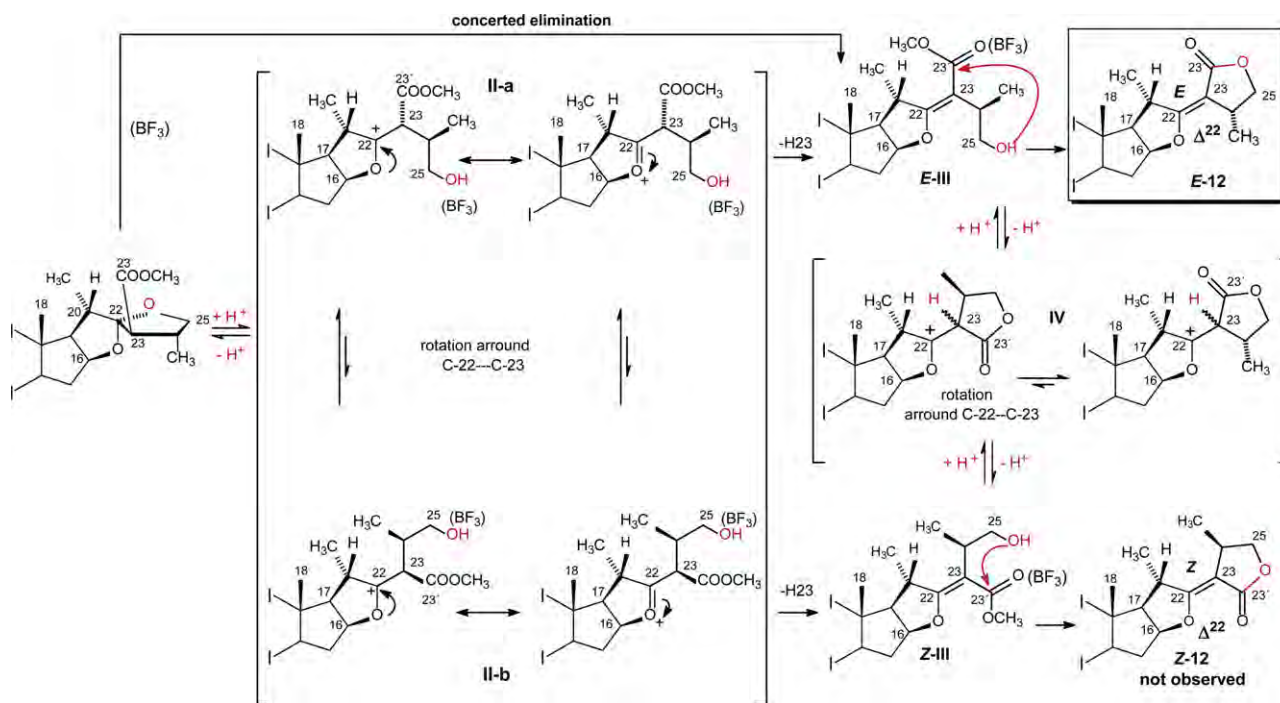
Acetylation of **10** following the standard Ac<sub>2</sub>O/pyridine procedure afforded the expected compound **11** that on treatment with BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in acetic acid at room temperature for 10 days underwent transformation to the unsaturated lactone **E-12** in 88% yield as the sole product (see Scheme 3).

In the case of **E-12**, the presence of the conjugated double bond is evidenced by two <sup>13</sup>C olefinic signals that were differentiated and assigned to C-22 and C-23 with the aid of a HETCOR experiment ( $J$  fixed to 9 Hz) that corroborated the proposed unsaturated ester structure. In addition, the doublet multiplicity of H-21 discards the regioisomer bearing a double bond between C-20 and C-22 in which the absence of H-20 would result in a singlet multiplicity for H-21. The presence of the cyclic side chain in **E-12** can be corroborated by the different chemical shifts and the dd multiplicity of the diastereotopic pair of protons attached to C-25 as well as by their different NOE correlations (H-25 *Pro-S*  $\leftrightarrow$  H-24) and (H-25 *Pro-R*  $\leftrightarrow$  H-24'). The observed H-24'  $\leftrightarrow$  H-16 $\alpha$  NOE effect, only possible in the *E*-isomer, accounts for the proposed geometry of the double bond between C-22 and C-23 (see Fig. 3).

Coordination of BF<sub>3</sub> to O-25 results in the cleavage of the F-ring leading to the oxocarbenium intermediate **II**. Subsequent loss of a H-23 may produce the furostenic intermediaries **E-III** and **Z-III** that on catalysed transesterification undergo the lactone ring closure. The observed regioselectivity can be explained by the preference for the loss of H-23 over H-20 that is clearly justified by



Scheme 3.

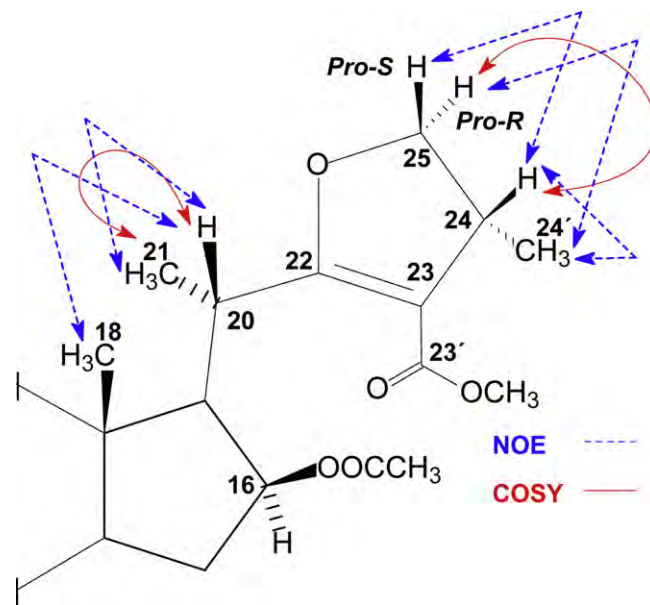


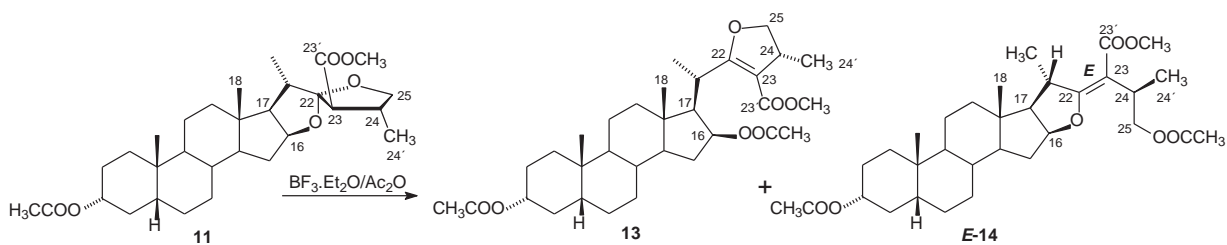
Scheme 4.

the fact that it produces the more stable  $\alpha,\beta$ -unsaturated ester in the  $\Delta^{22}$  regioisomer. In addition, subtraction of H-20 that would lead to the  $\Delta^{20(22)}$  regioisomer is hindered by the presence of the axial CH<sub>3</sub>-18. The exclusive occurrence of *E*-isomer can be justified by either the conformational preference for the oxocarbenium **II-a** that leads to **E-III** or by acid catalysed **Z-12** → **E-12** isomerization through the protonated intermediary **IV** that, on rotation around the bond between C-22 and C-23, relieves the repulsion between the electronic pairs of O-16 and O-23' in the *Z*-isomer. Nevertheless, the exclusive production of *E*-isomer may be better explained by a single-step elimination process in which the cleavage of the C-22 O-16 bond and loss of H-23 are concerted (see Scheme 4).

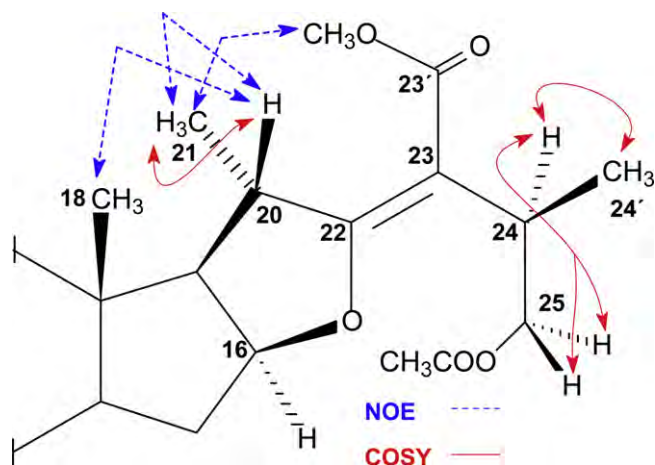
Treatment of **11** with acetic anhydride and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O at room temperature for 45 min produced extensive decomposition of the starting material affording a complex mixture from which two compounds were isolated and identified as the diacetylated cyclic enol ether **13** and the diacetylated furostene **E-14** (see Scheme 5).

As in **E-12**, in the endocyclic enol ether **13** the assignment of the observed olefinic signals to the unsaturated double bond between C-22 and C-23 is corroborated by the doublet multiplicity of H-21 that discards the regioisomer bearing a double bond between C-20 and C-22. Once more, the different chemical shifts and the *dd* multiplicity of the diastereotopic pair of protons attached to C-25, as well as their different NOE correlations (H-25 *Pro-S* ↔ H-24) and (H-25 *Pro-R* ↔ H-24') allow their identification and corroborate the cyclic nature of the side chain in **13** (see Fig. 4).

Fig. 4. Selected NOE and COSY correlations in the side chain of compound **13**.



Scheme 5.

Fig. 5. Selected NOE and COSY correlations in the side chain of compound **E-14**.

As in the preceding compounds **E-12** and **13**, in the diacetylated furostene **E-14** the two olefinic  $^{13}\text{C}$  signals assigned to the double bond between C-22 and C-23 and the doublet multiplicity of H-21 that discards the  $\Delta^{20-22}$  regioisomer, account for the structure bearing the exocyclic double bond. The observed  $\text{OCH}_3 \leftrightarrow \text{H-21}$  NOE effect indicates proximity of these two groups only possible in the *E*-isomer and accounts for the proposed *E*-geometry of the obtained compound (see Fig. 5).

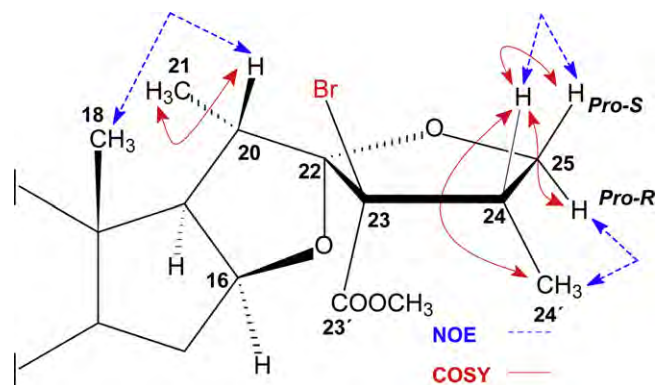
Activation of acetic anhydride by  $\text{BF}_3$  produced the acetylation of O-16 that results in the cleavage of the bond between O-16 and C-22 leading to the oxacarbenium **V**, which loses a proton from C-23 to produce the endocyclic enol ether **13** (see Scheme 6). The observed regioselectivity can be justified in terms of the preference for the loss of H-23 as explained above.

Similarly, activated acetic anhydride acetylates O-25 to produce the cleavage of the bond between O-25 and C-22 leading to the oxacarbenium **VI** that loses a proton from C-23 producing the observed diacetylated furostene **E-14**. Again steric hindrance, that prevents the subtraction of H-20 in concert with the fact that loss of H-23 leads to the more stable  $\alpha,\beta$ -unsaturated system, clearly justify the exclusive occurrence of the  $\Delta^{22}$ -regioisomer **E-14**. The stereoselective production of **E-14** can be explained by the conformational preference of the intermediate **VI**; but once again, one-step elimination to the observed diacetylated furostene **E-14** seems to be a better explanation (see Scheme 7).

### 3.2. Reactions under Brønsted acid catalysis

Treatment of **11** with  $\text{PyHBr} \cdot \text{Br}_2$  in acetic acid at  $50^\circ\text{C}$  afforded a 1/2.4 mixture of the diastereomeric 23-brominated compounds **23R-15** and **23S-15** that were identified after chromatographic separation (see Scheme 8).

The absence of the signal corresponding to H-23 in the  $^1\text{H}$  spectrum of brominated furospirostane **23R-15** indicates the quaternary nature of C-23. All the observed  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals and

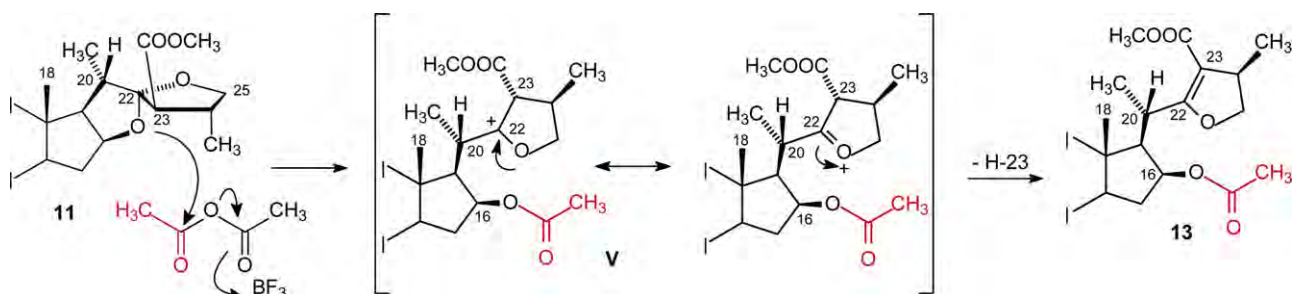
Fig. 6. Selected NOE and COSY correlations in the side chain of compound **23R-15**.

2D correlations corroborate the integrity of the furospirostane side chain (see Fig. 6), but give no evidence on the orientation of the substituents attached to C-23.

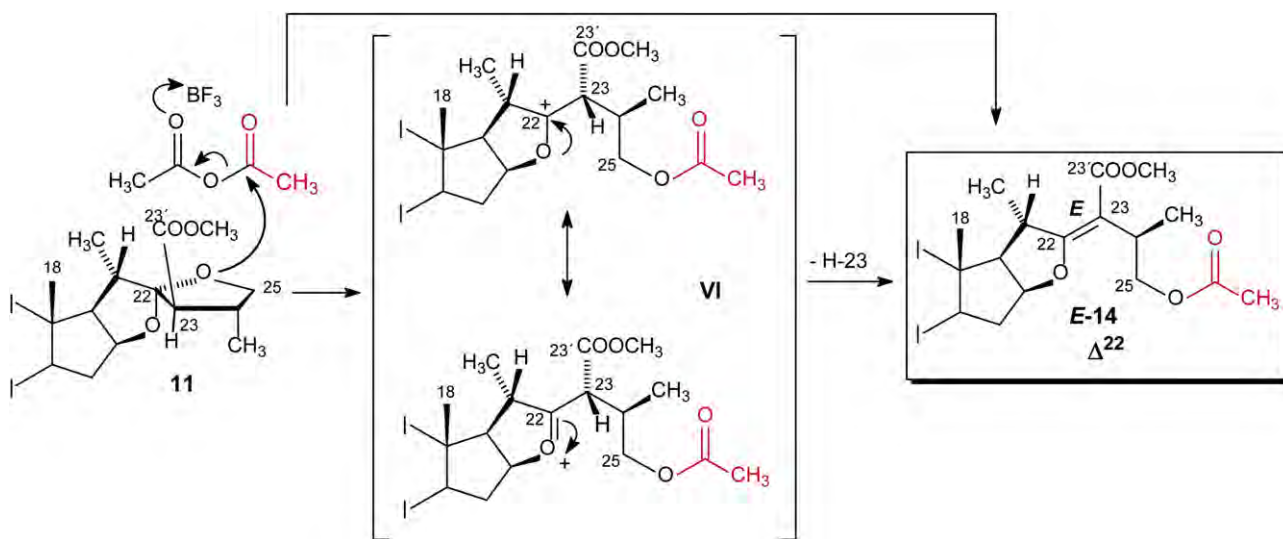
### 3.3. Crystal structure of 23R-15

The impossibility to assign the C-23 configuration employing NMR prompted us to obtain crystals of **23R-15** suitable for X-rays diffraction studies. After several attempts at crystallization in different solvent systems we were glad to find that slow crystallization in hexane/ethyl acetate solution afforded an adequate crystal of **23R-15**. Fig. 7 displays the crystal structure of **23R-15**, showing that the bromine atom attached to C-23 is in *trans* orientation relative to the 24' methyl group, resulting in a 23*R* configuration.

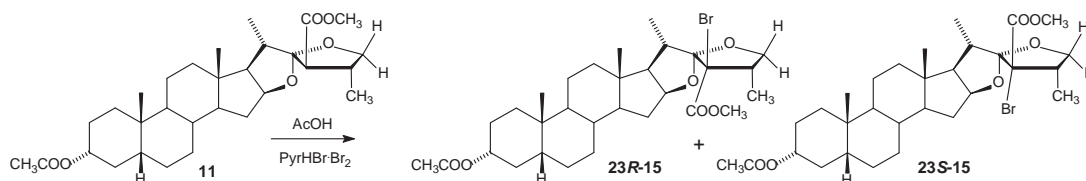
The presence of the equatorial  $\alpha$ -acetoxy group attached to C-3 does disturb the chair conformation of ring A [puckering parameters [56]  $Q=0.555$  (3) Å,  $\theta=175.3$  (3)°,  $\varphi=242$  (4)°, if the calculation starts from C-1 to C-10 and proceeds in a clockwise direction]; all asymmetry parameters are less than 7.5 (3)° [57]. Rotational symmetry is dominant; a pseudo-C<sub>2</sub> axis bisects the C-3–C-4 bond with asymmetry parameters  $\Delta C_2(\text{C-3–C-4})=7.5$  (3)° and  $\Delta C_5(\text{C3})=4.9$  (2)°. The average magnitude of the torsion angles is 54.5 (3)°; the A/B rings junctions are *cis*. Ring B assumes a chair conformation [puckering parameters  $Q=0.566$  (3) Å,  $\theta=4.2$  (3)°,  $\varphi=243$  (4)°, if the calculation starts from C-5 to C-10 and proceeds in a clockwise direction]; the B/C rings junctions are *trans*. Ring C also assumes an almost perfect chair conformation [puckering parameters  $Q=0.564$  (3) Å,  $\theta=7.5$  (3)°,  $\varphi=249.6$  (19)°; if the calculation starts from C-8 to C-14 and proceeds in a counterclockwise direction]; the C/D rings junctions are *trans*. The five-membered D ring has a C-13–C-14 twisted conformation with puckering parameters (C-13–C-17)  $q_2=0.458$  (2) Å and  $\varphi_2=201.7$  (3)° [pseudorotation [58] and asymmetry parameters:  $\Delta=9$ ,  $\tau_m=46.5$  (2),  $\Delta C_5(14)=12.8$  (2) and  $\Delta C_2(13,14)=5.9$  (2)°]; the methyl groups at C-10 and C-13 are  $\beta$  in the steroid structure, additionally the tetrahydrofuran ring E is *cis*-fused to the cyclopentane ring D and the tetrahydrofuran ring E shows envelope O3-*exo*, [puckering parameters



Scheme 6.



Scheme 7.



Scheme 8

Scheme 8.

$q_2 = 0.343(2) \text{ \AA}$  and  $\varphi_2 = 183.0(4)^\circ$ ]. Finally in spite the presence of 23-methoxycarbonyl group and the bromide in C-23 and the methyl group and C-24, the five-membered tetrahydrofuran F-ring of has an envelope C-23-*exo* conformation [puckering parameters  $q_2 = 0.371(3) \text{ \AA}$  and  $\varphi_2 = 245.7(4)^\circ$ ].

In the crystal structure, each molecule features pairs of  $C_{\text{furan}}\text{-H}\cdots\text{Br}\cdots\text{C}$  bonds to its neighbors related by the symmetry operations  $x, y, z$ . These van der Waals interactions lead to infinite ribbons of D motifs [59] run in the direction of the crystallographic  $b$  axis.

The NMR signals corresponding to the side chain of **23S-15**, that together with the observed 2D correlations, (see Fig. 8) corroborate the integrity of the furospirostane side chain in which, again, the absence of the signal of H-23 suggest the presence of an atom different than a hydrogen attached to this position. No direct proofs for the configuration at C-23 could be found in the NMR spectra.

Since in our hands compound **23S-15** resisted all attempts at crystallization, determination of the orientation of the substituent

attached to C-23 employing X-ray diffraction was not possible. Nevertheless, the configuration of C-23 can be indirectly inferred by observation of the NOE effect between H-24 and H-21 only possible in a compound with the same configuration at C-22 as **23R-15**. Consequently both 22R, 23R and 22R, 23S epimers (*with inverted configuration at C-22*) can be discarded, leaving the 22S, 23S isomer as the unique possible structure for **23S-15**.

Considering that all the above cumulated evidence accounts for the more favored production of the **E-III** intermediate over the **Z-III** isomer, the occurrence and the diastereomeric relation of the brominated compounds **23S-15** and **23R-15** can be explained in terms of an electrophilic attack of the bromide to the furostenic intermediary **E-III**, in which the approach of bromine to the *Si* (upper) side of C-23, that leads to **23S-15**, is less hindered than the approach to the *Re* (lower) side, hindered by the presence of the C-21 methyl group (see Scheme 9). A similar process involving **Z-III** would have produced the reverse **23S-15/23R-15** diastereomeric relation that was not observed.

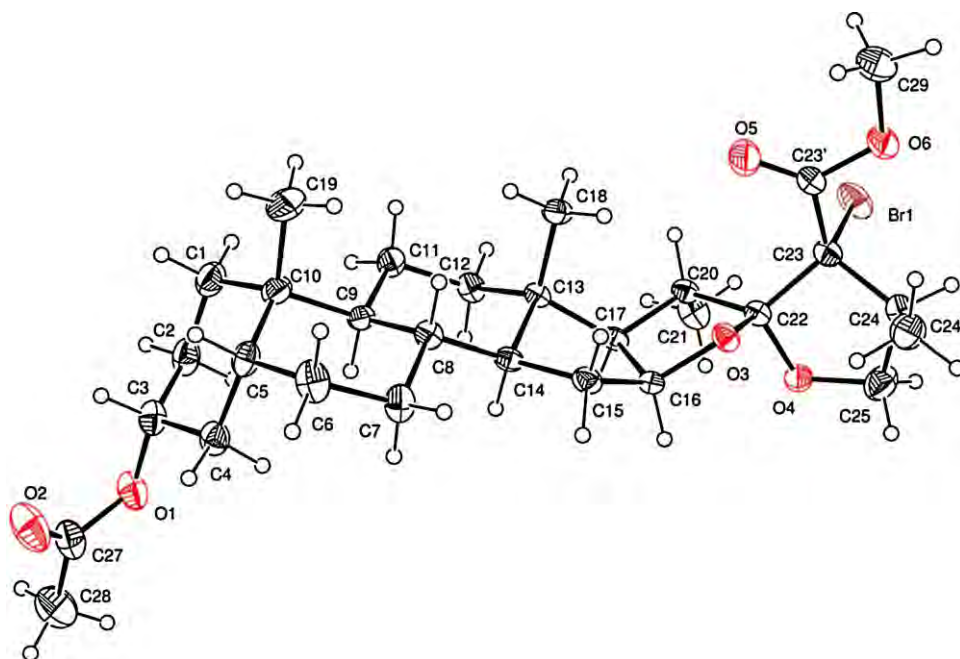
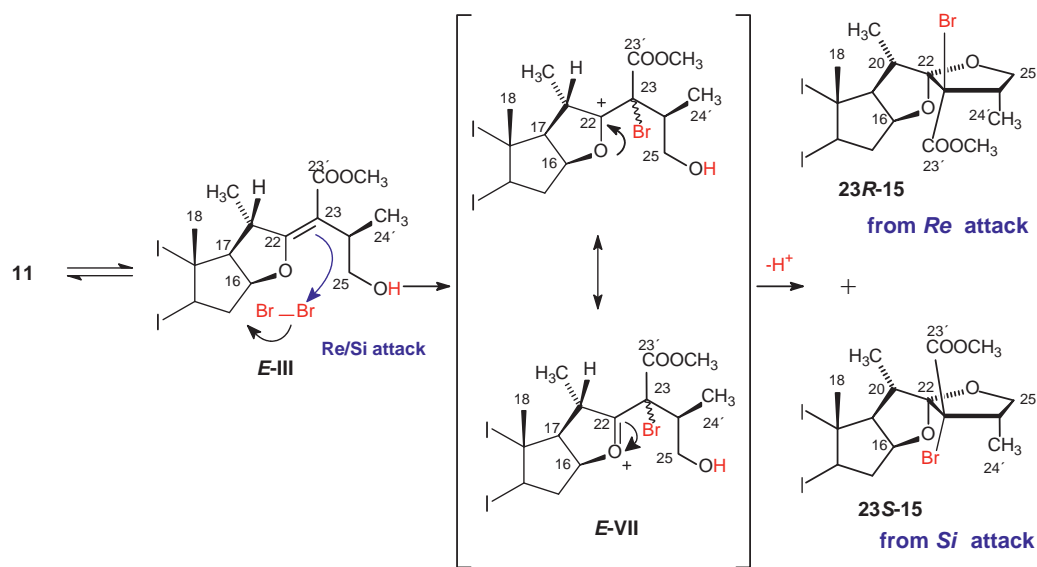


Fig. 7. Crystal structure of **23R-15** with the ellipsoids drawn at 30% of probability.



Scheme 9.

### 3.4. Deuteration experiments

Since all the above described results indicate the preference for the loss of H-23 that leads to the observed compounds, all through the corresponding  $\alpha,\beta$ -unsaturated intermediary, we decided to study the deuteration profile of compound **11** to obtain evidences that allow to discard the occurrence of the  $\Delta^{20(22)}$ -furostenic intermediary.

Considering that deuteration at either C-20 or C-23 implies F-ring opening to produce either a  $\Delta^{20(22)}$ - or  $\Delta^{22}$ -furostenic intermediary (see Scheme 10), the fact that the studied compound **11** in  $\text{CD}_3\text{COOD}$  solution did not show evidence of incorporation of deuterium even after 24 h (see Fig. 9, spectrum A) indicates that, at room temperature, the studied side chain is not prone to F-ring opening in neutral or even the acidic media provided by  $\text{CD}_3\text{COOD}$ .

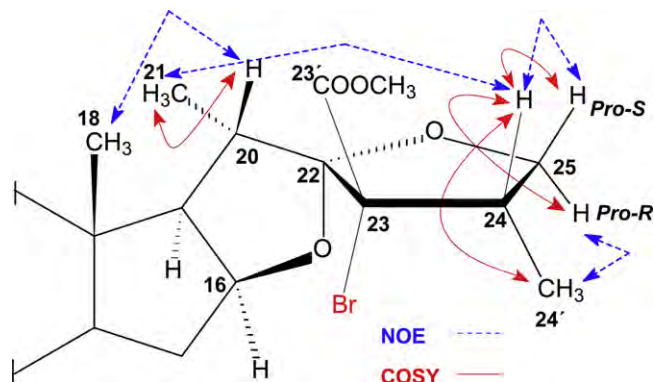
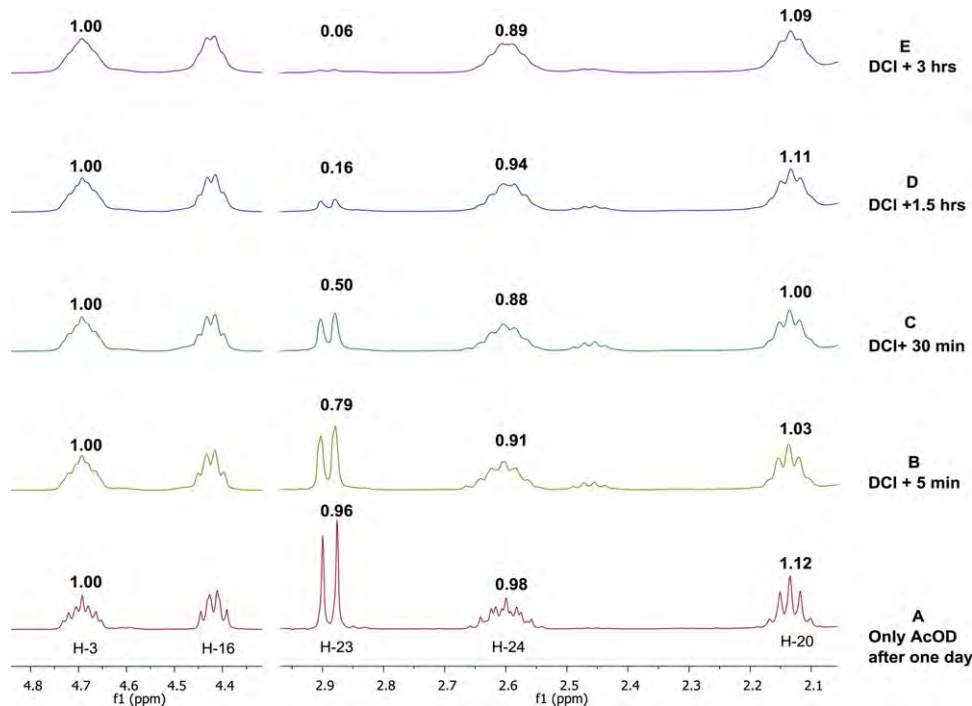
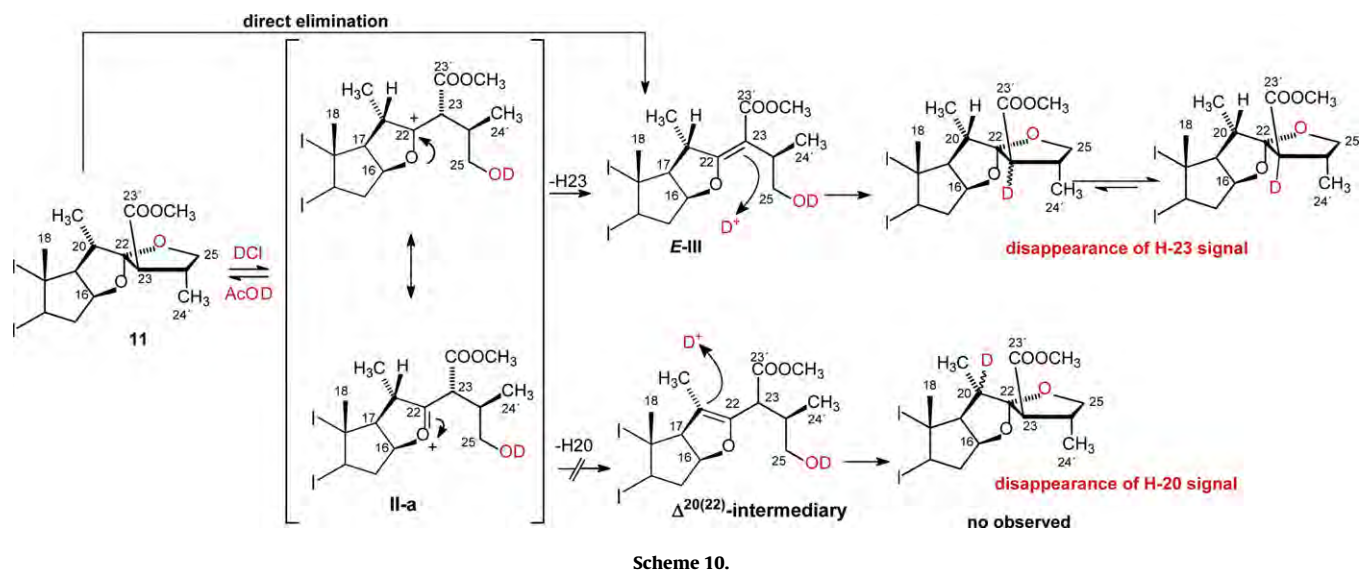


Fig. 8. Selected NOE and COSY correlations in the side chain of compound **23S-15**.



**Fig. 9.** Deuteration profile of compound **11** in CD<sub>3</sub>COOD/DCl.

Addition of a 35% DCl solution in D<sub>2</sub>O (99% isotopic purity) resulted in slow incorporation of deuterium at C-23 as the disappearance of the H-23 signal indicated. The fact that after 24 h no variation in the H-20 signal was observed, clearly allows us to discard the occurrence of the  $\Delta^{20(22)}$ -intermediary, (see Fig. 9 spectra B to E). Slow precipitation of the studied compound explains the observed loss of resolution in the <sup>1</sup>H signals of the obtained spectra.

#### 4. Conclusion

The obtained results demonstrate that under either Bronsted or Lewis catalysis, the furospirostanic side chain is opened to produce only the  $\Delta^{22}$ -furostenic intermediary. Moreover, the outcome of all the studied reactions suggests that both reversible and irreversible F-ring opening involve the production of the *E* geometrical isomer of the  $\Delta^{22}$ -furostenic intermediate.

The deuteration experiments indicate that, contrary to spirostanic sapogenins in which the order of incorporation of deuterium is C-23 (through a  $\Delta^{22}$ -intermediary)  $\gg$  C-20 (through a  $\Delta^{20(22)}$  intermediary)  $\gg$  C-25 (through an iso-reaction) [60], at room temperature the studied side chain exclusively incorporates deuterium to C-23. Another interesting fact is the absence of incorporation of deuterium even in the acidic media provided by D<sub>3</sub>CCOOD; this fact accounts for the resistance of the studied fragment to F-ring to opening, either through a concerted elimination process or through an oxacarbenium ion around C-22.

Further experiments directed to study the kinetics of the deuteration and the biological activity as well as the reactivity and capability to produce oxacarbenium ions of this, and other compounds bearing furospirostanic side chains are planned. These studies may contribute to explain both the biological and chemical properties of this family of compounds. In addition, studies on



the reactivity of modified furospirostanic side chains may serve as a model for the reactivity of the 1,6-dioxaspiro[4.4]nonane moiety present not only in furospirostanes, but also in other naturally occurring spiroketals.

## Acknowledgments

The authors thank to the *Dirección General de Asuntos del Personal Académico* (DGAPA-UNAM) for financial support via project IN221911-3 and CONACYT for scholarship granted to MM-A. Thanks are due to Nuria Esturau Escofet, Georgina Duarte Lisci and Victor Lemus Neri (USAI-UNAM) for recording NMR and MS spectra and Elemental Analysis. We are indebted to Dr. A. J. Boulton for his useful comments and for correcting the manuscript.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.steroids.2011.04.006.

## References

- [1] For reviews, see: Kluge AF. Synthesis of 1,7-dioxaspiro[5.5]undecanes. *Heterocycles* 1986;24:1699–740.
- [2] Perron F, Albizzati KF. Chemistry of spiroketals. *Chem Rev* 1989;89:1617–61.
- [3] Jacobs MF, Kitching W. Spiroacetals of marine origin. *Curr Org Chem* 1998;2:395–436.
- [4] Fieser L, Fieser M. *Steroids*. New York: Reinhold Publishing Corporation; 1959.
- [5] Callow RK, James VHT, Kennard O, Page JE, Paton PN, Riva di Sanseverino L. The structure of the steroidal bromosapogenins. *J Chem Soc C* 1966:288–97.
- [6] Iglesias-Arteaga MA, Sandoval-Ramírez J, Mata-Esma MY, Viñas-Bravo O, Bernes S. Abnormal Beckmann rearrangement in 23-hydroxyiminodiosgenin acetate. *Tetrahedron Lett* 2004;45:4921–6.
- [7] Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA, Méndez-Stivalet JM, Galano A, Álvarez-Idaboy JR. The Baeyer–Villiger reaction of 23-oxosapogenins. *Arkivoc VI* 2005:109–26.
- [8] Iglesias-Arteaga MA, Alvarado-Nuño AA. BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O induced Beckmann rearrangement of 23 hydroxyiminodiosgenins. A shortcut to bisnorcholaniclactones. *Tetrahedron Lett* 2006;47:5351–3.
- [9] Iglesias-Arteaga MA, Jastrzębska I, Morzycki JW. Reactions of sapogenins with *m*-chloroperoxybenzoic acid catalyzed by Lewis acids. *Pol J Chem* 2006;80:667–71.
- [10] Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA. Favorskii rearrangement of 23-oxo-3-epi-smilagenin acetate induced by iodosobenzene. *Tetrahedron Lett* 2005;46:6897–9.
- [11] Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO. One-step axial acetoxylation at C-23. A new method for the functionalization of the side chain of steroid sapogenins. *Tetrahedron Lett* 2006;47:8029–31.
- [12] Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO, Méndez-Stivalet JM. The unexpected course of the reaction of steroid sapogenins with diacetoxyiodobenzene and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in formic acid. *Tetrahedron Lett* 2007;48:7485–8.
- [13] Hernández R, Marrero-Tellado JJ, Prout K, Suárez E. Lewis acid-mediated isomerization of (25R)-3 $\alpha$ -acetoxy-5 $\alpha$ -spirostan-23-one, a C-22 spiroacetal: an approach to the synthesis of C-23 spiroacetal steroidal sapogenins. *J Chem Soc Chem Commun* 1992:275–7.
- [14] Betancor C, Dorta RL, Freire R, Martín A, Prangé T, Suárez E. Stereospecific synthesis of 1,6-dioxadecalins and 2,2 linked ditetrahydrofurans by rearrangement of steroidal spiroacetals. *J Org Chem* 1998;63:6355–62.
- [15] LaCour TG, Tong Z, Fuchs PL. Consequences of acid catalysis in concurrent ring opening and halogenation of spiroketals. *Org Lett* 1999;1:1815–8.
- [16] Sandoval-Ramírez J, Meza-Reyes S, del Río RE, Hernández-Linares G, Suárez-Rojas A, Rincón S, et al. Regioselective cleavage of rings E and F in sarsasapogenin. *Steroids* 2003;68:199–204.
- [17] Cyrański MK, Frelek J, Jastrzębska I, Morzycki JW. Rearrangement of 23-oxospirostanes to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids. X-ray crystal structure of (23R, 25S)-3-acetoxy-16,23:23,26-diepoxy-5-cholestan-22-one. *Steroids* 2004;69:395–400.
- [18] Morzycki JW, Jastrzębska I. Novel transformation of 23-bromosapogenins. Synthesis of (22S, 23R)-22-hydroxy-23,26-epoxyfurostanes. *Tetrahedron Lett* 2001;42:5989–91.
- [19] Anulewicz-Ostrowska R, Jastrzębska I, Morzycki JW, Wojcik J. An assisted solvolysis of 23 spirostanol bromides and tosylates. A new rearrangement of spirostanes to the bisfuran systems. *J Org Chem* 2002;67:6916–24.
- [20] Jastrzębska I, Morzycki JW, Trochimowicz U. Lead tetraacetate-iodine oxidation of 23-spirostanols. *Tetrahedron Lett* 2004;45:1929–32.
- [21] Jastrzębska I, Morzycki JW. Unusual Baeyer–Villiger oxidation of 23-oxosarsasapogenin acetate. *Pol J Chem* 2005;79:1245–8.
- [22] López Y, Ruíz-Pérez KM, Yépez R, Santillán R, Flores-Álamo M, Iglesias-Arteaga MA. Mechanistic insights and new products of the reaction of steroid sapogenins with NaNO<sub>2</sub> and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in acetic acid. *Steroids* 2008;73:657–68.
- [23] Macías-Alonso M, Flores-Álamo M, Iglesias-Arteaga MA. Beckmann reactions of steroidal spirocyclic oximes derived from the 16 $\beta$ ,23:23,26-diepoxy-22-oxo moiety. *Steroids* 2009;74:112–20.
- [24] Ruíz-Pérez KM, Romero-Ávila M, Flores-Pérez B, Flores-Álamo M, Moreno-Esparza R, Iglesias-Arteaga MA. Revisiting 23-iodospirostanes. New facts and full characterization. *Steroids* 2009;74:996–1002.
- [25] Corbiere C, Liagre B, Terro F, Beneytout JL. Induction of antiproliferative effect by diosgenin through activation of p53, release of apoptosis-inducing factor (AIF) and modulation of caspase-3 activity in different human cancer cells. *Cell Res* 2004;14:188–96.
- [26] Corbiere C, Liagre B, Bianchi A, Bordji K, Dauca M, Netter P, et al. Different contribution of apoptosis to the antiproliferative effects of diosgenin and other plant steroids, hecogenin and tigogenin, on human 1547 osteosarcoma cells. *Int J Oncol* 2003;22:899–905.
- [27] Raju J, Patilola JMR, Swamy MV, Rao CV. Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek), inhibits azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in F344 rats and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1392–8.
- [28] Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Tagliatalata-Scafati O. Sapogenins of *Allium porrum* L. *J Agric Food Chem* 1998;46:4904–8.
- [29] Carotenuto A, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, De Feo V, Carnuccio R, et al. Porigenins A and B, Novel Cytotoxic and Antiproliferative Sapogenins Isolated from *Allium porrum*. *J Nat Prod* 1997;60:1003–7.
- [30] Carotenuto A, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Carnuccio R, D'Acquisto F. 12-Keto-porigenin and the unique 2,3-seco-porigenin, new antiproliferative sapogenins from *Allium porrum*. *Tetrahedron* 1997;53:3401–6.
- [31] Lee E, Liu YT, Solomon Philippa H, Nakanishi K. Stereospecific conversion of diosgenin to  $\alpha$ -ecdysone. *J Am Chem Soc* 1976;98:1634–5.
- [32] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Synthesis and biological activity of (22R,25R)-5 $\alpha$ -furostan-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,26-triol. *J Chem Res* 1996:504–5.
- [33] Iglesias-Arteaga MA, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Síntesis de espirobisnosteroides análogos de la 6-desoxocasterona. *Quim Nova* 1997;20:361–4.
- [34] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F, Rosado A. Synthesis of (22R,25R)-3 $\beta$ ,26-dihydroxy-5 $\alpha$ -furostan-6-one. *Synth Commun* 1998;28:1381–6.
- [35] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Leliebre-Lara V, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Synthesis of (22R,25R)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,26-trihydroxy-5 $\alpha$ -furostan-6-one. *Synth Commun* 1998;28:1779–84.
- [36] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Gil R, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Spirostanic analogues of testosterone. Synthesis, characterization and biological activity of laxogenin, (23S)-hydroxylaxogenin and 23-ketolaxogenin (23-oxolaxogenin). *J Chem Soc Perkin Trans* 2001;1:261–6.
- [37] Iglesias-Arteaga MA, Pérez-Martínez CS, Coll-Manchado F. Spirostanic analogues of castasterone. *Steroids* 2002;67:159–63.
- [38] Romero-Ávila M, de Dios-Bravo G, Méndez-Stivalet JM, Rodríguez-Sotres R, Iglesias-Arteaga MA. Synthesis and biological activity of furostanic analogues of brassinosteroids bearing the 5 $\alpha$ -hydroxy-6-oxo moiety. *Steroids* 2007;72:955–9.
- [39] Jiang B, Shi H-P, Tian W-S, Zhou W-S. The convergent synthesis of novel cytotoxic certanardosterol D2 from diosgenin. *Tetrahedron* 2008;64:469–76.
- [40] Xu Q-H, Peng X-W, Tian W-S. A new strategy for synthesizing the steroids with side chains from steroidal sapogenins: synthesis of the aglycone of OSW-1 by using the intact skeleton of diosgenin. *Tetrahedron Lett* 2003;44:9375–7.
- [41] Betancor C, Freire R, Pérez-Martin I, Prangé T, Suárez E. A convenient synthesis of C-22 and C-25 stereoisomers of cephalostatin north 1 side chain from spirostan sapogenins. *Org Lett* 2002;4:1295–7.
- [42] Lee JS, Fuchs PL. New oxidative tools for the functionalization of the cephalostatin north 1 hemisphere. *Org Lett* 2003;5:2247–50.
- [43] LaCour TG, Guo C, Bhandaru S, Boyd MR, Fuchs PL. Interphthal product splicing: the first total syntheses of cephalostatin 1, the north hemisphere of ritterazine G, and the highly active hybrid analogue, ritterostatin G<sub>N</sub>1<sub>N</sub>1. *J Am Chem Soc* 1998;120:692–707.
- [44] For review see: Gryszkiewicz-Wojtkielewicz A, Jastrzębska I, Morzycki JW, Romanowska DB. Approaches towards the synthesis of cephalostatins, ritterazines and saponins from *Ornithogalum saundersiae*—new natural products with cytostatic activity. *Curr Org Chem* 2003;7:1257–77.
- [45] For review see: Moser BR. Review of cytotoxic cephalostatins and ritterazines: isolation and synthesis. *J Nat Prod* 2008;71:487–91.
- [46] Rao ChB, Ramana KV, Rao DV, Fahy E, Faulkner DJ. Metabolites of the Gorgonian *Isis hippuris* from India. *J Nat Prod* 1988;51:954–8.
- [47] González N, Barral MA, Rodríguez J, Jiménez C. New cytotoxic steroids from the gorgonian *Isis hippuris*. Structure–activity studies. *Tetrahedron* 2001;57:3487–97.
- [48] Sheu J-H, Chao C-H, Wang G-H, Hung K-C, Duh C-Y, Chiang MY, et al. The first *n*-hippuristanol and two novel 4,5-secosuberosanoids from the gorgonian *Isis hippuris*. *Tetrahedron Lett* 2004;45:6413–6.
- [49] Chao C-H, Huang L-F, Yang Y-L, Su J-H, Wang G-H, Chiang MY, et al. Polyoxo-gated Steroids from the gorgonian *Isis hippuris*. *J Nat Prod* 2005;68:880–5.
- [50] Guo C, Fuchs PL. The first synthesis of the aglycone of the potent anti-tumor steroidal saponin OSW-1. *Tetrahedron Lett* 1988;39:1099–102.
- [51] Guo C, LaCour TG, Fuchs PL. On the relationship of OSW-1 to the cephalostatins. *Bioorg Med Chem Lett* 1999;9:419–24.

- [52] LaCour TG, Guo C, Ma S, Jeong JU, Boyd MR, Matsunaga S, et al. On topography and functionality in the B–D rings of cephalostatin cytotoxins. *Bioorg Med Chem Lett* 1999;9:2587–92.
- [53] CrysAlis CCD and CrysAlis R ed, V. 171. 33. 31. Abingdon, England: Oxford Diffraction; 2009.
- [54] Giacovazzo C, Burla MC, Caliandro R, Camalli M, Carrozzini B, Cascarano GL, et al. SIR-2004 (v 1. 0) a program for automatic solution and refinement of crystal structures; 2004.
- [55] Sheldrick GM. A program for crystal structure solution. *Acta Cryst* 2008;A64:112–22.
- [56] Cremer D, Pople JA. A general definition of ring puckering coordinates. *J Am Chem Soc* 1975;97:1354–8.
- [57] Duax WL, Weeks CM, Rohrer DC. Crystal structures of steroids. In: Eliel EL, Allinger N, editors. *Topics in stereochemistry*, Vol. 2. New York: John Wiley; 1976. p. 271–83.
- [58] Altona C, Geise HJ, Romers C. Conformation of non-aromatic ring compounds XXV: geometry and conformation of ring D in some steroids from X-ray structure determinations. *Tetrahedron* 1968;24:13–32.
- [59] Etter MC. Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic compounds. *Acc Chem Res* 1990;23:120–6.
- [60] Faul WH, Failli A, Djerassi C. Side-chain transformations and deuterium labeling in the steroidal sapogenin series. *J Org Chem* 1970;36:2571–85.

## NMR and X-ray characterization of steroids with furospirostane side chains

Mariana Macías-Alonso, Nuria Esturau-Escofet, Marcos Flores-Álamo,  
Rafael Moreno-Esparza,\* and Martín A. Iglesias-Arteaga\*

*Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México,  
Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F., México*

*E-mail: [moresp@servidor.unam.mx](mailto:moresp@servidor.unam.mx), [martin.iglesias@servidor.unam.mx](mailto:martin.iglesias@servidor.unam.mx)*

---

### Abstract

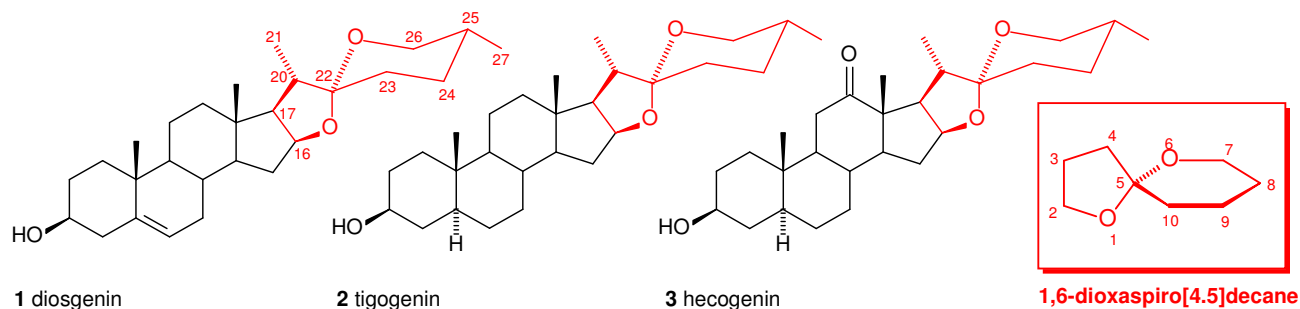
The synthesis and assignment of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR signals and X-Ray characterization of steroids bearing furospirostane side chains is provided. The effects of the side chain modifications on the puckering parameters and NMR characteristics derived from the modification of the side chains are discussed.

**Keywords:** Steroids, furospirostanes, NMR, X-Ray structures, puckering

---

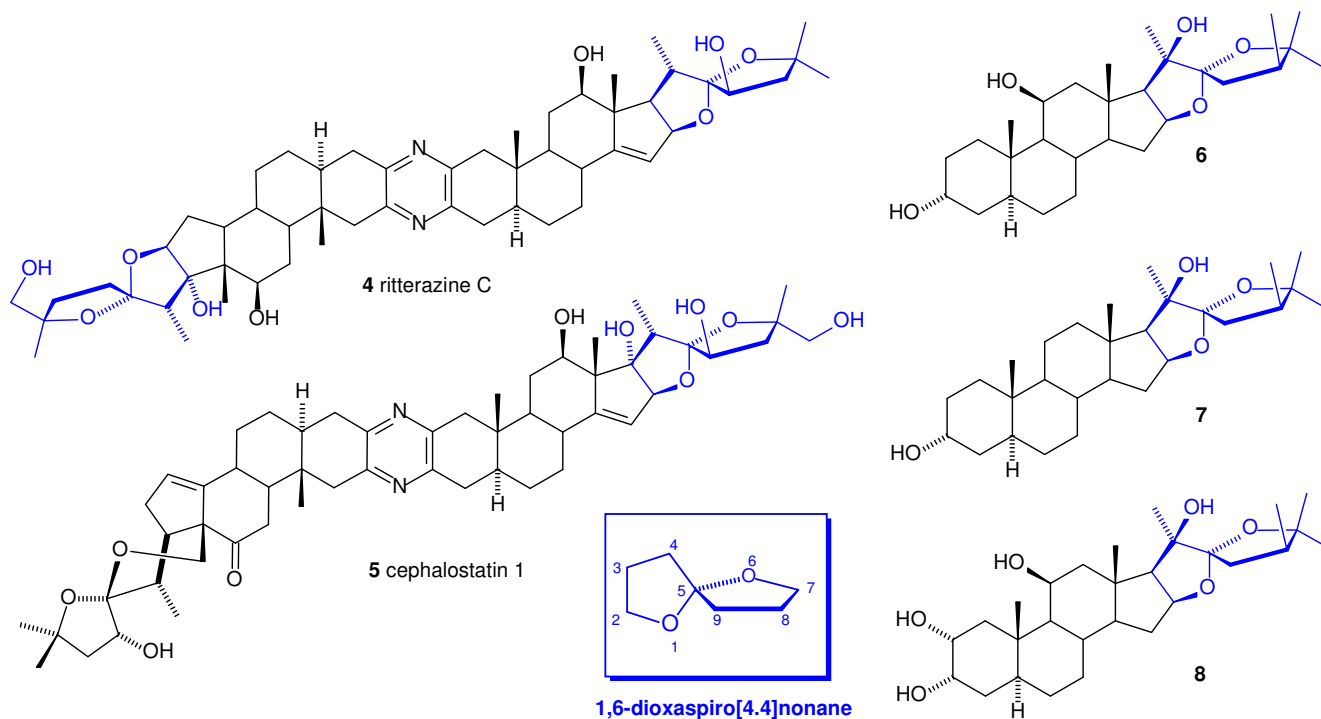
### Introduction

Steroids bearing oxygenated spiroketal side chains are widespread in both the natural and synthetic domains. Steroid sapogenins, which have produced a large variety of interesting reactions and rearrangements,<sup>1</sup> are characterized by the presence of a  $16\beta,22:22,26$ -diepoxy moiety in side chain and can be regarded as 1,6-dioxaspiro[4.5]decane derivatives (Figure 1). This kind of compound has been subject of much research due to their biological activity<sup>2</sup> and their usefulness as starting materials for the synthesis of different bioactive compounds as sexual or adrenocortical hormones,<sup>1a</sup> ecdysteroids,<sup>3</sup> plant growth stimulators,<sup>4</sup> and cytotoxic steroids<sup>5</sup> among others.



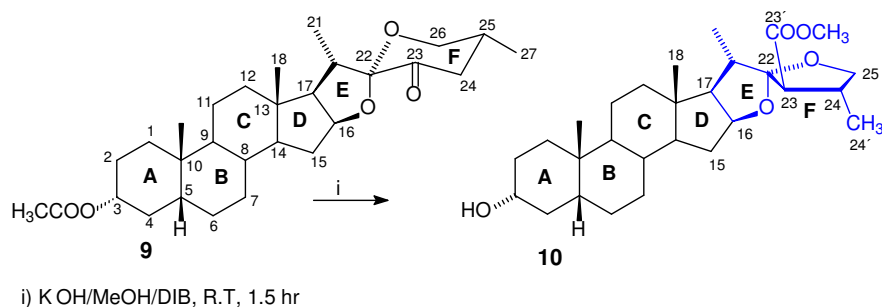
**Figure 1.** Some naturally occurring steroid sapogenins.

Furospirostanes, a smaller and relatively less known family of steroids bearing a  $16\beta,22:22,25$ -diepoxy moiety in the chain, may be considered 1,6-dioxaspiro[4.4]nonane derivatives, and include compounds with antitumor activity as the ritterazines **4**,<sup>5f</sup> cephalostatins **5**,<sup>5f</sup> or hippuristanols **6-8**,<sup>6</sup> among others (see Figure 2).



**Figure 2.** Some furospirostanes with cytotoxic activity against cancer cells.

As a part of our project to explore the reactivity of steroid bearing spiroketals side chains, we have recently focused our attention on the  $16\beta,22:22,25$ -diepoxy moiety derived from our recently reported hypervalent iodine-induced F-ring contraction (see Scheme 1).<sup>1f</sup>

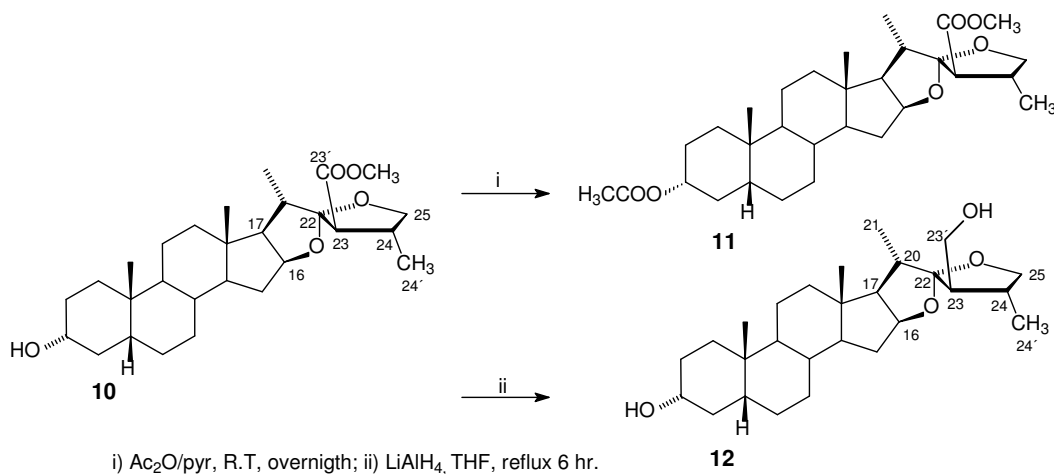


### Scheme 1

In this context and for structural reference purposes, we decided to carry out a detailed characterization of compounds bearing such functionality that serve as materials for our biological, synthetic and chemical reactivity studies. In this communication we describe the unambiguous assignment of all  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of spirocyclic steroids bearing the  $16\beta,22:22,25$ -diepoxy moiety in the side chain. In addition a detailed analysis of the crystal structures of such compounds is also provided.

### Results and Discussion

Since compound **10** persisted in crystallizing in needles not suitable for X-Ray studies, derivatization of **10** was necessary. Hence the acetate **11** was prepared in 74.8% yield by the standard  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine procedure.  $\text{LiAlH}_4$  reduction of **10** afforded the diol **12** in 84.9% yield (see Scheme 2).



### Scheme 2

**<sup>1</sup>H NMR Characteristic derived from the steroid nucleus.**

Several papers have dealt with the total assignment of protons attached to the steroid framework. In particular Kirk<sup>7a</sup> and Agrawal<sup>7b</sup> have provided excellent reference papers that also provided useful hints for the assignment of the <sup>1</sup>H signals of naturally occurring and synthetic steroids. Although we are providing the total assignment of the <sup>1</sup>H signals of all the studied compounds, the discussion will be focused in the <sup>1</sup>H signals associated to the 16 $\beta$ , 22:22,25-diepoxy side chain.

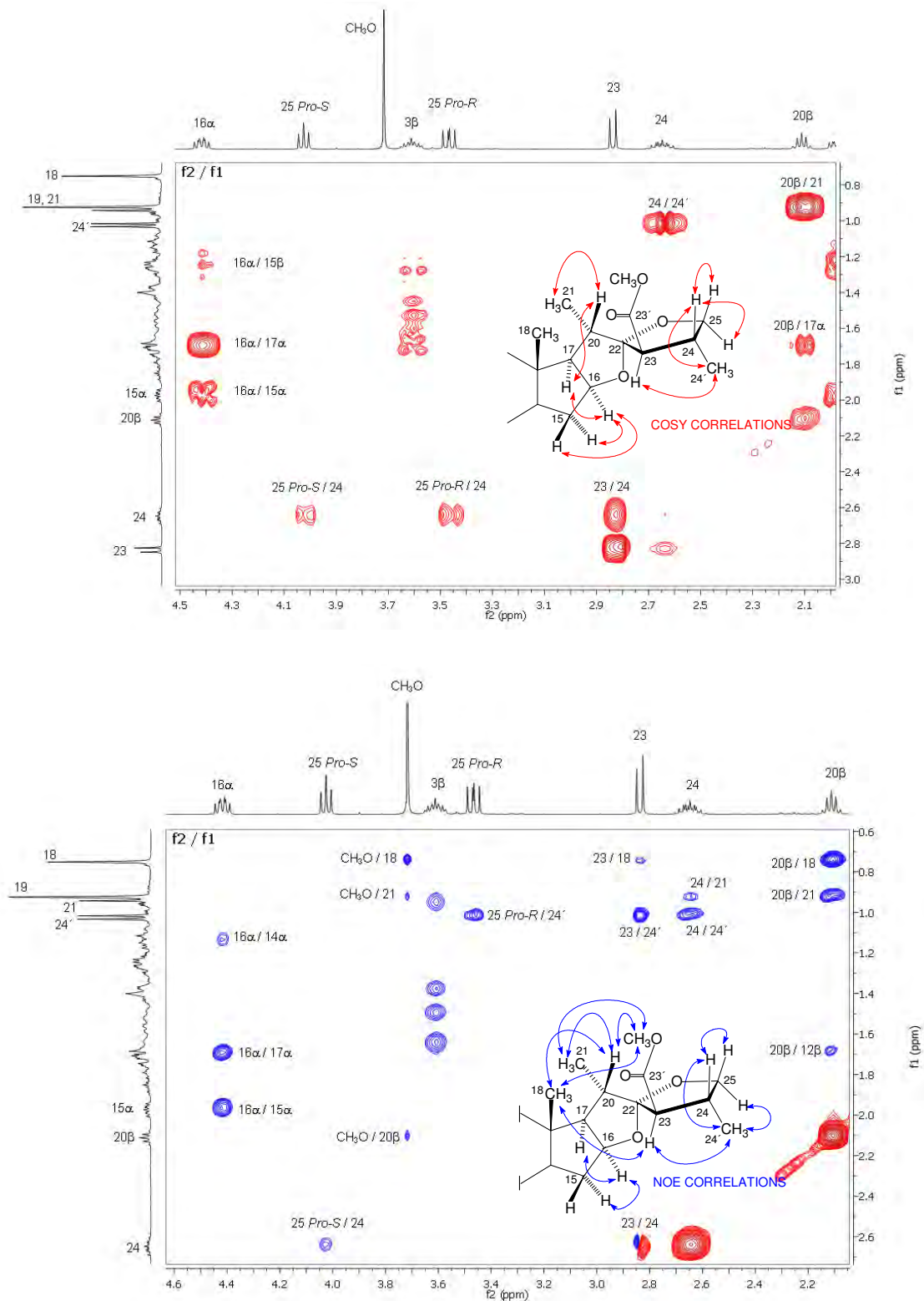
**<sup>1</sup>H NMR Characteristic derived from the 16 $\beta$ , 22:22,25-diepoxy side chain.**

The contraction of the F-ring produces significant changes on the signals of the protons placed in the side chain. In particular the furospirostane side chains of compounds **10** and **11** are characterized by the presence of a new deshielded signal corresponding to H-23 in  $\alpha$  position of both the spiroketal function at C-22 and the carboxymethyl group attached to C-23. The conversion of the F-ring into a 5-membered cycle also produces strong deshielding of H-25 *Pro-S* (formerly H-26 *Pro-S* in compound **9**) and shielding of H-25 *Pro-R*, (formerly H-26 *Pro-R* in **9**).

Similarly, upfield shift of H-20 and downfield shifts of both H-24 (formerly H-25 in **9**) and H-24' (formerly H-27 in **9**) are also associated to the F-ring contraction that gave place to compound **10**. Table 1 shows the key 2D homo- and heteronuclear correlations that allow the unambiguous assignment of most of the <sup>1</sup>H signals associated to the (23*R*)-23-carboxymethyl-16 $\beta$ , 22:22,25-diepoxy side chain of compound **10**, (see Figure 3 for key H-H correlations and supplementary information file for annotated spectra).

**Table 1.** Main hetero- and homonuclear correlations of the side chain of compound **10**

H	COSY	NOESY	HMBC H-C	
	H-H	H-H	2 bonds	3 bonds
20 $\beta$	17 $\alpha$ , 21	12 $\beta$ , 18, 21, CH <sub>3</sub> O	17, 21, 22	13, 23
21	20 $\beta$	20 $\beta$ , 24, CH <sub>3</sub> O	20	17, 22
23	24	18, 24, 24'	22, 23', 24	24'
24	23, 25 <i>Pro-R</i> , 25 <i>Pro-S</i>	21, 23, 25 <i>Pro-S</i>	23, 25	23'
24'	24	23, 24, 25 <i>Pro-R</i>	24	23, 25
25 <i>Pro-R</i>	24	24'	24	23, 24'
25 <i>Pro-S</i>	24	24	24	22, 23



**Figure 3.** Selected H-H and NOE correlations in the side chain of compound **10**.

The reduction of the carboxymethyl group in **10** to produce the diol **12** results in the downfield shift of H-20 and the upfield shift of H-23. The  $^1\text{H}$  spectrum of the reduced compound **12** also shows two new signals corresponding to the diastereotopic hydrogens attached to C-23' which shows the typical AB-X coupling pattern. Table 2 shows the key 2D homo- and heteronuclear correlations that allow the unambiguous assignment of most of the  $^1\text{H}$  signals associated to the (23*S*)-23-hydroxymethylene-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy side chain of compound **12**, (see Figure 4 for key H-H correlations and supplementary information file for annotated spectra).

**Table 2.** Main hetero- and homonuclear correlations of the side chain of compound **12**

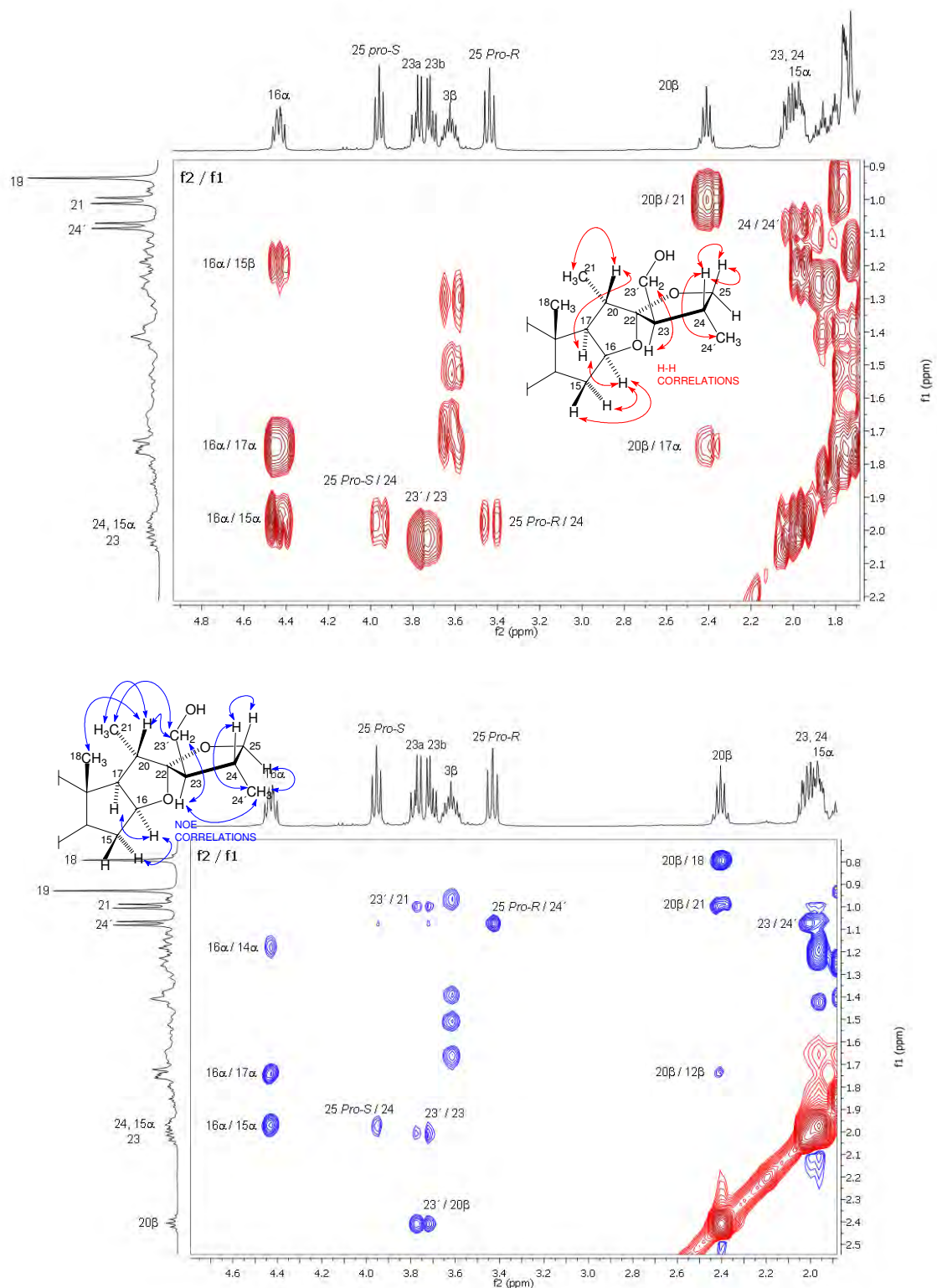
H	COSY	NOESY	HMBC H-C	
	H-H	H-H	2 bonds	3 bonds
20 $\beta$	17 $\alpha$ , 21	12 $\beta$ , 18, 21	17, 21, 22	13, 23,
21	20 $\beta$	20 $\beta$ , 23'a, 23'b	20	17, 22
23 ** 24	23'a, 23'b	23'a, 23'b, 24'	24	-
23' a	23	21, 23, 20 $\beta$	23	22
23' b	23	21, 23, 20 $\beta$	23	22, 24
24 ** 23	25 <i>Pro-R</i> , 25 <i>Pro-S</i>	25 <i>Pro-S</i>	23, 25	-
24'	24	23, 25 <i>Pro-R</i>	24	23, 25
25 <i>Pro-R</i>	24	24'	24	24'
25 <i>Pro-S</i>	24	24	24	22, 23

\*\*overlapped

While the comparison between the coupling constants of the protons in the side chain of the spirostane derivative **9** with those of the furospirostanes **10** to **12** indicates that the conversion of 6-membered F-ring into a 5-membered ring results in the expected and evident conformational changes, the coincidence of the coupling constants of H-23 *pro-R* in compounds **11** and **12** suggests that the conversion of the carboxymethyl moiety of **11** into the exocyclic hydroxymethylene of **12** does not induce significant conformational changes in the side chain.

**$^{13}\text{C}$  NMR discussion.** In addition to the extensive collection of the  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of around 400 steroids built up by Blunt and Stothers,<sup>8a</sup> Agrawal published an excellent review which comprises the assignment of the  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of 66 steroid sapogenins bearing the 16 $\beta$ ,22:22,26-diepoxy in the side chain.<sup>8b</sup> Some of our previous works on this subject have also provided rules for the systematization of the effects exerted by different functional groups in NMR signals of the 16 $\beta$ ,22:22,26-diepoxy side chain.<sup>8c-e</sup> Consequently, the discussion here will be focused in the main NMR characteristic associated with the 5-membered 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy side chain result of the F-ring contraction (see crystallographic studies).





**Figure 4.** Selected H-H and NOE correlations in the side chain of compound 12.

**Table 3.**  $^1\text{H}$  chemical shifts of the compounds **9** to **12**

H	<b>9</b> *	H	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
1 $\alpha$	1.80	1 $\alpha$	1.79	1.78	1.78
1 $\beta$	1.02	1 $\beta$	0.96	1.01	0.97
2 $\alpha$	1.38	2 $\alpha$	1.29	1.37	1.30
2 $\beta$	1.67	2 $\beta$	1.66	1.66	1.66
3 $\beta$	4.71 (m)	3 $\beta$	3.62 (m)	4.69 (m)	3.62 (ddd, $J = 15.7$ , 10.9, 4.7)
4 $\alpha$	1.80	4 $\alpha$	1.73	1.79	1.74
4 $\beta$	1.53	4 $\beta$	1.51	1.52	1.51
5 $\beta$	1.44	5 $\beta$	1.40	1.43	1.39
6 $\alpha$	1.23	6 $\alpha$	1.25	1.23	1.53
6 $\beta$	1.85	6 $\beta$	1.85	1.84	1.84
7 $\alpha$	1.07	7 $\alpha$	1.09	1.07	1.10
7 $\beta$	1.38	7 $\beta$	1.43	1.37	1.40
8 $\beta$	1.57	8 $\beta$	1.57	1.57	1.57
9 $\alpha$	1.40	9 $\alpha$	1.40	1.39	1.41
11 $\alpha$	1.38	11 $\alpha$	1.39	1.70	1.40
11 $\beta$	1.23	11 $\beta$	1.21	1.21	1.24
12 $\alpha$	1.13	12 $\alpha$	1.12	1.12	1.17
12 $\beta$	1.74	12 $\beta$	1.71	1.69	1.73
14 $\alpha$	1.15	14 $\alpha$	1.13	1.14	1.17
15 $\alpha$	1.98	15 $\alpha$	1.98	1.95	1.99
15 $\beta$	1.27	15 $\beta$	1.26	1.23	1.22
16 $\alpha$	4.59 (td, $J =$ 7.6, 6.2)	16 $\alpha$	4.42 (td, $J =$ 7.7, 6.0)	4.40 (td, $J =$ 7.7, 6.0)	4.43 (m)
17 $\alpha$	1.74	17 $\alpha$	1.71	1.69	1.74
18 (CH <sub>3</sub> )	0.74 (s)	18 (CH <sub>3</sub> )	0.75 (s)	0.74 (s)	0.79 (s)
19 (CH <sub>3</sub> )	0.93 (s)	19 (CH <sub>3</sub> )	0.92 (s)	0.92 (s)	0.93 (s)
20 $\beta$	2.86 (quin, $J =$ 6.9)	20 $\beta$	2.11 (quin, $J =$ 6.8)	2.10 (quin, $J =$ 6.8)	2.41 (quin, $J = 6.8$ )
21 (CH <sub>3</sub> )	0.92 (d, $J = 7.0$ )	21 (CH <sub>3</sub> )	0.93 (d, $J = 7.4$ )	0.92 (d, $J = 6.9$ )	1.00 (d, $J = 6.9$ )
23	-	23	2.84 (d, $J = 9.4$ )	2.82 (d, $J = 9.3$ )	1.99 (m)
23' a	-	23' a	-	-	3.78 (dd, $J = 10.9$ , 7.1)
23' b	-	23' b	-	-	3.71 (dd, $J = 10.9$ , 5.5)

**Table 3.** Continued

H	<b>9</b> *	H	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
24 <i>Pro-S</i> (ax.)	2.42 (m)	-	-	-	-
24 <i>Pro-R</i> (eq.)	2.47 (dd, <i>J</i> = 10.7, 10.7)	-	-	-	-
25	2.27 (m)	24	2.65 (m)	2.64 (m)	1.99 (m)
26 <i>Pro-S</i> (eq.)	3.57 (ddd, <i>J</i> = 11.2, 4.6, 1.4)	25 <i>pro-S</i>	4.03 (dd, <i>J</i> = 7.7, 7.7)	4.01 (dd, <i>J</i> = 7.7, 7.7)	3.95 (d, <i>J</i> = 7.6, 7.6)
26 <i>Pro-R</i> (ax.)	3.77 (dd, <i>J</i> = 11.3, 11.3)	25 <i>pro-R</i>	3.47 (dd, <i>J</i> = 10.1, 8.1)	3.46 (dd, <i>J</i> = 10.1, 8.1)	3.43 (dd, <i>J</i> = 9.3, 8.2)
27 (CH <sub>3</sub> )	0.92 (d, <i>J</i> = 6.6)	24' (CH <sub>3</sub> )	1.03 (d, <i>J</i> = 6.6)	1.01 (d, <i>J</i> = 6.6)	1.07 (d, <i>J</i> = 6.3)
	2.01 (s)	CH <sub>3</sub> COO-3	-	2.00 (s)	-
		CH <sub>3</sub> O	3.72 (s)	3.71 (s)	

\*Signals of compound **9**<sup>8e</sup> are included for reference

### <sup>13</sup>C NMR characteristics of the 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy side chain.

The conversion of the F-ring of **9** into the 5-membered ring of **10** produces the downfield shift of C-25 (formerly C-26 in **9**) that now resonates at between 71.8 and 72.5 ppm as a result of the lost of the 1,3 shielding interactions present in the 6-membered F-ring of compound **9**. In addition, the 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy side chains of compounds **10** to **12** are characterized by the presence of a deshielded signal corresponding to the spiroketal carbon C-22 between 119 and 120 ppm (See Table 4).

In particular the <sup>13</sup>C spectra of compounds **10** and **11** are characterized by the presence of the signal corresponding to C-23 around 59.7 ppm and the those corresponding to the exocyclic carboxymethyl group attached to C-23 around 172 ppm (C=O) and 51.8 (OCH<sub>3</sub>). The F-ring contraction also produces a slight upfield shift on C-24' (formerly C-27 in compound **9**) as well as slight downfield shifts on C-20, C-21 and C-24 (formerly C-25 in compound **9**).

As expected, the reduction of the exocyclic carboxylic ester moiety to produce an exocyclic hydroxy methylene results on the upfield shifts of the signals of C-23 and C-23'. Provided that the reduction of the C-23' carboxyl ester moiety attached to C-23 does not produce significant conformational changes in the side chain (*vide supra*), the slight upfield and downfield shifts observed in other C nuclei of the side chain should be attributed to field changes associated to the conversion of the magnetically anisotropic carboxymethyl moiety into a hydroxymethylene group.

## Crystallographic studies

Table 4.  $^{13}\text{C}$  chemical shifts of compounds 9 to 12

<b>C</b>	<b>9*</b>	<b>C</b>	<b>10**</b>	<b>11**</b>	<b>12**</b>
<b>1</b>	35.0	<b>1</b>	35.3	35.0	35.3
<b>2</b>	26.6	<b>2</b>	30.5	26.5	30.5
<b>3</b>	74.2	<b>3</b>	71.7	74.2	71.8
<b>4</b>	32.2	<b>4</b>	36.4	32.2	36.4
<b>5</b>	41.8	<b>5</b>	42.0	41.8	42.0
<b>6</b>	26.9	<b>6</b>	27.1	26.9	27.1
<b>7</b>	26.5	<b>7</b>	26.6	26.5	26.7
<b>8</b>	35.4	<b>8</b>	35.5	35.5	35.5
<b>9</b>	40.5	<b>9</b>	40.5	40.4	40.5
<b>10</b>	34.7	<b>10</b>	34.7	34.7	34.7
<b>11</b>	20.5	<b>11</b>	20.5	20.5	20.6
<b>12</b>	40.0	<b>12</b>	40.0	39.9	40.1
<b>13</b>	41.1	<b>13</b>	41.1	41.1	41.2
<b>14</b>	56.4	<b>14</b>	56.2	56.2	56.2
<b>15</b>	31.7	<b>15</b>	31.8	31.8	31.9
<b>16</b>	83.4	<b>16</b>	81.4 (-2.0)	81.4 (0)	81.0 (-0.4)
<b>17</b>	61.8	<b>17</b>	62.7 (+0.9)	62.7 (0)	62.9 (+0.2)
<b>18</b>	16.1	<b>18</b>	16.0 (-0.1)	16.0 (0)	16.4 (+0.4)
<b>19</b>	23.3	<b>19</b>	23.3	23.3 (0)	23.4 (+0.1)
<b>20</b>	34.7	<b>20</b>	37.4 (+2.7)	37.4 (0)	35.8 (-1.6)
<b>21</b>	14.4	<b>21</b>	15.5 (+1.1)	15.5 (0)	16.2 (+0.7)
<b>22</b>	109.8	<b>22</b>	119.3 (+9.5)	119.3 (0)	120.2 (+0.9)
<b>23</b>	201.8	<b>23</b>	59.7 (-142.1)	59.6 (-0.1)	55.7 (-3.9)
<b>24</b>	45.2	<b>23'</b>	172.5	172.4 (-0.1)	62.5 (-109.9)
<b>25</b>	35.8	<b>24</b>	37.5 (+1.7)	37.5 (0)	36.9 (-0.6)
<b>26</b>	65.6	<b>25</b>	72.5 (+6.9)	72.5 (0)	72.2 (-0.3)
<b>27</b>	17.1	<b>24'</b>	15.4 (-1.7)	15.4 (0)	16.3 (+0.9)
<b>CH3COO-3</b>	170.5	<b>CH3COO-3</b>	-	170.5	-
<b>CH3COO-3</b>	21.4	<b>CH3COO-3</b>	-	21.4	-
		<b>CH3O-23'</b>	51.8	51.8 (0)	-

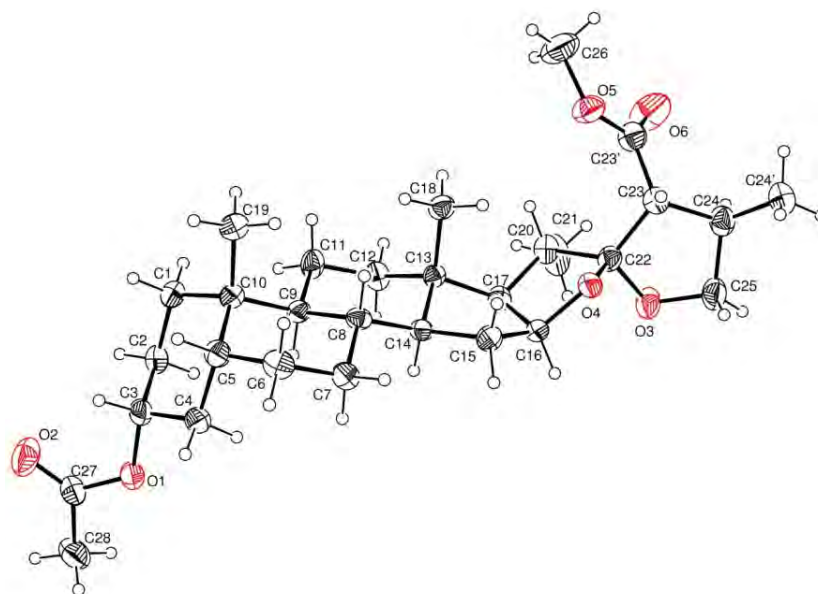
\*Signals of compound **9**<sup>8c</sup> are included for reference. \*\* $\Delta$  ppm associated to the changes in the side chain are given in parentheses and were calculated using the synthetic precursor as reference.

The absolute configuration of the studied compounds was considered and corroborated as that from the starting steroid sapogenin.<sup>8c</sup> Studied compounds **11** and **12** contain the steroid ABCD fused ring framework with the axial methyl groups attached to C-10 and C-13 cis A/B, trans B/C, and trans C/D rings junctions, they also bear 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy moiety characteristic of the furospirostane side chain. Puckering parameters were calculated as described by Cremer and Pople.<sup>9a</sup>

In compound **11** the equatorial acetoxy group bonded to C-3 is arranged in such a way that the carbonyl O atom nearly eclipses the axial H atom attached to C-3 and does not disturb ring A, which present a chair conformation with a puckering amplitude (Q) = 0.555(2) Å,  $\theta$  = 178.0(2) °,  $\varphi$  = 242(5) °, if the calculation starts from C-1 to C-10 and proceeds in a counterclockwise direction. Ring B assumes a conformation very similar to a chair form with a puckering amplitude Puckering Amplitude (Q) = 0.578(2) Å,  $\theta$  = 3.2(2) °,  $\varphi$  = 226(4) °, if the calculation starts from C-5 to C-10 and proceeds in a counterclockwise direction. Ring C assumes a conformation close to a chair with a puckering amplitude (Q) = 0.569(2) Å,  $\theta$  = 9.6(2) °,  $\varphi$  = 254.9(14) °, if the calculation starts from C-8 to C-14 and proceeds in a clockwise direction. Ring D can be described as cyclopentane twisted on C-13-C-14 with puckering parameters of Q(2) = 0.445(2) Å,  $\varphi$  (2) = 202.3(3) °, if the calculation starts from C-13 to C-17 and proceeds in a clockwise direction. Ring E display an envelope O(4)-exo with absolute L configuration with puckering parameters Q(2) = 0.350(2) Å,  $\varphi$  (2) = 186.2(4) °, if the calculation follow this order; O(4), C-22, C-20, C-17, C-16. The tetrahydrofuran ring E is cis-fused to the cyclopentane ring D. Finally the F-ring, which bisects the normal plane of the steroid skeleton, shows a C-25-endo envelope conformation with puckering parameters Q(2) = 0.369(3) Å,  $\varphi$  (2) = 146.3(4)°, if the calculation follow this order: O(3), C-22, C-23, C-24, C-25, (See Table 5). The crystal structure of compound **11** is shown in Figure 5, with the ellipsoid drawn at the 50% of probability.<sup>9b</sup>

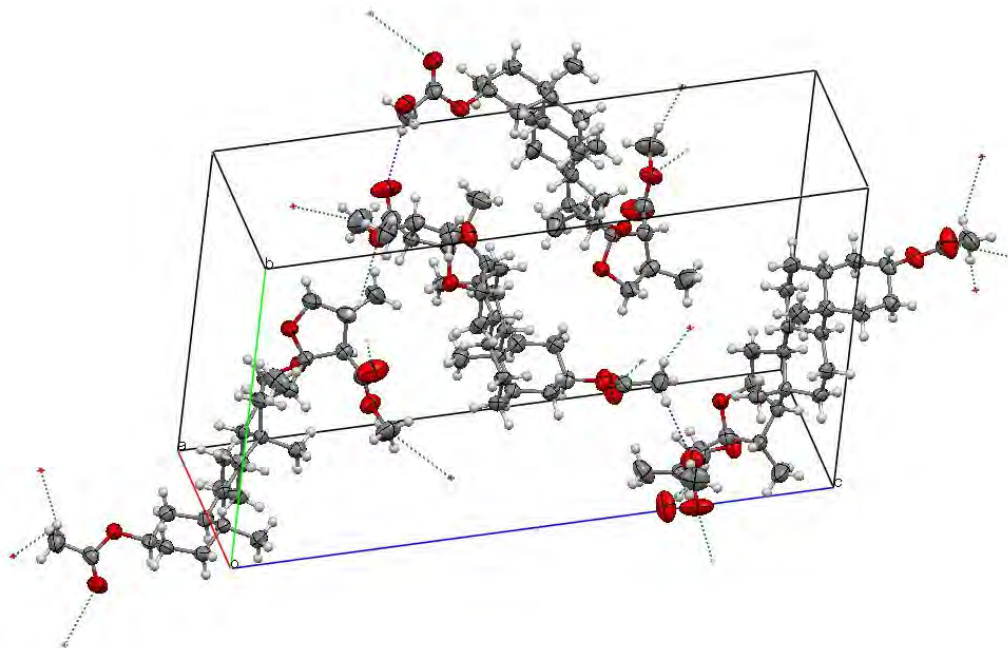
**Table 5.** Calculated puckering parameters for compound **11**

Ring	Q / Å	$\theta$ / °	$\varphi$ / °	Order and direction of the calculation
A	0.555(2)	178.0(2)	242(5)	From C(1) to C(10), counterclockwise
B	0.578(2)	3.2(2)	226(4)	From C(5) to C(10), counterclockwise
C	0.569(2)	9.6(2)	255(1)	From C(8) to C(14), clockwise
<b>Ring</b>	<b>Q(2) / Å</b>	<b><math>\varphi</math> / °</b>		
D	0.445(2)	202.3(3)	-	From C(13) to C(17), counterclockwise
E	0.350(2)	186.2(4)	-	In this order; O(4), C(22), C(20), C(17), C(16)
F	0.369(3)	146.3(4)	-	In this order: O(3), C(22), C(23), C(24), C(25)



**Figure 5.** Crystal structure of compound **11**.

The molecules in the unit cell of **11** show non-classic hydrogen bonds and they are linked via one hydrogen bond in the same cell C(24)-H(24)···O(6) (2.50 H...O, 2.887(4) C O) with other to the next cell, C(28)-H(28B)···O(6) (2.54 H O, 3.439(3) C O). The packing of the crystal is assumed to be dictated by van der Waals interactions and intermolecular CH···O hydrogen bonds. In figure 6 the main contacts of this molecule are shown.

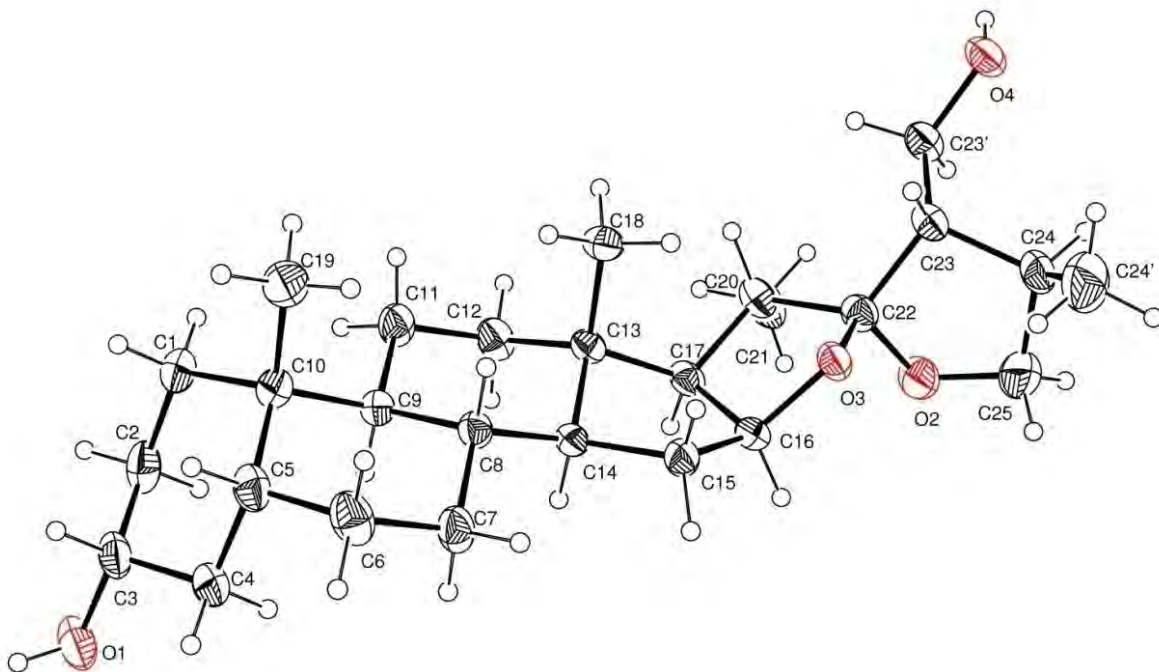


**Figure 6.** View of the unit cell and the main contacts of **11**.

As expected, in compound **12**, the presence of the smaller equatorial hydroxyl substituent attached to C-3 does not disturb the chair conformation of ring A, which shows a puckering amplitude ( $Q$ ) = 0.560(2) Å,  $\theta$  = 175.0(2) °,  $\varphi$  = 282(2) °, if the calculation starts from C-1 to C-10 and proceeds in the counterclockwise direction. Ring B assumes a conformation very similar to a chair form with a puckering amplitude Puckering Amplitude ( $Q$ ) = 0.573(2) Å,  $\theta$  = 4.5(2) °,  $\varphi$  = 227(2) °, if the calculation starts from C-5 to C-10 and proceeds in a counterclockwise direction. Ring C assumes a conformation close to a chair with a puckering amplitude ( $Q$ ) = 0.5550(19) Å,  $\theta$  = 10.7(2) °,  $\varphi$  = 247.5(11) °, if the calculation starts from C-8 to C-14 and proceeds in a clockwise direction. Ring D can be described as cyclopentane twisted on C-13-C-14 with a conformation very similar to a half chair with puckering parameters of  $Q(2)$  = 0.4503(19) Å,  $\varphi(2)$  = 199.1(2) °, if the calculation starts from C-13 to C-17 and proceeds in a clockwise direction. Ring E display an envelope O(3)-exo with absolute L configuration with puckering parameters  $Q(2)$  = 0.3624(17) Å,  $\varphi(2)$  = 183.4(3) °, if the calculation follow this order; O(3), C-22, C-20, C-17, C-16. The tetrahydrofuran ring E is cis-fused to the cyclopentane ring D. Finally the F-ring, which is perpendicular to the normal plane of the skeleton, shows an C-22-endo envelope conformation with puckering parameters  $Q(2)$  = 0.336(2) Å,  $\varphi(2)$  = 212.5(4) °, if the calculation follow this order: O(2), C-22, C-23, C-24, C-25, (See Table 6). The crystal structure of compound **12** is shown in Figure 7, with the ellipsoid drawn at the 50% of probability.<sup>9b</sup>

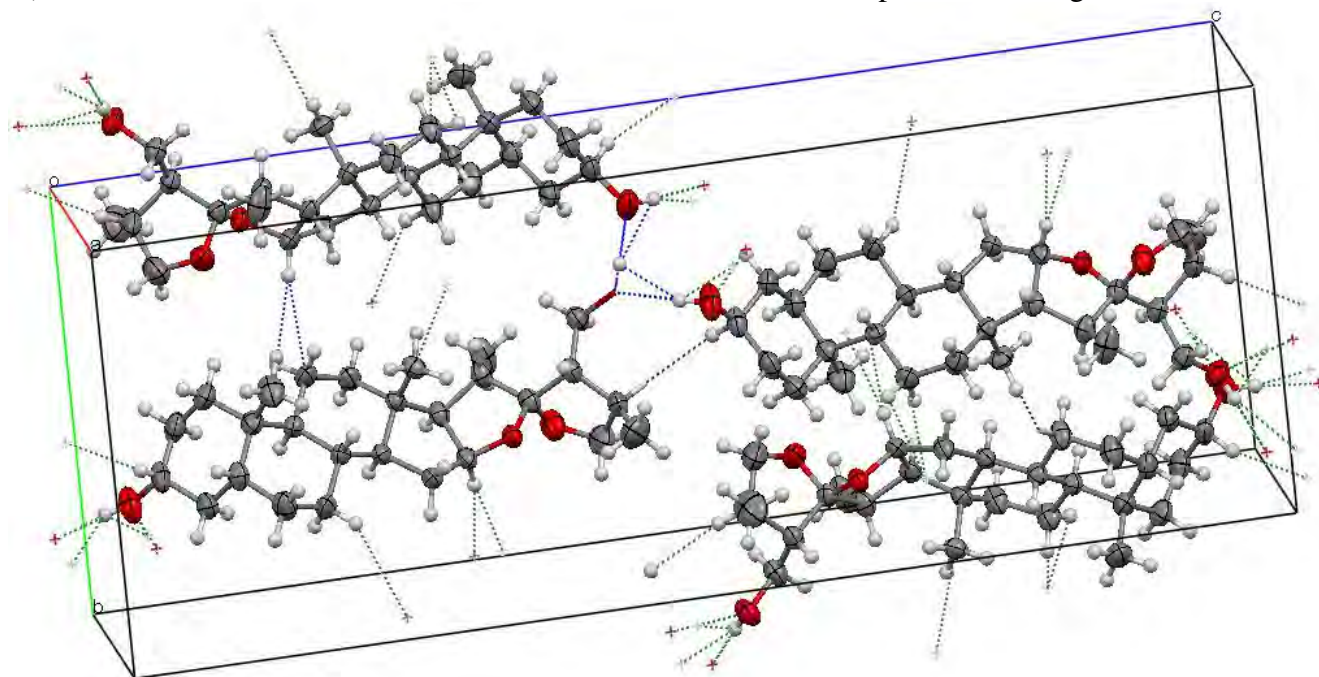
**Table 6.** Calculated puckering parameters for compound **12**

Ring	$Q / \text{Å}$	$\theta / ^\circ$	$\varphi / ^\circ$	Order and direction of the calculation
A	0.560(2)	175.0(2)	282(2)	From C(1) to C(10), counterclockwise
B	0.573(2)	4.5(2)	227(2)	From C(5) to C(10), counterclockwise
C	0.555(2)	10.7(2)	248(1)	From C(8) to C(14), clockwise
Ring	$Q(2) / \text{Å}$	$\varphi / ^\circ$		
D	0.450(2)	199.1(2)	-	From C(13) to C(17), counterclockwise
E	0.362(2)	183.4(3)	-	In this order: O(3), C(22), C(20), C(17), C(16)
F	0.336(2)	212.5(4)	-	In this order: O(2), C(22), C(23), C(24), C(25)



**Figure 7.** Crystal structure of compound **12**.

The molecules in the unit cell of **12** are connected head to tail through these hydrogen bonds: O(1)-H(10). O(4) (1.93(4) H O, 2.777(2) O O) and O(4)-H(40). O(1) (1.82(4) H O, 2.704(2) O O) in consecutive unit cells, the main contacts for this molecule are presented in Figure 8.



**Figure 8.** View of the main contacts of **12**.



In order to establish quantitative differences between the studied compounds **11** and **12**, a least-squares overlay analysis of the structures is performed. Table 7 shows the results of least-squares overlay analysis obtained with the Mercury program.<sup>9c</sup> From the obtained data it is clear that, as expected, the modifications introduced in the side chain do not produce significant conformational changes in the steroid framework, at least qualitatively.

**Table 7.** Least squares overlay analysis of the rings

RINGS	RMS of 12 vs 11
<b>A</b>	0.0186
<b>B</b>	0.0088
<b>C</b>	0.0108
<b>D</b>	0.0150
<b>E</b>	0.0115
<b>F</b>	0.1770

Interestingly, when F-rings of **11** and **12** are compared, it becomes evident that the envelope configuration shifts from C(25) in **11** to C(22) in **12**, making the overlay between these two rings very bad and indicating evident differences in the conformations adopted by the side chains of **11** and **12**. Table 8 shows the puckering descriptors as defined by Cremer and Pople<sup>9a</sup> and calculated using the PLATON program.<sup>9d-e</sup> The minor differences observed amongst rings A to D across all compounds may be attributed to the different intermolecular interactions that are, of course, influenced by the changes introduced in the side chain.

**Table 8.** Puckering descriptors obtained using the PLATON program

	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>Ring A</b>	C-form	Very Similar to a C-form
<b>Ring B</b>	Very Similar to a C-form	Very Similar to a C-form
<b>Ring C</b>	Close to a C-form	Close to a C-form
<b>Ring D</b>	Twisted on C(13)-C(14)	Twisted on C(13)-C(14)
<b>Ring E</b>	Envelope O(4)-exo	Envelope O(3)-exo
<b>Ring F</b>	Envelope <b>C(25)-endo</b>	Envelope <b>C(22)-endo</b>

While the quite similar coupling constants of F-ring protons of compounds **11** and **12** (see Table 3) indicate that, in solution, both side chains adopt very similar conformations, the important *-and somehow unexpected-* conformational changes observed between both side chains in the solid state, should be associated with the different crystal packing of compounds **11** and **12**, (see Figures 6 and 8).

## Experimental Section

**General.** Reactions were monitored by TLC on Alugram® SIL G/UV254 plates from Macherey-Nagel. Chromatographic plates were sprayed with a 1% solution of vanillin in 50% HClO<sub>4</sub> and heated until color developed. Melting points were measured on a Melt-Temp II equipment. Mass spectra were registered in a Thermo-Electron spectrometer model DFS (Double Focus Sector). NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> solution in a Varian Inova 400 spectrometer using the solvent signal 7.26 ppm for <sup>1</sup>H and 77.00 ppm for <sup>13</sup>C as references. NMR signals assignment was made using a combination of 2D homonuclear and heteronuclear correlation techniques, which included <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H Nuclear Overhauser effect (NOESY), Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC) and Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC). All 2D NMR spectra were recorded using the standard pulse sequences and parameters recommended by the manufacturer and processed using Mestrenova (<http://mestrelab.com>). Copies of the spectra can be found in the supplementary information file.

**(22*S*,23*R*,24*R*)-16β, 22:22, 25-diepoxy-23-carboxymethyl-24-methyl-26,27-dinor-5β-cholestan-3α-ol acetate (11).** Acetic anhydride 0.8 mL was added to a solution of **10**<sup>1f</sup> in pyridine (8 mL), the mixture was stirred overnight, poured into a mixture of ice and 50 mL of 10% HCl. The mixture was extracted with ethyl acetate (2x40 mL) and the organic layer was washed with 10% HCl solution (2x25 mL), 5% CuSO<sub>4</sub> solution (3x25 mL), water (2x30 mL), dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to afford the acetylated product **11** (1.06 g, 2.11 mmol, 75%). m.p. 172-174 °C from acetone/hexane. See tables 3 and 4 for <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR signals. MS (EI, 70 eV): 503 MH<sup>+</sup>, 471, 469. Elem. Anal Calc. for C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub>: C, 71.68, H, 9.22%. Found: C, 71.61, H 9.31%.

**(22*S*,23*S*,24*R*)-16β,22:22,25-diepoxy-23-hydroxymethyl-24-methyl-26,27-dinor-5β-cholestan-3α-ol (12).** A solution of the rearranged product **10**<sup>1f</sup> (643 mg, 1.39 mmol) in THF (15 ml) was slowly added to a refluxing suspension of LiAlH<sub>4</sub> (643 mg, 1.39 mmol) in THF (25 mL) under nitrogen and the mixture was refluxed for 2 hours. Ethyl acetate (30 mL) was carefully added to destroy the excess of LiAlH<sub>4</sub> (caution !!) followed by water (30 mL) and the mixture was extracted with ethyl acetate (2x50 mL). The organic layer was washed with water (5x30 mL) dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to afford the reduced compound **12**, (512.5 mg, 1.18 mmol, 85%). m.p. 177-178 °C from ethyl acetate/hexane. See tables 3 and 4 for <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR signals. MS (EI, 70e V): 433 MH<sup>+</sup>, 415, 397, 385, 367, 285, 255, 155, 137, 125. HRMS-EI 433.3321 (MH<sup>+</sup> C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>O<sub>4</sub> requires 433.3318)

Suitable crystals for X-Ray diffraction studies were obtained from the analytical samples as follows: crystals of **11** from a 10/1 mixture of hexane/ethyl acetate by slow evaporation; and crystals of **12** from an acetone solution left at 4° C for several days. Compounds **11** and **12** crystallized as orthorhombic systems with space group P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>. X-Ray diffraction measurements were performed at 293 (2) K on an Oxford Diffraction Atlas (Gemini) diffractometer with Mo K<sub>α</sub> radiation λ = 0.71073 Å. Data collection routine and data reduction were carried out with CrysAlisPro, Oxford Diffraction Ltd. Oxford Diffraction.<sup>10a</sup> The structures of both molecules

were solved using SIR2004<sup>10b</sup> and refined using SHELXL-97.<sup>10c</sup> All non-hydrogen atoms were refined anisotropically and the hydrogen atoms were found in the difference Fourier maps, placed at geometrically calculated positions and refined using the riding model. The obtained bond lengths and angles of each compound are normal and are available from the electronic supporting information (CIF file) for the structure. Crystallographic data have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Center as supplementary material numbers CCDC 773328 (**11**) and CCDC 773330 (**12**). Copies of the data can be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK. E-mail: [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk).

## Acknowledgements

The authors thank to the *Dirección General de Asuntos del Personal Académico* (DGAPA-UNAM) for financial support via project IN221911-3 and to CONACyT for scholarship granted to MMA. Thanks are due to Georgina Duarte Lisci (USAI-UNAM) for registering mass spectra.

## References

- (a) Fieser, L.; Feiser, M. *Steroids*. New York: Reinhold Publishing Corporation. 1959. (b) Callow, R. K.; James, V. H. T.; Kennard, O.; Page, J. E.; Paton, P. N.; Riva di Sanseverino, L. *J. Chem. Soc. C* **1966**, 288. (c) Iglesias-Arteaga, M. A.; Velázquez-Huerta, G. A.; Méndez-Stivalet, J. M.; Galano, A.; Álvarez-Idaboy, J. R. *Arkivoc* **2005**, vi, 109. (d) Iglesias-Arteaga, M. A.; Alvarado-Nuño, A. A. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5351. (e) Iglesias-Arteaga, M. A.; Jastrzêbska, I.; Morzycki, J. W. *Polish J. Chem.* **2006**, 80, 667. (f) Iglesias-Arteaga, M. A.; Velázquez-Huerta, G. A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 6897. (g) Hernández, R.; Marrero-Tellado, J. J.; Prout, K.; Suárez, E. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 275. (h) Betancor, C.; Dorta, R. L.; Freire, R.; Martín, A.; Prangé, T.; Suárez, E. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 6355. (i) LaCour, T. G.; Tong, Z.; Fuchs, P. L. *Org. Lett.* **1999**, 1, 1815. (j) Cyrański, M. K.; Frelek, J.; Jastrzêbska, I.; Morzycki, J. W. *Steroids* **2004**, 69, 395. (k) Anulewicz-Ostrowska, R.; Jastrzêbska, I.; Morzycki, J. W.; Wojcik, J. J. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 6916. (l) Jastrzêbska, I.; Morzycki, J. W. *Polish J. Chem.* **2005**, 79, 1245. (m) López, Y.; Ruíz-Pérez, K. M.; Yépez, R.; Santillán, R.; Flores-Álamo, M.; Iglesias-Arteaga, M. A. *Steroids* **2008**, 73, 657.
- (a) Corbiere, C.; Liagre, B.; Terro, F.; Beneytout, J. L. *Cell Research* **2004**, 14, 188. (b) Corbiere, C.; Liagre, B.; Bianchi, A.; Bordji, K.; Dauca, M.; Netter, P.; Beneytout, J. L. *Int. J. Oncol.* **2003**, 22, 899. (c) Raju, J.; Patlolla, J. M. R.; Swamy, M. V.; Rao, C. V. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2004**, 13, 1392. (d) Fattorusso, E.; Lanzotti, V.; Magno, S.; Tagliatalata-Scafati, O. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 4904. (e) Carotenuto, A.; Fattorusso, E.; Lanzotti, V.; Magno, S.; De Feo, V.; Carnuccio, R.; D'Acquisto, F. *J. Nat. Prod.* **1997**,

- 60, 1003. (f) Carotenuto, A.; Fattorusso, E.; Lanzotti, V.; Magno, S.; Carnuccio, R.; D'Acquisto, F. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 3401.
3. Lee, E.; Liu, Y. T.; Solomon Philippa, H.; Nakanishi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 1634.
4. (a) Iglesias Arteaga, M. A.; Pérez-Gil, R.; Pérez-Martinez, C. S.; Coll-Manchado, F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2001**, *1*, 261. (b) Iglesias-Arteaga, M. A.; Pérez-Martínez, C. S.; Coll-Manchado F. *Steroids* **2002**, *67*, 159. (c) Romero-Ávila, M.; de Dios-Bravo, G.; Méndez-Stivalet, J. M.; Rodríguez-Sotres R.; Iglesias-Arteaga M. A. *Steroids* **2007**, *72*, 955.
5. (a) Jiang, B.; Shi, H-P; Tian, W-S; Zhou, W-S. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 469. (b) Xu, Q-H; Peng, X-W; Tian, W-S. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 9375. (c) Gryszkiewicz-Wojtkielewicz, A.; Jastrzêbska, I.; Morzycki, J.W.; Romanowska, D.B. *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 1257. (d) Ravindar, K.; Reddy, M.S.; Lindqvist, L.; Pelletier, J.; Deslongchamps, P. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 1269.
6. (a) Rao, Ch. B.; Ramana, K. V.; Rao, D. V.; Fahy, E.; Faulkner, D. J. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 954. (b) González, N.; Barral, M. A.; Rodriguez, J.; Jiménez, C. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3487. (c) Sheu, J-H; Chao, C-H; Wang, G-H; Hung, K-C; Duh, C-Y; Chiang, M-Y; Wu, Y-C; Wud, C-C. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6413. (d) Chao, C-H; Huang, L-F; Yang, Y-L; Su, J-H; Wang, G-H; Chiang, M-Y; Wu, Y-C; Dai, C-F; Sheu, J-H. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 880.
7. (a) Kirk, D. N.; Toms, H. C.; Douglas, C.; White, K. A.; Smith, K. E.; Latif, S.; Hubbard, R. W. P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1990**, *9*, 1567. (b) Agrawal, P. K.; Bunsawansong, P.; Morris, G. A. *Magn. Reson. Chem.* **1997**, *35*, 441.
8. (a) Blunt, J. W.; Stothers, J. B. *Org. Magn. Resonance* **1977**, *9*, 439. (b) Agrawal, P. K.; Jain, D. C.; Gupta, R. K.; Thakur, R. S. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 2479. (c) Iglesias-Arteaga, M. A.; Pérez-Martínez, C. S.; Pérez-Gil, R.; Coll-Manchado, F. *J. Chem. Res. (S)* **1999**, 48. (d) Viñas-Bravo, O.; Hernández-Linares, G.; Mata-Esma, M. Y.; Martínez-Pascual, R.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Bernès, S.; Sandoval-Ramírez, J.; Iglesias-Arteaga, M. A. *ARKIVOC* **2003**, *xi*, 163. (e) Macias-Alonso, M.; Esturau-Escofet, N.; Flores-Alamo, M.; Iglesias-Arteaga, M. A.; Moreno-Esparza, R. *J. Chem Crystallogr.* **2011**, DOI 10.1007/s10870-011-0126-3.
9. (a) Cremer, D.; Pople, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1354–1358. (b) Farrugia, L. *J. Appl. Cryst.* **1997**, *30*, 565. (c) Macrae, C. F.; Bruno, I. J.; Chisholm, J. A.; Edgington, P. R.; McCabe, P.; Pidcock, E.; Rodriguez-Monge, L.; Taylor, R.; Van de Streek, J.; Wood, P. A. *J. Appl. Cryst.* **2008**, *41*, 466. (d) Spek, A. L. *Acta Cryst., Sect. A.* **1990**, *46*, C34. (e) Spek, A. L. **1998**, PLATON, A Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.
10. (a) CrysAlis CCD and CrysAlis Red, V. 171. 33. 31. Abingdon, England: *Oxford Diffraction* **2009**. (b) Giacovazzo, C.; Burla, M. C.; Caliandro, R.; Camalli, M.; Carrozzini, B.; Cascarano, G.L.; et al. SIR-2004 (v 1.0) a program for automatic solution and refinement of crystal structures. 2004. (c) Sheldrick G. M. *Acta. Cryst.* **2008**, *A64*, 112.



# Mechanistic insights on the reactivity of furospirostanes with the 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-acetoxymethyl-24-methyl side chain



Mariana Macías-Alonso, Marcos Flores-Álamo, Martín A. Iglesias-Arteaga\*

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 México, DF, Mexico

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 21 March 2013  
Received in revised form 16 April 2013  
Accepted 9 May 2013  
Available online 23 May 2013

### Keywords:

Furospirostanes  
Bromination  
Allylic substitution  
Elimination  
Bromodeacetylation

## ABSTRACT

F-ring opening in spirostanes with the 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-acetoxymethyl-24-methyl side chain produces a  $\Delta^{22}$ -intermediate with an allylic acetoxy group. For this reason the reactivity profile of these compounds deviates from that observed in other naturally occurring or synthetic spirostanes and furospirostanes

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

The spiroketal assemblies (see Fig. 1) are present in widespread compounds that can be isolated from many marine and terrestrial organisms: plants, fungi and insects among others. The vast number and the growing pharmacological importance of compounds containing spiroketal assemblies have triggered increasing interest in both their synthesis and studies of their chemical reactivity [1–5]. In addition to the spirostane sapogenins which bear the 1,6-dioxaspiro[4,5] decane moiety, furospirostanes, an emerging family of steroids bearing the 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy moiety in the chain, that are considered 1,6-dioxaspiro[4.4] nonane derivatives are attracting increasing attention.

The increasing number of naturally occurring bioactive steroids that bear the furospirostane side chain includes compounds that have shown interesting antitumor activity such as ritterazines (1), cephalostatins (2) [6–10], hippuristanols (3) [11–15], as well as the antihypertensive glycosides of nuatigenin (4) [16] among others (see Fig. 2).

Unlike spirostane sapogenins, the side-chain reactivity of which has received considerable attention in the past 70 years selected Ref. [17–37], the studies of the reactivity of the furospirostane side chain are rather scarce [38–42]. In particular, Fuchs and coworkers hypothesized that the cytotoxic activity of cephalostatins may be related to the possibility of the generation of oxacarbenium ions around C-22 [43–44]. This fact, added to the increasing

number of cytotoxic steroids bearing the furospirostane side chain that have been identified, prompts the exploration of the reactivity of this moiety.

As a part of our ongoing program directed to the synthesis of potentially bioactive spiroketals derived from rearranged steroid sapogenins, we envisaged the bromination at C-23 of our previously described furospirostane sapogenin **235-5** [45] as a possible route to the introduction of additional functionality in the F ring (see Scheme 1).

In the course of the bromination experiments employing pyridine hydrobromide perbromide (PyrBr<sub>2</sub>·HBr) we found that, in addition to the desired bromination at C-23, an unexpected substitution of the C-23' acetoxy moiety also took place. This led us to explore the particular reactivity of this structural fragment. Herein we describe our findings on the reactivity of the 16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-acetoxymethyl-24-methyl side chain.

## 2. Experimental

Reactions were monitored by TLC on ALUGRAM® SIL G/UV254 plates from MACHERY–NAGEL. Chromatographic plates were sprayed with a 1% solution of vanillin in 50% HClO<sub>4</sub> and heated until color developed. Purifications and separations were performed in pressurized chromatographic columns packed with MACHERY–NAGEL silica gel 60 (230–400 mesh ASTM). Melting points were measured on a Melt-Temp II apparatus. Mass spectra were registered in a Thermo-Electron spectrometer model DFS (Double Focus Sector). NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> solution in a Varian INOVA 400 spectrometer using the solvent signal

\* Corresponding author. Tel./fax: +52 55 56223803.

E-mail address: [martin.iglesias@unam.mx](mailto:martin.iglesias@unam.mx) (M.A. Iglesias-Arteaga).

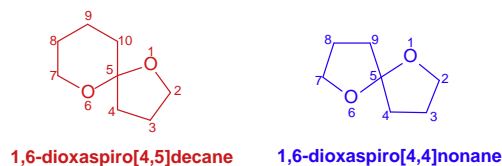


Fig. 1. Common dioxaspiro ketal moieties.

7.26 ppm for  $^1\text{H}$  and 77.00 ppm for  $^{13}\text{C}$  as references. NMR signals assignments were made with the aid of DEPT and a combination of 2D homonuclear ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) and heteronuclear ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) correlation techniques, which included  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY), and Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC) [46]. All 2D NMR spectra were recorded using the standard pulse sequences and parameters recommended by the manufacturer.

### 3. Bromination of **23S-5** with $\text{PyH}^+\text{Br}_3^-$

$\text{PyH}^+\text{Br}_3^-$  (1.28 g, 3.6 mmol) was added to a solution of **23S-5** (518 mg, 1.0 mmol) [45] in acetic acid (25 mL). The mixture was stirred for 1 h at 50 °C and poured into ice/water. The produced solid was filtered off washed with water and dissolved in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The organic solution was dried (anh.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) and evaporated to

produce a mixture of **23R-6**, **23S-6**, **23R-7** and **23S-7** that were separated in a pressurized chromatographic column packed with silica gel (18.5 g) using hexane/ethyl acetate 15:1 as eluent. Order of elution **23R-7**, **23S-7**, **23S-6**, **23R-6**.

(22S,23R,24S)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-bromo-23-hydroxy-methyl-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol diacetate (**23R-6**). Yield 391.7 mg (0.658 mmol, 65.8%). Mp. 262–264 °C (from ethyl acetate/hexane).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.44 (ddd,  $J$  = 8.6, 7.6, 6.1 Hz, 1H, H-16), 4.35 (d,  $J$  = 11.8 Hz, 1H, H-23'a), 4.23 (d,  $J$  = 11.8 Hz, 1H, H-23'b), 4.06 (dd,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, H-25 Pro-S), 3.55 (dd,  $J$  = 8.2, 7.1 Hz, 1H, H-25 Pro-R), 2.44 (dq,  $J$  = 6.7, 6.7 Hz, 1H, H-20), 2.29 (m, 1H, H-24), 2.11 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-23}'$ ), 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$ ), 1.18 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, H-24'), 1.02 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.88 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 40.1, C-13 41.6, C-14 56.2, C-15 31.7, C-16 81.0, C-17 63.3, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 35.5, C-21 16.3, C-22 117.4, C-23 73.4, C-23' 69.2, C-24 38.1, C-24' 19.0, C-25 70.7,  $\text{CH}_3\text{COO-23}'$  170.5,  $\text{CH}_3\text{COO-23}$  20.8,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  21.4. MS (EI) 515 [ $\text{M}^+ - \text{Br}$ ], 454, 426, 394, 366, 344, 329, 284, 269, 255, 215, 161, 147, 137 (100%). HRMS (EI) observed 515.3379 [ $\text{M}^+ - \text{Br}$ ]; required for  $\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{O}_6$  515.3372.

(22S,23S,24S)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-bromo-23-hydroxy-methyl-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol diacetate (**23S-6**). Yield 53.4 mg, (0.09 mmol, 9.0%). Mp. 266–267 °C (from

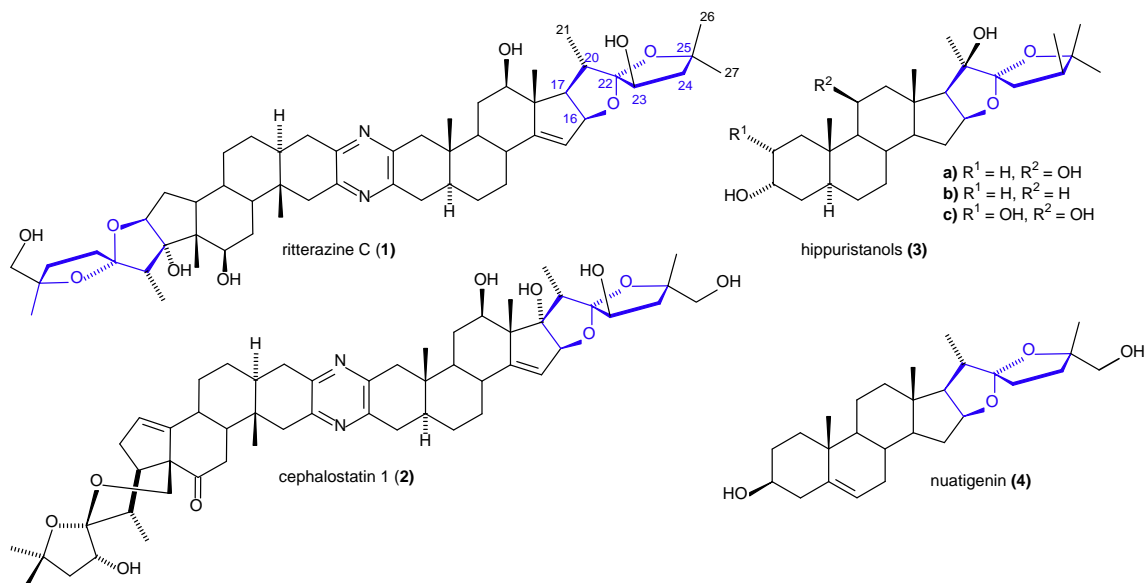
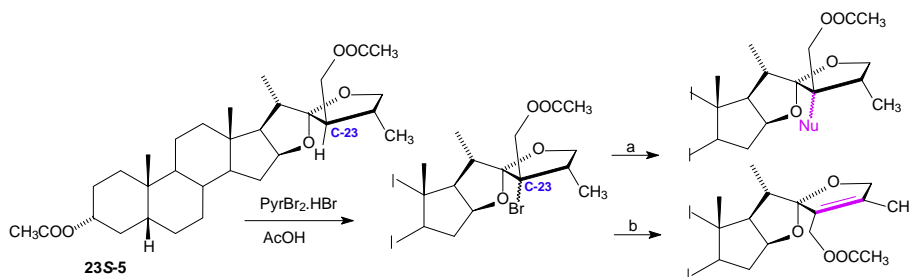


Fig. 2. Some naturally occurring furospirostanes.



a) Nucleophilic substitution; b) elimination

Scheme 1. Functionalization of the furospirostane side chain.

ethyl acetate/hexane).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.47 (m, 1H, H-16), 4.47 (s, 2H, H-23'), 4.31 (dd,  $J = 7.9$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.57 (dd,  $J = 8.2, 3.9$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.89 (m, 1H, H-24), 2.52 (m, 1H, H-20), 2.13 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}-23'$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}-3$ ), 1.26 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 1.16 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H, H-24'), 0.93 (s, 3H, H-19), 0.81 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.5, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.4, C-12 39.7, C-13 41.3, C-14 56.3, C-15 31.9, C-16 81.6, C-17 63.9, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 39.4, C-21 18.2, C-22 119.1, C-23 73.8, C-23' 65.9, C-24 46.5, C-24' 16.7, C-25 72.6,  $\text{CH}_3\text{COO}-3$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO}-23'$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO}-3$  21.5,  $\text{CH}_3\text{COO}-23'$  21.0. MS (EI) [ $\text{M}^+ - \text{Br}$ ], 454, 426, 329, 315, 284, 269, 255, 215, 159, 147, 137 (100%). HRMS (EI) observed 515.3377 [ $\text{M}^+ - \text{Br}$ ]; required for  $\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{O}_6$  515.3372.

Crystals of **23R-6** and **23S-6** mounted on glass fiber were studied with Oxford Diffraction Gemini "A" diffractometer with a CCD area detector ( $\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 1.54184$  Å, monochromator: graphite) source equipped with a sealed tube X-ray source. Unit cell constants were determined with a set of 15/3 narrow frame/runs ( $1^\circ$  in  $\omega$ ) scans. Data sets consisted of 1154 and 684 frames of intensity data collected with a frame width of  $1^\circ$  in  $\omega$  for **23R-6** and **23S-6** respectively with a crystal-to-detector distance of 55.00 mm. The double pass method of scanning was used to exclude any noise. The collected frames were integrated by using an orientation matrix determined from the narrow frame scans. CrysalisPro and Crysalis RED software packages [47] were used for data collection and data integration. Structure solution and refinement were carried out with the programs SHELXS97 and SHELXL97 [48]. For molecular graphics, ORTEP-3 for Windows was employed, and the software used to prepare material for publication was WinGX [49].

Full-matrix least-squares refinement was carried out by minimizing  $(\text{Fo}^2 - \text{Fc}^2)^2$ . All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. H atoms attached to C atoms were placed in geometrically idealized positions and refined as riding on their parent atoms, with C–H = 0.96–0.99 Å with  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2 U_{\text{eq}}(\text{C})$  for methine and methylene groups, and  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.5 U_{\text{eq}}(\text{C})$  for methyl

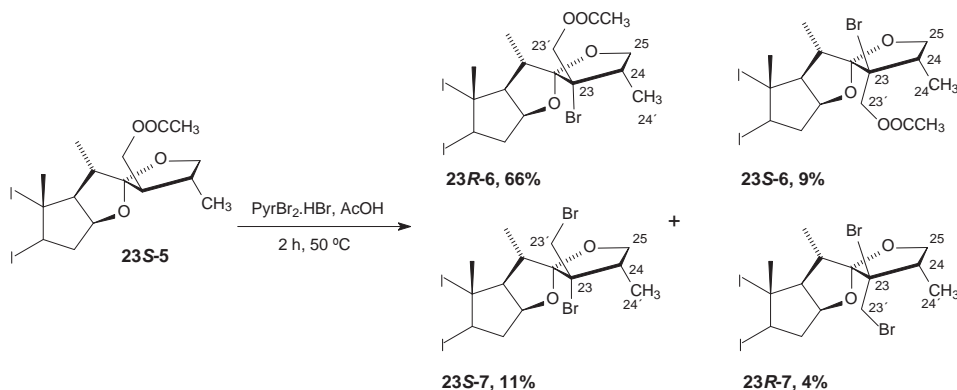
group. Crystal data and experimental details of the structure determination are listed in Table 1 [50].

(22S,23R,24S)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-bromo-23-bromo-methyl-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol acetate (**23R-7**). Yield 24.3 mg, (0.039 mmol, 3.9%). Yellow oil.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.48 (ddd,  $J = 7.8, 7.8, 5.1$  Hz, 1H, H-16), 4.36 (dd,  $J = 8.1, 7.1$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 4.03 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H, 23'a), 3.70 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H, 23'b), 3.66 (dd,  $J = 8.2, 2.4$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.80 (qdd,  $J = 7.2, 7.2, 2.3$  Hz, 1H, H-24), 2.42 (m, 1H, H-20), 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}-$ ), 1.28 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H, H-24'), 1.27 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.77 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.2, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.5, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.4, C-12 39.6, C-13 41.5, C-14 56.3, C-15 32.0, C-16 81.6, C-17 63.8, C-18 16.3, C-19 23.3, C-20 39.4, C-21 18.7, C-22 119.3, C-23 77.3, C-23' 38.1, C-24 46.6, C-24' 17.0, C-25 73.2,  $\text{CH}_3\text{COO}-3$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO}-3$  21.4. MS (EI) 535 [ $^{79}\text{Br}_2\text{M}^+ - ^{79}\text{Br}$ ], 456, 426, 344, 329, 284, 269, 255, 227, 215, 175, 149, 137 (100%). HRMS (EI) observed 535.2415 [ $^{79}\text{Br}_2\text{M}^+ - ^{79}\text{Br}$ ] required for  $\text{C}_{29}\text{H}_{44}^{79}\text{BrO}_4$  535.2423.

(22S,23S,24S)-16 $\beta$ ,22:22,25-diepoxy-23-bromo-23-bromo-methyl-24-methyl-26,27-dinor-5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol acetate (**23S-7**) yield 66.0 mg, (0.107 mmol, 10.7%). Yellow oil.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.72 (m, 1H, H-3), 4.44 (m, 1H, H-16), 4.08 (dd,  $J = 8.2, 8.2$  Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.88 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H, H-23'a), 3.75 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H, H-23'b), 3.54 (dd,  $J = 8.2, 6.8$  Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.53 (m, 1H, H-24), 2.47 (m, 1H, H-20), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 1.18 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H, H-21), 1.06 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-24'), 0.95 (s, 1H, H-19), 0.92 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.5, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.5, C-12 40.1, C-13 41.7, C-14 56.2, C-15 31.7, C-16 81.1, C-17 63.5, C-18 16.42, C-19 23.3, C-20 35.4, C-21 16.8, C-22 117.5, C-23 75.6, C-23' 43.9, C-24 39.5, C-24' 19.7, C-25 70.4,  $\text{CH}_3\text{COO}-3$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO}-3$  21.5. MS (EI) 535 [ $^{79}\text{Br}_2\text{M}^+ - ^{79}\text{Br}$ ], 456, 426, 344, 329, 315, 269, 255, 159, 149, 137 (100%). HRMS (EI) observed 535.2413 [ $^{79}\text{Br}_2\text{M}^+ - ^{79}\text{Br}$ ] required for  $\text{C}_{29}\text{H}_{44}^{79}\text{BrO}_4$  535.2423.

**Table 1**  
Crystal data and structure refinement for **23R-6** and **23S-6**.

	<b>23R-6</b>	<b>23S-6</b>
Empirical formula	$\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{BrO}_6$	$\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{BrO}_6$
Formula weight	595.60	595.60
Temperature (K)	298(2) K	298(2) K
Wavelength (Å)	1.54184	1.54184 Å
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic
Space group	P21	P21
Unit cell dimensions (Å)	$a = 11.0378(4)$ $b = 7.8265(3)$ $c = 17.8645(6)$ $\beta = 104.658(4)$	$a = 13.2911(4)$ $b = 7.7902(2)$ $c = 14.5238(3)$ $\beta = 98.487(2)$
Volume (Å <sup>3</sup> )	1493.04(9)	1487.33(7)
Z	2	2
Crystal size (mm <sup>3</sup> )	$0.2171 \times 0.1503 \times 0.0478$	$0.4685 \times 0.257 \times 0.0418$
Density (calculated) (Mg/m <sup>3</sup> )	1.325	1.330
Absorption coefficient (mm <sup>-1</sup> )	2.202	2.211
F(000)	632	632
Theta range for data collection	$4.14^\circ - 68.11^\circ$	$4.21^\circ - 68.07^\circ$
Index ranges	$-11 \leq h \leq 13, -8 \leq k \leq 9, -20 \leq l \leq 21$	$-10 \leq h \leq 15, -7 \leq k \leq 9, -17 \leq l \leq 17$
Reflections collected	10014	5346
Independent reflections	4696 [ $R(\text{int}) = 0.0451$ ]	3737 [ $R(\text{int}) = 0.0220$ ]
Completeness to theta = 66.50°	100.0%	94.6%
Refinement method	Full-matrix least-squares on $F^2$	Full-matrix least-squares on $F^2$
Data/restraints/parameters	4696/1/349	3737/1/349
Goodness-of-fit on $F^2$	0.964	1.103
Final R indices [ $I > 2\sigma(I)$ ]	$R1 = 0.0405, wR2 = 0.0939$	$R1 = 0.0369, wR2 = 0.0870$
R indices (all data)	$R1 = 0.0551, wR2 = 0.1004$	$R1 = 0.0455, wR2 = 0.0919$
Largest diff. peak and hole	0.299 and $-0.255 \text{ e} \cdot \text{Å}^{-3}$	0.485 and $-0.453 \text{ e} \cdot \text{Å}^{-3}$



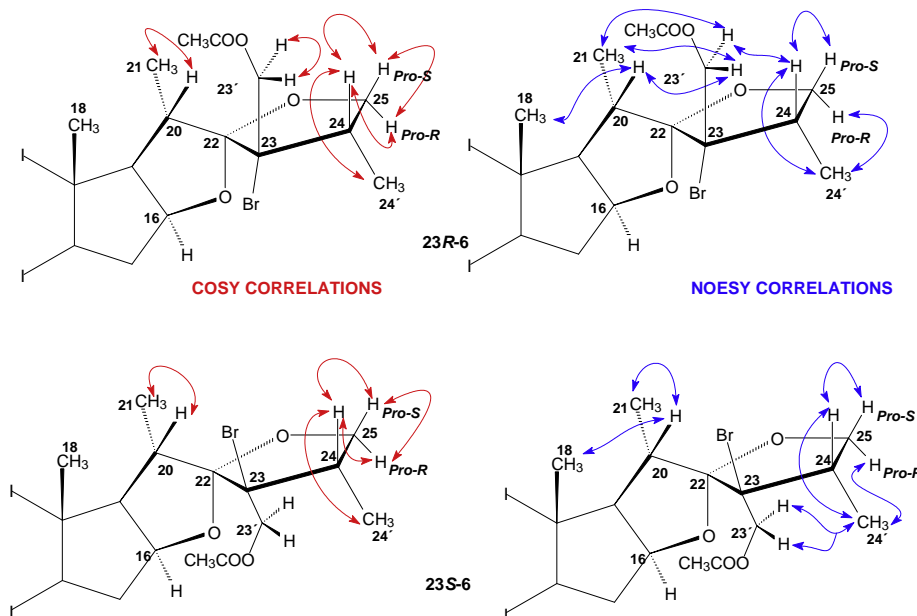
#### 4. Reaction of **23S-5** with HBr in acetic acid

The diacetate **23S-5** (258.4 mg, 0.5 mmol) was added to a 33 wt.% solution of HBr in acetic acid (5 mL, 27.2 mmol of HBr). The mixture was stirred for 45 min., poured into ice/water and extracted with ethyl acetate (40 mL). The organic layer was washed with 5% aqueous Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4 × 25 mL) and water (2 × 25 mL), dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to produce a mixture of **23R-8** and **23S-8** that were separated in pressurized chromatographic column packed with silica gel (12 g) using hexane/ethyl acetate 40:1 as eluent. Order of elution **23S-8**, **23R-8**.

(2*S*, 23*R*, 24*R*)-16β,22:22,25-diepoxy-23'-bromo-24-methyl-26,27-dinor-5β-cholestan-3α-ol acetate (**23R-8**) yield 41.5 mg, (0.077 mmol, 15.4%). Yellow oil. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.72 (m, 1H, H-3), 4.41 (ddd, *J* = 8.5, 7.6, 6.0 Hz, 1H, H-16), 3.97 (dd, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.57 (dd, *J* = 10.1, 6.4 Hz, 1H, H-23'a), 3.43 (dd, *J* = 9.2, 8.3 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.34 (dd, *J* = 10.1, 8.3 Hz, 1H, H-23'b), 2.36 (m, *J* = 13.4, 6.8 Hz, 1H, H-20), 2.27 (m, 1H, H-23), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.13 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, H-24'), 1.00 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.95 (s, 3H, H-19), 0.82 (s, 3H, H-18). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.5, C-8 35.4,

C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.1, C-13 41.2, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.0, C-17 62.9, C-18 16.6, C-19 23.3, C-20 36.1, C-21 16.2, C-22 119.5, C-23 55.7, C-23' 33.5, C-24 39.9, C-24' 17.2, C-25 71.4, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5. MS (FAB) MH<sup>+</sup> 539, MH<sup>+</sup> 537, 459, 457, 255, 147, 133, 91, 83, 73, 57 (100%). HRMS (FAB) *observed* 537.2500 [MH<sup>+</sup>] *required* for C<sub>29</sub>H<sub>46</sub><sup>79</sup>BrO<sub>4</sub> 537.2579.

(2*S*, 23*S*, 24*R*)-16β,22:22,25-diepoxy-23'-bromo-24-methyl-26,27-dinor-5β-cholestan-3α-ol acetate (**23S-8**) yield 40.6 mg, (0.076 mmol, 15.2%). Yellow oil. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.71 (m, 1H, H-3), 4.44 (m, 1H, H-16), 3.95 (dd, *J* = 8.3, 6.4 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.63 (dd, *J* = 8.3, 2.7 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 3.44 (m, 2H, H-23'), 2.47 (m, 1H, H-24), 2.47 (m, 1H, H-23), 2.14 (m, 1H, H-20), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.13 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, H-24'), 0.97 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.75 (s, 3H, H-18). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.3, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.1, C-13 41.0, C-14 56.1, C-15 31.8, C-16 81.7, C-17 61.1, C-18 16.6, C-19 23.3, C-20 38.2, C-21 14.4, C-22 118.3, C-23 48.9, C-23' 29.2, C-24 34.0, C-24' 14.3, C-25 73.9, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-3 21.5. MS (FAB) MH<sup>+</sup> 539, MH<sup>+</sup> 537, 457, 455, 397, 315, 255, 147, 133, 107, 95, 91, 69, 57, 55 (100%).





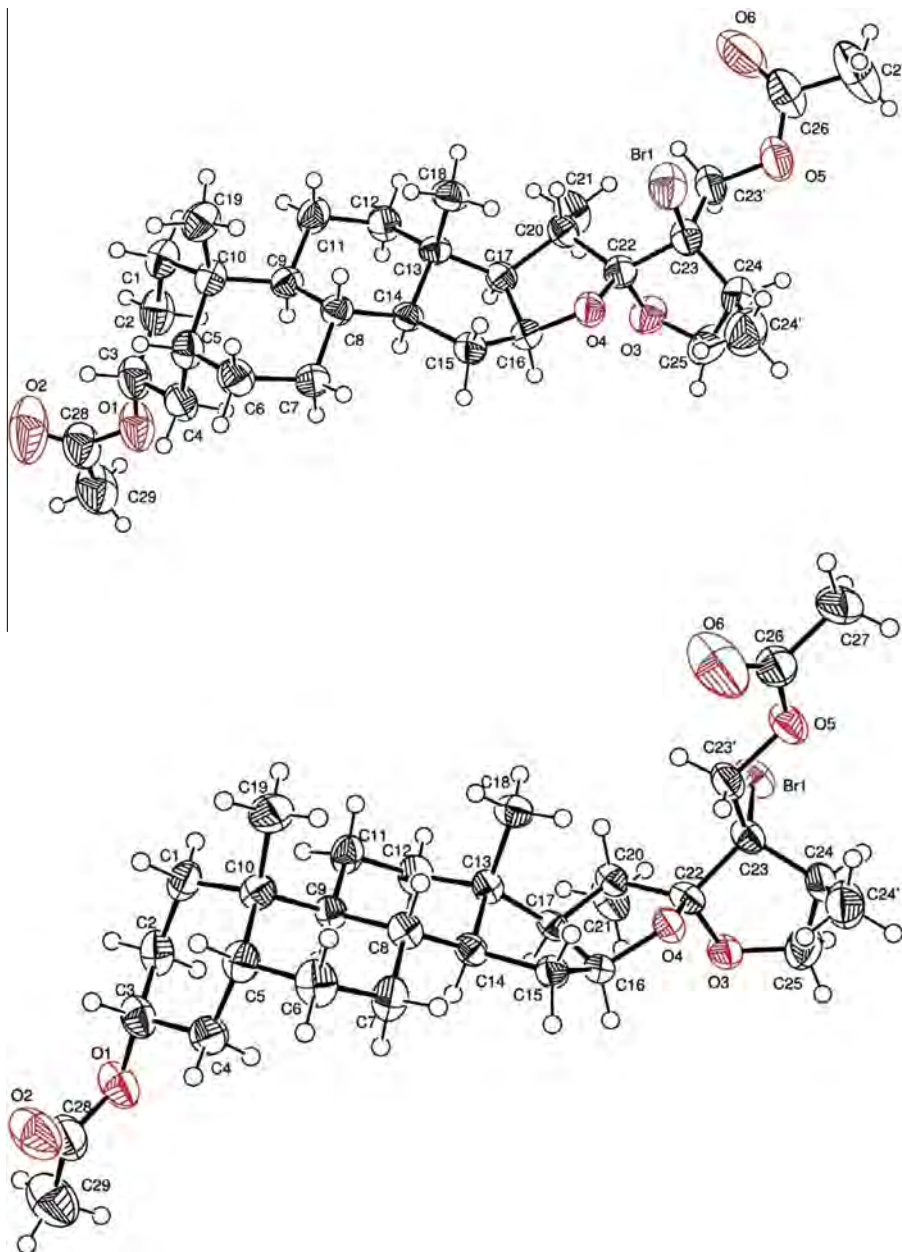


Fig. 4. Crystal structures of **23R-6** (upper) and **23S-6** (lower) with the thermal ellipsoids drawn at 50% of probability.

HRMS (FAB) observed 537.2495 [MH<sup>+</sup>] required for C<sub>29</sub>H<sub>46</sub><sup>79</sup>BrO<sub>4</sub> 537.2579.

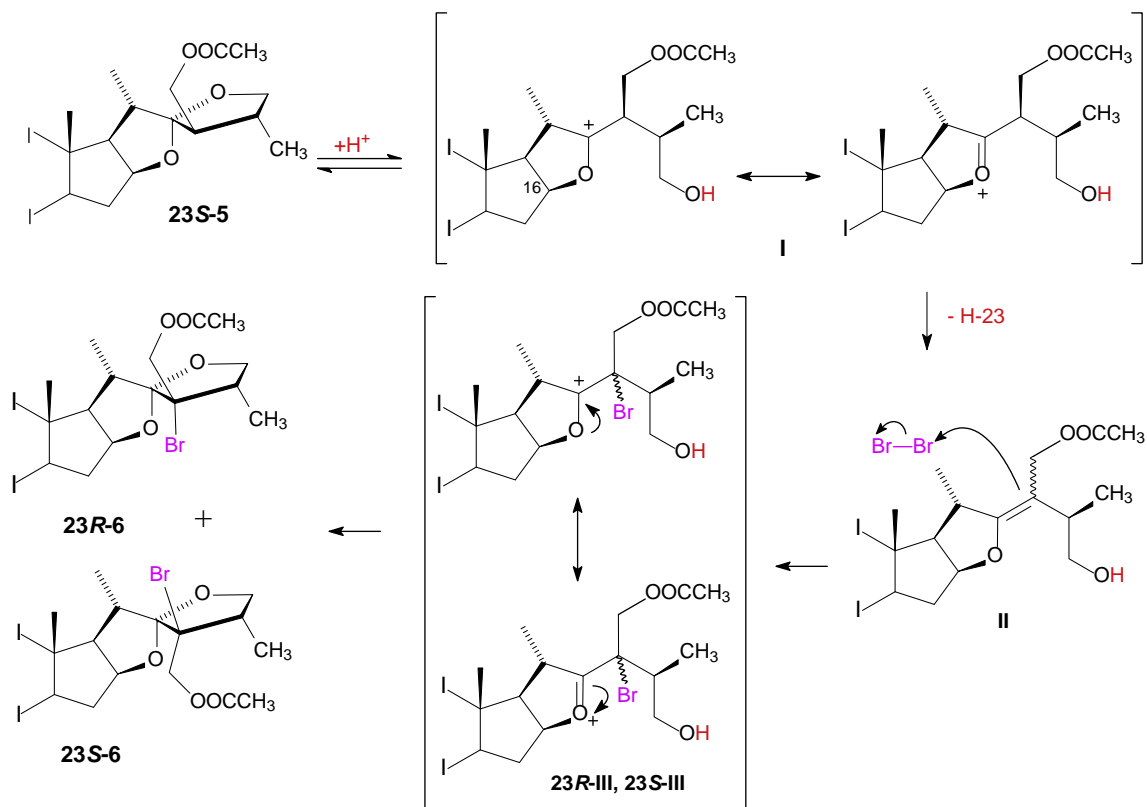
##### 5. Reaction of **23S-5** with acetic acid and BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O

BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (1.5 mL, 12.2 mmol) was added to a solution of **23S-5** (518 mg, 1.0 mmol) in acetic acid and the mixture was stirred for 5 h before slow addition of 10% aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution (20 mL) and extraction with ethyl acetate (25 mL). The organic layer was washed with 10% aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution (8 × 20 mL) water (3 × 20 mL), dried (anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to afford a mixture of the starting material, **23S-5**, the epimeric **23R-5**, and olefin **9** that were separated in pressurized chromatographic column packed with silica gel (15 g) using hexane/ethyl acetate 97:3 as eluent. Order of elution **9**, **23R-5**, **23S-5**.

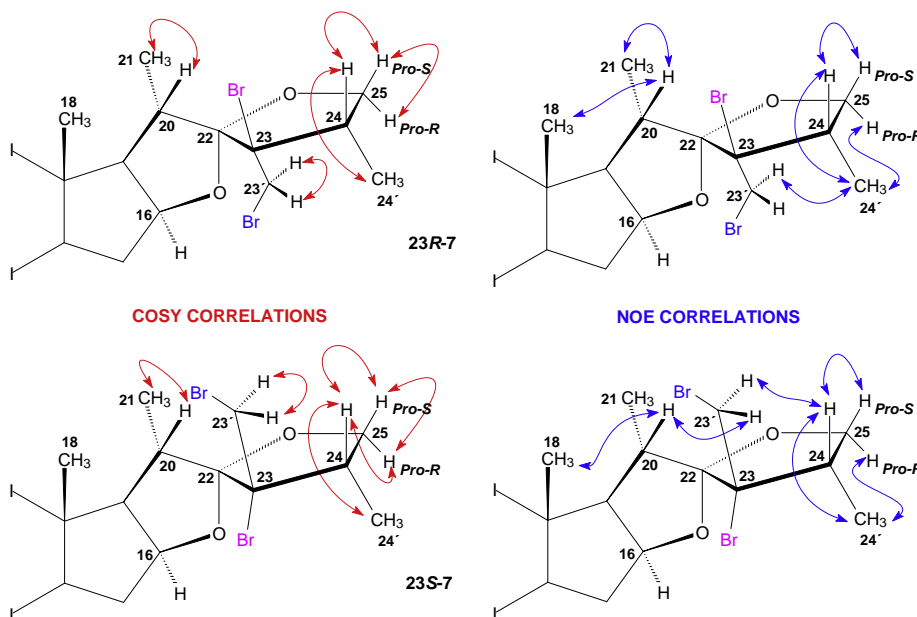
(22S, 23R, 24R)-16β,22:22,25-diepoxy-23-hydroxymethyl-24-methyl-26,27-dinor-5β-choles-tan-3α-ol diacetate (**23R-5**). Yield

86.1 mg, (0.167 mmol, 16.7%). Yellow oil. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 4.72 (m, 1H, H-3), 4.45 (m, 1H, H-16), 4.18 (d, J = 6.5 Hz, 2H, H-23'), 3.95 (dd, J = 8.2, 6.7 Hz, 1H, H-25 Pro-S), 3.56 (dd, J = 8.3, 3.6 Hz, 1H, H-25 Pro-R), 2.38 (m, 1H, H-23), 2.38 (m, 1H, H-24), 2.23 (dq, J = 6.9, 6.9 Hz, 1H, H-20), 2.04 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-23'), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO-3), 1.05 (d, J = 6.7 Hz, 3H, H-24'), 0.97 (d, J = 6.9 Hz, 3H, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 0.76 (s, 3H, H-18). <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.2, C-13 40.9, C-14 56.2, C-15 31.8, C-16 81.6, C-17 61.2, C-18 16.6, C-19 23.3, C-20 38.2, C-21 14.4, C-22 118.4, C-23 44.1, C-23' 61.5, C-24 33.6, C-24' 14.7, C-25 73.9, CH<sub>3</sub>COO-3 170.6, CH<sub>3</sub>COO-23' 171.0, CH<sub>3</sub>COO-23' 21.0. MS (FAB) 457 [M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>COO], 455, 397, 327, 281, 255, 207, 193, 147, 136, 91, 73 (100%). HRMS (FAB) observed 457.3319 [M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>COO] required for C<sub>29</sub>H<sub>45</sub>O<sub>4</sub> 457.3318.

(22S, 24R)-16β,22:22,25-diepoxy-23-methyliden-24-methyl-26,27-dinor-5β-choles-tan-3β-ol diacetate (**9**) yield 30.2 mg,



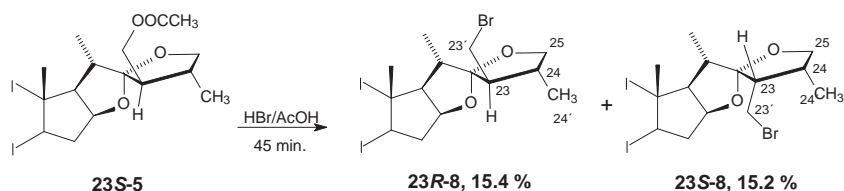
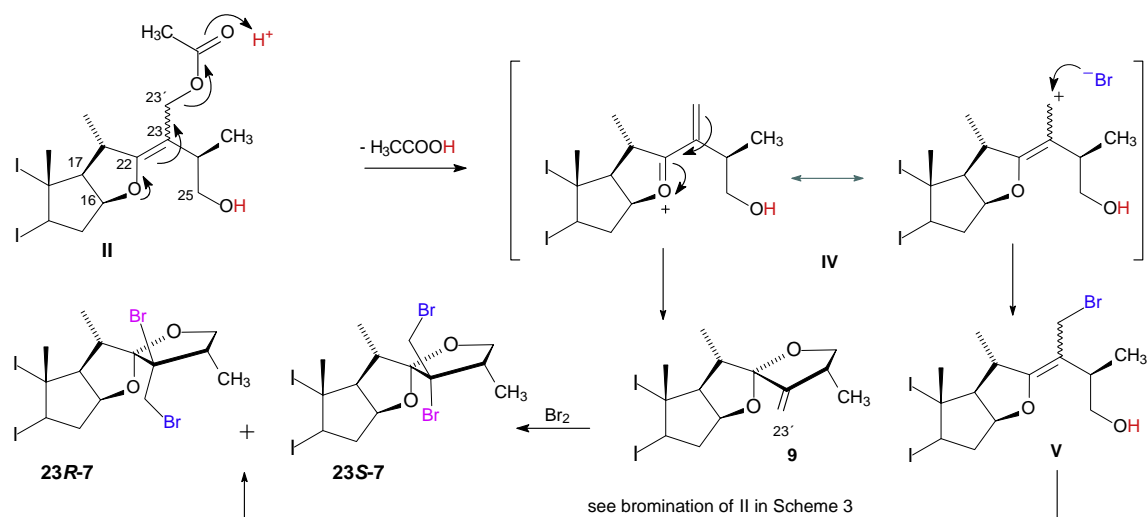
**Scheme 3.** Reaction mechanism for the bromination at C-23.



**Fig. 5.** Selected COSY and NOE correlations in the side chains of compounds **23R-7** (upper) and **23S-7** (lower).

(0.066 mmol, 6.6%). Yellow oil.  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 5.26 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H, H-23'a), 5.05 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H, H-23'b), 4.71 (m, 1H, H-3), 4.49 (m, 1H, H-16), 4.03 (dd,  $J = 7.9$ , 7.9 Hz, 1H, H-25 *Pro-S*), 3.42 (dd,  $J = 10.3$ , 8.0 Hz, 1H, H-25 *Pro-R*), 2.67 (m, 1H, H-24), 2.30 (dq,  $J = 7.0$ , 7.0 Hz, 1H, H-20), 2.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{-COO-3}$ ), 1.11 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H, H-24'), 0.95 (s, 3H, H-19), 0.93 (d,

$J = 6.9$  Hz, 3H, H-21), 0.87 (s, 3H, H-18).  $^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): C-1 35.0, C-2 26.6, C-3 74.3, C-4 32.2, C-5 41.8, C-6 26.9, C-7 26.6, C-8 35.4, C-9 40.5, C-10 34.7, C-11 20.6, C-12 40.2, C-13 41.1, C-14 56.4, C-15 31.9, C-16 82.4, C-17 61.6, C-18 16.4, C-19 23.3, C-20 41.1, C-21 14.6, C-22 118.3, C-23 153.9, C-23' 107.1, C-24 38.3, C-24' 14.7, C-25 72.1,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$  170.6,  $\text{CH}_3\text{COO-3}$



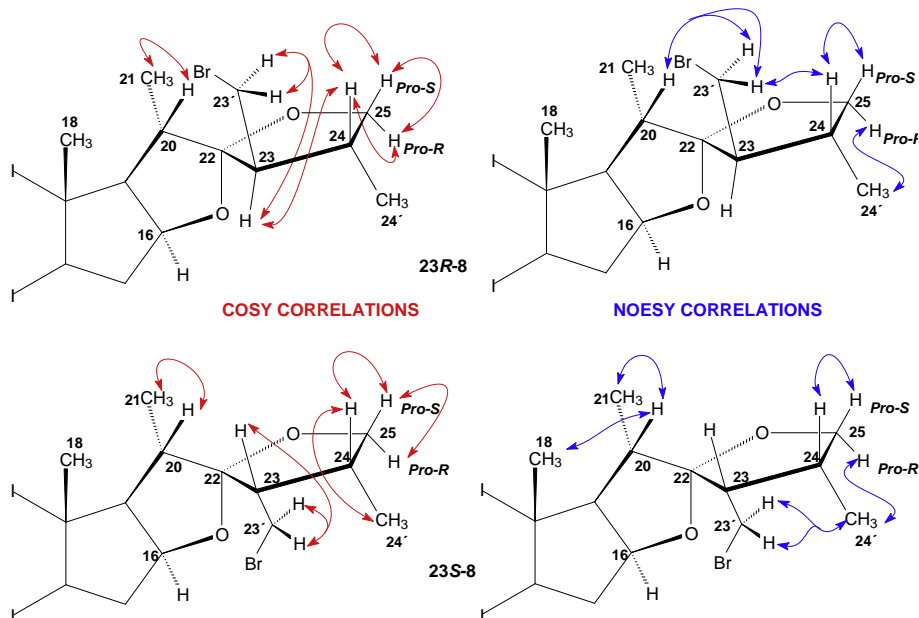
21.4. MS (EI) 457 [MH<sup>+</sup>], 456, 426, 396, 366, 329, 315, 284, 269, 255, 215, 161, 149, 137 (100%). HRMS (EI) observed 456.3250 [M<sup>+</sup>] required for C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub> 456.3240.

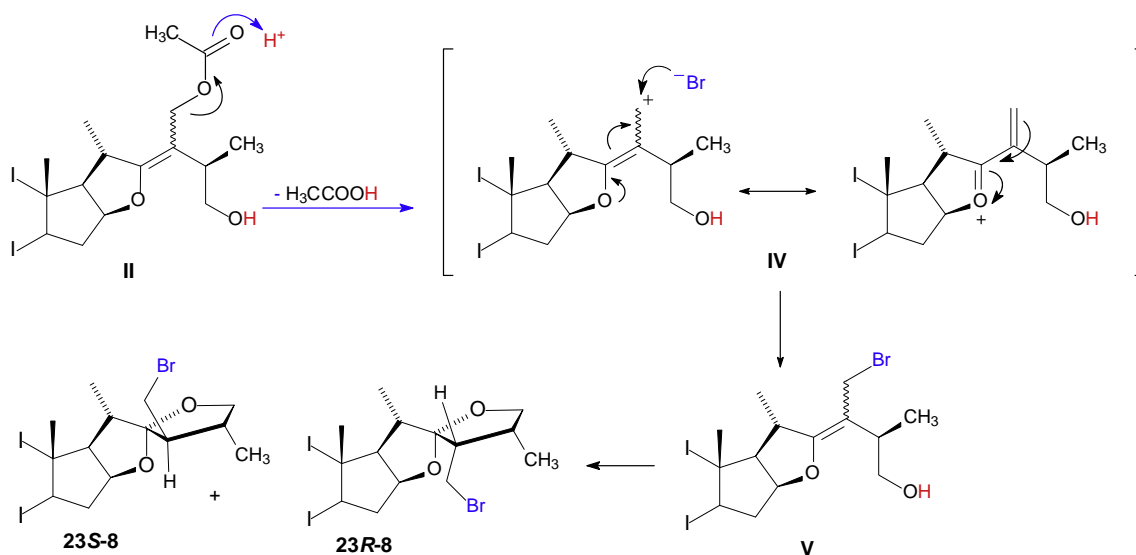
## 6. Results and discussion

Treatment of the diacetate **23S-5** with PyrBr<sub>2</sub>·HBr in acetic acid afforded the epimeric 23-brominated furospirostanes **23R-6** and

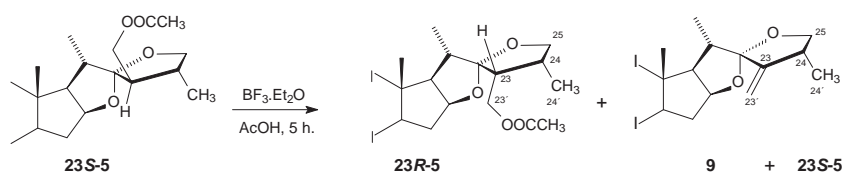
**23S-6** together with the unexpected dibrominated compounds **23R-7** and **23S-7** (see Scheme 2).

Although the MS of compound **23R-6** does not show a molecular ion that shows the presence of a bromine, the occurrence of a fragment in *m/z* 515 may be interpreted as the product of the loss of Br from the molecular ion (M<sup>+</sup>–Br or more likely MH<sup>+</sup>–HBr). The signals of C-16, C-22 and C-26 in <sup>13</sup>C spectrum of compound **23R-6** evidence the integrity of the 16,22:22,25 diepoxy moiety, while the





**Scheme 6.** Possible reaction mechanism of the substitution of the C-23'-acetoxy moiety.



**Scheme 7.**  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ -catalyzed reaction of **23S-5** in acetic acid.

downfield shift of the signal of C-23 suggests the substitution of H-23 by a more electronegative atom that, according the reaction conditions, must be no other than a bromine atom. In addition, the substitution of H-23 is evidenced by the disappearance of its NMR signal and the conversion of the H-23' signals from an AB-X system into a doublet, product of the H-23'a ↔ H-23'b geminal coupling, ( $J = 11.8$  Hz). The observed COSY and NOE correlations also corroborate the proposed structure (see Fig. 3). In particular, the NOE correlations of each H-23' with H-20 and H-24 in the respective  $\beta$ -side of rings E and F prove their spatial proximity only possible if the acetoxy methyl moiety that bears the H-23' diastereotopic pair is placed in the  $\beta$ -side that results on the *R* configuration at C-23. Similar conclusions can be drawn from the MS and NMR spectra of compound **23S-6**; the observed NOE correlation between the H-24' methyl group in the  $\alpha$ -side of F-ring and the H-23' diastereotopic pair, indicates the  $\alpha$ -orientation of the exocyclic acetoxy-methyl moiety and consequently the *S*-configuration at C-23 (see Fig. 3).

X-ray studies on monocrystals of both diastereomers **23R-6** and **23S-6** corroborated the proposed structures and configuration at C-23 (see Fig. 4).

The occurrence of the diastereomeric compounds **23R-6** and **23S-6** can be justified by the acid catalyzed F-ring opening in compound **23S-5** that leads to the intermediate **I**. Bromination at C-23 leads to the mixture of the diastereomeric intermediates **23R-III** and **23S-III** that on F ring closure produce the observed mixture of **23R-6** and **23S-6** (see Scheme 3).

As described for **23R-6** and **23S-6**, in the case of the dibrominated compounds **23R-7** and **23S-7**, the absence of the signal corresponding to H-23 and the doublet multiplicity of the diastereotopic protons at C-23' suggest the presence of the bromine

atom at C-23. The occurrence of monobrominated fragments in  $m/z$  535 and 537 may be interpreted as the product of the loss of Br from the molecular ions ( $M^+ - \text{Br}$  or more likely  $MH^+ - \text{HBr}$ ) of the dibrominated compounds. Additionally the change on the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals associated to the exocyclic methylene C-23' (compared to those of the starting material **23R-5** and the monobrominated compounds **23R-6** and **23S-6**) and well as the disappearance of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals associated to the acetoxy moiety formerly attached to C-23, evidence the presence of a different atom at C-23 that, according to the reaction conditions, must be no other than a bromine.

NOESY and COSY correlations observed in compounds **23R-7** and **23S-7** corroborated the integrity of the side chain as well as the configuration at C-23. In particular, for compound **23R-7** the observed between H-23' ↔ H-24' NOESY correlation indicates the  $\alpha$ -orientation of the C-23' exocyclic methylene and, as a consequence, the *R*-configuration at C-23. On the other hand, the observed H-23' ↔ H-20 and H-23' ↔ H-24 NOESY correlations indicate the  $\beta$ -orientation of the C-23' exocyclic methylene in compound **23S-7** and consequently its *S*-configuration at C-23 (see Fig. 5).

The unexpected occurrence of the dibrominated compounds **23S-7** and **23R-7** can be rationalized as follows. Elimination of the allylic acetate in the intermediate **II** may lead to the intermediate **IV** that undergoes F ring closure to produce the alkene **9** that on bromination leads to the observed dibrominated compounds. In addition, attack of the bromide anion to an allylic carbocation at C-23 may lead to the intermediate **V** that undergoes bromination at C-23 and F-ring closure as described above (see Scheme 4).

To gain a more detailed view on the proposed mechanisms, the possibility of the acid substitution of the acetoxy moiety at

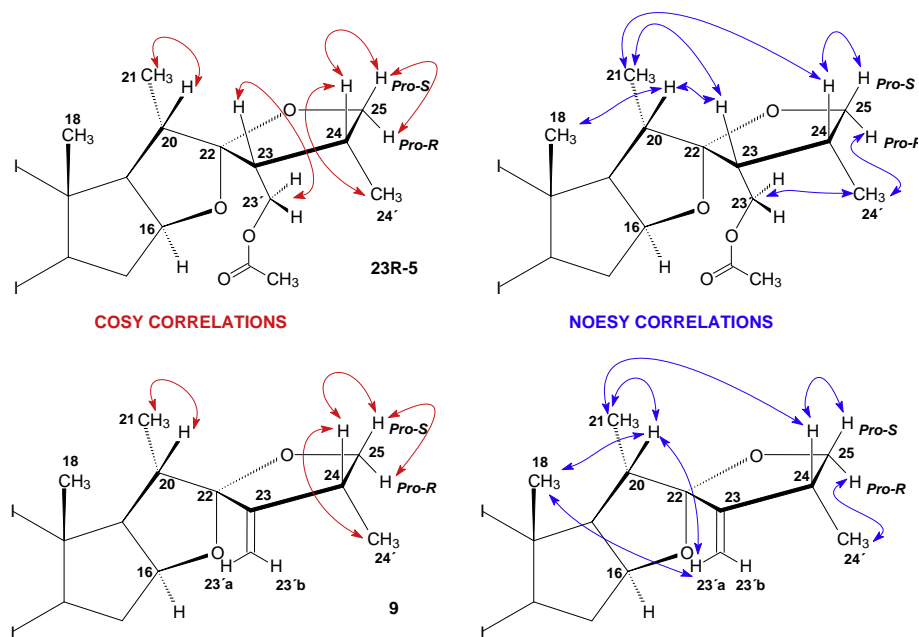
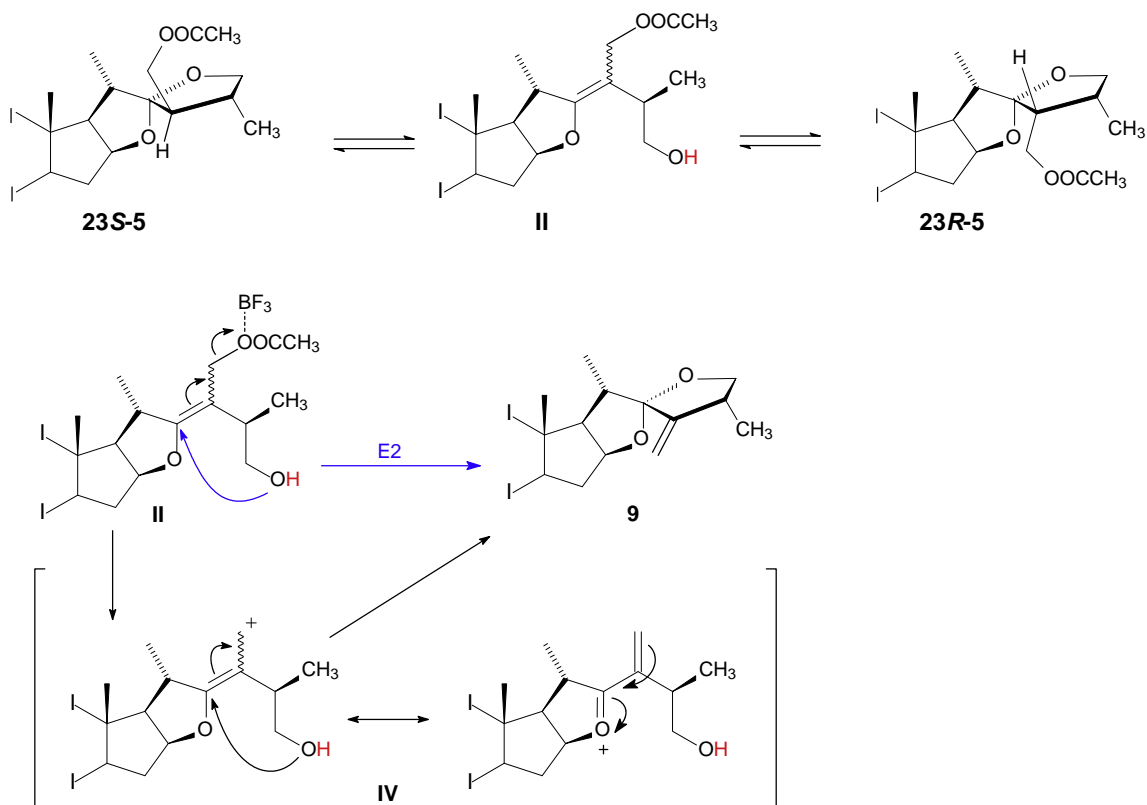


Fig. 7. Selected COSY and NOESY correlations in compounds **23S-6** and **9**.



Scheme 8. Possible mechanism for C-23 epimerization and elimination reactions.

C-23' was explored. Treatment of **23S-5** with HBr in acetic acid produced complex mixture from which the C-23' brominated compounds **23S-8** and **23R-8** were isolated in low yields (see Scheme 5).

The Mass spectra of both 23'-brominated compounds are characterized by the presence of molecular ions ( $MH^+$ ,  $m/z$  539 and 537) that indicate the incorporation of a bromine atom. Disappear-

ance of the  $^1H$  and  $^{13}C$  signals corresponding to the acetoxy moiety formerly attached to C-23' indicates the presence of a bromine atom at this position. As in the preceding compounds, the integrity of the spiroketal moiety and the configuration at C-23 in compounds **23R-8** and **23S-8** can be verified by the presence of the  $^1H$  and  $^{13}C$  signals as well as the observation of the COSY and NOESY correlations (see Fig. 6).

The occurrence of the C-23' brominated compounds **23R-8** and **23S-8** evidences the substitution of the acetoxy group attached to C-23'. Acid catalyzed dissociation of **II** leads to the allylic cation **IV** that on reaction with the bromine anion produces **V**. F-ring closure in **V** leads to the observed substitution products **23R-8** and **23S-8**. The observed substitution process strongly suggests the existence of the intermediates **II**, **IV** and **V** in this and the above described reactions (see Scheme 6).

Finally, when **23S-5** was treated with  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in acetic acid to explore the acid-catalyzed inversion at C-23, a mixture of the starting material **23S-5**, its C-23 epimer **23R-5** and the alkene **9** was obtained (see Scheme 7).

Again the integrity of the side chains of compounds **23R-5** and **9**, can be verified by observation of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals corresponding to this fragment as well as the present COSY and NOESY correlations. The configuration at C-23 in compound **23R-5** can be verified by observation of the  $\text{H}-23' \leftrightarrow \text{H}-24'$  both in the  $\alpha$ -side of the F-ring (see Fig. 7). In particular the alkene **9** can be recognized by the absence of the signals corresponding to the acetoxy moiety formerly present at C-23' as well as the new  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  signals corresponding to the new exocyclic double bond.

Protonation of the intermediate **II** from the *Re* or *Si* sides of C-23, followed by F-ring closure explain the production of the **23R-5/23S-5** mixture. On the other hand,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -catalyzed concerted elimination/F ring closure may justify the occurrence of the alkene **9**. Alternatively the olefin **9** can be produced through F ring closure in the allylic carbocation **IV** (see Scheme 8).

## 7. Conclusions

We have found that the presence of the C-23' acetoxy moiety confers a special reactivity to the furospirostane side chain. The F-ring opening produces a  $\Delta^{22}$ -intermediate in which the C-23'-acetoxy is placed in position allowing its substitution or elimination. This reactivity feature opens new and useful possibilities for the transformation of the  $16\beta,22:22,25$ -diepoxy-23-acetoxy-methyl-24-methyl side chain.

## Acknowledgments

The authors thank to the *Dirección General de Asuntos del Personal Académico* (DGAPA-UNAM) for financial support via project IN221911 and CONACyT for scholarship granted to MM-A. Thanks are due to Rosa I. del Villar Morales, Georgina Duarte Lisci (USAI-UNAM) for recording NMR and MS spectra. We want to express our gratitude to Dr. Carlos Cobas from Mestrelab<sup>®</sup> for assistance with the MestreNova NMR processing program and to Dr. John Boulton for correcting the manuscript.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2013.05.014>.

## References

- Jacobs MF, Kitching W. Spiroacetals of marine origin. *Curr Org Chem* 1998;2:395–436.
- Mori K. Synthesis of insect pheromones. In: ApSimon J, editor. The total synthesis of natural products. New York: John Wiley & Sons Inc; 1981.
- Raju R, Saikia AK. Asymmetric synthesis of naturally occurring spiroketals. *Molecules* 2008;13:1942–2038.
- Mead KT, Brewer BN. Strategies in spiroketal synthesis revisited: recent applications and advances. *Curr Org Chem* 2003;7:227–56.
- Perron F, Albizati KF. Chemistry of spiroketals. *Chem Rev* 1989;89:1617–61.

- Moser BR. Review of cytotoxic cephalostatins and ritterazines: isolation and synthesis. *J Nat Prod* 2008;71:487–91.
- Iglesias MA, Morzycki JW. Cephalostatins and ritterazines. In: Knölker HJ, editor. The alkaloids: chemistry and biology, vol. 72. Amsterdam: Elsevier; 2013. p. 153–279.
- Betancor C, Freire R, Pérez-Martin I, Prangé T, Suárez E. A convenient synthesis of C-22 and C-25 stereoisomers of cephalostatin north 1 side chain from spirostan sapogenins. *Org Lett* 2002;4:1295–7.
- Lee JS, Fuchs PL. New oxidative tools for the functionalization of the cephalostatin north 1 hemisphere. *Org Lett* 2003;5:2247–50.
- LaCour TG, Guo C, Bhandaru S, Boyd MR, Fuchs PL. Interphylal product splicing: the first total syntheses of cephalostatin 1, the north hemisphere of ritterazine G, and the highly active hybrid analogue, ritterostatin  $\text{G}_{\text{N}1\text{N}^1}$ . *J Am Chem Soc* 1998;120:692–707.
- Rao ChB, Ramana KV, Rao DV, Fahy E, Faulkner DJ. Metabolites of the gorgonian *Isis hippuris* from India. *J Nat Prod* 1988;51:954–8.
- González N, Barral MA, Rodríguez J, Jiménez C. New cytotoxic steroids from the gorgonian *Isis hippuris*. Structure-activity studies. *Tetrahedron* 2001;57:3487–97.
- Sheu J-H, Chao C-H, Wang G-H, Hung K-C, Duh C-Y, Chiang MY, Wu Y-C, Wud C-C. The first A-nor-hippuristanol and two novel 4,5-secosuberosanoids from the gorgonian *Isis hippuris*. *Tetrahedron Lett* 2004;45:6413–6.
- Chao C-H, Huang L-F, Yang Y-L, Su J-H, Wang G-H, Chiang MY, Wu Y-C, Dai C-F, Sheu J-H. Polyoxygenated Steroids from the gorgonian *Isis hippuris*. *J Nat Prod* 2005;68:880–5.
- Ravindar K, Reddy MS, Lindqvist L, Pelletier J, Deslongchamps P. Synthesis of the antiproliferative agent hippuristanol and its analogues via suarez cyclizations and Hg(II)-catalyzed spiroketalizations. *J Org Chem* 2011;76:1269–84.
- Ibarrola DA, Helióon-Ibarrola MC, Montalbetti Y, Heinichen O, Campuzano MA, Kennedy ML, Alvarenga N, Ferro EA, Dölz-Vargas JH, Momose Y. Antihypertensive effect of nuatigenin-3-O- $\beta$ -chacotriose from *Solanum sisymbriifolium* Lam. (Solanaceae) (ñuatí pytã) in experimentally hypertensive (ARH+DOCA) rats under chronic administration. *Phytomedicine* 2011;18:634–40.
- Fieser L, Fieser M. Steroids. New York: Reinhold Publishing Corporation; 1959 [and references there in].
- Callow RK, James VHT, Kennard O, Page JE, Paton PN, Riva di Sanseverino L. The structure of the steroidal bromosapogenins. *J Chem Soc C* 1966:288–97.
- Iglesias-Arteaga MA, Sandoval-Ramírez J, Mata-Esma MY, Viñas-Bravo O, Bernes S. Abnormal Beckmann rearrangement in 23-hydroxyiminodiosgenin acetate. *Tetrahedron Lett* 2004;45:4921–6.
- Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA, Méndez-Stivalet JM, Galano A, Álvarez-Idaboy JR. The Baeyer–Villiger reaction of 23-oxosapogenins. *Arhivoc* 2005;VI:109–26.
- Iglesias-Arteaga MA, Alvarado-Nuño AA.  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  induced Beckmann rearrangement of 23 hydroxyiminosapogenins. A shortcut to bisnorcholaniclactones. *Tetrahedron Lett* 2006;47:5351–3.
- Iglesias-Arteaga MA, Jastrzębska I, Morzycki JW. Reactions of sapogenins with m-chloroperoxybenzoic acid catalyzed by Lewis acids. *Polish J Chem* 2006;80:667–71.
- Iglesias-Arteaga MA, Velázquez-Huerta GA. Favorskii rearrangement of 23-oxo-3-epi-smilagenin acetate induced by iodosobenzene. *Tetrahedron Lett* 2005;46:6897–9.
- Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO. One-step axial acetoxylation at C-23. A new method for the functionalization of the side chain of steroid sapogenins. *Tetrahedron Lett* 2006;47:8029–31.
- Iglesias-Arteaga MA, Arcos-Ramos RO, Méndez-Stivalet JM. The unexpected course of the reaction of steroid sapogenins with diacetoxyiodobenzene and  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in formic acid. *Tetrahedron Lett* 2007;48:7485–8.
- Hernández R, Marrero-Tellado JJ, Prout K, Suárez E. Lewis acid-mediated isomerization of (25R)-3 $\alpha$ -acetoxy-5 $\alpha$ -spirostan-23-one, a C-22 spiroacetal: an approach to the synthesis of C-23 spiroacetal steroidal sapogenins. *J Chem Soc Chem Commun* 1992:275–7.
- Betancor C, Dorta RL, Freire R, Martín A, Prangé T, Suárez E. Stereospecific synthesis of 1,6-dioxadecalins and 2,2 linked ditetrahydrofurans by rearrangement of steroidal spiroacetals. *J Org Chem* 1998;63:6355–62.
- LaCour TG, Tong Z, Fuchs PL. Consequences of acid catalysis in concurrent ring opening and halogenation of spiroketals. *Org Lett* 1999;1:1815–8.
- Sandoval-Ramírez J, Meza-Reyes S, del Río RE, Hernández-Linares G, Suárez-Rojas A, Rincón S, et al. Regioselective cleavage of rings E and F in sarsasapogenin. *Steroids* 2003;68:199–204.
- Cyrański MK, Frelek J, Jastrzębska I, Morzycki JW. Rearrangement of 23-oxospirostanes to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids. X-ray crystal structure of (23R,25S)-3-acetoxy-16,23:23,26-diepoxy-5-cholestan-22-one. *Steroids* 2004;69:395–400.
- Morzycki JW, Jastrzębska I. Novel transformation of 23-bromosapogenins. Synthesis of (22S, 23R)-22-hydroxy-23,26-epoxyfurostanes. *Tetrahedron Lett* 2001;42:5989–91.
- Anulewicz-Ostrowska R, Jastrzębska I, Morzycki JW, Wojcik J. An assisted solvolysis of 23 spirostanyl bromides and tosylates. A new rearrangement of spirostanes to the bisfuran systems. *J Org Chem* 2002;67:6916–24.
- Jastrzębska I, Morzycki JW, Trochimowicz U. Lead tetraacetate-iodine oxidation of 23-spirostanols. *Tetrahedron Lett* 2004;45:1929–32.
- Jastrzębska I, Morzycki JW. Unusual Baeyer–Villiger oxidation of 23-oxosarsasapogenin acetate. *Polish J Chem* 2005;79:1245–8.

- [35] López Y, Ruíz-Pérez KM, Yépez R, Santillán R, Flores-Álamo M, Iglesias-Arteaga MA. Mechanistic insights and new products of the reaction of steroid sapogenins with  $\text{NaNO}_2$  and  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in acetic acid. *Steroids* 2008;73:657–68.
- [36] Ruíz-Pérez KM, Romero-Ávila M, Flores-Pérez B, Flores-Álamo M, Moreno-Esparza R, Iglesias-Arteaga MA. Revisiting 23-iodospirostanes. New facts and full characterization. *Steroids* 2009;74:996–1002.
- [37] Macías-Alonso M, Morzycki JW, Iglesias-Arteaga MA. Studies on the  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  catalyzed Baeyer–Villiger reaction of spiroketalic steroidal sapogenins. *Steroids* 2011;76:317–23.
- [38] Lee JS, Cao H, Fuchs PL. Ruthenium-catalyzed mild C–H oxyfunctionalization of cyclic steroidal ethers. *J Org Chem* 2007;72:5820–3.
- [39] Phillips ST, Shair MD. Syntheses of the eastern halves of ritterazines B, F, G, and H, leading to reassignment of the 5,5-spiroketal stereochemistry of ritterazines B and F. *J Am Chem Soc* 2007;129:6589–98.
- [40] Lee S, Fuchs PL. An efficient C–H oxidation protocol for  $\alpha$ -hydroxylation of cyclic steroidal ethers. *Org Lett* 2004;6:1437–40.
- [41] Betancor C, Freire R, Pérez-Martín I, Prangé T, Suárez E. A convenient synthesis of C-22 and C-25 stereoisomers of cephalostatin north 1 side chain from spirostan sapogenins. *Org Lett* 2002;4:1295–7.
- [42] Macías-Alonso M, Flores Alamo M, Iglesias Arteaga MA. On the reactivity of 23-methoxycarbonyl furospirostanes. *Steroids* 2011;76:1021–31.
- [43] Guo C, LaCour TG, Fuchs PL. On the relationship of OSW-1 to the cephalostatins. *Bioorg Med Chem Lett* 1999;9:419–24.
- [44] LaCour TG, Guo C, Ma S, Jeong JU, Boyd MR, Matsunaga S, Fusetani N, Fuchs PL. On topography and functionality in the B-D rings of cephalostatin cytotoxins. *Bioorg Med Chem Lett* 1999;9:2587–92.
- [45] Macías-Alonso M, Esturau-Escofet M, Flores-Álamo, Moreno-Esparza R, Iglesias-Arteaga MA. NMR and X-ray characterization of steroids with furospirostane side chains. *Arkivoc* 2011;xi:165–82.
- [46] For NMR spectra see supplementary information file.
- [47] Oxford diffraction CrysAlis CCD and CrysAlis RED. Abingdon, England: Oxford Diffraction Ltd; 2009.
- [48] Sheldrick GM. A program for crystal structure solution. *Acta Crystallogr A* 2008;A64:112–22.
- [49] Farrugia LJ. WinGX and ORTEP for windows: an update. *J Appl Crystallogr* 2012;45:849–54.
- [50] Crystallographic data have been deposited at the Cambridge Crystallographic Data Center as supplementary material numbers CCDC 928324 for 23S–6 and CCDC 928325 for 23R–6. Copies of the data can be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK. E-mail: <deposit@ccdc.cam.ac.uk>.