



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS**

---

---

**SÍNTESIS DE PIRROLES ESTEROIDALES**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO**

PRESENTA

**ANALLELY HUEPALCALCO GUEVARA**

ASESORES:

**DRA. MARÍA ANTONIETA FERNÁNDEZ HERRERA**

**DR. JESÚS SANDOVAL RAMÍREZ**

**PUEBLA, PUE., NOVIEMBRE DE 2014**

El presente trabajo de tesis se desarrolló en el Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección de la Dra. María Antonieta Fernández Herrera y del Dr. Jesús Sandoval Ramírez. El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología me otorgó la beca No. 19874 y una beca complementaria dentro del proyecto CB-2012/176863. Aspectos relevantes de este trabajo fueron presentados en dos congresos nacionales (I Simposio de Resonancia Magnética Nuclear del Posgrado en Química, enero 2014 y 10<sup>a</sup> Reunión de la Academia de Química Orgánica, en mayo de 2014).

## *DEDICATORIAS*

**Éste trabajo va dedicado con cariño a mis padres  
Elodia Guevara y Juan Huepalcalco**

## *AGRADECIMIENTOS*

**Agradezco a la Dra. Marieta y al Dr. Jesús por haberme dado la oportunidad de colaborar en su grupo de investigación; así mismo como las enseñanzas, la confianza depositada en mí, el incomparable apoyo y la dedicación para la realización del presente trabajo.**

**Agradezco a la Dra. Maricela Rodríguez Acosta, el Dr. José Luis Vega Báez y al Dr. José Luis Garate por la revisión de este trabajo.**

**Un sincero agradecimiento a mi familia por que a pesar de momentos buenos y malos siempre me apoyó incondicionalmente.**

**También quiero agradecer a todos mis compañeros tanto de la licenciatura como del laboratorio por la convivencia y el apoyo.**



## Índice

---

<b>Índice</b> .....	<b>I</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>III</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>Justificación</b> .....	<b>3</b>
<b>Antecedentes</b> .....	<b>4</b>
A) Esteroides .....	4
B) Saponinas.....	5
C) Sapogeninas esteroidales .....	7
D) Aislamiento de la kriptogenina.....	8
E) Reacciones con kriptogenina .....	10
F) Síntesis de Paal-Knorr .....	11
<b>Objetivos</b> .....	<b>14</b>
<b>Metodologías y equipos empleados</b> .....	<b>16</b>
<b>Desarrollo experimental</b> .....	<b>18</b>
A) Diacetato de (20 <i>S</i> ,25 <i>R</i> )-colest-5-eno-16,22-diona-3 $\beta$ ,26-diilo ( <b>16</b> ).....	18
B) Diacetato de <i>N</i> -bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo ( <b>24</b> ) .....	19
C) <i>N</i> -bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diol ( <b>25</b> ) .....	20
D) Diacetato de <i>N</i> -(3-hidroxi)propilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo ( <b>26</b> ) .....	22
E) <i>N</i> -(3-hidroxi)propilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20, 22]colest-5-eno-3 $\beta$ , 26-diol ( <b>27</b> ) .....	23
F) Diacetato de <i>N</i> -(2-hidroxi)etilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo ( <b>28</b> ) .....	24

G) Diacetato de [1'S,25R]-N[2"fenil1"(metoxicarbonil)] etilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (30) .....	25
<b>Discusión de resultados .....</b>	<b>27</b>
A) Obtención de diacetato de (20S,25R)-colest- 5-eno-16,22-diona-3 $\beta$ ,26-diilo (16) .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
B) Obtención de diacetato de N-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest- 5-eno-3 $\beta$ , 26-diilo (24) .....	30
C) Obtención de N-bencilpirrolo[2', 3', 4', 5':16, 17, 20, 22]colest- 5-eno-3 $\beta$ , 26-diilo (25) .....	35
D) Obtención de diacetato de N-(3-hidroxi)propilpirrolo [2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (26) .....	39
E) Obtención de N-(3-hidroxi)propilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest- 5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (27) .....	41
F) Obtención de diacetato de N-(2-hidroxi)etilpirrolo [2', 3', 4', 5':16, 17, 20, 22]colest-5-eno-3 $\beta$ , 26-diilo (28) .....	44
G) Obtención de diacetato de [1'S,25R]-N[2"fenil1"(metoxicarbonil)] etilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22] colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (30) .....	48
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>51</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>52</b>

## ***Abreviaturas***

---

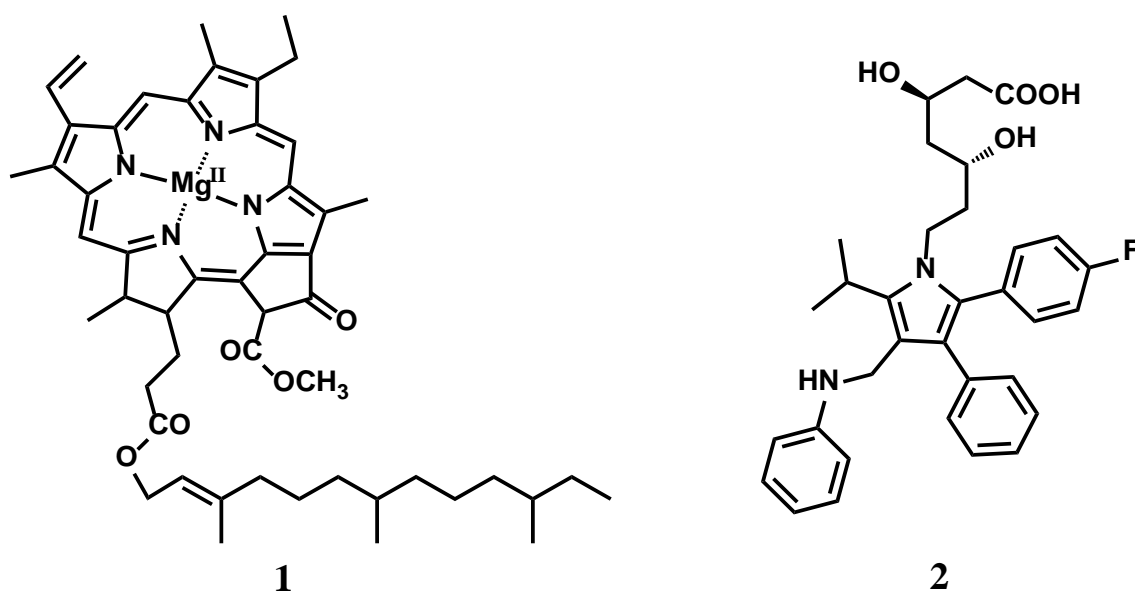
$\delta$	desplazamiento químico en RMN
<i>c</i>	señal cuádruple
CCF	cromatografía en capa fina
COSY	correlation spectroscopy
<i>d</i>	señal doble
<i>dd</i>	señal doble de doble
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
EMAR	espectrometría de masas de alta resolución
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
Hz	hertzio
IR	infrarrojo
<i>J</i>	constante de acoplamiento
<i>m</i>	señal múltiple
Pf	punto de fusión
ppm	parte por millón
<i>p</i> -TsOH	ácido <i>p</i> -toluensulfónico
py	piridina
RMN de $^{13}\text{C}$	Resonancia Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$
RMN de $^1\text{H}$	Resonancia Magnética Nuclear de protón
<i>t</i>	señal triple



## Introducción

---

El pirrol es un compuesto heterocíclico aromático que se puede encontrar en gran variedad de productos naturales, como la clorofila (**1**) un pigmento verde localizado en las plantas que desempeña un papel importante en el proceso de la fotosíntesis; y la atorvastatina (**2**), un compuesto de origen sintético que contiene un anillo de pirrol pentasustituido y es ampliamente empleado para disminuir el colesterol LDL. [1a-b]



**Figura 1.** Estructura de la clorofila y atorvastatina.

Como se puede observar la estructura de la atorvastatina contiene un pirrol pentasustituido, lo que ha motivado al desarrollo de diversas rutas de síntesis de la misma, así como un estudio profundo de la reacción de Paal-Knorr de síntesis de pirroles, para ello se presentan algunos trabajos referentes de éste tipo de compuestos bioactivos.

Las sapogeninas han adquirido un valor comercial debido a que son materia transformable en la síntesis parcial de innumerables estructuras esteroidales.

La revisión bibliográfica arrojó escasos resultados sobre la síntesis reportada de compuestos pirrólicos, [2a-b] por lo cual la metodología desarrollada podrá ser empleada para generar un mayor número de estructuras y que a su vez puedan tener aplicaciones.

En este trabajo de tesis se retoma el amplio conocimiento de la reactividad del sistema 1,4-dicarbonílico que constituye la kriptogenina para generar los compuestos **(24)**, **(25)**, **(26)**, **(27)**, **(28)** y **(29)**.

El estudio de la reactividad de las sapogeninas esteroidales nos proporciona ideas para modificarlas estructuralmente y así obtener nuevos compuestos bioactivos y contribuir al desarrollo de la química orgánica. [3a-c]

Nuestro grupo de investigación tiene particular interés en sintetizar compuestos heterocíclicos a partir de sapogeninas esteroidales, por ello se llevó a cabo la síntesis de compuestos conteniendo un anillo pirrólico, el cual conforma un nuevo anillo E.

## *Justificación*

---

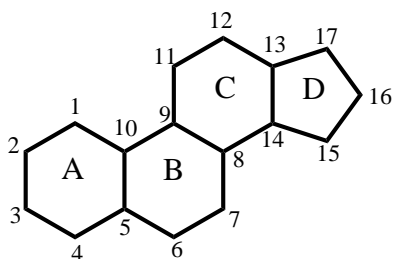
Las sapogeninas son productos naturales que se obtienen a partir de las saponinas y han resultado muy activas en el tratamiento de enfermedades complejas y a la vez comunes en el ser humano como cáncer o diabetes por mencionar algunas. El ser humano ha consumido o empleado a las sapogeninas desde tiempos muy remotos. Con el paso del tiempo la investigación les ha dado una gran utilidad a la industria farmacéutica. Los productos naturales son clave para sintetizar compuestos bioactivos. Una primera opción para crear anillos pirrólicos es el aplicar la reacción de Paal-Knorr sobre un sustrato conteniendo una funcionalidad 1,4-dicarbonílica, como la presente en la estructura de la kriptogenina. Este será uno de los primeros trabajos acerca de la síntesis de compuestos pirrólicos esteroidales.

## Antecedentes

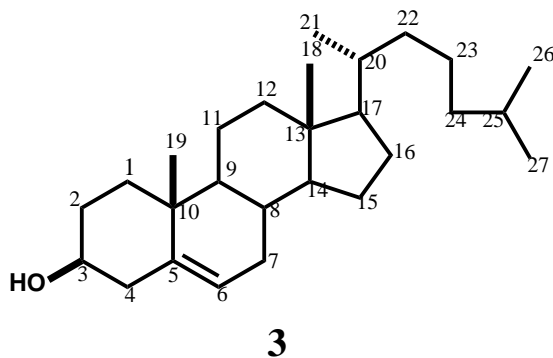
---

### Esteroides

Los esteroides constituyen un grupo de sustancias ampliamente distribuidas en la naturaleza, tanto en el reino animal como en el vegetal. Son compuestos orgánicos que se caracterizan por tener un núcleo derivado del ciclopenta[*a*]fenantreno (**figura 2**). El núcleo consta de los anillos A, B, C y D, en el que normalmente se encuentran grupos metilos en C-10 y C-13, mientras que en C-17 frecuentemente hay una cadena lateral hidrocarbonada y un grupo oxigenado en C-3, un ejemplo muy representativo es el colesterol (**3**).



**Figura 2.** Estructura del derivado de ciclopenta[*a*]fenantreno.



**Figura 3.** Colesterol, ejemplo típico de un esteroide.

Los esteroides constituyen un grupo de compuestos muy estudiado debido a su actividad biológica, pues se encuentran presentes en todos los seres vivos, por lo que se cree que fueron de las primeras estructuras moleculares construidas en los organismos vivos.

A todo el cúmulo de esteroides naturales hay que adicionarle los innumerables compuestos sintéticos y semi-sintéticos que son empleados a diario en la industria farmacéutica y en los laboratorios de investigación.

### **Saponinas**

Las saponinas son sustancias que tienen la propiedad de formar espuma al entrar en contacto con agua, dado que las saponinas reducen la fuerza de cohesión del agua (disminución de la actividad tensoactiva del agua). El término saponina proviene de la raíz latina *sapo*, que significa jabón o sustancia que produce espuma. Las saponinas se clasifican en esteroidales y triterpénicas. [4]

Las saponinas se encuentran en plantas en forma de glicósidos; estructuras compuestas por una aglicona sustituida con uno o varios azúcares. Las saponinas esteroidales pueden ser colestánicas, furostánicas, cardenólicas ó espirostánicas, entre otras. [3a] Las plantas que contienen saponinas fueron empleadas como agentes de limpieza desde épocas muy lejanas, y en el México prehispánico se conocieron como amoles. Hasta nuestros días las saponinas son los principales agentes curativos de la medicina tradicional. [3b]

Las saponinas poseen importantes propiedades, algunas pueden ser tóxicas pero selectivas al no causar daño a los seres humanos, como las que se encuentran en la soja, los frijoles, lentejas. Si los humanos ingerimos ciertas saponinas, al pasar por el estómago éstas sufren una hidrólisis ácida-enzimática y se genera la sapogenina, que no forzosamente es tóxica para el ser humano.

A las saponinas se les ha detectado actividad como insecticida, anticonceptiva, antiinflamatoria, antitumoral, entre otras. Importantes saponinas contienen una aglicona furostánica como el esmilacinósido C (4), espirostánicas como la dioscina (5) y colestánicas como los cardiotónicos (6), mostradas en la **figura 4**.

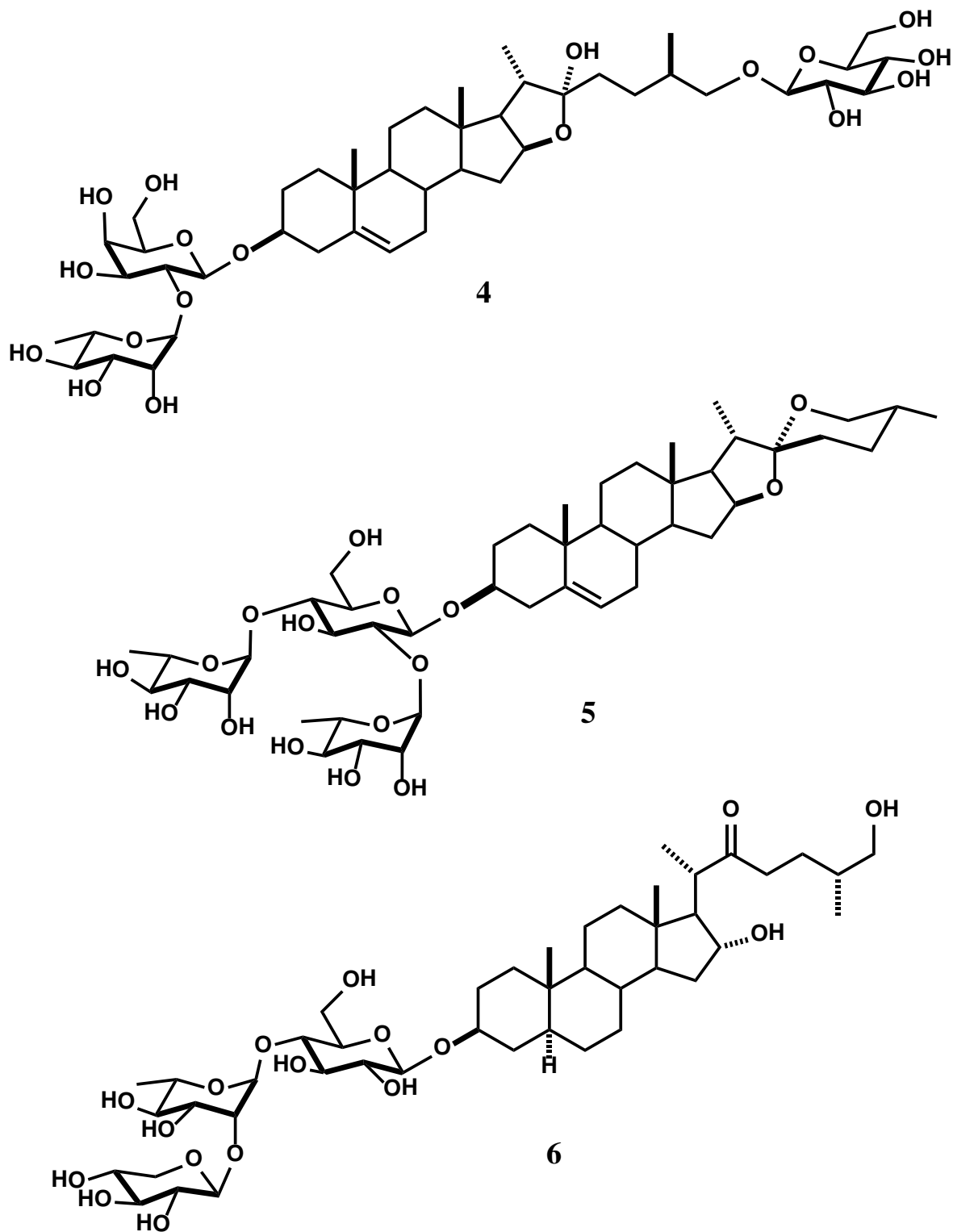


Figura 4. Esquema de algunas saponinas esteroidales en la naturaleza.

## Sapogeninas esteroidales

Son esteroides con 27 átomos de carbono que a su vez contienen una cadena lateral de tipo espirocetálica, donde el carbono espiro se encuentra en la posición 22 y conforma un anillo tetrahydrofuránico (anillo E) y un anillo tetrahidropiránico (anillo F). Ejemplos de sapogeninas son: diosgenina (7), sarsasapogenina (8), botogenina (9) (figura 5).

En la década de 1940 se descubrió a la diosgenina y ésta resultó ser excelente materia prima para sintetizar hormonas como progesterona y testosterona. La diosgenina es una sapogenina esteroideal espirostánica que fue aislada por primera vez en 1936 por Takeo Tsukamoto a partir de *Dioscorea Tokoro*. [4] Tiempo después Russell Marker desarrolló un proceso para sintetizar hormonas como las que ya se mencionaron al principio de este párrafo, proceso conocido como “Degradación de Marker”, [5] a partir de *Dioscorea composita*, mejor conocida como barbasco. Por lo tanto la diosgenina ha sido ampliamente utilizada como materia prima para obtener nuevos compuestos esteroidales. A partir de este descubrimiento las sapogeninas esteroidales adquirieron gran importancia sintética.

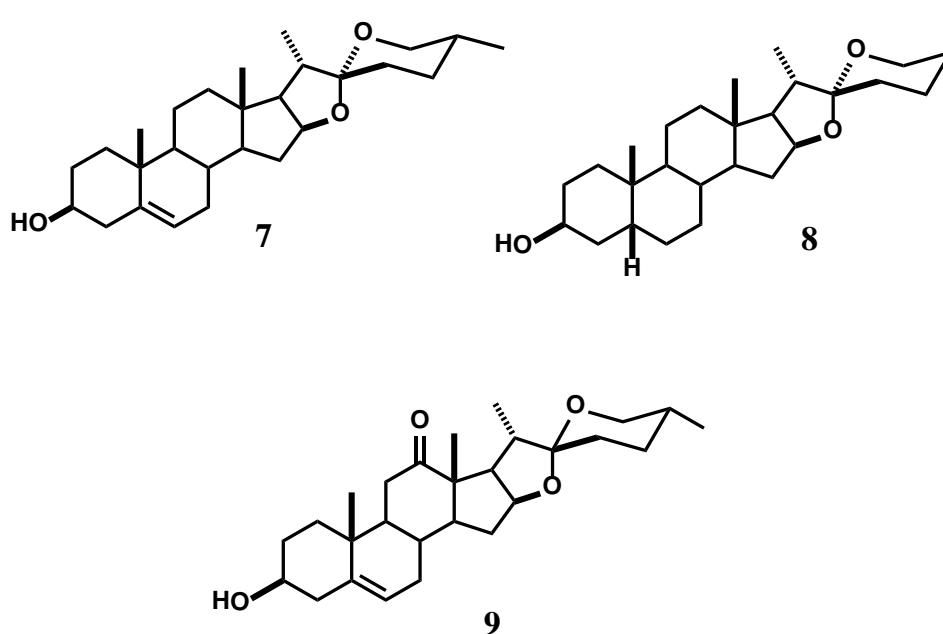


Figura 5. Algunos de los espirostanos más utilizados como materia prima.

Otras sapogeninas presentes en especies vegetales son por ejemplo los esteroides alcaloidales de las solanáceas; dentro de esta familia encontramos a la papa (*Solanum tuberosum*), la especie más conocida de esta familia contiene en su seno a la solasodina (**10**), cuya estructura fue determinada por Uhle y Jacobs [6] en 1945, por medio de una correlación con sarsasapogenina. De las hojas del jitomate (*S. lycopersicum*), Fontaine [7] y colaboradores aislaron el glicósido tomatina, cuya hidrólisis generó dos moléculas de glucosa, una de galactosa, xilosa y la aglicona tomatidina (**11** figura 6). Estos compuestos son ejemplos de sapogeninas esteroidales nitrogenadas, pero no corresponden a pirroles.

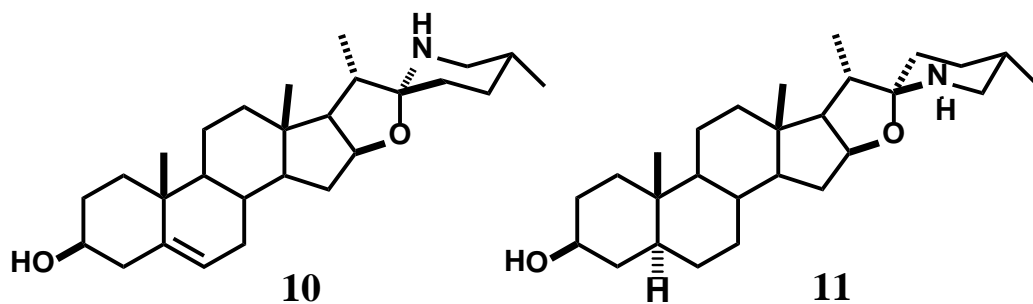


Figura 6. Sapogeninas esteroidales nitrogenadas.

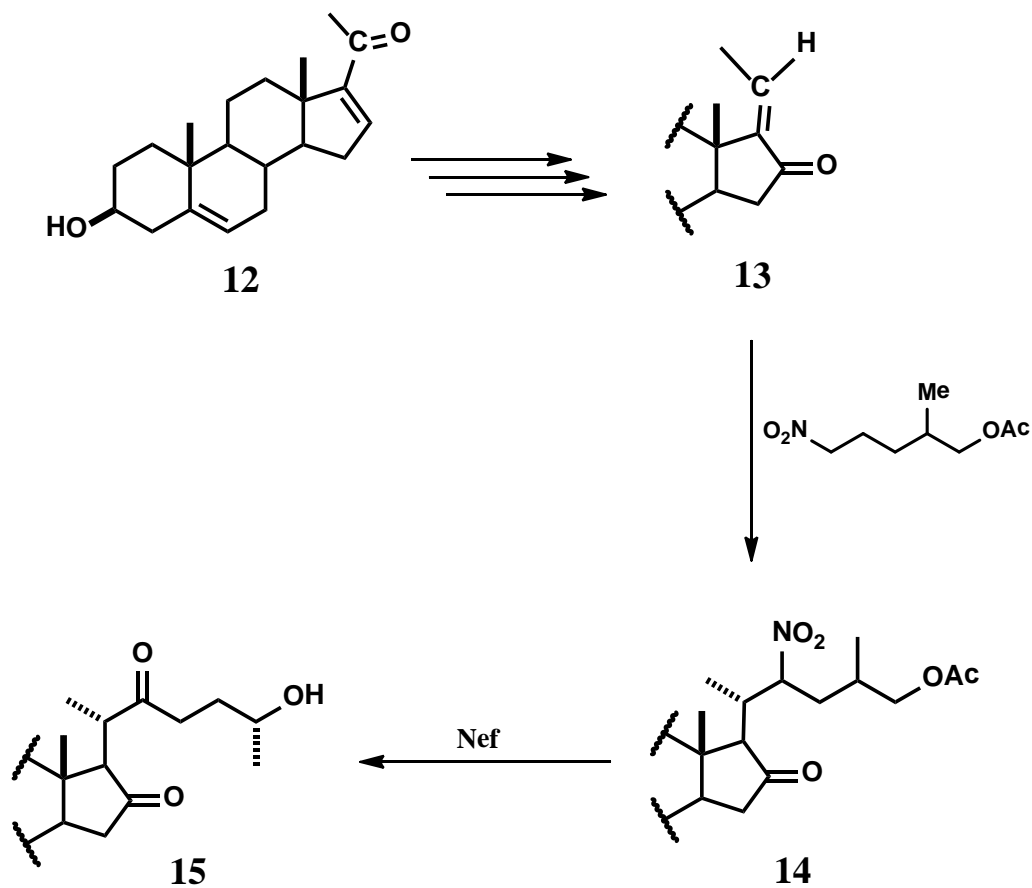
### Aislamiento de la kriptogenina

En las tierras de escasa precipitación pluvial de la zona templada de Norteamérica crecen muchas plantas que son fuente potencial de materias primas para la industria de los esteroides. Algunas pertenecen a los géneros *Agave* y *Yucca*, pues se han estudiado casi todas sus especies, encontrándose rendimientos variables de sapogeninas. Algunas especies de *Yucca* bien estudiadas son; *Yucca brevifolia*, *Yucca glauca* y *Yuca filifera*.

Posteriormente de Marker inició un estudio en busca de plantas productoras de esteroides. Después de procesar grandes cantidades de Beth root, lograron aislar suficiente materia para poder establecer la estructura de la kriptogenina.

La kriptogenina y la diosgenina se encuentran en considerable proporción en la especie Mexicana *Dioscoreaceae*, el cual representa un importante material de partida para producir hormonas.

En 1967 S. V. Kessary su respectivo equipo de trabajo sintetizaron kriptogenina a partir de 16-dehidropregnenolona (**12**). Bajo ciertas condiciones de reacción como se muestra en la ruta sintética de la **figura 7**. [8]



**Figura 7.** Esquema para obtener kriptogenina a partir de 16-dehidropregnenolona.

## Reacciones con kriptogenina

Alessandrini [9] y colaboradores mediante una reducción de la kriptogenina empleando reactivos deuterados sintetizaron [16,16,22,22,23,23-D<sub>6</sub>]-colest-5-en-3β-26-diol, este compuesto es un ejemplo de la actividad en los grupo carbonilo presentes en la estructura de la kriptogenina.

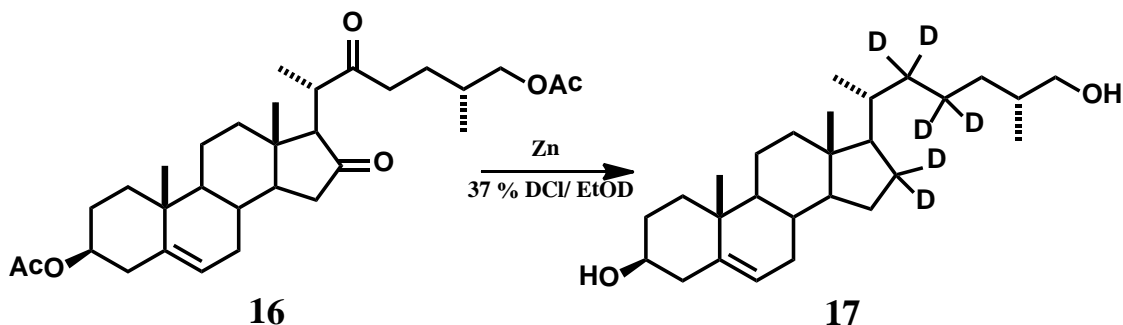


Figura 8. Reducción de Clemmensenediacetato de kriptogenina.

En 1951 Kaufmann y colaboradores a partir de kriptogenina en medio ácido generaron el llamado diacetato de 5,16,20(22)-furostatrieno-3β,26-diol **18**. [10]

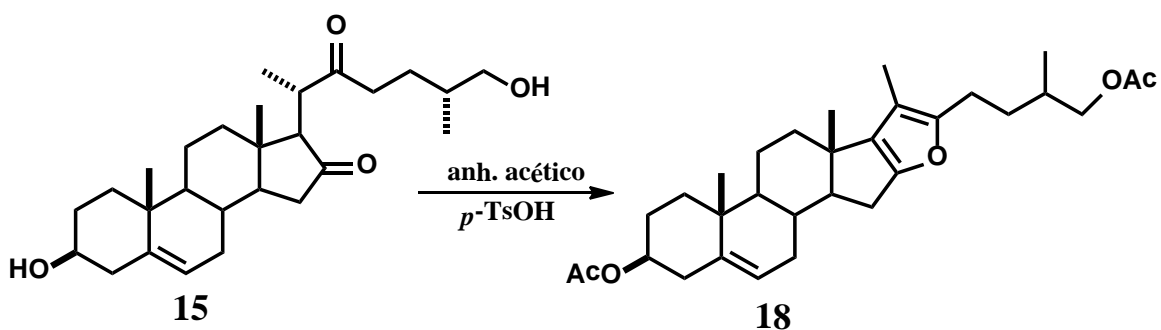


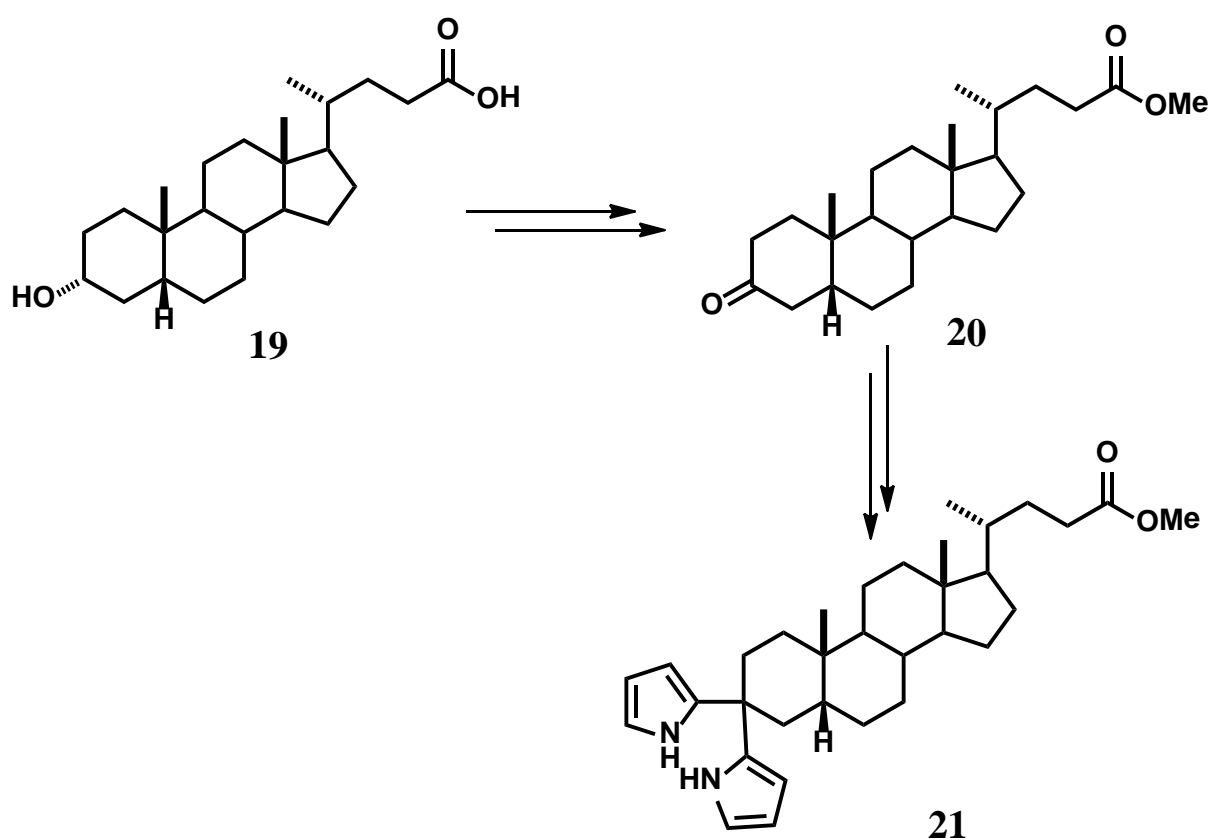
Figura 9. Formación del anillo furostánico a partir de kriptogenina.

Las estructuras **17** y **18** son ejemplos de reacciones a partir de kriptogenina propias del sistema 1,4-dicarbonílico.



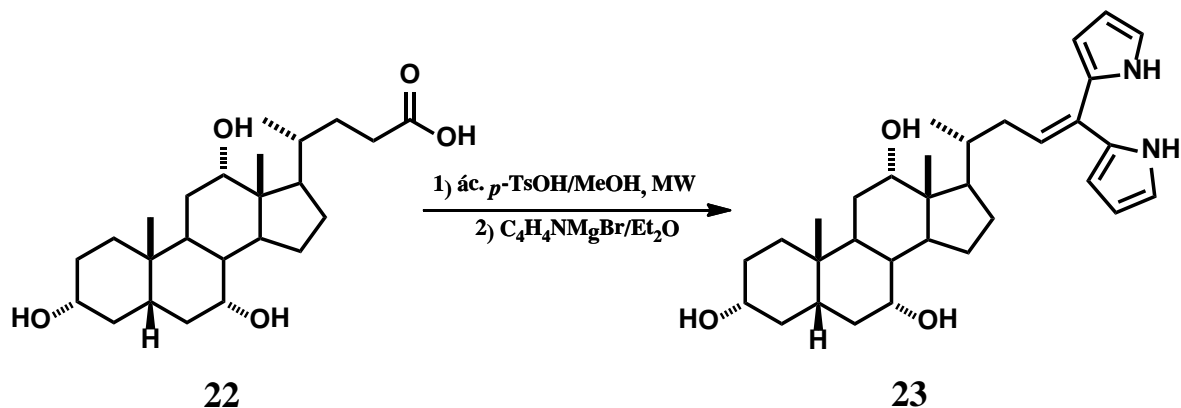
La inclusión de algunos compuestos pirrólicos a sustratos esteroidales en estructuras moleculares de ciertas especies, pueden llegar a atribuir nuevas características tanto fisicoquímicas, biológicas y morfológicas en cuanto a su ensamblaje.

En 2009 Huong publicó la inclusión de anillos pirrólicos en el ácido litocólico. Los resultados obtenidos fueron excelentes, primero formaron el éster metílico y posteriormente una oxidación con  $\text{CrO}_3 \cdot \text{Py} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Luego se efectuó la inclusión del pirrol, para obtener el compuesto **21**. [12]



**Figura 12.** Adición de dos moléculas de pirrol a una cetona esteroidal.

En 2012 se describió la inclusión de pirrol en una cadena colánica, tal como lo indica el esquema de la **figura 13**. [13]



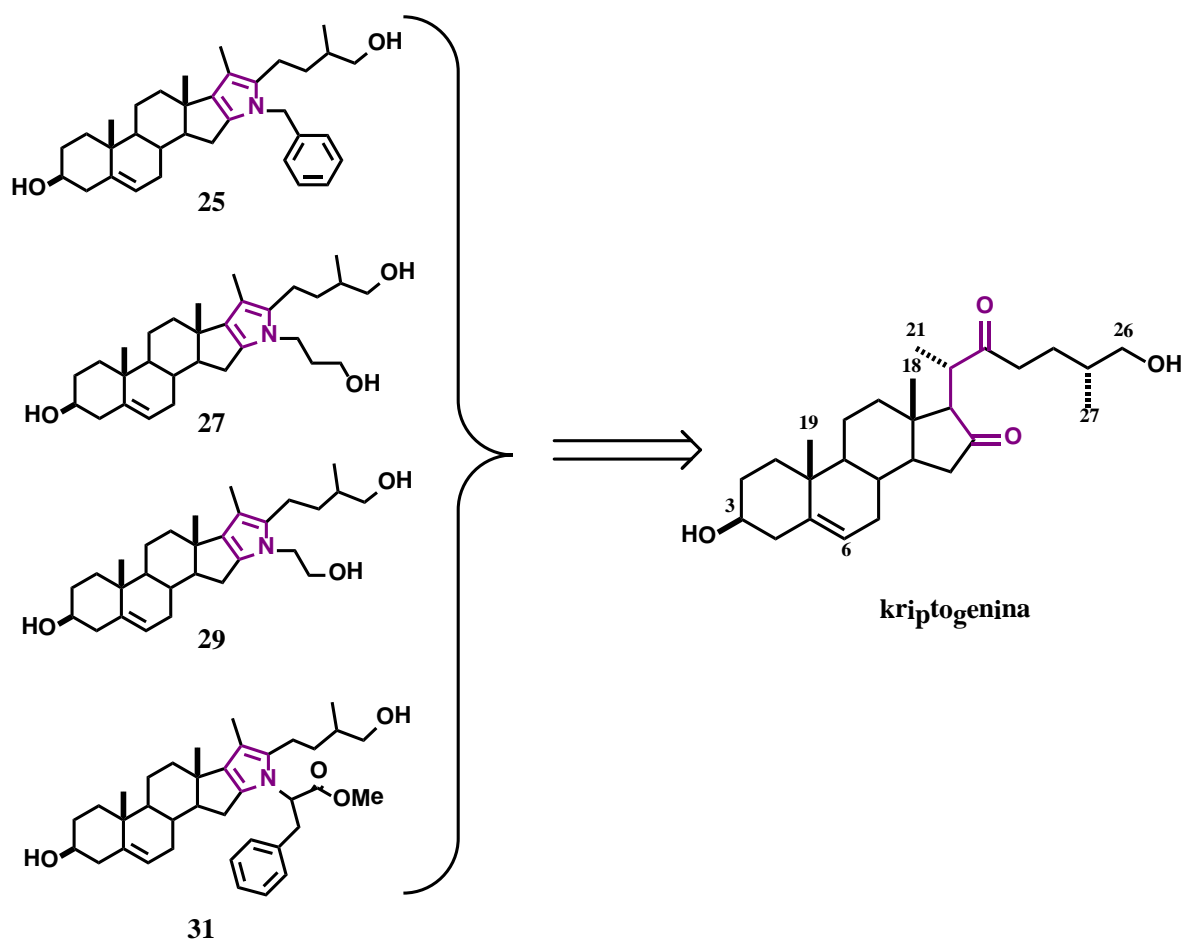
**Figura 13.** Adición de pirrol en cadena colánica.

Por tales hechos, en este trabajo de tesis, es de nuestro interés explorar la reactividad de la kriptogenina hacia la formación de un anillo pirrólico, aprovechando la funcionalidad 1,4-dicarbonílica ya que no se han encontrado reportes de síntesis de pirroles esteroidales.

## Objetivos

---

- A partir del sistema 1,4-dicarbonílico de la kriptogenina (**15**), sintetizar compuestos esteroidales que contengan un anillo de pirrol (anillo E), utilizando aminas primarias.



- Investigar las condiciones más apropiadas de reacción para generar los productos;
  - *N*-bencilpirrolo [2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3β,26-diol (**25**).
  - *N*-(3-hidroxi)propilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3β,26-diilo (**27**).
  - *N*-(2-hidroxi)etilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3β,26-diilo (**29**).
  - [1'S,25R]-*N*[2"fenil1"(metoxicarbonil)]etilpirrolo [2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3β,26-diilo (**31**).
  
- Caracterizar los productos obtenidos por medio de diversas técnicas espectroscópicas como Resonancia Magnética Nuclear de 1 y 2 dimensiones, IR, MS y sus propiedades físicas.

## ***Metodologías y equipos empleados***

---

### **Resonancia Magnética Nuclear**

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se adquirieron en los equipos Varian–Mercury (400 MHz) y Bruker AVANCE (500 MHz). Como disolvente se empleó cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Los desplazamientos químicos se presentan en ppm ( $\delta$ ), las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se expresan en Hz. La multiplicidad de las señales de los espectros de  $^1\text{H}$  se describe como: *s* para una señal simple, *d* para una señal doble, *dd* para una señal doble de doble, *ddd* para una señal doble de doble de doble, *dc* para una señal doble de cuádruple, *t* para una señal triple y *m* para una señal múltiple.

### **Polarimetría**

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 241 en soluciones de cloroformo, empleando celdas de 10 cm de longitud y como fuente una lámpara de sodio, de donde se selecciona la línea D (589 nm).

### **Espectroscopia Infrarrojo**

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Agilent Cary 630 FTIR y los datos se expresan en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

### **Puntos de fusión**

Los puntos de fusión fueron determinados por la técnica de capilar abierto en un equipo Melt-temp, utilizando la escala de grados centígrados.

### **Espectrometría de Masas**

Los espectros de masas se realizaron en el equipo HPLC Agilent Technologies 6230 TOF LC/MS.

## **Cromatografía**

Para monitorear las reacciones se utilizó la cromatografía en capa fina (CCF) y placas comerciales de gel de sílice grado 60 de 0.2 mm de espesor con indicador de fluorescencia.

Para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UV-G-54) y por calcinación, revelador con ácido molíbdico, sulfato de cerio y ácido sulfúrico. Para la cromatografía en columna se empleó el Combiflash o la cromatografía en columna tipo *flash*. [14]

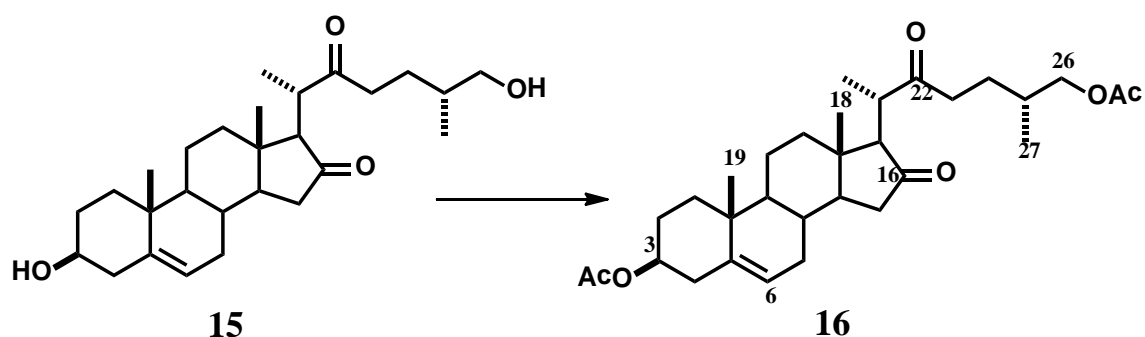
## **Disolventes y reactivos**

Los reactivos que se utilizaron fueron destilados, sellados y aislados de la humedad. Todos los disolventes se purificaron y secaron de acuerdo a las técnicas publicadas en la literatura. [15]

## Desarrollo experimental

---

### Diacetato de (20*S*,25*R*)-colest-5-eno-16,22-diona-3 $\beta$ ,26-diilo (16)



En un matraz de fondo redondo se disolvieron 5 g de kriptogenina cruda en 20 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , posteriormente se adicionaron lentamente 15 ml de anhídrido acético, 8 ml de piridina y una cantidad catalítica de DMAP. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 20 min, tiempo en el que la CCF mostró que la reacción se había completado. A continuación el crudo de reacción se vertió sobre hielo/agua y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La fase orgánica se lavó con HCl al 5% (3 x 100 ml), la solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 100 ml), salmuera (3 x 100 ml), agua (3 x 100 ml) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna.

El compuesto **16** se purificó con un sistema hexano/AcOEt 8:2 obteniéndose un sólido blanco (4.3 g, 72%).

**RMN  $^1\text{H}$ (500 MHz)** $\delta$ : 5.36 (1H, *d*,  $J = 5$ , H-6), 4.60 (1H, *m*, H-3), 3.94 (1H, *dd*,  $J_{\text{gem}} = 10$ ,  $J_{25,26} = 5$ , H-26a), 3.92 (1H, *dd*,  $J_{\text{gem}} = 10$ ,  $J_{25,26} = 5$ , H-26b), 2.04 (3H, *s*, H-3), 2.02 (3H, *s*, H-26), 1.04 (3H, *s*, H-19), 1.03 (3H, *s*, H-18), 0.95 (3H, *d*, H-27), 0.79 (3H, *d*, H-21).

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz) δ:** 218.2 C-C=O 16, 213.5 C-C=O 22, 171.4 C-C=O3, 170.6 C-C=O 26, 139.9 C-5, 121.9 C-6, 73.8 C-3, 69.1 C-26, 19.4 C-19, 16.9 C-27, 15.5 C-18, 13.2 C-21

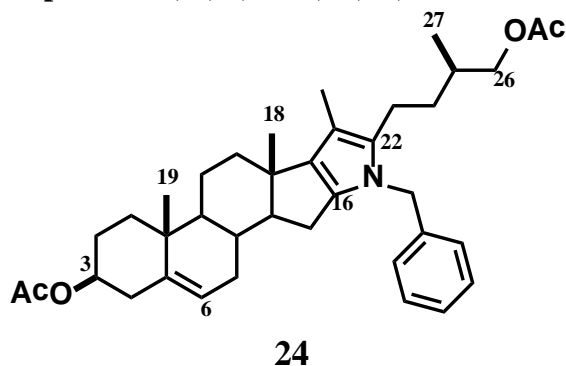
**[α]<sub>D</sub>** = -155.4° (c 1.1)

**Punto de fusión:** 139-141 °C

**IR (cm<sup>-1</sup>):**2900 (C-H); 1722 (C=O); 1372 (CH<sub>3</sub>); 1234 (C=C vinílico).

**EMAR (m/z):** [M+H]<sup>+</sup>-Calculado para C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>O<sub>6</sub> 515.3372; observado 516.3450.

**Diacetato de *N*-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3β,26-diilo (24)**



Se disolvieron 500 mg de kriptogenina diacetilada en 10 ml de tolueno y posteriormente se le adicionaron 0.250 mg (1.28 mmol) de ácido *p*-TsOH y 4 ml (25.6 mmol) de bencilamina. La mezcla de reacción se sometió a reflujo (100-110 °C), con agitación continua por 2 h. La reacción se monitoreo cada 20 min por CCF hasta que se observó la desaparición de la materia prima. Una vez transcurrido este tiempo el crudo de reacción se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase orgánica se lavó con HCl al 5% (1 x 100 ml), solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (1 x 100 ml), salmuera (2 x 100 ml), agua (1 x 100 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna. Cuando se empleó FeCl<sub>3</sub> como catalizador, el tiempo de reacción disminuyó a 60 min.

El compuesto **24** se purificó empleando un sistema hexano/AcOEt 9:1 obteniéndose un líquido denso de color amarillo (460 mg, 80%).

**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz) δ:** 7.27 (2H, *m*, H-orto), 7.21 (2H, *m*, H-meta ), 6.92(1H, *d*, *J*= 5.0, H-para), 5.36 (1H, *d*, *J* = 5.0, H-6), 4.91 (2H, *s*, H-bencilo), 3.83 (1H, *dd*, *J*<sub>gem</sub>= 15.0, *J*<sub>25-26</sub>=5.0, H-26a), 3.78(1H, *dd*, *J*<sub>gem</sub>=15.0,*J*<sub>25-26</sub>= 5.0 Hz, H-26b ), 2.02 (3H, *s*, H-3),2.00 (3H, *s*, H-21), 1.97 (3H, *s*, H-26), 1.08 (3H, *s*, H-19), 0.93 (1H, *s*, H-18), 0.85 (3H, *d*, *J*= 5.0Hz, H-27).

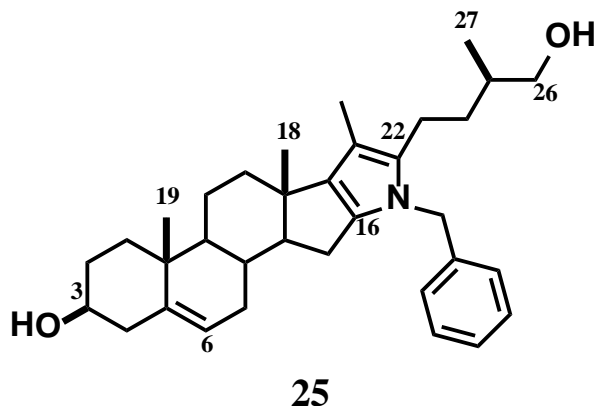
**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz) δ:** 71.7 (C-3), 141.2 (C-5), 121.4 (C-6), 130.0 (C-16), 139.4 (C-17), 18.6 (C-18), 19.4 (C-19),109.3 (C-20), 10.1 (C-21),134.2 (C-22), 67.9 (C-26), 16.5 (C-27), 48.5 (C-bencilo), 135.0 (C-ipso), 128.6 (C-meta-), 127.0 (C-para-), 126.1 (C-orto-).

[α]<sub>D</sub> = -50.6° (*c* 0.88)

**IR (cm<sup>-1</sup>):** 2945 (C-H); 1732 (C=O) de OAc; 1373 (C-N) de pirrol; 1243 (C=C).

**EMAR (m/z):** [M]<sup>+</sup> Calculado para C<sub>38</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>4</sub>585.3818; observado585.3794.

***N*-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3β,26-diol (25)**



En un matraz de fondo redondo se disolvieron 460 mg del compuesto **24** en una solución CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 5:5; posteriormente se adicionaron 5 ml de KOH al 45 %. La mezcla de

reacción se dejó en agitación continua por 2 h. La reacción se monitoreo cada 15 min por CCF hasta que se observó que se había consumido la materia prima. La fase orgánica se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna empleando un sistema hexano/AcOEt 6:4 obteniéndose un líquido denso color amarillo (380 mg, 96%).

**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz) δ:** 7.28 (2H, *m*, H-orto), 7.22 (2H, *m*, H-meta ), 6.94 (1H, *d*, *J*= 5.0, H-para), 5.34 (1H, *d*, *J* = 5.0, H-6), 4.91 (2H, *s*, H-bencilo), 3.36 (1H, *dd*, *J*<sub>gem</sub>= 10.0, *J*<sub>25-26</sub>= 5.0 Hz, H-26a), 3.29 (1H, *dd*, *J*<sub>gem</sub>= 10.0, *J*<sub>25-26</sub>= 5.0, H-26b ), 2.00 (3H, *s*, H-21), 1.06 (3H, *s*, H-19), 0.92 (1H, *s*, H-18), 0.85 (3H, *d*, *J*= 5.0, H-27).

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz) δ:** 71.7 (C-3), 141.2 (C-5), 121.4 (C-6), 130.0 (C-16), 139.4 (C-17), 18.6 (C-18), 19.4 (C-19), 109.3 (C-20), 10.1 (C-21), 134.2 (C-22), 67.9 (C-26), 16.5 (C-27), 48.5 (C-bencilo), 135.0 (C-ipso), 128.6 (C-meta-), 127.0 (C-para-), 126.1 (C-orto-).

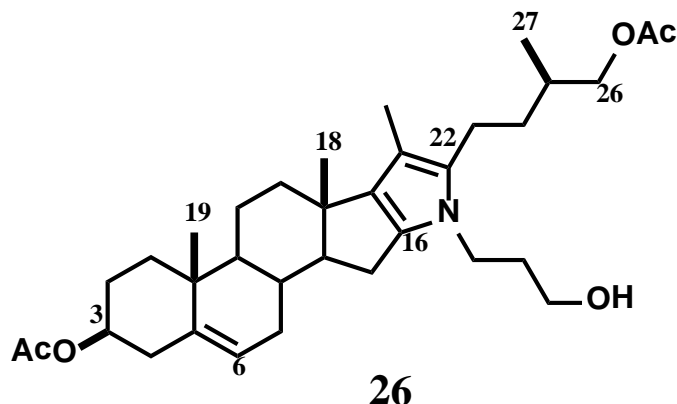
**[α]<sub>D</sub>**= -21.3° (c 0.1)

**IR (cm<sup>-1</sup>):** 3326 (OH); 2902 (C-H); 1437 (C-N aromático); 1353 (C=C); 1037 (C-N).

**Punto de fusión:** 95-97 °C

**EMAR (m/z):** [M]<sup>+</sup>. Calculado para C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>2</sub> 501.3607; observado 501.3687.

**Diacetato de *N*-(3-hidroxi)propilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo**  
(26)



Se utilizó el método empleado para sintetizar el compuesto **24**, solo que ahora con 3-aminopropanol.

El compuesto **26** se purificó con un sistema hexano/AcOEt 8:2 obteniéndose con un líquido denso color amarillo (0.41g, 76%).

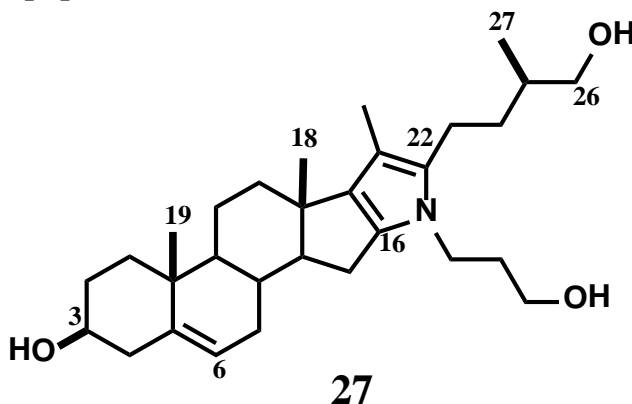
**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz)  $\delta$ :** 5.40 (1H, *d*,  $J = 5.0$ , H-6), 4.60 (1H, *m*, H-3), 3.98 (1H, *dd*,  $J_{\text{gem}} = 10$ ,  $J_{25-26} = 5$ , H-26a), 3.93 (1H, *m*,  $J_{\text{gem}} = 10$ ,  $J_{25-26} = 5$ , H-26b), 3.80 (2H, *t*,  $J = 10, 5$ , H-1''), 3.64 (2H, *t*,  $J = 5$ , H-3''), 2.05 (3H, *s*, H-3), 2.03 (3H, *s*, H-26), 1.96 (3H, *s*, H-21), 1.08 (3H, *s*, H-19), 1.00 (3H, *d*,  $J = 5$  Hz, H-27), 0.88 (3H, *s*, H-18).

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz)  $\delta$ :** 170.71 y 171.52 (C=O), 74.07 (C-3), 140.20 (C-5), 122.44 (C-6), 129.48 (C-16), 135.13 (C-17), 21.57 y 21.10 (C- OAc), 18.48 (C-18), 19.40 (C-19), 108.94 (C-20), 10.04 (C-21), 133.45 (C-22), 69.14 (C-26), 16.95 (C-27), 41.88 (C-1''), 60.31 (C-3'').

$[\alpha]_{\text{D}} = -53.9^{\circ}$  (c 0.9)

**EMAR (m/z): [M+H]<sup>+</sup>** Calculado para C<sub>34</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>5</sub> 553.3767; observado 554.3845.

***N*-(3-hidroxi)propilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20, 22]colest-5-eno-3 $\beta$ , 26-diol (27)**



Se utilizó el mismo método para sintetizar el compuesto **25**.

El compuesto **27** se purificó con un sistema hexano/AcOEt 5:5 obteniéndose un sólido color amarillo (315mg, 93%).

**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz)  $\delta$ :** 5.37 (1H, *m*, *J* = 5 Hz, H-6), 3.82 (2H, *m*, *J* = 15 Hz, 5Hz, H-1''), 3.65 (2H, *t*, *J* = 10 Hz, 5 Hz, H-3''), 3.53 (1H, *m*, *J* = 10 Hz, 5 Hz, H-3), 3.48 (2H, *m*, *J*=10 Hz, 5Hz, H-26), 1.96 (3H, *s*, H-21), 1.06 (3H, *s*, H-19), 0.97 (3H, *d*, *J*=10 Hz, H-27), 0.88 (3H, *s*, H-18).

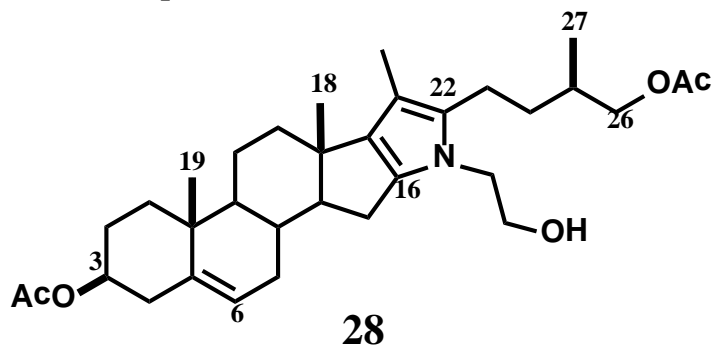
**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz)  $\delta$ :** 72.15 (C-3), 141.59 (C-5), 121.79 (C-6), 130.16 (C-16), 135.41 (C-17), 18.76 (C-18), 19.77 (C-19), 108.60 (C-20), 10.33 (C-21), 133.66 (C-22), 67.93 (C-26), 16.97 (C-27), 42.16 (C-1''), 60.44 (C-3'').

**$[\alpha]_D = -19.9^\circ$  (c 0.95)**

**IR (cm<sup>-1</sup>):** 3339 (O-H); 2928 (C-H); 1264 (C=C); 1041 (C-N).

**Punto de fusión:** 103-105 °C

**Diacetato de *N*-2-hidroxiethylpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (28)**



Se utilizó el método llevado a cabo para sintetizar el compuesto **24**, solo que ahora con 2-aminoetanol.

El compuesto **28** se purificó con un sistema hexano/AcOEt 8:2 obteniéndose un líquido denso color amarillo (0.250g, 47%).

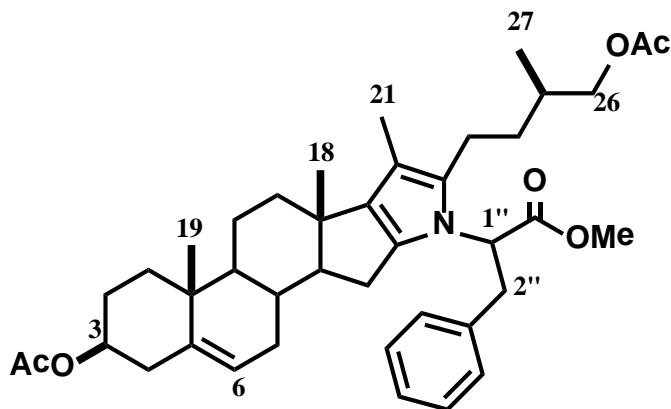
**RMN <sup>1</sup>H (125 MHz)  $\delta$ :** 5.39 (1H, *d*, *J* = 5, H-6), 4.60 (1H, *m*, H-3), 3.95 (1H, *dd*, *J* = 10, 5, H-26a), 3.93 (1H, *m*, *J* = 10, 5, H-26b), 3.81 (2H, *t*, *J*=10, 5, H-1''), 3.75 (2H, *t*, H-3''), 2.05 (3H, *s*, H-3), 2.02 (3H, *s*, H-26), 1.95 (3H, *s*, H-21), (1.07 (3H, *s*, H-19), 0.98 (3H, *d*, *J*=5, H-27), 0.87 (3H, *s*, H-18).

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz)  $\delta$ :** 171.53 y 170.73 (C=O), 74.06 (C-3), 140.17 (C-5), 122.42 (C-6), 129.94 (C-16), 135.31 (C-17), 21.57 y 21.10 (C-OAc), 18.42 (C-18), 19.38 (C-19), 109.25 (C-20), 10.04 (C-21), 133.94 (C-22), 69.04 (C-26), 16.96 (C-27), 47.27 (C-1''), 62.68 (C-2'').

**$[\alpha]_D$**  = -48.3° (c 0.55)

**IR (cm<sup>-1</sup>):** 2933 (C-H); 1714 (C=O); 1264 (C=C); 1044 (C-N).

**Diacetatode[1'S,25R]-N[2''fenil1''(metoxicarbonil)]etilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22] colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (29)**



**30**

**Liberación del aminoácido**

Se disolvieron 408 mg de L-fenilalanina en 5 ml de etanol, posteriormente gota a gota se agregan 1.1 eq. trietilamina. La mezcla de reacción se dejó en agitación continua a temperatura ambiente por media hora. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, se encuentra lista para ser utilizada como amina primaria.

Se disolvieron 50 mg de kriptogenina acetilada en 5 ml etanol, posteriormente se adicionaron 1.5 eq. ácido *p*-TsOH, y 408 mg de L-fenilalanina (previamente liberada). La mezcla de reacción se dejó condensar (reflujo-método convencional) a temperatura de 68°C- 70°C con agitación continua por 4 días. La reacción se estuvo monitoreando donde la CCF mostrara reacción y consumo de materia prima. Una vez transcurrido el tiempo se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> el producto formado. Por lo que la fase orgánica se lavó con HCl 5% (1x100ml), NaHCO<sub>3</sub> (1x100 ml), salmuera (2x100ml) y agua (1x100ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, a continuación la fase orgánica se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna.

El compuesto **29** se purificó con un sistema hexano/AcOEt 8:2 obteniéndose un líquido denso color amarillo (4.35 g, 87%).

**RMN <sup>1</sup>H (125 MHz)  $\delta$ :** 7.03 (1H, *m*, H-fenilo), 5.41 (1H, *d*, H-6), 4.61 (1H, *m*, H-3), 4.08 (1H, *m*, H-1''), 3.81 (1H, *dd*, H-26a), 3.78 (1H, *dd*, H-26b), 3.70 (3H, *s*, H-Me), 3.32 (1H,

*dd*, 2''a), 3.18 (1H, *dd*, 2''b), 2.04 (3H, *s*, H-3), 2.02 (3H, *s*, H-26), 1.10 (3H, *s*, H-19), 0.70 (3H, *s*, H-18), 0.33 (3H, *d*, H-27), 1.88 (3H, *s*, H-21).

$[\alpha]_{\text{D}} = -11.2^{\circ}$  (c 0.55)

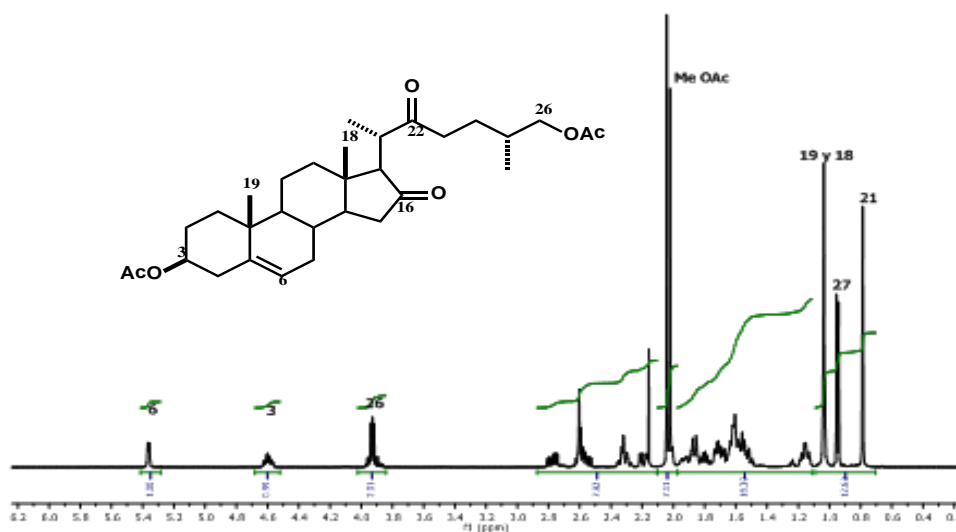
**IR (cm<sup>-1</sup>):** 2933 (C-H); 1723 (C=O) de OAc; 1259 (C=C).

## Discusión de resultados

Los anillos furostánicos son farmacóforos muy importantes a nivel farmacéutico por lo que varios laboratorios llevan a cabo síntesis de anillos de 5 miembros, donde los pirroles y sus derivados son un ejemplo ilustrativo. Generalmente se encuentran como componentes estructurales en las moléculas bioactivas tales como porfirinas, alcaloides y coenzimas.

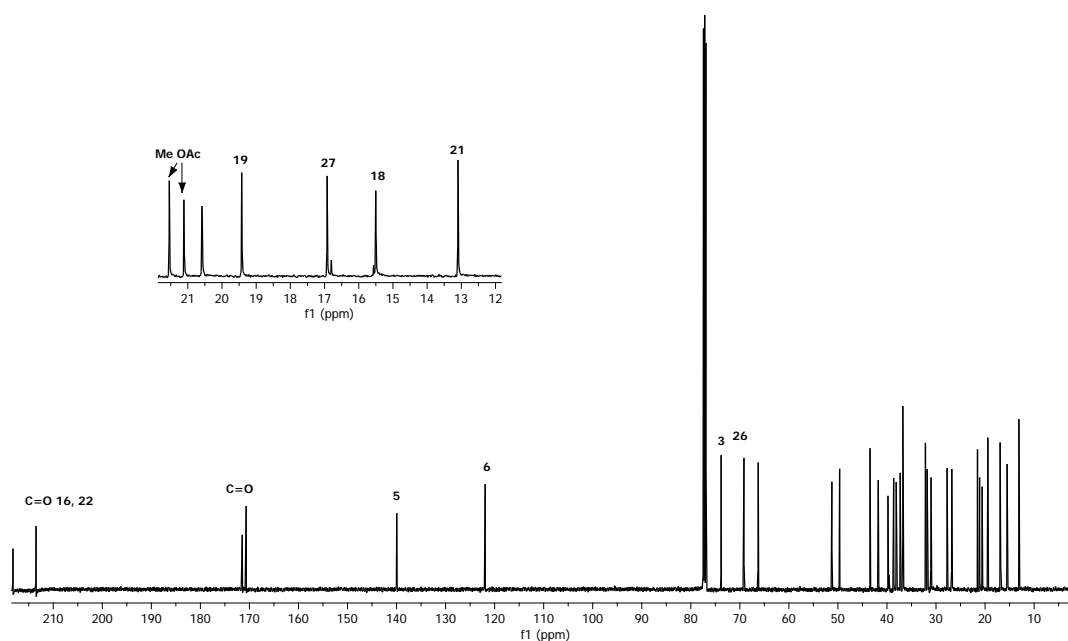
### Diacetato de (20*S*,25*R*)-colest-5-eno-16,22-diona-3 $\beta$ ,26-diilo (16)

El compuesto **16** fue diacetilado bajo condiciones estándar y purificado por cromatografía en columna en proporciones de hexano:AcOEt 7:3. Es un compuesto muy estable que tiende a cristalizar inmediatamente. En la **figura 14** se presenta el espectro RMN de  $^1\text{H}$  de este compuesto. Se muestra en 5.36 ppm una señal doble para H-6 cuyo desplazamiento es característico para un protón vinílico. Posteriormente se observa una señal múltiple para H-3 a 4.60 ppm, otra señal es la correspondiente a los protones de 26 como señal múltiple a 3.93 ppm. Luego se observan dos señales simples a 3.94 y 2.02 ppm perteneciente a los metilos de los acetatos. Mientras que los metilos 18 y 19 se muestran en 1.03 y 1.04 ppm. El metilo 27 se encuentra en 0.95 ppm como una señal doble, y el metilo 21 presenta una señal simple desplazada a frecuencias bajas en 0.79 ppm.



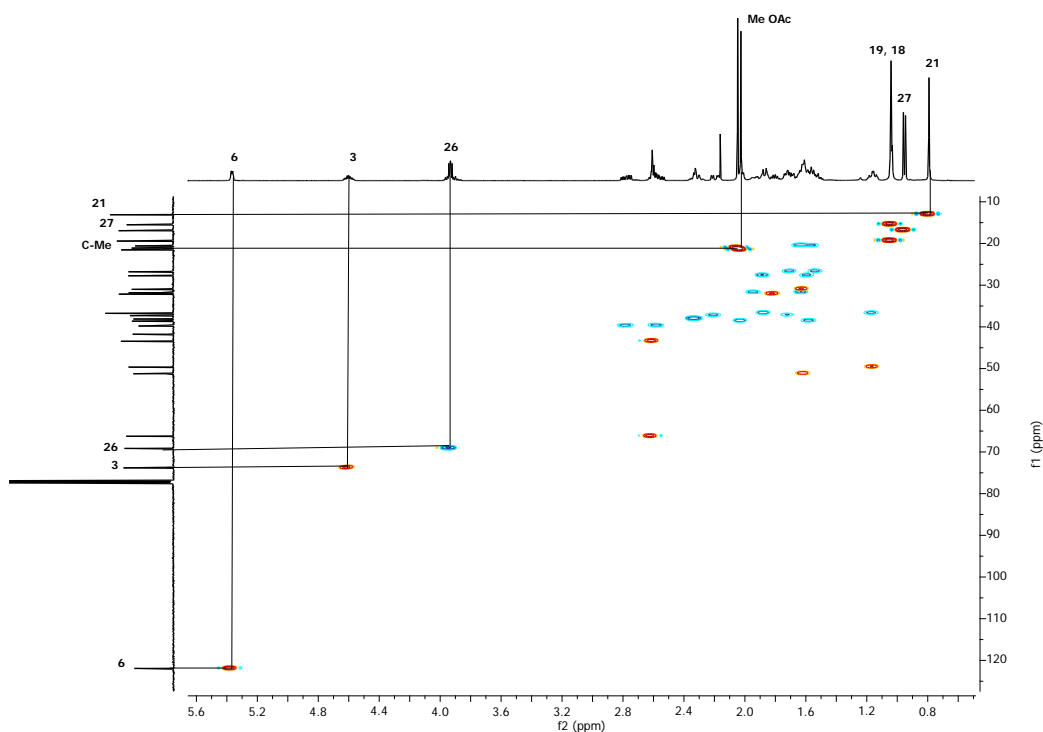
**Figura 14.** RMN de  $^1\text{H}$  de 16.

De acuerdo a la siguiente figura, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  se resalta las siguientes señales. Los carbonilos de 16 y 22 se encuentran a 210.0 ppm, luego en 170.0 ppm los carbonilos de acetato, es decir, evidencia de la protección de las posiciones 3 y 26. Otras señales características son; la insaturación en 5 que indica la presencia del doble enlace, así como los carbonos de los metilos 18, 19, 21 y 27 respectivamente. Precisamente en el sistema 1,4-dicarbonílico que se puede observar en la estructura de **16** es donde se construye el pirrol.



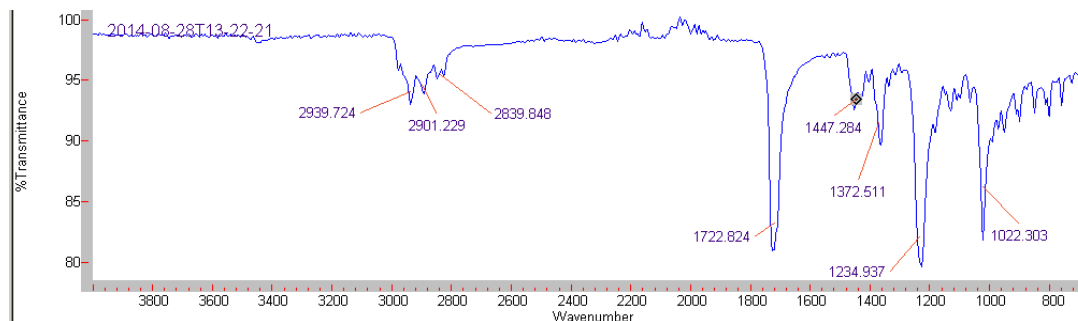
**Figura 15.** RMN de  $^{13}\text{C}$  de 16.

Las señales de  $^1\text{H}$  con su correspondiente carbono se asignaron gracias a la ayuda del experimento de correlación HSQC, **figura 16**. Se observa la correlación a un enlace de distancia. Todas las señales son características del compuesto, sin embargo, las más importantes son metilo 21, metilos de los ésteres, pues la formación de un anillo indicará nuevos desplazamientos y nuevas correlaciones.



**Figura 16.** Experimento HSQC de 16.

El IR es una herramienta importante para la determinación de grupos funcionales en una molécula orgánica. A continuación se presenta el espectro de IR indicando lo siguiente; a  $2900\text{ cm}^{-1}$  una banda estrecha correspondiente a C-H, en  $1722\text{ cm}^{-1}$  presencia del grupo carbonilo, a  $1372\text{ cm}^{-1}$  C-O del grupo éster y en  $1234\text{ cm}^{-1}$  del doble enlace ubicado en el anillo B de la kriptogenina,



**Figura 17.** IR de 16

### **Caracterización de diacetato de *N*-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ , 26-diilo (24)**

La síntesis de pirroles esteroidales no fue un trabajo fácil, ya que hubo ciertas complicaciones tales como; elección del disolvente, el tiempo de reacción, la cantidad de amina y la pureza del reactivo. La bencilamina se destiló antes de iniciar la reacción, fue sellada, aislada de la humedad y se empleó inmediatamente. La reacción se ensayó con pequeñas cantidades de bencilamina pero la CCF no mostró consumo de materia prima por lo que para la obtención del compuesto **24** se emplearon grandes cantidades de bencilamina (ver parte experimental) bajo condiciones de reflujo en calentamiento convencional. De acuerdo a los excelentes resultados se decidió realizar la reacción por calentamiento en microondas para incrementar los rendimientos y disminuir el tiempo de reacción, pero la CCF mostró pequeños cambios, sin embargo empleando un catalizador ( $\text{FeCl}_3$ ) en calentamiento convencional el tiempo de reacción disminuyó a 1 h y se consumió toda la materia prima sin obtener ningún subproducto.

Es importante mencionar que la síntesis de pirrol con bencilamina fue una de las que se obtuvo con mayor rendimiento. La estructura del pirrol**24**, fue establecida por métodos espectroscópicos que corroboran la formación del mismo y como se mencionó en los antecedentes la síntesis de anillos furostánicos en esteroides es realmente escasa.

En la **figura 18** se muestra el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto **24**, se pueden apreciar a campo bajo los protones del fragmento aromático que indica tres señales; en 7.27 ppm los protones orto, en 7.21 ppm los protones meta y en 6.92 ppm el protón en para. La señal de protón del metileno bencílico que se encuentra unido al nitrógeno se muestra en 4.91 ppm. De acuerdo a la ruta sintética, se protegieron las posiciones 3 y 26 por lo tanto los metilos de ambas señales se observan a campos altos a 2.02 ppm y 1.97 ppm. La señal del metilo 21 es una evidencia clara de la formación del anillo del pirrol y en comparación con la materia prima se observa ahora en 2.00 ppm. Ahora presenta una multiplicidad simple debido a la ausencia de 20. El metilo 19 se encuentra en 1.08 ppm y se ubicó ya que correlaciona con 5 en el experimento HMBC. El metilo 18 aparece en 0.93 ppm y 27 en 0.85 ppm desplazándose más hacia campo alto.

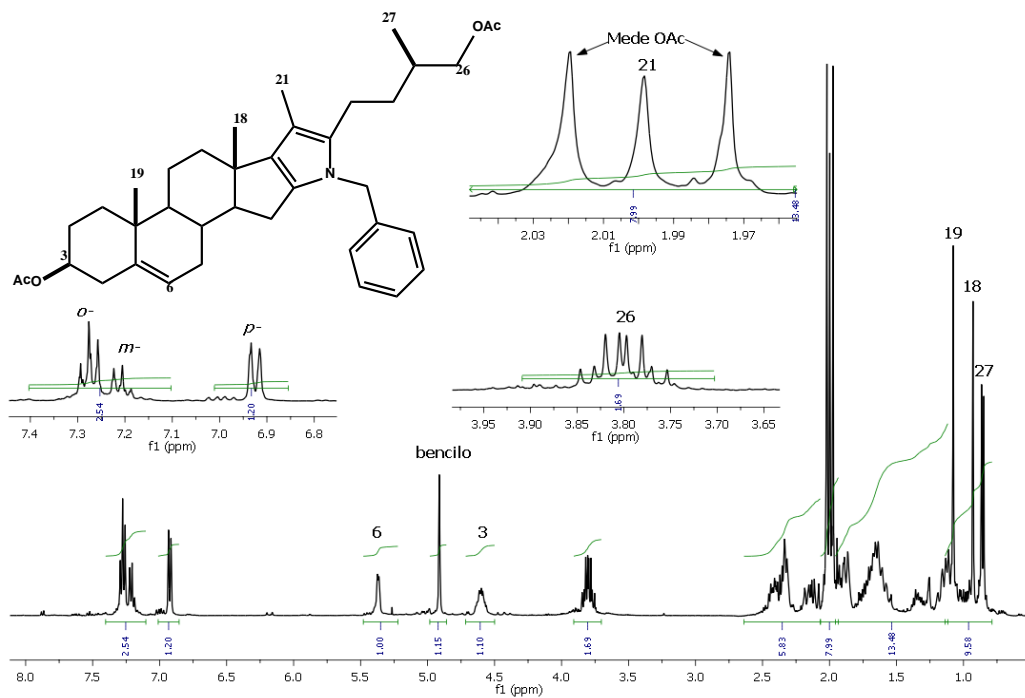


Figura 18. RMN de  $^1\text{H}$  de 24.

En la **figura 19** se muestra el experimento COSY en el que se pueden resaltar en la expansión las correlaciones de los protones del fragmento aromático (*orto*, *meta* y *para*).

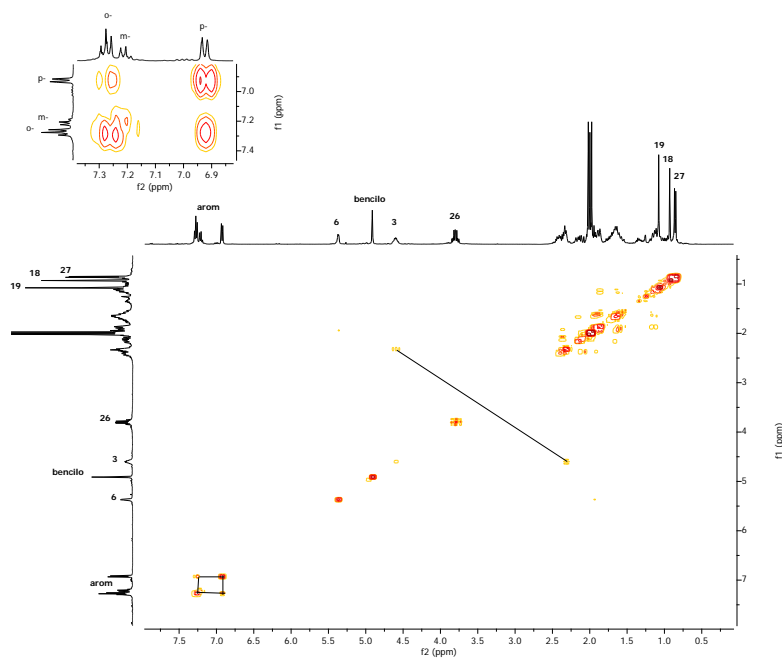


Figura 19. Experimento COSY de 24.

En la expansión del experimento HMBC del fragmento aromático se ilustran las correlaciones de los protones *orto*, *meta* y *para*, donde el *orto* correlaciona con el C-*meta*, el *meta* correlaciona con el C-*para* y el *para* correlaciona con el C-*meta*.

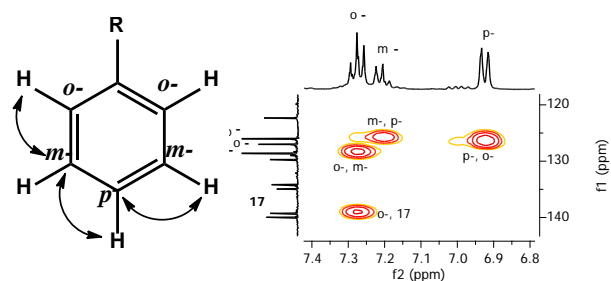


Figura 20. Experimento HMBC de 24.

En la **figura 21** se observan las correlaciones que pertenecen al fragmento bencílico como las que se presenta con los carbonos aromáticos y con 17. Con este último la correlación con bencilo es muy característica ya que forma parte del anillo pirrólico.

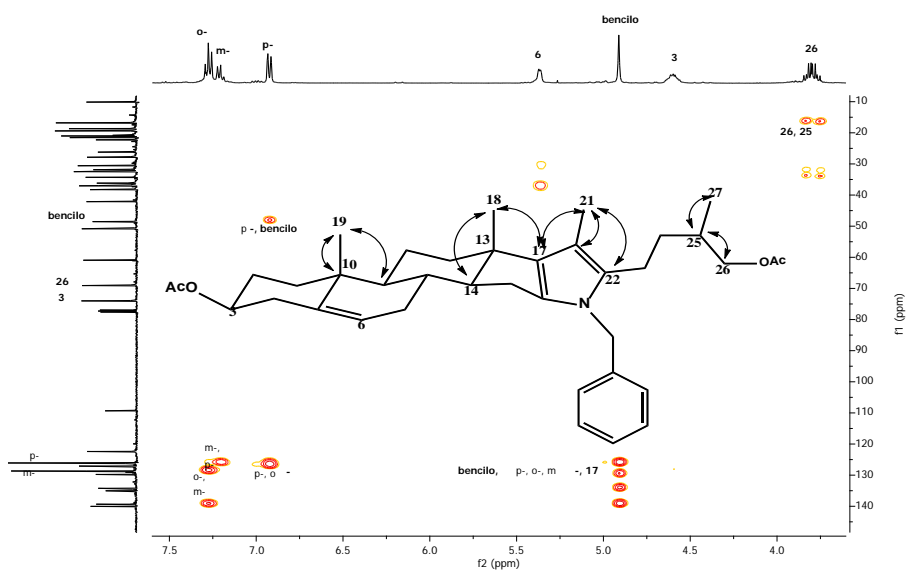
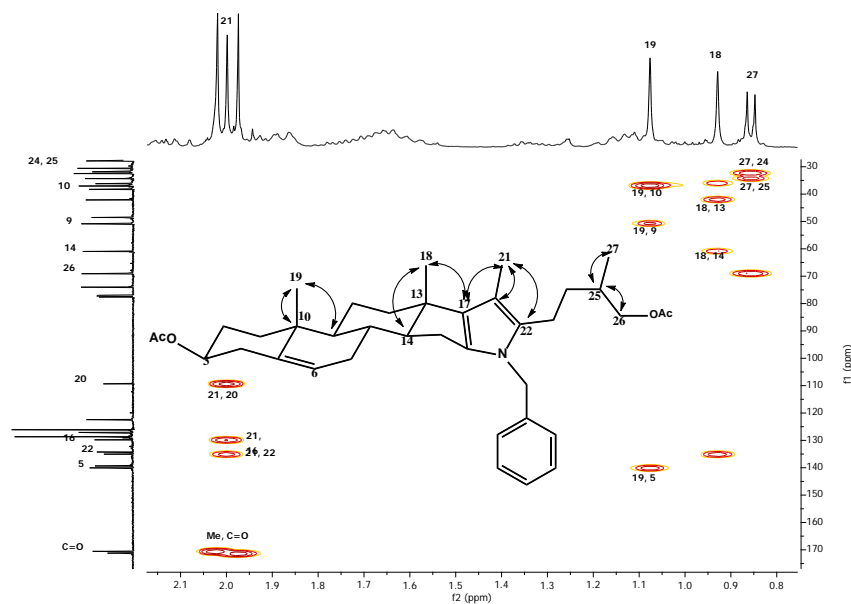


Figura 21. Experimento HMBC de 24.

En la **figura 22** se muestra otra expansión del experimento HMBC donde se observan las correlaciones del esqueleto esteroidal con el propósito de identificar mejor las señales y

corroborar la formación del pirrol. Otras señales características que indican la formación del anillo pirrol son las siguientes correlaciones; el metilo 21 con 120 a 109.3 ppm, con 16 a 130.0 ppm y con 22 a 134.3 ppm respectivamente.

En la misma figura se observan las correlaciones de los metilos 19 y 18, ya que no forman parte del anillo pirrólico pero indican que se mantiene la estructura de los anillos A, B, C y D.



**Figura 22.** Experimento HMBC de 24.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  se asignan los 38 carbonos correspondientes a **24** donde encontramos las siguientes señales; en 126.0 ppm los protones orto, en 127.0 ppm el protón para y en 128.6 ppm los protones meta. La señal del carbono vinílico de 6 se observa en 121.3 ppm. Para las posiciones protegidas por los acetatos, el carbonilo del éster en la posición 3 se observa en 71.7 ppm y en el de 26 a 67.9 ppm. La señal de metileno bencílico se observa en 48.3 ppm y la del carbono ipso en 135.0 ppm. Las señales que representan a los metilos se observan como sigue: 19 en 19.4 ppm, 18 en 18.5 ppm, 27 en 16.4 ppm y 21 en 10.0 ppm. También se observa la desaparición de los grupos carbonilo de 16 y 22 que se encontraban en 210 ppm. Como ya se describió en las figuras anteriores es de gran ayuda el experimento HMBC ya que se pueden obtener correlaciones heteronucleares a 3 y 4 enlaces de distancia.

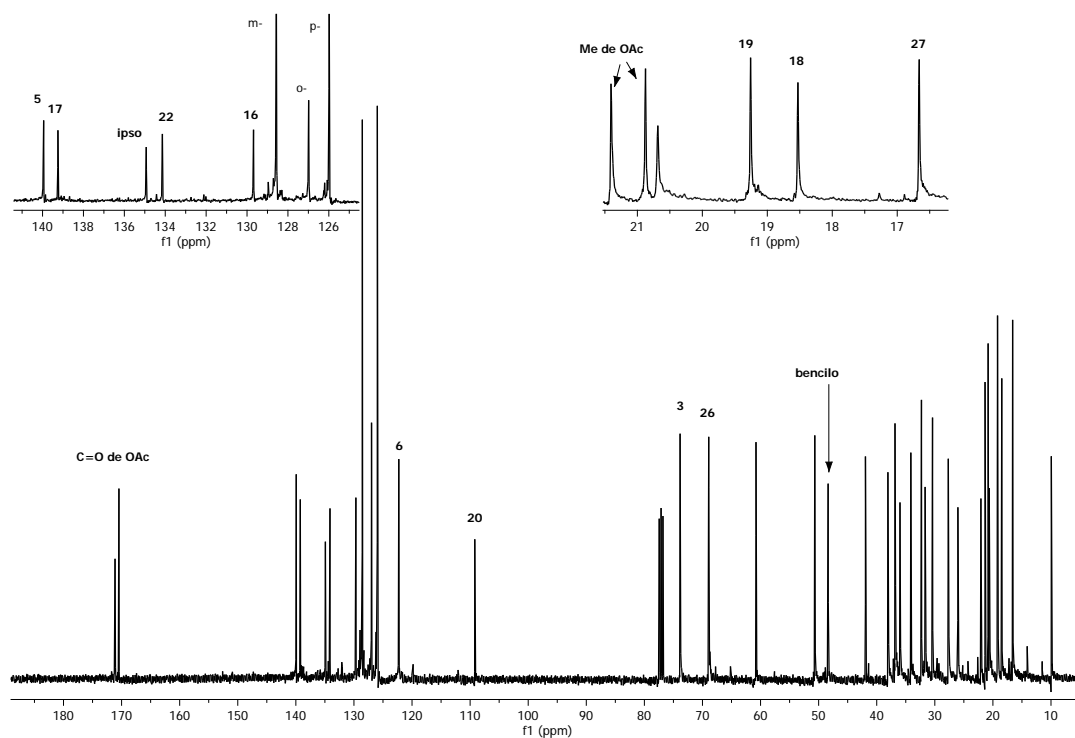


Figura 23. RMN de  $^{13}\text{C}$  de 24.

Se empleó espectroscopia IR para caracterizar el pirrol **24** mostrando lo siguiente; una banda estrecha que aparece en 2945 de C-H, otra señal característica en  $1732\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al grupo funcional carbonilo, en  $1243\text{ cm}^{-1}$  una banda fuerte del doble enlace en el anillo B del esteroide y en  $1373\text{ cm}^{-1}$  a C-N.

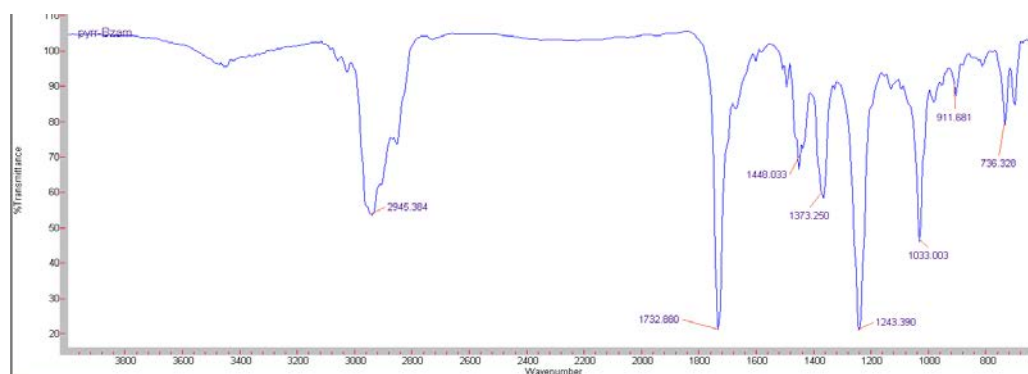


Figura 24. IR de 24.

### ***N*-bencilpirrolo[2', 3', 4', 5':16, 17, 20, 22]colest-5-eno-3 $\beta$ , 26-diilo (25)**

Una vez corroborado la formación del pirrol en la kriptogenina diacetilada, se procedió a la desprotección de la misma. Se ensayó primero con NaOMe/MeOH 0.5 M, pero los espectros de resonancia mostraron que no se desprotegió totalmente. Debido a esto se empleó una solución de KOH/MeOH al 45%. Los resultados se explican en los espectros de resonancia mostrados a continuación.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto **25** se encuentran a frecuencias altas los protones aromáticos; en 7.28 ppm los de la posición orto, en 7.22 ppm los de la posición meta y en 6.93 ppm el de la posición para.

Los protones base de oxígeno 3 y 26 se observan como; una señal *m* en 3.50 ppm y una señal *dddd* en 3.32 ppm respectivamente. En el caso de los protones diastereotópicos de 26 ambas señales aparecen como se indica; una señal *dd* a 3.36 ppm y otra señal *dd* a 3.29 ppm, estas son señales observadas por separado ya que su ambiente químico es diferente. Ambos protones de 26 correlacionan entre sí con H-25 y presentan constantes de acoplamiento de 10 y 5 Hz.

La señal de los protones de bencilo se observan en 4.91 ppm. A frecuencias bajas ya no se observan las señales de los metilos de los grupos acetato ya que la molécula **24** fue saponificada y solo se observa una señal simple hacia 2.00 ppm que corresponde al metilo 21. A frecuencias bajas se observan las señales de los metilos 19 como una señal simple a 1.06 ppm, 18 una señal simple a 0.92 ppm y 27 a 0.85 ppm, el cual presenta una multiplicidad doble.

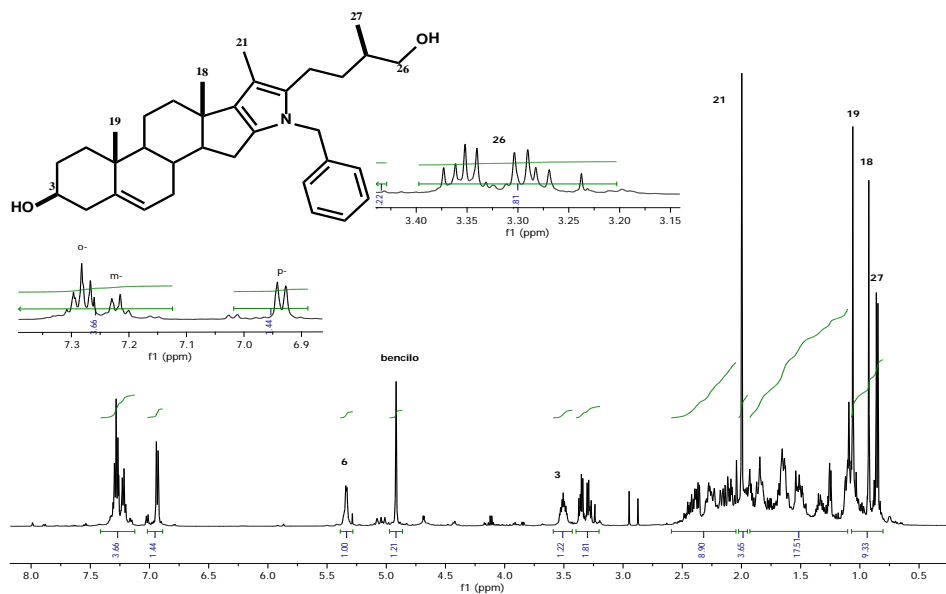


Figura 25. RMN de  $^1\text{H}$  de **25**.

Para evidenciar que realmente se desprotegeron las posiciones 3 y 26 observamos que en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **25** ya no se observan los carbonilos de los acetatos que se encontraban en 3 y 26. Las señales que representan a los metilos se observan así; 19 en 19.4 ppm, 18 en 18.5 ppm, 27 en 16.4 ppm y 21 en 10.1 ppm. En el compuesto **24** aparecían los metilos de los acetatos hacia 20 ppm y en este espectro ya no se observan.

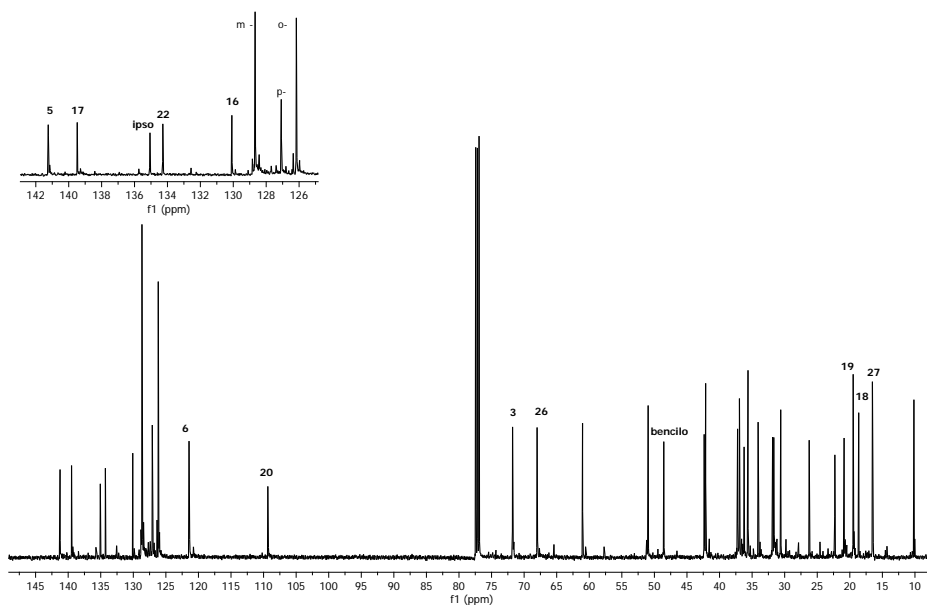


Figura 26. RMN de  $^{13}\text{C}$  de **25**.

Ahora bien si analizamos el espectro de HMBC también encontraremos que los únicos cambios observables tanto para el espectro de  $^1\text{H}$  como de  $^{13}\text{C}$  es que no existen ya las señales de metilo y de carbonilo que formaban parte de los acetatos. También se observan que las correlaciones a 3 y 4 enlaces de distancia se siguen manteniendo como se muestra en la figura.

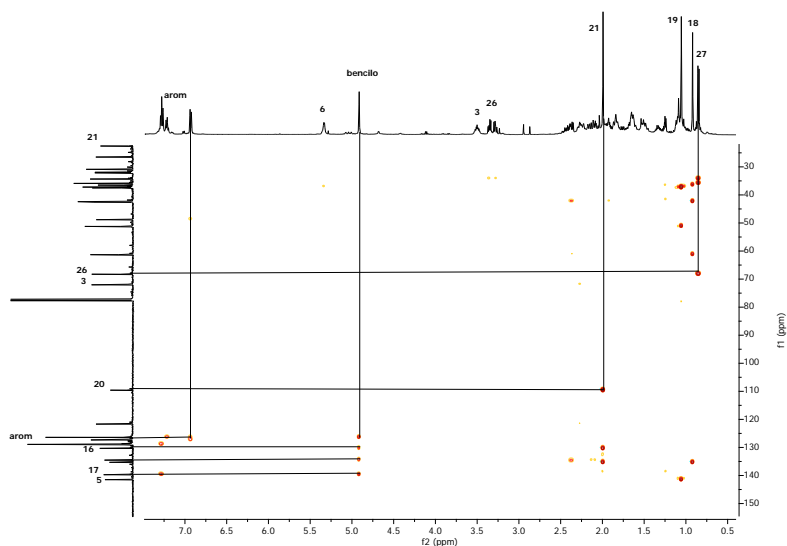
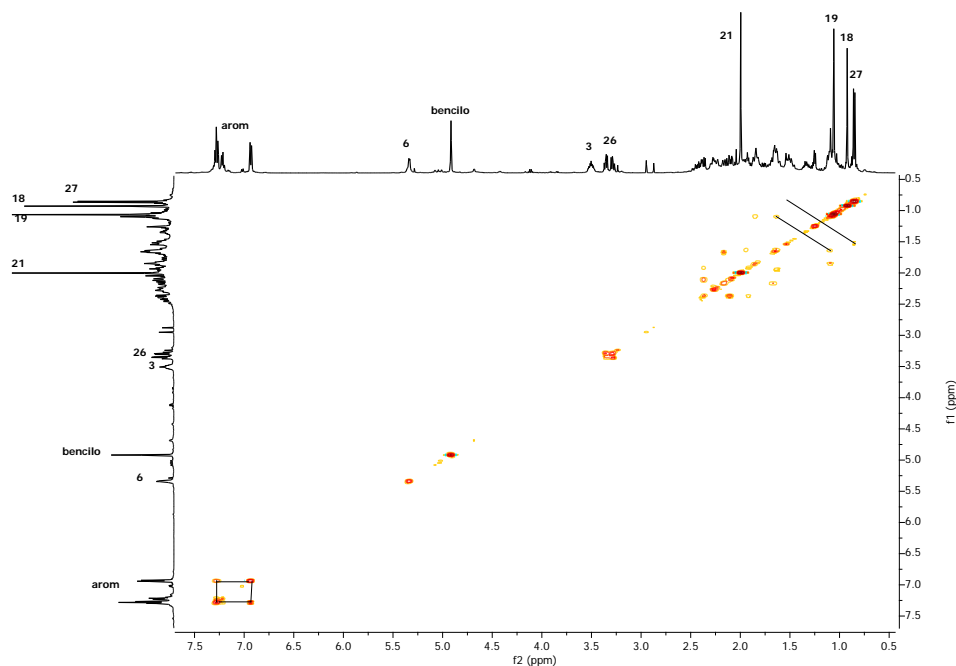


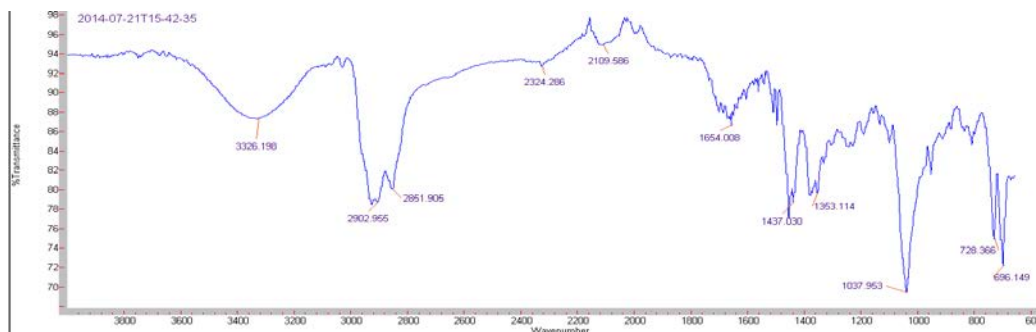
Figura 27. Experimento HMBC de 25.

En el experimento COSY de **25** en comparación al compuesto **24** hubo pequeños desplazamientos de las posiciones 3 y 26, ya que indican la presencia del grupo éster. Es decir, en el compuesto **25** los desplazamientos se encuentran hacia frecuencias altas y una vez desprotegidas dichas posiciones, las señales se desplazan un poco a frecuencias bajas.



**Figura 28.** Experimento COSY de 25.

Para determinar la formación del pirrol también se empleó IR mostrando las siguientes bandas. El compuesto **25** indica que se hizo una desprotección en C-3 y C-26, entonces en el siguiente espectro se observa; a  $3326\text{ cm}^{-1}$  una banda ancha característica de los alcoholes, en  $2902\text{ cm}^{-1}$  de C-H, en  $1437\text{ cm}^{-1}$  una banda estrecha de C-N, a  $1353\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la insaturación del C-5 del cuerpo esterooidal, si comparamos dicho espectro con el del compuesto **24** se observa la desaparición de la banda que representa al grupo carbonilo, una evidencia más de que se ha desprotegido las posiciones 3 y 26 del pirrol sintetizado.



**Figura 29.** IR de 25.

## Diacetato de *N*-3-hidroxi-propilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (26)

La siguiente descripción de síntesis de pirrol con 3-aminopropanol un compuesto del que se obtuvieron excelentes resultados. Primeramente se ensayó con pequeñas cantidades de ácido y de amina, pero la CCF no mostró consumo de materia prima. De acuerdo a la estructura de 3-aminopropanol es una amina primaria con una cadena carbonada y un grupo funcional hidroxilo en el C-3, por lo que ambos grupos funcionales pueden reaccionar en la síntesis. Con éste análisis subsecuente del primer ensayo, se procedió a volver ensayar la reacción pero aumentando la cantidad de ácido y de amina tal como se muestra en la parte experimental. Después se empleó FeCl<sub>3</sub> como catalizador disminuyendo el tiempo de reacción, pero la CCF indicaba que conforme pasaba el tiempo se obtenían subproductos.

En el espectro de RMN de <sup>1</sup>H del compuesto **26** se observan 5.40 ppm la señal del protón vinílico de 6, la señal de 3 en 4.60 y la del 26 en 3.95 ppm. En comparación al espectro de la kriptogenina aparecen a campo bajo dos nuevas señales; una correspondiente a dos protones de 1'' en 3.80 ppm como una señal triple y otro triplete en 3.64 ppm que integra para dos protones y corresponde a 3''. En 1.96 ppm se observa al metilo 21 el cual evidencia la formación del anillo de pirrol, por la ayuda de los experimentos HMBC y HSQC.

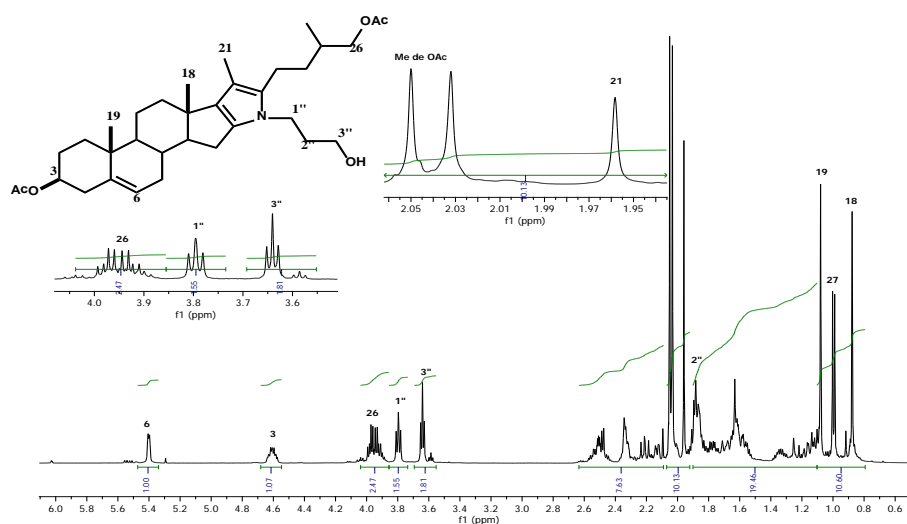
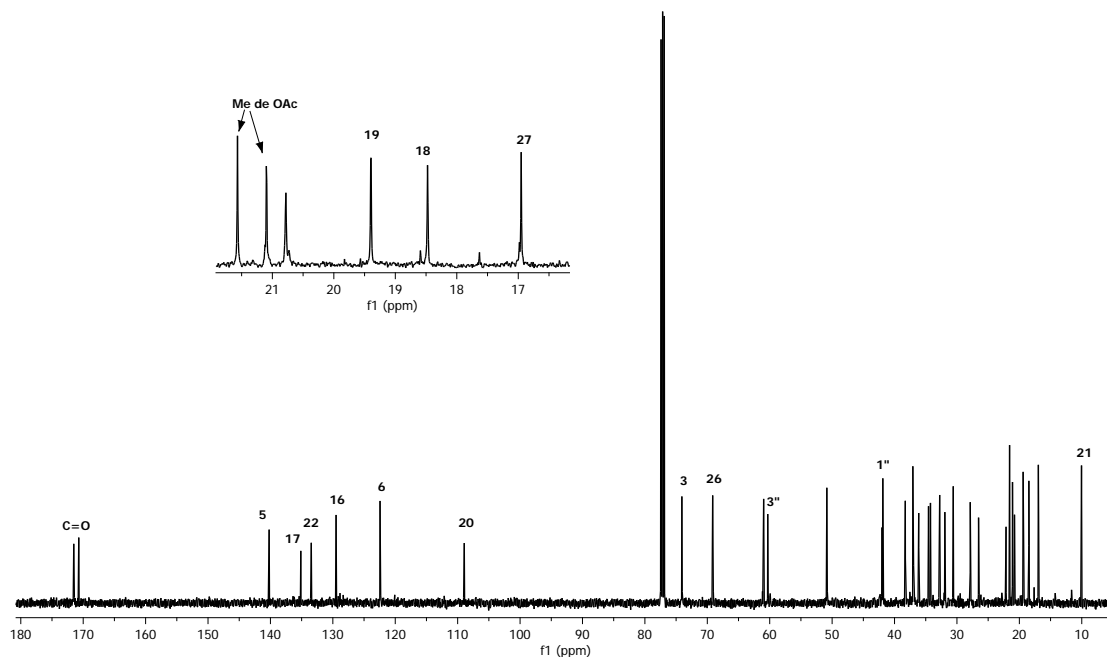


Figura 30. RMN de <sup>1</sup>H de 26.





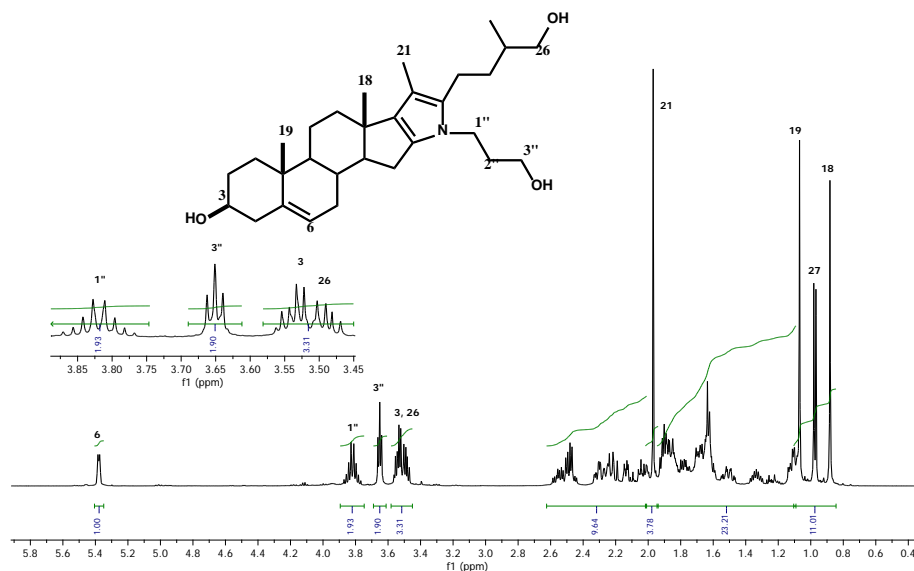
**Figura 32.** RMN de  $^{13}\text{C}$  de 26.

***N*-(3-hidroxi)propilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (27)**

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  mostraron la formación del pirrol con 1-propanolamina, por lo que se desprotegieron las posiciones 3 y 26 con KOH/MeOH al 45%, para ello no se hicieron ensayos, y la CCF mostró reacción al instante de adicionar la base (ver parte experimental). E pirrol sintetizado con 1-aminopropanol fue estable para realizar el último paso, se obtuvieron buenos rendimientos y se describe en los siguientes espectros de RMN.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto **27** se encuentra la señal de protón vinílico de 6 en 5.37 ppm y se observa que aparecen dos nuevas señales una correspondiente para los dos protones de 1'' en 3.82 ppm como una señal múltiple y después una señal triple que integra para dos protones y corresponde a 3'' en 3.65 ppm. Los protones base de oxígeno 3 y 26 se observan en 3.53 y 3.48 ppm respectivamente. En el caso de los protones diastereotópicos de 26 ambas señales aparecen como una señal múltiple. Se observa que ambos protones de 26 correlacionan entre si con H-25 y presentan constantes de acoplamiento de 10 y 5 Hz. A frecuencias bajas ya no se observan las señales de los metilos

de los grupos acetato ya que la molécula **26** fue saponificada y sólo se observa una señal simple hacia 1.96 ppm que corresponde al metilo 21. A frecuencias bajas se observan las señales de los metilos 19 (1.06 ppm), 18 (0.88 ppm) y 27 (0.97 ppm), el cual presenta una multiplicidad doble.



**Figura 33.** RMN  $^1\text{H}$  de **27**.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **27** se observan las señales correspondientes al fragmento propanol unido al pirrol en 42.2 ppm para 1'' que se encuentra unido al nitrógeno del anillo pirrónico y 60.4 ppm para 3'' que se encuentra unido al grupo hidroxilo. Asimismo ya no se observan los carbonilos de los acetatos que se encontraban en 3 y 26. Las señales que representan a los metilos se observan así; 19 en 19.7 ppm, 18 en 18.7 ppm, 27 en 16.9 ppm y 21 en 10.3 ppm. En el compuesto **26** aparecían los metilos de los acetatos hacia 21 ppm y en este espectro ya no se observan.

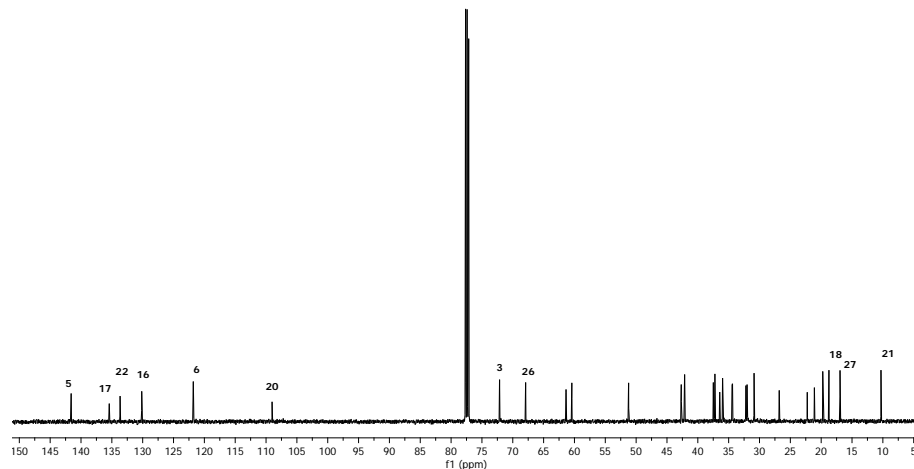


Figura 34. RMN  $^{13}\text{C}$  de 27.

Las correlaciones a 3 y 4 enlaces de distancia para corroborar la desprotección de las posiciones 3 y 26 con ayuda del experimento HMBC. Se observa que se mantienen las correlaciones de los metilos 19, 28, 27, pero también la evidencia de la formación del pirrol del metilo 21 y la aparición de las nuevas señales 1'' y 3'' que a su vez se correlacionan.

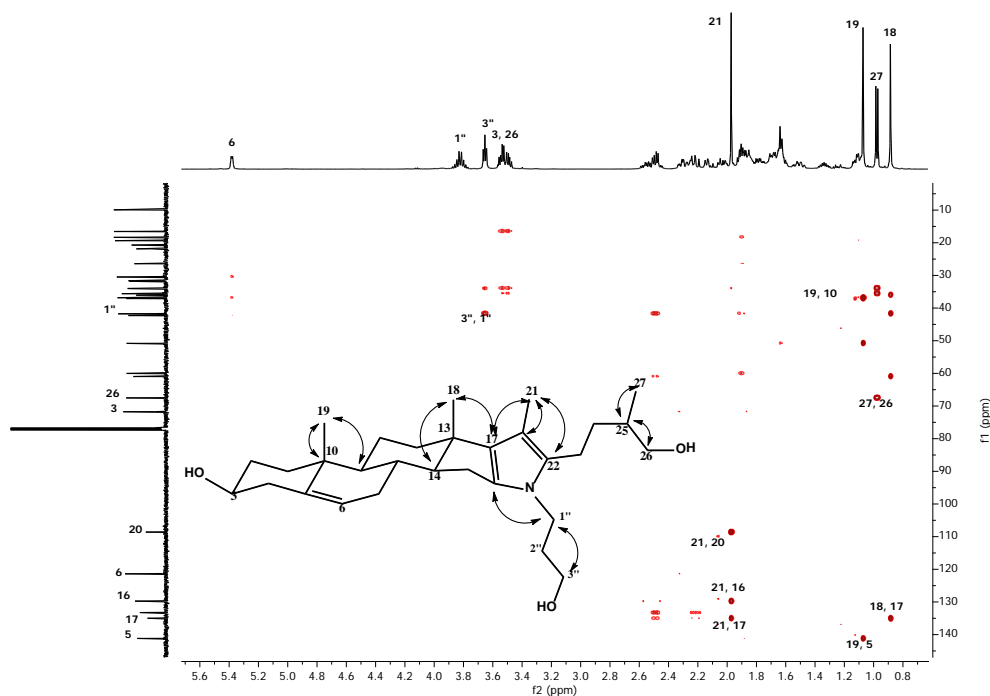


Figura 35. Experimento HMBC de 27.

En la siguiente figura se muestra el espectro de IR donde se observan las señales características del compuesto **27** tales como; en  $3339\text{ cm}^{-1}$  una banda ancha que corresponde al grupo hidroxilo, es decir, indica que realmente se desprotegió en las posiciones 3 y 26 sin evidencia del grupo carbonilo, luego otra banda en  $2928\text{ cm}^{-1}$  de C-H, y en  $1264\text{ cm}^{-1}$  una banda del doble enlace.

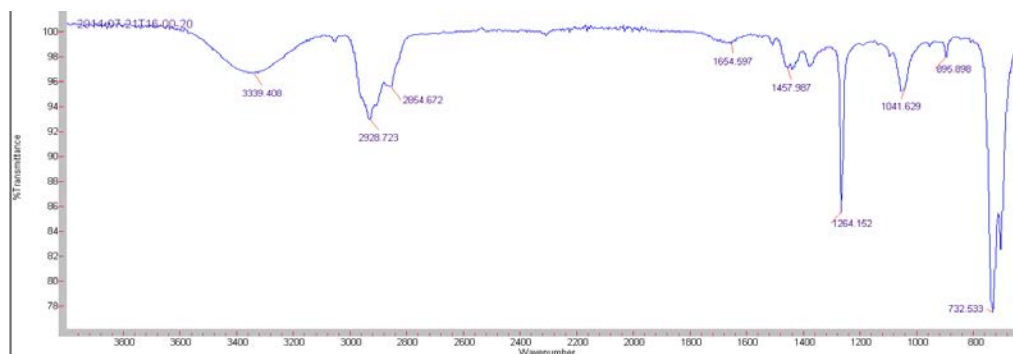


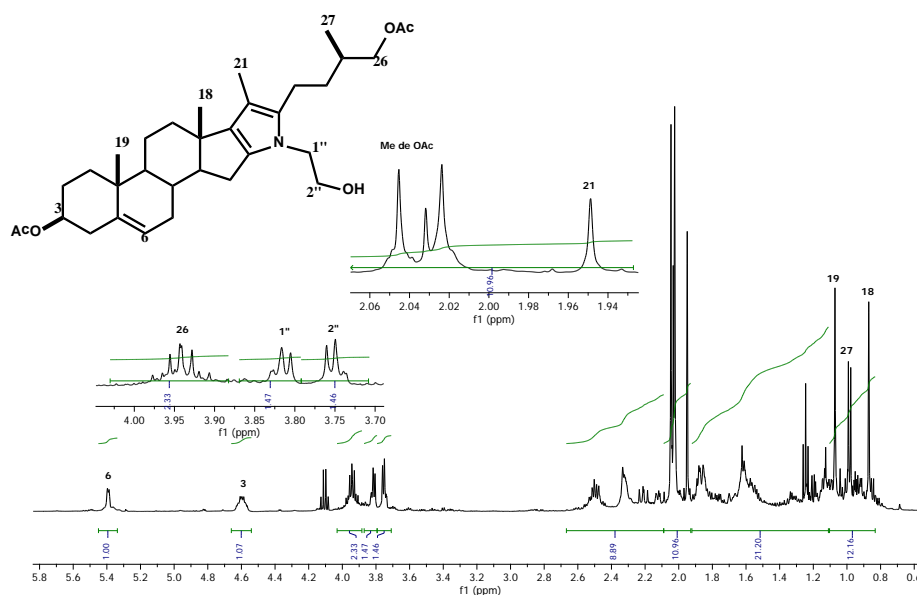
Figura 36. IR de 27.

### Diacetato de *N*-(2-hidroxi)etilpirrolo[2', 3', 4', 5':16, 17, 20, 22]colest-5-eno-3 $\beta$ , 26-diilo (28)

Siempre ha sido de suma importancia conocer la pureza de los reactivos que empleamos. Muchos de ellos se adquieren comercialmente y se emplean sin previa purificación. Otros requieren de un tratamiento extra. Para la obtención de **28** se presentaron algunas inconveniencias, tales como que la cantidad empleada fuera la adecuada (ver parte experimental) y vigilar la pureza de los reactivos. La etanolamina se destiló inmediatamente antes de comenzar la reacción y debía mantenerse sellada a baja temperatura y aislada de la humedad como se hizo con las aminas anteriores. Si no se tenía el debido cuidado al momento de monitorear la reacción por CCF se observaban demasiadas impurezas. A pesar de ello el producto deseado se obtuvo en bajos rendimientos 47% y cuando se intentó hacer la desprotección de C-3 y C-26 fue tan inestable que en columna se comenzaba a descomponer. Se intentó adquirir la RMN de la desprotección inmediatamente después de finalizar la reacción pero no fue posible.

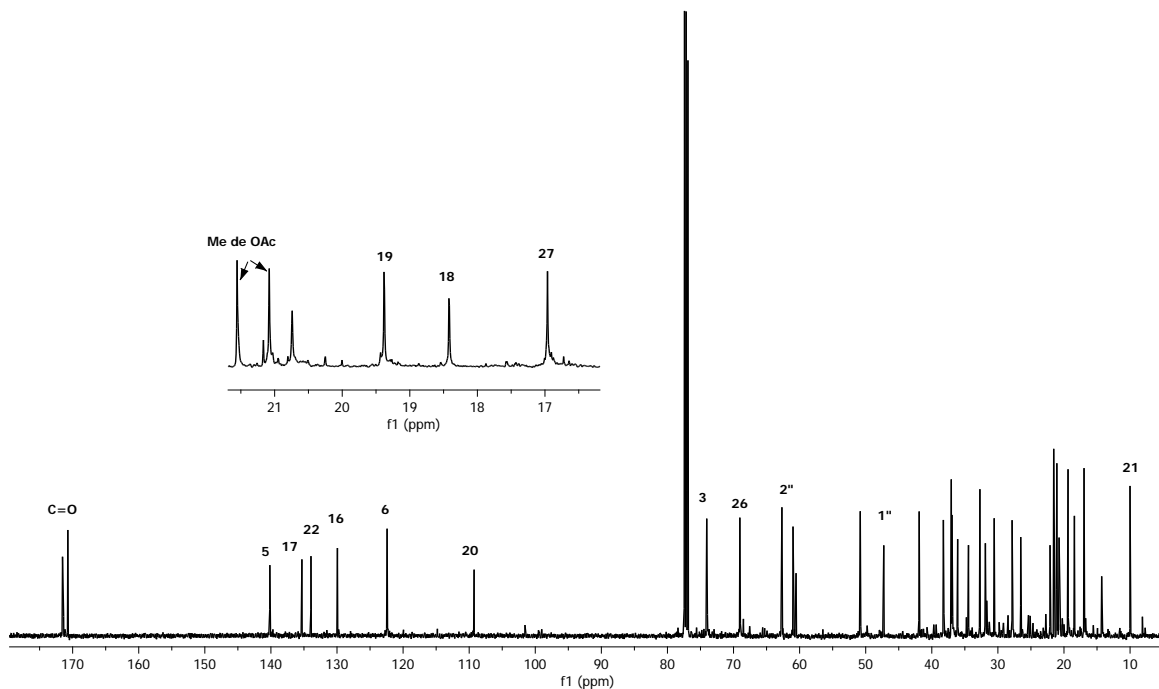
En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto **28** se encuentra la señal de protón de 6 en 5.37 ppm y se observa que aparecen las señales para los protones de la posición 1'' en 3.82

ppm como una señal múltiple y después una señal triple que integra para dos protones y corresponde a la posición 3'' en 3.65 ppm. Las posiciones acetiladas 3 y 26 se observan en 3.53 y 3.48 ppm. En 1.95 ppm se observa al metilo 21 el cual evidencia la formación del anillo de pirrol, por la ayuda de los experimentos HMBC y HSQC. Para las señales de los metilos 19 a 1.07 ppm, 27 a 0.98 ppm y 18 a 0.87 ppm respectivamente.



**Figura 37.** RMN de  $^1\text{H}$  de 28.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **30** se asignó con ayuda de los experimentos de dos dimensiones la señal de 6 en 21.7 ppm. Para las posiciones base oxígeno de 3 y 26 se muestran señales en 72.1 y 67.9 ppm. También se observan las señales correspondientes al fragmento etanol unido al pirrol a 42.1 ppm para C-1'' y 60.4 ppm para C-3''.



**Figura 38.** RMN de  $^{13}\text{C}$  de 28.

El experimento HMBC fue elemental para la asignación de las señales en las nuevas estructuras pirrólicas. Nos brindó, junto con los demás experimentos la información adecuada para determinar que se ha formado el pirrol, mediante la reacción de Paal-Knorr, en donde se encontraba el sistema 1,4-dicarbonílico de la materia prima.

A pesar de que éste pirrol fue un compuesto muy inestable se observan claramente las señales de la evidencia, como la correlación a 3 enlaces de distancia de 1'' con 16, 22 y 2'' respectivamente, así como de los protones de C-26 con C-25, C-27 y C-24.

Mientras que en otra expansión para la **figura 39** del mismo compuesto, se observa la otra evidencia correspondiente al metilo 21 que se correlaciona con C-20, C-16, C-20, y la correlación de los metilos con sus respectivos carbonilos.

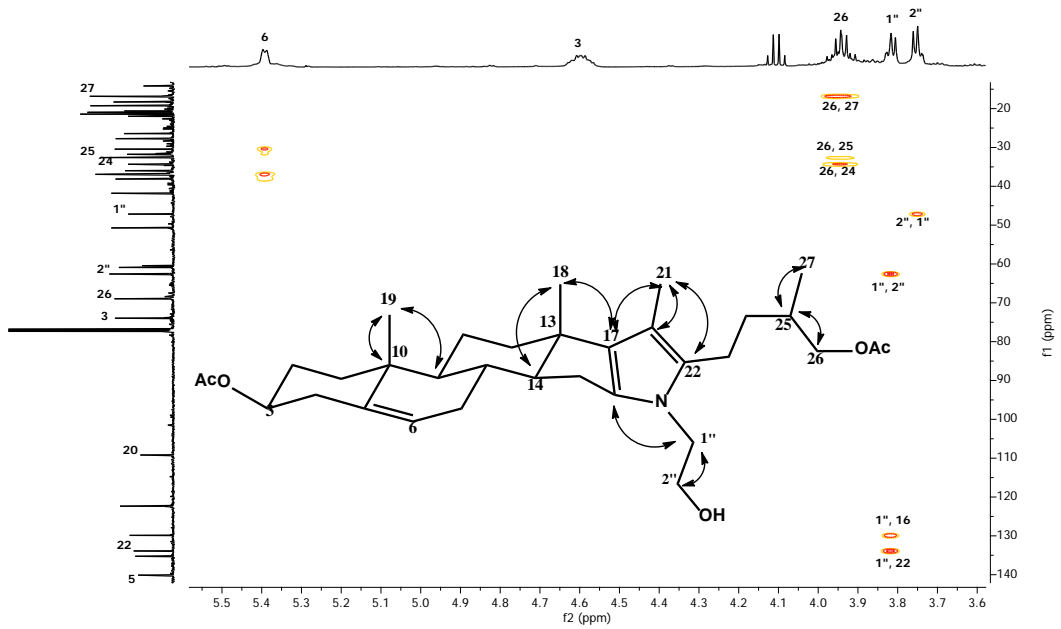


Figura 39. Experimento HMBC de 28.

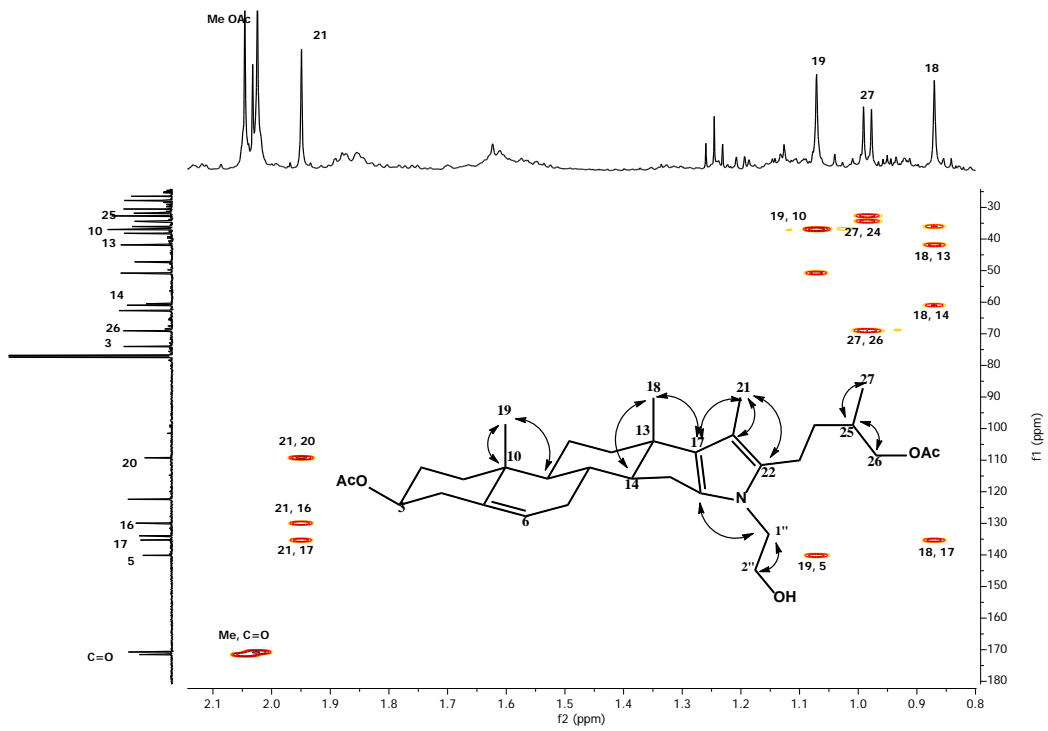


Figura 40. Experimento HMBC de 28.

Debido a que el compuesto es inestable en el siguiente espectro de IR se alcanzan a observar algunas de las bandas características del grupo pirrólico como; una pequeña banda ancha correspondiente a  $2933\text{ cm}^{-1}$  de C-H, a  $1264\text{ cm}^{-1}$  una banda estrecha del doble enlace y una pequeña banda débil en  $1714\text{ cm}^{-1}$  que indica la presencia del grupo carbonilo.

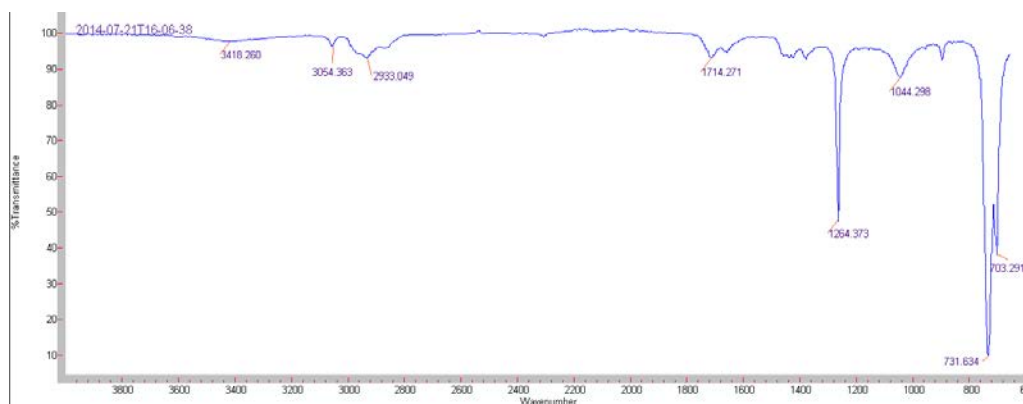


Figura 41. IR de 28.

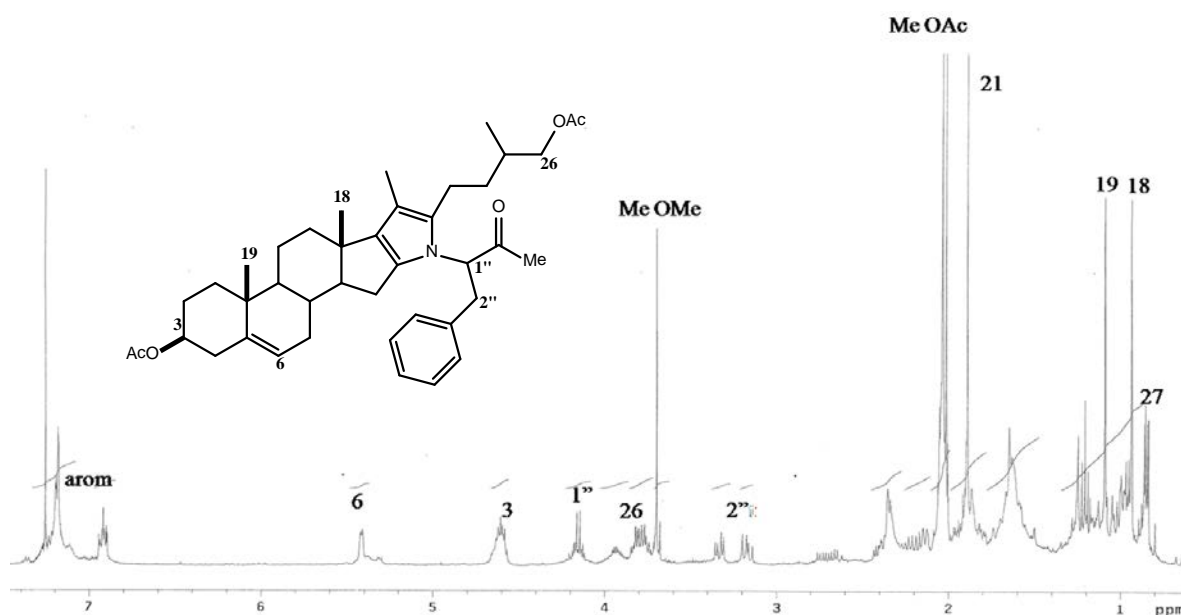
### Diacetato de [1'S,25R]-N[2''fenil1''(metoxicarbonil)]etilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]colest-5-eno-3 $\beta$ ,26-diilo (30)

Se describió en un principio la importancia del disolvente, el ácido y la amina para sintetizar pirroles. En este otro compuesto al igual que los anteriores también se obtuvieron ciertas complicaciones. Primero conocer la estructura del aminoácido que implica todas sus propiedades las principales polaridad y pH, lo que nos llevó a lo siguiente; el tolueno no fue el disolvente apropiado para la amina pero sí para la materia prima. De acuerdo a las características del aminoácido empleado se determinó a raíz de buscar el disolvente, que el etanol era apropiado. Los rendimientos fueron buenos pero no lo suficiente para obtener un espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  y sólo se obtuvo el de  $^1\text{H}$ . Por lo tanto no se desprotegieron las posiciones 3 y 26 por el rendimiento. Sin embargo el IR fue una herramienta clave para determinar que se había sintetizado un nuevo pirrol a partir de kriptogenina diacetilada.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto **30** se pueden apreciar a campo bajo los protones del fragmento aromático en 7.03 ppm. Las posiciones base oxígeno de 3 en 4.61 ppm y de 26 en 3.80 ppm respectivamente. Se observan dos nuevas señales que

corresponden a los protones 1'' se encuentra unido al nitrógeno en 4.08 ppm y 2'' aparece como una señal *dd* y por separado ya que su ambiente químico es diferente. Ambos correlacionan entre sí con H-1''.

De acuerdo a la ruta sintética, se protegieron las posiciones 3 y 26 por lo tanto los metilos de ambas señales se observan a campos altos a 2.04 ppm y 2.02 ppm. La señal del metilo 21 es una evidencia clara de la formación del anillo del pirrol y en comparación con la materia prima se observa ahora en 1.88 ppm con una multiplicidad simple debido a la ausencia de 20. El metilo 19 se encuentra en 1.10 ppm, 18 aparece en 0.70 ppm y el metilo 27 en 0.33 ppm desplazándose más hacia frecuencias bajas.



**Figura 42.** RMN de  $^1\text{H}$  de 30.

En el siguiente espectro de IR se observan algunas de las bandas características como; una pequeña banda estrecha correspondiente a C-H en  $2933\text{ cm}^{-1}$ , a  $1259\text{ cm}^{-1}$  una banda estrecha del doble enlace y una pequeña banda débil en  $1723\text{ cm}^{-1}$  que indica la presencia del grupo carbonilo.

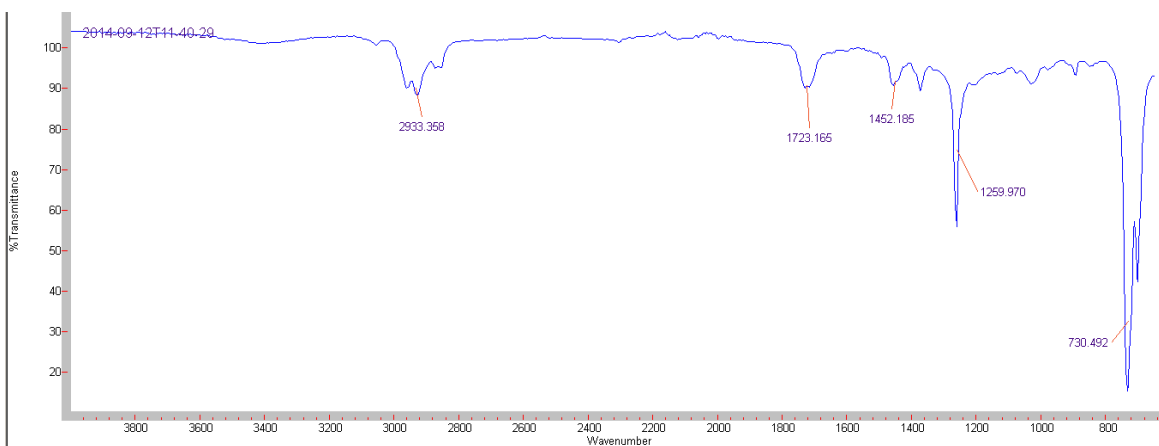


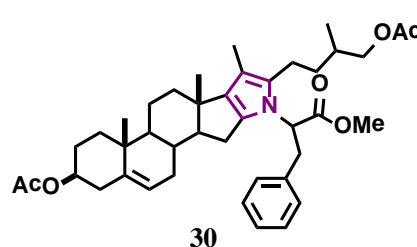
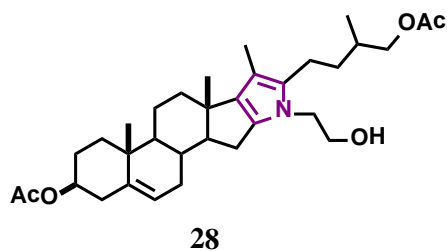
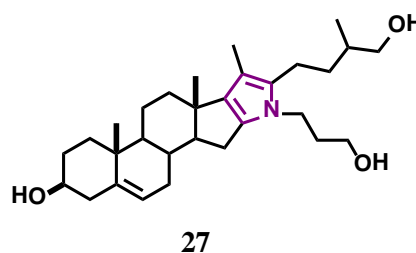
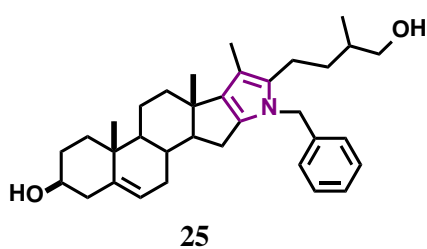
Figura 43. IR de 30.

## Conclusiones

---

Los resultados presentados en este trabajo indican la utilidad sintética de reacción de Paal-Knorr. Por lo tanto se concluye que:

- Se establecieron las condiciones de reacción adecuadas para efectuar la síntesis de pirroles esteroidales (**25**), (**27**), (**28**) y (**30**):



- No se sintetizaron los compuestos (**29**) y (**31**), por razones descritas en discusión de resultados.
- Los productos obtenidos se caracterizaron por las distintas técnicas físicas (rotación óptica y punto de fusión) y espectroscópicas (RMN de 1 y 2 dimensiones, Espectrometría de masas e Infrarrojo), que nos permitieron corroborar las estructuras de los compuestos pirrólicos.

## ***Bibliografía***

---

- [1] a) Manzoni M. Rollini M. *Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol lowering drugs*. Appl Microbiol Biotechnol **2002**; 58 555-564. b) Carneiro AV.; Costa J.; Borges M.; *Statins for primary and secondary prevention of coronary heart disease*. Rev Port Cardiol 2004; 23: 95-122.
- [2] a) Mann, J.; Davidson, R. S.; Hobbs, J. B.; Banthorpe, D. V.; Harborne, J. B. *Natural Products. Their Chemistry and Biological Significance*. Longman Scientific & Technical: Essex. **1994**, pp 331-332. b) Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*; 2nd Ed. John Wiley & Sons: Chichester. **2002**, pp 237-239.
- [3] a) Hostettmann, K.; Marston A. *Saponins, Chemistry and Pharmacology of Natural Products*; Cambridge University Press: New York. **1995**. b) Waller, G. R.; Yamasaki, K. Eds. *Saponins Used in Traditional and Modern Medicine*; Plenum Press: New York. **1996**. c) Waller, G. R.; Yamasaki, K. Eds. *Saponins Used in Food and Agriculture*; Plenum Press: New York. (**1996**).
- [4] Tsukamoto, T.; Ueno, Y.; Ohta, Z. J. Pharm. Soc. Jpn. **1936**, 56, 931-940.
- [5] Marker, R. E.; Tsukamoto, T.; Turner, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62, 2525-2532.
- [6] Uhle, F.C.; Jacobs, W.A.J. *Biol. Chem.* **1945**, 160, 243.
- [7] Dr. Alfonso Romo de Vivar; *Productos naturales de la flora mexicana*; Ed. Limusa, **1985**, 185-209.
- [8] a) Kessar S. V.; Gupta Y. P.; Mahajan R. K.; Joshi G. S.; Rampal A. L. *Synthetic studies in Steroidal Sapogenins and Alkaloids. Tetrahedron Lett.* **1967**, 24, 899-904. b) Kessar S. V.; Gupta Y. P.; Rampal A. L. *Synthetic studies in steroidal alkaloids and sapogenins II: Synthesis of Kryptogenin and Diosgenin. Tetrahedron Lett.* **1966**, 36, 4319-4323.

- [9] Alessandrini Laura; Ciuffreda Pierangela; Santaniello Enzo; Terraneo Giancarlo; *Clemmensen reduction of diosgenin and kryptogenin: synthesis of [16,16,22,22,23,23-2H6]-(25R)-26-hydroxycholesterol*. *Steroids*, **2004**, 69, 789-794.
- [10] Kaufmannand ST.; Rosenkranz G. *Steroidal Sapogenins, Transformation of kriptogenin into Diosgenin and Pseudodiosgenin*. **1948**, 70, 3502-3505.
- [11] Laszlo Kûrti, Barbara Czakó. *Strategic Applications of named reactions in organic synthesis: Background and Detailed Mechanisms*. Elsevier Academic Press: Boston, **2005**.
- [12] Thi Thu Huong Nguyen; Klimková Petra; Sorrenti Alessandro; Mancini Giovanna; Drasár Pavel. *Synthesis of spiroannulated oligopyrrolemacrocycles derived from lithocholic acid*. *Steroids*, **2009**, 74715-720.
- [13] Thi Thu Huong Nguyen; Cardová Lenka; Dvoráková Michaela; Rocková Dagmar; Drasár Pavel. *Synthesis of cholic acid based calixpirroles and porphyrins*. *Steroids*, **2012**, **77**, 858-863.
- [14] Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem.* 1978, 14, 2923.
- [15] Perrin, D. P.; Armarego, W. D. F. *Purification of Laboratory Chemicals*. Fourth Edition; Pergamon Press: Oxford. 1988.