

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica



TESIS DOCTORAL

**NUEVOS DERIVADOS PIRRÓLICOS Y
PIRAZÓLICOS: SÍNTESIS Y
EVALUACIÓN BIOLÓGICA FRENTE A
ÓXIDO NÍTRICO SINTASA**

Luisa Carlota López Cara

Granada 2005

Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica.
Facultad de Farmacia.
Universidad de Granada.

Memoria presentada por **Luisa Carlota López Cara** para aspirar al grado de
Doctor en Farmacia por la Universidad de Granada.

Granada, Febrero de 2005.

DIRECTORES:

Fdo. Antonio Espinosa Úbeda
Catedrático de Química
Orgánica
Facultad de Farmacia
Universidad de Granada.

Fdo. Miguel A. Gallo Mezo
Catedrático de Química
Farmacéutica
Facultad de Farmacia
Universidad de Granada.

**Fdo. M^ª. Encarnación
Camacho Quesada**
Profesora Titular de
Química Orgánica
Facultad de Farmacia
Universidad de Granada.

Fdo. Luisa Carlota López Cara

ÍNDICE

ÍNDICE.

1.- INTRODUCCIÓN	3
1.1.- Bibliografía de Introducción	6
2.- ANTECEDENTES	7
2.1.- Antecedentes Químicos	8
2.1.1.- Formación de pirroles y sus aplicaciones.....	8
2.1.1.1.- Síntesis clásicas de pirroles y sus variantes.....	8
2.1.1.1.1.- Formación de un enlace.....	9
2.1.1.1.2.- Formación de dos enlaces [4+1].	10
2.1.1.1.3.- Formación de dos enlaces [3+2].....	10
2.1.1.1.4.- Formación de pirroles a partir de pirrolinas o pirrolidinas.....	14
2.1.1.2.- Reacción de Hemetsberger y sus aplicaciones.....	14
2.1.2.- Familias pirazólica y pirazolínica.....	19
2.1.2.1.- Síntesis y aplicaciones de pirazoles.....	19
2.1.2.1.1.- Cicloadición 1,3-dipolar.....	20
2.1.2.1.2.- Ciclocondensación de alquinos o compuestos dicarbonílicos con hidrazina.....	22
2.1.2.1.3.- Aromatización de pirazolininas.....	27
2.1.2.2.- Síntesis y aplicaciones de pirazolininas.....	30
2.2.- Antecedentes Biológicos	35
2.2.1.- Biología del Óxido Nítrico.....	35
2.2.2.- Biosíntesis de NO.....	35
2.2.3.- Óxido Nítrico Sintasa: Isoformas y Localización.....	36
2.2.4.- Estructura y mecanismos reguladores de NOS.....	39
2.2.5.- Mecanismo de acción del Óxido Nítrico.....	42
2.2.6.- Óxido Nítrico y Sistema Nervioso.....	47
2.2.7.- Inhibición de la NOS.....	49
2.2.7.1. Inhibidores de la nNOS.	50
2.2.7.2.- Inhibidores de la iNOS.	59

2.1.- Bibliografía de Antecedentes.....	67
3.- OBJETIVOS	87
4.- PARTE TEÓRICA.....	93
4.1.-Familia Pirrólica.....	94
4.1.1.- Síntesis Química	94
4.1.1.1.- Consideraciones generales.....	94
4.1.1.2.- Estrategias sintéticas conducentes a la síntesis del sistema fenilpirrólico.....	96
4.1.1.2.1 Síntesis del anillo fenilpirrólico a partir del aldehído cinámico.....	97
4.1.1.2.2.- Síntesis del 5[2'-(5"-metoxi-2"-nitrofenil)eten-1-il-]1#-pirrol-2-carboxilato de etilo.....	103
4.1.1.3.- Estrategias sintéticas conducentes a la formación de los compuestos finales LC-1 a LC-22	103
4.1.2.- Análisis espectroscópico de los derivados pirrólicos y sus intermedios sintéticos.....	108
4.1.2.1.- Compuestos intermedios	108
4.1.2.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	108
4.1.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	115
4.1.2.1.3.- Estudio espoetroscópico del compuesto 175	120
4.1.2.1.4.- Compuestos pertenecientes a la serie c	123
4.1.2.1.5.- Estudio espoetroscópico del compuesto 163	132
4.1.2.2.- Compuestos finales de la familia pirrólica.....	134
4.1.2.2.1.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes la serie a	134
4.1.2.2.2.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes la serie b	140
4.1.2.2.4.- Estudio espectroscópico del compuesto LC-7	145
4.1.2.2.3.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes la serie c	149

4.2.- Familias Pirazolínica y Pirazólica	158
4.2.1.- Síntesis química.....	158
4.2.1.1.- Consideraciones generales	158
4.2.1.2.- Estrategias sintéticas conducentes a la síntesis del sistema benzoilpirazolínico.....	161
4.2.1.3.- Estrategias sintéticas conducentes a los derivados de los Grupos A y B y a sus correspondientes series a, b, c	164
4.2.2.- Análisis espectroscópico de los derivados pirazólicos y pirazolínicos y sus intermedios sintéticos.....	173
4.2.2.1.- Compuestos intermedios.....	173
4.2.2.1.1.- Análisis espectroscópico de los compuestos intermedios pertenecientes al Grupo A	173
4.2.2.1.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	173
4.2.2.1.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	178
4.2.2.1.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	182
4.2.2.1.2.- Análisis espectroscópico de los compuestos intermedios pertenecientes al Grupo B	186
4.2.2.1.2.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	186
4.2.2.1.2.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	191
4.2.2.1.2.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	195
4.2.2.1.2.4.- Estudio espectroscópico de los compuestos 195 y 197	199
4.2.2.2.- Compuestos finales de familias pirazólica y pirazolínica.....	203
4.2.2.2.1.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes al Grupo A	203
4.2.2.2.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	203
4.2.2.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	207
4.2.2.2.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	212
4.2.2.2.1.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes al Grupo B	215
4.2.2.2.2.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	215
4.2.2.2.2.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	219
4.2.2.2.2.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	223

4.2.2.2.4.- Estudio espectroscópico del compuesto LC-39	226
4.2.2.2.5.- Determinación estructural del compuesto LC-37 por difracción de rayos X.....	230
4.3.- Discusión de los resultados biológicos	231
4.3.1.- Efecto de los compuestos finales sobre la actividad nNOS estriatal.....	231
4.3.1.1.- Familia de pirroles.....	232
4.3.1.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	232
4.3.1.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	232
4.3.1.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	233
4.3.1.2.- Familias pirazolínica y pirazólica.....	235
4.3.1.2.1.- Compuestos del Grupo A	235
4.3.1.2.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	235
4.3.1.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	236
4.3.1.2.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	236
4.3.1.2.2.- Compuestos del Grupo B	237
4.3.1.2.2.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	237
4.3.1.2.2.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	238
4.3.1.2.2.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	239
4.3.2.- Efecto de los compuestos finales sobre la actividad iNOS cerebral.....	239
4.3.2.1.- Familia de pirroles.....	240
4.3.2.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	240
4.3.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	241
4.3.2.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	241
4.3.2.2.- Familias pirazolínica y pirazólica.....	243
4.3.2.2.1.- Compuestos del Grupo A	243
4.3.2.2.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	243
4.3.2.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	244
4.3.2.2.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	244
4.3.2.2.2.- Compuestos del Grupo B	245
4.3.2.2.2.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a	245
4.3.2.2.2.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b	246
4.3.2.2.2.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c	247

4.3.3.- Análisis comparativo de los resultados biológicos iNOS cerebral/ nNOS estriatal : Eficacia de acción.....	248
4.4.- Análisis conformacional.....	250
4.4.1.- Fenilpirroles.....	251
4.4.1.1.- Efectos NOE.....	253
4.4.2.- Benzoilpirazoles.....	254
4.4.3.- Inhibidores de la nNOS.....	257
4.4.4.- Inhibidores de la nNOS.....	261
4.5.- Bibliografía Parte teórica.....	262
5.- PARTE EXPERIMENTAL.....	267
5.1.- Condiciones generales.....	267
5.2.- Síntesis de materias primas.....	269
5.2.1.- Síntesis de 2-azido acetato de etilo (27).....	269
5.2.2.- Síntesis de 5-metoxi-2-nitrobenzaldehído (146a).....	269
5.2.3.- Síntesis de derivados de 1-(2-nitrofenil)-2-propen-1-ol (147,148,149).....	270
5.2.3.1.- Síntesis de 1-(5-metoxi-2-nitrofenil)-2-propen-1-ol (147).....	270
5.2.3.2.- Síntesis de 1-(5-cloro-2-nitrofenil)-2-propen-1-ol (148).....	270
5.2.3.3.- Síntesis de 1-(2-nitrofenil)-2-propen-1-ol (149).....	270
5.2.4.- Síntesis de derivados de 2-nitrofenil vinil cetona (150, 151, 152).....	271
5.2.4.1.- Síntesis de 5-metoxi-2-nitrofenil vinil cetona (150).....	271
5.2.4.2.- Síntesis de 5-cloro-2-nitrofenil vinil cetona (151).....	271
5.2.4.3.- Síntesis de 2-nitrofenil vinil cetona (152).....	272
5.2.5.- Síntesis de derivados de 3-(2-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (153, 154, 155).....	272
5.2.5.1.- Síntesis de 3-(5-metoxi-2-nitrobenzoil)- 4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (153).....	272
5.2.5.2.- Síntesis de 3-(5-cloro-2-nitrobenzoil)- 4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (154).....	273
5.2.5.3.- Síntesis de 3-(2-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (155).....	273

5.3.- Síntesis de productos intermedios.....	273
5.3.1.- Síntesis de derivados del 2-nitrocinaldehído (156, 157).....	273
5.3.1.1.- Síntesis de 5-metoxi-2-nitrocinaldehído (156).....	274
5.3.1.2.- Síntesis de 5-cloro-2-nitrocinaldehído (157).....	274
5.3.2.- Síntesis de derivados de 5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxilato de etilo (160, 161, 162) y síntesis del derivado derivado 5-[2-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)vinil]-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxilato de etilo (163).....	275
5.3.2.1.- Síntesis de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxilato de etilo (160).....	277
5.3.2.2.- Síntesis de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxilato de etilo (161).....	277
5.3.2.3.- Síntesis de 5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxilato de etilo (162).....	278
5.3.2.4.- Síntesis de 5-[2'-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1'-etenil]1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxilato de etilo.(163).....	279
5.3.3.- Síntesis de derivados del ácido 5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (164, 165, 166).....	279
5.3.3.1.- Síntesis del ácido 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (164).....	280
5.3.3.2.- Síntesis del ácido 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (165).....	281
5.3.3.7.- Síntesis del ácido 5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (166).....	281
5.3.4.- Síntesis de derivados <i>N</i> -sustituídos de 5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (167-180).....	282
5.3.4.1.- Síntesis de derivados <i>N</i> -sustituídos de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (167-171).....	283
5.3.4.1.1.- Síntesis de <i>N</i> -metil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (167).....	283
5.3.4.1.2.- Síntesis de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)- <i>N</i> -propil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (168).....	298

5.3.4.1.3.- Síntesis de <i>N</i> -ciclopropil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (169).....	284
5.3.4.1.4.- Síntesis de <i>N</i> -ciclopentil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (170).....	285
5.3.4.1.5.- Síntesis de <i>N</i> -bencil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (171).....	286
5.3.4.2.- Síntesis de derivados <i>N</i> -sustituídos de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (172-175).....	286
5.3.4.2.1.- Síntesis de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)- <i>N</i> -metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (172).....	286
5.3.4.2.2.- Síntesis de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)- <i>N</i> -etil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (173).....	287
5.3.4.2.3.- Síntesis de <i>N</i> -butil-5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (174).....	288
5.3.4.2.4.- Síntesis de - <i>N</i> -ciclopropil-5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (175).....	288
5.3.4.3.- Síntesis de derivados <i>N</i> -sustituídos de 5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (176 -184).....	289
5.3.4.3.1.- Síntesis de <i>N</i> -metil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (176).....	289
5.3.4.3.2.- Síntesis de <i>N</i> -etil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (177).....	290
5.3.4.3.3.- Síntesis de 5-(2'-nitrofenil)- <i>N</i> -propil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (178).....	290
5.3.4.3.4.- Síntesis de <i>N</i> -butil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (179).....	291
5.3.4.3.5.- Síntesis de <i>N</i> -ciclopropil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (180).....	292
5.3.4.3.6.- Síntesis de de <i>N</i> -ciclobutil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (181).....	292
5.3.4.3.7.- Síntesis de de <i>N</i> -ciclopentil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (182).....	293

5.3.4.3.8.- Síntesis de de <i>N</i> -ciclohexil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (183).....	293
5.3.4.3.9.- Síntesis de de <i>N</i> -bencil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (184).....	294
5.3.5.- Síntesis de derivados de 5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (185-187).....	295
5.3.5.1.- Síntesis de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (185).....	295
5.3.5.2.- Síntesis de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (186).....	296
5.3.5.3.- Síntesis de 5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (187).....	296
5.3.6.- Síntesis de 1-metil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxilato de etilo (188).....	297
5.3.7.- Síntesis del 1-metil-5-(2'-nitrofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (189).....	298
5.3.8.- Síntesis de derivados de 3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo y derivados de 3-(2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo, alquilados en posición 1 (190-209).....	299
5.3.8.1.- Síntesis de 3-(benzo[c]isoxazol)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (155a) y 3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (155b) y del compuesto 155c.....	300
5.3.8.2.- Síntesis de 1-etil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (190) y 1-etil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (191).....	305
5.3.8.3.- Síntesis de 1-butil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (192) y 1-butil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (193).....	306
5.3.8.4.- Síntesis de 1-bencil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (194) y 1-bencil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (195).....	307
5.3.8.5.- Síntesis de 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (196).....	309

5.3.8.6.- Síntesis de 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1-metil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (197).....	309
5.3.8.7.- Síntesis de 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1-etil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (198) y 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1-etil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (199).....	310
5.3.8.8.- Síntesis de 1-butil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (200) y 1-butil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (201).....	311
5.3.8.9.- Síntesis de 1-bencil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (202) y 1-bencil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (203).....	313
5.3.8.10.- Síntesis de 1-etil-3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (204) y 1-etil-3-(2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (205).....	314
5.3.8.11.- Síntesis de 1-butil-3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (206) y 1-butil-3-(2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (207).....	316
5.3.8.12.- Síntesis de 1-bencil-3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (208) y 1-bencil-3-(2'-nitrobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (209).....	317
5.4.- Síntesis de compuestos finales.....	319
5.4.1.- Síntesis de compuestos con estructura pirrólica.....	319
5.4.1.1.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)- <i>N</i> -metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-1).....	319
5.4.1.2.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)- <i>N</i> -propil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-2).....	320
5.4.1.3.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)- <i>N</i> -ciclopropil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-3).....	321
5.4.1.4.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)- <i>N</i> -ciclopentil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-4).....	322
5.4.1.5.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)- <i>N</i> -bencil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-5).....	322

5.4.1.6.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-6).....	323
5.4.1.7.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)- <i>N</i> -metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-7).....	324
5.4.1.8.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)- <i>N</i> -etil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-8).....	325
5.4.1.9.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)- <i>N</i> -butil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-9).....	326
5.4.1.10.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)- <i>N</i> -ciclopropil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-10).....	326
5.4.1.11.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-11).....	327
5.4.1.12.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-12).....	328
5.4.1.13.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -etil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-13).....	329
5.4.1.14.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -propil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-14).....	330
5.4.1.15.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -butil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-15).....	330
5.4.1.16.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -ciclopropil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-16).....	331
5.4.1.17.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -ciclobutil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-17).....	332
5.4.1.18.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -ciclopentil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-18).....	333
5.4.1.19.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -ciclohexil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-19).....	334
5.4.1.20.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)- <i>N</i> -bencil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-20).....	335
5.4.1.21.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-21).....	335

5.4.1.22.- Síntesis del 5-(2'-aminofenil)-1-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida (LC-22).....	336
5.4.2. - Síntesis de compuestos con estructura pirazólinica.....	337
5.4.2.1.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-etil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-23).....	337
5.4.2.2.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-butil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-24).....	338
5.4.2.3.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-bencil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-25).....	339
5.4.2.4.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-26).....	340
5.4.2.5.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-etil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-27).....	341
5.4.2.6.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-butil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-28).....	341
5.4.2.7.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-bencil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-29).....	342
5.4.2.8.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-etil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-30).....	343
5.4.2.9.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-butil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-31).....	344
5.4.2.10.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-bencil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-32).....	345
5.4.3.- Síntesis de compuestos con estructura pirazólica.....	346
5.4.3.1.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-etil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-33).....	346
5.4.3.2.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-butil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-34).....	347
5.4.3.3.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-bencil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-35).....	348
5.4.3.4.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-36).....	348

5.4.3.5.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-metil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-37).....	349
5.4.3.6.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-etil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-38).....	350
5.4.3.7.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-butil-1 <i>H</i> -pirazol -5-carboxilato de etilo (LC-39).....	351
5.4.3.8.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-bencil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-40).....	352
5.4.3.9.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-etil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-41).....	352
5.4.3.10.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-butil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-42).....	353
5.4.3.11.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-bencil-1 <i>H</i> -pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-43).....	354
5.5.- Ensayos biológicos de los compuestos sintetizados. Material y métodos.....	355
5.5.1.- Ensayos de inhibición de la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS).....	355
5.5.2.- Ensayos de inhibición de la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS).....	356
5.6.- Bibliografía de Parte Experimental.....	357
6.- CONCLUSIONES.....	361
7.-APÉNDICE.....	365

1.-INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades neurodegenerativas producidas por la muerte neuronal progresiva representan uno de los problemas sanitarios más frecuentes en la población de los países desarrollados por condicionar y disminuir progresivamente la calidad de vida del paciente. Dentro de estas patologías destacan por su frecuencia y por sus características fisiopatológicas, la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, mal de Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica. Conocer las causas de estas enfermedades, su etiología y patogénesis ayuda a desarrollar terapias que frenen la degeneración de las células nerviosas.

Así, se ha creado el término neuroprotección, que se refiere a las intervenciones que producen beneficios duraderos que influyen en la sintomatología, ya que afectan a los mecanismos básicos que causan la enfermedad.

En otro orden de hechos destacan otras distintas patologías de importante consideración, tales como:

- la sepsis y el choque séptico ocasionado por infecciones bacterianas que producen situaciones clínicas asociadas a altas tasas de mortalidad.
- la artritis reumatoide, como una enfermedad inflamatoria crónica de las articulaciones de origen autoinmune, que origina dolor, rigidez, hinchazón y pérdida de la movilidad del cuerpo.

Enfermedades tan diversas tienen un factor común en su causa: la producción excesiva y descontrolada de Óxido Nítrico (NO). En la última década han sido muchos los estudios dirigidos a controlar su sobreproducción. El NO se produce en diversos tipos de células a partir del aminoácido L-arginina, gracias a la acción de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), de la que existen al menos tres isoenzimas diferentes (nNOS o neuronal, iNOS o inducible y eNOS o endotelial), que han sido identificadas en el tejido nervioso, el endotelio y ciertas células sanguíneas (neutrófilos y macrófagos), entre otras. Así, dependiendo de donde se produzca la disfuncionalidad de esta enzima las consecuencias serán diferentes. Por otra parte; la disponibilidad disminuída de NO en la hipercolesterolemia y en la hipertensión, no solamente ejerce un efecto negativo sobre el tono vascular, sino que además inhibe y activa aquellos mecanismos que participan en forma importante en la patogénesis de la arteriosclerosis, como la agregación plaquetaria, relajación del músculo liso, adhesión de los monocitos, etc.

También actúa en el SNC como neurotransmisor en procesos de nocicepción, plasticidad; y en SNP en la transmisión del vaciado gástrico y erección peneana.

Por todo ello, es lógico pensar, que los últimos estudios vayan dirigidos hacia la búsqueda de fármacos que controlen la sobreproducción de NO, pero solamente en aquellos tejidos donde se produce, para no alterar la función fisiológica positiva que desempeña el NO por otra parte.

El enorme interés suscitado, se hace patente en las numerosas publicaciones y revisiones que se han descrito en la actualidad¹⁻⁴.

El grupo de investigación dirigido por los Profesores Darío Acuña (Facultad de Medicina de la Universidad de Granada) y Antonio Espinosa (Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada) ha sintetizado y ensayado hasta este momento un grupo de kinureninas, kinurenaminas y pirazolininas de las cuales algunas son potentes inhibidores de la enzima óxido nítrico sintasa neuronal e inducida, con las estructuras generales tipo representadas en la **Figura 1.1**.

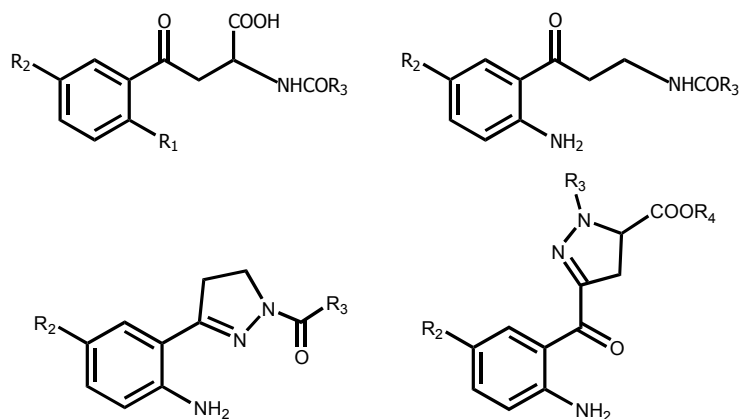


Figura 1.1.- Derivados de kinureninas, kinurenaminas y pirazolininas.

En esta Memoria de Tesis Doctoral el esfuerzo investigador se ha orientado hacia la síntesis de nuevos derivados rígidos kinurenamínicos, para analizar su efecto inhibitor frente a las isoformas nNOS e iNOS, con las estructuras generales que se muestran en la **Figura 1.2**, de acuerdo con lo descrito en el apartado de los objetivos.

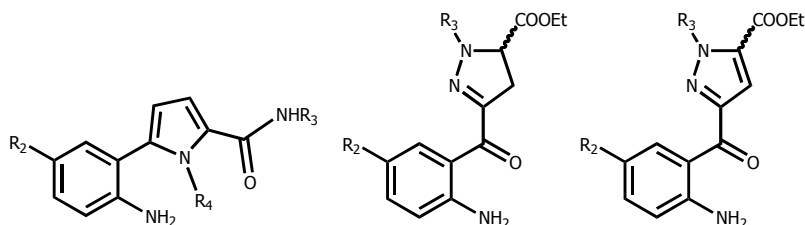


Figura 1.2.- Derivados pirrólicos, pirazolínicos y pirazólicos.

1.1.- Bibliografía de Introducción.

1. Rodrigo, J.; Alonso, D.; Fernandez, A. P.; Serrano, J.; López, J. C.; Encinas, J. M.; Fernandez Vizarra, P.; Castro, S.; Peinado, M. A.; Pedrosa, J. A.; Richard, A.; Martinez-Murillo, M. L.; Santacana, M; M.L. Bentura.; R. L. O. Uttental. El óxido nítrico: Síntesis, neuroprotección y neurotoxicidad. Departamento de Neuroanatomía y Biología Celular. Instituto Cajal (CSIC). Madrid. Departamento de Biología Celular. Universidad de Jaen. Jaen.
<http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol23/n2/colab.html>.
2. *Official Journal of Nitric Oxide Society*. Edt. Elsevier Journals.
3. Stefan, J.; Schmieder, R. E. Impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia: potential mechanisms and differences *Journal of Hypertension*, **2000**, 18, 373-374.
4. <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/press>.

2.-ANTECEDENTES

2.- ANTECEDENTES.

Actualmente se sabe que el NO se produce en el cuerpo humano en una gran variedad de tipos celulares y que participa en procesos que permiten la supervivencia de los seres vivos, tal como la regulación de la presión sanguínea, el desarrollo del sistema nervioso central, facilitar la transmisión nerviosa en los procesos de aprendizaje y memoria y la activación de la respuesta inmune. El NO participa en la reproducción sexual, ya que funciona como señal en las primeras etapas del desarrollo embrionario B. En otros organismos, como las plantas, también interviene en procesos importantes, como son el metabolismo, el desarrollo y la defensa. Sin embargo, el NO también puede resultar muy dañino, ya que la pérdida de control en sus niveles tiene consecuencias graves que ponen en peligro la supervivencia del organismo. El mal funcionamiento en la producción o disponibilidad del NO se asocia con enfermedades como la hipertensión, la disfunción eréctil, procesos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer y el mal de Parkinson, patologías graves del sistema inmune, como el choque séptico, lo que puede conducir a la muerte del paciente.

El NO es una molécula terrible para los organismos patógenos, como las bacterias, la respuesta defensiva de los animales y las plantas incluye la producción de NO que, debido a su poder bactericida, elimina a los patógenos. En suma, el protagonista de esta historia, el NO, es una especie de doctor Jekyll y mister Hyde, debido a que es una molécula poderosa que regula funciones vitales y que, sin embargo, resulta fatal si está fuera de control. Detrás de todo gran personaje existen una serie de motivos que permiten entender la razón por la que el héroe o villano se hace de tal reputación. El óxido nítrico no es la excepción, y para comprender su funcionamiento es necesario analizar de forma breve las características químicas de esta molécula.

Hoy día se conocen muchos inhibidores de la NOS que actúan a diferentes niveles de la reacción enzimática que produce la síntesis de NO, pero muy pocos presentan una selectividad elevada por una sola isoforma. Por ello, actualmente, el desarrollo de nuevos inhibidores selectivos para cada isoforma de la NOS es de gran importancia desde el punto de vista terapéutico. Debido a que la mayoría de los compuestos contenidos en esta Memoria, sobre los que se ha evaluado su actividad como posibles inhibidores de la NOS son derivados pirrólicos y pirazólicos y que la formación de estos sistemas heterocíclicos ocupa un lugar destacado en el desarrollo de la misma, comenzamos los antecedentes haciendo un comentario de los principales métodos existentes para la síntesis de estos heterociclos; asimismo se indicarán las posibles propiedades farmacológicas que pudieran presentar estos derivados.

2.1.- Antecedentes Químicos.

2.1.1.- Formación de pirroles y sus aplicaciones.

En la presente Memoria, más de la mitad de los compuestos sintetizados contienen en su estructura base un anillo pirrólico, de ahí la importancia de hacer un estudio bibliográfico de su síntesis así como de sus principales aplicaciones farmacológicas.

A lo largo de la historia de la Química Orgánica son muchos los autores que han desarrollado estudios de compuestos heterocíclicos, entre ellos, los anillos de 5 miembros, tales como pirroles, con enorme interés tanto químico como farmacológico. Los pirroles son estructuras contenidas en diversos productos naturales como el grupo hemo, la vitamina B₁₂ o la clorofila¹⁻², de ahí su importancia biológica. Además en la actualidad se han comprobado sus propiedades bactericidas contra Gram+ y Gram - , así como su empleo como fungicidas³.

Pero sin duda son muchas más importantes las propiedades que poseen si ampliamos el concepto químico a compuestos en cuya estructura esté incluido un anillo

pirrónico, por ejemplo heterociclos condensados o pirrolidonas. De este modo podemos encontrar estructuras con propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias no esteroideas⁴; hipoglucemiantes⁵, antihistamínicos y antianaflácticos⁶, psicotropos, ansiolíticos⁷, hipotensores del sistema cardio-vascular⁸, citostáticos⁹, etc.

2.1.1.1.- Síntesis clásicas de pirroles y sus variantes.

Las síntesis clásicas de pirroles (síntesis de Knorr, Pall-Knorr y Hantzsch), constituyen el pilar sobre el que se sostienen muchas de las nuevas síntesis de anillos pirrónicos sustituidos.

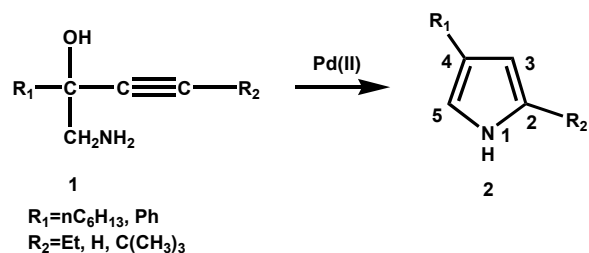
En este capítulo se detallan las síntesis más actuales y novedosas y se van a clasificar los diferentes métodos de síntesis dependiendo del número de enlaces formados¹⁰. Cada apartado puede subdividirse en diferentes categorías, dependiendo del tipo de enlace. Así tenemos síntesis en las que aparece:

- Formación de un enlace.
- Formación de dos enlaces [4+1].
- Formación de dos enlaces [3+2].
- Formación de tres enlaces.

Otra forma de obtener pirroles es por oxidación de pirrolinas o pirrolidinas¹, previamente sintetizadas.

2.1.1.1.1.- Formación de un enlace.

En 1981 K. Utimoto y col.¹¹ sintetizan pirroles 2,4-disustituídos **2** a partir de derivados del aminoalcohol **1** previamente sintetizados, mediante una reacción catalizada por Pd(II) (**Esquema 2.1**).



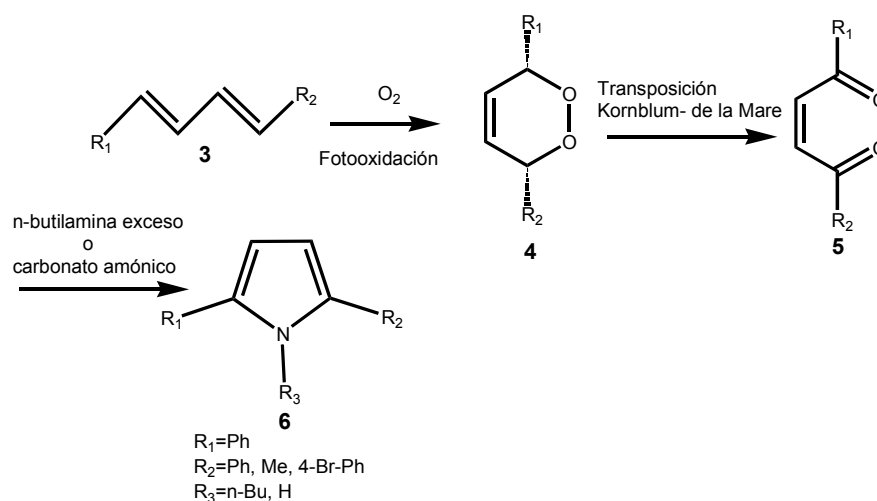
Esquema 2.1.- Síntesis de pirroles 2,4-sustituídos.

Esta síntesis entraría dentro de la categoría donde el enlace formado es por el N-C(2) del pirrol.

Otra síntesis perteneciente a esta categoría es la ciclación de compuestos que contienen un nitrógeno electrofílico, como la síntesis de Hemetsberger. Debido a que es la ruta utilizada para la síntesis de los compuestos descritos en esta Memoria, la abordaremos con más detenimiento en el apartado 2.1.1.2.

2.1.1.1.2.- Formación de dos enlaces [4+1].

Basándose en la síntesis de Pall-Knorr, Hewton¹² en 2002 forma anillos pirrólicos 1,2,5-trisustituídos ó 2,5-disustituídos **6**, a partir de 3,6-dihidro-1,2-dioxinos **4** (fácilmente sintetizados desde dienos **3**, que son transformados a compuestos 1,4-dicarbonílicos **5** para tratarlos, a continuación, con n-butilamina o carbonato amónico, obteniendo mediante condensación ciclativa los pirroles **6** (**Esquema 2.2**).

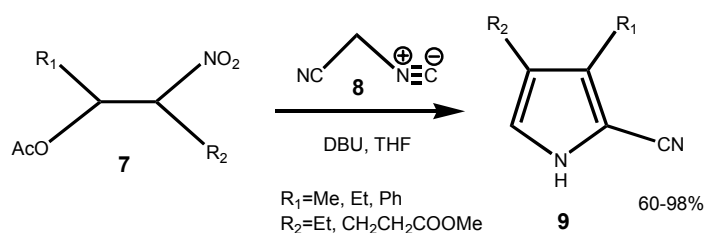


Esquema 2.2.- Síntesis de pirroles di o trisustituidos.

2.1.1.1.3.- Formación de dos enlaces [3+2].

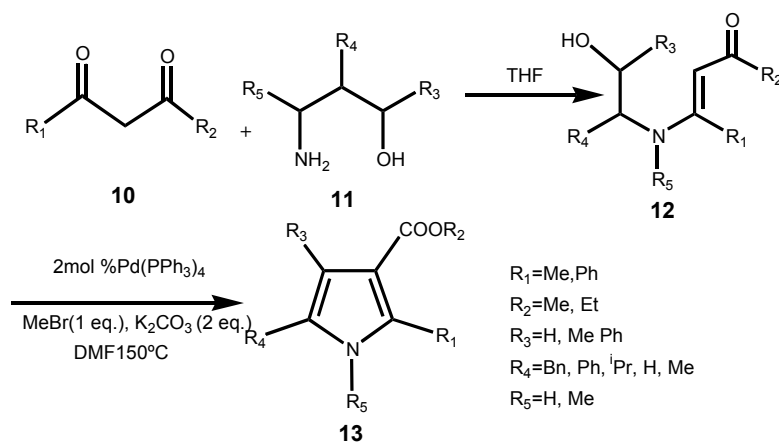
Las reacciones de formación de pirroles utilizando dos sintones que aportan 3 y 2 átomos respectivamente son quizás las más ampliamente desarrolladas y por eso se encuentran numerosas referencias. Analicemos, pues, algunas de las más significativas.

Los derivados 3,4-disustituidos de 2-cianopirroles¹³ poseen gran importancia como intermedios en la síntesis de porfirinas y pigmentos biliares. Los productos tetrapirrólicos y el porfinobilinógeno son la llave en la biosíntesis de hemoproteínas y otros "pigmentos de la vida". Recientemente los compuestos tetrapirrólicos se han usado como agentes terapéuticos en terapias fotodinámicas para el tratamiento del cáncer¹³. Por todo ello, en 1995, M. Adamczyk y col.¹³ desarrollaron una nueva síntesis de derivados de 2-cianopirroles **9**, ya que las descritas hasta ese momento requerían condiciones drásticas y varios pasos, lo que era motivo de que los resultados obtenidos resultaban muy pobres. La nueva ruta sintética partía de α -acetronitrocompuestos **7**, isocianoacetronitrilo **8** y DBU (1,8-diazabicyclo[5,4,0]undecen-7-eno) como base (**Esquema 2.3**).



Esquema 2.3.- Síntesis de 2-cianopirroles.

En 1996 Y. Aoyagi y col.¹⁴, desarrollaron una eficiente y fácil síntesis de pirroles pentasustituidos **13**, derivada de la síntesis de Knorr, mediante oxidación de β -hidroxienaminas **12** (obtenidas previamente por condensación de β -aminoalcoholes **11** con compuestos β -dicarbonílicos **10**) con $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ y carbonato potásico (Esquema 2.4).



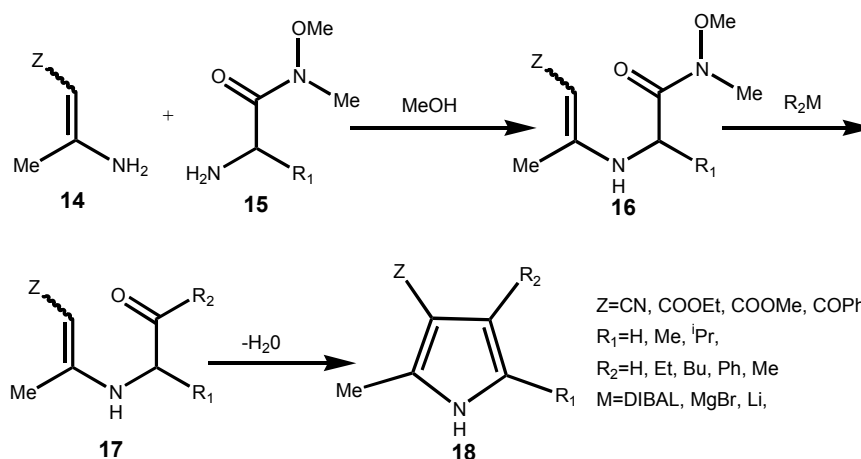
Esquema 2.4.- Síntesis de pirroles pentasustituidos.

Esta ruta sintética resulta de gran interés, ya que los pirroles altamente funcionalizados **13** son subunidades de considerable importancia en el grupo hemo, clorofila, pigmentos biliares, vitamina B_{12} ^{1,2} y en los alcaloides pirrólicos de procedencia marina¹⁰.

Otro método para obtener anillos pirrólicos polisustituidos es a partir de N-metoxi-N-metil- α -enamino-carboxamidas que, por ciclación espontánea, forman pirroles. Fue descrito en 1999 por A. Alberola¹⁵ y col. Uno de los sustituyentes introducidos puede ser

el grupo ciano del que anteriormente se ha comentado su importancia biológica como intermedio biológico.

Este método resulta ser muy novedoso ya que elimina una de las mayores limitaciones que tiene la formación de pirroles *via* Knorr, como es la autocondensación de los α -aminoésteres de partida. Sin embargo, partiendo de los compuestos tipo **16**, esta autocondensación no se produce.



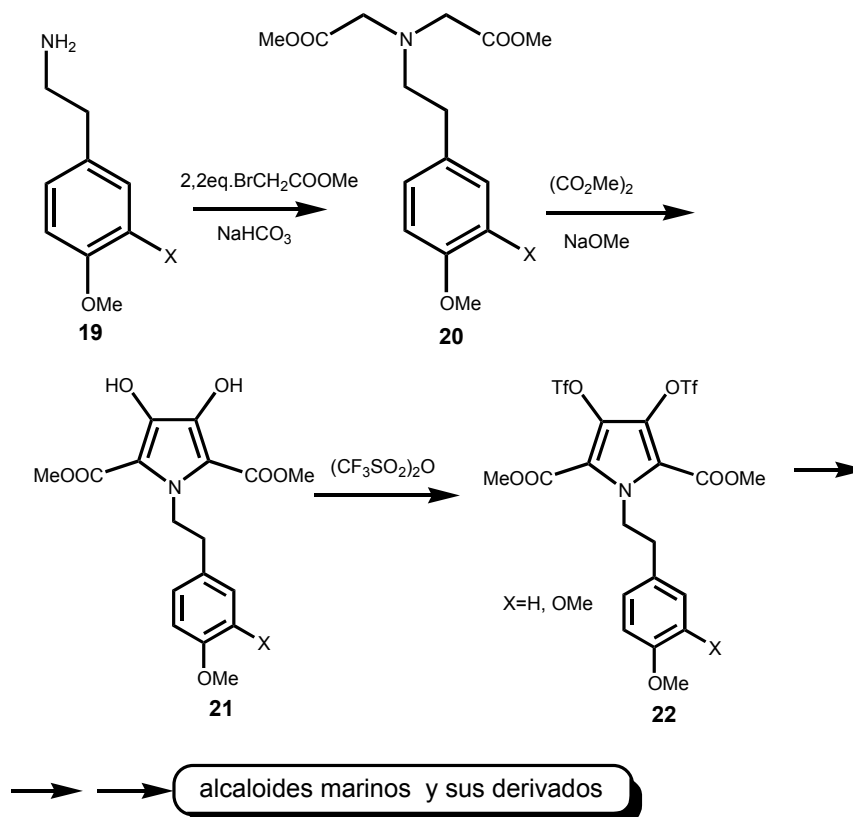
Esquema 2.5.- Síntesis de pirroles tetrasustituídos por la Reacción de Weinred.

Para ello los compuestos tipo **16** (α -vinilaminoamidas) deben ser obtenidos mediante un proceso de conjugación adición-eliminación, a partir de enaminas **14** y N-metoxi-N-metil- α -aminocarboxamidas **15**. El compuesto **16** se transforma en **17** mediante la reacción de Weinred de α -vinilaminoamidas con organometálicos o reactivos de Grignard, y éste por simple ciclación y posterior deshidratación forma los derivados **18** (**Esquema 2.5**).

Diversos alcaloides como, por ejemplo, el Lukaniol o Policitrinas¹⁶⁻¹⁷, que poseen en común unidades de 3,4-diarilpirrol, han sido aislados de diferentes organismos marinos. Muchos de ellos poseen interesantes actividades biológicas como actividad citotóxica contra líneas de células tumorales que expresan resistencia múltiple fármacos (MDR), actividad inhibitoria de VIH-1 integrasa, etc. Debido a las prometedoras

actividades biológicas en terapias de SIDA y cáncer, han sido desarrolladas series de síntesis de estos alcaloides marinos y sus derivados.

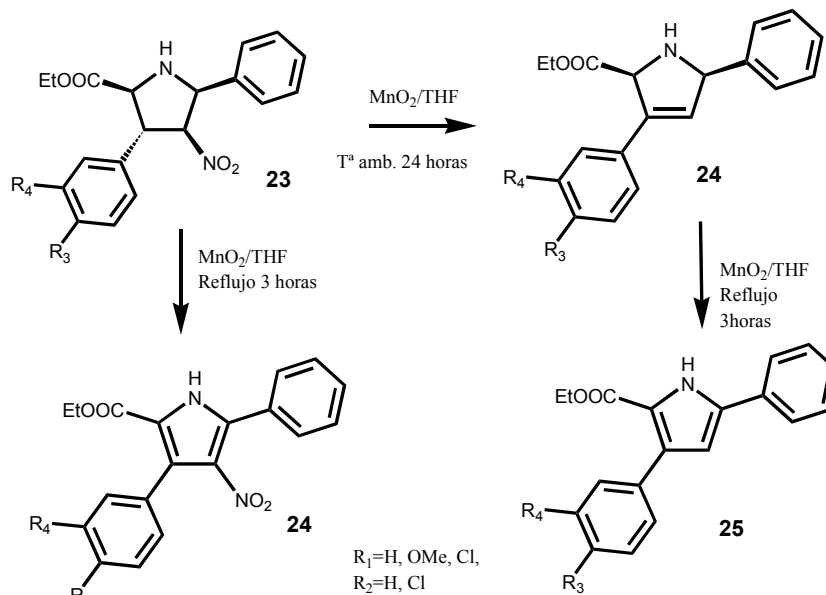
En 2003 M. Iwao y col.¹⁷ se interesan por dichos alcaloides marinos y proponen una ruta flexible para obtener bis-triflatos **22** y, a partir de ellos, sintetizan este tipo de alcaloides, además de otros derivados de los mismos (**Esquema 2.6**). Para ello usan una cicloadición [3+2] entre la amina terciaria **20** y oxalato de dimetilo.



Esquema 2.6.- Síntesis de Iwao a partir de bis-triflatos.

2.1.1.1.4.- Formación de pirroles a partir de pirrolinas o pirrolidinas.

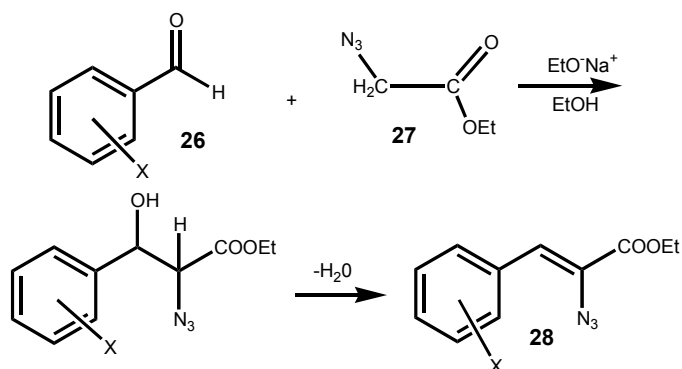
Otro método de obtener pirroles es mediante la oxidación de anillos pirrólicos total o parcialmente hidrogenados. En el año 2000 I. Fejes¹ sintetizó derivados pirrolínicos y pirrolidínicos para, posteriormente, formar los pirroles por oxidación con MnO₂ (**Esquema 2.7**).



Esquema 2.7. -Síntesis de pirroles por oxidación.

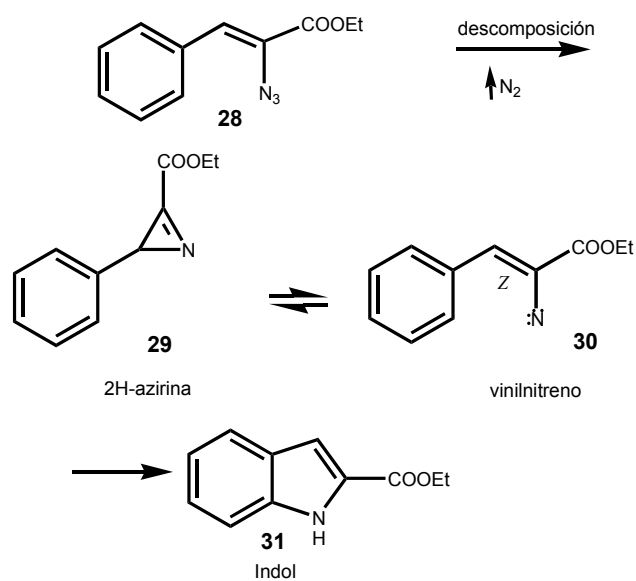
2.1.1.2.- Reacción de Hemetsberger y sus aplicaciones.

En 1969 H. Hemetsberger¹⁸⁻²¹ describió un método sintético para obtener ésteres α -azidocinámicos **28**, a través de la condensación de diversos benzaldehidos **26** con azido acetato de etilo **27** (**Esquema 2.8**). Esta síntesis pertenece a la primera categoría en la clasificación de síntesis de pirroles anteriormente comentada.



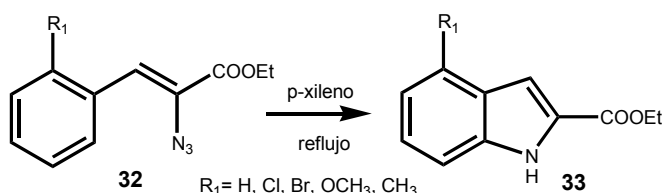
Esquema 2.8.- Reacción de Hemetsberger.

De los dos posibles isómeros, se forma el *Z* por ser el más estable termodinámicamente²². Sin embargo, la estereoquímica del doble enlace no es importante, ya que la vinil azida se descompone a 5°C, vía 2*H*-azirina **29**, la cual está en equilibrio térmico con el correspondiente vinil nitreno **30** que cicla espontáneamente hasta el indol **31** (**Esquema 2.9**).



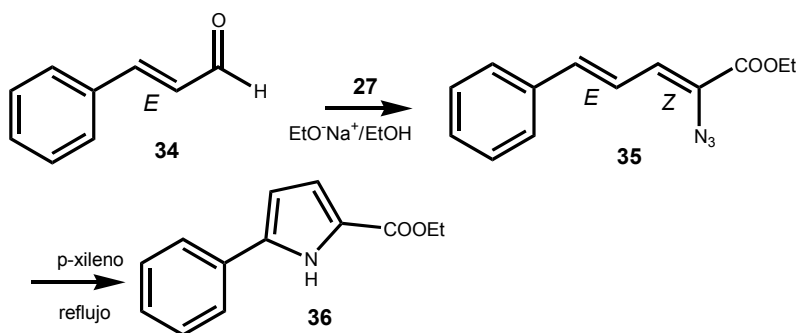
Esquema 2.9.- Síntesis de derivados indólicos.

Meses más tarde H. Hemetsberger aceleró la ciclación de estos α -azidocinamatos mediante un proceso de termolisis en *p*-xileno, obteniendo buenos rendimientos (90-98%). También aplicó este mismo procedimiento a ésteres α -azidocinámicos *orto*-sustituídos **32**, con sustituyentes de diversa naturaleza (Br, CH₃, Cl, OCH₃), observando que se obtenían los mismos derivados indólicos sustituidos en posición 4, **33** (**Esquema 2.10**).



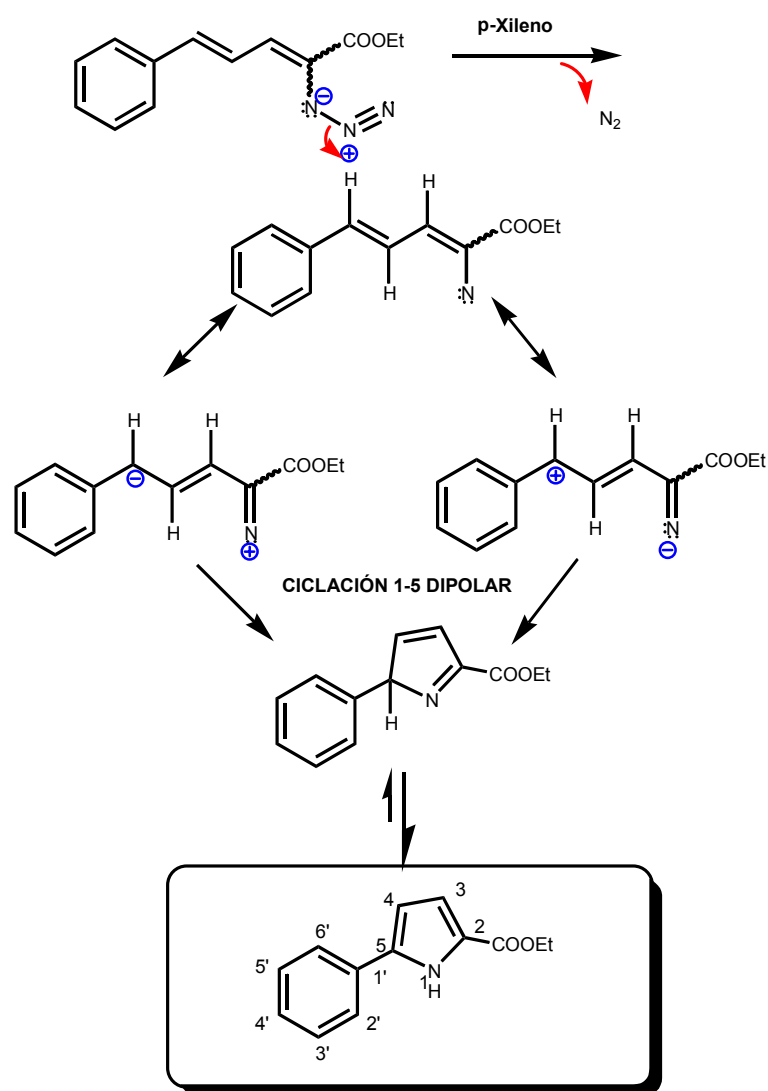
Esquema 2.10.- Síntesis de derivados indólicos 4-sustituídos.

En 1971, aplicó este procedimiento a α -azidoésteres con distintos anillos aromáticos e incluso con heterociclos. Una de estas aplicaciones se hizo sobre el aldehído cinámico **34**, (el isómero *E* es comercialmente asequible) el cual por condensación con azidoacetato de etilo **27**, se transforma en 2-azido-5-fenil-2,4-pentadienoato de etilo **35** para, finalmente, mediante termolisis en *p*-xileno, obtener el 5-fenil-1*H*-2-pirrolcarboxilato de etilo **36**, con buenos rendimientos (**Esquema 2.11**).



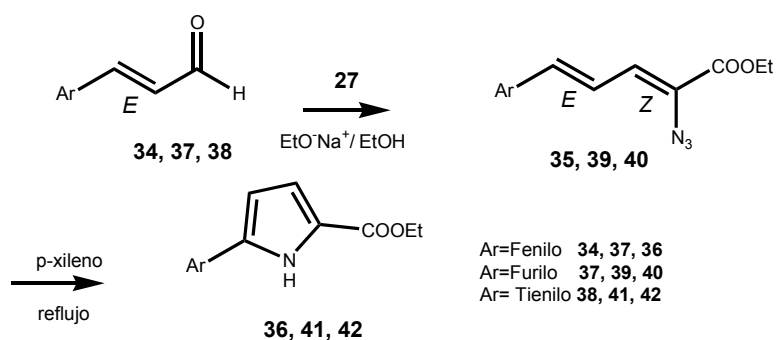
Esquema 2.11.- Síntesis de derivados fenilpirrólicos.

El mecanismo que usó para el proceso de termolisis es una ciclación intramolecular 1,5-dipolar, mediante un dipolo formado como consecuencia de la descomposición del grupo azido (**Esquema 2.12**).



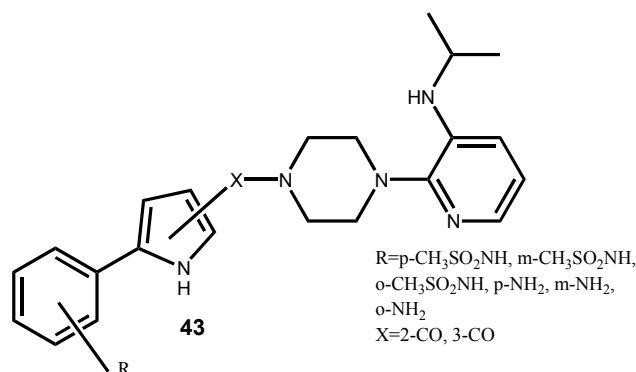
Esquema 2.12.- Mecanismo de reacción propuesto por H.Hemetsberger para la síntesis de derivados fenilpirrólicos.

En 1973 Boukoba-Poba²² utilizó esta reacción para la síntesis de arilpirroles siendo el grupo arilo un tiofeno, benceno o furano. (**Esquema 2.13**).



Esquema 2.13.- Síntesis de derivados arilpirrólicos.

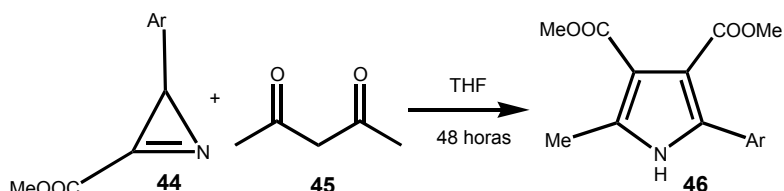
Décadas más tarde, Gerard Aime Pinna²³ y sus colaboradores sintetizaron estructuras fenilsustituidas pirrómicas basándose en esta misma síntesis, con marcada actividad anti-VIH-1, siendo de gran importancia para el tratamiento del SIDA. (**Esquema 2.14**).



Esquema 2.14.- Síntesis de derivados arilpirrólicos con actividad anti-HIV.

A lo largo de los años son muchos los autores que han aplicado la reacción de H. Hemsberger para la síntesis de diferentes compuestos, como indoles, isoquinolinas y benzazepinas¹⁹⁻²⁵, o bien dihidropirazinas²⁶.

En 1999²⁷, L. Gilchrist utilizó la 2H-azirina **44** para la formación de pirroles polisustituidos **46** mediante una reacción de cicloadición entre la azirina y acetil acetona **45** (**Esquema 2.15**).



Esquema 2.15.- Formación de pirroles mediante reacción de H. Hemetsberger.

P. Molina^{28,29} y su equipo de investigadores también han utilizado la formación de derivados de azidocinamatos para la síntesis de diferentes macrociclos condensados en cuya estructura se encuentra integrado un anillo de isoquinolina.

2.1.2. - Familias pirazólica y pirazolinica.

Dentro de este apartado se recopilan las síntesis y aplicaciones más novedosas descritas sobre los compuestos que contienen anillos heterocíclicos de 5 miembros con dos átomos de nitrógeno en posición 1,2-, tanto los anillos completamente aromatzados (pirazoles), como los parcialmente hidrogenados (pirazolininas).

2.1.2.1.- Síntesis y aplicaciones de pirazoles.

La numerosa variedad de propiedades biológicas de los derivados de pirazoles han hecho de ellos blancos sintéticos con interés. La mayoría de los métodos sintéticos utilizados se basan en 4 tipos de reacciones:

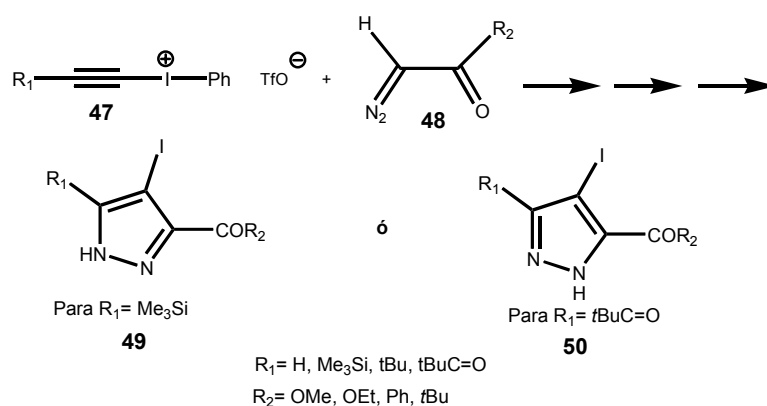
- Reacciones de cicloadición 1,3-dipolar.
- Condensaciones, tipo Claisen, entre compuestos carbonílicos α,β - insaturados o compuestos dicarbonílicos con hidrazina hidratada o hidrazina monosustituda.
- Aromatización de pirazolininas a pirazoles.

En la presente Memoria se destacan algunas de las últimas síntesis así como su importancia en el campo de la farmacología y agroquímica.

2.1.2.1.1.- Cicloadición 1,3-dipolar.

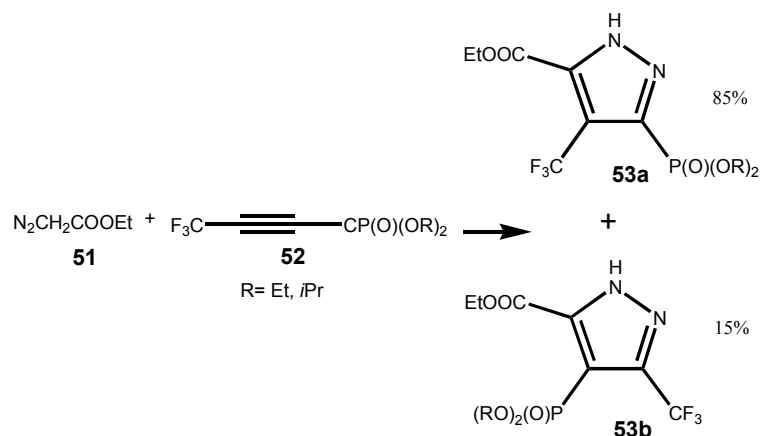
La cicloadición 1,3-dipolar es un proceso concertado que requiere de un dipolo, un dipolarófilo y una base. En nuestro caso, para la formación de pirazoles se requiere una cicloadición [3+2], donde el dipolo aporte 2 ó 3 átomos y el dipolarófilo aporte 3 ó 2 átomos, respectivamente, para formar el anillo de cinco miembros.

En 1992 P.J. Stang³⁰ desarrolló un método de formación de 4-yodopirazoles a partir de compuestos α -diazocarbonílicos **48** con sales de triflato de etinilfenil yodonio **47**, empleando un proceso de cicloadición 1,3-dipolar, obteniéndose un derivado u otro dependiendo del radical R_1 , pero en cualquier caso sólo se obtiene uno de los dos derivados (**49** ó **50**) y no se obtiene mezcla (**Esquema 2.16**).



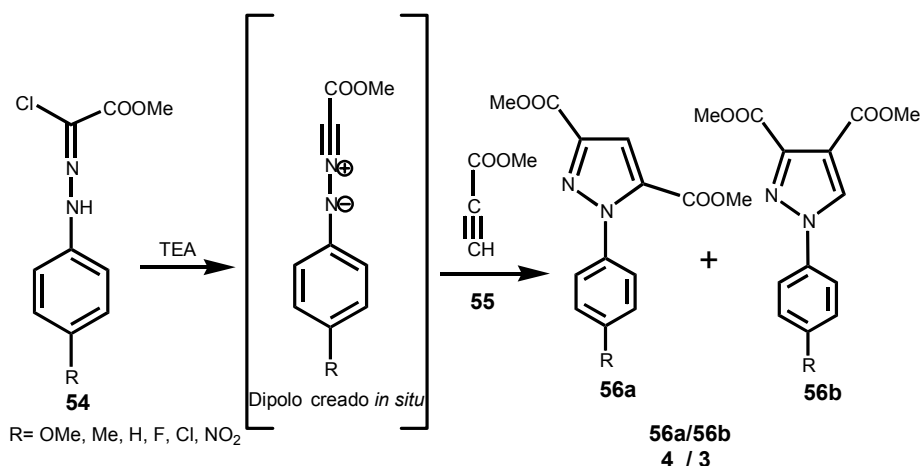
Esquema 2.16.- Síntesis de derivados pirazólicos 4-yodosustituidos.

Las importantes aplicaciones en farmacología y en agroquímica de compuestos con grupos perfluoroalquilo, así como las de pirazoles y, además, de las conocidas propiedades antibióticas, antileucémicas e insecticidas de ácidos fosfónicos, llevaron a Y. Shen en 1995³¹ a sintetizar los fosfonatos pirazólicos perfluorados **53a** y **53b**, mediante una reacción de cicloadición 1,3-dipolar, a partir de diazoacetato de etilo **59** y alquilil fosfonatos perfluorados **52**, obteniendo los dichos derivados con buen rendimiento y alta regioselectividad (**Esquema 2.17**).



Esquema 2.17.- Síntesis de derivados fosfonatos pirazólicos perfluoroalquilados.

A. Ponti y col.³², en el 2001, han sintetizado pirazoles 1-fenilsustituídos a través de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar, pero en este caso usan como dipolo nitrilaminas **54** y como dipolarófilo propiolato de etilo **55**, empleando como base trietilamina. Obtienen así una mezcla de regioisómeros en proporción 4:3 (**Esquema 2.18**).

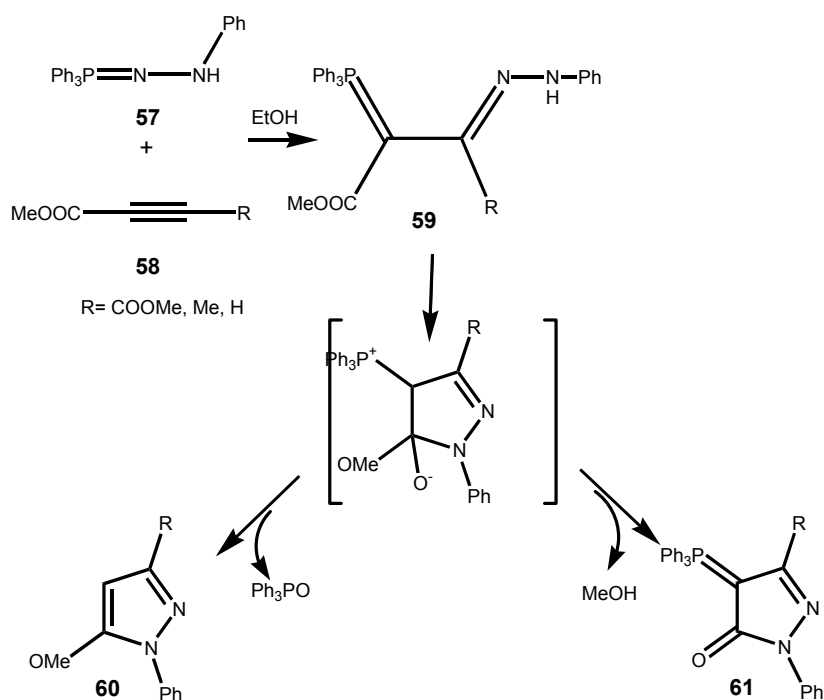


Esquema 2.18.- Síntesis de derivados de pirazoles 1-sustituídos.

2.1.2.1.2.- Ciclocondensación de alquinos o compuestos dicarbonílicos con derivados de hidrazina.

Los sistemas de pirazoles y pirazonas representan una importante clase de compuestos, no sólo por sus propiedades biológicas sino porque constituyen el esqueleto de tintes y polímeros³³. Asimismo los 3-alcoxipirazoles son importantes intermedios en la preparación de productos agroquímicos y tienen aplicaciones en la síntesis de fármacos con actividad antihiper-glucemiante y antitumoral, también poseen propiedades antagonistas de la angiotensina, además de ser utilizados para la preparación de librerías combinatoriales. Los derivados de la 1-fenilpirazona tienen importantes propiedades farmacológicas como agentes analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios. Además se sabe que los sustituyentes con fósforo regulan importantes funciones biológicas. En 1999 F. Palacios y col.³⁴, interesados por todas estas aplicaciones, han descrito una eficiente y regioselectiva síntesis de 5-metoxipirazoles **60** y pirazonas con un grupo trifenilfosforilideno en posición cuatro **61**.

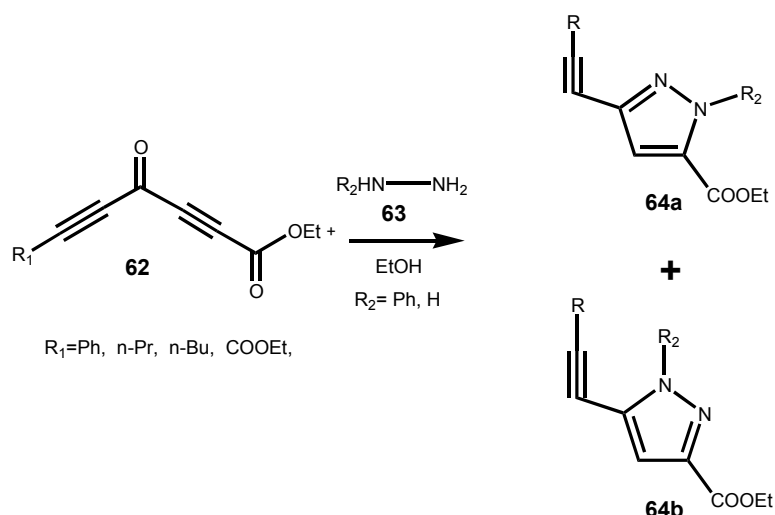
Para ello unen fosfacenos **57** (preparados a partir de hidrazinas) con ésteres acetilénicos **58**, para obtener la hidrazona **59**, que se cicla para dar el compuesto **61** si se realiza la reacción a 0°C con butillitio, añadido gota a gota, en THF como disolvente y manteniendo la reacción durante 1 hora; mientras que, si la reacción se lleva a cabo a reflujo de acetonitrilo durante 12 horas, el intermedio evoluciona hacia el derivado **60** (**Esquema 2.19**).



Esquema 2.19.- Síntesis de 5-alcopirazoles.

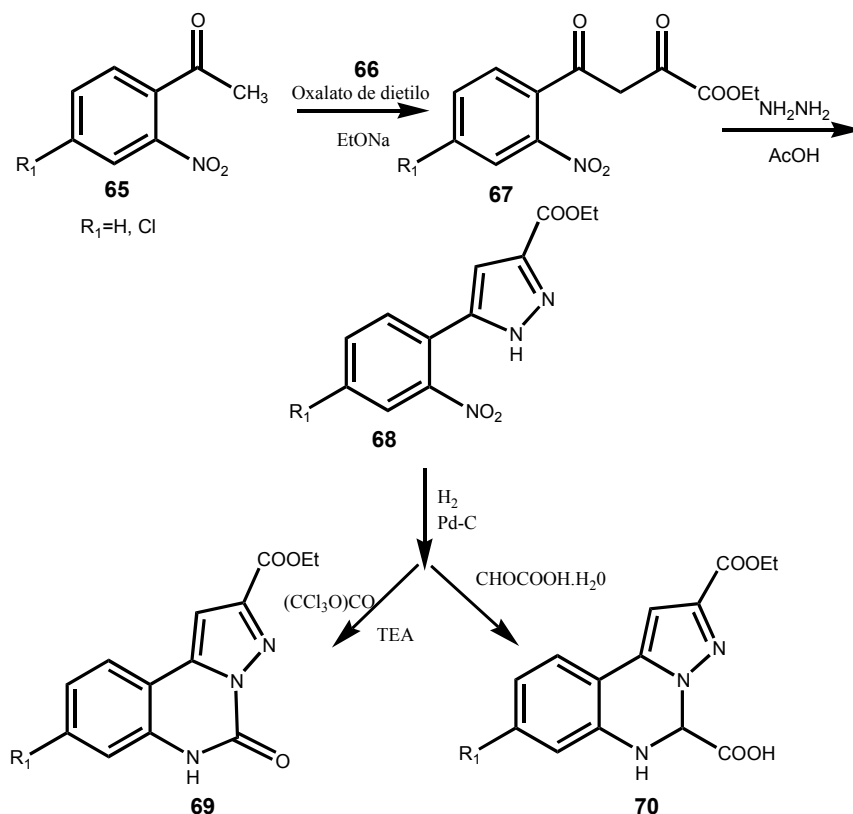
En el año 2001 J. E. Baldwin y col.³⁵, utilizaron cetonas diacetilénicas e hidrazina o hidrazinas monosustituidas para la síntesis de alquínipirazoles funcionalizados. Adicionan en frío la hidrazina **63** a una solución de la cetona diacetilénica **62** en etanol y, posteriormente, mantienen la mezcla durante 90 minutos a temperatura ambiente. De la reacción se obtienen una mezcla de regioisómeros **64a** y **64b** en proporción 3:2, en el caso de usar hidrazina monosustituida, ya que si se emplea hidrazina hidratada solamente se obtiene el regioisómero **64a**, probablemente debido al enlace de hidrógeno que forma con el grupo carbonilo del éster (**Esquema 2.20**).

Dos años más tarde un colaborador de J. E. Baldwin, M. F. A. Adamo³³, llevó a cabo esta misma síntesis mejorando las condiciones de reacción. En este caso realiza la adición de la hidrazina **63** a 0°C y mantiene agitando la reacción durante 10 minutos, para después calentarla 1 hora a temperatura de reflujo del etanol, usado como disolvente. Además en esta ocasión amplía el número de productos sintetizados por esta ruta.



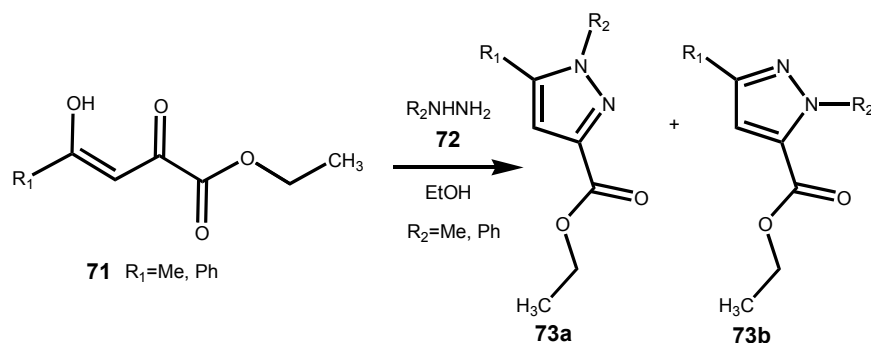
Esquema 2.20.- Síntesis de derivados pirazólicos alquiniisustituídos.

F. Varano, en 2002³⁶, ha sintetizado núcleos de fenilpirazoles para, posteriormente, dar heterociclos condensados derivados de pirazolo[1,5-c]quinazolina-2-carboxilato de etilo **69** que muestran una actividad como antagonistas de los aminoácidos excitatorios. Estos compuestos actúan como antagonistas de los receptores ionotrópicos del glutamato Gly/NMDA, AMPA y KA. La sobreexcitación de estos receptores se ha visto que está implicada en enfermedades neurodegenerativas tales como Parkinson, Alzheimer, enfermedad de Huntington, epilepsia o isquemia cerebral. Para ello realiza una reacción de condensación entre hidrazina hidratada y un compuesto fenildicarbonílico **67**, en medio ácido (**Esquema 2.21**).



Esquema 2.21.- Síntesis de derivados fenilpirazólicos.

Por último, cabe destacar otra síntesis de pirazoles polisustituídos³⁷, entre compuestos β -hidroxicarbonílicos- α,β -insaturados **71** e hidrazina monosustituída **72**, en medio etanólico, para obtener derivados análogos a alcaloides nigelcínicos con estructura betaínica, aislados de la planta *Nigella sativa*, L, (**Esquema 2.22**). En este caso también obtienen dos isómeros **73a** y **73b** mediante la adición, gota a gota, de la hidracina monosustituída al derivado **71** y manteniendo la reacción posteriormente 3 horas más. El isómero que resultó predominante fue el **73b**.

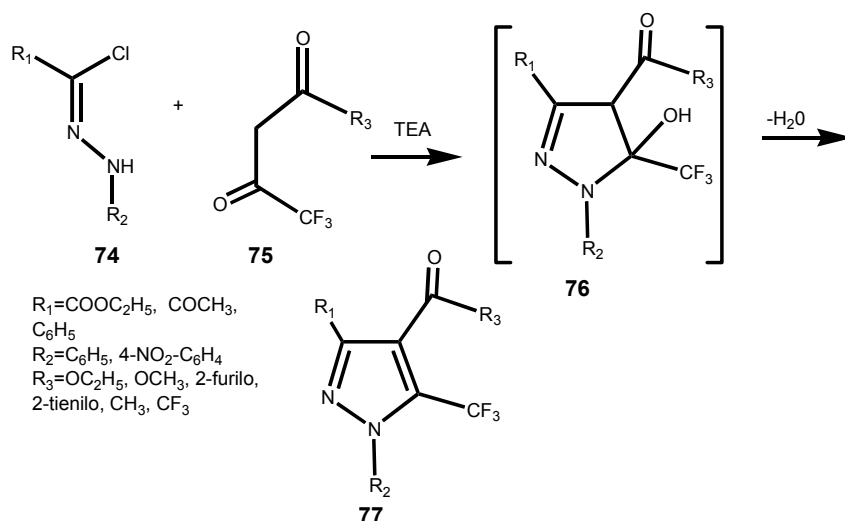


Esquema 2.22.- Síntesis de derivados fenil y metil pirazólicos.

Otro procedimiento para obtener derivados pirazólicos es por deshidratación espontánea de derivados 5-hidroxipirazolínicos. Un ejemplo de esta deshidratación es el descrito por P. Bravo³⁸ en 1994 donde se obtienen pirazoles perfluorados por deshidratación de pirazolininas; persiguiendo, en este caso, las aplicaciones que tienen los heterociclos perfluorados como tintes, aislantes eléctricos oleosos o lubricantes de alta temperatura.

En primer lugar se sintetiza la pirazolina **76** mediante una condensación entre la hidrazona **74** y un compuesto β -pefluoroalquil- β -dicarbonílico **75**, debido a que la reacción 1,3-dipolar para sintetizar derivados pirazolínicos perfluorados suele dar problemas de regioselectividad (**Esquema 2.23**).

En general, las 5-hidroxi-5-alkil(o aril)-2-pirazolininas **76** deshidratan espontáneamente, mientras que los derivados 5-perfluorados son menos dados a la aromatización por pérdida de agua; sin embargo, en este caso, la deshidratación ocurre fácilmente bajo las condiciones en que se realiza la reacción (triethylamina como base, benceno como disolvente y se mantiene a reflujo entre 1 y 12 horas, para, finalmente, neutralizar con agua y cloruro amónico).

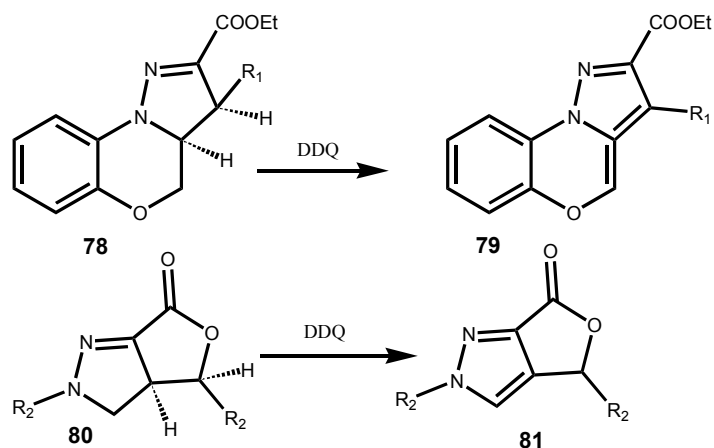


Esquema 2.23.- Deshidratación espontánea de pirazolinas.

2.1.2.1.3.- Aromatización de pirazolinas.

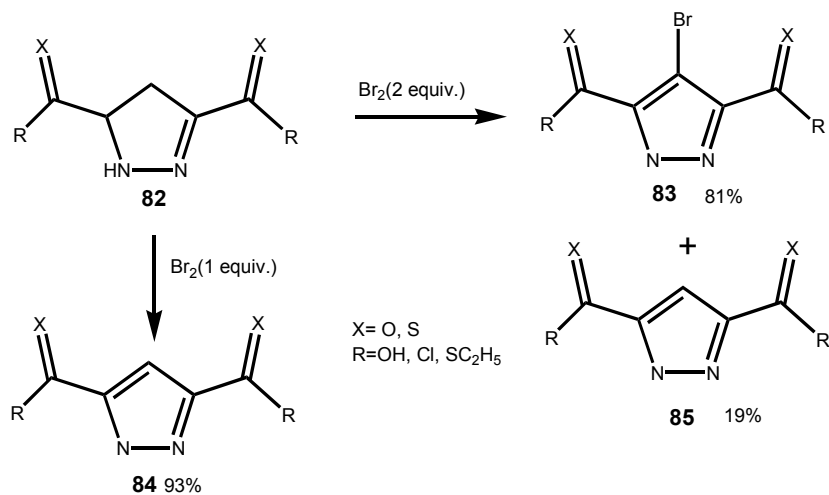
Son muchos y muy variados los métodos de aromatización de pirazolinas que se han desarrollado para obtener pirazoles. A continuación se detallan algunos de ellos, desde los más clásicos hasta los más actuales.

El DDQ (2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona) es un agente oxidante ampliamente conocido y utilizado. En 1977, L. Garanti³⁹ sintetizó derivados de heterociclos condensados **78** y **80** que contienen un anillo pirazolínico el cual se oxida a pirazol **79** y **81** mediante DDQ (Esquema 2.24).

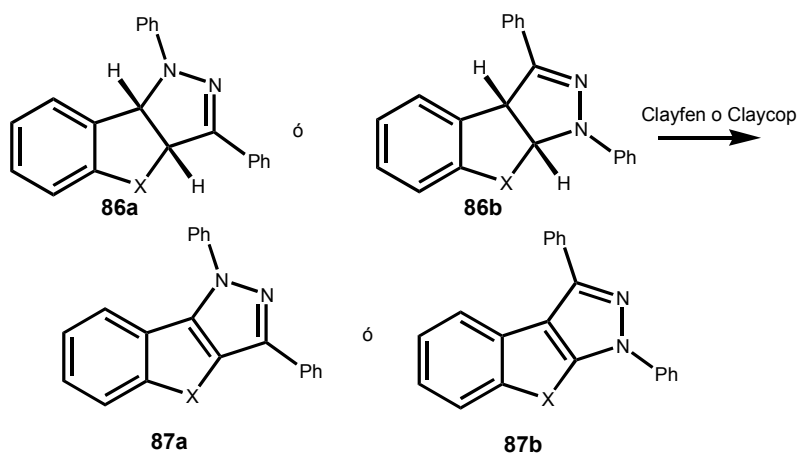


Esquema 2.24.- Oxidaciones con DDQ.

En 1987 L. Iturrino y J. M. Contreras⁴⁰ llevan a cabo la síntesis y evaluación biológica de determinados derivados pirazólicos. Anteriormente habían obtenido derivados de halometilpirazoles con actividad citostática sobre el sistema tumoral P388, además de ser también efectivos en la ECA. En la referencia que se cita en esta Memoria los derivados del pirazol **83**, **84** y **85** resultaron tener cierta actividad citostática, así como actividad antiparasitaria contra *Trichomonas vaginalis*. Los productos evaluados son obtenidos por oxidación con bromo de los compuestos pirazolínicos **82**, previamente sintetizados (Esquema 2.25).

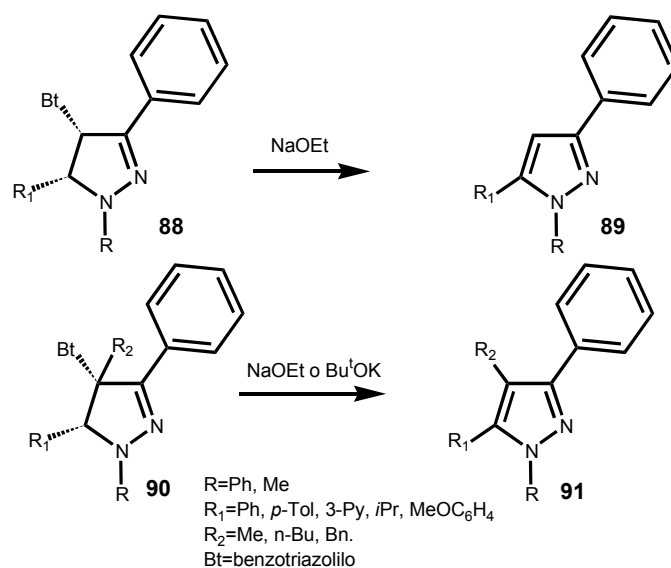
Esquema 2.25.- Oxidaciones de pirazolininas con Br₂.

Un método eficiente, empleado por Bougrin⁴¹ y colaboradores utiliza un soporte de bajísimo coste preparado a partir de nitrato férrico nonahidratado (Clayfen) o nitrato cúprico trihidratado (Claycop), para oxidar derivados heterocíclicos de cis y trans pirazolinas **86a** y **86b** (**Esquema 2.26**).



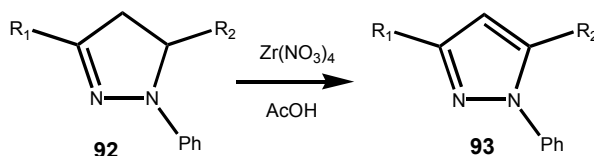
Esquema 2.26.- Oxidaciones con Cayfen o Claycop.

En el año 2001 A.R. Katritzky⁴², interesado por la gran variedad de actividades biológicas que poseen los derivados con un anillo de pirazol en su estructura (inhibidores de la 5-lipoxigenasa y ciclooxygenasa como antagonistas no peptídicos de la Angiotensina II), se lanza a la búsqueda de síntesis regioselectivas de pirazoles polisustituídos **89** y **91**, que hasta el momento no habían sido ampliamente desarrolladas. En este caso se utiliza terbutóxido potásico o etóxido sódico para la aromatización con unos rendimientos del 85-99% (**Esquema 2.27**).



Esquema 2.27.- Oxidaciones de pirazolinas con bases fuertes.

Por último, en 2003 G. Sabitha y colaboradores⁴³ han desarrollado un efectivo y novedoso método para la aromatización de compuestos pirazolínicos 1,3,5-trisustituidos **92** con $\text{Zr}(\text{NO}_3)_4$ en ácido acético y a temperatura ambiente, que no requiere atmósfera inerte y se lleva a cabo en 20 minutos; sin duda se trata de una oxidación altamente interesante por su gran simplicidad, coste y buenos rendimientos (**Esquema 2.28**).



Esquema 2.28.- Novedoso método oxidante de pirazolinas.

2.1.2.2.- Síntesis y aplicaciones de pirazolinas^{44,45}.

Los compuestos derivados del 4,5-dihidro-1H-pirazol, llamados comúnmente derivados pirazolínicos, son heterociclos de 5 miembros ampliamente estudiados en los últimos años y que han suscitado un enorme interés por sus múltiples aplicaciones

farmacológicas tales como antibacterianas, antifúngicas, analgésicas, antiinflamatorias, anestésicas, antihipertensivas, antidepresivas, anticonvulsivantes o neuroprotectoras.

En nuestro equipo de investigación se han desarrollado diferentes series de compuestos con estructura pirazolínica. Los productos sintetizados han sido probados *in vitro* como inhibidores de las diferentes isoformas de la NOS (Óxido Nítrico Sintasa). El gran interés que han suscitado los resultados biológicos obtenidos, nos anima a continuar con esta línea de investigación. En la presente Memoria se han descrito 9 derivados pirazolínicos alquilados en posición uno como continuación a las investigaciones que la han precedido.

La síntesis de compuestos pirazolínicos puede hacerse por diferentes métodos, algunos de ellos resultan ser comunes con las rutas utilizadas para obtener pirazoles. Los principales procedimientos sintéticos para construir el anillo pirazolínico consisten en la condensación de compuestos carbonílicos α,β -insaturados con hidrazina o hidrazina sustituida, en reacciones de cicloadición 1,3-dipolares, o bien mediante una reducción parcial de pirazoles.

En investigaciones recientes de nuestro equipo se han sintetizado dos grupos de compuestos que han sido ensayados como inhibidores de la NOS (**Figura 2.1**).

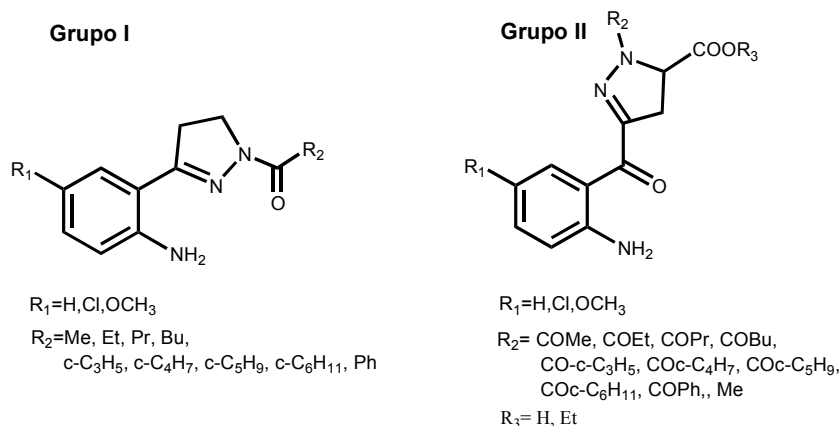
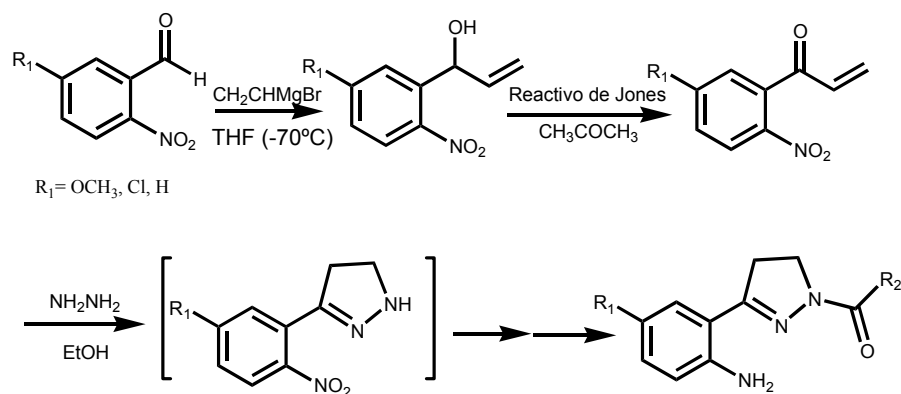


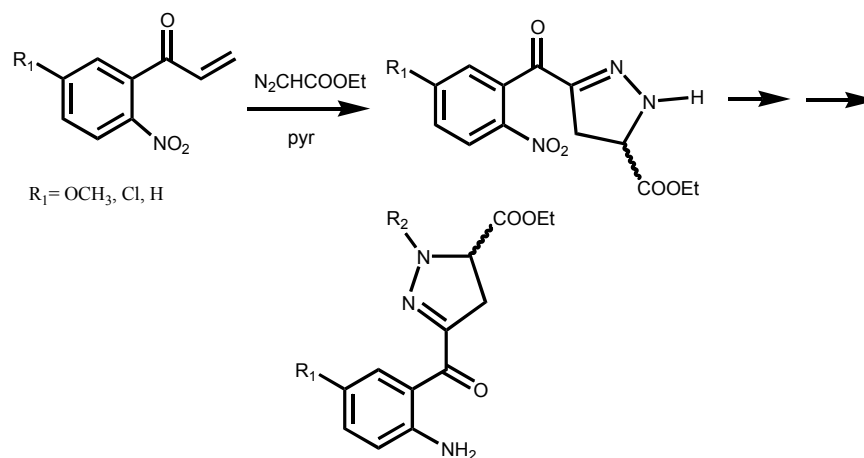
Figura 2.1.- Grupos de compuestos sintetizados con anterioridad por nuestro equipo investigador.

Grupo I: Derivados de 1-alkil-1-[3-(2-amino-5-sustituidofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-ilo]cetona, obtenidos mediante la condensación entre hidrazina y compuestos carbonílicos α,β -insaturados (**Esquema 2.29**).



Esquema 2.29.- Síntesis de productos del Grupo I.

Grupo II: Derivados de 1-alkil(o acil)-3-(2-amino-5-sustituidobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo, obtenidos mediante una reacción 1,3-dipolar entre diazoacetato de etilo y vinilcetonas sustituidas (**Esquema 2.30**).



Esquema 2.30.- Síntesis de productos del Grupo II.

Los dos **Grupos (I y II)** se pueden dividir en tres **series (a, b, c)** dependiendo del sustituyente R_1 ; así, cuando en posición 5 del anillo aromático hay un grupo electrón

donante como metoxilo, tenemos la **serie a**, si R_1 es un sustituyente electrón atrayente como cloro, se tratará de la **serie b** y por último si R_1 es un grupo electrón neutro, caso del hidrógeno, corresponde a la **serie c**.

Dentro del **Grupo I** y de la **serie a**, los compuestos más potentes son los que presentan radicales R_2 ciclopropilo **94** y ciclohexilo **95**, respectivamente. Dentro de la **serie b** nos encontramos con la estructura más activa en cuanto a la inhibición de la isoforma nNOS, es la tipo **96**. En general, los compuestos de la **serie c** son menos potentes que sus equivalentes de la **serie a** con igual radical R_2 amídico, siendo el derivado más activo el que posee un grupo fenilo en R_2 , **97**. En cuanto a la influencia del grupo R_2 amídico en la actividad de los derivados pirazolínicos frente a nNOS, se observa que grupos con número par de átomos de carbono en la cadena lateral alquílica presentan mejores valores de inhibición que los impares.

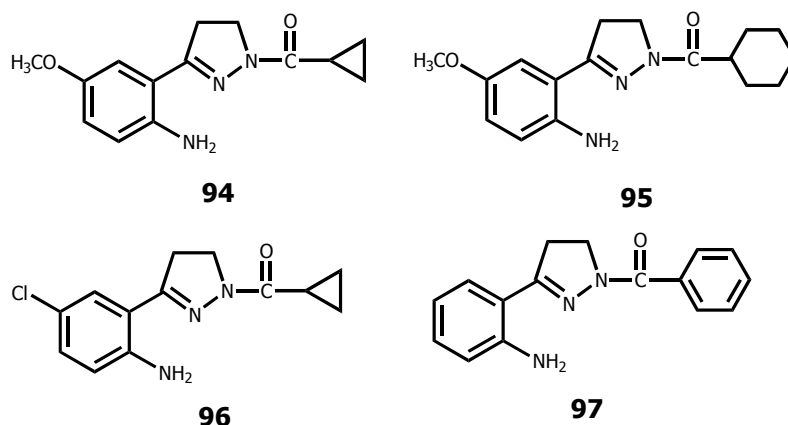


Figura 2.4.- Nuevos derivados pirazolínicos inhibidores de nNOS.

Con respecto a la isoforma iNOS, están aún en proceso de determinación de resultados en cuanto a las posibles actividades de los diferentes productos pertenecientes a este **Grupo I** como inhibidores de esta isoforma.

Dentro del **Grupo II** y de la **serie a**, los compuestos más potentes son los que presentan radicales R_2 metilo como **98**. Dentro de la **serie b** nos encontramos con la estructura más activa en cuanto a la inhibición de la isoforma iNOS, es la tipo **99**; igual sucede con los de la **serie c**. En general, los compuestos más activos son aquellos cuyo

radical R_2 es de naturaleza alquímica y dentro de ellos los más activos resultan también ser los de la **serie b** (62.08 % de inhibición de iNOS).

Con respecto a la isoforma nNOS, ninguno de los derivados pertenecientes a este **Grupo II** han sido activos, por lo que se llega a la conclusión de que las diferentes isoformas no deben tener tantas homologías estructurales y que por consiguiente se puede profundizar aún más en lograr inhibidores más potentes y selectivos.

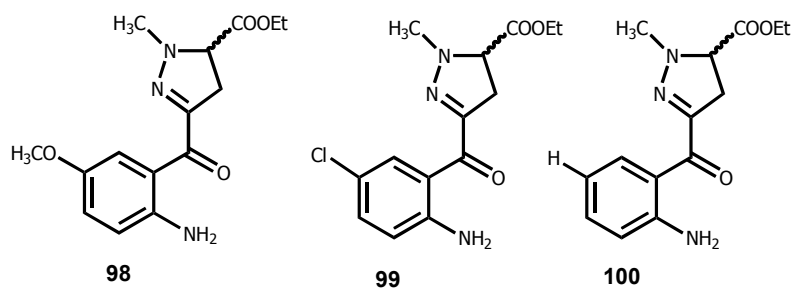


Figura 2.5.- Nuevos derivados pirazolónicos inhibidores de iNOS.

2.2.- Antecedentes Biológicos.

2.2.1.- Biología del Óxido Nítrico.

El óxido nítrico (NO) es un importante biorregulador que se biosintetiza en mamíferos u otros organismos mediante una reacción catalizada por enzimas entre el oxígeno molecular y L-Arginina. En los últimos años el óxido nítrico ha sido identificado como uno de los más importantes biomensajeros de procesos fisiológicos en el sistema inmune, nervioso y cardiovascular.

Fue descubierto por primera vez en 1980 por Furchgott en las células del endotelio vascular, donde, como respuesta a la acetilcolina (AChO), aparecía una sustancia que producía un efecto relajador del músculo liso, al que se llamó factor relajador derivado del endotelio (EDRF)⁴⁶. Años más tarde se descubrió que era óxido nítrico. En la actualidad se conoce que hay otras hormonas y neurotransmisores capaces de activar la producción de NO, tales como sustancia P (SP), histamina (His), bradicinina (BK) o ATP. Tal descubrimiento de R.F. Furchgott, L.J. Ignarro y F. Murad fue merecedor del premio Nobel de Medicina del año 1988⁴⁷.

A lo largo de las dos últimas décadas el estudio del óxido nítrico ha sido ampliamente desarrollado. Su importancia deriva del amplio espectro de acción donde se encuentra involucrado, a pesar de su simplicidad molecular.

2.2.2.- Biosíntesis del NO.

El óxido nítrico se sintetiza en macrófagos, neuronas o células endoteliales, a partir de L-Arginina como sustrato, mediante una reacción de oxidación catalizada por una enzima llamada Óxido Nítrico Síntasa (NOS) que también necesita de diferentes cofactores tales como FAD (flavin adenín dinucleótido) y FMN (flavín mononucleótido) y por último NADPH (nicotinamin adenín dinucleótido fosfato) como fuente de electrones⁴⁸.

Sin embargo el mecanismo de acción aún no se ha dilucidado con exactitud. Lo que se acepta hasta el momento es que la formación del NO comienza por la oxidación del nitrógeno guanidínico del extremo N-terminal de la L-Arginina, para formar un intermedio identificado como N^W-Hidroxi-L-arginina (NHA) que se transforma finalmente en L-Citrulina y óxido nítrico⁴⁹.

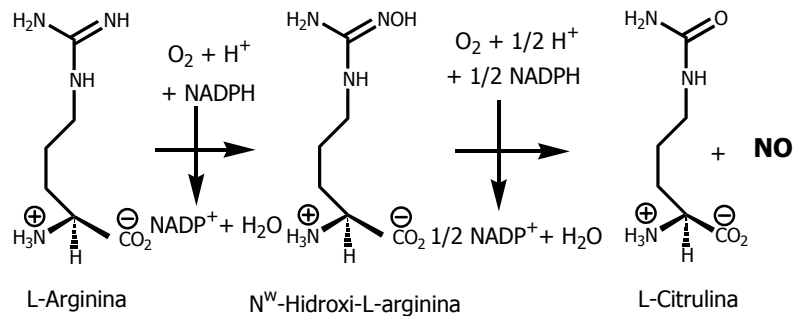


Figura 2.6.- Biosíntesis enzimática del óxido nítrico.

Consiste en una reacción redox L-enantioespecífica donde la presencia del cofactor $NADPH$ ^{48,50} es necesaria para la activación del oxígeno y para la oxidación de la L-Arginina de partida que se transforma en L-citrulina y NO ⁵¹. Aunque la segunda fase de la reacción no se conoce bien, se sabe que el balance energético total de la reacción requiere de 5 electrones del nitrógeno guanidínico de la L-arginina, 1.5 moles de $NADPH$ y 2 equivalentes de O_2 ⁵¹.

2.2.3.- Óxido Nítrico Sintasa: Isoformas y Localización.

La reacción de formación de óxido nítrico está catalizada por un sistema de al menos tres isoenzimas denominadas Óxido Nítrico Sintetas (NOS).

El hecho evidente de que la biosíntesis de NO se encuentre ampliamente distribuida en mamíferos y que module una gran cantidad de efectos biológicos, hace que se postule la existencia de un sistema de tres isoenzimas de la NOS responsables de la síntesis de NO en diferentes líneas celulares. En estudios posteriores sobre mamíferos fue

donde se confirmaron la existencia de tres isoformas de NOS correspondientes a los diferentes tejidos y células en donde se localizaron por primera vez.

Las tres isoformas se clasificaron, en un principio, en función del orden en que fueron clonadas como NOS-I, NOS-II, NOS-III. Actualmente su denominación está en función de dónde se localizan: NOS-I= nNOS o neuronal, NOS-II= iNOS o inducida y NOS-III= eNOS o endotelial. Las tres isoformas sólo coinciden en un 50% en su secuenciación de aminoácidos por lo que son diferentes en su estructura, peso molecular y funciones, pero catalizan el mismo tipo de reacción. El último hallazgo en este sentido es el descubrimiento de una cuarta isoforma localizada en la membrana interna, próxima a la cadena respiratoria de la mitocondria (mtNOS) o mitocondrial.

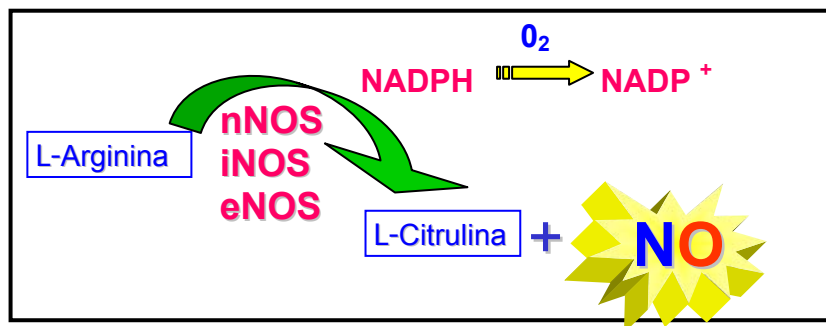


Figura 2.7.- Isoenzimas de NOS y reacción de formación del NO.

En cualquier caso, la actividad de las cuatro isoenzimas viene regulada en mayor o menor medida por su afinidad de unión a la calcio-calmodulina (CaCaM). En la actualidad se sabe que las isoformas endotelial y neuronal (eNOS y nNOS) requieren de la unión de calcio intracelular a la proteína calmodulina, por lo que se las denomina comúnmente calciodependientes⁵³; estas dos formas se expresan normalmente de manera constitutiva en el organismo, aunque también pueden ser inducidas en situaciones de estrés, daño o diferenciación celular. La isoforma III o iNOS no requiere tan estrictamente la presencia de calcio para unirse a la CaM. Esto se debe a que la calmodulina se puede considerar como una subunidad protéica de la isoforma iNOS y por tanto se encuentra unida fuertemente a ella cuando los niveles de calcio son basales, expresándose de manera inducida por los agentes inductores como los lipopolisacáridos bacterianos (LPS) y

citoquinas, sintetizadas en respuesta a LPS, entre las que se destacan el interferon γ (IFN) (cuyo efecto antiviral puede explicarse de esta forma) y el factor de necrosis tumoral α (TNF)⁵². A continuación se muestra un breve resumen de cada una de ellas:

- La nNOS se encuentra en tejidos muy diferentes. Originalmente se localizó y clonó del tejido neuronal⁵⁴; posteriormente se ha visto que también se localiza en el tejido neuronal periférico tipo NANC (neuronas no adrenérgicas/ no colinérgicas), esquelético, en el páncreas y en algunas células epiteliales⁵⁵⁻⁵⁸.

- La eNOS se purificó y clonó por primera vez en el endotelio vascular⁴⁹ y se encuentra relacionada con el EDRF⁶⁰⁻⁶¹ y por consiguiente, con la presión sanguínea o el tono vascular. En posteriores investigaciones se pudo constatar que eNOS también se encuentra en células epiteliales tubulares de riñón⁶² en la que su papel no es muy conocido, en plaquetas⁶³ y en neuronas tipo CA1 del hipocampo⁶⁴, donde ejerce un papel presumiblemente ligado a fenómenos relacionados con los procesos de memoria y aprendizaje⁶⁵⁻⁶⁶. También una deficiencia en esta isoforma estaría relacionado con la hipertensión y con la patología vascular⁶⁷⁻⁶⁸.

- La isoforma inducible (iNOS) no se encuentra limitada a las células donde fue originariamente identificada (macrófagos), de hecho, se sugiere que puede expresarse en cualquier célula nucleada susceptible de ser estimulada por agentes inductores como citoquinas. Ha sido identificada en macrófagos⁶⁹⁻⁷¹, hepatocitos⁷², células del músculo liso del endotelio vascular⁷³, miocardio⁷⁴, microglía⁷⁵ y astrocitos⁷⁶⁻⁷⁷. Esta isoforma, una vez expresada, se encuentra activada permanentemente y proporciona una fuente de NO con alto rendimiento, constituyendo una respuesta del sistema inmune frente a agentes invasores patógenos o células tumorales.

- Por último, la isoforma mitocondrial⁷⁸⁻⁷⁹ (mtNOS) se encuentra en la membrana interna de la mitocondria, próxima a la cadena respiratoria de transporte electrónico. Se ha identificado como una nueva isoforma ya que, a pesar de que es estructuralmente parecida a las isoformas constitutivas neuronal y endotelial, no depende de las concentraciones de calcio, como la iNOS. El óxido nítrico sintetizado por esta isoforma

parece estar relacionado con el proceso de apoptosis o muerte celular programada, ya que podría modular la respiración mitocondrial y regular la biodisponibilidad de oxígeno y en el sistema energético de los tejidos.

Las enzimas constitutivas generan NO en cantidades pequeñas, mientras que la actividad de iNOS es aproximadamente mil veces mayor.

2.2.4.- Estructura y mecanismos reguladores de NOS.

Estructural y funcionalmente las isoenzimas NOS son complejas y comparten muchas analogías con las enzimas del citocromo P450. Las isoenzimas NOS catalíticamente activas son dímeros. Cada monómero contiene un dominio oxigenasa en su extremo N-terminal y un dominio reductasa en su extremo C-terminal, que están interconectados a través de la cadena de transporte electrónico (CTE).

El dominio reductasa es en un 60% homólogo al citocromo P450. Las tres isoenzimas contienen sitios de unión específicos en este dominio para los grupos prostéticos mononucleótido de flavina (FMN), para el dinucleótido flavina adenina (FAD) y para los ligandos NADPH y calcio-calmodulina (CaCaM). El dominio oxigenasa contiene sitios de unión para tetrahidrobiopterina (BH₄), para unprotoporfirina XI (grupo hemo) y para la L-arginina. Todos estos ligandos y grupos prostéticos controlan el acoplamiento de la enzima en el dímero activo⁵⁵.

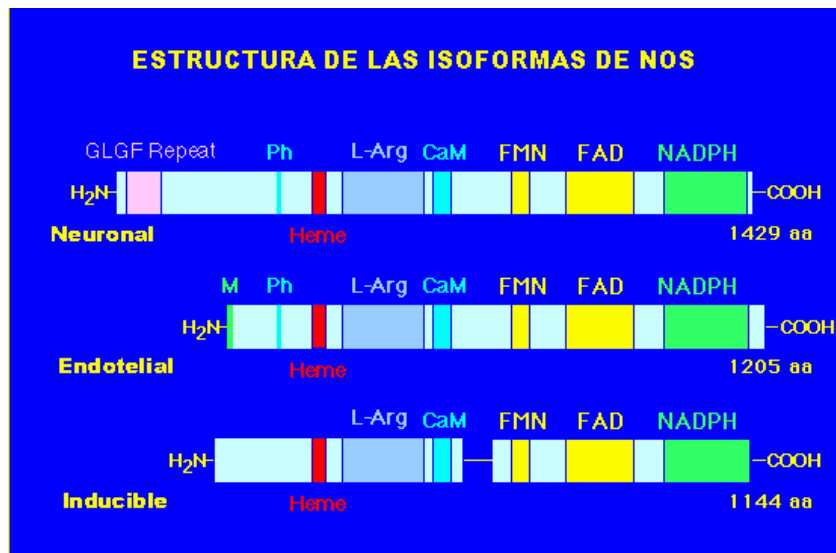


Figura 2.8.- Dominios de las isoenzimas de la NOS.

La molécula de BH_4 está involucrada en la transferencia de electrones⁸⁰ y en la transformación de la enzima en una conformación catalíticamente activa⁸¹. Aunque los sitios de unión de BH_4 y L-arginina están separados, interactúan alostéricamente y ambos aumentan recíprocamente las afinidades de los ligandos por sus sitios de unión⁸¹.

Los dominios oxigenasa y reductasa de la NOS están conectados por un péptido helicoidal flexible, al cual se une la calmodulina, haciendo posible la transferencia de electrones entre ambos dominios, permitiéndose la síntesis de NO ⁸²⁻⁸⁶. El flujo electrónico que tiene su origen en la molécula de NADPH es transportado por FMN y FAD hacia el grupo hemo de la enzima sólo cuando la calmodulina se encuentra unida al enzima. Cuando esto no ocurre, los electrones cedidos por el NADPH pasan a aceptores de electrones externos como el citocromo C.

El orden en que los cofactores interactúan con la NOS para iniciar la catálisis es distinta en las formas constitutivas e inducible. Tanto nNOS como eNOS se sintetizan como monómeros no activos que unen FAD y FMN⁸⁷. La formación del dímero tiene lugar cuando se unen a sus sitios de unión el grupo hemo, BH_4 , y L-arginina⁸¹. Pero la

dimerización por sí sola no conduce al flujo de electrones, necesitando la unión del complejo CaCaM formado como consecuencia de un aumento de calcio intracelular, para que se active y comience⁸⁸.

La unión de CaCaM induce cambios conformacionales en el dímero, y es entonces cuando le sigue el flujo de electrones desde el segmento reductasa de la enzima hacia el sitio catalítico que contiene el grupo hemo y, por tanto, la catálisis de L-Arginina. Ésta suele estar en cantidades en exceso en el citoplasma celular de células endoteliales, pero la velocidad de síntesis de L-citrulina y de NO está determinada no por la actividad enzimática sino por la biodisponibilidad de sustrato.

Por el contrario, en el caso de la iNOS, la CaM y la enzima se aíslan y purifican conjuntamente, adquiriendo una estructura tetramérica $\text{NOS}_2/\text{CaM}_2$ ⁸⁹. La dimerización y la activación tienen lugar con la unión de un grupo hemo, BH_4 , y L-arginina⁹⁰. Puesto que estos cofactores son abundantes en la mayoría de las células, una vez que se sintetiza la iNOS, se expresa como un dímero activo funcionalmente.

En consecuencia, podemos observar que la formación de NO puede ser controlada si se actúa sobre los diferentes sitios de unión de la enzima NOS. Y, por consiguiente, con todo lo descrito anteriormente no es atrevido afirmar que uno de los más importantes factores de regulación es el complejo CaCaM, ya que todas las isoformas necesitan para su activación estar unidas a este complejo.

En las isoformas nNOS y eNOS se requieren altas (igual o mayor de 500 nM) concentraciones de calcio intracelular⁹¹⁻⁹², para que éste se una a la calmodulina y se forme el complejo CaCaM que, a su vez, se une a las enzimas y las activa. El aumento del calcio intracelular viene dado por la interacción de hormonas o distintos neurotransmisores. Estas isoformas producen bajas concentraciones de NO, que se une al grupo hemo de las guanilato ciclasas e induce cambios conformacionales que activan a la enzima para la formación de GMPc, lo que le permite regular la propia actividad guanilato ciclasa. Considerando que la actividad de la NOS depende claramente de la concentración de calcio, es interesante señalar que la guanilato ciclasa se inhibe

mediante el calcio intracelular. Este hecho constituye un mecanismo de control y autorregulación del NO. La liberación de este neurotransmisor dentro de las células podría afectar a guanilato ciclasas de células vecinas mientras que la inhibe dentro de la propia célula que produce NO, lo que indica que en la regulación de la actividad de la enzima deben estar implicados otros mecanismos además del mencionado calcio-calmodulina dependiente⁹³.

Otra forma de regulación sería mediante fosforilación de residuos específicos de la isoenzima endotelial, que la hace más activa a una determinada concentración de calcio-calmodulina. Esto puede incrementar la síntesis de NO en ausencia de variaciones en la concentración de Ca⁹⁴.

La isoforma iNOS de las células inmunoactivas posee una gran afinidad por el calcio y, por tanto, solamente necesita de concentraciones basales para su activación. La regulación de la producción de NO por iNOS tiene lugar a través de la combinación de diferentes mecanismos como el control transcripcional sobre la expresión del gen iNOS^{87,95}, el control sobre la disponibilidad del sustrato^{96,97} y el control sobre la síntesis de cofactores esenciales (BH₄) para la activación de iNOS⁹⁸.

2.2.5.- Mecanismo de acción del Óxido Nítrico.

La naturaleza ha elegido al óxido nítrico como el mismo mediador para actuar, bien como mensajero benigno en las células endoteliales, bien como agente citotóxico en el sistema inmune. Veamos pues el mecanismo que se desarrolla en cada uno de los casos.

El NO es una molécula muy reactiva, posee una vida media relativamente larga y es una sustancia no polar, por lo que atraviesa con facilidad las membranas celulares y se difunde a otros tejidos, aunque también puede ser transportada al interior celular mediante proteínas transportadoras⁹⁹. Una vez en el citosol, reacciona con multitud de moléculas.

El NO es vasodilatador y ha sido identificado como el mediador responsable de la relajación vascular, tanto la endotelial como la inducida por nitroderivados (nitroglicerina, dinitrato de isosorbida). El NO activa a la enzima guanilato ciclasa soluble (GCs) resultando GMPc; la formación de GMPc intracelular activa una proteína quinasa que, a su vez, fosforila diversas proteínas aún no identificadas cuyo resultado final es una reducción en la concentración de calcio citosólico y un proceso de relajación¹⁰⁰.

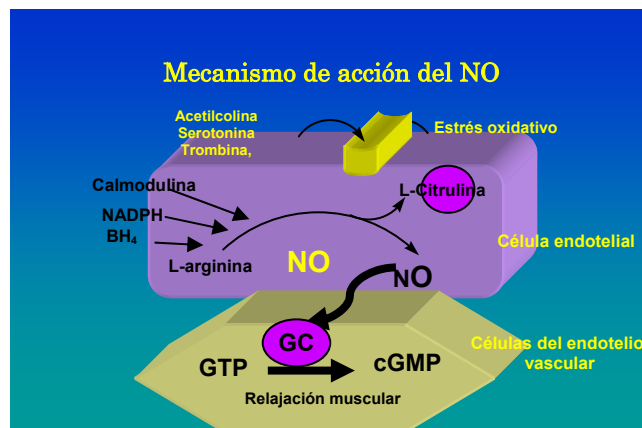


Figura 2.9.- Mecanismo de relajación de la musculatura lisa vascular.

El mecanismo por el cual se une a la guanilato ciclasa probablemente se deba a que el NO presenta una alta afinidad por los átomos de hierro pertenecientes a un grupo hemo asociado a proteínas. El NO se une al hierro de los grupos hemo de forma reversible, lo que le permite regular la actividad de la GC.

Como este mecanismo se da igualmente en muchos tipos de células, las consecuencias son diferentes en cada una de ellas, como la inhibición de la quimiotaxis para polimorfonucleares y bloqueo de la adhesión y agregación plaquetarias.

Una producción insuficiente de NO provoca una disfunción endotelial y podría ser la causa de accidentes cardiovasculares severos, incluidas ciertas formas de hipertensión¹⁰¹. Desde hace más de cien años se vienen utilizando clínicamente

nitroderivados para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, especialmente la angina de pecho¹⁰², pero es ahora cuando se comienza a comprender cómo actúan.

Otras acciones directas del NO¹⁰⁰, no mediadas por el mecanismo anteriormente mencionado, serían la estimulación de la ciclooxigenasa en los macrófagos, bloqueo de varias enzimas mitocondriales (citotoxicidad) y la actuación como neurotransmisor en diversas áreas del SNC (sistema límbico, áreas olfatorias, nociceptivas y de memoria) o del SNP. Dichas vías intervienen en procesos de vasodilatación neurogénica y su actividad neuromuscular en el tracto gastrointestinal, genitourinario y respiratorio.

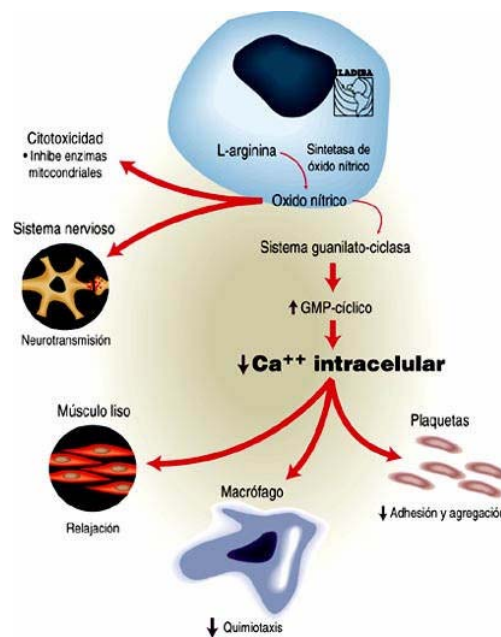


Figura 2.10.- Principales funciones del NO.

Pero sin duda alguna, una de las formas de acción más importantes del NO es el anión superóxido¹⁰³. Como consecuencia de dicho proceso se forma el anión peroxinitrito (ONOO⁻), molécula muy compleja que reacciona con diferentes biomoléculas de interés, por sus propiedades radicalarias y por ser mezcla de radicales hidroxilo y dióxido de nitrógeno.

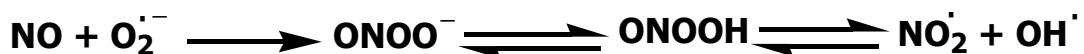


Figura 2.11.- Reacción del óxido nítrico y anión superóxido para dar peroxinitritos.

El peroxinitrito es capaz de inducir peroxidación lipídica, escisión de ADN, oxidación de cisteína, lisina, metionina, histidina y, por supuesto, nitrar compuestos de naturaleza heterocíclica, como triptófano o guanina, y sistemas fenólicos, como la tirosina, pudiendo ser el responsable de la citotoxicidad del $\text{NO}^{104-107}$.

La formación de estos agentes radicalarios depende indirectamente de la actividad de las tres isoenzimas de la NOS, ya que su producción depende de las concentraciones de NO y el anión superóxido. En condiciones fisiológicas normales, la producción de estos peróxidos en el cerebro está controlada por la SOD (superóxido dismutasa), que es la enzima que compete por el anión superóxido con el NO, eliminándolo y por tanto no pudiéndose formar el ONOO^- . La presencia de SOD se encuentra a concentraciones más o menos constantes¹⁰⁸.

En las enfermedades neurodegenerativas la transmisión glutamatérgica puede incrementarse y al mismo tiempo puede que la mitocondria sufra una disfunción, entonces los niveles de Ca^{++} intracelular aumentan y como consecuencia de ello también se ve incrementada la producción de NO y del anión superóxido, porque las isoenzimas de la NOS han sido activadas.

En la **Figura 2.12** se hace un resumen de las situaciones fisiológicas y patológicas en las que está implicado el NO^{94} .

SISTEMA	PAPEL QUE DESEMPEÑA EL NO		
	FISOLÓGICO	PATOLÓGICO	
		Producción excesiva	Producción o acción inadecuada
CARDIO-VASCULAR ENDOTEILO/ MUSCULO LISO VASCULAR PLAQUETAS	-Regulación del flujo sanguíneo local -Regulación de la presión arterial (?)	-Hipotensión -Choque séptico	-Aterogénesis. -Trombosis. -Vasospasmo (P. ej. En hipercolesterolemia, diabetes mellitus)
	-Limitación adhesión/agregación		
	DEFENSA DEL HUESPED MACRÓFAGOS, NEUTRÓFILOS, LEUCOCITOS	- Defensa contra parásitos: virus, bacterias, protozoos y metazoos	
S. NERVIOSO CENTRAL PERIFÉRICO	- Neurotransmisión. -Potenciación a largo plazo. -Plasticidad (memoria). -Regulación del apetito - Nocicepción	- Excitotoxicidad (P.ej Isquemia cerebral, enfermedad de Huntington, Parkinson, Alzheimer, demencia en SIDA)	
	- Neurotransmisión (vaciado gástrico). - Erección peneana.		- Estenosis pilórica hipertrófica. -Impotencia en la diabetes mellitus

Figura 2.12.- Principales acciones del NO.

2.2.6.- Óxido Nítrico y Sistema Nervioso.

El óxido nítrico actúa como neurotransmisor en el SNC. Penetra en las células diana gracias a su lipofilia, donde regula diferentes procesos enzimáticos y se degrada espontáneamente por oxidación o por compuestos tales como el superóxido o la oxihemoglobina, su vida media es de segundos y su distancia de difusión es de 10 μm . Todo esto confirma que no se trata de un neurotransmisor clásico¹⁰⁹⁻¹¹⁰.

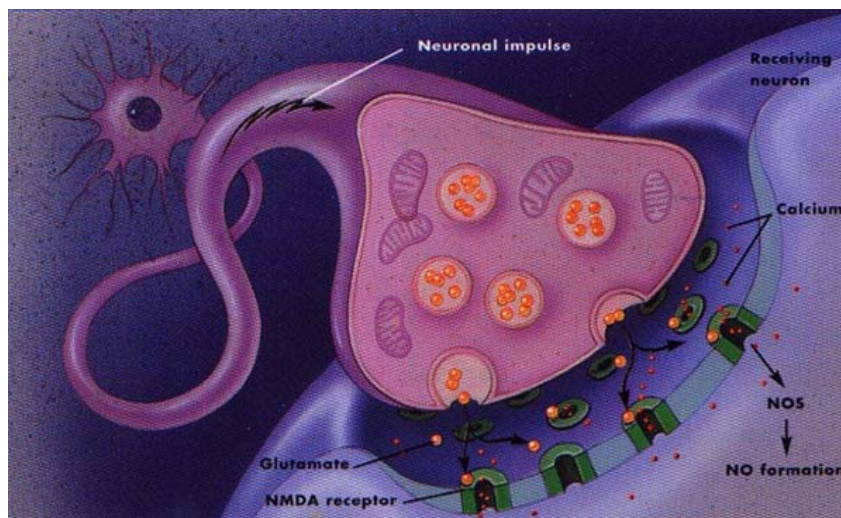


Figura 2.13.- El Óxido Nítrico como neurotransmisor.

Existen una serie de funciones, tanto fisiológicas como patológicas, en las que el NO se encuentra implicado dentro del SN.

Como función fisiológica desempeña un importante papel de neurotransmisor retrógrado, es decir que puede viajar desde la membrana postsináptica a la presináptica y estar involucrado, por consiguiente, en la actividad neuronal a largo plazo (LTP); por ejemplo, en los procesos de plasticidad neuronal, aprendizaje y memoria. Este proceso se bloquearía con inhibidores de la NOS o mediante hemoglobina que quitaría del medio el NO¹¹¹⁻¹¹².

En segundo lugar puede ejercer un papel neurotóxico desencadenando diferentes patologías¹¹³. La toxicidad neuronal del NO viene dada por la neurotoxicidad provocada por el glutamato. La producción excesiva del neurotransmisor glutamato actuaría sobre los receptores NMDA (N-metil-D-Aspartato), provocando una entrada masiva de iones calcio en las células y, por tanto, se activarían las enzimas NOS a través de la activación de la CaCaM, liberándose NO que difunde libremente fuera de la célula y entra de nuevo a la célula presináptica donde se une a la enzima guanilato ciclasa y provoca una nueva síntesis de glutamato. Este mecanismo retrógrado aparece en condiciones normales, pero cuando se produce una activación persistente, y consecuentemente un exceso de producción de NO, se transforma en neurotóxico. Esta disfuncionalidad puede corregirse mediante inhibidores de NOS o eliminando L-arginina del medio, como sustrato de la reacción.

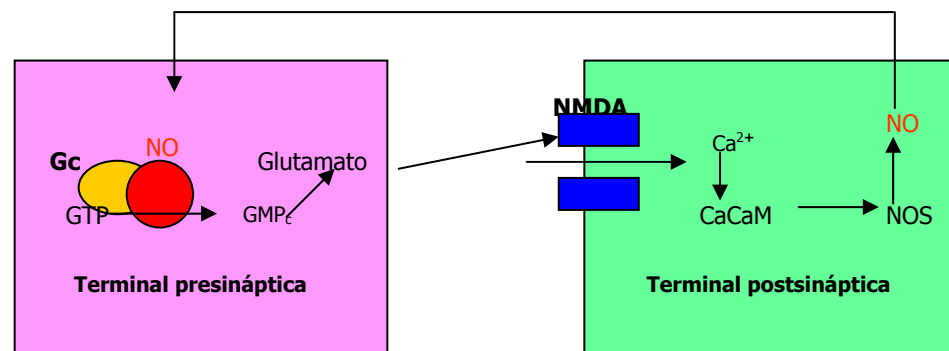


Figura 2.14.- Mecanismo de acción del NO como neurotransmisor.

Este mecanismo algo alterado es el causante de diferentes enfermedades neurodegenerativas tales como Alzheimer, isquemia cerebral, Parkinson y demencia en el síndrome del SIDA¹¹⁴.

También existen otros desórdenes neurológicos en los que está implicado el Óxido Nítrico, no dependientes de GMPc, como son nitrosilación de ácidos nucleicos, rotura del ADN e inactivación de enzimas con centros ferrosulfurados que alteran los procesos energéticos celulares¹¹⁵. Parece evidente que es el radical peroxinitrito el causante de

todos estos desórdenes, ya que nitra, directa o indirectamente, los restos de tirosina en las proteínas, impidiendo que interaccionen para ejercer sus distintas funciones¹¹⁶⁻¹¹⁷.

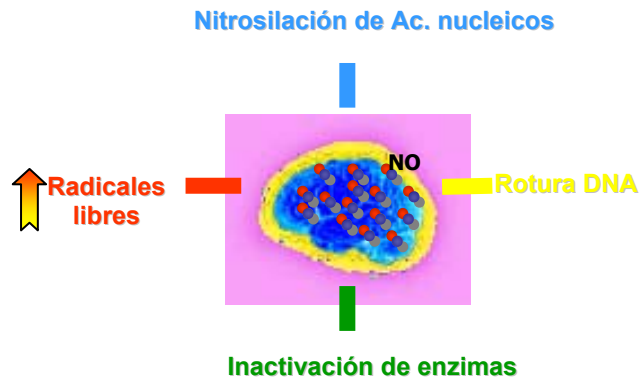


Figura 2.15.- Neurotoxicidad del NO.

2.2.7.- Inhibición de la NOS.

La inhibición de la Óxido Nítrico Sintasa puede llevarse a cabo actuando en los diferentes sitios de unión de cada isoenzima, de este modo se han descrito los siguientes tipos de inhibidores:

- inhibidores que se unen al sitio de la L-Arginina, la mayoría de ellos lo hacen de manera competitiva.
- inhibidores que interaccionan con el grupo hemo del dominio oxigenasa. Son los más estudiados y desarrollados hasta el momento.
- compuestos que se unen al lugar de la tetrahidrobiopterina, BH_4 , que son muy semejantes estructuralmente a dicho cofactor, impidiendo la catálisis enzimática.
- inhibidores de la calcio-calmodulina, como son la melatonina y derivados kinurenínicos y kinuneramínicos sintetizados en nuestro laboratorio.

A continuación, en esta Memoria, se hace una clasificación atendiendo a la selectividad frente a cada una de las isoformas constitutivas e inducida, enumerando los compuestos que han sido descritos recientemente.

2.2.7.1.- Inhibidores de la nNOS.

Zhang y colaboradores han sintetizado una serie de análogos de L-arginina, derivados de N^ω-alquil-L-arginina¹¹⁸ **101**, cuya estructura general se representa en la **Figura 2.16**.

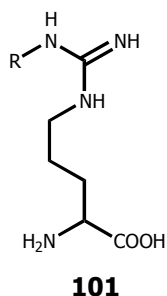


Figura 2.16.- Derivados de N^ω-alquil-L-arginina.
R= Me, Et, Pr, CH₂-CH=CH₂, CH₂C≡CH.

Cuando el radical es propilo presenta una de las mayores selectividades hacia la isoforma nNOS descritas hasta el momento (su potencia de inhibición es 3000 veces mayor sobre nNOS que sobre iNOS, y 150 veces mayor que sobre eNOS). En conclusión, se puede decir que tanto la geometría como el tamaño de la cadena lateral son extremadamente importantes en la actividad de estos análogos sobre la nNOS.

Los derivados isotioureicos¹¹⁹ interactúan con el sitio de unión de la L-arginina. En este grupo aparecen una serie de derivados de N-fenilisotiourea (**Figura 2.17**) que se presentan como potentes inhibidores de la isoforma nNOS.

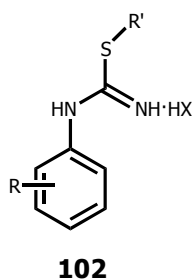


Figura 2.17.- Derivados fenilisotioureicos inhibidores de nNOS.
R=H, 2-Br, 3-Cl, 4-Cl, 2-OCH₃, 4-OCH₃, 2-CF₃,
3-CF₃, 4-CF₃, R' = Me, Et, Pr, CH₂Ph, X= I, Cl.

Se ha visto que los sustituyentes fenilo y etilo (R') son fundamentales para la potencia inhibitoria, en el primer caso su sustitución por otros anillos reduce la actividad frente a la NOS, aunque se mantiene la selectividad por nNOS. También se ha llevado a cabo un estudio detallado de la selectividad de estos compuestos en función de los sustituyentes en el grupo fenilo (R'). La sustitución en posición *para* del anillo incrementa la selectividad nNOS frente a iNOS y a eNOS con respecto a la sustitución en posiciones *orto* y *meta*.

De todos estos derivados destaca el S-etil-N-[4-(trifluorometil)-fenil]isotiourea (R=4-CF₃, R'= Et, X= Cl); el compuesto es muy potente y presenta una marcada selectividad por nNOS (115 y 29 veces mayor que hacia iNOS y eNOS respectivamente).

En 1998 Collins¹²⁰ sintetizó una serie de derivados N-fenilamidínicos que presentan una inhibición selectiva de la isoforma nNOS, entre los que destacan los representados en la **Figura 2.18**.

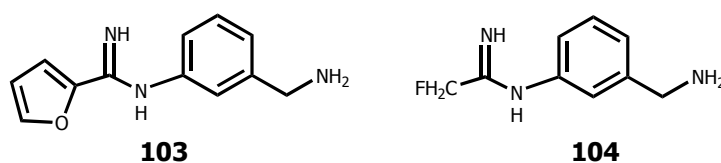


Figura 2.18.- Derivados amidínicos inhibidores de la NOS.

La máxima potencia inhibitoria y selectividad frente a nNOS la presenta el compuesto **103** con un valor de $K_{i-nNOS} = 0.006 \mu\text{M}$ (frente a los valores de $K_{i-eNOS} = 0.35 \mu\text{M}$, y $K_{i-iNOS} = 0.16 \mu\text{M}$). El derivado **104** ha mostrado una excelente inhibición de la nNOS en ensayos in vivo.

En la **Figura 2.19** se muestra la estructura base de una serie de derivados imidazólicos aminoacídicos¹²¹ en los que la cadena intermedia se ha variado desde dos hasta seis átomos de carbono ($n = 0 - 4$). Los inhibidores más potentes son los derivados

con $n=1$ y $n=3$ siendo además estos compuestos los que presentan mayor selectividad por nNOS e iNOS frente a la eNOS.

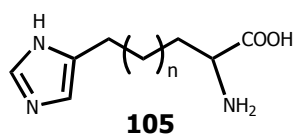


Figura 2.19.- Análogos imidazólicos aminoacídicos inhibidores de la NOS.

Por otra parte, hay compuestos que compiten con el sitio de unión de la tetrahydrobiopterina, derivados biopterínicos 4-amino-BH₄ y 4-amino-BH₂. impidiendo la catálisis enzimática. A este nivel también actúan una serie de derivados nitroindazólicos que se comportan como magníficos inhibidores de nNOS, siendo su selectividad por las otras isoformas muy pobre. El más potente de estos derivados es el 7-nitroindazol¹²² **106** (**Figura 2.20**).

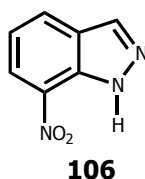
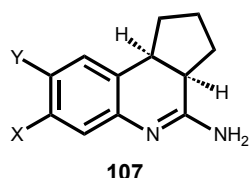


Figura 2.20.- 7-nitroindazol, análogo indazólico inhibidor de nNOS.

En 2003 Stefan Jaroch y col.¹²³ describieron la síntesis y evaluación biológica de diferentes derivados de dihidroquinolinas conteniendo grupos amino como inhibidores altamente selectivos. Ellos consideraron, sin embargo, más importante encontrar estructuras con una selectividad hacia la nNOS frente a la eNOS, ya que una inhibición dual entre nNOS/iNOS es beneficiosa en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, puesto que la iNOS en situación de neurotoxicidad también puede ser inducida. De este modo sintetizan los compuestos tipo **107** que aparecen en la **Figura 2.21**.



X= H, 3-ClC₆H₄CH₂NHCH₂,
 3-ClC₆H₄CH₂NHCH₂CH₂,
 3-ClC₆H₄CH₂NHCH₂CH₂CH₂,
 MeNHCH₂CH₂O
 Y= H, Cl

107

Figura 2.21.-Derivados quinolónicos conteniendo un grupo amino.

Todos estos productos presentan grandes índices de inhibición de la nNOS (**Tabla 2.1**) frente a las otras isoformas, pero sin duda el más significativo es aquél para el cual X=3-ClC₆H₄CH₂NHCH₂CH₂CH₂ e Y= H (IC₅₀ (μM)= 0.042 para nNOS) y X=3-ClC₆H₄CH₂NHCH₂CH₂ e Y= H (IC₅₀ (μM)= 0.048 para nNOS), que son 300 veces más selectivos además de ser también potentes por la nNOS. Además inhiben moderadamente la iNOS.

Compuesto	X	Y	IC ₅₀ (μM) n-NOS	IC ₅₀ (μM) e-NOS	IC ₅₀ (μM) i-NOS
107a	3-ClC ₆ H ₄ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂	H	0.14	9.6	0.95
107b	3-ClC ₆ H ₄ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ CH ₂	H	0.0048	6.7	0.53
107c	3-ClC ₆ H ₄ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ CH ₂	Cl	0.17	8.7	1.6
107d	3-ClC ₆ H ₄ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	0.042	9.4	0.58
107e	MeNHCH ₂ CH ₂ O	H	0.17	52	3.9

Tabla. 2.1.- Relación de compuestos con selectividad frente a la nNOS con la estructura general 107.

En el equipo de Deane M. Nason¹²⁴ habían ya investigado la potencia inhibitoria del derivado 6-(4-sustituidofenil)-2-aminopiridina **108** frente a las distintas isoformas de la NOS, sin embargo la selectividad de este tipo de compuestos era pobre ya que inhibían las dos isoenzimas constitutivas nNOS y eNOS. En el presente año, tratando de aumentar la potencia y sobre todo la selectividad, describieron la síntesis de ocho nuevos derivados de 2-aminopiridinas, con las estructuras generales tipo **109** y **110** (**Figura 2.22**).

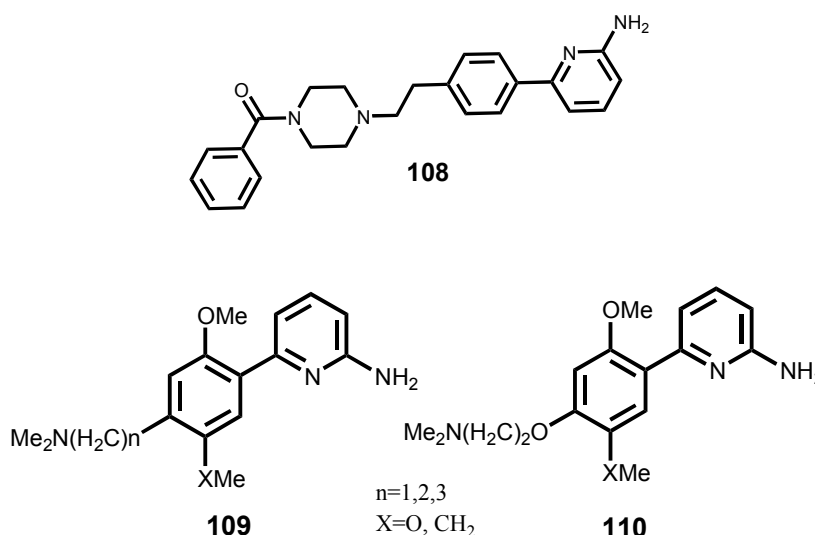


Figura 2.22.- Derivados de piridina como inhibidores de la NOS.

Todos ellos presentaron actividad inhibitoria de la nNOS; en general, análogos para los que $\text{X}=\text{O}$ presentan una selectividad con respecto a la otra isoforma de 40 a 220 veces superior, aunque los más potentes son los compuestos con $\text{X}=\text{CH}_2$ y $n=1$ de los tipos **109** y **110**, pero poseen menor selectividad.

En el año 2004 se ha publicado la actividad inhibitoria frente a la nNOS de diferentes compuestos organometálicos, por K. Ohashi y col.¹²⁵ Los compuestos organometálicos trifenilestaño (TPT), tributilestaño (TBT), monobutilestaño (MBT) y dibutilestaño (DBT), son compuestos que se usan en la catálisis industrial de poliuretanos y sobre todo han sido empleados en las pinturas de los barcos como biocidas de hongos y bacterias, ya que estos compuestos son tóxicos para las especies marinas a bajas concentraciones. Pero también se ha podido comprobar que estos compuestos son neurotóxicos e inmunotóxicos para mamíferos, incluido el hombre, que expuesto accidentalmente a esta serie de organometálicos sufría diversas patologías y perturbaciones psíquicas.

Por este motivo se ha podido comprobar que la toxicidad de estos compuestos viene dada por la actividad inhibitoria sobre la nNOS vía interacción con la calcio-calmodulina. De los resultados obtenidos se pudo constatar que el compuesto MBT es el

que presenta mayor inhibición de nNOS; este compuesto es, por otra parte, un metabolito del TBT (**Figura 2.23**).

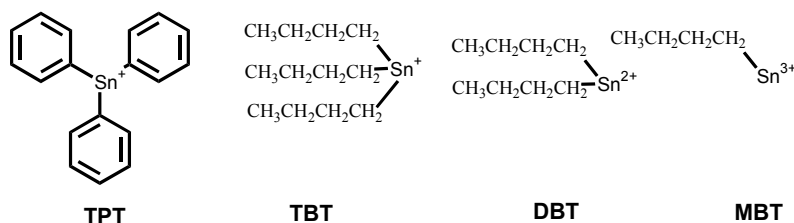


Figura 2.23.- Compuestos organometálicos inhibidores de la NOS..

Otra publicación del año 2004¹²⁶ ha descrito compuestos potentes y selectivos inhibidores de nNOS, derivados de la N^ω-Nitro-L-Arginina. La síntesis se hizo por medio de un procedimiento sintético en fase sólida. Los compuestos obtenidos son derivados de L-Arginina a los que se les ha introducido un dipéptido, y se comportan como análogos de ella, compitiendo por su lugar de unión. La evaluación biológica elucidó que los compuestos tipo **111** y **112** eran los más selectivos (IC₅₀= 0.64 y 9.6 μM) para la isoforma neuronal (**Figura 2.24**).

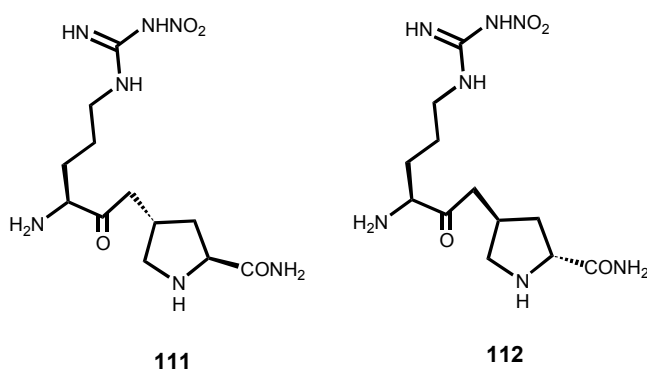


Figura 2.24.- Derivados de L-Arginina como inhibidores de nNOS.

Nuestro grupo de investigación ha llevado a cabo la síntesis y evaluación biológica de una serie de nuevos derivados que actúan a nivel del complejo calcio-calmodulina; éstos son una serie de kinureninas sintéticas¹²⁷ que responden a dos tipos estructurales:

diésteres derivados del ácido amidomalónico sustituidos en posición dos **113** y derivados de ácidos carboxílicos α -amido- ω -benzoilsustituidos **114** (Figura 2.25), evaluándose sus efectos sobre la actividad nNOS en el estriado de rata y sobre la respuesta de las neuronas estriatales a la estimulación de la corteza sensorimotora (SMCx). Se ha demostrado que esta respuesta está mediada a través del receptor NMDA ¹²⁸⁻¹³⁹.

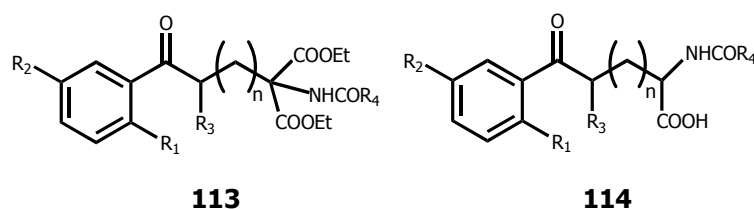


Figura 2.25.- R₁= H, NH₂, N(CH₃)₂, NHCH₂Ph; R₂= H, OCH₃, NO₂; R₃= H, CH₃; R₄= Me, Et, Pr, CH=CHCH₃, c-C₃H₅, cC₆H₁₁, Ph; n=0,1.

De los 36 compuestos sintetizados y evaluados biológicamente, cabe destacar las estructuras **115 - 118** (Figura 2.26).

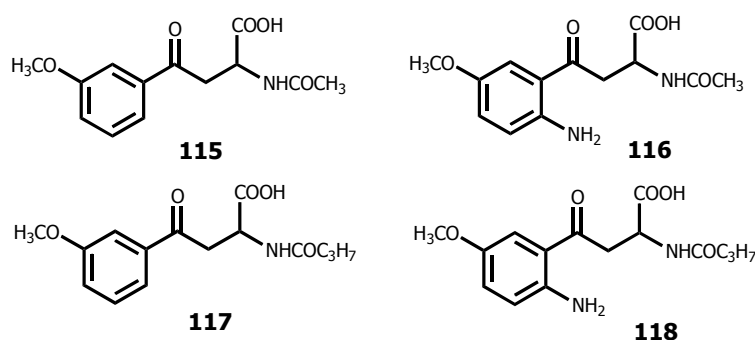


Figura 2.26- Estructuras de las diferentes kinureninas.

Las actividades de estas cuatro kinureninas sintéticas han sido comparadas con las presentadas por la melatonina ^{130,131}. Los compuestos **116** y **118** fueron los más potentes, tanto en la inhibición de la excitabilidad NMDA como en la inhibición de la enzima nNOS, resultando ser la kinurenina **116** más potente que la melatonina a la hora

de ejercer ambas acciones; en cambio los efectos del compuesto **116** son similares a los mostrados por la hormona.

Las kinureninas sintéticas **115** y **117**, aunque presentan una estructura química muy parecida, muestran efectos biológicos diferentes. Así el derivado **115** es menos potente que sus análogos **116** y **118** en cuanto a la inhibición de la excitabilidad mediada por NMDA, en cambio la kinurenina **117** presenta una acción diferente al resto de los compuestos ensayados, ya que no posee actividad inhibitoria sino excitadora, por ello se le ha definido como un compuesto con propiedades agonistas inversas a la melatonina¹²⁹. En cuanto a la inhibición de la actividad nNOS, las kinureninas sin grupo amino resultaron ser inactivas.

El bloqueo del grupo amino en posición R₁ de la kinurenina **116**, con un grupo dimetilo para dar el compuesto **119** o con un grupo bencilo para dar la kinurenina **120** (**Figura 2.27**), hace que estos compuestos no muestren actividad frente a la inhibición del enzima nNOS, produciendo además una menor inhibición de la excitabilidad neuronal.

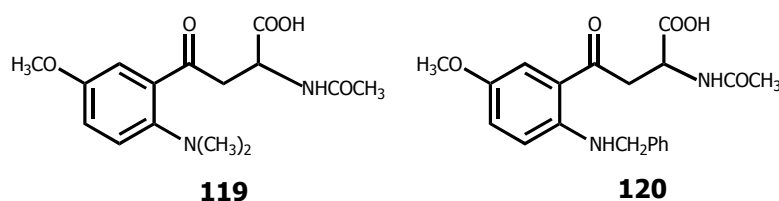


Figura 2.27.- Kinureninas con el grupo amino bloqueado.

Los resultados obtenidos sugieren una relación estructura-actividad en los derivados kinurenínicos, siendo imprescindible la presencia de un grupo amino libre en R₁ para que los compuestos muestren actividad sobre la nNOS¹²⁷.

Se ha propuesto que el grupo amino aromático provoca un cambio conformacional importante en las moléculas de kinureninas que lo poseen, debido a la formación de un enlace de hidrógeno intramolecular con el grupo carbonilo cetónico, lo que se traduce en que la conformación preferente sea del tipo representado en la estructura **121**. Este

cambio conformacional mimetiza la conformación preferente y farmacófora de la melatonina **122**, demostrando la importancia del enlace de hidrógeno formado, así como la necesidad de la presencia del grupo amino libre para la actividad inhibitoria sobre nNOS (**Figura 2.28**).

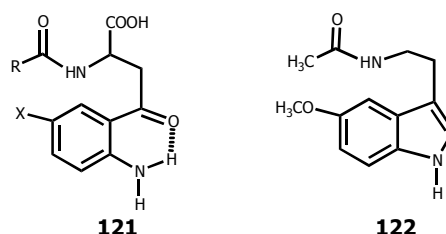


Figura 2.28.- Conformación preferente de kinureninas con grupo amino libre y melatonina.

Recientemente en nuestro laboratorio se ha desarrollado la síntesis química y evaluación biológica del principal metabolito cerebral de la melatonina⁴⁴, N-acetil-5-metoxikinurenamina **123**, cuya estructura se representa en **la Figura 2.29**.

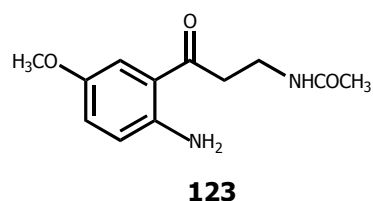


Figura 2.29.- Estructura del principal metabolito de la melatonina.

Se ha comprobado que el efecto inhibitor de la melatonina no es inmediato, sino que tarda entre dos y cuatro minutos en manifestarse¹³⁰; este período de latencia de la melatonina observado en ensayos de electrofisiología sólo puede interpretarse, como propuso Kennaway¹³² en 1992, a través de una acción intracelular, bien directamente de la melatonina o a través de sus metabolitos; de hecho se piensa que los efectos neuroprotectores de la melatonina tienen lugar a través de su principal metabolito cerebral **124**.

Este metabolito ha sido considerado como prototipo en nuestro laboratorio para el desarrollo de una serie de kinurenaminas sintéticas^{133,134} con estructura tipo **125** (**Figura 2.30**), donde se incluyen modificaciones que afectan al sustituyente R amídico⁴⁴.

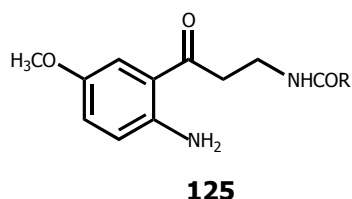


Figura 2.30.- R= Me, Et, Pr, Bu, c-C₃H₅, c-C₄H₇, c-C₅H₉, c-C₆H₁₁, Ph.

Todas las kinurenaminas obtenidas inhiben en mayor o menor medida la actividad de la nNOS, siendo el metabolito (R=Me) el que presenta la inhibición máxima. En general se puede afirmar que el hecho de aumentar el número de carbonos de la cadena lateral amídica R, ya sea lineal o cíclica, conduce a compuestos con una menor actividad inhibitoria frente a la nNOS.

En cuanto al mecanismo de acción para el principal metabolito cerebral de la melatonina, se han llevado a cabo diferentes experimentos cinéticos que pretenden definir en qué sitio de la enzima actúan estos inhibidores. Dado que nNOS necesita de varios cofactores para ejercer su efecto (FAD, BH₄ y CaM), se han desarrollado diversas experiencias que conduzcan a determinar si este metabolito interfiere con algunos de los cofactores anteriormente mencionados. También se han llevado a cabo ensayos para determinar si actúa en el sitio del sustrato natural (L-arginina). Los experimentos han demostrado que este compuesto es competitivo con el complejo calcio-calmodulina, por lo que se puede aceptar que debe unirse a dicho complejo y provocar su inactivación¹³⁶.

2.2.7.2.- Inhibidores de la iNOS.

La inhibición de esta isoforma ha sido ampliamente estudiada en los últimos años, intentando conseguir un remedio eficaz para las patologías de naturaleza inflamatoria como son la artritis reumatoide, choque séptico, esclerosis lateral amiotrófica, colitis, etc.; sin intervenir en los procesos fisiológicos en los que participan las isoenzimas constitutivas. En este sentido y, debido a la multitud de avances descritos, se han

detallado cronológicamente en esta Memoria de Tesis sólomente las más importantes y actuales publicaciones referentes a la inhibición selectiva de la iNOS.

La falta de inhibidores selectivos de la isoforma inducible que sean a la vez potentes y no tóxicos hace que el equipo de Young, R.J. y col.¹³⁵ desarrolle la línea de investigación encaminada hacia inhibidores selectivos. Basándose en los estudios previos, los derivados acetamídínicos de la L-Arginina, tales como L-N-iminoetilornitina (L-NIO) o L-Lisina (L-NIL), mostraron cierta potencia y algo de selectividad sobre la isoforma iNOS, han desarrollado unos análogos de L-NIL, incluyendo la sulfona **125a** y el sulfuro **125b** (**Figura 2.35**) para potenciar el aspecto selectivo.

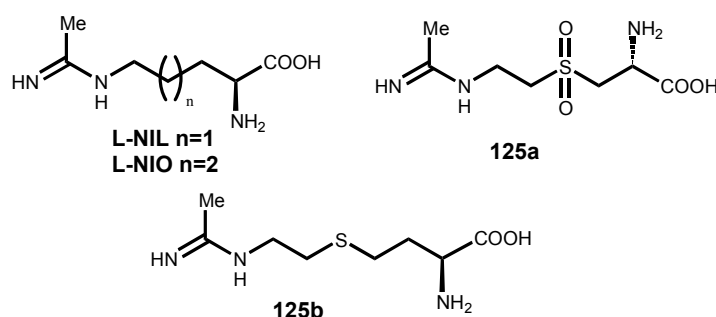


Figura 2.35.- Inhibidores potentes de iNOS.

Los productos sintetizados tienen la estructura general del tipo **126**, son análogos a los productos anteriormente descritos (para $m=n=1$ y $n=1, m=2$, **Figura 2.36**) y presentan mejores índices de selectividad hacia la iNOS, sobre las isoformas endoteliales y neuronales

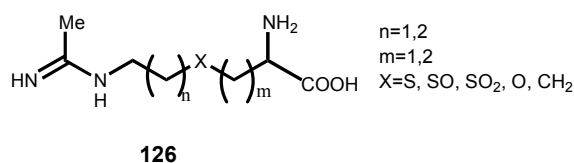


Figura 2.36.- Inhibidores potentes y selectivos de iNOS.

En el año 2000 Naka y colaboradores¹³⁶ describen un nuevo derivado amidínico cíclico **127** como un potente inhibidor de la isoforma inducible, conocido como ONO-1714 y su estructura está representada en la **Figura 2.37**.

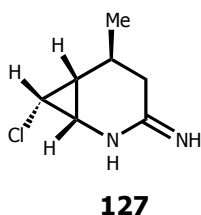


Figura 2.37.- ONO-1714, derivado amidínico cíclico inhibidor selectivo iNOS.

Dicho derivado se ha encontrado que es 10 veces más selectivo por la isoforma iNOS humana, parcialmente purificada, que por eNOS. Actualmente se encuentra en fase de ensayo clínico debido a que es el que menos efectos secundarios o adversos posee.

Otros inhibidores de la iNOS con estructura amidínica cíclica son los derivados 2-iminopiperidínicos¹³⁷, entre los que destacan las estructuras que se muestran en la **Figura 2.38**.

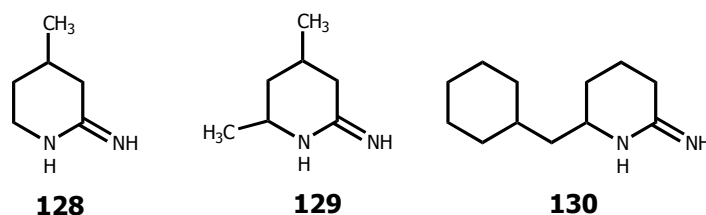


Figura 2.38.- Principales inhibidores de NOS con estructura 2-iminopiperidínica.

En este estudio se observa que la introducción de grupos metilo en posición 4 (compuesto **128**) y en posiciones 4 y 6 del anillo 2-iminopiperidínico (compuesto **129**) aumentan la potencia inhibitoria aunque no son demasiado selectivos; en cambio la introducción de un grupo ciclohexilmetilo en posición 6 del anillo (compuesto **130**) produce un destacado aumento en la selectividad por iNOS (la inhibición fue 64 y 5 veces mayor a la obtenida en las isoformas eNOS y nNOS respectivamente).

Otro tipo estructural de inhibidores son los publicados por Hagmann y col.¹³⁸ en el año 2000, estos compuestos presentan un anillo de 2-aminopiridina sustituido (**Figura 2.39**). En este estudio se observó que los derivados 4,6-disustituidos presentaban una mayor potencia y selectividad por la isoforma inducible (iNOS).

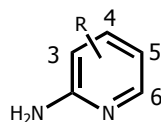
**131**

Figura 2.39.- Derivados 2-aminopiridínicos inhibidores de NOS.
 R= 3-CH₃, 4-CH₃, 5-CH₃, 6-CH₃, 3,4-(CH₃)₂, 3,5-(CH₃)₂,
 4,5-(CH₃)₂, 4-Cl, 4-CF₃, 4-CH₃-6-nC₃H₇, 4-CH₃-6-iC₃H₇,
 4-CH₃-6-nC₄H₉, 4-CH₃-6-iC₄H₉.

De todos los compuestos ensayados con estructura tipo **131**, destacan aquéllos en los que R= 4-CH₃-6-nC₄H₉ y 4-CH₃-6-iC₄H₉, mostrando mayor potencia y selectividad hacia la isoforma iNOS; en concreto el compuesto con R= 4-CH₃-6-iC₄H₉, presenta un valor de IC₅₀ para iNOS de 0.028 μM, y la selectividad hacia la isoforma iNOS es 5 y 3 veces mayor que la mostrada por las otras isoformas eNOS y nNOS respectivamente.

Beaton y col. en el año 2001, describen los inhibidores con estructura de 3,4-dihidro-1-isoquinolinamina¹³⁹ representados en la **Figura 2.40**.

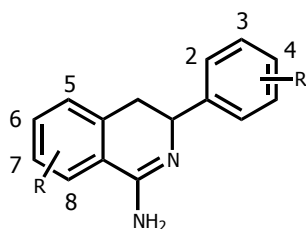
**132**

Figura 2.40.- Derivados 3,4-dihidroisiquinolinamínicos
 R= H, 8-F, 5-F, 6-F, 7-F, 8-F, 8-Cl; R'= H, 2-F, 3-F, 4-F, 4-Cl.

El compuesto 3-fenil-3,4-dihidro-1-isoquinolinamina (R= R'= H) es un débil inhibidor de las isoformas iNOS y nNOS; en cambio, variaciones en esta estructura

llevaron a un aumento de la potencia y la selectividad hacia la isoforma iNOS, éste es el caso del derivado con R= 8-F y R'= 4-F, con un valor de IC₅₀ para iNOS de 0.16 µM y una selectividad hacia esta isoforma 16 veces mayor que la presentada hacia nNOS. El mecanismo de inhibición de estos derivados no se ha descrito.

En la medicina natural China e India el rizoma de *Hedychium coronarium* ha sido empleado durante siglos para curar o paliar diversas enfermedades o síntomas, como artritis, dolores de cabeza, fiebre, etc. Por otro lado estudios farmacológicos demostraron que el extracto clorofórmico de este rizoma contenía estructuras diterpénicas que mostraban actividad citotóxica sobre células de ratones. Con todos estos antecedentes, en el año 2002 H. Matsuda y col.¹⁴⁰, describen la actividad inhibitoria, así como la selectividad, presentada por compuestos diterpénicos. Los ensayos fueron también realizados in vivo sobre LPS activados de macrófagos peritoneales de ratones. Los resultados obtenidos mostraron que sólo la fracción soluble en acetato de etilo presentaba una potente actividad inhibitoria. Determinaron los compuestos que estaban contenidos en dicha fracción y, mediante la separación y purificación por HPLC, consiguieron elucidar que en esta alícuota se encontraban las estructuras tipo diterpénicas entre otras. A continuación se evaluaron una por una estas estructuras y comprobaron que los compuestos que presentaban mejores IC₅₀ eran aquellas estructuras que se muestran en la **Figura 2.41**.

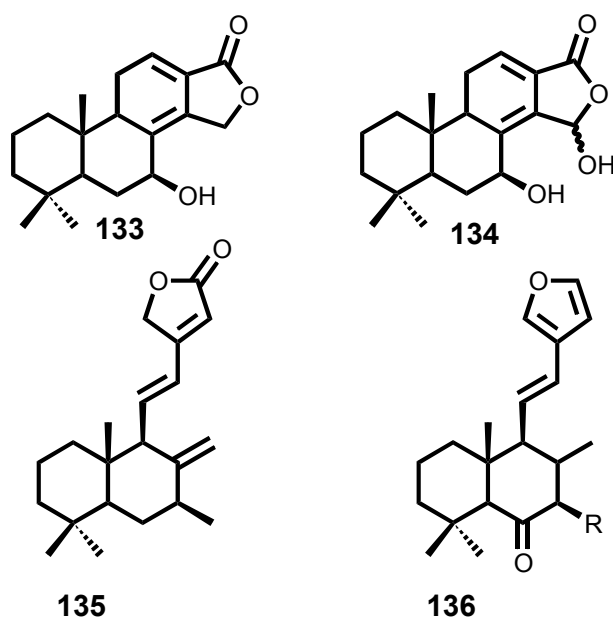
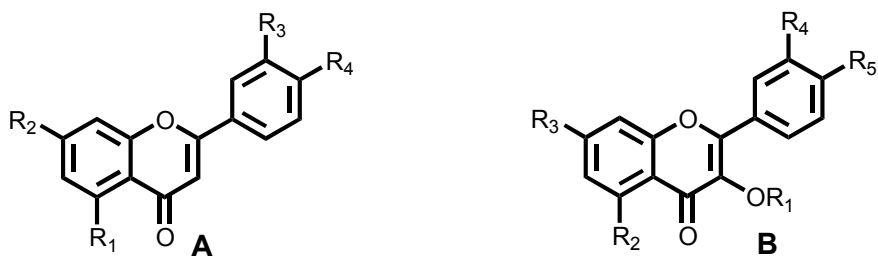
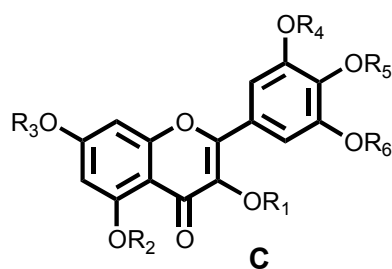


Figura 2.41.-Derivados diterpénicos con actividad iNOS.

Un año más tarde¹⁴¹ se aventuran a explorar la relación estructura-actividad existente entre la inhibición de la iNOS y 79 flavonoides, determinando la producción de NO formado por el liposacárido activado de macrófagos peritoneales de ratones, como posibles agentes terapéuticos en enfermedades de tipo inflamatorio. De las estructuras tipo **A**, **B** y **C** mostradas en la **Figura 2.42**, se vio que los más activos eran los flavonoides **137**, **138**, **139** y **140**. En este trabajo se esclarece la actividad de los flavonoides como posibles inhibidores de la iNOS ya que hasta el momento no se tenían suficientes ejemplos para afirmar que estos compuestos naturales pudieran ser de utilidad en la biología del NO, como sucedía con otros compuestos naturales tipo cumarinas, sesquiterpenos, estilbenos y otros alcaloides que sí estaban ampliamente estudiados en cuanto respecta a su participación en la producción de NO.



R₁=OH, R₂=OH, R₃=H, R₄=OH **137**
 R₁=OH, R₂=OH, R₃=OH, R₄=OCH₃ **138**
 R₁=OCH₃, R₂=OCH₃, R₃=OCH₃, R₄=OCH₃ **139**



R₁=CH₃, R₂=CH₃, R₃=CH₃, R₄=CH₃, R₅=CH₃ **140**

Figura 2.42.- Estructuras flavonoides con actividad inhibitoria selectiva iNOS.

En patologías donde la isoenzima iNOS es la que está implicada, es necesario conseguir una inhibición selectiva, ya que las otras isoenzimas desempeñan una función fisiológica en condiciones normales (control de la presión sanguínea y tono vascular por la endotelial y regulación de la neurotransmisión por la isoenzima neuronal). Los pacientes tratados con fármacos no selectivos de esta isoenzima endotelial deben ser monitorizados para comprobar su presión sanguínea. Este hecho es el que empuja a S. Ueda y col.¹⁴² en 2004 a describir estructuras derivadas de 2-imino-1,3-oxazolidinas 4,5-disustituidas **141** con marcada selectividad y potencia (IC₅₀=7.9 μM) tanto en su isómero *cis* como en el *trans*. El compuesto para el cual la selectividad iNOS versus nNOS es mayor, es aquél donde R₁=Et y R₂= Et y de configuración *trans*, aunque el más potente resulta ser aquél con R₁=n-Pr y R₂= Me y configuración *cis*. Con anterioridad habían sido evaluados estos mismos compuestos monosustituidos, obteniéndose buenos resultados de inhibición pero siendo pobres en selectividad. Parece evidente que la disustitución en

las posiciones cuatro y cinco hace que los compuestos sean más selectivos. Sin embargo en cuanto a la influencia de la regioisomería no parece estar tan claro, pues a pesar de que el compuesto más selectivo es *trans*, en general los isómeros *cis* presentan mejores índices de selectividad. Estos dos compuestos fueron finalmente elegidos para realizarle ensayos in vivo. (**Figura 2.43**).

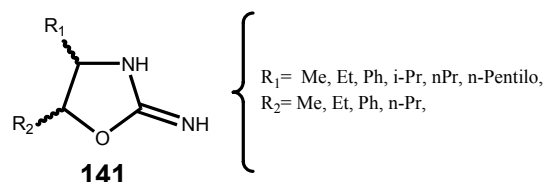


Figura 2.43.- Derivados de la 2-imino-1,3-oxazolidina.

El mismo equipo investigador desarrolla otra propuesta ese mismo año¹⁴³. Conociendo que el derivado 2-imino-1,3-oxazolidina **142** y que los derivados de 2-aminotiazol **143** muestran igual selectividad, pero que el compuesto **142** es más potente, proponen la síntesis y evaluación biológica de derivados 4,5-disustituidos-2-imino-1,3-tiazolidina **144** (**Figura 2.44**).

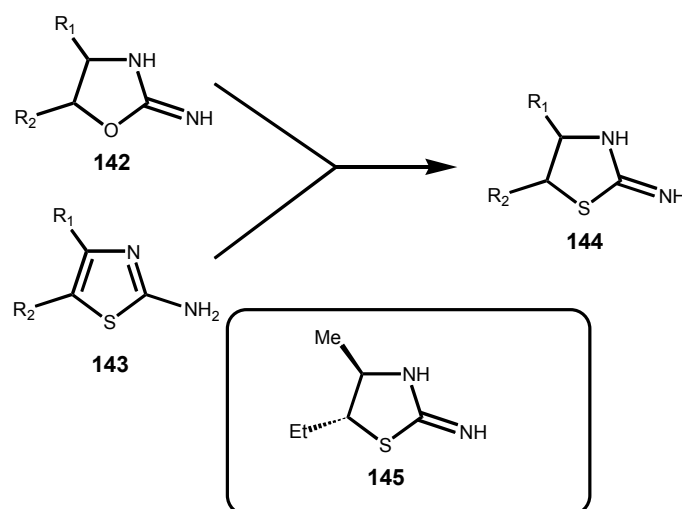


Figura 2.44.- Derivados de la 2-imino-1,3-tiazolidina.

La síntesis la realizan a partir de aminoalcoholes y los compuestos obtenidos muestran todos ellos buenos resultados de inhibición. Los resultados indican que el compuesto más potente y selectivo es aquél para el cual $R_1=Me$, $R_2= Et$ y de configuración *trans* (**145**) ($IC_{50}=0.0066\mu M$, $nNOS/iNOS=58$). Estudios anteriores proponen que la alta inhibición puede ser debida a la interacción del grupo azufre de estos compuestos con el grupo hemo del dominio oxigenasa de la isoenzima, y que la selectividad se debería a la formación de un puente de hidrógeno entre el grupo imino y el ácido carboxílico de este dominio. El tamaño del radical también parece influir ya que pequeños sustituyentes en la posición cuatro son bien tolerados por la isoenzima, mientras que tamaños mayores conducen a un descenso en la actividad. Este compuesto **145** ha sido ensayado *in vivo*, viendo sus efectos a través de la concentración de nitratos y nitritos en plasma en ratones tratados con lipopolisacaridos (LPS), mostrando una $ID_{50}= 0.15-0.13$ mg/Kg. Además también se ha comprobado que presenta una buena farmacocinética. Por todo ello se sugiere que podría ser de utilidad en la terapia de procesos tales como artritis, colitis, rechazo de transplantes, disfunción vascular en diabéticos y choque septico.

2.3.- Bibliografía de Antecedentes.

1. Fejes, I.; Toke, L.; Blasko, G.; Nyerges, M.; Pack, C.S. A New Synthesis of 3,5-Diaryl-pyrrole-2-carboxylic Acids and Esters. *Tetrahedron*, **2000**, 56, 8545-8553.
2. Jones, R. A.; Bean, G.P. *The Chemistry of Pyrroles*. Academic Press: London, **1977**, 1491.
3. Corelli, F.; Massa, S.; Stefancich, G.; Mai, A.; Artico, M.; Panico, S.; Simonetti, N. Antibacterial and Antifungal Compounds VIII. Synthesis and Antifungal Activity of Pyrrol Derivatives Similar to Trichostatin A. *Il Farmaco; edizione scientifica* **1987**, 42 (12), 893-903.

4. Massa, S.; Stefancich, G.; Artico, M.; Corelli, F.; Pantaleoni, G. C.; Palumbo, G.; Fanini, D.; Giorgi, R. Non-steroidal Anti-inflammatory Agents. VI. Synthesis and Pharmacologic Activity of Aroylthiopheneacetic Acids with a Pyrrole Group. *Il Farmaco; edizione scientifica*, **1986**, 41 (4), 281-291.
5. Lotti, B.; Vezzoso, O.; Pyrrolic Derivatives with Hypoglycemic Activity. *Il Farmaco; edizione scientifica*, **1972**, 27, (4), 317-321.
6. Meglio, P. G.; Corradi, F.; Ravenna, F.; Gentili, P.; Tempra-Gabbiati, G.; Cristina, T.; Riva, M. Pyrrolidone and Piperidone Derivates with Antihistaminic and Antianaphylactic Activities. Synthesis and Pharmacological Study. *Il Farmaco; edizione scientifica*, **1987**, 42 (5), 359-382.
7. Fontanella, L.; Corsico, N.; Diena, A.; Ocelli, E. Derivatives of 2,3,5,6,7,7a-Hexahydro-1,3-dioxo-1H-pirrolo[1,2-c]imidazol-5-carboxylic acids. *Il Farmaco; edizione scientifica*, **1984**, 39 (2), 133-153.
8. Bernabei, M. T.; Cameroni, R.; Forni, F.; Bellei, S.; Baggio, G. Heteropolycyclic Systems. VII. 4-Dialkylaminoalkyl-2,3,3a,4-tetrahydro-1H-pyrrolo[2,1-c][1,2,4]benzothiadiazine-5,5-dioxides and Their Benzene-Substituted Derivatives. Cardiovascular Effects in Anesthetized Rat. *Il Farmaco; edizione scientifica*, **1978**, 33 (10), 791-798.
9. Chimenti, F.; Giuliano, R.; Vomero, S.; Artico, M.; Dolfini, E.; Morasca, L. Research on Antineoplastic Substances. LI. Derivatives of Benzo[f]-pyrrolo-[1,2-a]-quinoxaline and Naphtho-[2,1-e]-pyrrolo-[2,1-c]-as-triazine: Synthesis and Cytostatic and Cytotoxic Activity. *Il Farmaco; edizione scientifica*, **1973**, 28 (4), 284-297.
10. Sundberg, R. J. "Pyrroles and Their Benzo Derivates: Synthesis and Applications". *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, **1996**, 2, 313-376.

11. Utimoto, K.; Miwa, H.; Nozaki, H.; Palladium-Catalyzed Synthesis of Pyrroles. *Tetrahedron Letters*, **1981**, 22, 4277-4278.
12. Hewton, C. E.; Kimber, M. C.; Taylor, D. K. A One-pot Synthesis of Thiophene and Pyrrole Derivatives from Readily Accesible 3,5-dihydro-1,2-dioxines. *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 3199-3201.
13. Adamczyk, M.; Reddy, R. E.; A Convenient Synthesis of 2-Cyanopyrroles from Isocynoacetoneitrile. *Tetrahedron Letters*, **1995**, 44, 7983-7986.
14. Aoyagi, Y.; Mizusaki, T.; Ohta, A. Facile and Efficient Synthesis of Pyrroles and Indoles via Palladium-Catalyzed Oxidation of Hydroxy-Enamines and -Amines. *Tetrahedron Letters*, **1996**, 51, 9203-9206.
15. Alberola, A.; González Ortega, A.; Sádaba, M. L.; Sañudo, C. Versatility of Weinred Amides in the Knorr Pyrrole Synthesis. *Tetrahedron*, **1999**, 55, 6555-6566.
16. Fürstner, A.; Weintritt, H.; Hupperts, A. A New, Titanium-Mediated Approach to Pyrroles: First Synthesis of Lukianol A and Lamellarin O Dimethyl Ether. *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 6637-6641.
17. Iwao, M.; Takeuchi, T.; Fujikawa, N.; Fukuda, T.; Ishibashi, F. Short and Flexible Route to 3,4-Diarylpyrrole Marine Alkaloids: Syntheses of Permethyl Storniamide A, Ningalin B, and Lamellarin G Trimethyl Ether. *Tetrahedron Letters*, **2003**, 44, 4443-4446.
18. Hemetsberger, H.; Knittel, D.; Weidmann, H. Synthese von α -Azidozimtsäureestern. *Monatshefte für Chemie*, **1969**, 100, 1599-1603.
19. Hickey, D. M. B.; Moody, C. J.; Rees, C. W. Formation of Indoles, Isoquinolines, and Other Fused Pyridines from Azidoacrylates. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1984**, 2189-2196.

-
20. Hemetsberger, H.; Knittel, D.; Weidmann, H. Enazide, 3. Mitt: Thermolyse von α -Azidozimtestern; Synthese von Indol-derivaten. *Monatshefte für Chemie*, **1970**, 101, 161-165.
 21. Hemetsberger, H.; Knittel, D. Synthese und Thermolyse von α -Azidoacrylestern. *Monatshefte für Chemie*, **1972**, 103, 194-204.
 22. Boukou-Poba, J. P.; Farnier, M.; Guillard, R. A General Method for the Synthesis of 2-Arylpyrroles. *Tetrahedron Letters*, **1979**, 19, 1717-1720.
 23. Pinna, G. A.; Loriga, G.; Murineddu, G.; Grella, G.; Mura, M.; Vargiu, L.; Murgioni, C.; La Colla, P. Synthesis and Anti-HIV Activity of New Delavirdine Analogues Carrying Arylpyrrole Moieties. *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, 49, 1406-1411.
 24. Molina, P.; Aller, E.; Lorenzo, M. A. An Efficient, High-yield, One Pot Preparation of Pyrrolo[2,3-b]pyridines by a Consecutive Aza Wittig Reaction-electrocyclic Ring closure-intramolecular annulation process. *Synthesis*, **1993**, 12, 1239-1242.
 25. Hickey, D. M. B.; Moody, C. J.; Rees, C. W. Vinyl Azides in Heterocyclic Synthesis. Part 2. Selectivity in the Decomposition of Azidocinnamates with Olefinic *ortho*-Substituents. *J. Chem. Soc. Perkins Trans I.*, **1986**, 1113-1117.
 26. Alves, M. J.; Gilchrist, T. L. Methyl 2-Aryl-2*H*-Azirine-3-Carboxylates as Dienophiles. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 299-303.
 27. Alves, M. J.; Gilchrist, T. L.; Sousa, J. H. Reactions of Methyl 2-Aryl-2*H*-Azirine-3-carboxylates with Nucleophiles. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 1305- 1310.
 28. Molina, P.; Alajarin, M.; Vidal, A. Synthesis of Isoquinoline Derivatives by a Tandem Aza-Wittig/Electrocyclization Strategy and Preparation of the Unknown 1,9-

- Diazaphenalene Ring by a Consecutive Electrocyclic Ring Closure/Claisen Rearrangement/Intramolecular Amination Process. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 6140-6147.
29. Molina, P.; Alajarin, M.; Vidal, A. Domino Reactions. One-Pot Preparation of fluoreno[2,3,4-*ij*]isoquinoline. Derivatives from Conjugated Ketene Imines. *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 4008-4016.
30. Stang, P. J.; Crittell, C. M.; Williamson, B. L. 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions of α -Diazocarbonyl Compounds, Organoazides, and Ethynyl(phenyl)iodonium Triflate Salts. *Tetrahedron*, **1992**, 48, 3527-3540.
31. Shen, Y.; Zheng, J.; Xin, Y.; Lin, Y.; Qi, M. Synthesis of Perfluoroalkylates Heterocyclic Phosphonates. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1995**, 997- 999.
32. Ponti, A.; Molteni, G. DFT-Based Quantitative Prediction of Regioselectivity: Cycloaddition of Nitrilimines to Methyl Propiolate. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 5252-5255.
33. Adamo M. F. A.; Adlington, R. M; Baldwin, J. E.; Pritchard, G. J.; Rathmell, R. E. Practical Routes to Diacetylenic Ketones and their Application for the Preparation of Alkynyl Substituted Pyridines, Pyrimidines, and Pyrazoles. *Tetrahedron*, **2003**, 59, 2197-2205.
34. Palacios, F.; Ochoa de Retana, A. M.; Pagalday, J. A Regioselective Synthesis of 5-Pyrazolones and Pyrazoles from Phosphazenes derived from Hydrazines and Acetylenic Esters. *Tetrahedron*, **1999**, 55, 14451-14458.
35. Baldwin, J. E.; Pritchard, G. J.; Rathmell, R. E. The Reactions of Diacetylenic Ketones with Nitrogen Nucleophiles; Facile Preparation of Alkynyl Substituted Pyrimidines and Pyrazoles. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **2001**, 2906-2908.

36. Varano, F.; Catarzi, D.; Colotta, V.; Filacchioni, G.; Galli, A.; Costagli, C.; Carla, V. Synthesis and Biological Evaluation of a New Set of Pyrazolo[1,5-c]quinazoline-2-carboxilates as Novel Excitatory Amino Acid Antagonists. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 1035-1044.
37. Schmidt, A.; Habeck, T.; Kindermann, K.; Nieger, M. New Pyrazolium-Carboxylates as Structural Analogues of the Pseudo-Cross-Conjugated Betainic Alkaloid Nigellicine. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 5977-5982.
38. Bravo, P.; Diliddo, D.; Resnati, G. An Efficient Entry to Perfluoroalkyl Substituted Azoles Starting from β -Perfluoroalkyl- β -dicarbonyl Compounds. *Tetrahedron*, **1994**, 50, 8827-8836.
39. Garanti, L.; Sala, A.; Zecchi, G. Intramolecular 1,3-Dipolar Cycloadditions of Nitrile Imines Bearing an Alkenyl Substituent. *J. Org. Chem.*, **1977**, 42, 1389-1392.
40. Iturrino, L.; Navarro, P.; Rodríguez-Franco, M. I.; Contreras, M.; Escario, J. A.; Martínez, A.; Pardo, M. R. Synthesis, Cytostatic and Trichomonacide Activities of 3,5-bis-(halomethyl)pyrazoles. *J. Med. Chem.*, **1987**, 22, 445-451.
41. Bougrin, K.; Soufiaoui, M.; El Yazidi, M. Conversion des Cis- et Trans-Pyrazolines en Pyrazoles Sur Support Mineral Impregne de Nitrate Ferrique ou Cuivrique. *Tetrahedron Letters*, **1995**, 36, 4065-4068.
42. Katritzky, A. R.; Wang, M.; Zhang, S.; Voronkov, M. V. Regioselective Synthesis of Polysubstituted Pyrazoles and Isoxazoles. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 6787-6791.
43. Sabitha G.; Kiran Kumar Reddy, G. S.; Reddy, Ch. S.; Fatima, N.; Yadav, J. S. Zr(NO₃)₄: A Versatile Oxidizing Agent for Aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines and 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines. *Synthesis*, **2003**, 8, 1267-1271.

44. Camacho, M. E.; León, J.; Entrena, A.; Velasco, G.; Carrión, M. D.; Escames, G.; Vivó, A.; Acuña, D.; Gallo, M. A.; Espinosa, A. 4,5-dihydro-1H-pyrazole Derivatives with Inhibitory nNOS Activity in Rat Brain: Synthesis and Structure-Activity Relationships. *J. Med. Chem*, **2004**, 47, 5641-5650.
45. Carrión, M. D.; Camacho, M. E.; León, J.; Escames, G.; Tapias, V.; Acuña, D.; Gallo, M. A.; Espinosa, A. Synthesis and iNOS/nNOS Inhibitory Activities of New Benzoylpyrazoline Derivatives. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 4051-4069.
46. Furchgott, R.F.; Zawadzki, J. V. The Obligatory Role of Endothelial Cells in the Relaxation of Arterial Smooth Muscle by Acetylcholine. *Nature*, **1980**, 288, 373.
47. http://ads.recoletos.es/RealMedia/ads/click_nx.cgi/dmedico.recoletos.es/dm/grand_eshist@Top.
48. Kwon, N.S.; Nathan, C.F.; Stuehr, D.J. Reduced biopterin as a cofactor in the generation of nitrogen oxides by murine macrophages. *J. Biol. Chem.*, **1989**, 264, 20496.
49. Griffith, O. W.; Stuehr, D. J. Nitric Oxide Synthases: Properties and Catalytic Mechanism., *Annu. Rev. Physiol.*, **1995**, 57, 707.
50. Kwon, N. S.; Stuehr, D. J.; Natham, C. F. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage-derived nitric oxide. *J. Exp. Med.*, **1989**, 174, 761.
51. Palmer, R.M.J.; Ferrige, A. G.; Moncada, S. Nitric Oxide Release Accounts for the Biological Activity of Endothelium-Derived Relaxing Factor. *Nature*, **1987**, 327, 524.
52. Nathan, C.; Xie, QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls and controls. *Cell*, **1994**, 78, 915.

-
53. Dawson, T.M.; Snyder, S.H. Gases as biological messengers : nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J. Neurosci.*, **1994**, 14, 5147.
 54. Brett, D. S.; Hwang, P. M.; Glatt, C. E.; Lowenstein, C.; Reed, R. R.; Snyder, S. H. Cloned and Expressed Nitric Oxide Synthase Structurally Resembles Cytochrome P-450 Reductase. *Nature*. **1991**, 351, 714.
 55. Brett, D. S.; Snyder, S. H. Nitric Oxide: A Physiological Messenger Molecule. *Annu. Rev. Biochem.*, **1994**, 63, 175.
 56. Nakane, M.; Pollock, J. S.; Schmidt, H. H. H. W.; Förstermann, U.; Murad, F. Cloned Human Brain Nitric Oxide Synthase is Highly Expressed in Skeletal Muscle. *FEBS. Lett.*, **1993**, 316, 175.
 57. Garthwaite, J.; Boulton, C. L. Nitric Oxide Signaling in the Central Nervous System. *Annu. Rev. Physiol.*, **1995**, 57, 683.
 58. Brenman, J. E.; Chao, D. S.; Xia, H. H.; Aldalpe, K.; Brett, D. S. Nitric Oxide Synthase Complexed with Dystrophin and Absent from Skeletal Muscle Sarcolemma in Duchenne Muscular Dystrophy. *Cell.*, **1995**, 82, 743.
 59. Förstermann, U.; Nakane, M.; Tracey, W. R.; Pollock, J. S. Isoforms of Nitric Oxide Synthase: Functions in the Cardiovascular System. *Eur. Heart. J.*, **1993**, 14, 10.
 60. Campbell, J. M.; McCrae, F.; Reglinski, J.; Wilson, R.; Smith, W. E.; Sturrock, R. D. The Interaction of Nitroprusside with Peripheral White Blood Cells *In Vitro*: A Rationale for Cyanide Release *in vivo*. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1993**, 1156, 327.
 61. Sung, S. S.; Glidewell, C.; Butler, A. R.; Hoffmann, R. Bonding in Nitrosylated Iron-Sulfur Clusters. *Inorganic. Chem.*, **1985**, 24, 3856.

62. Tracey, W. R.; Pollock, J. S.; Murad, F.; Nakane, M.; Förstermann, U. Identification of an Endothelial-like Type-III NO Synthase in LLC-PK1 Kidney Epithelial Cells. *Am. J. Physiol.*, **1994**, 266, C 22.
63. Sase, K.; Mitchel, T. Expression and Regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Trends in Cardiovascular Medicine.*, **1997**, 7, 28.
64. Odell, T. J.; Huang, P. L.; Dawson, T. M.; Dinerman, J. L.; Snyder S. H.; Kandel, E. R.; Fishman, M. C. Endothelial NOS and the Blockade of LPS by NOS Inhibitors in Mice Lacking Neuronal NOS. *Science.*, **1994**, 265, 542.
65. Williams, J. H. Retrograde Messengers and Long Term Potentiation: A Progress Report. *J. Lipid Mediators Cell. Signalling.*, **1996**, 14, 331.
66. Holscher, C. Nitric Oxide, the Enigmatic Neuronal Messenger: Its Role in Synaptic Plasticity. *Trends Neurosci.*, **1997**, 20, 298.
67. Sessa, W. C.; Pritchard, K.; Seyedi, N.; Wang, J.; Hintze, T. H. Chronic Exercise in Dogs Increase Coronary Vascular Nitric Oxide Production and Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Expression. *Circ. Res.*, **1994**, 74, 349.
68. Awolesi, M. A.; Sessa, W. C.; Sumpio, B. E. Cyclic Strain Up-Regulates Nitric Oxide Synthase in Cultured Bovine Aortic Endothelial Cells. *J. Clin. Invest.*, **1995**, 96, 1449.
69. Stuehr, D. J.; Cho, H. J.; Kwon, N. S.; Weise, M. F.; Natham, C. F. Purification and Characterization of the Cytokine-Induced Macrophage Nitric Oxide Synthase: a FAD-Containing and FMN-Containing Flavoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **1991**, 88, 7773.

70. Hevel, J. M.; White, K. A.; Marletta, M. A.; Purification of the Inducible Murine Macrophage Nitric Oxide Synthase. Identification as a Flavoprotein. *J. Biol. Chem.*, **1991**, 266, 22789.
71. Yui, Y.; Hattori, R.; Kosuga, K.; Eizawa, H.; Hiki, K.; Kawai, C. Purification of Nitric Oxide Synthase from Rat Macrophages. *J. Biol. Chem.*, **1991**, 266, 12544.
72. Geller, D. A.; Lowenstein, C. J.; Shapiro, R. A.; Nussler, A. K.; Disil Vio, M.; Wang, S. C.; Nakayama, D. K.; Simmon, R. L.; Snyder, S. H.; Billiar, T. R. Molecular Cloning and Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase from Human Hepatocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **1993**, 90, 3491.
73. Gross, S. S.; Levi, R. Tetrahydrobiopterin Synthesis. An Absolute Requirement for Cytokine-Induced Nitric Oxide Generation by Vascular Smooth Muscle. *J. Biol. Chem.*, **1992**, 267, 25722.
74. Schulz, R.; Nava, E.; Moncada, S. Induction and Potential Biological Relevance of a Ca²⁺-Independent Nitric Oxide Synthase in the Myocardium. *Br. J. Pharmacol.*, **1992**, 105, 575.
75. Liu, J.; Zhao, M. L.; Brosnan, C. F.; Lee, S. C. Expression of Type-II Nitric Oxide Synthase in Primary Human Astrocytes and Microglia. Role of II-1 Beta and II-1 Receptor Antagonists. *J. Immunol.*, **1996**, 157, 3569.
76. Arbones, M. L.; Ribera, J.; Agullo, L.; Baltrons, M. A.; Casanovas, A.; Riveros Moreno, V.; Garcia, A. Characteristics of Nitric Oxide Synthase Type I of Rat Cerebellar Astrocytes. *Glia.*, **1996**, 18, 224.
77. Nathan, C. Nitric Oxide as a Secretory Product of Mammalian Cells. *FASEB.*, **1992**, 6, 3051.

78. Giulivi, C.; Poderoso, J. J.; Boveris, A. Production of Nitric Oxide by Mitochondria. *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 11038-11043.
79. Ghafourifar, P.; Richter, C. Nitric Oxide Synthase Activity in Mitochondria. *FEBS Lett.*, **1997**, 418, 291-296.
80. Mayer, B.; John, M.; Heinzl, B.; Werner, E. R.; Wachter, H.; Schultz, G.; Bohme, E. Brain Nitric Oxide Synthase is a Biopterin- and Flavin-containing Multi-functional Oxidoreductase. *FEBS Letters.*, **1991**, 288, 187.
81. Klatt, P.; Schmidt, K.; Lehner, D.; Glatter, O.; Bachinger, H. P.; Mayer, B. Structural Analysis of Porcine Brain Nitric Oxide Synthase Reveals a role for Tetrahydrobiopterin and L-Arginine in the Formation of an SDS-resistant dimer. *EMBO J.*, **1995**, 14, 3687.
82. Iadecola, C. Bright and Dark Sides of Nitric Oxide in Ischemic Brain Injury. *Trends in Neuroscience.*, **1997**, 20, No 3, 132-139.
83. Klatt, P.; Schmidt, M.; Leopold, E.; Schmidt, K.; Werner, E.R.; Mayer, B. The pteridine binding site of brain nitric oxide synthase. Tetrahydrobiopterin binding kinetics, specificity, and allosteric interaction with the substrate domain. *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 13861.
84. Sagami, I.; Sato, Y.; Noguchi, T.; Miyajami, M.; Rozhkova, E.; Daff, S.; Shimizu, T. Electron transfer in nitric-oxide synthase. *Chem. Rev.*, **2002**, 226, 179-186.
85. Rozhkova, E.A.; Fujimoto, N.; Sagami, I.; Daff, S.N.; Shimizu, T. Interactions between the isolated oxygenase and reductase domains of neuronal nitric-oxide synthase. Assessing the role of calmodulin. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 16888-16894.

86. Kobayashi, K.; Tagawa, S.; Daff, S.; Sagami, I.; Shimizu, T. Rapid calmodulin-dependent interdomain electron transfer in neuronal nitric oxide synthase measured by pulse radiolysis. *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 39864- 39871.
87. Natham, C. F.; Xie, Q. W. Regulation of Biosynthesis of Nitric Oxide. *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 13725.
88. Sheta, E. A.; McMillan, K.; Masters, B. S. Evidence for a Bidomain Structure of Constitutive Cerebellar Nitric Oxide Synthase. *J. Biol. Chem.*, **1994**, 296, 15147.
89. Cho, H. J.; Xie, Q. W.; Calaycay, J.; Mumford, R. A.; Swiderek, K. M.; Lee, T. D.; Natham, C. Calmodulin is a Subunit of Nitric Oxide Synthase from Macrophages. *J. Exp. Med.*, **1992**, 176, 599.
90. Back, K. J.; Thiel, B. A.; Lucas, S.; Stuehr, D. J. Macrophage Nitric Oxide Synthase Subunits. Purification, Characterization and Role of Prosthetic Groups and Substrate in regulating their association into a Dimeric Enzyme. *J. Biol. Chem.*, **1993**, 268, 21120.
91. Schini, V.; Vanhoutte, P. Inhibitors of calmodulin impair the constitutive but not the inducible nitric oxide synthase activity in the rat aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, 261, 553.
92. Forstermann, U.; Pollock, J.; Schmidt, H.; Heller, M.; Murad, F. Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **1991**, 88, 1788.
93. Knowles, R. G.; Palacios, M.; Palmer, M. R. J.; Moncada, S. Formation of Nitric Oxide from L-Arginine in the Central Nervous System: A Transduction Mechanism for Stimulation of the Soluble Guanylate Cyclase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **1989**, 86, 5159.

94. Rang, H.P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M. *Farmacología quinta edición*. Editorial Harcourt.
95. Kröncke, K. D.; Fehsel, K.; Kolbachofen, V. Inducible Nitric Oxide Synthase and Its Product Nitric Oxide, a Small Molecule with Complex Biological Activities. *J. Biol. Chem.*, **1995**, 376, 327.
96. Closs, E. I. CAT, a Family of 3 Distint Mammalian Cationic Amino Acid Transporters. *Amino. Acids.*, **1996**, 11, 193.
97. Stevens, B. R.; Kakuda, D. K.; Yu, K.; Waters, M.; Vo, C. B.; Raizada, M. K. Induced Nitric Oxide Synthase Is Dependet on Induced Alternatively Spliced CAT-2 Encoding-L-Arginine Transport in Brain Astrocytes. *J. Biol. Chem.*, **1996**, 271, 24017.
98. Sonoki, T.; Nagasaki, A.; Gotoh, T.; Takiguchi, M.; Takeya, M.; Matsuzaki, H.; Mori, M. Coinduction of Nitric Oxide Synthase and Arginase I in Cultured Rat Peritoneal Macrophages and Rat Tissues in vivo by Lipopolysaccharide. *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 3689.
99. Stamler, J. S.; Simon, D. I.; Osborne, J. A.; Mullins, M. E.; Jaraki, O.; Michel, T.; Singel, D. J.; Loscalzo, J. S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **1992**, 89, 444.
100. Waldman, S. A.; Murad, F. Cyclic GMP Synthesis and Function, *Pharmacol. Rew.*, **1987**, 39, 163.
101. Kojda, G.; Harrison, David. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovascular Research*, **1999**, 43, 562-571.

102. Brunton, T. L. On the Use of Nitrite of Amyl in Angina Pectoris. *Lancet.*, **1967**, 2, 97.
103. Beckman, J.S.; Beckman T.W.; Chen, J.; Marshall P.A.; Freeman, B.A. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1990**, 87, 1620.
104. Dinerman, A. T.; Cakici, I.; Kanzik, I. Peroxynitrite: a Putative Cytokine. *Pharmacol. Toxicol.*, **1998**, 82, 113-117.
105. Kelm, M.; Dahmann, R.; Wink, D.; Feelisch, M. The Nitric Oxide / Superoxide Assay. Insights into the Biological Chemistry of the NO/O₂ Interaction. *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 9922-9932.
106. Koppenol, W. H.; Moreno, J. J.; Pryor, W. A.; Ischiropoulos, H.; Beckman, J. S. Peroxynitrite, a Cloaked Oxidant Formed by Nitric Oxide and Superoxide. *Chem. Res. Toxicol.*, **1992**, 5, 834-842.
107. Ignarro, L.J.; Gold, M.F.; Buga, G.M.; Byrns, R.F.; Wood, K.S.; Chaudhuri, G. Basic polyamino acids rich arginine, lysine, or ornithine cause both enhancement of and refractoriness to formation of endothelium-derived nitric oxide in pulmonary artery and vein. *Circ. Res.*, **1989**, 64, 315-329.
108. Nakanishi, S.; Nakajima, Y.; Masu, M.; Ueda, K.; Nakahara, D.; Watanabe, S.; Yamaguchi, S.; Kawabata, M.; Okada, M. Glutamate Receptors: Brain Function and Signal Transduction. *Brain. Res. Rev.*, **1998**, 26, 230-235.
109. Tzeng, T.B.; Fung, H.L. Pharmacodynamic modeling of the in vitro vasodilating effects of organic mononitrates. *J. Pharmacokinet Biopharm.* **1992**, 20, 227-251.

110. Lancaster, J.R. Stimulation of the diffusion and reactions of endogeneously produced nitric oxide. Implications for neural nitric oxide signaling and its pharmacological properties. *Neuropharmacology*, **1994**, 33, 1235-1244.
111. Vanderkooi, J.M.; Wright, W.W.; Erecinska, M. Nitric oxide diffusion coefficients in solutions, proteins and membranes determined by phosphorescence. *Biochem. Biophys. Acta*, **1994**, 1207, 249-254.
112. Schuman, E.M.; Madison, D.V. A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. *Science*, **1991**, 254, 1503-1506.
113. Dawson, T.M.; Dawson, V.L.; Snyder, S.H. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide radical. *Ann. Neurol.*, **1992**, 32, 297.
114. Meldrum, B.; Garthwaite, J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1990**, 11, 379.
115. Gross, S. S.; Wolin, M. S. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu. Rev. Physiol.*, **1995**, 57, 737-769.
116. Zhang, J.; Snyder, S.H. Nitric oxide in the nervous system. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1995**, 35, 213-233.
117. Lipton, S.A.; Choi, Y.B.; Pan, Z.H.; Lei, S.Z.; Chen, H.S.; Sucher, N.J. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, **1993**, 364, 626-632.
118. Zhang, H.Q.; Walter Fast, M.; Marletta, A.; Martasek, P.; Silverman, R.B. Potent and selective inhibition of neuronal nitric oxide synthase by N^ω-propyl-L-arginine. *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 3869, 3870.

119. Shearer, B.G.; Lee, S.; Oplinger, J.A.; Frick, W.; Garvey, E.P.; Furfine, E.S. Substituted N-phenylisothioureas: Potent Inhibitors of Human Nitric Oxide Synthase with Neuronal Isoform Selectivity. *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 1901-1905.
120. Collins, J.L.; Shearer, B.G.; Oplinger, J.A.; Lee, S.; Garvey, E.P.; Salter, M.; Duffy, C.; Burnette, T. C.; Furfine, E.S. N-Phenylamidines as Selective Inhibitors of Human Neuronal Nitric Oxide Synthase: Structure-Activity Studies and Demonstration of in Vivo Activity. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 2858-2871.
121. Moore, P. K.; Oluyomi, A. O.; Babedge, R. C.; Wallace, P.; Hart, S. L. Br. L-NG-Nitro Arginine Methyl Ester Exhibits Antinociceptive Activity in the Mouse. *J. Pharmacol.*, **1991**, 102, 198-202.
122. Deutsch, S.I.; Rosse, R.B.; Tomasino, M. D.; Koetzner L.; Morn, C. B.; Mastropaolo, J. 7-nitroindazole and metylene blue, inhibitors of neuronal nitric oxide synthase and NO-stimulated guanylate cyclase, block MK-801-elicited behaviors in mice. *Neuropsychopharmacology*, **1996**, 15, 37-43.
123. Jaroch, S.; Hölscher, P.; Rehwinkel, H.; Sülzle, D.; Burton, G.; Hillmann, M.; McDonald, F. M. Dihydroquinolines with Amine-Containing Side Chains as Potent n-NOS Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2003**, 13, 1981-1984.
124. Nason, D. M.; Heck, S. D.; Bodenstein, M. S.; Lowe, J. A.; Nelson, R. B.; Liston, D. R.; Nolan, C. E.; Lanyon, L. F.; Ward, K. M.; Volkmann, R. A. Substituted 6-Phenylpyridin-2-ylamines: Selective and Potent Inhibitors of Neuronal Nitric Oxide Synthase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2004**, 14, 4511-4514.
125. Ohashi, K.; Kominami, S., Yamazaki, T.; Ohta, S.; Kitamura, S. Inhibitory Effect of Organotin Compounds on Rat Neuronal Nitric Oxide Synthase Through Interaction with Calmodulin. *Bioorganic & Biophysical Research Communications*, **2004**, 324, 178-185.

126. Gómez-Vidal, J. A.; Martasek, P.; Roman, L. J.; Silverman, R. B. Potent and Selective Conformationally Restricted Neuronal Nitric Oxide Synthase Inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 703-710.
127. Camacho, E.; León, J.; Carrión, A.; Entrena, A.; Escames, G.; Khaldy, H.; Acuña-Castroviejo, D.; Gallo, M. A.; Espinosa, A. Inhibition of nNOS Activity in Rat Brain by Synthetic Kynurenes: Structure-Activity Dependence. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 263-274.
128. Escames, G.; Acuña-Castroviejo, D.; Vives-Montero, F. Melatonin-dopamine interaction in the striatal projection area of sensorimotor cortex in the rat. *Neuroreport*, **1996**, 7, 597-600.
129. León, J.; Vives, F.; Gómez, I.; Camacho, E.; Gallo, M.A.; Espinosa, A.; Escames, G.; Acuña-Castroviejo, D. Modulation of rat striatal glutamatergic response in search for new neuroprotective agents: Evaluation of melatonin and some Kynurenine derivatives. *Brain Research Bulletin*, **1998**, 45, 525-530.
130. León, J.; Vives, F.; Crespo, E.; Camacho, E.; Espinosa, A.; Gallo, M.A. Escames, G.; Acuña-Castroviejo, D. Modification of nitric oxide synthase activity and neuronal response in rat striatum by melatonin and Kynurenine derivatives. *Journal of Neuroendocrinology*, **1998**, 10, 297-302.
131. León J.; Macías, M.; Escames, G.; Camacho, E.; Khaldy, H.; Martín, M.; Espinosa, A.; Gallo, M.A.; Acuña-Castroviejo D. Structure-Related inhibition of calmodulin-dependent neuronal nitric-oxide synthase activity by melatonin and synthetic kynurenes. *Mol. Pharmacol.* **2000**, 58, 967-975.
132. Kennaway, D. J.; Hugel, H. M.; Melatonin Binding Sites: Are they Receptors? *Molec. Cell. Endocrinol.*, **1992**, 88: C1.

133. Velasco, G. Kinurenaminas y Productos Relacionados Activos en el Sistema Nervioso Central. *Tesis Doctoral*. Universidad de Granada. **2002**.
134. Carrión, M. D. Síntesis y Evaluación Biológica Frente a Óxido Nítrico Sintasa de Nuevos Derivados Kinuneramínicos y Pirazolínicos. *Tesis Doctoral*. Universidad de Granada. **2003**.
135. Young, R. J.; Beams, R. M.; Carter, K.; Clark, H. A. R.; Coe, D. M.; Chambers, C. L.; Davies, P. I.; Dawson, J.; Drysdale, M. J.; Franzman, K. W.; French, C.; Hodgson, S. T.; Hodson, H. F.; Kleanthous, S.; Rider, P.; Sanders, D.; Sawyer, D. A.; Scott, K. J.; Shearer, B. G.; Stocker, R.; Smith, S.; Tackley, M. C.; Knowles, R. G. Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase by Acetamidine Derivatives of Hereto-Substituted Lysine and Homolysine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2000**, 10, 597-600.
136. Naka, M.; Nanbu, T.; Kobayashi, K.; Kamanaka, Y.; Komeno, M.; Yanase, R.; Fukutomi, T.; Fujimara, S.; Seo, H.G.; Fujiwara, N.; Ohuchida, S.; Susuki, K.; Kondo, K.; Taniguchi, N. A potent inhibitor of inducible nitric oxide synthase, ONO-1714, a cyclic amidine derivative. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2000**, 270, 663-667.
137. Webber, R. K.; Metz, S.; Moore, W. M.; Connor, J. R.; Currie, M. G.; Fok, K. F.; Hagen, T. J.; Hansen, D. W.; Jerome, G. M.; Manning, P. T.; Pitzele, B. S.; Toth, M. V.; Trivedi, M.; Zupec, M. E.; Tjoeng, F. S. Substituted 2-iminopiperidines as Inhibitors of Human Nitric Oxide Synthase Isoforms. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 96-101.
138. Hagmann, W.; Caldwell, C.G.; Chen, P.; Durette, P.; Esser, C.; Lanza, T.; Kopka, I.; Guthikonda, R.; Shah, S.; MacCoss, M.; Chabin, R.; Fletcher, D.; Grant, S.; Green, B.; Humes, J.; Kelly, T. M.; Luell, S.; Meurer, R.; Moore, V.; Pacholok, S.; Pavia, T.; Williams, H.; Wong, K. Substituted 2-Aminopyridines as inhibitors of nitric oxide synthases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2000**, 10, 1975-1978.

139. Beaton, H.; Hamley, P.; Nicholls, D. J.; Tinker, A. C.; Wallace, A. V. 3,4-Dihydro-1-isoquinolinamines: a novel class of nitric oxide synthase inhibitors with a range of isoform selectivity and potency. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2001**, 11, 1023-1026.
140. Matsuda, H.; Morikawa, T.; Sakamoto, Y.; Toguchida, I.; Yoshikawa, M. Labdane-type Diterpenes with Inhibitory Effects on Increase in Vascular Permeability and Nitric Oxide Production from *Hedychium coronarium*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2002**, 10, 2527-2534.
141. Matsuda, H.; Morikawa, T.; Ando, S.; Toguchida, I.; Yoshikawa, M. Structural Requirements of Flavonoids for Nitric Oxide Production Inhibitory Activity and Mechanism of Action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2003**, 11, 1995-2000.
142. Ueda, S.; Terauchi, H.; Yano, A.; Ido, M.; Matsumoto, M.; Kawasaki, M. 4,5-Disubstituted-1,3-oxazolidin-2-imine Derivatives: A New Class of Orally Bioavailable Nitric Oxide Synthase Inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2004**, 14, 313-316.
143. Ueda, S.; Terauchi, H.; Yano, A.; Matsumoto, M.; Kubo, T.; Kyoya, Y.; Suzuki, K.; Ido, M.; Kawasaki, M. 4,5-Dialkylsubstituted-2-imino-1,3-thiazolidine Derivatives as Potent Inducible Nitric Oxide Synthase Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2004**, 12, 4101-4116.

3.-OBJETIVOS

3.- OBJETIVOS.

La inhibición selectiva de las isoformas nNOS e iNOS podría conducir a un importante camino en el desarrollo de nuevos fármacos que actúen a los niveles donde sean necesarios, es decir, que interaccionen con la isoforma de la NOS causante de la sobreproducción de NO y, por consiguiente, que se ataque a uno de los factores que está implicado en el origen de diferentes enfermedades, tales como Parkinson, Alzheimer, enfermedad de Huntington, artritis reumatoide, choque séptico etc.

El propósito de la investigación contenida en esta Memoria se ha centrado en la síntesis de nuevos inhibidores de la NOS, selectivos para cada isoforma. Para ello se han utilizado como modelos las estructuras anteriormente sintetizadas por nuestro equipo de investigación.

La melatonina es una hormona segregada por la glándula pineal que posee potente actividad inhibitoria frente a la NOS, sin embargo la actividad inhibitoria requiere de un periodo de latencia, debido probablemente a que la melatonina no sólo actúa

directamente sobre la enzima sino que también lo hace a través de uno de sus metabolitos cerebrales, en concreto N¹-acetil-5-metoxikinurenamina (**Figura 3.1**).

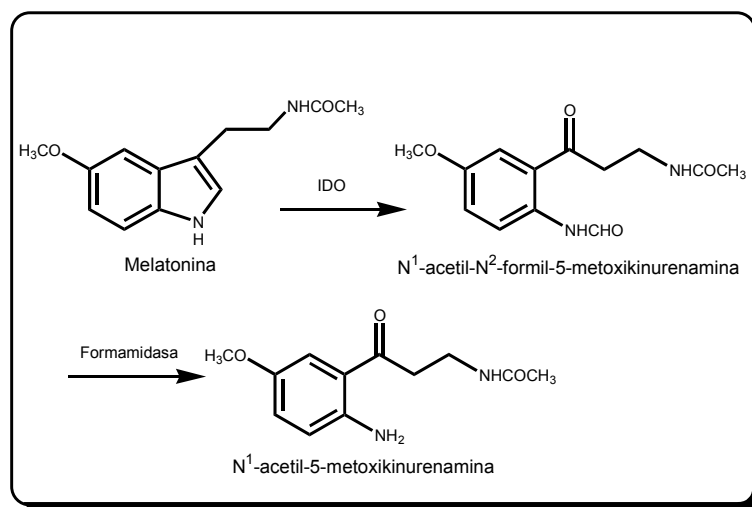


Figura 3.1.- Metabolización de la Melatonina en el cerebro.

La investigación se ha desarrollado en varias etapas. En la primera fase se sintetizaron derivados kinurenínicos y kinurenamínicos análogos estructuralmente al principal metabolito cerebral, pero también se sintetizó por primera vez la ruta completa del metabolito en sí. Así en la **Figura 3.2** se muestran las estructuras generales de los productos sintetizados; estos productos presentaban buenos índices de inhibición de la isoforma nNOS. En la actualidad se encuentran en proceso de realización los ensayos biológicos sobre iNOS.

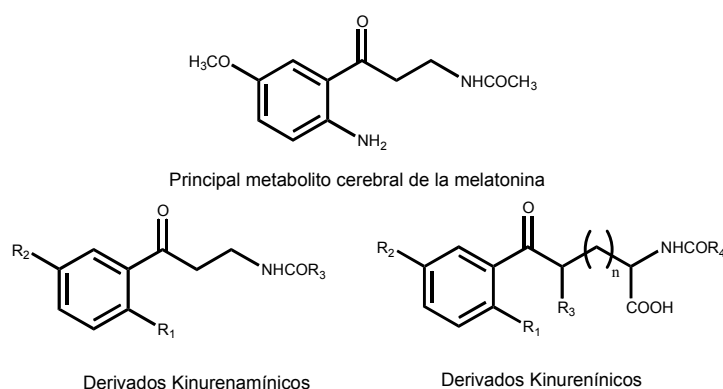


Figura 3.2.- Derivados Kinurenínicos y Kinurenamínicos.

En una segunda fase de desarrollo de nuestra investigación se sintetizaron análogos rígidos de kinurenaminas con estructura fenilpirazolínica, como la que se muestra en la **Figura 3.3**. Los diferentes sustituyentes introducidos en el anillo bencénico y en el grupo acilo, fueron las modificaciones estructurales que se realizaron, como en el caso anterior. Estos compuestos presentan potente actividad inhibitoria frente a la isoforma nNOS, pero además no inhiben la iNOS.

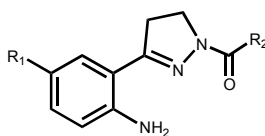


Figura 3.3.- Derivados Fenilpirazolínicos.

El último trabajo realizado, ha sido la formación de análogos rígidos benzoilpirazolínicos, con la estructura que aparece en la **Figura 3.4**. De estos compuestos resalta el hecho de que son selectivos frente a la isoforma inducida de la NOS, pero además los más interesantes desde el punto de vista biológico son aquéllos en los que se ha sustituido el grupo acilo por un grupo metilo.

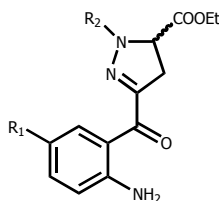


Figura 3.4.- Derivados Benzoilpirazolínicos.

Por tanto, en nuestras investigaciones se han ido modificando, por una parte, las estructuras iniciales con objeto de conseguir mayor selectividad hacia una determinada isoforma de la NOS, y por otra, se han mantenido aquellos grupos funcionales que parecen imprescindibles para la actividad inhibitoria, tales como el grupo amino. De esta forma se pretende avanzar en la búsqueda hacia un modelo de farmacóforo.

Por todo lo expuesto y como consecuencia de ello, en la presente Memoria de Tesis se han propuesto los siguientes objetivos:

Objetivo 1.- Se propone la síntesis de una familia de compuestos con la estructura general que se muestra en la **Figura 3.5**, con objeto de profundizar en el

estudio de la relación estructura-actividad de los compuestos. En dicha estructura se introducirán sustituyentes en posición 5' del anillo bencénico de diferente naturaleza, bien sea electrón donante (Cl), electrón atrayente (OCH₃) o electrón neutro (H), constituyendo tres **series (a, b y c)**. Dentro de cada serie el radical R₃ será alquílico, cicloalquílico o aromático. Como puede observarse en este caso las estructuras son más rígidas y con notables variaciones estructurales, con el fin de continuar avanzando en el desarrollo de nuestro modelo de farmacóforo.

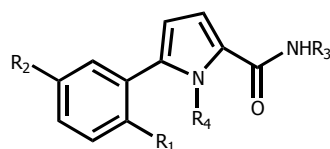


Figura 3.5.- Estructura general de los nuevos derivados pirrólicos sintetizados.

Objetivo 2.- Sintetizar derivados benzoilpirazolínicos y benzoilpirazólicos, con los mismos sustituyentes en el anillo bencénico de la familia pirrólica, continuando de alguna manera las investigaciones anteriores. En este caso se sintetizarán derivados alquilados en posición uno del anillo heterocíclico con sustituyentes de cadena lineal y aromáticos, así como también se le proporcionará más rigidez a las moléculas mediante la aromatización, con los derivados benzoilpirazólicos. Las estructuras propuestas como objetivo son las mostradas en la **Figura 3.6.**

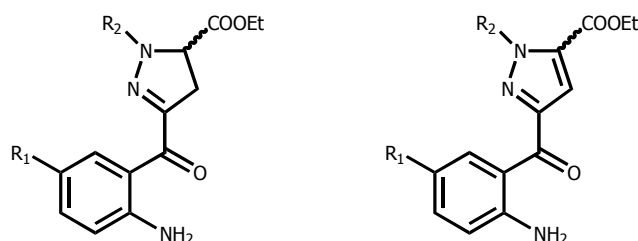


Figura 3.6.- Estructura general de los nuevos derivados sintetizados.

Objetivo 3.- Síntesis del compuesto 5[2'-(5''-metoxi-2''-nitrofenil)vinil]1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo **163**, obtenido mediante la aplicación de la reacción de Hemetsberger al derivado 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-2,4-pentadienal.

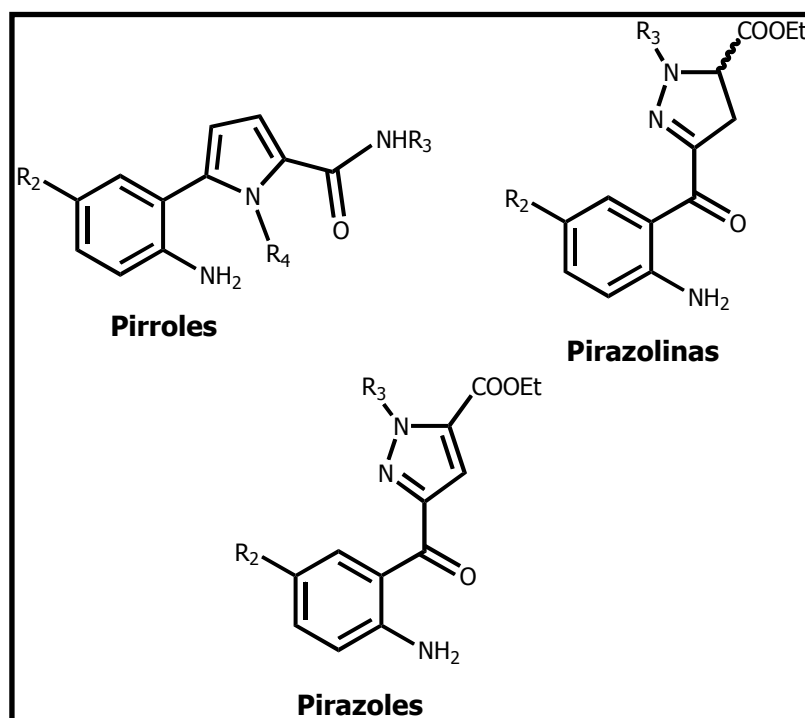
Objetivo 4.- Purificación y caracterización inequívoca mediante los estudios de espectroscopía pertinentes de los productos sintetizados.

Objetivo 5.- Realizar ensayos de actividad inhibitoria nNOS sobre los nuevos derivados sintetizados, tanto los pertenecientes a la familia pirrólica como a la pirazólica-pirazólica y estudiar la influencia sobre la actividad inhibitoria de las modificaciones llevadas a cabo a en cada familia de compuestos.

Objetivo 6.- Estudiar las actividades de inhibición frente a la isoforma iNOS que puedan presentar los nuevos derivados sintetizados ya que, como se ha expuesto en los antecedentes, las investigaciones actuales se dirigen no sólo a la consecución de inhibidores potentes sino también a lograr inhibidores con gran selectividad por una de las isoformas de la NOS.

Objetivo 7.- Establecer las relaciones estructura-actividad para de los compuestos sintetizados y obtener las conclusiones oportunas sobre las actividades de inhibición frente a las isoforma inducida y neuronal de la NOS, que puedan presentar los nuevos derivados.

4.-TEÓRICA



4.- PARTE TEÓRICA.

Resumen: En este apartado se detalla el método sintético empleado en la preparación de una serie de derivados pirrólicos y pirazólicos usados para el desarrollo de esta Memoria; se describen también los métodos espectroscópicos empleados en la identificación de los mismos y, además, se realiza un estudio de análisis conformacional sobre todos los compuestos. Los cuarenta y tres compuestos finales sintetizados se ensayan como posibles inhibidores de la actividad en las isoformas de la óxido nítrico sintasa nNOS e iNOS, con el fin de encontrar prototipos para la inhibición selectiva de ambas isoformas y, en su caso, profundizar en el estudio de un modelo de farmacóforo para la inhibición de la nNOS, propuesto en trabajos anteriores por nuestro grupo de investigación^{18,19}.

4.1.- Familia Pirrólica.

4.1.1.- Síntesis química.

4.1.1.1.- Consideraciones generales.

En este apartado se detalla el método sintético empleado en la preparación de los derivados pirrólicos y sus correspondientes intermedios sintéticos. Se describe primero la estrategia seguida para la construcción del sistema fenilpirrólico y, a continuación, se analizan las modificaciones que se hacen a partir de éste, con objeto de obtener los diferentes compuestos finales de esta familia. La estructura general que presentan los derivados se muestra en la **Figura 4.1.**

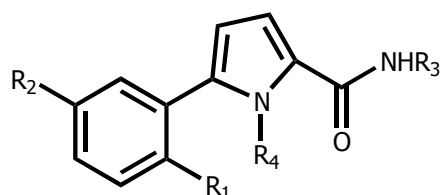
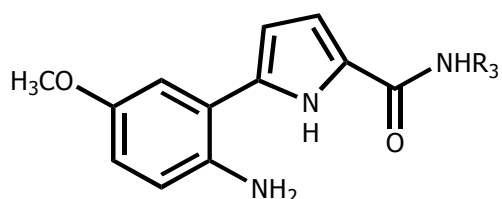


Figura 4.1.- Estructura general de los derivados pirrólicos.

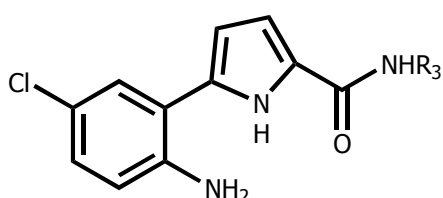
Dentro de esta familia se han preparado 22 compuestos finales denominados con las siglas **LC-1 – LC-22** que, como se ha indicado en los objetivos, se han clasificado en tres **series (a, b y c)**. A continuación se detallan las estructuras correspondientes a los grupos anteriormente mencionados:

Serie a: Derivados de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida. Dentro de esta serie se han introducido modificaciones estructurales en el nitrógeno carboxamídico con diversos sustituyentes R₃.

Compuesto	R ₃
LC-1	Me
LC-2	Pr
LC-3	C-C ₃ H ₅
LC-4	C-C ₅ H ₉
LC-5	Bn
LC-6	H



Serie b: Derivados de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida. Dentro de esta serie se han introducido modificaciones estructurales en el nitrógeno carboxamídico del pirrol mediante diversos radicales R₃.

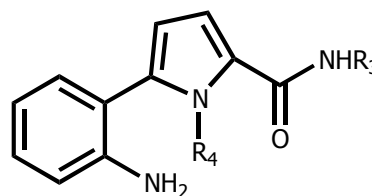


Compuesto	R ₃
LC-7	Me
LC-8	Et
LC-9	Bu
LC-10	C-C ₃ H ₅
LC-11	H

Serie c: Derivados de 5-(2'-aminofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida. En esta serie se han llevado a cabo modificaciones estructurales en el nitrógeno del pirrol (R₄= H, CH₃),

además de las correspondientes sustituciones en el nitrógeno del grupo carboxamida, que son comunes a las series anteriores.

Compuesto	R ₃	R ₄
LC-12	Me	H
LC-13	Et	H
LC-14	Pr	H
LC-15	Bu	H
LC-16	c-C ₃ H ₅	H
LC-17	c-C ₄ H ₇	H
LC-18	c-C ₅ H ₉	H
LC-19	c-C ₆ H ₁₁	H
LC-20	Bn	H
LC-21	H	H
LC-22	H	Me

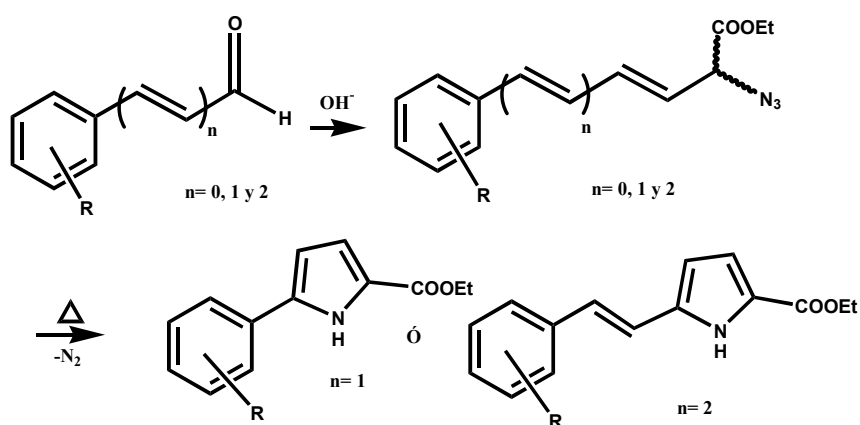


4.1.1.2.- Estrategias sintéticas conducentes a la síntesis del sistema fenilpirrólico.

La formación del anillo de pirrol en el sistema fenilpirrólico se ha llevado a cabo mediante la reacción de Hemetsberger^{1,2,3,4}(Ver Antecedentes).

Básicamente, la reacción de Hemetsberger, consiste en la condensación entre aldehidos aromáticos y sus vinílogos con azido acetato de etilo en condiciones fuertemente básicas; a continuación, se procede a la ciclación mediante un proceso de

termolisis con el consiguiente desprendimiento de nitrógeno. La naturaleza del heterociclo obtenido depende, fundamentalmente, del aldehído insaturado de partida. En nuestra investigación se han conseguido sintetizar derivados fenilpirrólicos y fenilvinilpirrólicos, a partir de los correspondientes derivados del aldehído cinámico y del 5-fenil-2,4-pentadienal respectivamente.

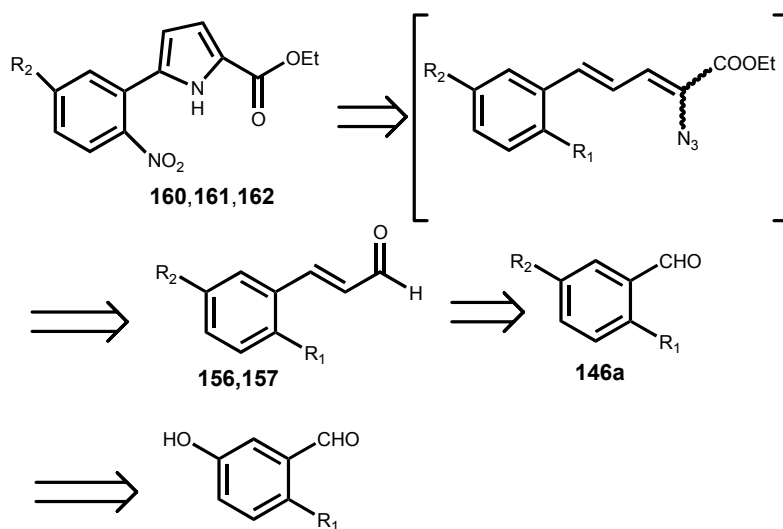


Esquema 4.1.- Síntesis de fenilpirroles y fenilvinilpirroles.

En esta Memoria se va a detallar en primer lugar la síntesis del sistema fenilpirrólico, ya que es uno de los objetivos propuestos; después, en el siguiente apartado se describe cómo se han obtenido los derivados fenilvinilpirrólicos

4.1.1.2.1.- Síntesis del anillo fenilpirrólico a partir del aldehído cinámico.

El análisis retrosintético de los fenilpirroles se muestra en el **Esquema 4.2**. En éste se puede observar cómo el anillo pirrólico ha sido preparado a partir del 2-azido-5-fenil-2,4-pentadienoato de etilo-2',5'-disustituido de acuerdo con la reacción de Hemetsberger^{1,2,3,4}.

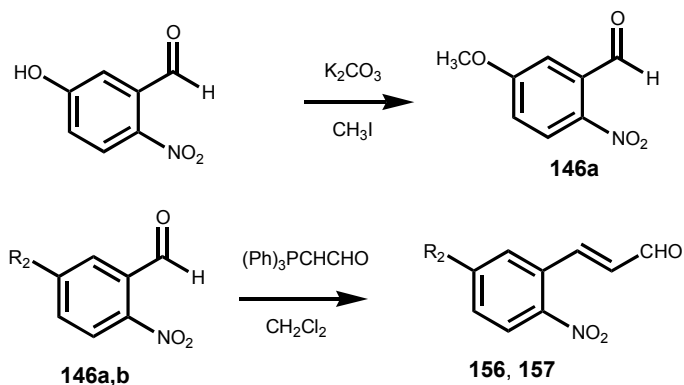


Esquema 4.2.- Análisis retrosintético de fenilpirroles.

A continuación se va a proceder a la descripción del proceso de síntesis realizado para la obtención de los derivados **160** ($R_2=OCH_3$), **161** ($R_2=Cl$) y **162** ($R_2=H$). El compuesto 2-nitrocinamaldehído, materia prima para los derivados de la **serie c**, es comercial; sin embargo, en las **series a** y **b** se deben sintetizar los derivados **156** ($R_2=OCH_3$) y **157** ($R_2=Cl$) a partir del 2-nitrobenzaldehído convenientemente sustituido en posición 5⁵. Así, en el caso de la **serie b** se parte de 5-cloro-2-nitrobenzaldehído, mientras que en la **serie a** es necesario introducir el sustituyente R_2 por metilación²³ del 5-hidroxi-2-nitrobenzaldehído²³.

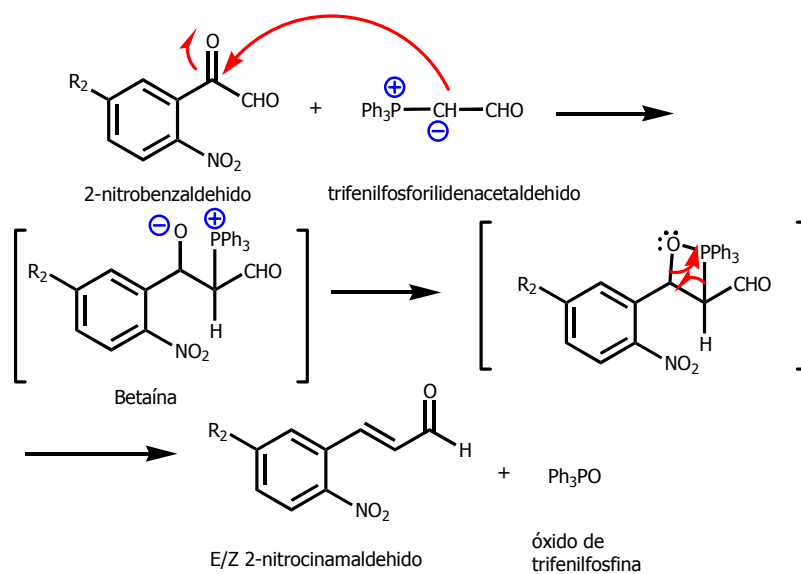
Los compuestos 5-metoxi-2-nitrocinamaldehído **146a** ($R_2=OCH_3$) y 5-cloro-2-nitrocinamaldehído comercial, se transforman en los derivados **156** y **157**, que junto con el 2-nitrocinamaldehído, dan lugar a los correspondientes derivados fenilpirrólicos **158-160**. Estos, tras varias transformaciones, se convierten en los compuestos finales **LC-1** a **LC-22**.

A continuación se detalla más detenidamente cada una de estas reacciones:



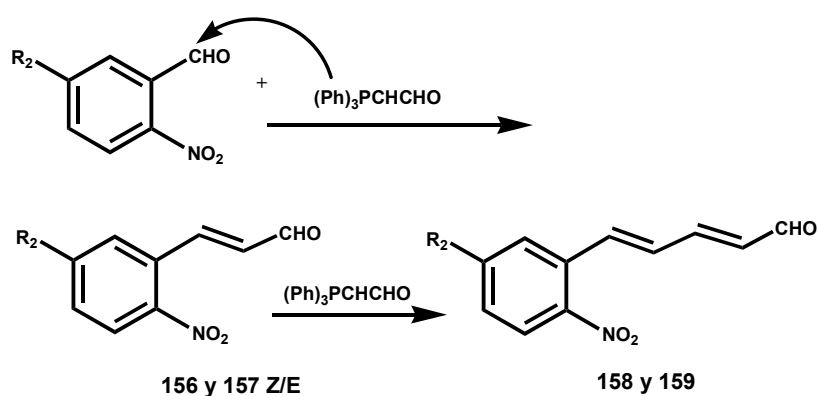
Esquema 4.3.- Síntesis de intermedios **156** y **157**.

El compuesto 5-hidroxi-2-nitrobenzaldehído comercial (Q.P.) se transforma en **146a** por metilación convencional²¹, con rendimiento cuantitativo; a continuación, se alarga la cadena mediante una reacción de Wittig⁵. En un principio se siguieron las condiciones descritas en bibliografía para la reacción de Wittig, es decir se partió de **146a** ó 5-cloro-2-nitrobenzaldehído comercial **146b** (Q.P.), y se usó el fosforano estabilizado trifenilfosforilidenacetaldehído disuelto en tolueno seco como reactivo, a reflujo y bajo atmósfera inerte de argon, obteniéndose de esta forma los derivados **156** y **157**.



Esquema 4.4.- Mecanismo de reacción de la formación de los derivados **156** y **157**.

En la reacción de formación de los derivados del cinamaldehído **156** y **157**, en las condiciones descritas anteriormente, se obtuvo una mezcla de isómeros *E/Z* del 2-nitrocinaldehído 5-sustituido y también la mezcla de estereoisómeros derivados de 5-(2'-nitro-5'-sustituidofenil)-2,4-pentadienal, **158** y **159**. La formación de estos últimos derivados se debe, probablemente, al hecho de que la mezcla *E/Z* del cinamaldehído obtenido es menos estable y más reactiva que el propio benzaldehído de partida, haciendo que el fosforano reaccione preferentemente sobre el cinamaldehído que se va formando, dándose la consiguiente reacción de condensación (**Esquema 4.5**). El rendimiento obtenido en estas condiciones experimentales es 57% para el compuesto **156** y 42% para el **157**.



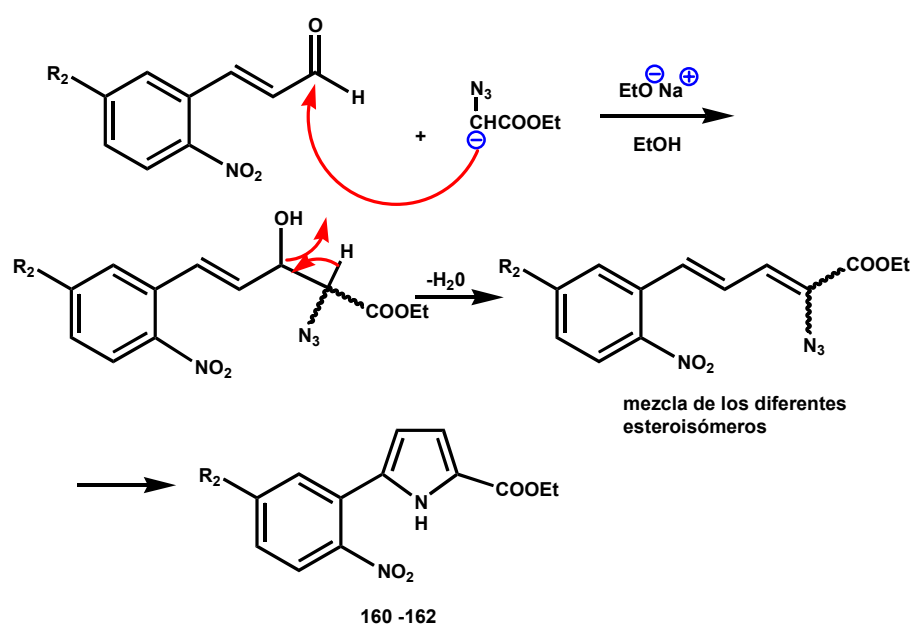
Esquema 4.5.- Mecanismo de reacción de la formación de los derivados **156** - **159**.

Con objeto de disminuir la cantidad formada de los compuestos **158** y **159** se han llevado a cabo una serie de modificaciones en las condiciones iniciales de la reacción. Inicialmente, se ha cambiado el disolvente tolueno por diclorometano, ya que en este último el fosforano es más soluble. Como segunda variación se ha disminuido la temperatura gradualmente hasta temperatura ambiente y, simultáneamente, se ha aumentado el tiempo de reacción hasta 8 horas. Por último, se ha disminuido la cantidad molar de fosforano hasta que la relación molar entre el producto de partida y el fosforano ha sido equimolar.

Todas estas variaciones de las condiciones experimentales han dado como resultado la formación de una pequeña cantidad del derivado de 5-(2'-nitro-5'-

sustituidofenil)-2,4-pentadienal al mismo tiempo que aumenta considerablemente la de los derivados **156** y **157** deseados. Además se ha observado que, con estas modificaciones, también se consigue tener un mejor control estereoquímico de la reacción, obteniéndose los isómeros **156E** y **157E** como mayoritarios. El rendimiento final de la mezcla de isómeros obtenidos oscila entre 63 y 88%.

La formación de los intermedios fenilpirrólicos a partir de los compuestos **156**, **157** y 2-nitrocinamaldehído para las **series a, b** o **c**, respectivamente, se ha llevado a cabo mediante la reacción de Hemetsberger¹ que incluye una variante de condensación aldólica, resultando los derivados 5'-fenilsustituídos del éster α,β -insaturado.

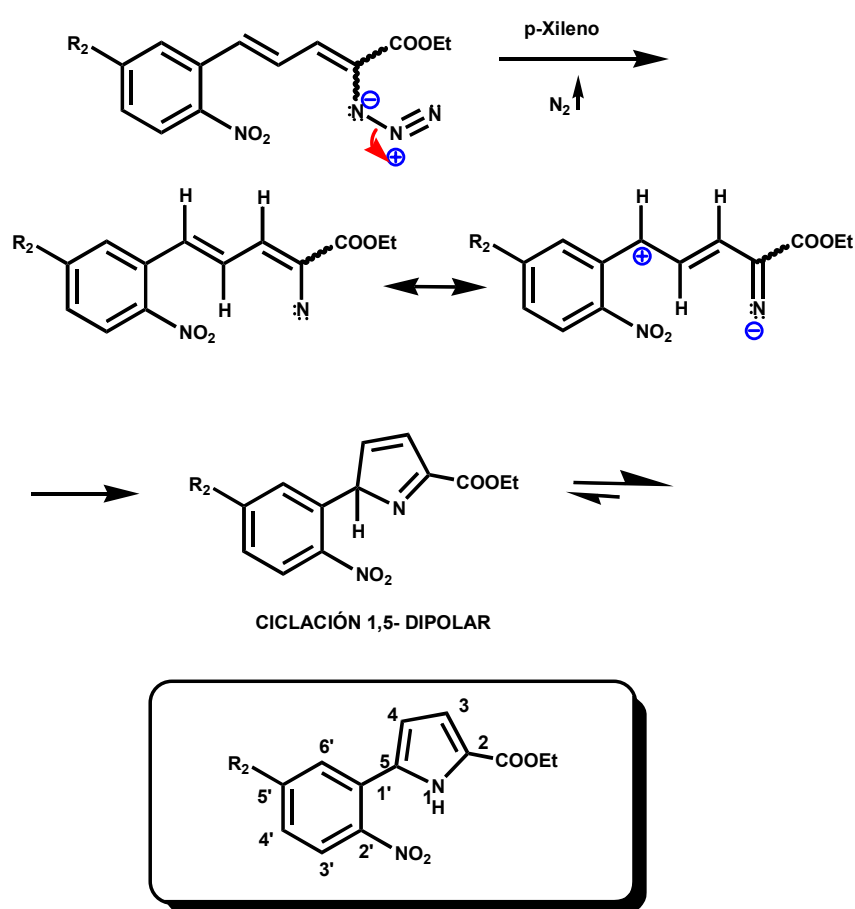


Esquema 4.6.- Síntesis de derivados 5'-sustituídos de 2-azido-5-(2'-nitrofenil)-2,4-pentadienoato de etilo.

Los derivados de 2-azido-5-(2'-nitrofenil)-2,4-pentadienoato de etilo 5'-sustituídos resultan ser compuestos muy inestables y reactivos, que se ciclan espontáneamente para dar estructuras pirrólicas, reacción que tuvo lugar con el correspondiente desprendimiento de N_2 . Para forzar dicha reacción y disminuir el tiempo de ciclación, se calientan a reflujo de p-xileno los derivados 5'-sustituídos de 2-azido-5-(2'-nitrofenil)-2,4-

pentadienoato de etilo, durante un período de tiempo comprendido entre 8 y 12 horas, dependiendo de la naturaleza del sustituyente en posición 5'. Finalmente se eliminó el xileno y se obtienen los correspondientes derivados fenilpirrólicos **160-162** que son productos sólidos con una coloración marrón. El rendimiento osciló entre el 91 y 96%.

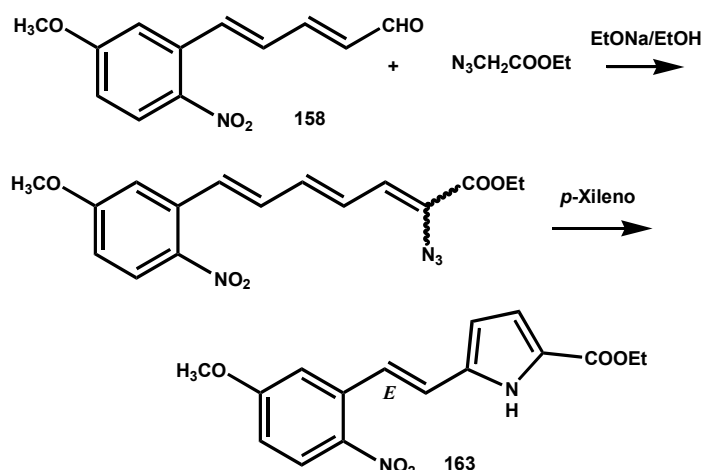
El mecanismo de esta reacción^{2,3,4} se basa en el propuesto por H. Hemetsberger entre 1969 y 1971 para compuestos de análogas características. La formación del anillo fenilpirrólico tiene lugar por una descomposición de la α -azidoolefina hasta el correspondiente nitreno y éste, mediante una reacción de ciclación 1,5-dipolar, evoluciona hasta el derivado pirrólico (**Esquema 4.7**).



Esquema 4.7.-Mecanismo de reacción en la formación de los derivados fenilpirrólicos.

4.1.1.2.2.- Síntesis 5[2'-(5''-metoxi-2''-nitrofenil)vinil]-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo **163**.

Como experimento alternativo se ha procedido a la aplicación de la reacción de Hemetsberger¹ sobre el intermedio **158** (este compuesto ha sido obtenido como subproducto de la reacción de Wittig descrita con anterioridad), consiguiendo en este caso un anillo pirrólico altamente funcionalizado **163**, de gran interés sintético. (**Esquema 4.8**).



Esquema 4.8.- Obtención del derivado fenilvinilpirrólico **163**.

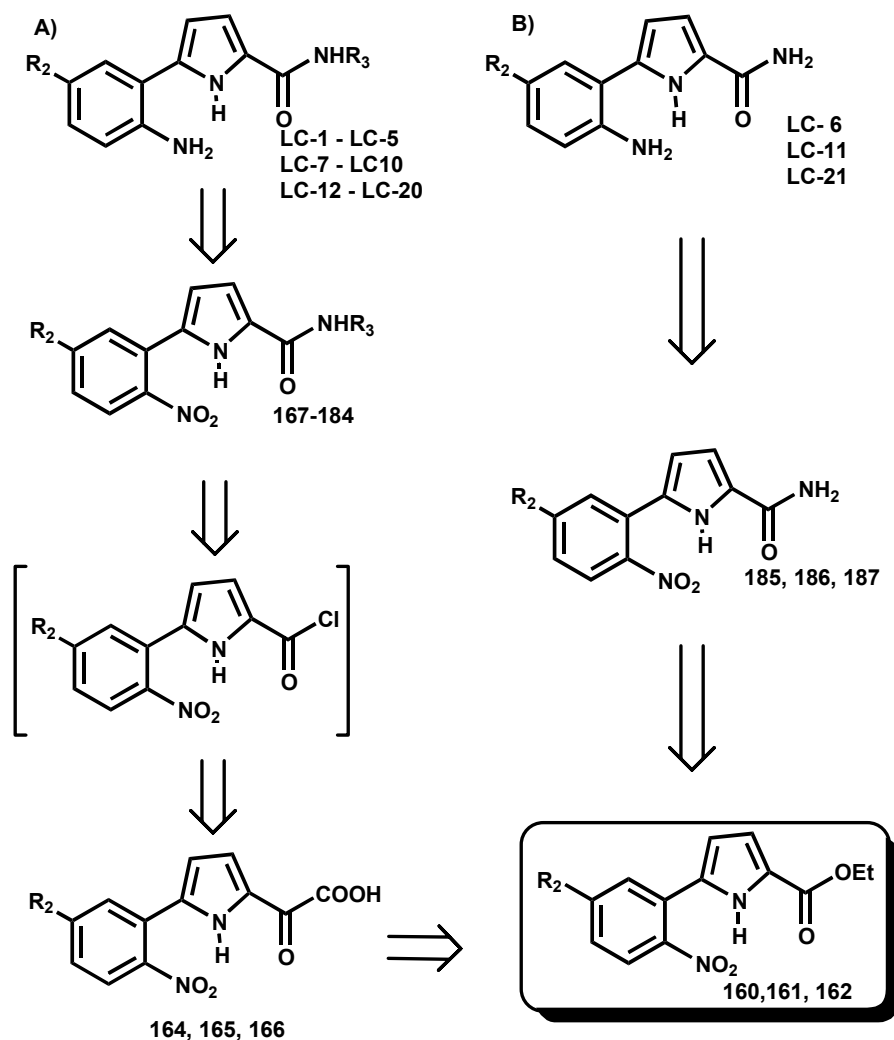
4.1.1.3.- Estrategias sintéticas conducentes a la formación de los compuestos finales LC-1 a LC-22.

Una vez sintetizados los derivados fenilpirrólicos **164**, **165** y **166**, estos compuestos se han sometido a diversos tratamientos químicos para conseguir las modificaciones oportunas sobre los anillos aromático y pirrólico, al objeto de obtener las diferentes series de compuestos finales dentro de la familia pirrólica **series (a, b, c)**.

En el **Esquema 4.9** retrosintético se diferencian dos rutas :

La ruta A) conduce a compuestos fenilpirrólicos donde la amida está sustituida por radicales alquilo, cicloalquilo y bencilo^{7,8,9}.

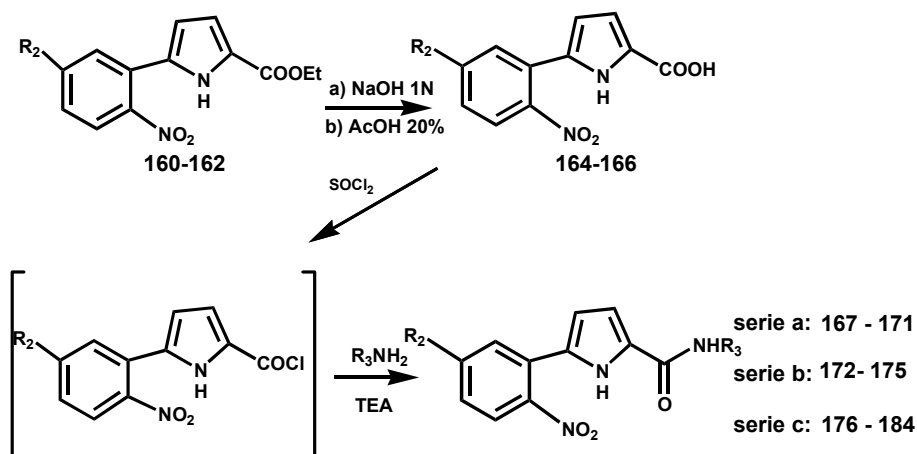
La ruta B) conduce a los compuestos finales con la amida libre sin sustituir.^{10,11}



Esquema 4.9.- Retrosíntesis de los productos finales fenilpirrólicos.

A) Se parte de 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo 5'-sustituido (**160-162**) y se trata con NaOH a 100°C hasta que se disuelva completamente el éster, indicando así que se ha formado la sal sódica del mismo; a continuación, se le añade una solución de AcOH glacial al 20% y se mantiene la reacción bajo agitación y a temperatura

ambiente hasta que aparece un precipitado, indicando en este caso la formación de los derivados del ácido 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico 5'-sustituido (**164-166**)⁷. Rendimiento 82-93%.



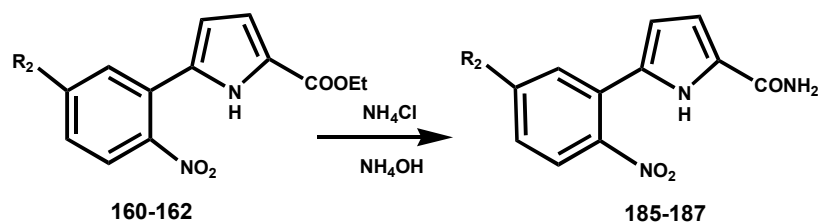
Esquema 4.10. Síntesis de intermedios fenilpirrólicos.

Una vez sintetizados los derivados **164-166** se procede a la transformación del grupo ácido en amida N-sustituida. Esta transformación requiere que, previamente, se obtengan los correspondientes cloruros de ácido⁸, ya que son mucho más reactivos y dan lugar a las amidas N-sustituidas con mejores rendimientos. Para ello trataremos los ácidos carboxílicos **164-166** con cloruro de tionilo en exceso, a 65-80°C, durante 5 horas. Los cloruros de ácido así formados no se aislan, sino que, *in situ*, se añaden a una solución de trietilamina y la amina primaria correspondiente, en CH₂Cl₂, durante 3 horas y bajo atmosfera inerte⁹.

Los rendimientos obtenidos para cada **serie (a, b, c)** oscilan entre 48 y 91% (ver Parte Experimental). La gran diferencia de rendimientos se debe a la mayor o menor dificultad de purificación de cada compuesto. En total se obtienen por este método sintético 18 compuestos intermedios, que se recogen en la siguiente tabla.

Serie a R ₂ = OCH ₃		Serie b R ₂ = Cl		Serie c R ₂ = H	
compuesto	R ₃	compuesto	R ₃	compuesto	R ₃
167	Me	172	Me	176	Me
168	Pr	173	Et	177	Et
169	cC ₃ H ₅	174	Bu	178	Pr
170	cC ₅ H ₉	175	cC ₃ H ₅	179	Bu
171	Bn	-	-	180	cC ₃ H ₅
-	-	-	-	181	cC ₄ H ₇
-	-	-	-	182	cC ₅ H ₉
-	-	-	-	183	cC ₆ H ₁₁
-	-	-	-	184	Bn

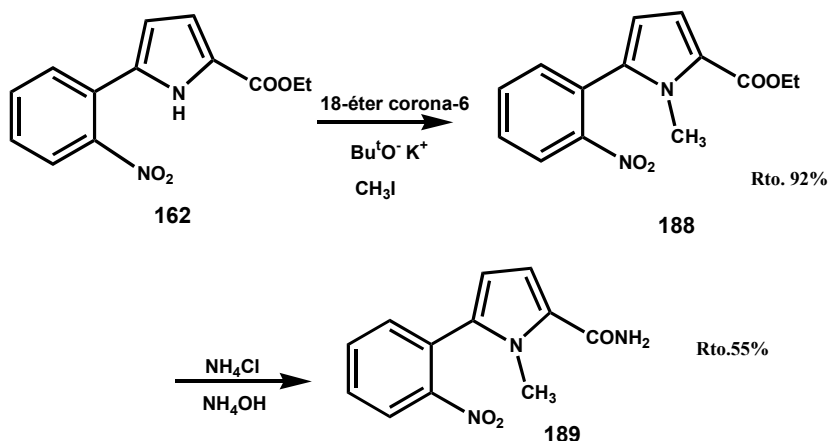
B) La segunda ruta conduce a los compuestos intermedios con un grupo carboxamido no sustituido localizado en la posición 2 del anillo pirrólico. La síntesis¹⁰ parte de los derivados de 5-(2'-nitro-5'-sustituidofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (**160 - 162**) que, por calentamiento con NH₄Cl/NH₄OH a 115°C en un tubo cerrado y durante 12 horas, dan lugar a las correspondientes amidas. En el **Esquema 4.11** se muestra el proceso de síntesis, resultando unos rendimientos comprendidos entre el 80-94%.



Esquema 4.11.- Reacción de formación de la amida libre.

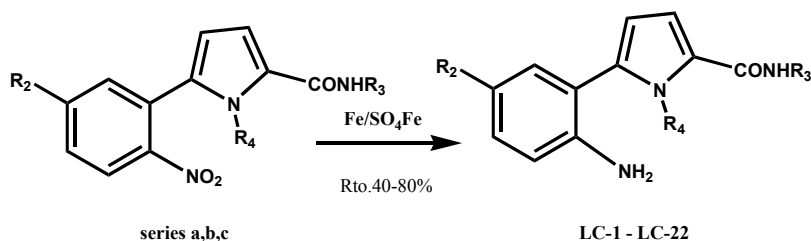
Serie a R ₂ = OCH ₃		Serie b R ₂ = Cl		Serie c R ₂ = H	
compuesto	R ₃	compuesto	R ₃	compuesto	R ₃
185	H	186	H	187	H

Por último dentro de las diferentes estructuras que pretendemos obtener, se ha sintetizado el compuesto **189** a partir de su precursor **188**¹⁰, siguiendo el esquema previamente indicado. La metilación del compuesto **162**¹¹, se ha llevado a cabo con CH₃I en éter, en presencia de 18-éter corona-6 y KBu^tO. Rendimiento: 92%



Esquema 4.12.- Esquema de la reacción para obtener el compuesto 189.

La reducción del grupo¹² nitro del anillo bencénico mediante hierro en polvo y sulfato ferroso, en medio acuoso, de estos veintidós derivados de las series **a**, **b**, **c** conduce a los compuestos finales **LC-1 – LC-22**. Los rendimientos oscilan entre 48-80%, diferencias que pueden justificarse en la mayor o menor dificultad para su purificación.



Esquema 4.13.- Proceso de reducción del grupo nitro.

4.1.2.- Análisis espectroscópico de los derivados pirrólicos y sus intermedios sintéticos.

Los compuestos de esta familia se identificaron por espectroscopía de RMN ^1H (300 ó 400 MHz) y ^{13}C (75 ó 100 MHz), espectrometría de masas de alta resolución (LSIMS de alta resolución) y/o análisis elemental. También se han llevado a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMQC (RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) y tipo HMBC (RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$). Todos los espectros de los compuestos intermedios y finales se recogen en el Apéndice.

4.1.2.1.- Compuestos intermedios.

A continuación se analizarán, a título de ejemplo, los datos espectroscópicos de los derivados **167 – 187** y **189** ya que son los precursores inmediatos de los compuestos finales de esta familia. Los datos correspondientes a todos los demás compuestos intermedios se describen únicamente en la Parte Experimental.

4.1.2.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos intermedios derivados de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida.

Los datos espectroscópicos de ^1H -RMN, tanto de los desplazamientos químicos (δ , ppm) como de las constantes de acoplamiento (J , Hz), se muestran resumidos en la **Tabla 4.1**. En ésta se incluyen los compuestos **167 – 171** y **185** que se caracterizan porque el grupo 2-carboxamido contiene diversos sustituyentes, se ha indicado también como referencia el compuesto **185**, en el que la amida no presenta sustituyentes. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo o acetona deuterada y son concordantes con las estructuras propuestas.

Como era previsible las mayores diferencias entre los espectros se encuentran en las señales que caracterizan e identifican a los diferentes grupos sustituyentes de la posición carboxamida.

El átomo de hidrógeno que aparece más desapantallado en todos los compuestos de esta serie, es el perteneciente al anillo pirrólico en posición 1, que resuena entre 10 y 12 ppm.

Los hidrógenos aromáticos H-3', H-4' y H-6' resuenan de la siguiente forma: el átomo H-3' resuena en torno a δ 7.90 ppm como consecuencia del efecto desapantallante que ejerce el grupo nitro en posición 2' del anillo bencénico. La señal aparece como doblete con una constante de acoplamiento en torno a $J_{3'-4'} = 9.0$ Hz. H-6' resuena aproximadamente a δ 6.98 ppm, también como doblete debido al acoplamiento con H-4', con una constante de acoplamiento con un valor alrededor de 2.8 Hz. En todos los compuestos se observa un doblete en torno a 6.87 ppm correspondiente al hidrógeno aromático H-4', debido al acoplamiento con H-3' y H-6'. El grupo metoxilo resuena entre 3.87 y 3.86 ppm. Los desplazamientos en **171** y **185** son diferentes debido a que el disolvente deuterado empleado es acetona en lugar de cloroformo. El cambio de disolvente se ha realizado debido a que estos compuestos son parcialmente solubles en cloroformo deuterado, en consecuencia, la resolución del espectro no es la deseada y por ello el empleo de disolventes más polares, donde los compuestos son más solubles, mejoran la resolución del espectro y en consecuencia se facilita su interpretación.

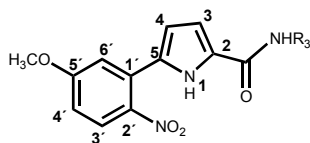
Las señales de los átomos de hidrógeno del pirrol de las posiciones tres y cuatro aparecen como un doblete o doblete, dependiendo de si existe acoplamiento o no con el protón 1 del anillo pirrólico, observándose en ocasiones que las señales colapsan en un pseudotriplete. El protón H-3 resuena entre 6.52 y 6.88 ppm dependiendo de que el disolvente deuterado usado en cada compuesto sea cloroformo o acetona. Es importante destacar que en los compuestos **169** y **170** el protón H-3 aparece como un singlete ancho en las condiciones normales de realización de los espectros, pero que, si realizamos el espectro aumentando la temperatura a 25°C, se consigue identificar la señal como doblete. El protón H-3 tiene una constante de acoplamiento con H-4 en torno a 3.7 Hz y en el caso de que se acople con H-1, su constante de acoplamiento sería de aproximadamente 2.5 Hz. El protón H-4 resuena entre δ 6.28 y 6.32 ppm por las mismas razones que el protón H-3. Posee una constante de acoplamiento con H-3 en

torno a 3.7 Hz y en el caso de que se acople con H-1 su constante de acoplamiento sería de aproximadamente 2.8 Hz. La identificación inequívoca de estos protones (H-3, H-4) se ha llevado a cabo mediante un estudio HMQC realizado al compuesto **168**, una correlación a larga distancia HMBC (RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) y efectos NOE que se ha realizado sobre el compuesto **175** (Ver Apartado 4.1.2.1.3). En consecuencia, por extrapolación de estos resultados, se asume que los protones pirrólicos son los asignados.

El protón perteneciente al nitrógeno de la amida resuena entre 5.87 y 6.13 ppm cuando el disolvente es cloroformo, y a 7.96 ppm cuando se trata de acetona. El acoplamiento en este caso sí varía, influido por el radical R_3 y apareciendo como multiplete, doblete o singlete ancho.

Las señales de los hidrógenos contenidos en R_3 resuenan a campo alto (excepto cuando $\text{R}_3 = \text{Bn}$). En el compuesto **185** ($\text{R}_3 = \text{H}$) los acoplamientos son los mismos que para los compuestos N-sustituidos, sin embargo no se observa la señal correspondiente a los hidrógenos de la amida debido, probablemente, a que la señal es demasiado ancha.

Tabla 4.1.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de $^1\text{H-RMN}$ de los compuestos intermedios **167 – 171** y **185**.



$R_3 = \text{Me, Pr, } c\text{-C}_3\text{H}_5, c\text{-C}_6\text{H}_7, \text{Bn, H}$ (*) El disolvente usado es acetona deuterada.

	167 δ (ppm) J (Hz)	168 δ (ppm) J (Hz)	169 δ (ppm) J (Hz)	170 δ (ppm) J (Hz)	171* δ (ppm) J (Hz)	185* δ (ppm) J (Hz)
H-1	10.60 (sa)	10.45 (sa)	10.40 (sa)	10.70 (sa)	11.27 (sa)	11.98 (sa)
H-3'	7.90 (d) $J_{3'-4'} = 9.1$	7.90 (d) $J_{3'-4'} = 9.0$	7.90 (d) $J_{3'-4'} = 9.1$	7.89 (d) $J_{3'-4'} = 9.0$	7.92 (d) $J_{3'-4'} = 9.0$	7.95 (d) $J_{3'-4'} = 9.0$
H-6'	6.99 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$	6.99 (d) $J_{6'-4'} = 2.7$	6.98 (d) $J_{6'-4'} = 2.7$	6.98 (d) $J_{6'-4'} = 2.5$	7.18 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$	7.20 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$
H-4'	6.87 (dd) $J_{4'-3'} = 9.1$ $J_{4'-6'} = 2.8$	6.88 (dd) $J_{4'-3'} = 9.0$ $J_{4'-6'} = 2.7$	6.87 (dd) $J_{4'-3'} = 9.1$ $J_{4'-6'} = 2.7$	6.87 (dd) $J_{4'-3'} = 9.0$ $J_{4'-6'} = 2.5$	7.00 (dd) $J_{4'-3'} = 9.0$ $J_{4'-6'} = 2.8$	7.05 (dd) $J_{4'-3'} = 9.0$ $J_{4'-6'} = 2.8$
H-3	6.54 (pt) $J_{3-4} = 3.7$	6.55 (d) $J_{3-4} = 3.5$	6.52 (sa)	6.52 (sa)	6.88 (dd) $J_{3-4} = 3.8$ $J_{3-1} = 2.5$	6.87 (dd) $J_{3-4} = 3.7$ $J_{3-1} = 2.4$
H-4	6.30 (pt) $J_{4-3} = 3.7$	6.32 (d) $J_{4-3} = 3.5$	6.30 (pt) $J_{4-3} = 3.0$	6.30 (sa)	6.28 (dd) $J_{4-1} = 3.8$ $J_{4-1} = 2.8$	6.30 (dd) $J_{4-3} = 3.7$ $J_{4-1} = 2.7$
-CONH-	6.02 (m)	5.94 (sa)	6.13 (sa)	5.87 (d) $J = 7.3$	7.96 (sa)	-
-OCH ₃	3.86 (s)	3.87 (s)	3.87 (s)	3.86 (s)	3.95 (s)	3.99 (s)
CH ₃	2.85 (d) $J = 4.9$	0.91 (t) $J = 7.3$	-	-	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	3.27 (m)	-	-	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	1.54 (m)	-	-	-	-
H-1 _{ciclo}	-	-	2.75 (m)	4.17 (m)	-	-
H-2 – H-3 _{cicloprop.}	-	-	0.75, 0.55 (2m)	-	-	-
H-2 – H-5 _{ciclopent.}	-	-	-	1.95 – 1.36 (m)	-	-
-CH ₂ -	-	-	-	-	4.49 (d) $J = 6.1$	-
H-2 – H-6 _{Bn}	-	-	-	-	7.25 (m)	-

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los compuestos **167** - **171** y **185** están recogidos en la **Tabla 4.2**, donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se llevaron a cabo espectros de resonancia bidimensional tipo HMQC sobre el compuesto **168** ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) que se describe en la **Figura 4.2** y un estudio HMBC($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) sobre el compuesto **175** anteriormente citado. Para el resto de los compuestos intermedios de la **serie a**, las señales se establecieron extrapolando los datos obtenidos en este último compuesto.

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1'–C-6') oscilan entre δ 162-113 ppm. Los estudios bidimensionales tipo HMQC (ver **Figura 4.2**) facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1', C-2' y C-5') se determinaron por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³.

Las señales del átomo de carbono C-4 del anillo pirrólico resuenan entre δ 110 y 111 ppm, y C-3 a δ 109-110 ppm, confirmándose gracias a los estudios HMQC, HMBC y NOE bidimensionales realizados sobre los compuestos **168** y **175**. Los átomos de carbono C-2 y C-5 del pirrol resuenan a δ 127 ppm y a δ 130 ppm, respectivamente, y su identificación se hace también gracias a los estudios anteriores. Los valores de los desplazamientos de los átomos de carbono correspondientes a los diferentes radicales R_3 resuenan a campo alto, excepto cuando el sustituyente R_3 es un grupo bencilo.

Es preciso, destacar que las variaciones de desplazamiento de los compuestos **167** y **185** con respecto a los otros compuestos, es debida a que se ha empleado acetona como disolvente, en lugar de cloroformo.

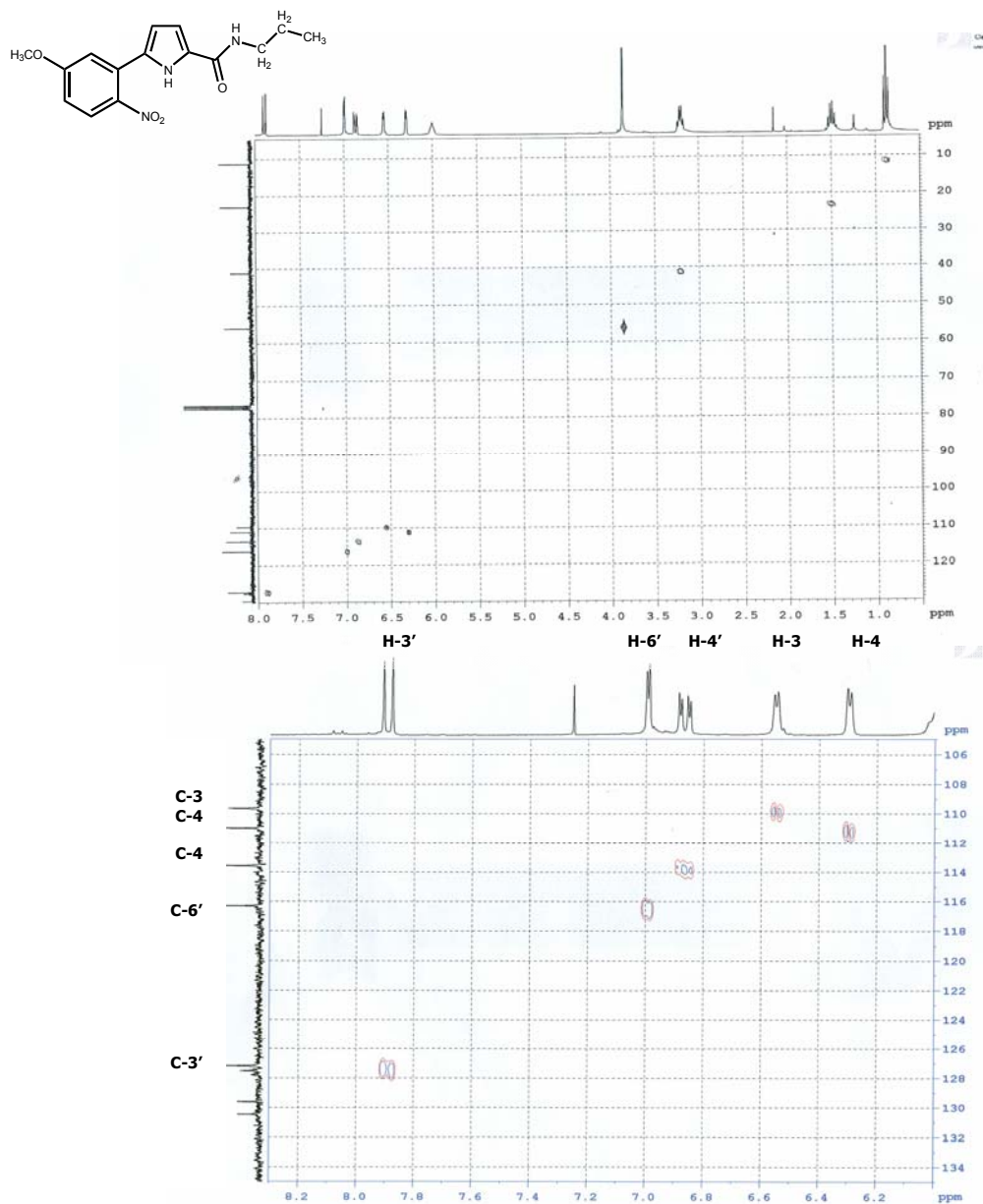
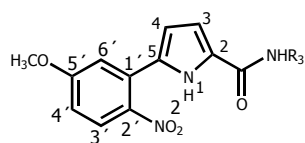


Figura 4.2.- HMQC del compuesto 168.

Tabla 4.2.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **167 – 171** y **185**.



$\text{R}_3 = \text{Me, Pr, } c\text{-C}_3\text{H}_5, c\text{-C}_5\text{H}_9, \text{Bn, H}$

	167 δ (ppm)	168 δ (ppm)	169 δ (ppm)	170 δ (ppm)	171* δ (ppm)	185* δ (ppm)
C-5'	162.50	162.51	162.54	162.48	162.49	162.47
-CONH-	161.72	160.99		160.49	160.72	162.09
C-2'	141.68	141.73	141.68	141.66	141.82	141.73
C-5	130.37	130.29	130.49	130.40	130.49	130.32
C-1'	129.55	129.49	129.41	129.55	129.56	129.36
C-2	127.47	127.57	127.31	127.59	128.23	128.16
C-3'	127.26	127.27		127.20	127.57	126.80
C-6'	116.39	116.23	116.29	116.18	116.30	115.98
C-4'	113.55	113.63	113.63	113.63	113.60	113.70
C-4	111.12	111.16	111.26	111.03	110.42	111.07
C-3	109.71	109.49	109.98	109.62	110.15	110.12
-OCH ₃	56.05	56.05	56.07	56.04	55.71	55.67
-CH ₃	26.21	11.42	-	-	-	-
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-	41.23	-	-	-	-
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-	23.08	-	-	-	-
C-1 _{ciclo}	-	-	22.72	51.27	-	-
C-2, C-3 _{cicloprop.}	-	-	6.86	-	-	-
C-2, C-5 _{ciclopent.}	-	-	-	33.25	-	-
C-3, C-4 _{ciclopent.}	-	-	-	23.81	-	-
C-1 _{Bn}	-	-	-	-	139.90	-
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	-	-	128.34	-
C-4 _{Bn}	-	-	-	-	127.54	-
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	-	-	126.86	-
-CH ₂ -	-	-	-	-	42.72	-

* El disolvente usado es acetona deuterada.

Finalmente, en el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **167**: Calculado para $C_{13}H_{13}N_3O_4Na$ $(M^+ + Na)$ 298.080376; encontrado 298.080186 (desviación 0.6 ppm).

Compuesto **168**: Calculado para $C_{15}H_{17}N_3O_4Na$ $(M + Na)^+$ 326.111676; encontrado 326.111424 (desviación 0.8 ppm).

Compuesto **169**: Calculado para $C_{15}H_{15}N_3O_4Na$ $(M + Na)^+$ 324.096026; encontrado 324.095893 (desviación 0.4 ppm).

Compuesto **170**: Calculado para $C_{17}H_{19}N_3O_4Na$ $(M + Na)^+$ 352.127326; encontrado 352.127346 (desviación -0.1 ppm).

Compuesto **171**: Calculado para $C_{19}H_{17}N_3O_4Na$ $(M + Na)^+$ 374.111676; encontrado 374.111753 (desviación -0.2 ppm).

Compuesto **185**: Calculado para $C_{12}H_{11}N_3O_4Na$ $(M + Na)^+$ 284.064726; encontrado 284.064479 (desviación 0.9 ppm).

4.1.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos intermedios derivados del 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida. Los datos espectroscópicos de 1H -RMN, tanto los desplazamientos químicos (δ , ppm) como las constantes de acoplamiento (J , Hz) se muestran resumidos en la **Tabla 4.3**. En esta Tabla se incluyen los compuestos **172 – 175** y **186** que se caracterizan, al igual que en la **serie a**, por tener grupos carboxámidos sustituidos (R_3) en la posición 2 del anillo pirrólico. También se incluye el compuesto con el grupo carboxamido sin sustituir, **186**. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo o acetona deuterada como disolvente y son concordantes con las estructuras propuestas. En uso de un disolvente u otro se ha realizado por las mismas razones que en la serie anterior.

Al igual que en la **serie a**, el protón 1 del pirrol es el más desapantallado de la molécula y resuena a 10.5 ppm en los derivados **173-175** (realizados en cloroformo) y

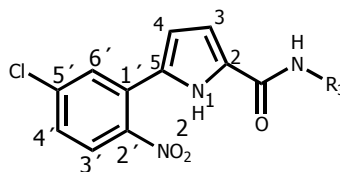
sobre 11.33 ppm en los compuestos **172** y **186** (por estar estos compuestos registrados en acetona como disolvente).

La asignación de las señales de resonancia de los átomos de hidrógeno aromáticos (H-3', H-4' y H-6') es la siguiente: los átomos H-3' de los diferentes compuestos aparecen entre δ 7.74 y 7.93 ppm como consecuencia del efecto desapantallante del grupo nitro. Las señales aparecen como dobletes con una constante de acoplamiento $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz. Los átomos H-6' resuenan como doblete desde δ 7.56 hasta 7.83 ppm con una constante de acoplamiento con H-4' entre 2.2 y 1.7 Hz. El hidrógeno aromático H-4' aparece como un doblete entre δ 7.57 y 7.36 ppm, debido al acoplamiento con H-3' y H-6'. Dependiendo de que el disolvente usado sea cloroformo o acetona las señales aparecen con un apantallamiento diferente, como puede observarse en los compuestos **172** y **186** que están realizados en acetona deuterada.

Las señales de los átomos de hidrógeno del grupo fenilo se han asignado según los resultados obtenidos del estudio de los espectros de resonancia bidimensional tipo HMQC y HBMC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) sobre el compuesto **175**. También se ha realizado un estudio NOE sobre el mismo compuesto, en el que se identifican los protones pirrólicos, pues al irradiar el protón H-6', se observa un efecto NOE positivo sobre el protón pirrólico que está a campo más alto, lo que motiva la identificación de este protón como el H-4, (Ver apartado 4.1.2.1.3.).

Las señales de los átomos de hidrógeno del anillo pirrólico no muestran variaciones significativas con respecto a la **serie a**. El protón perteneciente al nitrógeno de la amida resuena entre 3.91 y 7.52 ppm (depende del disolvente y del radical que posea). A campo alto resuenan las señales de los diferentes radicales R_3 .

Tabla 4.3.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **172** – **175** y **186**.



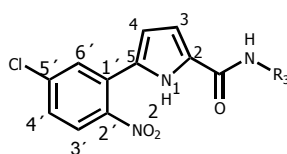
$R_3 = \text{Me, Et, Bu, } c\text{-C}_3\text{H}_5, \text{H}$

	172* δ (ppm) J (Hz)	173 δ (ppm) J (Hz)	174 δ (ppm) J (Hz)	175 δ (ppm) J (Hz)	186* δ (ppm) J (Hz)
H-1	11.45 (sa)	10.78 (sa)	10.40 (sa)	10.50 (sa)	11.22 (sa)
H-3'	7.92 (d) $J_{3'-4'}=8.7$	7.75 (d) $J_{3'-4'}= 8.7$	7.78 (d) $J_{3'4'}= 8.7$	7.74 (d) $J_{3'-4'}= 8.7$	7.93 (d) $J_{3'-4'}= 8.7$
H-6'	7.79 (d) $J_{6'-4'}=2.2$	7.56 (d) $J_{6'-4'}= 2.2$	7.60 (d) $J_{6'-4'}= 1.7$	7.58 (ps)	7.83 (d) $J_{6'-4'}= 2.2$
H-4'	7.57 (dd) $J_{4'-3'}=8.7$ $J_{4'-6'}= 2.2$	7.36 (dd) $J_{4'-3'}=8.7$ $J_{4'-6'}= 2.2$	7.41 (dd) $J_{4'-3'}=8.7$ $J_{4'-6'}= 1.7$	7.37 (dd) $J_{4'-3'}=8.7$ $J_{4'-6'}= 1.4$	7.56 (dd) $J_{4'-3'}= 8.7$ $J_{4'-6'}= 2.2$
H-3	6.78 (dd) $J_{3-4}=3.7$ $J_{3-1}= 2.2$	6.55 (dd) $J_{3-4}=3.7$ $J_{3-1}= 2.6$	6.58 (d) $J_{3-4}= 3.7$	6.52 (sa)	6.90 (dd) $J_{3-4}= 3.8$ $J_{3-1}= 2.2$
H-4	6.32 (dd) $J_{4-3}= 3.7$ $J_{4-1}= 2.6$	6.35 (dd) $J_{4-3}= 3.7$ $J_{4-1}= 2.8$	6.40 (d) $J_{4-1}= 3.7$	6.34 (sa)	6.30 (dd) $J_{4-3}= 3.8$ $J_{4-1}= 2.8$
-CONH-	7.52 (sa)	3.91 (sa)	5.93 (sa) $J= 4.5$	6.09 (sa)	7.36, 6.50 (2sa)
-CH ₃	2.78 (d) $J= 4.7$	1.16 (t) $J= 7.2$	0.96 (t) $J= 7.3$	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	3.39 (m)	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	1.57 (m)	-	-
CH ₂ CH ₃	-	3.35 (m)	1.34 (m)	-	-
H-1 _{ciclo}	-	-	-	2.78 (m)	-
H ₂ - H ₃ _{cicloprop.}	-	-	-	0.78 - 0.57 (m)	-

* El disolvente usado es acetona deuterada.

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los compuestos **176** – **184** y **186** están recogidos en la **Tabla 4.4**, donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se llevaron a cabo espectros de resonancia bidimensional tipo HMQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) sobre el compuesto **175**. Para el resto de los compuestos intermedios de la **serie b**, las señales se establecieron en base a los datos obtenidos sobre el anterior producto. En todos los espectros el valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 160-163 ppm) se corresponde con el carbonilo amídico.

Tabla 4.4.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **172-175** y **186**.



$\text{R}_3 = \text{Me, Et, Bu, c-C}_3\text{H}_5, \text{H}$

	172* δ (ppm)	173 δ (ppm)	174 δ (ppm)	175 δ (ppm)	186* δ (ppm)
-CONH-	162.47	160.82	160.72	163.53	162.69
C-2'	148.51	146.74	148.69	148.07	147.87
C-5'	138.77	138.47	138.57	138.86	138.28
C-6'	132.17	131.04	130.88	132.25	131.56
C-5	130.70	128.46	130.48	129.82	129.62
C-1'	129.69	128.36	128.36	129.51	128.92
C-4'	129.37	128.10	128.17		
C-2	129.28	128.30	128.22	129.42	126.62
C-3'	127.12	125.83	125.90	127.18	
C-3	111.96	111.67	111.83	113.17	112.23
C-4	111.60	109.92	109.73	111.53	111.41
-CH ₃	26.55	15.04	13.84	-	-
$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$	-	34.51	20.17	-	-
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-	-	31.36	-	-
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-	-	39.36	-	-
C-1 _{ciclo}	-	-	-	24.07	-
C-2 y C-3 _{cicloprop.}	-	-	-	8.24	-

*El disolvente usado es acetona deuterada.

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' - C-6') oscilan entre δ 125 y 148 ppm. Los estudios bidimensionales (ver apartado 4.1.2.1.3) facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1', C-2' y C-5') se determinaron por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³.

Las señales del átomo de carbono C-3 del pirrol resuenan entre 111 y 113 ppm y las de C-4 entre 109 y 111 ppm, confirmándose gracias a los estudios bidimensionales y NOE (ver apartado 4.1.2.1.3). Con respecto a los átomos de carbono C-2 y C-5 del anillo pirrólico resuenan en torno a δ 128 y 130 ppm respectivamente, y su identificación también se hizo gracias a los mismos estudios anteriores. Los valores de los desplazamientos de los átomos de carbono correspondientes a los diferentes radicales R₃ resuenan a campo alto.

En el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas (M + Na)⁺ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **172**: Calculado para C₁₂H₁₀N₃O₃Cl (M + H)⁺ 280.048894; encontrado 280.048516 (desviación 1.4 ppm).

Compuesto **173**: Calculado para C₁₃H₁₂N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 316.046489; encontrado 316.047202 (desviación -2.3 ppm).

Compuesto **174**: Calculado para C₁₅H₁₆N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 344.077789; encontrado 344.077761 (desviación 0.1 ppm).

Compuesto **175**: Calculado para C₁₄H₁₂N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 328.046489; encontrado 328.046513 (desviación -0.1 ppm).

Compuesto **186**: Calculado para C₁₁H₈N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 288.015189; encontrado 288.015391 (desviación -0.7 ppm).

4.1.2.1.3.- Estudio espectroscópico del compuesto 175.

El compuesto **175** se ha utilizado como modelo dentro de la familia pirrólica para la realización de diversos experimentos, con ellos se determina la estructura inequívocamente para la **serie b**, siguiendo la misma metodología en las **series a** y **c** aunque no se recojan en la presente memoria. Es importante destacar que los resultados obtenidos en todos los estudios HMBC y NOE son análogos en las tres series, esto indica que pueden extrapolarse los resultados obtenidos de este estudio para las tres series.

A) El estudio NOE se hizo para intentar identificar inequívocamente los protones pirrólicos. De todos estos experimentos cabe destacar que cuando se irradia el protón H-6' (δ 7.79 ppm) aparece efecto NOE positivo con el protón pirrólico H-4 (δ 6.25 ppm), lo que sugiere una estructura del tipo a la representada en la **Figura 4.3**, en la que existe coplanaridad entre los anillos bencénico y pirrólico, quedando los átomos de hidrógeno H-6' y H-4 próximos en el espacio. Por otro lado, al irradiar el protón pirrólico H-4 se obtiene el esperado NOE positivo con H-6'. Por último, la irradiación sobre el protón pirrólico que se encuentra más desapantallado (propuesto como H-3), da efecto NOE positivo con el singlete ancho correspondiente al protón del grupo carboxamida, confirmando así que el protón más desapantallado es el H-3.

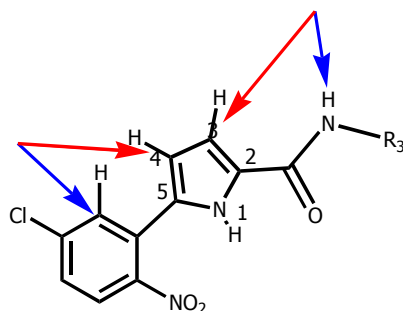


Figura 4.3.-Se ha marcado con una flecha de color rojo los átomos irradiados y con una flecha de color azul los átomos con los que el efecto NOE es positivo.

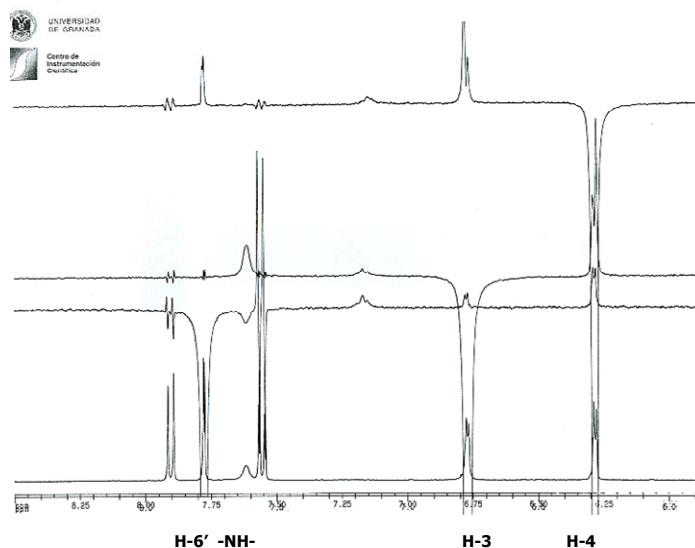


Figura 4.4.- Estudio de NOE del compuesto 175.

B) Se ha llevado a cabo, un estudio de RMN basado en una correlación $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMQC (Figura 4.5) para identificar inequívocamente los desplazamientos de los carbonos C-3', C-4' y C-6', así como también los átomos de carbono del sistema pirrólico. Los demás estudios tipo HMQC sólo se muestran en el apéndice de esta memoria.

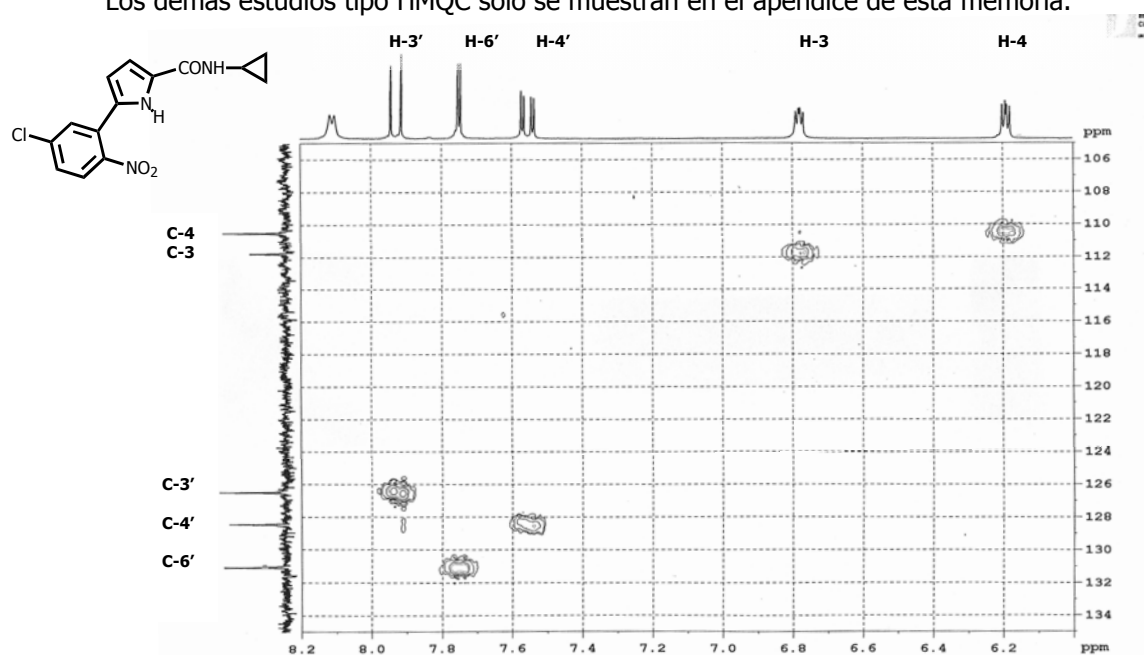


Figura 4.5.- Estudio de $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMQC del compuesto 175 (Ampliación del estudio HMQC).

C) Por último, se ha llevado a cabo un estudio de RMN basado en una correlación a larga distancia $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMBC (**Figura 4.6**) para identificar inequívocamente los desplazamientos de los átomos de carbono cuaternarios C-2, C-5, C-1', C-2' y C-5'.

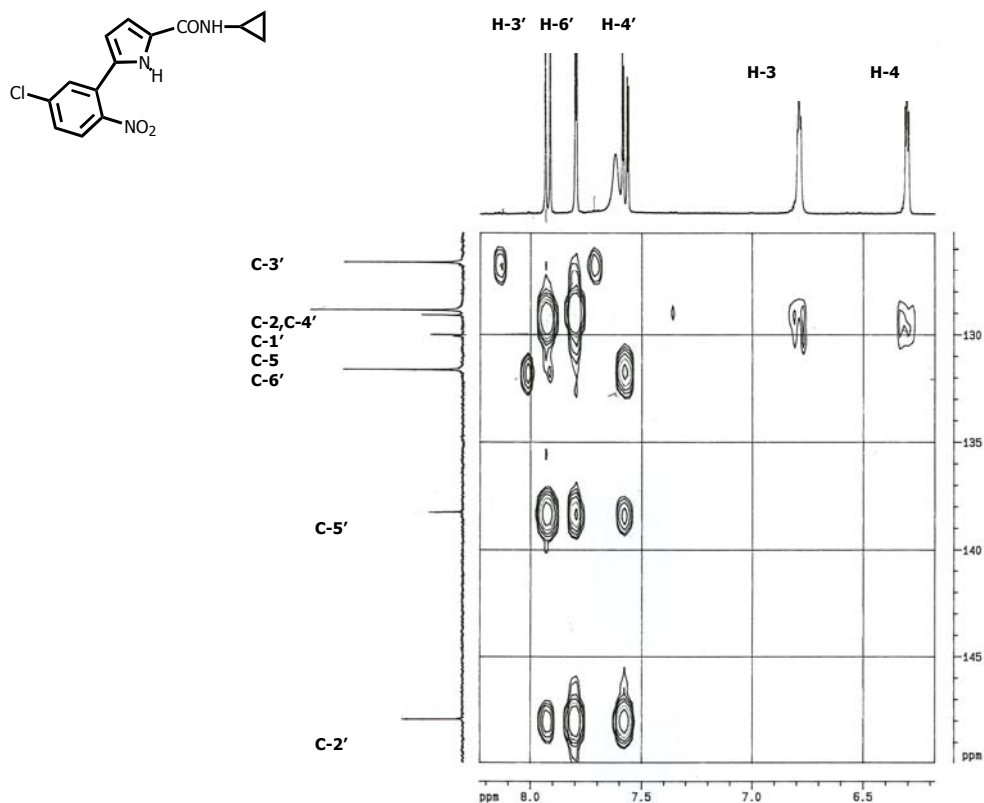


Figura 4.6.- Estudio de HMBC del compuesto **175** (ampliación del estudio HMBC)

El experimento de RMN sirve para correlacionar los átomos de carbono C-2 y C-5 del pirrol con los protones del anillo bencénico. Como se puede ver en la **Figura 4.6**, el átomo de hidrógeno H-4 se correlaciona vecinalmente con C-5, que resuena a δ 130 ppm. Del mismo modo, el átomo de hidrógeno H-3 está correlacionado vecinalmente con C-2, que presenta un desplazamiento químico a δ 129 ppm. Hay que destacar la coincidencia de desplazamiento químico entre C-2 y C-4'. Finalmente, los átomos de carbono C-2' se encuentra a δ 148 ppm, debido al efecto desapantallante del grupo nitro que contiene.

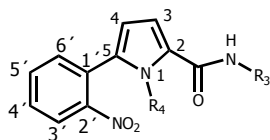
4.1.2.1.4.- Compuestos pertenecientes a la serie c.

Aunque más simples, estructuralmente hablando, este grupo de moléculas presenta mayor complejidad espectroscópica en el sistema aromático bencénico. Los patrones de acoplamiento son los mismos que los previamente comentados y descritos para las **series a** y **b**, con la excepción del anillo bencénico. Por esta razón sólo discutiremos aquí el comportamiento espectroscópico del citado anillo. Dentro de esta serie se presentan los compuestos intermedios derivados del 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida. Los datos espectroscópicos de ¹H-RMN, tanto los desplazamientos químicos (δ , ppm) como las constantes de acoplamiento (J , Hz) se muestran resumidos en las **Tabla 4.5a** y **4.5b**. En la primera tabla aparecen los compuestos que se caracterizan por tener sustituyentes R₃ de naturaleza alquílica, así como los compuestos con el grupo carboxamida libre y nitrógeno pirrólico sin sustituir, o con un grupo metilo, mientras que en la **Tabla 4.5b** se muestran los compuestos provistos de sustituyentes R₃ cicloalquílicos y bencilo.

En esta serie existen cuatro hidrógenos en el anillo aromático, ya que no hay sustituyente en posición 5', por tanto el patrón de acoplamiento para los hidrógenos aromáticos de los productos de las **series** anteriores (**a** y **b**) no es válido en estos derivados. Al igual que en las **series a** y **b** se han utilizado diversos disolventes atendiendo a las razones ya descritas para la **serie a**.

En la **serie c** los protones del anillo bencénico se comportan como un sistema de acoplamiento tipo ABCD, puesto que tenemos un anillo aromático fenílico disustituido con sustituyentes en 1' y 2' y por consiguiente son todos diferentes entre sí.

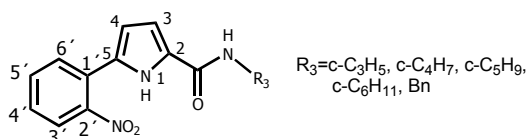
Tabla 4.5a.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de $^1\text{H-RMN}$ de los compuestos intermedios **176** – **179**, **187** y **189**.



	176*** δ (ppm) J (Hz)	177*** δ (ppm) J (Hz)	178** δ (ppm) J (Hz)	179* δ (ppm) J (Hz)	187 δ (ppm) J (Hz)	189* δ (ppm) J (Hz)
H-1	11.86 (sa)	11.86 (sa)	-	11.29 (sa)	9.90 (sa)	-
H-3'	7.90 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	7.91 (d) $J_{3'-4'} = 8.1$	7.83 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	7.86 (dd) $J_{3'-4'} = 8.0$ $J_{3'-5'} = 1.0$	7.80 (d) $J_{3'-4'} = 8.1$	8.05 (dd) $J_{3'-4'} = 8.0$ $J_{3'-5'} = 1.2$
H-6'	7.83 (m)	7.66 (m)	7.65 (m)	7.77 (dd) $J_{6'-4'} = 1.4$ $J_{6'-5'} = 7.8$	7.59 (m)	7.59 (dd) $J_{6'-4'} = 1.5$ $J_{6'-5'} = 7.5$
H-5'				7.69 (pdt) $J_{5'-6'} = 7.8$ $J_{5'-4'} = 7.4$ $J_{5'-3'} = 1.0$		7.82 (pdt) $J_{5'-4'} = J_{5'-6'} = 7.5$ $J_{5'-3'} = 1.2$
H-4'	7.51 (ddd) $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 2.9$ $J_{4'-5'} = 5.7$	7.51 (pdt) $J_{4'-3'} = J_{4'-5'} = 8.1$ $J_{4'-6'} = 2.7$	7.52 (ddd) $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 2.8$ $J_{4'-5'} = 5.8$	7.55 (pdt) $J_{4'-6'} = 1.4$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-5'} = 7.4$	7.45 (pdt) $J_{4'-3'} = 8.1$ $J_{4'-5'} = 6.7$ $J_{4'-6'} = 1.7$	7.73 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.5$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{5'-6'} = 1.5$
H-3	6.77 (dd) $J_{3-4} = 3.5$ $J_{3-1} = 2.3$	6.80 (pt) $J_{3-4} = 3.0$	6.82 (d) $J_{3-4} = 3.8$	6.79 (dd) $J_{3-4} = 3.6$ $J_{3-1} = 2.0$	6.64 (dd) $J_{3-4} = 3.6$ $J_{3-1} = 2.6$	6.88 (d) $J_{3-4} = 3.9$
H-4	6.16 (dd) $J_{4-3} = 3.5$ $J_{4-1} = 2.5$	6.15 (pt) $J_{4-3} = 3.0$	6.25 (d) $J_{4-3} = 3.8$	6.24 (dd) $J_{4-1} = 3.6$ $J_{4-1} = 2.4$	6.38 (pt) $J_{4-3} = 3.6$	6.05 (d) $J_{4-3} = 3.9$
-CONH-	8.07 (c) $J = 4.5$	8.10 (t) $J = 5.3$	-	7.49 (sa)	5.68 (sa)	-
-CH ₃	2.74 (d) $J = 4.5$	1.10 (t) $J = 7.1$	0.98 (t) $J = 7.4$	0.87 (t) $J = 7.2$	-	-
-CH ₂ CH ₃	-	3.24 (m)	1.62 (m)	1.32 (m)	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	3.27 (m)	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	3.31 (m)	1.49 (m)	-	-
-NHCH ₃	-	-	-	-	-	3.71 (s)

El disolvente usado es acetona deuterada(), metanol (**) o dimetilsulfóxido (***).

Tabla 4.5b. - Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **180– 184**.



*El disolvente usado es acetona deuterada.

	180* δ (ppm) J (Hz)	181 δ (ppm) J (Hz)	182 δ (ppm) J (Hz)	183 δ (ppm) J (Hz)	184* δ (ppm) J (Hz)
H-1	11.50 (sa)	10.53 (sa)	10.52 (sa)	10.55 (sa)	-
H-3'	7.86 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	7.77 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	7.75 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	7.75 (d) $J_{3'-4'} = 8.1$	7.82 (d) $J_{3'-4'} = 8.1$
H-6'	7.77 (d) $J_{6'-5'} = 7.1$	7.58 (m)	7.57 (m)	7.56 (m)	7.65 (m)
H-5'	7.69 (t) $J_{5'-4'} = 7.4$				
H-4'	7.54 (m)	7.44 (pdt) $J_{4'-3'} = J_{4'-5'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 2.2$	7.41 (pdt) $J_{4'-3'} = J_{4'-5'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.4$	7.41 (pdt) $J_{4'-3'} = 8.1$ $J_{4'-5'} = 7.8$ $J_{4'-6'} = 2.2$	7.51 (pdt) $J_{4'-3'} = J_{4'-5'} = 8.1$ $J_{4'-6'} = 2.3$
H-3	6.76 (d) $J_{3-4} = 3.1$	6.56 (pt) $J_{3-4} = 3.4$	6.53 (d) $J_{3-4} = 3.1$	6.54 (d) $J_{3-4} = 3.8$	6.88 (d) $J_{3-4} = 3.8$
H-4	6.24 (d) $J_{4-3} = 3.1$	6.32 (pt) $J_{4-3} = 3.4$	6.31 (pt) $J_{4-3} = 3.1$	6.32 (d) $J_{4-3} = 3.8$	6.26 (d) $J_{4-3} = 3.8$
-CONH-	7.54(m)	6.06 (d) $J = 7.9$	5.86 (d) $J = 7.3$	5.78 (d) $J = 8.1$	5.78 (sa)
H-1 _{ciclo.}	2.86 (m)	4.40 (m)	4.20 (m)	3.78 (m)	-
H-2- H-3 _{cicloprop.}	0.65, 0.52 (2m)	-	-	-	-
H-2 – H-4 _{ciclobut.}	-	2.27, 1.89, 1.67 (3m)	1.99 - 1.35 (m)	-	-
H _{ec.ciclohex.}	-	-	-	1.92 - 1.58 (m)	-
H _{ax.ciclohex.}	-	-	-	1.38 - 1.09 (m)	-
H-2 – H-6 _{Bn}	-	-	-	-	7.32 (m)
-CH ₂ -	-	-	-	-	4.54 (s)

En los sistemas de acoplamiento tipo ABCD teóricamente deben salir 32 señales repartidas entre los 4 protones que aparecen como dobles-dobles-dobletes. Sin embargo, en los espectros de la presente memoria las señales correspondientes a H-3' y H-6' se muestran como dobles dobles debido probablemente a que el acoplamiento de estos protones entre sí resulta muy pequeño, incluso puede suceder que aparezcan como simples dobles porque el espectrómetro de RMN no haya resuelto bien estas señales. Así, por tanto, en algunos espectros el número de señales se ve reducido a 24 ó a 20.

Los protones H-4' y H-5' aparecen como dobles-dobles-dobletes, dando 8 señales cada uno, pero si las constantes de acoplamiento con los protones vecinales resultan ser muy parecidas sucede que colapsan las señales apareciendo como pseudodobles tripletes, reduciéndose el número de señales a 6 en ambos protones y con 2 constantes de acoplamiento, de las que la mayor resulta ser falsa, pues no corresponde al acoplamiento verdadero que tiene con ninguno de sus protones vecinales.

Sucede también que, si los protones H-6' y H-5' colapsan, en su desplazamiento aparecen reducidas el número de señales del conjunto, resonando como multiplete.

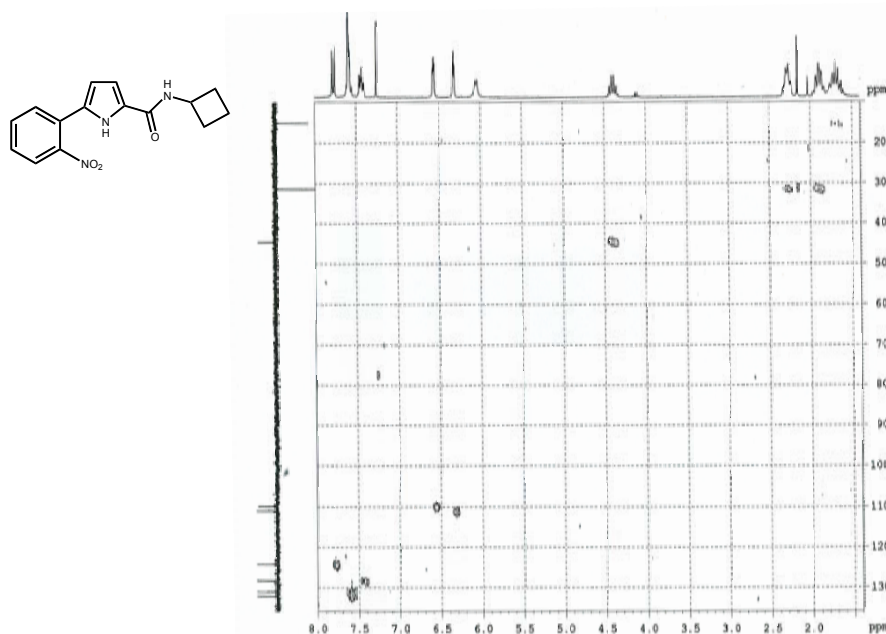
A continuación se procede a la descripción de cada uno de los protones del sistema ABCD por separado. El átomo de hidrógeno del anillo bencénico que resuena a campo más bajo es el H-3', como consecuencia del efecto desapantallante que ejerce el grupo nitro en posición 2'; éste en todos los compuestos, se muestra como un doblete debido al acoplamiento con H-4', excepto en los compuestos **179** y **189** que resuena como un doblete por el acoplamiento con H-4' y H-5'; el valor de $J_{3'-4'}$ está en torno a 8.1 Hz y el de $J_{3'-5'}$ es de 1.0 Hz. A continuación resuena H-6' en forma de doblete en los compuestos **179** y **189**, a un valor de δ entre 7.59 y 7.77 ppm respectivamente, debido al acoplamiento con H-5' y H-4'. El valor de la constante de acoplamiento $J_{6'-4'}$ oscila entre 1.4 y 1.5 Hz y $J_{6'-5'}$ entre 7.5 y 7.8 Hz; sin embargo, en el compuesto **180** el protón H-6' no se acopla con H-4' y por tanto aparece la señal como doblete. El protón H-5' debe aparecer como un doble-doble-doble (ddd) pero aparece en forma de pseudodoble triplete (pdt), debido a que los valores de $J_{5'-6'}$ y $J_{5'-4'}$ son muy parecidos. En algunos compuestos, como el **180**, el doble triplete pasa a triplete (t)

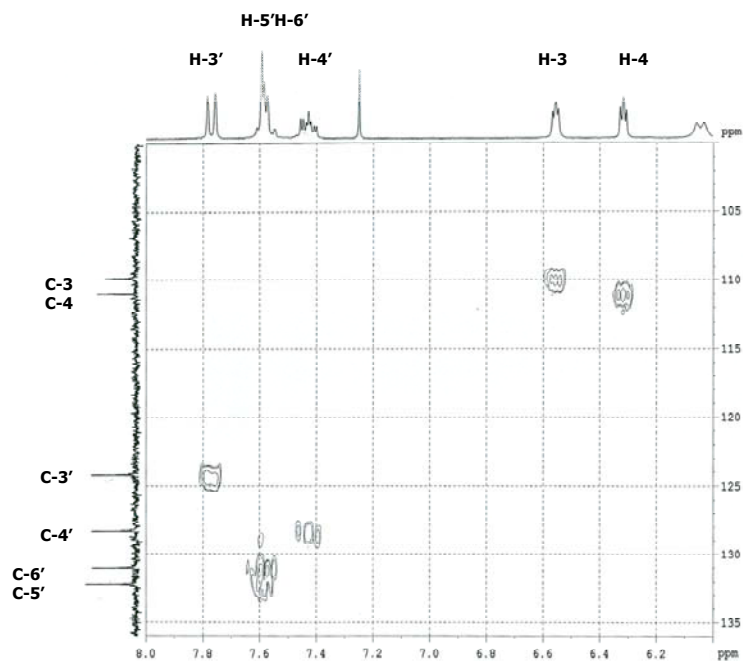
debido a que no existe acoplamiento con H-3'. Sin embargo en los compuestos **176** – **178**, **181** – **184** y **187** aparecen las señales de H-6' y H-5' colapsadas en forma de multiplete, entre 7.56 y 7.83 ppm. El protón H-4' aparece a δ entre 7.41 y 7.73 ppm e, igual que en el caso de H-5', en algunos compuestos, debido a los valores próximos de $J_{4'-3'}$ y $J_{4'-5'}$ se resuelve como un pdt lo que debería ser un ddd, incluso en el compuesto **187** aparecen sin definir las señales, asignándose como multiplete.

El resto de los átomos de hidrógeno de la molécula resuenan de modo similar al ya comentado en las **series a y b** y queda representado en la **Tablas 4.5a y 4.5b** y en la Parte Experimental.

Las Tablas 4.6a y 4.6b recogen los datos de desplazamiento químico de los diferentes átomos de carbono de los compuestos **176** – **184**, **187** y **189**. Para su asignación se llevaron a cabo espectros de resonancia bidimensional de tipo HMQC (RMN- $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) sobre el compuesto **181** (**Figura 4.7**) y se han extrapolado los resultados obtenidos del estudio sobre el compuesto **175**.

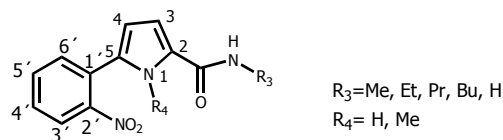
Al igual que en la serie anterior, el valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 159 - 169 ppm) se corresponde con el carbonilo (-CONH-).





Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' – C-6') oscilan entre δ 151 y 123 ppm. Los estudios bidimensionales facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4', C-5' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1' y C-2') se determinaron por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³.

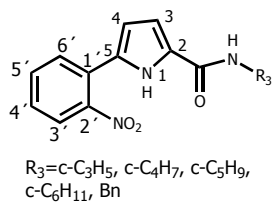
Tabla 4.6a. - Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **176 – 184, 187 y 189**.



	176***	177***	178	179*	187**	189
	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
-CONH-	160.72	160.01	160.79	160.55	169.51	164.13
C-2'	147.83	147.86	148.73	148.90	149.99	151.14
C-5'	132.29	133.31	132.34	132.18	133.05	134.25
C-6'	131.22	131.22	130.84	131.32	131.32	133.55
C-5	128.83	128.85	129.33	129.30	132.92	134.39
C-2	128.48	128.57	127.83	128.94	128.72	127.73
C-4'	128.15	128.17	128.41	128.34		130.80
C-1'	126.00	126.02	126.27	126.48	127.81	127.73
C-3'	123.84	123.85	124.34	123.89	124.99	124.84
C-4	110.66	110.77	111.14	110.18	114.23	113.37
C-3	109.15	109.13	109.59	109.88	110.74	108.99
-CH ₃	25.46	14.98	11.49	13.30	-	-
<u>CH</u> ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	38.66	-	-
CH ₂ <u>CH</u> ₂ CH ₃	-	-	41.27	31.89	-	-
-CH ₂ <u>CH</u> ₃	-	33.28	23.15	19.92	-	-
-NHCH ₃	-	-	-	-	-	34.06

El disolvente usado es acetona deuterada(), metanol (**) o dimetilsulfóxido (***).

Tabla 4.6b.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **180 – 184**.



	180* δ (ppm)	181 δ (ppm)	182 δ (ppm)	183 δ (ppm)	184** δ (ppm)
-CONH-	162.49	159.90	160.56	160.04	160.20
C-2'	149.65	148.73	148.73	148.70	147.86
C-5'	132.92	132.18	132.16	132.17	132.34
C-6'	132.03	131.08	131.08	131.01	131.26
C-5	130.16	129.73	129.56	129.53	129.20
C-2	129.49	127.64	127.94	128.03	128.16
C-4'	129.12	128.27	128.20	128.19	128.26
C-1'	127.17	126.44	126.42	126.46	125.96
C-3'	124.63	124.21	124.18	124.21	123.87
C-4	111.24	110.98	110.91	110.90	111.21
C-3	110.65	109.91	109.74	109.66	109.24
C-1 _{ciclo}	23.21	44.69	51.24	48.22	-
C-2, C-3 _{cicloprop.}	6.40	-	-	-	-
C-2 – C-4 _{ciclobut.}	-	31.45, 15.18	-	-	-
C-2 – C-5 _{ciclopent.}	-	-	23.80, 33.27	-	-
C-2, C-6 _{ciclohex.}	-	-	-	33.35	-
C-3, C-4, C-5 _{ciclohex}	-	-	-	25.57, 24.96	-
C-1 _{Bn.}	-	-	-	-	139.77
C-2, C-6 _{Bn.}	-	-	-	-	128.16
C-4 _{Bn.}	-	-	-	-	126.63
C-3, C-5 _{Bn.}	-	-	-	-	127.10
-CH ₂ -	-	-	-	-	41.84

*El disolvente usado es metanol (**).

Las señales del átomo de carbono C-4 y C-3 del pirrol resuenan entre δ 110 y 114 ppm y entre δ 108-110 ppm, respectivamente. Con respecto a los átomos de carbono C-2 y C-5 del anillo pirrólico resuenan de δ 127 a 134 ppm. La asignación de estos átomos de carbono se llevó a cabo mediante un estudio HMQC sobre el compuesto **181** y la extrapolación de los resultados obtenidos de los estudios NOE y HMBC realizados sobre el compuesto **175**. Los valores de los desplazamientos de los átomos de carbono correspondientes a los diferentes radicales R_3 resuenan a campo alto, excepto cuando el sustituyente R_3 es un grupo bencilo.

En el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ y $(M + H)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **176**: Calculado para $C_{12}H_{11}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 268.069811; encontrado 268.069974 (desviación -0.6 ppm).

Compuesto **177**: Calculado para $C_{13}H_{13}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 282.085461; encontrado 282.085546 (desviación -0.3 ppm).

Compuesto **178**: Calculado para $C_{14}H_{15}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 296.101111; encontrado 296.101329 (desviación -0.7 ppm).

Compuesto **179**: Calculado para $C_{15}H_{17}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 310.116761; encontrado 310.116787 (desviación -0.1 ppm).

Compuesto **180**: Calculado para $C_{14}H_{13}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 294.085461; encontrado 294.085538 (desviación -0.3 ppm).

Compuesto **181**: Calculado para $C_{15}H_{16}N_3O_3$ $(M + H)^+$ 286.119167; encontrado 286.119226 (desviación -0.2 ppm).

Compuesto **182**: Calculado para $C_{16}H_{17}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 322.116761; encontrado 322.116870 (desviación -0.3 ppm).

Compuesto **183**: Calculado para $C_{17}H_{19}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 336.344161; encontrado 336.343453 (desviación 0.5 ppm).

Compuesto **184**: Calculado para $C_{18}H_{15}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 344.101111; encontrado 344.102048 (desviación -2.7 ppm).

Compuesto **187**: Calculado para $C_{11}H_9N_3O_3Na$ ($M + Na$)⁺ 254.054161; encontrado 254.054626 (desviación -1.8 ppm).

Compuesto **189**: Calculado para $C_{12}H_{11}N_3O_3Na$ ($M + Na$)⁺ 268.069811; encontrado 268.070142 (desviación -1.2 ppm).

4.1.2.1.5.- Estudio espectroscópico del compuesto **163**.

Los datos espectroscópicos ¹H-RMN, tanto los desplazamientos químicos (δ , ppm) como las constantes de acoplamiento (J , Hz) del compuesto intermedio 5[2'-(5''-metoxi-2''-nitrofenil)vinil]1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo **163** se muestran resumidos en la **Tabla 4.7**.

El anillo bencénico tiene un patrón de resonancia análogo al descrito para los productos intermedios de la **serie a** descritos en el apartado 4.1.2.1.1.1.

El átomo de hidrógeno que aparece más desapantallado es el perteneciente al anillo pirrólico en posición 1, y aparece a 11 ppm. Las señales de los átomos de hidrógeno de pirrol de H-3 y H-4 aparecen como dobles dobles. El protón H-3 resuena a 6.85 ppm y tiene una constante de acoplamiento con H-4 en torno a 3.8 Hz y la constante con respecto a H-1 es de 1.8 Hz. El protón H-4 resuena a δ 6.52 ppm y posee una constante de acoplamiento con H-3 en torno a 3.9 Hz y de 1.7 Hz con H-1. Los protones H-1' y H-2' resuenan como dobles a 7.61 y 7.22 ppm y su constante de acoplamiento es 16.1 Hz. En cuanto a los protones pertenecientes al grupo carboxilato de etilo resuenan de manera similar a los del intermedio **167** (ver Parte Experimental).

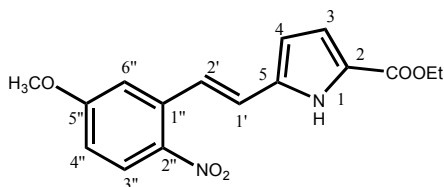
Los datos espectroscópicos de ¹³C-RMN del compuesto **163** están recogidos en la **Tabla 4.8**, donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono.

El valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 162 ppm) se corresponde con el carbonilo (C-5''). Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1''-C-6'') oscilan entre δ 162-111 ppm. Los carbonos cuaternarios resuena de manera similar

a los cuartetos de la **serie a** del apartado 4.1.2.1.1. Los carbonos del anillo pirrólico resuena también análogamente a los de la **serie a**, para su asignación se hizo un estudio bidimensional HMBC recogido en el Apéndice de la presente Memoria.

Tabla 4.7 y Tabla 4.8.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de **163**.

	H δ (ppm) J (Hz)
-CONH-	11.30 (sa)
H-3''	8.01 (d) $J_{3''-4''} = 9.1$
H-2'	7.61 (d) $J_{2'-1'} = 16.1$
H-6''	7.29 (d) $J_{6''-4''} = 2.8$
H-1'	7.22 (d) $J_{1'-2'} = 16.1$
H-4''	7.01 (dd) $J_{4''-3''} = 9.1$ $J_{4''-6''} = 2.8$
H-3	6.85 (dd) $J_{3-4} = 3.7$ $J_{3-1} = 1.8$
H-4	6.52 (dd) $J_{6-5} = 3.7$ $J_{6-1} = 1.7$
-CH ₂ CH ₃	4.25 (c) $J = 7.1$
-OCH ₃	3.97 (s)
-CH ₂ CH ₃	1.29 (t) $J = 7.1$



	C δ (ppm)
C-5''	162.53
-COO-	159.80
C-2''	140.56
C-1'', C-5	134.65 134.17
C-3'', C-2	126.56
C-1'	122.56
C-2'	121.98
C-4	115.30
C-4''	112.89
C-6''	111.04
C-3	110.18
-CH ₂ CH ₃	58.96
-OCH ₃	54.88
-CH ₂ CH ₃	13.10

Tabla 4.8

Tabla 4.7

En el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre el valor calculado para la fórmula empírica $(M + Na)^+$ del compuesto y el correspondiente valor encontrado:

Compuesto **163**: Calculado para $C_{16}H_{16}N_2O_5Na$ $(M + Na)^+$ 339.095692; encontrado 339.096004 (desviación -0.9 ppm).

4.1.2.2.- Compuestos finales de la familia pirrónica.

El análisis espectroscópico de los veintidós compuestos finales de esta familia se ha subdividido en cada una de las diferentes **series (a, b y c)** que se han descrito en las consideraciones generales (véase apart. 4.1.1).

4.1.2.2.1.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes a la serie a.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos finales **LC-1 – LC-6**, derivados de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida.

Los datos espectroscópicos de 1H -RMN, tanto los desplazamientos químicos (δ , ppm) como las constantes de acoplamiento (J , Hz), se muestran resumidos en la **Tabla 4.9**, donde se incluyen los compuestos **LC-1 – LC-6**. Todos estos espectros se han realizado utilizando como disolventes dimetilsulfóxido, metanol y cloroformo; y son concordantes con las estructuras propuestas. A título de ejemplo se comenta los compuestos realizados en cloroformo deuterado **LC-1 - LC-3 y LC-6**.

La ausencia del grupo nitro, que ha sido reducido hasta amino en los compuestos finales, conduce a la pérdida de su efecto desapantallante. Así, las señales de los átomos H-3' de los diferentes compuestos resuenan a δ entre 6.72 y 6.90 ppm y aparecen como multiplete, solapándose con las correspondientes señales pertenecientes al protón H-4'. Los compuestos **LC-4 y LC-5** están realizados en dimetilsulfóxido y metanol deuterados respectivamente, el cambio de disolvente se efectúa debido a que estos compuestos son parcialmente solubles en cloroformo deuterado y en consecuencia la

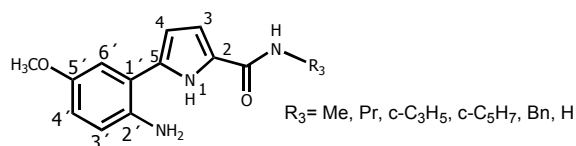
resolución del espectro no es la deseada de tal modo que, en disolventes más polares, donde los compuestos son más solubles se mejora la resolución del espectro y por tanto se facilita su interpretación. Este cambio de disolvente hace que la señal correspondiente a H-3' resuene como doblete, con una constante de acoplamiento con H-4' en torno a 8.6 Hz; del mismo modo, H-4' se observa como doblete (δ 6.62 y 6.71 ppm, dependiendo del disolvente) cuando no está solapado con H-3', debido al acoplamiento con H-6'. Los hidrógenos H-6' resuenan entre δ 6.86 y 6.70 ppm como doblete con una constante de acoplamiento que oscila entre 1.5 y 2.8 Hz. En el caso del compuesto **LC-5** la señal para los hidrógenos H-6' solapa con la del hidrógeno H-3, siendo imposible su asignación.

La señal de los hidrógenos de la amina aromática (-NH₂) no aparece en casi ninguno de los compuestos, esto se debe a que es demasiado ancha. En los compuestos **LC-3** y **LC-4** aparece a δ 3.75 y 4.56 ppm y se muestra como un singlete ancho.

Con respecto a los átomos de hidrógeno del grupo pirrólico cabe destacar que resuenan a similares desplazamientos químicos que sus precedentes, además se asignaron extrapolando los resultados obtenidos del estudio NOE realizado sobre el compuesto **LC-7** (Ver apartado 4.1.2.2.3). Las señales de estos protones son variables dependiendo del disolvente y del radical R₃ que posea, apareciendo como doblete si se acoplan entre sí y con el H-1 del anillo pirrólico, doblete si no se acoplan con este último protón, pseudotriplete si colapsan las señales del doblete en el centro y multiplete si colapsan las señales con las de H-6' por aparecer en el mismo desplazamiento, como sucede en el compuesto **LC-5**.

Las señales esperadas para los diferentes radicales R₃ resuenan a campo más alto (excepto R= Bn).

Tabla 4.9.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de $^1\text{H-RMN}$ de los compuestos finales **LC-1 – LC-6**.



El disolvente usado es acetona deuterada (), metanol (**) o dimetilsulfóxido (***)

	LC-1 δ (ppm) J (Hz)	LC-2 δ (ppm) J (Hz)	LC-3 δ (ppm) J (Hz)	LC-4*** δ (ppm) J (Hz)	LC-5** δ (ppm) J (Hz)	LC-6 δ (ppm) J (Hz)
H-1	10.05 (sa)	10.00 (sa)	10.04 (sa)	11.30 (sa)	-	10.21 (sa)
H-6'	6.87 (d) $J_{6'-4'} = 1.5$	6.87 (d) $J_{6'-4'} = 2.4$	6.86 (m)	6.89 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$	6.91 (m)	6.70 (ps)
H-3'	6.72 (m)	6.73 (m)	6.72 (m)	6.70 (d) $J_{3'-4'} = 8.6$	6.80 (d) $J_{3'-4'} = 8.7$	6.90 (m)
H-4'				6.62 (dd) $J_{4'-3'} = 8.6$ $J_{4'-6'} = 2.8$	6.71 (dd) $J_{4'-3'} = 8.7$ $J_{4'-6'} = 2.8$	
H-3	6.58 (dd) $J_{3-4} = 3.6$ $J_{3-1} = 2.4$	6.58 (pt) $J_{3-1} = 3.6$	6.56 (ps)	6.83 (d) $J_{3-4} = 3.6$	6.91 (m)	6.67 (pt) $J_{3-4} = 3.3$
H-4	6.42 (dd) $J_{4-3} = 3.6$ $J_{4-1} = 2.7$	6.43 (pt) $J_{4-3} = 3.6$	6.40 (pt) $J_{4-3} = 3.5$	6.36 (d) $J_{4-3} = 3.6$	6.43 (d) $J_{4-3} = 3.8$	6.44 (pt) $J_{4-3} = 3.3$
-CONH-	5.98 (ps)	5.93 (sa)	6.10 (sa)	7.77 (d) $J = 7.4$	7.96 (sa)	5.83 (sa)
-OCH ₃	3.75 (s)	3.73 (s)	3.75 (s)	3.67 (s)	3.74 (s)	3.73
-NH ₂	-	-	3.75 (sa)	4.56 (sa)	-	-
-CH ₃	2.95 (d) $J = 5.3$	0.96 (t) $J = 7.3$	-	-	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	3.56 (m)	-	-	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	1.60 (m)	-	-	-	-
H-1 _{ciclo}	-	-	2.81 (m)	4.17 (m)	-	-
H-2 – H-3 _{cicloprop.}	-	-	0.82(m), 0.60 (m)	-	-	-
H-2 – H-5 _{ciclopent.}	-	-	-	1.93 - 1.38 (m)	-	-
-CH ₂ -	-	-	-	-	4.53 (s)	-
H-2 - H-6 _{Bn}	-	-	-	-	7.28 (m)	-

Por último cabe destacar las señales de H-3 y H-4 del compuesto **LC-3** cuyo radical R₃ es ciclopropilo. En este compuesto las señales aparecen como pseudosinglete y pseudotriplete debido probablemente a que el tiempo de relajación de los protones es distinto al del resto de los hidrógenos en este compuesto con respecto a los otros derivados. Esto se comprueba porque al calentar, en el espectro se desdoblán las señales, apareciendo los esperados dobles dobletes de los protones H-3 y H-4.

Los datos espectroscópicos de ¹³C-RMN de los derivados **LC-1** a **LC-6** están recogidos en la **Tabla 4.10** donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se llevaron a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMQC (¹H/¹³C-RMN) sobre el compuesto **LC-2** (**Figura 4.8** o Ver Apéndice). Para el resto de los compuestos de la **serie a**, las señales se establecieron extrapolando los datos obtenidos en este compuesto.

En todos los espectros de ¹³C-RMN, al igual que en sus intermedios precedentes, la señal que aparece a campo más bajo (δ 158 a 163 ppm) se corresponde con el carbonilo (-CONH-).

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' - C-6') oscilan entre δ 113 y 154 ppm, entre ellos los carbonos terciarios (C-3', C-4' y C-6') se asignaron gracias a los estudios bidimensionales y el resto (C-1', C-2' y C-5') por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³, y además por extensión de los resultados obtenidos mediante resonancia bidimensional de tipo HMQC (¹H/¹³C-RMN) sobre el compuesto **LC-2**, tal y como muestra en la **Figura 4.8** y en el Apéndice.

Las señales de los átomos de carbono del anillo pirrólico sí sufren variaciones de importancia, pues el carbono C-4 aparece a campo más alto debido a que, al reducir el grupo nitro hasta amino, desaparece el efecto desapantallante. En cambio, las señales del carbono C-3 aparecen con desplazamientos similares a sus predecesores. Los otros carbonos de la molécula (grupo metoxilo y los diferentes radicales R₃) tampoco sufren variación con respecto a sus intermedios precedentes.

Las pequeñas diferencias de desplazamiento observadas en la **Tabla 4.10** se deben a los distintos disolventes empleados para **LC-4** y **LC-5**.

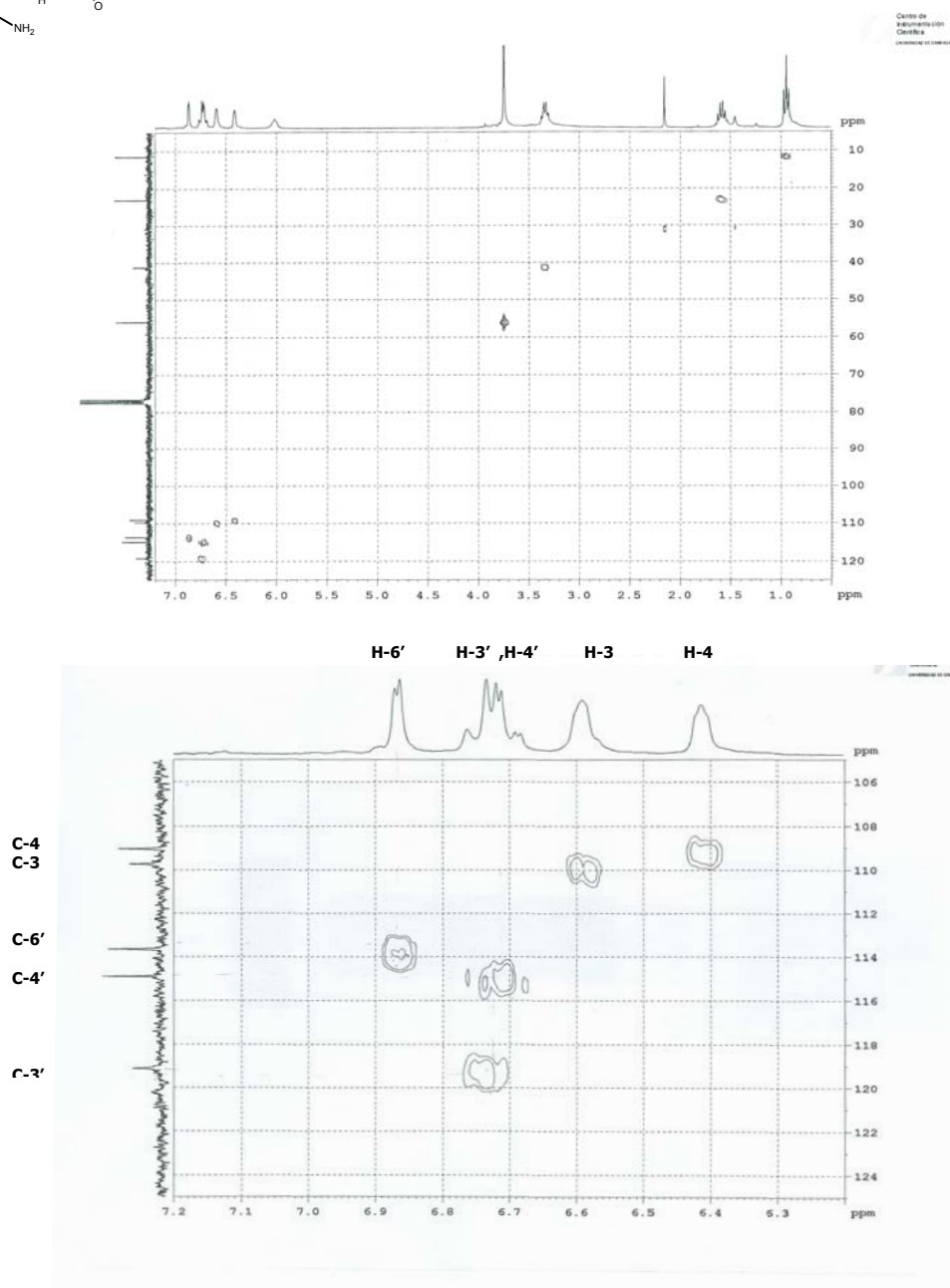
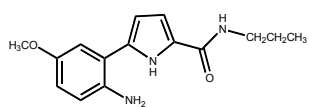
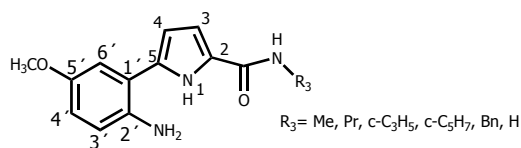


Figura 4.8.- Estudio de $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMQC del compuesto LC-2

Tabla 4.10.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos **LC-1** – **LC-6**.



	LC-1 δ (ppm)	LC-2 δ (ppm)	LC-3 δ (ppm)	LC-4*** δ (ppm)	LC-5 ** δ (ppm)	LC-6 δ (ppm)
-CONH-	161.79	161.13	158.85	160.47	163.58	162.83
C-5'	153.51	153.64	153.50	151.75	154.46	153.36
C-2'	136.77	136.00	136.85	139.23	140.50 ó 139.05	136.99
C-5	133.28	133.19	133.50	132.99	135.03	134.33
C-2	126.07	126.24	125.87	127.26	127.09	124.98
C-1'	119.98	119.13	119.90	118.73	121.14	119.68
C-3'	118.96		118.99	117.96	119.60	118.94
C-4'	114.94	114.91	114.96	114.88	115.89	115.05
C-6'	113.64	113.66	113.69	113.84	114.70	113.72
C-3	109.97	109.73	110.41	112.18	113.33	111.86
C-4	109.03	109.04	109.49	108.56	109.92	109.27
-OCH ₃	55.90	55.87	55.89	55.92	56.21	55.87
-CH ₃	26.27	11.45	-	-	-	-
<u>CH</u> ₂ CH ₂ CH ₃	-	41.26	-	-	-	-
CH ₂ <u>CH</u> ₂ CH ₃	-	23.17	-	-	-	-
C-1 _{ciclo}	-	-	22.71	50.89	-	-
C-2 y C-3 _{cicloprop.}	-	-	7.01	-	-	-
C-3 y C-4 _{ciclopen.}	-	-	-	24.11	-	-
C-2 y C-5 _{ciclopen.}	-	-	-	32.84	-	-
C-1 _{Bn}	-	-	-	-	140.50 ó 139.05	-
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	-	-	129.50	-
C-4 _{Bn}	-	-	-	-	128.10	-
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	-	-	128.47	-
-CH ₂ -	-	-	-	-	43.93	-

En el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **LC-1**: Calculado para $C_{13}H_{15}N_3O_4Na$ $(M + Na)^+$ 268.106197; encontrado 268.106589 (desviación -1.5 ppm).

Compuesto **LC-2**: Calculado para $C_{15}H_{19}N_3O_2Na$ $(M + Na)^+$ 296.137497; encontrado 296.137709 (desviación -0.7 ppm).

Compuesto **LC-3**: Calculado para $C_{15}H_{17}N_3O_2Na$ $(M + Na)^+$ 294.121847; encontrado 294.121920 (desviación -0.3 ppm).

Compuesto **LC-4**: Calculado para $C_{17}H_{21}N_3O_2Na$ $(M + Na)^+$ 322.153147; encontrado 322.153228 (desviación -0.3 ppm).

Compuesto **LC-5**: Calculado para $C_{19}H_{19}N_3O_2Na$ $(M + Na)^+$ 344.137497; encontrado 344.138078 (desviación -1.7 ppm).

Compuesto **LC-6**: Calculado para $C_{12}H_{13}N_3O_2Na$ $(M + Na)^+$ 254.090547; encontrado 254.090215 (desviación 1.3 ppm).

4.1.2.2.2.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes a la serie b.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos finales **LC-7 – LC-11**, derivados de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida.

Los datos espectroscópicos de 1H -RMN, tanto los desplazamientos químicos (δ , ppm) como las constantes de acoplamiento (J , Hz), se muestran resumidos en la **Tabla 4.11**. Todos los espectros se han realizado utilizando acetona y cloroformo deuterado y son concordantes con las estructuras propuestas.

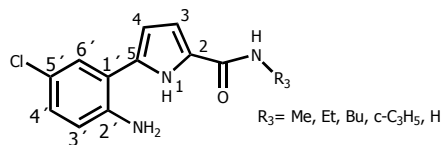
Los átomos de hidrógeno aromáticos (H-3', H-4' y H-6') ya no se ven afectados por el efecto desapantallante del grupo nitro y por tanto aparecen, al igual que en la **serie a**, a campo más alto; los átomos H-3' de los diferentes compuestos aparecen a δ entre 6.66 y 6.70 ppm como doblete, con una constante de acoplamiento con H-4' en

torno a 8.5 Hz. Los compuestos realizados en acetona (**LC-8** y **LC-10**), en los que aparecen las señales de H-3' colapsadas con H-3, se observa un multiplete. Los átomos H-6' resuenan a δ entre 7.22 y 7.32 ppm como doblete, con una constante de acoplamiento $J_{6'-4'} = 2.4$ Hz. En el caso de H-4' aparece un doblete (entre 7.00 y 7.08 ppm) debido al acoplamiento con los hidrógenos H-3' y H-6'.

La señal de los hidrógenos de la amina aromática (-NH₂) aparece en todos los compuestos resonando a δ entre 3.98 y 4.85 ppm y se muestra como un singlete ancho.

Con respecto a los átomos de hidrógeno del anillo pirrólico no sufren apenas variaciones con respecto a sus intermedios precedentes. Los desplazamientos variarán en los casos de los compuestos cuyo disolvente es acetona, apareciendo H-3 colapsado con H-3' y la señal de H-4 a campo más bajo. La forma de las señales es diferente dependiendo del radical R₃, apareciendo como doblete si se acoplan entre sí y con el H-1 del anillo pirrólico, pseudotriplete si colapsan las señales y como multiplete si las señales aparecen al mismo desplazamiento que H-3', como sucede en los compuestos **LC-8** y **LC-10**. La asignación inequívoca de los protones H-3 y H-4 se ha determinado por estudios de resonancia bidimensional de tipo HMBC (¹H/¹³C-RMN) y NOE realizados sobre el compuesto **LC-7**. Las señales de los diferentes radicales R₃ resuenan a campo más alto y apenas sufren variación significativa con respecto a sus intermedios precedentes.

Tabla 4.11.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos finales **LC-7 – LC-11**.

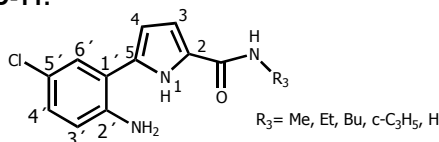


	LC-7 δ (ppm) J (Hz)	LC-8* δ (ppm) J (Hz)	LC-9 δ (ppm) J (Hz)	LC-10* δ (ppm) J (Hz)	LC-11 δ (ppm) J (Hz)
H-1	10.05 (sa)	10.80 (sa)	10.09 (sa)	11.95 (sa)	9.95 (sa)
H-6'	7.24 (d) $J_{6'-4'} = 2.4$	7.32 (d) $J_{6'-4'} = 2.4$	7.22 (d) $J_{6'-4'} = 2.3$	7.30 (d) $J_{6'-4'} = 2.5$	7.31 (d) $J_{6'-4'} = 2.4$
H-4'	7.05 (dd) $J_{4'-3'} = 8.6$ $J_{4'-6'} = 2.4$	7.02 (dd) $J_{4'-3'} = 8.6$ $J_{4'-6'} = 2.4$	7.03 (dd) $J_{4'-3'} = 8.5$ $J_{4'-6'} = 2.3$	7.00 (dd) $J_{4'-3'} = 8.5$ $J_{4'-6'} = 2.5$	7.08 (dd) $J_{4'-3'} = 8.5$ $J_{4'-6'} = 2.4$
H-3'	6.68 (d) $J_{3'-4'} = 8.6$	6.82 (m)	6.66 (d) $J_{3'-4'} = 8.5$	6.82 (m)	6.70 (d) $J_{3'-4'} = 8.5$
H-3	6.58 (dd) $J_{3-4} = 3.7$ $J_{3-1} = 2.6$		6.58 (pt) $J_{3-4} = 3.4$		6.69 (pt) $J_{3-4} = 3.4$
H-4	6.40 (dd) $J_{4-3} = 3.7$ $J_{4-1} = 2.9$	6.43 (pt) $J_{4-3} = 3.8$	6.40 (pt) $J_{4-3} = 3.4$	6.41 (dd) $J_{4-3} = 3.6$ $J_{4-1} = 2.8$	6.46 (pt) $J_{4-3} = 3.4$
-CONH-	5.94 (sa)	7.42 (sa)	5.92 (sa)	7.47 (sa)	5.70 (sa)
-NH ₂	4.00 (sa)	4.85 (sa)	4.00 (sa)	4.81 (sa)	3.98 (sa)
-CH ₃	2.95 (d) $J = 4.9$	1.12 (t) $J = 7.2$	0.93 (t) $J = 7.2$	-	-
CH ₂ CH ₃	-	3.34 (m)	1.37 (m)	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	1.55 (m)	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	3.38 (m)	-	-
H-1 _{ciclo}	-	-	-	2.82 (m)	-
H-2 – H-3 _{cicloprop.}	-	-	-	0.68 – 0.49(m)	-

El disolvente usado es acetona deuterada().

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los derivados **LC-7** a **LC-11** están recogidos en la **Tabla 4.12**. Para su asignación se llevaron a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) sobre el compuesto **LC-7**, extrapolando los datos obtenidos en este compuesto para el resto de los compuestos de la **serie b**.

Tabla 4.12.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos finales **LC-7 – LC-11**.



	LC-7* δ (ppm)	LC-8* δ (ppm)	LC-9 δ (ppm)	LC-10* δ (ppm)	LC-11* δ (ppm)
-CONH-	161.29	160.60	160.98	161.91	162.29
C-2'	144.20	144.13	141.95	144.18	144.19
C-5	131.48	131.47	131.80	131.68	131.97
C-6'	128.28	128.19	128.46	128.28	128.24
C-4'	127.67	127.60		127.70	127.76
C-2	127.51	127.46	126.63	127.37	127.07
C-5'	121.37	121.28	124.02	121.47	121.94
C-1'	119.37	119.30	119.93	119.42	119.29
C-3'	117.29	117.20	118.02	117.32	117.40
C-3	110.15	110.23	109.66	110.64	111.56
C-4	108.75	108.66	109.40	108.75	108.86
-CH ₃	25.21	15.53	13.87	-	-
<u>C</u> H ₂ CH ₃	-	33.70	20.19	-	-
CH ₂ <u>C</u> H ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	31.99	-	-
<u>C</u> H ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃ -	-	-	39.32		-
C-1 _{ciclo}	-	-	-	22.46	-
C-2 y C-3 _{cicloprop.}	-	-	-	5.59	-

El disolvente usado es acetona deuterada(*)

En todos los espectros de ^{13}C -RMN, la señal que aparece a campo más bajo (δ 160 a 162 ppm) se corresponde con el carbonilo (-CONH-). Los desplazamientos químicos

de los carbonos aromáticos (C-1' - C-6') oscilan entre δ 117 y 144 ppm, de ellos los carbonos terciarios (C-3', C-4' y C-6') se asignaron gracias a los estudios bidimensionales y el resto (C-1', C-2' y C-5') por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³, ayudándonos de los resultados del estudio de resonancia bidimensional HMBC (¹H/¹³C-RMN) sobre el compuesto **LC-7**.

Las señales de los átomos de carbono del anillo pirrólico sufren las mismas variaciones de desplazamiento que en los compuestos finales de la **serie a**. Los demás carbonos de la molécula (los diferentes radicales R₃) tampoco sufren variación con respecto a sus intermedios precedentes.

En el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas (M + Na)⁺ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **LC-7**: Calculado para C₁₂H₁₂N₃OCINa (M + Na)⁺ 272.056660, encontrado 272.056584 (desviación 0.3 ppm).

Compuesto **LC-8**: Calculado para C₁₃H₁₄N₃OCl (M + Na)⁺ 286.072310; encontrado 286.072185 (desviación 0.4 ppm).

Compuesto **LC-9**: Calculado para C₁₅H₁₈N₃OCINa (M + Na)⁺ 314.103610, encontrado 314.103681 (desviación -0.2 ppm).

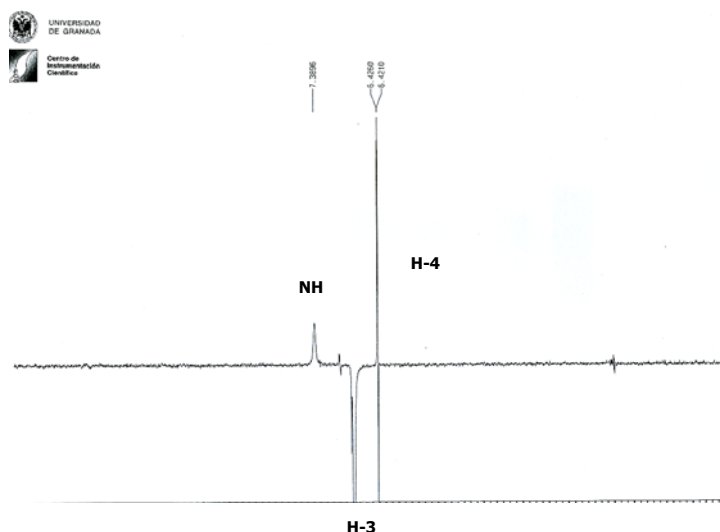
Compuesto **LC-10**: Calculado para C₁₄H₁₄N₃OCINa (M + Na)⁺ 298.072310, encontrado 298.072359 (desviación -0.2 ppm).

Compuesto **LC-11**: Calculado para C₁₁H₁₀N₃OCINa (M + Na)⁺ 268.999204; encontrado 268.998686 (desviación 1.8 ppm).

4.1.2.2.3.- Estudio espectroscópico sobre el compuesto LC-7.

El compuesto **LC-7** se ha utilizado como modelo dentro de la familia pirrólica para la realización de diversos experimentos:

A) El experimento NOE se hizo con objeto de intentar representar la disposición global de la molécula. De todas estas experiencia cabe destacar que cuando se irradia el protón pirrólico más apantallado, aparece el efecto NOE positivo H-6', una estructura del tipo de la representada en la **Figura 4.10**, donde el protón H-4 del anillo pirrólico se encuentra a menor distancia del protón H-6' que el protón H-3. También se observa un efecto NOE positivo con el hidrógeno de la amida cuando se irradia el protón pirrólico más desapantallado, confirmándose así que el protón que aparece a campo más bajo corresponde al de la posición 3 del pirrol.



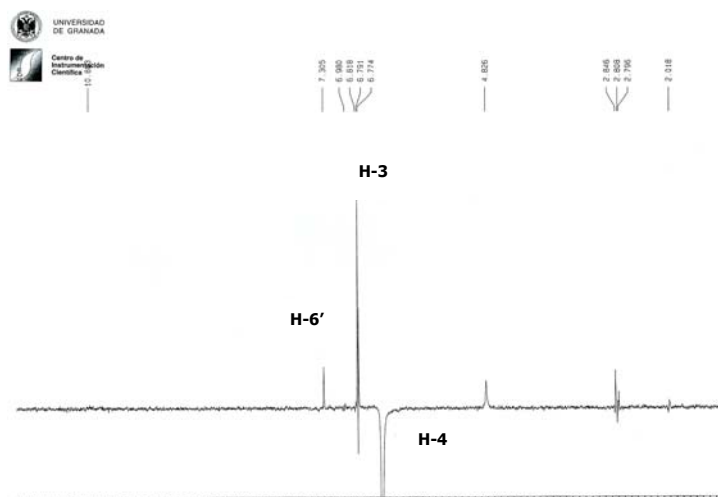


Figura 4.9.- Estudio de NOE del compuesto LC-7(cont).

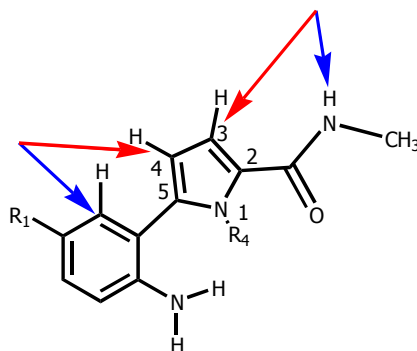


Figura 4.10.- Se han marcado con una flecha de color rojo los átomos irradiados y con una flecha de color azul los átomos con los que el efecto NOE es positivo.

Los restantes experimentos NOE llevados a cabo sobre este compuesto no se incluyen ya que no son significativos para determinar la asignación estructural de la molécula.

B) El estudio de RMN basado en una correlación $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMQC (**Figura 4.11**) se hizo para identificar inequívocamente los desplazamientos de los carbonos C-3', C-4', C-6', así como también las diferentes señales de los carbonos del anillo pirrólico.

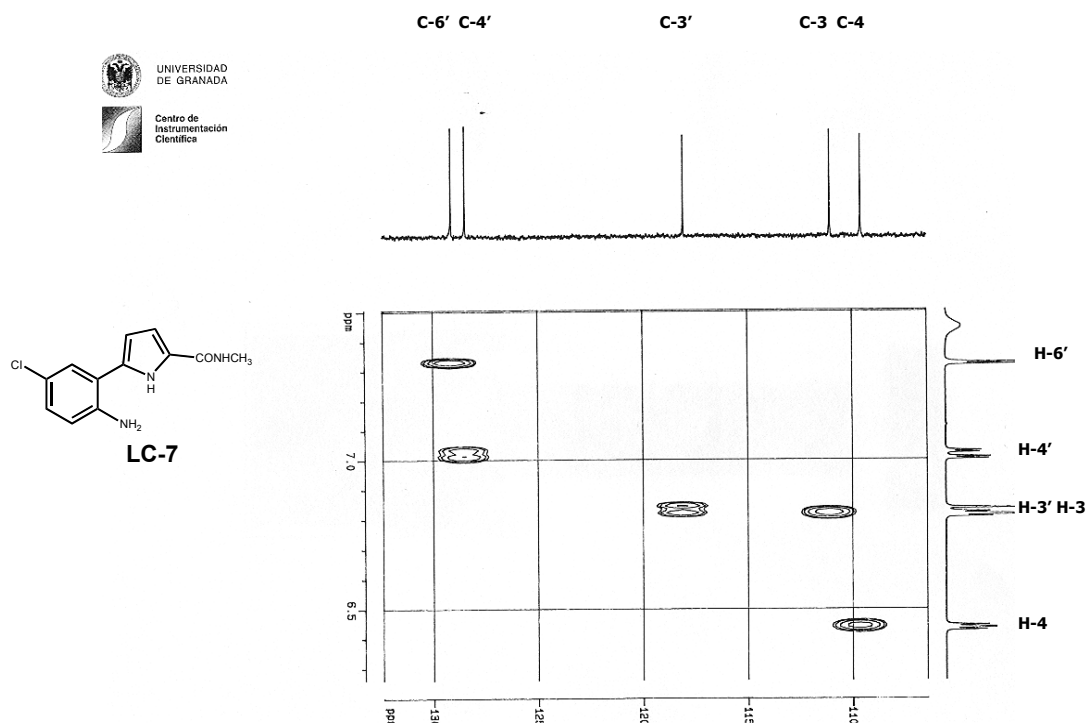


Figura 4.11.- Estudio de HMQC en el compuesto **LC-7** (Ampliación del estudio HMQC).

C) En el compuesto **LC-7**, por último, se ha llevado a cabo un estudio de RMN basado en una correlación a larga distancia $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMBC (**Figura 4.12**) para identificar inequívocamente los desplazamientos de los carbonos C-2, C-5 Y C-1'.

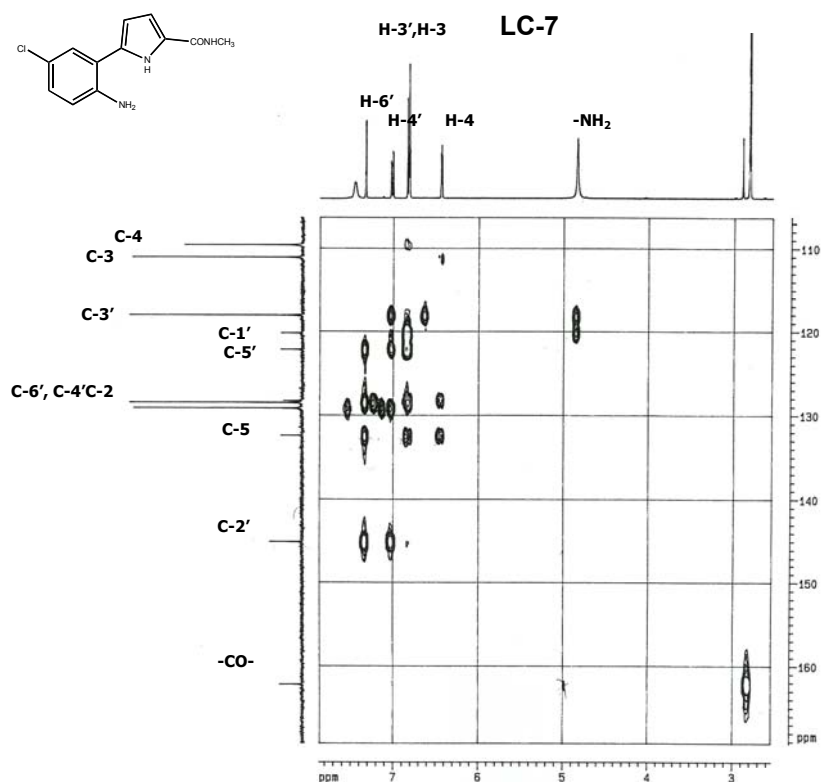


Figura 4.12.- Estudio de HMBC enfocado a una $J = 5.5$ Hz, en el compuesto LC-7.

El experimento de RMN sirve para situar los carbonos cuaternarios del pirrol y observar qué protones del anillo benzénico se correlacionan con él. Como se puede ver en la **Figura 4.12**, el protón H-6' se correlaciona con el carbono cuaternario que aparece más desapantallado después de -CO- y C-2', lo cual indica que se trata del carbono C-5, pues es el que se encuentra más próximo en el espacio. Los protones del grupo amino se correlacionan a larga distancia con el carbono cuaternario que resuena a campo más alto, esto indica que se trata de C-1', pues es el que se encuentra a menor distancia. Por último se observa que H-3' se correlaciona con dos núcleos uno corresponde a C-1', anteriormente asignado, y el otro se deduce que es C-5' puesto también se correlaciona con el H-4'. Así, pues, el único carbono cuaternario que queda sin identificar corresponde por eliminación con C-2 del sistema heterocíclico.

4.1.2.2.4.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes a la serie c.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos finales **LC-12 – LC-22**, derivados de 5-(2'-aminofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida. Los datos espectroscópicos de $^1\text{H-RMN}$, se muestran resumidos en las **Tablas 4.13a y 4.13b**. En la primera tabla se incluyen los compuestos **LC-12 - LC-15** que se caracterizan porque los sustituyentes R_3 de la amida son de naturaleza n-alquílica; también se incluye el compuesto con la amida sin sustituir (**LC-21**) y el compuesto con el hidrógeno del pirrol metilado (**LC-22**). En cambio la segunda tabla contiene los derivados **LC-16 – LC-20** que están provistos de sustituyentes R_3 cicloalquílicos y bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo o metanol deuterado y son concordantes con las estructuras propuestas.

Al igual que en sus intermedios precedentes, la **serie c** constituye un sistema de acoplamiento ABCD en sus protones fenílicos. La asignación de los átomos de hidrógeno aromáticos (H-3', H-4', H-5' y H-6') es la siguiente: los átomos H-6' de los diferentes compuestos aparecen a δ entre 7.28 y 7.26 ppm,; estas señales aparecen como dobles dobletes en los derivados **LC-14, LC-15, LC-16, LC-17 y LC-21**, con constantes de acoplamiento $J_{6'-5'}$ entre a 7.1 y 7.8 Hz y $J_{6'-4'}$ entre 1.2 y 1.5 Hz, en cambio en los derivados **LC-12, LC-13, LC-18, LC-19 y LC-22** la constante de acoplamiento en meta es cero y aparecen, por tanto, como dobletes. El hidrógeno aromático H-4', debe salir como un ddd, sin embargo aparece como pdt debido a que el valor de $J_{4'-5'}$ es muy similar a $J_{4'-3'}$ y está comprendido entre 8.3 y 7.5 Hz, esto ocurre en todos los compuestos excepto en **LC-13 y LC-22** donde no se acopla el H-4' a larga distancia con H-6' y las señales aparecen como un triplete. A H-5' le ocurre igual que a H-4', apareciendo como pseudodoble triplete en los compuestos **LC-14, LC-16 - LC-19**, y como triplete en el resto. Las señales aparecen entre 6.68 y 6.85 ppm.

A continuación se hace una representación de este pdt. En ella se puede observar cómo cuando las constantes de acoplamiento son muy parecidas aparece un

pseudodoble triplete, pues de las 8 señales del doble doble doblete dos de ellas se pierden en el ancho de pico donde colapsan.

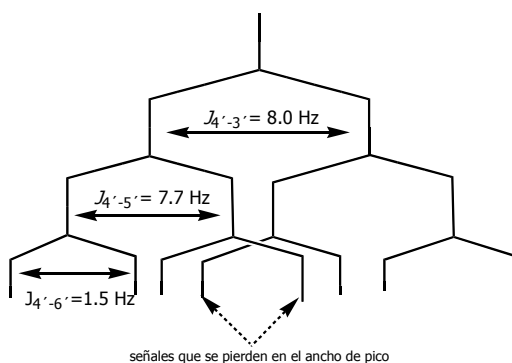
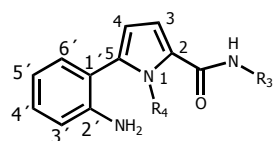


Figura 4.13.- Representación del pdt en los derivados de la **serie c**.

La ausencia del grupo nitro en estos derivados conduce a la pérdida del efecto desapantallante y la señal de los átomos H-3' aparece entre 6.73 y 7.00 ppm y no a campo tan bajo como en sus intermedios. Esta señal aparece con diferente forma en los distintos compuestos (dd, d). La señal de los hidrógenos de la amina aromática (-NH₂) aparece entre δ 3.85 y 4.10 ppm. En los compuestos **LC-20** y **LC-22** estos desplazamientos varían por estar realizados en metanol deuterado como disolvente; así, H-6' aparece como multiplete pues se colapsan las señales con las del protón pirrólico H-3, apareciendo a 5.75 ppm la señal de la amina, en **LC-20** y en **LC-22** no se aprecia por ser demasiado ancha.

La señales correspondientes a los protones pirrólicos H-3 y H-4 apenas sufren variación con respecto a los compuestos intermedios y también son asignados inequívocamente mediante la extrapolación de los resultados obtenidos en los estudios de resonancia bidimensional de tipo HMBC (¹H/¹³C-RMN) y NOE realizados sobre el compuesto **LC-7** y un estudio HMQC sobre **LC-19** que aparecen en la **Figura 4.14** y el Apéndice de esta Memoria.

Tabla 4.13a.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de $^1\text{H-RMN}$ de los compuestos intermedios **LC-12 - LC-15**, **LC-21**, **LC-22**.

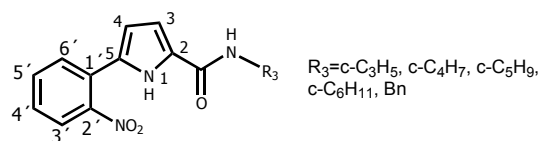


$R_3 = \text{Me, Et, Pr, Bu, H}$
 $R_4 = \text{H, Me}$

	LC-12 δ (ppm) J (Hz)	LC-13 δ (ppm) J (Hz)	LC-14 δ (ppm) J (Hz)	LC-15 δ (ppm) J (Hz)	LC-21 δ (ppm) J (Hz)	LC-22** δ (ppm) J (Hz)
H-1	9.83 (sa)	10.85 (sa)	10.00 (sa)	9.79 (sa)	9.75 (sa)	-
H-6'	7.28 (d) $J_{6'-5'} = 7.7$	7.27 (d) $J_{6'-5'} = 7.7$	7.26 (dd) $J_{6'-5'} = 7.8$ $J_{6'-4'} = 1.5$	7.27 (dd) $J_{6'-5'} = 7.8$ $J_{6'-4'} = 1.4$	7.27 (dd) $J_{6'-5'} = 7.6$ $J_{6'-4'} = 1.2$	7.10 (d) $J_{6'-5'} = 7.1$
H-4'	7.12 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.5$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.0$	7.11 (t) $J_{4'-5'} = 7.5$ $J_{4'-3'} = 8.0$	7.09 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.5$	7.11 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.4$	7.11 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.5$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.3$	7.22 (t) $J_{4'-5'} = 7.5$ $J_{4'-3'} = 8.0$
H-5'	6.82 (t) $J_{5'-6'} = 7.7$ $J_{4'-5'} = 7.5$	6.80 (t) $J_{5'-4'} = 7.5$ $J_{5'-6'} = 7.7$	6.78 (pdt) $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-6'} = 7.8$ $J_{5'-3'} = 1.0$	6.80 (t) $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-6'} = 7.8$	6.80 (t) $J_{5'-4'} = 7.5$ $J_{5'-6'} = 7.6$	6.85 (t) $J_{5'-4'} = 7.5$ $J_{5'-6'} = 7.1$
H-3'	6.76 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	6.75 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	6.73 (dd) $J_{3'-4'} = 8.0$ $J_{3'-5'} = 1.0$	6.75 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	6.74 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	7.00 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$
H-3	6.61 (pt) $J_{3-4} = 3.1$	6.61 (pt) $J_{3-4} = 3.1$	6.62 (dd) $J_{3-4} = 3.6$ $J_{3-1} = 2.7$	6.59 (pt) $J_{3-4} = 3.5$	6.69 (pt) $J_{3-4} = 3.5$	6.92 (d) $J_{3-4} = 3.9$
H-4	6.42 (pt) $J_{4-3} = 3.1$	6.41 (pt) $J_{4-3} = 3.1$	6.40 (dd) $J_{4-3} = 3.6$ $J_{4-1} = 2.9$	6.41 (pt) $J_{4-3} = 3.5$	6.43 (pt) $J_{4-3} = 3.5$	6.12 (d) $J_{4-3} = 3.9$
-CONH-	5.97 (sa)	5.95 (sa)	6.03 (ps)	5.90 (ps)	5.80 (sa)	-
-NH ₂	4.00 (sa)	-	3.98 (sa)	4.10 (sa)	4.00 (sa)	-
-CH ₃	2.97 (d) $J = 4.9$	1.22 (d) $J = 7.2$	0.94 (t) $J = 7.4$	0.95 (t) $J = 7.3$	-	-
CH ₂ CH ₃	-	3.44 (m)	1.58 (m)	1.39 (m)	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	3.83 (m)	1.56 (m)	-	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	3.40 (m)	-	-
-NCH ₃	-	-	-	-	-	3.61 (s)

El disolvente usado es metanol deuterado (**).

Tabla 4.13b. - Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **LC-16** – **LC-20**.



	LC-16	LC-17	LC-18	LC-19	LC-20*
	δ (ppm) J (Hz)	δ (ppm) J (Hz)	δ (ppm) J (Hz)	δ (ppm) J (Hz)	δ (ppm) J (Hz)
H-1	9.90 (sa)	9.85 (sa)	9.85 (sa)	9.98 (sa)	11.40 (sa)
H-6'	7.27 (dd) $J_{6'-5'} = 7.7$ $J_{6'-4'} = 1.5$	7.26 (dd) $J_{6'-5'} = 7.6$ $J_{6'-4'} = 1.5$	7.27 (d) $J_{6'-5'} = 7.6$	7.26 (d) $J_{6'-5'} = 7.6$	7.26 (m)
H-4'	7.09 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.6$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.5$	7.11 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.5$	7.11 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.5$	7.10 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.5$ $J_{4'-3'} = 8.3$ $J_{4'-6'} = 1.5$	7.27 (pdt) $J_{4'-5'} = 7.5$ $J_{4'-3'} = 8.0$ $J_{4'-6'} = 1.4$
H-5'	6.78 (pdt) $J_{5'-4'} = 7.6$ $J_{5'-6'} = 7.7$ $J_{5'-3'} = 1.1$	6.80 (pdt) $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-6'} = 7.6$ $J_{5'-3'} = 0.9$	6.80 (pdt) $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-6'} = 7.6$ $J_{5'-3'} = 1.0$	6.78 (pdt) $J_{5'-4'} = 7.5$ $J_{5'-6'} = 7.6$ $J_{5'-3'} = 1.0$	6.68 (t) $J_{5'-4'} = 7.5$ $J_{5'-6'} = 7.7$
H-3'	6.73 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	6.75 (d) $J_{3'-4'} = 8.0$	6.75 (dd) $J_{3'-4'} = 8.0$ $J_{3'-5'} = 1.0$	6.76 (dd) $J_{3'-4'} = 8.3$ $J_{3'-5'} = 1.0$	6.82 (d) $J_{3'-4'} = 8.2$
H-3	6.60 (sa)	6.61 (dd) $J_{3-4} = 3.6$ $J_{3-1} = 2.7$	6.58 (dd) $J_{3-4} = 3.6$ $J_{3-1} = 2.6$	6.60 (dd) $J_{3-4} = 3.7$ $J_{3-1} = 2.5$	6.89 (d) $J_{3-4} = 3.5$
H-4	6.38 (pt) $J_{4-3} = 3.5$	6.40 (pt) $J_{4-3} = 3.6$	6.40 (pt) $J_{4-3} = 3.6$	6.40 (dd) $J_{4-3} = 3.6$ $J_{4-1} = 2.7$	6.35 (d) $J_{4-3} = 3.5$
-CONH-	6.22 (sa)	6.05 (d) $J=7.7$	5.83 (d) $J=7.6$	5.83 (d) $J=8.1$	8.55 (d) $J=5.9$
-NH ₂	4.00 (sa)	3.93 (sa)	4.00 (sa)	3.85 (sa)	5.75 (sa)
H-1 _{ciclo.}	2.81 (m)	4.52 (m)	4.33 (m)	3.88 (m)	-
H-2, H-3 _{cicloprop.}	0.81, 0.59 (2m)	-	-	-	-
H-4 _{ciclobut.}	-	2.37 (m)	-	-	-
H-2, H-3 _{ciclobut.}	-	1.92, 1.73 (2m)	-	-	-
H-2-H-5 _{ciclopent.}	-	-	2.04, 1.66, 1.45 (3m)	-	-
H-2-H-6 _{ciclohex.}	-	-	-	1.99 – 1.14 (m)	-
H-2-H-6 _{Bn}	-	-	-	-	7.26 (m)
-CH ₂ -	-	-	-	-	4.38 (d) $J=6.0$

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los derivados **LC-12** a **LC-22** están recogidos en las **Tablas 4.14a** y **4.14b** donde se muestran los desplazamientos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se llevaron a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) sobre el compuesto **LC-19** (**Figura 4.14**). Para el resto de los derivados de la **serie c**, las señales se establecieron extrapolando los datos obtenidos en este compuesto y los resultados del estudio espectroscópico sobre el compuesto **LC-7** recogido en el apartado 4.1.2.2.3.

En todos los espectros de ^{13}C -RMN, al igual que en sus intermedios precedentes, la señal que aparece a campo más bajo (δ 161 ppm aproximadamente) se corresponde con $-\text{CONH}-$. Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' – C-6') oscilan entre δ 111 y 145 ppm, entre ellos los carbonos terciarios (C-3', C-4', C-5' y C-6') se asignaron gracias a los estudios bidimensionales y el resto de ellos (C-1', C-2') por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituados¹³.

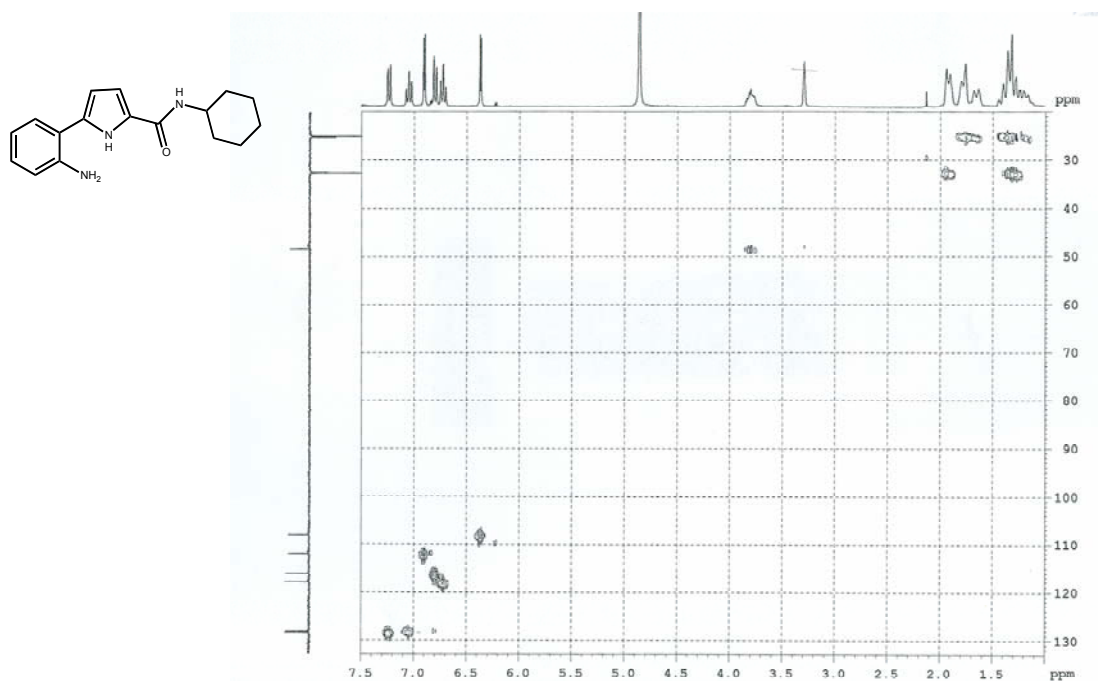


Figura 4.14.- Estudio de HMQC del compuesto **LC-19**.

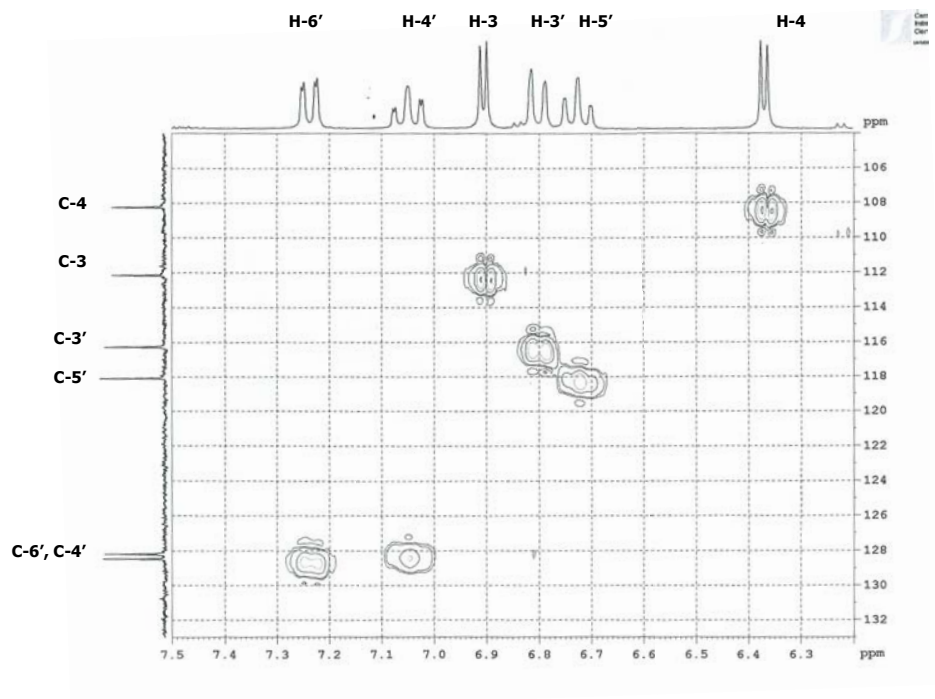
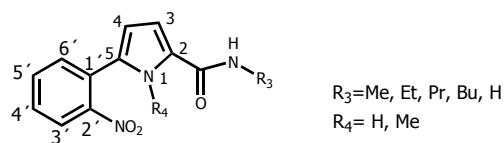


Figura 4.14.- Estudio de HMQC del compuesto **LC-19** (cont).

En esta serie las señales del anillo pirrólico sufre las misma variaciones como consecuencia de la pérdida del efecto desapantallante del grupo nitro. Para la asignación de las señales se llevaron a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) sobre el compuesto **LC-19**. Por otro lado, el carbono cuaternario C-5 se observa a campo más bajo (133 ppm), lo que puede ser debido al cambio conformacional que la molécula ha sufrido; esta señal se ha asignado extrapolando los resultados obtenidos del estudio HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) realizados sobre el compuesto **LC-7**. Por último, el resto de la molécula apenas sufre variaciones de desplazamiento con respecto a sus predecesores.

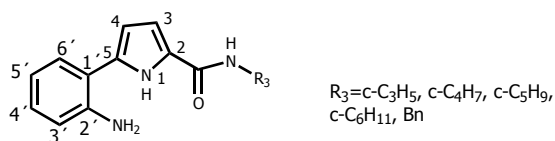
Tabla 4.14a.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **LC-12** - **LC-15**, **LC-21**, **LC-22**.



	LC-12 δ (ppm)	LC-13 δ (ppm)	LC-14 δ (ppm)	LC-15 δ (ppm)	LC-21 δ (ppm)	LC-22** δ (ppm)
-CONH-	161.76	161.03	161.12	161.09	157.35	163.84
C-2'	143.67	143.70	143.73	143.78	138.35	145.56
C-5	133.16	133.19	133.19	133.20	128.79	135.40
C-6'	128.86	128.87	128.82	128.89	123.65	132.07
C-4'		128.81	128.76	128.85	123.54	132.15
C-2	126.01	126.10	126.11	126.18	119.56	126.91
C-5'	119.21	119.16	119.06	119.18	113.84	120.01
C-1'	118.35	118.38	118.35	118.42	112.81	118.08
C-3'	116.72	116.67	116.57	116.71	111.41	
C-3	109.74	109.68	109.69	109.52	106.42	113.45
C-4	108.95	108.90	108.87	108.88	103.84	108.82
-CH ₃	26.27	15.18	11.46	13.85	-	-
CH_2CH_3	-	34.40	23.17	20.18	-	-
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-	-	41.17	31.97	-	-
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-	-	-	39.29	-	-
-NCH ₃	-	-	-	-	-	33.92

El disolvente usado es metanol deuterado(**).

Tabla 4.14b.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **LC-16 – LC-20**.



	LC-16 δ (ppm)	LC-17 δ (ppm)	LC-18 δ (ppm)	LC-19 δ (ppm)	LC-20* δ (ppm)
-CONH-	162.55	160.12	160.73	160.24	160.63
C-2'	143.73	143.71	143.72	143.36	140.00
C-5	133.46	133.36	133.12	133.08	132.45
C-6'	128.87	128.89	128.85	128.92	129.06
C-4'		128.84	128.82	128.77	128.00
C-2	125.81	125.99	126.24	126.36	126.56
C-5'	119.14	119.17	119.17	119.32	118.43
C-1'	118.31	118.41	118.41	118.62	
C-3'	116.67	116.69	116.68	116.79	116.68
C-3	110.25	109.79	109.52	109.63	111.88
C-4	108.99	108.94	108.87	108.91	108.32
C-1 _{ciclo}	22.67	44.76	51.25	48.23	-
C-2, C-3 _{cicloprop.}	6.94	-	-	-	-
C-2, C-4 _{ciclobut.}		31.76	-	-	-
C-3 _{ciclobut.}	-	15.20	-	-	-
C-2 – C-5 _{ciclopent.}	-	-	33.40, 23.85	-	-
C-2 – C-6 _{ciclohex}	-	-	-	33.45, 25.00	-
C-1 _{Bn.}	-	-	-	-	140.00
C-2 – C-6 _{Bn.}	-	-	-	-	128.31
C-3 – C-5 _{Bn}	-	-	-	-	127.27
C-4 _{Bn}	-	-	-	-	126.76
-CH ₂ -	-	-	-	-	41.98

El disolvente usado es acetona deuterada (*).

En el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **LC-12**: Calculado para $C_{12}H_{13}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 238.0958632; encontrado 238.095914 (desviación -1.2 ppm).

Compuesto **LC-13**: Calculado para $C_{13}H_{15}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 252.111282; encontrado 252.111355 (desviación -0.3 ppm).

Compuesto **LC-14**: Calculado para $C_{14}H_{17}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 266.126932; encontrado 266.126195 (desviación 2.8 ppm).

Compuesto **LC-15**: Calculado para $C_{15}H_{19}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 280.142582; encontrado 280.142808 (desviación -0.8 ppm).

Compuesto **LC-16**: Calculado para $C_{14}H_{15}N_3O$ $(M + H)^+$ 242.129337; encontrado 242.128716 (desviación 2.6 ppm).

Compuesto **LC-17**: Calculado para $C_{15}H_{17}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 278.126932; encontrado 278.126978 (desviación -0.2 ppm).

Compuesto **LC-18**: Calculado para $C_{16}H_{19}N_3O$ $(M + H)^+$ 270.160637; encontrado 270.160831 (desviación -0.7 ppm).

Compuesto **LC-19**: Calculado para $C_{17}H_{21}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 306.158232; encontrado 306.158859 (desviación -2.0 ppm).

Compuesto **LC-20**: Calculado para $C_{18}H_{17}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 314.126932; encontrado 314.127148 (desviación -0.7 ppm).

Compuesto **LC-21**: Calculado para $C_{11}H_{11}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 224.079982; encontrado 224.080138 (desviación -0.7 ppm).

Compuesto **LC-22**: Calculado para $C_{12}H_{13}N_3ONa$ $(M + Na)^+$ 238.095632; encontrado 238.096092 (desviación -1.9 ppm).

4.2.- Familias Pirazolínica y Pirazólica.

4.2.1.- Síntesis química.

4.2.1.1.- Consideraciones generales.

En este apartado se detalla el método sintético empleado para la preparación de los derivados de 4,5-dihidro-1*H*-pirazol (derivados pirazolínicos) y de los derivados de 1*H*-pirazol (derivados pirazólicos), así como también de sus diversos intermedios sintéticos. Se describe primero la estrategia seguida para la construcción del sistema benzoilpirazolínico y benzoilpirazólico con objeto de obtener los diferentes compuestos finales de estas familias. La estructura general que presentan los derivados se muestra en la **Figura 4.15**.

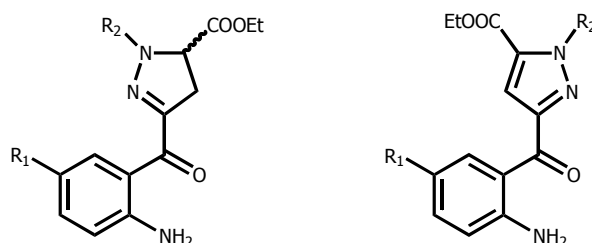


Figura 4.15.- Estructura general de los derivados de 4,5-1*H*-dihidropirazol (derivados Δ^2 -pirazolínicos) y derivados de 1*H*-pirazol.

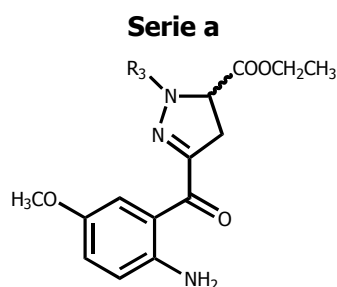
Dentro de estas familias se han preparado 20 compuestos finales denominados con las siglas **LC-23 – LC-43** que, como se ha indicado en los objetivos, se han clasificado en tres **series** (**a**, **b**, **c**) y, a su vez, en dos grandes **grupos** (**A** y **B**). A continuación se detallan las estructuras correspondientes a los grupos y series anteriormente mencionados:

GRUPO A: Pertencen a él los derivados de 4,5-dihidro-1*H*-pirazol (derivados pirazolínicos) y se incluyen las diversas series (**Figura 4.16**).

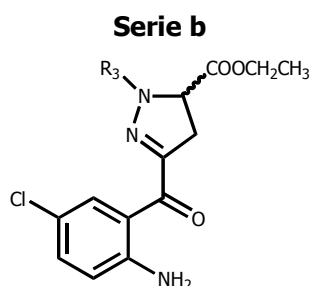
Serie a: Derivados de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos. Dentro de este grupo hay tres compuestos, de acuerdo con la naturaleza de R₃.

Serie b: Derivados de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos. En de este grupo hay cuatro compuestos, según la naturaleza de R₃.

Serie c: Derivados de 3-(2'-aminobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos. Dentro de este grupo se describen tres compuestos, que se diferencian en la naturaleza de R₃.

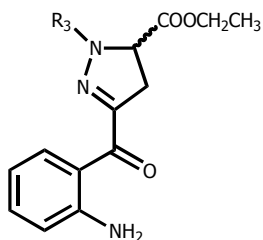


Compuesto	R ₃
LC-23	Et
LC-24	Bu
LC-25	Bn



Compuesto	R ₃
LC-26	H
LC-27	Et
LC-28	Bu
LC-29	Bn

Serie c



Compuesto	R ₃
LC-30	Et
LC-31	Bu
LC-32	Bn

Figura 4.16.- Diferentes productos pertenecientes al **Grupo A** estructural.

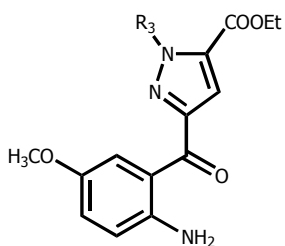
GRUPO B: A él pertenecen los derivados de *1H*-pirazol (derivados pirazólicos) y se describen las tres series (**Figura 4.17**).

Serie a: Derivados de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-*1H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos. Aquí se describen tres compuestos de acuerdo con la naturaleza de R₃.

Serie b: Derivados de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-*1H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos. Dentro de este grupo hay cinco compuestos con distinto radical R₃.

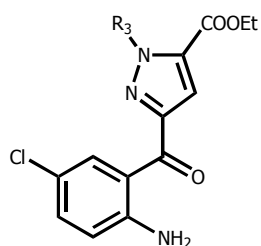
Serie c: Derivados de 3-(2'-aminobenzoil)-*1H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos. Se han sintetizado tres compuestos, de acuerdo con la naturaleza de R₃.

Serie a



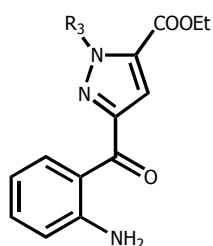
Compuesto	R ₃
LC-33	Et
LC-34	Bu
LC-35	Bn

Serie b



Compuesto	R ₃
LC-36	H
LC-37	Me
LC-38	Et
LC-39	Bu
LC-40	Bn

Serie c

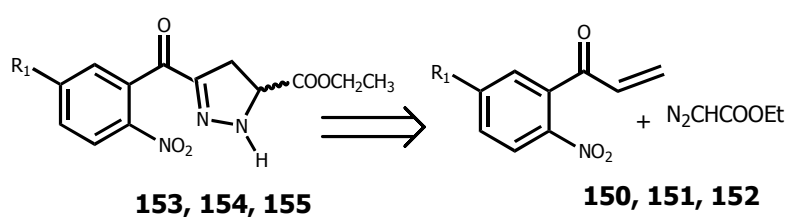


Compuesto	R ₃
LC-41	Et
LC-42	Bu
LC-43	Bn

Figura 4.17.- Diferentes productos pertenecientes al Grupo B .

4.2.1.2.- Estrategias sintéticas conducentes a la síntesis del sistema benzoilpirazolínico.

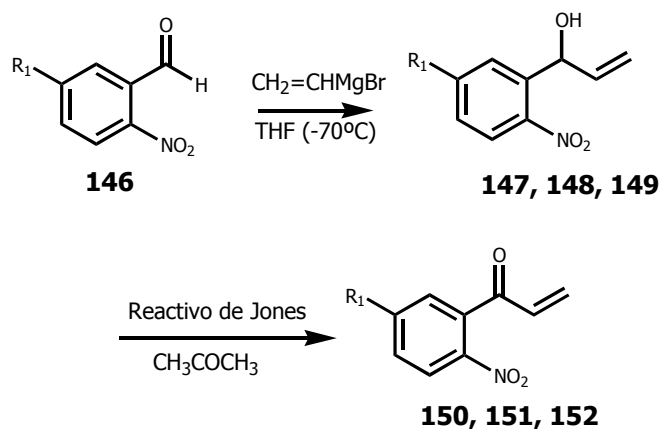
El método empleado en esta Memoria para la formación del sistema benzoilpirazolínico (compuestos **153**, **154**, **155**) es la reacción de cicloadición 1,3-dipolar, empleada con anterioridad por nuestro grupo de investigación^{14,15}.



Serie a, R₁ = OCH₃; **Serie b**, R₁ = Cl; **Serie c**, R₁ = H

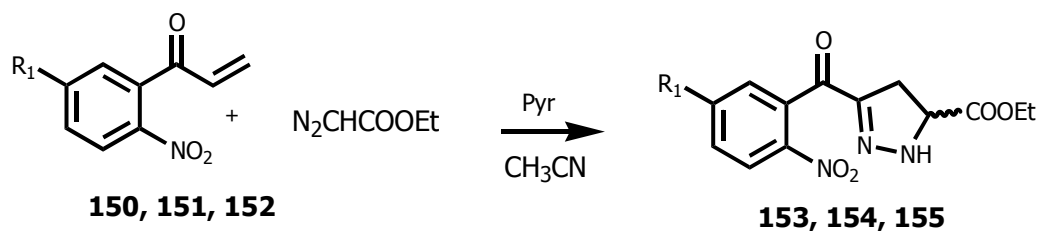
Esquema 4.14.- Retrosíntesis de benzoilpirazolininas.

A continuación se describe la metodología sintética para la formación de las arilvinilcetonas **150 - 152** (**Esquema 4.15**). Se parte del correspondiente 5-sustituido-2-nitrobenzaldehido **146** (los derivados 5-cloro-2-nitrobenzaldehido y 2-nitrobenzaldehido son comerciales) que se hace reaccionar con bromuro de vinilmagnesio en THF anhidro a -70°C , bajo atmósfera de argón^{14,15}, para obtener los alcoholes alílicos **147, 148, 149** con rendimiento cuantitativo para **la serie a** y del 70 y 85%, respectivamente, para las **series b** y **c**. La oxidación del grupo hidroxilo alílico, llevada a cabo con el reactivo de Jones recién preparado, en acetona^{14,15,26,27}, permite obtener las arilvinilcetona **150, 151, 152** con rendimientos moderadamente buenos (65-75%).



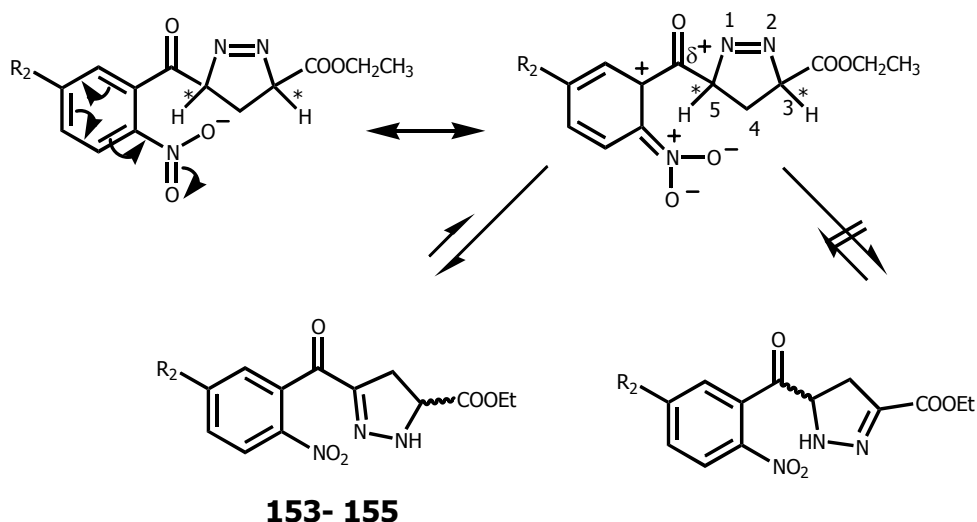
Esquema 4.15.- Síntesis de las arilvinilcetonas.

Las reacción¹⁷ se lleva a cabo con piridina como base y acetonitrilo como disolvente, los rendimientos de los compuestos resultantes **153 - 155** son del 85 al 90%.



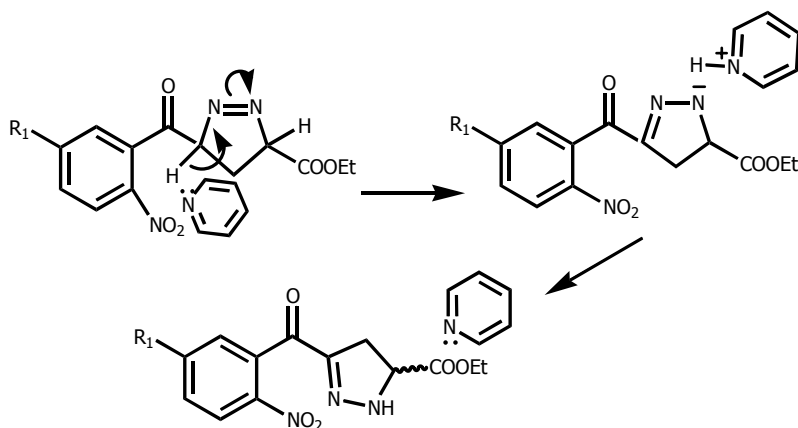
Esquema 4.16.- Método general de síntesis del sistema benzimidazolinico.

La presencia de un grupo nitro en la arilcetona que, debido a sus efectos inductivo y mesómero, deja un resto de carga positiva en el carbono uno del anillo aromático y, por consiguiente, hace más ácido el protón de la posición cinco de la pirazolina, debido a su vecindad, frente al de la posición tres, facilitando su prototropía para dar el tautómero deseado (**Esquema 4.17**).



Esquema 4.17.- Influencia del grupo nitro en la tautomerización.

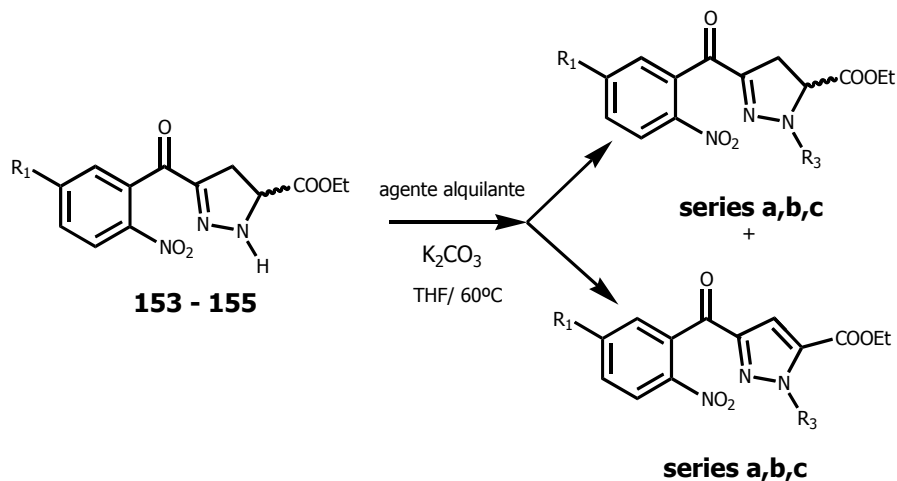
También el uso de piridina podría facilitar el paso de 1-pirazolina a 2-pirazolina ya que su carácter básico facilita la prototropía (**Esquema 4.18**).



Esquema 4.18.- Influencia la piridina en la prototropía.

4.2.1.3.- Estrategias sintéticas conducentes a los derivados de los Grupos A y B y a sus correspondientes series a, b, c ^{15,16}.

Para la síntesis de los derivados pertenecientes a la familia pirazolínica se parte de la correspondiente pirazolina **153- 155** y se alquila por tratamiento con sulfato de dialquilo, bromuro de bencilo o ciclohexilo, en presencia de carbonato potasico y THF como disolvente (a 60°C durante 28 horas) resultando los correspondientes derivados **190 - 209** (Esquema 4.19).



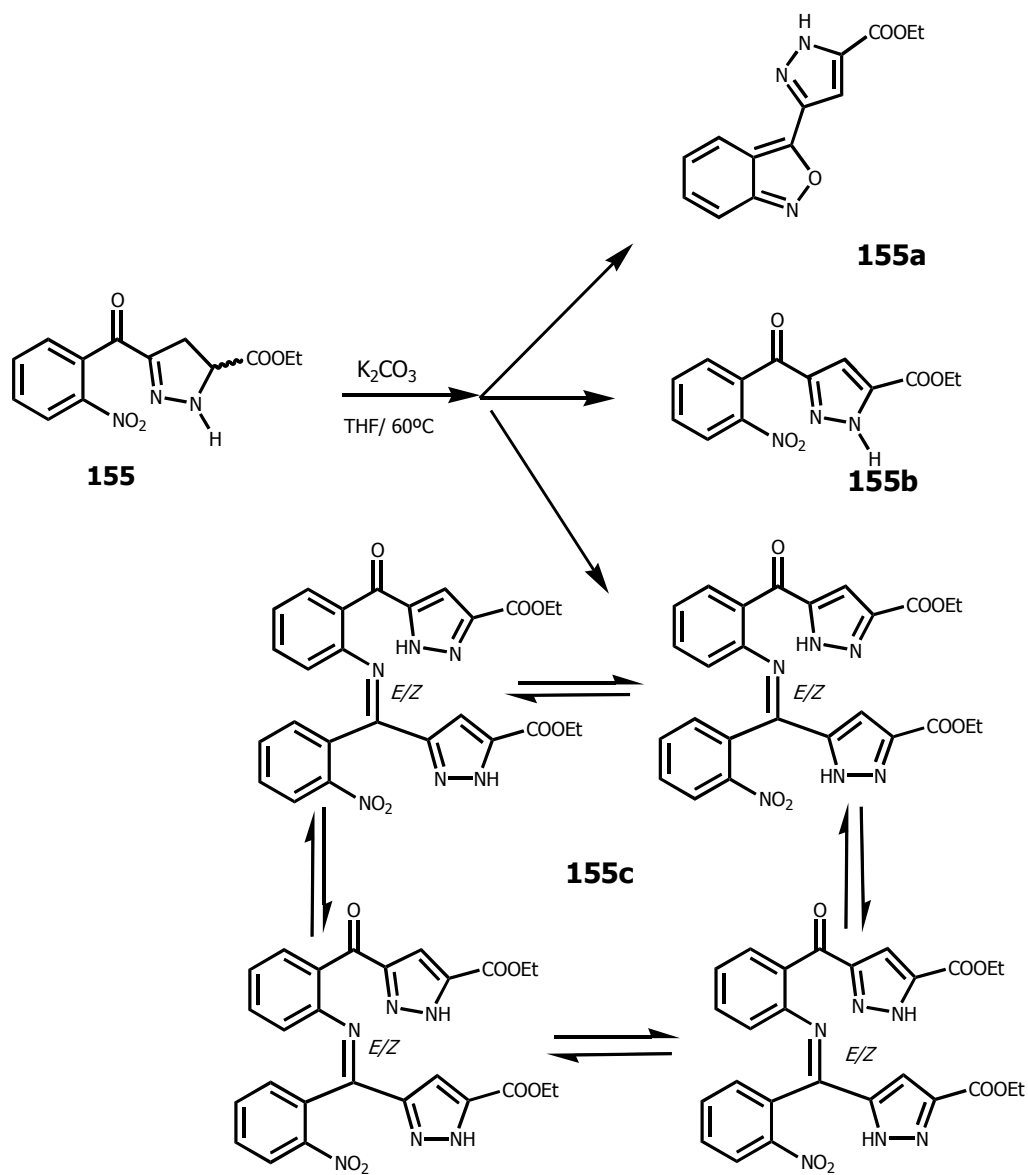
Esquema 4.19.- Síntesis de los intermedios pirazolínicos y pirazólicos 190-209.

Sin embargo los rendimientos obtenidos mediante este proceso sintético suelen ser muy bajos, posiblemente debido a la formación de gran cantidad de subproductos, de difícil identificación; entre los cuales los derivados pirazólicos y pirazolínicos son los productos mayoritarios.

Conociendo la existencia de bibliografía^{17,18} donde derivados pirazolínicos se oxidan a derivados pirazólicos con nitrobeneno como agente oxidante, y con objeto de explicar la razón por la que se forma el derivado pirazólico, se procedió a la realización de tres experimentos:

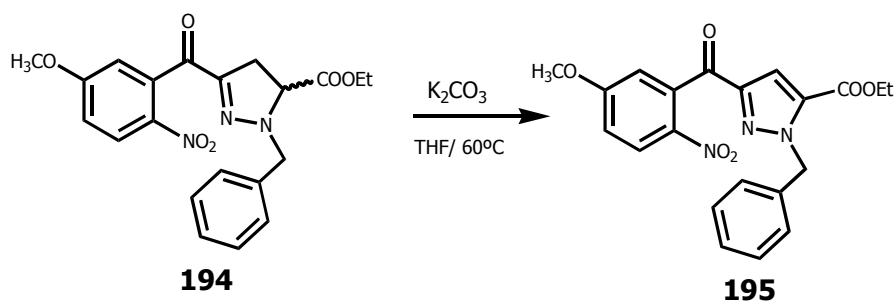
a) El primer experimento consistió en hacer reaccionar 10 mmoles (300 mg) de pirazolina **155** con 26.49 mmoles de K₂CO₃ en THF seco y bajo argon, a una temperatura de 60°C, (es decir la mismas condiciones que para la reacción de alquilación, pero sin agente alquilante). La reacción se siguió por cromatografía en capa fina y se comprobó que a las 6 horas había desaparecido el producto de partida, que tras su tratamiento y posterior purificación por cromatografía flash de gel de sílice, con acetato de etilo - hexano 1: 6 como eluyente, se separaron tres productos:

- Se obtuvieron 21 mg de 3-(benzo[c]isoxazol-3il-)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (**155a**).
- Por otra parte, se aislaron 150 mg del derivado 3-(2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (**155b**).
- Por último se aislaron 18 mg de un derivado, que se ha identificado como el dímero **155c** sin llegar a conocerse por cuales tautómeros y/o isómeros está compuesto.



Esquema 4.20.- Productos obtenidos en el experimento a.

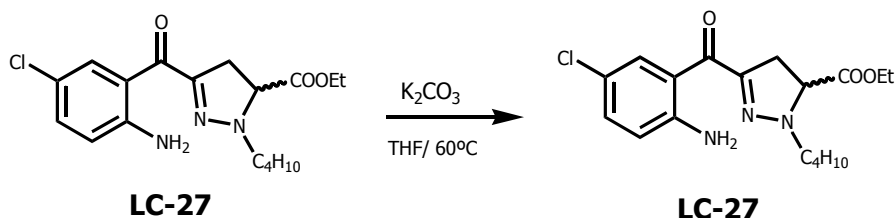
b) El segundo experimento consistió en hacer la reacción, en las mismas condiciones anteriores, sobre 0.19 mmoles (80 mg) del derivado **194** 3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoyl)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo. La reacción se mantuvo 24 horas, tiempo necesario para la formación de un producto nuevo en cromatografía en capa fina diferente al de partida. Tras el tratamiento habitual de lavado, extracción y purificación, se pudieron aislar dos productos.



Esquema 4.21.- Productos aislados en el experimento b.

- Se obtuvieron 5 mg de 3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (**195**).
- Por otra parte, se recuperaron 73 mg del derivado **194** (3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo); es decir, del producto de partida.

c) Por último se procedió a realizar el tercer experimento que consistió en hacer reaccionar, en las mismas condiciones, el derivado reducido **LC-27** (3-(5'-amino-2'-nitrobenzoil)-1-butil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo). De esta reacción únicamente se aisló el producto de partida.



Esquema 4.22.- Experimento c.

Con estas tres experiencias se puede concluir que:

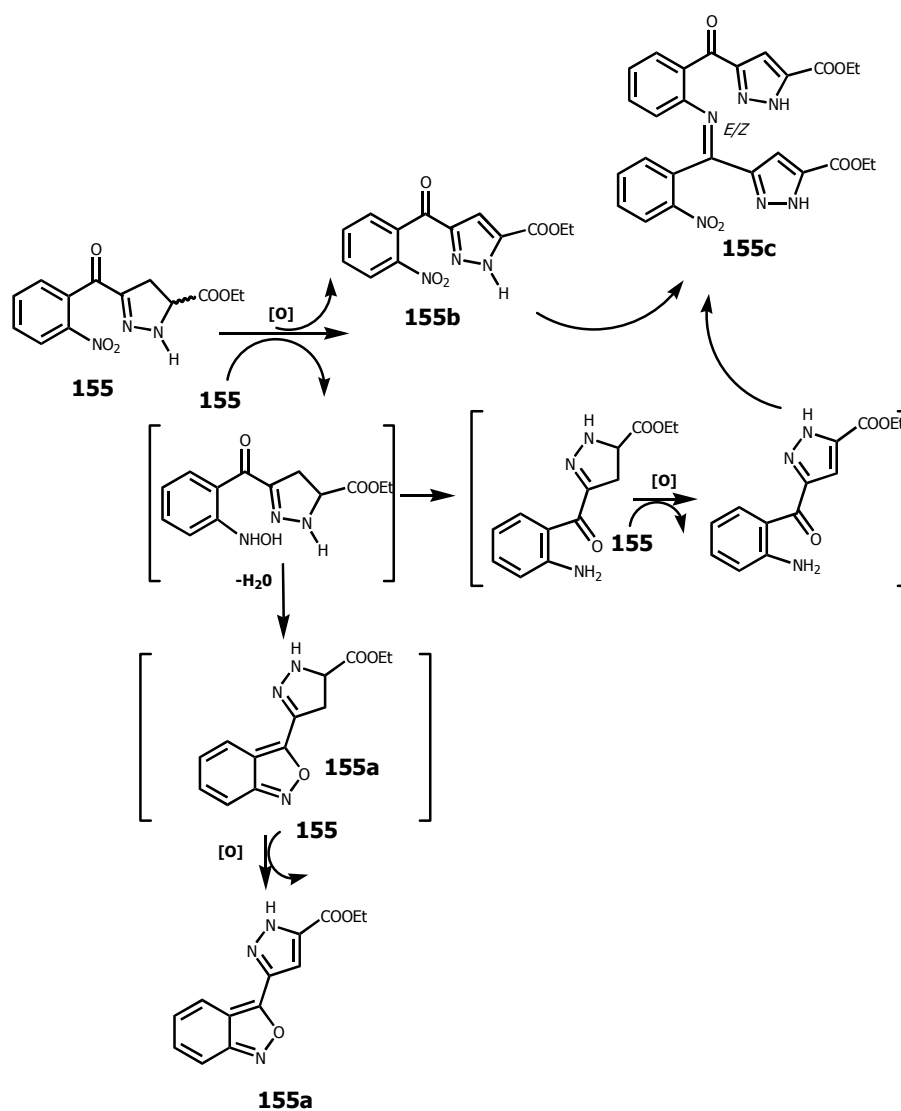
- Los derivados de 3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (**155**), en las condiciones de reacción

descritas, se oxidan a derivados 3-(2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (**155b**) mayoritariamente, debido a la reducción del grupo nitro, que ejerce como oxidante.

- El grupo nitro puede reducirse al intermedio de reducción hidroxilamino y dar la consecuente reacción intramolecular de ciclación por ataque del grupo hidroxilo sobre el grupo carbonilo, formándose el anillo de benzoisoxazol mediante la pérdida de una molécula de agua (**155a**).
- Se evidencia la formación del grupo amino durante la reducción, pues se ha originado el dímero (**155c**), que tiene su origen en la reacción de condensación intermolecular entre el grupo carbonilo de una molécula de pirazol (con grupo nitro) y el grupo amino una molécula de pirazol reducida, con formación de una base Schiff.
- La reacción de oxidación sobre derivados pirazolínicos alquilados (24 horas) es más lenta y menos eficiente que la de pirazolinas sin alquilar (6 horas), ya que tarda más tiempo y se obtiene menor cantidad de producto oxidado, como ha podido comprobarse con el segundo experimento.

Todos los productos obtenidos han sido identificados mediante espectroscopía de RMN (^1H y ^{13}C) y masas y se recogen en la Parte experimental de la presente Memoria y sus espectros se muestran en el Apéndice.

En el **Esquema 4.23a** se puede observar el mecanismo de reacción que se propone para justificar la formación de estos derivados pirazólicos totalmente insaturados.

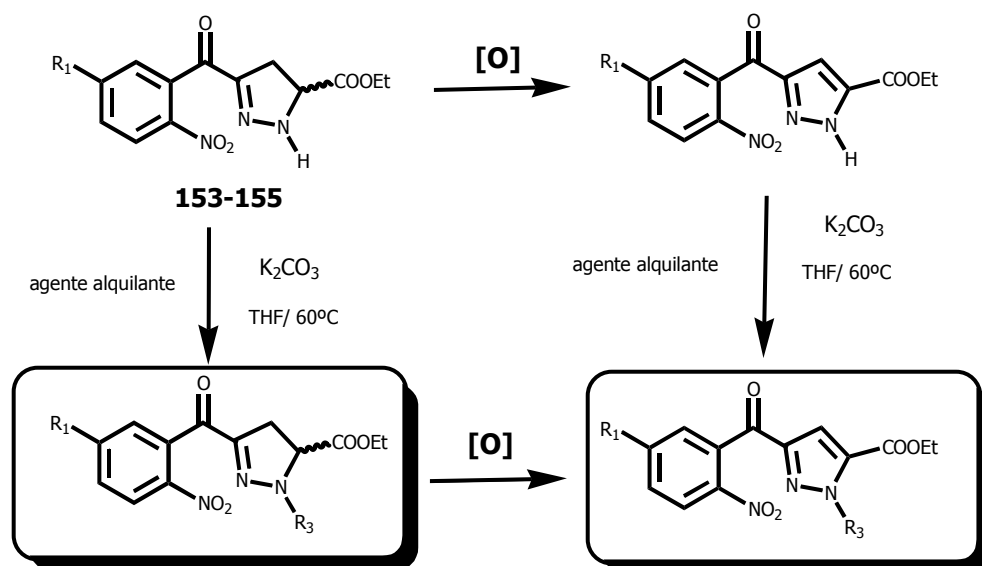


Esquema 4.23a.- Mecanismo de reacción propuesto para la formación de los intermedios **155a**, **155b** y **155c**

Si trasladamos los resultados obtenidos en estos tres experimentos a la reacción de alquilación realizada sobre los derivados **153-155**, podemos obtener diferentes conclusiones:

- Se obtienen derivados pirazólicos y pirazolínicos alquilados como productos mayoritarios. Sin embargo, es predecible que la gran cantidad de los productos minoritarios obtenidos, de difícil identificación, sean mezclas de regioisómeros alquilados, productos reducidos, posibles dímeros y benzoisoxazoles, ya que el grupo nitro que ejerce de agente oxidante puede ser el de los productos de partida o el de los productos oxidados.
- Parece evidente que ambas reacciones (alquilación y oxidación) se dan simultáneamente. Además, pueden producirse sobre la misma molécula o sobre moléculas diferentes, ya que así se explicaría que se obtengan como productos mayoritarios pirazolininas y pirazoles alquilados.
- La alquilación se da preferentemente sobre uno de los nitrógenos, obteniéndose el regioisómero 1,5 (con respecto al carboxilato de etilo). Esto se demuestra mediante el estudio de difracción de rayos X, descrito en el apartado 4.2.2.2.5.

El **Esquema 4.23b** se puede observar como pueden producirse ambas reacciones simultáneamente.



Esquema 4.23b.- Oxidación y alquilación de los intermedios pirazolínicos (153-155).

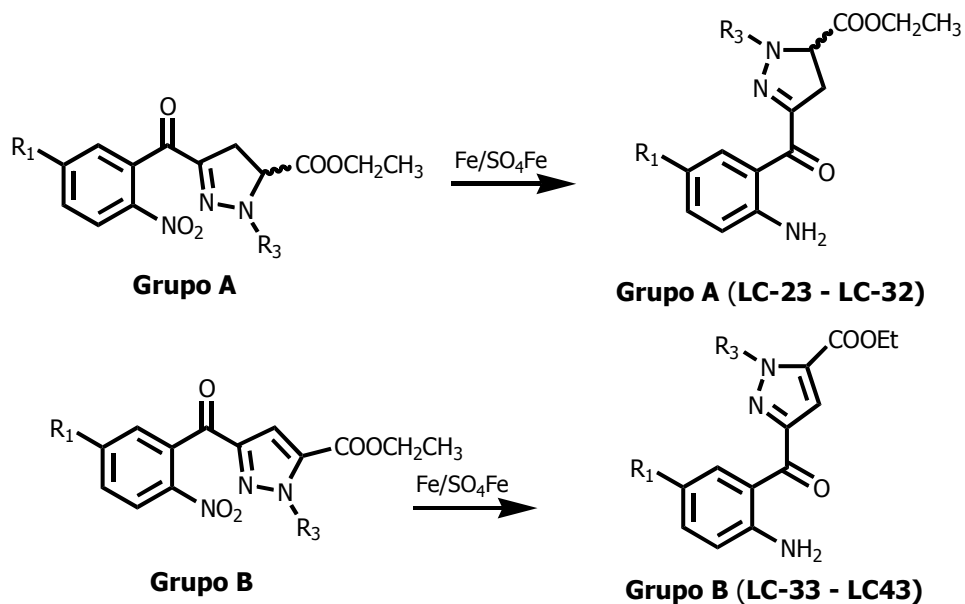
A la vista de los resultados y con el objetivo de mejorar los rendimientos en la formación de derivados de 3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo, se modifican las condiciones de reacción de la siguiente forma:

- Cambiar el disolvente THF por otro dipolar aprótico¹⁹, tal como el 1,4-dioxano seco, para que se de preferentemente la N-alkilación frente a la C-alkilación²⁰.
- Aumentar la temperatura de reacción hasta temperatura de reflujo del disolvente (120°C).
- Disminuir el tiempo de reacción hasta 3 horas.
- Variar las relaciones molares. Se usan en este caso un equivalente molar de producto de partida, 2 equivalentes molares de carbonato potásico y 3 de agente alquilante.

Todas estas variaciones condujeron a un aumento del rendimiento en la pirazolina obtenida con respecto a aquellos productos que, por el primer método, no se

logran con rendimientos adecuados ni tan siquiera aceptables para su aislamiento. De esta forma se consiguen rendimientos de interés sintético aceptable.

La posterior reducción del grupo nitro¹² del anillo aromático de los derivados (**190 - 209**) con hierro en polvo y sulfato ferroso (**Esquema 4.25** y **4.26**) permite la obtención de los compuestos finales **LC-23 – LC-43**.



Esquema 4.24.- Síntesis de los compuestos finales del Grupo A y Grupo B.

4.2.2.- Análisis espectroscópico de los derivados pirazólicos y pirazolínicos y sus intermedios sintéticos.

Los compuestos de esta familia se identificaron por espectroscopía de RMN ^1H (300 ó 400 MHz) y ^{13}C (75 ó 100 MHz), espectrometría de masas de alta resolución (LSIMS) y/o análisis elemental. También se han llevado a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMQC (RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) y HMBC (RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$). Todos los espectros de los compuestos intermedios y finales aparecen en el Apéndice.

4.2.2.1.- Compuestos intermedios.

Los compuestos intermedios analizados en esta Memoria corresponden solamente a los anteriores a los compuestos finales, ya que los demás ya han sido descritos por nuestro grupo de investigación.

4.2.2.1.1.- Análisis espectroscópico de los compuestos intermedios pertenecientes al Grupo A.

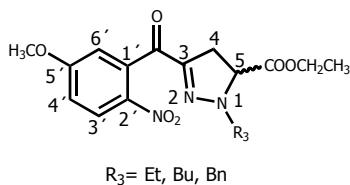
El estudio espectroscópico de estos derivados se divide en cada una de las tres series **a, b, c**.

4.2.2.1.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a.

Dentro de este apartado se describen los compuestos intermedios derivados de 3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituídos.

La **Tabla 4.15** muestra los datos de desplazamiento químico (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de los espectros de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **190**, **192** y **194** que están provistos de sustituyentes R_3 de naturaleza *n*-alquílica y bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado como disolvente.

Tabla 4.15.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **190**, **192** y **194**.



	190 δ (ppm) J (Hz)	192 δ (ppm) J (Hz)	194 δ (ppm) J (Hz)
H-3'	8.03 (d) $J_{3'-4'} = 9.1$	8.05 (d) $J_{3'-4'} = 9.1$	8.12 (d) $J_{3'-4'} = 9.1$
H-4'	6.96 (dd) $J_{4'-3'} = 9.1$ $J_{4'-6'} = 2.8$	6.97 (dd) $J_{4'-3'} = 9.1$ $J_{4'-6'} = 2.8$	7.00 (dd) $J_{3'-4'} = 9.1$ $J_{4'-6'} = 2.8$
H-6'	6.86 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$	6.87 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$	6.88 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$
H-5	4.35 (dd) $J_{5-4a} = 13.1$ $J_{5-4b} = 10.5$	4.36 (dd) $J_{5-4a} = 13.2$ $J_{5-4b} = 10.3$	4.17 (m)
-COOCH ₂ CH ₃	4.21 (c) $J = 7.1$	4.22 (c) $J = 7.1$	4.17 (m)
-OCH ₃	3.87 (s)	3.88 (s)	3.91 (s)
H-4a	3.34 (m)	3.32 (m)	3.36 (dd) $J_{4a-4b} = 17.3$ $J_{4a-5} = 12.8$
H-4b			3.29 (dd) $J_{4b-4a} = 17.3$ $J_{4b-5} = 11.7$
CH ₂ CH ₃			-
-COOCH ₂ CH ₃	1.27 (t) $J = 7.1$	1.29 (t) $J = 7.1$	1.26 (t) $J = 7.1$
-CH ₃	1.08 (t) $J = 7.2$	0.84 (t) $J = 7.2$	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	1.48 (m)	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	3.32 (m)	-
H-3, H-4 y H-5 _{Bn}	-	-	7.30 (m)
H-2 - H-6 _{Bn}	-	-	7.12 (m)
H _a CH ₂	-	-	4.45 (d) $J_{b-a} = 14.8$
H _b CH ₂	-	-	4.69 (d) $J_{a-b} = 14.8$

Las diferencias más significativas de los espectros que aquí se comentan se encuentran a campos magnéticos altos donde aparecen las señales correspondientes a los diferentes sustituyentes R_3 . Por el contrario, los valores de desplazamiento químico de

los átomos de hidrógeno del anillo aromático, el grupo metoxilo, el anillo de pirazolina y el grupo etoxicarbonilo apenas sufren variación de un intermedio a otro.

Los átomos de hidrógeno aromáticos, H-3', H-4' y H-6' resuenan de la siguiente forma: la señal del átomo H-3' en los diferentes compuestos resuena entre δ 8.02 y 8.12 ppm como consecuencia del efecto desapantallante que ejerce el grupo nitro en posición 2' del anillo aromático. La señal aparece como doblete con una constante de acoplamiento $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz. En todos los compuestos se observa un doblete alrededor de $\delta = 6.97$ ppm correspondiente al hidrógeno aromático H-4', debido al acoplamiento con H-3' y H-6'. El hidrógeno H-6' resuena a un desplazamiento medio de $\delta = 6.87$ ppm como doblete, con una constante de acoplamiento $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz. El grupo metoxilo resuena como singlete en torno a δ 3.88 ppm.

Las señales de los átomos de hidrógeno de la pirazolina aparecen de la siguiente forma: los átomos de hidrógeno de la posición cuatro son diastereotópicos, por lo que aparecen como un sistema AB desdoblado por el acoplamiento con H-5. El protón H-4a resuena como un doblete, entre δ 3.32 y 3.36 ppm, debido a su acoplamiento con H-4b y H-5, con unas constantes de acoplamiento en torno a 17.3 y 12.8 Hz respectivamente. El protón H-4b aparece como un doblete entre δ 3.29 y 3.34 ppm debido a su acoplamiento con H-5 y H-4a, el valor de la constante de acoplamiento J_{4b-5} es 11.7 Hz. Sin embargo en los compuestos **190** y **192** las señales de estos protones en posición 4 aparecen solapadas con las del primer metileno correspondiente al grupo etilo y butilo respectivamente, siendo imposible su diferenciación, asignándose como multiplete. El H-5 resuena como doblete en torno a δ 4.35 ppm, excepto en el compuesto **194** donde colapsa su señal con la del metileno del grupo etoxicarbonilo. Con respecto a los átomos de hidrógeno del grupo etoxicarbonilo en posición cinco de la pirazolina cabe destacar que los hidrógenos del grupo metileno son diastereotópicos por la influencia del centro quiral, pero no siempre aparecen a diferente desplazamiento químico (anisocronía), así en los derivados **190** y **192**, estos hidrógenos aparecen como un cuadruplete a δ en torno a 4.20 ppm con una $J = 7.1$ Hz; en cambio cuando R₃ es bencilo (derivado **194**), los dos hidrógenos del metileno aparecen como un multiplete centrado alrededor de δ 4.17 ppm; esto probablemente sea debido a una dificultad en el

giro de algún enlace que implique al grupo metileno o a una población distinta de alguno de los conformeros de posición, que haga a los dos hidrógenos del grupo metileno magnéticamente no equivalentes. El metilo del grupo etoxicarbonilo aparece alrededor de δ 1.27 ppm como triplete.

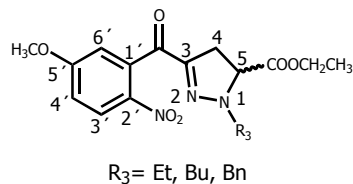
Cabe destacar, finalmente, la aparición de los protones correspondientes al metileno del bencilo como diasterotópicos, debido probablemente a la proximidad con el centro quiral, apareciendo como un sistema AB. El protón Ha resuena como doblete con un desplazamiento de $\delta = 4.69$ ppm y Hb resuena también como doblete a $\delta = 4.45$ ppm, ambos con una constante de acoplamiento entre sí de 14.8 Hz. Las señales de los hidrógenos contenidos en R₃ resuenan a campo alto (excepto cuando R₃ = Bn).

Los datos espectroscópicos de ¹³C-RMN de los compuestos **190**, **192** y **194** están recogidos en la **Tabla 4.16** donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se extrapolaron los resultados obtenidos por nuestro grupo de investigación de compuestos similares sintetizados con anterioridad⁷. En todos los espectros el valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 186 ppm) se corresponde con el carbonilo (Ph-CO-).

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1'- C-6') oscilan entre δ 163-113 ppm. Los estudios bidimensionales, realizados con anterioridad por nuestro grupo de investigación, facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1', C-2' y C-5') se determinaron por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituidos¹³.

	190 δ (ppm)	192 δ (ppm)	194 δ (ppm)
Ph-CO-	186.19	186.14	186.59
-COOCH ₂ CH ₃	169.87	169.87	169.67
C-5'	163.63	163.61	163.79
C-3	144.59	143.98	145.21
C-2'	140.88	140.85	140.52
C-1'	138.09	138.20	138.27
C-3'	126.35	126.36	126.56
C-4'	115.22	115.24	115.32
C-6'	113.90	113.83	113.75
C-5	65.95	66.31	64.67
-COOCH ₂ CH ₃	61.92	61.93	61.92
-OCH ₃	56.16	56.87	56.20
-CH ₃	12.43	13.68	-
CH ₂ CH ₃	46.30	19.93	-
C-4	34.47	34.41	34.42
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	29.49	
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	51.87	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.17	14.19	14.16
C-1 _{Bn}	-	-	134.86
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	128.82
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	128.75
C-4 _{Bn}	-	-	128.17
-CH ₂ -	-	-	56.32

Tabla 4.16.- Desplazamientos químicos (δ, ppm) de ¹³C-RMN de los compuestos intermedios **190, 192, 194**.



La señal del átomo de carbono C-3 de la pirazolona resuena en torno a δ 144 ppm. Los átomos de carbono C-5 y C-4 de la pirazolona se confirman también gracias a esos mismos estudios bidimensionales y resuenan a δ 66 y 34 ppm, respectivamente.

Con respecto al grupo etoxicarbonilo, el carbono del grupo metileno se encuentra a δ 62 ppm y el metilo a 14 ppm. El carbono del $-OCH_3$ aparece a δ 56 ppm. Los valores de los desplazamientos de los átomos de carbono correspondientes a los diferentes radicales R_3 resuenan a campo alto, excepto cuando el sustituyente R_3 es un grupo bencilo.

Finalmente, en el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ o $(M + H)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **190**: Calculado para $C_{16}H_{20}N_3O_6$ $(M + H)^+$ 350.135211; encontrado 350.135506 (desviación -0.8 ppm).

Compuesto **192**: Calculado para $C_{18}H_{23}N_3O_6Na$ $(M + Na)^+$ 400.148455; encontrado 400.148861 (desviación -1.0 ppm).

Compuesto **194**: Calculado para $C_{21}H_{21}N_3O_6Na$ $(M + Na)^+$ 434.132805; encontrado 434.132290 (desviación 1.2 ppm).

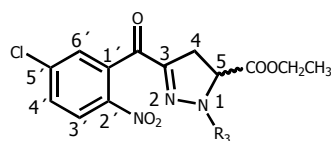
4.2.2.1.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b.

Dentro de este apartado se describen los compuestos intermedios derivados de 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos.

La **Tabla 4.17** muestra los datos de desplazamiento químico (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de los espectros de 1H -RMN para los compuestos intermedios **198**, **200** y **202** que están provistos de sustituyentes R_3 alquilo y bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado como disolvente.

Las diferencias más significativas de los espectros que aquí se comentan se encuentran a campo alto, donde aparecen las señales correspondientes a los diferentes sustituyentes R_3 . Por el contrario, los valores de desplazamiento químico de los átomos de hidrógeno del anillo aromático, el anillo de pirazolina y el grupo etoxicarbonilo apenas sufren variación de un intermedio a otro.

Tabla 4.17.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **198**, **200**, **202**.



$R_3 = \text{Et, Bu, Bn}$

	198	200	202
	δ (ppm) J (Hz)	δ (ppm) J (Hz)	δ (ppm) J (Hz)
H-3'	7.98 (d) $J_{3'-4'} = 8.7$	7.98 (d) $J_{3'-4'} = 8.7$	8.04 (d) $J_{3'-4'} = 8.7$
H-4'	7.53 (dd) $J_{4'-3'} = 8.7$ $J_{4'-6'} = 2.2$	7.50 (dd) $J_{4'-3'} = 8.7$ $J_{4'-6'} = 2.3$	7.54 (dd) $J_{4'-3'} = 8.7$ $J_{4'-6'} = 2.3$
H-6'	7.49 (d) $J_{6'-4'} = 2.2$	7.45 (d) $J_{6'-4'} = 2.3$	7.46 (d) $J_{6'-4'} = 2.3$
H-5	4.35 (dd) $J_{5-4a} = 13.3$ $J_{5-4b} = 10.0$	4.46 (dd) $J_{5-4a} = 13.3$ $J_{5-4b} = 10.3$	4.17 (m)
-COOCH ₂ CH ₃	4.25 (c) $J = 7.1$	4.23 (c) $J = 7.1$	
H-4a	3.38 (m)	3.33 (m)	3.37 (dd) $J_{4a-4b} = 17.3$ $J_{4a-5} = 12.5$
H-4b			3.27 (dd) $J_{4b-4a} = 17.3$ $J_{4b-5} = 11.5$
CH ₂ CH ₃		1.26 (m)	-
-COOCH ₂ CH ₃	1.32 (t) $J = 7.1$	1.29 (t) $J = 7.1$	1.27 (t) $J = 7.1$
-CH ₃	1.13 (t) $J = 7.2$	0.86 (t) $J = 7.2$	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	1.50 (m)	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	3.33 (m)	-
H-3, H-4 y H-5 _{Bn}	-	-	7.31 (m)
H-2, H-6 _{Bn}	-	-	7.13 (m)
Ha _{CH2}	-	-	4.70 (d) $J_{a-b} = 15.1$
Hb _{CH2}	-	-	4.48 (d) $J_{b-a} = 15.1$

Los átomos de hidrógeno aromáticos, H-3', H-4' y H-6' resuenan de la siguiente forma: la señal del átomo H-3' de los diferentes compuestos resuena entre δ 7.98 y 8.04 ppm, como consecuencia del efecto desapantallante que ejerce el grupo nitro en posición 2' del anillo aromático. La señal aparece como doblete con una constante de acoplamiento $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz. En todos los compuestos se observa un doblete

alrededor de δ 7.53 ppm correspondiente al hidrógeno aromático H-4', debido al acoplamiento con H-3' y H-6'. El hidrógeno H-6' resuena en torno a δ 7.45 ppm como doblete, con una constante de acoplamiento $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz.

Las señales de los átomos de hidrógeno del resto de la molécula apenas sufren variación con respecto a la **serie a**, dándose las mismas particularidades que en la serie anterior.

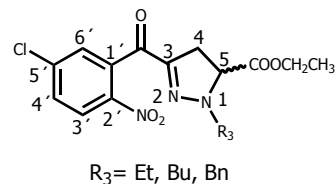
Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los compuestos **198**, **200** y **202** están recogidos en la **Tabla 4.18** donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se extrapolaron los resultados obtenidos en nuestro grupo de investigación de compuestos similares sintetizados con anterioridad. En todos los espectros el valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 184 ppm) se corresponde con el carbonilo (Ph-CO-).

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' – C-6') oscilan entre δ 125-146 ppm. Los estudios bidimensionales, realizados con anterioridad, facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1', C-2' y C-5') se determinaron por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹⁴.

La señales de los átomos de carbono pertenecientes al resto de la molécula (anillo pirazolínico, grupo etoxicarbonilo y radical R₃ de la posición 1), no sufren variaciones con respecto a los compuestos de la **serie a**.

	198 δ (ppm)	200 δ (ppm)	202 δ (ppm)
Ph-CO-	184.29	184.20	184.70
-COOCH ₂ CH ₃	169.60	169.56	169.41
C-2'	146.35	146.28	145.98
C-3	143.96	143.71	144.56
C-5'	140.18	140.14	140.37
C-1'	136.96	137.04	137.09
C-4'	130.23	130.19	130.32
C-6'	129.63	129.62	129.52
C-3'	125.25	125.27	125.47
C-5	66.06	66.36	64.77
-COOCH ₂ CH ₃	62.04	62.03	62.02
-CH ₃	12.53	13.66	-
CH ₂ CH ₃	46.89	19.92	-
C-4	34.22	34.13	34.17
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	29.54	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	51.81	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.18	14.17	14.18
C-1 _{Bn}	-	-	134.71
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	128.83
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	128.78
C-4 _{Bn}	-	-	128.27
-CH ₂ -	-	-	56.28

Tabla 4.18.- Desplazamientos químicos (δ, ppm) de ¹³C-RMN de los compuestos intermedios **198, 200, 202.**



Finalmente, en el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas (M + Na)⁺ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **198**: Calculado para C₁₅H₁₆N₃O₅ClNa (M + Na)⁺ 376.067618; encontrado 376.067314 (desviación 0.8 ppm).

Compuesto **200**: Calculado para $C_{17}H_{20}N_3O_5ClNa$ ($M + Na$)⁺ 404.098918; encontrado 404.099045 (desviación -0.3 ppm).

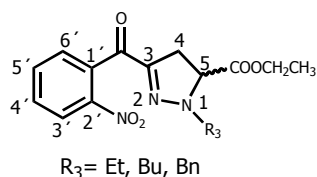
Compuesto **202**: Calculado para $C_{20}H_{18}N_3O_5ClNa$ ($M + Na$)⁺ 438.083473; encontrado 438.083548 (desviación 0.2 ppm).

4.2.2.1.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos intermedios derivados de 3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituídos. La **Tabla 4.19** muestran los datos de desplazamiento químico (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de los compuestos intermedios **204**, **206** y **208**. El criterio es el mismo al seguido en las series anteriores, apareciendo los compuestos que se caracterizan por tener sustituyentes R_3 de naturaleza n-alquílica y bencilo.

En esta serie existen cuatro hidrógenos en el anillo aromático, ya que no hay sustituyente en posición 5', por consiguiente el patrón de acoplamiento para los hidrógenos aromáticos de los productos de las anteriores **series (a y b)** no es válido en estos derivados. En los compuestos de esta serie los protones del anillo aromático constituyen un sistema de acoplamiento tipo ABCD. El sistema debe constar de 32 señales; sin embargo, en casi todos los compuestos consta de menos, puesto que los protones H-3' y H-6' se comportan como dobles dobles en lugar de dobles dobles dobles puesto que el acoplamiento a larga distancia entre ellos es muy pequeño y no se aprecia en los espectros. Además los protones H-4' y H-5' tampoco se muestran como dobles dobles dobles sino como pseudodobles tripletes, ya que las constantes de acoplamiento con los hidrógenos vecinales son muy parecidas, colapsando las señales y haciendo que en el espectro se observen 6 señales en vez de 8, como correspondería (Véase **Figura 4.13**).

Tabla 4.19. - Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **204**, **206** y **208**.



	204	206	208
	δ (ppm) J (Hz)	δ (ppm) J (Hz)	δ (ppm) J (Hz)
H-3'	8.02 (dd) $J_{3'-4'} = 8.1$ $J_{3'-5'} = 1.1$	8.02 (dd) $J_{3'-4'} = 8.1$ $J_{3'-5'} = 1.2$	8.09 (dd) $J_{3'-4'} = 8.1$ $J_{3'-5'} = 1.1$
H-5'	7.67 (pdt) $J_{5'-6'} = 7.5$ $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-3'} = 1.1$	7.67 (pdt) $J_{5'-6'} = 7.5$ $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-3'} = 1.2$	7.70 (pdt) $J_{5'-6'} = 7.5$ $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-3'} = 1.1$
H-4'	7.56 (pdt) $J_{4'-3'} = 8.1$ $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-6'} = 1.6$	7.56 (pdt) $J_{4'-3'} = 8.1$ $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-6'} = 1.6$	7.59 (pdt) $J_{4'-3'} = 8.1$ $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-6'} = 1.5$
H-6'	7.50 (dd) $J_{6'-5'} = 7.5$ $J_{6'-4'} = 1.6$	7.50 (dd) $J_{6'-5'} = 7.5$ $J_{6'-4'} = 1.6$	7.50 (dd) $J_{6'-5'} = 7.5$ $J_{6'-4'} = 1.5$
H-5	4.37 (dd) $J_{5-4a} = 13.0$ $J_{5-4b} = 10.4$	4.37 (dd) $J_{5-4a} = 12.4$ $J_{5-4b} = 10.2$	4.16 (m)
-COOCH ₂ CH ₃	4.23 (c) $J = 7.1$	4.24 (c) $J = 7.1$	
H-4a	3.37 (m)	3.33 (m)	3.37 (dd) $J_{4a-4b} = 17.4$ $J_{4a-5} = 12.9$
H-4b			3.29 (dd) $J_{4b-4a} = 17.4$ $J_{4b-5} = 11.4$
-CH ₂ CH ₃		1.28 (m)	-
-CH ₃	1.12 (t) $J = 7.2$	0.86 (t) $J = 7.2$	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	1.50 (m)	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	3.33 (m)	-
-COOCH ₂ CH ₃	1.29 (t) $J = 7.1$	1.30 (t) $J = 7.1$	1.26 (t) $J = 7.1$
H-3, H-4, H-5 _{Bn}	-	-	7.30 (m)
H-2, H-6 _{Bn}	-	-	7.13 (m)
Ha _{CH2}	-	-	4.68 (d) $J_{a-b} = 14.8$
Hb _{CH2}	-	-	4.46 (d) $J_{b-a} = 14.8$

A continuación se describen los átomos de hidrógeno del fenilo uno por uno. El átomo de hidrógeno que resuena a campo más bajo es el H-3', como consecuencia del efecto desapantallante que ejerce el grupo nitro en posición 2', mostrándose como un doblete por el acoplamiento con H-4' y H-5'; el valor de $J_{3'-4'}$ es de 8.1 Hz y el de

$J_{3'-5'}$ es de 1.1 Hz aproximadamente. El protón H-5' debería ser un doble doblete (ddd) pero en realidad aparece en forma de pseudodoble triplete (pdt), debido a que los valores de $J_{5'-6'}$ y $J_{5'-4'}$ son parecidos (7.5 y 7.7 Hz) e igual ocurre en el caso de H-4' (7.56 ppm) ya que debido a los valores próximos de $J_{4'-3'}$ y $J_{4'-5'}$, la señal que debería ser un doble doblete se resuelve como un pseudodoble triplete. A continuación resuena H-6' en forma de doble doblete a 7.50 ppm debido al acoplamiento con H-5' y H-4' oscilando entre 1.5 y 1.6 Hz. el valor de la constante de acoplamiento $J_{6'-4'}$.

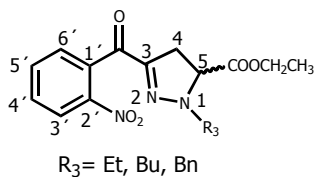
Las señales de los átomos de hidrógeno de la pirazolina, del resto etoxicarbonilo y de los diferentes radicales R₃ no ofrecen variación significativa con respecto a los derivados de las anteriores series.

La **Tabla 4.20** muestra los datos de desplazamiento químico de los diferentes átomos de carbono correspondientes a los compuestos **204**, **206** y **208**. Al igual que en las series anteriores, el valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 186 ppm) se corresponde con el carbonilo (Ph-CO-), a continuación aparece el carbonilo del éster a 169 ppm.

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' – C-6') oscilan entre δ 148 y 123 ppm. Los estudios bidimensionales facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4', C-5' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1' y C-2') se determinaron por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³.

Con respecto al desplazamiento químico del resto de los carbonos (pirazolina, grupo etoxicarbonilo y los diferentes radicales alquilo y bencilo) de los compuestos pertenecientes a esta serie, se mantienen con respecto a los obtenidos en las anteriores **series (a y b)**, y son concordantes con los esperados para este tipo de derivados.

Tabla 4.20.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **204**, **206** y **208**.



	204 δ (ppm)	206 δ (ppm)	208 δ (ppm)
PhCO-	186.08	186.10	186.51
-COOCH ₂ CH ₃	169.81	169.86	169.60
C-2'	148.23	148.15	147.82
C-3	144.58	143.99	145.10
C-1'	135.39	135.47	135.57
C-5'	133.48	133.56	133.69
C-4'	130.56	130.36	130.42
C-6'	129.55	129.57	129.41
C-3'	123.75	123.82	123.96
C-5	66.05	66.39	64.71
-COOCH ₂ CH ₃	61.94	62.01	61.93
CH ₂ CH ₃	46.95	19.97	-
-CH ₃	12.46	13.75	-
C-4	34.44	34.38	34.40
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	29.52	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	51.92	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.18	14.23	14.16
C-1 _{Bn}	-	-	134.87
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	128.81
C-4 _{Bn}	-	-	128.18
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	128.77
-CH ₂ -	-	-	56.33

Por último, en el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados.

Compuesto **204**: Calculado para $C_{15}H_{17}N_3O_5Na$ $(M + Na)^+$ 342.106591; encontrado 342.106724 (desviación -0.4 ppm).

Compuesto **206**: Calculado para $C_{17}H_{21}N_3O_5Na$ $(M + Na)^+$ 370.137891; encontrado 370.135576 (desviación 0.8 ppm).

Compuesto **208**: Calculado para $C_{20}H_{19}N_3O_5Na$ $(M + Na)^+$ 404.122241; encontrado 404.122010 (desviación 0.6 ppm).

4.2.2.1.2.- Análisis espectroscópico de los compuestos intermedios pertenecientes al Grupo B.

El estudio espectroscópico de estos derivados se divide en cada una de las tres series **a, b, c**.

4.2.2.1.2.1.- Análisis espectroscópico de los derivados de la serie a.

Dentro de este apartado se describen los compuestos intermedios derivados de 3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituídos.

La **Tabla 4.21** muestra los datos de desplazamiento químico (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de los espectros de 1H -RMN de los compuestos intermedios **191**, **193** y **195** que están provistos de sustituyentes R_3 alquilo y bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado como disolvente.

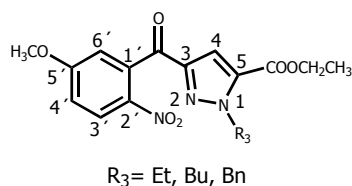
Las diferencias más significativas de los espectros que aquí se comentan se encuentran a campo alto donde aparecen las señales correspondientes a los diferentes sustituyentes R_3 . Por el contrario, los valores de desplazamiento químico de los átomos de hidrógeno del anillo aromático, el grupo metoxilo, el anillo de pirazol y el grupo etoxicarbonilo apenas sufren variación.

Los átomos de hidrógeno aromáticos, H-3', H-4' y H-6' resuenan de la siguiente forma: la señal del átomo H-3' en los diferentes compuestos resuena entre δ 8.13 y 8.16 ppm como consecuencia del efecto desapantallante que ejerce el grupo nitro en posición 2' del anillo aromático; la señal aparece como doblete, con una constante de acoplamiento $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz. En todos los compuestos se observa un doblete alrededor de $\delta = 7.05$ ppm correspondiente al hidrógeno aromático H-4', debido al acoplamiento con H-3' y H-6'. El hidrógeno H-6' resuena alrededor de δ 6.98 ppm como doblete con una constante de acoplamiento en torno a $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz. El grupo metoxilo aparece como singlete en torno a δ 3.91 ppm.

El único hidrógeno de pirazol es el de la posición cuatro y, debido a que está contenido en un anillo aromático, resuena en la zona donde lo hacen los protones aromáticos. Así, H-4 resuena como singlete a un desplazamiento que oscila de 7.43 a 7.49 ppm. Como la posición cinco del pirazol, a diferencia del **Grupo A** de las pirazolininas, no es un centro quiral, el sustituyente etoxicarbonilo existente en esa posición no tiene protones diasterotópicos, por lo que su grupo metileno resuena como cuadruplete entre 4.29 y 4.34 ppm y el metilo como triplete entre 1.37 y 1.31 ppm, con una $J = 7.1$ Hz. El grupo metoxilo del anillo bencénico resuena como singlete alrededor de 3.91 ppm.

Cabe destacar, finalmente, la aparición de los protones correspondientes al metileno del grupo bencilo, que al no existir centro quiral en sus proximidades, aparecen como un singlete a 5.66 ppm. Las señales de los hidrógenos contenidos en R_3 resuenan a campo alto (excepto cuando $R_3 = \text{Bn}$).

Tabla 4.21.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN en los compuestos intermedios **191**, **193** y **195**.



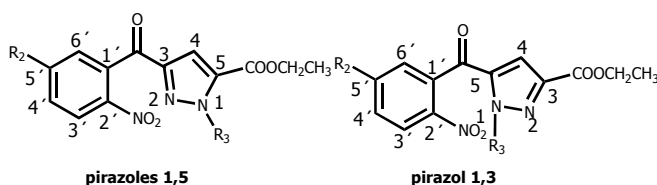
	191 δ (ppm) J (Hz)	193 δ (ppm) J (Hz)	195 δ (ppm) J (Hz)
H-3'	8.13 (d) $J_{3'-4'} = 9.1$	8.15 (d) $J_{3'-4'} = 9.1$	8.16 (d) $J_{3'-4'} = 9.1$
H-4	7.43 (s)	7.45 (s)	7.49 (s)
H-4'	7.05 (dd) $J_{4'-3'} = 9.1$ $J_{4'-6'} = 2.8$	7.06 (dd) $J_{4'-3'} = 9.1$ $J_{4'-6'} = 2.8$	7.06 (dd) $J_{3'-4'} = 9.1$ $J_{4'-6'} = 2.7$
H-6'	6.99 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$	6.97 (d) $J_{6'-4'} = 2.8$	6.98 (d) $J_{6'-4'} = 2.7$
CH_2CH_3	4.51 (c) $J = 7.2$	1.23 (m)	-
$-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	4.34 (c) $J = 7.1$	4.35 (c) $J = 7.1$	4.29 (c) $J = 7.1$
$-\text{OCH}_3$	3.91 (s)	3.92 (s)	3.91 (s)
$-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	1.31 (2t) $J = 7.1$ $J = 7.2$	1.37 (t) $J = 7.1$	1.31 (t) $J = 7.1$
$-\text{CH}_3$		0.88 (t) $J = 7.3$	-
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-	1.72 (m)	-
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-	4.47 (t) $J = 7.3$	-
H-3, H-4 y H-5 _{Bn}	-	-	7.26 (m)
H-2, H-6 _{Bn}	-	-	7.12 (m)
$-\text{CH}_2-$	-	-	5.66 (s)

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los compuestos **191**, **193** y **195** están recogidos en la **Tabla 4.22** donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se extrapolaron los resultados obtenidos de los estudios realizados al compuesto **193** ($^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMQC). En todos los espectros el valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 186 ppm) se corresponde con el carbonilo (Ph-CO-).

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1'–C-6') oscilan entre δ 163 - 113 ppm. Los estudios bidimensionales facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1', C-2' y C-5') se determinaron por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³.

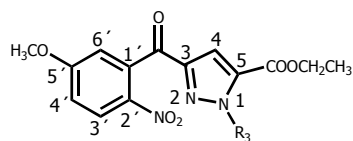
La señal del átomo de carbono C-4 del pirazol resuena en torno a δ 112 ppm. Los átomos de carbono C-3 y C-5 del pirazol se confirman también gracias a los estudios bidimensionales (¹³C/¹H tipo HMBC) realizados sobre el compuesto **195**, y resuenan a δ 148 y 133 ppm, respectivamente. Con respecto al grupo etoxicarbonilo, el carbono del grupo metileno se encuentra a δ 61 ppm y el carbono del -OCH₃ aparece a δ 56 ppm. Los valores de los desplazamientos de los átomos de carbono correspondientes a los diferentes radicales R₃ resuenan a campo alto, excepto cuando el sustituyente R₃ es un grupo bencilo.

Además, para completar la asignación de los carbonos cuaternarios C-3 y C-5 del pirazol y determinar efectivamente que se trata del 1,5 pirazol y no de su regioisómero, se ha llevado a cabo un estudio de difracción de rayos X sobre el compuesto **LC-37**, que se describe en el apartado 4.2.2.2.5, donde se puede observar que el pirazol obtenido es el regioisómero 1,5 mostrado en el **esquema 4.25**.



Esquema 4.25.- Regioisómeros del pirazol

Tabla 4.22.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **191**, **193**, **195**.



$\text{R}_3 = \text{Et, Bu, Bn}$

	191 δ (ppm)	193 δ (ppm)	195 δ (ppm)
Ph-CO-	186.72	186.79	186.78
C-5'	163.92	163.98	163.99
-COOCH ₂ CH ₃	159.14	159.14	159.01
C-3	148.34	148.26	148.72
C-2'	140.94	140.90	140.82
C-1'	137.95	138.03	137.96
C-5	133.81	134.07	134.23
C-3'	126.50	126.51	126.59
C-4'	115.57	115.60	115.64
C-6'	114.07	113.99	114.06
C-4	112.72	112.69	113.02
-COOCH ₂ CH ₃	61.52	61.49	61.59
-OCH ₃	56.24	56.23	56.25
-CH ₃	15.53	13.57	-
CH ₂ CH ₃	48.11	19.91	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	32.26	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	52.54	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.22	14.26	14.16
C-1 _{Bn}	-	-	135.94
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	128.64
C-4 _{Bn}	-	-	128.02
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	127.55
-CH ₂ -	-	-	55.91

Finalmente, en el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados.

Compuesto **191**: Calculado para $C_{16}H_{18}N_3O_6$ $(M + H)^+$ 348.119561; encontrado 348.119038 (desviación 1.5 ppm).

Compuesto **193**: Calculado para $C_{18}H_{21}N_3O_6Na$ $(M + Na)^+$ 398.132805; encontrado 398.132388 (desviación 1.0 ppm).

Compuesto **195**: Calculado para $C_{21}H_{19}N_3O_6Na$ $(M + Na)^+$ 422.117155; encontrado 432.117431 (desviación 0.6 ppm).

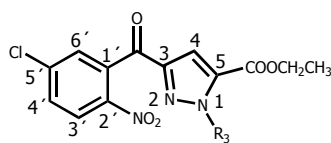
4.2.2.1.2.2.- Análisis espectroscópico de los derivados de la serie b.

Dentro de este apartado se describen los compuestos intermedios derivados de 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos.

La **Tabla 4.23** muestra los datos de desplazamiento químico (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de los espectros de 1H -RMN de los compuestos intermedios **196**, **197**, **199**, **201** y **203** que están provistos de sustituyentes R_3 alquilo y bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado como disolvente.

Las diferencias más significativas de los espectros que aquí se comentan se encuentran a campo alto donde aparecen las señales correspondientes a los diferentes sustituyentes R_3 . Por el contrario, los valores de desplazamiento químico de los átomos de hidrógeno del anillo aromático, el anillo de pirazol y el grupo etoxicarbonilo apenas sufren variación de un intermedio a otro.

Tabla 4.23. - Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **196**, **197**, **199**, **201** y **203**.



$R_3 = \text{H, Et, Bu, Bn}$

	196 δ (ppm) J (Hz)	197 δ (ppm) J (Hz)	199 δ (ppm) J (Hz)	201 δ (ppm) J (Hz)	203 δ (ppm) J (Hz)
H-1	13.71 (sa)	-	-	-	-
H-3'	8.24 (d) $J_{3'-4'} = 8.8$	8.11 (d) $J_{3'-4'} = 8.7$	8.07 (d) $J_{3'-4'} = 8.7$	8.08 (d) $J_{3'-4'} = 8.7$	8.16 (d) $J_{3'-4'} = 8.7$
H-4'	7.81 (dd) $J_{4'-3'} = 8.8$ $J_{4'-6'} = 2.3$	7.60 (dd) $J_{4'-3'} = 8.7$ $J_{4'-6'} = 2.3$	7.59 (dd) $J_{4'-3'} = 8.7$ $J_{4'-6'} = 2.3$	7.60 (dd) $J_{4'-3'} = 8.7$ $J_{4'-6'} = 2.2$	7.61 (dd) $J_{4'-3'} = 8.7$ $J_{4'-6'} = 2.3$
H-6'	7.75 (sa)	7.52 (d) $J_{6'-4'} = 2.3$	7.53 (d) $J_{6'-4'} = 2.3$	7.53 (d) $J_{6'-4'} = 2.2$	7.56 (d) $J_{6'-4'} = 2.3$
H-4	7.38 (s)	7.48 (s)	7.45 (s)	7.46 (s)	7.51 (s)
-CH ₃	-	4.10 (s)	1.33 (t) $J = 7.2$	0.87 (t) $J = 7.3$	-
CH ₂ CH ₃	-	-	4.50 (c) $J = 7.2$	1.23 (m)	-
-COOCH ₂ CH ₃	4.36 (c) $J = 7.1$	4.36 (c) $J = 7.1$	4.34 (c) $J = 7.1$	4.35 (c) $J = 7.1$	4.31 (c) $J = 7.1$
-COOCH ₂ CH ₃	1.33 (t) $J = 7.1$	1.38 (t) $J = 7.1$	1.31 (t) $J = 7.1$	1.37 (t) $J = 7.1$	1.32 (t) $J = 7.1$
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	1.69 (m)	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	4.46 (c) $J = 7.3$	-
H-3, H-4, H-5 _{Bn}	-	-	-	-	7.26 (m)
H-2, H-6 _{Bn}	-	-	-	-	7.12 (m)
-CH ₂ -	-	-	-	-	5.66 (s)

Los átomos de hidrógeno aromáticos, H-3', H-4' y H-6' aparecen de la siguiente forma: la señal del átomo H-3' de los diferentes compuestos resuena entre δ 8.07 y 8.24 ppm como consecuencia del efecto desapantallante que ejerce el grupo nitro en posición 2' del anillo aromático. La señal aparece como doblete con una constante de acoplamiento $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz. En todos los compuestos se observa un doblete alrededor de $\delta = 7.60$ ppm, correspondiente al hidrógeno aromático H-4', debido al

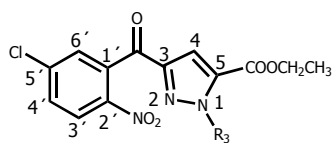
acoplamiento con H-3' y H-6'. El protón H-6' resuena en torno a δ 7.56 ppm como doblete, con una constante de acoplamiento $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz. Las diferencias más significativas se encuentran en el compuesto **196** donde $R_3=H$ apareciendo más desapantallado que el resto, al no existir el efecto apantallante que el radical en esa posición ejerce sobre la molécula. Las señales de los átomos de hidrógeno del resto de la molécula apenas sufren variación con respecto a la **serie a**.

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los compuestos **196**, **197**, **199**, **201** y **203** están recogidos en la **Tabla 4.24**. Para su asignación nos basamos en los resultados obtenidos de los estudios bidimensionales realizados sobre los compuestos **201** y **199**.

En todos los espectros el valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 185 ppm) se corresponde con el carbonilo (Ph-CO-). Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' – C-6') oscilan entre δ 125-146 ppm. Los estudios bidimensionales sobre el compuesto **199** facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1', C-2' y C-5') se determinaron por comparación con los valores estimados.

Las señales de átomos de carbonos pertenecientes a anillo de pirazol resuenan análogamente los intermedios de la **serie a**, y se confirman también gracias a los estudios bidimensionales realizados sobre el compuesto **199**. El resto de la molécula tampoco ofrece variaciones significativas. Las diferencias más significativas se encuentran en el compuesto **199** cuyo radical $R_3=H$, apareciendo más desapantallado que el resto como consecuencia de no poseer el efecto apantallante que el radical en esa posición ejerce sobre la molécula.

Tabla 4.24.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos intermedios **196**, **197**, **199**, **201** y **203**.



$R_3 = \text{H, Me, Et, Bu, Bn}$

	196 δ (ppm)	197 δ (ppm)	199 δ (ppm)	201 δ (ppm)	203 δ (ppm)
Ph-CO-	185.22	185.21	185.17	185.22	185.30
-COOCH ₂ CH ₃	158.37	159.21	159.04	159.07	158.95
C-3	151.14	147.94	147.97	147.88	148.33
C-2'	146.39	145.99	146.25	146.32	146.25
C-5'	140.05	140.79	140.64	140.64	140.80
C-1'	137.05	136.92	136.74	136.82	136.76
C-5	136.30	134.85	134.05	134.32	134.45
C-4'	131.17	130.78	130.83	130.79	130.92
C-6'	129.37	129.47	129.64	129.61	129.67
C-3'	126.02	125.51	125.40	125.42	125.35
C-4	109.10	112.57	112.75	112.69	113.10
-COOCH ₂ CH ₃	61.49	61.68	61.62	61.59	61.73
-CH ₃	-	40.58	15.26	13.53	-
CH ₂ CH ₃	-	-	48.19	19.59	-
-COOCH ₂ CH ₃	13.62	14.24	14.22	14.21	14.20
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	32.18	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	52.59	-
C-1 _{Bn}	-	-	-	-	135.76
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	-	-	128.70
C-4 _{Bn}	-	-	-	-	128.14
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	-	-	127.61
-CH ₂ -	-	-	-	-	56.01

Finalmente, en el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ y $(M + H)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **196**: Calculado para $C_{13}H_{11}N_3O_5Cl$ $(M + H)^+$; 324.038723 encontrado 324.039042 (desviación -1.0 ppm).

Compuesto **197**: Calculado para $C_{14}H_{12}N_3O_5ClNa$ $(M + Na)^+$ 360.036318; encontrado 360.036142 (desviación 0.5 ppm).

Compuesto **199**: Calculado para $C_{15}H_{14}N_3O_5ClNa$ $(M + Na)^+$ 374.051968; encontrado 374.052214 (desviación -0.7 ppm).

Compuesto **201**: Calculado para $C_{17}H_{18}N_3O_5ClNa$ $(M + Na)^+$ 402.083268; encontrado 402.082714 (desviación 1.4 ppm).

Compuesto **203**: Calculado para $C_{20}H_{16}N_3O_5ClNa$ $(M + Na)^+$ 436.067618; encontrado 436.067075 (desviación 1.2 ppm).

4.2.2.1.2.3.- Análisis espectroscópico de los derivados de la serie c.

La **Tabla 4.25** muestra los datos de desplazamiento químico y constantes de acoplamiento de los espectros de 1H -RMN para los compuestos intermedios **205**, **207** y **209** que están provistos de sustituyentes R_3 alquilo y bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado como disolvente. Dentro de esta serie se presentan los compuestos intermedios derivados de 3-(2'-nitrobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos.

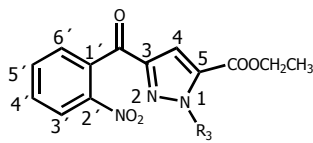
En esta serie existen cuatro hidrógenos en el anillo aromático, ya que no hay sustituyente en posición 5', por tanto el patrón de acoplamiento para los hidrógenos aromáticos de los productos de las series anteriores no es válido con estos derivados. En estos compuestos los protones del anillo aromático fenílico constituyen un sistema de acoplamiento ABCD. El sistema debe constar de 32 señales; sin embargo, en casi todos los compuestos consta de menos, puesto que los protones H-3' y H-6' se comportan como dobles dobles en vez de dobles dobles dobles, puesto que el acoplamiento a larga distancia entre ellos es muy pequeño y no se aprecia en los espectros. Además, los

protones H-4' y H-5' tampoco se muestran como dobles dobles dobletes sino como pseudodobles tripletes, ya que las constantes de acoplamiento con los hidrógenos vecinales son muy parecidas, colapsando las señales y haciendo que en el espectro se observen 6 señales en lugar de 8, como correspondería (Ver **Figura 4.13**).

A continuación se describen los átomos de hidrógeno del fenilo uno por uno. El átomo de hidrógeno que resuena a campo más bajo es el H-3' (en torno a 8.12 ppm) como consecuencia del efecto desapantallante que ejerce el grupo nitro en posición 2'; éste se muestra como un doble doblete por el acoplamiento con H-4' y H-5', con valores de $J_{3'-4'}$ de 8.1 Hz y de $J_{3'-5'}$ alrededor de 1.1 Hz. El protón H-5' debe de aparecer como un doble doblete (ddd) pero en realidad aparece en forma de pseudodoble triplete (pdt), debido a que los valores de $J_{5'-6'}$ y $J_{5'-4'}$ son parecidos (7.5 y 7.7 Hz). Lo mismo sucede en el caso de H-4'. A continuación resuena H-6', en forma de doble doblete, alrededor de 7.59 ppm debido al acoplamiento con H-5' y H-4'.

Las señales de los átomos de hidrógeno del pirazol, del resto etoxicarbonilo y de los diferentes radicales R₃ no ofrecen variación significativa con respecto a los derivados de las anteriores series.

Tabla 4.25. - Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos intermedios **205**, **207** y **209**.



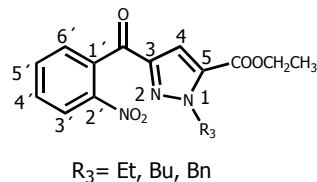
$R_3 = \text{Et, Bu, Bn}$

	205		207		209	
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)
H-3'	8.12 (dd)	$J_{3'-4'} = 8.1$ $J_{3'-5'} = 1.1$	8.12 (dd)	$J_{3'-4'} = 8.1$ $J_{3'-5'} = 1.2$	8.15 (dd)	$J_{3'-4'} = 8.1$ $J_{3'-5'} = 1.0$
H-5'	7.75 (pdt)	$J_{5'-6'} = 7.5$ $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-3'} = 1.1$	7.75 (pdt)	$J_{5'-6'} = 7.4$ $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-3'} = 1.2$	7.76 (pdt)	$J_{5'-6'} = 7.5$ $J_{5'-4'} = 7.7$ $J_{5'-3'} = 1.0$
H-4'	7.65 (pdt)	$J_{4'-3'} = 8.1$ $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-6'} = 1.6$	7.65 (pdt)	$J_{4'-3'} = 8.1$ $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-6'} = 1.5$	7.66 (pdt)	$J_{4'-3'} = 8.1$ $J_{4'-5'} = 7.7$ $J_{4'-6'} = 1.5$
H-6'	7.59 (dd)	$J_{6'-5'} = 7.5$ $J_{6'-4'} = 1.6$	7.58 (dd)	$J_{6'-5'} = 7.4$ $J_{6'-4'} = 1.5$	7.60 (dd)	$J_{6'-5'} = 7.5$ $J_{6'-4'} = 1.5$
H-4	7.45 (s)		7.46 (s)		7.51 (s)	
CH_2CH_3	4.51 (c)	$J = 7.2$	1.23 (m)		-	
$-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	4.35 (c)	$J = 7.1$	4.34 (c)	$J = 7.1$	4.30 (c)	$J = 7.1$
$-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	1.37(t)	$J = 7.1$	1.37(t)	$J = 7.1$	1.32 (t)	$J = 7.1$
$-\text{CH}_3$	1.34 (t)	$J = 7.2$	0.87 (t)	$J = 7.2$	-	
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-		1.71 (m)		-	
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-		4.46 (t)	$J = 7.2$	-	
H-3, H-4 y H-5 _{Bn}	-		-		7.26 (m)	
H-2, H-6 _{Bn}	-		-		7.12 (m)	
$-\text{CH}_2-$	-		-		5.66 (s)	

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los compuestos **205**, **207** y **209** están recogidos en la **Tabla 4.26** donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. En todos los espectros el valor de la señal que aparece a campo más bajo (δ 186 ppm) se corresponde con el carbonilo (Ph-CO-).

	205 δ (ppm)	207 δ (ppm)	209 δ (ppm)
Ph-CO-	186.74	186.82	186.84
-COOCH ₂ CH ₃	159.14	159.19	159.02
C-3	148.38	148.29	148.76
C-2'		148.17	148.08
C-1'	135.27	135.35	135.90
C-5	133.84	134.14	134.29
C-5'		133.88	133.96
C-4'	130.93	130.90	130.96
C-6'	129.61	129.57	129.58
C-3'	123.91	123.94	124.02
C-4	112.73	112.69	113.05
-COOCH ₂ CH ₃	61.54	61.51	61.61
-CH ₃	15.26	13.56	-
CH ₂ CH ₃	48.10	19.61	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	32.20	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	52.54	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.22	14.22	14.17
C-1 _{Bn}	-	-	135.33
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	128.64
C-4 _{Bn}	-	-	128.05
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	127.59
-CH ₂ -	-	-	55.95

Tabla 4.26.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ¹³C-RMN de los compuestos intermedios **205, 207, 209**.



Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1'–C-6') oscilan entre δ 123 - 148 ppm. Los estudios bidimensionales facilitaron la asignación de los carbonos C-3', C-4' y C-6'. El resto de los carbonos del anillo aromático (C-1', C-2' y C-5') se determinaron por comparación con los valores estimados¹³. La asignación de los otros carbonos no ofrece variaciones significativas con respecto a las series anteriores y su determinación se realizó gracias a los estudios bidimensionales y rayos X .

En cuanto a el HR LSIMS existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ y $(M + H)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados.

Compuesto **205**: Calculado para $C_{15}H_{15}N_3O_5Na$ $(M + Na)^+$ 340.090941; encontrado 340.090904 (desviación 0.1 ppm).

Compuesto **207**: Calculado para $C_{17}H_{20}N_3O_5$ $(M + H)^+$ 346.140296; encontrado 346.140677 (desviación -1.1 ppm).

Compuesto **209**: Calculado para $C_{20}H_{17}N_3O_5Na$ $(M + Na)^+$ 402.106591; encontrado 402.106448 (desviación 0.4 ppm).

4.2.2.1.2.4.- Estudio espectroscópico de los compuestos 195 y 197.

Los compuestos **195** y **197** han sido utilizados como modelos de referencia dentro de la familia pirazólica (en concreto para los compuestos del **Grupo B**) para la realización de diversos experimentos:

A) Cuando se irradia los protones $-CH_2CH_3$ no aparece el efecto NOE positivo con H-6' bencénico, lo que sugiere una estructura del tipo de la representada en la **Figura 4.18**.

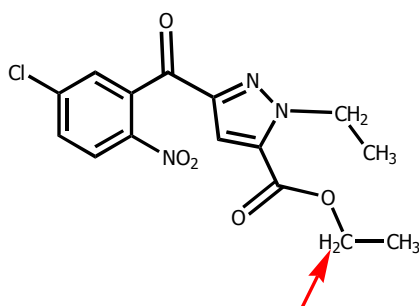


Figura 4.18.- Irradiación del metileno del etilo.de **197**. Se ha marcado con una flecha de color rojo el átomo irradiado.

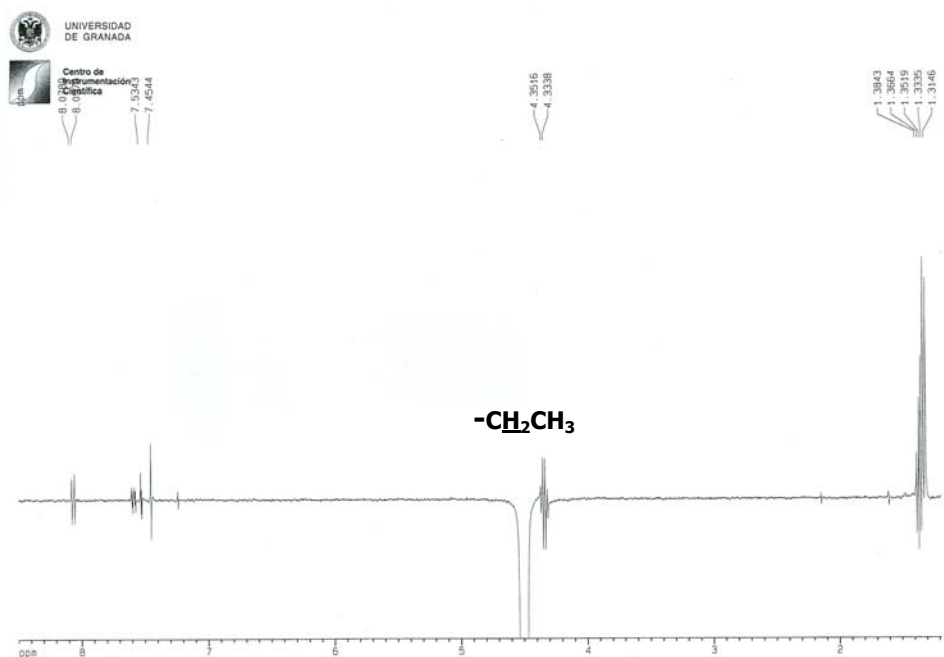


Figura 4.19.-Experimento NOE del compuesto **197**.

B) En el compuesto **195** se llevó a cabo un estudio de RMN basado en una correlación ¹³C/¹H HMQC (**Figura 4.20**) para identificar inequívocamente los desplazamientos de los carbonos C-3', C-4', C-6' y C-4, así como los carbonos del anillo bencénico y pirazólico.

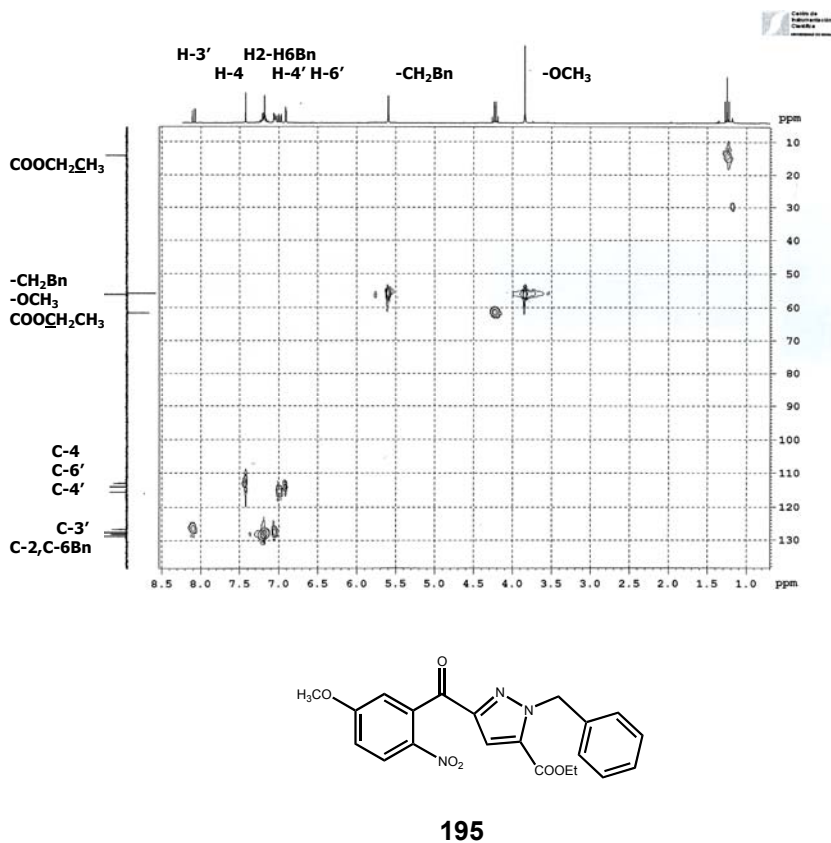


Figura 4.20.- Estudio de HMQC del compuesto **195**.

C) En el compuesto **197**, por último, se ha llevado a cabo un estudio de RMN basado en una correlación a larga distancia $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMBC (Figura 4.21) para identificar inequívocamente los desplazamientos de los carbonos C-3 y C-5 del pirazol.

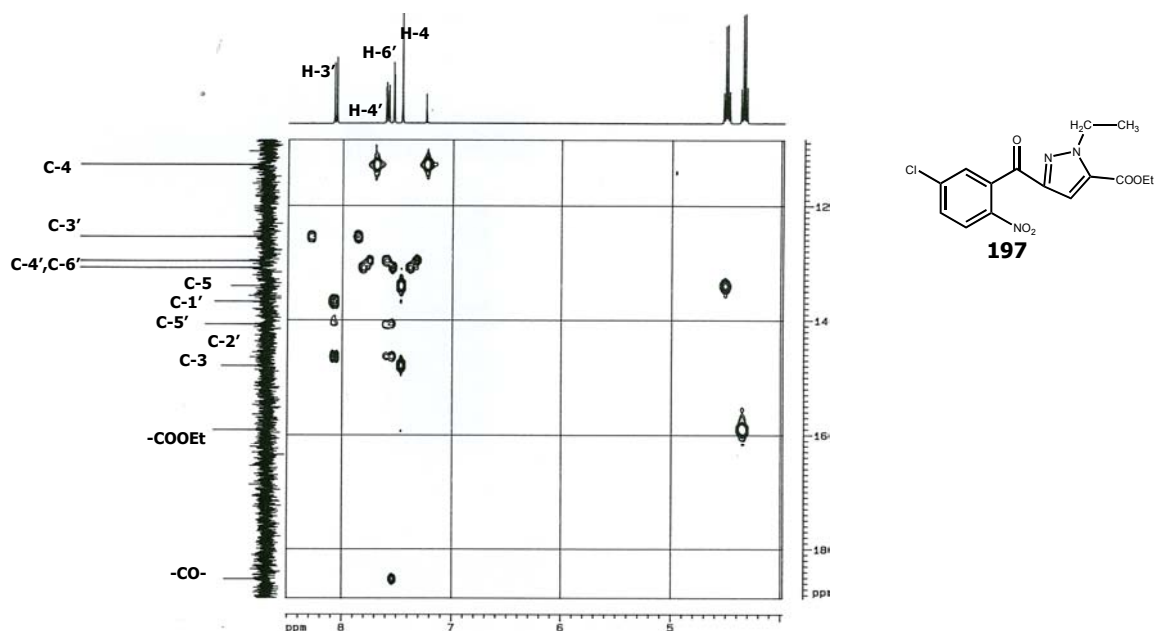


Figura 4.21.- Estudio de HMBC del compuesto 197.

El experimento de RMN sirve para situar los carbonos cuaternarios del pirazol y observar qué protones se correlacionan con él. Los núcleos de carbono que aparecen a 147 y 134 ppm se correlacionan con el protón H-4 del anillo pirazólico, por consiguiente estos carbonos corresponden a C-3 y C-5 de dicho anillo. Además el protón correspondiente al grupo metileno del etilo en posición uno, se correlaciona con el núcleo de carbono que aparece a 134 ppm; esto hace suponer que dicho carbono es el C-5 puesto que está más cerca del radical etilo; mientras que el carbono C-3 sería por tanto el otro que aparece a 147 ppm. El carbono que resuena a campo más bajo corresponde con el del carbonilo del grupo cetónico, ya que se correlaciona con H-6'. El siguiente carbono cuaternario debe ser el del éster pues se correlaciona con el grupo metilo. Los carbonos del anillo bencénico también dan correlaciones con sus correspondientes protones, que confirman las asignaciones hechas mediante las tablas de bencenos polisustituídos¹³.

4.2.2.2.- Compuestos finales de familias pirazólicas y pirazolínicas.

El análisis espectroscópico de los veinte compuestos finales de estas familias se ha dividido en dos **Grupos (A y B)** y cada uno de ellos en las diferentes **series (a, b y c)** tal y como se han mencionado en las consideraciones generales.

4.2.2.2.1.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes al Grupo A.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos finales **LC-23 – LC-32**, derivados de 5-(2'-amino-5'-benzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituídos.

4.2.2.2.1.1.- Productos pertenecientes a la serie a.

Dentro de esta serie aparecen los compuestos finales **LC-23 – LC-25**, derivados de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituídos.

Los datos espectroscópicos de ^1H -RMN, tanto los desplazamientos químicos (δ , ppm) como las constantes de acoplamiento (J , Hz) se muestran resumidos en la **Tabla 4.27**, donde se incluyen los compuestos **LC-23 – LC-25**, que se caracterizan porque el resto que se sitúa en posición uno de la pirazolina contiene sustituyentes de naturaleza *n*-alquílica o bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado y son concordantes con las estructuras propuestas.

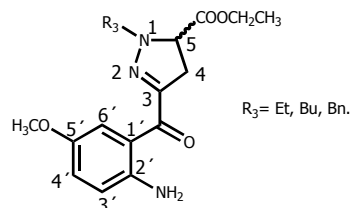
La ausencia del grupo nitro, el cual ha sido reducido hasta amino en los compuestos finales, conduce a la pérdida del efecto desapantallante. Las señales de los átomos H-3' en los diferentes compuestos resuenan a δ entre 6.60 y 6.61 ppm, apareciendo como doblete con una constante de acoplamiento con H-4' de 8.9 Hz y no a campo tan bajo como sus intermedios precedentes. En el caso de H-4', se vuelve a observar un doblete ($\delta = 6.93$ ppm) debido al acoplamiento con H-3' y H-6'. Los

hidrógenos H-6' resuenan en torno a 8.06 ppm como doblete y con una constante de acoplamiento $J_{6'-4'} = 3.0$ Hz.

La señal de los hidrógenos de la amina aromática (-NH₂) no aparece en el compuesto **LC-25**, esto puede ser debido a que la señal sea demasiado ancha. En el resto de los compuestos aparece entre 5.60 y 5.72 ppm y se muestra como un singlete ancho. Las señales de los átomos de hidrógeno de la pirazolina apenas sufren variación con respecto a sus intermedios sintéticos.

Con respecto a los átomos de hidrógeno del grupo etoxicarbonilo cabe destacar que los hidrógenos del grupo metileno son diastereotópicos por la influencia del centro quiral de la posición cinco de la pirazolina, pero como ocurría en sus intermedios precedentes, no se muestran a diferente desplazamiento químico (anisocronía) y en todos los derivados aparecen como un cuadruplete a δ 4.25 ppm con una constante de acoplamiento de 7.1 Hz. La señal del grupo CH₃ del grupo etoxicarbonilo aparece alrededor de δ 1.30 ppm como triplete.

Tabla 4.27. - Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos finales **LC-23** – **LC-25**.

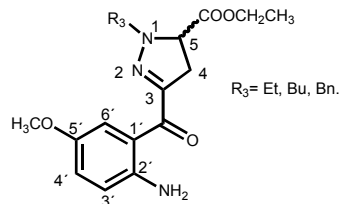


	LC-23		LC-24		LC-25	
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)
H-6'	8.06 (d)	$J_{6'-4'} = 3.0$	8.05 (d)	$J_{6'-4'} = 2.9$	8.06 (d)	$J_{6'-4'} = 3.0$
H-4'	6.93 (dd)	$J_{4'-3'} = 8.9$ $J_{4'-6'} = 3.0$	6.92 (dd)	$J_{4'-3'} = 8.9$ $J_{4'-6'} = 2.9$	6.93 (dd)	$J_{4'-3'} = 8.9$ $J_{4'-6'} = 3.0$
H-3'	6.61 (d)	$J_{3'-4'} = 8.9$	6.60 (d)	$J_{3'-4'} = 8.9$	6.60 (d)	$J_{3'-4'} = 8.9$
-NH ₂	5.72 (sa)		5.60 (sa)		-	
-COOCH ₂ CH ₃	4.25 (c)	$J = 7.1$	4.25 (c)	$J = 7.1$	4.19 (c)	$J = 7.2$
H-5	4.17 (pt)	$J_{5-4a} = 12.2$ $J_{5-4b} = 12.0$	4.20 (pt)	$J_{5-4a} = 12.3$ $J_{5-4b} = 11.6$	4.08 (pt)	$J_{5-4a} = 12.3$ $J_{5-4b} = 11.5$
-OCH ₃	3.75 (s)		3.74 (s)		3.64 (s)	
H-4a	3.40 (m)		3.38 (m)		3.43 (dd)	$J_{4a-4b} = 17.4$ $J_{4a-5} = 12.3$
H-4b					3.31 (dd)	$J_{4b-4a} = 17.4$ $J_{4b-5} = 11.5$
CH ₂ CH ₃			1.40 (m)		-	
-COOCH ₂ CH ₃	1.30 (t)	$J = 7.1$	1.30 (t)	$J = 7.1$	1.28 (t)	$J = 7.2$
-CH ₃	1.30 (t)	$J = 7.2$	0.92 (t)	$J = 7.3$	-	
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-		1.70 (m)		-	
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-		3.38 (m)		-	
H-2 – H-6 _{Bn}	-		-		7.31 (m)	
Ha _{CH2}	-		-		4.78 (d)	$J = 14.4$
Hb _{CH2}	-		-		4.50 (d)	$J = 14.4$

En cuanto a los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los derivados **LC-23** a **LC-25** están recogidos en la **Tabla 4.28**. Para su asignación se llevaron a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMQC Y HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN).

	LC-23 δ (ppm)	LC-24 δ (ppm)	LC-25 δ (ppm)
Ph-CO-	187.17	187.14	187.15
-COOCH ₂ CH ₃	170.65	170.62	170.37
C-5'	150.15	150.17	150.23
C-3	147.22	146.64	147.73
C-2'	145.34	145.22	145.37
C-4'	123.11	123.08	123.23
C-3'	118.22	118.26	118.43
C-1'	118.12		118.07
C-6'	115.81	115.75	115.87
C-5	65.59	65.96	64.49
-COOCH ₂ CH ₃	61.74	61.73	61.74
-OCH ₃	56.80	55.76	55.79
CH ₂ CH ₃	46.73	20.19	-
C-4	36.90	36.79	36.87
-COOCH ₂ CH ₃	14.24	14.25	14.21
-CH ₃	12.82	13.87	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	29.92	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	52.83	-
C-1 _{Bn}	-	-	135.85
C-2 y C-6 _{Bn}	-	-	129.11
C-3 y C-5 _{Bn}	-	-	128.11
C-4 _{Bn}	-	-	127.95
-CH ₂ -	-	-	57.07

Tabla 4.28.- Desplazamientos químicos (δ, ppm) de ¹³C-RMN de los compuestos finales LC-23– LC-25.



En todos los espectros de ¹³C-RMN; al igual que en sus intermedios precedentes, la señal que aparece a campo más bajo (δ 187 ppm) se corresponde con el carbonilo (Ph-CO-) y a continuación aparecen el carbonilo del éster a δ 170 ppm.

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1'–C-6') oscilan entre δ 115 y 150 ppm; entre ellos los carbonos terciarios (C-3', C-4' y C-6') se asignaron gracias a los estudios bidimensionales realizados por nuestro grupo de investigación con

anterioridad y el resto de ellos (C-1', C-2' y C-5') por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad.

Las señales de los átomos de carbono del resto de la molécula (anillo de pirazolina, grupo metoxilo, grupo etoxicarbonilo y los diferentes radicales R₃) no sufren apenas variación con respecto a sus intermedios. También se observa que el hecho de introducir modificaciones en el sustituyente que se encuentra en posición uno de la pirazolina, no afecta a los valores de desplazamiento químico del resto de los carbonos de la estructura general, ya que sufren sólo variaciones mínimas.

En el HR LSIMS de estos tres compuestos finales (**LC-23** – **LC-25**) existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas (M + Na)⁺ y (M + H)⁺ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **LC-23**: Calculado para C₁₆H₂₂N₃O₄ (M + H)⁺ 320.161031; encontrado 320.160342 (desviación 2.2 ppm).

Compuesto **LC-24**: Calculado para C₁₈H₂₅N₃O₄Na (M + Na)⁺ 370.174276; encontrado 370.174310 (desviación -0.1 ppm).

Compuesto **LC-25**: Calculado para C₂₁H₂₃N₃O₄Na (M + Na)⁺ 404.158626; encontrado 404.159030 (desviación -1.0 ppm).

4.2.2.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos finales **LC-26** – **LC-28**, derivados de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos.

Los datos de desplazamiento químico (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de los espectros de ¹H-RMN se muestran en la **Tabla 4.29**. Al igual que en la **serie a**, en la **Tabla 4.29** se incluyen los compuestos que se caracterizan por tener sustituyentes R₃ de naturaleza n-alquílica y bencilo. Todos estos espectros se han

realizado utilizando cloroformo deuterado como disolvente y sus datos están de acuerdo con las estructuras propuestas.

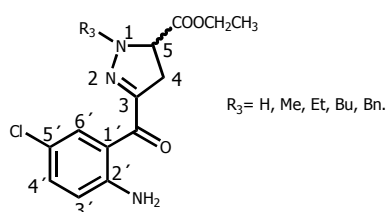
La asignación de los átomos de hidrógeno aromáticos (H-3', H-4' y H-6') es la siguiente: los átomos H-3' de los diferentes compuestos, debido a la ausencia del grupo nitro que conduce a la pérdida del efecto desapantallante, aparecen a 6.58 ppm, y no a campo tan bajo como en sus intermedios precedentes. La señal aparece como doblete con una constante de acoplamiento con H-4' de 8.8 Hz. Los átomos H-6' resuenan a δ entre 8.39 y 8.41 ppm como doblete, con una constante de acoplamiento de 2.5 Hz. El protón H-4' aparece como un doblete (δ entre 7.16 y 7.19 ppm) debido al acoplamiento con los hidrógenos H-3' y H-6'. La señal de los hidrógenos de la amina aromática aparece a δ alrededor de 5.95 ppm como un singlete ancho.

Las señales de los átomos de hidrógeno de la pirazolina sí sufren variación con respecto a los intermedios de la **serie b**. Los átomos de hidrógeno en posición cuatro, aunque son diastereotópicos por la influencia del centro quiral, no siempre se muestran a diferente desplazamiento químico; así en **LC-29**, donde R₃ es bencilo, aparecen como un doblete a δ 3.30 ppm y a 4.22 ppm, aproximadamente, aparece la señal del protón en posición cinco, como un triplete, con una constante de acoplamiento de 12.5 Hz con H-4.

Por último, cabe destacar, el compuesto **LC-26** que no se encuentra sustituido en la posición uno, en el que aparece a 6.90 ppm una señal como singlete ancho correspondiente al -NH- del pirazol.

Las señales de los diferentes radicales R₃ resuenan a campo alto (excepto el bencilo) y apenas sufren variación significativa con respecto a sus intermedios sintéticos.

Tabla 4.29. - Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos finales **LC-26** – **LC-29**.



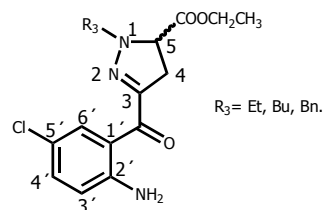
	LC-26 δ (ppm) J (Hz)	LC-27 δ (ppm) J (Hz)	LC-28 δ (ppm) J (Hz)	LC-29 δ (ppm) J (Hz)
H-6'	8.41 (d) $J_{6'-4'} = 2.3$	8.41 (d) $J_{6'-4'} = 2.5$	8.40 (d) $J_{6'-4'} = 2.6$	8.39 (d) $J_{6'-4'} = 2.5$
H-4'	7.17 (dd) $J_{4'-3'} = 8.8$ $J_{4'-6'} = 2.3$	7.16 (dd) $J_{4'-3'} = 8.8$ $J_{4'-6'} = 2.5$	7.16 (dd) $J_{4'-3'} = 8.8$ $J_{4'-6'} = 2.6$	7.19 (dd) $J_{4'-3'} = 8.8$ $J_{4'-6'} = 2.5$
H-1	6.90 (sa)	-	-	-
H-3'	6.58 (d) $J_{3'-4'} = 8.8$	6.58 (d) $J_{3'-4'} = 8.8$	6.58 (d) $J_{3'-4'} = 8.8$	6.59 (d) $J_{3'-4'} = 8.8$
-NH ₂	6.05 (sa)	5.96 (sa)	5.93 (sa)	5.96 (sa)
H-5	4.42 (dd) $J_{5-4a} = 12.4$ $J_{5-4b} = 5.4$	4.22 (pt) $J_{5-4a} = 12.8$ $J_{5-4b} = 11.2$	4.23 (pt) $J_{5-4a} = 12.8$ $J_{5-4b} = 11.0$	4.08 (t) $J_{5-4} = 12.5$
-COOCH ₂ CH ₃	4.22 (c) $J = 7.1$	4.25 (c) $J = 7.1$	4.25 (c) $J = 7.1$	4.21 (c) $J = 7.1$
H-4a	3.44 (dd) $J_{4a-4b} = 17.6$ $J_{4a-5} = 5.4$	3.75 (m)	3.39 (m)	3.30 (d) $J_{4-5} = 12.5$
H-4b	3.29 (dd) $J_{4b-4a} = 17.6$ $J_{4b-5} = 12.4$			
CH ₂ CH ₃	-	-	1.42 (m)	-
-CH ₃	-	1.29 (t) $J = 7.2$	0.96 (t) $J = 7.3$	-
-COOCH ₂ CH ₃	1.27 (t) $J = 7.1$	1.31 (t) $J = 7.1$	1.31 (t) $J = 7.1$	1.29 (t) $J = 7.1$
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	1.70 (m)	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	3.39 (m)	-
H-2 – H-6 _{Bn}	-	-	-	7.35 (m)
Ha _{CH2}	-	-	-	4.85 (d) $J = 14.5$
Hb _{CH2}	-	-	-	4.53 (d) $J = 14.5$

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los derivados **LC-26** a **LC-29** están recogidos en la **Tabla 4.3**. Para su asignación se llevaron a cabo estudios de resonancia

bidimensional de tipo HMQC y HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) realizados con anterioridad por nuestro grupo de investigación.

	LC-26 δ (ppm)	LC-27 δ (ppm)	LC-28 δ (ppm)	LC-29 δ (ppm)
Ph <u>C</u> O-	187.25	186.69	186.63	187.03
- <u>C</u> OOCH ₂ CH ₃	171.86	170.49	170.48	170.15
C-3	150.70	148.91	148.82	148.93
C-2'	149.30	146.11	145.44	146.81
C-4'	134.16	133.53	133.42	133.70
C-6'	132.90	133.00	133.01	133.02
C-5'	120.42	120.36	120.37	120.42
C-1		118.13	118.98	118.74
C-3'	118.21	118.86	118.11	118.15
C-5	60.52	65.39	65.76	64.11
-COO <u>C</u> H ₂ CH ₃	62.15	61.82	61.81	61.82
C-4	35.44	36.55	36.42	36.39
<u>C</u> H ₂ CH ₃	-	47.57	20.19	-
-CH ₃	-	12.79	13.85	-
CH ₂ <u>C</u> H ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	29.86	-
<u>C</u> H ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	52.50	-
-COOCH ₂ <u>C</u> H ₃	14.19	14.24	14.24	14.21
C-1 _{Bn}	-	-	-	135.19
C-2 , C-6 _{Bn}	-	-	-	129.47
C-3 , C-5 _{Bn}	-	-	-	128.81
C-4 _{Bn}	-	-	-	128.14
-CH ₂ -	-	-	-	56.87

Tabla 4.30.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos finales **LC-26– LC-29**.



En todos los espectros de ^{13}C -RMN, al igual que en sus intermedios precedentes, la señal que aparece a campo más bajo (δ 186 a 187 ppm) se corresponde con el carbonilo cetónico y la señal del carbonilo del éster aparece entre δ 170 y 171 ppm.

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' – C-6') oscilan entre δ 118 y 149 ppm; de ellos los carbonos terciarios (C-3', C-4' y C-6') se asignaron gracias a los estudios bidimensionales y el resto (C-1', C-2' y C-5') por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³.

Las señales del resto de la molécula (anillo de pirazolina, grupo etoxicarbonilo y los diferentes radicales R_3) no sufren apenas variación con respecto a sus intermedios anteriores.

Aquí también se observa que el hecho de introducir modificaciones en la posición uno de la pirazolina, no afecta a los valores del desplazamiento químico del resto de los carbonos de la estructura general, ya que sufren sólo variaciones mínimas.

En el HR LSIMS de estos cuatro compuestos finales (**LC-26** – **LC-29**) existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **LC-26**: Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3\text{ClNa}$ ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ 318.062139; encontrado 318.061852 (desviación 0.9 ppm).

Compuesto **LC-27**: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_3\text{ClNa}$ ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ 346.093439; encontrado 346.093268 (desviación 0.5 ppm).

Compuesto **LC-28**: Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3\text{ClNa}$ ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ 374.124739; encontrado 374.124996 (desviación -0.7 ppm).

Compuesto **LC-29**: Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3\text{Cl}$ ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ 408.109089; encontrado 408.108772 (desviación 0.8 ppm).

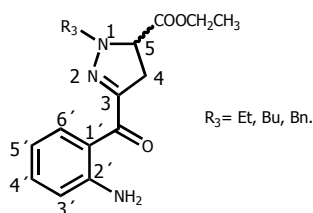
4.2.2.2.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos finales **LC-30** – **LC-32**, derivados de 3-(2'-aminobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituídos. Los datos espectroscópicos de $^1\text{H-RMN}$, se muestran resumidos en la **Tabla 4.31**. En la Tabla se incluyen los compuestos **LC-30** – **LC-32**, que se caracterizan porque la posición uno de la pirazolina contiene sustituyentes de naturaleza n-alquílica o bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado y son concordantes con las estructuras propuestas.

Los átomos de hidrógeno aromáticos (H-3', H-4', H-5' y H-6') constituyen un sistema de acoplamiento tipo ABCD. La asignación de cada uno de ellos es la siguiente: los átomos H-6' en los diferentes compuestos aparecen a δ entre 8.34 y 8.40 ppm, apareciendo como dobles dobles, con constantes de acoplamiento $J_{6'-5'}$ en torno a 8.2 Hz y $J_{6'-4'}$ alrededor de 1.6 Hz. El hidrógeno aromático H-4' sale como un ddd en el compuesto **LC-30**; sin embargo, en el compuesto **LC-31**, aparece como pseudodoble triplete, ya que dos de las señales han colapsado en el centro del sistema apareciendo en los espectros seis señales (Ver **Figura 4.13**), siendo el valor de $J_{4'-3'}$ de 8.4 Hz y el de $J_{4'-5'}$ de 7.3 Hz. Por último, en el compuesto **LC-32**, las señales de H-4' aparecen colapsada con las señales correspondientes al anillo bencílico siendo imposible su asignación. Las señales H-5' y H-3' también aparecen unidas y se expresan como multiplete δ entre 6.64 y 6.67, debido a que ha desaparecido el efecto desantallante que el grupo nitro ejerce sobre el protón H-3', pues este grupo nitro se ha reducido.

La señal de los hidrógenos de la amina aromática ($-\text{NH}_2$) aparece entre 5.94 y 5.95 ppm y se muestra como un singlete ancho, excepto en el derivado **LC-32** donde no se aprecia esta banda. El resto de las señales no ofrecen variación significativa con respecto a las que presentan sus derivados intermedios.

Tabla 4.31.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos finales **LC-30** – **LC-32**.



	LC-30 δ (ppm) J (Hz)	LC-31 δ (ppm) J (Hz)	LC-32 δ (ppm) J (Hz)
H-6'	8.35 (dd) $J_{6'-5'} = 8.2$ $J_{6'-4'} = 1.6$	8.34 (dd) $J_{6'-5'} = 8.4$ $J_{6'-4'} = 1.6$	8.40 (dd) $J_{6'-5'} = 8.1$ $J_{6'-4'} = 1.5$
H-4'	7.23 (ddd) $J_{4'-3'} = 8.4$ $J_{4'-5'} = 7.2$ $J_{4'-6'} = 1.6$	7.22 (pdt) $J_{4'-3'} = 8.4$ $J_{4'-5'} = 7.3$ $J_{4'-6'} = 1.6$	7.30(m)
H-3'	6.64 (m)	6.64 (m)	6.67 (m)
H-5'			
-NH ₂	5.95 (sa)	5.94 (sa)	-
H-5	4.18 (dd) $J_{5-4a} = 12.5$ $J_{5-4b} = 11.5$	4.21 (m)	4.05 (pt) $J_{5-4a} = 12.3$ $J_{5-4b} = 12.2$
-COOCH ₂ CH ₃	4.25 (c) $J = 7.1$		4.17 (c) $J = 7.1$
H-4a	3.41 (m)	3.37 (m)	3.38 (dd) $J_{4a-4b} = 17.3$ $J_{4a-5} = 12.3$
H-4b			3.29 (dd) $J_{4b-4a} = 17.3$ $J_{4b-5} = 12.2$
CH ₂ CH ₃		1.40 (m)	-
-COOCH ₂ CH ₃	1.31 (t) $J = 7.1$	1.30 (t) $J = 7.1$	1.27 (t) $J = 7.2$
-CH ₃	1.27 (t) $J = 7.3$	0.93 (t) $J = 7.3$	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	1.66 (m)	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	3.37 (m)	-
H-2- H-6 _{Bn}	-	-	7.30 (m)
-H _a CH ₂	-	-	4.82 (d) $J = 14.4$
-H _b CH ₂	-	-	4.57 (d) $J = 14.4$

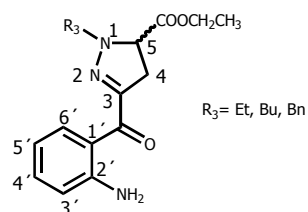
Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los compuestos **LC-30** a **LC-32** están recogidos en la **Tabla 4.32** donde se muestran los desplazamientos (δ) de los diferentes átomos de carbono. En todos los espectros de ^{13}C -RMN, al igual que en sus intermedios

precedentes, la señal que aparece a campo más bajo (δ 188 ppm) se corresponde con Ph-CO- y a continuación aparece el carbonilo del éster a 170 ppm.

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1'–C-6') oscilan entre δ 115 y 150 ppm, entre ellos los carbonos terciarios (C-3', C-4', C-5' y C-6') se asignaron gracias a los estudios bidimensionales anteriormente mencionados y el resto de ellos (C-1', C-2') por comparación con los valores estimados¹³.

	LC-30	LC-31	LC-32
	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
Ph-CO-	188.13	188.06	188.19
-COOCH ₂ CH ₃	170.78	170.69	170.42
C-2'	150.51	150.44	150.58
C-3	146.93	146.26	147.25
C-4'	133.90	133.85	133.93
C-6'	133.84	133.68	
C-1'	118.35	118.48	118.29
C-5'	116.87	116.83	116.90
C-3'	115.93	115.88	115.90
C-5	65.37	65.79	64.11
-COOCH ₂ CH ₃	61.78	61.70	61.71
CH ₂ CH ₃	47.72	20.19	-
C-4	36.91	36.80	36.87
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	29.81	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	52.78	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.28	14.24	14.21
-CH ₃	12.77	13.38	-
C-1 _{Bn}	-	-	135.53
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	129.31
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	128.68
C-4 _{Bn}	-	-	128.04
-CH ₂ -	-	-	56.97

Tabla 4.32.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ¹³C-RMN de los compuestos finales LC-30 – LC-32.



En el HR LSIMS de los compuestos finales (**LC-30** – **LC-32**) existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas $(M + Na)^+$ o $(M + H)^+$ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados son:

Compuesto **LC-30**: Calculado para $C_{15}H_{19}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 312.132411; encontrado 312.131762 (desviación 2.1 ppm).

Compuesto **LC-31**: Calculado para $C_{17}H_{23}N_3O_3$ $(M + H)^+$ 318.181767; encontrado 318.181425 (desviación 1.1 ppm).

Compuesto **LC-32**: Calculado para $C_{20}H_{21}N_3O_3Na$ $(M + Na)^+$ 374.148061; encontrado 374.148545 (desviación -1.3 ppm).

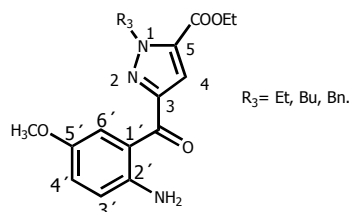
4.2.2.2.2.- Análisis espectroscópico de los compuestos finales pertenecientes al Grupo B.

Dentro de esta serie se estudian los compuestos finales **LC-33** – **LC-43**, derivados de 3-(2'-amino-5'-sustituidobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo.

4.2.2.2.2.1.- Productos pertenecientes a la serie a.

En esta serie se presentan los compuestos finales **LC-33** – **LC-35**, derivados de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos.

Los datos espectroscópicos de 1H -RMN, se muestran resumidos en la **Tabla 4.33**. En la tabla se incluyen los compuestos **LC-33** – **LC-35**, que se caracterizan porque el resto que se sitúa en posición uno del pirazol contiene sustituyentes de naturaleza n-alquílica o bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado y son concordantes con las estructuras propuestas.

Tabla 4.33.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ^1H -RMN de los compuestos finales LC-33 – LC-35.

	LC-33		LC-34		LC-35	
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)
H-6'	7.97 (d)	$J_{6'-4'} = 2.9$	7.97 (d)	$J_{6'-4'} = 3.0$	7.95 (d)	$J_{6'-4'} = 3.0$
H-4	7.40 (s)		7.40 (s)		7.44 (s)	
H-4'	6.99 (dd)	$J_{4'-3'} = 8.9$ $J_{4'-6'} = 2.9$	6.99 (dd)	$J_{4'-3'} = 8.9$ $J_{4'-6'} = 3.0$	6.98 (dd)	$J_{4'-3'} = 9.0$ $J_{4'-6'} = 3.0$
H-3'	6.66 (d)	$J_{3'-4'} = 8.9$	6.66 (d)	$J_{3'-4'} = 8.9$	6.65 (d)	$J_{3'-4'} = 9.0$
-NH ₂	5.90 (sa)		5.91 (sa)		-	
CH ₂ CH ₃	4.69 (c)	$J = 7.2$	1.36 (m)		4.69 (c)	$J = 7.2$
-COOCH ₂ CH ₃	4.36 (c)	$J = 7.1$	4.36 (c)	$J = 7.1$	4.34 (c)	$J = 7.1$
-OCH ₃	3.76 (s)		3.76 (s)		3.62 (s)	
-CH ₃	1.50 (t)	$J = 7.2$	0.94 (t)	$J = 7.3$	-	
-COOCH ₂ CH ₃	1.38 (t)	$J = 7.1$	1.38 (t)	$J = 7.1$	1.35 (t)	$J = 7.1$
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-		1.88 (m)		-	
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-		4.64 (t)	$J = 7.3$	-	
H-2 – H-6 _{Bn}	-		-		7.28 (m)	
-CH ₂ -	-		-		5.84 (s)	

La ausencia del grupo nitro, conduce a la pérdida del efecto desapantallante. Las señales de los átomos H-3' de los diferentes compuestos resuenan entre 6.65 y 6.66 ppm, apareciendo como dobletes con una constante de acoplamiento con H-4' en torno a 8.9 Hz y no a campo tan bajo como sus intermedios. En el caso de H-4', se vuelve a observar un doblete (δ= 6.99 ppm) debido al acoplamiento con H-3' y H-6'. Los hidrógenos H-6' resuenan en torno a 7.97 ppm, como dobletes, con una constante de acoplamiento alrededor de 3.0 Hz.

La señal de los hidrógenos de la amina aromática (-NH₂) no aparece en el compuesto **LC-35**. En el resto de los compuestos aparece a δ entre 5.90 y 5.91 ppm y se muestra como un singlete ancho. El resto de la molécula no presenta variaciones significativas con respecto a los intermedios de este mismo **Grupo B** y **serie a**.

Los datos espectroscópicos de ¹³C-RMN de los derivados **LC-33** a **LC-35** están recogidos en la **Tabla 4.34** donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se llevaron a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMQC y HMBC (¹H/¹³C-RMN) sobre el compuesto **LC-39**.

En todos los espectros de ¹³C-RMN, al igual que en sus intermedios precedentes, la señal que aparece a campo más bajo (δ 187 a 188 ppm) se corresponde con el carbonilo cetónico, y a 159 ppm aparece el carbonilo del éster

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' – C-6') oscilan entre δ 116 y 150 ppm; entre ellos, los carbonos terciarios (C-3', C-4' y C-6') se asignaron gracias a los estudios bidimensionales realizados al compuesto **LC-39** y el resto de ellos (C-1', C-2' y C-5') por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³.

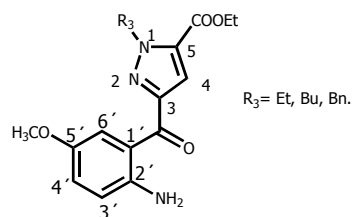
La señal del átomo de carbono C-4 del pirazol resuena a δ 114 ppm. Los átomos de carbono C-3 y C-5 del pirazol se confirman también gracias a los estudios bidimensionales realizados sobre el compuesto **LC-39** y resuenan a δ 150 y 132 ppm, respectivamente. Con respecto al grupo etoxicarbonilo, el carbono del grupo metileno se encuentra a δ 61 ppm y el metilo a 14 ppm; el carbono del -OCH₃ aparece a δ 55 ppm.

Los valores de los desplazamientos de los átomos de carbono correspondientes a los diferentes radicales R₃ resuenan a campo alto, excepto cuando el sustituyente R₃ es un grupo bencilo. Además, para completar la asignación de los carbonos cuaternarios C-3 y C-5 del pirazol y determinar efectivamente que se trata del 1,5 pirazol y no de su regioisómero, se hizo un estudio de difracción de rayos X sobre el compuesto **LC-37** que

se detalla en el apartado 4.2.2.2.5. También se observa que el hecho de introducir modificaciones en el resto que se encuentra en posición uno del pirazol, no afecta a los valores de desplazamiento químico del resto en los carbonos en la estructura general, ya que sufren sólo variaciones mínimas.

	LC-33 δ (ppm)	LC-34 δ (ppm)	LC-35 δ (ppm)
PhC=O-	188.10	188.11	187.93
-COOCH ₂ CH ₃	159.48	159.52	159.47
C-5', C-3	150.26 150.07	150.21 150.09	150.85 150.08
C-2'	146.20	146.23	146.34
C-5	132.77	133.04	133.28
C-4'	123.70	123.78	124.13
C-3'	118.33	118.33	118.39
C-1'	117.84	117.85	117.60
C-6'	116.52	116.47	116.14
C-4	114.53	114.50	114.75
-COOCH ₂ CH ₃	61.39	61.36	61.50
-OCH ₃	55.88	55.87	55.76
CH ₂ CH ₃	48.87	19.87	48.87
-CH ₃	15.70	13.71	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.24	14.26	14.22
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	32.65	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	52.39	-
C-1 _{Bn}	-	-	136.58
C-2 y C-6 _{Bn}	-	-	128.70
C-4 _{Bn}	-	-	128.05
C-3 y C-5 _{Bn}	-	-	127.89
-CH ₂ -	-	-	55.58

Tabla 4.34.- Desplazamientos químicos (δ, ppm) de ¹³C-RMN de los compuestos finales **LC-33– LC-35**.



En el HR LSIMS de estos tres compuestos finales (**LC-33** – **LC-35**) existe una excelente concordancia con los valores encontrados:

Compuesto **LC-33**: Calculado para $C_{16}H_{19}N_3O_4Na$ ($M + Na$)⁺ 340.127326; encontrado 340.127195 (desviación 0.4 ppm).

Compuesto **LC-34**: Calculado para $C_{18}H_{23}N_3O_4Na$ ($M + Na$)⁺ 368.158626; encontrado 368.158716 (desviación -0.2 ppm).

Compuesto **LC-35**: Calculado para $C_{21}H_{21}N_3O_4Na$ ($M + Na$)⁺ 402.142976; encontrado 402.142368 (desviación 1.5 ppm).

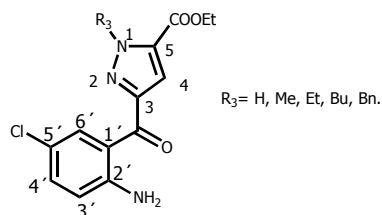
4.2.2.2.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos finales **LC-36** – **LC-40**, derivados de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoi)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos.

Los datos de desplazamiento químico (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de los espectros de 1H -RMN se muestran en la **Tabla 4.35**. Al igual que en la **serie a**, en la **Tabla 4.35** se incluyen los compuestos que se caracterizan por tener sustituyentes R_3 de naturaleza *n*-alquílica y bencilo. Todos estos espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado como disolvente y sus datos están de acuerdo con las estructuras propuestas.

La asignación de los átomos de hidrógeno aromáticos (H-3', H-4' y H-6') es la siguiente: los átomos H-3' en los diferentes compuestos, debido a la ausencia del grupo nitro que conduce a la pérdida del efecto desapantallante, aparecen entre 6.64 y 6.65 ppm y no a campo tan bajo como en sus intermedios; la señal aparece como doblete, con una constante de acoplamiento con H-4' en torno a 8.9 Hz. Los átomos H-6' resuenan a δ entre 8.11 y 8.42 ppm como doblete (exceptuando **LC-36**) con una constante de acoplamiento en torno 2.5 Hz. En el caso de H-4' aparece como un doblete (entre 7.22 y 7.26 ppm) debido al acoplamiento con los hidrógenos H-3' y H-6'. La señal de los hidrógenos de la amina aromática aparece a δ alrededor de 6.19 ppm como un singlete ancho.

Tabla 4.35.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de $^1\text{H-RMN}$ de los compuestos finales **LC-36 – LC-40**.



	LC-36 δ (ppm) J (Hz)	LC-37 δ (ppm) J (Hz)	LC-38 δ (ppm) J (Hz)	LC-39 δ (ppm) J (Hz)	LC-40 δ (ppm) J (Hz)
H-1	11.62 (sa)	-	-	-	-
H-6'	8.11 (ps)	8.36 (d) $J_{6'-4'}=2.5$	8.38 (d) $J_{6'-4'}=2.4$	8.38 (d) $J_{6'-4'}=2.5$	8.42 (d) $J_{6'-4'}=2.4$
H-4	7.33 (s)	7.37 (s)	7.37 (s)	7.38 (s)	7.35 (m)
H-4'	7.26 (dd) $J_{4'-3'}=8.9$ $J_{4'-6'}=2.5$	7.22 (dd) $J_{4'-3'}=8.9$ $J_{4'-6'}=2.5$	7.23 (dd) $J_{4'-3'}=8.9$ $J_{4'-6'}=2.4$	7.23 (dd) $J_{4'-3'}=8.9$ $J_{4'-6'}=2.5$	7.24 (dd) $J_{4'-3'}=8.8$ $J_{4'-6'}=2.4$
H-3'	6.67 (d) $J_{3'-4'}=8.9$	6.64 (d) $J_{3'-4'}=8.9$	6.64 (d) $J_{3'-4'}=8.9$	6.64 (d) $J_{3'-4'}=8.9$	6.65 (d) $J_{3'-4'}=8.8$
-NH ₂	6.17 (sa)	6.20 (sa)	6.19 (sa)	6.19 (sa)	6.20 (sa)
-COOCH ₂ CH ₃	4.44 (c) $J=7.1$	4.36 (c) $J=7.1$	4.37 (c) $J=7.1$	4.37 (c) $J=7.1$	4.34 (c) $J=7.1$
-CH ₂ CH ₃	-	-	4.69 (c) $J=7.2$	1.40 (m)	-
-CH ₃	-	4.28 (s)	1.51 (t) $J=7.2$	0.97 (t) $J=7.3$	-
-COOCH ₂ CH ₃	1.41 (t) $J=7.1$	1.38 (t) $J=7.1$	1.38 (t) $J=7.1$	1.38 (t) $J=7.1$	1.35 (t) $J=7.1$
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	1.89 (m)	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	4.65 (t) $J=7.3$	-
H-2 – H-6 _{Bn}	-	-	-	-	7.35 (m)
-CH ₂ -	-	-	-	-	5.85 (s)

Las diferencias más significativas se encuentran en el compuesto **LC-36** donde $R_3=\text{H}$, por lo que aparecen las señales más desapantalladas que en el resto como consecuencia de no poseer el efecto apantallante que el radical alquílico o bencílico ejerce sobre la molécula. En este compuesto aparece a 11.62 ppm una señal como

singlete ancho correspondiente al hidrógeno 1 del pirazol. Además en el protón H-6' del anillo bencénico no se resuelve con claridad la señal del doble doblete asignándose como multiplete.

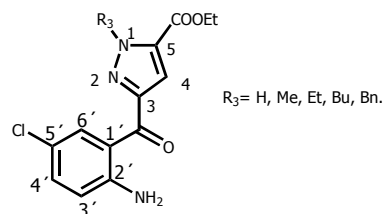
Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los derivados **LC-36** a **LC-40** están recogidos en la **Tabla 4.36** donde se muestran los desplazamientos químicos (δ) de los diferentes átomos de carbono. Para su asignación se llevaron a cabo estudios de resonancia bidimensional de tipo HMBC y HMQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN) realizados sobre el compuesto **LC-39**.

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1'–C-6') oscilan entre δ 117 y 150 ppm; los carbonos terciarios (C-3', C-4' y C-6') se asignaron gracias a los estudios bidimensionales, anteriormente mencionados, y el resto de ellos (C-1', C-2' y C-5') por comparación con los valores estimados de acuerdo con las reglas de aditividad para bencenos polisustituídos¹³.

Las señales de los átomo de carbono del resto de la molécula (anillo de pirazol, grupo etoxicarbonilo y los diferentes radicales R_3) no sufren apenas variación con respecto a sus intermedios precedentes o a la **serie a**.

	LC-36 δ (ppm)	LC-37 δ (ppm)	LC-38 δ (ppm)	LC-39 δ (ppm)	LC-40 δ (ppm)
PhCO-	185.70	187.50	187.65	187.76	187.63
-COOCH ₂ CH ₃	160.46	159.52	159.36	159.43	159.38
C-3, C-2'	149.80	149.85 149.63	149.87 149.69	149.88 149.55	150.07 149.92
C-4'	135.03	134.43	134.38	134.43	134.49
C-6'	132.13	133.32	133.52	133.61	133.75
C-5	120.67	133.71	132.91	133.18	133.26
C-5'		120.29	120.27	120.28	120.30
C-3'	118.66	118.36	118.33	118.35	118.84
C-1'	117.90	118.43	118.48	118.45	
C-4	111.78	114.28	114.46	114.43	114.65
-COOCH ₂ CH ₃	61.81	61.49	61.44	61.47	61.56
-CH ₂ CH ₃	-	-	47.99	19.84	-
-CH ₃	-	40.49	15.71	13.73	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	32.60	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	52.47	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.34	14.27	14.26	14.30	14.25
C-1 _{Bn}	-	-	-	-	136.30
C-2 y C-6 _{Bn}	-	-	-	-	128.82
C-3 y C-5 _{Bn}	-	-	-	-	128.26
C-4 _{Bn}	-	-	-	-	128.23
-CH ₂ -	-	-	-	-	55.71

Tabla 4.36.-
Desplazamientos químicos (δ, ppm) de ¹³C-RMN de los compuestos finales **LC-36–LC-40**.



En el HR LSIMS de estos cinco compuestos finales (**LC-36 – LC-40**) existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas (M + Na)⁺ y (M)⁺ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **LC-36**: Calculado para C₁₃H₁₂N₃O₃ClNa (M + Na)⁺; 316.046489 encontrado 316.046979 (desviación -1.6 ppm).

Compuesto **LC-37**: Calculado para $C_{14}H_{14}N_3O_3ClNa$ ($M + Na$)⁺ 330.062139; encontrado 330.062393 (desviación -0.8 ppm).

Compuesto **LC-38**: Calculado para $C_{15}H_{16}N_3O_3Cl$ (M)⁺ 321.088019; encontrado 321.087660 (desviación 1.1 ppm).

Compuesto **LC-39**: Calculado para $C_{17}H_{20}N_3O_3ClNa$ ($M + Na$)⁺ 372.109089; encontrado 372.109064 (desviación 0.1 ppm).

Compuesto **LC-40**: Calculado para $C_{20}H_{18}N_3O_3ClNa$ ($M + Na$)⁺ 406.093439; encontrado 406.093354 (desviación 0.2 ppm).

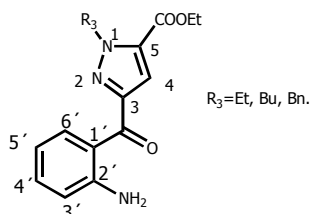
4.2.2.2.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c.

Dentro de esta serie se presentan los compuestos finales **LC-41 – LC-43**, derivados de 3-(2'-aminobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituídos. Los datos espectroscópicos de ¹H-RMN, se muestran resumidos en la **Tabla 4.37**. Estos compuestos se caracterizan porque la posición uno del pirazol contiene sustituyentes de naturaleza *n*-alquílica o bencilo. Todos los espectros se han realizado utilizando cloroformo deuterado y son concordantes con las estructuras propuestas.

Los átomos de hidrógeno aromáticos (H-3', H-4', H-5' y H-6') constituyen un sistema de acoplamiento tipo ABCD y su asignación es la siguiente: los átomos H-6' de los diferentes compuestos aparecen entre 8.27 y 8.32 ppm, apareciendo como dobles dobles con constantes de acoplamiento $J_{6'-5'}$ aproximadamente de 8.6 Hz y $J_{6'-4'}$ alrededor de 1.5 Hz. El hidrógeno aromático H-4', que aparece como un pseudodoble triplete (pdt), pues dos de las señales han colapsado en el centro del sistema apareciendo en los espectros seis señales (Ver **Figura 4.13**), siendo el valor de $J_{4'-5'}$ entre 7.3 y 7.6 Hz. En el compuesto **LC-43** las señales de H-4' aparecen colapsada con las señales correspondientes al anillo del bencilo con lo que resulta imposible su diferenciación. Las señales de H-5' y H-3' también aparecen unidas en todos los compuestos y se expresan como multiplete δ entre 6.68 y 6.69, debido a que ha desaparecido el efecto desantallante que el grupo nitro ejerce sobre el protón H-3', ya que este grupo nitro se ha reducido.

La señal de los hidrógenos de la amina aromática (-NH₂) aparece alrededor de δ 6.17 ppm y se muestra como un singlete ancho, excepto en el derivado **LC-43** donde no se aprecia esta banda. El resto de las señales no ofrecen variación significativa con respecto a las que presentan sus intermedios y de las series anteriores.

Tabla 4.37.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) de ¹H-RMN de los compuestos finales **LC-41** – **LC-43**.

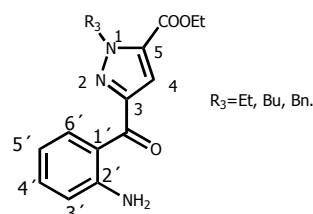


	LC-41 δ (ppm) J (Hz)	LC-42 δ (ppm) J (Hz)	LC-43 δ (ppm) J (Hz)
H-6'	8.27 (dd) $J_{6':5'} = 8.6$ $J_{6':4'} = 1.6$	8.27 (dd) $J_{6':5'} = 8.6$ $J_{6':4'} = 1.4$	8.32 (dd) $J_{6':5'} = 8.1$ $J_{6':4'} = 1.5$
H-4	7.35 (s)	7.35 (s)	7.40 (s)
H-4'	7.28 (pdt) $J_{4':5'} = 7.6$ $J_{4':6'} = 1.6$	7.29 (pdt) $J_{4':5'} = 7.3$ $J_{4':6'} = 1.4$	7.29 (m)
H-3'	6.68 (m)	6.68 (m)	6.69 (m)
H-5'			
-NH ₂	6.17 (sa)	6.18 (sa)	-
-COOCH ₂ CH ₃	4.36 (c) $J = 7.1$	4.36 (c) $J = 7.1$	4.32 (c) $J = 7.1$
CH ₂ CH ₃	4.68 (c) $J = 7.2$	1.37 (m)	-
-CH ₃	1.49 (t) $J = 7.2$	0.95 (t) $J = 7.3$	-
-COOCH ₂ CH ₃	1.38 (t) $J = 7.1$	1.37 (t) $J = 7.1$	1.33 (t) $J = 7.1$
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	1.87 (m)	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	4.64 (t) $J = 7.3$	-
H-2- H-6 _{Bn}	-	-	7.29 (m)
-CH ₂ -	-	-	5.84 (s)

Los datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN de los derivados **LC-41** a **LC-43** están recogidos en la **Tabla 4.38** donde se muestran los desplazamientos (δ) de los diferentes átomos de carbono.

	LC-41 δ (ppm)	LC-42 δ (ppm)	LC-43 δ (ppm)
Ph-CO-	188.89	188.89	188.77
-COOCH ₂ CH ₃	159.46	159.51	159.40
C-2',C-3	151.36 150.09	151.36 149.99	151.42 150.53
C-4' C-6'	134.45 134.38	134.43	134.57 134.53
C-5	132.61	132.89	136.56
C-1'	118.10	118.00	118.02
C-5'	116.97	116.97	117.00
C-3'	115.86	115.84	115.89
C-4	114.42	114.36	114.74
COOCH ₂ CH ₃	61.35	61.34	61.46
CH ₂ CH ₃	47.90	19.83	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	32.67	-
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	52.40	-
-COOCH ₂ CH ₃	14.26	14.27	14.23
-CH ₃	15.79	13.69	-
C-1 _{Bn}	-	-	136.56
C-2, C-6 _{Bn}	-	-	128.69
C-4 _{Bn}	-	-	128.02
C-3, C-5 _{Bn}	-	-	127.82
-CH ₂ -	-	-	55.72

Tabla 4.38.- Desplazamientos químicos (δ , ppm) de ^{13}C -RMN de los compuestos finales **LC-41 – LC-42**.



En todos los espectros de ^{13}C -RMN, la señal que aparece a campo más bajo (δ 188 ppm) se corresponde con Ph-CO- y a continuación aparece el carbonilo del éster a δ 159 ppm.

Los desplazamientos químicos de los carbonos aromáticos (C-1' – C-6') oscilan entre δ 115 y 151 ppm, asignándose las señales como habitualmente hemos comentado a lo largo de la Memoria. Las señales de los átomos de carbono del resto de la molécula (anillo de pirazolina, grupo etoxicarbonilo y los diferentes radicales R₃) no sufren apenas variación con respecto a sus intermedios precedentes y a las series anteriores.

En el HR LSIMS de los compuestos finales (**LC-41** – **LC-43**) existe una concordancia perfecta entre los valores calculados para las fórmulas empíricas (M + Na)⁺ y (M + H)⁺ de los compuestos y los correspondientes valores encontrados:

Compuesto **LC-41**: Calculado para C₁₅H₁₇N₃O₃Na (M + Na)⁺ 310.116761; encontrado 310.116563 (desviación 0.6 ppm).

Compuesto **LC-42**: Calculado para C₁₇H₂₃N₃O₃Na (M + H)⁺ 318.181767; encontrado 318.181425 (desviación 1.1 ppm).

Compuesto **LC-43**: Calculado para C₂₀H₁₉N₃O₃Na (M + Na)⁺ 372.132411; encontrado 372.131500 (desviación 2.5 ppm).

4.2.2.2.4.- Estudio espectroscópico del compuesto LC-39.

El compuesto **LC-39** se ha utilizado como modelo dentro de la familia pirazólica (en concreto para los compuestos del **Grupo B**) para la realización de diversos experimentos:

A) Experimentos NOE al objeto de intentar esclarecer la estructura de la molécula. De todos estos estudios cabe destacar que cuando se irradia el protón H-6' aparece efecto NOE positivo con el sustituyente CH₂CH₂CH₂CH₃ del anillo de pirazol, lo cual sugiere una estructura del tipo de la representada en la **Figura 4.22**. Además esta disposición concuerda con la encontrada en el estudio cristalográfico de rayos X del compuesto **LC-37** y por los estudios de análisis conformacional realizados recogidos en el apartado 4.4. de esta Parte Teórica.

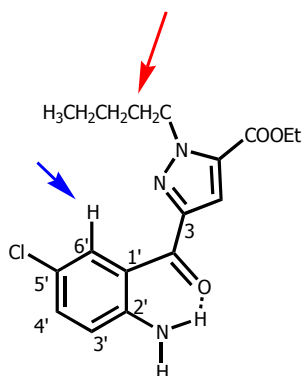


Figura 4.22.- Irradiación del metileno primero del butilo. Se ha marcado con una flecha de color rojo el átomo irradiado y con una flecha de color azul los átomos con los que el efecto NOE es positivo.

Los restantes experimentos NOE llevados a cabo sobre este compuesto no se incluyen ya que no son concluyentes para determinar la disposición espacial de la molécula, pues cada átomo de hidrógeno irradiado sólo da efecto NOE positivo con sus protones vecinos, y esto puede ocurrir en cualquiera de las posibles conformaciones.

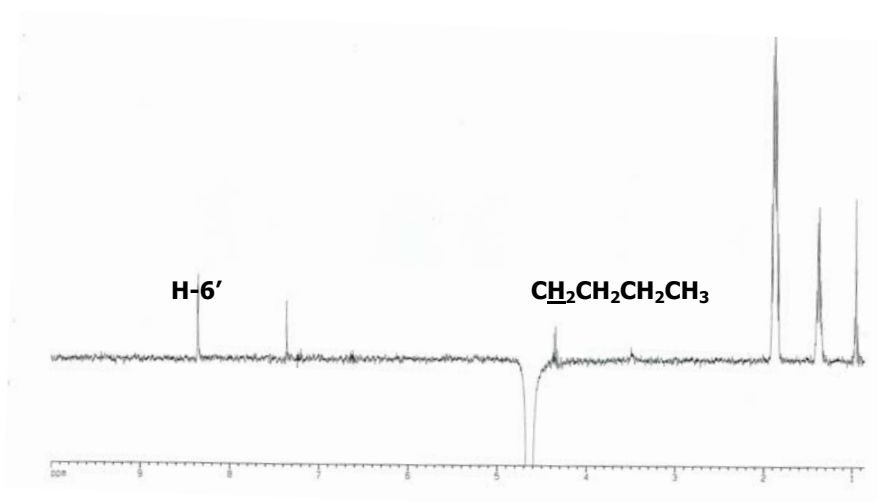


Figura 4.23.- Estudio de NOE del compuesto LC-39.

B) El Estudio HMBC ha sido realizado para identificar inequívocamente los desplazamientos de los carbonos C-3', C-4', C-6' y C-4, así como los carbonos del anillo bencílico y pirazólico. Los otros estudios HMQC para las **series a** y **c** se muestran solamente en el apéndice de esta Memoria.

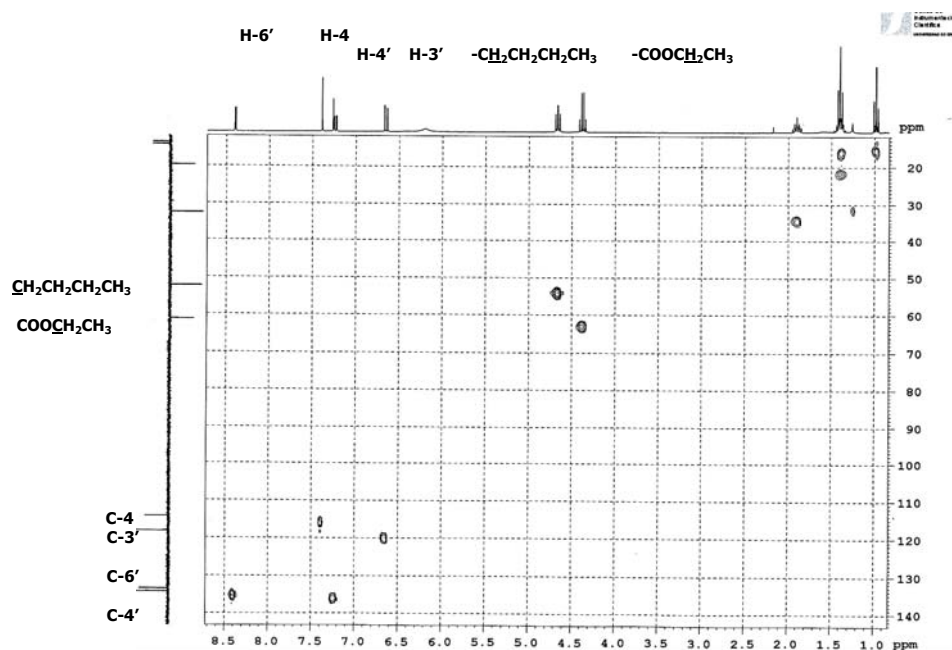


Figura 4.24.- Estudio de HMQC del compuesto LC-39.

C) Estudio de RMN basado en una correlación a larga distancia $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ tipo HMBC (Figura 4.25) para identificar inequívocamente los desplazamientos de los carbonos C-3 y C-5 del anillo pirazólico.

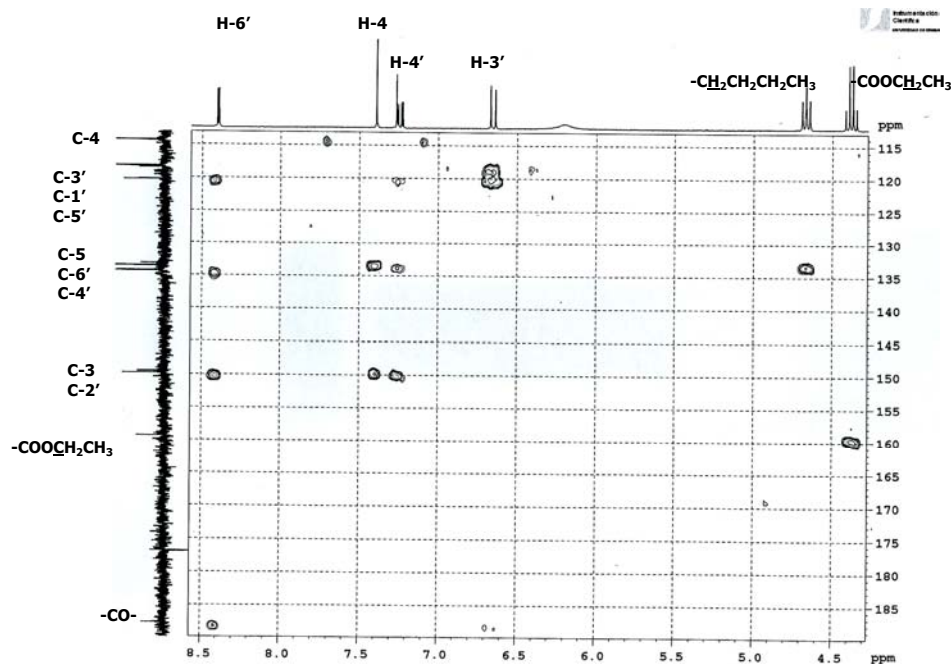


Figura 4.25.- Estudio de HMBC del compuesto LC-39 (Ampliación).

Como se puede ver en la figura, los núcleos de carbono que aparecen a 150 y 134 ppm se correlacionan con el protón cuatro del anillo pirazólico, por tanto estos carbonos corresponden a C-3 y C-5 de dicho heterociclo. Además, el protón correspondiente al primer grupo metileno del butilo que hay en posición uno, se correlaciona con el núcleo de carbono que aparece a 134 ppm, esto hace suponer que dicho carbono sea el C-5 puesto que es el que está más cerca del radical butilo. El carbono C-3 sería, por tanto, el otro que queda. El carbono que aparece a campo más bajo corresponde con el carbonilo del grupo cetónico, pues se correlaciona con H-6' y H-3'. Los carbonos del sistema bencénico también dan correlaciones con los correspondientes protones, que confirman las asignaciones hechas mediante las tablas de bencenos polisustituídos¹³.

4.2.2.2.5.- Determinación estructural del compuesto LC-37 por difracción de rayos X.

Este estudio se ha realizado como prueba para determinar inequívocamente la estructura de los compuestos pirazólicos finales y corroborar los resultados de los estudios NOE y de análisis conformacional realizados sobre los mismos.

Para ello se disolvió el compuesto **LC-37** en Cl_2CH_2 en un pequeño vial y se dejó que el disolvente se evaporara lentamente, entonces se obtuvo un cristal sobre el que se realizó el estudio de difracción de rayos X. En la **Figura 4.26** se muestra en el cristal que se sometió a la difracción y la estructura obtenida por dicha técnica.

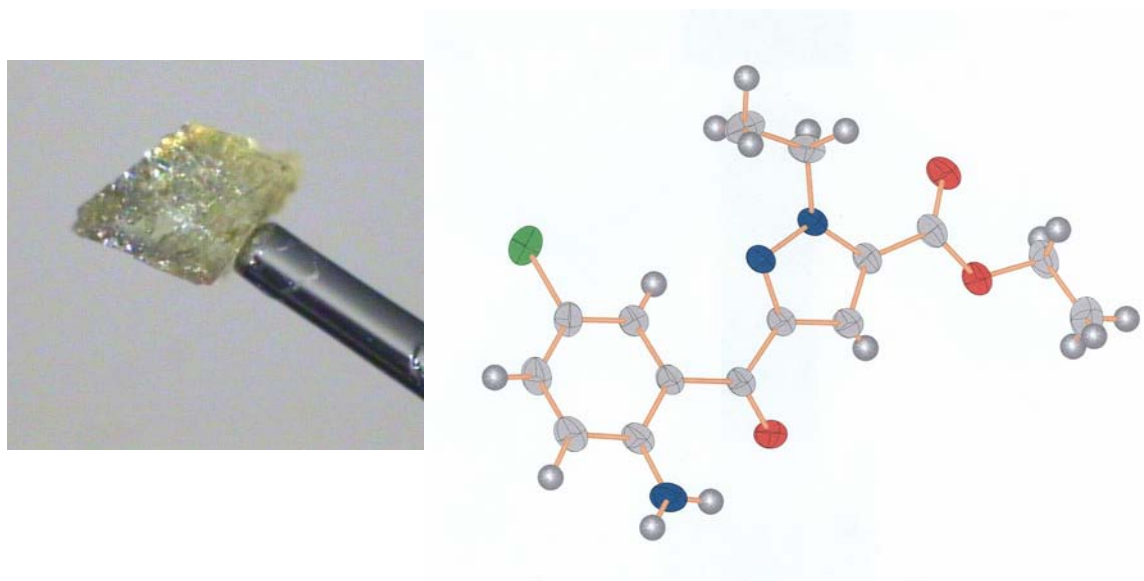


Figura 4.26

Con este estudio se llegan a dos conclusiones de gran interés químico:

- Los pirazoles obtenidos, como consecuencia de la reacción de alquilación de las pirazolinas, son derivados de N1-alkilados de 3-(2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo y no su regioisómero 5-(2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo.

- Los estudios realizados sobre la conformación preferente de estos derivados pirazólicos concuerdan perfectamente (estudios NOE y resultados del análisis conformacional).

4.3.- Resultados biológicos y discusión.

Las pruebas biológicas de los compuestos finales sintetizados y descritos en esta Memoria, **LC-1** a **LC-43**, han sido realizadas por el Profesor D. Acuña-Castroviejo y sus colaboradores, del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, con quien se viene desarrollando este trabajo de Investigación en régimen de proyecto coordinado.

Se ha estudiado el efecto de los compuestos sobre la actividad nNOS en estriado e iNOS en cerebro de rata, con objeto de evaluar su posible inhibición y selectividad frente a esas dos isoformas de la óxido nítrico sintasa. La metodología de trabajo se describe en la Parte Experimental y los resultados biológicos obtenidos se detallan a continuación, apareciendo recogidos en una serie de tablas donde se muestra el % de inhibición provocado por los diferentes compuestos sobre las isoformas nNOS e iNOS. La concentración utilizada de los compuestos para la realización de los ensayos ha sido de 1mM para todos los casos.

4.3.1.- Efecto de los compuestos finales sobre la actividad nNOS estriatal.

Para el estudio biológico de estos derivados se ha seguido la misma clasificación que la utilizada en el análisis estructural, es decir, los compuestos se han dividido en 2 familias:

1) Pirroles y dentro de esta familia tres **series (a,b,c)** en función de la naturaleza del sustituyente en posición 5' del anillo aromático (OCH₃, **serie a**; Cl, **serie b**; H, **serie c**).

2) Pirazolinas y Pirazoles: que se ha dividido en dos grupos:

Grupo A: dentro de él se incluyen las tres **series (a,b,c)**.

Grupo B: dentro de él se incluyen las tres **series (a,b,c)**.

4.3.1.1.- Familia de pirroles:

4.3.1.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a.

En la **Tabla 4.39** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la serie **a (LC-1 – LC-6)** sobre la actividad nNOS estriatal.

Compuesto	R ₃	% Inhibición nNOS
LC-1	Me	-47.97 ± 2.6
LC-2	Pr	43.45 ± 3.38
LC-3	c-C ₃ H ₅	32.54 ± 2.63
LC-4	c-C ₅ H ₉	15.33 ± 2.42
LC-5	Bn	8.89 ± 1.13
LC-6	H	-18.14 ± 2.01

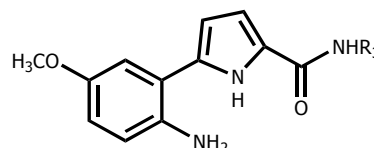


Tabla 4.39.- % de inhibición producido por cada uno de los compuestos de la **serie a**.

Los datos de inhibición obtenidos en este grupo de compuestos son muy reveladores, siendo los valores más significativos los encontrados para los compuestos **LC-2** (R= Pr) y **LC-3** (c-C₃H₅), donde se observa cómo hay un tamaño del radical R₃ que resulta idóneo para que se inhiba la enzima nNOS y que, al aumentar o disminuir ese tamaño, se va perdiendo la actividad inhibitoria de forma incluso drástica.

4.3.1.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b.

En la **Tabla 4.40**, aparecen los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie b (LC-7 – LC-11)** sobre la actividad nNOS estriatal.

Compuesto	R ₃	% Inhibición nNOS
LC-7	Me	17.11 ± 0.74
LC-8	Et	33.40 ± 2.46
LC-9	Bu	36.46 ± 4.13
LC-10	c-C ₃ H ₅	48.07 ± 1.3
LC-11	H	34.48 ± 0.99

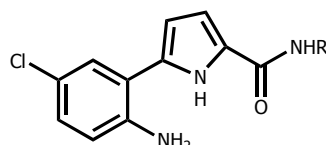
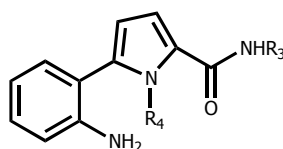


Tabla 4.40.- % de inhibición producido por cada uno de los compuestos de la **serie b**.

Dentro de esta serie se observa un aumento generalizado del porcentaje de inhibición con respecto a los derivados de la **serie a**, lo que puede interpretarse a que el aumento de la lipofilia debido a la sustitución del grupo metoxilo por cloro conlleva mejores resultados. Además se sigue manteniendo la hipótesis de que hay una correlación directa entre R₃ y el % de inhibición de la enzima nNOS.

4.3.1.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c.

A continuación se muestran los datos obtenidos para la **serie c (LC-12 -LC-23)**, recogidos en la **Tabla 4.41**.



Compuesto	R ₃	R ₄	% Inhibición nNOS
LC-12	Me	H	-12.79 ± 0.21
LC-13	Et	H	4.15 ± 0.97
LC-14	Pr	H	-12.93 ± 2.17
LC-15	Bu	H	-0.01 ± 1.8
LC-16	c-C ₃ H ₅	H	2.92 ± 0.87
LC-17	c-C ₄ H ₇	H	8.44 ± 1.87
LC-18	c-C ₅ H ₉	H	5.36 ± 3.19
LC-19	c-C ₆ H ₁₁	H	13.4 ± 0.46
LC-20	Bn	H	7.52 ± 2.5
LC-21	H	H	15.01 ± 2.66
LC-22	H	Me	9.56 ± 1.19

Tabla 4.41.- % de inhibición producido por cada uno de los compuestos de la **serie c**.

En estos derivados no se produce ningún valor de inhibición destacable, siendo los compuestos más significativos los de las **series a** y **b**; es decir, la sustitución del grupo metoxilo o cloro por hidrógeno en la **serie c**, no mejora la actividad inhibitoria nNOS estriatal. También se observa que la alquilación del nitrógeno pirrólico conduce a una disminución de la actividad inhibitoria, ya que entre **LC-21** y **LC-22**, la única diferencia es dicha sustitución.

En consecuencia, las principales conclusiones con respecto a la inhibición en la actividad nNOS de los compuestos pertenecientes a la familia de los pirroles son las siguientes:

1) Los derivados que producen mayor inhibición enzimática pertenecen a las **series a** y **b**, de lo que se deduce que la posición 5' del anillo bencénico es clave para la actividad.

2) Cuando el radical R_3 es el ciclopropilo y propilo es cuando se alcanzan los niveles de nNOS inhibida más altos, lo que sugiere que ese tamaño del sustituyente es el óptimo.

3) Los compuestos de la **serie b** resultan ser excelentes inhibidores de la nNOS pues son altamente selectivos, ya que los niveles de inhibición de iNOS son despreciables. Sin embargo en la **serie a** solamente el compuesto **LC-2** proporciona estos buenos resultados en selectividad con respecto a la isoforma nNOS.

4.3.1.2.- Familias pirazolinica y pirazólica:

4.3.1.2.1.- Compuestos del Grupo A.

A este grupo pertenecen los derivados de 3-(2'-aminobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos que comúnmente se ha denominado derivados pirazolínicos.

4.3.1.2.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a.

En la **Tabla 4.42** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie a (LC-23 – LC-25)** sobre la actividad nNOS estriatal.

Compuesto	R_3	% Inhibición nNOS
LC-23	Et	1.68 ± 2.7
LC-24	Bu	-9.98 ± 2.32
LC-25	Bn	9.35 ± 1.21

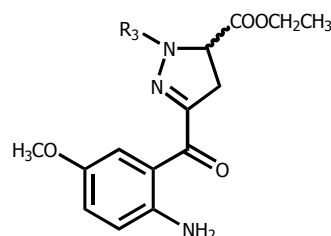


Tabla 4.42.- % de inhibición producido por loscompuestos del **Grupo A** y **serie a**

Estos derivados han resultado poco interesantes en cuanto a la inhibición de la actividad nNOS, lo que puede ser justificado debido a la poca lipofilia que le confiere el grupo metoxilo a la molécula.

4.3.1.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b.

En la **Tabla 4.43** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie b (LC-26 – LC-29)** sobre la actividad.

Compuesto	R ₃	% Inhibición nNOS
LC-26	H	32.14 ± 2.24
LC-27	Et	41.55 ± 2.19
LC-28	Bu	38.53 ± 3,47
LC-29	Bn	18.33 ± 0.43

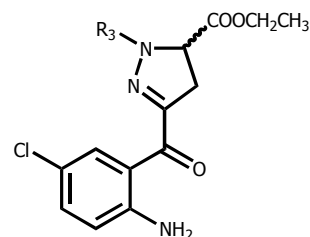


Tabla 4.43.- % de inhibición nNOS estriatal producida por los derivados del **Grupo A, serie b.**

Estos derivados han resultado muy interesantes en cuanto a la inhibición de la actividad nNOS estriatal, resultando ser más activos que sus análogos de la **serie a**, lo que podría ser debido a la mayor lipofilia que le confiere el radical cloro; además, se observa, de nuevo, que existe un tamaño del radical R₃ que resulta ser el más apropiado para que la molécula inhiba la nNOS (**LC-27**).

4.3.1.2.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c.

Esta serie incluye tres, derivados (**LC-30, LC-31** y **LC-32**) dentro del **Grupo A**. Como puede observarse, en estos derivados la supresión del cloro en posición 5' del anillo bencénico ha conducido a disminuir la actividad inhibitoria de los compuestos, siendo mayor, en cualquier caso, que la encontrada para los derivados de la **serie a** donde en posición 5' hay un grupo metoxilo.

Compuesto	R ₃	% Inhibición nNOS
LC-33	Et	20.27 ± 0.49
LC-34	Bu	26.19 ± 0.89
LC-35	Bn	19.38 ± 2.87

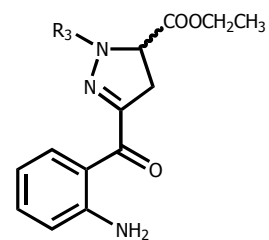


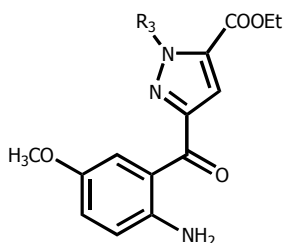
Tabla 4.44.- % de inhibición nNOS estriatal producida por los derivados del **Grupo A, serie c.**

4.3.1.2.2.- Compuestos del Grupo B.

A este grupo pertenecen los derivados de 3-(2'-aminobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos que comúnmente se han denominado derivados pirazólicos. La diferencia entre este grupo y el **Grupo A** es un doble enlace que le confiere al sistema una coplanaridad.

4.3.1.2.2.1- Compuestos pertenecientes a la serie a.

En la **Tabla 4.45** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie a (LC-33 – LC-35)** sobre la actividad nNOS estriatal.



Compuesto	R ₃	% Inhibición nNOS
LC-30	Et	29.09 ± 4.36
LC-31	Bu	-
LC-32	Bn	28.38 ± 5.78

Tabla 4.45.- % de inhibición nNOS estriatal producida por los derivados del **Grupo B, serie a.**

Estos derivados han resultado ser más activos que sus homólogos del **Grupo A**, observándose que pese a ser poco interesantes en cuanto a la inhibición nNOS, debido a la poca lipofilia que le confiere el grupo metoxilo, la rigidez de la molécula hace que aumente su actividad frente a dicha isoforma.

4.3.1.2.2.2- Compuestos pertenecientes a la serie b.

En la **Tabla 4.46** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie b (LC-36 – LC-40)** sobre la actividad nNOS estriatal.

Compuesto	R ₃	% Inhibición nNOS
LC-36	H	40.20 ± 2.18
LC-37	Me	14.55 ± 6.19
LC-38	Et	35.47 ± 1.37
LC-39	Bu	17.86 ± 0.51
LC-40	Bn	2.69 ± 1.37

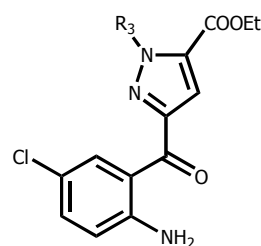


Tabla 4.46.- % de inhibición nNOS estriatal producida por los derivados del **Grupo B, serie b.**

Estos derivados han resultado muy interesantes en cuanto a la inhibición de la actividad nNOS, siendo más activos que sus análogos de la **serie a**, esto pudiera ser debido a la lipofilia que le confiere el sustituyente cloro; además se observa cómo, de nuevo, hay un tamaño del radical R₃ que resulta ser el más apropiado para que la molécula inhiba la enzima. También se observa que el radical R₃ no resulta imprescindible para que los compuestos de esta serie tengan actividad inhibitoria, puesto que el compuesto **LC-36** resulta ser el más activo y que cuando el tamaño de este radical es mayor, la actividad es menor.

Por último si comparamos estos resultados con los homólogos (**serie b**) del **Grupo A** queda patente que la rigidez conferida a esta serie de compuestos no le beneficia, pues se ha disminuido su porcentaje de inhibición frente a sus homólogos del **Grupo A**.

4.3.1.2.2.3- Compuestos pertenecientes a la serie c.

Esta serie incluye tres derivados (**LC-41**, **LC-42** y **LC-43**) dentro del **Grupo B**. Como puede observarse en estos derivados, la supresión del cloro en posición 5' del anillo bencénico ha conducido a incrementar sensiblemente la actividad inhibitoria de los compuestos y se muestran en la **Tabla 4.47**.

Compuesto	R ₃	% Inhibición nNOS
LC-41	Et	39.49 ± 1.64
LC-42	Bu	21.98 ± 3.11
LC-43	Bn	21.95 ± 0.45

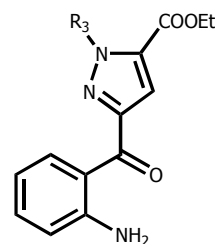


Tabla 4.47.- % de inhibición nNOS estriatal producida por los derivados del **Grupo B**, serie c.

Ante los resultados que hemos comentado, las principales conclusiones con respecto a los compuestos pertenecientes a la familias Pirazolínic y Pirazólica son las siguientes:

1) Dentro del **Grupo A** y **B** casi todos los derivados de ambas familias producen inhibición enzimática, excepto los compuestos de la **serie a** pertenecientes al **Grupo A** (R₂ = -OCH₃, pirazolininas).

2) Los compuestos más activos en cuanto a la inhibición nNOS es el derivado **LC-27** y **LC-36**, donde el sustituyente en el anillo bencénico resulta ser un átomo de cloro.

4.3.2.- Efecto de los compuestos finales sobre la actividad iNOS cerebral.

Para el estudio biológico de estos derivados se ha seguido la misma clasificación que la utilizada en el análisis estructural, es decir, los compuestos se han dividido en dos

grandes familias: La correspondiente a sistemas pirrólicos y la que contiene sistemas pirazolínicos y pirazólicos.

4.3.2.1.- Familia de pirroles:

4.3.2.1.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a.

En la **Tabla 4.48** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie a (LC-1 – LC-6)** sobre la actividad iNOS cerebral.

Compuesto	R ₃	% Inhibición iNOS
LC-1	Me	26.17 ± 6.85
LC-2	Pr	6.78 ± 3.93
LC-3	c-C ₃ H ₅	21.36 ± 4.68
LC-4	c-C ₅ H ₉	26.25 ± 3.22
LC-5	Bn	22.41 ± 1.94
LC-6	H	8.95 ± 0.5

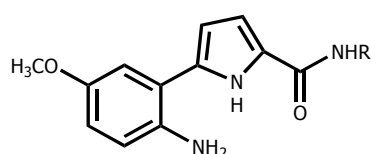


Tabla 4.48.-% de inhibición iNOS estriatal producida por la **serie a**.

Los valores de inhibición obtenidos en este grupo de compuestos son muy reveladores. Se puede observar cómo los compuestos de esta serie necesitan del radical R₃ para que la actividad inhibitoria sea apreciable. Además se observa que cuando los radicales son de naturaleza alquílica disminuye la actividad conforme aumenta el tamaño del radical, y por otra parte, sin embargo, si el radical es cíclico la inhibición resulta ser mayor cuanto más grande es el peso molecular del compuesto.

4.3.2.1.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b.

A continuación, en la **Tabla 4.49** aparecen resumidos los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie b (LC-7 – LC-11)** sobre la actividad nNOS estriatal.

Compuesto	R ₃	% Inhibición iNOS
LC-7	Me	1.27 ± 3.39
LC-8	Et	2.8 ± 1.75
LC-9	Bu	3.33 ± 1.27
LC-10	c-C ₃ H ₅	7.2 ± 0.31
LC-11	H	5.34 ± 2.34

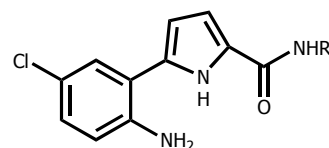
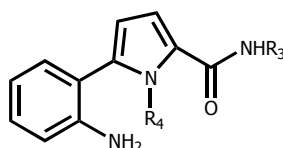


Tabla 4.49.- % de inhibición producido por cada uno de los compuestos de la **serie b**.

Dentro de esta serie se observa una disminución generalizada del porcentaje de inhibición con respecto a los derivados de la **serie a**, por tanto el aumento de la lipofilia debido a la sustitución del grupo metoxilo por cloro, no conlleva resultados favorables. Estos datos son de gran interés, ya que conducen a pensar que las isoformas nNOS e iNOS poseen estructuras o conformaciones muy diferentes, puesto que todos estos compuestos de la **serie b** inhiben a la isoforma nNOS de manera selectiva y con una potencia significativa.

4.3.2.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c.

A continuación se muestran los datos obtenidos para la **serie c (LC-12 -LC-23)**, recogidos en la **Tabla 4.50**.



Compuesto	R ₃	R ₄	% Inhibición iNOS
LC-12	Me	H	32.68 ± 2.78
LC-13	Et	H	20.49 ± 5.19
LC-14	Pr	H	13.17 ± 5.2
LC-15	Bu	H	7.53 ± 2.76
LC-16	c-C ₃ H ₅	H	-1.1 ± 1.75
LC-17	c-C ₄ H ₇	H	20.1 ± 4.78
LC-18	c-C ₅ H ₉	H	52.79 ± 1.7
LC-19	c-C ₆ H ₁₁	H	17.2 ± 7.54
LC-20	Bn	H	28.11 ± 2.39
LC-21	H	H	3.07 ± 1.79
LC-22	H	Me	15.97 ± 1.62

Tabla 4.50.- % de inhibición producido por cada uno de los compuestos de la **serie c**.

En los valores de inhibición obtenidos en esta serie de compuestos se puede observar cómo estos derivados necesitan del radical R₃ para que la actividad inhibitoria sea considerable. Además se observa que cuando los radicales son de naturaleza alquílica, disminuye la actividad conforme aumenta el peso molecular del compuesto, y por otra parte, sin embargo, si el radical es cíclico la inhibición resulta ser mayor cuando se va aumentando el tamaño del radical amídico, presentando el máximo de actividad para R₃= ciclopentilo (**LC-18**).

En consecuencia, las principales conclusiones con respecto a la inhibición de la actividad iNOS por los compuestos pertenecientes a la familia de los pirroles son las siguientes:

1) Los derivados que producen mayor inhibición enzimática son **LC-12, LC-18, LC-20, LC-1, LC-3, LC-4 y LC-5**. Estos compuestos pertenecen a las **series a y c**, lo que significa que es importante que el compuesto sea hidrófilo, puesto que la lipofilia conferida por el grupo cloro hace que disminuya el porcentaje de inhibición.

2) El radical R₃ resulta imprescindible para que los compuestos tengan actividad inhibitoria.

3) Cuando el radical R₃ es de naturaleza alquílica lineal se obtienen mejores resultados cuando las cadenas hidrocarbonadas son de menor tamaño y cuando R₃ es cicloalquílico sucede al contrario, siendo el grupo ciclopentilo el radical para el cual se obtienen mayores valores de inhibición de iNOS en las **series a** y **c**. El grupo aromático como sustituyente amídico también hace que la molécula inhiba sensiblemente la iNOS.

4.3.2.2.- Familias pirazolónicas y pirazólicas:

4.3.2.2.1.- Compuestos del Grupo A.

A este grupo pertenecen los derivados de 3-(2'-aminobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos que comúnmente se ha denominado derivados pirazolónicos.

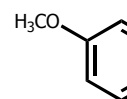
4.3.2.2.1.1- Compuestos pertenecientes a la serie a.

En la **Tabla 4.51** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la serie **a** (**LC-23 – LC-25**) sobre la actividad iNOS cerebral.

Compuesto	R ₃	% Inhibición iNOS
LC-23	Et	17.11 ± 0.75
LC-24	Bu	18.61 ± 1.24
LC-25	Bn	10.55 ± 2.65

Tabla 4.51.- % de inhibición producido por los compuestos del **Grupo A** y **serie a**

Estos derivados han resultado poco interesantes en cuanto a la inhibición de la actividad iNOS cerebral, lo que puede ser debido a la poca lipofilia que le confiere el grupo metoxilo.



4.3.2.2.1.2. Compuestos pertenecientes a la serie b.

En la **Tabla 4.52** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie b (LC-26 – LC-29)** sobre la actividad iNOS cerebral.

Compuesto	R ₃	% Inhibición iNOS
LC-26	H	19.11 ± 0.66
LC-27	Et	14.66 ± 3.23
LC-28	Bu	10.05 ± 3.62
LC-29	Bn	17.33 ± 0.62

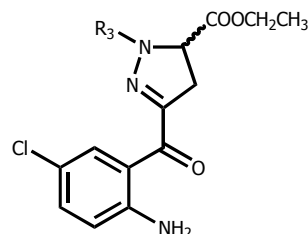


Tabla 4.52.- % de inhibición iNOS cerebral producida por los derivados del **Grupo A, serie b.**

Estos derivados no han resultado muy interesantes por su capacidad de inhibición frente a la iNOS cerebral. Los resultados obtenidos no difieren mucho de sus análogos de la **serie a**, esto pudiera ser debido a que la lipofilia que le confiere el grupo cloro no es determinante para aumentar el valor de inhibición.

4.3.2.2.1.3.- Compuestos pertenecientes a la serie c.

Esta serie incluye tres derivados (**LC-30, LC-31 y LC-32**) dentro del **Grupo A**. Como puede observarse en estos derivados, la supresión del cloro o metoxilo en posición 5' del anillo bencénico no ha conducido a buenos resultados de inhibición. En la **Tabla 4.53** se muestran los resultados biológicos obtenidos para estos derivados.

Compuesto	R ₃	% Inhibición iNOS
LC-30	Et	-1.46 ± 1.72
LC-31	Bu	12.22 ± 1.43
LC-32	Bn	9.39 ± 1.37

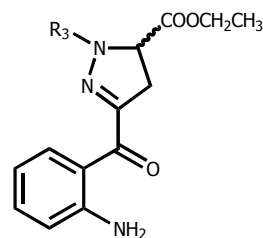


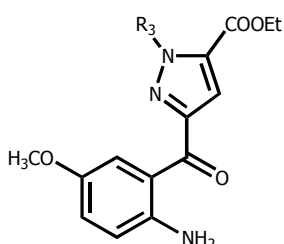
Tabla 4.53.- % de inhibición iNOS cerebral producida por los derivados del **Grupo A, serie c.**

4.3.2.2.2.- Compuestos del Grupo B.

A este grupo pertenecen los derivados de 3-(2'-aminobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo-1-sustituidos que comúnmente se ha denominado derivados pirazólicos.

4.3.2.2.2.1.- Compuestos pertenecientes a la serie a.

En la **Tabla 4.54** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la serie **a (LC-33 – LC-35)** sobre la actividad iNOS cerebral.



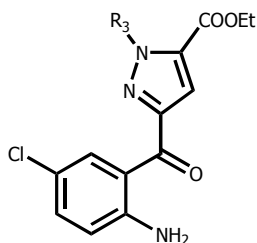
Compuesto	R ₃	% Inhibición iNOS
LC-33	Et	24.56 ± 1.08
LC-34	Bu	20.49 ± 0.39
LC-35	Bn	30.54 ± 0.81

Tabla 4.54.- % de inhibición producido por los compuestos del **Grupo B y serie a.**

Estos derivados han resultado ser más activos que sus homólogos del **Grupo A**. Se observa que pese a ser poco interesantes en cuanto a la inhibición, debido a la poca lipofilia que le confiere el grupo metoxilo, la coplanaridad de la molécula hace que aumente la actividad inhibitoria frente a la isoforma iNOS.

4.3.2.2.2.- Compuestos pertenecientes a la serie b.

En la **Tabla 4.55** se muestran los valores de inhibición producidos por cada compuesto de la **serie b (LC-36 – LC-40)** sobre la actividad iNOS.



Compuesto	R ₃	% Inhibición iNOS
LC-36	H	12.83 ± 4.57
LC-37	Me	7.32 ± 3.9
LC-38	Et	27.49 ± 2.1
LC-39	Bu	18.71 ± 1.01
LC-40	Bn	50.36 ± 3.19

Tabla 4.55.- % de inhibición iNOS cerebral producida por los derivados del **Grupo B, serie b.**

Estos derivados han resultado muy interesantes, ya que resultan ser mucho más activos que sus análogos de la **serie a**, esto pudiera ser debido a la lipofilia que le confiere el átomo cloro; además, se observa que el introducir un grupo aromático, tal como el bencilo en posición uno, le confiere una alta potencia de inhibición. Por otra parte se puede observar que la presencia del radical R₃ resulta imprescindible para que los compuestos de esta serie tengan actividad inhibitoria.

Si comparamos estos resultados con los de sus homólogos (**serie b**) del **Grupo A** queda patente que la rigidez conferida a esta serie de compuestos es beneficiosa, en general, para inhibir la iNOS.

Por último, cabe destacar que en estos derivados es además de su potencia inhibitoria iNOS, se observa una alta **selectividad** por la isoforma iNOS. Este hecho es de gran importancia ya que en las investigaciones que se vienen realizando actualmente actuales se intenta buscar inhibidores que, además de potentes, sean selectivos para cada isoforma.

4.3.2.2.3- Compuestos pertenecientes a la serie c.

Esta serie incluye tres derivados (**LC-41**, **LC-42** y **LC-43**) dentro del **Grupo B**. Como puede observarse en estos derivados la supresión del cloro en posición 5' del anillo bencénico no ha conducido a incrementar la actividad inhibitoria de los compuestos.

En la **Tabla 4.56** se muestran los resultados biológicos obtenidos.

Compuesto	R ₃	% Inhibición iNOS
LC-41	Et	12.53 ± 2.12
LC-42	Bu	5.39 ± 0.89
LC-43	Bn	13.47 ± 4.37

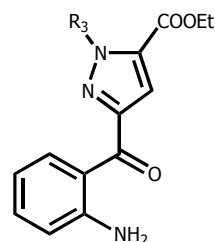


Tabla 4.56.- % de inhibición iNOS cerebral producida por los derivados del **Grupo B**, serie c.

En consecuencia, las principales conclusiones con respecto a la inhibición de la actividad iNOS por parte de los compuestos pertenecientes a la familia pirazolínica-pirazólica son las siguientes:

1) Dentro de los **Grupos A** y **B**, los derivados que producen mayor inhibición enzimática son **LC-33**, **LC-34**, **LC-35** y **LC-40**, todos ellos pertenecientes al **Grupo B**, es decir los compuestos pirazólicos que tiene una rigidez mayor que las pirazolininas. Además los más activos resultan ser los de las **series a** y **b**; por consiguiente, la presencia de la sustitución en 5' del anillo bencénico es necesaria para su actividad.

2) La incorporación de un radical aromático en posición 1 aumenta la actividad inhibitoria en los compuestos pertenecientes al **Grupo B**, así como también el aumento de tamaño de los radicales alquílicos conduce a una disminución de la misma.

3) El compuesto más activo en cuanto a la inhibición de la actividad iNOS es el derivado **LC-40**, que presenta una alta **selectividad** por la isoforma iNOS frente a la nNOS.

4.3.3.- Análisis comparativo de los resultados biológicos iNOS cerebral/nNOS estriatal: Eficacia de acción.

Tal y como se expuso en el apartado de Antecedentes en esta Memoria hoy día se persigue la búsqueda de inhibidores de la óxido nítrico sintasa que, además de potentes, presenten una alta selectividad hacia una de las isoformas de la NOS. Este hecho sería de gran importancia para el tratamiento de diversos desórdenes tales como enfermedades neurodegenerativas (en las que está implicada sobre todo la isoforma nNOS), choque séptico o artritis reumatoide (en que se implica, principalmente, la isoforma inducible iNOS), entre otras.

En la **Tabla 4.57** se presenta un estudio de los valores de inhibición más destacados de los compuestos hacia la isoforma nNOS estriatal, ordenados en sentido decreciente; además se han indicado, a su vez, los valores correspondientes a la inhibición de iNOS cerebral. En esta tabla puede apreciarse cómo el sustituyente cloro en el anillo bencénico ofrece los mejores resultados, también se puede concretar que la estructura fenilpirrólica es la más eficaz como inhibitoria de la nNOS, puesto que su actividad inhibitoria frente a la isoforma inducible iNOS es prácticamente inexistente.

Por otra lado en la **Tabla 4.58**, se presentan los valores de inhibición más destacados de los compuestos hacia la isoforma iNOS cerebral, ordenados en sentido decreciente, indicando también los valores correspondientes a la nNOS. En este caso la apreciación de mayor interés es que la isoforma inducible es inhibida con mayor eficacia por aquellas estructuras que posean un heterociclo aromático. Además, se observa que, en general, los sutituyentes cloro e hidrógeno parecen ser los más idóneos para la inhibición de la iNOS. No obstante, debemos concluir, diciendo que en este tipo de inhibición aún estamos en una fase un tanto especulativa y que será necesario ampliar el tipo de productos para llegar a unas ciertas generalizaciones.

Tabla 4.57.- Análisis comparativo de actividades nNOS/iNOS .

Compuesto	Familia	R ₂	R ₃	R ₄	% Inhibición nNOS	% Inhibición iNOS
LC-10	Pirrónica	Cl	c-C ₃ H ₅	H	48.07 ± 1.30	7.20 ± 0.31
LC-2	Pirrónica	H	Pr	H	43.45 ± 3.38	6.78 ± 3.93
LC-27	Pirazólica	Cl	Et	-	41.55 ± 2.19	14.66 ± 3.23
LC-36	Pirazólica	Cl	H	-	40.20 ± 2.18	12.83 ± 4.57
LC-41	Pirazólica	H	Et	-	39.49 ± 1.64	12.53 ± 2.12
LC-28	Pirazólica	Cl	Bu	-	38.53 ± 3.47	10.05 ± 3.62
LC-9	Pirrónica	Cl	Bu	H	36.46 ± 4.13	3.33 ± 1.27
LC-38	Pirazólica	Cl	Et	-	35.47 ± 1.37	27.49 ± 2.10
LC-11	Pirrónica	Cl	H	H	34.48 ± 0.99	5.34 ± 2.34
LC-8	Pirrónica	Cl	Et	H	33.40 ± 2.46	2.80 ± 1.75

Tabla 4.58.- Análisis comparativo de actividades iNOS/nNOS .

Compuesto	Familia	R ₂	R ₃	R ₄	% Inhibición iNOS	% Inhibición nNOS
LC-18	Pirrónica	H	c-C ₅ H ₉	H	52.79 ± 1.70	5.36 ± 3.19
LC-40	Pirazólica	Cl	Bn	-	50.36 ± 3.19	2.69 ± 1.37
LC-12	Pirrónica	H	Me	H	32.68 ± 2.78	-12.79 ± 0.21
LC-35	Pirazólica	OCH ₃	Bn	-	30.54 ± 0.81	19.38 ± 2.87
LC-20	Pirrónica	H	Bn	H	28.11 ± 2.39	7.52 ± 2.5
LC-38	Pirazólica	Cl	Et	-	27.49 ± 2.10	35.47 ± 1.37
LC-4	Pirrónica	H	c-C ₅ H ₉	H	26.25 ± 3.22	15.33 ± 2.42
LC-1	Pirrónica	H	Me	H	26.17 ± 6.85	-47.97 ± 2.60

4.4.- Análisis conformacional.

El estudio de los compuestos descritos en esta tesis doctoral se ha abordado mediante el paquete de cálculo Sybyl6.9²¹. Las geometrías iniciales de las diferentes moléculas han sido generadas a partir de fragmentos estándar presentes en las bases de datos de programa y sus geometrías han sido optimizadas usando el campo de fuerzas Tripos²². La componente electrostática se ha calculado mediante cargas atómicas parciales derivadas del método de Gasteiger-Huckel²³ y usando una constante dieléctrica independiente de la distancia e igual unidad ($\epsilon=1$). La minimización energética se ha realizado mediante el método de Powell²⁴ y se ha continuado hasta que el valor del gradiente de energía ha sido inferior a $0.001 \text{ kcal/mol}\cdot\text{\AA}^2$.

Una vez optimizada la estructura se ha procedido al análisis conformacional de las estructuras base, haciendo rotar los enlaces indicados en la **Figura 4.27** a intervalos de 30° .

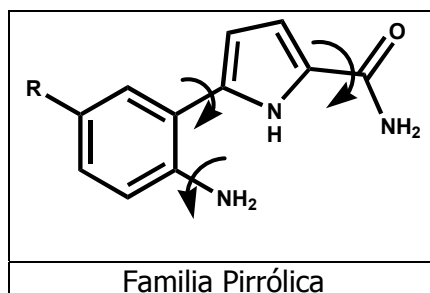


Figura 4.27.- Familias de compuestos y enlaces para el análisis conformacional.

Las geometrías así obtenidas se han liberado de todas las restricciones impuestas por la búsqueda conformacional, se han minimizado según la metodología descrita arriba y se han comparado unas con otras al objeto de conservar únicamente aquellas que son energética y geoméricamente únicas.

4.4.1.- Fenilpirroles.

La **Figura 4.28** muestra las cuatro conformaciones encontradas para el compuesto **LC-21**, a modo de ejemplo, el cual ha presentado un comportamiento ligeramente diferente al de las fenilpirazolininas de referencia.

De la consideración de las diferentes estabilidades de los cuatro conformeros encontrados, se pueden obtener varias reglas que rigen el comportamiento de estos compuestos.

- a) A diferencia de las fenilpirazolininas descritas anteriormente por nuestro grupo de investigación^{14,25}, el anillo bencénico y el heterociclo han perdido la coplanaridad que cabría esperar de la conjugación entre ambos anillos. Este hecho es consecuencia de las interacciones estéricas originadas por el enlace NH del anillo pirrólico en la conformación más estable, el cual no existía en las fenilpirazolininas de referencia.
- b) La diferencia de energía entre las conformaciones I y II es muy pequeña, lo cual también es una consecuencia de la presencia del enlace NH adicional, pues impide la formación del enlace de hidrógeno intramolecular entre el nitrógeno heterocíclico y el grupo NH₂, el cual estabilizaba la conformación tipo I en las fenilpirazolininas y que en los fenilpirroles no puede formarse.
- c) El grupo carbonilo terminal prefiere una conformación s-cis en relación al nitrógeno pirrólico. Este hecho se puede explicar si se considera que el enlace NH pirrólico y el grupo NH₂ terminal también generan interacciones estéricas en las conformaciones III y IV. Las fenilpirazolininas, en cambio, preferían una orientación s-trans del grupo carbonilo terminal en relación al nitrógeno heterocíclico debido a interacciones de tipo electrostático.

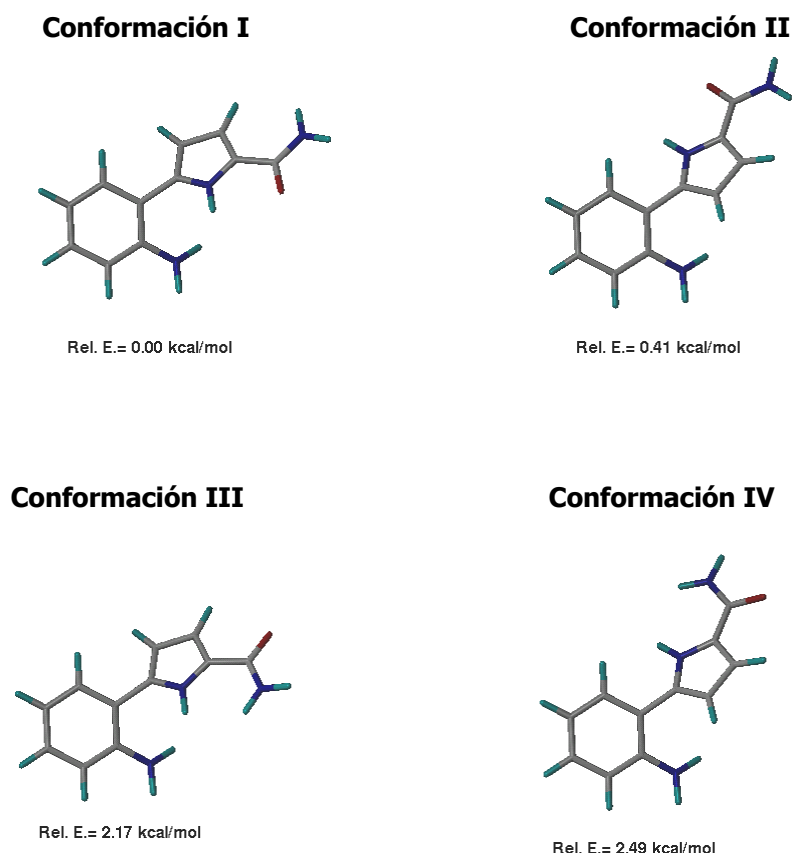


Figura 4.28.

La N-alquilación de la amida terminal no modifica sustancialmente este comportamiento conformacional, si bien es cierto que aumenta el número de conformaciones debidas a la rotación alrededor del enlace N-R. Por ejemplo, para el derivado N-ciclopropílico (compuesto **LC-16**) se han encontrado un total de **12** conformaciones que se pueden agrupar en las cuatro familias conformacionales anteriores.

La **Figura 4.29** muestra la conformación más estable de cada familia, para este compuesto. Se puede observar que el grupo ciclopropilo tiende a situarse lo más alejado posible del anillo pirrólico al objeto de minimizar las interacciones estéricas, pero el orden de estabilidad de las cuatro conformaciones no se altera e, incluso, los valores de energía relativa son prácticamente iguales.

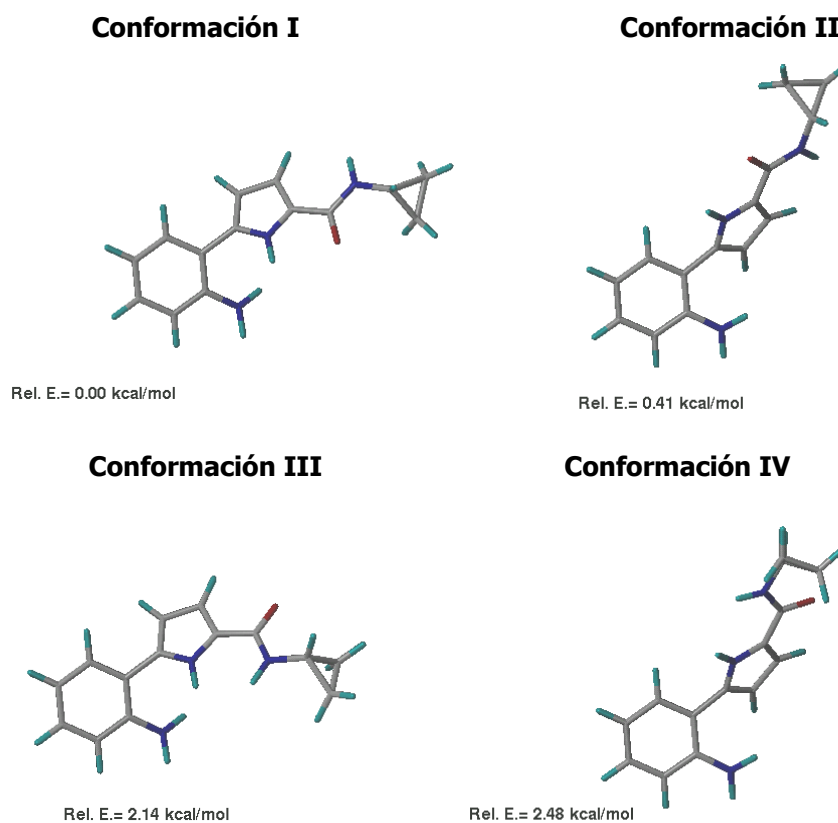


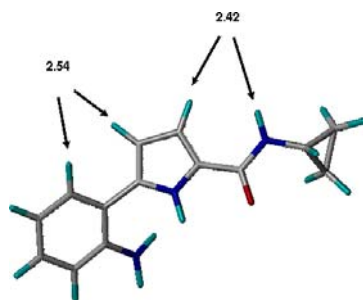
Figura 4.29.- Conformaciones encontradas para el compuesto **LC-21**.

Por último, la introducción de un átomo de Cl o de un grupo metoxilo sobre el anillo aromático no altera el comportamiento conformacional de estas moléculas. Únicamente en el último caso se observa un aumento del número de conformaciones totales debido a la existencia de rotámeros alrededor del enlace C-OMe, pero este hecho no afecta de modo significativo a la existencia de las cuatro familias conformacionales.

4.4.1.1.- Efectos NOE.

Se ha observado la existencia de efectos NOE en los derivados fenilpirrólicos. En concreto, para el derivado **LC-7** se ha observado un efecto NOE entre los átomos de hidrógeno H4 y H6', por una parte, y H3 y NH por la otra. Estos efectos NOE encontrados son compatibles con la conformación más estable encontrada para estos compuestos. Así,

por ejemplo, para el derivado ciclopropílico la distancia H4-H6' es de 2.54 Å, mientras que la distancia entre H3 y NH es de 2.42 Å.



El primer efecto NOE es compatible con las conformaciones primera y tercera en orden creciente de energía, mientras que el segundo efecto NOE lo es con las dos primeras conformaciones encontradas. En conjunto, los datos apuntan a una preponderancia de la conformación más estable en disolución. No obstante, dada la pequeña diferencia energética entre las dos primeras conformaciones, y la compatibilidad de la segunda con uno de los efectos NOE, no se puede descartar que exista en disolución un equilibrio conformacional entre ambas.

4.4.2.- Benzoilpirazoles.

En el análisis conformacional de los benzoilpirazoles se han considerado primero el sistema sin sustituir para, a continuación, estudiar la influencia sobre el comportamiento conformacional de diversos derivados N-sustituídos. Se han rotado los enlaces Ph-CO y CO-pirazol, así como los necesarios del sustituyente sobre el nitrógeno.

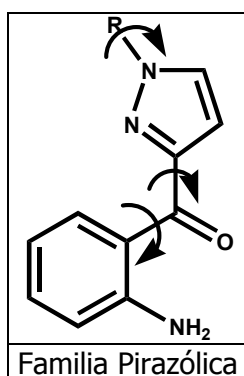


Figura 4.30.- Familia benzoilpirazólica.

Para el sistema base se han encontrado cuatro conformaciones de diferente energía, siendo similares a las encontradas por nuestro grupo de investigación con anterioridad para las benzoilpirazolin^{15,26}. En las dos conformaciones más estables se observa la formación del enlace de hidrógeno intramolecular entre el grupo NH₂ y el carbonilo, el cual estabiliza estas conformaciones de modo análogo a lo descrito para todos los compuestos estudiados por nuestro grupo.

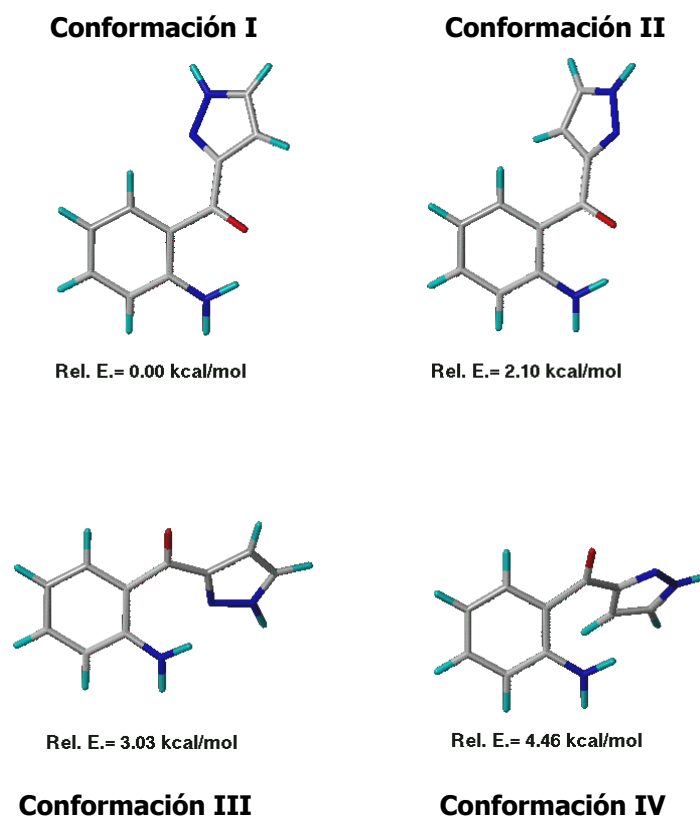
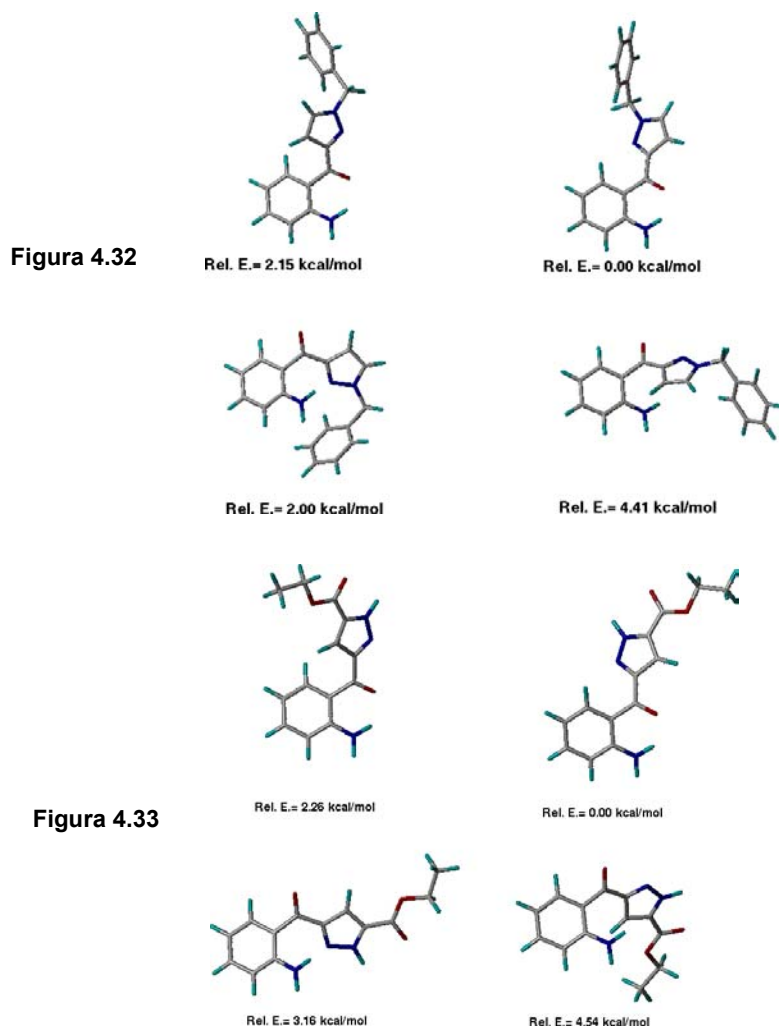


Figura 4.31.-Conformaciones en orden creciente de energía del esqueleto base.

Se observa nuevamente la preferencia del grupo carbonilo a situarse en una disposición s-trans respecto al átomo de nitrógeno pirazólico. Las razones de este comportamiento se deben buscar también en la mayor distancia de las cargas parciales negativas del N y del O así como en unas menores interacciones estéricas del átomo de N con el anillo bencénico si las comparamos con el enlace CH.

De estos dos efectos, se deduce fácilmente el orden de estabilidad de las cuatro conformaciones encontradas. La conformación más estable es aquella con el enlace de hidrógeno intramolecular y con el carbonilo en una disposición s-trans respecto al nitrógeno pirazólico .

La introducción de grupos voluminosos sobre el nitrógeno trigonal del pirazol (N1) no modifica de forma significativa el comportamiento de la molécula. Únicamente aparece un número mayor de conformaciones debida a los diferentes rotámeros del grupo unido al nitrógeno. Igualmente, la introducción del grupo etoxicarbonilo sobre el átomo C-3 tampoco cambia el comportamiento conformacional de los anillos. En la siguiente figura se recogen las cuatro conformaciones tipo del derivado N-bencilado (**Figura 4.32**) y del etoxicarbonil derivado (**Figura 4.33**).



En los dos casos se puede observar el paralelismo con las pirazolinas previamente descritas^{15,30}. Además, la introducción simultánea de los dos sustituyentes en N-1 tampoco modifica de forma significativa el comportamiento conformacional de estas moléculas. En efecto, para el compuesto N-etil etoxicarbonil derivado se encuentra aún como conformación más estable la primera descrita en la **Figura 4.34**.

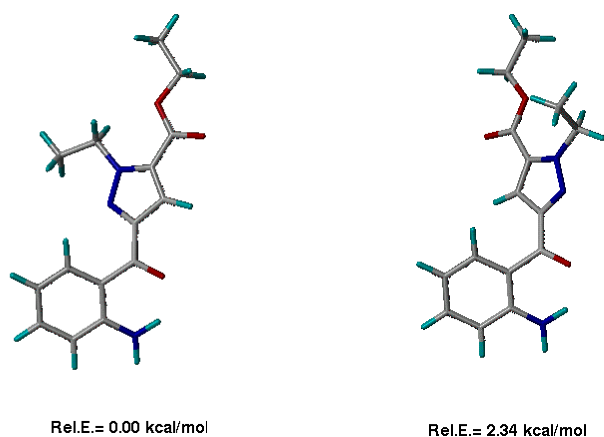


Figura 4.34.

4.4.3.-Inhibición de la nNOS.

A partir de las kinureninas y fenilpirazolininas sintetizadas por nuestro equipo de investigación con anterioridad¹⁴, hemos desarrollado un modelo de farmacóforo utilizando el anillo bencénico, el grupo NH_2 y el átomo de oxígeno del grupo carbonilo terminal como puntos de superposición de la molécula. El farmacóforo consta de un bolsillo hidrofóbico (arco rojo) que alojaría el anillo bencénico, un residuo aceptor de enlace de hidrógeno (flecha azul) que enlaza con el grupo NH_2 y un residuo donador de enlace de hidrógeno que interacciona con el grupo carbonilo terminal (flecha roja).

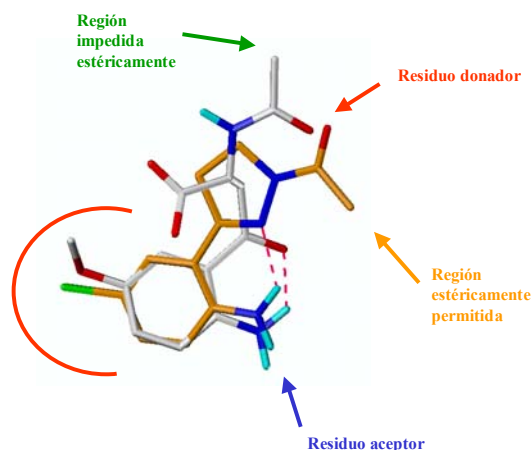


Figura 4.35.- Superposición de uno de los inhibidores de nNOs tipo kinurenínico con otro tipo pirazólnico en la conformación activa previamente propuesta por nuestro grupo de investigación.

Además, dos subsitios receptoriales sirven para alojar los grupos alquilo terminales de ambas moléculas. Uno de ellos, donde se situaría el grupo alquilo de la kinurenina mostraría una pequeña tolerancia de tipo estérico (flecha verde), permitiendo sólo la presencia de grupos pequeños lipofílicos. El otro, en cambio, presenta una mayor tolerancia estérica (flecha marrón) y es capaz de acomodar grupos más voluminosos de carácter lipófilo.

Este farmacóforo explica correctamente la diferencia observada en la influencia del sustituyente sobre la actividad de los dos tipos de compuestos, puesto que está orientado en direcciones opuestas. Así, en las kinureninas un aumento del tamaño de R_3 disminuye la actividad biológica, de modo que los compuestos más potentes se han encontrado con $R_3 = \text{Me}$. En cambio, en las fenilpirazolidinas un incremento del volumen del grupo R la aumenta la actividad, obteniéndose compuestos activos con grupos como el ciclopropilo, ciclohexilo y bencilo.

Los fenilpirroles son los mejores inhibidores de la nNOs descritos en esta Memoria. Si comparamos las conformaciones encontradas para los mismos con este modelo de farmacóforo, encontramos que la tercera conformación en estabilidad se puede superponer muy bien sobre la conformación activa de la fenilpirazolina. La siguiente figura

ilustra, a modo de ejemplo, la superposición del compuesto **LC-21** con la conformación activa de la pirazolina¹⁴. Se puede observar la correspondencia casi completa entre el anillo aromático, el grupo 2'-NH₂ y el grupo carbonilo terminal.

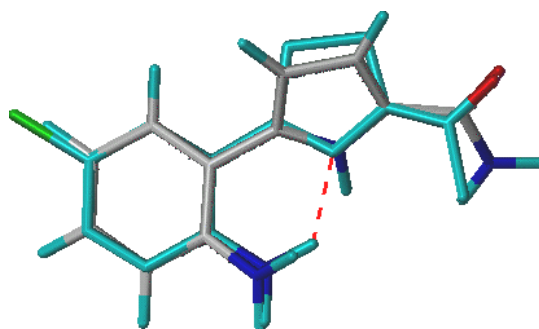


Figura 4.36.- Superposición de la conformación activa de la 1-acetil-3-(5-cloro-2-aminofenil)pirazolina con la tercera conformación del compuesto **LC-21**. Se observa la coincidencia del grupo NH₂, el anillo aromático y el oxígeno carbonílico terminal. El enlace de hidrógeno mostrado (línea roja) es el que estabiliza la conformación activa de la pirazolina.

Este compuesto presenta un porcentaje de inhibición de nNOS de un 15%, demasiado bajo si consideramos que la superposición de los grupos involucrados en las interacciones son prácticamente coincidentes.

Dicha pérdida de actividad puede ser debida a dos razones diferentes. La primera de ellas es que la conformación mostrada en esta figura, que es coincidente con la conformación activa de la pirazolina, no es la más estable del compuesto. Sin embargo, la energía relativa de esta conformación (2.17 kcal/mol) no es demasiada elevada y podría ser fácilmente compensada por la disminución de energía libre debida a la interacción enzima-inhibidor. La segunda razón se encuentra en la orientación del grupo NH₂ de la amida del derivado pirrólico, el cual se sitúa en la zona correspondiente al grupo metilo de la pirazolina. Esta zona, tal y como se muestra en la **Figura 4.35** y se ha mencionado anteriormente, presenta una buena tolerancia estérica y admite grupos voluminosos de carácter lipófilo. Es por esta razón por la que la presencia de un grupo NH₂ (de marcado

carácter hidrófilo) en esta zona, podría debilitar la interacción enzima-inhibidor disminuyendo la actividad inhibitoria de este compuesto.

Si comparamos las conformaciones de los fenilpirroles sustituidos sobre el nitrógeno de la amida con la del farmacóforo, también encontramos una buena superposición de los grupos necesarios para la actividad biológica. A modo de ejemplo, la **Figura 4.37** recoge las superposiciones de los compuestos **LC-16** (R_3 =ciclopropilo, R_2 =H) y **LC-18** (R_3 =ciclopentilo, R_2 =H) y la fenilpirazolina antes mencionada en su conformación activa.

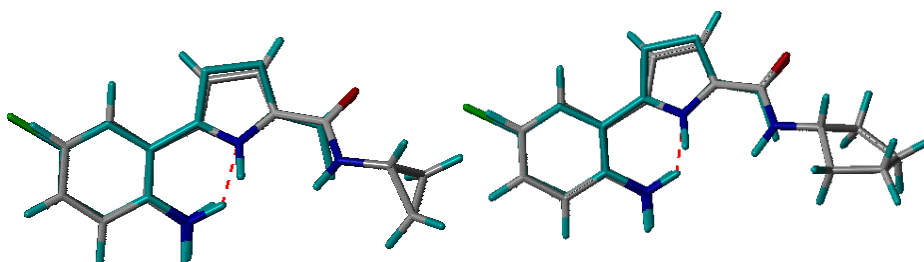


Figura 4.37.- Superposición de los compuestos (**LC-16** y **LC-18**) con la conformación activa de la pirazolina 1-acetil-3-(5-cloro-2-aminofenil)pirazolina en su conformación activa.

Se puede observar que los grupos ciclopropilo y ciclopentilo se sitúan en una zona próxima a aquella en la que se alojan los grupos voluminosos de la pirazolina, aunque no es exactamente la misma zona. Aunque se observa un ligero incremento de la actividad biológica de los fenilpirroles cuando crece el tamaño de R, sobretodo en la serie con $R=Cl$, esta influencia no está tan clara como en el caso de las fenilpirazolininas, posiblemente debido a que la orientación del sustituyente situado sobre el N no es exactamente la adecuada para una interacción óptima con la enzima.

Considerados en su conjunto, los fenilpirroles son mejores inhibidores de la nNOS si se comparan con los benzoilpirazoles o benzoilpirazolidinas descritos en esta memoria, posiblemente porque son más similares a las fenilpirazolininas descritas con anterioridad. No obstante, la presencia del grupo NH_2 terminal parece ser contraproducente dado su carácter hidrófilo que debilita la interacción con la enzima. Por otra parte, la hibridación de

éste átomo de nitrógeno orienta el grupo alquilo terminal en una dirección ligeramente distinta a la correcta para la interacción con el enzima.

Si atendemos a la naturaleza del sustituyente sobre el anillo bencénico, en la serie de fenilpirroles se observa que la presencia del cloro mejora la potencia. Por desgracia, faltan algunos derivados de esta serie para poder hacer una generalización mayor, pero se podría decir que un anillo aromático más electrón-deficiente es mejor para la actividad inhibitoria. Esta idea se ve apoyada por el hecho de que las actividades de los derivados no sustituidos ($R_2=H$) son pequeñas. En la serie con metoxilo, además, se ha observado un comportamiento fluctuante, pues además de una baja actividad inhibitoria, se han encontrado compuestos que exaltan la actividad de la enzima, sin que hasta el momento conozcamos una razón para ello.

En la serie de los benzoilpirazoles y las benzoilpirazolinás las actividades inhibitorias de nNOS encontradas no son muy elevadas y, además, los datos de actividad biológica parecen algo contradictorios. Por ejemplo, en la serie con $R_2=Cl$, son mejores inhibidores los benzoilpirazoles cuando el sustituyente sobre el N es pequeño, mientras que en las fenilpirazolinás la actividad es mejor con un grupo voluminoso. Por desgracia, el número de compuestos disponibles no es suficiente para poder abordar un estudio más detallado y no se pueden obtener conclusiones más generales sobre estas moléculas.

4.4.4.-Inhibición de la iNOS.

Hasta el momento no tenemos un modelo para la inhibición de la iNOS. En la serie de fenilpirroles, excepto en el compuesto con $R_2=H$ y ciclopentilo (53%), las actividades biológicas encontradas son bajas. Con esta enzima, los peores resultados se obtienen con $R_2=Cl$, por lo que se puede decir que es necesario un anillo aromático menos electrón-deficiente que para la inhibición de la nNOS.

En la serie de las benzoilpirazolinás y los benzoilpirazoles, se puede observar que los últimos son mejores inhibidores que las primeras en líneas generales.

4.5.- Bibliografía Parte teórica.

1. Boukou-Poba, J. P.; Farnier, M.; Guillard, R. A General Method for the Synthesis of 2-Arylpyrroles. *Tetrahedron Letters*, **1979**, 19, 1717-1720.
2. Hemetsberger, H.; Knittel, D.; Weidmann, H. Synthese von α -Azidozimtsäureestern. *Monatshefte für Chemie*, **1969**, 100, 1599-1603.
3. Hemetsberger, H.; Knittel, D.; Weidmann, H. Enazide, 3. Mitt: Thermolyse von α -Azidozimtestern; Synthese von Indol-derivaten. *Monatshefte für Chemie*, **1970**, 101, 161-165.
4. Hemetsberger, H.; Knittel, D. Synthese und Thermolyse von α -Azidoacrylestern. *Monatshefte für Chemie*, **1972**, 103, 194-204.
5. Marino, J. P.; McClure, M. S.; Holub, D. P.; Comasseto, J. V.; Tucci, F. C.; Stereocontrolled Synthesis of (-)-Macrolactin A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 1664-1668.
6. Fürstner, A.; Jumbam, D.; Scidel, G. Syntheses of zindoxifene and analogues by Titanium-Induced Oxo-amide coupling. *Chem. Ber.*, **1994**, 127, 1125-1130.
7. McKennis, H. Jr.; Turnbull, L. B.; Bowman, E. R.; Tamaki, E. The Synthesis of Hydroxycotinine and Studies on Its Structure. *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 383-387.
8. Coleman, G. H.; Wichols, G.; Mc Closekey, C. M.; Ansporn, H. D. p-Phenylazobenzoyl Chloride. *Org. Syn. Coll.*, **1963**, 3, 712-713.
9. Garratt, P. J.; Jones, R.; Tocher, D. A. Mapping the Melatonin Receptor..3. Design and Synthesis of Melatonin Agonists and Antagonists Derived from 2-PHENYLTRYPTAMINES. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 1132-1139.

10. Davey, D. D. Synthesis of 6-Phenylimidazo[1,2-a]pyrazin-8-one and 1-Methyl-6-Phenylimidazo[1,5-a]Pyrazin-8-one via Quaternary Intermediates. *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 4379 – 4381.
11. Guida, W. C.; Mathre, D. J. Phase-Transfer Alkylation of Heterocycles in the Presence of 18-Crown-6 and Potassium *tert*-Butoxide. *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 3172 – 3176.
12. Zhu, J.; Beugelmans, R.; Bourdet, S.; Chastanet, J.; Roussi, G. A Convergent Synthesis of 14-membered F-O-G Ring Analogs of the Teicoplanin Binding Pocket *via* Intramolecular S_NAr Reaction *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6389- 6396.
13. Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische methoden in der organischen chemie*, 5^o, **1995**, Ed. Georg Thieme Verlag, Stuttgart-Nueva York.
14. Velasco, G. Kinurenaminas y productos relacionados activos en el Sistema Nervioso Central. *Tesis Doctoral*. Universidad de Granada. **2002**.
15. Carrión, M. D. Síntesis y evaluación biológica frente a óxido nítrico sintasa de nuevos derivados kinuneramínicos y pirazolínicos. *Tesis Doctoral*. Universidad de Granada. **2003**.
16. Gao, F.; Johnson, K. F.; Schlenoff, J. B. Ring Closing and Photooxidation in nitrogen analogues of 3-hydroxyflavone. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* **1995**, 269-273.
17. Gaber, H. M. Dipolar Cycloaddition Reactions with Thiazolonylhydrazones: a New Route for Synthesis of Several New Thienyl- and Furyl-thiazolonylpyrrolopyrazole Derivatives of Expected Biological Activities. *Phosphorus, Sulfur and Silicon* , **2003**, 178, 417-424.

18. Eldin, S. M.; Gaber, H. M.; Ghabrial, S. S. Reactions with Maleimides XI: Dipolar Cycloaddition Reaction with Thiazolonylarylhydrazones: a New Route for the Synthesis of Several New Thiazolonylpyrazoles of Expected Biological Activities. *Phosphorus, Sulfur and Silicon*, **2002**, 177, 803-810.
19. Dutta, A. K.; Xu, C.; Reith, M. E. A.; Structure-Activity Relationship Studies of Novel 4[2-[Bis(4-fluorophenyl)methoxy]ethyl]-1-(3-phenylpropyl)piperidine Analogs: Synthesis and Biological Evaluation at the Dopamine and Serotonin Transporter Sites. *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 749-756.
20. Guida, W. C.; Mathre, D. J. Phase-Transfer Alkylation of Heterocycles in the Presence of 18-Crown-6 and Potassium *tert*-Butoxide. *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 3172 – 3176.
21. SYBYL Molecular Modeling Software, Tripos Inc. 1699 S. Hanley Road; St. Louis MO 63144-2913; www.tripos.com.
22. Clark, M.; Cramer, R. D.; Van Opdenbosch, N. *J. Comp. Chem.*, **1989**, 10, 982-1012.
23. Gasteiger, J.; Marsili, M. *Tetrahedron*, **1980**, 36, 3219-3228. b) Marsili, M.; Gasteiger, J. *Croat. Chem. Acta.*, **1980**, 53, 601-614. c) Gasteriger, J.; Marsili, M. *Organ. Magn. Reson.*, **1981**, 15, 353-360.
24. Powell, M. J. D. Restart Procedures for the Conjugate Gradient Method. *Mathematical Programming*, **1997**, 12, 241-254.
25. Camacho, M. E.; León, J.; Entrena, A.; Velasco, G.; Carrión, M. D.; Escames, G.; Vivó, A.; Acuña, D.; Gallo, M. A; Espinosa, A. 4,5-dihydro-1*H*-pyrazole. Derivatives with Inhibitory nNOS Activity in Rat Brain: Synthesis and Structure-Activity Relationships. *J. Med. Chem*, **2004**, 47, 5641-5650.

26. Carrión, M. D.; Camacho, M. E.; León, J.; Escames, G.; Tapias, V.; Acuña, D.; Gallo, M. A.; Espinosa, A. Synthesis and iNOS/nNOS Inhibitory Activities of New Benzoylpyrazoline Derivatives. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 4051-4069.

5.-EXPERIMENTAL

5.- PARTE EXPERIMENTAL.

5.1.- Condiciones generales.

Las reacciones se han llevado a cabo bajo atmósfera inerte de argon, a menos que se especifique de otra forma. Los disolventes anhidros se han obtenido como sigue: tetrahidrofurano, por destilación con H_4LiAl y recogida sobre tamiz molecular de 4 Å; etanol, por destilación sobre Mg y I_2 y recogida sobre tamiz molecular de 4 Å; diclorometano, por destilación con P_2O_5 y recogida sobre tamiz molecular de 4 Å; acetonitrilo, por destilación con P_2O_5 y recogida sobre tamiz molecular de 3 Å; éter dietílico, por destilación con Na y benzofenona y recogida sobre tamiz molecular de 4 Å.

Todos los reactivos adquiridos comercialmente se han usado sin posteriores purificaciones.

Los procesos de reacción se controlaron de forma rutinaria mediante cromatografía en capa fina (c.c.f.) en cromatofolios Merck AL de gel de sílice 60 F₂₅₄. Como revelador se ha utilizado habitualmente la observación en lámpara de rayos ultravioleta; también se ha revelado con yodo o solución de ninhidrina.

La purificación mediante cromatografía en columna flash se ha realizado utilizando gel de sílice Merck 60 (230-400 mesh ASTM).

Los espectros de ^1H -RMN se han realizado en un aparato Bruker AM-300, Bruker AMX-300 o Bruker ARX-400. Los datos se expresan en desplazamientos químicos δ (ppm). Las constantes de acoplamiento J se expresan en Hz (ciclos por segundo). El aspecto y la multiplicidad de señales se indican mediante las siguientes abreviaturas: s, singlete; sa, singlete ancho; d, doblete; dd, doble doblete; ddd, doble doble doblete; t, triplete; dt, doble triplete; pt, pseudotriplete; c, cuadruplete; m, multiplete. Los espectros de ^{13}C -RMN se han realizado en un aparato Bruker AM-300 (75 MHz), Bruker AMX-300 (75 MHz) o Bruker ARX-400 (100 MHz).

Los espectros de masas de baja resolución (EM) se han realizado en un equipo PlatformII (Micromass Instrument) empleando técnicas de ionización química por impacto electrónico (70 eV) y de ionización química (utilizando metano como gas reactivo). Así mismo, los espectros de masas de alta resolución (HR) se han realizado en un equipo Autospec Q (Micromass Instrument) mediante la técnica de iones secundarios en fase líquida (Liquid Secondary Ionization Mass Spectrum, LSIMS).

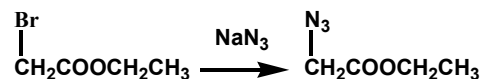
Los análisis elementales (A.E.) se han realizado en un aparato Perkin Elmer 240 C o en un aparato Fisons Carlo Erba EA 1108. Las muestras se han secado en una estufa Gallencamp a presión reducida, con P_2O_5 en su interior, a 30-40°C durante 16 horas.

Los puntos de fusión se han medido en un aparato Electrothermal Melting Point Apparatus y están sin corregir.

Los espectros y los análisis elementales han sido realizados por el Centro de Instrumentación Científica (C.I.C) de la Universidad de Granada.

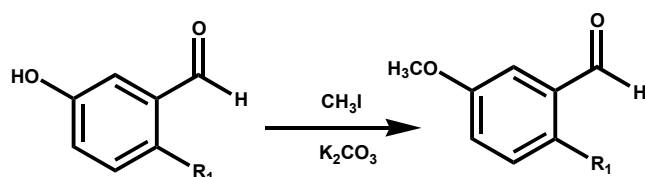
5.2.- Síntesis de materias primas.

5.2.1.- Síntesis de 2-azido acetato de etilo (27).¹



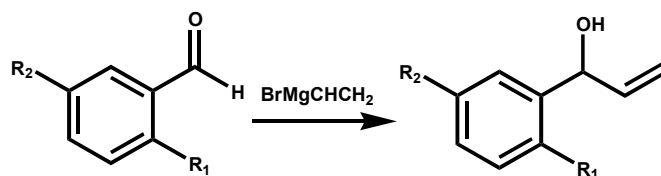
Sobre una solución de 10 g de NaN_3 (154 mmol) en una mezcla de dioxano/DMF seco, se adicionan 10.72 ml de 2-bromoacetato de etilo (102.5 mmol), La reacción se mantiene en agitación y a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón, durante 3 horas. A continuación se concentran los disolventes al rotavapor, se lava con agua y se extrae la fase orgánica con éter etílico (3 x 50 ml). La fase etérea se seca (Na_2SO_4), se filtra y se concentra al rotavapor. Se obtiene un aceite amarillento. Rendimiento 100%.

5.2.2.- Síntesis de 5-metoxi-2-nitrobenzaldehido (146a).²



Sobre una solución de 5-hidroxi-2-nitrobenzaldehido (10.96 g, 66 mmol) en THF (400 ml), se adiciona K_2CO_3 (9.09 g, 66 mmol) formándose de inmediato el precipitado del correspondiente fenolato potásico. Dicha suspensión se mantiene en agitación durante 1 hora, tras la cual se añade MeI (60.58 g, 427 mmol) y se mantiene a reflujo 24 horas más. Los residuos insolubles se filtran y el filtrado se concentra para dar 11.87 g del producto. Rendimiento 95 %. P.f. 82-83°C.

5.2.3.- Síntesis de derivados de 1-(2-nitrofenil)-2-propen-1-ol (147, 148, 149).^{3,4}



Procedimiento general de síntesis:

Se disuelven 4.75 mmol del correspondiente 2-nitrobenzaldehído sustituido en posición 5, en 20 ml de THF seco a -70°C . Posteriormente se añaden 6.65 ml (6.65 mmol) de bromuro de vinilmagnesio; la mezcla de reacción se mantiene 3.5 horas en agitación bajo atmósfera de argón. Transcurrido dicho tiempo, se añaden 20 ml de HCl 0.01 N y se extrae con éter etílico (3×25 ml). La fase etérea se seca (Na_2SO_4), se filtra y se concentra al rotavapor. El crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash en gel de sílice, empleando como eluyente éter etílico/hexano 1:3.

5.2.3.1.- Síntesis de 1-(5-metoxi-2-nitrofenil)-2-propen-1-ol (147).³

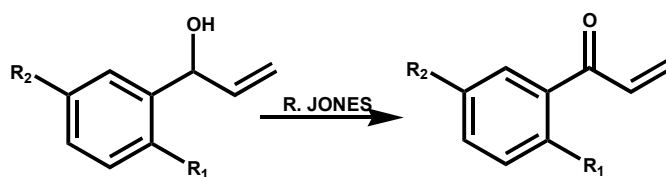
Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.2.3, se obtienen 993 mg del compuesto. Rendimiento 100%.

5.2.3.2.- Síntesis de 1-(5-cloro-2-nitrofenil)-2-propen-1-ol (148).⁴

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.2.3, se obtienen 710 mg del compuesto. Rendimiento 70%.

5.2.3.3.- Síntesis de 1-(2-nitrofenil)-2-propen-1-ol (149).⁴

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.2.3, se obtienen 723 mg del compuesto. Rendimiento 85%.

5.2.4.- Síntesis de derivados de 2-nitrofenil vinil cetona (150, 151, 152).^{3, 4}**Procedimiento general de síntesis:**

En primer lugar se prepara el reactivo de Jones: Una mezcla de 2.67 g de anhídrido crómico y 2.3 ml de H₂SO₄ se disuelven hasta 10 ml de H₂O.

Seguidamente, sobre una solución de 2 mmol del correspondiente alcohol alílico en 4 ml de acetona, se adiciona el reactivo de Jones (1.1 ml, 2.67 M) recién preparado. Después de 10 min, se adicionan 5 ml de hielo-agua y 1 ml de solución saturada de NaHSO₃. La mezcla resultante se extrae con éter etílico (4 × 10 ml), se seca (Na₂SO₄), se filtra y concentra al rotavapor. El crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash en gel de sílice, usando como eluyente éter etílico/hexano 1:3.

5.2.4.1.- Síntesis de 5-metoxi-2-nitrofenil vinil cetona (150).³

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.2.4, se obtienen 309 mg de un aceite que corresponde a la cetona. Rendimiento 75%.

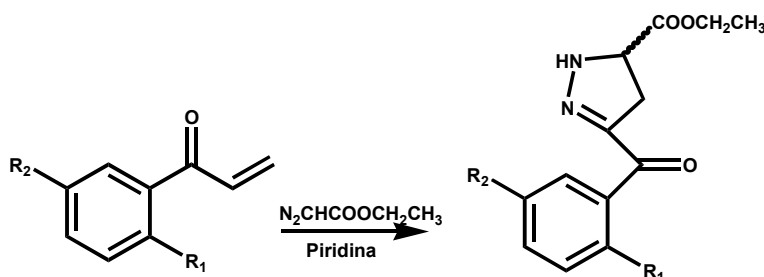
5.2.4.2.- Síntesis de 5-cloro-2-nitrofenil vinil cetona (151).⁴

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.2.4, se obtienen 275 mg de un aceite que corresponde a la cetona. Rendimiento 65%.

5.2.4.3.- Síntesis de 2-nitrofenil vinil cetona (152).⁴

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.2.4, se obtienen 250 mg de un aceite que corresponde a la cetona. Rendimiento 70%.

5.2.5.- Síntesis de derivados de 3-(2-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (153, 154, 155).⁵



Sobre una disolución de 1.38 mmol de la correspondiente fenil vinil cetona sustituida en 4 ml de acetonitrilo seco, se añaden 0.013 ml (0.172 mmol) de piridina y a continuación lentamente y con agitación, se adicionan 0.16 ml (1.38 mmol) de diazoacetato de etilo. La mezcla de reacción se mantiene 10 horas en agitación bajo atmósfera de argón. Transcurrido dicho tiempo se lava con HCl al 5% (2 × 10 ml), la fase orgánica se seca (Na₂SO₄) y concentra al rotavapor. El sólido resultante se purifica mediante recristalización de cloruro de metileno/hexano.

5.2.5.1.- Síntesis de 3-(5-metoxi-2-nitrobenzoil)- 4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (153)⁵.

Siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 5.2.5, se obtiene un sólido amarillo que se identifica como el producto. Rendimiento 90%. P.f. 144-146°C.

5.2.5.2.- Síntesis de 3-(5-cloro-2-nitrobenzoi)- 4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (154) ⁵.

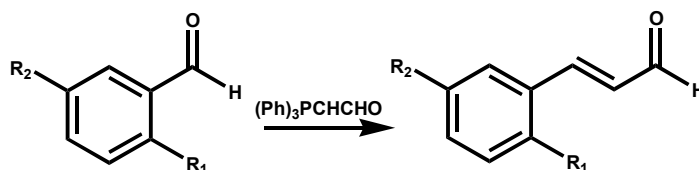
Se sigue el procedimiento descrito en el apartado 5.2.5 y se obtienen 382 mg de un sólido amarillo que se identifica como el producto. Rendimiento 85%. P.f. 143-146°C.

5.2.5.3.- Síntesis de 3-(2-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (155) ⁵.

Se sigue el procedimiento descrito en el apartado 5.2.5 y se obtienen 353 mg de un sólido amarillo que se identifica como el producto. Rendimiento 88%. P.f. 107-109°C.

5.3.- Síntesis de productos intermedios.

5.3.1.- Síntesis de derivados del 2-nitrocinaldehído (156, 157).⁶



Procedimiento general de síntesis.

En un principio la reacción se hizo bajo las condiciones descritas⁶, sin embargo se ha podido comprobar que bajo esas condiciones se da una reacción de acoplamiento entre el cinaldehído formado y el fosforano estabilizado, como se describe en la parte teórica. Así que se han modificado las condiciones iniciales para finalmente, conseguir mejores rendimientos.

En un matraz se disuelven 8.29 mmol de 2-nitrobenzaldehído-5-sustituído en CH₂Cl₂ seco, a continuación se adicionan 8.29 mmol de trifenilfosforilidenacetaldéhído,

también disuelto en CH_2Cl_2 y se mantiene en agitación la mezcla de reacción de 8 a 24 horas, bajo atmósfera de argón y a temperatura ambiente. Transcurrido dicho tiempo se evapora el disolvente al rotapavor. El crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash en gel de sílice, empleando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:50.

5.3.1.1.- Síntesis de 5-metoxi-2-nitrocinamaldehido (156).⁶

Siguiendo el procedimiento 5.3.1 anteriormente descrito, se obtienen 1.5 g de un sólido blanco que se identifica como el producto. Se obtiene la mezcla *E-Z* de isómeros, y se hacen las determinaciones espectroscópicas sobre el derivado *trans* que es el mayoritario. Rendimiento de la mezcla de isómeros 87%. P.f. 123-125°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 9.78 (d, 1H, H-1, $J_{1-2} = 7.7$ Hz); 8.16 (m, 2H, H-3, H-3'); 7.02 (m, 2H, H-4', H-6'); 6.55 (dd, 1H, H-2, $J_{2-1} = 7.7$ Hz, $J_{2-3} = 15.8$ Hz); 3.92 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 192.55 (C-1); 162.89 (C-5'); 147.89 (C-3); 140.90 (C-2'); 132.38 (C-1'); 131.82 (C-2); 127.92 (C-3'); 114.83 (C-6'); 113.37 (C-4'); 55.44 ($-\text{OCH}_3$).

HR LSIMS: Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_4\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ 230.042928; encontrado 230.042741 (desviación 0.8 ppm).

5.3.1.2.- Síntesis de 5-cloro-2-nitrocinamaldehido (157).⁶

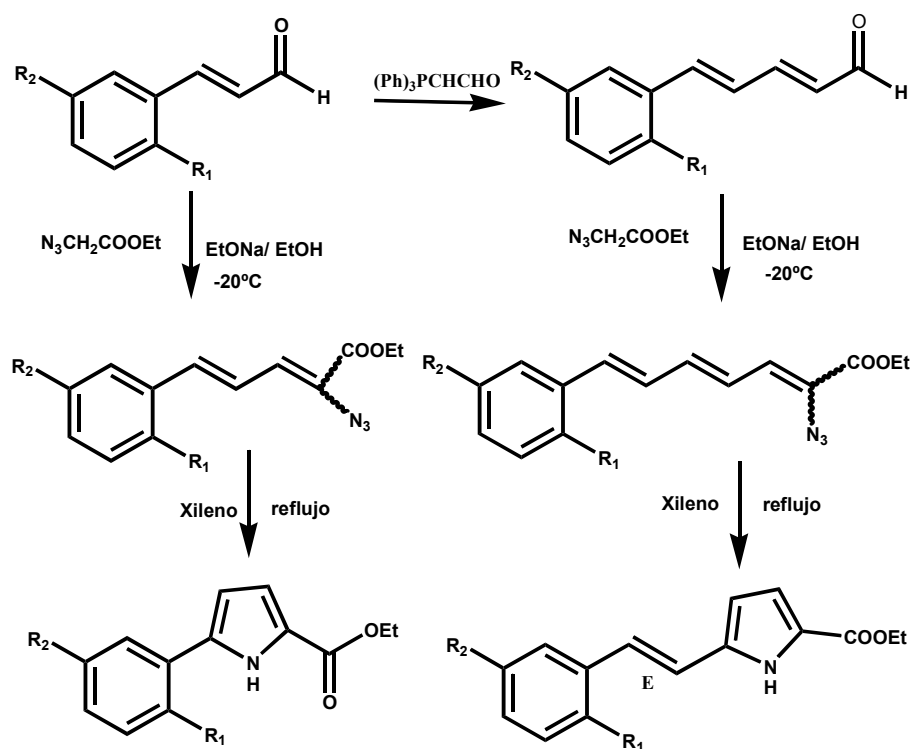
Siguiendo el procedimiento 5.3.1 anteriormente descrito, se obtienen 1.088 g de un sólido blanco que se identifica como el producto. Se obtiene la mezcla *E-Z* de isómeros, y se hacen las determinaciones espectroscópicas sobre el derivado *trans* que es el mayoritario. Rendimiento de la mezcla de isómeros 84%. P.f. 180-181°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.76 (d, 1H, H-1, J_{1-2} = 7.5 Hz); 8.08 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'}$ = 8.7 Hz); 7.99 (d, 1H, H-3, J_{3-2} = 15.9 Hz); 7.62 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'}$ = 2.2 Hz); 7.55 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-6'}$ = 2.2 Hz, $J_{4'-3'}$ = 8.7 Hz); 6.59 (dd, 1H, H-2, J_{2-1} = 7.5 Hz, J_{2-3} = 15.9 Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 192.71 (C-1); 145.96 (C-2' y C-3); 140.54 (C-5'); 133.42 (C-6'); 132.02 (C-1'); 130.98 (C-4'); 129.12 (C-3'); 126.83 (C-2).

HR LSIMS: Calculado para C₉H₆NO₃ClNa (M + Na)⁺ 233.993391; encontrado 233.994212 (desviación -3.5 ppm).

5.3.2.- Síntesis de derivados de 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (160, 161, 162) y síntesis del derivado 5-[2-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1-etnil]-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (163)⁷⁻¹⁴



Procedimiento general de síntesis:

Síntesis de derivados de 2-azido-5-(2'-nitrofenil)-2,4-pentadienoato de etilo.

Estos derivados han sido preparados según la reacción de Hemetsberger⁷.

En un matraz de dos bocas sumergido en un baño de hielo/CH₃OH a -20°C se adicionan 13.43 mmol del derivado 2-nitrocinamaldehído disuelto en 10 ml de EtOH seco, a esta solución se le añaden 69.12 mmol de 2-azidoacetato de etilo y se mantiene agitando 15 minutos. Después se le adiciona gota a gota una mezcla de etóxido sódico en EtOH, preparada a partir de 70 mmol de Na y 60 ml de EtOH seco. La reacción se mantiene a -20°C de 4 a 5 horas hasta que haya desaparecido el aldehído de partida. La mezcla se lava con agua y se extrae con acetato de etilo (3 x 50 ml); se seca la fase orgánica con Na₂SO₄ y se concentra al rotavapor. Se obtiene un aceite que se recristaliza con CH₃OH/éter etílico o acetato de etilo/hexano para dar un sólido marrón-amarillento. Debido a la inestabilidad de estos productos y a su espontaneidad para ciclar y dar derivados del 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo, no se han identificado los compuestos resultantes de esta síntesis por los métodos espectroscópicos de rutina y se ha procedido directamente a realizar la siguiente reacción.

Síntesis de derivados de 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo.

Una solución de 2-azido-5-(2'-nitrofenil)-2,4-pentadienoato de etilo convenientemente sustituido en posición 5' en xileno, se calienta a reflujo durante un periodo de tiempo que oscila entre 7 y 24 horas, dependiendo de dicho sustituyente. A continuación se concentra el disolvente al rotavapor. La purificación se lleva a cabo por diferentes metodologías dependiendo de cada producto.

5.3.2.1.- Síntesis de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (160).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.2, manteniendo la reacción durante 12 horas en agitación y a 80°C, sobre xileno. Trancurrido dicho tiempo se concentra el disolvente al rotavapor. El crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash en gel de sílice, empleando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:7. Se obtienen 3.705 g de un sólido amarillo. Rendimiento 95%. P.f. 146-148°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 9.75 (sa, 1H, H-1); 7.95 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz); 6.98 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.7$ Hz); 6.91 (m, 2H, H-4', H-3); 6.37 (dd, 1H, H-4, $J_{4-1} = 2.9$ Hz, $J_{4-3} = 3.5$ Hz); 4.34 (c, 2H, -CH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.88 (s, 1H, -OCH₃); 1.32 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 162.70 (-COO-); 161.07 (C-5'); 141.55 (C-2'); 131.42 (C-5); 129.19 (C-2); 127.65 (C-3'); 124.35 (C-1'); 116.68 (C-6'); 115.84 (C-4'); 113.73 (C-4); 112.04 (C-3); 60.67 (-CH₂CH₃); 56.10 (-OCH₃); 14.50 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₄N₂O₅Na (M + Na)⁺ 313.080041; encontrado 313.080305 (desviación -0.8 ppm).

5.3.2.2.- Síntesis de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (161).

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.2, se mantiene la reacción durante 8 horas en agitación y a 60°C. Trancurrido dicho tiempo se concentra el disolvente al rotavapor. El crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₃OH/éter etílico. Se obtienen 3.80 g de un sólido marrón. Rendimiento 96%. P.f. 121-123°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 9.92 (sa, 1H, H-1); 7.83 (d, 1H, H-3, $J_{3'-4'} = 8.6$ Hz); 7.62 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.2$ Hz); 7.46 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-6'} = 2.2$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.6$ Hz); 6.97

(dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.5$ Hz, $J_{3-1} = 2.5$ Hz); 6.45 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.5$ Hz); 4.34 (c, 2H, -CH₂CH₃ $J = 7.1$ Hz); 1.38 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 161.01 (-COO-); 146.70 (C-2'); 138.85 (C-5'); 131.18 (C-6'); 129.48 (C-1'); 128.62 (C-4'); 128.02 (C-5); 126.16 (C-3'); 125.22 (C-2); 116.23 (C-3); 112.60 (C-4); 60.87 (-CH₂CH₃), 14.47 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₁N₂O₄ClNa (M + Na)⁺ 317.030504; encontrado 317.029846 (desviación 2.1 ppm).

5.3.2.3.- Síntesis de 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (162).

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.2, se mantiene la reacción durante 24 horas en agitación a 125°C. Transcurrido dicho tiempo se concentra el disolvente al rotavapor. El crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 3.187 g de un sólido marrón-amarillento. Rendimiento 91 %. P.f. 150-151°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.95 (sa, 1H, H-1); 7.81 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz); 7.60 (m, 2H, H-6', H-5'); 7.46 (m, 1H, H-4'); 6.93 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.9$ Hz, $J_{3-1} = 2.5$ Hz); 6.37 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.9$ Hz, $J_{4-1} = 2.7$ Hz); 4.25 (c, 2H, -CH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.31 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 161.17 (-COO-); 148.66 (C-2'); 132.47 (C-5'); 131.34 (C-6'); 130.95 (C-1'); 128.72 (C-4'); 126.24 (C-2); 124.60 (C-5); 124.47 (C-3'); 116.12 (C-3); 111.80 (C-4); 60.67 (-CH₂CH₃); 14.45 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₃N₂O₄ (M + H)⁺ 261.087532; encontrado 261.087907 (desviación -1.4 ppm).

5.3.2.4.- Síntesis de 5-[2'-(5''-metoxi-2''-nitrofenil)vinil]-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (163).

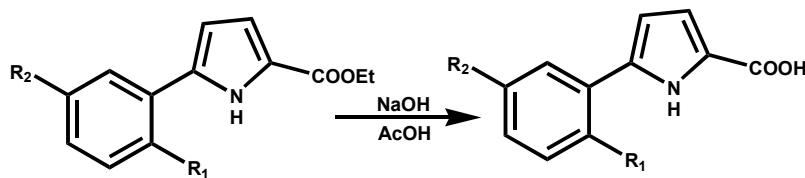
Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.2, pero en este caso el aldehído de partida es 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-2,4-pentadienal y se parte de 300 mg, se mantiene la reacción durante 12 horas en agitación y a 120°C. Transcurrido dicho tiempo se elimina el disolvente al rotavapor. El crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 250 mg de un sólido naranja. Rendimiento 62%. P.f. 207-209°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.30 (sa, 1H, H-1); 8.01 (d, 1H, H-3'', J_{3''-4''} = 9.1 Hz); 7.61 (d, 1H, H-2', J_{2'-1'} = 16.1 Hz); 7.29 (d, 1H, H-6'' J_{6''-4''} = 2.8 Hz); 7.22 (d, 1H, H-1' J_{1'-2'} = 16.1 Hz); 7.01 (dd, 1H, H-4'' J_{4''-6''} = 2.8 Hz, J_{4''-3''} = 9.1 Hz); 6.85 (dd, 1H, H-3, J₃₋₄ = 3.7 Hz, J₃₋₁ = 1.8 Hz); 6.52 (dd, 1H, H-4, J₄₋₃ = 3.7 Hz, J₄₋₁ = 1.7 Hz); 4.25 (c, 2H, -CH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 3.97 (s, 3H, -OCH₃); 1.29 (t, 3H, -CH₂CH₃, J = 7.1 Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, (CD₃)₂CO): δ 162.53 (C-5''); 159.80 (-COO-); 140.56 (C-2''); 134.65, 134.17 (C-1'', C-5); 126.56 (C-3'', C-2); 122.56 (C-1'); , 121.98 (C-2'); 115.90 (C-4); 112.89 (C-4''); 111.04 (C-6''); 110.18 (C-3); 58.96 (-CH₂CH₃); 54.88 (-OCH₃); 13.10 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₆H₁₆N₂O₅Na (M + Na)⁺ 339.095692; encontrado 339.096004 (desviación -0.9 ppm).

5.3.3.- Síntesis de derivados del ácido 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico (164, 165, 166).¹⁵



Procedimiento general de síntesis:

Sobre 2.036 mmol del derivado de 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo se añaden 4.072 mmol de NaOH 1N, la suspensión resultante se calienta a reflujo (100°C) hasta que el derivado esterificado se disuelva completamente en la solución de NaOH, indicando entonces la formación de la sal sódica de nuestro éster. Se enfría la disolución y se le adicionan 4.072 mmol de una solución de ácido acético al 20% y se mantiene la mezcla de reacción 1.5 horas a temperatura ambiente, hasta que se forme completamente nuestro ácido en forma de precipitado. El crudo resultante se lava varias veces con agua y la fase orgánica se extrae con acetato de etilo (3 x 50 ml). Por último se seca con Na₂SO₄, se filtra y concentra al rotavapor.

5.3.3.1.- Síntesis del ácido 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico (164).¹⁵

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.3 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 437 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 82 %. P.f. 201-203°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.15 (sa, 1H, H-1); 7.99 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.0$ Hz); 7.17 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz); 7.08 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 9.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz); 6.89 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.8$ Hz, $J_{3-1} = 2.5$ Hz); 6.34 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.8$ Hz, $J_{4-1} = 2.6$ Hz); 3.96 (sa, 1H, -OCH₃).

¹³C-RMN (75 MHz, (CD₃)₂CO): δ 162.70 (-COOH); 161.22 (C-5'); 141.78 (C-2'); 132.31 (C-1'); 129.55 (C-5); 127.04 (C-3'); 124.48 (C-2); 116.56 (C-6'); 115.78 (C-4'); 114.10 (C-4); 110.59 (C-3); 55.79 (-OCH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₂H₁₀N₂O₅Na (M + Na)⁺ 285.048741; encontrado 285.048600 (desviación 0.5 ppm).

5.3.3.2.- Síntesis del ácido 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico (165).¹⁵

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.3 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 517 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 93 %. P.f. 197-199°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.30 (sa, 1H, H-1); 7.99 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.82 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz); 7.65 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz); 6.92 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.8$ Hz, $J_{3-1} = 2.3$ Hz); 6.41 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.8$ Hz, $J_{4-1} = 2.5$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CD₃OD): δ 161.67 (-COOH); 147.97 (C-2'); 138.52 (C-5'); 131.98 (C-6'); 130.83, 130.72 (C-1', C-5); 129.50 (C-4'); 128.89 (C-2); 126.83 (C-3'); 116.70 (C-3); 111.82 (C-4).

HR LSIMS: Calculado para C₁₁H₇N₂O₄ClNa (M + Na)⁺ 288.999204; encontrado 288.998686 (desviación 1.8 ppm).

5.3.3.3.- Síntesis del ácido 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico (166).¹⁵

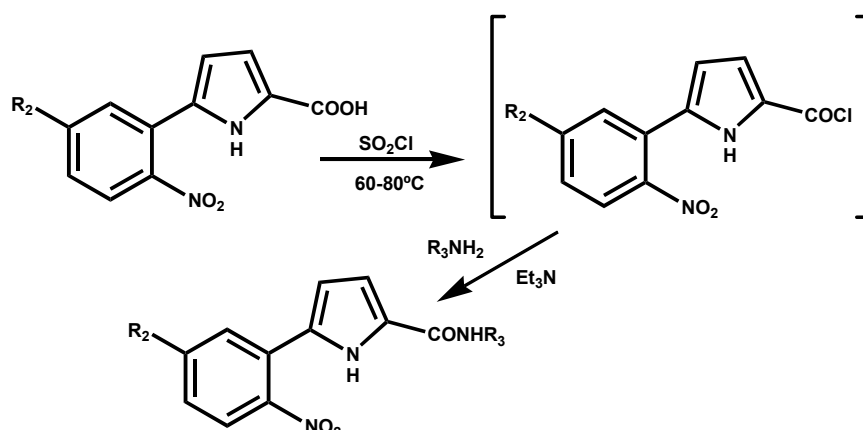
Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.2.3 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 464 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 93 %. P.f. 221-222°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.35 (sa, 1H, H-1); 7.87 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz); 7.66 (m, 2H, H-6', H-5'); 7.53 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.1$ Hz, $J_{4'-5'} = \cdot$), $J_{4'-6'} = 1.9$ Hz); 6.90 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.7$ Hz, $J_{3-1} = 2.0$ Hz); 6.25 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.7$ Hz, $J_{4-1} = 2.0$ Hz).

^{13}C -RMN (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ 164.14 (-COOH); 150.22 (C-2'); 133.37 (C-5'); 132.95 (C-1'); 132.50 (C-6'); 129.84 (C-4'); 127.74 (C-5); 125.78 (C-2); 125.09 (C-3'); 117.39 (C-4); 111.31 (C-3).

HR LSIMS: Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 255.038177; encontrado 255.037987 (desviación 0.7 ppm).

5.3.4.- Síntesis de derivados N-sustituídos de 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida (167-180).^{16, 17}



Para llevar a cabo la síntesis de estos compuestos, se debe partir de los cloruros de ácido. Así, el primer paso consiste en transformar los ácidos carboxílicos previamente sintetizados en los correspondientes cloruros de ácidos y, a partir de ellos, obtener los derivados N-sustituídos de la carboxamida.

Procedimiento general de síntesis de los cloruros de ácido¹⁶:

Se disuelve 1 mmol del derivado del ácido 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico en CH_3CN , seguidamente se le adicionan 11 mmol de SO_2Cl , que supone un gran exceso. La mezcla de reacción se mantiene en agitación y a una temperatura de 65-80°C durante 5 horas. Transcurrido el tiempo se concentra al rotavapor el CH_3CN y SO_2Cl en exceso,

para obtener un sólido marrón oscuro correspondiente al cloruro de ácido que, por ser muy inestable y reactivo, debe utilizarse inmediatamente sin ser identificado.

Procedimiento general de síntesis de las amidas¹⁷:

A una solución de 2 mmol de la amina primaria correspondiente en 3 ml de CH₂Cl₂ seco, provista de un sistema de agitación y bajo argón, se le adicionan 3 mmol de trietilamina (un pequeño exceso molar), se mantiene 20 minutos en agitación a temperatura ambiente para adicionarle, a continuación, 1 mmol del cloruro de ácido correspondiente, disuelto también en 10 ml de CH₂Cl₂ seco. Se mantiene la mezcla en dichas condiciones durante 3 horas, se lava con agua varias veces y se extrae con CH₂Cl₂. La fase orgánica se seca (Na₂SO₄), se filtra y concentra al rotavapor.

5.3.4.1.- Síntesis de derivados *N*-sustituídos de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (167-171).^{16, 17}

5.3.4.1.1.- Síntesis de *N*-metil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (167).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:1 y, posteriormente, se recristaliza de CH₂Cl₂ /hexano. Se obtienen 249 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 91 %. P.f. 137-139°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.60 (sa, 1H, H-1); 7.90 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz); 6.99 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz); 6.87 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 9.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz); 6.54 (pt, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.7$ Hz); 6.30 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.7$ Hz); 6.02 (m, 1H, -CONH-); 3.86 (s, 3H, -OCH₃); 2.85 (d, 3H, -CH₃, $J = 4.9$ Hz)

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 162.50 (C-5'); 161.72 (-CONH-); 141.68 (C-2'); 130.37 (C-5); 129.55 (C-1'); 127.47 (C-2); 127.26 (C-3'); 116.39 (C-6'); 113.55 (C-4'); 111.12 (C-4); 109.71 (C-3); 56.05 (-OCH₃); 26.21 (-CH₃).

HR LSIMS: Calculado para $C_{13}H_{13}N_3O_4Na$ ($M + Na$)⁺ 298.080376; encontrado 298.080186 (desviación 0.6 ppm).

5.3.4.1.2.- Síntesis de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-*N*-propil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (168).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 248 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 82%. P.f. 141-143°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.45 (sa, 1H, H-1); 7.90 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.0$ Hz); 6.99 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.7$ Hz); 6.88 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 9.0$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.7$ Hz); 6.55 (d, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.5$ Hz); 6.32 (d, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.5$ Hz); 5.94 (sa, 1H, -CONH-); 3.87 (s, 3H, -OCH₃); 3.27 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₃); 1.54 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₃); 0.91 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 162.51 (C-5'); 160.99 (-CONH-); 141.73 (C-2'); 130.29 (C-5); 129.49 (C-1'); 127.57 (C-2); 127.27 (C-3'); 116.23 (C-6'); 113.63 (C-4'); 111.16 (C-4); 109.49 (C-3); 56.05 (-OCH₃); 41.23 (-CH₂CH₂CH₃); 23.08 (-CH₂CH₂CH₃); 11.42 (-CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para $C_{15}H_{17}N_3O_4Na$ ($M + Na$)⁺ 326.111676; encontrado 326.111424 (desviación 0.8 ppm).

5.3.4.1.3.- Síntesis de *N*-ciclopropil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (169).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 214 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 71%. P.f. 158-159°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.40 (sa, 1H, H-1); 7.90 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz); 6.98 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.7$ Hz); 6.87 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 9.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.7$ Hz); 6.52 (sa, 1H, H-3); 6.30 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.0$ Hz); 6.13 (sa, 1H, -CONH-); 3.87 (s, 3H, -OCH₃); 2.75 (m, 1H, H-1_{cicloprop.}); 0.75, 0.55 (2m, 4H, H-2, H-3_{cicloprop.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 162.54 (-CONH-, C-5'); 141.68 (C-2'); 130.49 (C-5); 129.41 (C-1'); 127.32 (C-2 C-3'); 116.29 (C-6'); 113.63 (C-4'); 111.26 (C-4); 109.98 (C-3); 56.07 (-OCH₃); 22.72 (C-1_{cicloprop.}); 6.86 (C-2, C-3_{cicloprop.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₅N₃O₄Na (M + Na)⁺ 324.096026; encontrado 324.095893 (desviación 0.4 ppm).

5.3.4.1.4.- Síntesis de *N*-ciclopentil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (170).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 296 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 90%. P.f. 181-183°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.70 (sa, 1H, H-1); 7.89 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.0$ Hz); 6.98 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.5$ Hz); 6.87 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 9.0$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.5$ Hz); 6.52 (sa, 1H, H-3); 6.30 (sa, 1H, H-4); 5.87 (d, 1H, -NH-, $J = 7.3$ Hz); 4.17 (m, 1H, H-1_{ciclopent.}); 3.86 (s, 3H, -OCH₃); 1.95 - 1.36 (m, 8H, H-2 - H-5_{ciclopent.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 162.48 (-CONH-); 160.69 (C-5'); 141.66 (C-2'); 130.40 (C-5); 129.55 (C-1'); 127.59 (C-2); 127.20 (C-3'); 116.18 (C-6'); 113.63 (C-4'); 111.03 (C-4); 109.62 (C-3); 56.04 (-OCH₃); 51.27 (C-1_{ciclopent.}) 33.25 (C-2, C-5_{ciclopent.}); 23.81 (C-3, C-4_{ciclopent.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₁₉N₃O₄Na (M + Na)⁺ 352.127326; encontrado 352.127346 (desviación -0.1 ppm).

5.3.4.1.5.- Síntesis de *N*-bencil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (171).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y se obtiene un crudo que se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:7 y, posteriormente, se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 316 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 90 %. P.f. 181-182°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.27 (sa, 1H, H-1); 7.96 (sa, 1H, -CONH-); 7.92 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.0$ Hz); 7.25 (m, 5H, H-2 - H-6_{bencilo}); 7.18 (d, H-6', $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz); 7.00 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz, $J_{4'-3'} = 9.0$ Hz); 6.88 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.8$ Hz, $J_{3-1} = 2.5$ Hz); 6.28 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.8$ Hz, $J_{4-1} = 2.8$ Hz); 4.49 (d, 2H, -CH₂-, $J = 6.1$ Hz); 3.95 (s, 3H, -OCH₃).

¹³C-RMN (100 MHz, (CD₃)₂CO): δ 162.49 (-CONH-); 160.72 (C-5'); 141.82 (C-2'); 139.90 (C-1_{bencilo}); 130.49 (C-5); 129.56 (C-1'); 128.34 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.23 (C-2); 127.57 (C-3', C-4_{bencilo}); 126.86 (C-3, C-5_{bencilo}); 116.30 (C-6'); 113.60 (C-4'); 110.42 (C-4); 110.15 (C-3); 55.71 (-OCH₃); 42.72 (-CH₂-).

HR LSIMS: Calculado para C₁₉H₁₇N₃O₄Na (M + Na)⁺ 374.111676; encontrado 374.111753 (desviación -0.2 ppm).

5.3.4.2.- Síntesis de derivados *N*-sustituídos de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (172-175).^{16, 17}

5.3.4.2.1.- Síntesis de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-*N*-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (172).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y, posteriormente se recristaliza de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 220 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 79 %. P.f. 191-193°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.45 (sa, 1H, H-1); 7.92 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.79 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.2$ Hz); 7.57 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.2$ Hz) 7.52 (sa, 1H, -CONH-); 6.78 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.7$ Hz, $J_{3-1} = 2.2$ Hz); 6.32 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.7$ Hz, $J_{4-1} = 2.6$ Hz); 2.78 (d, 3H, -CH₃, $J = 4.7$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, (CD₃)₂CO): δ 162.47 (-CONH-); 148.51 (C-2'); 138.77 (C-5'); 132.17 (C-6'); 130.70 (C-5); 129.69 (C-1'); 129.37 (C-4'); 129.28 (C-2); 127.12 (C-3'); 111.96 (C-3); 111.60 (C-4); 26.55 (-CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₂H₁₀N₃O₃Cl (M + H)⁺ 280.048894; encontrado 280.048516 (desviación 1.4 ppm).

5.3.4.2.2.- Síntesis de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-*N*-etil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (173).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:5 y posteriormente se recristaliza de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 188 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 64 %. P.f. 143-145°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.78 (sa, 1H, H-1); 7.75 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.56 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.2$ Hz); 7.36 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.2$ Hz); 6.55 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.7$ Hz, $J_{3-1} = 2.6$ Hz); 6.35 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.7$ Hz, $J_{4-1} = 2.8$ Hz); 3.91 (sa, 1H, -CONH-); 3.35 (m, 2H, -CH₂CH₃); 1.16 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 160.82 (-CONH-); 146.74 (C-2'); 138.47 (C-5'); 131.04 (C-6'); 128.46 (C-5); 128.36 (C-1'); 128.30 (C-2); 128.10 (C-4'); 125.83 (C-3'); 111.67 (C-3); 109.92 (C-4); 34.51 (-CH₂CH₃); 15.04 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₂N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 316.046489; encontrado 316.047202 (desviación -2.3 ppm).

5.3.4.2.3.- Síntesis de *N*-butil-5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (174).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:2 y posterior recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 237 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 74 %. P.f. 105-107°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 10.40 (sa, 1H, H-1); 7.78 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.60 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 1.7$ Hz); 7.41 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.7$ Hz); 6.58 (d, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.7$ Hz); 6.40 (d, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.7$ Hz); 5.93 (sa, 1H, -CONH-, $J = 4.5$ Hz); 3.39 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.57 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.34 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.96 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 160.72 (-CONH-); 146.69 (C-2'); 138.57 (C-5'); 130.88 (C-6'); 130.48 (C-5); 128.36 (C-1'); 128.22 (C-2); 128.17 (C-4'); 125.90 (C-3'); 111.83 (C-3); 109.73 (C-4); 39.36 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 31.36 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 20.17 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 13.84 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₆N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 344.077789, encontrado 344.077761 (desviación 0.1 ppm).

5.3.4.2.4.- Síntesis de *N*-ciclopropil-5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (175).

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 se obtiene un crudo que se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:6 y después se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 244 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 80 %. P.f. 164-166°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.50 (sa, 1H, H-1); 7.74 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.58 (ps, 1H, H-6'); 7.37 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.4$ Hz); 6.52 (sa, 1H, H-

3); 6.34 (sa, 1H, H-4); 6.09 (sa, 1H, -CONH-); 2.78 (m, 1H, H-1_{cicloprop.}); 0.78- 0.57 (m, 4H, H-2, H-3_{cicloprop.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 163.53 (-CONH-); 148.07 (C-2'); 139.86 (C-5'); 132.25 (C-6'); 129.82 (C-5); 129.51 (C-4', C-1'); 129.42 (C-2); 127.18 (C-3'); 113.17 (C-3); 111.53 (C-4); 24.07 (C-1_{cicloprop.}); 8.24 (C-2, C-3_{cicloprop.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₂N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 328.046489, encontrado 328.046513 (desviación -0.1 ppm).

5.3.4.3.- Síntesis de derivados *N*-sustituídos de 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (176 -184).^{16, 17}

5.3.4.3.1.- Síntesis de *N*-metil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (176).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 186 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 76%. P.f. 163-164°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO): δ 11.86 (sa, 1H, H-1); 8.07 (c, 1H, -CONH-, *J* = 4.5 Hz); 7.90 (d, 1H, H-3', *J*_{3'-4'} = 8.0 Hz); 7.83 (m, 2H, H-6', H-5'); 7.51 (ddd, 1H, H-4', *J*_{4'-5'} = 5.7; *J*_{4'-3'} = 8.0 Hz, *J*_{4'-6'} = 2.9 Hz); 6.77 (dd, 1H, H-3, *J*₃₋₄ = 3.5 Hz, *J*₃₋₁ = 2.3 Hz); 6.16 (dd, 1H, H-4, *J*₄₋₃ = 3.5 Hz, *J*₄₋₁ = 2.5 Hz); 2.74 (d, 3H, -CH₃, *J* = 4.5 Hz) .

¹³C-RMN (75 MHz, DMSO): δ 160.72 (-CONH-); 147.83 (C-2'); 132.29 (C-5'); 131.22 (C-6'); 128.83 (C-5); 128.48 (C-2); 128.15 (C-4'); 126.00 (C-1'); 123.84 (C-3'); 110.66 (C-4); 109.15 (C-3); 25.46 (-CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₂H₁₁N₃O₃Na (M + Na)⁺ 268.069811; encontrado 268.069974 (desviación -0.6 ppm).

5.3.4.3.2.- Síntesis de *N*-etil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (177).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 124 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 48%. P.f. 207-208°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO): δ 11.86 (sa, 1H, H-1); 8.10 (t, 1H, -CONH-, *J* = 5.3 Hz); 7.91 (d, 1H, H-3', *J*_{3'-4'} = 8.1 Hz); 7.66 (m, 2H, H-6', H-5'); 7.51 (pdt, 1H, H-4', *J*_{4'-3'} = *J*_{4'-5'} = 8.1 Hz, *J*_{4'-6'} = 2.7 Hz); 6.80 (pt, 1H, H-3, *J*₃₋₄ = 3.0 Hz); 6.15 (pt, 1H, H-4, *J*₄₋₃ = 3.0 Hz); 3.24 (m, 2H, -CH₂CH₃); 1.10 (t, 3H, -CH₂CH₃, *J* = 7.1 Hz) .

¹³C-RMN (75 MHz, DMSO): δ 160.01 (-CONH-); 147.86 (C-2'); 132.31 (C-5'); 131.22 (C-6'); 128.85 (C-5); 128.57 (C-2); 128.17 (C-4'); 126.02 (C-1'); 123.85 (C-3'); 110.77 (C-4); 109.13 (C-3); 33.28 (-CH₂CH₃); 14.98 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₃N₃O₃Na (M + Na)⁺ 282.085461; encontrado 282.085546 (desviación -0.3 ppm).

5.3.4.3.3.- Síntesis de 5-(2'-nitrofenil)-*N*-propil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (178).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 177 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 65%. P.f. 187-189°C.

¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7.83 (d, 1H, H-3', *J*_{3'-4'} = 8.0 Hz); 7.65 (m, 2H, H-6', H-5'); 7.52 (ddd, 1H, H-4', *J*_{4'-3'} = 8.0 Hz, *J*_{4'-5'} = 5.8 Hz, *J*_{4'-6'} = 2.8 Hz); 6.82 (d, 1H, H-3, *J*₃₋₄ = 3.8 Hz); 6.25 (d, 1H, H-4, *J*₄₋₃ = 3.8 Hz); 3.31 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₃); 1.62 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₃); 0.98 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₃, *J* = 7.4 Hz) .

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 160.79 (-CONH-); 148.73 (C-2'); 132.34 (C-5'); 130.84 (C-6'); 129.33 (C-5); 128.41 (C-4'); 127.83 (C-2); 126.27 (C-1'); 124.34 (C-3'); 111.14 (C-4); 109.59 (C-3); 41.27 (-CH₂CH₂CH₃); 23.15 (-CH₂CH₂CH₃); 11.49 (-CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₅N₃O₃Na (M + Na)⁺ 296.101111; encontrado 296.101329 (desviación -0.7 ppm).

5.3.4.3.4.- Síntesis de *N*-butil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (179).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 235 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 82%. P.f. 169-170°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.29 (sa, 1H, H-1); 7.86 (dd, 1H, H-3', *J*_{3'-4'}= 8.0 Hz, *J*_{3'-5'}= 1.0 Hz); 7.77 (dd, 1H, H-6', *J*_{6'-5'}= 7.8 Hz, *J*_{6'-4'}= 1.4 Hz); 7.69 (pdt, 1H, H-5', *J*_{5'-6'}=7.8, *J*_{5'-4'}= 7.4 Hz, *J*_{5'-3'}= 1.0 Hz); 7.55 (pdt, 1H, H-4', *J*_{4'-6'}= 1.4 Hz, *J*_{4'-3'}= 8.0 Hz, *J*_{4'-3'}= 7.4 Hz); 7.49 (sa, 1H, -CONH-); 6.79 (dd, 1H, H-3, *J*₃₋₄= 3.6 Hz, *J*₃₋₁= 2.0 Hz); 6.24 (dd, 1H, H-4, *J*₄₋₃= 3.6 Hz, *J*₄₋₁= 2.4 Hz); 3.27 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.49 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.32 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.87 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, *J*= 7.2 Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, (CD₃)₂CO): δ 160.55 (-CONH-); 148.90 (C-2'); 132.18 (C-5'); 131.32 (C-6'); 129.30 (C-5); 128.94 (C-2); 128.34 (C-4'); 126.48 (C-1'); 123.89 (C-3'); 110.18 (C-4); 109.88 (C-3); 38.66 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 31.89 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.92 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 13.30 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₇N₃O₃Na (M + Na)⁺ 310.116761; encontrado 310.116787 (desviación -0.1 ppm).

5.3.4.3.5.- Síntesis de *N*-ciclopropil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (180).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 217 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 80%. P.f. 214-215°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.50 (sa, 1H, H-1); 7.86 (d, 1H, H-3', *J*_{3'-4'} = 8.0 Hz); 7.77 (d, 1H, H-6', *J*_{6'-5'} = 7.1 Hz); 7.69 (t, 1H, H-5', *J*_{5'-4'} = 7.4 Hz); 7.54 (m, 2H, H-4', -CONH-); 6.76 (d, 1H, H-3, *J*₃₋₄ = 3.1 Hz); 6.24 (d, 1H, H-4, *J*₄₋₃ = 3.1 Hz); 2.86 (m, 1H, H-1_{cicloprop.}); 0.65, 0.52 (2m, 4H, H-2, H-3_{cicloprop.}).

¹³C-RMN (75 MHz, (CD₃)₂CO): δ 162.49 (-CONH-); 149.65 (C-2'); 132.92 (C-5'); 132.03 (C-6'); 130.16 (C-5); 129.49 (C-2); 129.12 (C-4'); 127.17 (C-1'); 124.63 (C-3'), 111.24 (C-4), 110.65 (C-3) 23.21 (C-1_{cicloprop.}); 6.40 (C-2, C-3_{cicloprop.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₃N₃O₃Na (M + Na)⁺ 294.085461; encontrado 294.085538 (desviación -0.3 ppm).

5.3.4.3.6.- Síntesis de de *N*-ciclobutil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (181).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4, pero se adicionan, en este caso, 4 mmol de trietilamina para neutralizar el HCl que se desprende, ya que la ciclobutilamina usada como reactivo está en forma de clorhidrato. El crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 175 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 61%. P.f. 170-173°C.

¹H-RMN (300MHz, CDCl₃): δ 10.53 (sa, 1H, H-1); 7.77 (d, 1H, H-3', *J*_{3'-4'} = 8.0 Hz); 7.58 (m, 2H, H-5', H-6'); 7.44 (pdt, 1H, H-4', *J*_{4'-5'} = *J*_{4'-3'} = 8.0 Hz, *J*_{4'-6'} = 2.2 Hz); 6.56 (pt, 1H, H-3, *J*₃₋₄ = 3.4 Hz); 6.32 (pt, 1H, H-4, *J*₄₋₃ = 3.4 Hz); 6.06 (d, 1H, -NH-, *J* = 7.9 Hz); 4.40 (m, 1H, H-1_{ciclobut.}); 2.27, 1.89, 1.67 (3m, 6H, H-2 - H-4_{ciclobut.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 159.90 (-CONH-); 148.73 (C-2'); 132.18 (C-5'); 131.08 (C-6'); 129.73 (C-5); 128.27 (C-4'); 127.64 (C-2); 126.44 (C-1'); 124.21 (C-3'); 110.98 (C-4); 109.91 (C-3); 44.69 (C-1_{ciclobut.}); 31.45, 15.18 (C-2, C-3, C-4_{ciclobut.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₆N₃O₃ (M + H)⁺ 286.119167; encontrado 286.119226 (desviación -0.2 ppm).

5.3.4.3.7.- Síntesis de de *N*-ciclopentil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (182).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 203 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 68%. P.f. 174-175°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.52 (sa, 1H, H-1); 7.75 (d, 1H, H-3', *J*_{3'-4'} = 8.0 Hz); 7.57 (m, 2H, H-5', H-6'); 7.41 (pdt, 1H, H-4', *J*_{4'-3'} = *J*_{4'-5'} = 8.0 Hz, *J*_{4'-6'} = 1.4 Hz); 6.53 (d, 1H, H-3, *J*₃₋₄ = 3.1 Hz); 6.31 (pt, 1H, H-4, *J*₄₋₃ = 3.1 Hz); 5.86 (d, 1H, -CONH-, *J* = 7.3 Hz); 4.20 (m, 1H, H-1_{ciclopent.}); 1.99 - 1.35 (m, 8H, H-2 - H-5_{ciclopent.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 160.56 (-CONH-); 148.73 (C-2'); 132.16 (C-5'); 131.08 (C-6'); 129.56 (C-5); 128.20 (C-4'); 127.94 (C-2); 126.42 (C-1'); 124.18 (C-3'); 110.91 (C-4); 109.74 (C-3); 51.24 (C-1_{ciclopent.}); 33.27, 23.80 (C-2 - C-5_{ciclopent.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₆H₁₇N₃O₃Na (M + Na)⁺ 322.116761; encontrado 322.116870 (desviación -0.3 ppm).

5.3.4.3.8.- Síntesis de de *N*-ciclohexil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (183).

Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 se obtiene un crudo que se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 251 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 80%. P.f. 171-172°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.55 (sa, 1H, H-1); 7.75 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz); 7.56 (m, 2H, H-5', H-6'); 7.41 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.1$ Hz, $J_{4'-5'} = 7.8$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.2$ Hz); 6.54 (d, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.8$ Hz); 6.32 (d, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.8$ Hz); 5.78 (d, 1H, -CONH-, $J = 8.1$ Hz); 3.78 (m, 1H, H-1_{ciclohex.}); 1.92-1.58 (m, 5H, H_{ec.ciclohex.}); 1.38 - 1.09 (m, 5H, H_{ax.ciclohex.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 160.04 (-CONH-); 148.70 (C-2'); 132.17 (C-5'); 131.01 (C-6'); 129.53 (C-5); 128.19 (C-4'); 128.03 (C-2); 126.46 (C-1'); 124.21 (C-3'); 110.90 (C-4); 109.66 (C-3); 48.22 (C-1_{ciclohex.}); 33.35 (C-2, C-6_{ciclohex.}); 25.57, 24.96 (C-3, C-4, C-5_{ciclohex.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₁₉N₃O₃ (M + H)⁺ 284.354761; encontrado 384.354870 (desviación -0.3 ppm).

5.3.4.3.9.- Síntesis de de *N*-bencil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (184).

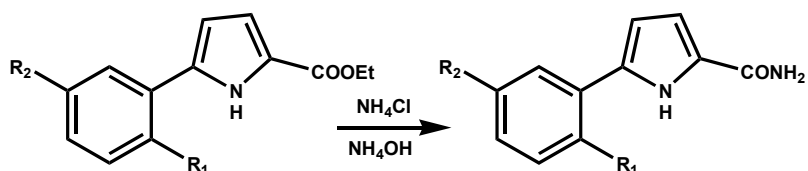
Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.4 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 225 mg de un sólido amarillo verdoso. Rendimiento 70%. P.f. 137-138°C.

¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7.82 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz); 7.65 (m, 2H, H-5', H-6'); 7.51 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = J_{4'-5'} = 8.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz); 7.32 (m, 5H, H-2 - H-6_{bencilo}); 6.88 (d, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.8$ Hz); 6.26 (d, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.8$ Hz); 5.78 (sa, 1H, -CONH-); 4.54 (s, 2H, -CH₂-).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 160.20 (-CONH-); 147.86 (C-2'); 139.77 (C-1_{bencilo}); 132.34 (C-5'); 131.26 (C-6'); 129.20 (C-5); 128.26 (C-4'); 128.16 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.16 (C-2); 127.10 (C-3_{bencilo}, C-5_{bencilo}); 126.63 (C-4_{bencilo}); 125.95 (C-1'); 123.87 (C-3'); 111.21 (C-4); 109.24 (C-3); 41.84 (-CH₂-).

HR LSIMS: Calculado para $C_{18}H_{15}N_3O_3Na$ ($M + Na$)⁺ 344.101111; encontrado 344.102048 (desviación -2.7 ppm).

5.3.5.- Síntesis de derivados de 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (185-187).¹⁸



Una solución de 1.92 mmol de derivado 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo, convenientemente sustituido en posición 5', en 60 ml de NH_4OH y 27.4 mmol de NH_4Cl , se calienta a 110°C durante 16 horas en un tubo cerrado. Transcurrido el tiempo de reacción indicado se extrae la fase orgánica con acetato de etilo, se seca con $MgSO_4$ y se concentra al rotavapor. El crudo se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano, obteniéndose un sólido anaranjado.

5.3.5.1.- Síntesis de 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (185).¹⁸

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.5 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización con acetato de etilo/hexano. Se obtienen 470 mg de un sólido marrón oscuro. Rendimiento 94%. P.f. 123-125°C.

¹H-RMN (300 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ 11.98 (sa, 1H, H-1); 7.95 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.0$ Hz); 7.20 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz); 7.05 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 9.0$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz); 6.87 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.7$ Hz, $J_{3-1} = 2.4$ Hz); 6.30 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.7$ Hz, $J_{4-1} = 2.7$ Hz); 3.99 (s, 3H, -OCH₃).

¹³C-RMN (75 MHz, (CD₃)₂CO): δ 162.47 (-CONH-); 162.09 (C-5'); 141.73 (C-2'); 130.23 (C-5); 129.36 (C-1'); 128.16 (C-2); 126.80 (C-3'); 115.98 (C-6'); 113.70 (C-4'); 111.07 (C-4); 110.12 (C-3); 56.67 (-OCH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₂H₁₁N₃O₄Na (M + Na)⁺ 284.064726; encontrado 284.064479 (desviación 0.9 ppm).

5.3.5.2.- Síntesis de 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida (186).¹⁸

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.5 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 411 mg de un sólido amarillo intenso. Rendimiento 81%. P.f. 220-222°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.22 (sa, 1H, H-1); 7.93 (d, 1H, H-3', J_{3'-4'}= 8.7 Hz); 7.83 (d, 1H, H-6', J_{6'-4'}= 2.2 Hz); 7.56 (dd, 1H, H-4' J_{4'-3'}= 8.7 Hz, J_{4'-6'}= 2.2 Hz); 7.30, 6.60 (2sa, 2H, -NH₂); 6.90 (dd, 1H, H-3, J₃₋₄= 3.8 Hz, J₃₋₁= 2.2 Hz); 6.30 (dd, 1H, H-4, J₄₋₃= 3.8 Hz, J₄₋₁= 2.8 Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, (CD₃)₂CO): δ 162.69 (-CONH-); 147.87 (C-2'); 138.28 (C-5'); 131.56 (C-6'); 129.62 (C-5); 128.92 (C-4', C-1'); 126.62 (C-3', C-2); 112.23 (C-3); 111.41 (C-4).

HR LSIMS: Calculado para C₁₁H₈N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 288.015189; encontrado 288.015391 (desviación -0.7 ppm).

5.3.5.3.- Síntesis de 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida (187).¹⁸

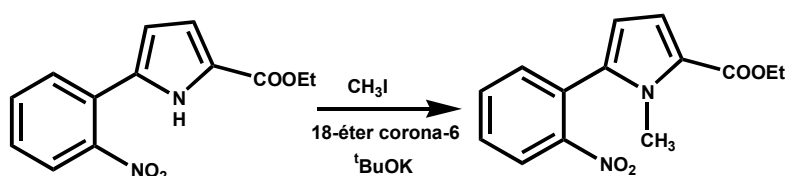
Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.5 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 400 mg de un sólido naranja intenso. Rendimiento 90%. P.f. 137-138°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 9.90 (sa, 1H, H-1); 7.80 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz); 7.59 (m, 2H, H-5', H-6'); 7.45 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.1$, $J_{4'-5'} = 6.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.7$ Hz); 6.64 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.6$ Hz, $J_{3-1} = 2.6$ Hz); 6.38 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.6$ Hz); 5.68 (sa, 2H, -CONH₂).

¹³C-RMN (100 MHz, (CD₃CD): δ 169.51 (-CONH-); 149.995 (C-2'); 133.05(C-5'); 132.92 (C-5); 131.32 (C-6'); 128.72 (C-4', C-2); 127.807 (C-1'), 124.80 (C-3'); 114.23 (C-4); 110.74 (C-3).

HR LSIMS: Calculado para C₁₁H₉N₃O₃Na (M + Na)⁺ 254.054161; encontrado 254.054626 (desviación -1.8 ppm).

5.3.6.- Síntesis de 1-metil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (188).¹⁹



A una disolución de 0.050 g (1 mmol) de 18-éter corona-6 en éter seco provista de un sistema de agitación se le añaden 0.251 g (11.6 mmol) de *tert*-butóxido potásico y a continuación se le adiciona, de una sola vez, 0.500 g (10 mmol) de 5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo. La mezcla de reacción se mantiene en agitación durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se le adiciona, a 0°C y gota a gota, una disolución de 0.139 ml (11.6 mmol) de CH₃I en éter etílico, se mantiene la reacción durante 18 horas a temperatura ambiente para, finalmente, lavarla con agua, extraerla con 50 ml de acetato de etilo, secarla con Na₂SO₄ y concentrar la fase orgánica al rotavapor. Se obtienen 526 mg de un aceite de color marrón. Rendimiento 92%.

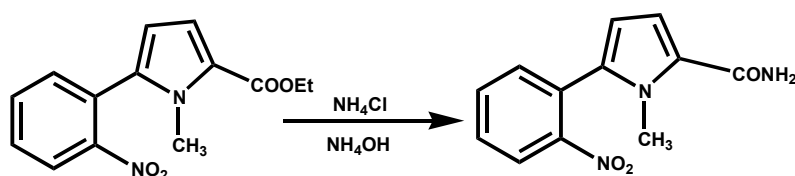
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8.06 (dd, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz, $J_{3'-5'} = 0.6$ Hz); 7.70 (pdt, 1H, H-5', $J_{5'-6'} = 7.5$ Hz, $J_{5'-4'} = 7.4$ Hz, $J_{5'-3'} = 0.6$ Hz); 7.62 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.1$ Hz, $J_{4'-5} = 7.4$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.1$ Hz); 7.46 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-3'} = 1.1$ Hz, $J_{6'-5'} = 7.5$ Hz); 7.04 (d,

1H, H-3, $J_{3-4} = 3.9$ Hz); 6.13 (d, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.9$ Hz); 4.33 (c, 2H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.12$ Hz); 3.72 (s, 1H, $-\text{CH}_3$); 1.39 (t, 3H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.12$ Hz).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 161.42 ($-\text{COO}-$); 149.85 (C-2'); 135.72 (C-5'); 133.41 (C-5); 132.77 (C-6'); 129.88 (C-4'); 127.20 (C-2); 124.45 (C-3'); 124.03 (C-1'); 117.39 (C-4); 109.19 (C-3); 59.98 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 33.96 ($-\text{CH}_3$); 14.51 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$).

HR LSIMS: Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ 297.085127; encontrado 297.085377 (desviación -0.8 ppm).

5.3.7.- Síntesis del 1-metil-5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida (189).¹⁸



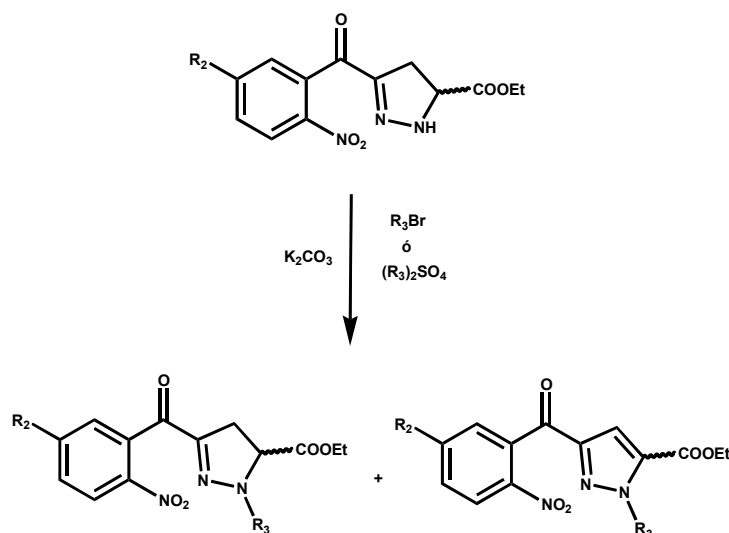
Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.3.5 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 258 mg de un sólido naranja. Rendimiento 55%. P.f. 138-140°C.

^1H -RMN (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ 8.05 (dd, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.0$ Hz, $J_{3'-5'} = 1.2$ Hz); 7.82 (pdt, 1H, H-5', $J_{5'-3'} = 1.2$ Hz, $J_{5'-6'} = 7.5$ Hz, $J_{5'-4'} = 7.5$ Hz); 7.73 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.0$ Hz, $J_{4'-5'} = 7.5$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.5$ Hz); 7.59 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 1.5$ Hz, $J_{6'-5'} = 7.5$ Hz); 6.88 (d, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.9$ Hz); 6.05 (d, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.9$ Hz); 3.71 (s, 3H, $-\text{CH}_3$).

^{13}C -RMN (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ 164.13 ($-\text{CONH}-$); 151.14 (C-2'); 134.39 (C-5); 134.25 (C-5'); 133.55 (C-6'); 130.80 (C-4'); 127.73 (C-2, C-1'); 124.84 (C-3'); 113.37 (C-4); 108.99 (C-3); 34.06 ($-\text{CH}_3$).

HR LSIMS: Calculado para $C_{12}H_{11}N_3O_3Na$ ($M + Na$)⁺ 268.069811; encontrado 268.070142 (desviación -1.2 ppm).

5.3.8.- Síntesis de derivados de 3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo y derivados de 3-(2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo, alquilados en posición 1 (190-209).^{5,21}



Con objeto de optimizar la reacción de alquilación se hicieron los siguientes ensayos:

Procedimiento 1.

Sobre una solución del correspondiente 3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (0.93 mmol) sustituido en posición 5', en tetrahidrofurano (4 ml), se adicionan 1.97 mmol del reactivo alquilante ((CH₃)₂SO₄ (C₂H₅)₂SO₄, (C₄H₉)₂SO₄, BrBn o BrC-C₆H₁₁) y 0.33 g (2.4 mmol) de K₂CO₃. Dicha solución se mantiene a reflujo durante un período de 8-28 horas. Transcurrido este tiempo se añade agua sobre la mezcla de reacción y se extrae con cloruro de metileno (3 × 25 ml). La fase orgánica se seca (Na₂SO₄) y concentra al rotavapor. El crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash en gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:9.

Procedimiento 2:

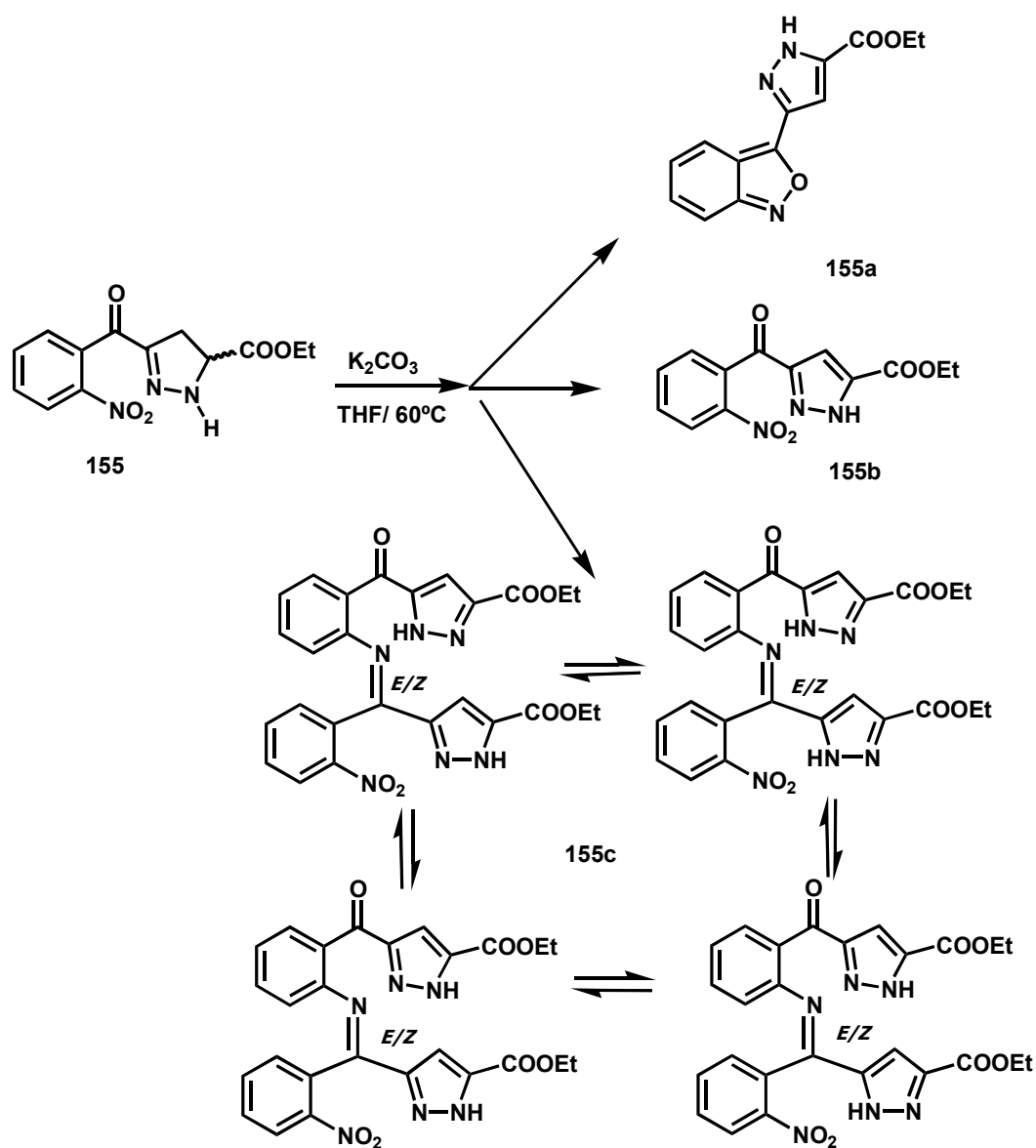
Sobre una solución del correspondiente 3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (1.86 mmol) sustituido en posición 5', en 1-4 dioxano (7 ml), se adicionan 5.6 mmol del reactivo alquilante ((C₂H₅)₂SO₄, (C₄H₉)₂SO₄ ó BrBn) y 0.637 g (3.73 mmol) de K₂CO₃. Dicha solución se mantiene a reflujo durante un período de 2-4 horas. Transcurrido este tiempo se añade agua sobre la mezcla de reacción y se extrae con cloruro de metileno (3 × 25 ml). La fase orgánica se seca (Na₂SO₄) y concentra al rotavapor. El crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash en gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:9.

El método con el que se obtienen mayores rendimientos, tanto de derivados pirazólicos como pirazolínicos, es el segundo.

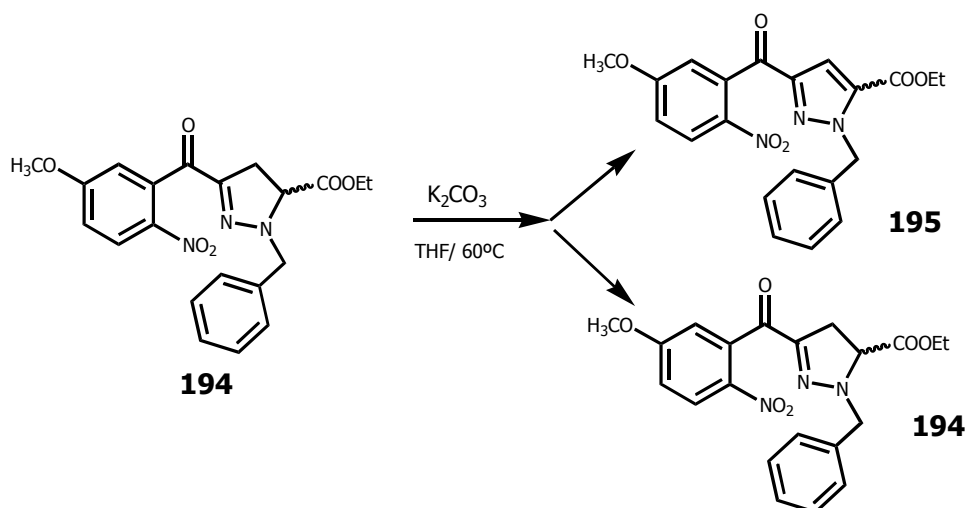
Con objeto de explicar la formación del derivado pirazólico se hicieron tres experimentos:

5.3.8.1.- Síntesis de 3-(benzo[c]isoxazol)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (155a) y 3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (155b) y del compuesto 155c.

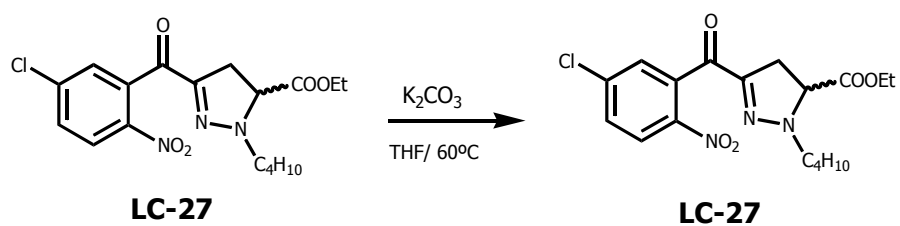
A) El primer experimento consistió en hacer reaccionar 300 mg de pirazolina **155** (10 mmoles) con 366 mg de K₂CO₃ (26.49) moles en THF seco y bajo argon, a una temperatura de 60°C (es decir, las mismas condiciones para la reacción de alquilación pero sin agente alquilante). La reacción se siguió por cromatografía en capa fina, se comprobó que, a las 6 horas había desaparecido el producto de partida, se eliminó el THF al rotavapor se lavó con H₂O y se extrajo con CH₂Cl₂ y se eliminó el disolvente al rotavapor. Por último se purificó mediante cromatografía flash de gel de sílice en acetato de etilo y hexano 1:6. Tras la purificación se obtuvieron 3 productos: **155a**, **155b** y **155c**.



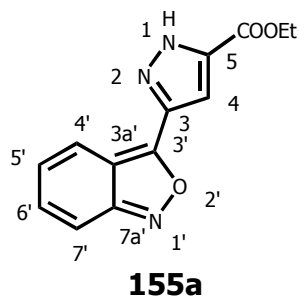
B) El segundo experimento consistió en hacer reaccionar en las mismas condiciones anteriores 80 mg (0.19mmoles) del derivado **194** 3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo. La reacción se mantuvo 24 horas, tiempo para el que aparecía un producto nuevo en cromatografía en capa fina diferente al de partida; tras el tratamiento idéntico de lavado, extracción y purificación, se pudieron aislar dos productos.



C) Por último se procedió a realizar el tercer experimento que consistió en hacer reaccionar en las mismas condiciones el derivado reducido **LC-27** (3-(5'-amino-2'-nitrobenzoyl)-1-butil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo). De esta reacción sólo se aisló el derivado **LC-27**.



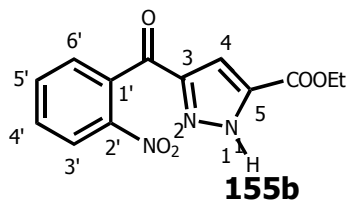
A continuación se van a describir los productos de reacción obtenidos en el primer experimento. El resto de los productos del segundo y tercer experimento, se describirán más adelante.

Análisis espectroscópico de **155a**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.03 (dd, 1H, H-7', $J_{7-6'} = 8.8$ Hz, $J_{7-5'} = 1.0$ Hz); 7.60 (d, 1H, H-4', $J_{4'-5'} = 9.1$ Hz); 7.44 (s, 1H, H-4); 7.33 (ddd, 1H, H-5', $J_{5'-4'} = 9.1$ Hz, $J_{5'-6'} = 6.4$ Hz, $J_{5'-7'} = 1.0$ Hz); 7.07 (pdd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 6.4$ Hz, $J_{6'-7'} = 8.8$ Hz); 4.45 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.43 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 159.38, 158.36, 157.61 (-COOCH₂CH₃, C-3, C-7a'); 142.47 (C-3'); 136.34 (C-5); 131.34, 124.91, 121.38, 115.06 (C-4', C-5', C-6', C-7'); 115.00 (C-3a'); 107.80 (C-4) 62.11 (-COOCH₂CH₃); 14.33 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₂N₃O₃ (M + H)⁺ 258.087866; encontrado 258.087453 (desviación 1.6 ppm).

Análisis espectroscópico de **155b**.

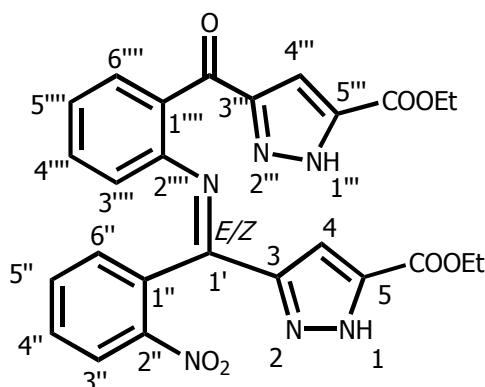
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 12.00 (sa, 1H, H-1); 8.10 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.2$ Hz); 7.70 (pt, 1H, H-5', $J_{5'-6'} = J_{5'-4'} = 7.5$ Hz); 7.57 (m, 2H, H-4', H-6'); 7.26 (s, 1H, H-4); 4.37 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.36 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.27 (Ph-CO); 159.32 (-COOCH₂CH₃); 147.23 (C-3, C-2'); 137.34 (C-1'); 135.01 (C-5); 134.25 (C-5'); 130.98 (C-4'); 129.26 (C-6'); 124.17 (C-3'); 109.98 (C-4); 62.01 (-COOCH₂CH₃); 14.22 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₁N₃O₅Na (M + Na)⁺ 312.0609834; encontrado 4312.060319 (desviación 2.2 ppm).

Análisis espectroscópico de **155c**.

Para hacer el estudio espectroscópico de compuesto **155c**, se supondrá que dicho compuesto está formado por los regioisómeros que se muestran en la siguiente figura y la numeración que se ha considerado sería la que se indica en la misma. Pf.



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 12.50 (sa, 2H, H-1, H-1'''); 7.63 (m, 8H, H-3'', H-3''', H-4'', H-4''', H-5'', H-5''', H-6'', H-6'''); 7.09 (m, 2H, H-4, H-4'''); 4.32 (2c, 4H, -COOCH₂CH₃, -COOCH₂CH₃); 1.32 (2t, 6H, -COOCH₂CH₃, -COOCH₂CH₃).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 185.54 (Ph-CO); 160.92, 160.30, 146.39, 141.53, 133.82 (-COOCH₂CH₃, -COOCH₂CH₃, C-2'', C-2''', C-1'', C-1''', C-1', C-3, C-3''', C-5', C-5''') 131.82-123.28 (C-3''-C-6'', C-3'''-C-6'''); 112.19, 110.30 (C-4, C-4'''); 61.70, 61.66 (-COOCH₂CH₃, -COOCH₂CH₃); 14.22, 14.18 (-COOCH₂CH₃, -COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₆H₂₂N₆O₇Na (M + Na)⁺ 553.144767; encontrado 553.144415 (desviación 0.6 ppm)

5.3.8.2.- Síntesis de 1-etil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (190) y 1-etil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (191).

Se sigue el procedimiento 1 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:5. Se obtienen 120 mg de un sirupo naranja que se identifican como el producto **190** y 54 mg y un sólido naranja que se identifican como el producto **191**. Rendimiento: **190** 37% y **191** 17%. P.f. **191** 104-106°C.

Análisis espectroscópico de **190**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.03 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz); 6.96 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 9.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz); 6.86 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz); 4.35 (dd, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 13.1$ Hz, $J_{5-4b} = 10.5$ Hz); 4.21 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.87 (s, 3H, -OCH₃); 3.34 (m, 4H, H-4,-CH₂CH₃); 1.27 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.08 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.19 (Ph-CO); 169.87 (-COOCH₂CH₃); 163.63 (C-5'); 144.59 (C-3); 140.88 (C-2'); 138.09 (C-1'); 126.35 (C-3'); 115.22 (C-4'); 113.90 (C-6'); 65.95 (C-5); 61.92 (-COOCH₂CH₃); 56.16 (-OCH₃); 46.30 (-CH₂CH₃); 34.47 (C-4); 14.17 (-COOCH₂CH₃); 12.43 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₆H₂₀N₃O₆ (M + H)⁺ 350.135211; encontrado 350.135506 (desviación -0.8 ppm).

Análisis espectroscópico de **191**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.13 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz); 7.43 (s, 1H, H-4); 7.05 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 9.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz); 6.99 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz); 4.51 (c, 2H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz); 4.34 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.91 (s, 3H, -OCH₃); 1.31 (2t, 6H, -COOCH₂CH₃, -CH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.72 (Ph-CO); 163.92 (C-5'); 159.14 (-COOCH₂CH₃); 148.34 (C-3); 140.94 (C-2'); 137.95 (C-1'); 133.81 (C-5); 126.50 (C-3'); 115.57 (C-4'); 114.07 (C-6'); 112.72 (C-4); 61.52 (-COOCH₂CH₃); 56.24 (-OCH₃); 48.11 (-CH₂CH₂CH₃); 15.53 (-CH₂CH₃); 14.22 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₆H₁₈N₃O₆Na (M + H)⁺ 348.119561; encontrado 348.119038 (desviación 1.5 ppm).

5.3.8.3.- Síntesis de 1-butil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (**192**) y 1-butil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol -5-carboxilato de etilo (**193**).

Se sigue el procedimiento 1 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:6 y se obtienen 234 mg de un sirupo naranja que se identifica como el producto **192**, y 80 mg de otro sirupo naranja que se identifica como el producto **193**. Rendimiento: **192** 67% y **193** 23%.

Análisis espectroscópico de **192**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.05 (d, 1H, H-3', J_{3'-4'} = 9.1 Hz); 6.97 (dd, 1H, H-4', J_{4'-3'} = 9.1 Hz, J_{4'-6'} = 2.8 Hz); 6.87 (d, 1H, H-6', J_{6'-4'} = 2.8 Hz); 4.36 (dd, 1H, H-5, J_{5-4a} = 13.2 Hz, J_{5-4b} = 10.3 Hz); 4.22 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 3.88 (s, 3H, -OCH₃); 3.32 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.48 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.29 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 1.23 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.84 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, J = 7.2 Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.14 (Ph-CO); 169.87 (-COOCH₂CH₃); 163.61 (C-5'); 143.98 (C-3); 140.85 (C-2'); 138.20 (C-1'); 126.36 (C-3'); 115.24 (C-4'); 113.83 (C-6'); 66.31 (C-5); 61.93 (-COOCH₂CH₃); 56.87 (-OCH₃); 51.87 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 34.41 (C-4); 29.49 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.93 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.19 (-COOCH₂CH₃); 13.68 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para $C_{18}H_{23}N_3O_6Na$ ($M + Na$)⁺ 400.148455; encontrado 400.148861 (desviación -1.0 ppm).

Análisis espectroscópico de **193**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.15 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz); 7.45 (s, 1H, H-4); 7.06 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 9.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz); 6.97 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz); 4.47 (t, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz); 4.35 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.92 (s, 3H, -OCH₃); 1.72 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.37 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.23 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.88 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.79 (Ph-CO); 163.98 (C-5'); 159.14 (-COOCH₂CH₃); 148.26 (C-3); 140.90 (C-2'); 138.03 (C-1'); 134.07 (C-5); 126.51 (C-3'); 115.60 (C-4'); 113.99 (C-6'); 112.69 (C-4); 61.49 (COOCH₂CH₃); 56.23 (-OCH₃); 52.54 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 32.26 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.91 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.26 (-COOCH₂CH₃); 13.57 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para $C_{18}H_{21}N_3O_6Na$ ($M + Na$)⁺ 398.132805; encontrado 398.132388 (desviación 1.0 ppm).

5.3.8.4.- Síntesis de 1-bencil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (194) y 1-bencil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (195).

Se sigue el procedimiento 2 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:9 y se obtienen 115 mg de un sirupo naranja que se identifica como el producto **194**, y 190 mg de otro sirupo naranja que se identifica como el producto **195**. Rendimiento: **194** 15% y **195** 25%.

Análisis espectroscópico de 194.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.12 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz); 7.30 (m, 3H, H-3, H-4, H-5_{bencilo}); 7.12 (m, 2H, H-2, H-6_{bencilo}); 7.00 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 9.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz); 6.88 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.8$ Hz); 4.69 (d, 1H, Ha_{CH₂}, $J_{Ha-Hb} = 14.8$ Hz); 4.45 (d, 1H, Hb_{CH₂}, $J_{Hb-Ha} = 14.8$ Hz); 4.17 (m, 3H, -COOCH₂CH₃, H-5); 3.91 (s, 3H, -OCH₃); 3.36 (dd, 1H, H-4a, $J_{4a-4b} = 17.2$ Hz, $J_{4a-5} = 12.8$ Hz); 3.29 (dd, 1H, H-4b, $J_{4b-4a} = 17.2$ Hz, $J_{4b-5} = 11.7$ Hz,); 1.26 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.59 (Ph-CO); 169.67 (-COOCH₂CH₃); 163.79 (C-5'); 145.21 (C-3); 140.52 (C-2'); 138.27 (C-1'); 134.86 (C-1_{bencilo}); 128.82 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.75 (C-3, C-5_{bencilo}); 128.17 (C-4_{bencilo}); 126.56 (C-3'); 115.32 (C-4'); 113.75 (C-6'); 64.67 (C-5); 61.92 (-COOCH₂CH₃); 56.32 (-CH₂-); 56.20 (-OCH₃); 34.42 (C-4); 14.16 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₁H₂₁N₃O₆Na (M + Na)⁺ 434.132805; encontrado 434.132290 (desviación 1.2 ppm).

Análisis espectroscópico de 195.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.16 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.1$ Hz); 7.49 (s, 1H, H-4); 7.26 (m, 3H, H-3, H-4, H-5_{bencilo}); 7.12 (m, 2H, H-2, H-6_{bencilo}); 7.06 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 9.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.7$ Hz); 6.98 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.7$ Hz); 5.66 (s, 2H, -CH₂-); 4.29 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.91 (s, 3H, -OCH₃); 1.31 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.78 (Ph-CO); 163.99 (C-5'); 159.01 (-COOCH₂CH₃); 148.72 (C-3); 140.82 (C-2'); 137.96 (C-1'); 135.94 (C-1_{bencilo}); 134.23 (C-5); 128.64 (C-2_{bencilo}, C-6_{bencilo}); 128.02 (C-4_{bencilo}); 127.55 (C-3_{bencilo}, C-5_{bencilo}); 126.59 (C-3'); 115.64 (C-4'); 114.06 (C-6'); 113.02 (C-4); 61.59 (-COOCH₂CH₃); 56.25 (-OCH₃); 55.91 (-CH₂-); 14.16 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para $C_{21}H_{19}N_3O_6Na$ ($M + Na$)⁺ 422.117155; encontrado 432.117431 (desviación 0.6 ppm).

5.3.8.5.- Síntesis de 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (196).

Se sigue el procedimiento 1 descrito en el apartado 5.3.8, usando como agente alquilante el bromuro de ciclohexilo, sin embargo en esta ocasión no se alquila el producto de partida y se aromatiza completamente (probablemente debido al uso de un reactivo muy voluminoso). El crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:6 y se obtienen 120 mg de un sólido amarillo se identifica como el producto **196**. Rendimiento 40%. P.f. 199 -203°C.

¹H-RMN (300 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ 13.71 (sa, 1H, H-1); 8.24 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.8$ Hz); 7.81 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.8$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz); 7.75 (sa, 1H, H-6'); 7.38 (s, 1H, H-4); 4.36 (c, 2H, $-COOCH_2CH_3$, $J = 7.1$ Hz); 1.33 (t, 3H, $-COOCH_2CH_3$, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ 185.22 (Ph-CO); 158.37 ($-COOCH_2CH_3$); 151.14 (C-3); 146.39 (C-2'); 140.05 (C-5'); 137.05 (C-1'); 136.30 (C-5); 131.17 (C-4'); 129.37 (C-6'); 126.02 (C-3'); 109.10 (C-4); 61.49 ($-COOCH_2CH_3$); 13.62 ($-COOCH_2CH_3$).

HR LSIMS: Calculado para $C_{13}H_{11}N_3O_5Cl$ ($M + H$)⁺; 324.038723 encontrado 324.039042 (desviación -1.0 ppm).

5.3.8.6.- Síntesis de 1-metil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (197).

Se sigue el procedimiento 1 descrito en el apartado 5.3.8 y el agente alquilante usado es sulfato de dimetilo, el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:8 y se obtienen 44 mg de un sirupo amarillo que se identifica como el producto **197** y el derivado 1-metil-3-(5-cloro-

2-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo ya descrito. Rendimiento de **197**: 14 %. P.f. 128-130°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.11 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.60 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz); 7.52 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz); 7.48 (s, 1H, H-4); 4.36 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 4.10 (s, 3H, -CH₃); 1.38 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 185.21 (Ph-CO); 159.21 (-COOCH₂CH₃); 147.94 (C-3); 145.99 (C-2'); 140.79 (C-5'); 136.92 (C-1'); 134.85 (C-5); 130.78 (C-4'); 129.47 (C-6'); 125.51 (C-3'); 112.57 (C-4); 61.68 (-COOCH₂CH₃); 40.58 (-CH₃); 14.24 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₂N₃O₅ClNa (M + Na)⁺ 360.036318; encontrado 360.036142 (desviación 0.5 ppm).

5.3.8.7.- Síntesis de 1-etil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (**198**) y 1-etil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (**199**).

Se sigue el procedimiento 2 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:12. Se obtienen 263 mg de un sirupo amarillo que se identifica como **198**, y 150 mg un sólido amarillo que se identifica como el producto **199**. Rendimiento: **198** 40% y **199** 23%. P.f. **199** 100-102°C.

Análisis espectroscópico de **198**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.98 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.53 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.2$ Hz); 7.49 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.2$ Hz); 4.41 (dd, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 13.3$ Hz, $J_{5-4b} = 10.0$ Hz); 4.25 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.38 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₃); 1.32 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.13 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 184.29 (Ph-CO); 169.60 (-COOCH₂CH₃); 146.35 (C-2'); 143.96 (C-3); 140.18 (C-5'); 136.96 (C-1'); 130.23 (C-4'); 129.63 (C-6'); 125.25 (C-3'); 66.06 (C-5); 62.04 (-COOCH₂CH₃); 46.89 (-CH₂CH₃); 34.22 (C-4); 14.18 (-COOCH₂CH₃); 12.53 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₆N₃O₅ClNa (M + Na)⁺ 376.067618; encontrado 376.067314 (desviación 0.8 ppm)

Análisis espectroscópico de **199**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.07 (d, 1H, H-3', J_{3'-4'} = 8.7 Hz); 7.59 (dd, 1H, H-4', J_{4'-3'} = 8.7 Hz, J_{4'-6'} = 2.3 Hz); 7.53 (d, 1H, H-6', J_{6'-4'} = 2.3 Hz); 7.45 (s, 1H, H-4); 4.50 (c, 2H, -CH₂CH₃, J = 7.2 Hz); 4.34 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 1.31 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 1.33 (t, 3H, -CH₂CH₃, J = 7.2 Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 185.17 (Ph-CO); 159.04 (-COOCH₂CH₃); 147.97 (C-3); 146.43 (C-2'); 140.64 (C-5'); 136.74 (C-1'); 134.05 (C-5); 130.83 (C-4'); 129.64 (C-6'); 125.40 (C-3'); 112.75 (C-4); 61.62 (-COOCH₂CH₃); 48.19 (-CH₂CH₃); 15.26 (-CH₂CH₃); 14.22 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₄N₃O₅ClNa (M + Na)⁺ 374.051968; encontrado 374.052214 (desviación -0.7 ppm).

5.3.8.8.- Síntesis de 1-butil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (200) y 1-butil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (201).

Se sigue el procedimiento 1 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:16. Se obtienen 100 mg de un sirupo amarillo que se identifica como el producto **200**, y 95 mg de un sólido amarillo que se identifica como el producto **201**. Rendimiento: **200** 28% y **201** 27%. P.f. **201** 58-60°C.

Análisis espectroscópico de 200.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.98 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.50 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz); 7.45 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz); 4.46 (dd, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 13.3$ Hz, $J_{5-4b} = 10.3$ Hz); 4.23 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.33 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.50 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.29 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.26 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.86 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 184.20 (Ph-CO); 169.56 (-COOCH₂CH₃); 146.28 (C-2'); 143.71 (C-3); 140.14 (C-5'); 137.04 (C-1'); 130.19 (C-4'); 129.62 (C-6'); 125.27 (C-3'); 66.36 (C-5); 62.03 (-COOCH₂CH₃); 51.81 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 34.13 (C-4); 29.54 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.92 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.17 (-COOCH₂CH₃); 13.66 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₂₀N₃O₅ClNa (M + Na)⁺ 404.098918; encontrado 404.099045 (desviación -0.3 ppm).

Análisis espectroscópico de 201.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.08 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.60 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.2$ Hz); 7.53 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.2$ Hz); 7.46 (s, 1H, H-4); 4.46 (t, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz); 4.35 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.69 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.37 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.23 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.87 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 185.22 (Ph-CO); 159.07 (-COOCH₂CH₃); 147.88 (C-3); 146.32 (C-2'); 140.64 (C-5'); 136.82 (C-1'); 134.32 (C-5); 130.79 (C-4'); 129.61 (C-6'); 125.42 (C-3'); 112.69 (C-4); 61.59 (-COOCH₂-CH₃); 52.59 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 32.18 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.59 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.21 (-COOCH₂CH₃); 13.53 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₁₈N₃O₅ClNa (M + Na)⁺ 402.083268; encontrado 402.082714 (desviación 1.4 ppm).

5.3.8.9.- Síntesis de 1-bencil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (202) y 1-bencil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (203).

Se sigue el procedimiento 2 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:20. Se obtienen 85 mg de un sirupo amarillo que se identifica como el producto **202**, y 77 mg de un sólido amarillo y **203** que se identifica como el producto. Rendimiento: **202** 11 %; **203** 10%. P.f. **203** 135- 136°C

Análisis espectroscópico de **202**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.04 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.54 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz); 7.46 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz); 7.31 (m, 3H, H-3 - H-5_{bencilo}); 7.13 (m, 2H, H-2_{bencilo}, H-6_{bencilo}); 4.70 (d, 1H, Ha_{CH₂}, $J_{Ha-Hb} = 15.1$ Hz); 4.48 (d, 1H, Hb_{CH₂}, $J_{Hb-Ha} = 15.1$ Hz); 4.17 (m, 3H, -COOCH₂CH₃, H-5); 3.37 (dd, 1H, H-4a, $J_{4a-4b} = 17.3$ Hz, $J_{4a-5} = 12.5$ Hz); 3.27 (dd, 1H, H-4b, $J_{4b-4a} = 17.3$ Hz, $J_{4b-5} = 11.5$ Hz); 1.27 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 184.70 (Ph-CO); 169.41 (-COOCH₂CH₃); 145.98 (C-2); 144.56 (C-3'); 140.37 (C-5'); 137.09 (C-1'); 134.71 (C-1_{bencilo}); 130.32 (C-4'); 129.52 (C-6'); 128.83 (C-2_{bencilo}, C-6_{bencilo}); 128.78 (C-3_{bencilo}, C-5_{bencilo}); 128.27 (C-4_{bencilo}); 125.47 (C-3'); 64.77 (C-5); 62.02 (-COOCH₂CH₃); 56.28 (-CH₂-); 34.17 (C-4); 14.162 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₀H₁₈N₃O₅ClNa (M + Na)⁺ 438.083473; encontrado 438.083548 (desviación 0.2 ppm).

Análisis espectroscópico de **203**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.16 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 7.61 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz); 7.56 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz); 7.51 (s, 1H, H-4); 7.26 (m, 3H, H-3 - H-5_{bencilo}); 7.12 (m, 2H, H-2_{bencilo}, H-6_{bencilo}); 5.66 (s, 2H, -CH₂-); 4.31 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.32 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 185.30 (Ph-CO); 158.95 (-COOCH₂CH₃); 148.33 (C-3); 146.25 (C-2); 140.80 (C-5'); 136.76 (C-1'); 135.76 (C-1_{bencilo}); 134.45 (C-5); 130.92 (C-4'); 129.67 (C-6'); 128.70 (C-2_{bencilo}, C-6_{bencilo}); 128.14 (C-4_{bencilo}); 127.61 (C-3_{bencilo}, C-5_{bencilo}); 125.35 (C-3'); 113.10 (C-4); 61.73 (-COOCH₂CH₃); 56.01 (-CH₂-); 14.20 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₀H₁₆N₃O₅ClNa (M + Na)⁺ 436.067618; encontrado 436.067075 (desviación 1.2 ppm).

5.3.8.10.- Síntesis de 1-etil-3-(2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (204) y 1-etil-3-(2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol -5-carboxilato de etilo (205).

Se sigue el procedimiento 1 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:10. Se obtienen 136 mg de un sirupo amarillo-anaranjado que se identifica como el producto **204**, y 76 mg de un sólido naranja que se identifica como el producto **205**. Rendimiento: **204** 46% y **205** 26%. P.f. **205** 91-93 °C.

Análisis espectroscópico de **204**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.02 (dd, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz, $J_{3'-5'} = 1.1$ Hz); 7.67 (pdt, 1H, H-5', $J_{5'-4'} = 7.7$ Hz, $J_{5'-6'} = 7.5$ Hz, $J_{5'-3'} = 1.1$ Hz); 7.56 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-5'} = 7.7$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.6$ Hz); 7.50 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.5$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.6$ Hz); 4.37 (dd, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 13.0$ Hz, $J_{5-4b} = 10.4$ Hz); 4.23 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.37

(m, 4H, H-4, -CH₂CH₃); 1.29 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, *J* = 7.1 Hz); 1.12 (t, 3H, -CH₂CH₃, *J* = 7.2 Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.08 (Ph-CO); 169.81 (-COOCH₂CH₃); 148.23 (C-2'); 144.58 (C-3); 135.39 (C-1'); 133.48 (C-5'); 130.56 (C-4'); 129.55 (C-6'); 123.75 (C-3'); 66.05 (C-5); 61.94 (-COOCH₂CH₃); 46.95 (-CH₂CH₃); 34.44 (C-4); 14.18 (-COOCH₂CH₃); 12.46 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₇N₃O₅Na (M + Na)⁺ 342.106591; encontrado 342.106724 (desviación -0.4 ppm).

Análisis espectroscópico de **205**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.12 (dd, 1H, H-3', *J*_{3'-4'} = 8.1 Hz, *J*_{3'-5'} = 1.1 Hz); 7.75 (pdt 1H, H-5', *J*_{5'-4'} = 7.7 Hz, *J*_{5'-6'} = 7.5 Hz, *J*_{5'-3'} = 1.1 Hz); 7.65 (pdt, 1H, H-4', *J*_{4'-6'} = 1.6 Hz, *J*_{4'-3'} = 8.1 Hz, *J*_{4'-5'} = 7.7 Hz); 7.59 (dd, 1H, H-6', *J*_{6'-4'} = 1.6 Hz, *J*_{6'-5'} = 7.5 Hz); 7.45 (s, 1H, H-4); 4.51 (c, 2H, -CH₂CH₃, *J* = 7.2 Hz); 4.35 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, *J* = 7.1 Hz); 1.37 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, *J* = 7.1 Hz); 1.34 (t, 3H, -CH₂CH₃, *J* = 7.2 Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.74 (Ph-CO); 159.14 (-COOCH₂CH₃); 148.38 (C-3, C-2'); 135.27 (C-1'); 133.84 (C-5, C-5'); 130.93 (C-4'); 129.61 (C-6'); 123.91 (C-3'); 112.73 (C-4); 61.54 (-COOCH₂CH₃); 48.10 (-CH₂CH₃); 15.26 (-CH₂CH₃); 14.22 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₅N₃O₅Na (M + Na)⁺ 340.090941; encontrado 340.090904 (desviación 0.1 ppm).

5.3.8.11.- Síntesis de 1-butil-3-(2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (206) y 1-butil-3-(2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (207).

Se sigue el procedimiento 1 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:15. Se obtienen 26 mg de un sirupo amarillo que se identifica como el producto **206**, y 109 mg de un sirupo naranja que se identifica como el producto **207**. Rendimiento: **206** 8 % y **207** 35%.

Análisis espectroscópico de **206**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.02 (dd, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz, $J_{3'-5'} = 1.2$ Hz); 7.67 (pdt, 1H, H-5', $J_{5'-4'} = 7.7$ Hz, $J_{5'-6'} = 7.5$ Hz, $J_{5'-3'} = 1.2$ Hz); 7.56 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-5'} = 7.7$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.6$ Hz); 7.50 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.5$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.6$ Hz); 4.37 (dd, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 12.4$ Hz, $J_{5-4b} = 10.2$ Hz); 4.24 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.33 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.50 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.28 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.30 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 0.86 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 186.10 (Ph-CO); 169.86 (-COOCH₂CH₃); 148.15 (C-2'); 143.99 (C-3); 135.47 (C-1'); 133.56 (C-5'); 130.36 (C-4'); 129.57 (C-6'); 123.82 (C-3'); 66.39 (C-5); 62.01 (-COOCH₂CH₃); 51.92 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 34.38 (C-4); 29.52 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.97 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.23 (-COOCH₂CH₃); 13.75 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₂₁N₃O₅Na (M + Na)⁺ 370.137891; encontrado 370.135576 (desviación 0.8 ppm).

Análisis espectroscópico de **207**.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.12 (dd, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz, $J_{3'-5'} = 1.2$ Hz); 7.75 (pdt, 1H, H-5', $J_{5'-6'} = 7.4$ Hz, $J_{5'-4'} = 7.7$ Hz, $J_{5'-3'} = 1.2$ Hz); 7.65 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-5'} =$

7.7 Hz, $J_{4'-3'} = 8.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.5$ Hz); 7.58 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.4$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.5$ Hz); 7.46 (s, 1H, H-4); 4.46 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.2$ Hz); 4.34 (c, 2H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz); 1.71 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.37 (t, 3H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz); 1.23 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 0.87 (t, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.2$ Hz).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 186.82 (Ph-CO); 159.19 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 148.29 (C-3); 148.17 (C-2'); 135.35 (C-1'); 134.14 (C-5); 133.88 (C-5'); 130.90 (C-4'); 129.57 (C-6'); 123.94 (C-3'); 112.69 (C-4); 61.51 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 52.54 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 32.20 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 19.61 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 14.22 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 13.56 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

HR LSIMS: Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_5$ (M + H)⁺ 346.140296; encontrado 346.140677 (desviación -1.1 ppm).

5.3.8.12.- Síntesis de 1-bencil-3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (208) y 1-bencil-3-(2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (209).

Se sigue el procedimiento 2 descrito en el apartado 5.3.8 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:9. Se obtienen 182 mg de un sirupo naranja que se identifica como el producto **208** y, 190 mg de un sirupo naranja que se identifica como el producto **209**. Rendimiento: **208** 26% y **209** 27%. P.f. **209** 106-108 °C.

Análisis espectroscópico de 208.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 8.09 (dd, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.1$ Hz, $J_{3'-5'} = 1.1$ Hz); 7.70 (pdt, 1H, H-5', $J_{5'-6'} = 7.5$ Hz, $J_{5'-4'} = 7.7$ Hz, $J_{5'-3'} = 1.1$ Hz); 7.59 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-5'} = 7.7$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.1$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.5$ Hz); 7.50 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.5$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.5$ Hz); 7.30 (m, 3H, H-3 - H-5_{bencilo}); 7.13 (m, 2H, H-2_{bencilo}, H-6_{bencilo}); 4.68 (d, 1H, H_{aCH_2} , $J_{\text{Ha-Hb}} = 14.8$ Hz); 4.46 (d, 1H, H_{bCH_2} , $J_{\text{Hb-Ha}} = 14.8$ Hz); 4.16 (m, 3H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, H-5); 3.37 (dd, 1H, H-4a, $J_{4a-4b} = 17.4$ Hz, $J_{4a-5} = 12.9$ Hz); 3.29 (dd, 1H, H-4b, $J_{4b-4a} = 17.4$ Hz, $J_{4b-5} = 11.4$ Hz); 1.26 (t, 3H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.51 (Ph-CO); 169.60 (-COOCH₂CH₃); 147.82 (C-2'); 145.10 (C-3); 135.57 (C-1_{bencilo}); 134.87 (C-1'); 133.69 (C-5'); 130.42 (C-4'); 129.41 (C-6'); 128.81 (C-2_{bencilo}, C-6_{bencilo}); 128.77 (C-3_{bencilo}, C-5_{bencilo}); 128.18 (C-4_{bencilo}); 123.96 (C-3'); 64.71 (C-5); 61.93 (-COOCH₂CH₃); 56.33 (-CH₂-); 34.40 (C-4); 14.16 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₀H₁₉N₃O₅Na (M + Na)⁺ 404.122241; encontrado 404.122010 (desviación 0.6 ppm).

Análisis espectroscópico de **209**.

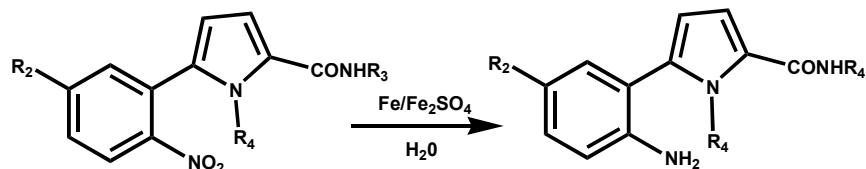
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.15 (dd, 1H, H-3', J_{3'-4'}= 8.1 Hz, J_{3'-5'}= 1.0 Hz); 7.76 (pdt, 1H, H-5', J_{5'-6'}= 7.5 Hz, J_{5'-4'}= 7.7 Hz, J_{5'-3'}= 1.0 Hz); 7.66 (pdt, 1H, H-4', J_{4'-5'}= 7.7 Hz, J_{4'-3'}= 8.1 Hz, J_{4'-6'}= 1.5 Hz); 7.60 (dd, 1H, H-6', J_{6'-5'}= 7.5 Hz, J_{6'-4'}= 1.5 Hz); 7.51 (s, 1H, H-4); 7.26 (m, 3H, H-3 - H-5_{bencilo}); 7.12 (m, 2H, H-2_{bencilo}, H-6_{bencilo}); 5.66 (s, 2H, -CH₂-); 4.30 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 1.32 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.84 (Ph-CO); 159.02 (-COOCH₂CH₃); 148.76 (C-3); 148.08 (C-2'); 135.90 (C-1'); 135.33 (C-1_{bencilo}); 134.29 (C-5); 133.96 (C-5'); 130.96 (C-4'); 129.58 (C-6'); 128.64 (C-2_{bencilo}, C-6_{bencilo}); 128.05 (C-4_{bencilo}); 127.59 (C-3_{bencilo}, C-5_{bencilo}); 124.02 (C-3'); 113.05 (C-4); 61.61 (-COOCH₂CH₃); 55.95 (-CH₂-); 14.17 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₀H₁₇N₃O₅Na (M + Na)⁺ 402.106591; encontrado 402.106448 (desviación 0.4 ppm)

5.4.- Síntesis de compuestos finales.²⁰

5.4.1.- Síntesis de compuestos con estructura pirrólica.



Procedimiento general de síntesis:

Se adicionan 0.290 g (5.24 mmol) de hierro en polvo y 0.150 g (0.524 mmol) de sulfato ferroso, sobre una suspensión de 0.524 mmol del correspondiente nitroareno en 15 ml de agua, a 95-100°C. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a esta temperatura entre 3 y 5 horas. Transcurrido dicho tiempo, se deja enfriar a temperatura ambiente, se filtra a través de celita y ésta se lava varias veces con diclorometano. La fase acuosa se extrae con diclorometano (3 × 15 ml) y acetato de etilo (3 × 15 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavan con salmuera, se secan (Na₂SO₄) y concentran al rotavapor. El sólido resultante se purifica mediante recristalización de cloruro de metileno/hexano.

5.4.1.1.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-*N*-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-1).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recristaliza de CH₂Cl₂ /hexano. Se obtienen 62 mg de un sólido gris claro. Rendimiento 48%. P.f. 202-204°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.05 (sa, 1H, H-1); 6.87 (d, 1H, H-6', J_{6'-4'}= 1.5 Hz); 6.72 (m, 2H, H-3', H-4'); 6.58 (dd, 1H, H-3, J₃₋₄= 3.6 Hz, J₃₋₁= 2.4 Hz); 6.42 (dd, 1H,

H-4, $J_{4-3} = 3.6$ Hz, $J_{4-1} = 2.7$ Hz); 5.98 (ps, 1H, -CONH-); 3.75 (s, 3H, -OCH₃); 2.95 (d, 3H, -CH₃, $J = 5.3$ Hz)

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 161.79 (-CONH-); 153.51 (C-5'); 136.77 (C-2'); 133.28 (C-5); 126.07 (C-2); 119.98 (C-1'); 118.96 (C-3'); 114.94 (C-4'); 113.64 (C-6'); 109.77 (C-3); 109.03 (C-4); 55.90 (-OCH₃); 26.27 (-CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₅N₃O₄Na (M + Na)⁺ 268.106197; encontrado 268.106589 (desviación -1.5 ppm).

Análisis elemental: (C₁₃H₁₅N₃O₅).

Teórico (%)	C 63.66	H 6.16	N 17.13
Obtenido (%)	C 63.02	H 5.74	N 16.90

5.4.1.2.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-*N*-propil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-2).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recristaliza de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 88 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 62%. P.f. 183-184°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.00 (sa, 1H, H-1); 6.87 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4} = 2.4$ Hz); 6.73 (m, 2H, H-3', H-4'); 6.58 (pt, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.6$ Hz); 6.43 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.6$ Hz); 5.93 (sa, 1H, -CONH-); 3.73 (s, 3H, -OCH₃); 3.56 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₃); 1.60 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₃); 0.96 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 161.13 (-CONH-); 153.64 (C-5'); 136.00 (C-2'); 133.19 (C-5); 126.24 (C-2); 119.13 (C-3', C-1'); 114.91 (C-4'); 113.66 (C-6'); 109.73 (C-3); 109.04 (C-4); 55.87 (-OCH₃); 41.26 (-CH₂CH₂CH₃); 23.17 (-CH₂CH₂CH₃); 11.45 (-CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para $C_{15}H_{19}N_3O_2Na$ ($M + Na$)⁺ 296.137497; encontrado 296.137709 (desviación -0.7 ppm).

Análisis elemental: ($C_{13}H_{19}N_3O_2$).

Teórico (%)	C 65.91	H 7.01	N 15.37
Obtenido (%)	C 65.61	H 6.94	N 15.17

5.4.1.3.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-N-ciclopropil-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-3).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recristaliza de CH_2Cl_2 /hexano. Se obtienen 109 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 77%. P.f. 195-196°C.

¹H-RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 10.04 (sa, 1H, H-1); 6.86 (m, 1H, H-6'); 6.72 (m, 2H, H-3', H-4'); 6.56 (ps, 1H, H-3); 6.40 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.5$ Hz); 6.10 (sa, 1H, -CONH-); 3.75 (s, 3H, -OCH₃); 3.75 (sa, 2H, -NH₂); 2.81 (m, 1H, H-1_{cicloprop.}); 0.82, 0.60 (2m, 4H, H-2, H-3_{cicloprop.}).

¹³C-RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ 158.85 (-CONH-); 153.50 (C-5'); 136.85 (C-2'); 133.50 (C-5); 125.87 (C-2); 119.90 (C-1'); 118.99 (C-3'); 114.96 (C-4'); 113.69 (C-6'); 110.41 (C-3); 109.49 (C-4); 55.89 (-OCH₃); 22.71 (C-1_{cicloprop.}); 7.01 (C-2, C-3_{cicloprop.}).

HR LSIMS: Calculado para $C_{15}H_{17}N_3O_2Na$ ($M + Na$)⁺ 294.121847; encontrado 294.121920 (desviación -0.3 ppm).

Análisis elemental: ($C_{15}H_{17}N_3O_2$).

Teórico (%)	C 66.40	H 6.32	N 15.49
Obtenido (%)	C 66.01	H 6.30	N 14.98

5.4.1.4.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-*N*-ciclopentil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-4).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 86 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 55%. P.f. 185-187°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO): δ 11.30 (sa, 1H, H-1); 7.77 (d, 1H, -CONH-, $J= 7.4$ Hz); 6.89 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'}= 2.8$ Hz); 6.83 (d, 1H, H-3, $J_{3-4}= 3.6$ Hz); 6.70 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'}= 8.6$ Hz); 6.62 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'}= 8.6$ Hz, $J_{4'-6'}= 2.8$ Hz); 6.36 (d, 1H, H-4, $J_{4-3}= 3.6$ Hz); 4.56 (sa, 2H, -NH₂); 4.17 (m, 1H, H-1_{ciclopent.}); 3.67 (s, 3H, -OCH₃); 1.93 -1.38 (m, 8H, H-2 - H-5_{ciclopent.}).

¹³C-RMN (75 MHz, DMSO): δ 160.47 (-CONH-); 151.75 (C-5'); 139.23 (C-2'); 132.99 (C-5); 127.26 (C-2); 118.73 (C-1'); 117.96 (C-3'); 114.88 (C-4'); 113.84 (C-6'); 112.18 (C-3); 108.56 (C-4); 55.92 (-OCH₃); 50.89 (C-1_{ciclopent.}); 32.84 (C-2, C-5_{ciclopent.}); 24.11 (C-3, C-4_{ciclopent.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₂₁N₃O₂Na (M + Na)⁺ 322.153147; encontrado 322.153228 (desviación -0.3 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₇H₂₁N₃O₂).

Teórico (%)	C 68.21	H 7.07	N 14.04
Obtenido (%)	C 68.54	H 6.87	N 13.76

5.4.1.5.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-*N*-bencil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-5).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente

acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 121 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 72%. P.f. 178-180°C.

¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7.28 (m, 5H, H-2 - H-6_{bencilo}); 6.91 (m, 2H, H-6', H-3); 6.80 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.7$ Hz); 6.71 (dd, H-4', $J_{4'-3'} = 8.7$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.8$ Hz); 6.43 (d, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.8$ Hz); 4.53 (s, 2H, -CH₂-); 3.74 (s, 3H, -OCH₃).

¹³C-RMN (75 MHz, CD₃OD): δ 163.58 (-CONH-); 154.46 (C-5'); 140.50, 139.05 (C-2', C-1_{bencilo}); 135.03 (C-5); 129.50 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.47 (C-3, C-5_{bencilo}); 128.10 (C-4_{bencilo}); 127.09 (C-2); 121.14 (C-1'); 119.60 (C-3'); 115.89 (C-4'); 114.70 (C-6'); 113.33 (C-3); 109.92 (C-4); 56.21 (-OCH₃); 43.93 (-CH₂-).

HR LSIMS: Calculado para C₁₉H₁₉N₃O₂Na (M + Na)⁺ 344.137497; encontrado 344.138078 (desviación -1.7 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₉H₁₉N₃O).

Teórico (%)	C 71.01	H 5.96	N 13.08
Obtenido (%)	C 70.84	H 5.68	N 12.98

5.4.1.6.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-metoxifenil)-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-6).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 87 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 72% P.f. 123-125°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 10.21 (sa, 1H, H-1); 6.70 (ps, 1H, H-6'); 6.90 (m, 2H, H-3', H-4'); 6.67 (pt, 1H, H-3 $J_{3-4} = 3.3$ Hz); 6.44 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.3$ Hz); 5.83 (sa, 2H, -CONH₂); 3.73 (s, 3H, -OCH₃).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 162.83 (-CONH-); 153.36 (C-5'); 136.99 (C-2'); 134.33 (C-5); 124.98 (C-2); 119.68 (C-1'); 118.94 (C-3'); 115.05 (C-4'); 113.72 (C-6'); 111.86 (C-3); 109.27 (C-4); 55.87 (-OCH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₂H₁₃N₃O₂Na (M + Na)⁺ 254.090547; encontrado 254.090215 (desviación 1.3 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₈H₁₇N₃O).

Teórico (%)	C 74.21	H 5.88	N 14.42
Obtenido (%)	C 73.98	H 5.53	N 14.09

5.4.1.7.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)-N-metil-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-7).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recrystaliza de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 81 mg de un sólido blanco amarillento. Rendimiento 62 %. P.f. 175-176°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 10.05 (sa, 1H, H-1); 7.24 (d, 1H, H-6', J_{6'-4'} = 2.4 Hz); 7.05 (dd, 1H, H-4', J_{4'-6'} = 2.4 Hz, J_{4'-3'} = 8.6 Hz); 6.68 (d, 1H, H-3', J_{3'-4'} = 8.6 Hz); 6.58 (dd, 1H, H-3, J₃₋₄ = 3.7 Hz, J₃₋₁ = 2.6 Hz); 6.40 (dd, 1H, H-4, J₄₋₃ = 3.7 Hz, J₄₋₁ = 2.9 Hz); 5.94 (sa, 1H, -CONH-); 4.00 (sa, 2H, -NH₂); 2.95 (d, 3H, -CH₃, J = 4.9 Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, (CD₃)₂CO): δ 161.29 (-CONH-); 144.20 (C-2'); 131.48 (C-5); 128.28 (C-6'); 127.67 (C-4'); 127.51 (C-2); 121.37 (C-5'); 119.37 (C-1'); 117.29 (C-3'); 110.15 (C-3); 108.75 (C-4); 25.21 (-CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₂H₁₂N₃OCINa (M + Na)⁺ 272.056660, encontrado 272.056584 (desviación 0.3 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₃H₁₂N₃OCl).

Teórico (%)	C 57.72	H 4.84	N 16.83
Obtenido (%)	C 57.8	H 4.69	N 16.53

5.4.1.8.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)-N-etil-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-8).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:1 y después se recristaliza de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 98 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 71%. P.f. 183-185°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 10.80 (sa, 1H, H-1); 7.42 (sa, 1H, -CONH-); 7.32 (d, 1H, H-6', J_{6'-4'} = 2.4 Hz); 7.02 (dd, 1H, H-4', J_{4'-6'} = 2.4 Hz, J_{4'-3'} = 8.6 Hz); 6.82 (m, 2H, H-3', H-3); 6.43 (pt, 1H, H-4, J₄₋₃ = 3.8 Hz); 4.85 (sa, 2H, -NH₂); 3.34 (m, 2H, -CH₂CH₃); 1.12 (t, 3H, -CH₂CH₃, J = 7.2 Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, (CD₃)₂CO): δ 160.60 (-CONH-); 144.13 (C-2'); 1301.57 (C-5); 128.19 (C-6'); 127.60 (C-4'); 127.46 (C-2); 121.28 (C-5'); 119.30 (C-1'); 117.20 (C-3'); 110.23 (C-3); 108.66 (C-4); 33.70 (-CH₂CH₃); 154.53 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₄N₃OCl (M + Na)⁺ 286.072310; encontrado 286.072185 (desviación 0.4 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₂H₁₄N₃OCl).

Teórico (%)	C 59.21	H 5.35	N 15.93
Obtenido (%)	C 57.72	H 5.16	N 15.11

5.4.1.9.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)-*N*-butil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-9).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recristaliza de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 103 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 68%. P.f: 161-163°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 10.09 (sa, 1H, H-1); 7.22 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz); 7.03 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.5$ Hz); 6.66 (d, 1H, H-3' $J_{3'-4'} = 8.5$ Hz); 6.58 (pt, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.4$ Hz); 6.40 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.4$ Hz); 5.92 (sa, 1H, -CONH-); 3.38 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 4.00 (sa, 2H, -NH₂); 1.55 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.37 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.93 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃ $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 160.98 (-CONH-); 141.95 (C-2'); 131.80 (C-5); 128.46 (C-4', C.6'); 126.63 (C-2); 124.02 (C-5'); 119.93 (C-1'); 118.02 (C-3'); 109.66 (C-3); 109.40 (C-4); 39.32 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 31.99 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 20.19 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 13.87 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₈N₃OClNa (M + Na)⁺ 314.103610, encontrado 314.103681 (desviación -0.2 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₅H₁₈N₃OCl).

Teórico (%)	C 61.75	H 6.22	N 14.40
Obtenido (%)	C 61.67	H 5.88	N 13.97

5.4.1.10.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)-*N*-ciclopropil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-10).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente

acetato de etilo/hexano 1:1 y después se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 98 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 68%. P.f. 166-161°C.

¹H-RMN (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 10.95 (sa, 1H, H-1); 7.47 (sa, 1H, CONH-); 7.30 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.5$ Hz); 7.00 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-3'} = 8.5$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.5$ Hz); 6.82 (m, 2H, H-3', H-3); 6.41 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.6$ Hz, $J_{4-1} = 2.8$ Hz); 4.81 (sa, 2H, -NH₂); 2.82 (m, 1H, H-1_{cicloprop.}); 0.68 - 0.49 (m, 4H, H-2, H-3_{cicloprop.}).

¹³C-RMN (75 MHz, (CD₃)₂CO): δ 161.91 (-CONH-); 144.18 (C-2'); 131.68 (C-5); 128.28 (C-6'); 127.70 (C-4'); 127.37 (C-2); 121.47 (C-5'); 119.42 (C-1'); 117.32 (C-3'); 110.64 (C-3); 108.75 (C-4); 22.46 (C-1_{cicloprop.}); 5.59 (C-2, C-3_{cicloprop.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₄N₃OCINa (M + Na)⁺ 298.072310, encontrado 298.072359 (desviación -0.2).

Análisis Elemental: (C₁₄H₁₄N₃OCl).

Teórico (%)	C 60.98	H 5.12	N 15.24
Obtenido (%)	C 60.51	H 4.72	N 14.90

5.4.1.11.- Síntesis de 5-(2'-amino-5'-clorofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-11).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:2 y después se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 73 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 59% P.f. 197-198°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.95 (sa, 1H, H-1); 7.31 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.4$ Hz); 7.08 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-6'} = 2.4$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.5$ Hz); 6.70 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.5$ Hz); 6.69 (pt, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.4$ Hz); 6.46 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.4$ Hz); 5.70 (sa, 2H, -CONH₂); 3.98 (sa, 2H, -NH₂).

¹³C-RMN ((75 MHz, (CD₃)₂CO): δ 162.29 (-CONH-); 144.19 (C-2'); 131.97 (C-5); 128.24 (C-6'); 127.76 (C-4'); 127.07 (C-2); 121.94 (C-5'); 119.29 (C-1'); 117.40 (C-3'); 111.56 (C-3); 108.86 (C-4).

HR LSIMS: Calculado para C₁₁H₁₀N₃OCINa (M + Na)⁺ 268.999204; encontrado 268.998686 (desviación 1.8 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₁H₁₀N₃OCl).

Teórico (%)	C 56.06	H 4.28	N 17.41
Obtenido (%)	C 55.39	H 4.14	N 17.81

5.4.1.12.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-N-metil-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-12).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recrystaliza de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 77 mg de un sólido blanco amarillento. Rendimiento 68 %. P.f. 155-157°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 9.83 (sa, 1H, H-1); 7.28 (d, 1H, H-6', J_{6'-5'}= 7.7 Hz); 7.12 (pdt, 1H, H-4', J_{4'-6'}=1.0 Hz, J_{4'-3'}=8.0 Hz, J_{4'-5'}= 7.5 Hz); 6.82 (t, 1H, H-5', J_{5'-6'}= 7.7 Hz, J_{5'-4'}= 7.5 Hz); 6.76 (d, 1H, H-3', J_{3'-4'}= 8.0 Hz); 6.61 (pt, 1H, H-3, J₃₋₄= 3.1 Hz); 6.42 (pt, 1H, H-4, J₄₋₃= 3.1 Hz); 4.00 (sa, 2H, -NH₂); 5.97 (sa, 1H, -CONH-); 2.97 (d, 3H, -CH₃, J = 4.9 Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 161.76 (-CONH-); 143.67 (C-2'); 133.16 (C-5); 128.86 (C-4', C-6'); 126.01 (C-2); 119.22 (C-5'); 118.35 (C-1'); 116.72 (C-3'), 109.74 (C-3), 108.95 (C-4), 26.27 (-CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₂H₁₃N₃ONa (M + Na)⁺ 238.0958632; encontrado 238.095914 (desviación -1.2 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₂H₁₃N₃O).

Teórico (%)	C 66.96	H 6.09	N 19.52
Obtenido (%)	C 66.82	H 6.07	N 19.17

5.4.1.13.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-*N*-etil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-13).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización con éter etílico/hexano. Se obtienen 58 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 48%. P.f. 146-145°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 10.85 (sa, 1H, H-1); 7.27 (d, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.7$ Hz); 7.11 (t, 1H, H-4', $J_{4'-5'} = 7.5$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.0$ Hz); 6.80 (t, 1H, H-5', $J_{5'-4'} = 7.5$ Hz, $J_{5'-6'} = 7.7$ Hz); 6.75 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.0$ Hz); 6.61 (pt, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.1$ Hz); 6.41 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.1$ Hz); 5.95 (sa, 1H, -CONH-); 3.44 (m, 2H, -CH₂CH₃); 1.22 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 161.03 (-CONH-); 143.70 (C-2'); 133.19 (C-5); 128.87 (C-6'); 128.81 (C-4'); 126.10 (C-2); 119.16 (C-5'); 118.39 (C-1'); 116.67 (C-3'); 109.68 (C-3); 108.90 (C-4); 34.40 (-CH₂CH₃); 15.18 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₅N₃ONa (M + Na)⁺ 252.111282; encontrado 252.111355 (desviación -0.3 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₃H₁₅N₃O).

Teórico (%)	C 68.10	H 6.59	N 18.33
Obtenido (%)	C 67.97	H 6.83	N 18.08

5.4.1.14.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-*N*-propil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-14).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recristaliza de éter etílico/hexano. Se obtienen 65 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 51%. P.f. 115-116°C.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 10.00 (sa, 1H, H-1); 7.26 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.8$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.5$ Hz); 7.09 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-6'} = 1.5$ Hz, $J_{4'-5'} = 7.7$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.0$ Hz); 6.78 (pdt, 1H, H-5', $J_{5'-6'} = 7.7$ Hz, $J_{5'-4'} = 7.8$ Hz, $J_{5'-3'} = 1.0$ Hz); 6.73 (dd, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.0$ Hz, $J_{3'-5'} = 1.0$ Hz); 6.62 (dd, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.6$ Hz, $J_{3-1} = 2.7$ Hz); 6.40 (dd, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.6$ Hz, $J_{4-1} = 2.9$ Hz); 6.03 (ps, 1H, -CONH-); 3.98 (sa, 2H, -NH₂); 3.83 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₃); 1.58 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₃); 0.94 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₃, $J = 7.4$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 161.12 (-CONH-); 143.73 (C-2'); 133.19 (C-5); 128.82 (C-6'); 128.76 (C-4'); 126.11 (C-2); 119.06 (C-5'); 118.35 (C-1'); 116.57 (C-3'); 109.69 (C-3); 108.87 (C-4); 41.17 (-CH₂CH₂CH₃); 23.17 (-CH₂CH₂CH₃); 11.46 (-CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₇N₃ONa (M + Na)⁺ 266.126932; encontrado 266.126195 (desviación 2.8 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₄H₁₇N₃O).

Teórico (%)	C 69.11	H 7.04	N 17.27
Obtenido (%)	C 68.63	H 7.52	N 17.09

5.4.1.15.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-*N*-butil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-15).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente

acetato de etilo/hexano 1:3 y después se recristaliza de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 73 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 54%. P.f. 79-80°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.79 (sa, 1H, H-1); 7.27 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.8$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.4$ Hz); 7.11 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-5'} = 7.7$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.0$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.4$ Hz); 6.80 (t, 1H, H-5', $J_{5'-6'} = 7.8$ Hz, $J_{5'-4'} = 7.7$ Hz); 6.75 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.0$ Hz); 6.59 (pt, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.5$ Hz); 6.41 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.5$ Hz); 5.90 (ps, 1H, -CONH-); 4.10 (sa, 2H, -NH₂); 3.40 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.56 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.39 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.95 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 161.09 (-CONH-); 143.78 (C-2'); 133.20 (C-5); 128.89 (C-6'); 128.85 (C-4'); 126.18 (C-2); 119.18 (C-5'); 118.42 (C-1'); 116.71 (C-3'); 109.52 (C-3); 108.88 (C-4); 39.29 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 31.97 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 20.18 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 13.85 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₉N₃ONa (M + Na)⁺ 280.142582; encontrado 280.142808 (desviación -0.8 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₅H₁₉N₃O).

Teórico (%)	C 70.01	H 7.44	N 16.33
Obtenido (%)	C 69.87	H 7.29	N 16.01

5.4.1.16.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-N-ciclopropil-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-16).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:4 y después se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 62 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 49%. P.f. 137-138°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.90 (sa, 1H, H-1); 7.27 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 1.5$ Hz, $J_{6'-5'} = 7.7$ Hz); 7.09 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-6'} = 1.5$ Hz, $J_{4'-5'} = 7.6$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.0$ Hz); 6.78 (pdt,

1H, H-5', $J_{5'-4'}= 7.6$ Hz, $J_{5'-6'}= 7.7$ Hz, $J_{5'-3'}= 1.1$ Hz); 6.73 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'}= 8.0$ Hz); 6.60 (sa, 1H, H-3); 6.38 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3}= 3.5$ Hz); 6.22 (sa, 1H, -CONH-); 4.00 (sa, 2H, -NH₂); 2.81 (m, 1H, H-1_{cicloprop.}); 0.81, 0.59 (2m, 4H, H-2, H-3_{cicloprop.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 162.55 (-CONH-); 143.73 (C-2'); 133.46 (C-5); 128.87 (C-6', C-4'); 125.81 (C-2); 119.14 (C-5'); 118.31 (C-1'); 116.67 (C-3'); 110.25 (C-3); 108.99 (C-4); 22.67 (C-1_{cicloprop.}); 6.94 (C-2, C-3_{cicloprop.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₅N₃O (M + H)⁺ 242.129337; encontrado 242.128716 (desviación 2.6 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₄H₁₅N₃O).

Teórico (%)	C 69.69	H 6.27	N 17.41
Obtenido (%)	C 69.83	H 6.43	N 17.12

5.4.1.17.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-N-ciclobutil-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-17).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:4 y después se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 90 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 67%. P.f. 163-165°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.85 (sa, 1H, H-1); 7.26 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-4'}= 1.5$ Hz, $J_{6'-5'}= 7.6$ Hz); 7.11 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-6'}= 1.5$ Hz, $J_{4'-5'}= 7.7$ Hz, $J_{4'-3'}= 8.0$ Hz); 6.80 (pdt, 1H, H-5', $J_{5'-6'}= 7.6$ Hz, $J_{5'-4'}= 7.7$ Hz, $J_{5'-3'}= 0.9$ Hz); 6.75 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'}= 8.0$ Hz); 6.61 (dd, H-3, $J_{3-4}= 3.6$ Hz, $J_{3-1}= 2.7$ Hz); 6.40 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3}= 3.6$ Hz); 6.05 (d, 1H, -CONH-, $J= 7.7$ Hz); 4.52 (m, 1H, H-1_{ciclobut.}); 3.93 (sa, 2H, -NH₂); 2.37 (m, 2H, H-4_{ciclobut.}); 1.92, 1.73 (2m, 4H, H-2, H-3_{ciclobut.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 160.12 (-CONH-); 143.71 (C-2'); 133.36 (C-5); 128.89 (C-6'); 128.84 (C-4'); 125.99 (C-2); 119.17 (C-5'); 118.41 (C-1'); 116.69 (C-3'); 109.79 (C-3); 108.94 (C-4); 44.76 (C-1_{ciclobut.}); 31.76 (C-2, C-4_{ciclobut.}); 15.20 (C-3_{ciclobut.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₇N₃ONa (M + Na)⁺ 278.126932; encontrado 278.126978 (desviación -0.2 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₅H₁₇N₃O).

Teórico (%)	C 70.56	H 6.27	N 16.46
Obtenido (%)	C 70.37	H 6.21	N 16.05

5.4.1.18.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-N-ciclopentil-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-18).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 97 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 69%. P.f. 163-165°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.85 (sa, 1H, H-1); 7.27 (d, 1H, H-6', J_{6'-5'} = 7.6 Hz); 7.11 (pdt, 1H, H-4', J_{4'-6'} = 1.5 Hz, J_{4'-5'} = 7.7 Hz, J_{4'-3'} = 8.0 Hz); 6.80 (pdt, 1H, H-5', J_{5'-6'} = 7.6 Hz, J_{5'-4'} = 7.7 Hz, J_{5'-3'} = 1.0 Hz); 6.75 (dd, 1H, H-3', J_{3'-4'} = 8.0 Hz, J_{3'-5'} = 1.0 Hz); 6.58 (dd, 1H, H-3, J₃₋₄ = 3.6 Hz, J₃₋₁ = 2.6 Hz); 6.40 (pt, 1H, H-4, J₄₋₃ = 3.6 Hz); 5.83 (d, 1H, -CONH-, J = 7.6 Hz); 4.33 (m, 1H, H-1_{ciclopent.}); 4.00 (sa, 1H, -NH₂); 2.04, 1.66, 1.45 (3m, 8H, H-2 - H-5_{ciclopent.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 160.73 (-CONH-); 143.72 (C-2'); 133.12 (C-5); 128.85 (C-6'); 128.82 (C-4'); 126.24 (C-2); 119.17 (C-5'); 118.41 (C-1'); 116.68 (C-3'); 109.52 (C-3), 108.87 (C-4); 51.25 (C-1_{ciclopent.}); 33.40, 23.85 (C-2 - C-5_{ciclopent.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₆H₁₉N₃ONa (M + H)⁺ 270.160637; encontrado 270.160831 (desviación -0.7 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₆H₁₉N₃O).

Teórico (%)	C 71.35	H 7.11	N 15.60
Obtenido (%)	C 69.82	H 6.78	N 15.28

5.4.1.19.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-N-ciclohexil-1H-pirrol-2-carboxamida (LC-19).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 88 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 59%. P.f. 152-154°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.98 (sa, 1H, H-1); 7.26 (d, 1H, H-6', J_{6'-5'} = 7.6 Hz); 7.10 (pdt, 1H, H-4', J_{4'-6'} = 1.5 Hz, J_{4'-5'} = 7.5 Hz, J_{4'-3'} = 8.3 Hz); 6.78 (pdt, 1H, H-5', J_{5'-6'} = 7.6 Hz, J_{5'-4'} = 7.5 Hz, J_{5'-3'} = 1.0 Hz); 6.76 (dd, 1H, H-3', J_{3'-4'} = 8.3 Hz, J_{3'-5'} = 1.0 Hz); 6.60 (dd, 1H, H-3, J₃₋₄ = 3.6 Hz, J₃₋₁ = 2.5 Hz); 6.40 (dd, 1H, H-4, J₄₋₃ = 3.6 Hz; J₄₋₁ = 2.7 Hz); 5.83 (d, 1H, -CONH-, J = 8.1 Hz); 3.85 (sa, 2H, -NH₂); 3.88 (m, 1H, H-1_{ciclohex.}); 1.99 - 1.14 (m, 10H, H-2 - H-6_{ciclohex.}).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 160.24 (-CONH-); 143.36 (C-2'); 133.08 (C-5); 128.92 (C-6'); 128.77 (C-4'); 126.36 (C-2); 119.32 (C-5'); 118.62 (C-1'); 116.79 (C-3'); 109.63 (C-3); 108.91 (C-4); 48.23(C-1_{ciclohex.}); 33.45, 25.00 (C-2 - C-6_{ciclohex.}).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₂₁N₃ONa (M + Na)⁺ 306.158232; encontrado 306.158859 (desviación -2.0 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₇H₂₁N₃O).

Teórico (%)	C 72.06 H 7.47 N 14.83
Obtenido (%)	C 72.40 H 6.99 N 14.81

5.4.1.20.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-*N*-bencil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-20).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:1 y después se recristaliza de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 79 mg de un sólido blanco grisáceo. Rendimiento 52%. P.f. 178-180°C.

¹H-RMN (400 MHz, (CD₃)₂CO): δ 11.40 (sa, 1H, H-1); 8.55 (t, 1H, -CONH-, *J* = 5.9 Hz); 7.26 (m, 6H, H-6', H-2 - H-6_{bencilo}); ; 7.27 (pdt, 1H, H-4', *J*_{4'-6'} = 1.4 Hz, *J*_{4'-5'} = 7.5 Hz, *J*_{4'-3'} = 8.0 Hz); 6.89 (d, 1H, H-3, *J*₃₋₄ = 3.5 Hz); 6.82 (d, 1H, H-3', *J*_{3'-4'} = 8.2 Hz); 6.68 (t, 1H, H-5', *J*_{5'-4'} = 7.5 Hz, *J*_{5'-6'} = 7.7 Hz); 6.35 (d, 1H, H-4, *J*₄₋₃ = 3.5 Hz); 5.75 (sa, 2H, -NH₂); 4.38 (d, 2H, -CH₂-, *J* = 6.0 Hz).

¹³C-RMN 100 MHz, (CD₃)₂CO): δ 160.36 (-CONH-); 140.00 (C-2' y C-1_{bencilo}); 132.45 (C-5); 129.06 (C-6'); 128.31 (C-2 y C-6_{bencilo}); 128.00 (C-4'); 127.27 (C-3, C-5_{bencilo}); 126.76 (C-4_{Bn}), 126.56 (C-2); 118.43 (C-5' y C-1'); 116.68 (C-3'); 111.88 (C-3), 108.32 (C-4); 41.98 (-CH₂-).

HR LSIMS: Calculado para C₁₈H₁₇N₃ONa (M + Na)⁺ 314.126932; encontrado 314.127148 (desviación -0.7 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₈H₁₇N₃O).

Teórico (%)	C 74.21	H 5.88	N 14.42
Obtenido (%)	C 73.95	H 5.53	N 14.09

5.4.1.21.- Síntesis de 5-(2'-aminofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-21).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo/hexano. Se obtienen 67 mg de un sólido grisáceo. Rendimiento 64%. P.f. 104-105°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.75 (sa, 1H, H-1); 7.27 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.6$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.2$ Hz); 7.11 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-6'} = 1.3$ Hz, $J_{4'-5'} = 7.5$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.0$ Hz); 6.80 (t, 1H, H-5', $J_{5'-6'} = 7.6$ Hz, $J_{5'-4'} = 7.5$ Hz); 6.74 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.0$ Hz); 6.69 (pt, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.5$ Hz, $J_{3-1} = 2.7$ Hz); 6.43 (pt, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.5$ Hz); 5.80 (sa, 2H, -CONH₂), 4.00 (sa, 2H, -NH₂).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 157.35 (-CONH-) 138.35 (C-2'); 128.79 (C-5); 123.65 (C-6'); 123.54 (C-4'); 119.56 (C-2); 113.84 (C-5'); 112.81 (C-1'); 111.41 (C-3'); 106.42 (C-3); 103.84 (C-4).

HR LSIMS: Calculado para C₁₁H₁₁N₃O_{Na} (M + Na)⁺ 224.079982; encontrado 224.080138 (desviación -0.7 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₁H₁₀N₃O).

Teórico (%)	C 67.66	H 5.91	N 20.20
Obtenido (%)	C 67.53	H 6.33	N 19.17

5.4.1.22.- Síntesis del 5-(2'-aminofenil)-1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (LC-22).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización de acetato de etilo /hexano. Se obtienen 56 mg de un sólido grisáceo. Rendimiento 50 %. P.f. 122-123°C.

¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7.22 (t, 1H, H-4' $J_{4'-5'} = 7.5$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.0$ Hz); 7.10 (d, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 7.1$ Hz); 7.00 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.0$ Hz); 6.92 (d, 1H, H-3, $J_{3-4} = 3.9$ Hz); 6.85 (pt, 1H, H-5', $J_{5'-4'} = 7.5$ Hz, $J_{5'-6'} = 7.1$ Hz); 6.12 (d, 1H, H-4, $J_{4-3} = 3.9$ Hz); 3.61 (s, 1H, -CH₃).

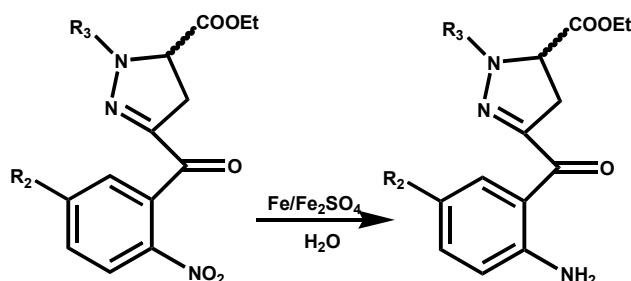
¹³C-RMN (75 MHz, CD₃OD): δ 163.84 (-CONH-); 145.56 (C-2'); 135.40 (C-5); 132.07 (C-6'); 132.15 (C-4'); 126.91 (C-2); 120.01 (C-5'); 118.08 (C-1', C-3'); 113.45 (C-3); 108.82 (C-4); 33.92 (-CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₂H₁₃N₃O_{Na} (M + Na)⁺ 238.095632; encontrado 238.096092 (desviación -1.9 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₂H₁₃N₃O).

Teórico (%)	C 66.96	H 6.09	N 19.52
Obtenido (%)	C 66.62	H 5.99	N 19.22

5.4.2. - Síntesis de compuestos con estructura pirazólica.



5.4.2.1.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-etil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-23).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:8. Se obtienen 119 mg de un sirupo naranja. Rendimiento 71 %.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.06 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 3.0$ Hz); 6.93 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.9$ Hz, $J_{4'-6'} = 3.0$ Hz); 6.61 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.9$ Hz); 5.72 (sa, 2H, -NH₂); 4.25 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz) 4.17 (pt, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 12.2$ Hz, $J_{5-4b} = 12.0$ Hz); 3.75 (s, 3H, -OCH₃); 3.40 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₃); 1.30 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.30 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 187.17 (Ph-CO); 170.65 (-COOCH₂CH₃); 150.15 (C-5'); 147.22 (C-3); 145.34 (C-2'); 123.11 (C-4'); 118.22 (C-3'); 118.12 (C-1'); 115.81 (C-6'); 65.59 (C-5); 61.74 (-COOCH₂CH₃); 56.80 (-OCH₃); 46.73 (-CH₂CH₃); 36.90 (C-4); 14.24 (-COOCH₂CH₃); 12.82 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₆H₂₂N₃O₄ (M + H)⁺ 320.161031; encontrado 320.160342 (desviación 2.2 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₆H₂₁N₃O₄).

Teórico (%)	C 60.48	H 6.63	N 13.16
Obtenido (%)	C 60.02	H 7.01	N 12.82

5.4.2.2.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-butil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-24).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3. Se obtienen 165 mg de un sólido naranja. Rendimiento. 91 %. P.f. 64-66°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.05 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.9$ Hz); 6.92 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.9$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.9$ Hz); 6.60 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.9$ Hz); 5.60 (sa, 2H, -NH₂); 4.25 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz) 4.20 (pt, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 12.3$ Hz, $J_{5-4b} = 11.6$ Hz); 3.74 (s, 3H, -OCH₃); 3.38 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.70 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.40 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.30 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 0.92 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 187.14 (Ph-CO); 170.62 (-COOCH₂CH₃); 150.17 (C-5'); 146.64 (C-3); 145.22 (C-2'); 123.08 (C-4'); 118.26 (C-3', C-1'); 115.75 (C-6'); 65.96 (C-5); 61.73 (-COOCH₂CH₃); 55.76 (-OCH₃); 52.83 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 36.79 (C-4); 29.92 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 20.19 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.25 (-COOCH₂CH₃); 13.87 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para $C_{16}H_{25}N_3O_4Na$ ($M + Na$)⁺ 370.174276; encontrado 370.174310 (desviación -0.1 ppm).

Análisis Elemental: ($C_{16}H_{25}N_3O_4$).

Teórico (%)	C 62.23	H 7.25	N 12.10
Obtenido (%)	C 62.54	H 7.37	N 11.89

5.4.2.3.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-bencil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-25).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3. Se obtienen 150 mg de un sirupo naranja. Rendimiento 75 %.

¹H-RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 8.06 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 3.0$ Hz); 7.31 (m, 5H, H-2 - H-6_{bencilo}); 6.93 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.9$ Hz, $J_{4'-6'} = 3.0$ Hz); 6.60 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.9$ Hz); 4.78 (d, Ha_{CH₂}, $J = 14.4$ Hz); 4.50 (d, Hb_{CH₂}, $J = 14.4$ Hz); 4.19 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz); 4.08 (pt, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 12.3$ Hz, $J_{5-4b} = 11.5$ Hz); 3.64 (s, 3H, -OCH₃); 3.43 (dd, 1H, H-4a, $J_{4a-4b} = 17.4$ Hz, $J_{4a-5} = 12.3$ Hz); 3.31 (dd, H-4b, $J_{4b-4a} = 17.4$ Hz, $J_{4b-5} = 11.5$ Hz); 1.28 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ 187.15 (Ph-CO); 170.37 (-COOCH₂CH₃); 150.23 (C-5'); 147.73 (C-3); 145.37 (C-2'); 135.850 (C-1_{bencilo}); 129.11 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.11 (C-3, C-5_{bencilo}); 127.95 (C-4_{bencilo}); 123.23 (C-4'); 118.43 (C-3'); 118.07 (C-1'); 115.87 (C-6'); 64.49 (C-5); 61.74 (-COOCH₂CH₃); 57.07 (-CH₂-); 55.79 (-OCH₃); 36.87 (C-4); 14.21 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para $C_{21}H_{23}N_3O_4Na$ ($M + Na$)⁺ 404.158626; encontrado 404.159030 (desviación -1.0 ppm).

Análisis Elemental: (C₂₁H₂₃N₃O₄).

Teórico (%)	C 66.13	H 6.08	N 11.02
Obtenido (%)	C 66.43	H 6.41	N 11.23

5.4.2.4.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-26).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización con CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 118 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 76 %. P.f. 122-124°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.41 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.3$ Hz); 7.17 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.8$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.3$ Hz); 6.90 (s, 1H, H-1); 6.58 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.8$ Hz); 6.05 (sa, 2H, -NH₂); 4.42 (dd, 1H, H-5, $J_{5-4b} = 12.4$ Hz, $J_{5-4a} = 5.4$ Hz); 4.22 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.44 (dd, 1H, H-4a, $J_{4a-5} = 5.4$ Hz, $J_{4b-4a} = 17.6$ Hz); 3.29 (dd, 1H, H-4b, $J_{4b-5} = 12.4$ Hz, $J_{4b-4a} = 17.6$ Hz); 1.27 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 187.25 (Ph-CO); 171.86 (-COOCH₂CH₃); 150.70 (C-3); 149.30 (C-2'); 134.16 (C-4'); 132.90 (C-6'); 120.42 (C-5', C-1'); 118.21 (C-3'); 62.15 (-COOCH₂CH₃); 60.52 (C-5); 35.44 (C-4); 14.19 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₄N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 318.062139; encontrado 318.061852 (desviación 0.9 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₃H₁₄N₃O₃Cl).

Teórico (%)	C 52.80	H 4.77	N 14.21
Obtenido (%)	C 52.45	H 4.46	N 13.90

5.4.2.5.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-etil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-27).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:5. Se obtienen 101 mg de un sirupo amarillo. Rendimiento 60 %.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.41 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.5$ Hz); 7.16 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.8$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.5$ Hz); 6.58 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.8$ Hz); 5.96 (sa, 2H, -NH₂); 4.25 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz) 4.22 (pt, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 12.8$ Hz, $J_{5-4b} = 11.2$ Hz); 3.75 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₃); 1.31 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.29 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.69 (Ph-CO); 170.49 (-COOCH₂CH₃); 148.91 (C-3); 146.11 (C-2'); 133.53 (C-4'); 133.00 (C-6'); 120.36 (C-5'); 118.86 (C-3'); 118.13 (C-1'); 65.39 (C-5); 61.82 (-COOCH₂CH₃); 47.57 (-CH₂CH₃); 36.55 (C-4); 14.24 (-COOCH₂CH₃); 12.79 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₈N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 346.093439; encontrado 346.093268 (desviación 0.5 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₅H₁₈N₃O₃Cl).

Teórico (%)	C 55.64	H 5.60	N 12.98
Obtenido (%)	C 55.90	H 5.62	N 13.33

5.4.2.6.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-butil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-28).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente

acetato de etilo/hexano 1:10. Se obtienen 99 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 54 %. P.f. 90-92°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.40 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.6$ Hz); 7.16 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.8$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.6$ Hz); 6.58 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.8$ Hz); 5.93 (sa, 2H, -NH₂); 4.25 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 4.23 (pt, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 12.8$ Hz, $J_{5-4b} = 11.0$ Hz); 3.39 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.70 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.42 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.31 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 0.96 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 186.63 (Ph-CO); 170.48 (-COOCH₂CH₃); 148.82 (C-3); 145.44 (C-2'); 133.42 (C-4'); 133.01 (C-6'); 120.37 (C-5'); 118.98 (C-1'); 118.11 (C-3'); 65.76 (C-5); 61.81 (-COOCH₂CH₃); 52.50 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 36.42 (C-4); 29.86 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 20.19 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.24 (-COOCH₂CH₃); 13.85 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₂₂N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 374.124739; encontrado 374.124996 (desviación -0.7 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₇H₂₂N₃O₃Cl).

Teórico (%)	C 58.04	H 6.30	N 11.94
Obtenido (%)	C 58.32	H 6.35	N 11.53

5.4.2.7.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-bencil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-29).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:9. Se obtienen 137 mg de un sirupo amarillo. Rendimiento 68 %.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.39 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.5$ Hz); 7.35 (m, 5H, H-2 - H-6_{bencilo}); 7.19 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.8$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.5$ Hz); 6.59 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.8$ Hz); 5.95 (sa, 2H, -NH₂); 4.85 (d, Ha_{CH₂}, $J = 14.5$ Hz); 4.53 (d, Hb_{CH₂}, $J = 14.5$ Hz); 4.21 (c,

2H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz); 4.08 (t, 1H, H-5, $J_{5-4} = 12.5$ Hz); 3.30 (d, 1H, H-4, $J_{4-5} = 12.5$ Hz); 1.29 (t, 3H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 187.03 (Ph-CO); 170.15 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 148.93 (C-3); 146.81 (C-2'); 135.19 (C-1_{bencilo}); 133.70 (C-4'); 133.02 (C-6'); 129.47 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.81 (C-3, C-5_{bencilo}); 128.14 (C-4_{bencilo}); 120.42 (C-5'); 118.74 (C-1'); 118.15 (C-3'); 64.11 (C-5); 61.82 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 56.87 ($-\text{CH}_2-$); 36.39 (C-4); 14.21 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$).

HR LSIMS: Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3\text{Cl}$ (M + Na)⁺ 408.109089; encontrado 408.108772 (desviación 0.8 ppm).

Análisis Elemental: ($\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3\text{Cl}$).

Teórico (%)	C 62.26	H 5.22	N 10.89
Obtenido (%)	C 62.02	H 5.41	N 11.12

5.4.2.8.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-etil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-30).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:13. Se obtienen 127 mg de un sirupo naranja. Rendimiento 84 %.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 8.35 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 1.6$ Hz, $J_{6'-5'} = 8.2$ Hz); 7.23 (ddd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.4$ Hz, $J_{4'-5'} = 7.2$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.6$ Hz); 6.64 (m, 2H, H-3', H-5'); 5.95 (sa, 2H, $-\text{NH}_2$); 4.25 (c, 2H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz); 4.18 (dd, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 12.5$ Hz, $J_{5-4b} = 11.5$ Hz); 3.41 (m, 4H, H-4, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.31 (t, 3H, $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz); 1.27 (t, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.3$ Hz).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 188.13 (Ph-CO); 170.78 ($-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 150.51 (C-2'); 146.93 (C-3); 133.90, 133.84 (C-4', C-6'); 118.35 (C-1'); 116.87 (C-5'); 115.93 (C-3');

65.39 (C-5); 61.78 (-COOCH₂CH₃); 47.72 (-CH₂CH₃); 36.91 (C-4); 14.28 (-COOCH₂CH₃); 12.77 (-CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₉N₃O₃Na (M + Na)⁺ 312.132411; encontrado 312.131762 (desviación 2.1 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₅H₁₉N₃O₃).

Teórico (%)	C 62.27	H 6.62	N 14.52
Obtenido (%)	C 62.02	H 6.41	N 14.52

5.4.2.9.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-butil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-31).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:5. Se obtienen 88 mg de un sirupo amarillo. Rendimiento 53 %.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.34 (dd, 1H, H-6', J_{6'-5'}= 8.4 Hz, J_{6'-4'}= 1.6 Hz); 7.22 (pdt, 1H, H-4', J_{4'-3'}=8.4 Hz, J_{4'-5'}= 7.3 Hz, J_{4'-6'}= 1.6 Hz); 6.64 (m, 2H, H-3', H-5'); 5.94 (sa, 2H, -NH₂); 4.21 (m, 3H, -COOCH₂CH₃, H-5); 3.37 (m, 4H, H-4, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.66 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.40 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.30 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 0.93 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, J = 7.3 Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 188.06 (Ph-CO); 170.69 (-COOCH₂CH₃); 150.44 (C-2'); 146.26 (C-3); 133.85, 133.68 (C-4', C-6'); 118.48 (C-1'); 116.83 (C-5'); 115.88 (C-3'); 65.79 (C-5); 61.70 (-COOCH₂CH₃); 52.78 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 36.80 (C-4); 29.81 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 20.19 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.24 (-COOCH₂CH₃); 13.86 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₂₃N₃O₃Na (M + H)⁺ 318.181767; encontrado 318.181425 (desviación 1.1 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₇H₂₃N₃O₃).

Teórico (%)	C 64.33	H 7.30	N 13.24
Obtenido (%)	C 64.15	H 7.62	N 13.62

5.4.2.10.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoi)-1-bencil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-32).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:9. Se obtienen 116 mg de un sirupo amarillo. Rendimiento 63 %.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.40 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 8.1$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.5$ Hz); 7.30 (m, 6H, H-2 – H-6_{bencilo}, H-4'); 6.67 (m, 2H, H-3', H-5'); 4.82 (d, Ha_{CH₂}, $J = 14.4$ Hz); 4.57 (d, Hb_{CH₂}, $J = 14.4$ Hz); 4.17 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 4.05 (pt, 1H, H-5, $J_{5-4a} = 12.3$ Hz, $J_{5-4b} = 12.2$ Hz); 3.38 (dd, 1H, H-4a, $J_{4a-4b} = 17.3$ Hz, $J_{4a-5} = 12.3$ Hz); 3.29 (dd, H-4b, $J_{4b-4a} = 17.3$ Hz, $J_{4b-5} = 12.2$ Hz); 1.27 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz).

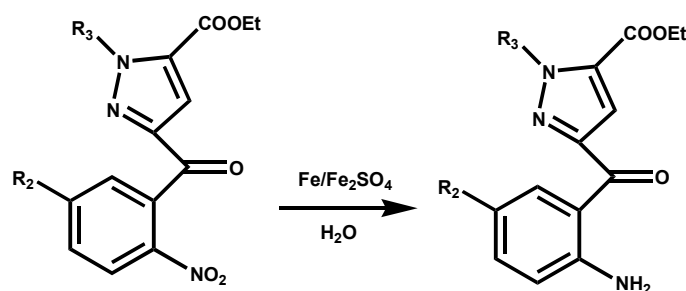
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 188.19 (Ph-CO); 170.42 (-COOCH₂CH₃); 150.58 (C-2'); 147.25 (C-3); 135.53 (C-1_{bencilo}); 133.93 (C-4', C-6'); 129.31 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.68 (C-3, C-5_{bencilo}); 128.04 (C-4_{bencilo}); 118.29 (C-1'); 116.90 (C-5'); 115.90 (C-3'); 64.11 (C-5); 61.71 (-COOCH₂CH₃); 56.97 (-CH₂-); 36.87 (C-4); 14.21 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₀H₂₁N₃O₃Na (M + Na)⁺ 374.148061; encontrado 374.148545 (desviación -1.3 ppm).

Análisis Elemental: (C₂₀H₂₁N₃O₃).

Teórico (%)	C 68.36	H 6.02	N 11.69
Obtenido (%)	C 68.92	H 6.38	N 11.67

5.4.3.- Síntesis de compuestos con estructura pirazólica.



5.4.3.1.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-etil-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-33).

Se sigue procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1. El crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:2. Se obtienen 125 mg de un sólido naranja. Rendimiento 75 %. P.f. 78-80°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.97 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.9$ Hz); 7.40 (s, 1H, H-4); 6.99 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.9$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.9$ Hz); 6.66 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.9$ Hz); 5.90 (sa, 2H, -NH₂); 4.69 (c, 2H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz) 4.36 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.76 (s, 1H, -OCH₃); 1.50 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz); 1.38 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 188.10 (Ph-CO); 159.48 (-COOCH₂CH₃); 150.26, 150.07 (C-3, C-5'); 146.20 (C-2'); 132.77 (C-5); 123.70 (C-4'); 118.33 (C-3'); 117.84 (C-1'); 116.52 (C-6'); 114.53 (C-4); 61.39 (-COOCH₂CH₃); 55.88 (-OCH₃); 48.87 (-CH₂CH₃); 15.70 (-CH₂CH₃); 14.24 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₆H₁₉N₃O₄Na (M + Na)⁺ 340.127326; encontrado 340.127195 (desviación 0.4 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₆H₁₉N₃O₄).

Teórico (%)	C 60.56	H 6.03	N 13.24
Obtenido (%)	C 60.71	H 6.25	N 13.12

5.4.3.2.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-butil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-34).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3. Se obtienen 148 mg de un sólido naranja. Rendimiento 82%. P.f. 82-84°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.97 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 3.0$ Hz); 7.40 (s, 1H, H-4); 6.99 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.9$ Hz, $J_{4'-6'} = 3.0$ Hz); 6.66 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.9$ Hz); 5.91 (sa, 2H, -NH₂); 4.64 (t, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz); 4.36 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.76 (s, 1H, -OCH₃); 1.88 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.38 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.36 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.94 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 188.11 (Ph-CO); 159.52 (-COOCH₂CH₃); 150.21, 150.09 (C-3, C-5'); 146.23 (C-2'); 133.04 (C-5); 123.78 (C-4'); 118.33 (C-3'); 117.85 (C-1'); 116.47 (C-6'); 114.50 (C-4); 61.36 (-COOCH₂CH₃); 55.87 (-OCH₃); 52.39 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 32.65 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.87 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.26 (-COOCH₂CH₃); 13.71 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₈H₂₃N₃O₄Na (M + Na)⁺ 368.158626; encontrado 368.158716 (desviación -0.2 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₈H₂₃N₃O₄).

Teórico (%)	C 62.59	H 6.71	N 12.17
Obtenido (%)	C 62.34	H 6.65	N 12.20

5.4.3.3.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-metoxibenzoil)-1-bencil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-35).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3. Se obtienen 150 mg de un sólido naranja. Rendimiento 75 %. P.f. 116-118°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.95 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 3.0$ Hz); 7.44 (s, 1H, H-4); 7.28 (m, 5H, H-2 - H-6_{bencilo}); 6.98 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 9.0$ Hz, $J_{4'-6'} = 3.0$ Hz); 6.65 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 9.0$ Hz); 5.84 (s, 2H, -CH₂-); 4.34 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 3.62 (s, 1H, -OCH₃); 1.35 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 187.93 (Ph-CO); 159.47 (-COOCH₂CH₃); 150.85, 150.08 (C-3, C-5'); 146.34 (C-2'); 136.58 (C-1_{bencilo}); 133.28 (C-5); 128.70 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.05 (C-4_{bencilo}); 127.89 (C-3, C-5_{bencilo}); 124.13 (C-4'); 118.39 (C-3'); 117.60 (C-1'); 116.14 (C-6'); 114.75 (C-4); 61.50 (-COOCH₂CH₃); 55.76 (-OCH₃); 55.58 (-CH₂-); 14.22 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₁H₂₁N₃O₄Na (M + Na)⁺ 402.142976; encontrado 402.142368 (desviación 1.5 ppm).

Análisis Elemental: (C₂₀H₁₉N₃O₄).

Teórico (%)	C 66.48	H 5.58	N 11.08
Obtenido (%)	C 66.86	H 5.95	N 10.63

5.4.3.4.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-36).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante recristalización con CH₂Cl₂/hexano. Se obtienen 120 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 78 %. P.f. 136-138°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 11.62 (sa, 1H, H-1); 8.11 (ps, 1H, H-6'); 7.33 (s, 1H, H-4); 7.26 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.9$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.5$ Hz); 6.67 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.9$ Hz); 6.17 (sa, 2H, -NH₂); 4.44 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.41 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 185.70 (Ph-CO); 160.46 (-COOCH₂CH₃); 149.80 (C-3, C-2'); 135.03 (C-4'); 132.13 (C-6'); 120.67 (C-5', C-5); 118.66 (C-3'); 117.90 (C-1'); 111.78 (C-4); 61.81 (-COOCH₂CH₃); 14.34 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₂N₃O₃ClNa (M + Na)⁺; 316.046489 encontrado 316.046979 (desviación -1.6 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₃H₁₃N₃O₃Cl).

Teórico (%)	C 53.16	H 4.12	N 14.31
Obtenido (%)	C 52.85	H 4.11	N 14.57

5.4.3.5.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-metil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-37).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:7. Se obtienen 126 mg de un sólido naranja rojizo. Rendimiento 78 %. P.f. 112-114°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.36 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.5$ Hz); 7.37 (s, 1H, H-4); 7.22 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.9$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.5$ Hz); 6.64 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.9$ Hz); 6.20 (sa, 2H, -NH₂); 4.36 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 4.28 (s, 3H, -CH₃); 1.38 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 187.50 (Ph-CO); 159.52 (-COOCH₂CH₃); 149.85, 149.63 (C-3, C-2'); 134.43 (C-4'); 133.71 (C-5); 133.32 (C-6'); 120.29 (C-5'); 118.43 (C-1'); 118.36 (C-3'); 114.28 (C-4); 61.49 (-COOCH₂CH₃); 40.49 (-CH₃); 14.27 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₄N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 330.062139; encontrado 330.062393 (desviación -0.8 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₄H₁₄N₃O₃Cl).

Teórico (%)	C 54.64	H 4.59	N 13.65
Obtenido (%)	C 55.52	H 4.65	N 13.89

5.4.3.6.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-etil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-38).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:3. Se obtienen 123 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 80 %. P.f. 111-113°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.38 (d, 1H, H-6', J_{6'-4'} = 2.4 Hz); 7.37 (s, 1H, H-4); 7.23 (dd, 1H, H-4', J_{4'-3'} = 8.9 Hz, J_{4'-6'} = 2.4 Hz); 6.64 (d, 1H, H-3', J_{3'-4'} = 8.9 Hz); 6.19 (sa, 2H, -NH₂); 4.69 (c, 2H, -CH₂CH₃, J = 7.2 Hz) 4.37 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 1.51 (t, 3H, -CH₂CH₃, J = 7.2 Hz); 1.38 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 187.65 (Ph-CO); 159.36 (-COOCH₂CH₃); 149.87, 149.69 (C-3, C-2'); 134.38 (C-4'); 133.52 (C-6'); 132.91 (C-5); 120.27 (C-5'); 118.48 (C-1'); 118.33 (C-3'); 114.46 (C-4); 61.44 (-COOCH₂CH₃); 47.99 (-CH₂CH₃); 15.71 (-CH₂CH₃); 14.26 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₆N₃O₃Cl (M)⁺ 321.088019; encontrado 321.087660 (desviación 1.1 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₅H₁₆N₃O₃Cl).

Teórico (%)	C 55.99	H 5.01	N 13.06
Obtenido (%)	C 55.87	H 5.05	N 12.89

5.4.3.7.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-butil-1H-pirazol -5-carboxilato de etilo (LC-39).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:5. Se obtienen 141 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 77 %. P.f. 87-88°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.38 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.5$ Hz); 7.38 (s, 1H, H-4); 7.23 (dd, 1H, H-4', $J_{4'-3'} = 8.9$ Hz, $J_{4'-6'} = 2.5$ Hz); 6.64 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.9$ Hz); 6.19 (sa, 2H, -NH₂); 4.65 (t, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz) 4.37 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.89 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.40 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.38 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 0.97 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 187.76 (Ph-CO); 159.43 (-COOCH₂CH₃); 149.88, 149.55 (C-3, C-2'); 134.43 (C-4'); 133.61 (C-6'); 133.18 (C-5); 120.28 (C-5'); 118.45 (C-1'); 118.35 (C-3'); 114.43 (C-4); 61.47 (-COOCH₂CH₃); 52.47 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 32.60 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.84 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.30 (-COOCH₂CH₃); 13.73 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₂₀N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 372.109089; encontrado 372.109064 (desviación 0.1 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₇H₂₀N₃O₃Cl).

Teórico (%)	C 58.37	H 5.76	N 13.72
Obtenido (%)	C 58.01	H 5.59	N 13.69

5.4.3.8.- Síntesis de 3-(2'-amino-5'-clorobenzoil)-1-bencil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-40).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:2. Se obtienen 108 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 54%. P.f. 135-136°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.42 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 2.4$ Hz); 7.35 (m, 6H, H-2 - H-6_{bencilo}, H-4); 7.24 (dd, 1H, H-4' $J_{4'-6'} = 2.4$ Hz, $J_{4'-3'} = 8.8$ Hz); 6.65 (d, 1H, H-3', $J_{3'-4'} = 8.8$ Hz); 6.20 (sa, 2H, -NH₂); 5.85 (s, 2H, -CH₂-); 4.34 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.35 (t, 3H, -COOCH₂CH₃ $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 187.63 (Ph-CO); 159.38 (-COOCH₂CH₃); 150.07, 149.92 (C-3, C-2'); 136.30 (C-1_{bencilo}); 134.49 (C-4'); 133.75 (C-6'); 133.26 (C-5); 128.82 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.26 (C-3, C-5_{bencilo}); 128.23 (C-4_{bencilo}); 120.30 (C-5'); 118.84 (C-3', C-1'); 114.65 (C-4); 61.56 (-COOCH₂CH₃); 55.71 (-CH₂-); 14.25 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₀H₁₈N₃O₃ClNa (M + Na)⁺ 406.093439; encontrado 406.093354 (desviación 0.2 ppm).

Análisis Elemental: (C₂₀H₁₈N₃O₃Cl).

Teórico (%)	C 62.58	H 4.73	N 10.95
Obtenido (%)	C 62.43	H 4.51	N 10.97

5.4.3.9.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-etil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-41).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:6. Se obtienen 105 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 70%. P.f. 60.62°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.27 (d, 1H, H-6', $J_{6'-4'} = 1.6$ Hz, $J_{6'-5'} = 8.6$ Hz); 7.35 (s, 1H, H-4); 7.28 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-5'} = 7.6$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.6$ Hz); 6.68 (m, 2H, H-3', H-5'); 6.17 (sa, 2H, -NH₂); 4.68 (c, 2H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz); 4.36 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.49 (t, 3H, -CH₂CH₃, $J = 7.2$ Hz); 1.38 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 188.89 (Ph-CO); 159.46 (-COOCH₂CH₃); 151.36, 150.09 (C-3, C-2'); 134.45, 134.38 (C-4', C-6'); 132.61 (C-5); 118.10 (C-1'); 116.97 (C-5'); 115.86 (C-3'); 114.42 (C-4); 61.35 (-COOCH₂CH₃); 47.90 (-CH₂CH₃); 15.79 (-CH₂CH₃); 14.26 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₇N₃O₃Na (M + Na)⁺ 310.116761; encontrado 310.116563 (desviación 0.6 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₅H₁₇N₃O₃).

Teórico (%)	C 62.71	H 5.96	N 14.63
Obtenido (%)	C 62.47	H 5.69	N 14.71

5.4.3.10.- Síntesis de 3-(2-aminobenzoil)-1-butil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-42).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:6. Se obtienen 94 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 57 %. P.f. 63-64°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.27 (dd, 1H, H-6', $J_{6'-5'} = 8.6$ Hz, $J_{6'-4'} = 1.4$ Hz); 7.35 (s, 1H, H-4); 7.29 (pdt, 1H, H-4', $J_{4'-5'} = 7.3$ Hz, $J_{4'-6'} = 1.4$ Hz); 6.68 (m, 2H, H-3', H-5'); 6.18 (sa, 2H, -NH₂); 4.64 (t, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz); 4.36 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 1.87 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.37 (m, 2H, -CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.37 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz); 0.95 (t, 3H, -CH₂CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 188.89 (Ph-CO); 159.51 (-COOCH₂CH₃); 151.36, 149.99 (C-3, C-2'); 134.43 (C-4', C-6'); 132.89 (C-5); 118.00 (C-1'); 116.97 (C-5'); 115.84 (C-3'); 114.36 (C-4); 61.34 (-COOCH₂CH₃); 52.40 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 32.67 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 19.83 (-CH₂CH₂CH₂CH₃); 14.27 (-COOCH₂CH₃); 13.69 (-CH₂CH₂CH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₇H₂₁N₃O₃Na (M + Na)⁺ 338.148061; encontrado 338.147920 (desviación 0.4 ppm).

Análisis Elemental: (C₁₇H₂₁N₃O₃).

Teórico (%)	C 64.75	H 6.71	N 13.32
Obtenido (%)	C 64.59	H 7.03	N 13.16

5.4.3.11.- Síntesis de 3-(2'-aminobenzoil)-1-bencil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (LC-43).

Se sigue el procedimiento general descrito en el apartado 5.4.1 y el crudo resultante se purifica mediante cromatografía flash de gel de sílice, usando como eluyente acetato de etilo/hexano 1:9. Se obtienen 82 mg de un sólido amarillo. Rendimiento 45 %. P.f. 116-118°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.32 (dd, 1H, H-6', J_{6'-4'} = 1.5 Hz, J_{6'-5'} = 8.1 Hz); 7.40 (s, 1H, H-4); 7.29 (m, 6H, H-4', H-2 - H-6_{bencilo}); 6.69 (m, 2H, H-3', H-5'); 5.84 (sa, 2H, -CH₂-); 4.32 (c, 2H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 1.33 (t, 3H, -COOCH₂CH₃, J = 7.1 Hz).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 188.79 (Ph-CO); 159.40 (-COOCH₂CH₃); 151.42, 150.53 (C-3, C-2'); 136.56 (C-1_{bencilo}, C-5); 134.57, 134.53 (C-4', C-6'); 128.69 (C-2, C-6_{bencilo}); 128.02 (C-4_{bencilo}); 127.82 (C-3, C-5_{bencilo}); 118.02 (C-1'); 117.00 (C-5'); 115.89 (C-3'); 114.74 (C-4); 61.46 (-COOCH₂CH₃); 55.72 (-CH₂-); 14.23 (-COOCH₂CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₂₀H₁₉N₃O₃Na (M + Na)⁺ 372.132411; encontrado 372.131500 (desviación 2.5 ppm).

Análisis Elemental: (C₂₀H₁₉N₃O₃).

Teórico (%)	C 68.75	H 5.48	N 13.74
Obtenido (%)	C 68.35	H 5.86	N 13.71

5.5.- Ensayos biológicos de los compuestos sintetizados. Material y métodos.

5.5.1.- Ensayos de inhibición de la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS).

Todos los compuestos finales sintetizados (**LC-1 – LC-43**) descritos en la sección anterior han sido analizados en su capacidad de inhibir a la enzima nNOS.

La medida de la actividad nNOS se ha realizado de la siguiente forma:

Se utilizaron ratas Wistar macho (200-250 gr), mantenidas a un ciclo luz/oscuridad de 12/12 horas, con libre acceso a comida y agua, y a una temperatura constante de 22 ± 2°C. Los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y, rápidamente, se extrajo el cerebro y se hizo homogeneizado del mismo, que se colocó en tampón de homogeneización en una proporción de 1:15 (1g de tejido por cada 15ml de homogeneización) (25 mM Tris-HCL, 0.5 mM Ditiotreititol, 10 µg/ml leupeptina, 10 µg/ml pepstatina, 10 µg/ml aprotinina, 1mM fluoruro de metilfenilsulfonilo; pH 7.6) frío (4°C). Seguidamente, y de la forma más rápida posible, la mezcla se homogeneizó y después se centrifugó durante 5 minutos a 1000 g, entre 0 y 4°C. El sobrenadante se separó en alícuotas, que seguidamente se congelaron a -80°C; éstas se emplearon para medir la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa (nNOS) y posteriormente para la determinación de proteínas totales.

En nuestro caso, la actividad nNOS se midió monitorizando la conversión de L-[³H]-arginina en L-[³H]-citrulina, según el método descrito por Bredt y sus colaboradores¹⁶⁸. Para ello, se incubaron 10 µl del homogeneizado anterior en un volumen total de 100 µl de tampón Tris-HCL 25 mM a pH 7.6, conteniendo ditiotreititol 1mM, BH₄ 30

μM , FAD 10 μM , inosina 0.5 mM, albúmina sérica bovina 1mg/ml, CaCl_2 1 mM, L-arginina 10 μM y L-[^3H]-arginina 40nM (concentraciones finales en stock de 100 μl).

Para los estudios de inhibición, se añadieron 10 μl de disolución del derivado a estudiar para obtener una concentración 1mM en el volumen final de incubación de 100 μl .

Las muestras se incubaron a 37°C durante 30 minutos, empezados a contar desde la adición de NADPH 0.75 mM (concentración final del stock de 100 μl). Como controles de la reacción se utilizaron muestras sin NADPH, tratadas bajo las mismas condiciones que las muestras normales. Una vez pasados los 30 minutos, se detuvo la reacción, tanto en controles como en muestras con NADPH, añadiendo 400 μl de tampón consistente en ácido hidroxietil-1-piperazin-etanosulfónico (HEPES) 0.1 M a pH 5.5, conteniendo ácido etilenglicol-bis-(β -aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetracético (EGTA) 10 mM y L-citrulina 0.175 mg/ml.

De los 500 μl resultantes, 400 μl se pasaron por una columna con resina de intercambio iónico Dowex-50 W, en forma sódica, encargada de separar la L-[^3H]-arginina que no ha reaccionado de la L-[^3H]-citrulina formada y, posteriormente eluidos con 1.2 ml de agua. La retención de L-[^3H]-arginina fue mayor del 98% en todos los casos.

La L-[^3H]-citrulina formada se cuantificó en un contador β , mezclando 600 μl del eluido final con 4ml de líquido de centelleo. La actividad enzimática se expresó en picomoles de L-[^3H]-citrulina formada por miligramos de proteínas y por minuto, y se determinó restando del valor control, que generalmente fue menor del 1% de la radiactividad total añadida, de las muestras con NADPH. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

5.5.2.- Ensayos de inhibición de la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS).

Todos los compuestos finales sintetizados (**LC-1 – LC-43**) descritos en la sección anterior, han sido analizados en su capacidad de inhibir a la enzima iNOS.

La medida de la actividad iNOS se ha realizado de la siguiente forma:

Se utilizaron ratas Wistar macho (200-250 gr), mantenidas a un ciclo luz/oscuridad de 12/12 horas, con libre acceso a comida y agua, y a una temperatura constante de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

La inducción del enzima se realiza mediante canulación yugular y la consiguiente introducción de Lipopolisacárido (LPS) 20mg/Kg. Transcurridas 8 horas, se sacrifica el animal, se le extraen ambos pulmones y se homogeneiza en tampón de homogeneización (25 mM Tris-HCL, 0.5 mM Ditiotretitol, 10 $\mu\text{g/ml}$ leupeptina, 10 $\mu\text{g/ml}$ pepstatina, 10 $\mu\text{g/ml}$ aprotinina, 1mM fluoruro de metilfenilsulfonilo; pH 7.6) frío (4°C) en proporción 1 mg tejido/15 ml tampón.

Una vez obtenido el homogeneizado del tejido, se incuba en presencia de EDTA 10 mM para eliminar la actividad nNOS que exista. El resto del proceso seguido para la medida de la actividad iNOS es igual al descrito para la medida de la actividad nNOS en el apartado anterior.

5.6.- Bibliografía de Parte Experimental.

1. Evans, D. A., Ellman, J. A.; Dorow, R. L.; Asymmetric Halogenation of Chiral Imide Enolates A General Approach to the Synthesis of Enantiomerically Pure α -Amino Acids. *Tetrahedron Letters*, **1987**, 28, 1123-1126.
2. Shen, W.; Coburn, Fürstner, A.; Jumbam, D.; Scidel, G. Syntheses of zindoxifene and analogues by Titanium-Induced Oxo-amide coupling. *Chem. Ber.*, **1994**, 127, 1125-1130.
3. Fürstner, A.; Jumbam, D.; Scidel, G. Syntheses of zindoxifene and analogues by Titanium-Induced Oxo-amide coupling. *Chem. Ber.*, **1994**, 127, 1125-1130.

4. Velasco, G. Kinurenaminas y productos relacionados activos en el Sistema Nervioso Central. *Tesis Doctoral*. Universidad de Granada. **2002**.
5. Carrión, M.D. Síntesis y evaluación biológica frente a óxido nítrico sintasa de nuevos derivados kinuneramínicos y pirazolínicos. *Tesis Doctoral*. Universidad de Granada. **2003**.
6. Marino, J. P.; McClure, M. S.; Holub, D. P.; Comasseto, J. V.; Tucci, F. C.; Stereocontrolled Synthesis of (-)-Macrolactin A. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 1664-1668.
7. Boukou-Poba, J. P.; Farnier, M.; Guillard, R. A General Method for the Synthesis of 2-Arylpyrroles. *Tetrahedron Letters*, **1979**, 19, 1717-1720.
8. Molina, P.; Aller, E.; Lorenzo, M. A. An Efficient, High-yield, One Pot Preparation of Pyrrolo[2,3-b]pyridines by a Consecutive Aza Wittig Reaction-electrocyclic Ring closure-intramolecular amination process *Synthesis*, **1993**, 12, 1239-1242.
9. Molina, P.; Alajarin, M.; Vidal, A. Domino Reactions. One-Pot Preparation of fluoreno[2,3,4-*ij*]isoquinoline. Derivatives from Conjugated Ketene Imines. *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 4008-4016.
10. Molina, P.; Alajarin, M.; Vidal, A. Synthesis of Isoquinoline Derivatives by a tandem Aza-Wittig/Electrocyclization Strategy and Preparation of the Unknown 1,9-Diazaphenalene Ring by Consecutive Electrocyclic Ring Closure/Claisen Rearrangement/Intramolecular Amination Process. *J. Org. Chem.*, **1990**, 56-6140-6147.
11. Alves, M. J.; Gilchrist, T. L.; Sousa, J. H. Reactions of Methyl 2-Aryl-2*H*-Azirine-3-carboxilates with Nucleophiles. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 1305- 1310.

12. Hickey, D. M. B.; Moody, C. J.; Rees, C. W. Vinyl Azides in Heterocyclic Synthesis. Part 2. Selectivity in the Decomposition of Azidocinnamates with Olefinic *ortho*-Substituents. *J. Chem. Soc. Perkins Trans I*, **1986**, 1113-1117.
13. Alves, M. J.; Gilchrist, T. L. Methyl 2-Aryl-2*H*-Azirine-3-Carboxylates as Dienophiles. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 299-303.
14. Hickey, D. M. B.; Moody, C. J.; Rees, C. W. Formation of Indoles, Isoquinolines, and Other Fused Pyridines from Azidoacrylates. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1984**, 2189-2196.
15. McKennis, H. Jr.; Turnbull, L. B.; Bowman, E. R.; Tamaki, E. The Synthesis of Hydroxicotinine and Studies on Its Structure. *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 383-387.
16. *p*-Phenylazobenzoyl Chloride. *Org. Syn. Coll.* 1963. 712-713.
17. Garratt, P. J.; Jones, R.; Tocher, D. A. Mapping the Melatonin Receptor..3. Design and Synthesis of Melatonin Agonists and Antagonists Derived from 2-Prenyltryptamines. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 1132-1139.
18. Davey, D. D. Synthesis of 6-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8-one and 1-Methyl-6-Phenylimidazo[1,5-*a*]Pyrazin-8-one via Quaternary Intermediates. *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 4379 – 4381.
19. Guida, W. C.; Mathre, D. J. Phase-Transfer Alkylation of Heterocycles in the Presence of 18-Crown-6 and Potassium *tert*-Butoxide. *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 3172 – 3176.
20. Zhu, J.; Beugelmans, R.; Bourdet, S.; Chastanet, J.; Roussi, G. A Convergent Synthesis of 14-membered F - O - G Ring Analogs of the Teicoplanin Binding Pocket *via* Intramolecular *S_NAr* Reaction *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6389- 6396.

21. Gao, F.; Johnson, K. F.; Schlenoff, J. B. Ring Closing and Photooxidation in nitrogen analogues of 3-hydroxiflavone. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* **1995**, 269-273.

6.-CONCLUSIONES

6.- CONCLUSIONES.

1.- Con objeto de profundizar en el estudio del modelo de farmacóforo para la inhibición de la actividad nNOS estriatal propuesto en trabajos anteriores⁶, y de buscar nuevos inhibidores selectivos de la NOS en la investigación contenida en esta Memoria, se han diseñado, sintetizado y caracterizado cuarenta y tres compuestos finales. Dichos compuestos se encuentran divididos en dos grandes familias a) Familia fenilpirrónica y b) Familia benzoilpirazolinica y benzoilpirazólica.

2.- Las estructuras descritas, tanto de los compuestos finales como de sus intermedios sintéticos, han quedado inequívocamente establecidas mediante el uso combinado de diversas técnicas espectroscópicas (¹H-RMN, ¹³C-RMN, ¹H/¹³C-RMN y EM) y los correspondientes análisis elementales.

3.- Para la Familia fenilpirrónica se ha seguido la metodología de la reacción de Hemetsberger, mediante la condensación de azidoacetato de etilo con derivados del aldehído cinámico. Nosotros, por otra parte hemos extendido dicha reacción a sistemas arilvinilpirrónicos con gran interés como intermedios sintéticos altamente funcionalizados.

4.- Cuando los derivados 3-(2'-nitrobenzoil)pirazolínicos se someten a una alquilación en medio básico se observa la aparición de derivados benzoilpirazólicos

alquilados junto con las benzoilpirazolinias alquiladas, dependiendo los rendimientos de ambas, de la naturaleza del agente alquilante y de las condiciones de reacción (disolvente, tiempo/temperatura). En consecuencia, el mecanismo de la reacción debe justificarse en base a la capacidad oxidante del mismo grupo nitro existente en el compuesto que se está alquilando.

5.- Para confirmar dicho proceso de oxidación se llevó a cabo una experiencia sobre la 2'-nitrobenzoilpirazolina (**155**) en ausencia de agente alquilante y manteniendo constante el resto de las condiciones de reacción, obteniéndose junto con el derivado pirazólico, un benzoisoxazol (**155a**), y un dímero pirazólico (**155c**), que resulta de la condensación intramolecular del 2'-aminobenzoilpirazol y el correspondiente 2'-nitrobenzoilpirazol.

6.- Otras experiencias realizadas ponen de manifiesto que los procesos de alquilación y oxidación se dan simultáneamente ya que los derivados pirazolínicos alquilados se oxidan más lentamente y con menor eficacia que la pirazolinias sin alquilar.

7.- Por otra parte, la alquilación de los compuestos pirazólicos se produce preferentemente sobre el nitrógeno más cercano al carboxilato de etilo, por lo que el regioisómero mayoritario formado es el derivado sustituido 1,5.

8.- Todos los compuestos finales presentados en esta Memoria se han ensayado como posibles inhibidores de las isoformas de la NOS, nNOS e iNOS, presentando de forma general mejores valores de inhibición de la actividad nNOS cerebral frente a la actividad iNOS.

9.- De todos los compuestos sintetizados y ensayados en esta Memoria cabe destacar los derivados **LC-18** (Familia pirrólica) y **LC-40** (Familia pirazólica), no tanto por su potencia inhibitoria de la actividad iNOS cerebral, sino por su elevada selectividad hacia esta isoforma. Esto supone un importante hallazgo ya que hasta el momento se han descrito pocos inhibidores con una selectividad muy elevada hacia la isoforma iNOS frente a nNOS.

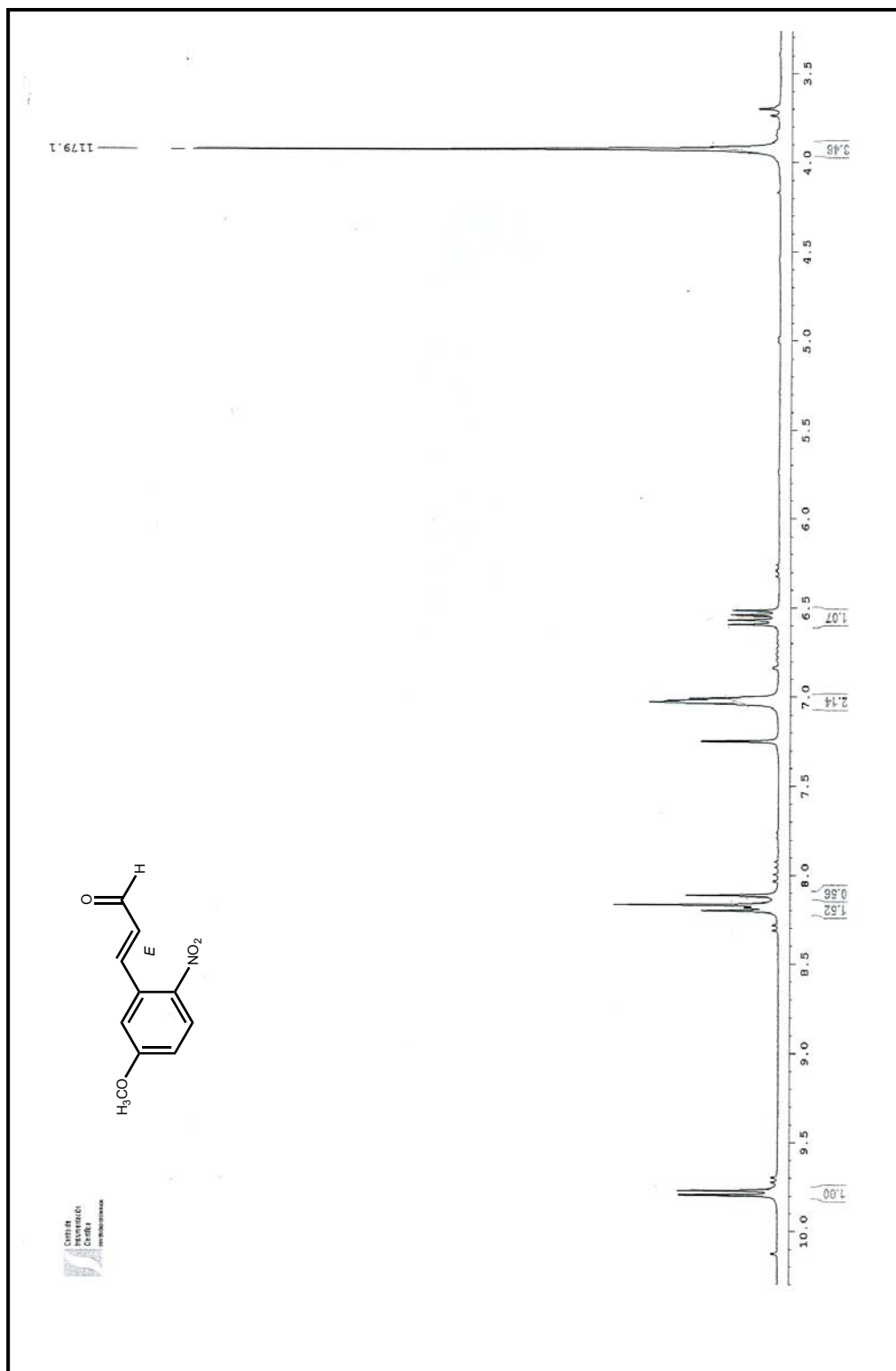
10.- Tanto los compuestos pertenecientes a la familia pirrólica como a la familia pirazólica o pirazolínica muestran valores diferentes sobre ambas isoformas de la NOS sobre las que han sido ensayados; este hecho puede indicar que no existen tantas homologías estructurales entre ambas isoformas (iNOS y nNOS) y que, por consiguiente, se pueden lograr inhibidores potentes y selectivos, con alta eficacia de acción.

11.- Los resultados de la modelización molecular sugieren que el grupo caboxamídico de los pirroles debe ser sustituido por un grupo cetónico en investigaciones futuras, con el fin de intentar adaptar nuestras moléculas aún más al modelo de farmacóforo propuesto.

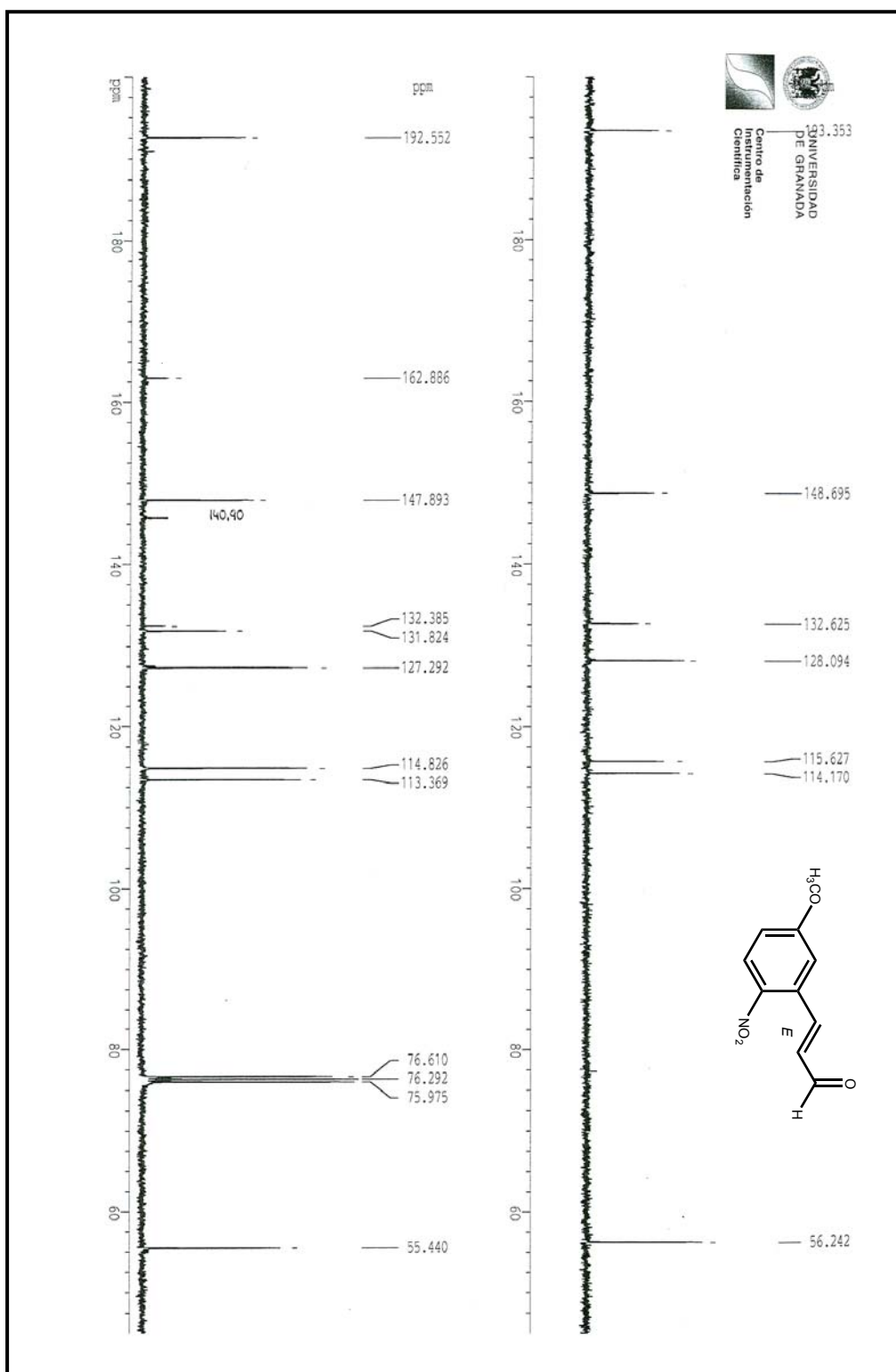
12.-. Por los datos deducidos en esta Memoria se sugiere continuar en la búsqueda de nuevos inhibidores, más potentes y selectivos para cada isoforma de la NOS, ya que su hallazgo puede suponer un paso adelante en el desarrollo de futuras terapias para determinados desórdenes tales como enfermedades neurodegenerativas (en las que está implicada sobre todo nNOS) o el choque séptico y la artritis reumatoide (en las que se implica principalmente iNOS).

7.-APÉNDICE

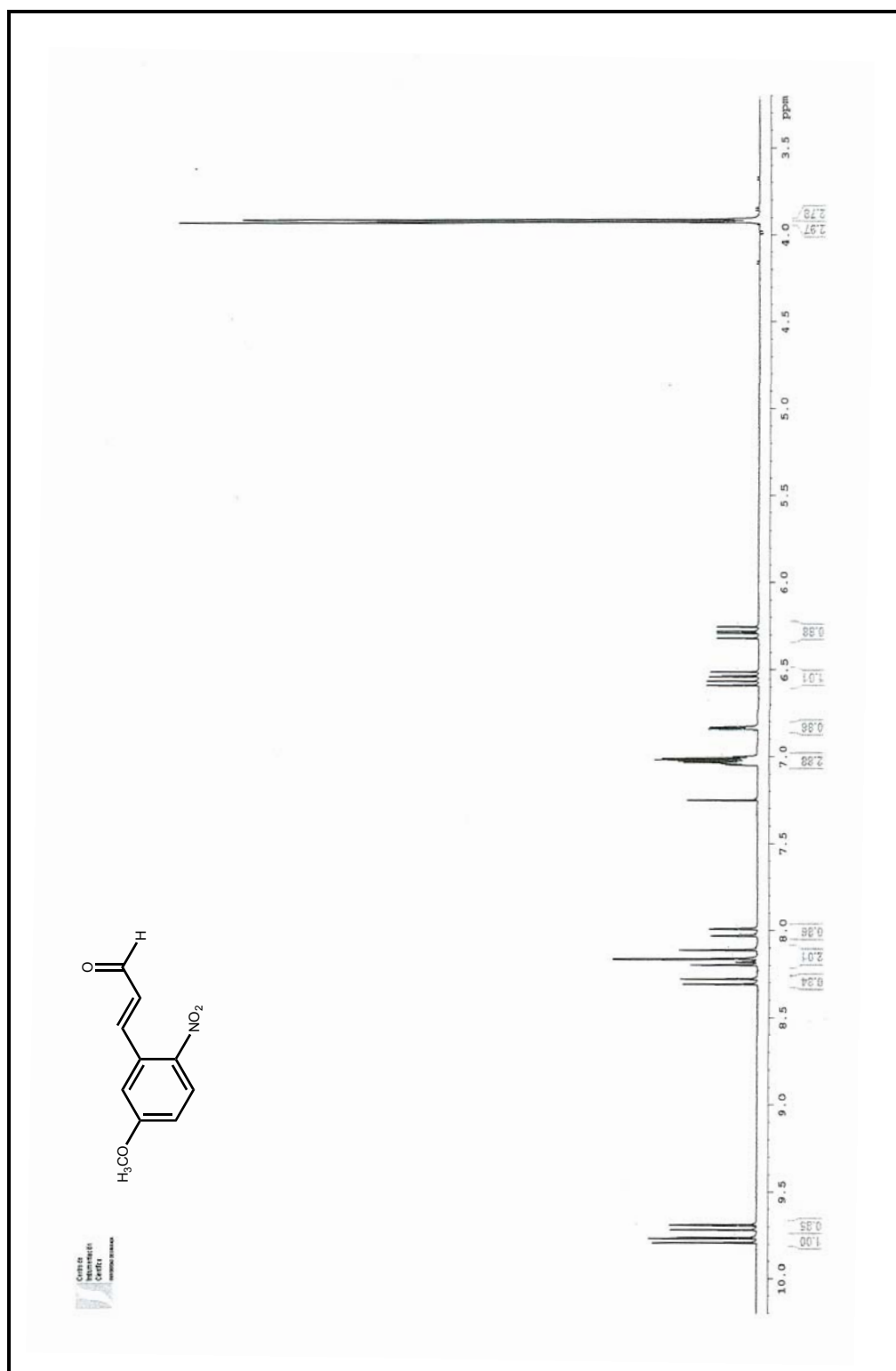
Espectros de los compuestos intermedios:
(^1H -RMN, ^{13}C -RMN, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN)



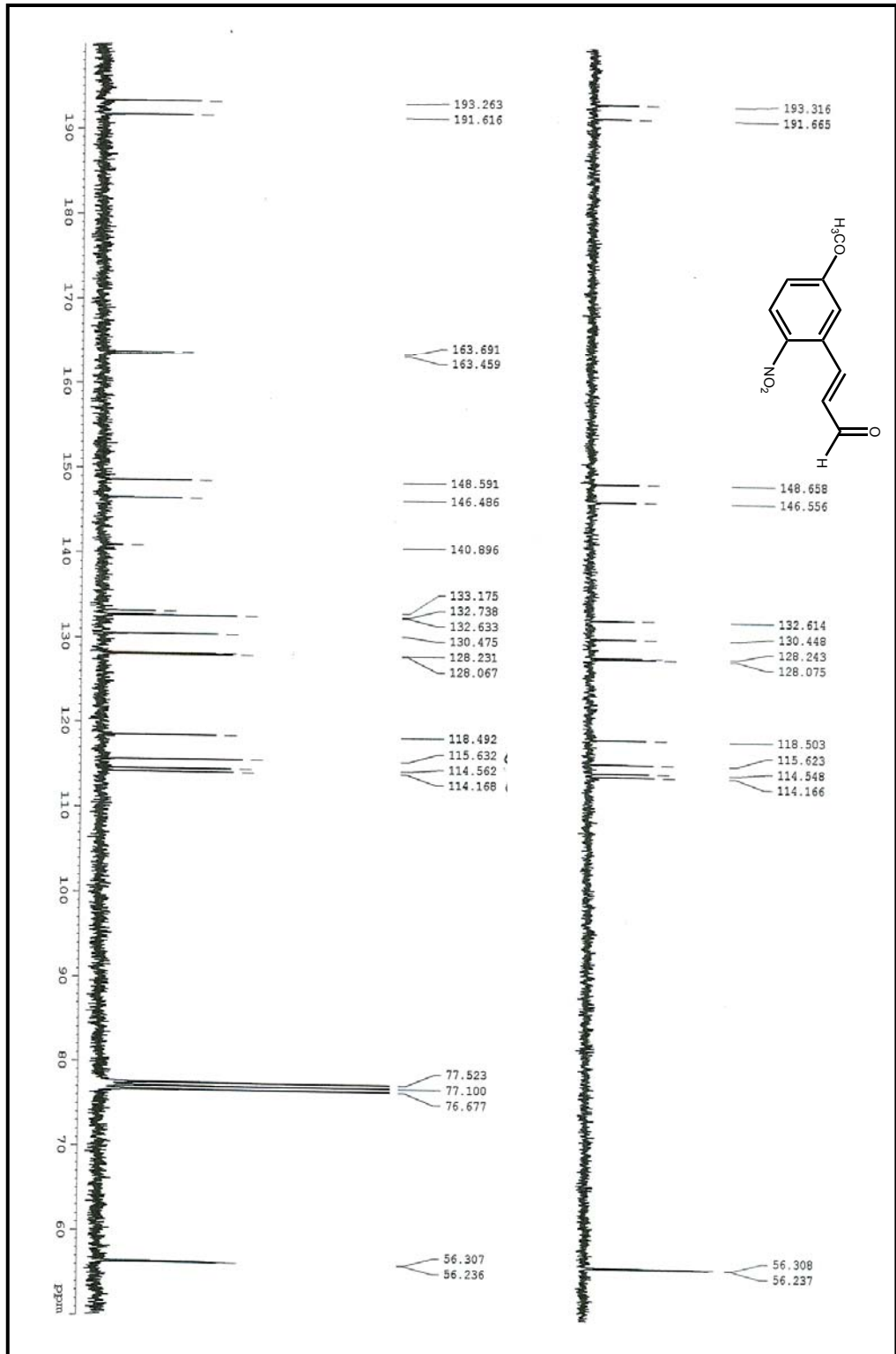
¹H-RMN: (E) 5-metoxi-2-nitrocinamaldehido **156**.

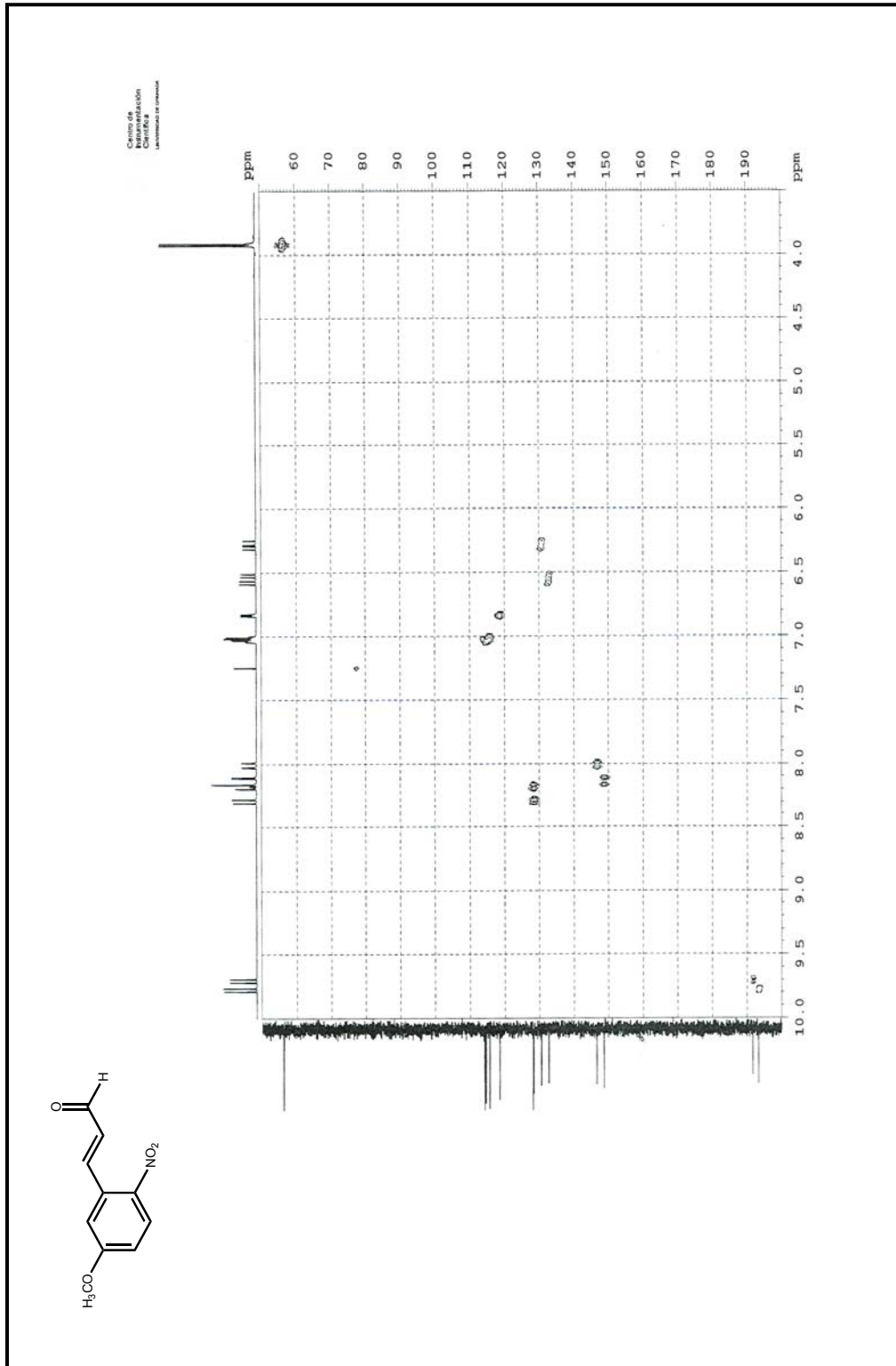


^{13}C -RMN: (*E*) 5-metoxi-2-nitrocinamaldehido **156**.

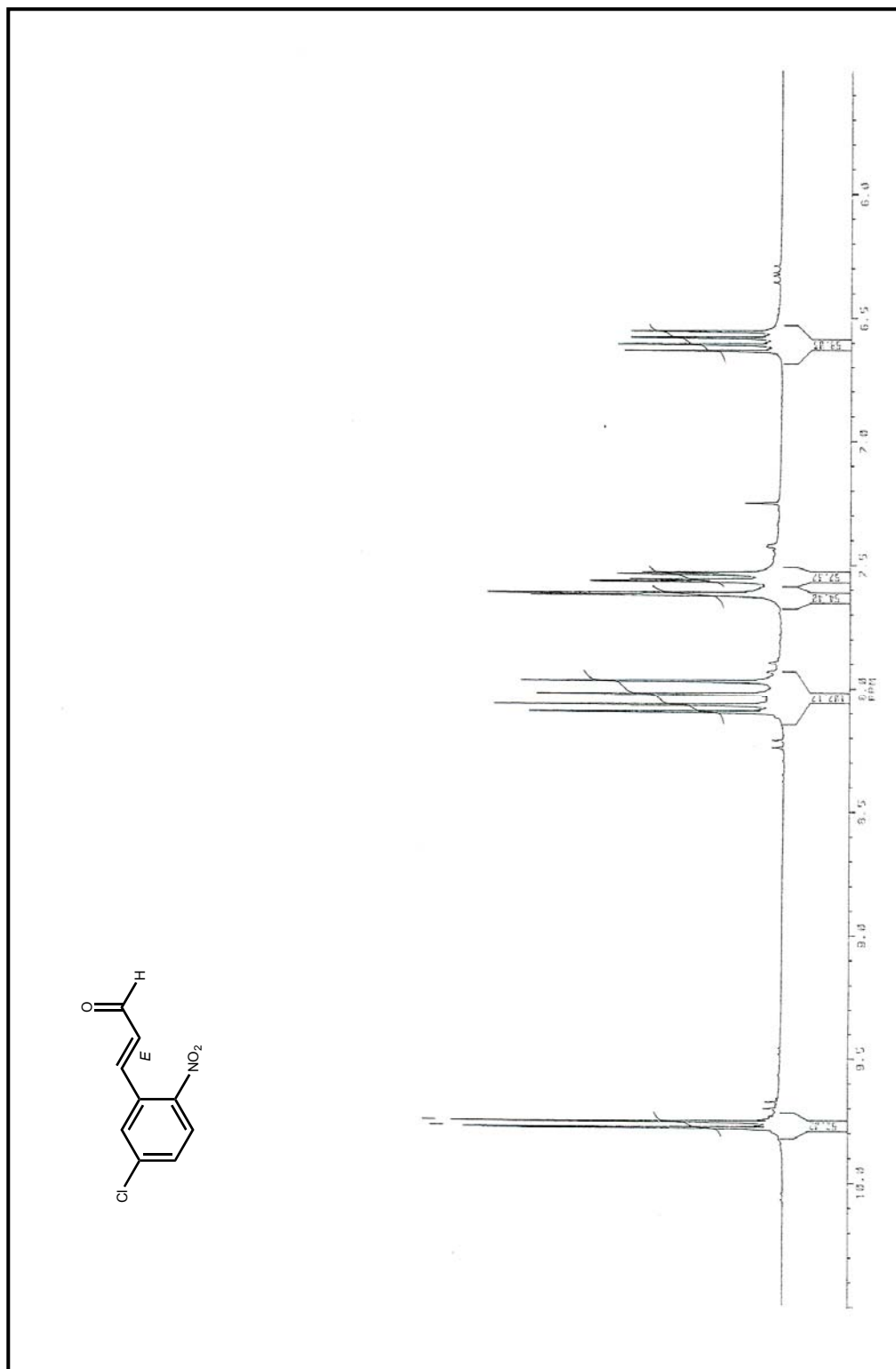


¹H-RMN: (E/Z) 5-metoxi-2-nitrocinaaldehido **156**.

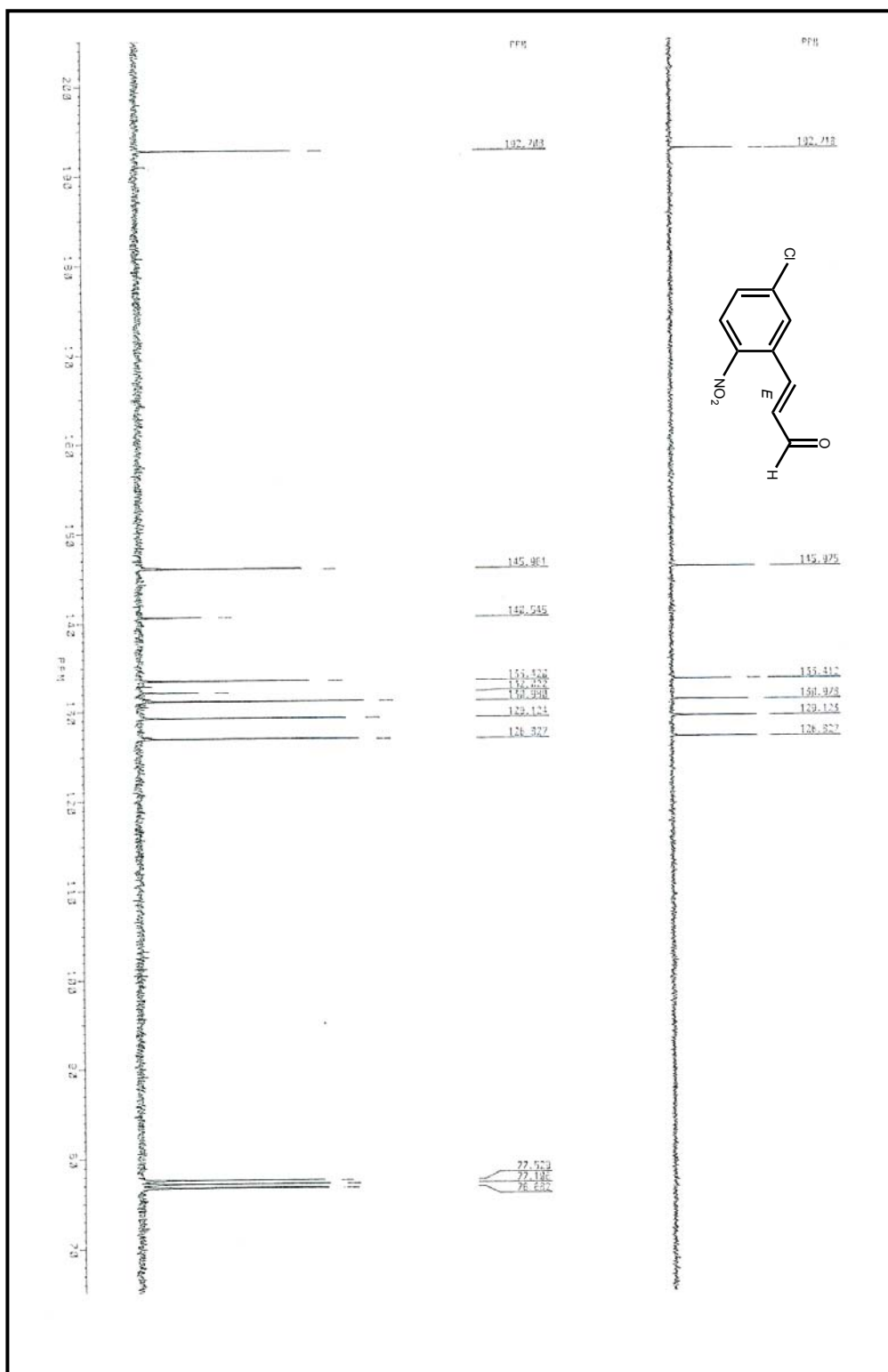




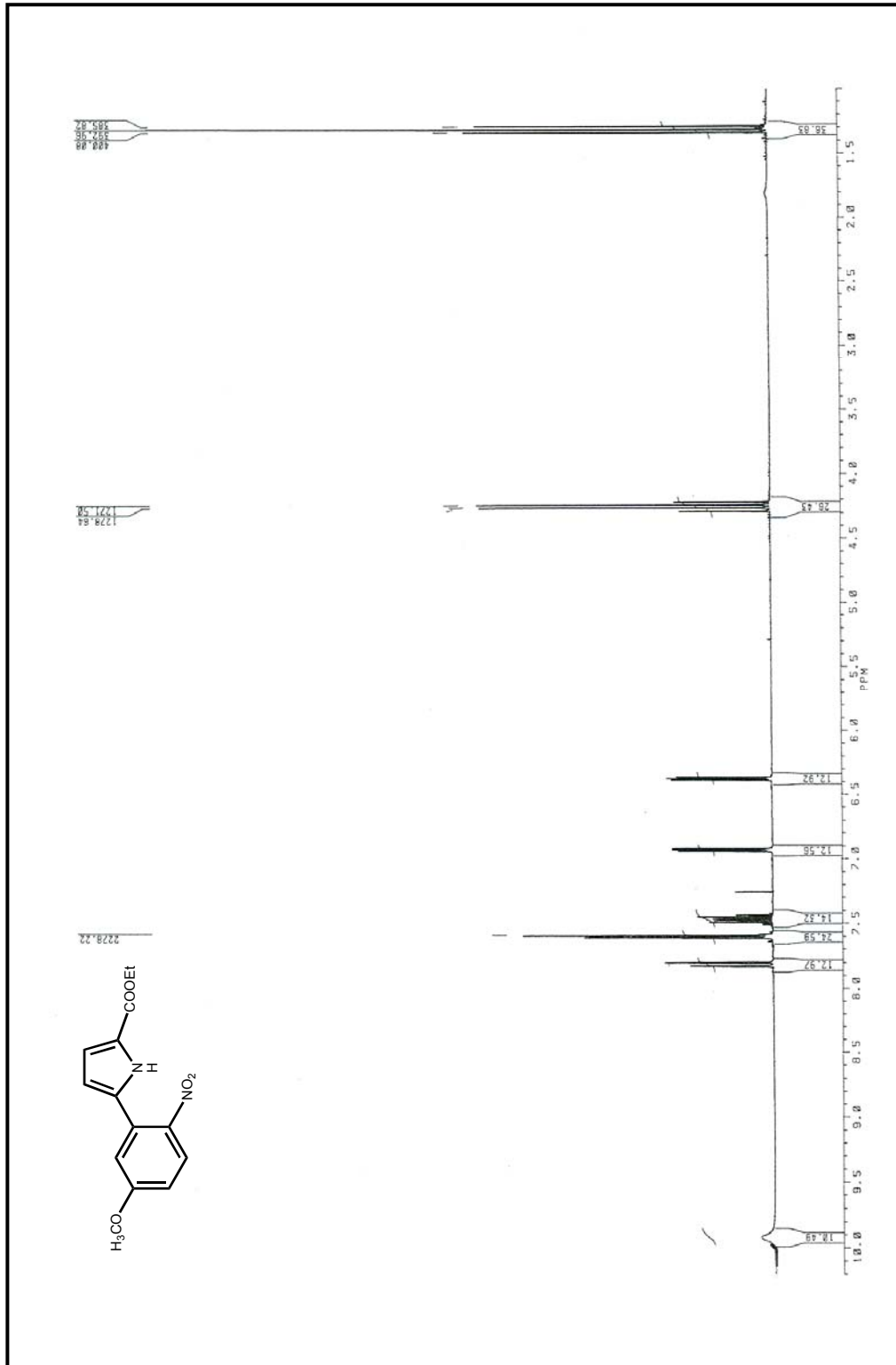
¹³C NMR spectrum of (E/Z) 5-methoxy-2-nitrocinamaldehyde **156**.



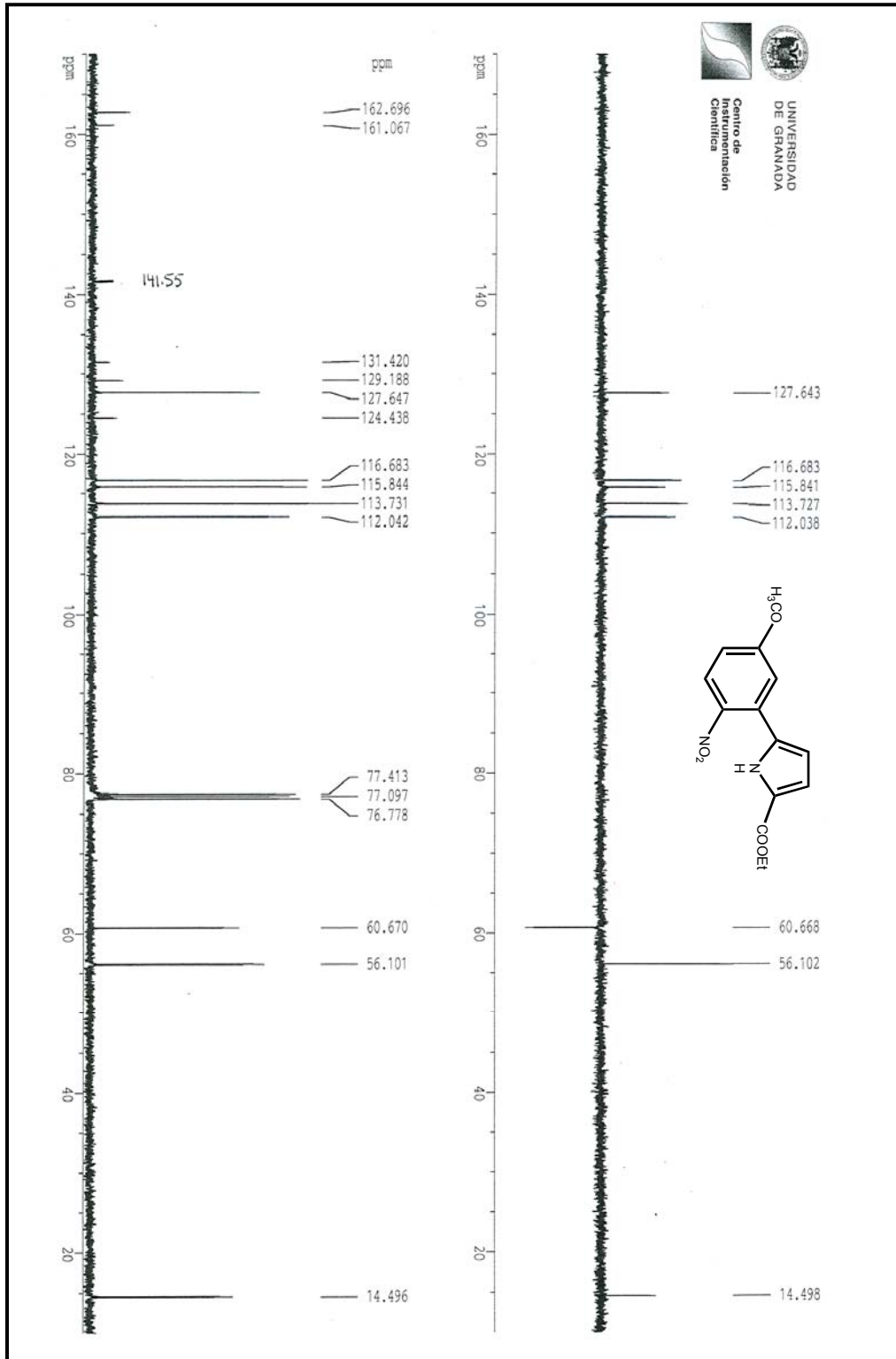
¹H-RMN: (E) 5-cloro-2-nitrocinaaldehido **157**.



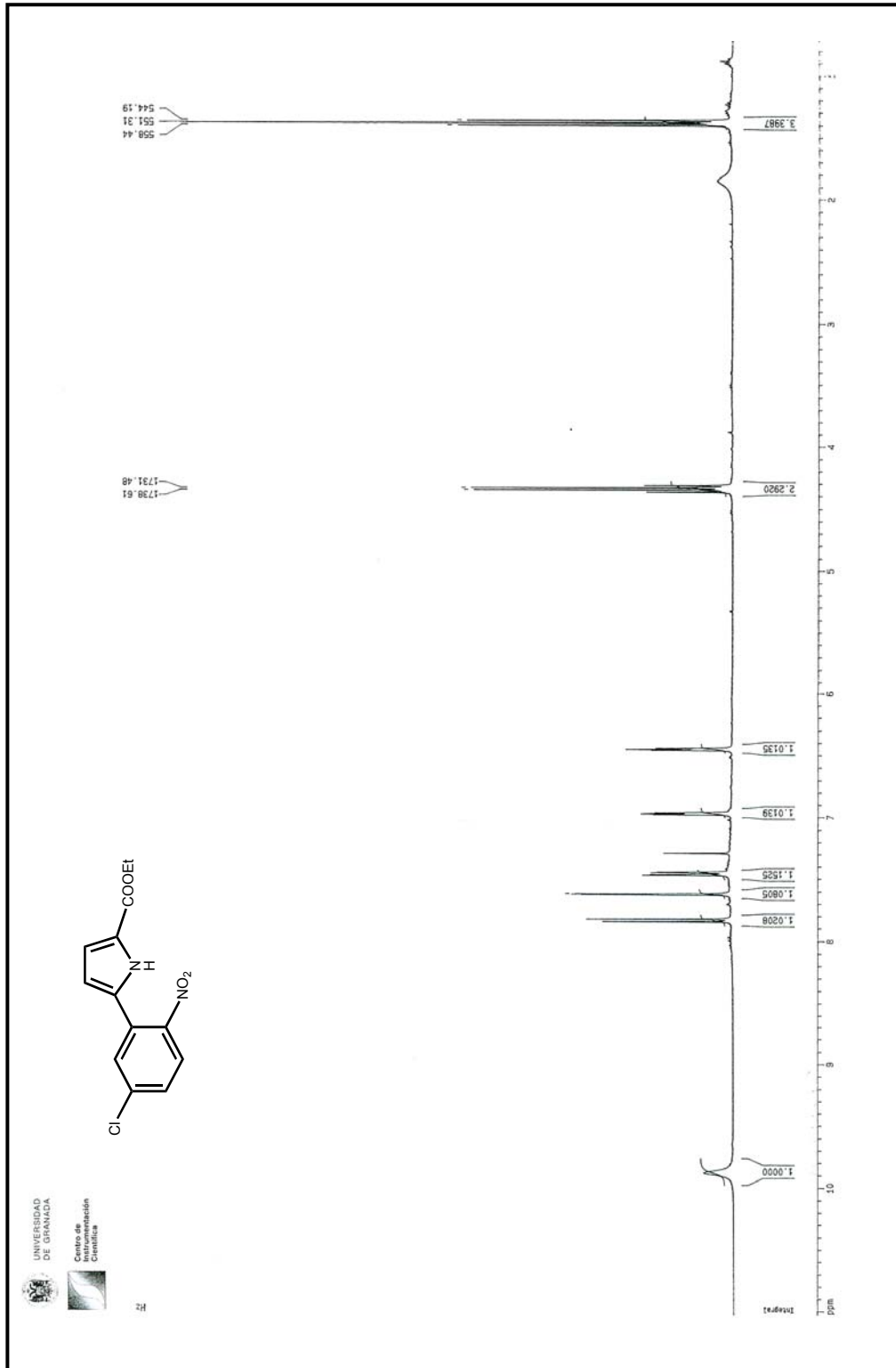
¹³C-NMR: (E) 5-chloro-2-nitrocinamaldehyde **157**.



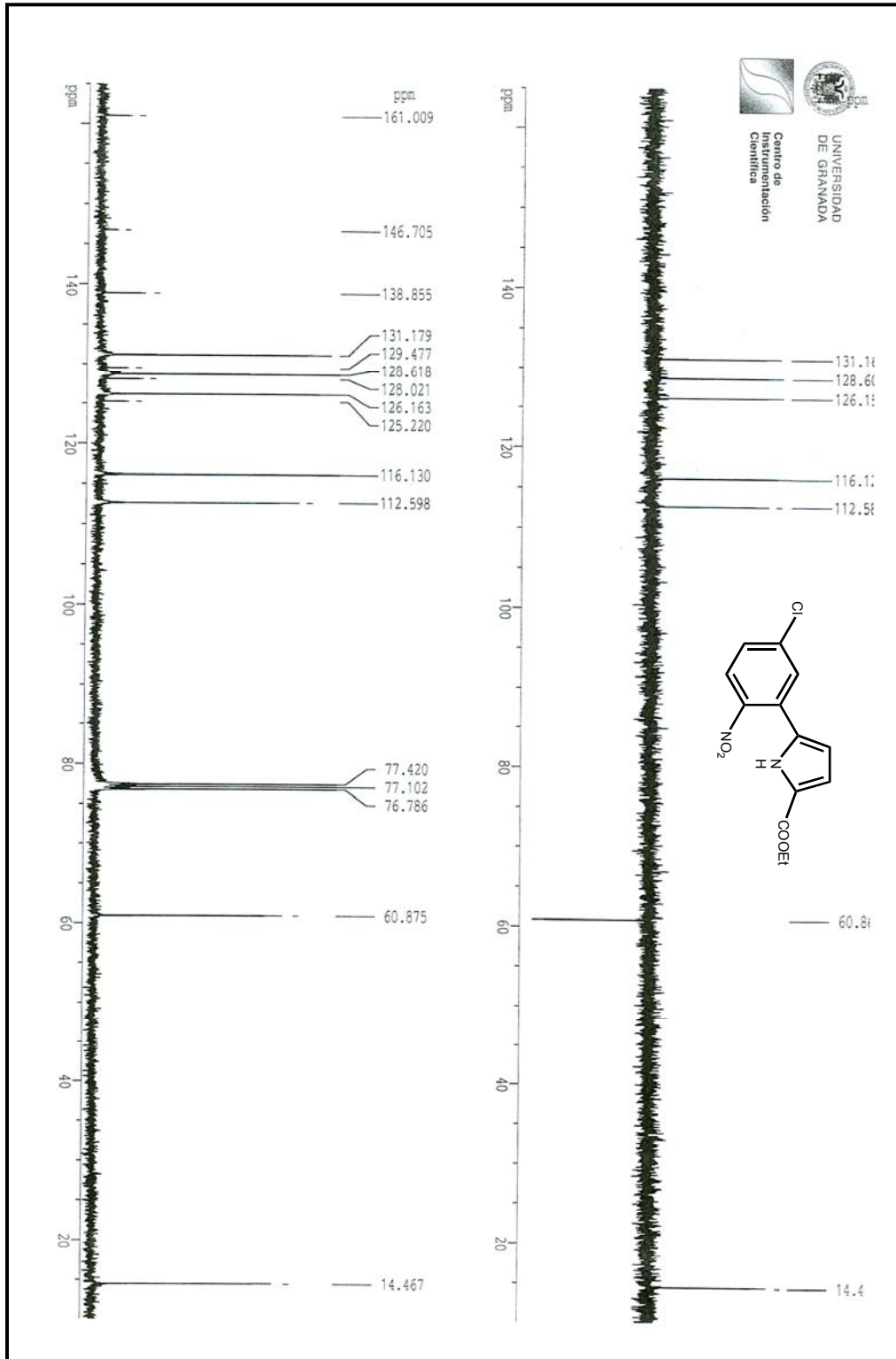
¹H-RMN: 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **160**.



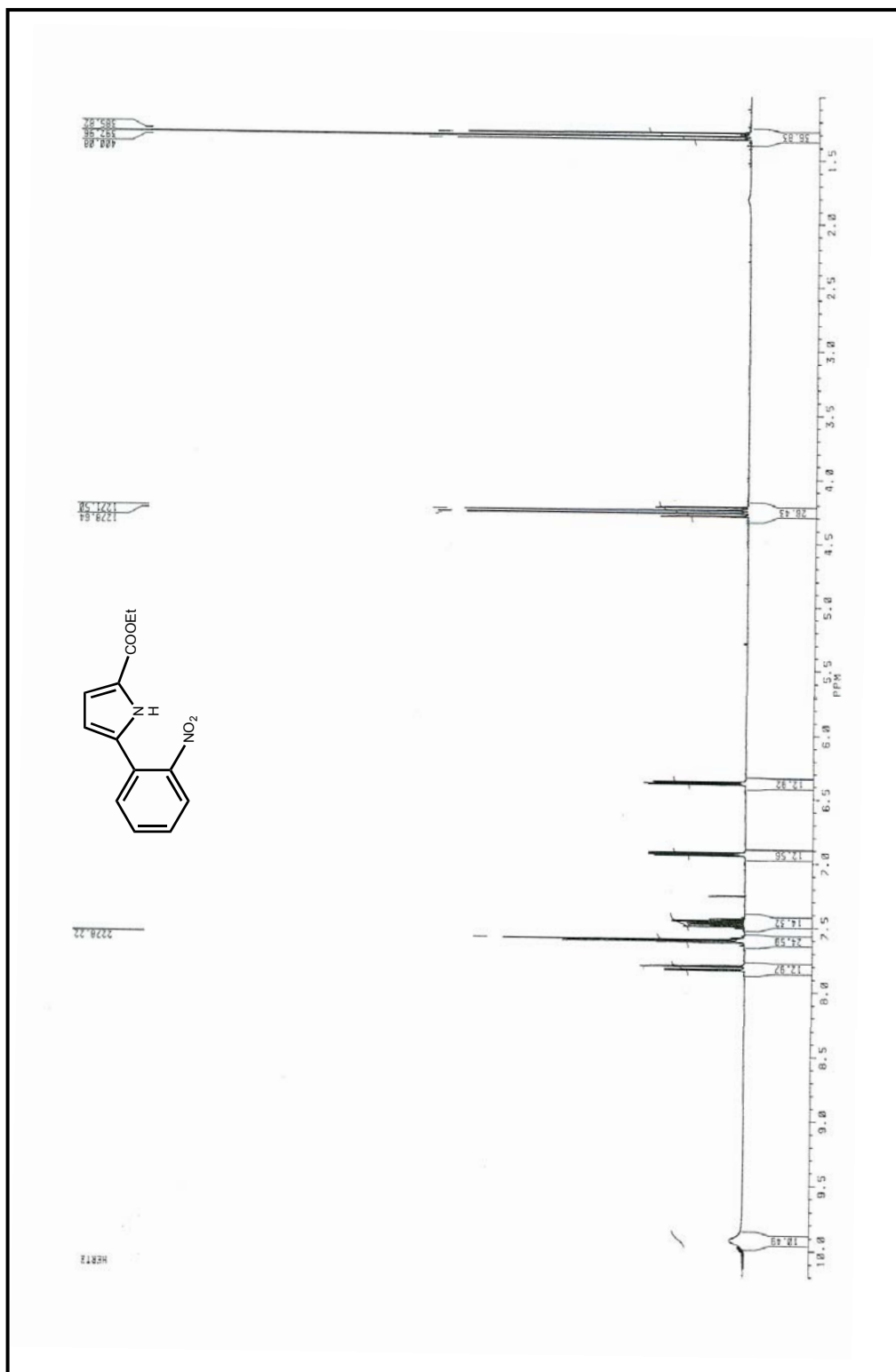
¹³C-RMN: 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1-H-pirrol-2-carboxilato de etilo **160**.



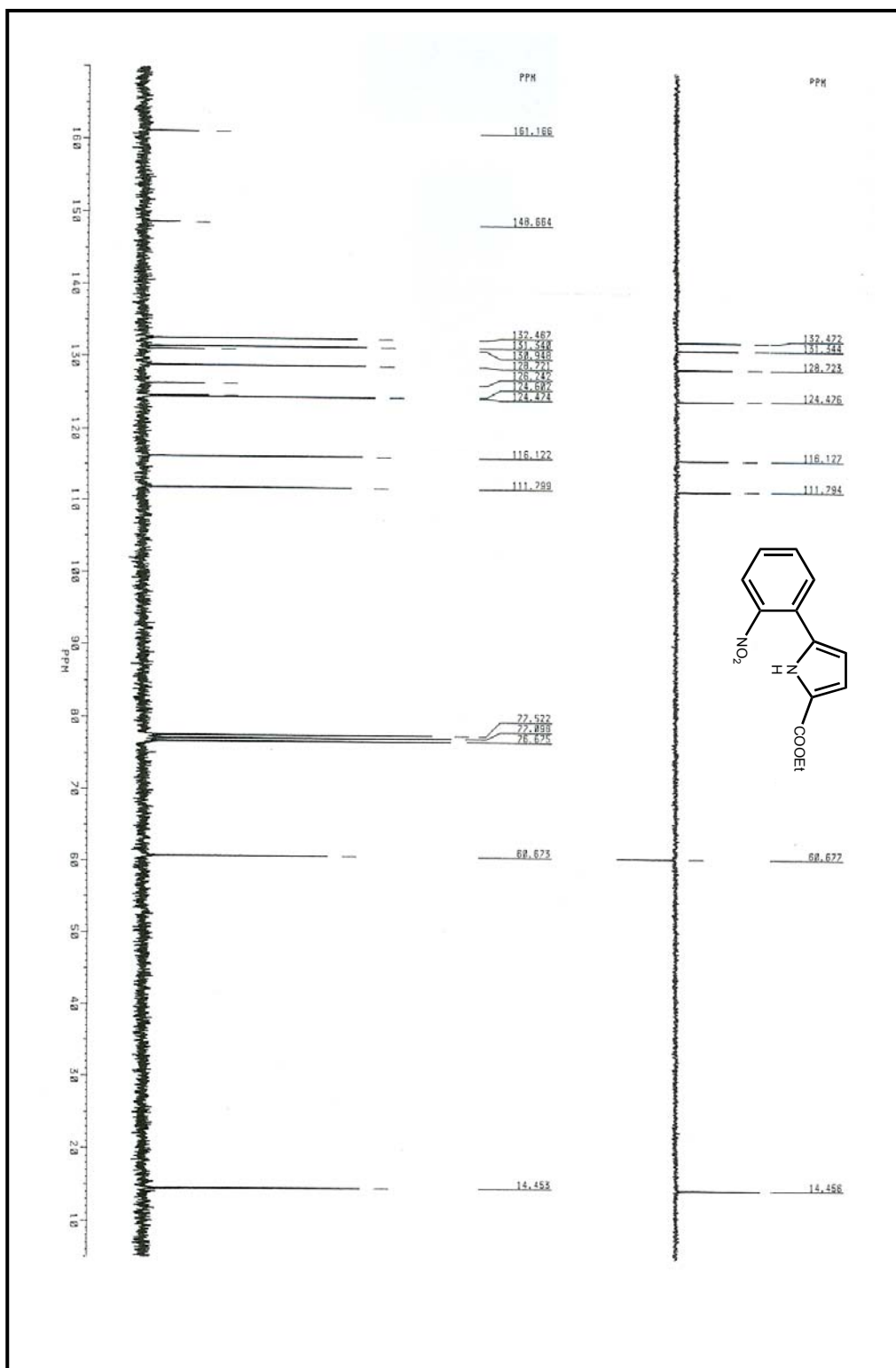
¹H-RMN: 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **161**.



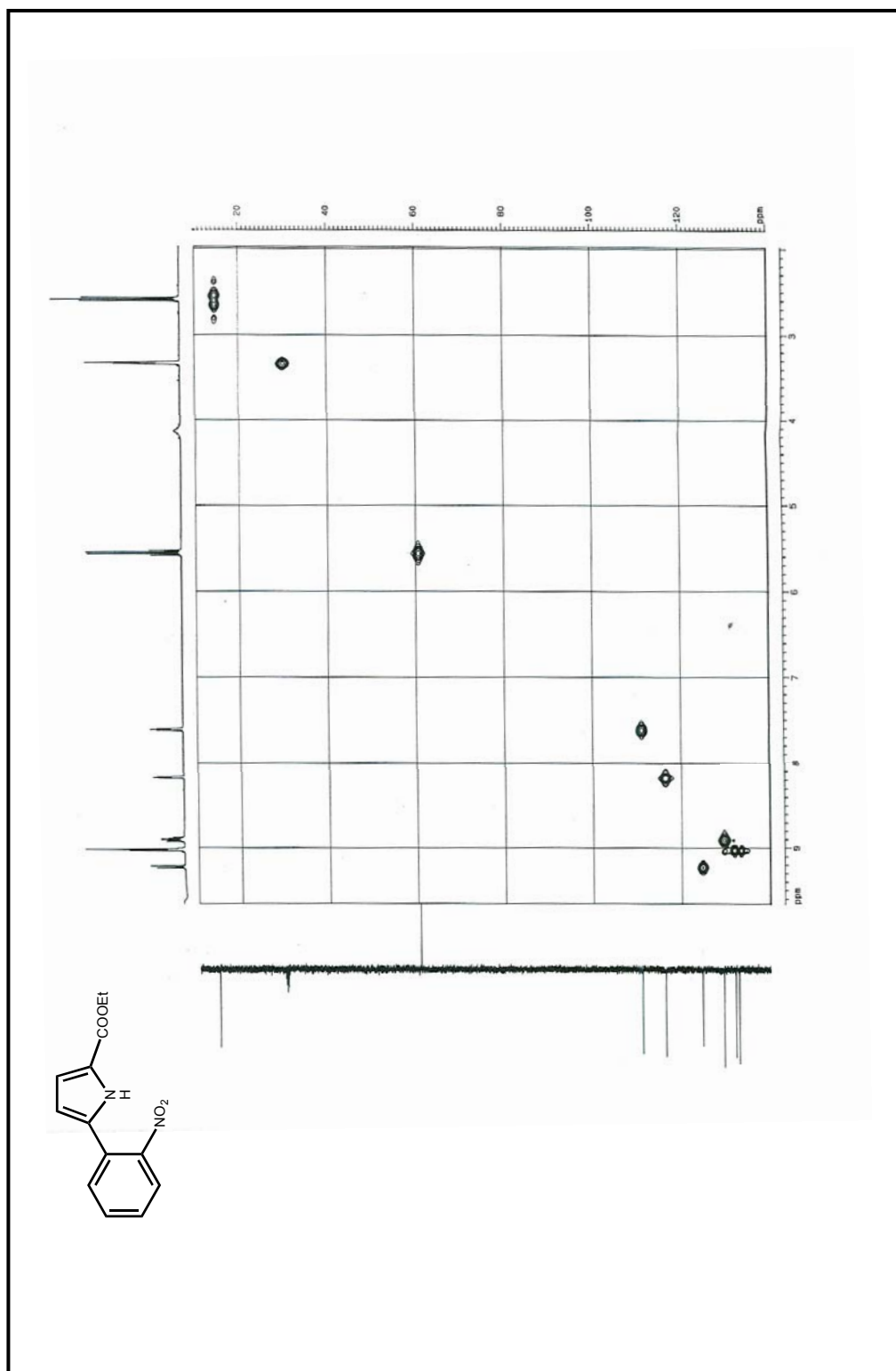
¹³C-RMN: 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **161**.



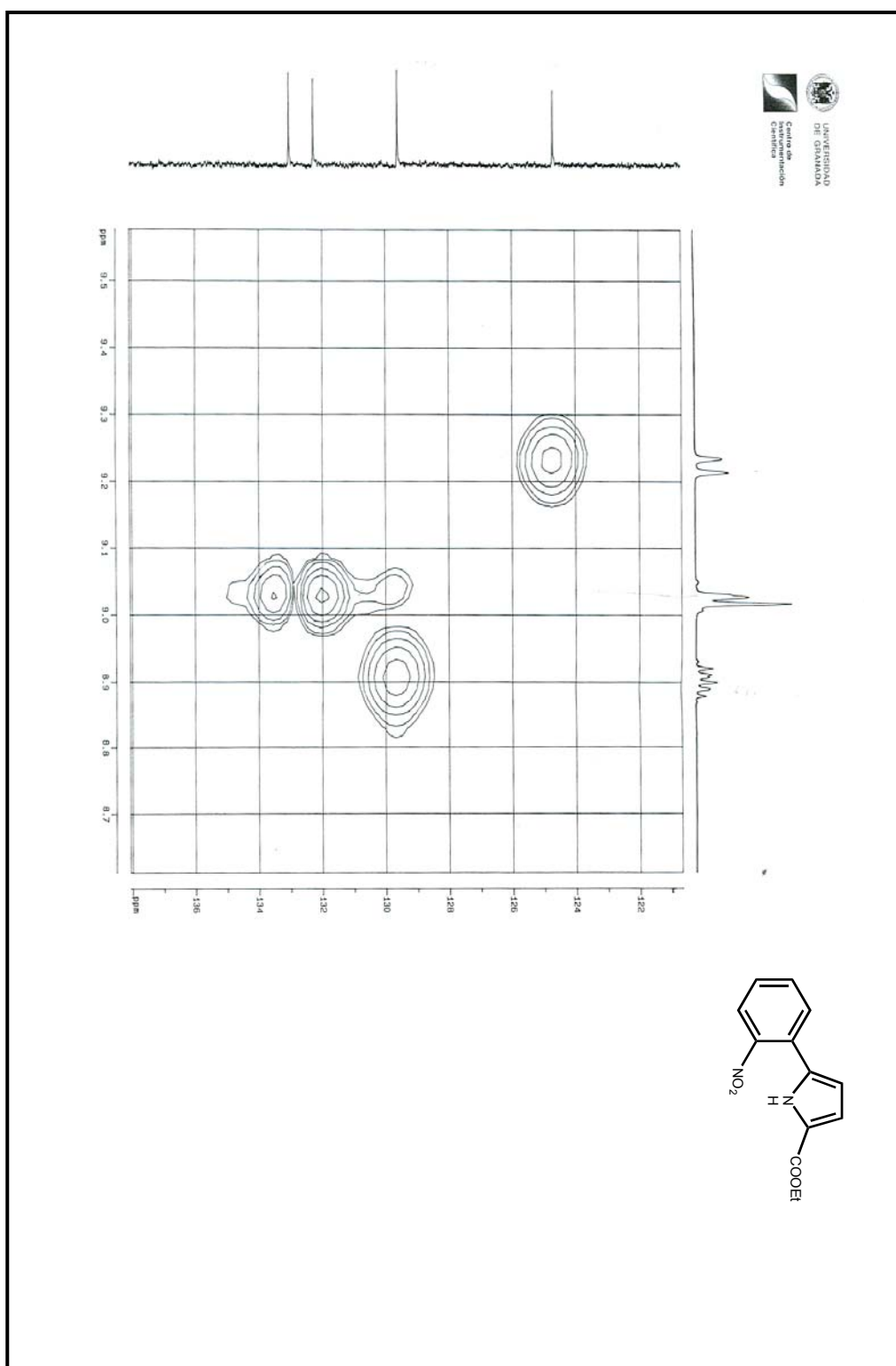
¹H-RMN 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **162**.



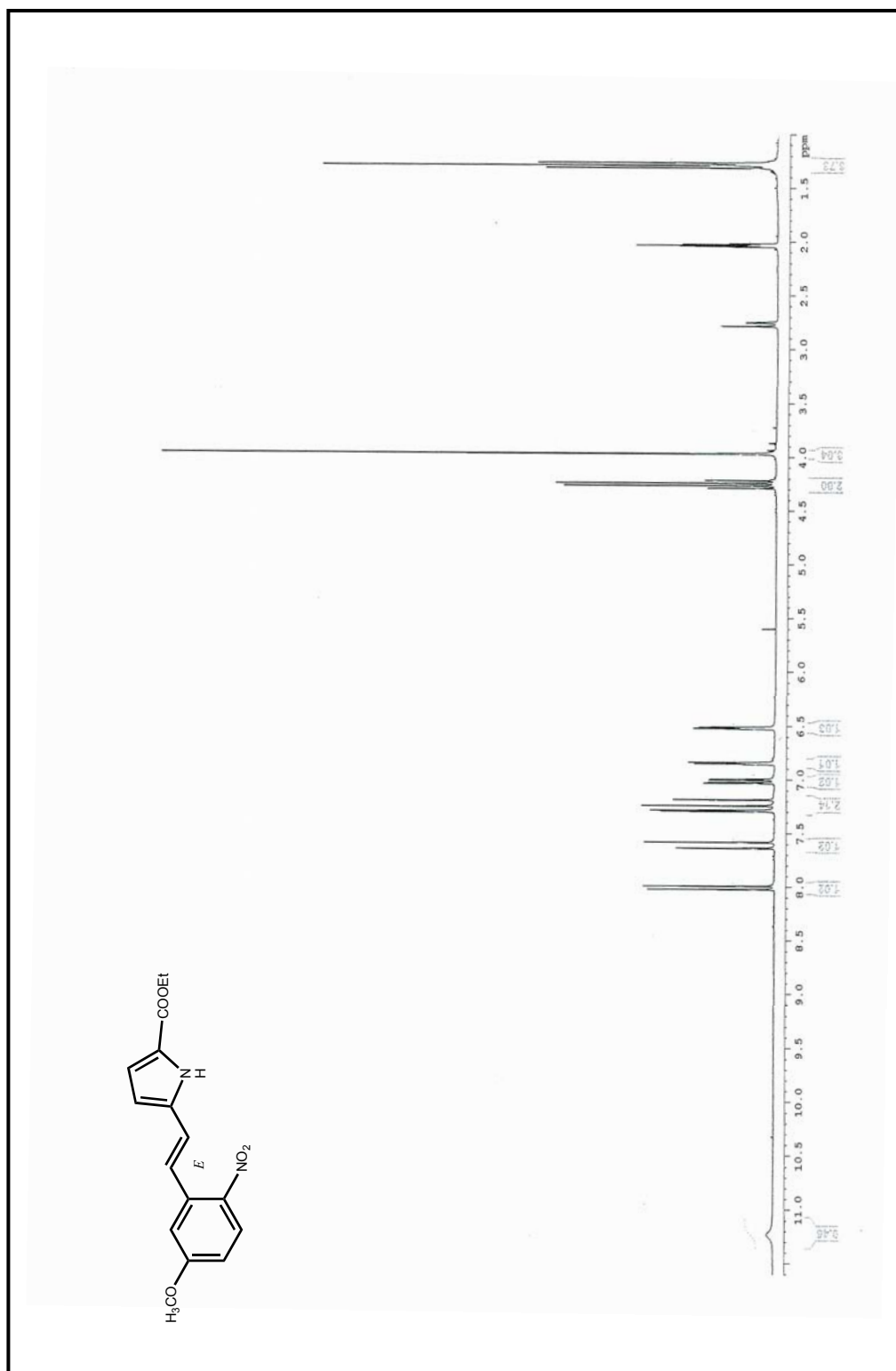
^{13}C -RMN: 5-(2-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **162**.



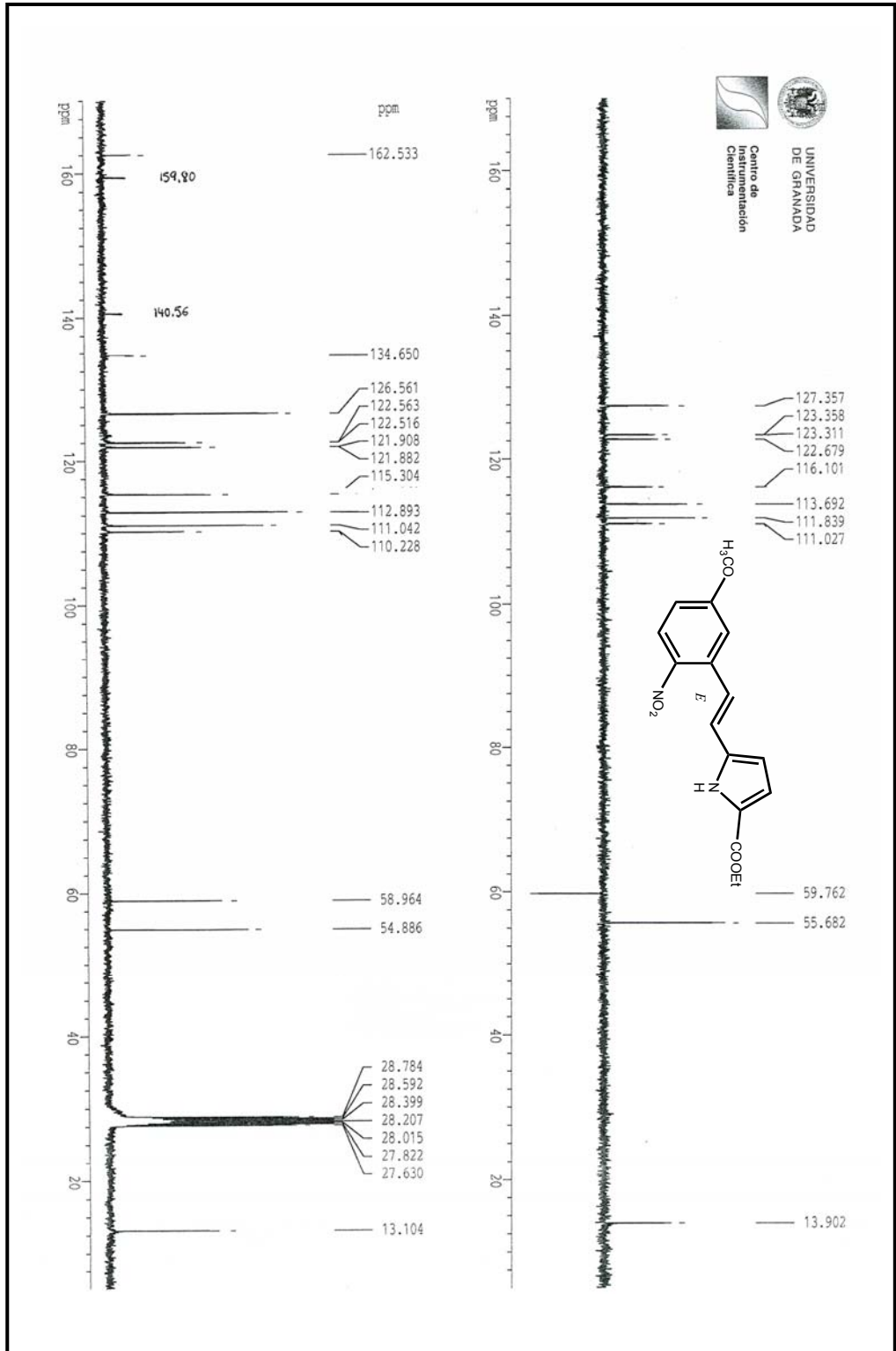
¹³C NMR spectrum of 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **162**.



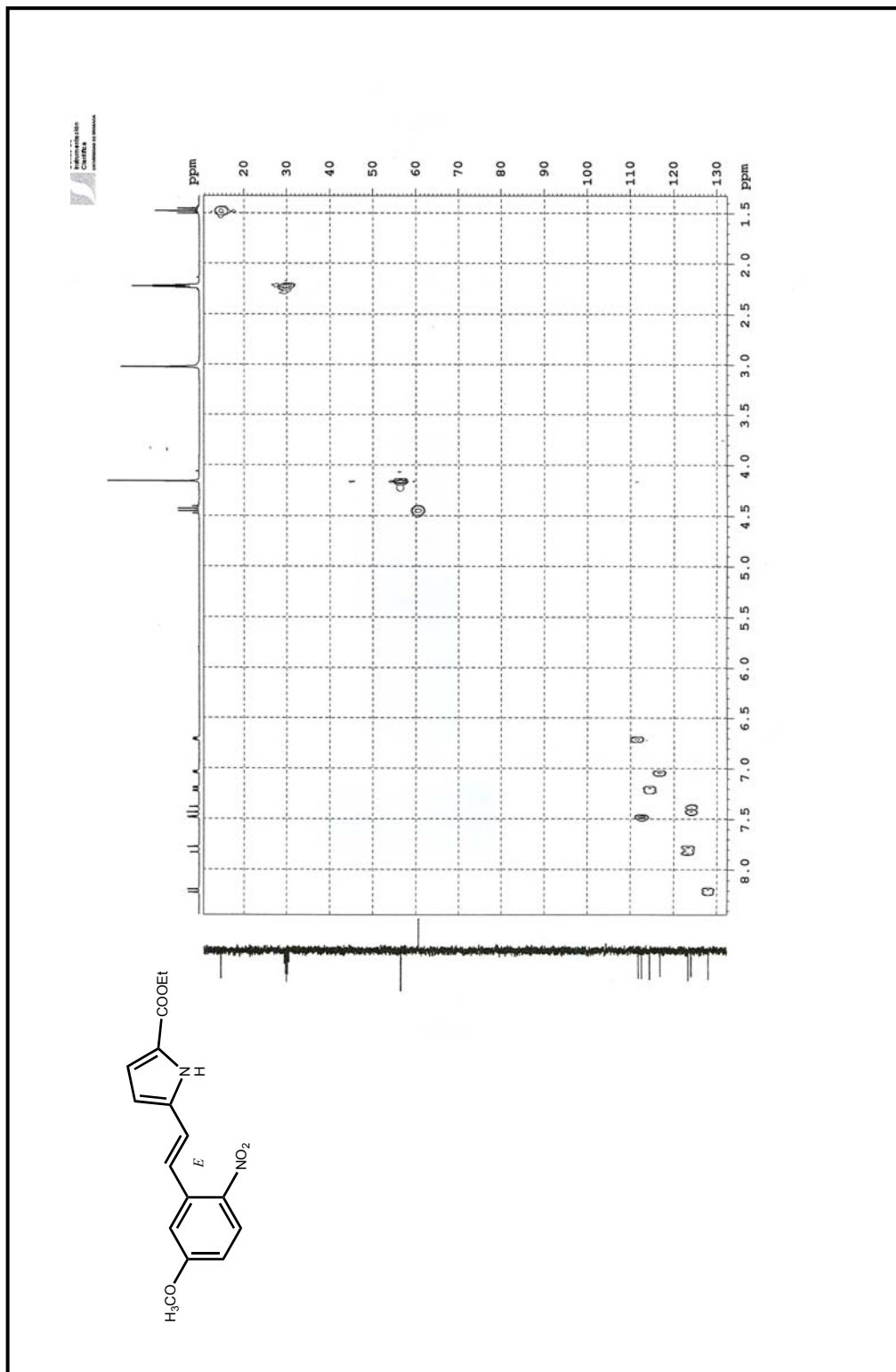
$^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HMQC (Ampliación): 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **162**.



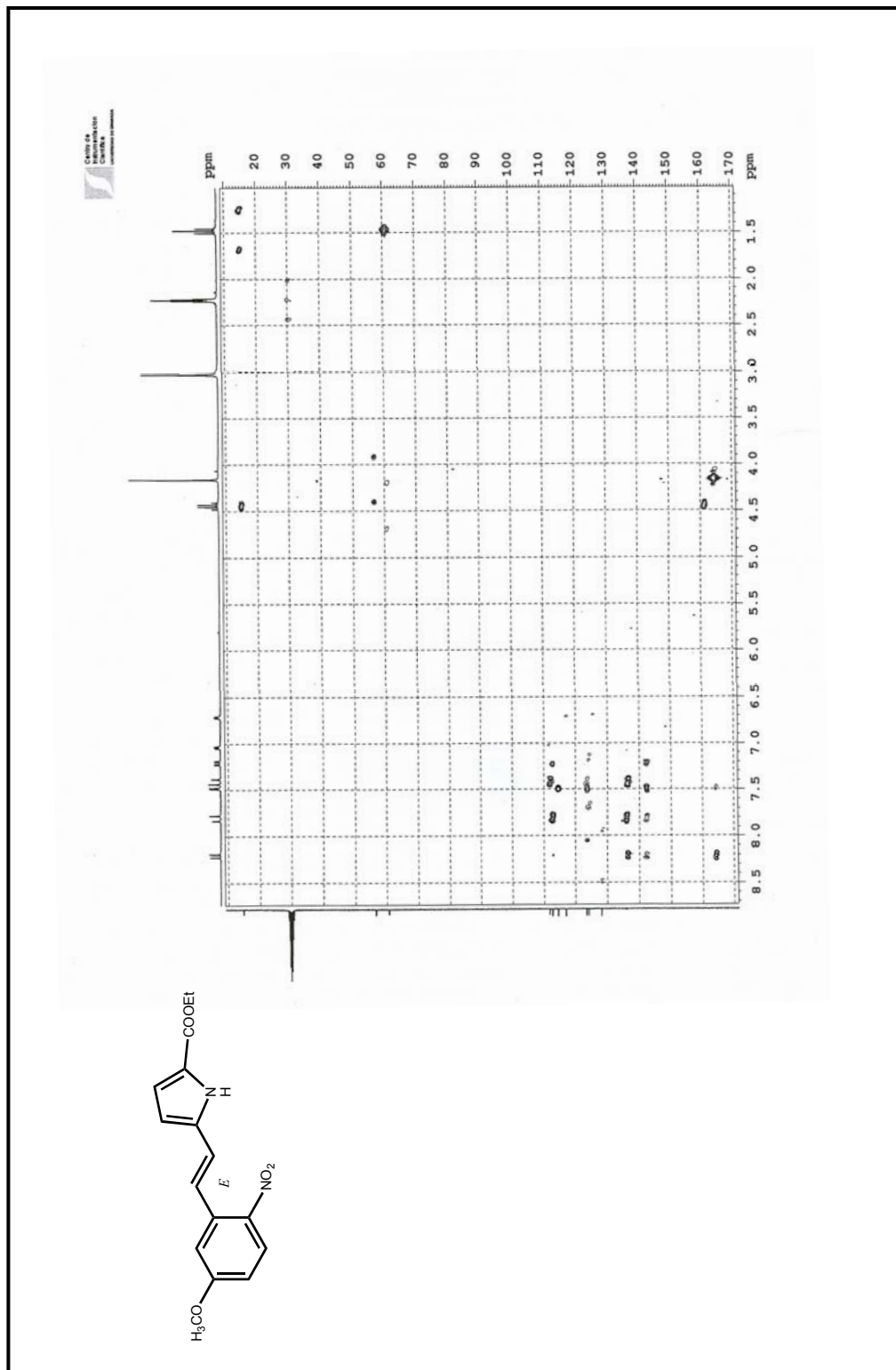
¹H-RMN: 5-[2'-(5''-metoxi-2''-nitrofenil)vinil]-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **163**.



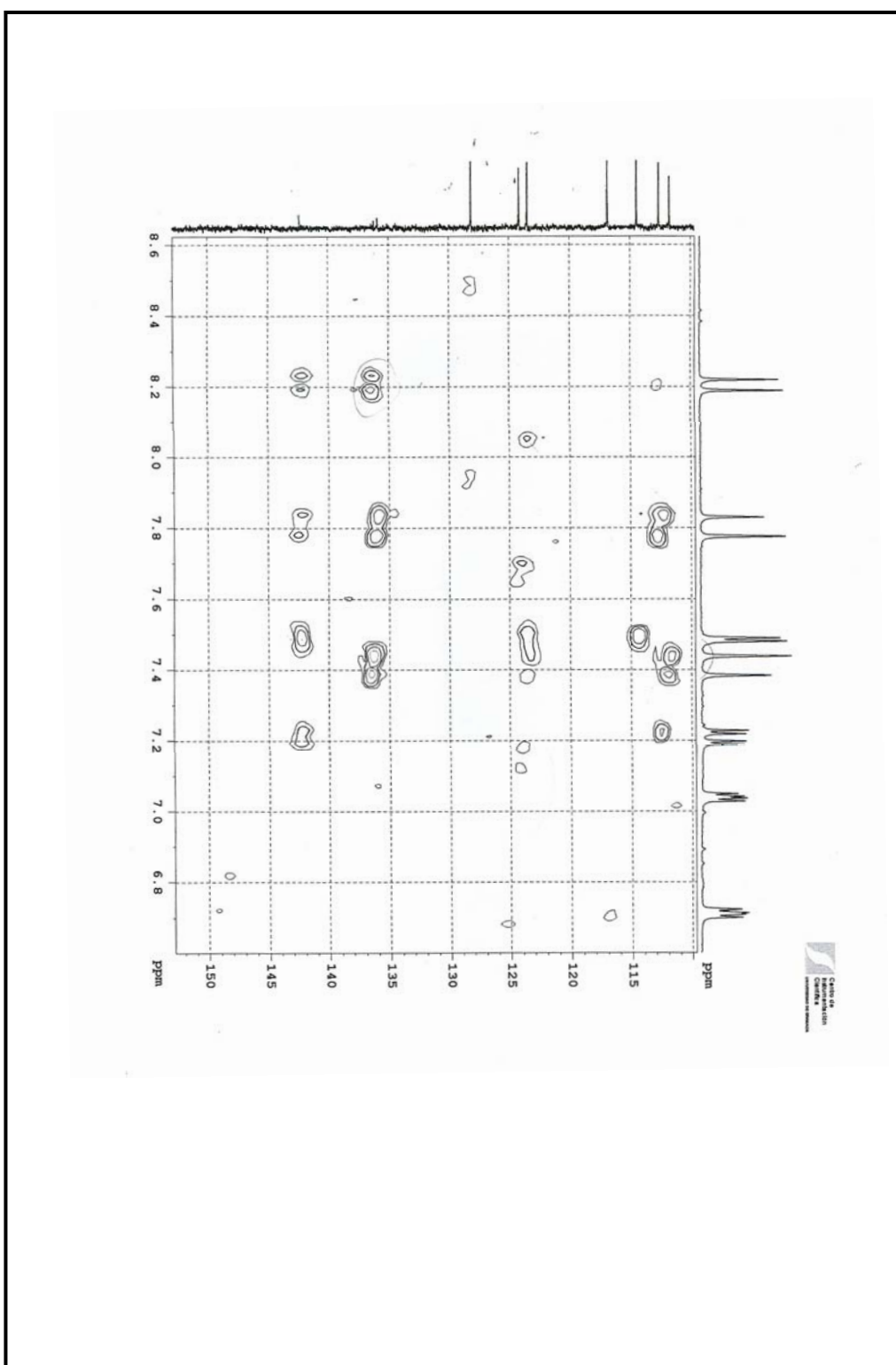
^{13}C -RMN: 5-[2'-(5"-metoxi-2"-nitrofenil)vinil]-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **163**.



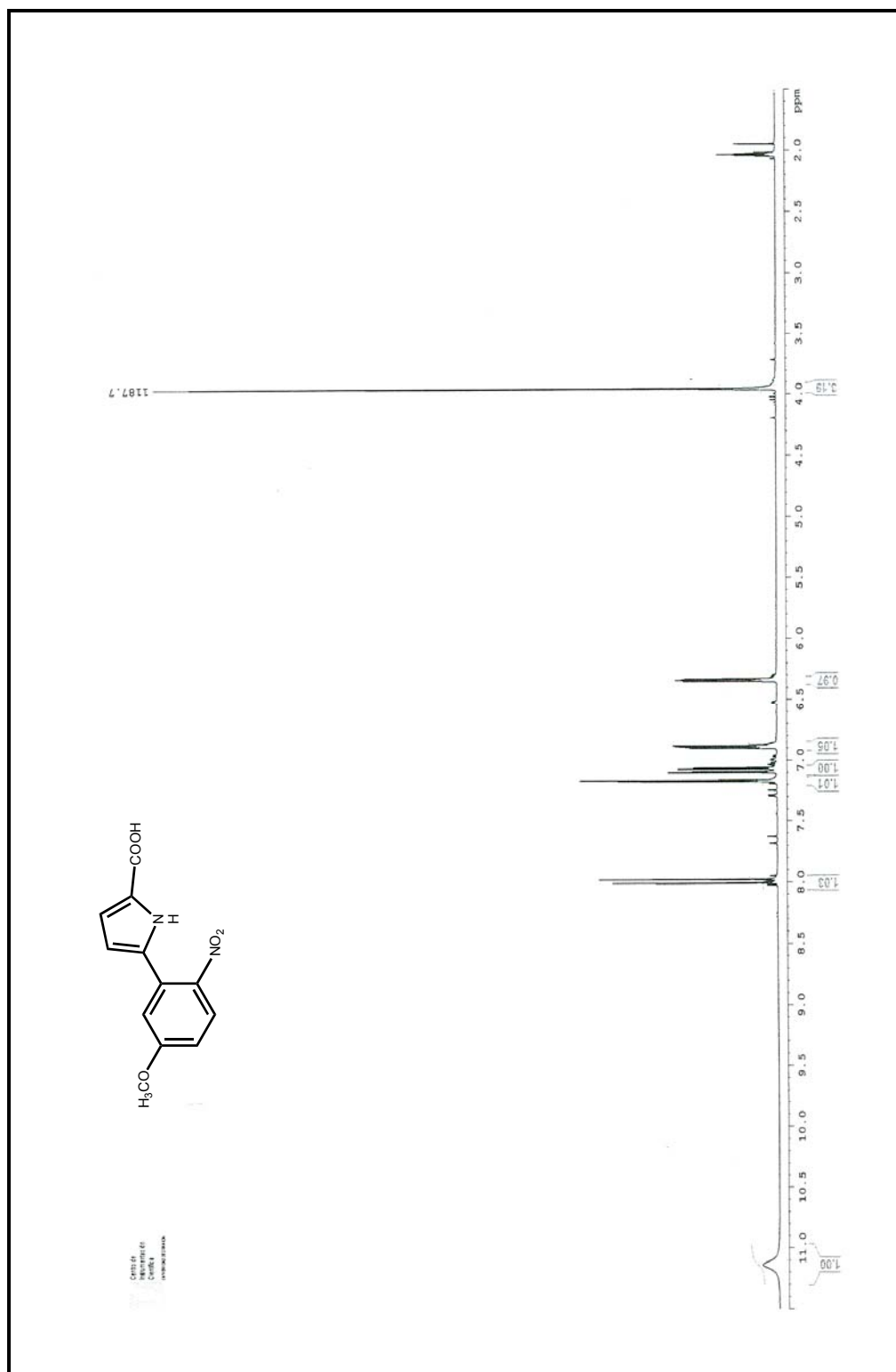
HMQC: 5-[2'-(5''-metoxi-2''-nitrofenil)vinil]-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **163**.



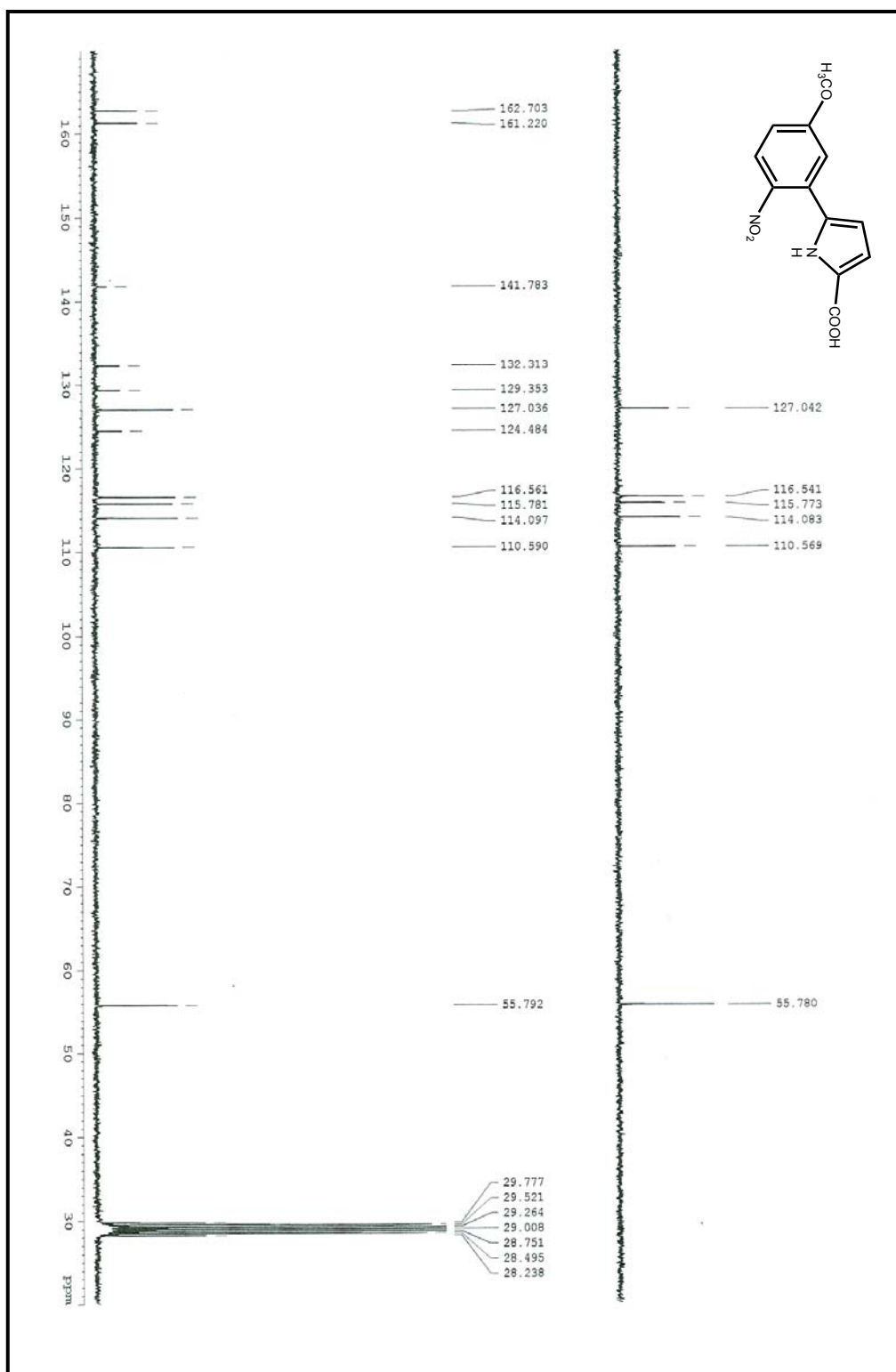
HMBC: 5-[2'-(5''-metoxi-2''-nitrofenil)vinil]-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **163**.

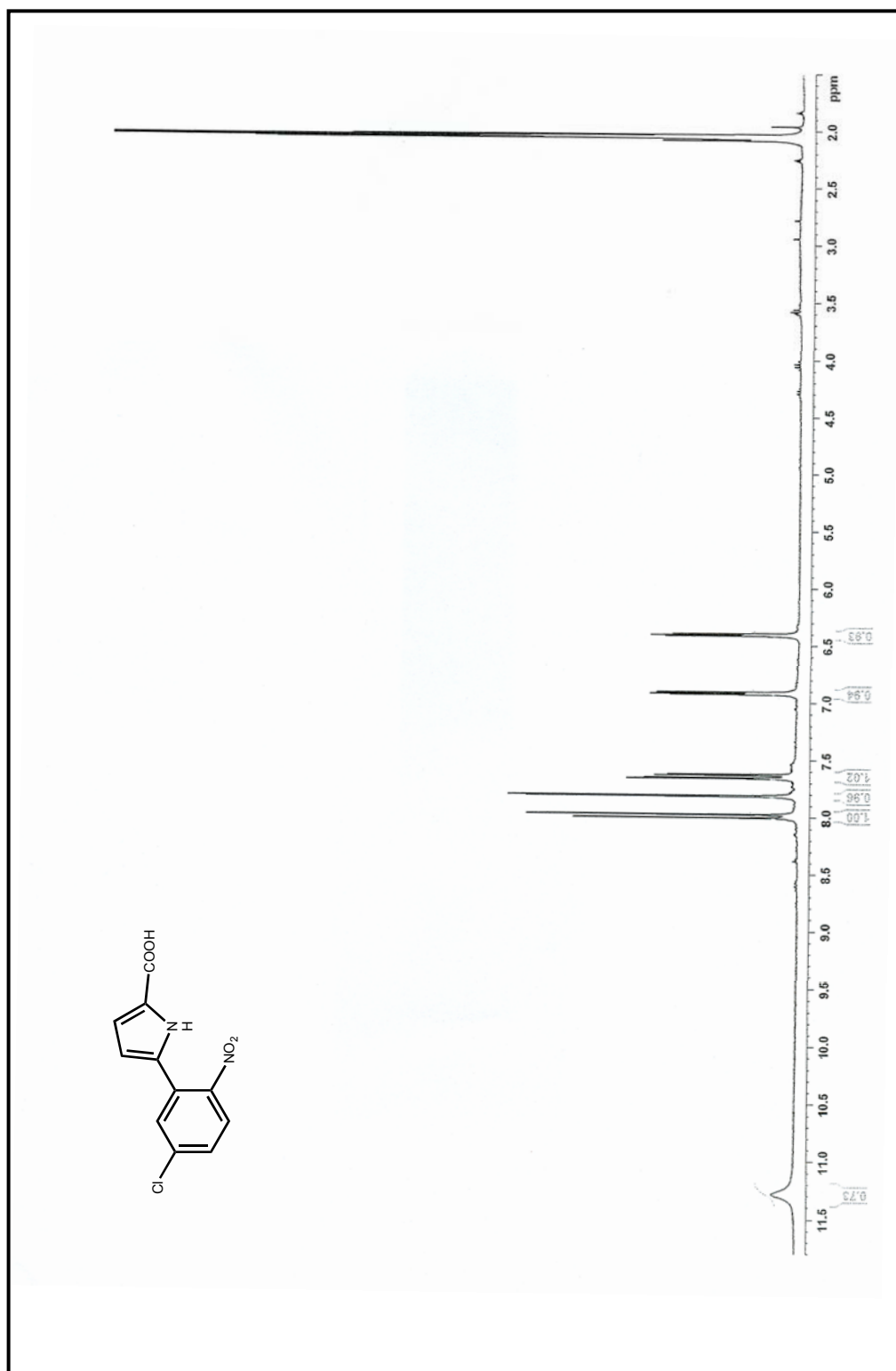


HMBC (Ampliación): 5-[2'-(5''-metoxi-2''-nitrofenil)vinil]-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **163**.

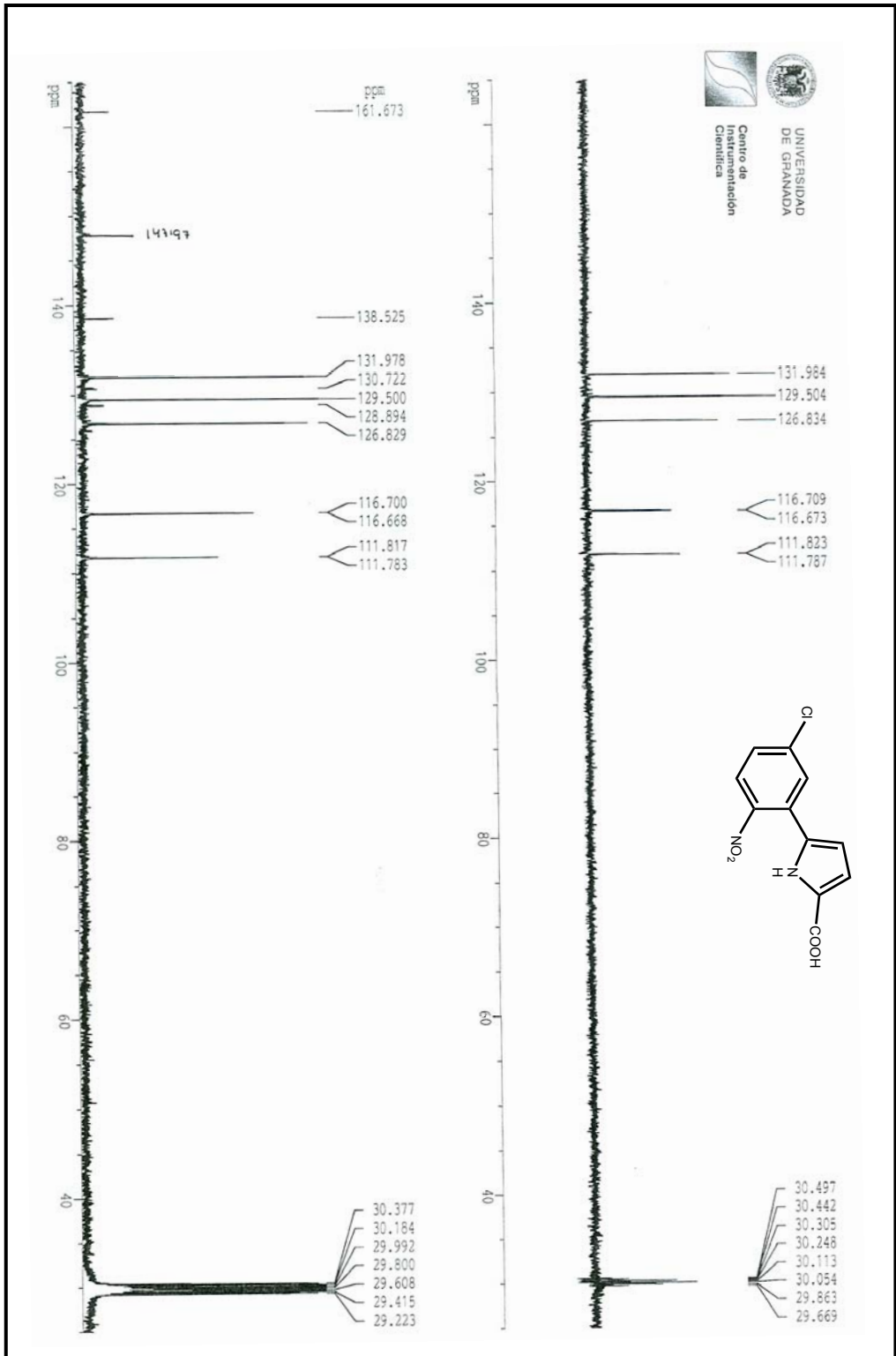


^{13}C -RMN: Ácido 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico **164**.

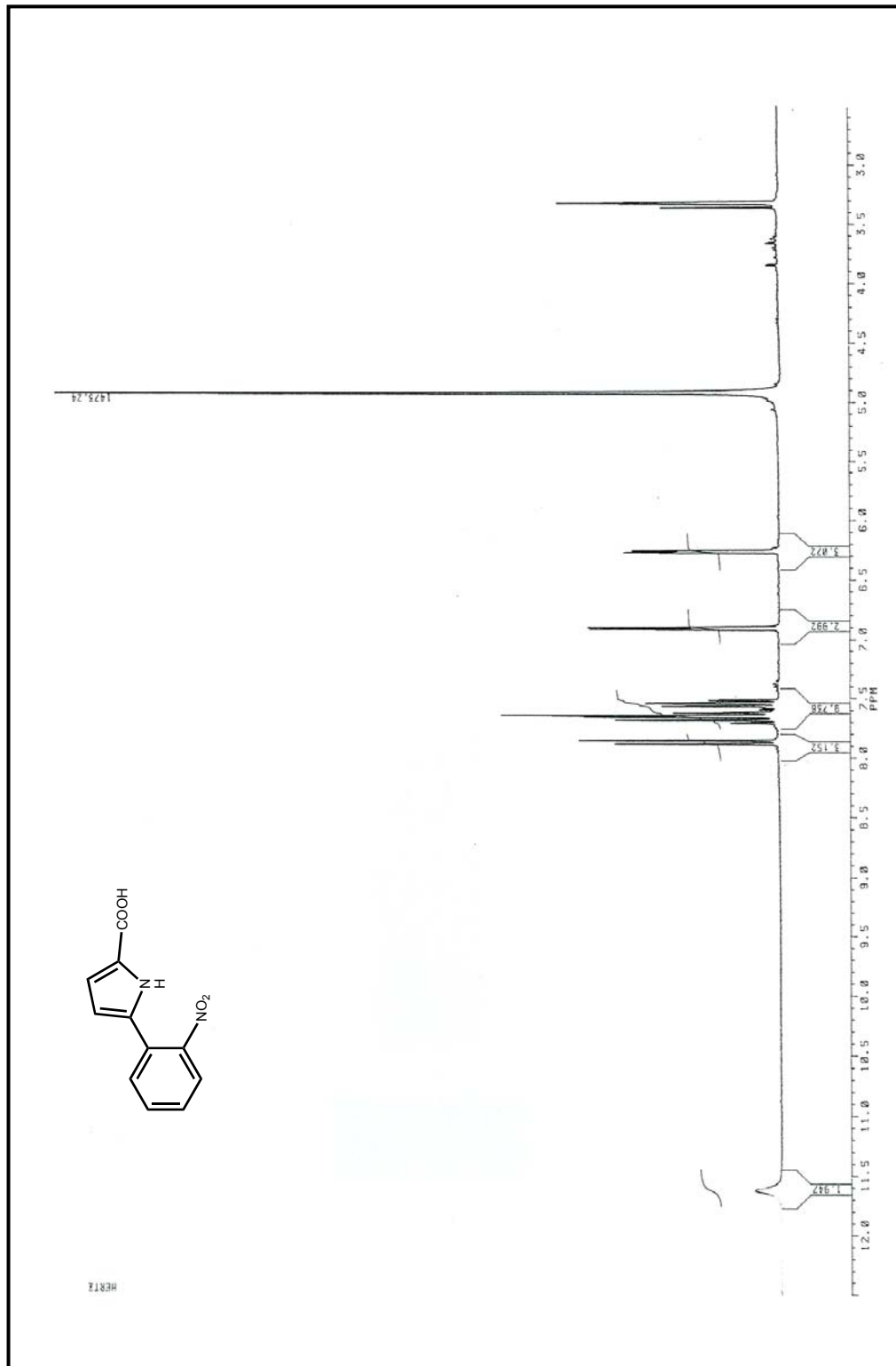




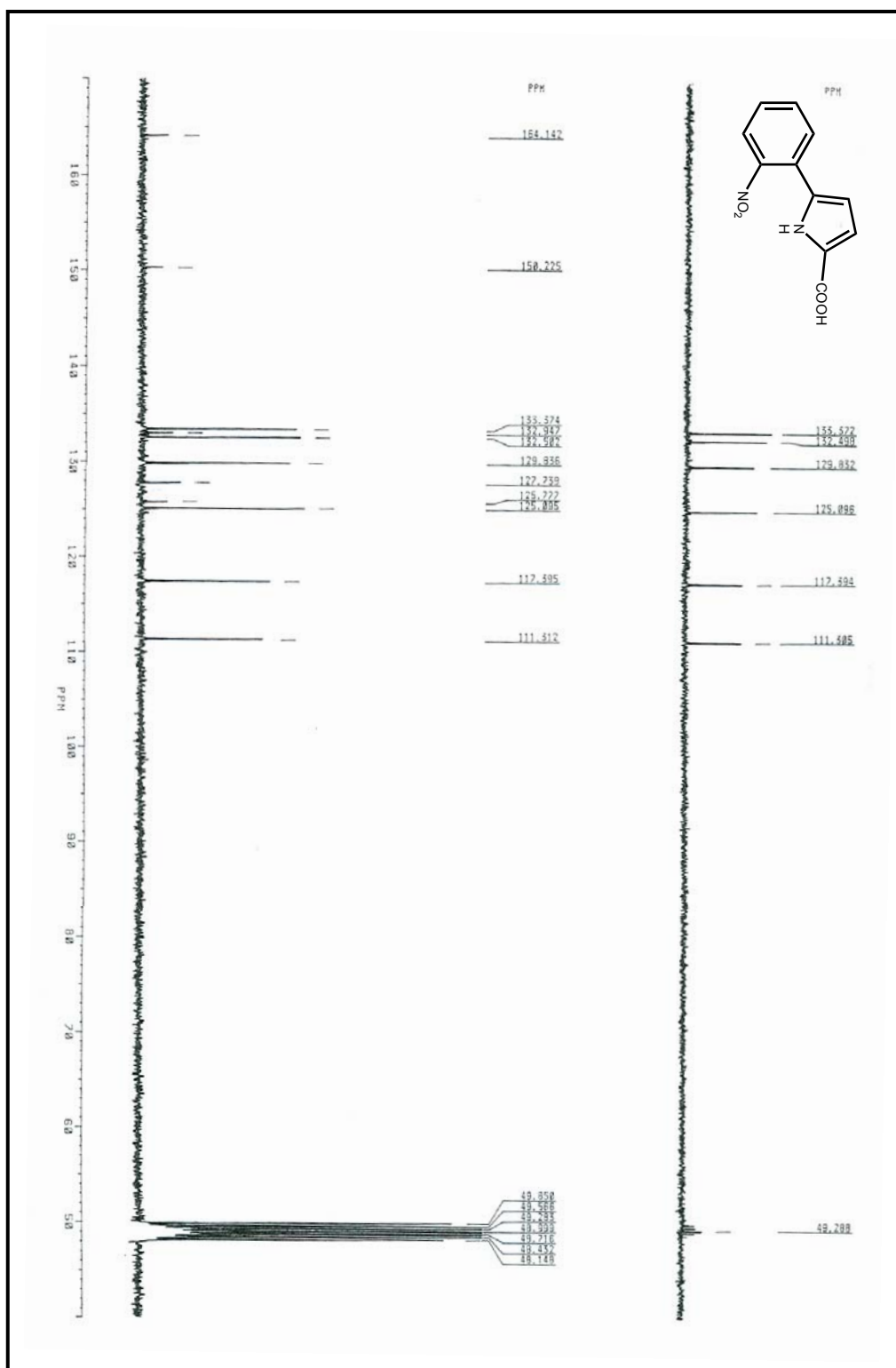
¹H-RMN: Ácido 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico **165**.



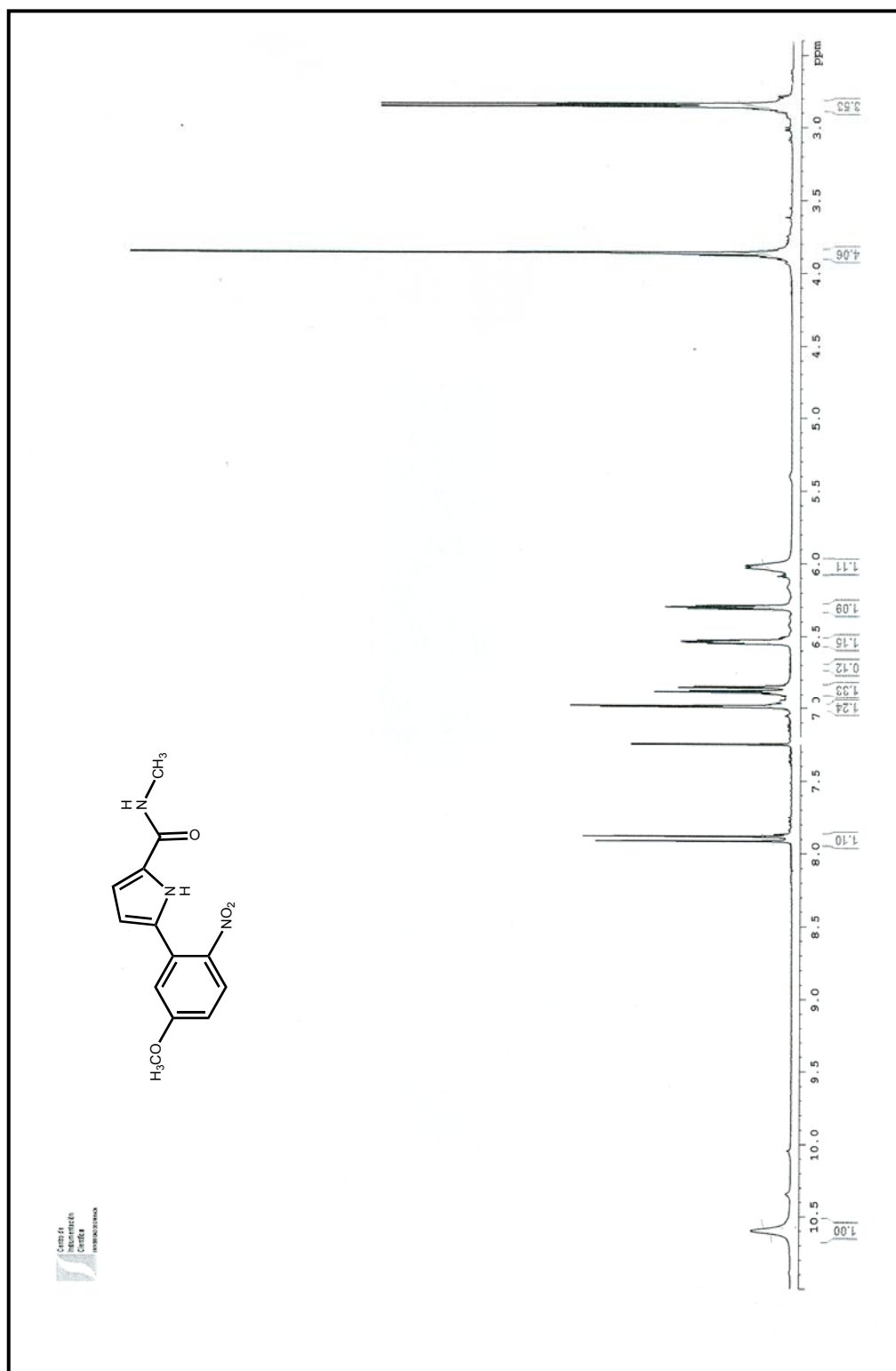
¹³C-RMN: Ácido 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico **165**.



¹H-RMN: Ácido 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico **166**.

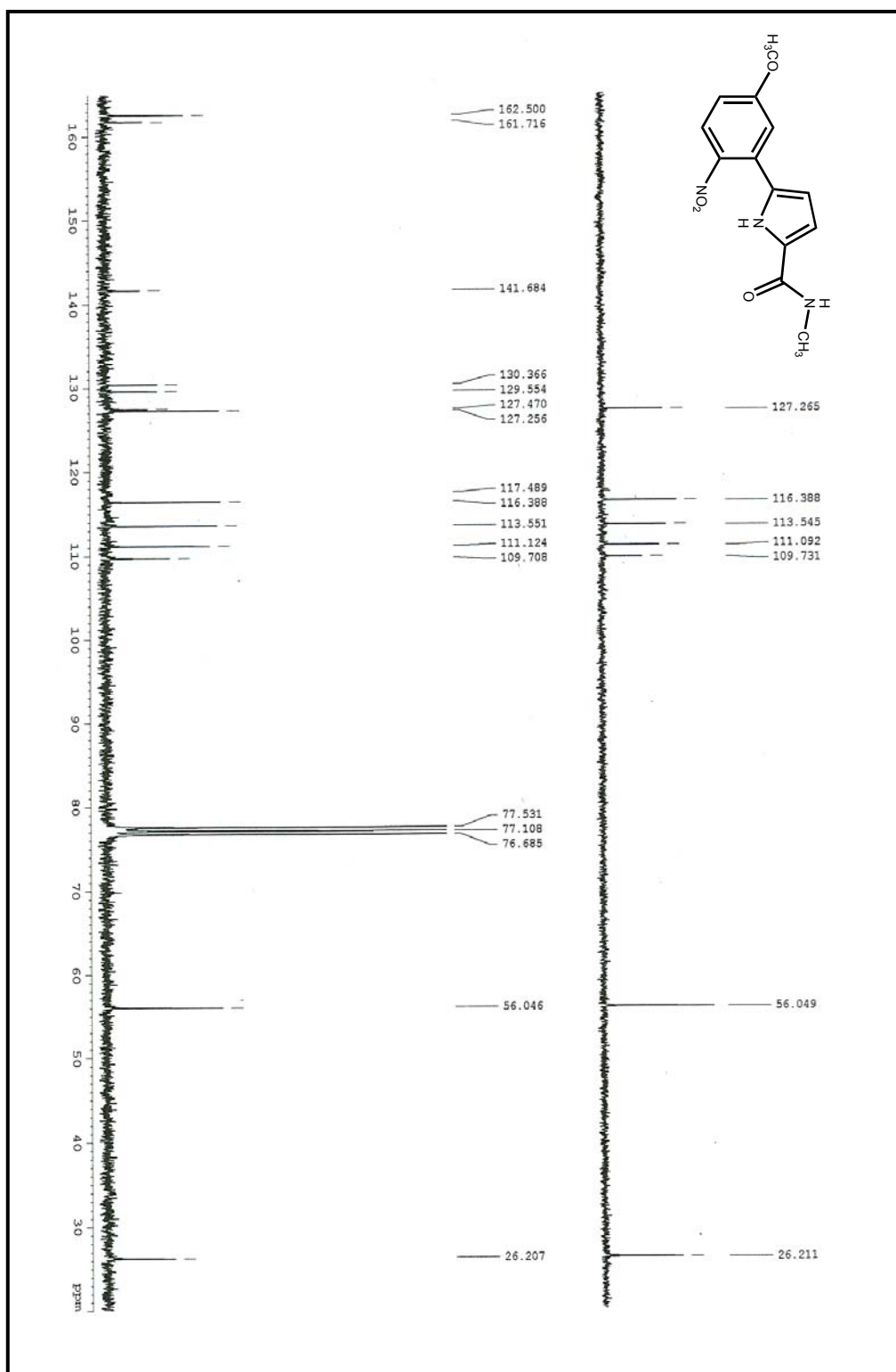


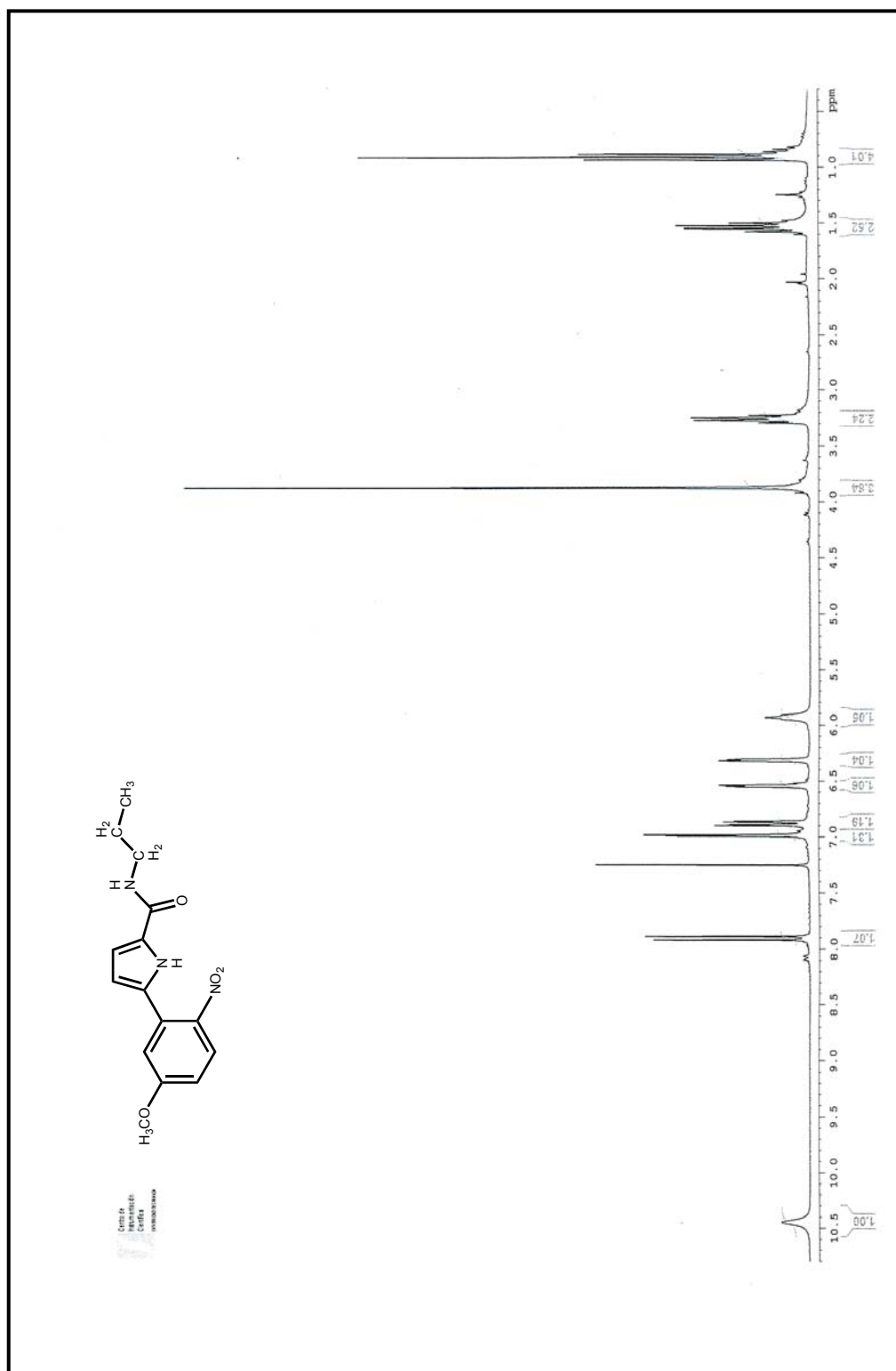
¹³C-RMN: Ácido 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxílico **166**.



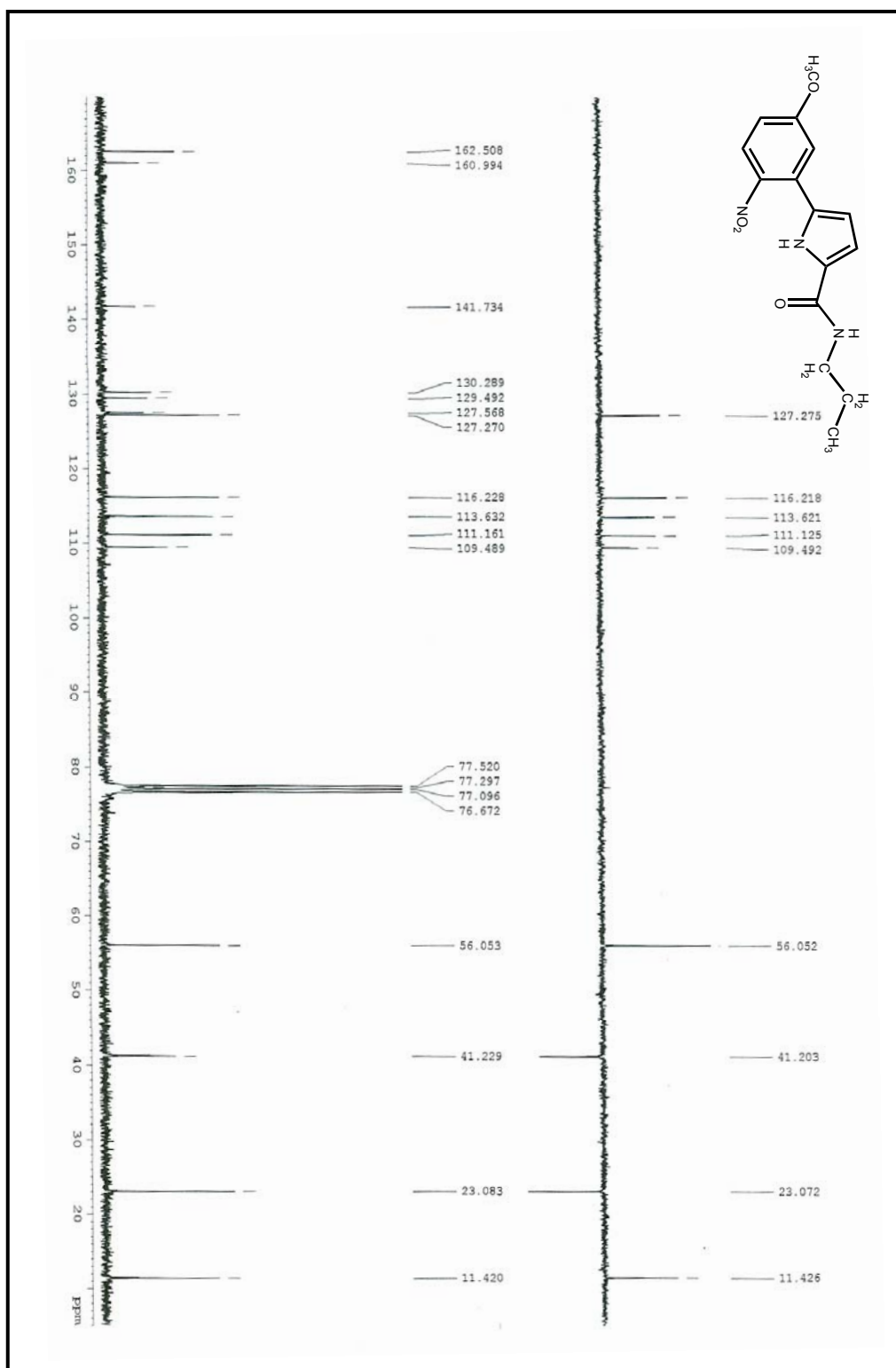
¹H-RMN: *N*-metil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **167**.

^{13}C -RMN: *N*-metil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **167**.

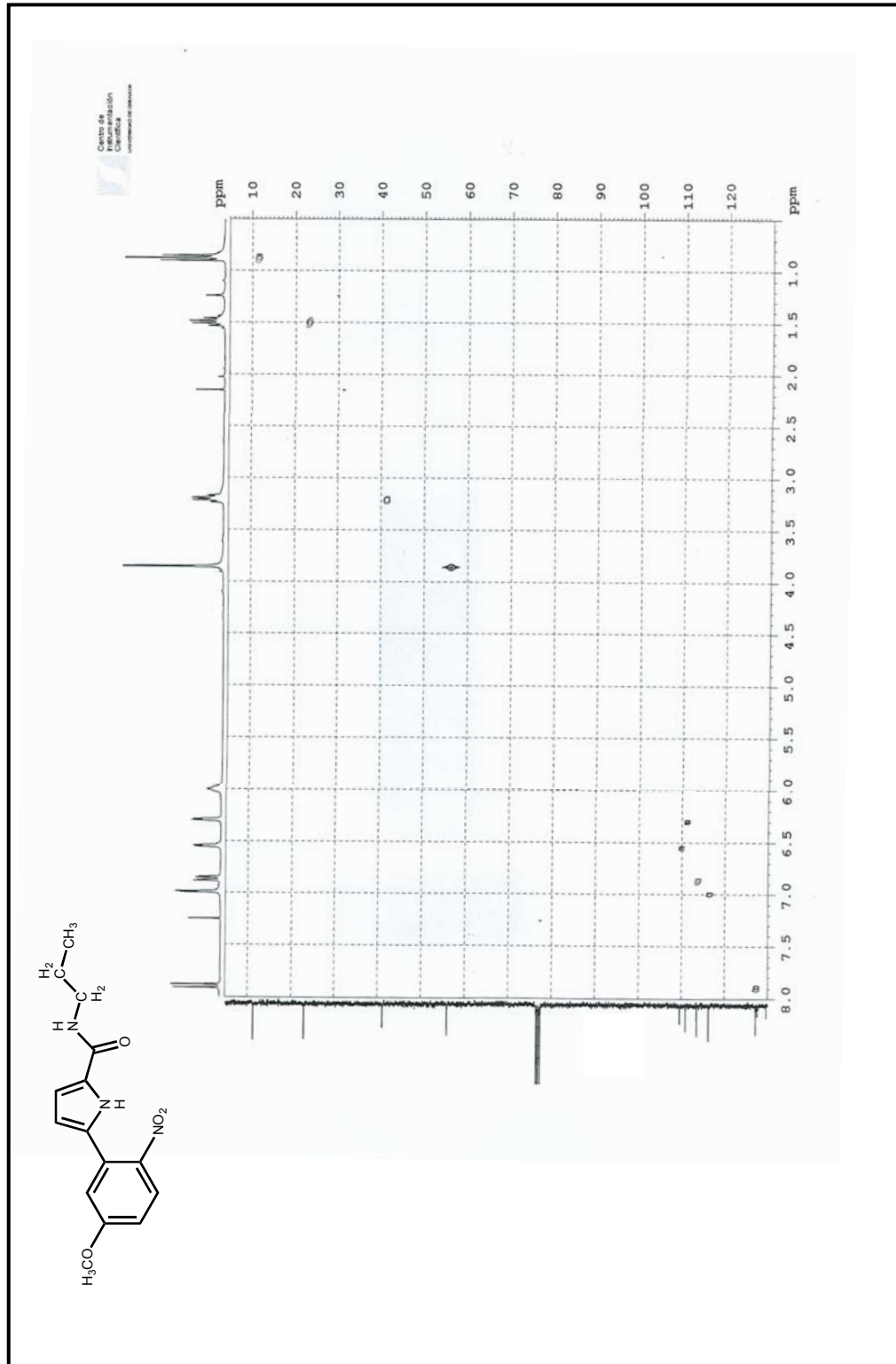




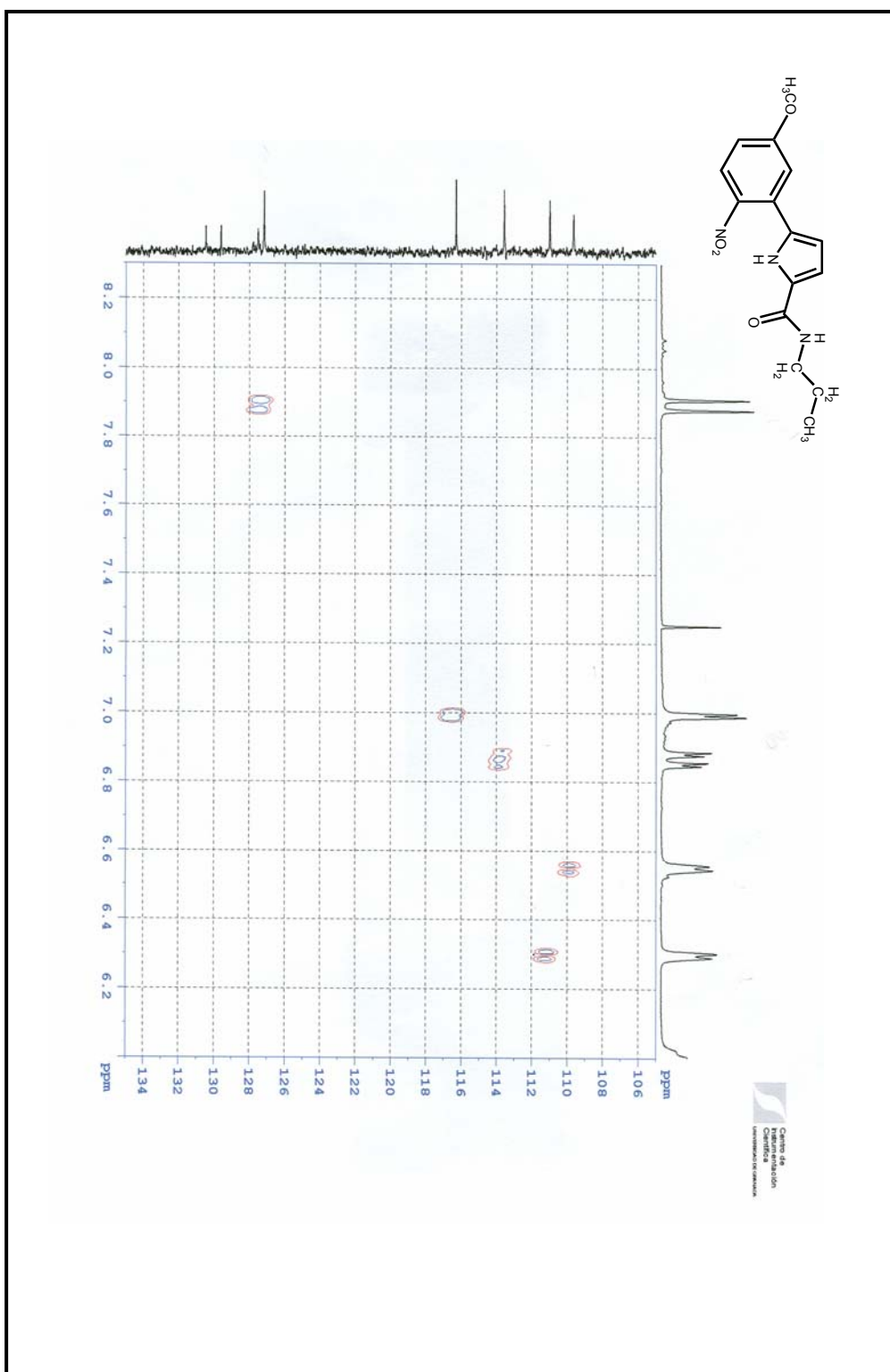
¹H-RMN: 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-N-propil-1H-pirrol-2-carboxamida **168**.



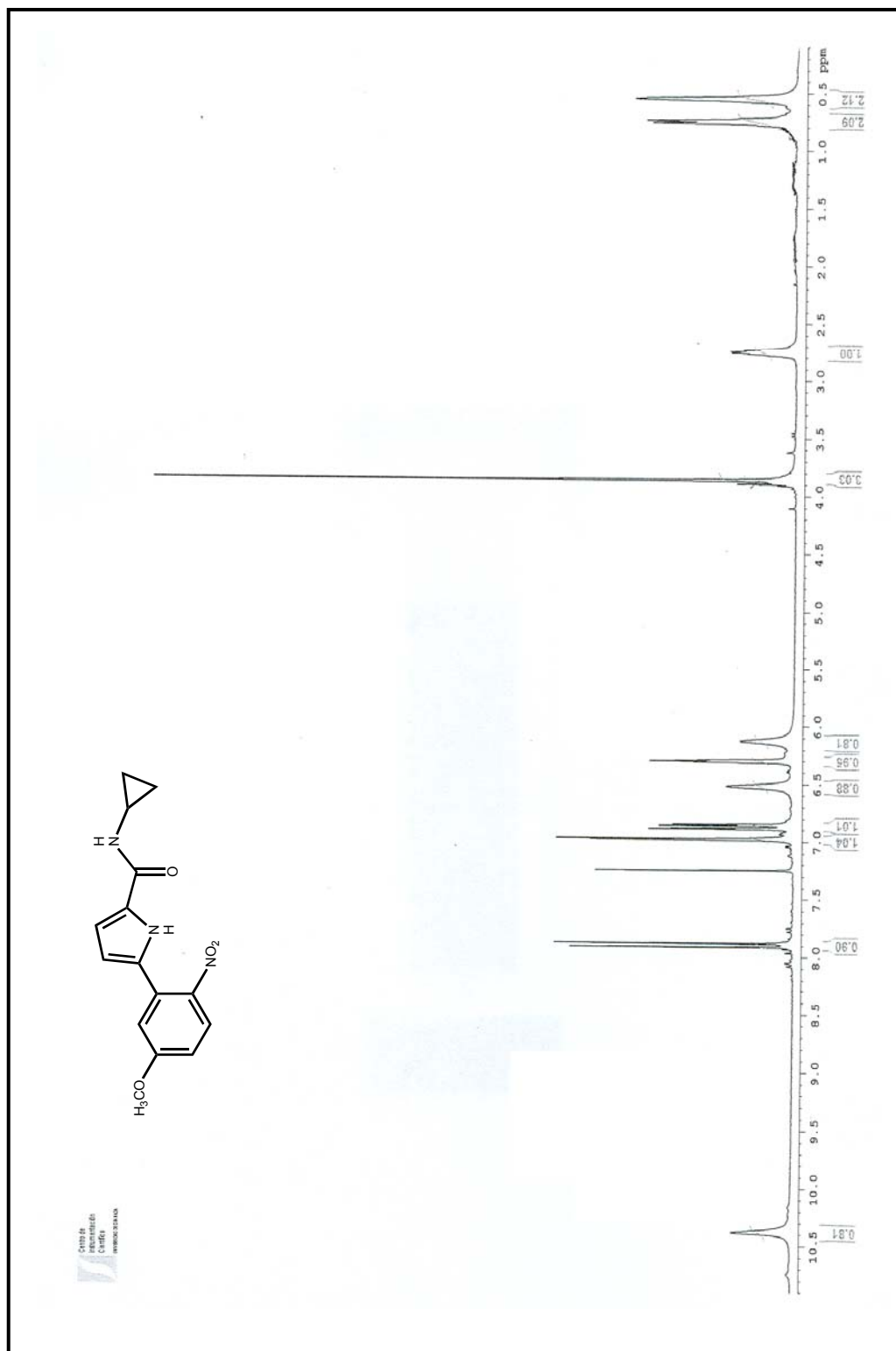
^{13}C -RMN : 5-(5-metoxi-2'-nitrofenil)-N-propil-1H-pirrol-2-carboxamida **168**.



¹³C-NMR: 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-N-propil-1H-pirrol-2-carboxamida **168**.

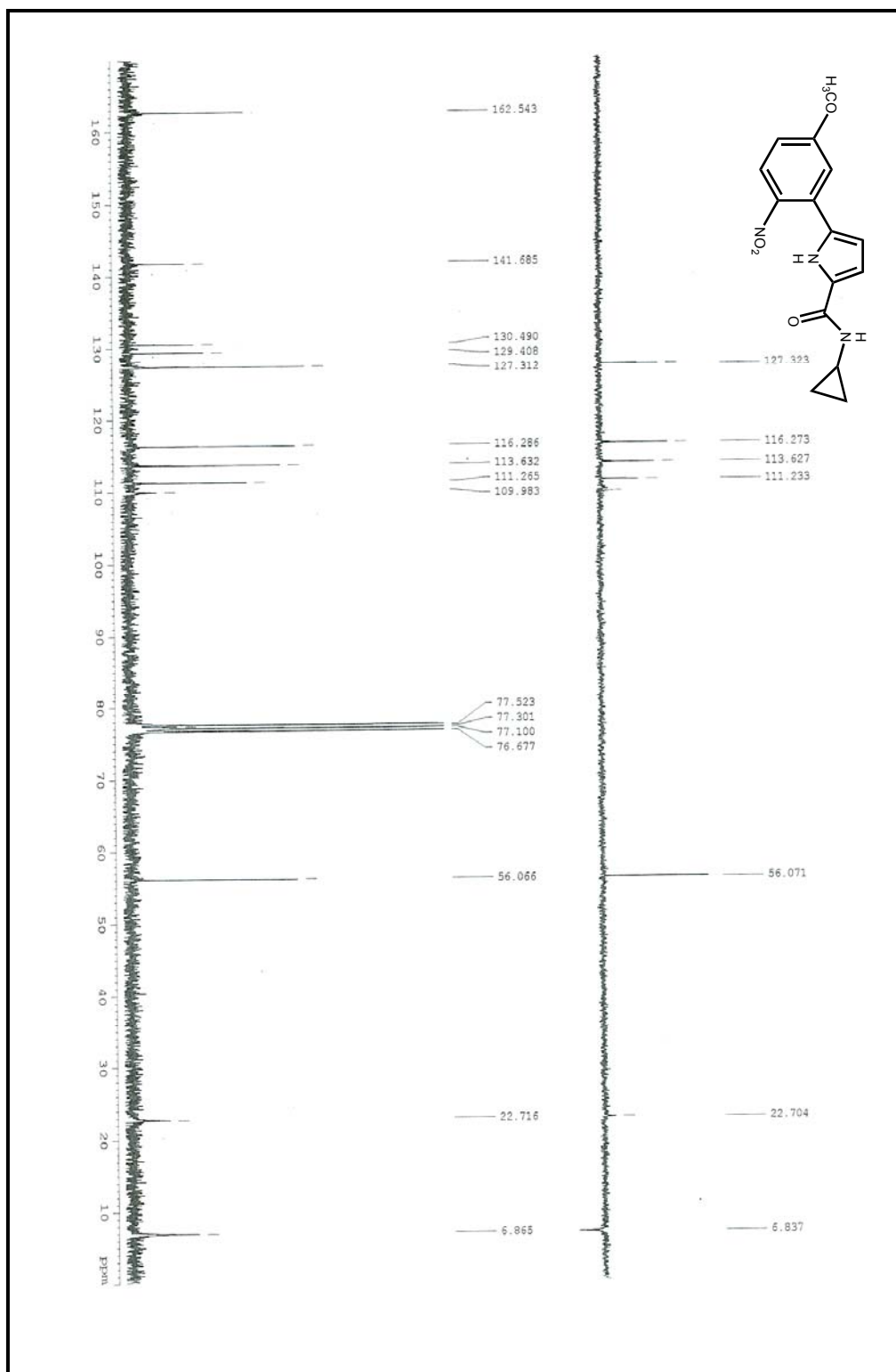


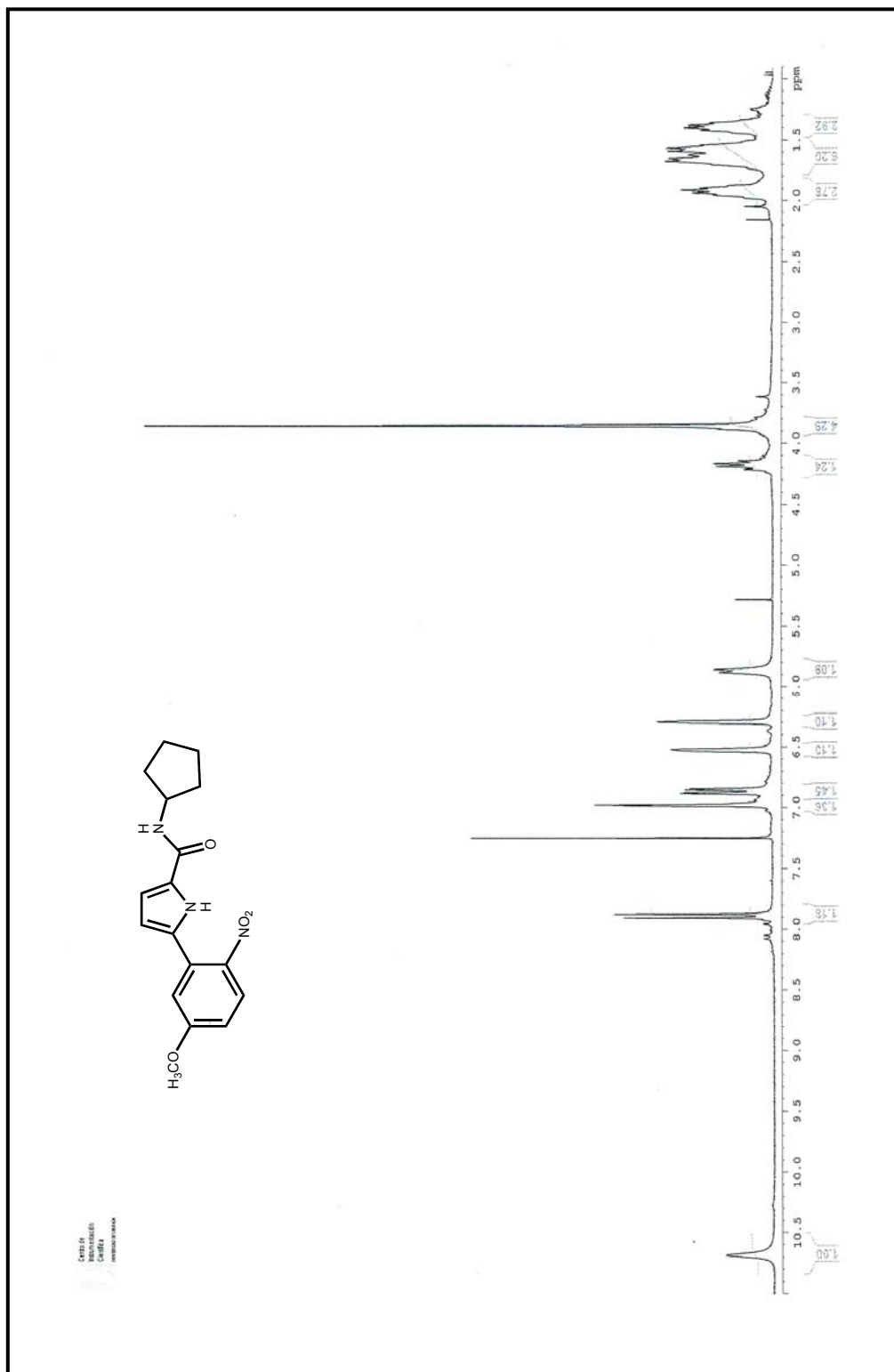
^{13}C -RMN : 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-N-propil-1H-pirrol-2-carboxamida **168**.



¹H-RMN: *N*-ciclopropil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **169**.

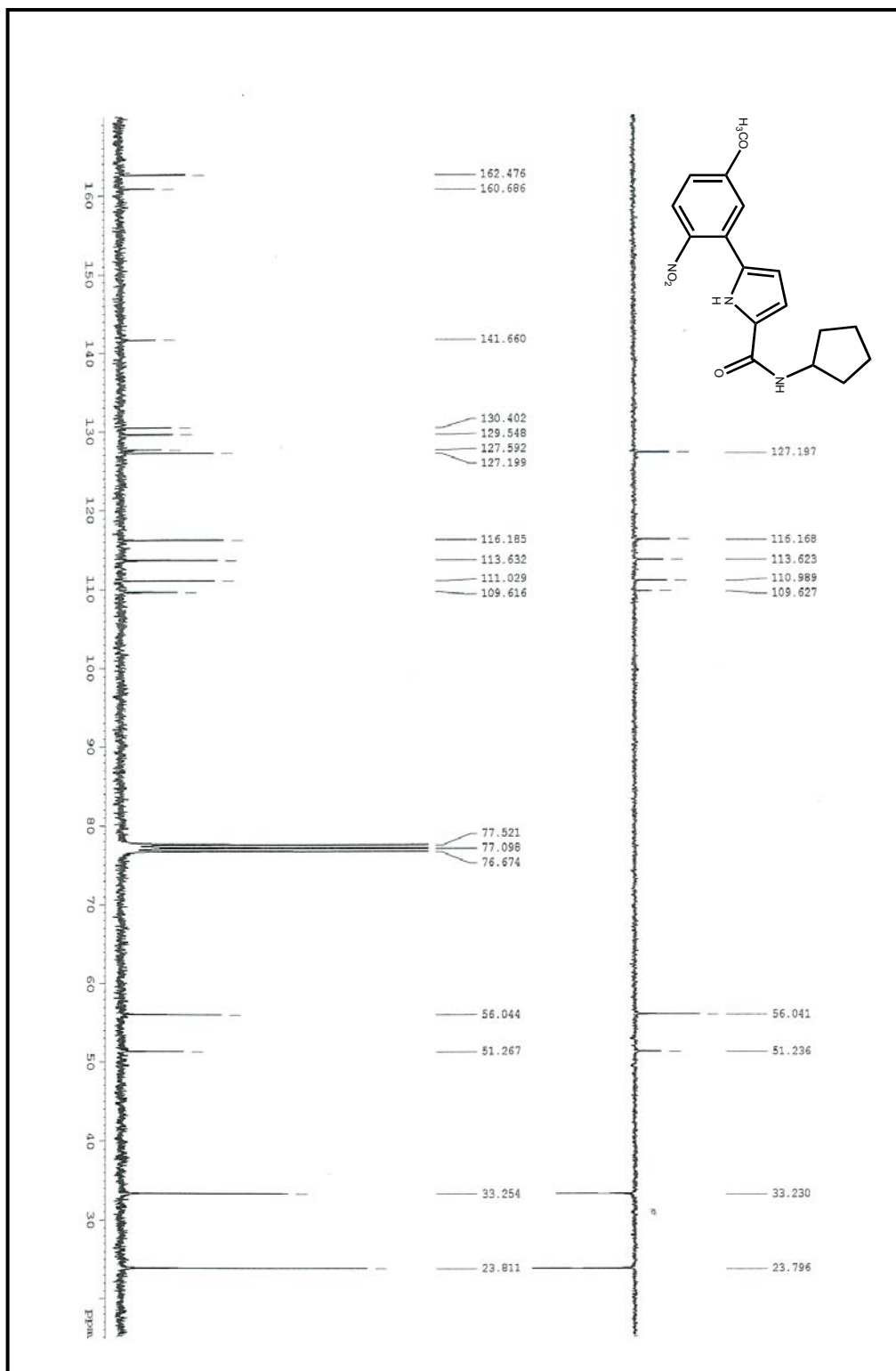
^{13}C -RMN: *N*-ciclopropil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **169**.

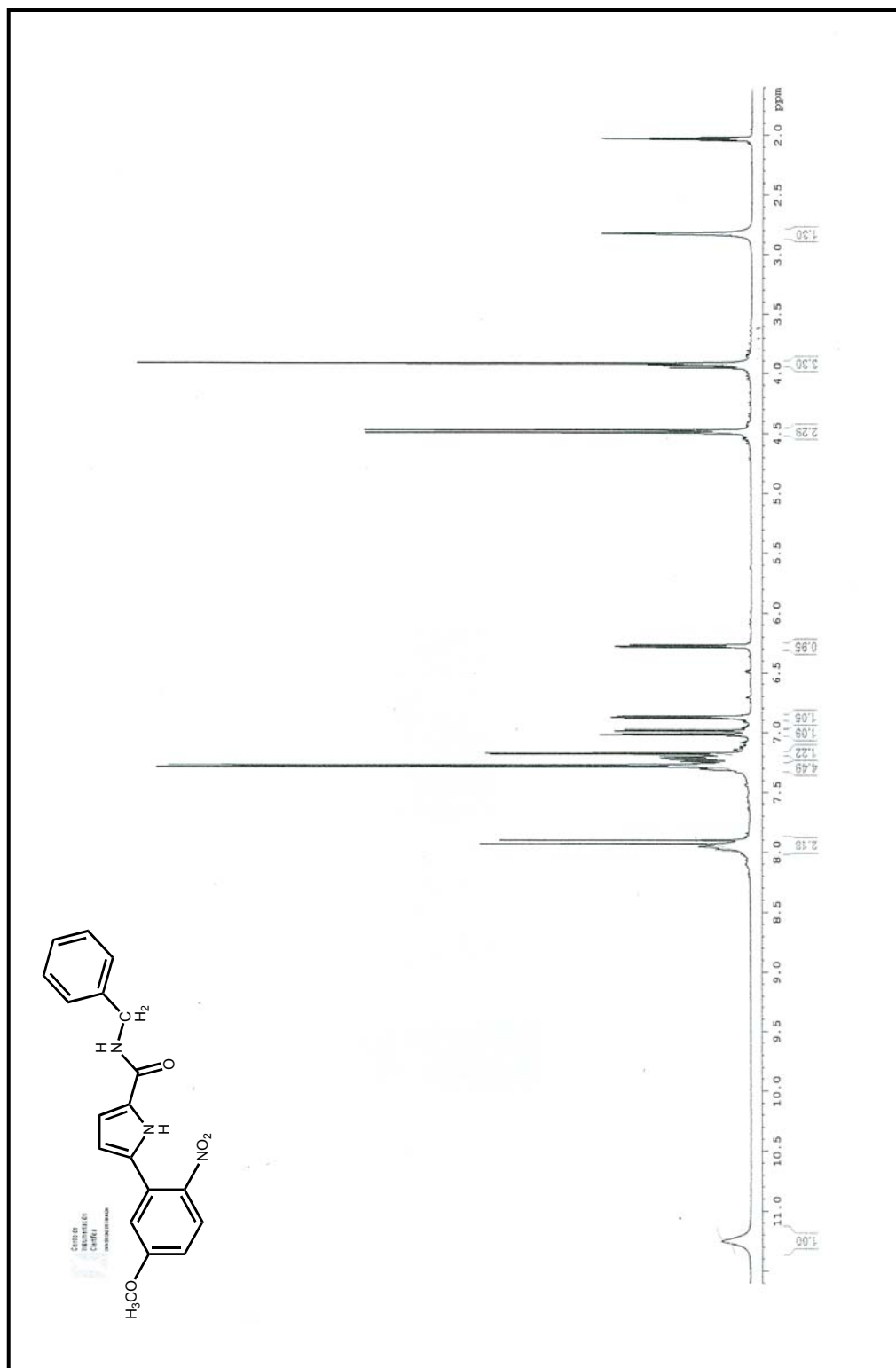




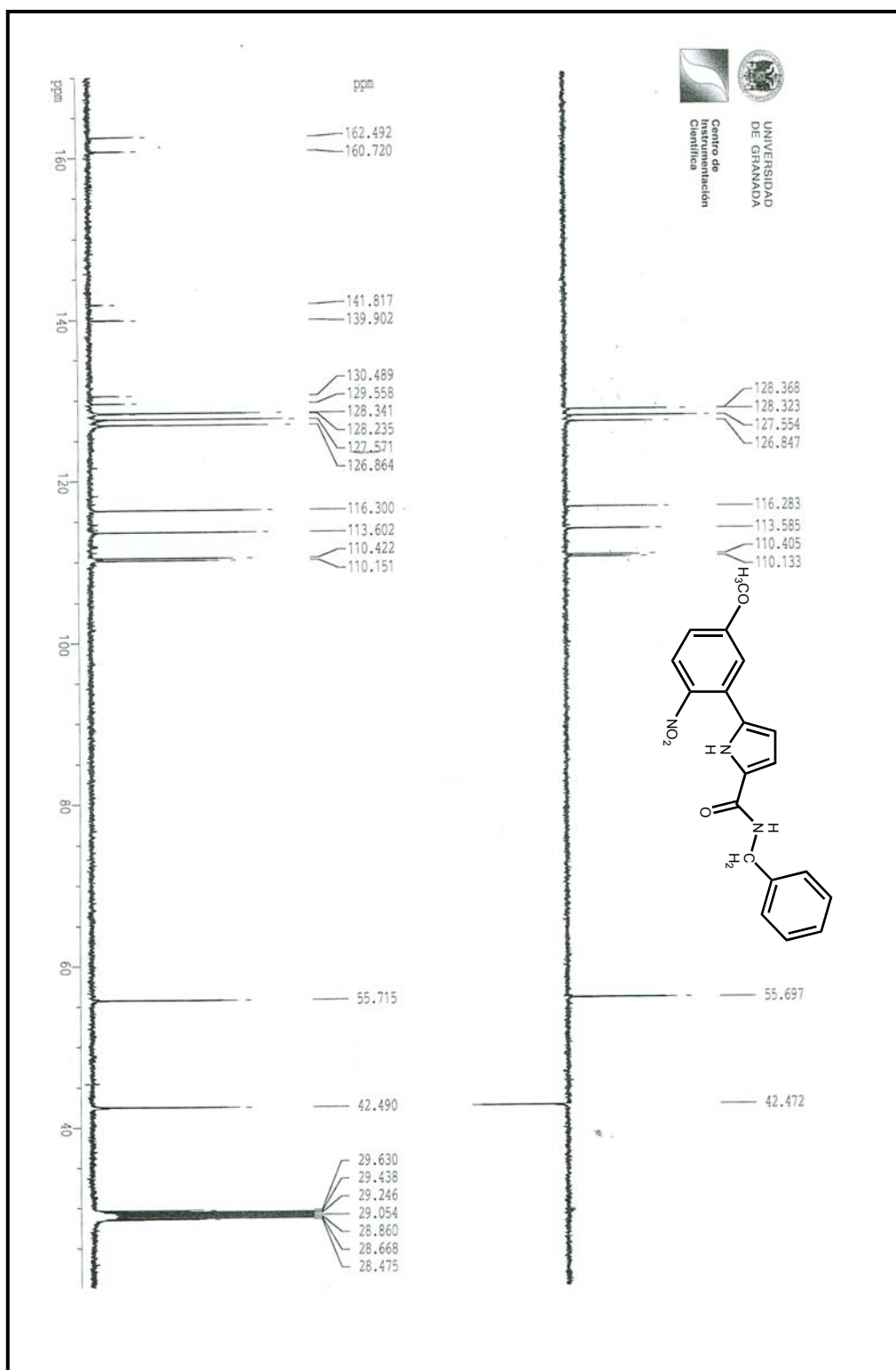
¹H-RMN: N-ciclopentil-5-(5-metoxi-2-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **170**.

^{13}C -RMN: *N*-ácido pentil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **170**.

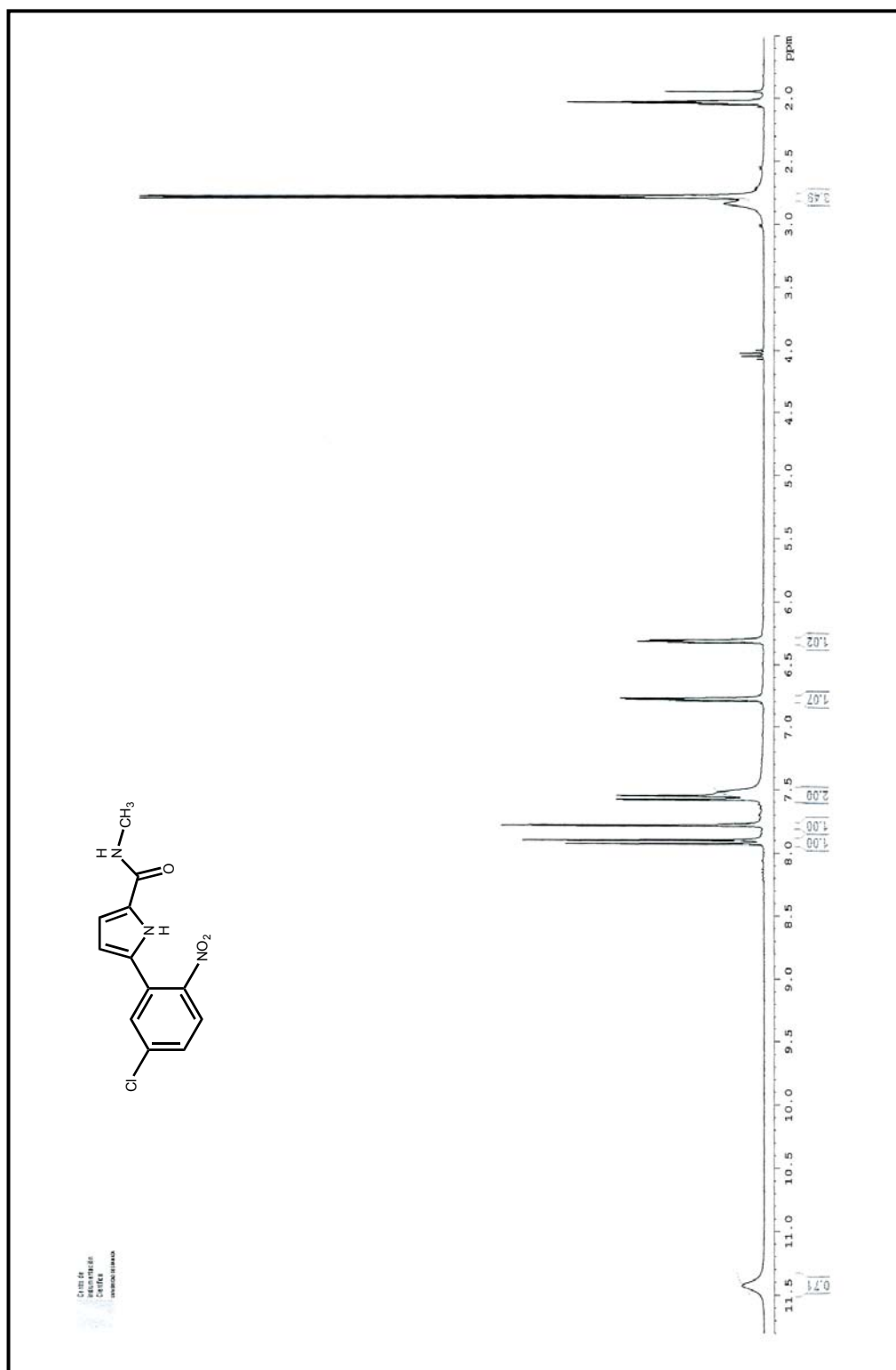




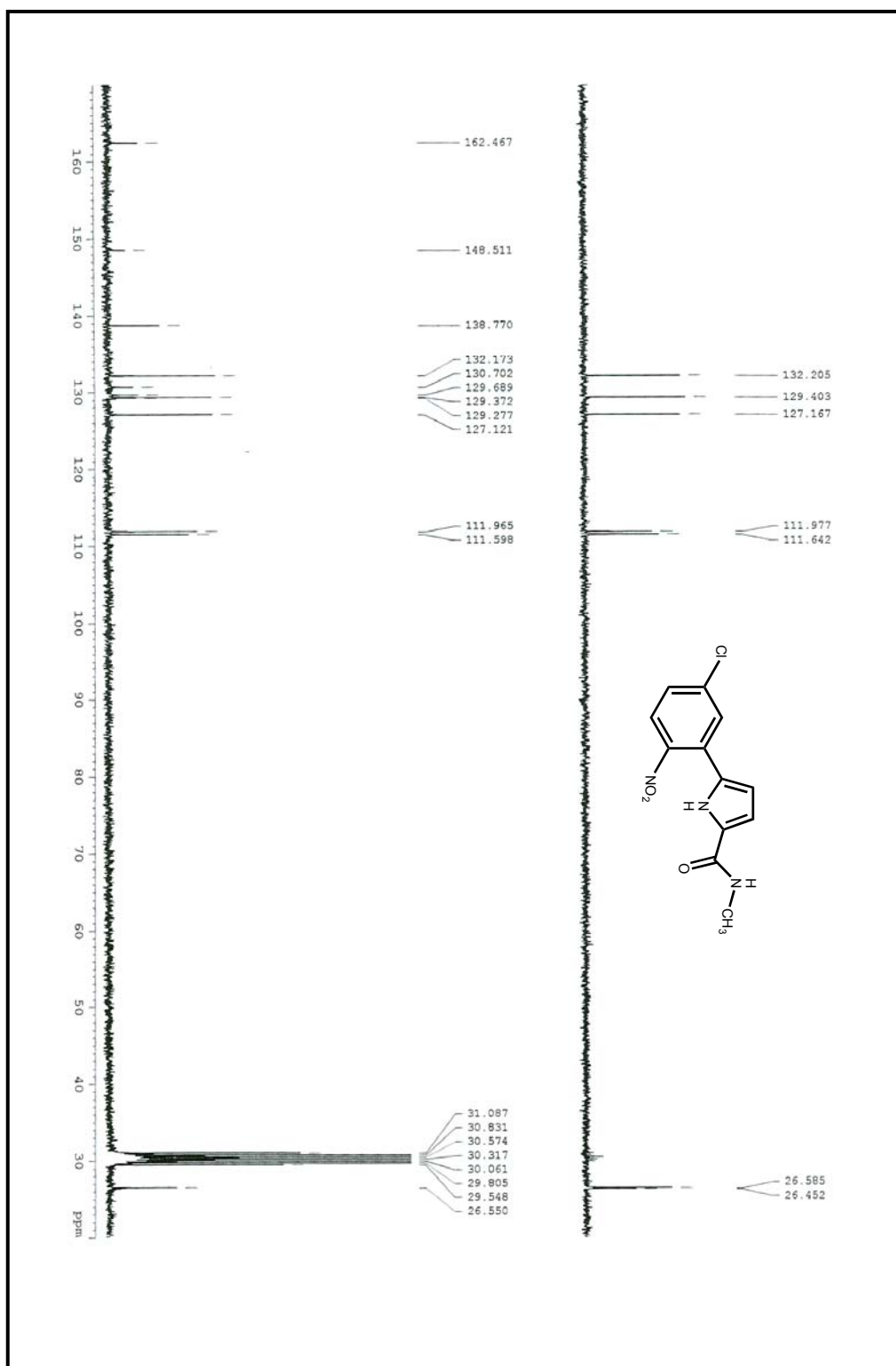
$^1\text{H-NMR}$: *N*-bencil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **171**.



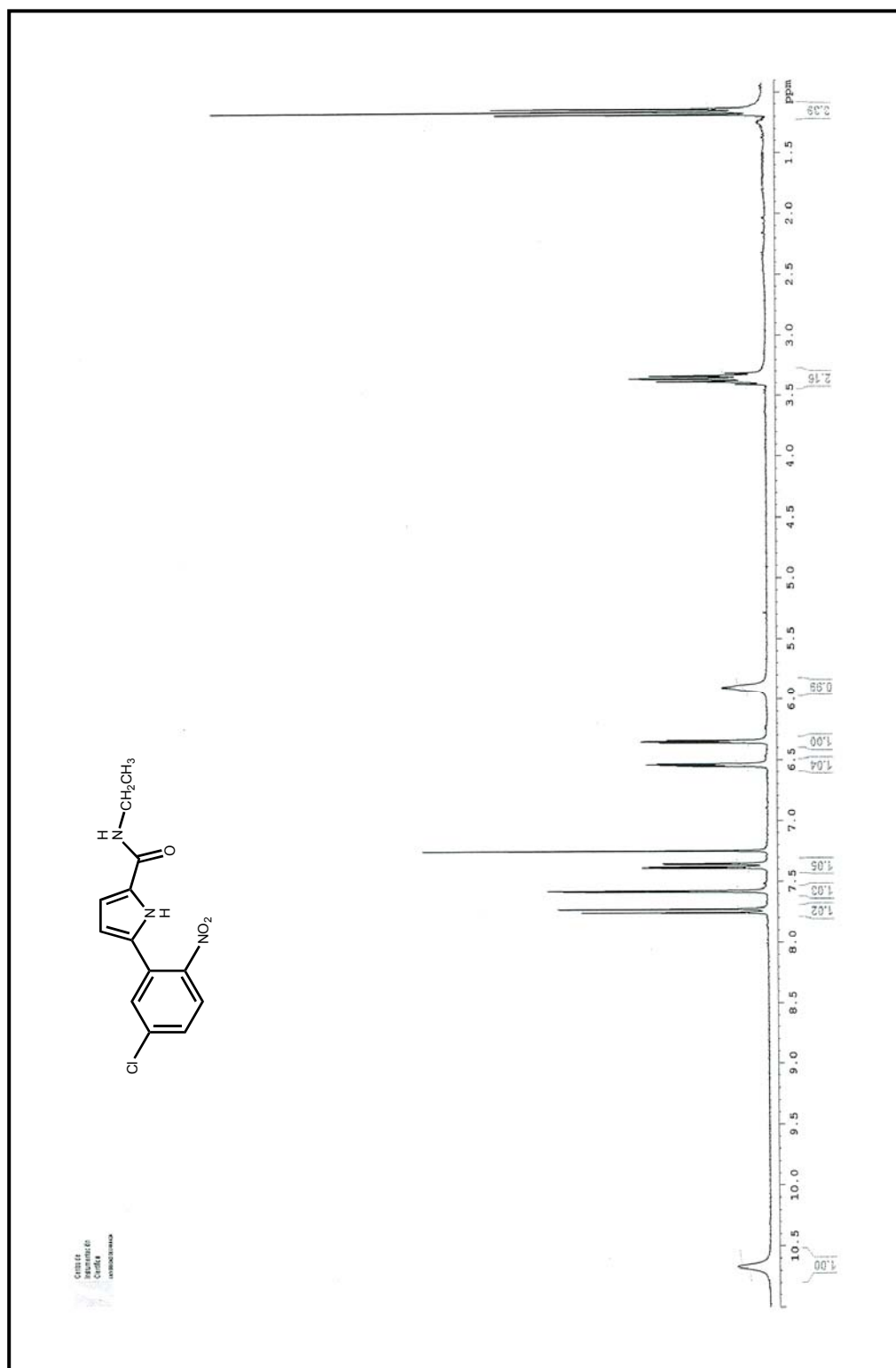
$^{13}\text{C-RMN}$: *M*-bencil-5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **171**.



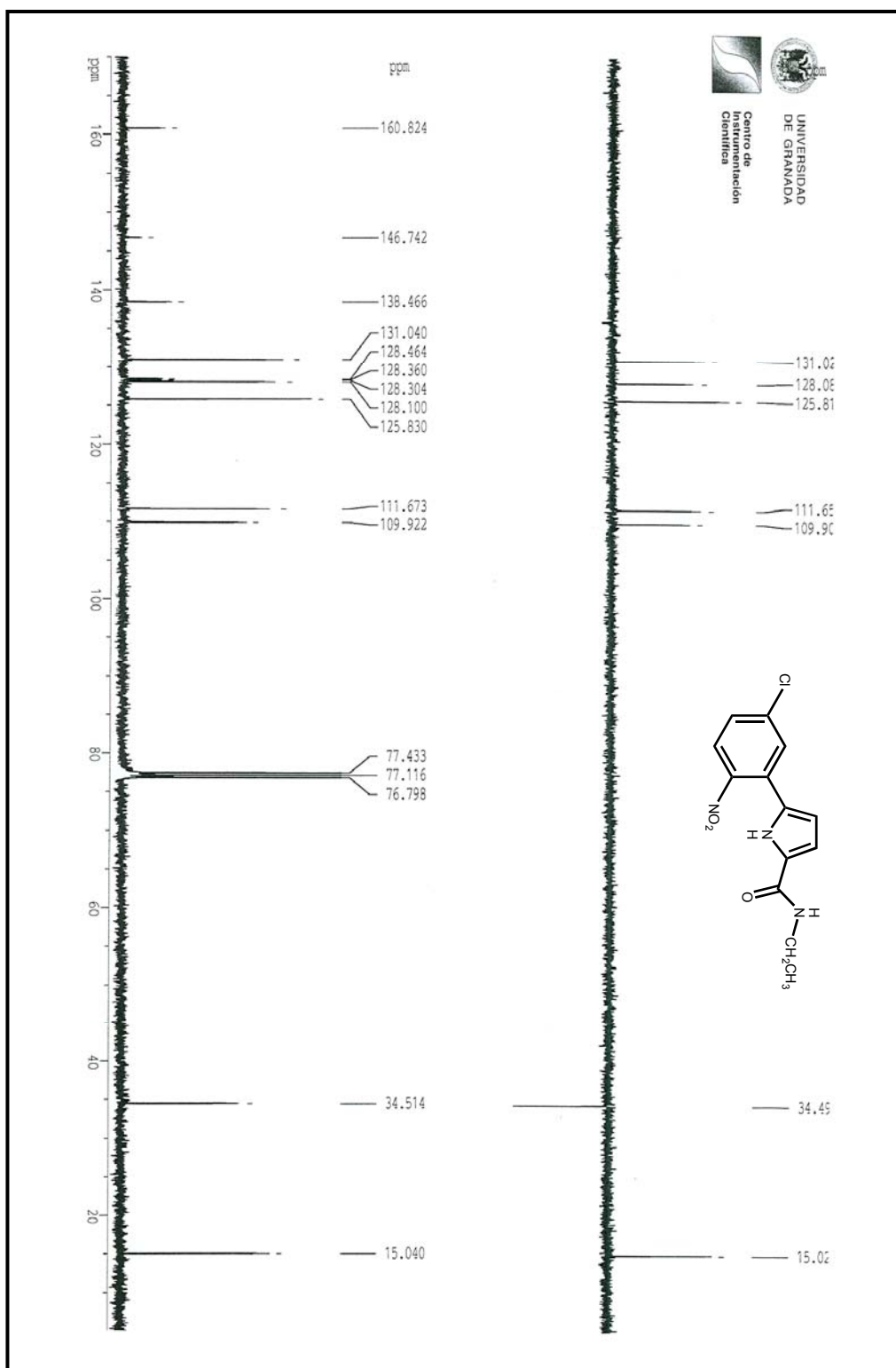
¹H-RMN: 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-N-metil-1H-pirrol-2-carboxamida **172**.



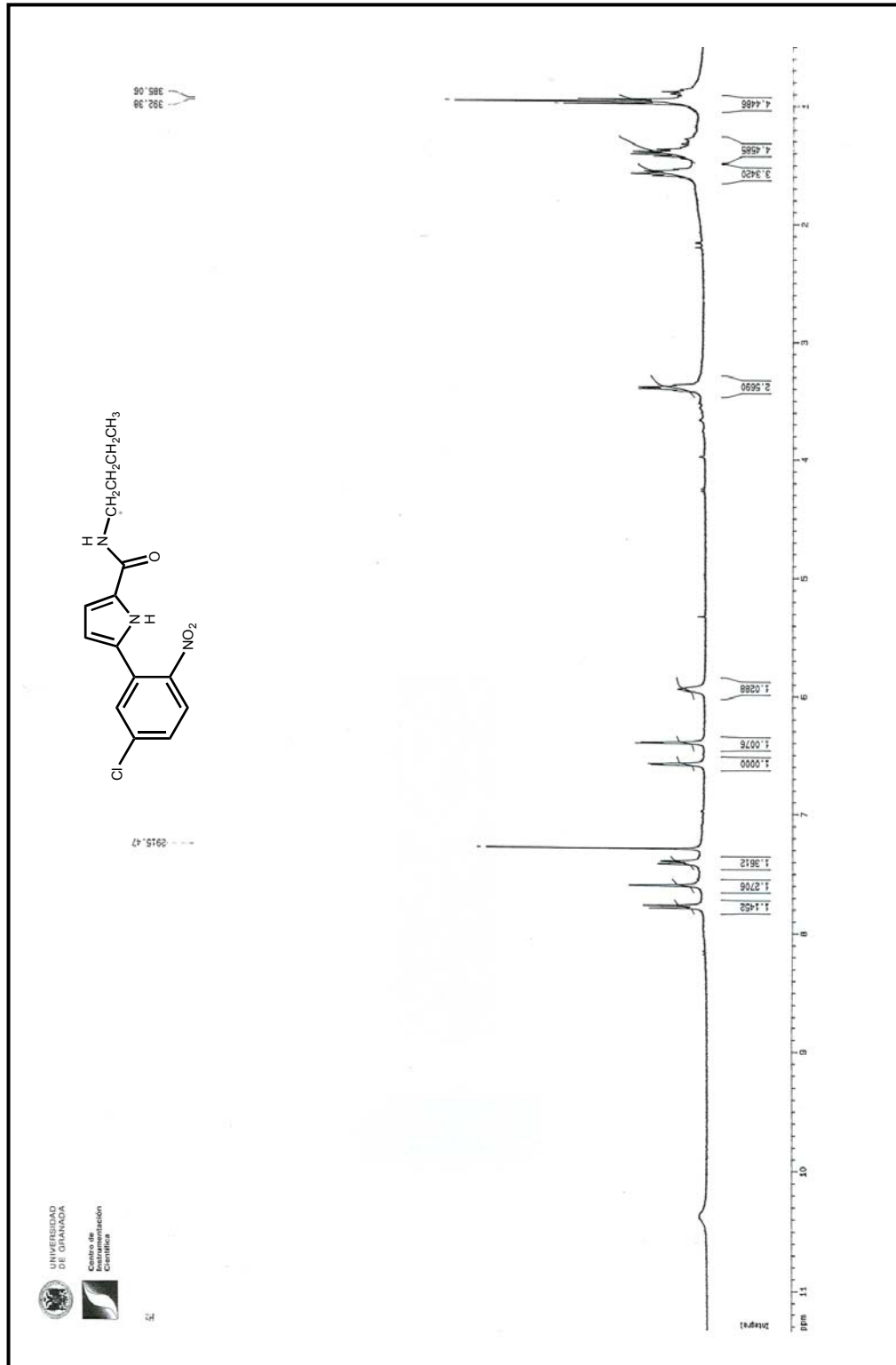
¹³C-RMN: 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-N-metil-1H-pirrol-2-carboxamida **172**.



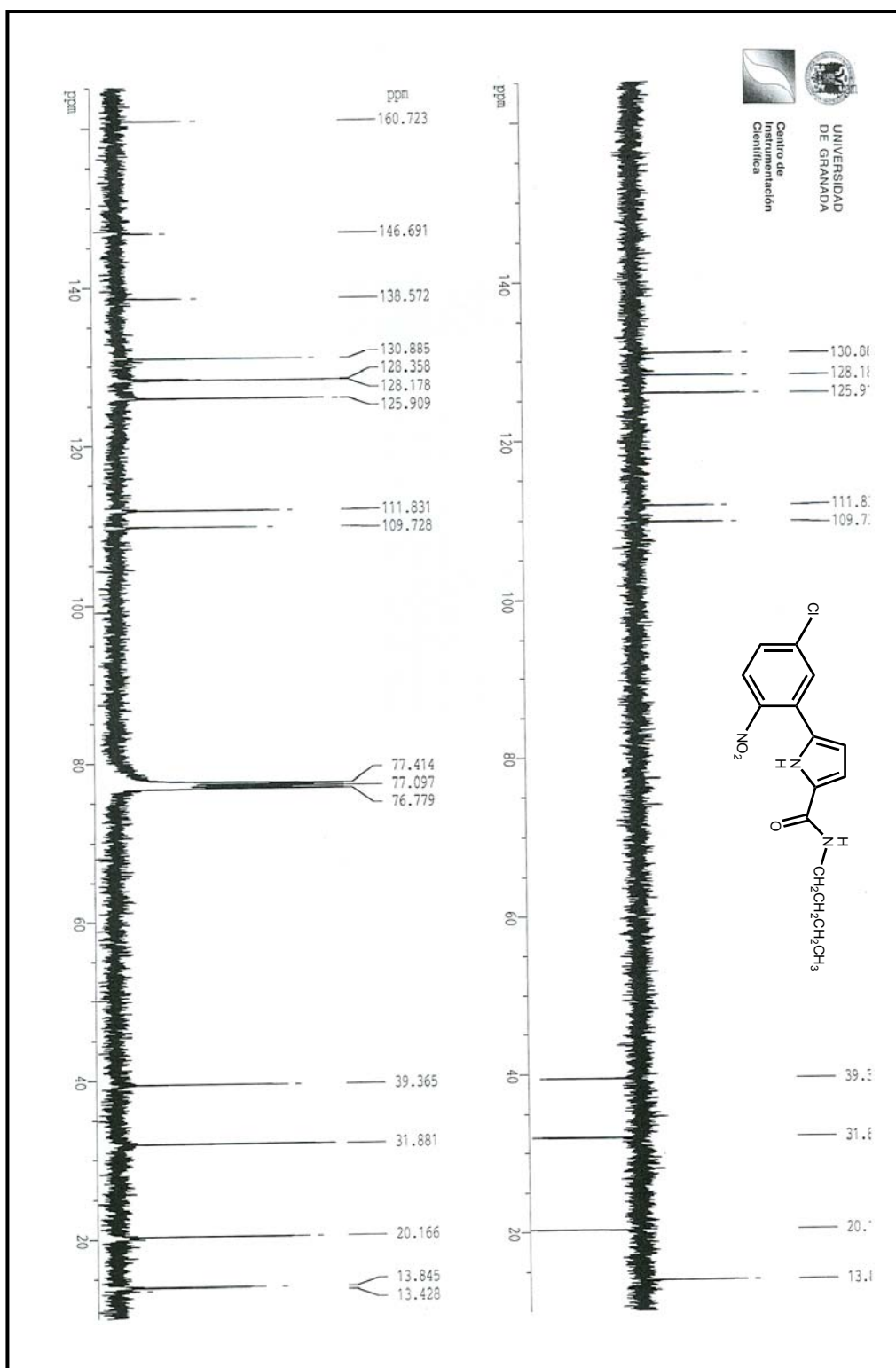
¹H-RMN: 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-N-etil-1H-pirrol-2-carboxamida **173**.



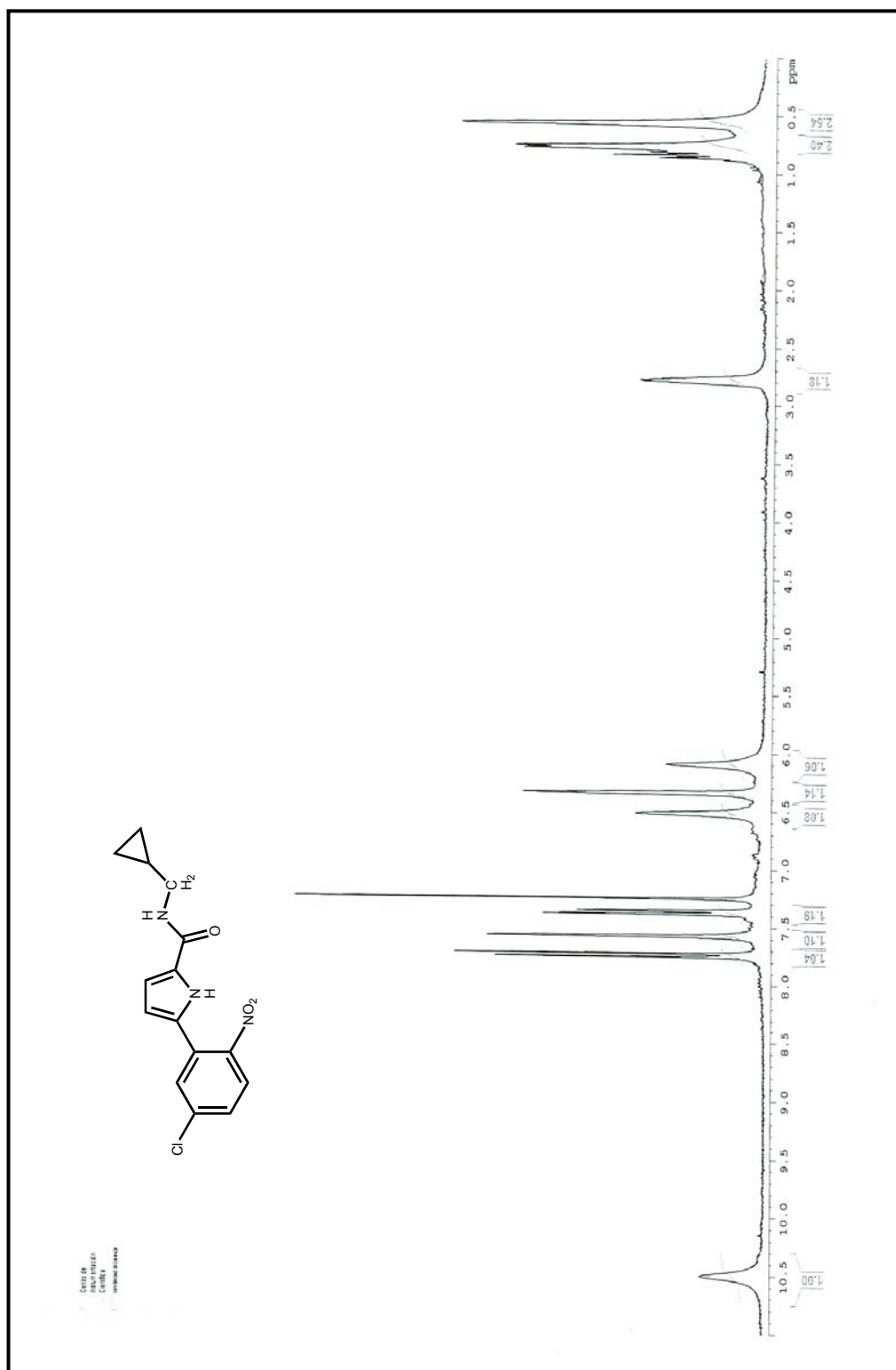
¹³C-RMN: 5-(5-chloro-2-nitrofenil)-N-etil-1H-pirrol-2-carboxamida **173**.



¹H-RMN: *N*-butil-5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **174**.



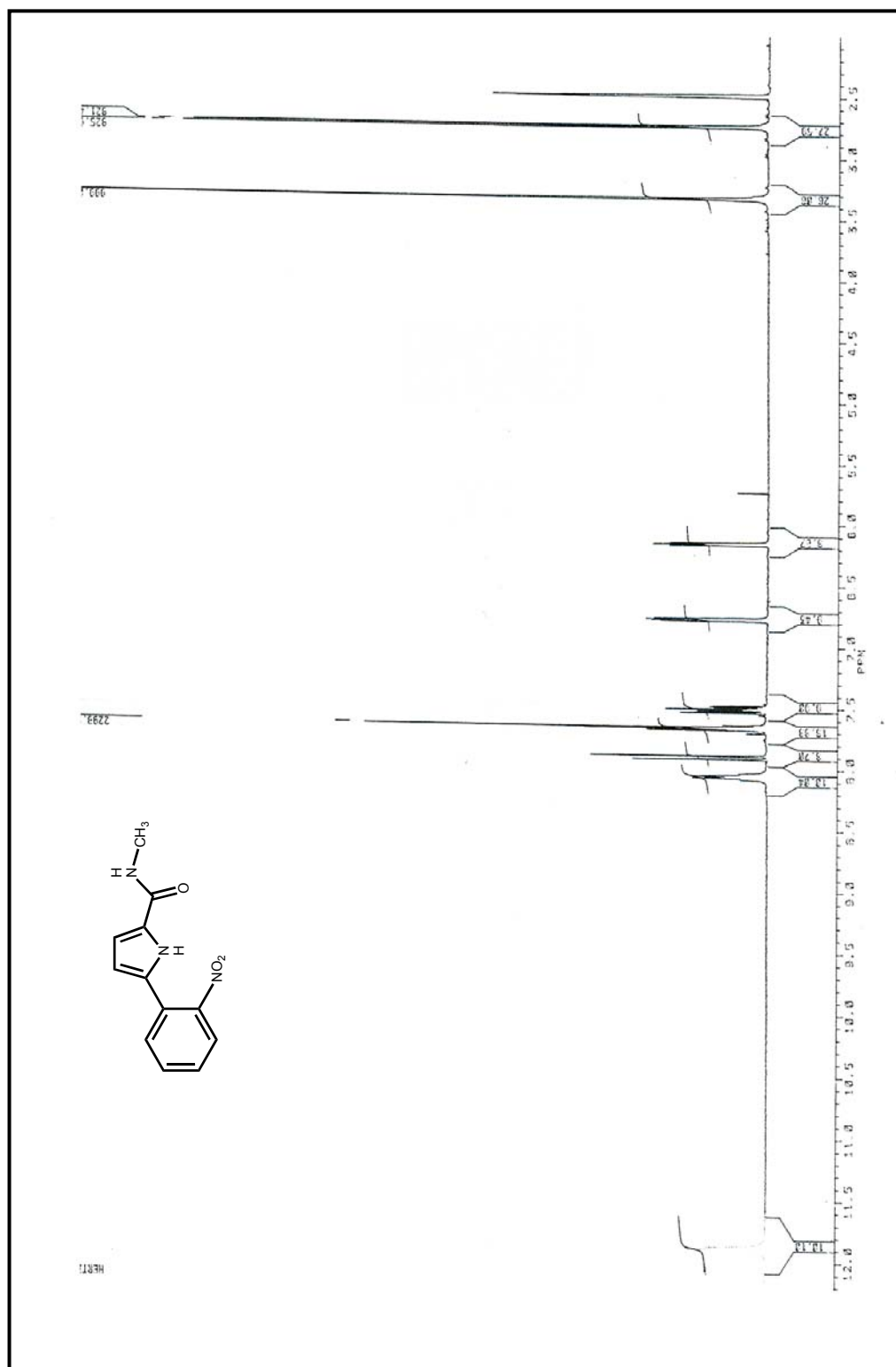
¹³C-RMN: N-butyl-5-(5-chloro-2-nitrophenyl)-1H-pyrrol-2-carboxamida **174**.



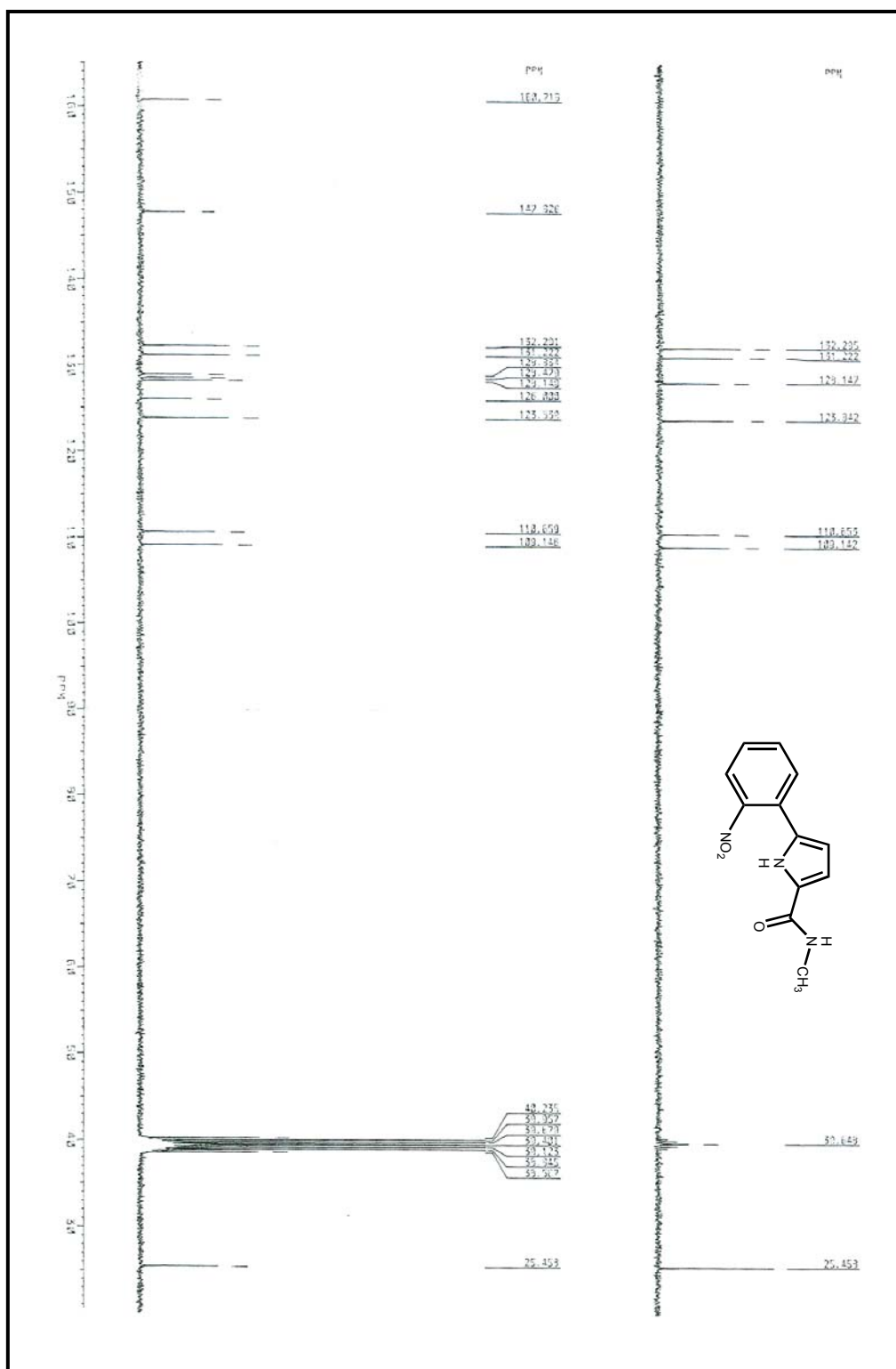
¹H-RMN: *N*-ciclopropil-5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **175**.

^{13}C -RMN: *N*-ciclopropil-5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **175**.

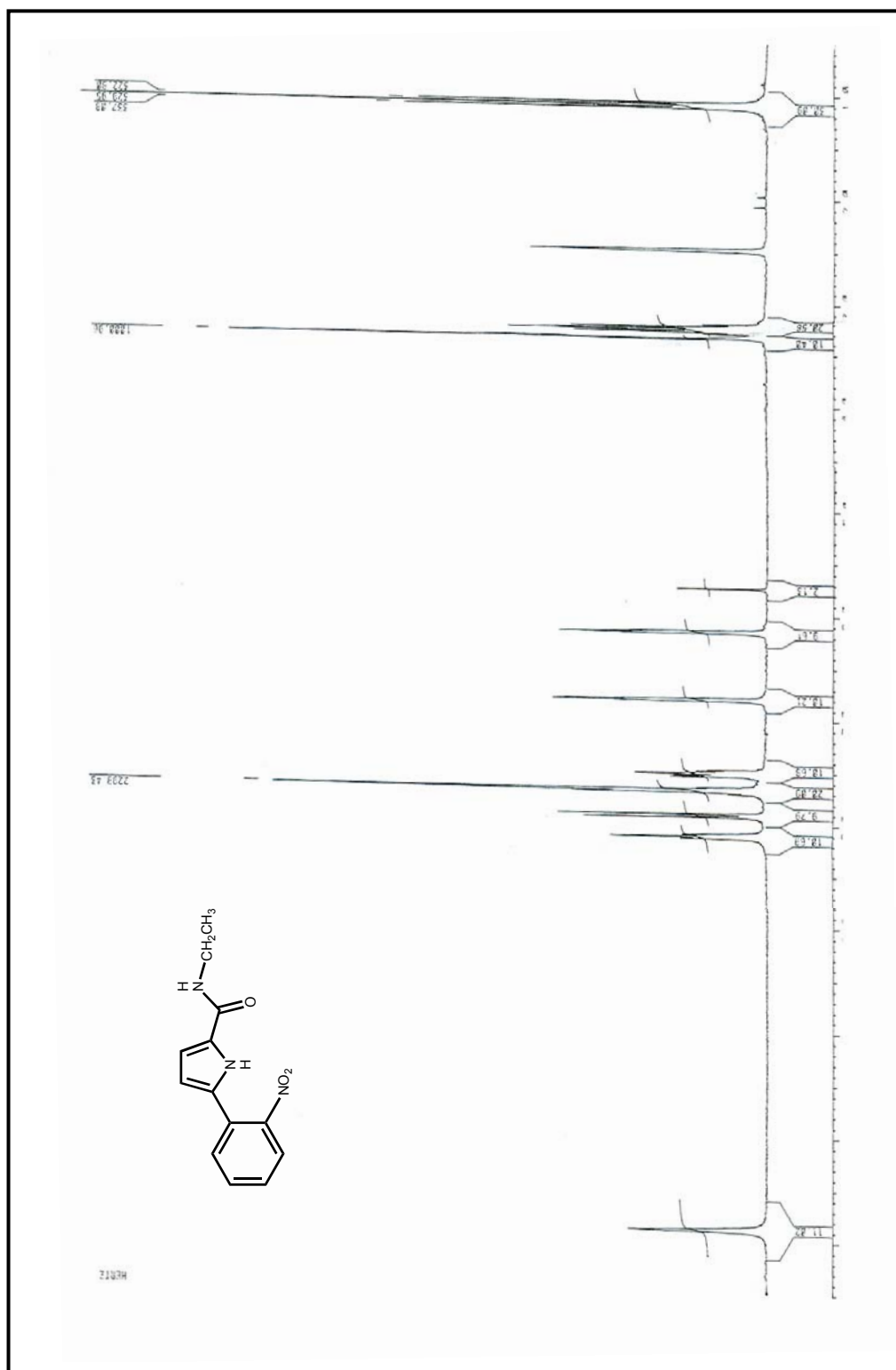




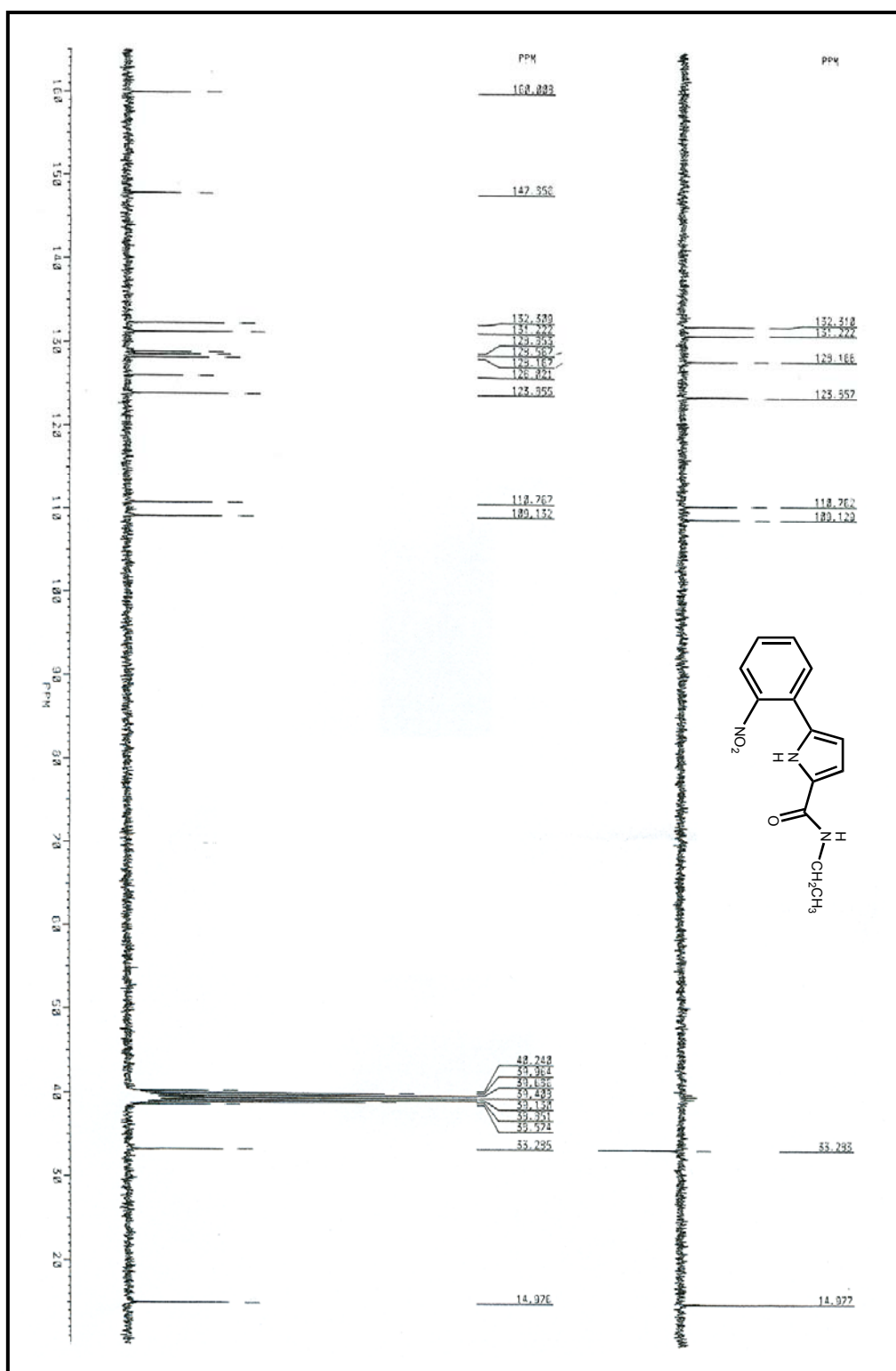
¹H-RMN: 5-(2'-nitrofenil)-N-metil-1H-pirrol-2-carboxamida **176**.

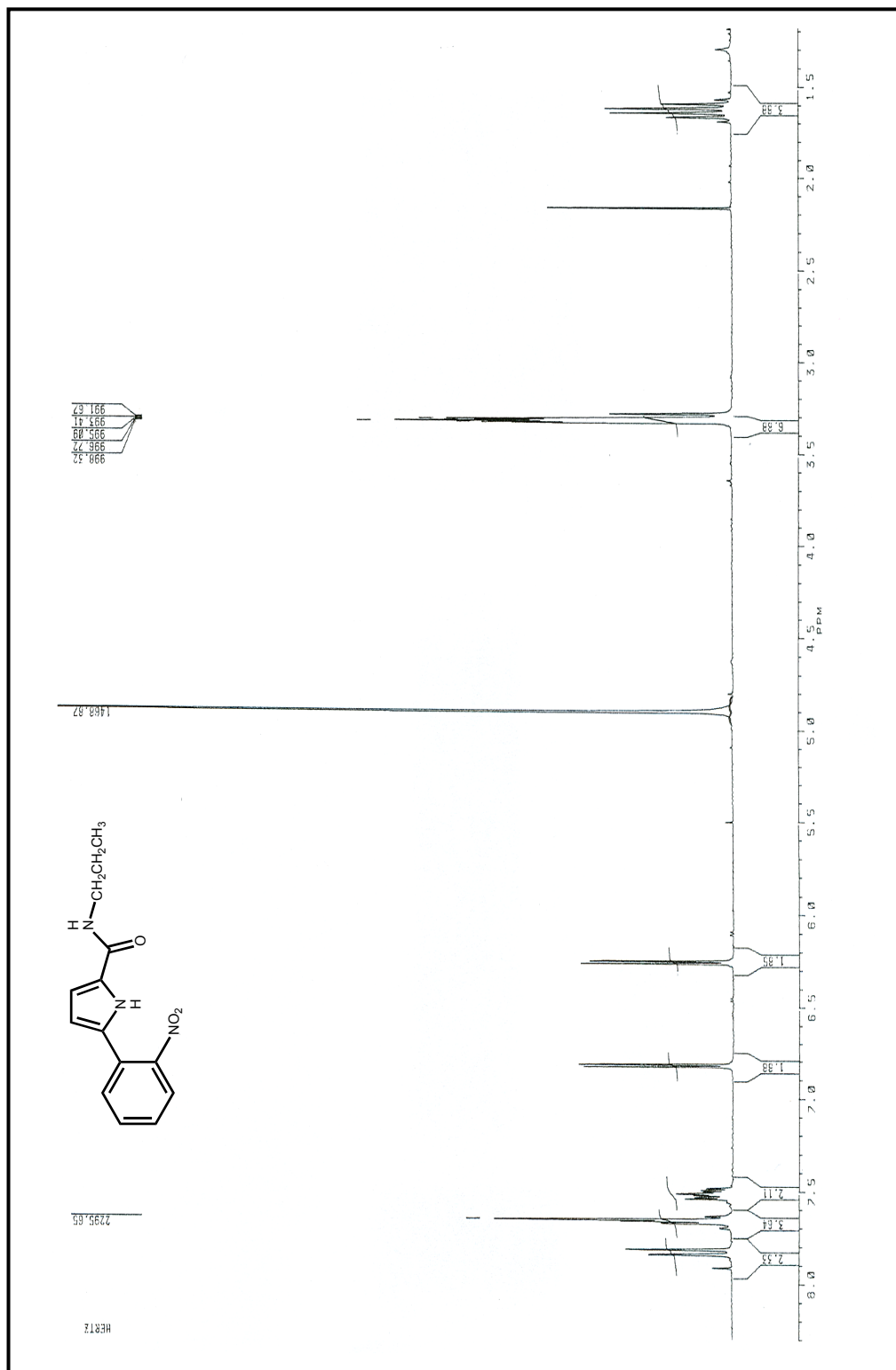


¹³C-RMN : 5-(2'-nitrofenil)-N-metil-1H-pirrol-2-carboxamida **176**.

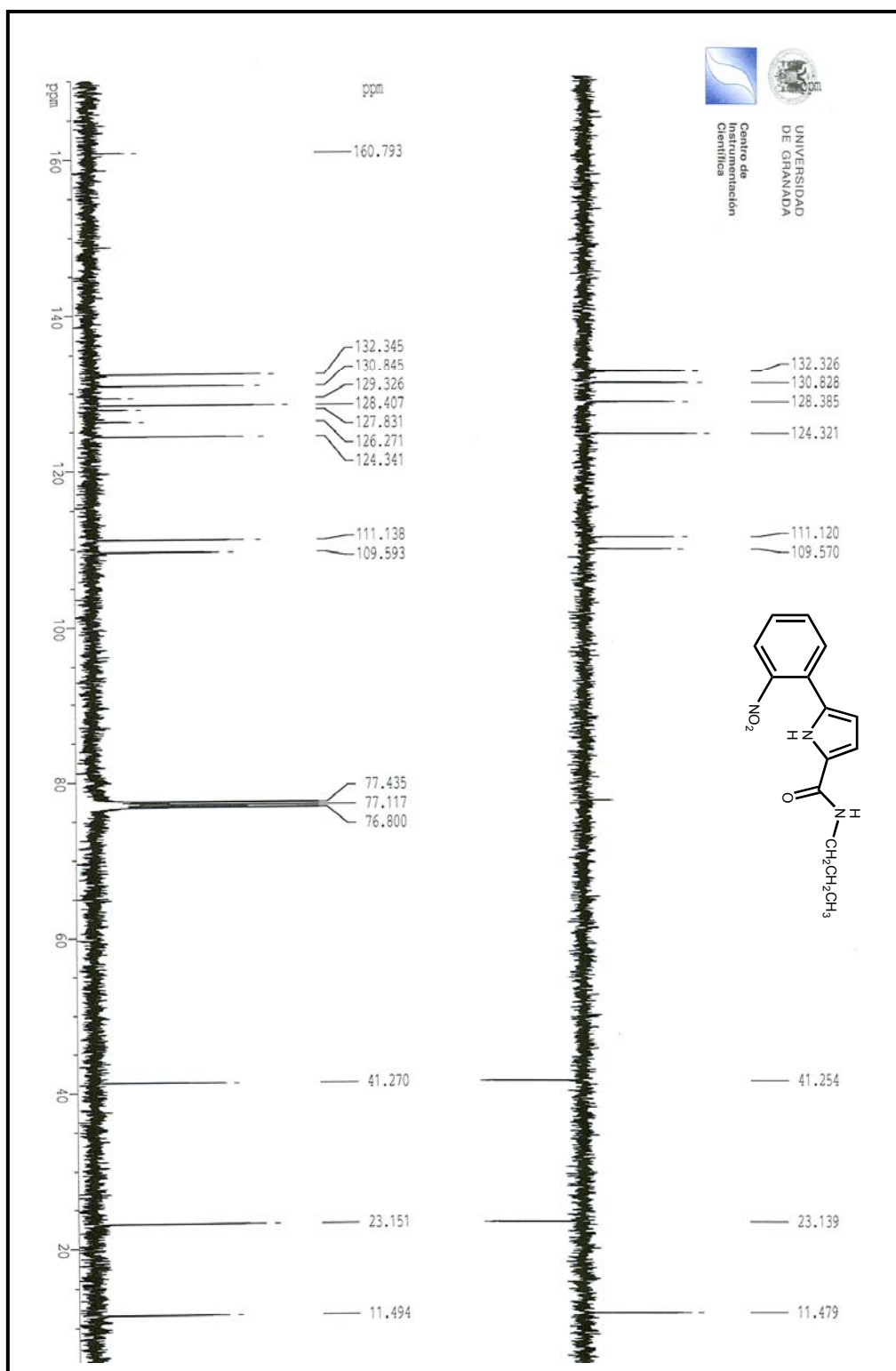


¹H-RMN: 5-(2'-nitrofenil)-N-etil-1H-pirrol-2-carboxamida **177**.

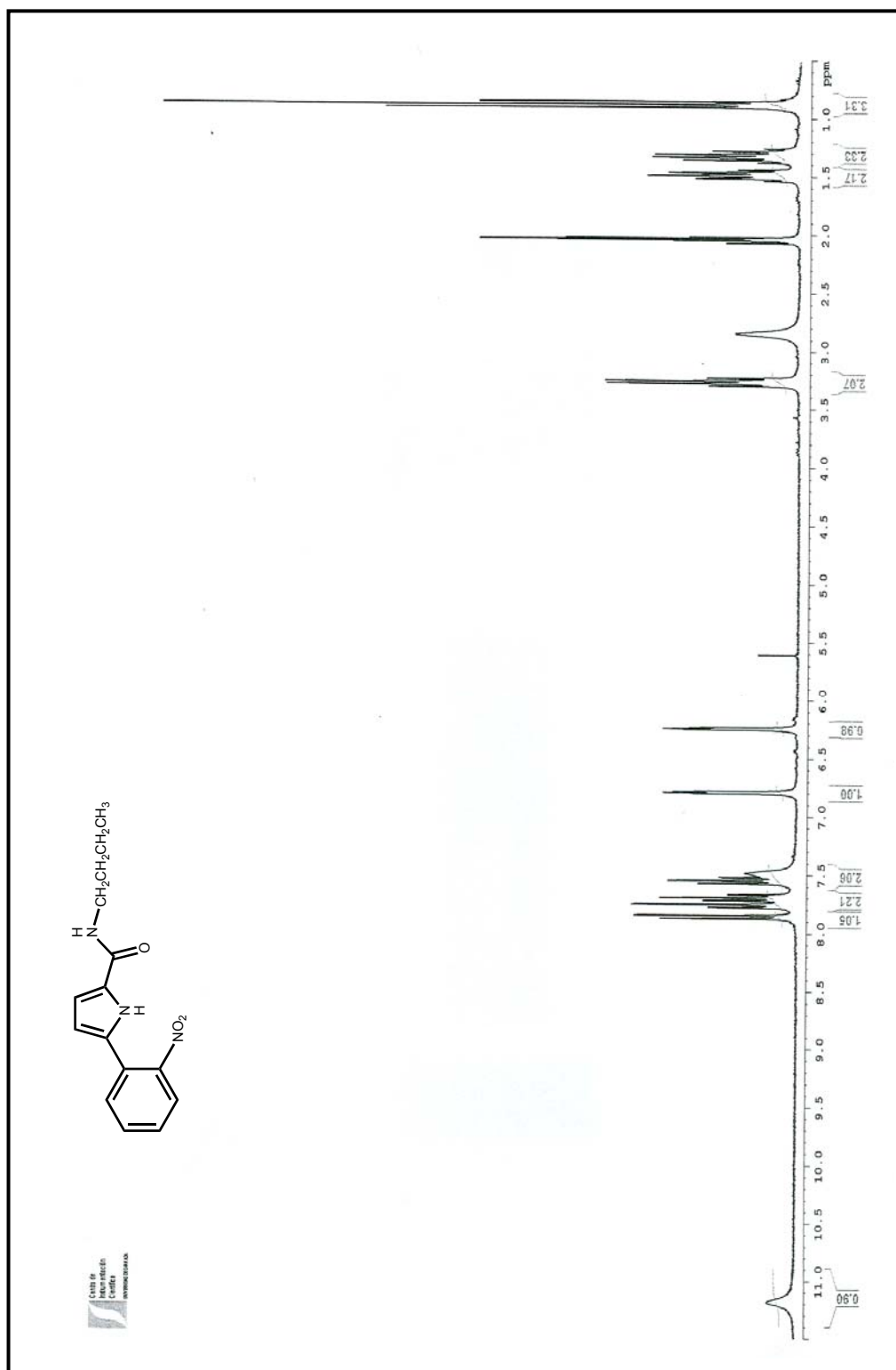




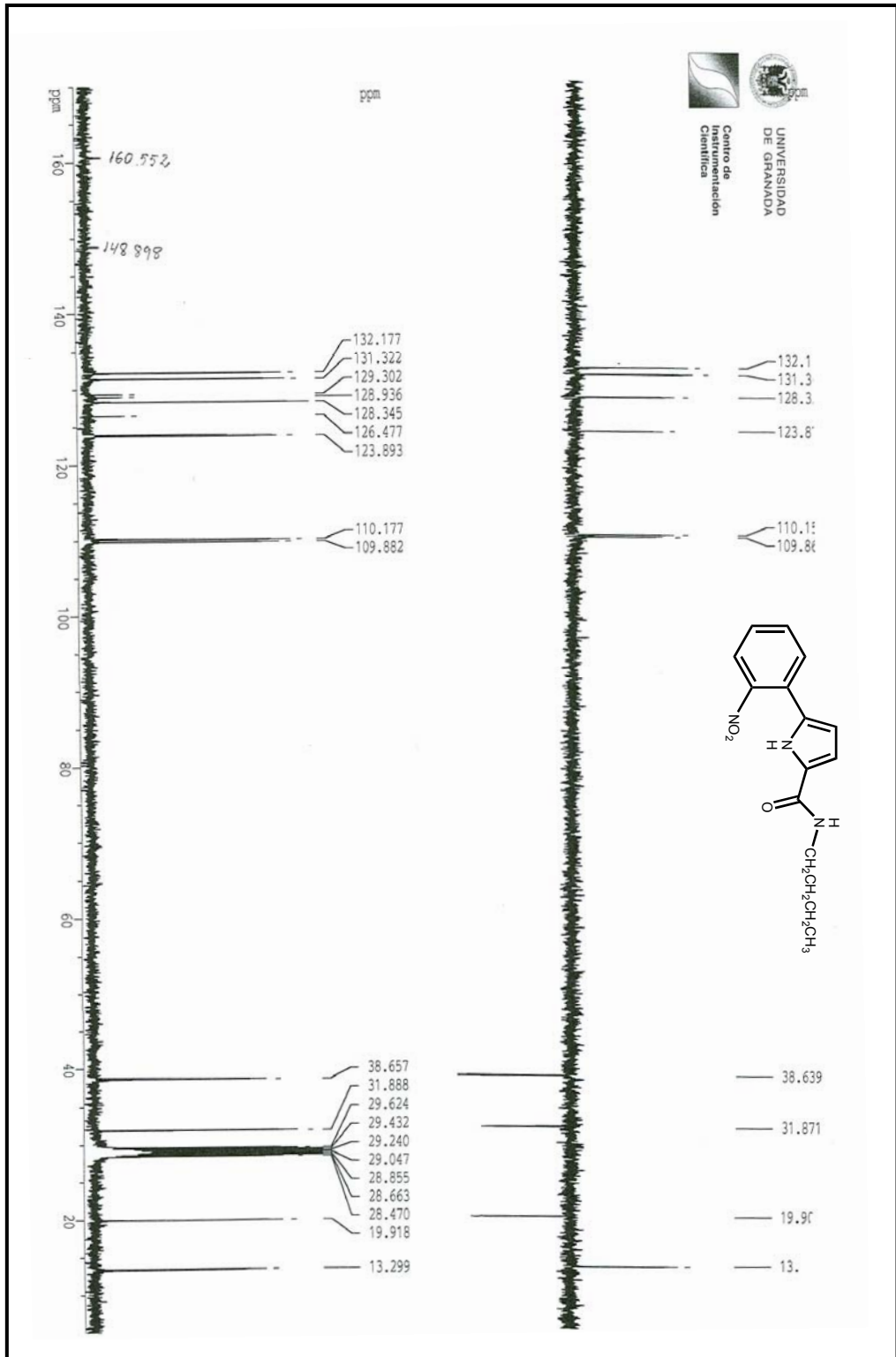
¹H-RMN: 5-(2'-nitrofenil)-N-propil-1H-pirrol-2-carboxamida **178**.



¹³C-RMN : 5-(2'-nitrofenil)-N-propil-1H-pirrol-2-carboxamida **178**.

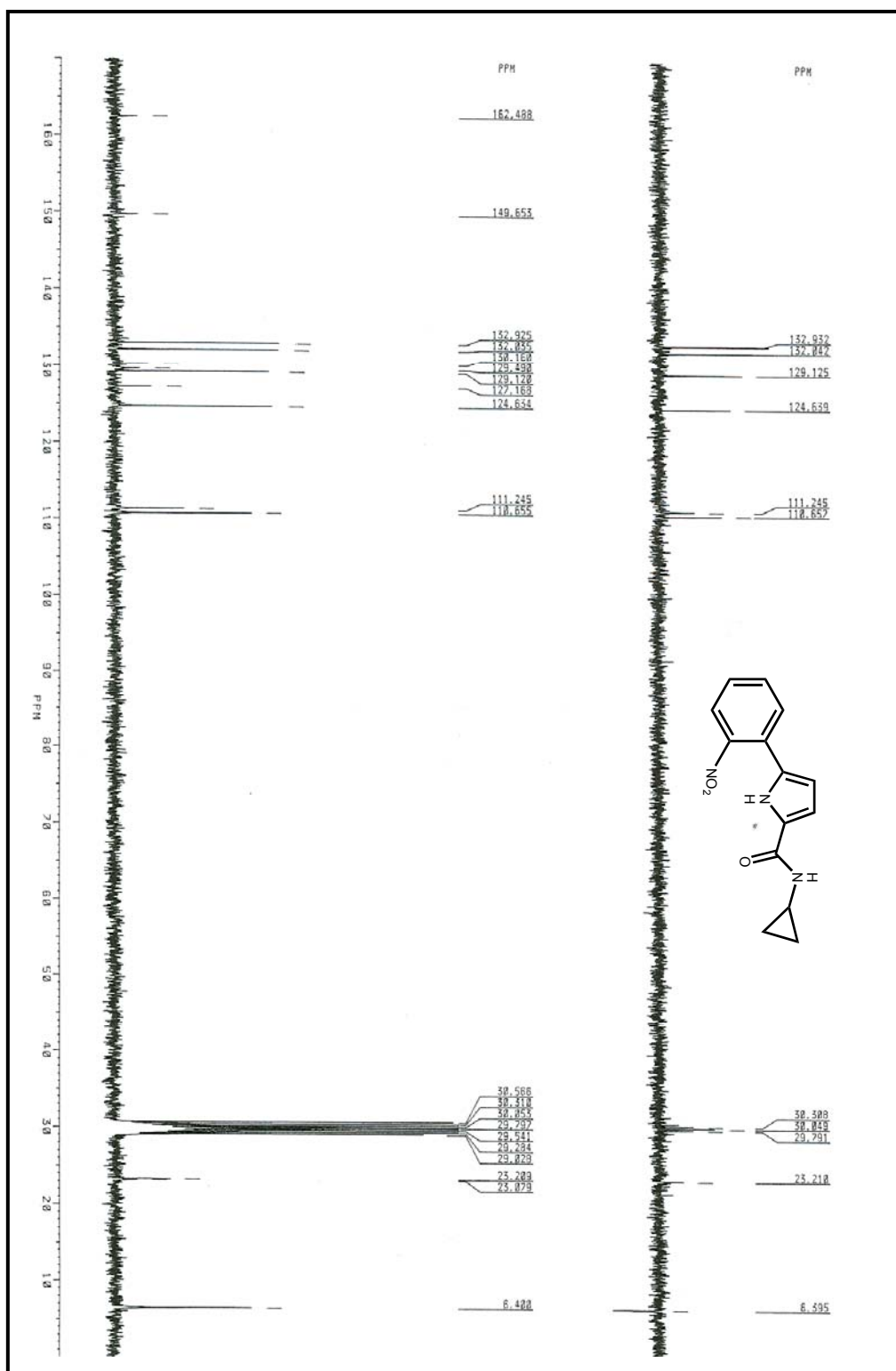


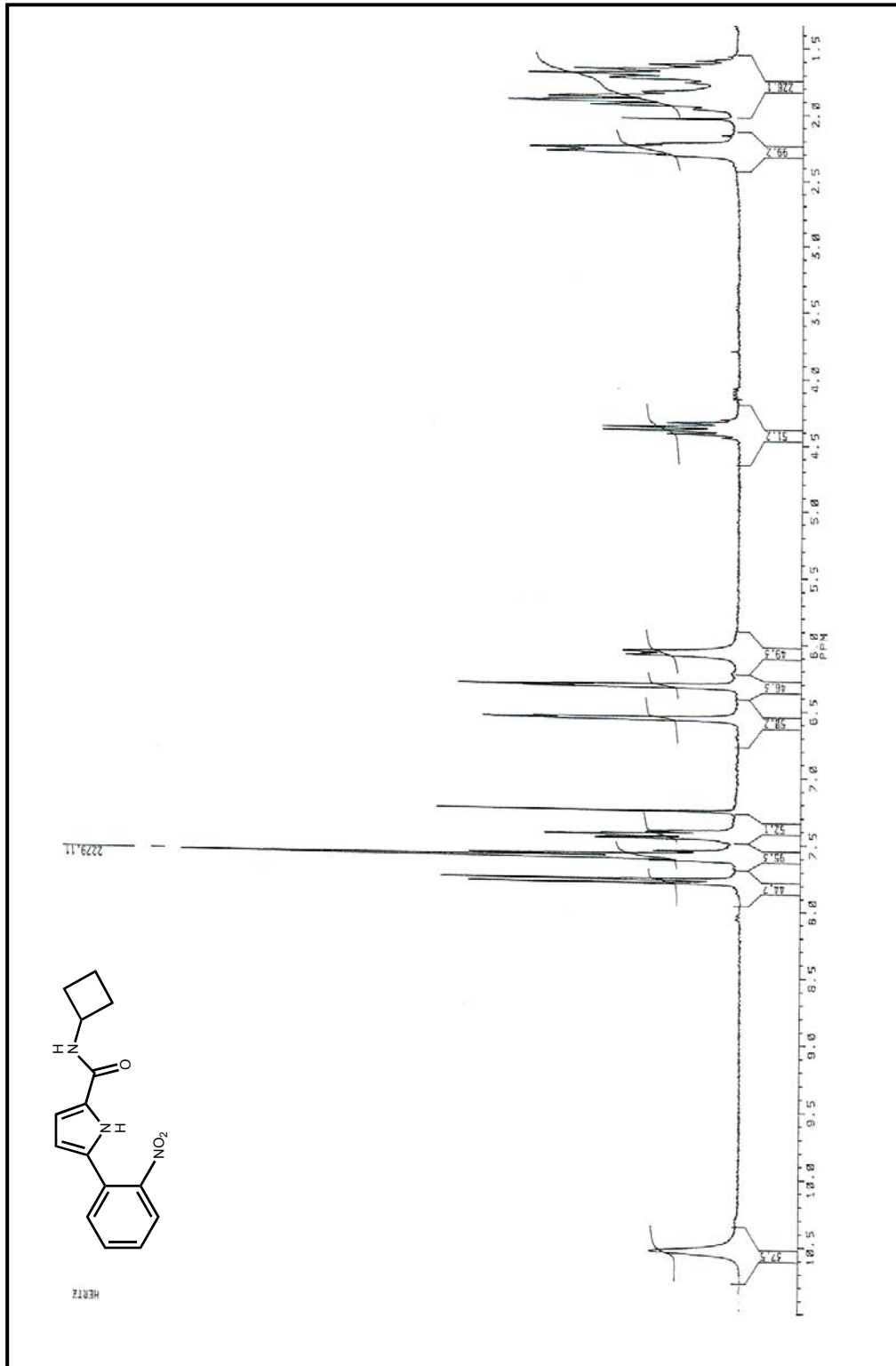
¹H-RMN: *N*-butil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **179**.



^{13}C -RMN: *N*-butil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **179**.

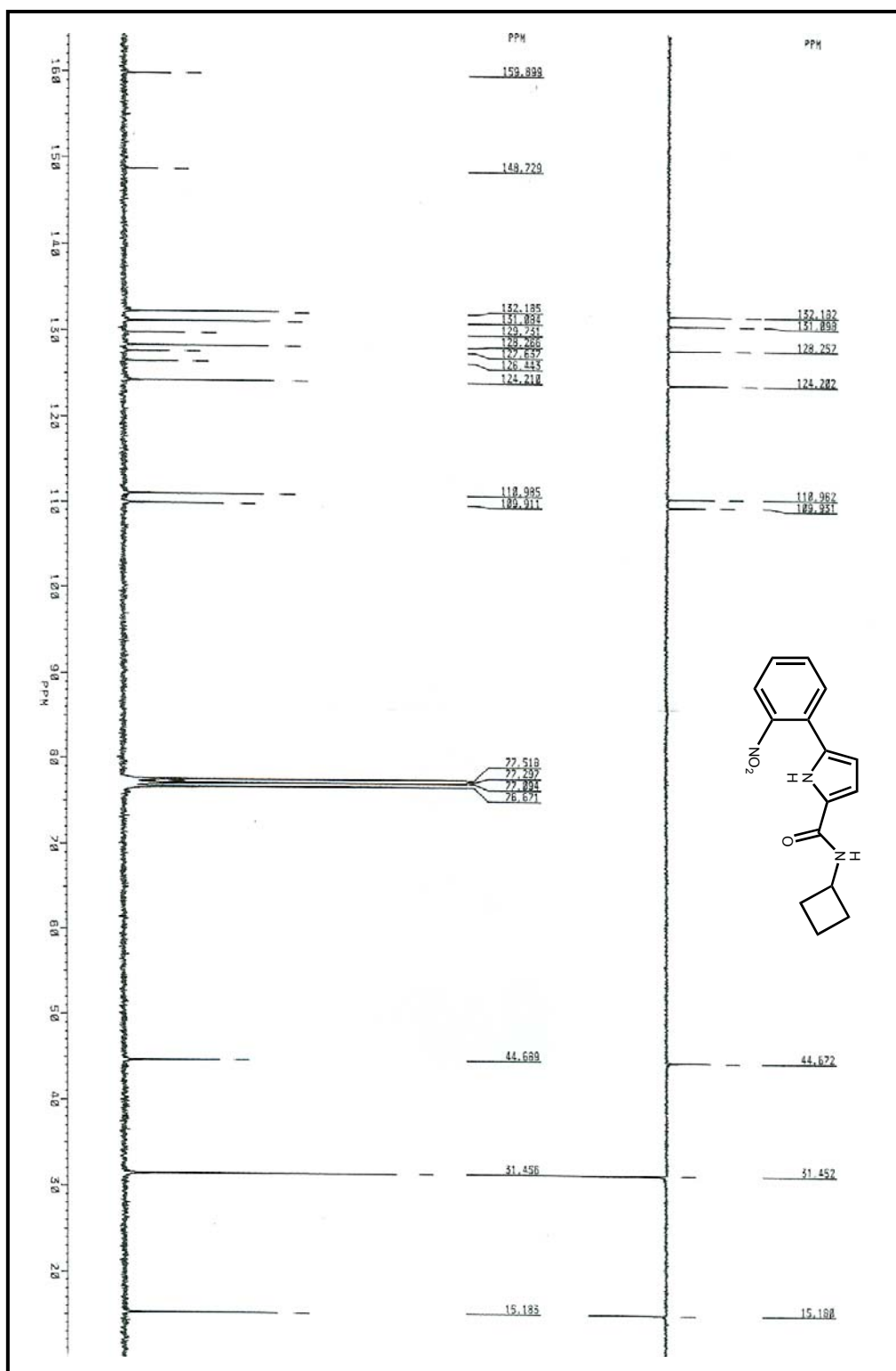
¹³C-RMN : *N*-ciclopropil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **180**.

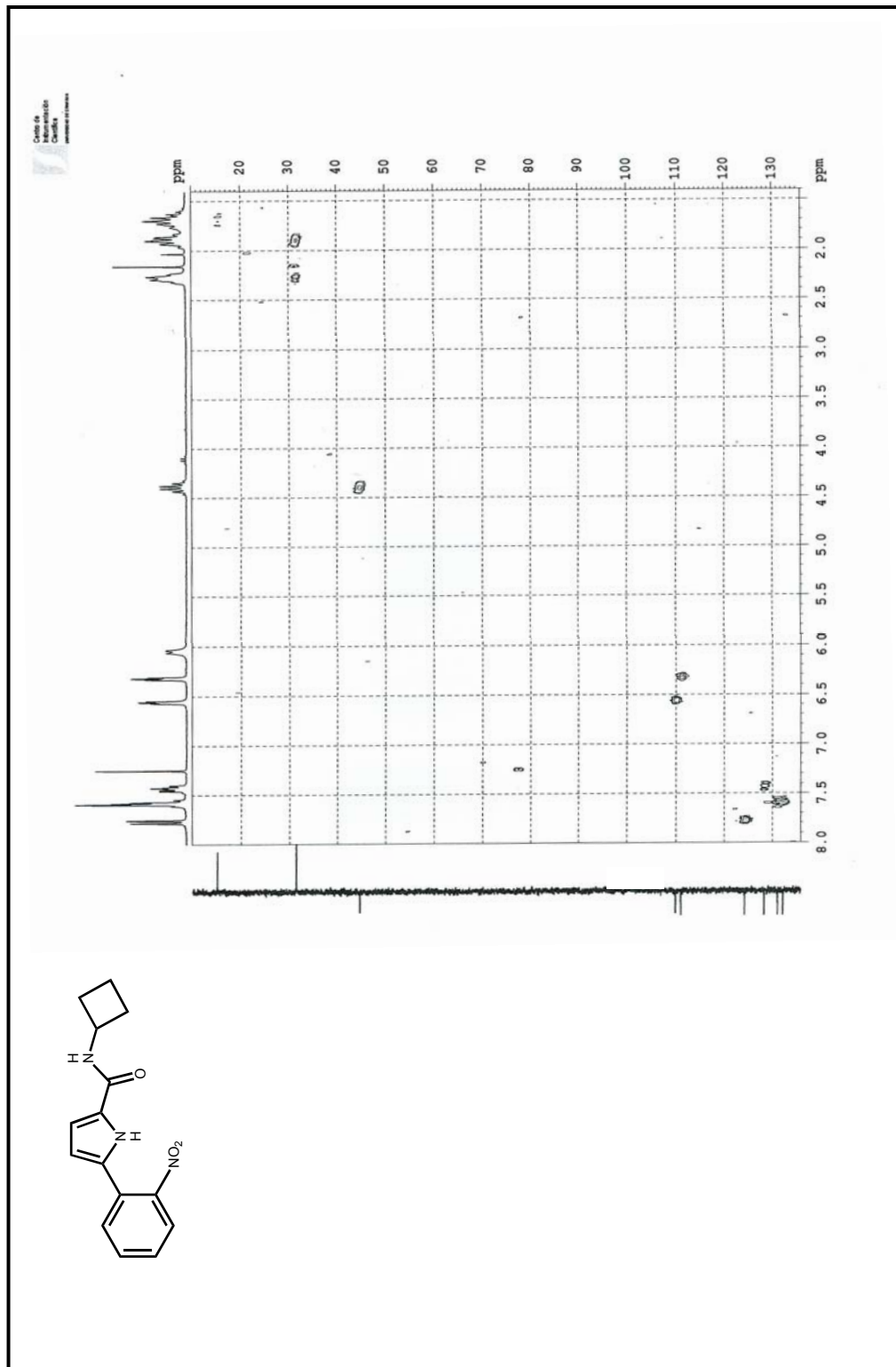




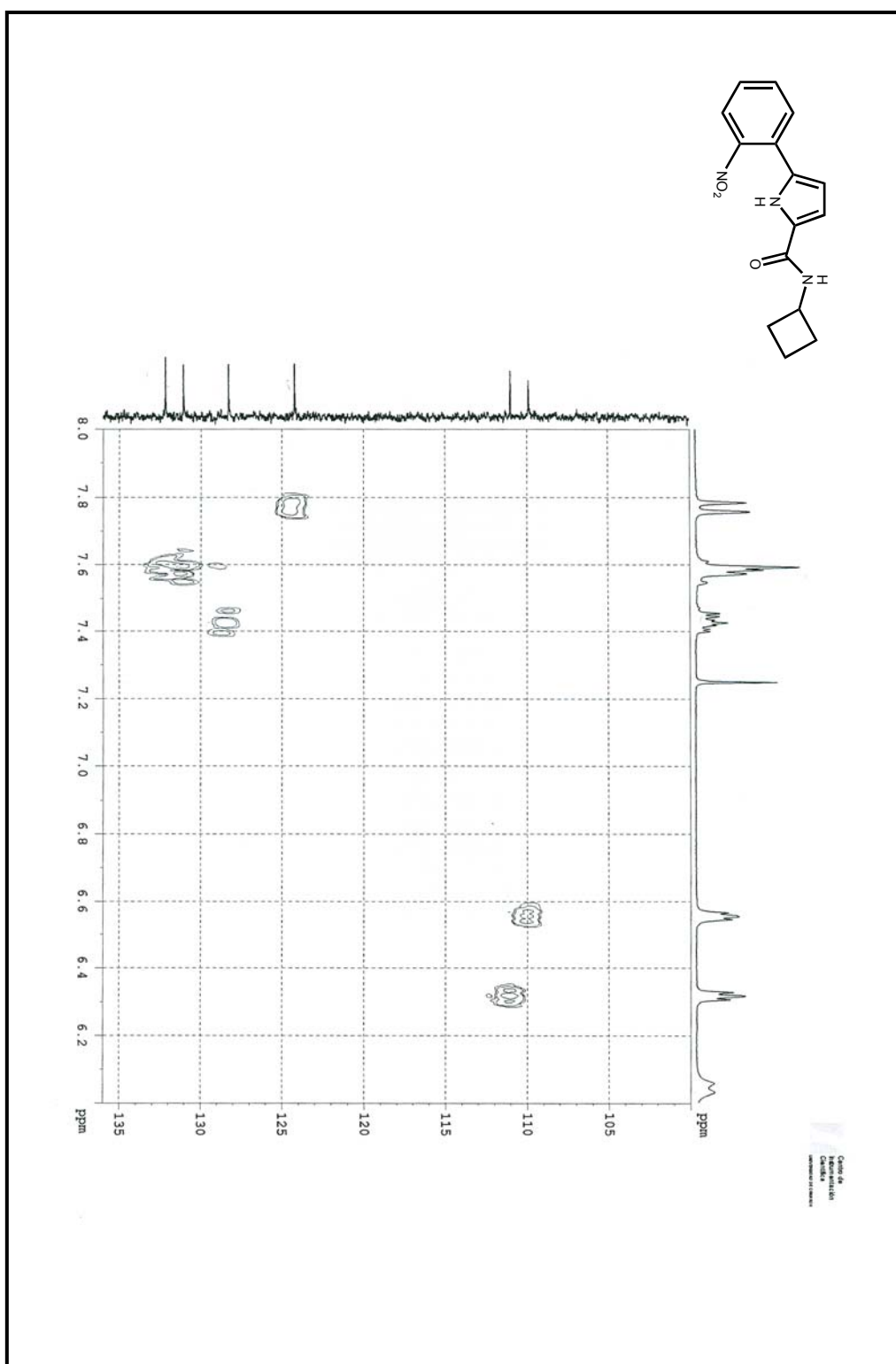
¹H-RMN: *N*-ciclobutil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **181**.

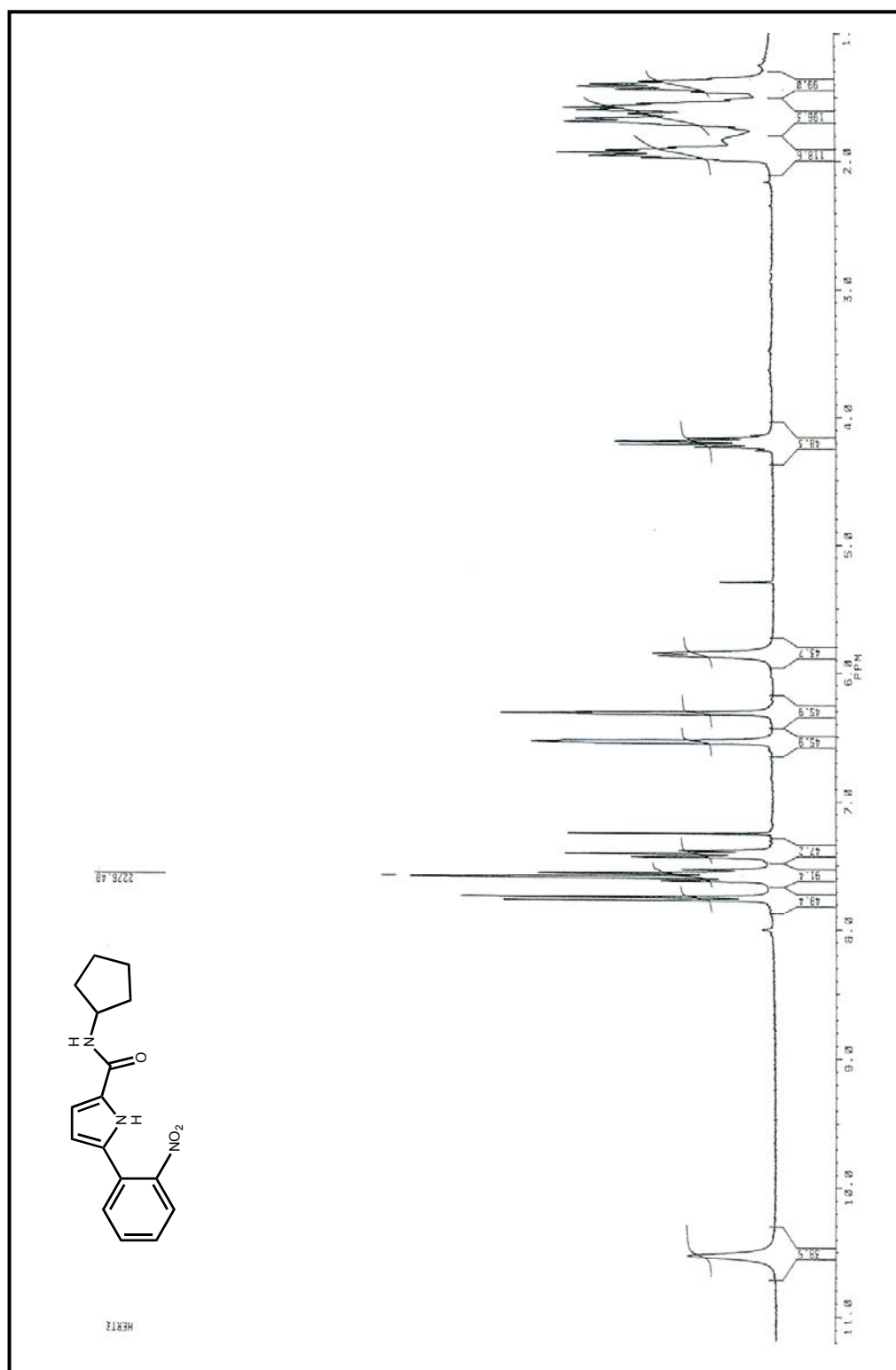
¹³C-RMN: *N*-ciclobutil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **181**.





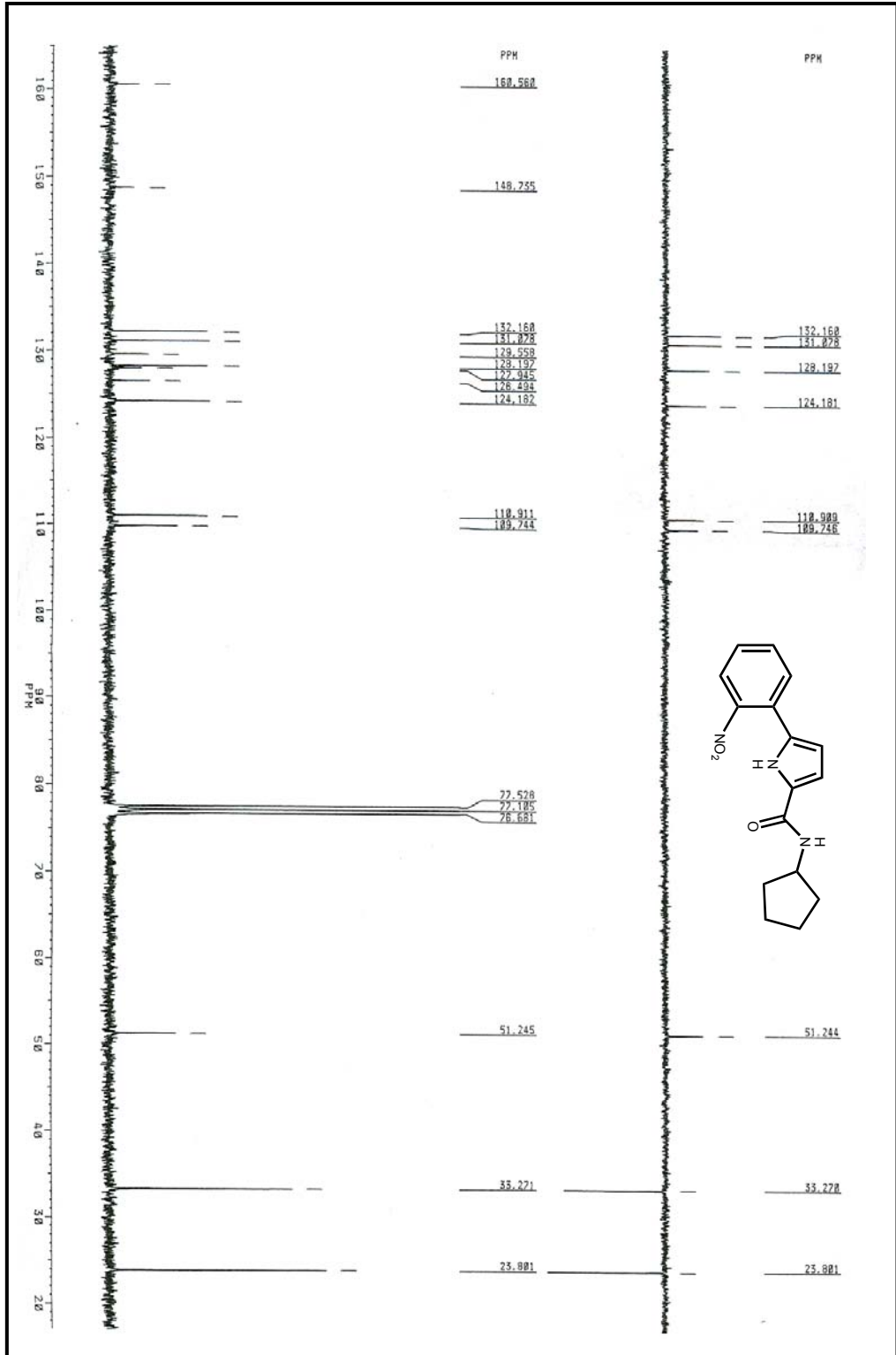
¹H/¹³C-HMQC: *N*-ciclobutil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **181**.

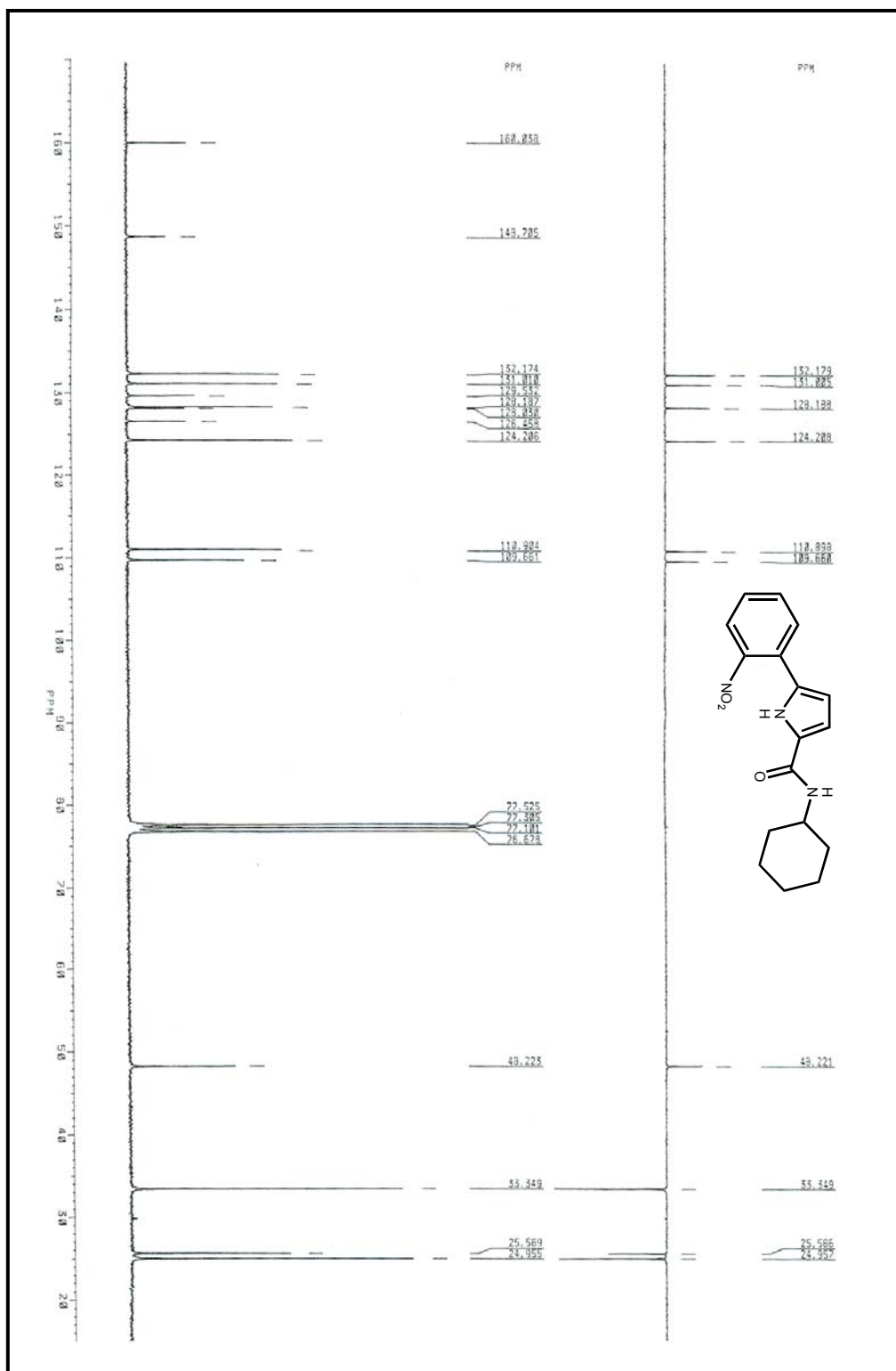


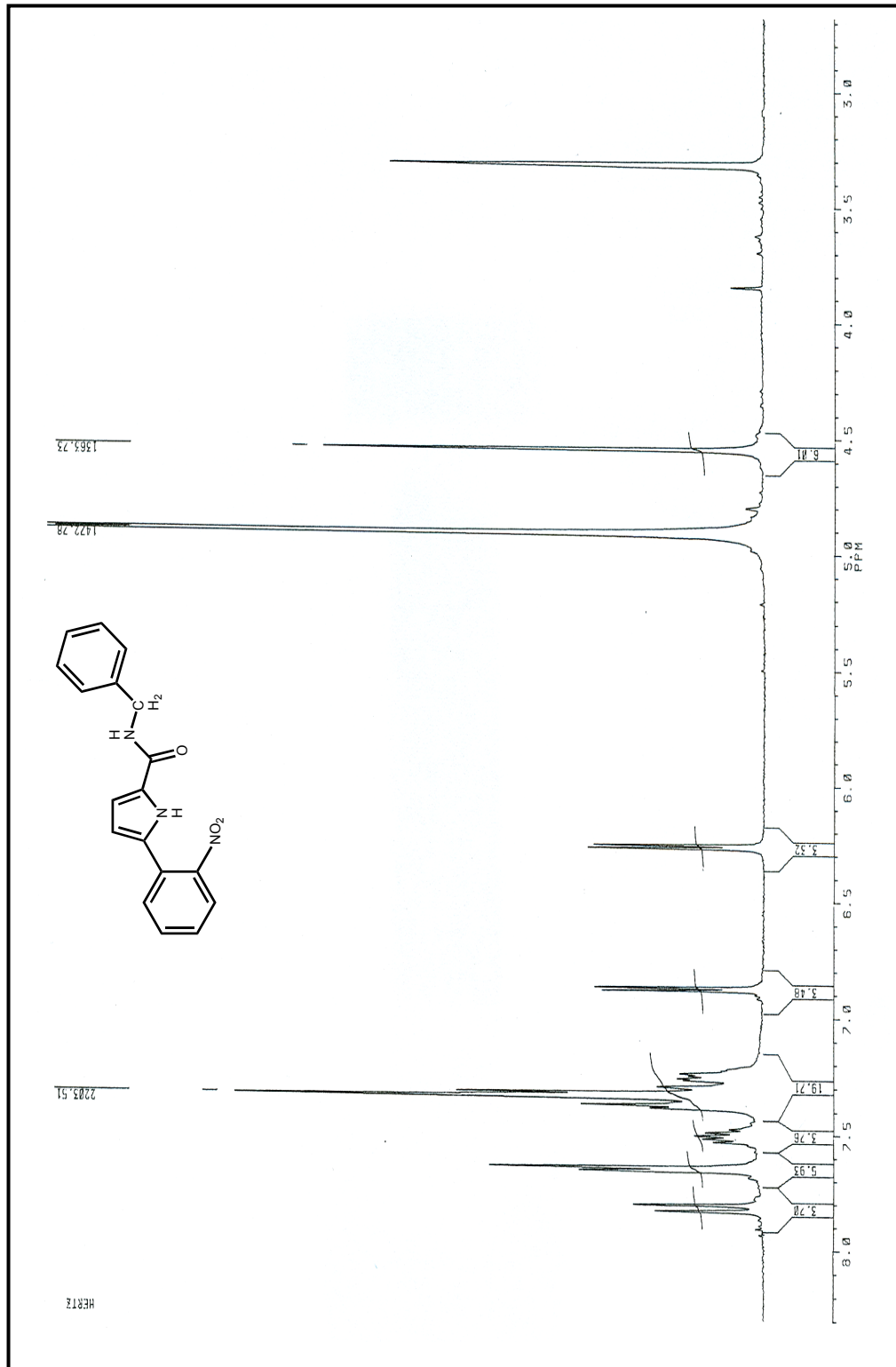


¹H-RMN: N-ciclopentil-5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **182**.

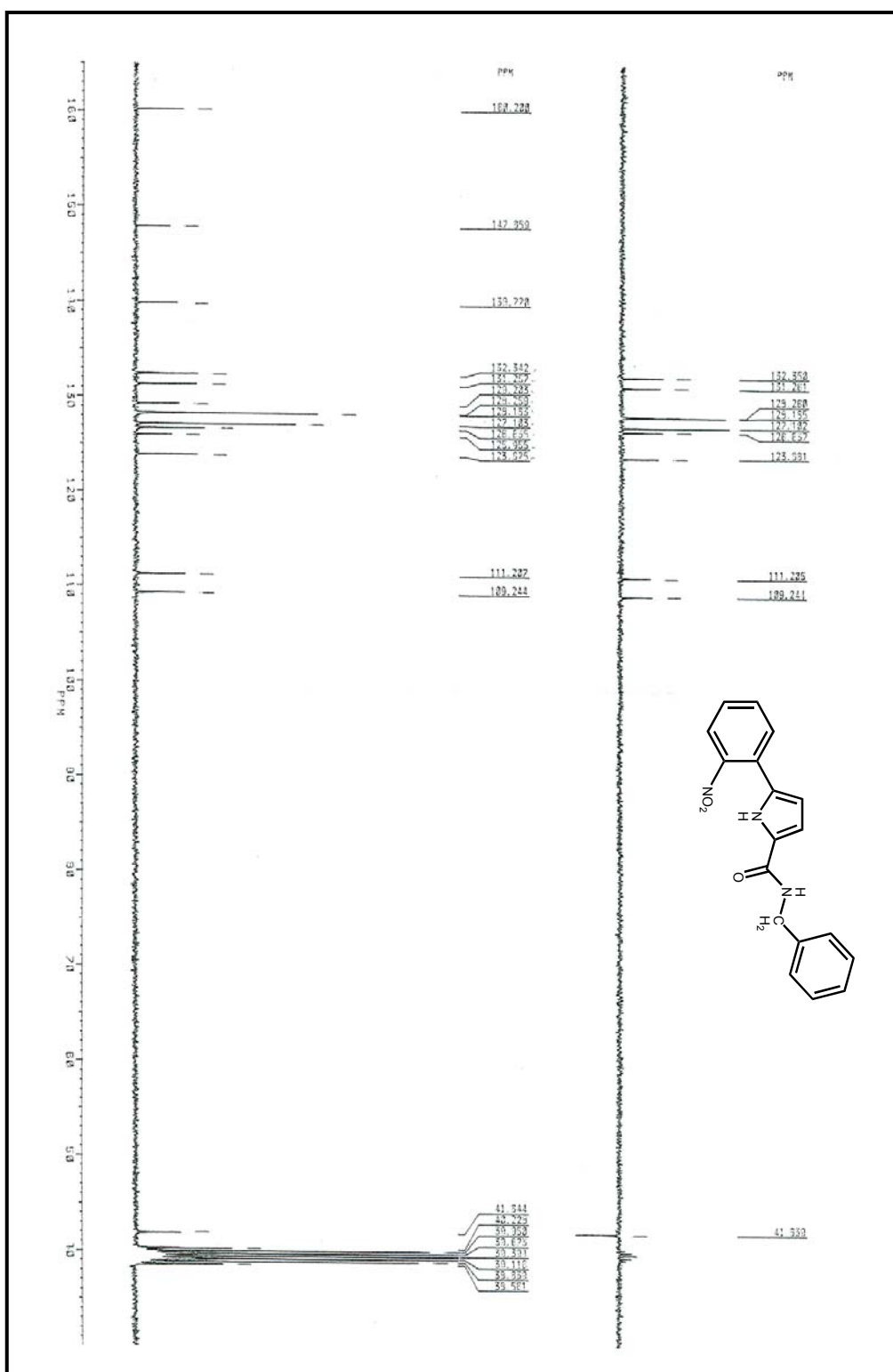
¹³C-RMN : *N*-ciclopentil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **182**.



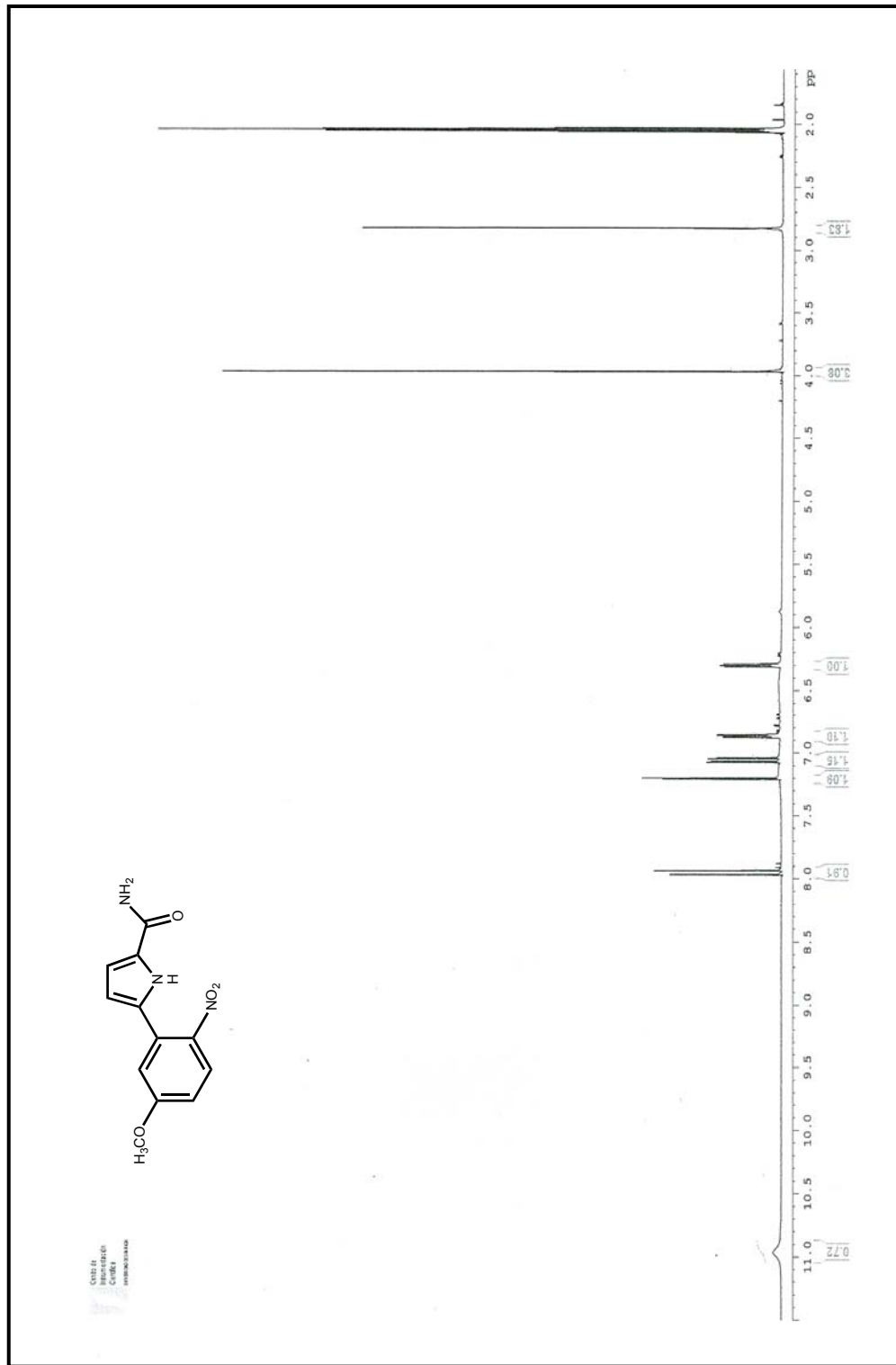
^{13}C -RMN: *N*-ciclohexil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **183**.



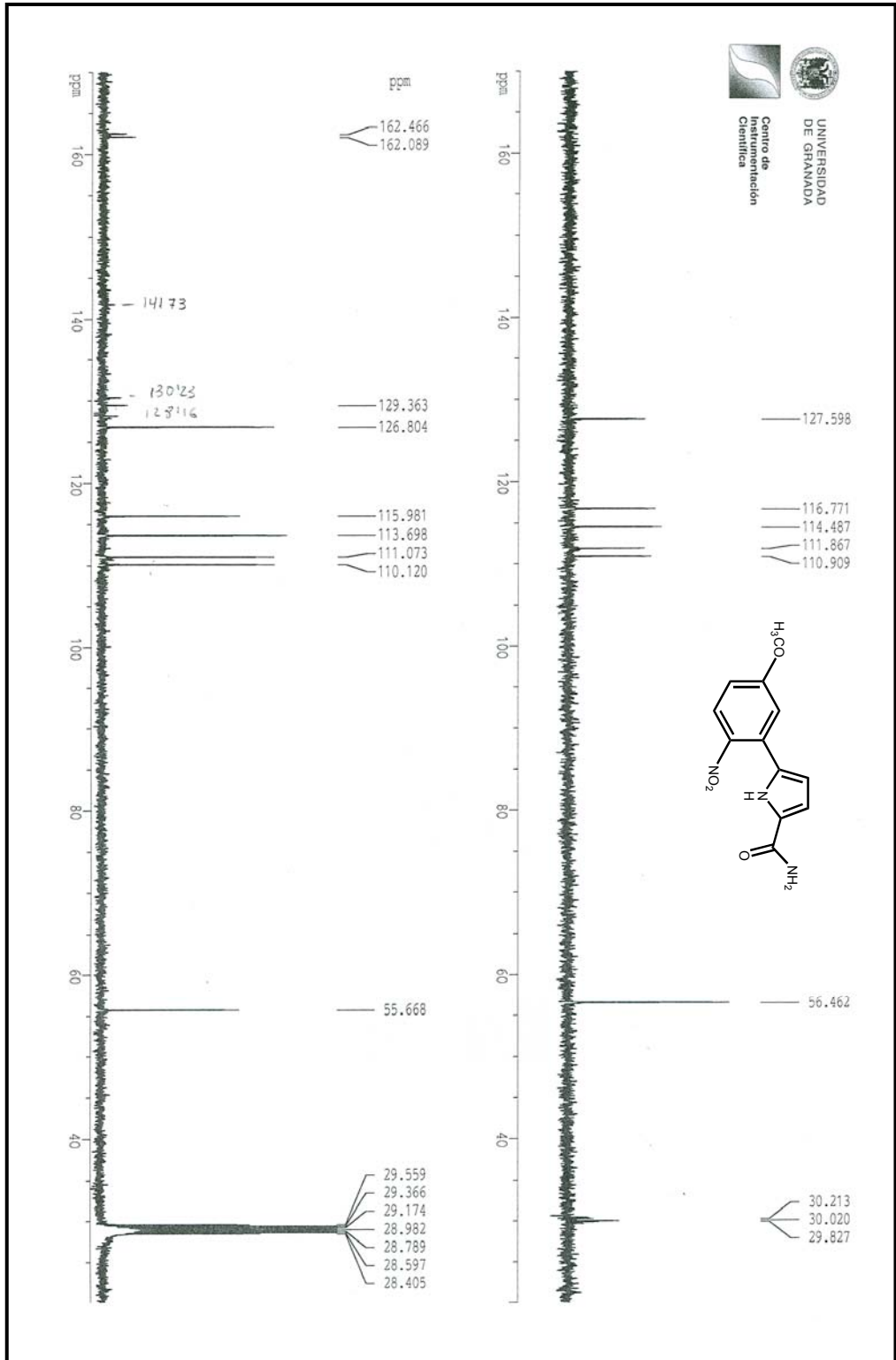
¹H-RMN: *N*-bencil-5-(2'-nitrofenil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **184**.



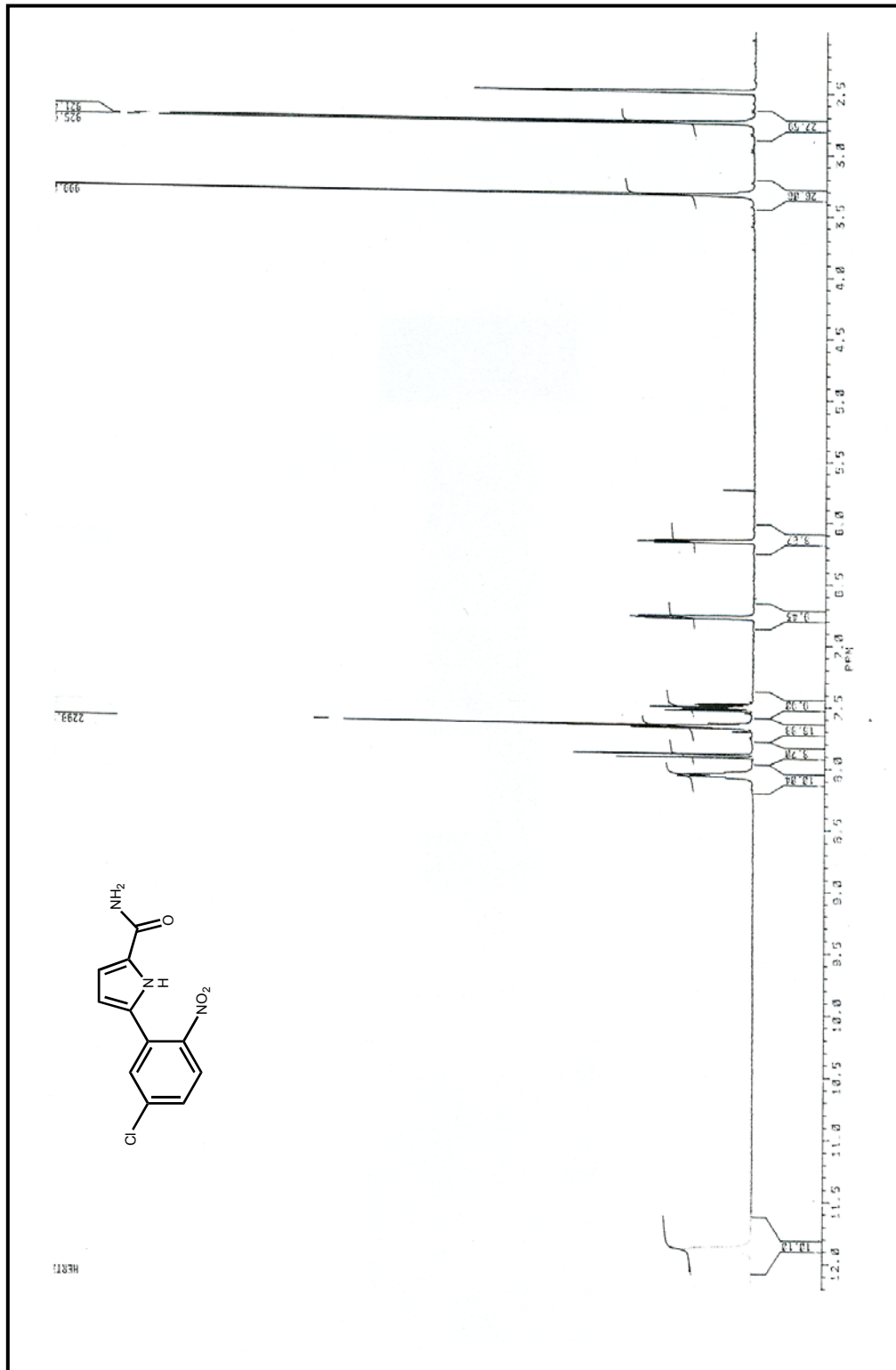
¹³C-RMN: N-bencil-5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **184**.



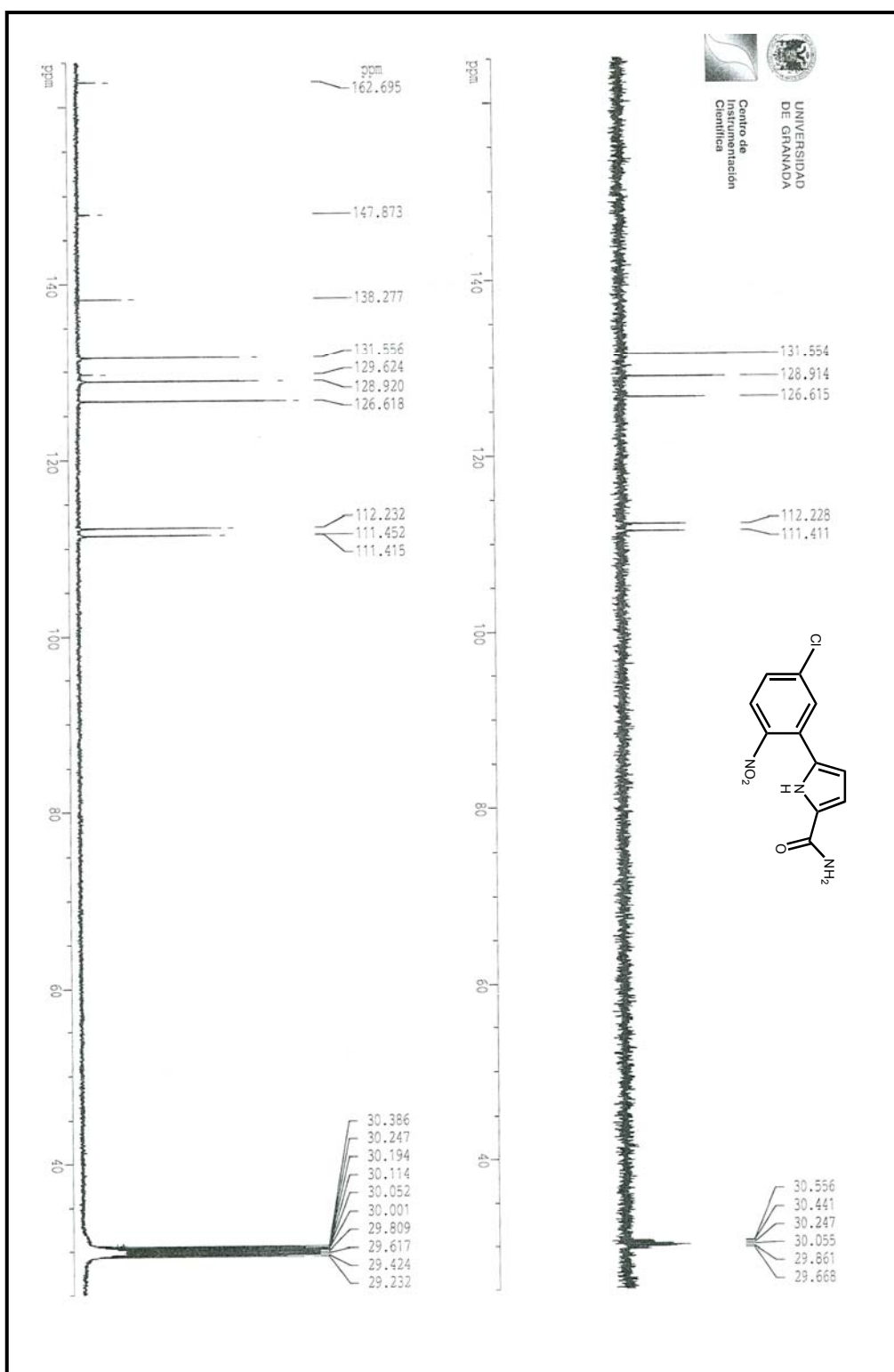
¹H-RMN: 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **185**.



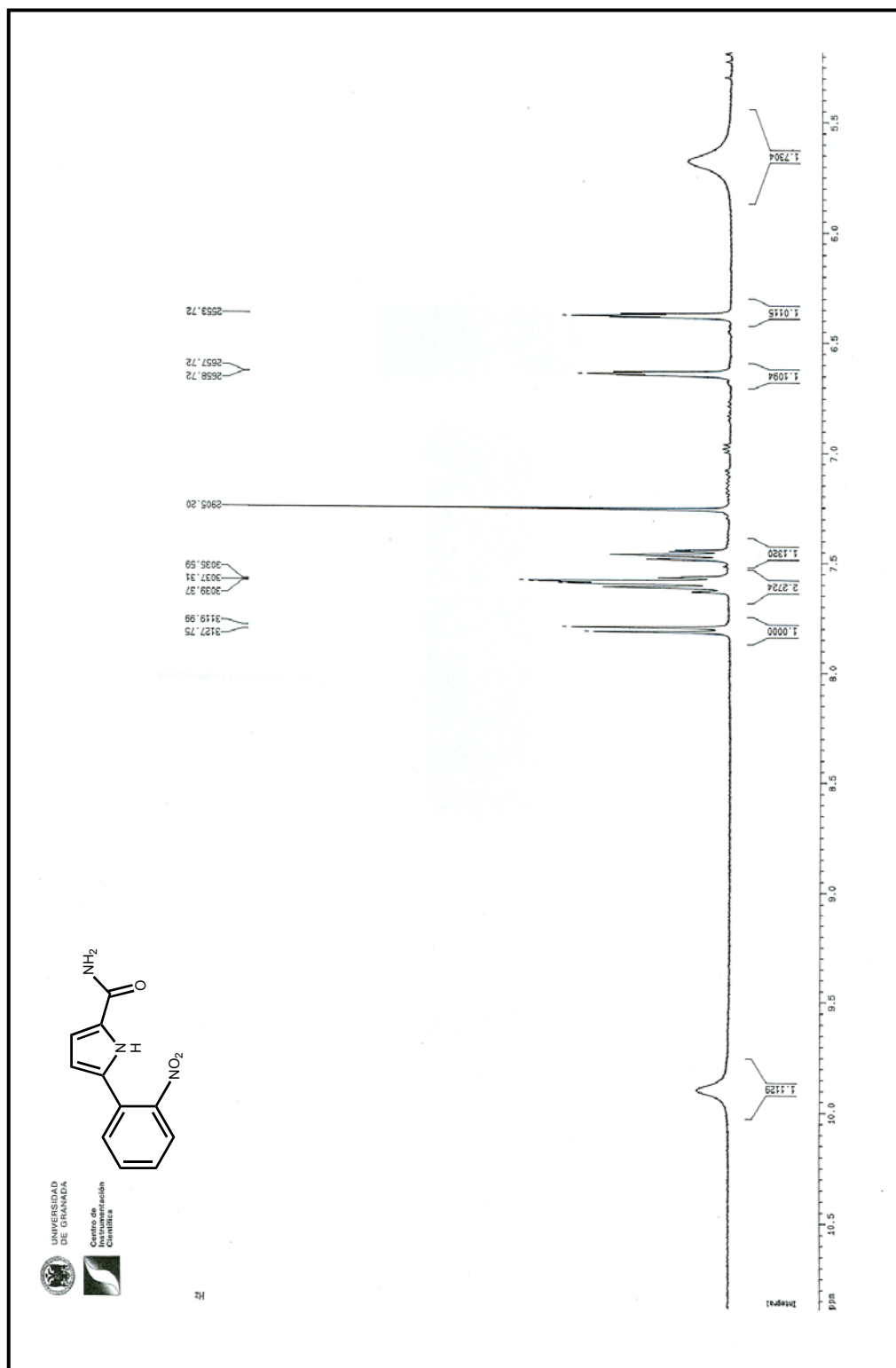
¹³C-RMN: 5-(5'-metoxi-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **185**.



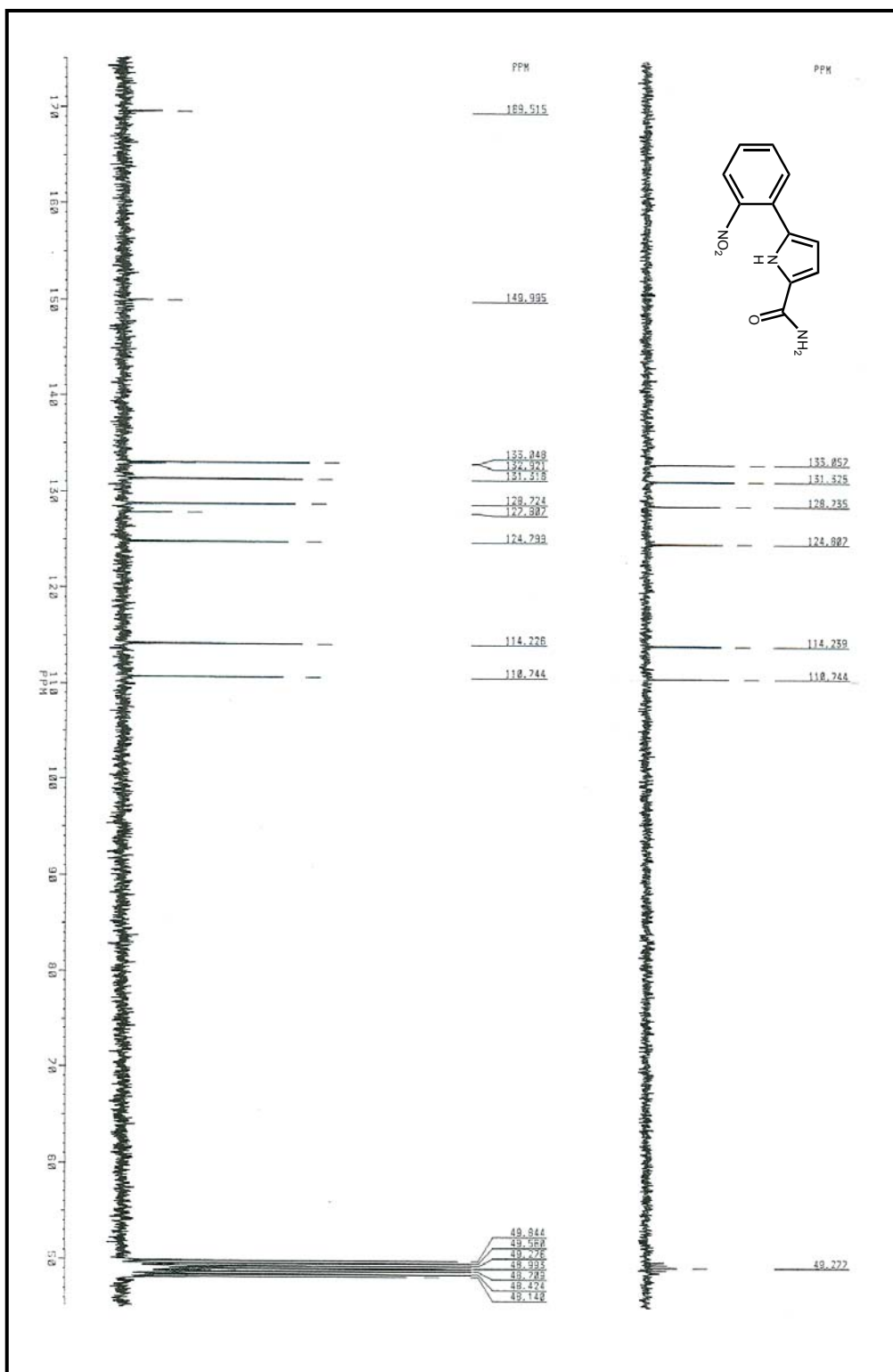
¹H-RMN: 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **186**.



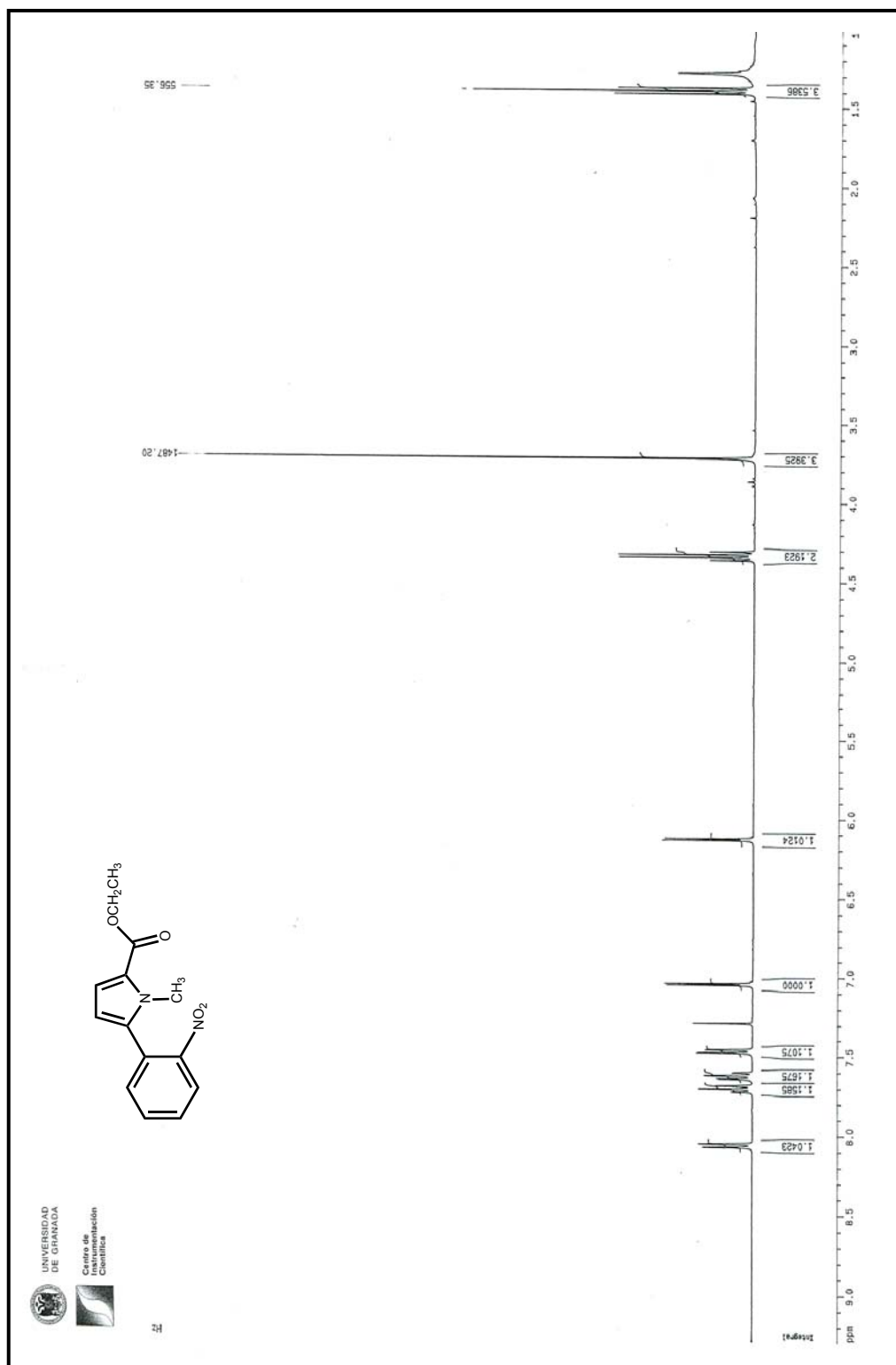
¹³C-RMN: 5-(5'-cloro-2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **186**.



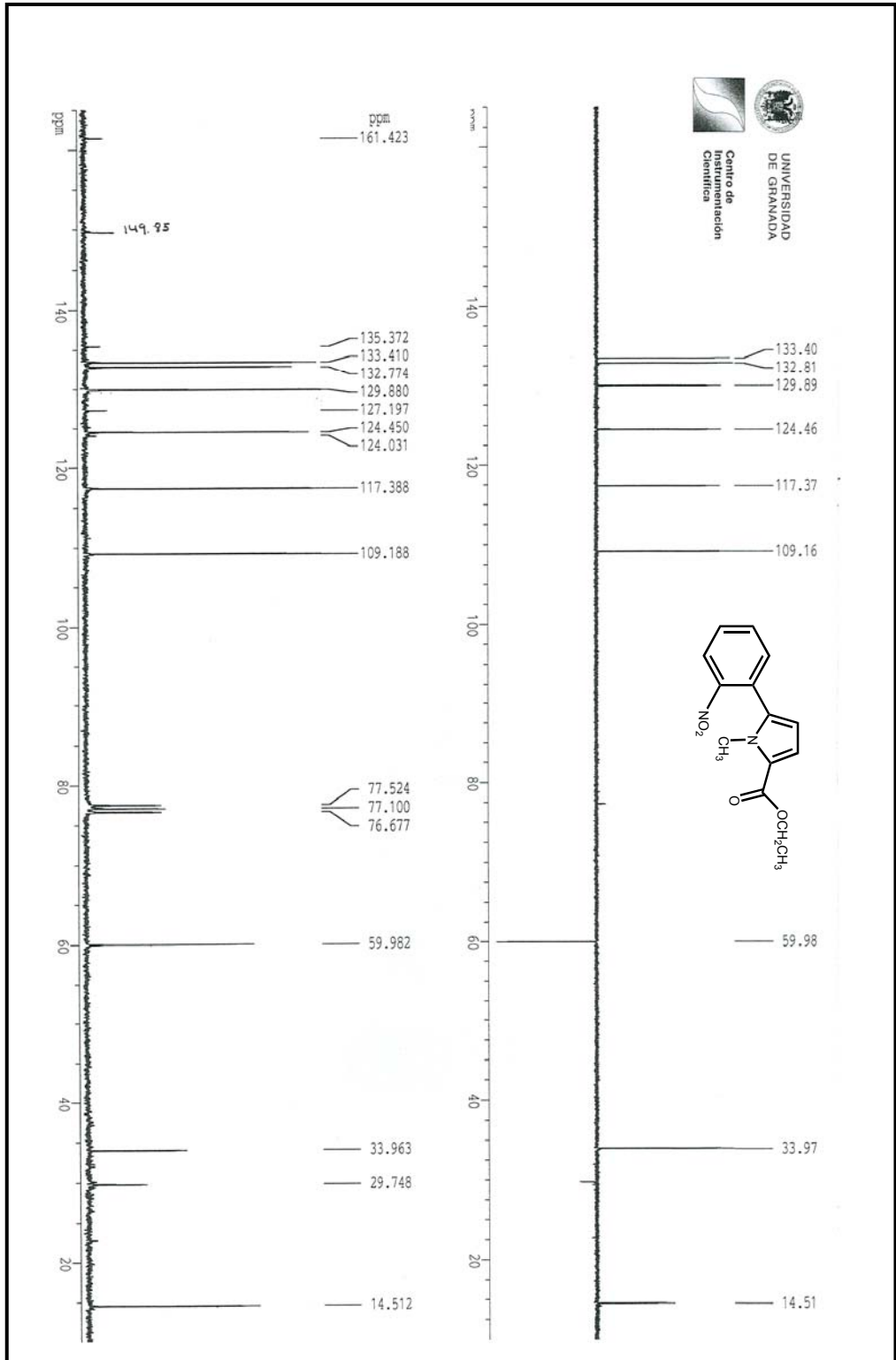
¹H-RMN: 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **187**.



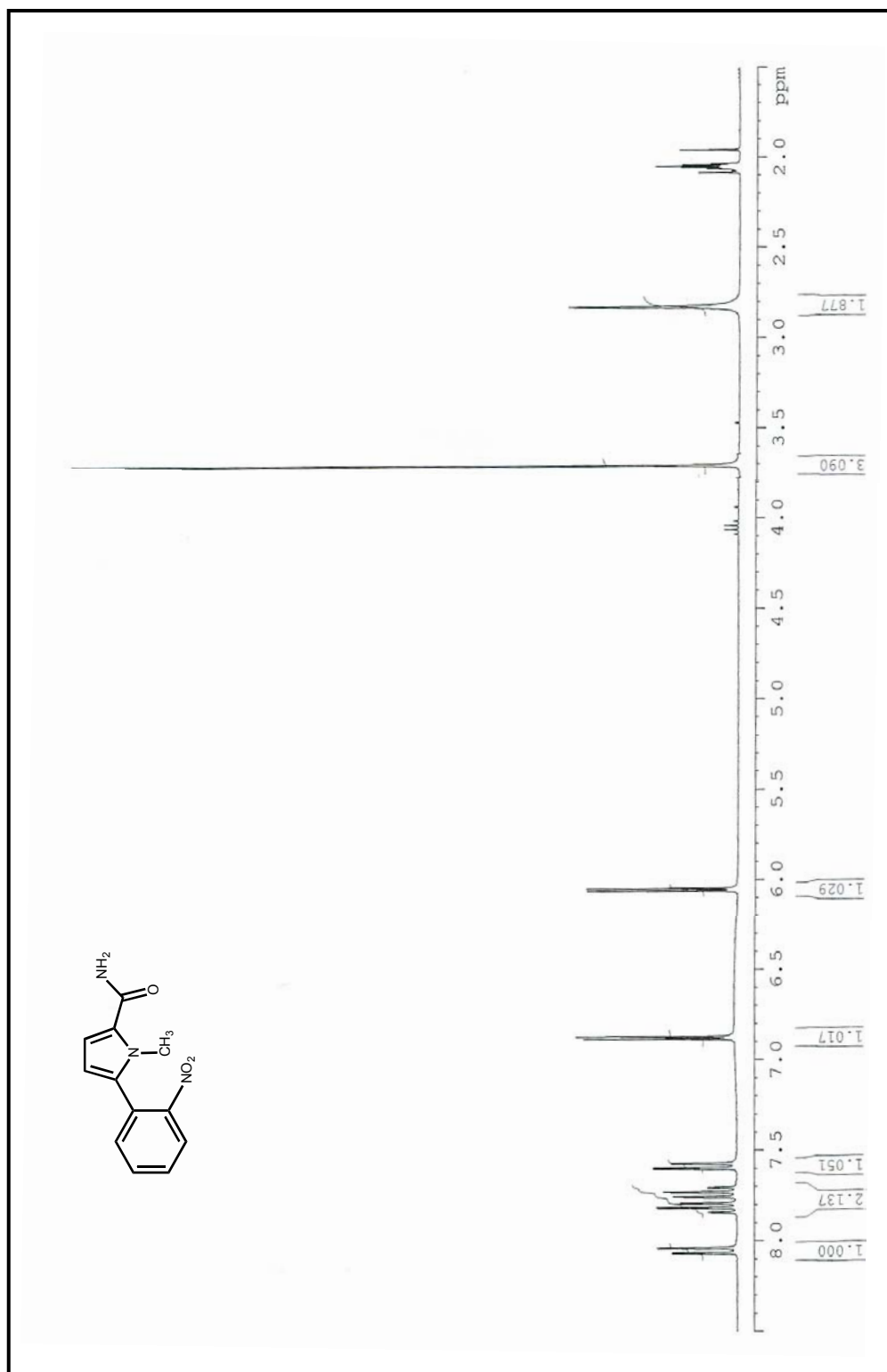
¹³C-RMN: 5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **187**.



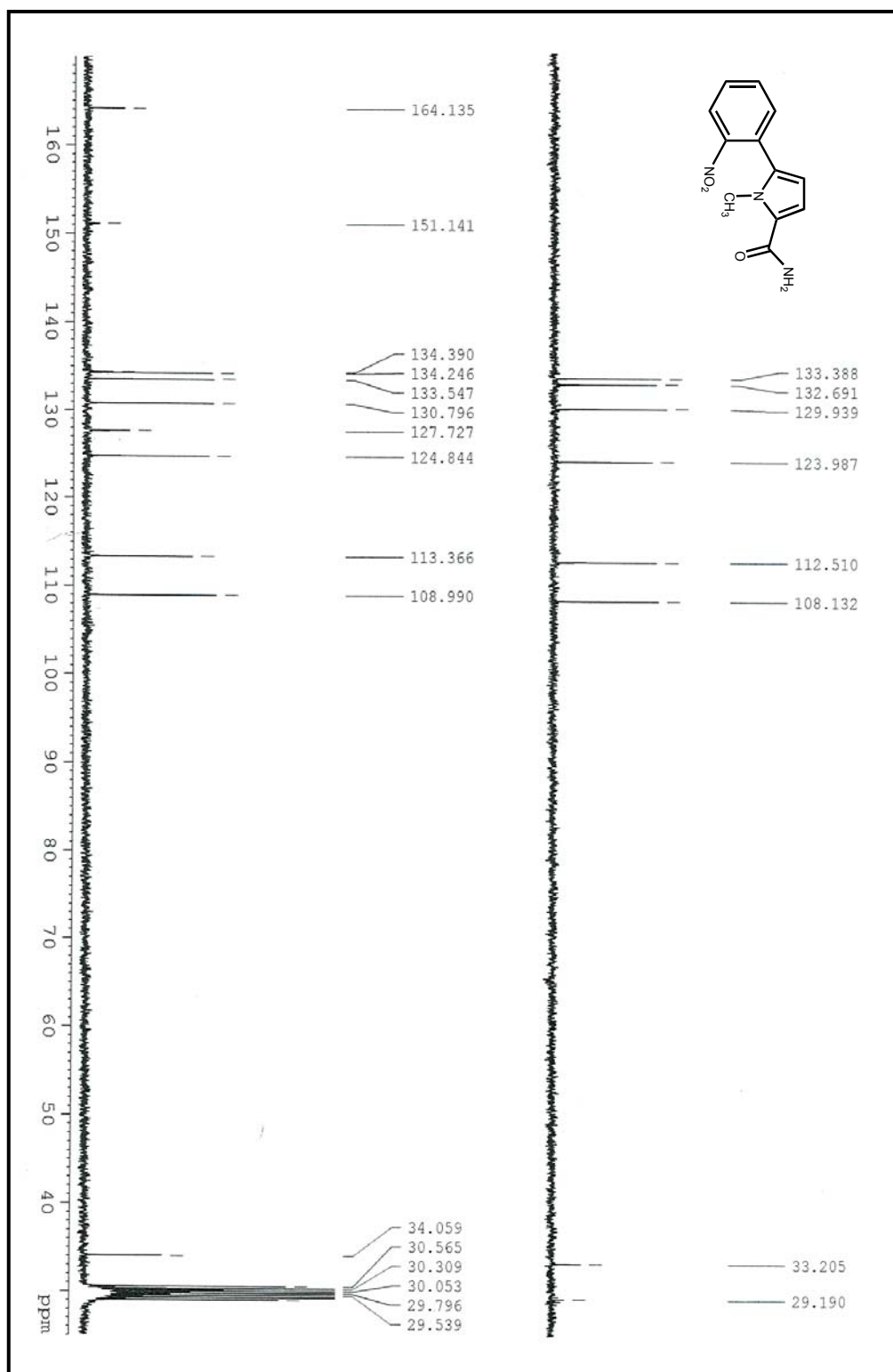
¹H-RMN: 1-metil-5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **188**.



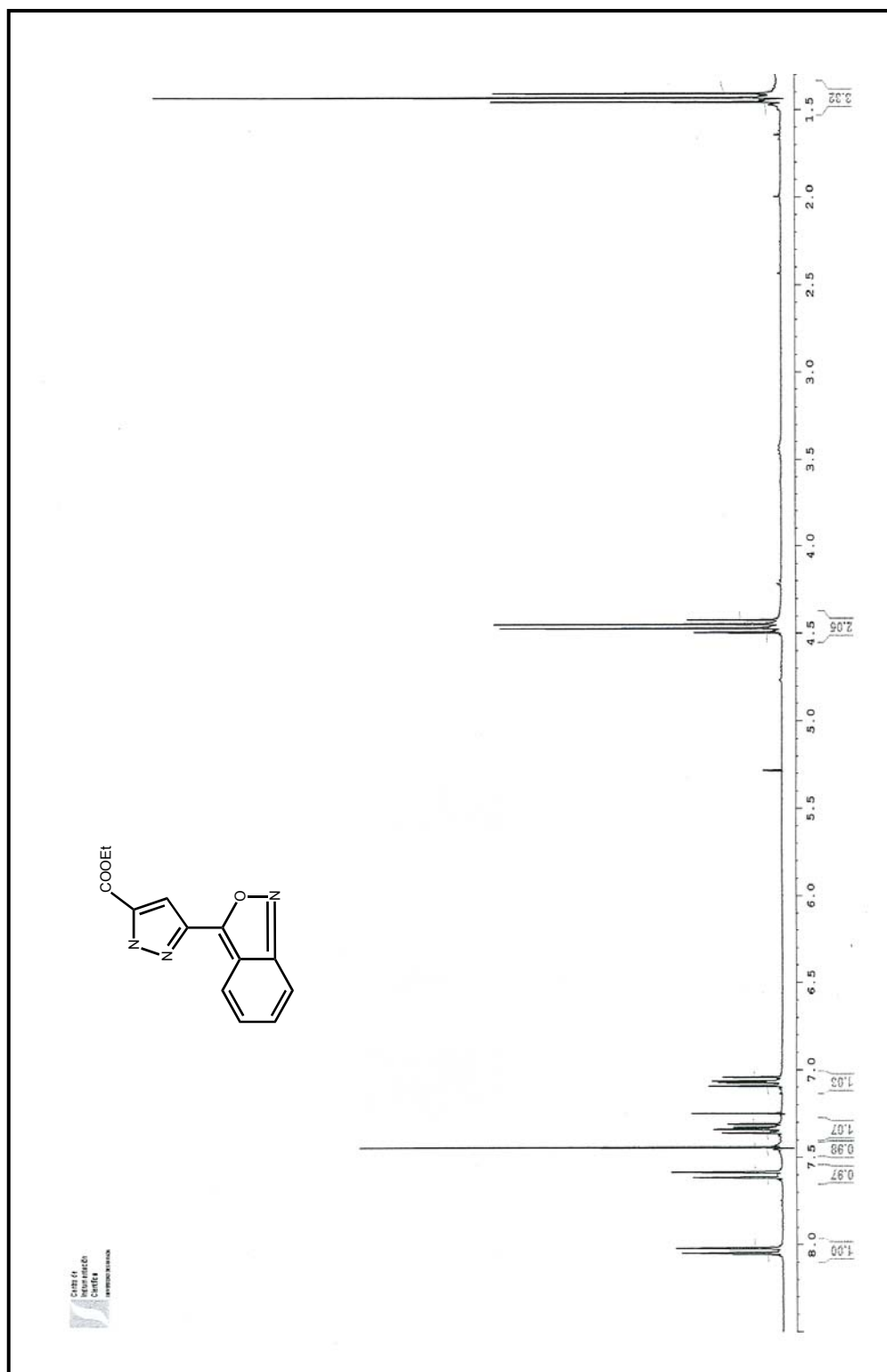
^{13}C -RMN: 1-metil-5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo **188**.



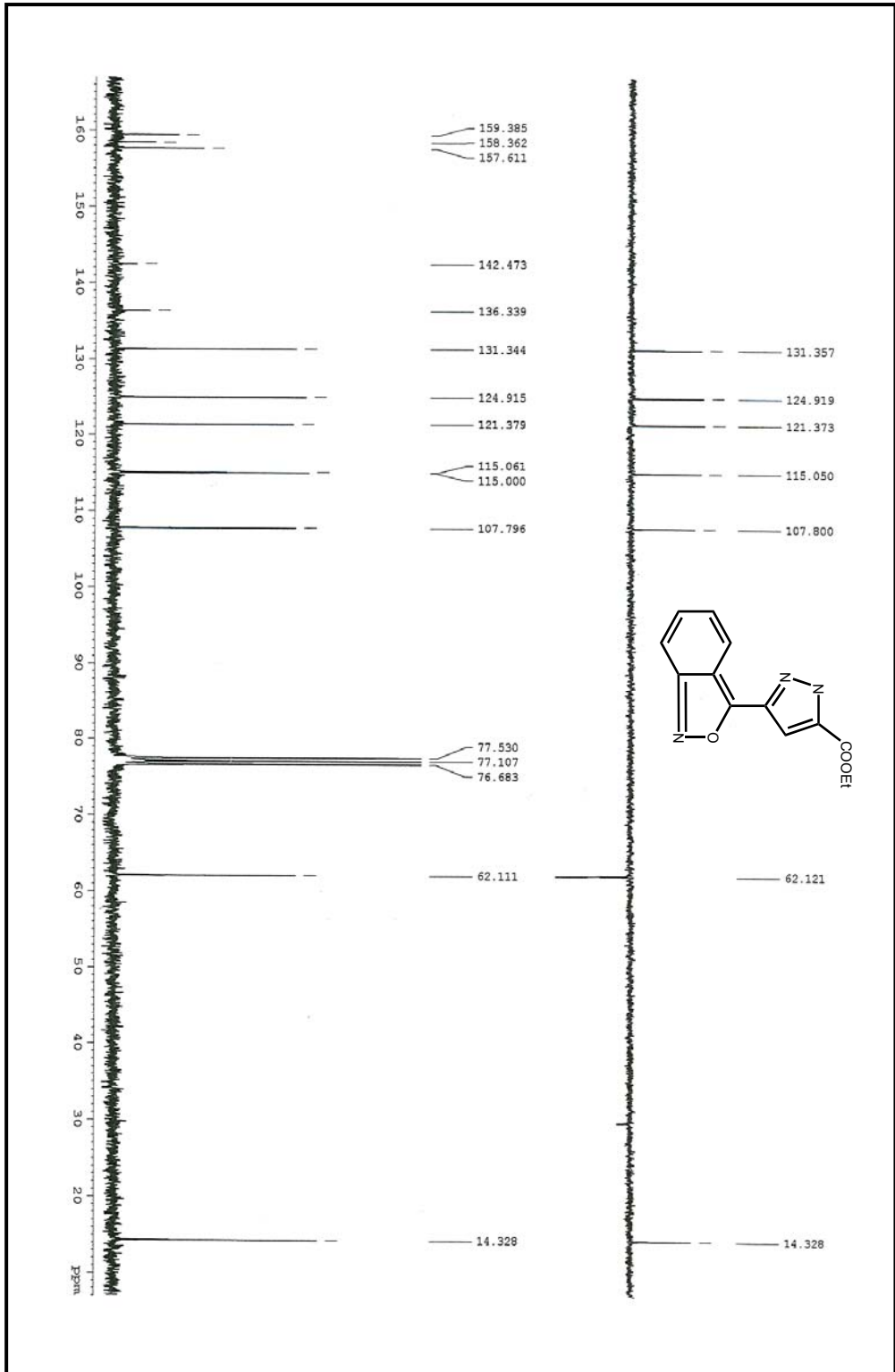
¹H-RMN: 1-metil-5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **189**.



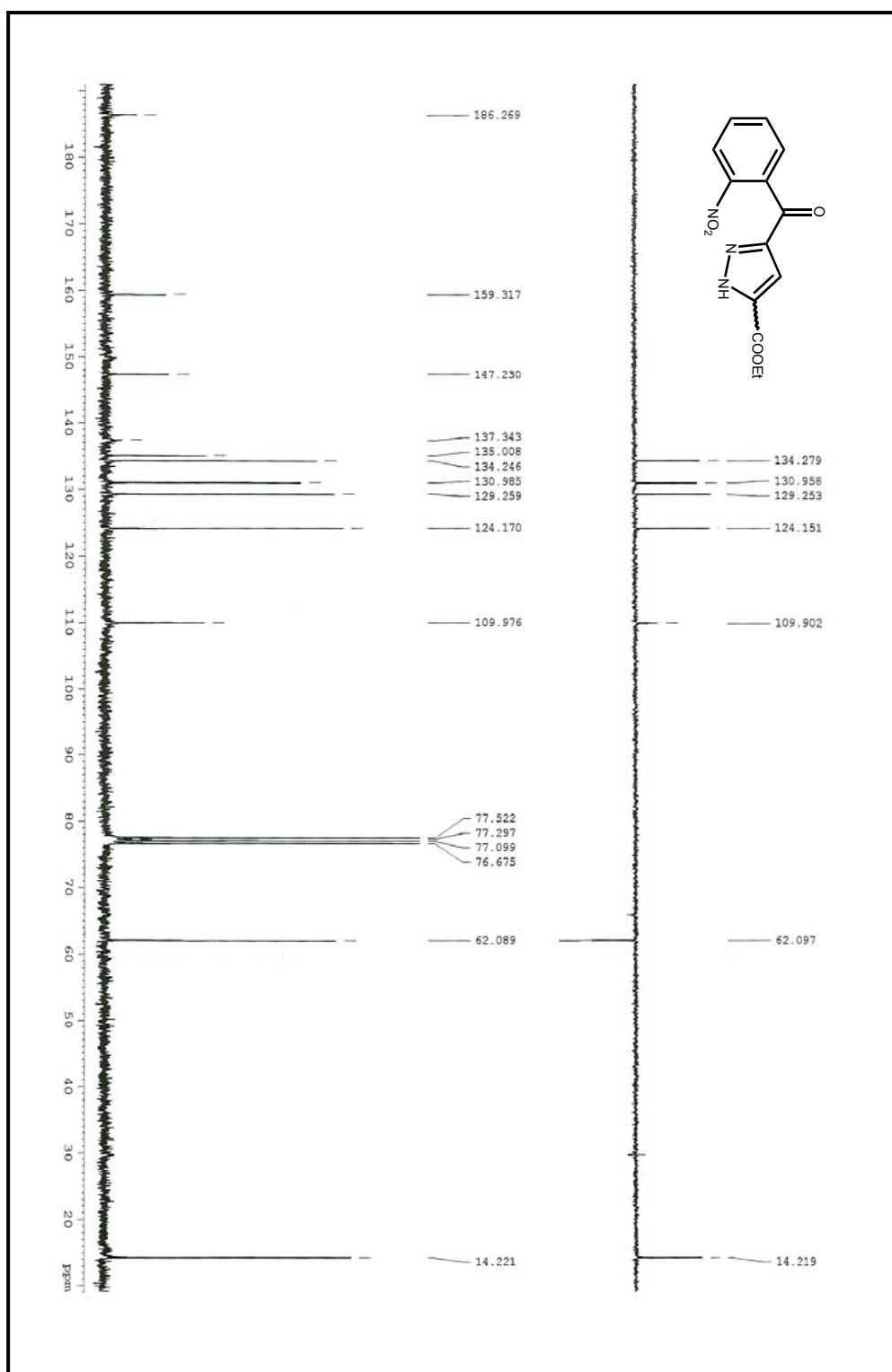
^{13}C -RMN: 1-metil-5-(2'-nitrofenil)-1H-pirrol-2-carboxamida **189**.

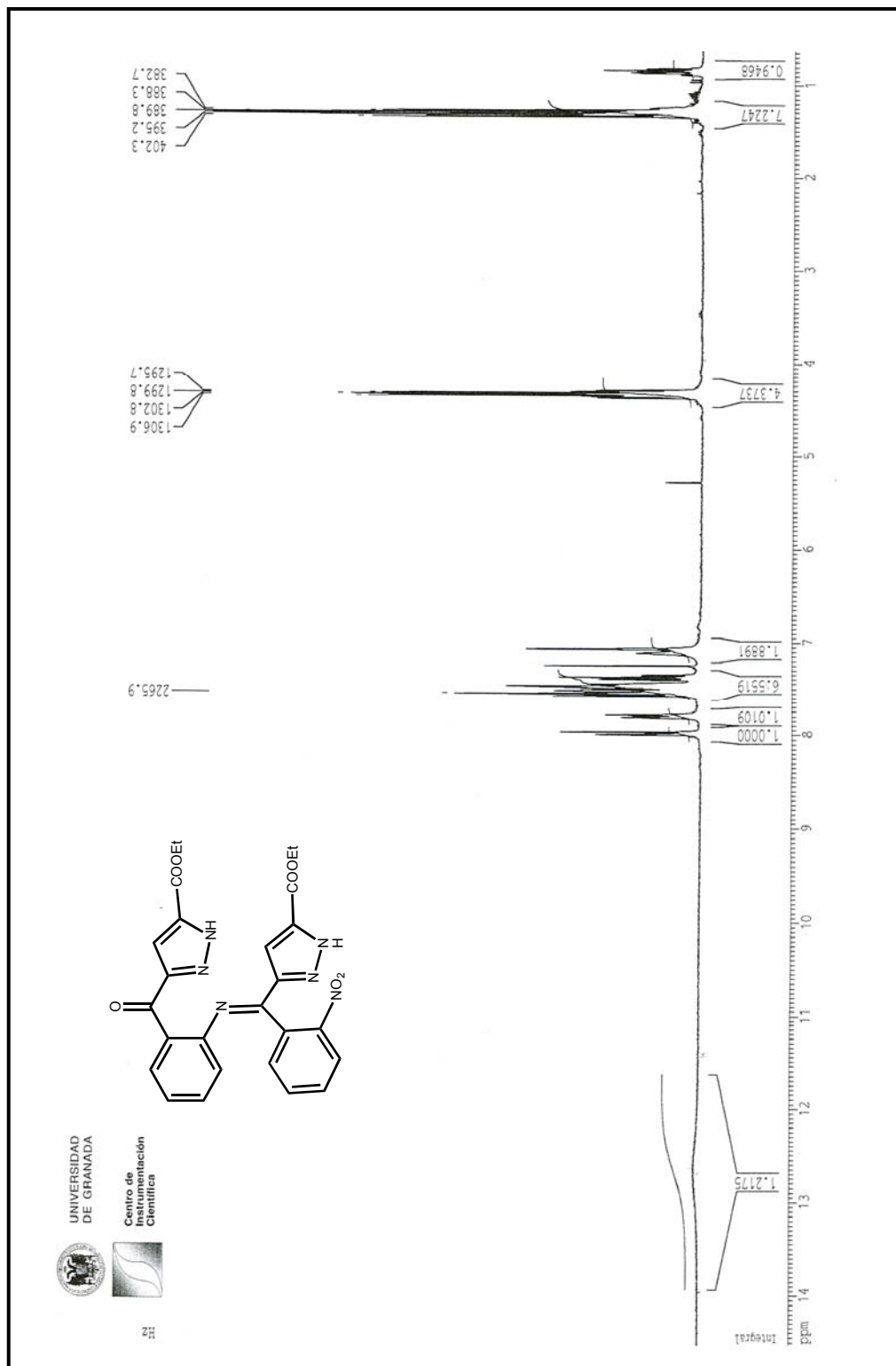


¹H-RMN: -3-(benzo[1,2-c:3,4-b']isoxazol-3-yl)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **155a**.

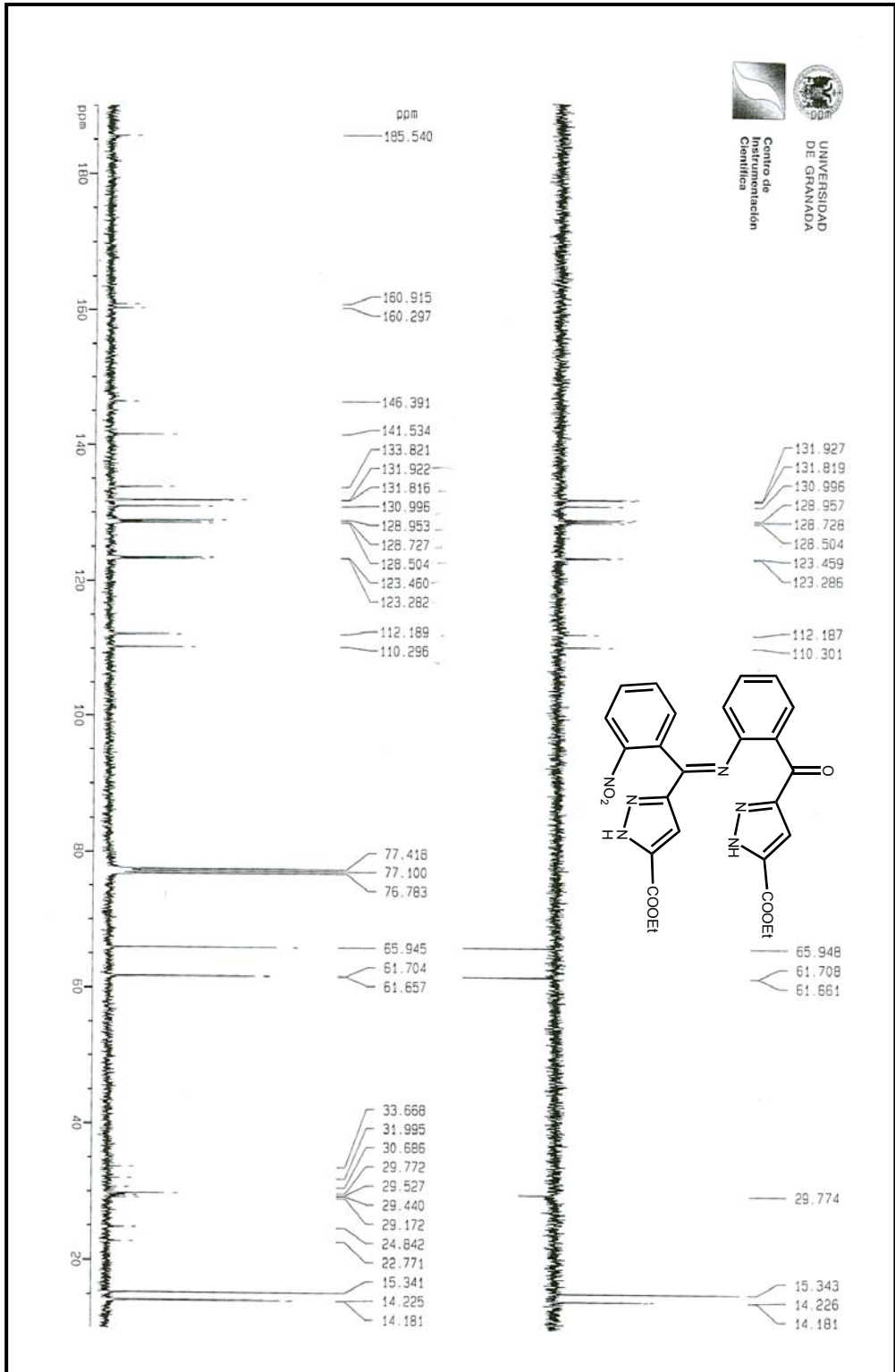


^{13}C -RMN: 3-(2'-nitrobenzoi)-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo **155b**.

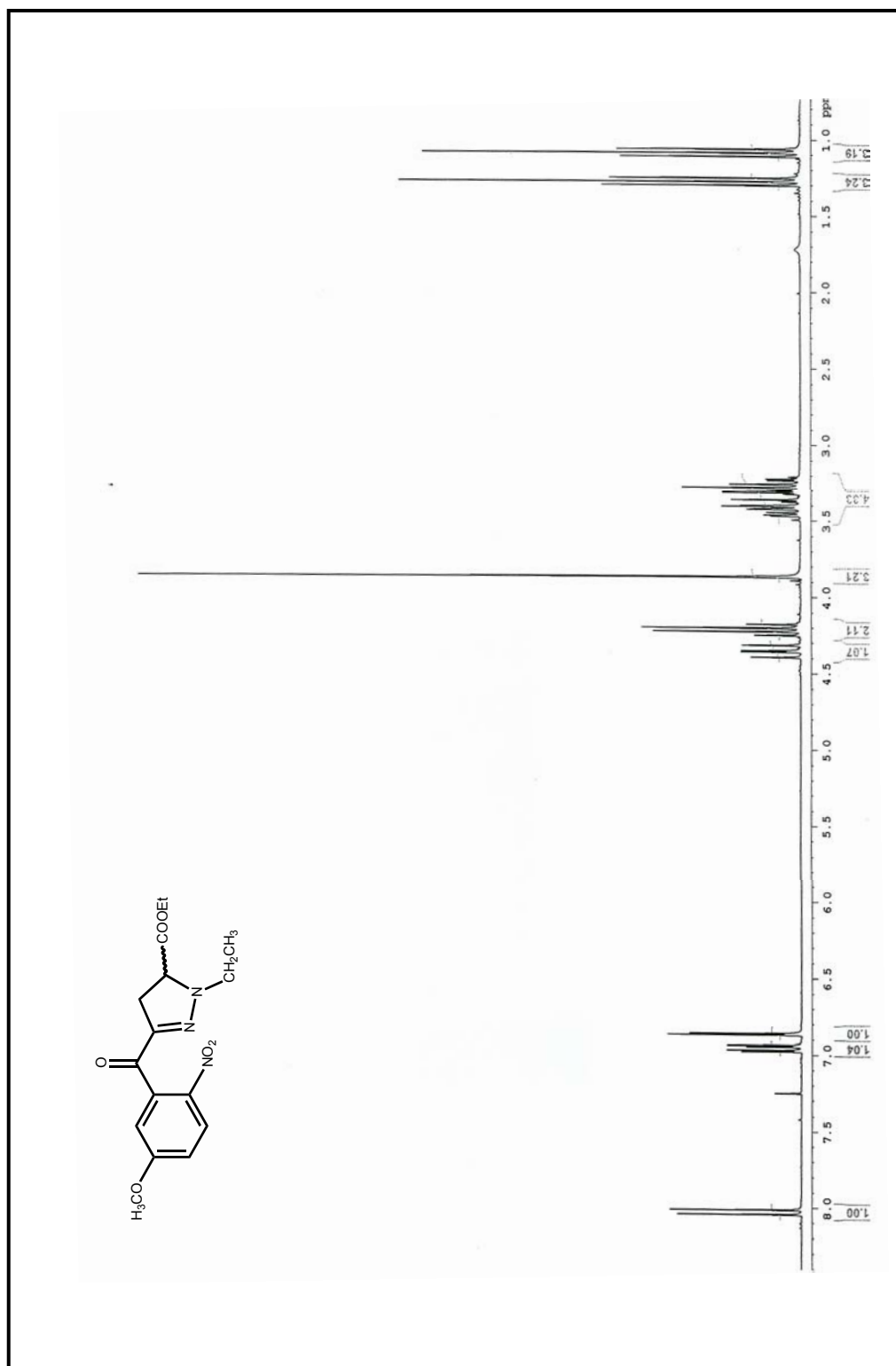




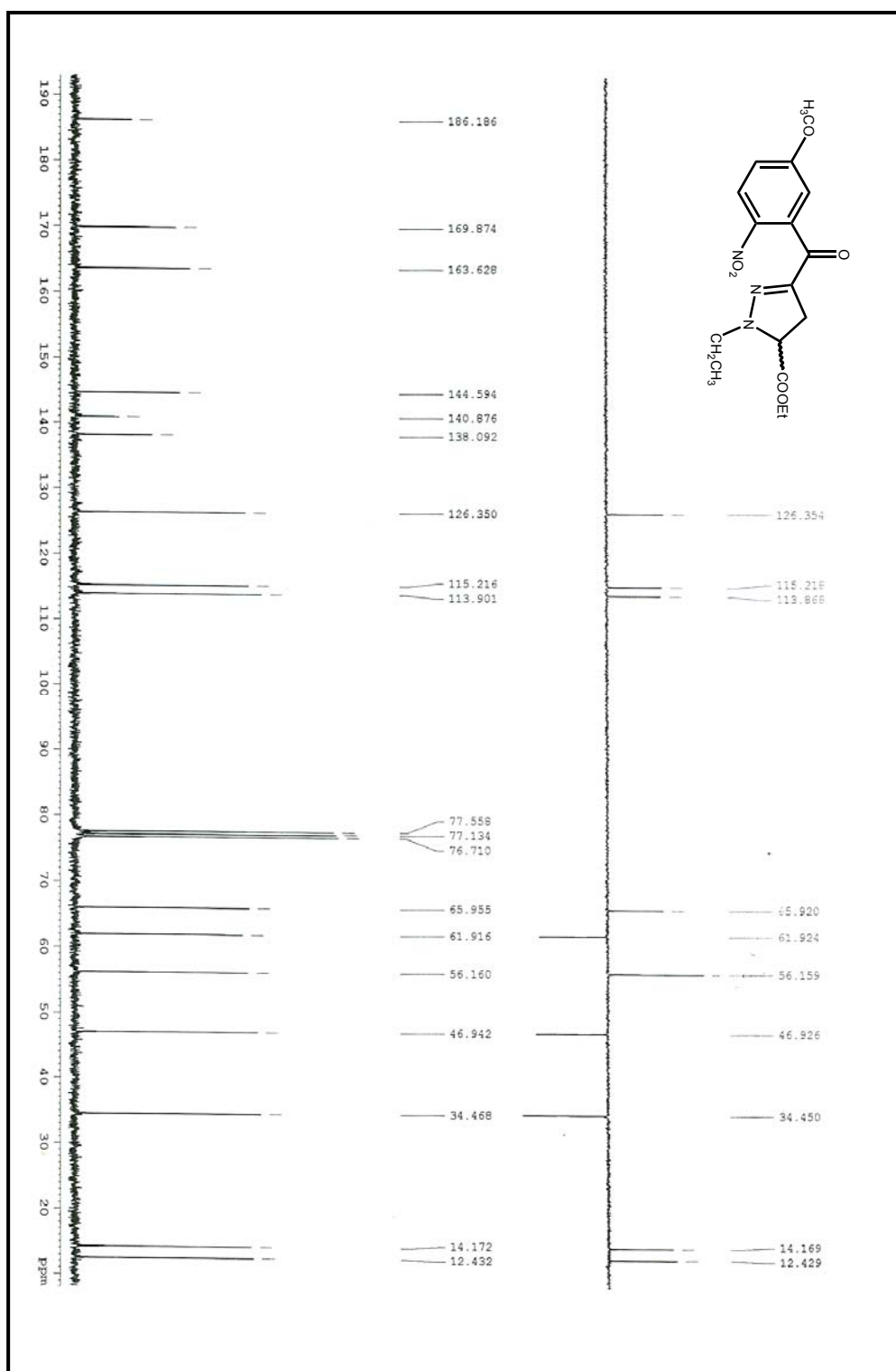
¹H-RMN: Dímero **155c**.

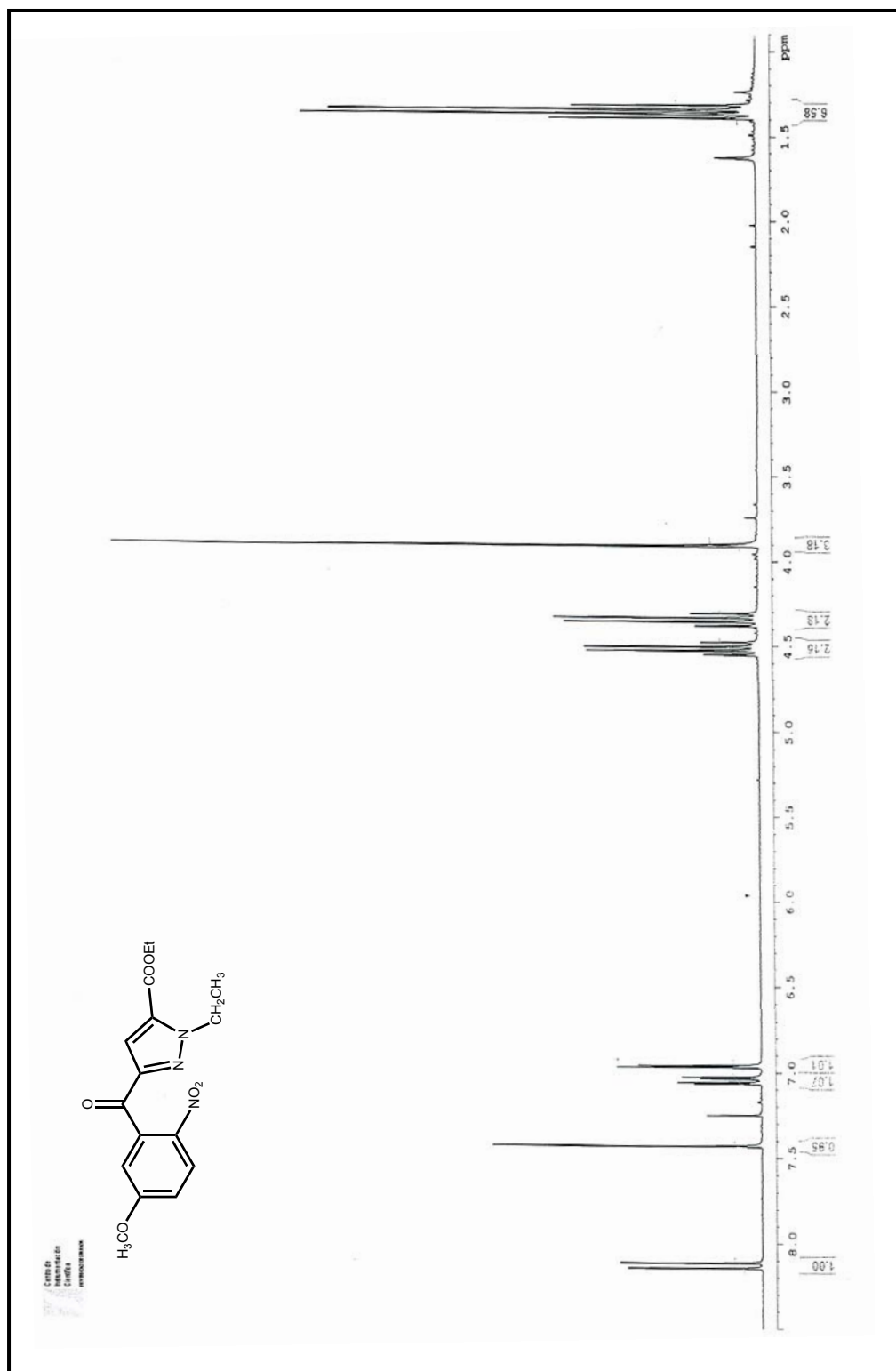


¹³C-RMN: Dímero **155c**.

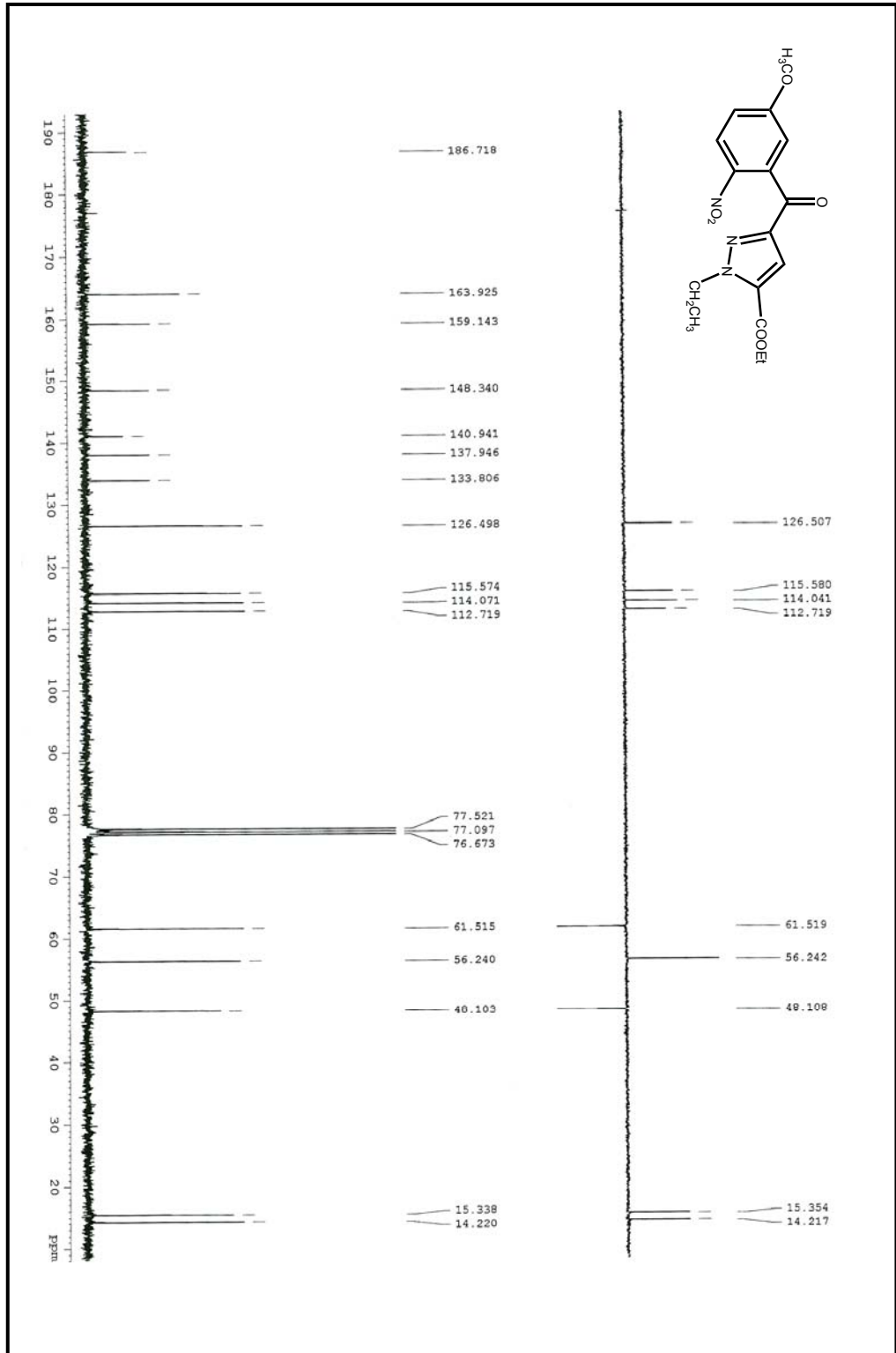


¹H-RMN: 1-etil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **190**.

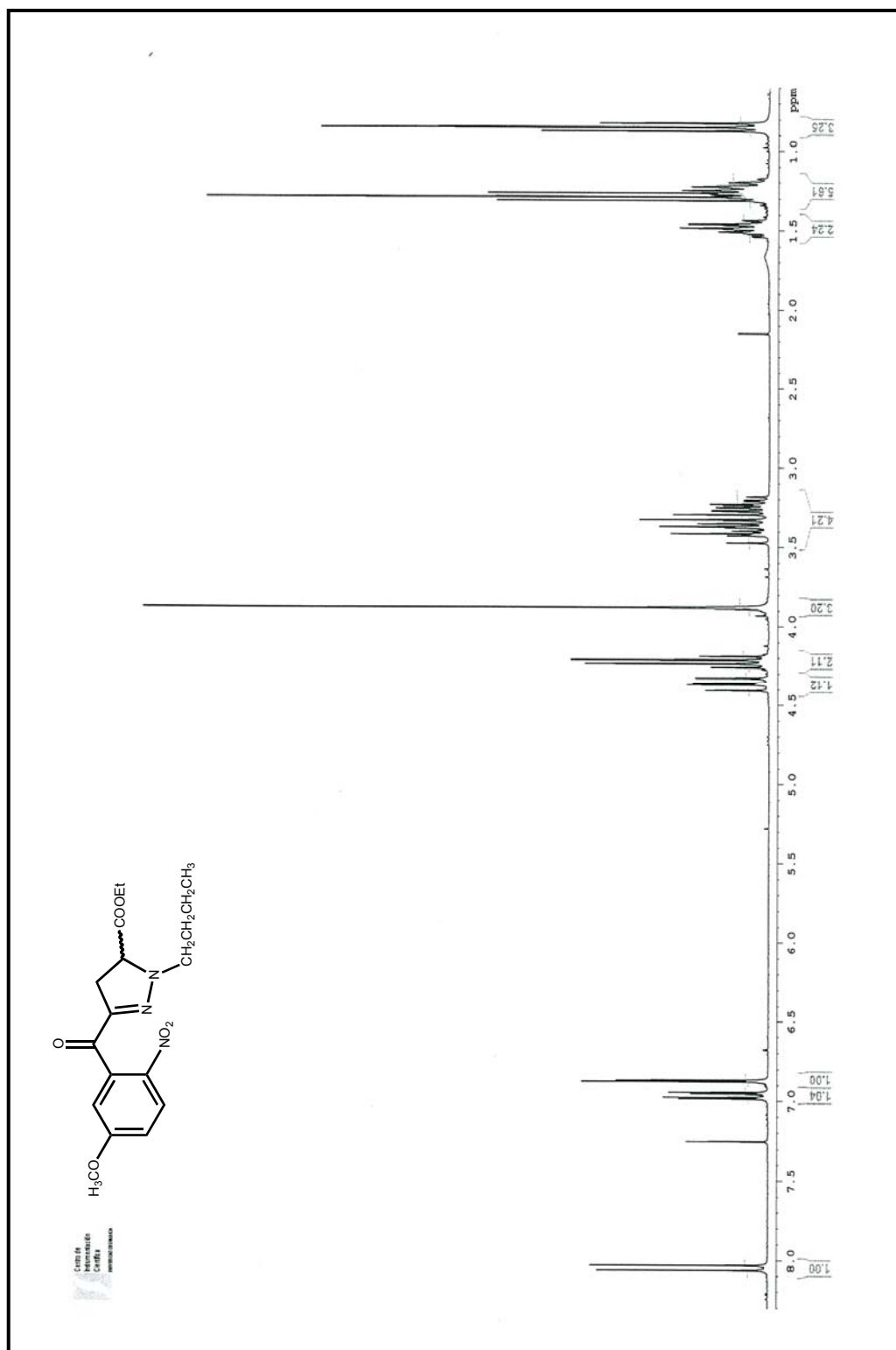




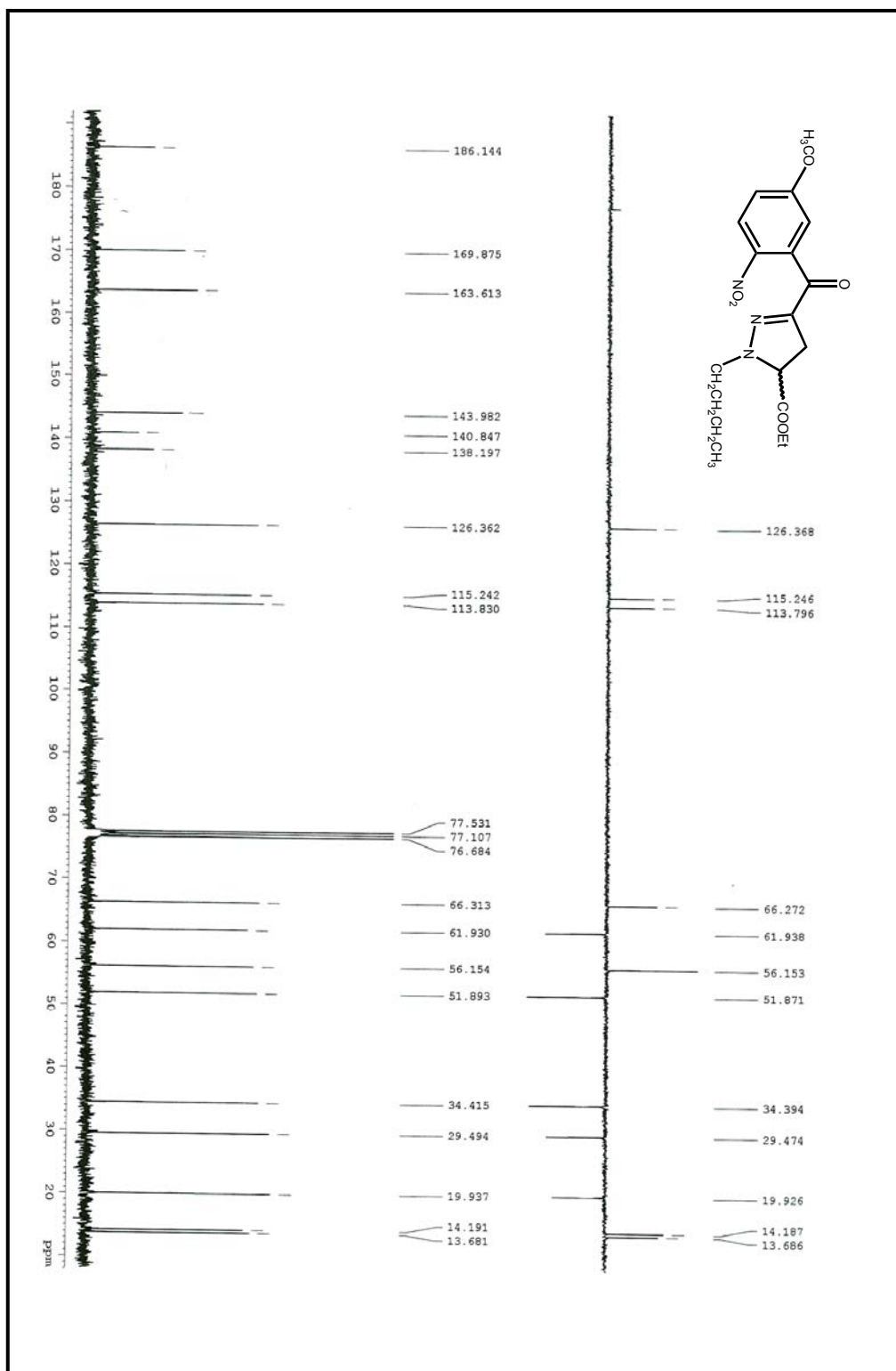
¹H-RMN: 1-etil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **191**.

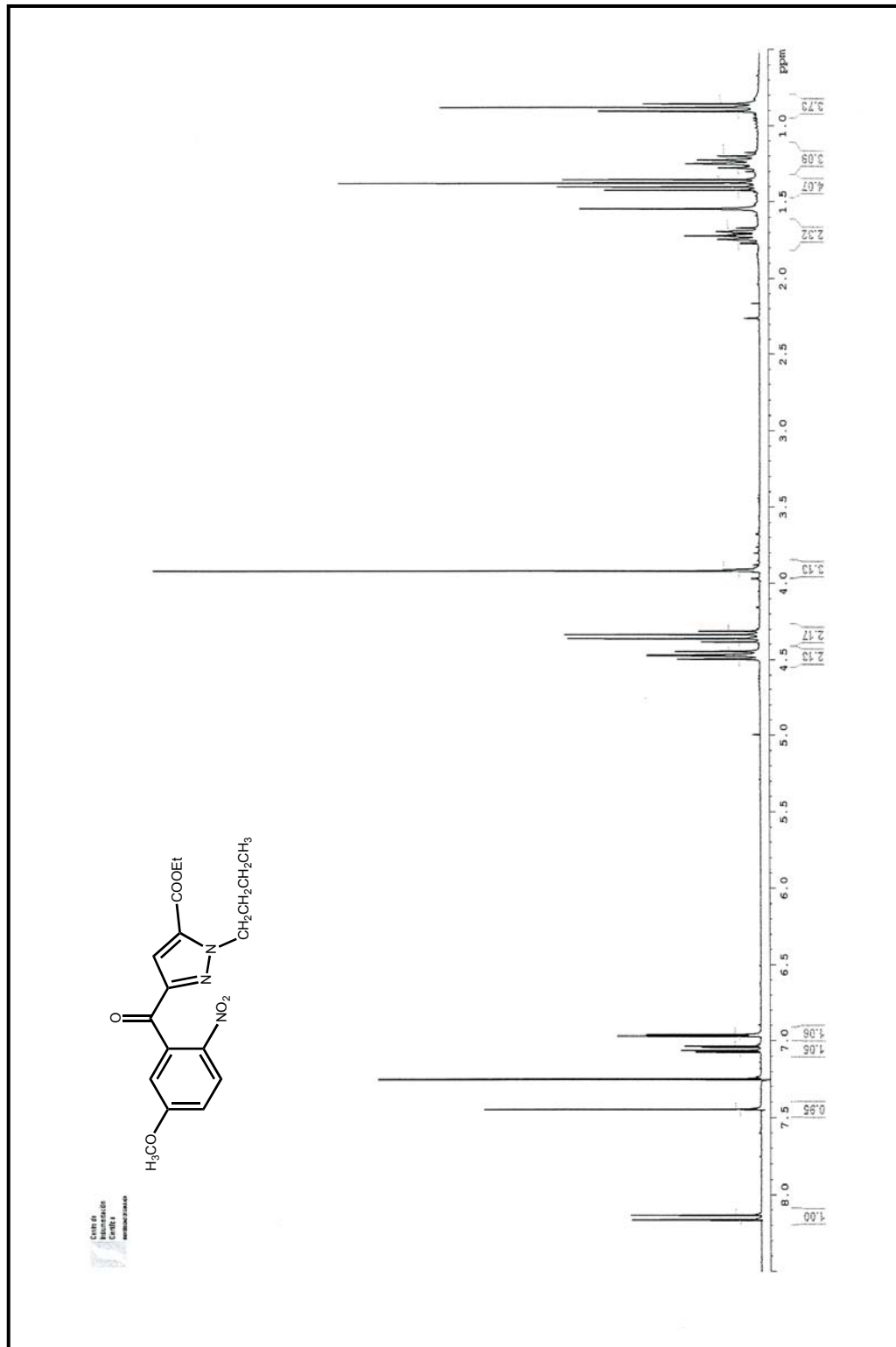


¹³C-RMN: 1-etil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **191**.

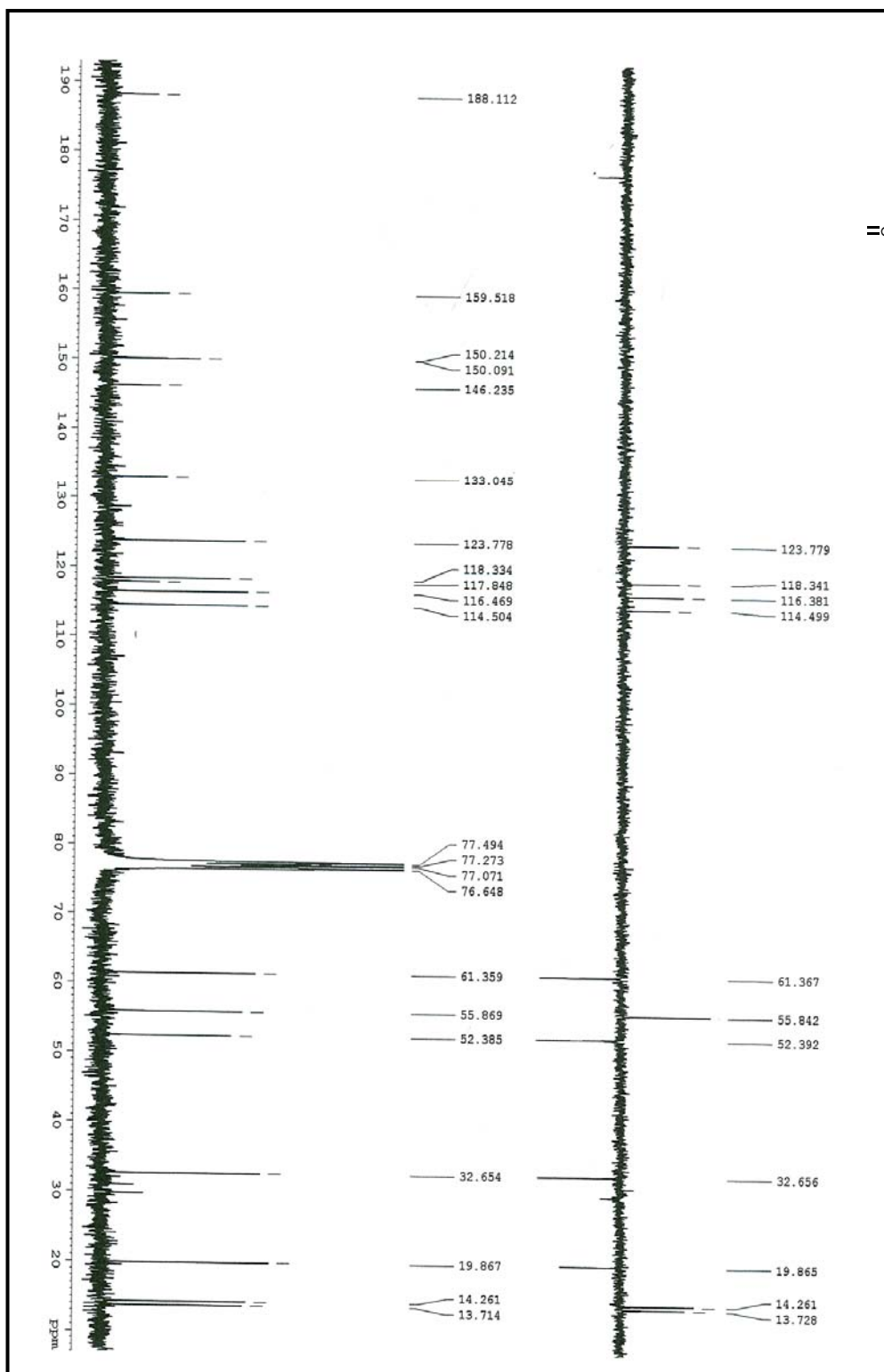


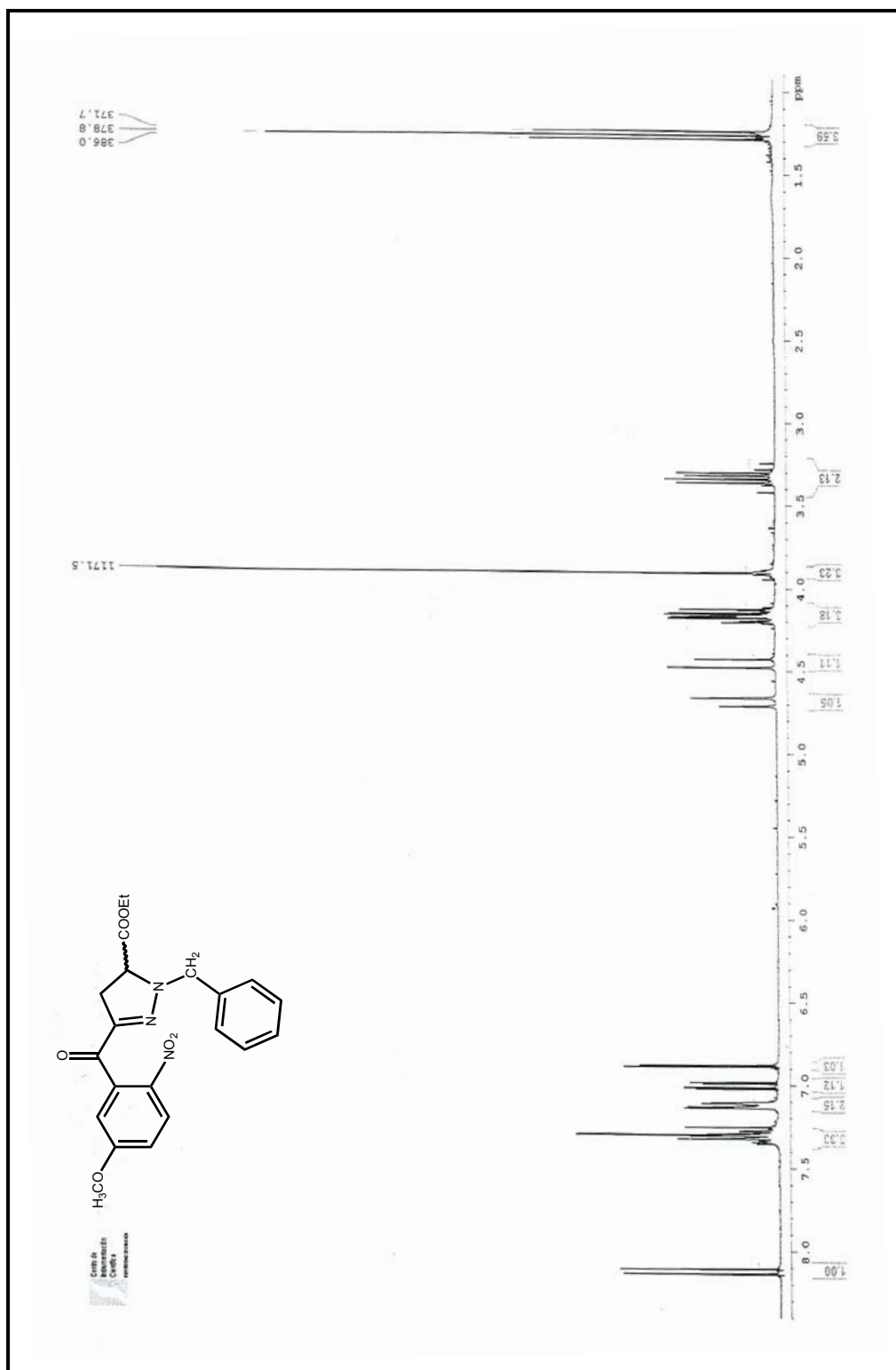
¹H-RMN: 1-butil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **192**.

^{13}C -RMN: 1-butil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **192**.



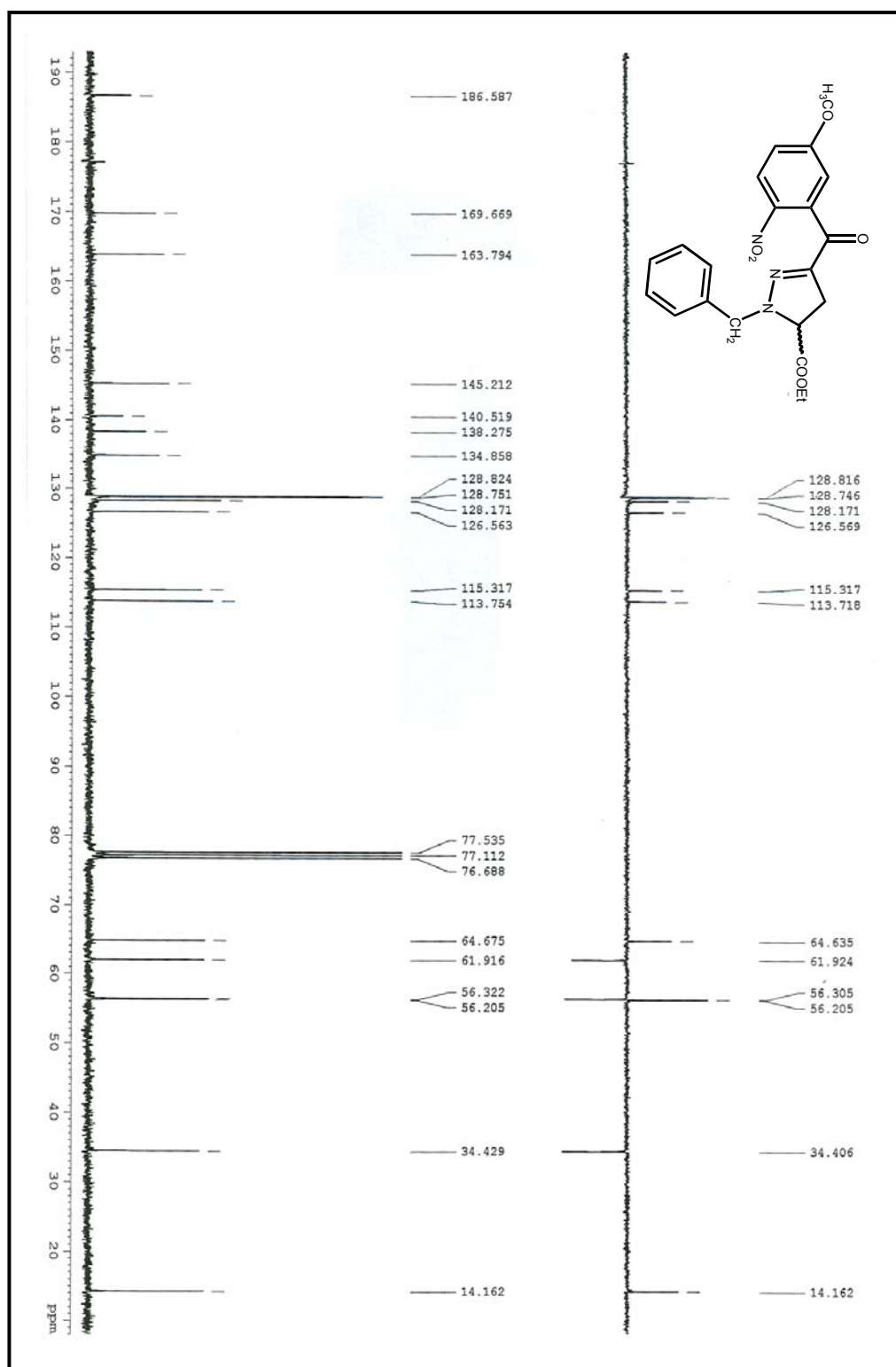
¹H-RMN: 1-butil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **193**.

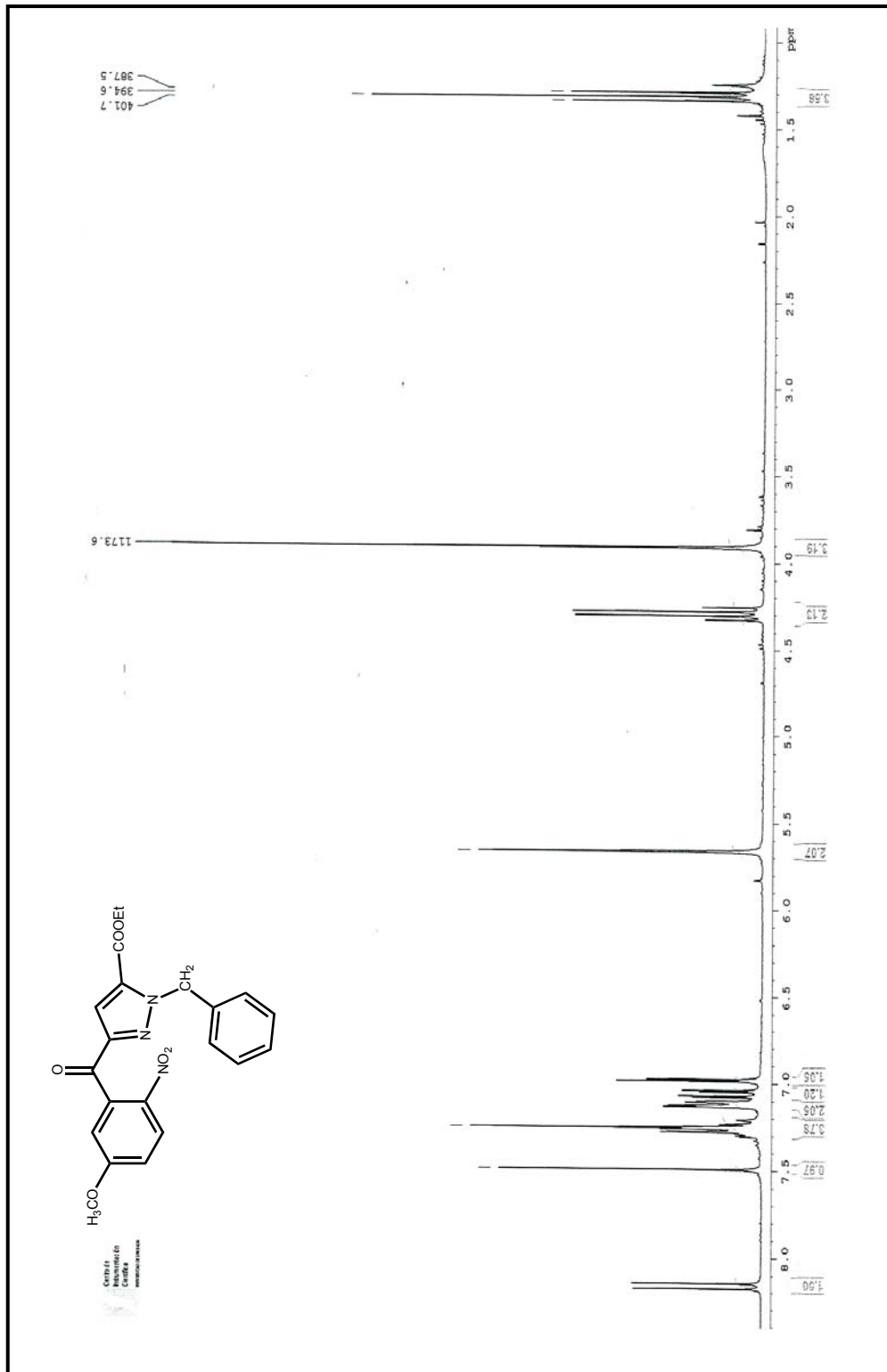




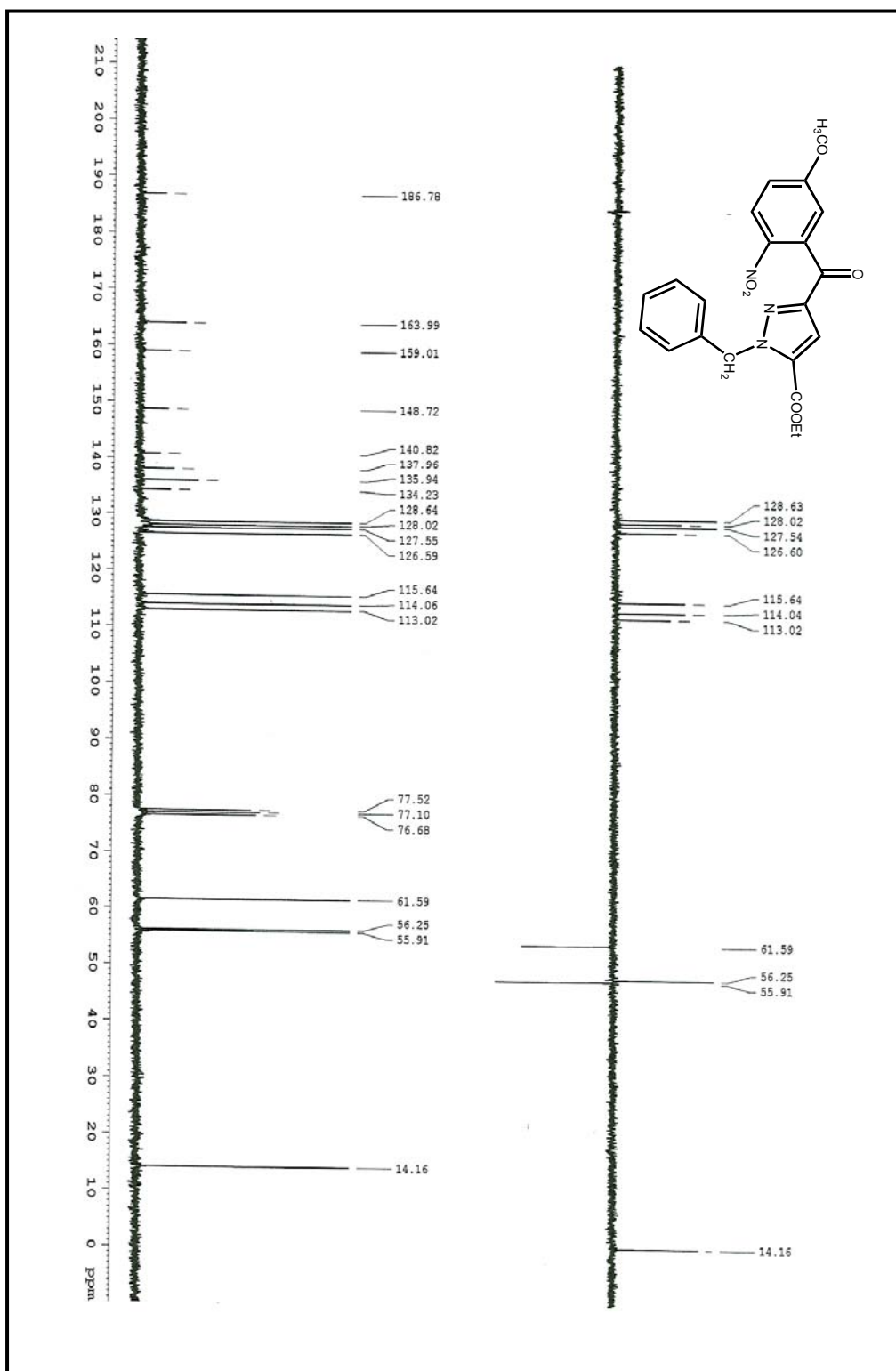
¹H-RMN: 1-bencil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **194**.

^{13}C -RMN: 1-bencil-3-(5'-metoxi-2-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **194**.

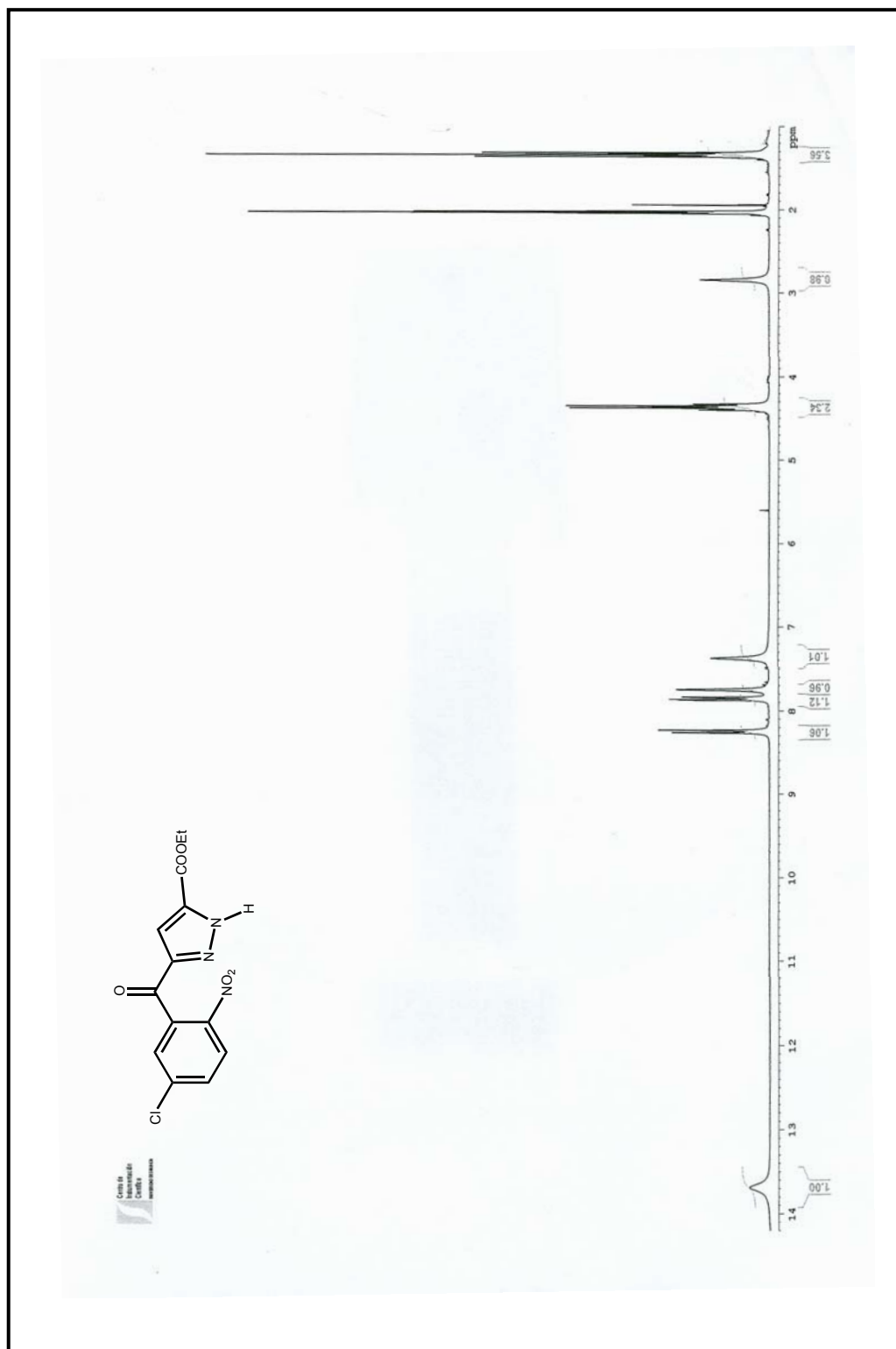




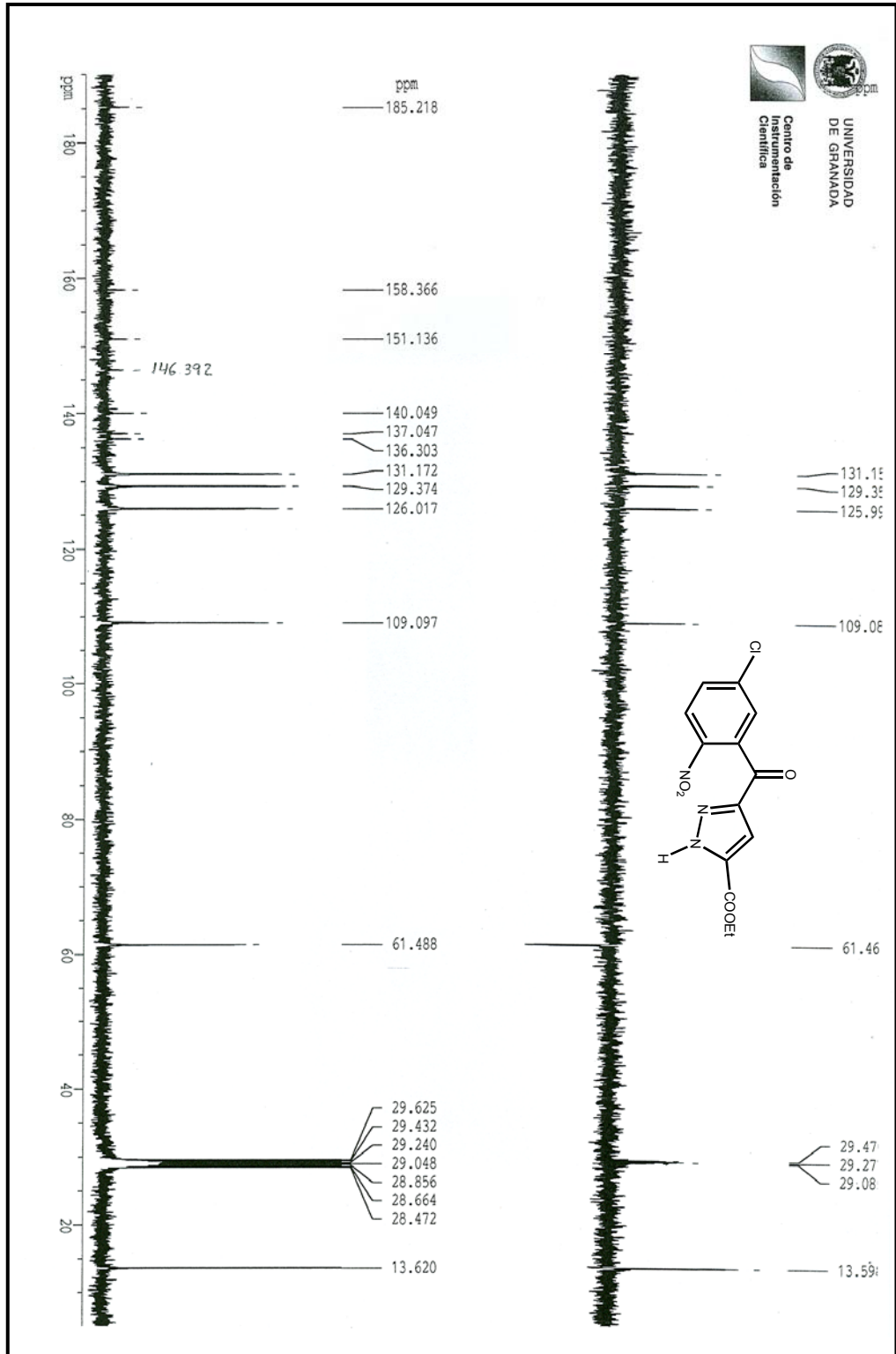
¹H-RMN: 1-bencil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoi)-1-H-pirazol-5-carboxilato de etilo **195**.



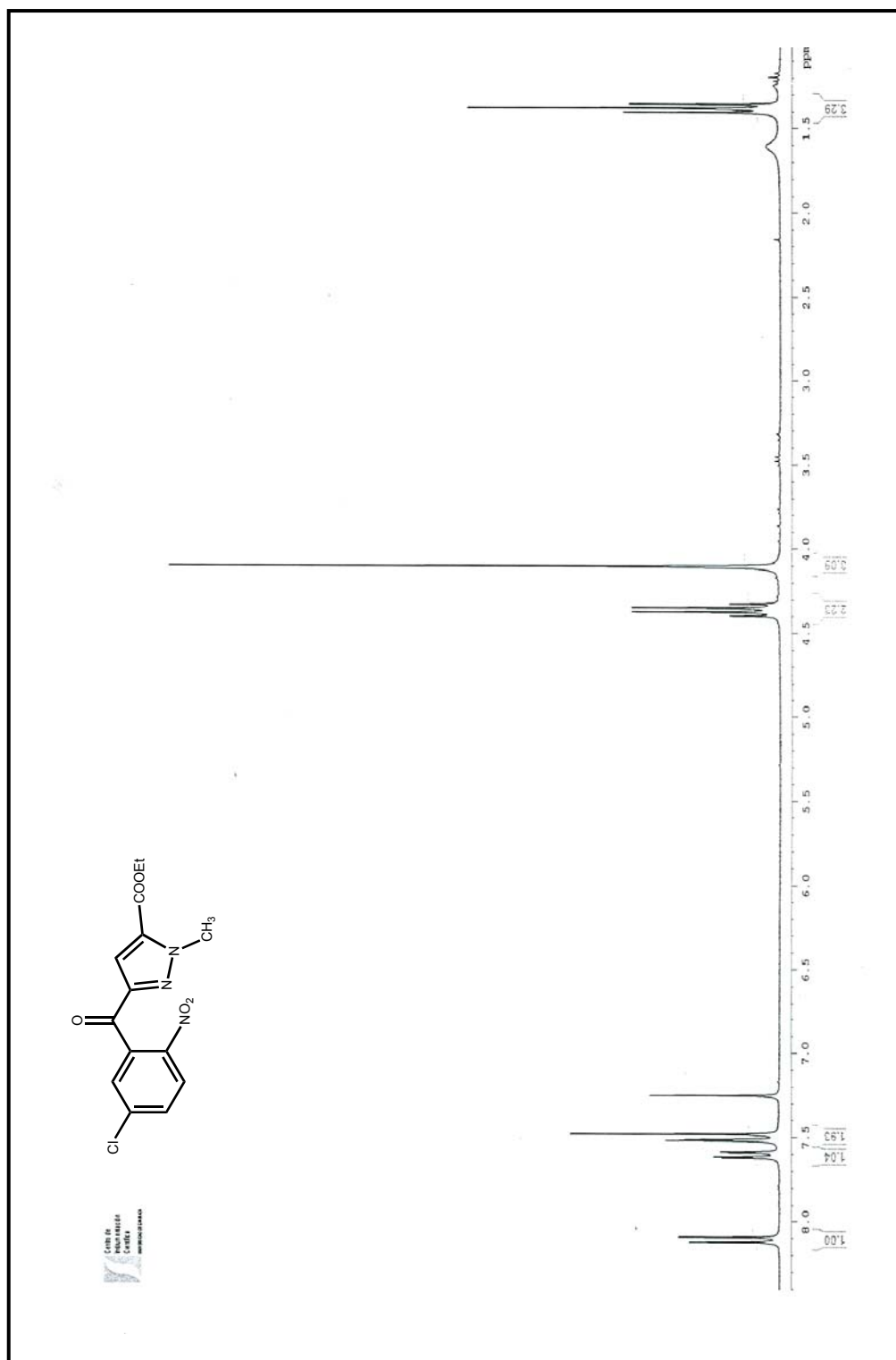
¹³C-RMN: 1-bencil-3-(5'-metoxi-2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **195**.



¹H RMN: 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1-H-pirazol-5-carboxilato de etilo **196**.

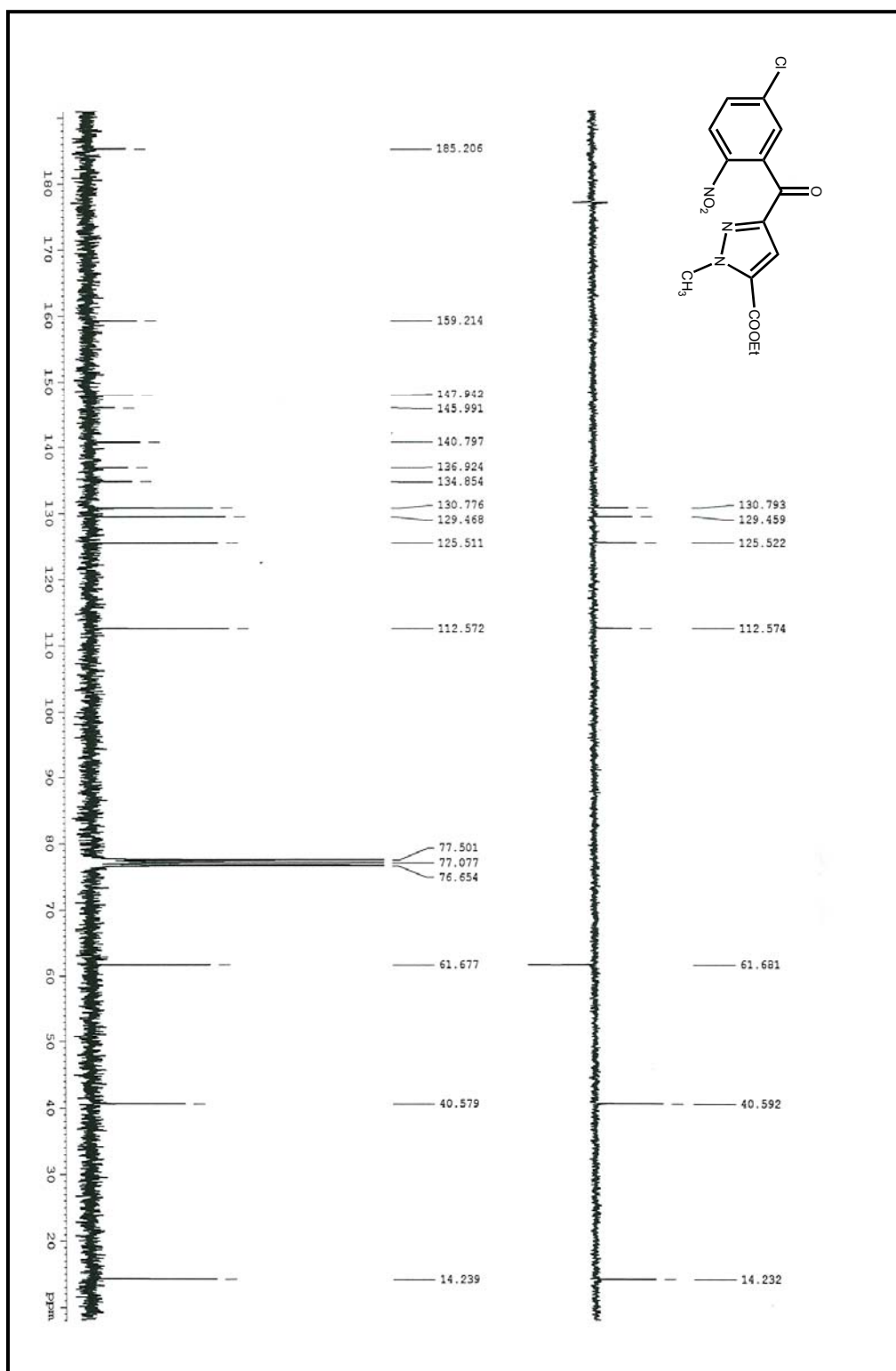


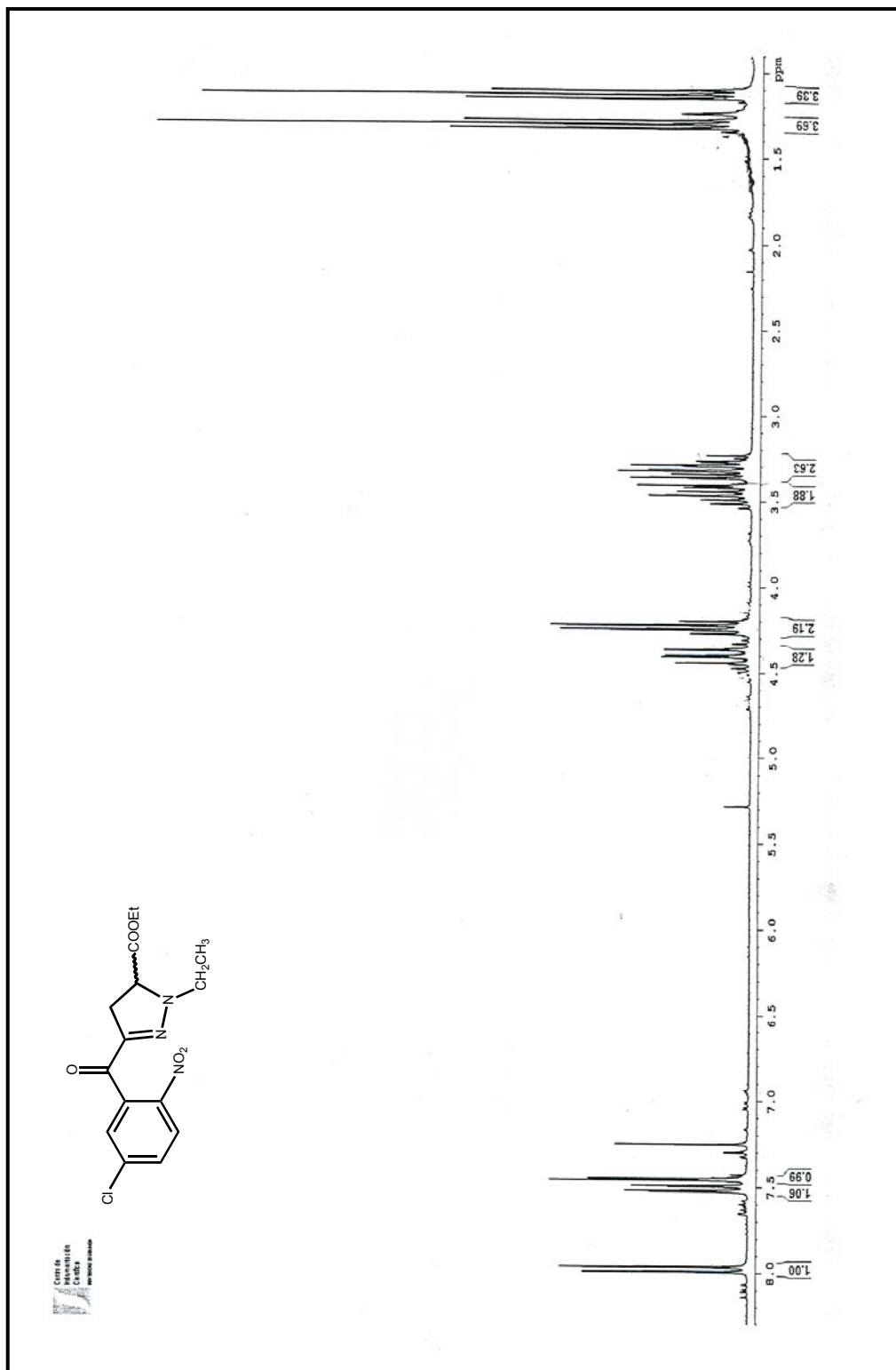
¹³C-RMN: 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoyl)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **196**



¹H-RMN: 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1-metil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **197**.

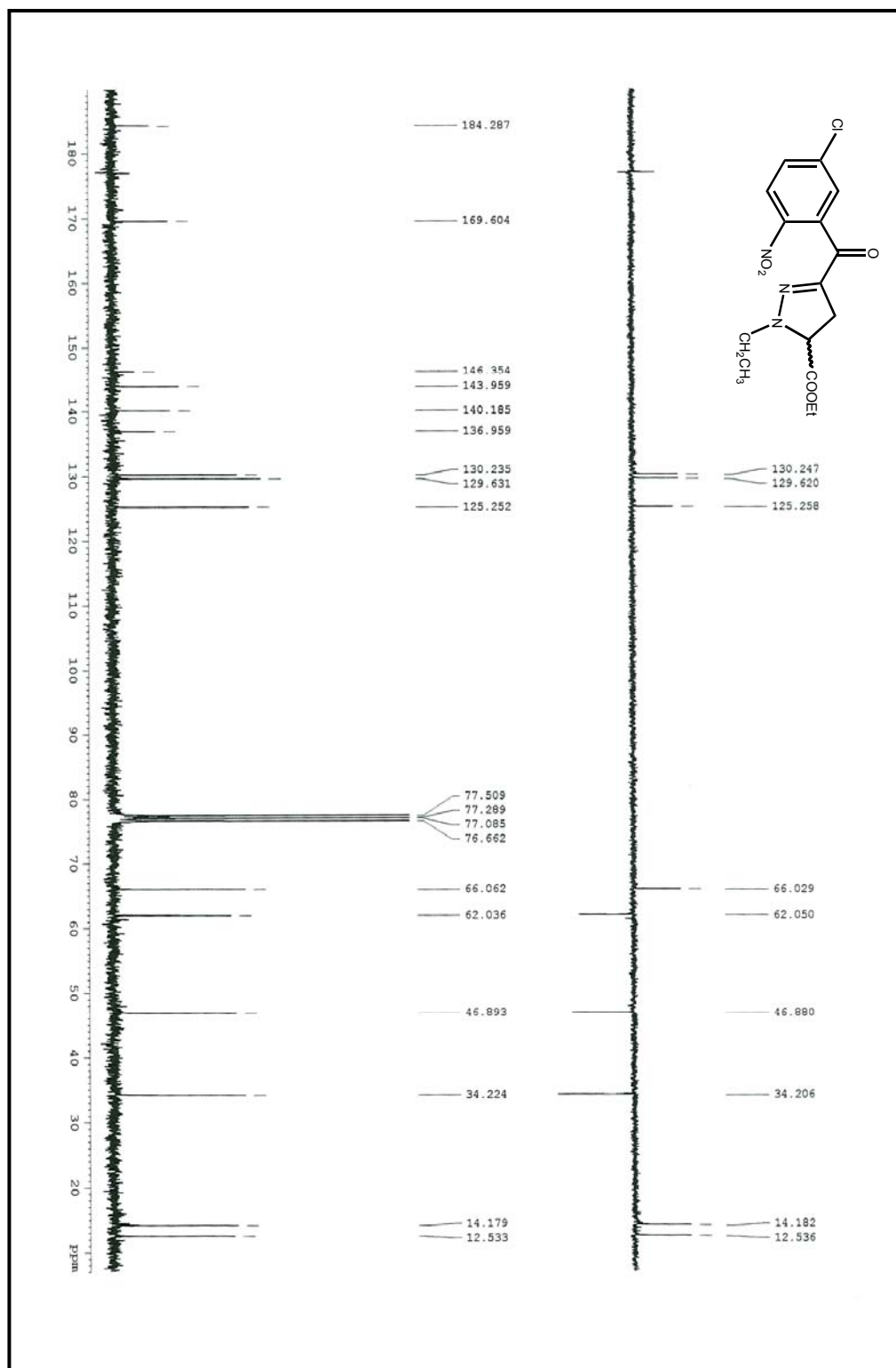
¹³C-RMN: 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1-metil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **197**.

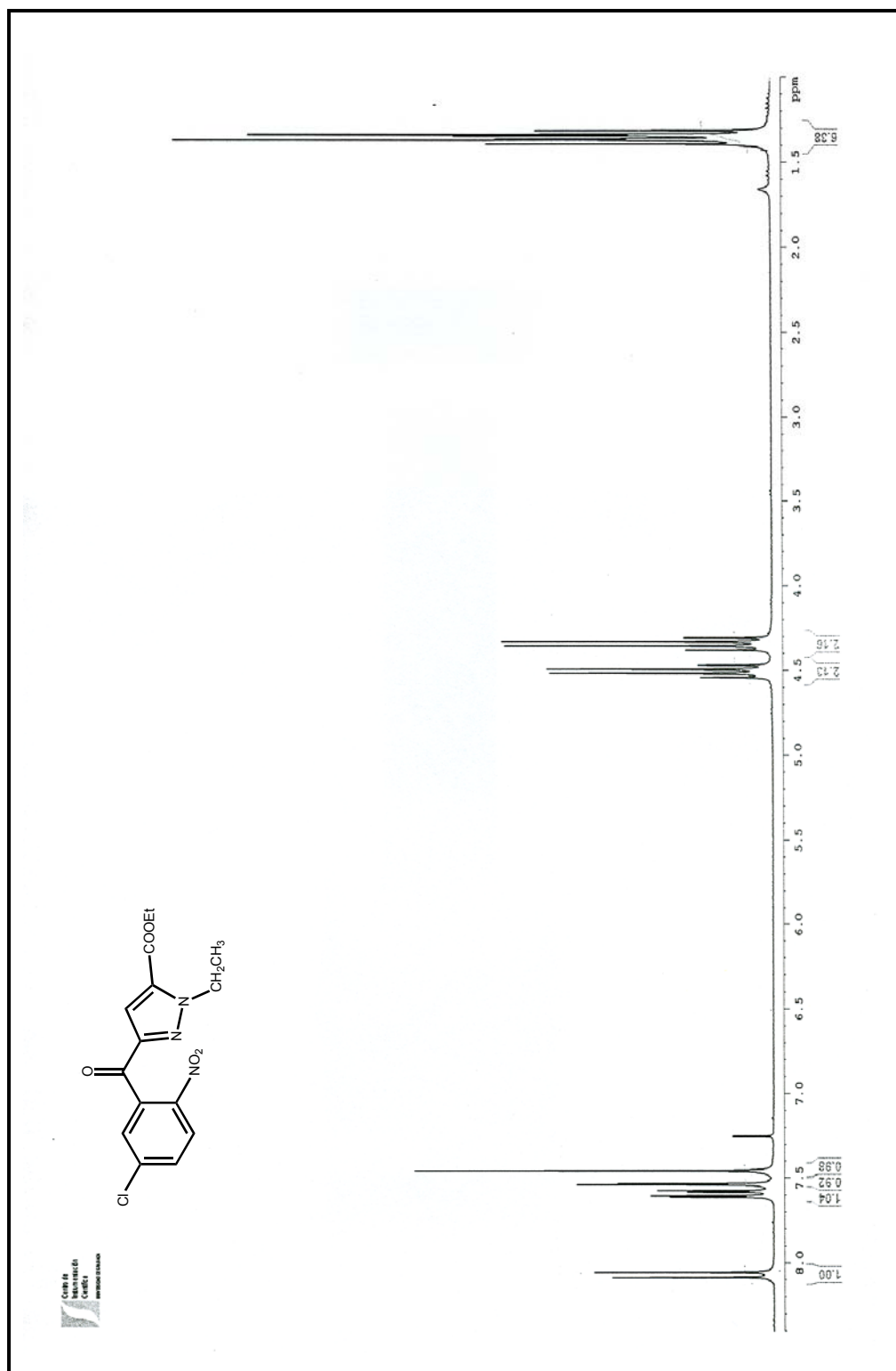




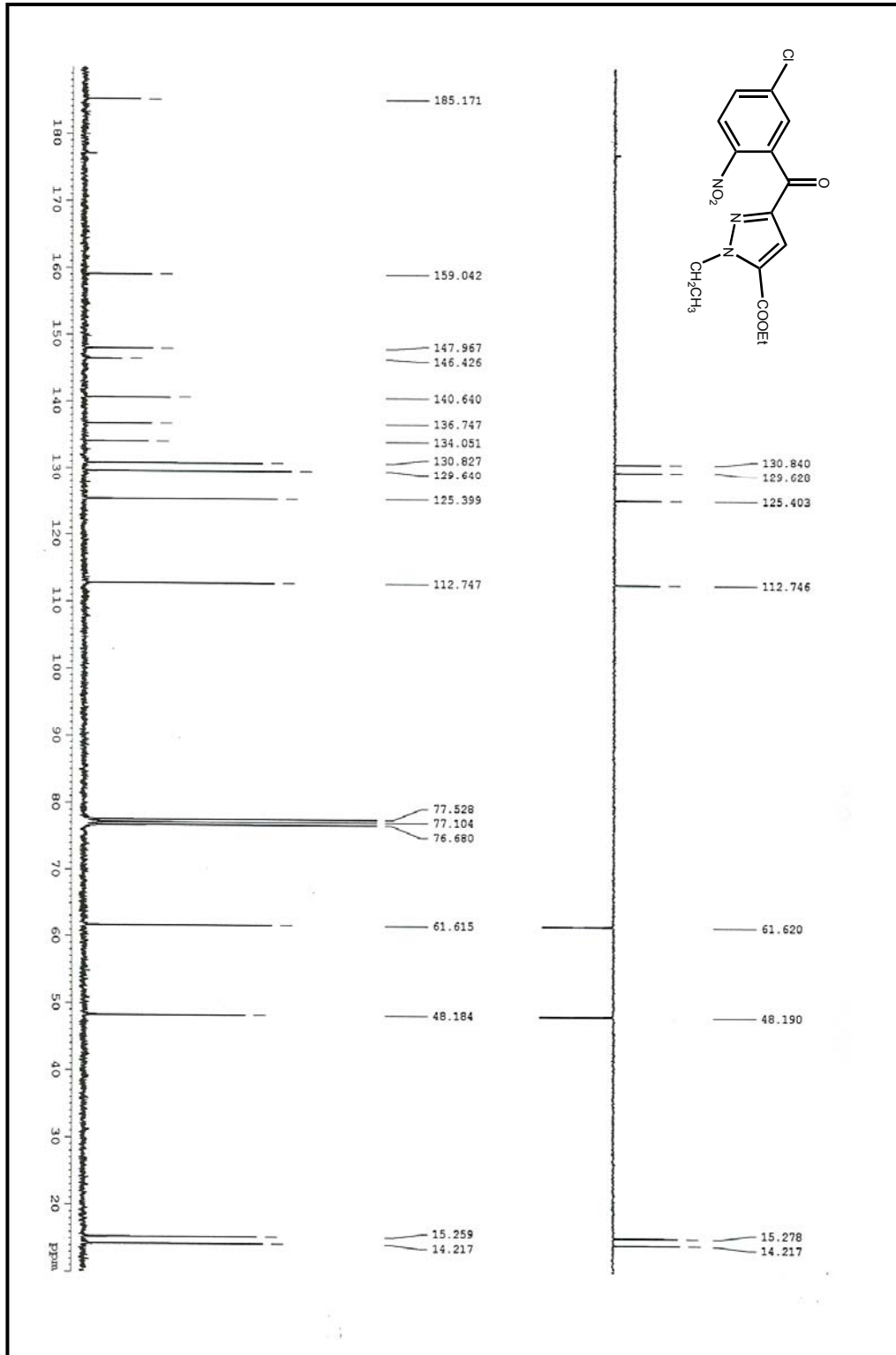
¹H-RMN: 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1-etil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **198**.

^{13}C -RMN : 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1-etil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **198**.

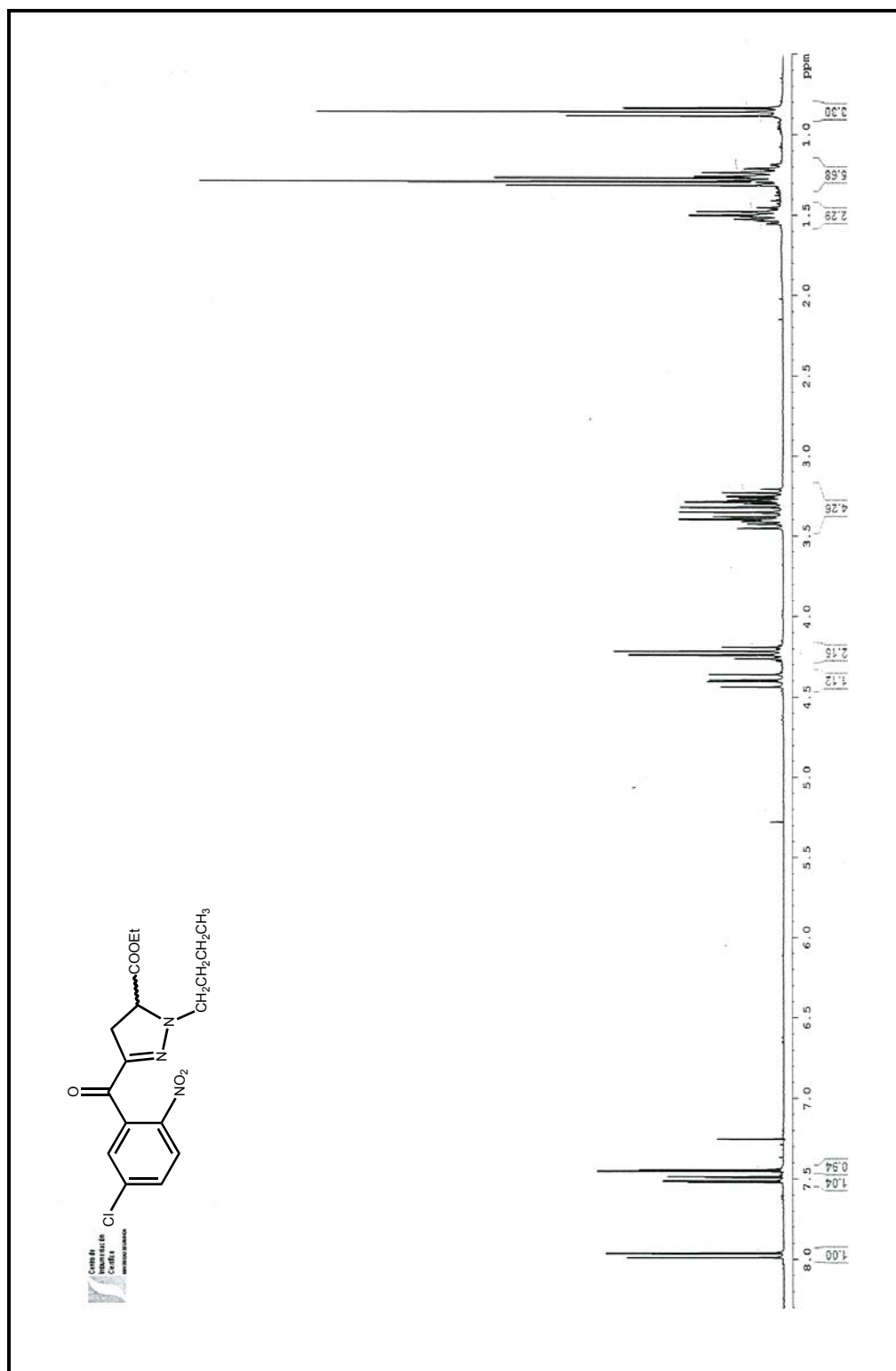




¹H-RMN: 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1-etil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **199**.

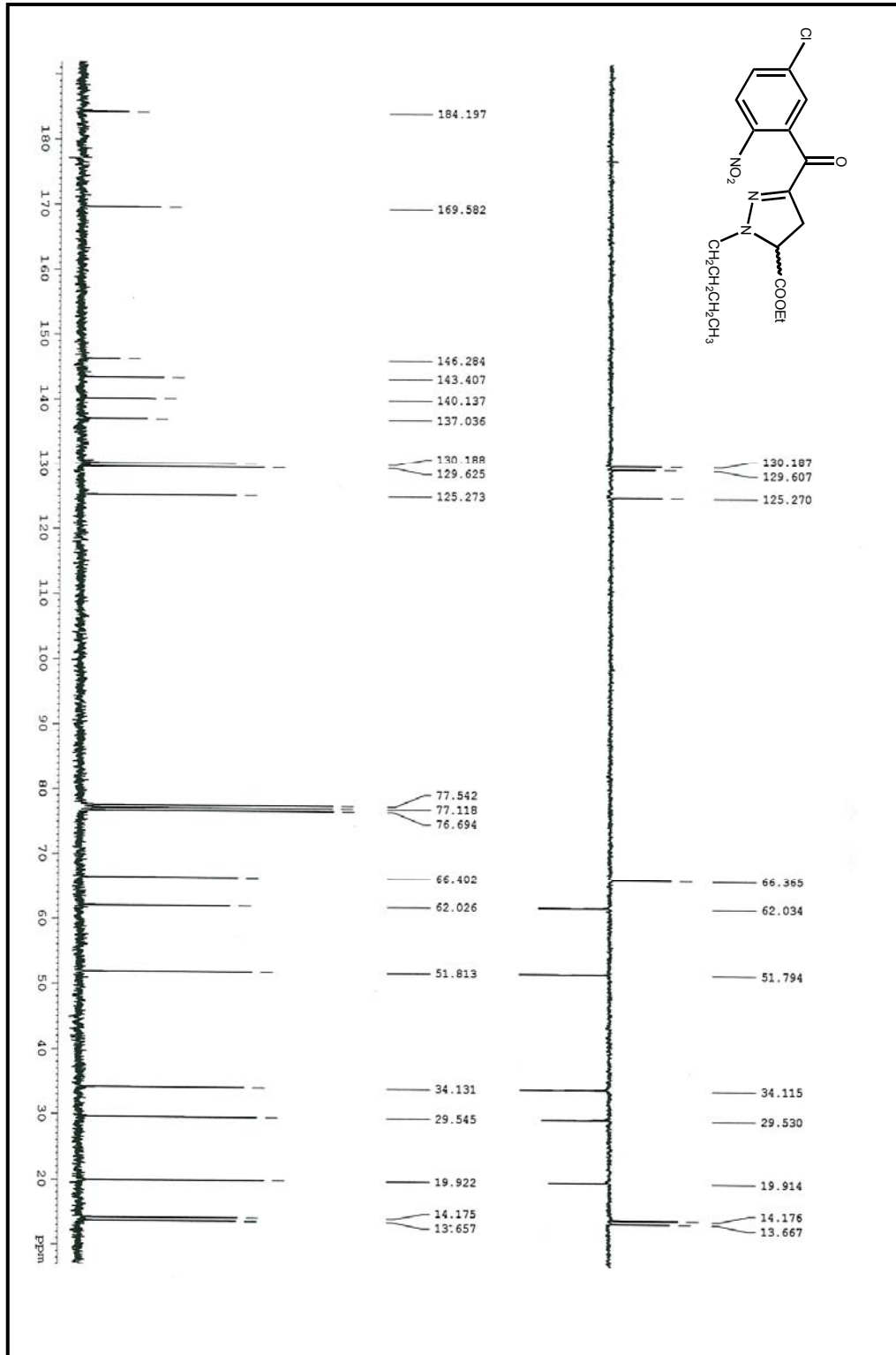


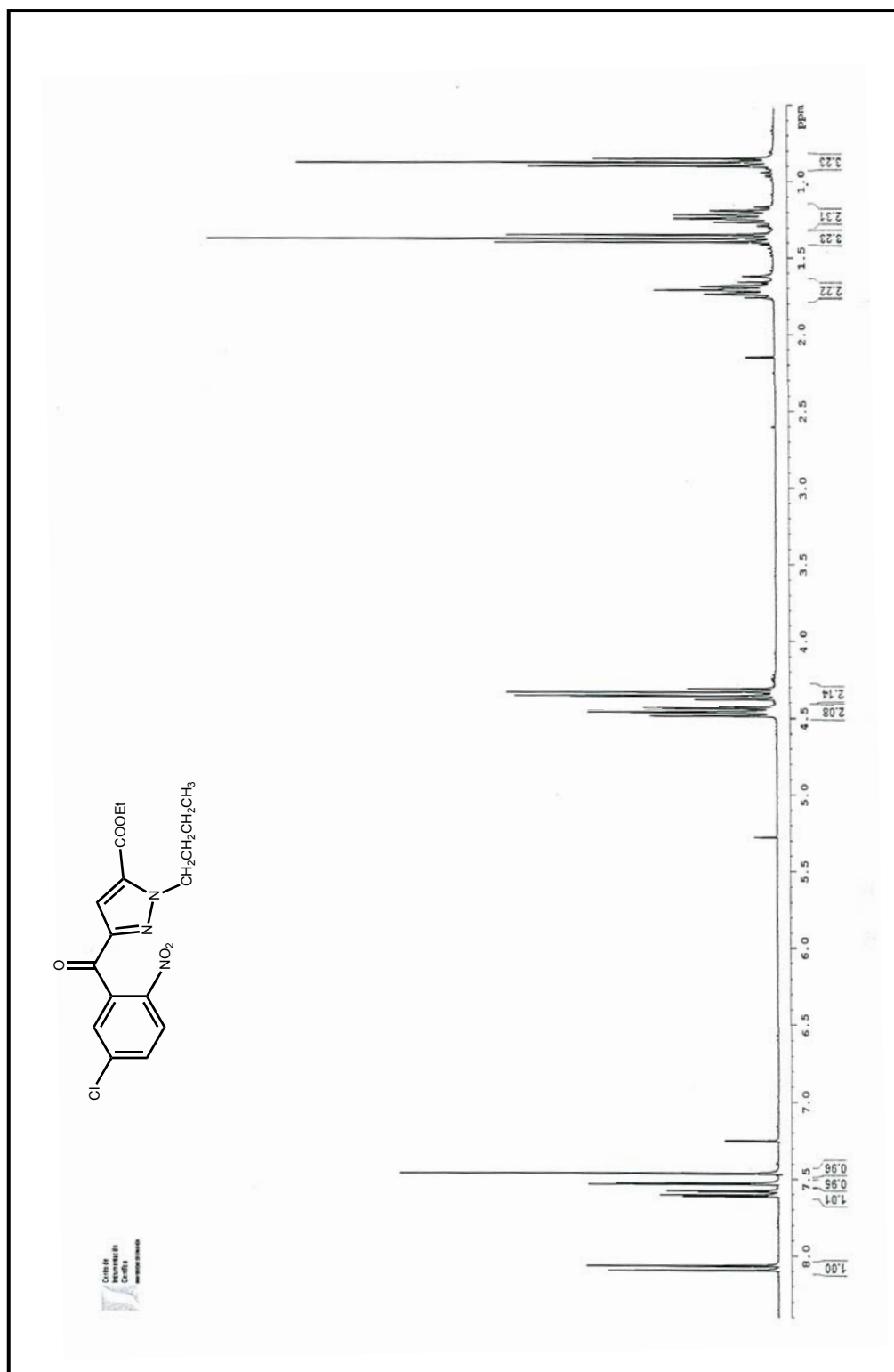
¹³C-RMN : 3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoyl)-1-etil-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **199**.



¹H-RMN: 1-butil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)l)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **200**.

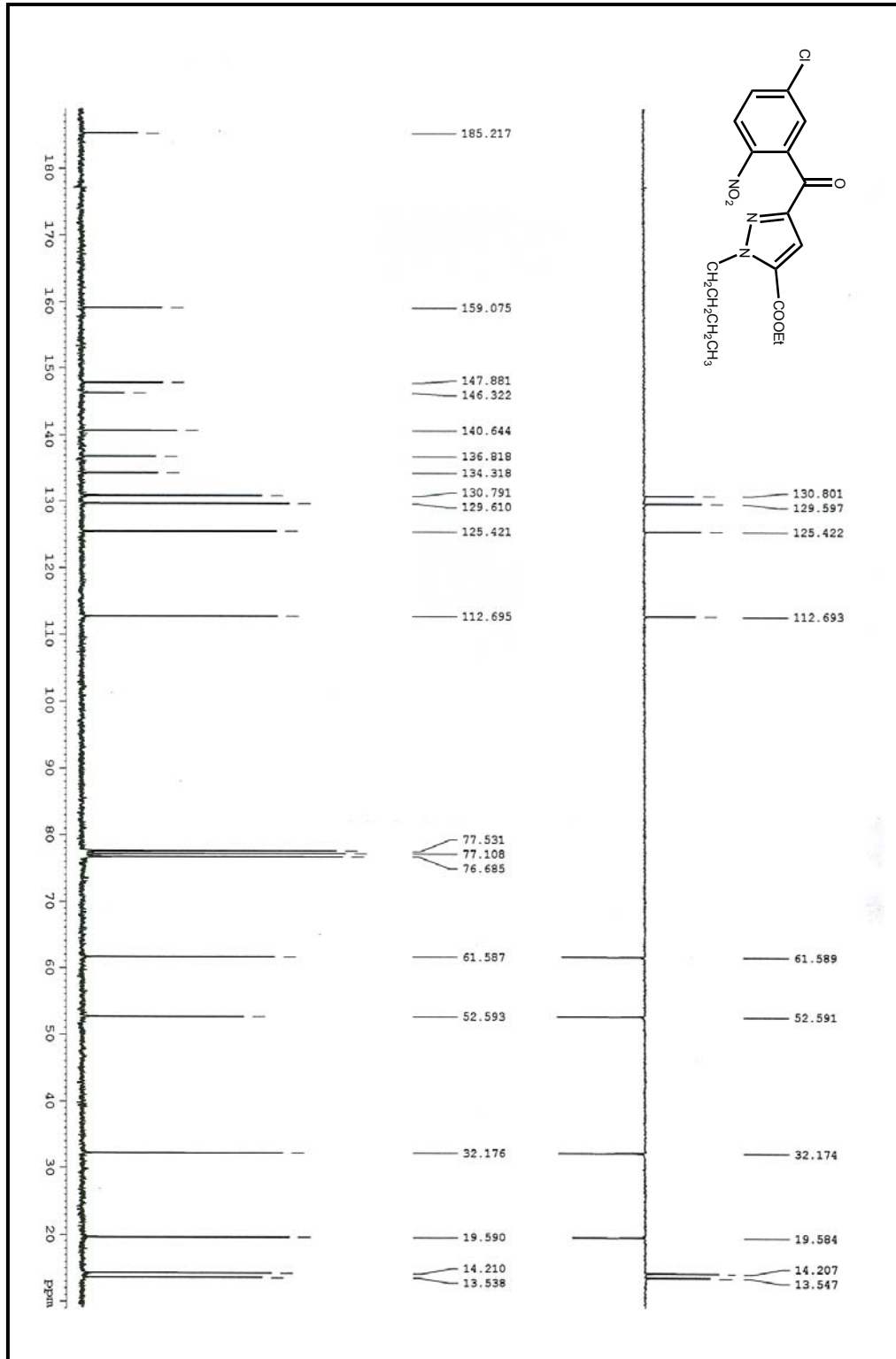
¹³C-RMN: 1-butil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **200**.

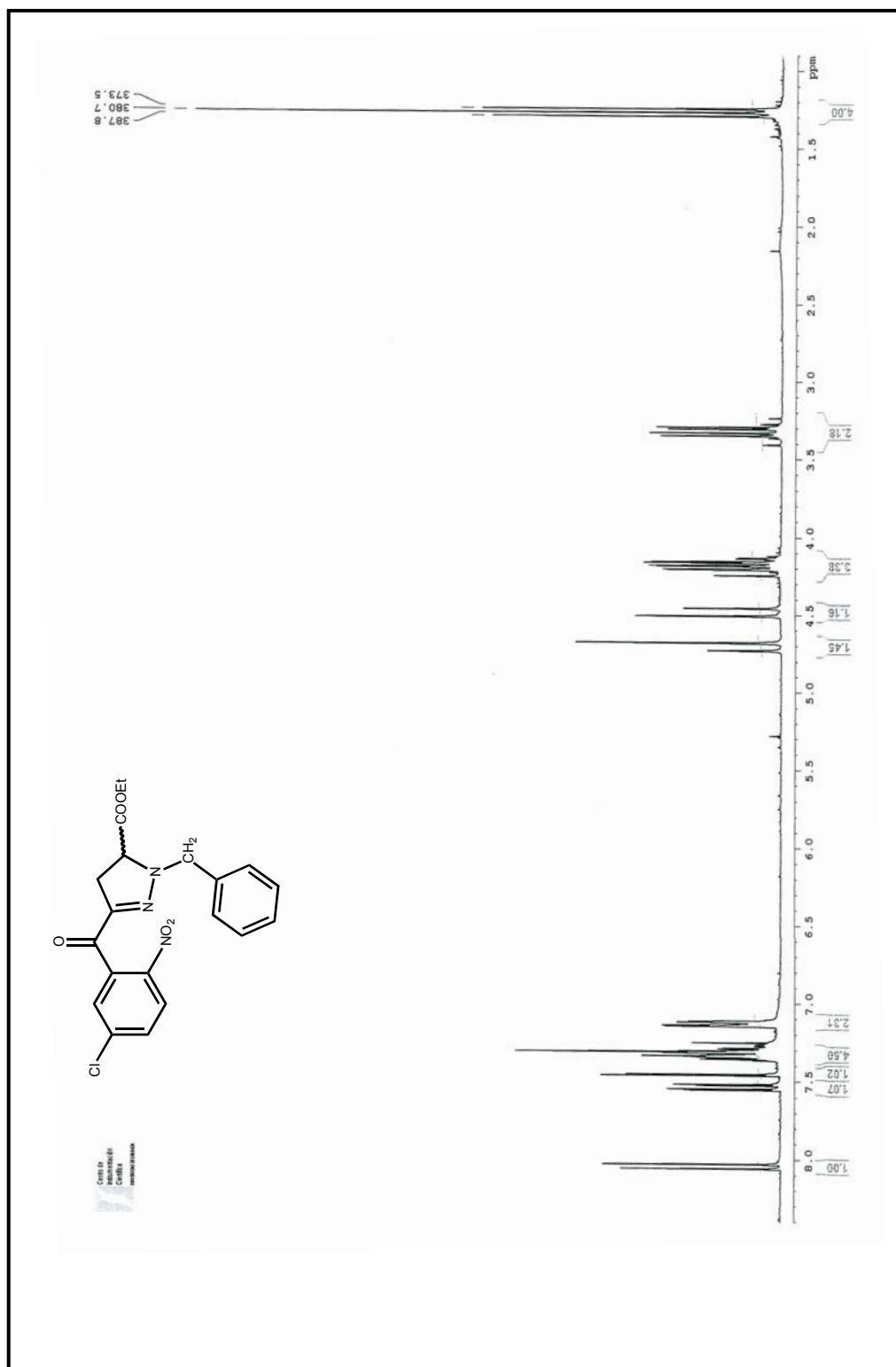




¹H-RMN: 1-butyl-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **201**.

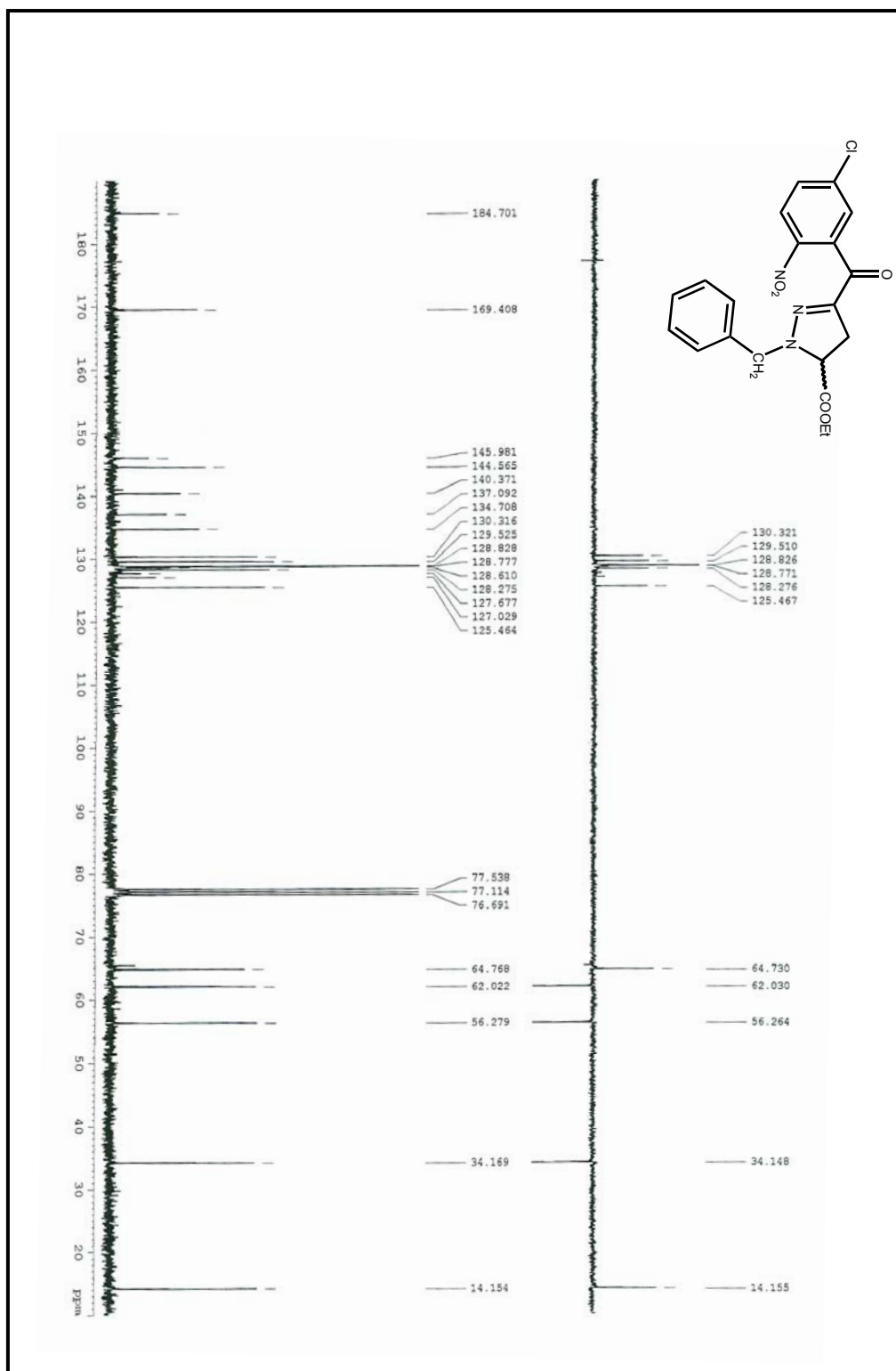
¹³C-RMN: 1-butil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **201**.

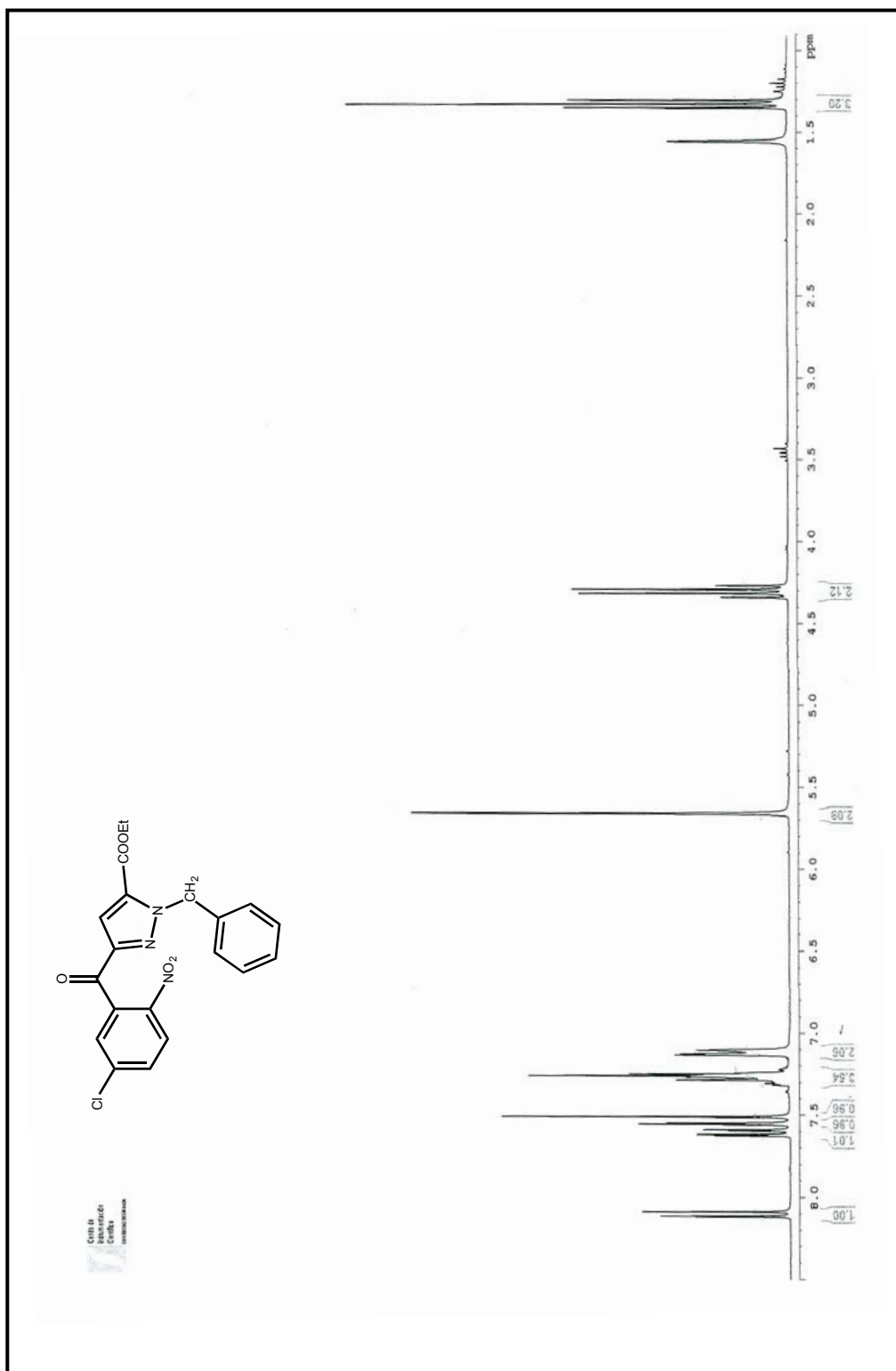




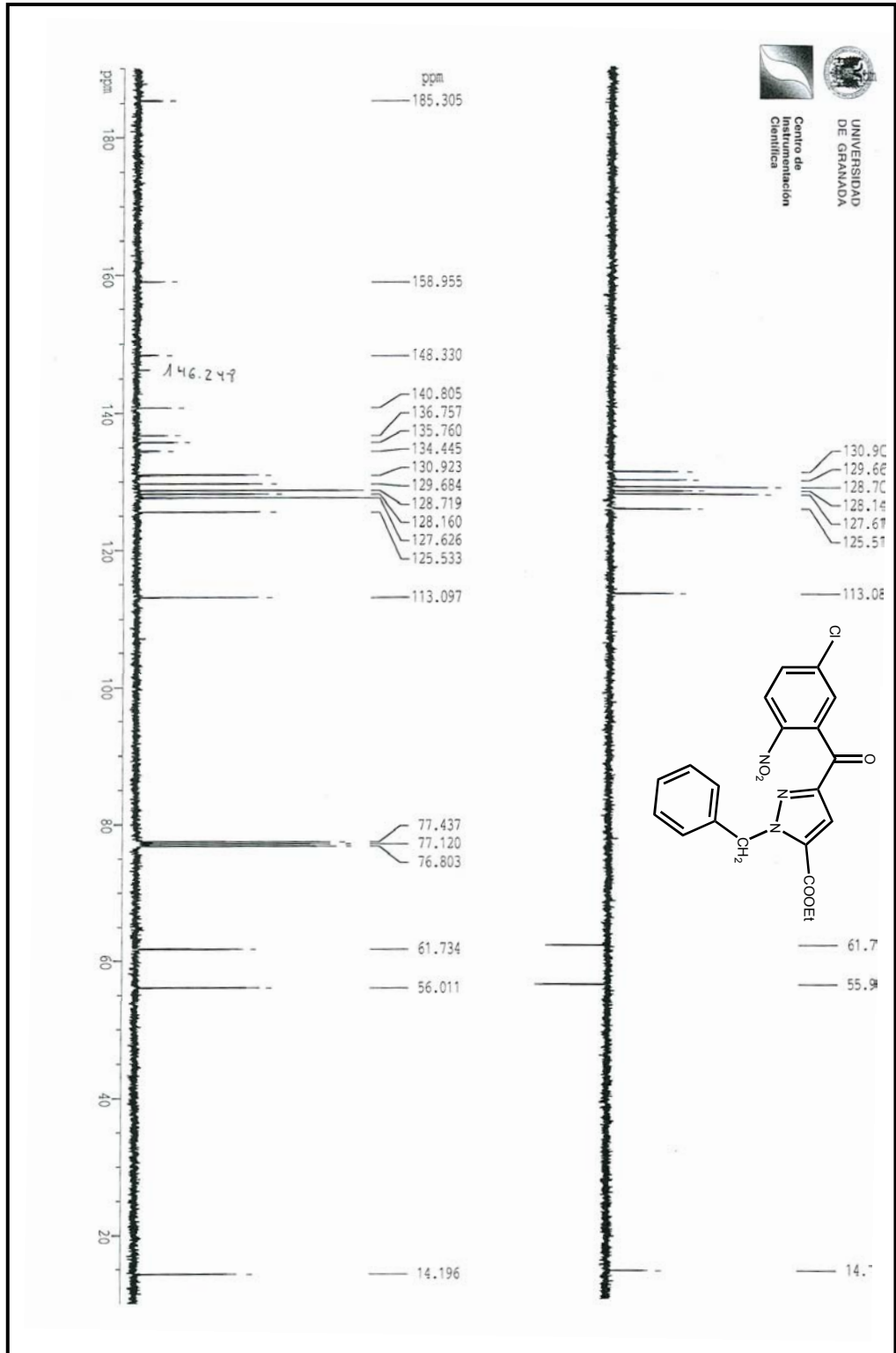
¹H-RMN: 1-bencil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **202**.

^{13}C -RMN: 1-bencil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **202**.



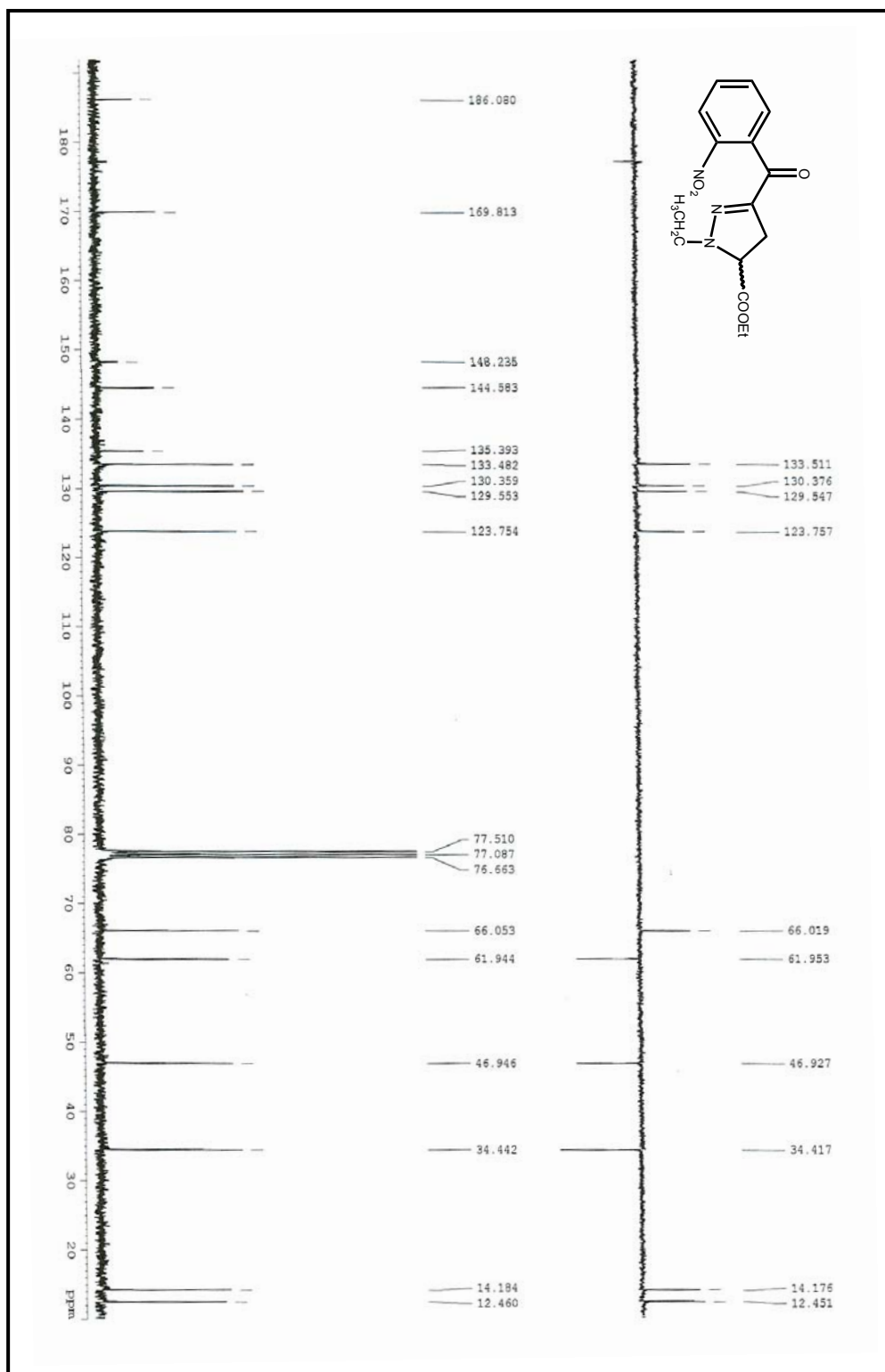


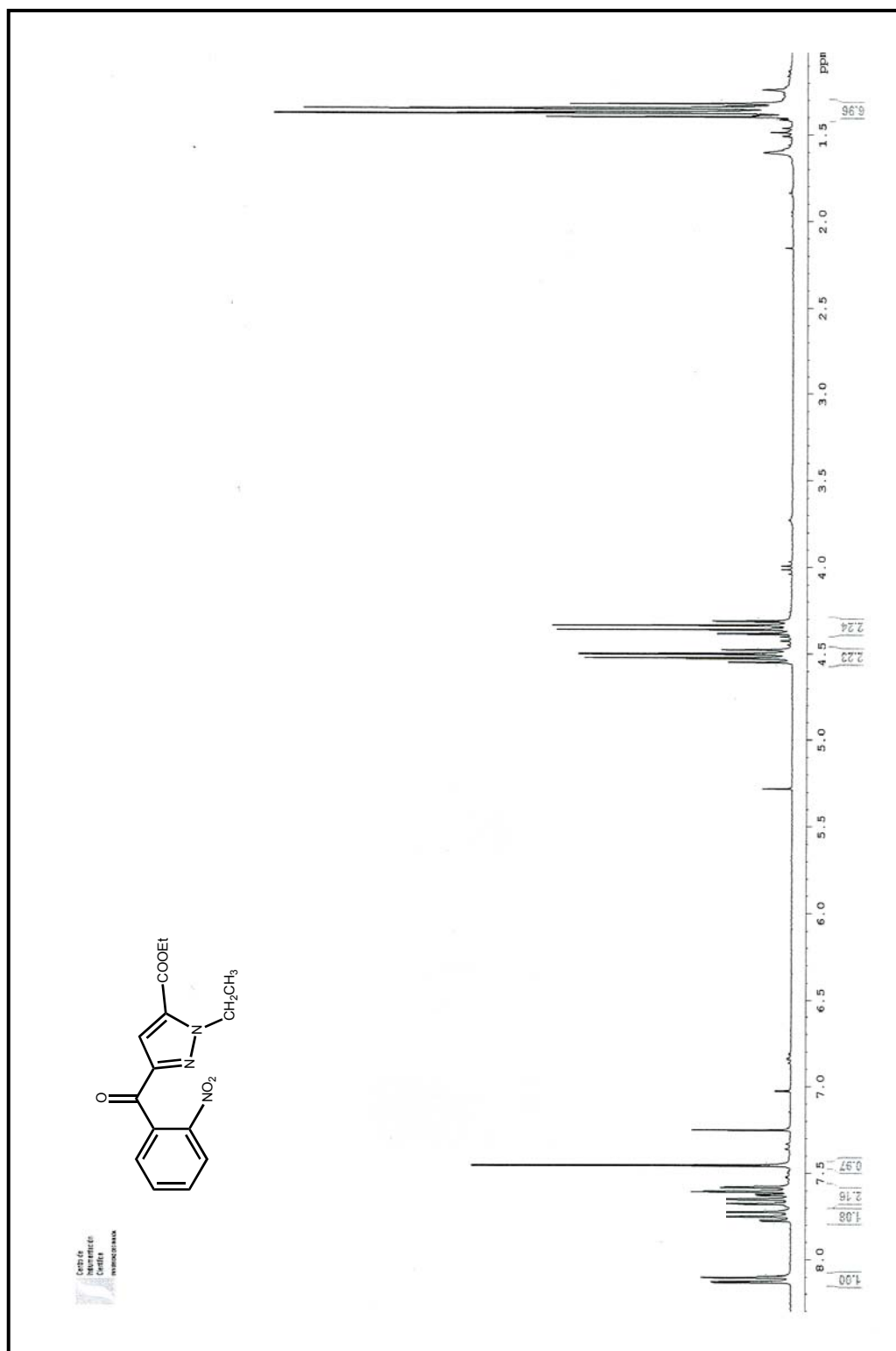
¹H-RMN: 1-bencil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **203**.



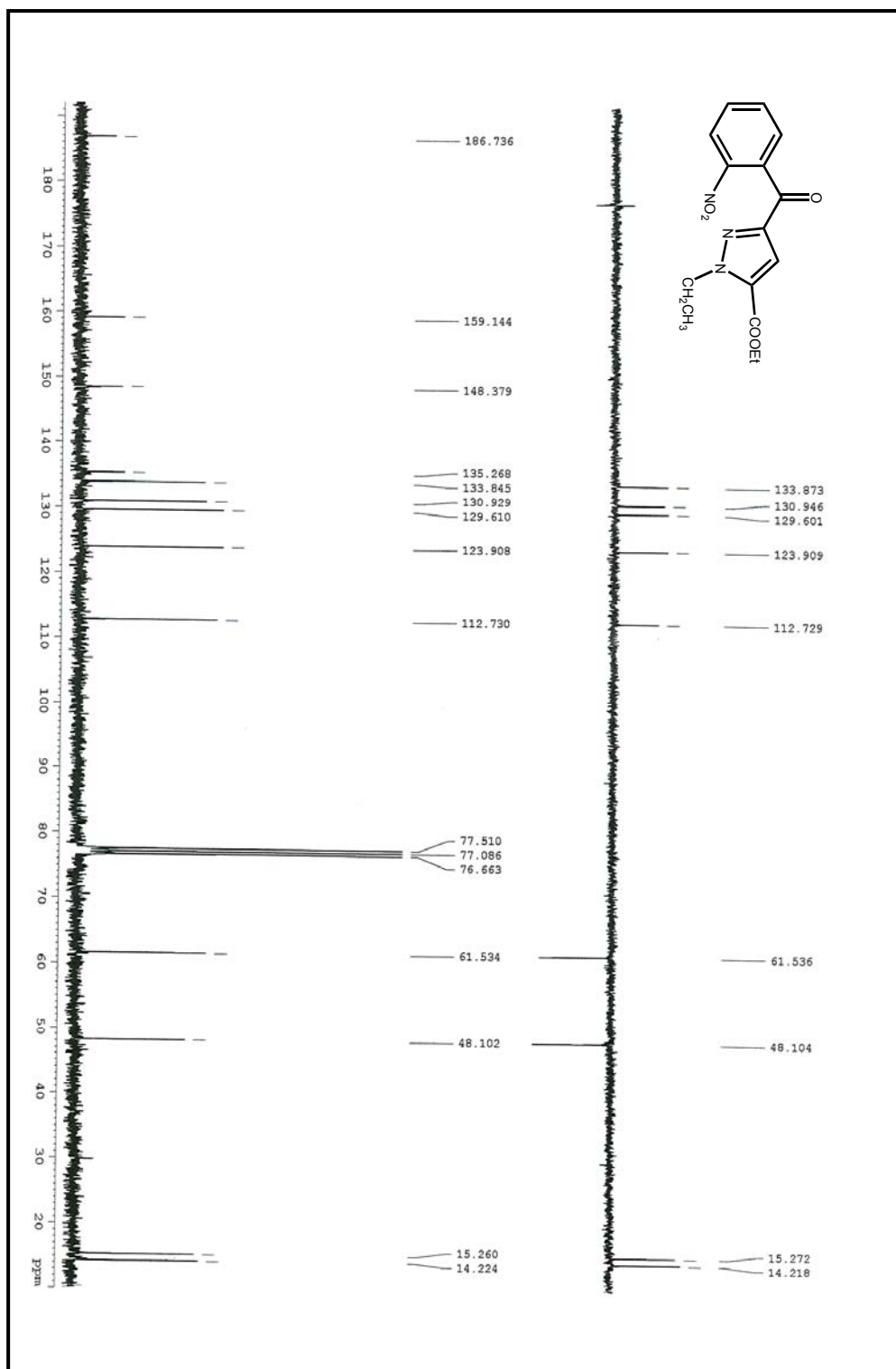
¹³C-RN: 1-bencil-3-(5'-cloro-2'-nitrobenzoi)-1H-pirzol-5-carboxilato de etilo **203**.

^{13}C -RMN: 1-etil-3-(2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **204**.

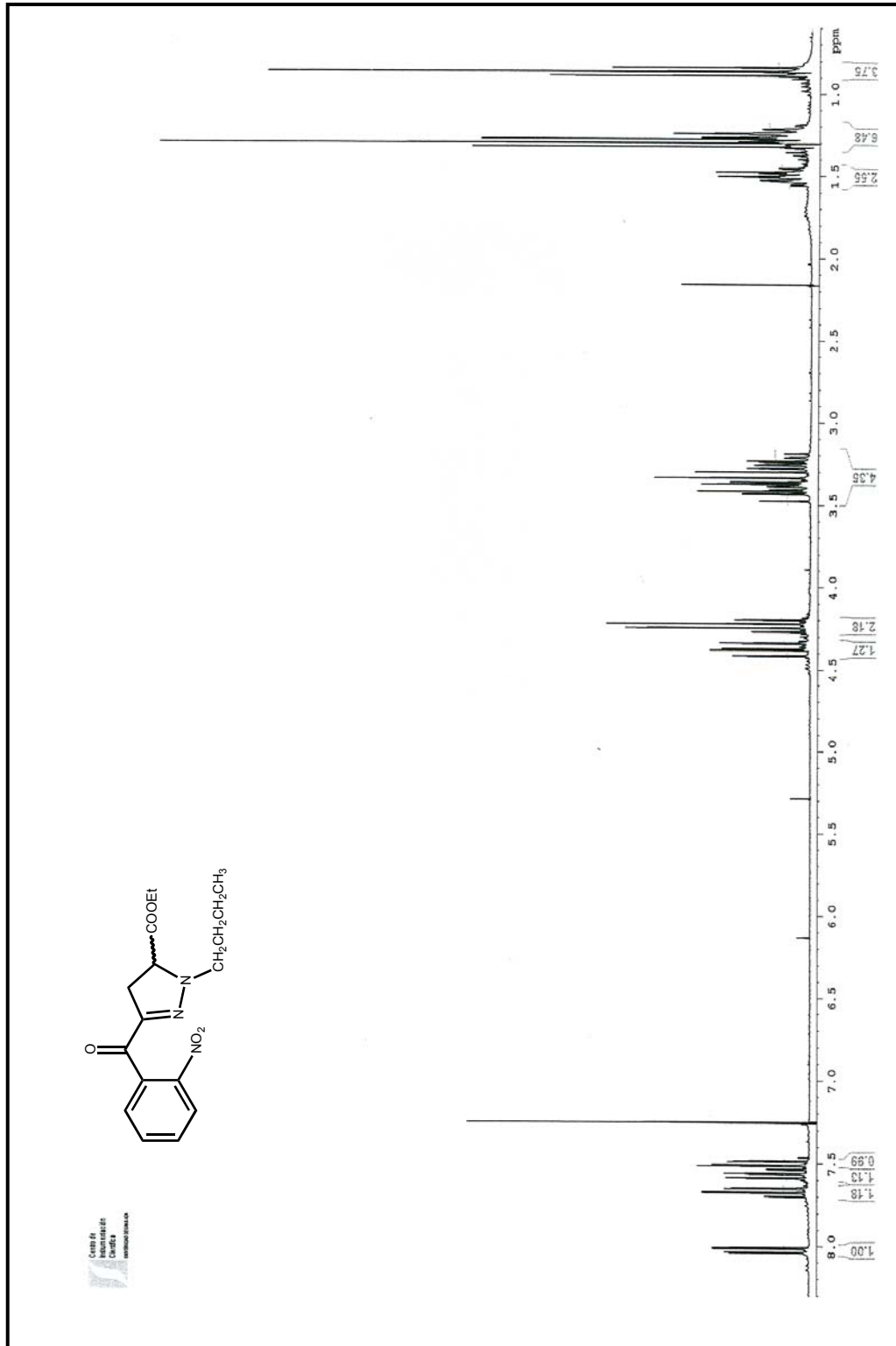




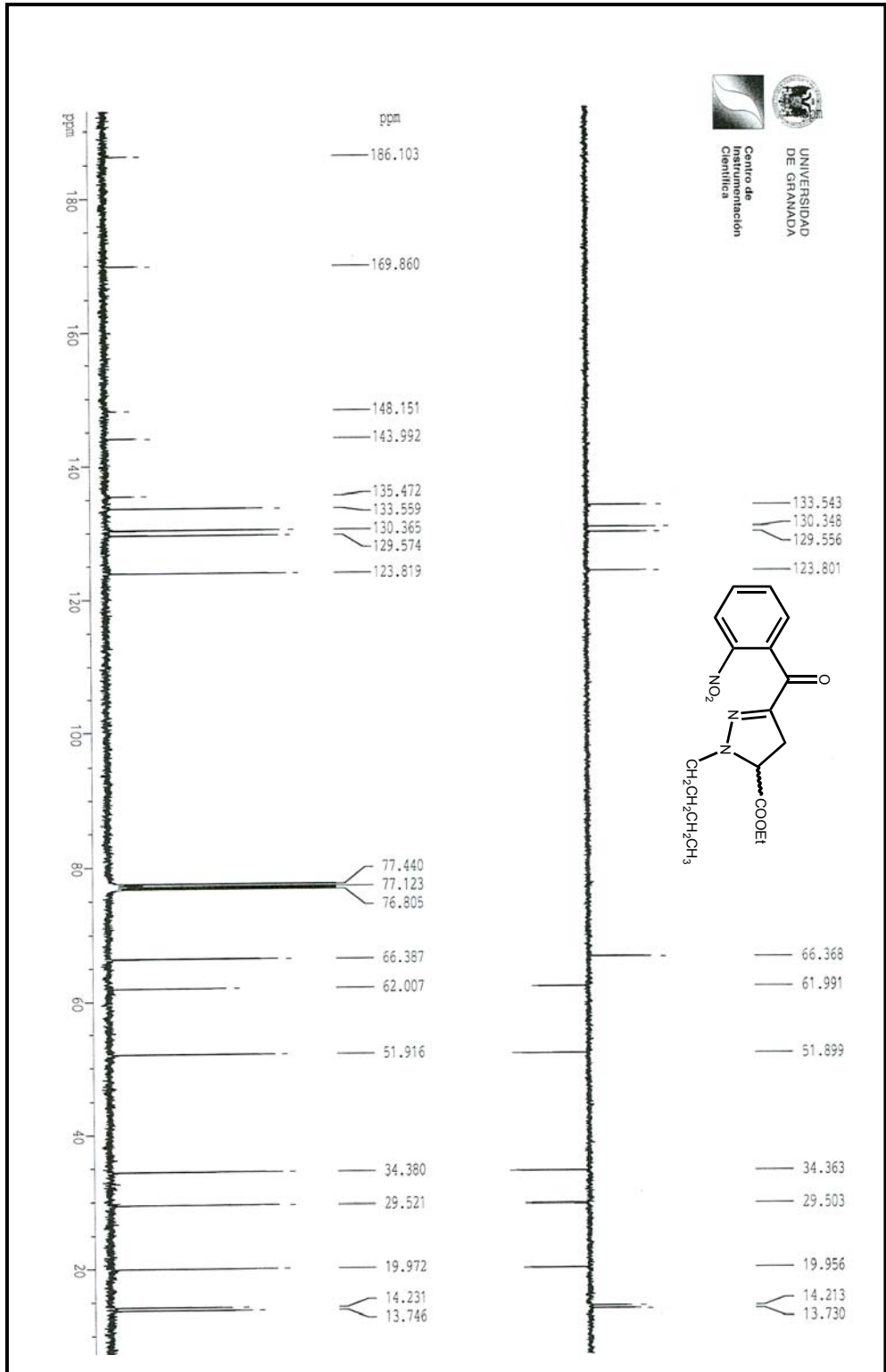
¹H-RMN: 1-etil-3-(2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **205**.



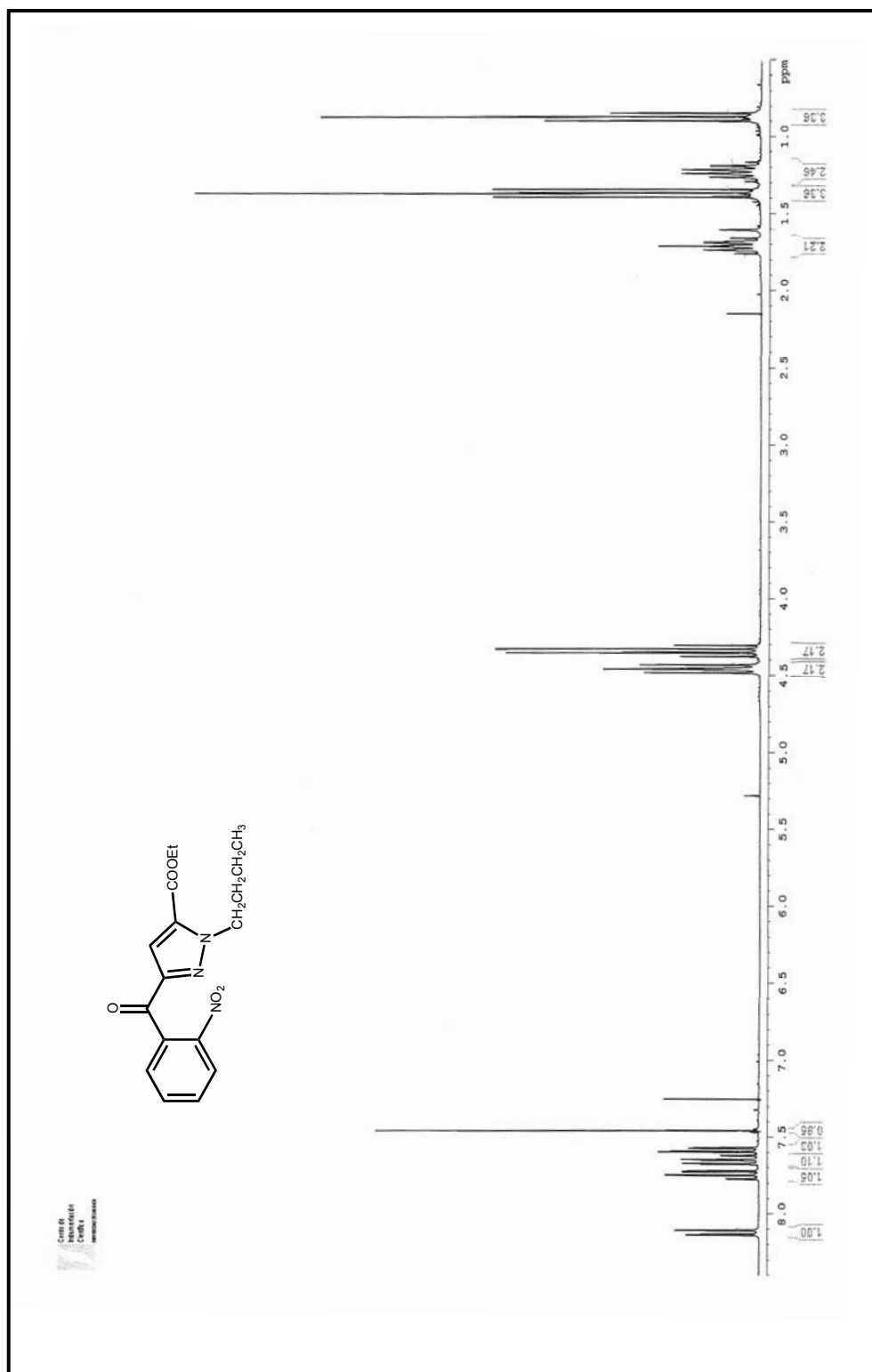
¹³C-RMN: 1-etil-3-(2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxiato de etilo **205**.



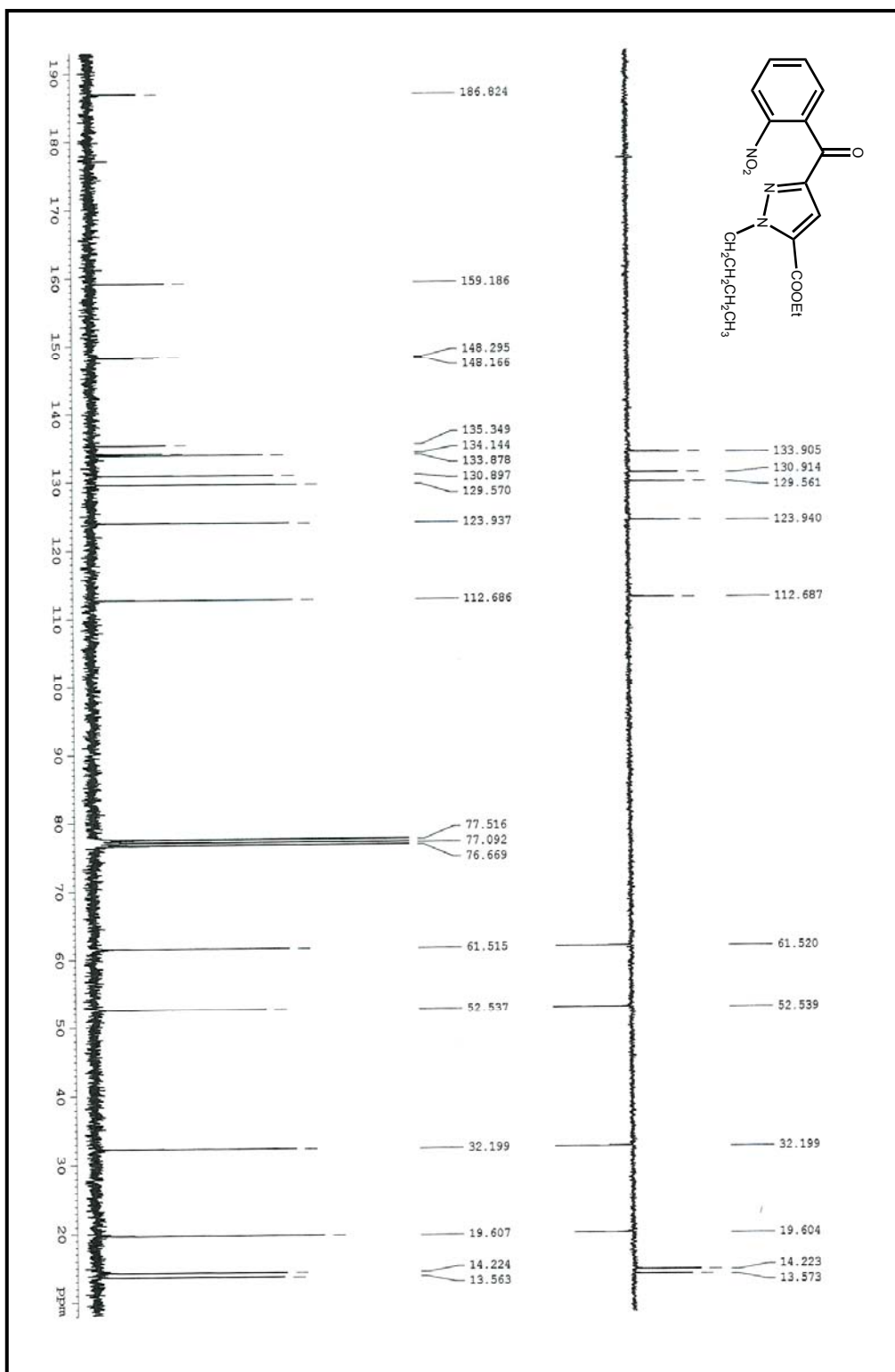
¹H-RMN: 1-butil-3-(2'-nitrobenzoil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **206**.



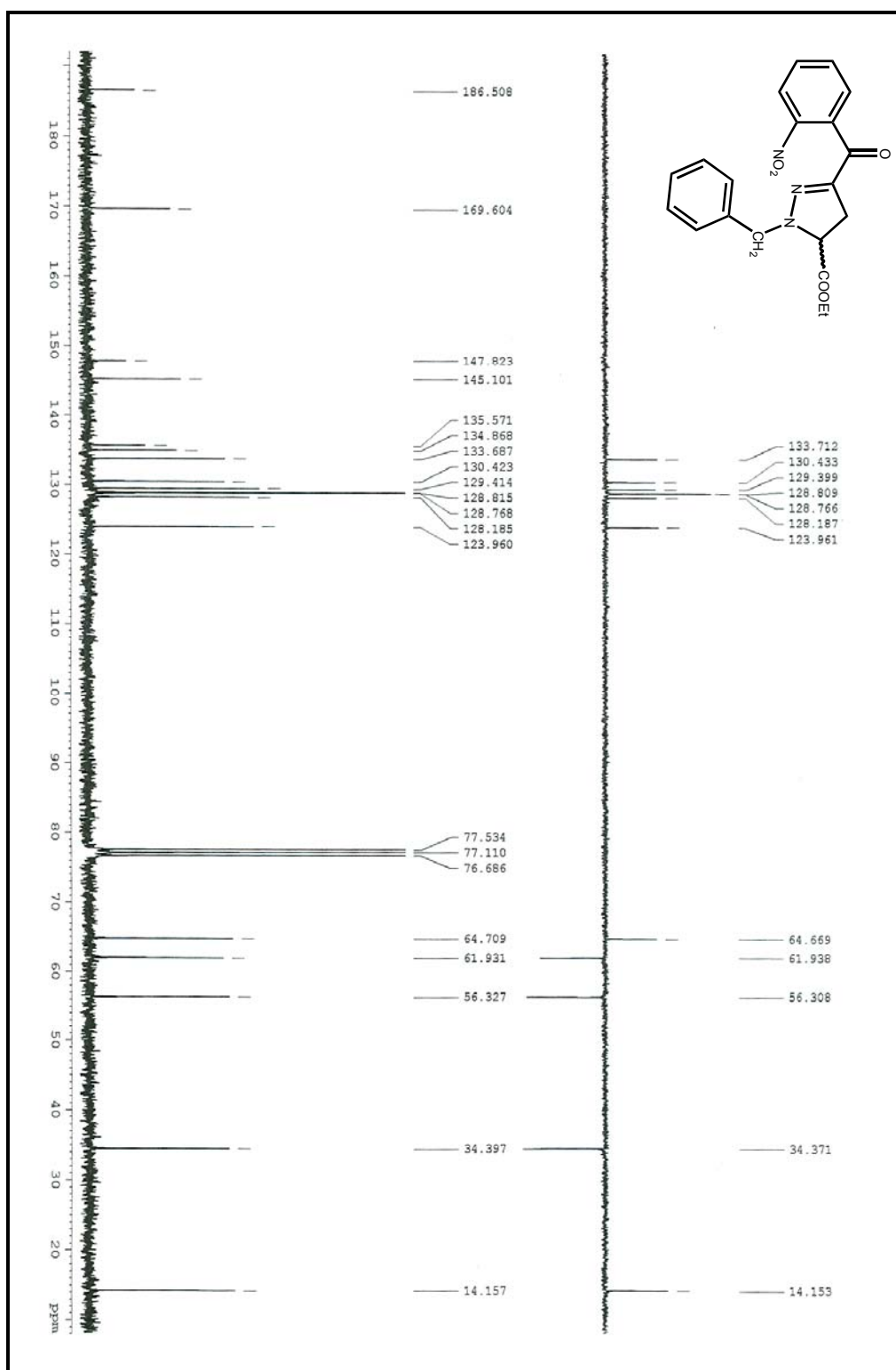
¹³C-RMN: 1-butil-3-(2'-nitrobenzoi)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **206**.

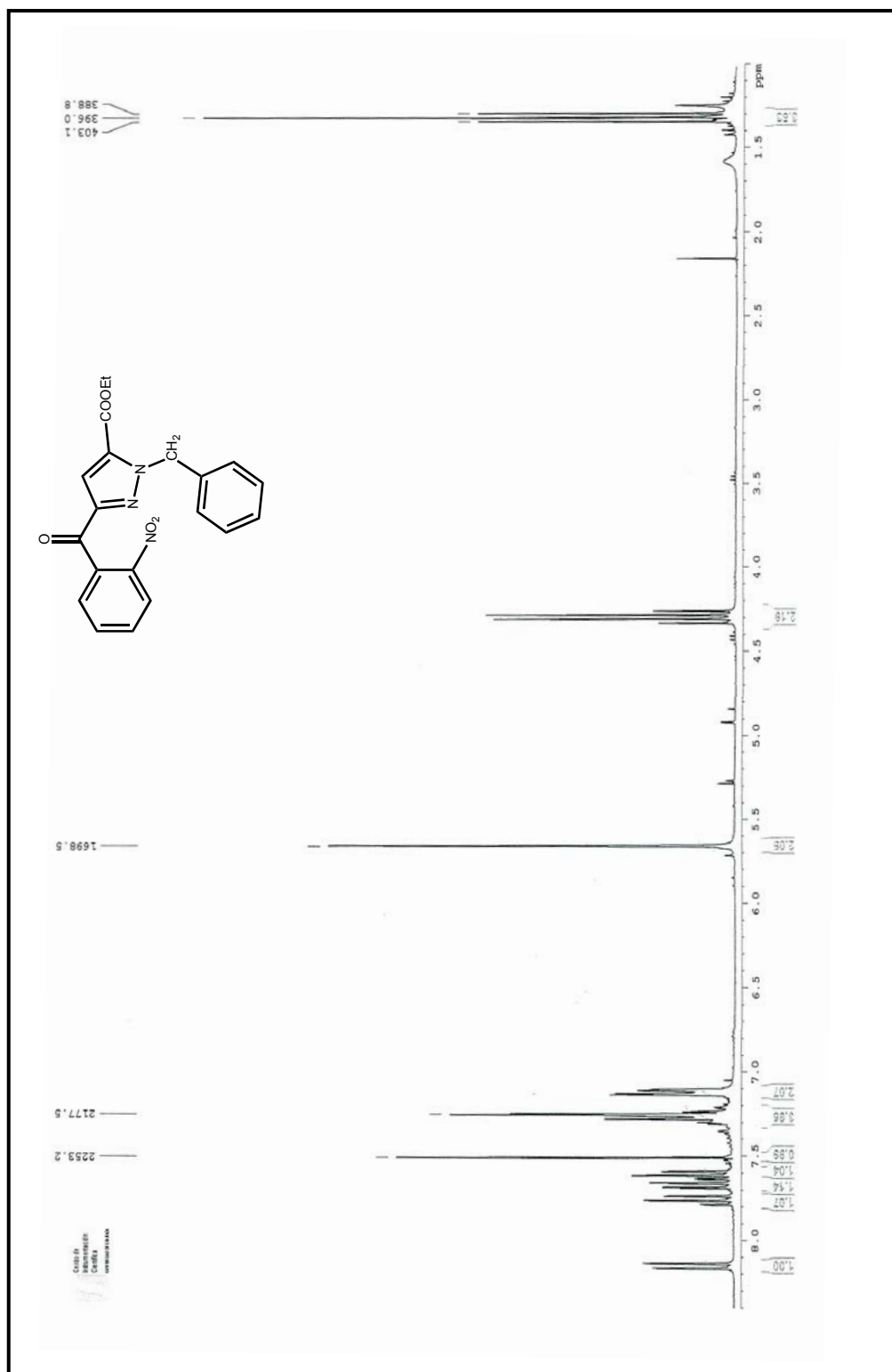


¹H-RMN: 1-butil-3-(2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **207**.

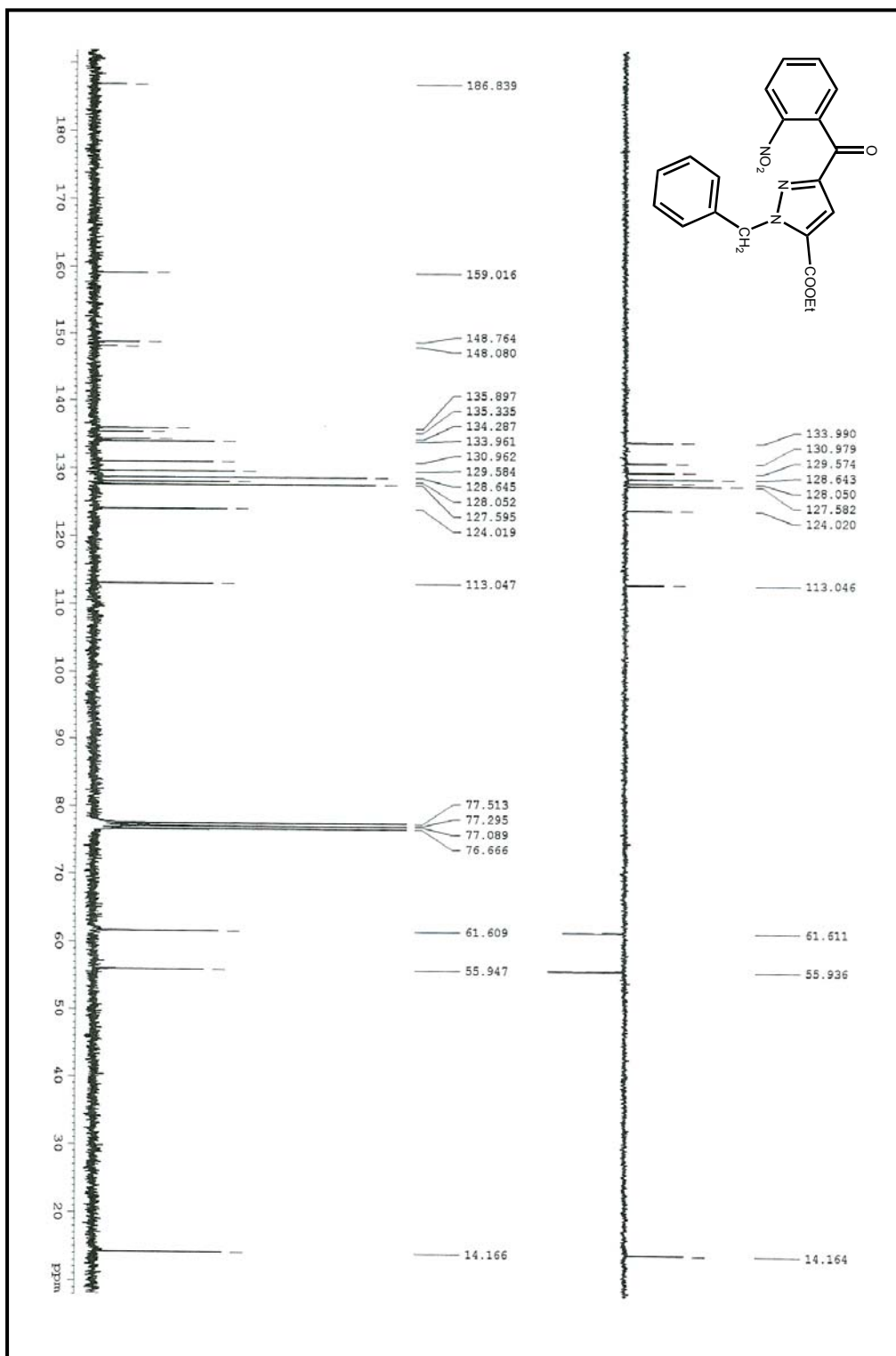


^{13}C -RMN: 1-butyl-3-(2'-nitrobenzoyl)-1H-pyrazol-5-carboxilato de etilo **207**.





¹H-RMN: 1-bencil-3-(2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **209** .



¹³C-RMN: 1-bencil-3-(2'-nitrobenzoi)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo **209**.