

SÍNTESIS DE NUEVAS 4-HETEROARILPIRAZOLO[1,5-*a*]-1,3,5-TRIAZINAS POR
REACCIÓN ENTRE HETEROAROILIMINOTIOCARBONATOS DE O,S-DIETILO
Y 5-AMINO-3-ARIL-1*H*-PIRAZOLES.

SANDRA ELIZABETH ESTRADA FLÓREZ

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2009

SÍNTESIS DE NUEVAS 4-HETEROARILPIRAZOLO[1,5-*a*]-1,3,5-TRIAZINAS POR REACCIÓN ENTRE HETEROAROILIMINOTIOCARBONATOS DE O,S-DIETILO Y 5-AMINO-3-ARIL-1*H*-PIRAZOLES.

SANDRA ELIZABETH ESTRADA FLÓREZ

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial
para optar al título de Químico

Director
HENRY E. INSUASTY I., Ph.D.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2009

SÍNTESIS DE NUEVAS 4-HETEROARILPIRAZOLO[1,5-*a*]-1,3,5-TRIAZINAS POR REACCIÓN ENTRE HETEROAROILIMINOTIOCARBONATOS DE O,S-DIETILO Y 5-AMINO-3-ARIL-1*H*-PIRAZOLES.

Este trabajo de grado se realizó en el marco del proyecto “Síntesis de nuevas pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas por reacción de los heteroeliminotiocarbonatos de O,S-dietilo con 5-amino-3-arilpirazoles”, aprobado y financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados-VIPRI, de la Universidad de Nariño, mediante la resolución 376 de septiembre 7 de 2007, como parte de la convocatoria de investigación docente, año 2007. El proyecto fue desarrollado por el Grupo de Compuestos Heterocíclicos del Departamento de Química, bajo la dirección del doctor Henry Insuasty.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2009

Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de los autores.

Artículo 1° del acuerdo No. 324 del 11 de Octubre de 1996, emanado del Honorable Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación:

Director

Jurado

Jurado

San Juan de Pasto, Noviembre de 2009

DEDICATORIA

Esta investigación es fruto del trabajo que, con mucho agrado, realice pensando siempre en todos aquellos que me procuraron unas buenas condiciones, un buen ambiente y, en suma, en quienes se convirtieron en el soporte y alegría de mi quehacer diario.

Dedico este trabajo a mis padres, Álvaro Estrada y Ana Dolores Flórez, por su basta experiencia en cosas de la vida, por su afecto y por su compromiso sincero de asegurar que la vida de sus hijos esté encaminada a grandes logros.

A mis hermanos Ana Patricia y Luis Carlos, por su maravilloso ejemplo, su apoyo constante y por llenar mi vida de alegría y de gratas experiencias.

Y por último, a mi hermanita Ángela en el cielo, quien tengo la seguridad, me acompaña en todos mis buenos y malos momentos.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales (VIPRI) de la Universidad de Nariño por su apoyo financiero para la realización de esta investigación.

A mi director, Dr. Henry Insuasty por encaminarme en un rumbo que ha logrado llenar mis expectativas, por sus enseñanzas, su apoyo constante, su responsabilidad, rigor académico y todas aquellas cualidades que le han hecho ganar mi admiración.

A Braulio Insuasty Ph.D., Jairo Quiroga Ph.D. y Rodrigo Abonía Ph.D. del Grupo de Investigación en Compuestos Heterocíclicos de la Universidad del Valle (GICH-UV), por su colaboración en la toma de espectros tanto de resonancia magnética nuclear como de espectrometría de masas.

A Manuel Noguera Ph.D., Adolfo Sánchez Ph.D. y Justo Cobo Ph.D., profesores de la Universidad de Jaén–España por la cooperación con el Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad de Nariño (GICH-UN).

Al Magíster Juan Carlos Argoty y al Químico Henry Escobar por el tiempo dedicado a la revisión del presente trabajo de grado, y por sus orientaciones y sugerencias para el mejoramiento del documento final.

A los profesores y laboratoristas del programa de Química de la Universidad de Nariño por sus enseñanzas y colaboración durante mi formación profesional.

Especialmente a mi familia por su ejemplo, comprensión y apoyo incondicional, pero sobre todo por creer en mí.

A mis compañeros y amigos Darío, Claudia, Ericka, Wilmer, Pedro, Estefanni, Cristian, Hugo, Mario y a todos aquellos con quienes tuve la oportunidad de compartir gratos momentos. Gracias por su motivación, su apoyo y por hacer parte de mi vida y de mi formación.

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	20
1. OBJETIVOS	21
1.1 OBJETIVO GENERAL	21
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
2. ANTECEDENTES	22
2.1 MATERIALES DE PARTIDA	22
2.1.1 Los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo. Estructura y Nomenclatura.	22
2.1.1.1 Método de obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo.	22
2.1.2 Los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles. Estructura y Nomenclatura.	24
2.1.2.1 Método de obtención de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles.	24
2.1.2.2 Propiedades químicas de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles.	26
2.1 PRODUCTOS OBJETIVO	26
2.2.1 Pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas. Estructura y Nomenclatura.	27
2.2.2 Importancia farmacológica del sistema pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazínico.	27
2.2.3 Importancia farmacológica de los sustituyentes heterocíclicos.	30
2.2.4 Métodos de obtención de pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas.	32
2.2.4.1 Métodos de obtención de pirazolotriazinas donde el centro más reactivo del 5-amino-1 <i>H</i> -pirazol es el grupo amino en posición 5.	32

2.2.4.2	Método de obtención de pirazolotriazinas donde el centro más reactivo del 5-amino-1 <i>H</i> -pirazol es el grupo amino en posición 1.	34
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	36
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1	LOS HETEROAROILIMINOTIOCARBONATOS DE O,S-DIETILO	39
4.1.1	Etapa 1. Establecimiento de la metodología de obtención de los heteroaroiiltiocarbamatos de O-etilo 32a,b.	39
4.1.2	Etapa 2. Establecimiento de la metodología de obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.	46
4.2	LOS 5-AMINO-3-ARIL-1 <i>H</i> -PIRAZOLES	52
4.3	LAS NUEVAS PIRAZOLO[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-TRIAZINAS	52
4.3.1	Estandarización del método de obtención de las nuevas pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f.	53
4.3.2	Caracterización de las nuevas pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas y evaluación de la regioselectividad de la reacción.	55
4.3.3	Posible ruta de formación de las pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f.	70
5.	PARTE EXPERIMENTAL	73
5.1	GENERALIDADES	73
5.2	OBTENCIÓN DE LOS PRECURSORES	74
5.2.1	Preparación de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo.	74
5.2.1.1	Etapa 1. Obtención de los heteroaroiiltiocarbamatos de O-etilo 32a,b.	74
5.2.1.2	Etapa 2. Obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.	75
5.2.2	Preparación de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles.	76

5.2.2.1	Etapa 1. Obtención de los β -clorocinamonitrilos 9a-c.	76
5.2.2.2	Etapa 2. Obtención de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles 6a-c.	77
5.3	OBTENCIÓN DE LOS PRODUCTOS OBJETIVO	78
5.3.1	Obtención de las nuevas pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f usando radiación de microondas (MW).	78
6.	CONCLUSIONES	81
7.	RECOMENDACIONES	82
	BIBLIOGRAFÍA	84

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Estructura de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.	22
Figura 2. Estructura de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles 6a-c.	24
Figura 3. Formas tautoméricas de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles.	26
Figura 4. a) Estructura general y nomenclatura de las pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas, b) Numeración del sistema pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazínico.	27
Figura 5. Compuestos bioactivos que contienen el sistema pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazínico.	28
Figura 6. Compuestos bioactivos sustituidos con fragmentos de 2-furilo y 2-tienilo.	31
Figura 7. Centros reactivos de a) los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y b) los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles.	36
Figura 8. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 32a.	42
Figura 9. Numeración de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O-etilo 32a,b.	43
Figura 10. Espectro de RMN ¹³ C-DEPT-135 del compuesto 32a.	44
Figura 11. Espectro de HMBC del compuesto 32a.	45
Figura 12. Espectro de masas del compuesto 32a.	46
Figura 13. CCD de la reacción de obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.	47
Figura 14. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 1a.	49
Figura 15. Numeración de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.	50
Figura 16. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 1a.	51
Figura 17. Espectro de masas del compuesto 1a.	52
Figura 18. CCDs de las reacciones entre los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles 6a-c y a) el furan-2-oliminotiocarbonato de O,S-dietilo 1a. b) el tiofen-2-oliminotiocarbonato de O,S-dietilo 1b, vía MW (1400 W).	53
Figura 19. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 22a.	57
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 22a. Expansión de las señales aromáticas.	58
Figura 21. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 23a.	59
Figura 22. Numeración de los productos objetivo 22a-f y 23a-f.	60
Figura 23. Espectro de RMN ¹³ C-DEPT-135 del compuesto 22a.	63
Figura 24. Espectro de HSQC del compuesto 22a.	64
Figura 25. Espectro de HMBC del compuesto 22a.	65
Figura 26. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 23a.	66
Figura 27. Correlaciones esperadas para el compuesto 22a y para su regioisómero 24a.	68

Figura 28. Espectro NOESY del compuesto 22a.	69
Figura 29. Espectro de masas del compuesto 22a.	70
Figura 30. Espectro de masas del compuesto 23a.	70
Figura 31. Representación del proceso de obtención de los heteroaril-tiocarbamatos de O-etilo 32a,b (Etapa 1).	75
Figura 32. Representación del proceso de obtención de los heteroaril-iminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b (Etapa 2).	76
Figura 33. Representación del proceso de obtención de los β -cloro-cinamonitrilos 9a-c (Etapa 1).	77
Figura 34. Representación del proceso de obtención de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles 6a-c (Etapa 2).	78
Figura 35. Representación del proceso de obtención de las nuevas pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f, vía MW (1400 W).	80

LISTA DE ESQUEMAS

	pág.
Esquema 1. Reacción general de obtención de los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo 5a-d.	23
Esquema 2. Reacción de obtención de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles 6a-c.	25
Esquema 3. Reacción de obtención del primer derivado de las pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas.	32
Esquema 4. Obtención de pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas (El centro más reactivo del 5-amino-1 <i>H</i> -pirazol es el grupo amino en posición 5).	33
Esquema 5. Reacción entre aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo y el 5-amino-3-metilpirazol.	33
Esquema 6. Reacción entre aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo y el 5-amino-3-fenilpirazol.	34
Esquema 7. Obtención de pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas (el centro más reactivo del 5-amino-1 <i>H</i> -pirazol es el grupo amino en posición 1).	35
Esquema 8. Productos posibles de la reacción entre los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b y los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles 6a-c.	37
Esquema 9. Reacción de obtención de los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.	39
Esquema 10. Posible ruta de formación de las nuevas pirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f.	72
Esquema 11. Síntesis de 2-dialquilaminopirazolo[1,5- <i>a</i>]-1,3,5-triazinas.	82
Esquema 12. Intermedios más probables en la reacción de ciclación de 5-amino-1 <i>H</i> -pirazoles con heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y análogos.	83

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Propiedades físicas de los aroilditiocarbamatos de S-etilo 4a-d.	23
Tabla 2. Propiedades físicas de los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo 5a-d.	24
Tabla 3. Propiedades físicas de los 5-amino-3-aril-1 <i>H</i> -pirazoles 6a-c.	26
Tabla 4. Propiedades físicas de los heteroaroiitocarbamatos de O-etilo 32a,b.	40
Tabla 5. Datos de RMN ¹ H (δ ppm) de los compuestos 32a,b. CDCl ₃ , 400 MHz (TMS-estándar interno).	43
Tabla 6. Datos de RMN ¹³ C (δ ppm) de los compuestos 32a,b. CDCl ₃ , 400 MHz (TMS-estándar interno).	46
Tabla 7. Propiedades físicas de los heteroaroiiminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.	47
Tabla 8. Datos de RMN ¹ H (δ ppm) de los compuestos 1a,b. CDCl ₃ , 400 MHz (TMS-estándar interno).	50
Tabla 9. Datos de RMN ¹³ C (δ ppm) de los compuestos 1a,b. CDCl ₃ , 400 MHz (TMS-estándar interno).	52
Tabla 10. Características físicas de los productos 22a-f y 23a-f obtenidos vía MW (1400 W).	54
Tabla 11. Datos de RMN ¹ H (δ ppm) de los compuestos 22a-f y 23a-f. CDCl ₃ , 400 MHz (TMS-estándar interno).	60
Tabla 12. Datos de RMN ¹³ C (δ ppm) de los compuestos 22a-f y 23a-f. CDCl ₃ , 400 MHz (TMS-estándar interno).	67
Tabla 13. Condiciones de la cromatografía en columna, para la separación de cada pareja de productos 22a-f y 23a-f.	79

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

AcOEt: Acetato de etilo
Ar: Grupo arilo
c: Cuartete
°C: Grados centígrados
CC: Cromatografía de Columna
CCD: Cromatografía de Capa Delgada
CDCl₃: Cloroformo deuterado
CDK: Cinasa dependiente de ciclina
CK2: Proteína cinasa 2
CRF₁: Factor de liberación de corticotropina
d: Doblete
DEPT: Distortionless enhancement by polarization transfer
DMF: Dimetilformamida
Et: Grupo etilo
EtBr: Bromuro de etilo
EtO: Grupo etoxilo
EtOH: Etanol
EtS: Grupo tioetilo
EtSH: Etanotiol
eV: Electronvoltios
g: Gramos
GICH-UN: Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos – Universidad de Nariño
GICH-UV: Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos – Universidad del Valle
h: Hora
Het: Heterociclo
HMBC: Heteronuclear multiple bond connectivity
HSQC: Heteronuclear single quantum correlation
i: Posición *ipso*
IR: Infrarrojo
m: Posición *meta*
m: multiplete
m/z: Relación masa carga
MAC: *Mycobacterium Avium Complex*
Me: Grupo metilo
MeCN: Acetonitrilo
MHz: Megahertz
min.: Minutos
mL: Mililitros
MS: Espectrometría de masas

MW: Radiación de microondas
 nJ : Constantes de acoplamiento entre protones y carbonos a n enlaces
nm: Nanómetros
NOESY: Nuclear overhauser spectroscopy
o: Posición *orto*
p: Posición *para*
p.f.: Punto de fusión
PDE4: Fosfodiesterasa tipo 4
ppm: Partes por millón
Rend.: Rendimiento
Rf: Relación de flujo
RMN ^{13}C : Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN 1H : Resonancia magnética nuclear protónica
s: Singulete
s an.: Singulete ancho
t: Triplete
 $^{\circ}T$: Temperatura
t.a.: Temperatura ambiente
THF: Tetrahidrofurano
TMS: Tetrametilsilano
UV-vis: Ultravioleta – visible
VHS: Virus Herpes Simplex
W: Watts
 δ : Escala de desplazamiento químico en resonancia magnética nuclear
%: Porcentaje

RESUMEN

Una serie de nuevas pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas fueron sintetizadas por reacción, inducida por microondas, entre heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y 5-amino-3-*aril*-1*H*-pirazoles, bajo condiciones libre de solvente.

La reacción dio una mezcla de dos nuevas 4-heteroarilpirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas en una relación de 1:4, que fueron separadas sin dificultad por cromatografía en columna.

El uso de radiación de microondas (MW) favoreció la formación de pirazolo-triazinas en tiempos de reacción cortos (15-20 min), con alta regioselectividad y con rendimientos de moderados a buenos (52-64%, para el producto principal).

Las estructuras de los compuestos obtenidos fue establecida por métodos espectroscópicos (RMN ^1H y ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC y NOESY) y por espectrometría de masas.

La ruta de ciclación fue propuesta con base en la información espectroscópica. La formación de los productos objetivo resulta como sigue: primero, el doble enlace C=N del heteroariliminotiocarbonato de O,S-dietilo sufre una adición del nitrógeno exocíclico del pirazol produciendo la eliminación de una molécula de etanol o etanotiol para dar dos intermedios no cíclicos. Luego, cada intermedio sufre una ciclocondensación intramolecular entre el NH endocíclico y el grupo carbonilo con eliminación de agua para dar las correspondientes pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas.

ABSTRACT

A series of novel pyrazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazines were synthesized by microwave induced reaction between O,S-diethyl heteroaroyliminothiocarbonates and 5-amino-3-aryl-1*H*-pyrazoles, under solvent-free conditions.

The reaction gave a mixture of two new 4-heteroarylpyrazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazines in a 1:4 ratio, which were easily separated by column chromatography.

The use of microwave irradiation (MW) favored the formation of pyrazolotriazines in short reaction times (15-20 min), with higher regioselectivity and yields ranging from moderates to good (52-64%, for the main product).

The structure of the obtained compounds was established by spectroscopic methods (^1H and ^{13}C NMR, DEPT-135, HSQC, HMBC and NOESY) and by mass spectrometry.

The cyclization route was proposed on basis of the spectroscopic information. The formation of the target products results as follow: first, the C=N double bond of O,S-diethyl heteroaroyliminothiocarbonate suffers an addition from exocyclic nitrogen of the pyrazole producing ethanol or ethanethiol elimination to give two acyclic intermediates. Then, each intermediate suffers an intramolecular cyclocondensation between endocyclic NH and carbonyl group with a water molecule elimination to form the corresponding pyrazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazines.

INTRODUCCIÓN

La familia de moléculas que tienen en su estructura el sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico presentan, por lo general, actividad frente a ciertas enfermedades debido a su analogía estructural con las bases purínicas. Los efectos paliativos o curativos de las pirazolotriazinas han encontrado su aplicación extensiva en medicamentos para el tratamiento de la inflamación bronquial, así mismo, se utilizan en la prevención y control de la úlcera péptica y en el tratamiento de desórdenes del sistema nervioso central como la psicosis, la esquizofrenia, la depresión y los males de Parkinson y Alzheimer. Adicionalmente, se ha reportado su actividad frente a desórdenes alimenticios y cardiovasculares. Estos compuestos también presentan actividad antitumoral. Actualmente, se ha demostrado que son agentes terapéuticos potenciales en el control del estrés y de enfermedades autoinmunes e inflamatorias, y recientemente, se encontró que presentan una notable actividad contra los virus del herpes simplex tipo I y II.

La estrategia de síntesis de pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas es la reacción entre 3-aminopirazoles y compuestos bielectrofilicos apropiados que permitan construir el anillo 1,3,5-triazínico sobre el anillo pirazólico existente. En el presente trabajo se han sintetizado, por primera vez, los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo, que poseen los heterociclos a introducir sobre el sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico.

El método aquí descrito constituye un valioso aporte a la química orgánica sintética, puesto que permite la introducción de anillos heteroaromáticos, de forma directa y fácil, al anillo 1,3,5-triazínico del sistema. Estos compuestos, heteroaril sustituidos aún no se han reportado en la literatura, y son de mucho interés en vista de su potencial actividad biológica. Además, las reacciones de obtención de los productos finales ocurrieron en una sola etapa de reacción empleando la radiación de microondas en reacciones sin disolventes, contribuyendo así al desarrollo de una química menos perjudicial para los ecosistemas denominada "Química verde" o "Green Chemistry".

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la reacción de ciclación entre diferentes heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y 5-amino-3-aril-1*H*-pirazoles, con el fin de sintetizar, en un solo paso de reacción, nuevas pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas que en el anillo triazínico contenga sustituyentes heterocíclicos.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

§ Adaptar la metodología desarrollada en el GICH-UN para la síntesis de los precursores clave, los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo.

§ Establecer la mejor relación entre potencia y tiempo, para la obtención de los productos objetivo, en condiciones libre de disolvente, empleando la radiación de microondas (MW).

§ Caracterizar los nuevos productos con la ayuda de las técnicas espectroscópicas: RMN ¹H y ¹³C mono y bidimensional y espectrometría de masas.

§ Evaluar la regioselectividad de la reacción y proponer la posible ruta de ciclación entre heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y 5-amino-3-aril-1*H*-pirazoles, con base en la información espectroscópica de los productos finales.

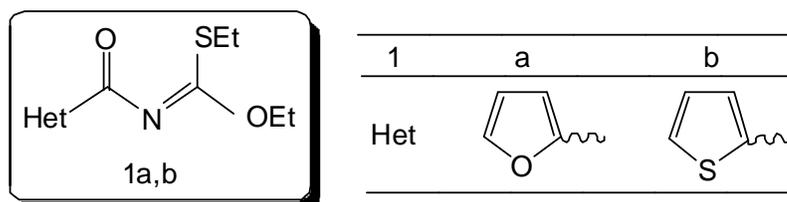
2. ANTECEDENTES

Esta sección contiene la revisión bibliográfica sobre el método de preparación y generalidades del comportamiento químico de los materiales de partida, así como las rutas de síntesis utilizadas para la obtención de pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas, similares a las de la reacción empleada en este trabajo de investigación.

2.1 MATERIALES DE PARTIDA

2.1.1 Los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo. Estructura y Nomenclatura. Esta clase particular de compuestos orgánicos poseen la siguiente estructura (Figura 1) donde “Het” puede ser un anillo de furano 1a ó tiofeno 1b.

Figura 1. Estructura de heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.



2.1.1.1 Método de obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo. No hay un método para la síntesis específica de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b. Por lo tanto, la ruta sintética a seguir en la presente investigación, se apoyó en trabajos previos realizados por el Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad de Nariño.^{1,2,3} En estos se reportó el establecimiento de una metodología para la obtención de aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo 5a-d cuyo método propuesto consta de dos etapas: *la primera* consiste en la preparación de los aroilditiocarbamatos de S-etilo 4a-d y *la segunda*, la etilación de 4a-d para producir los compuestos 5a-d (Esquema 1).

En la *etapa 1*, se sintetizaron los aroilditiocarbamatos de S-etilo 4a-d haciendo reaccionar los cloruros de aroilo 2a-d con tiocianato de potasio, para dar los isotiocianatos de aroilo 3a-d, que se trataron inmediatamente con etanotiol (EtSH).

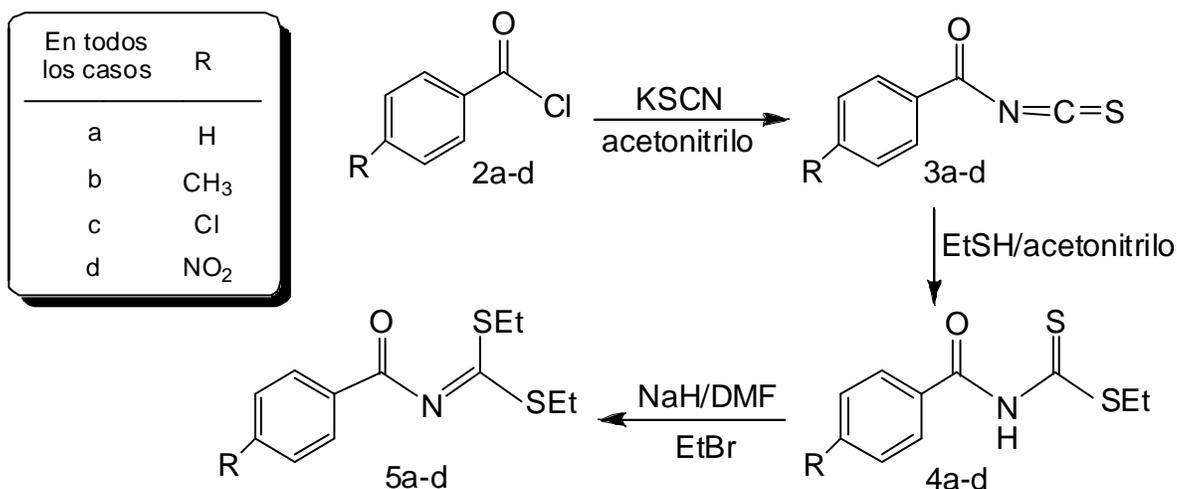
¹ Low, J.; Cobo, J.; Insuasty, H.; Cortés, E. e Insuasty, B. *Acta Cryst. Section C*, 2005, 61, 7-9.

² Checa, C. y Lagos, Y. Evaluación de las interacciones del 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol con los isotiocianatos de aroilo y con los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo. San Juan de Pasto, 2005, 97 p. Trabajo de grado, Universidad de Nariño.

³ Castro, E. y Sánchez, E. Evaluación de las interacciones entre las 4,5-diamino-6-pirimidonas y los aroilo y heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo. San Juan de Pasto, 2008, 84 p. Trabajo de grado. Universidad de Nariño.

La mayor parte de los productos 4a-d se aisló por extracción con acetato de etilo, incrementando significativamente el porcentaje de recuperación de los mismos. Los extractos orgánicos se secaron usando sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) por 12 horas, se filtraron y se evaporaron a sequedad hasta la obtención de los compuestos 4a-d que se lavaron con hexano para eliminar alguna impureza presente. Este último proceso, evitó la recrystalización de los compuestos favoreciendo aún más el rendimiento.

Esquema 1. Reacción general de obtención de los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo 5a-d.



En la Tabla 1, se muestran las principales propiedades físicas de los aroilditiocarbamatos de S-etilo 4a-d obtenidos por este método. Cabe mencionar que los compuestos 4a-d tienen un olor fuerte y desagradable y presentan propiedades corrosivas (en especial 4a,b)

Tabla 1. Propiedades físicas de los aroilditiocarbamatos de S-etilo 4a-d.

4	R	p.f., °C	Rend., %	Color	Apariencia	Tiempo de reacción., h
a	H	81 – 83	89	amarillo	cristales	24
b	CH_3	86 – 89	95	amarillo	cristales	20
c	Cl	124 – 126	91	amarillo	cristales	18
d	NO_2	162 – 163	88	amarillo	cristales	28

Fuente: Checa, C. y Lagos, Y. Evaluación de las interacciones del 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol con los isotiocyanatos de aroilo y con los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo. San Juan de Pasto, 2005, 97 p. Trabajo de grado, Universidad de Nariño.

La *etapa 2* consistió en la obtención de los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo 5a-d, para lo cual se usaron cantidades equimolares del compuesto 4a-d, una suspensión de hidruro de sodio (NaH) al 60% como base fuerte y bromuro de etilo (EtBr) como agente etilante en DMF, con ayuda de agitación magnética a temperatura ambiente.

En la Tabla 2, se muestran las principales características de los compuestos 5a-d obtenidos por la metodología optimizada por el GICH de la Universidad de Nariño.

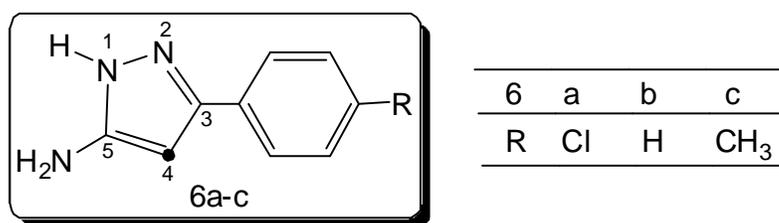
Tabla 2. Propiedades físicas de los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo 5a-d.

5	R	p.f., °C	Rend., %	Color	Apariencia	Tiempo de reacción., h
a	H	---	92	amarillo	aceite	2
b	CH ₃	---	70	amarillo	aceite	1,5
c	Cl	50 – 53	95	blanco	cristales	1,5
d	NO ₂	77 – 79	92	amarillo	cristales	1

Fuente: Checa, C. y Lagos, Y. Evaluación de las interacciones del 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol con los isotiocyanatos de aroilo y con los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo. San Juan de Pasto, 2005, 97 p. Trabajo de grado, Universidad de Nariño.

2.1.2 Los 5-amino-3-aril-1*H*-pirazoles. Estructura y Nomenclatura. La estructura de los 5-amino-3-aril-1*H*-pirazoles, es la que se muestra en la Figura 2, donde R puede ser, por ejemplo, un átomo de cloro 6a, un átomo de hidrógeno 6b o un grupo metilo 6c. Para nombrarlos, se numeran desde el nitrógeno endocíclico enlazado al átomo de hidrógeno.

Figura 2. Estructura de los 5-amino-3-aril-1*H*-pirazoles 6a-c.



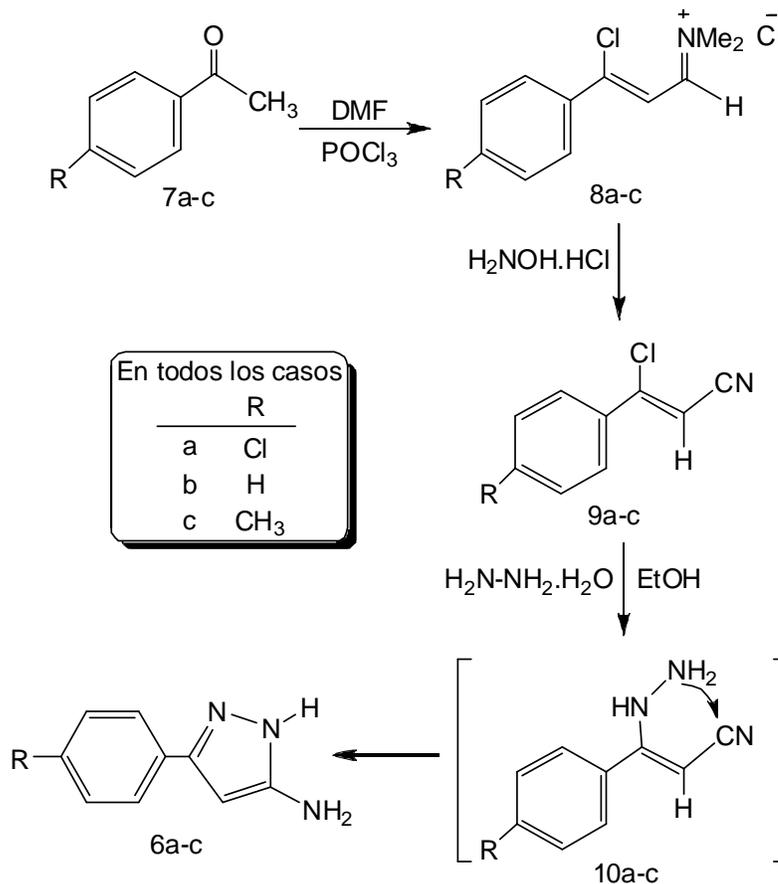
2.1.2.1 Método de obtención de los 5-amino-3-aril-1*H*-pirazoles. Hartmann y Liebscher^{4,5,6} reportaron un método de obtención de los 5-amino-3-aril-1*H*-pirazoles 6a-c con rendimientos del 84, 51 y 74% respectivamente. Este proceso se lleva a cabo en dos etapas (Esquema 2).

⁴ Liebscher, J.; Neumann, B. y Hartmann, H. *J. Prakt. Chem.* 1983, 325, 915-918.

⁵ Hartmann, H. y Liebscher, J. *Synthesis*, 1984, 275-276.

⁶ Hartmann, H. y Liebscher, J. *Synthesis*. 1984, 276-277.

Esquema 2. Reacción de obtención de los 5-amino-3-aryl-1*H*-pirazoles 6a-c.



En la *primera etapa* se sintetizaron los β -clorocinamonitrilos 9a-c por el método reportado por Liebscher y colaboradores.^{4,5} La acetofenona correspondiente 7a-c reacciona con dimetilformamida (DMF), oxiclorigo de fósforo e hidroclicuro de hidroxilamina. La reacción implica la formación de sales intermedias 8a-c, que son equivalentes sintéticos versátiles en química orgánica, especialmente, en la síntesis de compuestos heterocíclicos.

La *segunda etapa*, implica la conversión de los nitrilocompuestos 9a-c en los 5-amino-3-aryl-1*H*-pirazoles 6a-c.⁶ Este proceso es una heteroclicación simple de los intermedios 10a-c con un calentamiento corto y un exceso de hidrato de hidracina en solución alcohólica. El β -hidrazinocinamonitrilo respectivo 10a-c se presume que es el intermedio de la reacción, ya que no hay reporte de su aislamiento.

Los 5-aminopirazoles 6a-c pueden aislarse con un alto rendimiento por filtración después del enfriamiento y dilución de la reacción con agua. Algunas de las propiedades y rendimientos de los 5-amino-3-aryl-1*H*-pirazoles sintetizados por este método son reportadas en la Tabla 3.

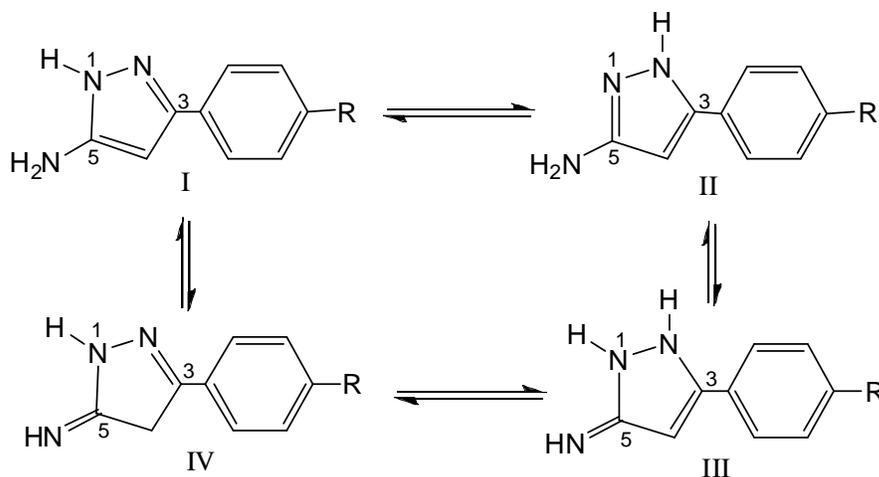
Tabla 3. Propiedades físicas de los 5-amino-3-aryl-1H-pirazoles 6a-c.

6	R	p.f., °C	Rend., %
a	Cl	173 – 175	84
b	H	126 – 127	51
c	CH ₃	147 – 150	74

Fuente: Hartmann, H. y Liebscher, J. *Synthesis*. 1984, 276-277.

2.1.2.2 Propiedades químicas de los 5-amino-3-aryl-1H-pirazoles. Los 5-amino-3-aryl-1H-pirazoles 6a-c son compuestos sólidos altamente higroscópicos que presentan alta estabilidad y reactividad debido a que pueden existir en forma de los tautómeros I-IV (Figura 3),⁷ siendo los tautómeros I y II los que predominan sobre los tautómeros III y IV. Igualmente, estos pirazoles pueden reaccionar a través de sus tres centros nucleofílicos, el grupo amino en posición 1, el grupo amino en posición 5 y el carbono 4.

Figura 3. Formas tautoméricas de los 5-amino-3-aryl-1H-pirazoles.



En la sección de métodos de obtención de los productos objetivo, se evidencia el comportamiento químico de los 5-aminopirazoles, donde, dependiendo de los materiales de partida y las condiciones de reacción, actúan sus centros reactivos.

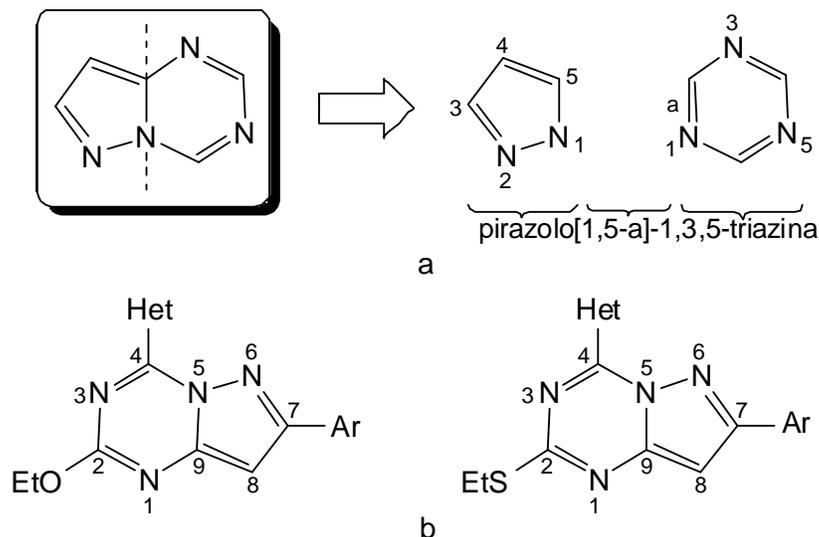
2.2 PRODUCTOS OBJETIVO

Los productos finales de esta investigación son las nuevas pirazolo[1,5-a]-1,3,5-triazinas que en cuyo anillo triazínico presentan sustituyentes heterocíclicos.

⁷ Kouznetsov, V. y Palma, A. *Química Básica de los Heterocíclicos y su Importancia Practica*. 1ª Edición. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga-Colombia, 1997. 209p.

2.2.1 Pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas. Estructura y Nomenclatura. Estos compuestos poseen la estructura mostrada en la Figura 4. Su nombre se debe a que el anillo del pirazol (1,2-diazol), heterociclo de cinco miembros, se encuentra unido a través de las posiciones 1 y 5 a la cara “a” de la 1,3,5-triazina, heterociclo de seis miembros con tres átomos de nitrógeno en posiciones 1, 3 y 5 (Figura 4a). Esta clase de compuestos se numera partiendo del nitrógeno adyacente al anillo del pirazol y continuando hacia el siguiente nitrógeno triazínico como se muestra en la Figura 4b.

Figura 4. a) Estructura general y nomenclatura de las pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas, b) Numeración del sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico.



2.2.2. Importancia farmacológica del sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico. En la literatura se han reportado diferentes compuestos que contienen el sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico con una amplia variedad de aplicaciones médicas, tal es el caso de la 4-amino-8-(4-piridil)-pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazina *a* (Figura 5) reportada por Rooney y colaboradores,⁸ que resultó ser un efectivo dilatador bronquial, útil para inhibir la constricción inducida por la histamina. Kim y su grupo⁹ reportaron el compuesto *b* que presenta el sistema, el cual se usa en la prevención y control de la úlcera péptica.

Bös y colaboradores¹⁰ reportaron el uso de la pirazolotriazina *c* de la Figura 5 en el tratamiento de algunos desórdenes del sistema nervioso central tales como la psicosis, la esquizofrenia, la depresión, desórdenes de la memoria, el mal de Parkinson y el mal de Alzheimer.

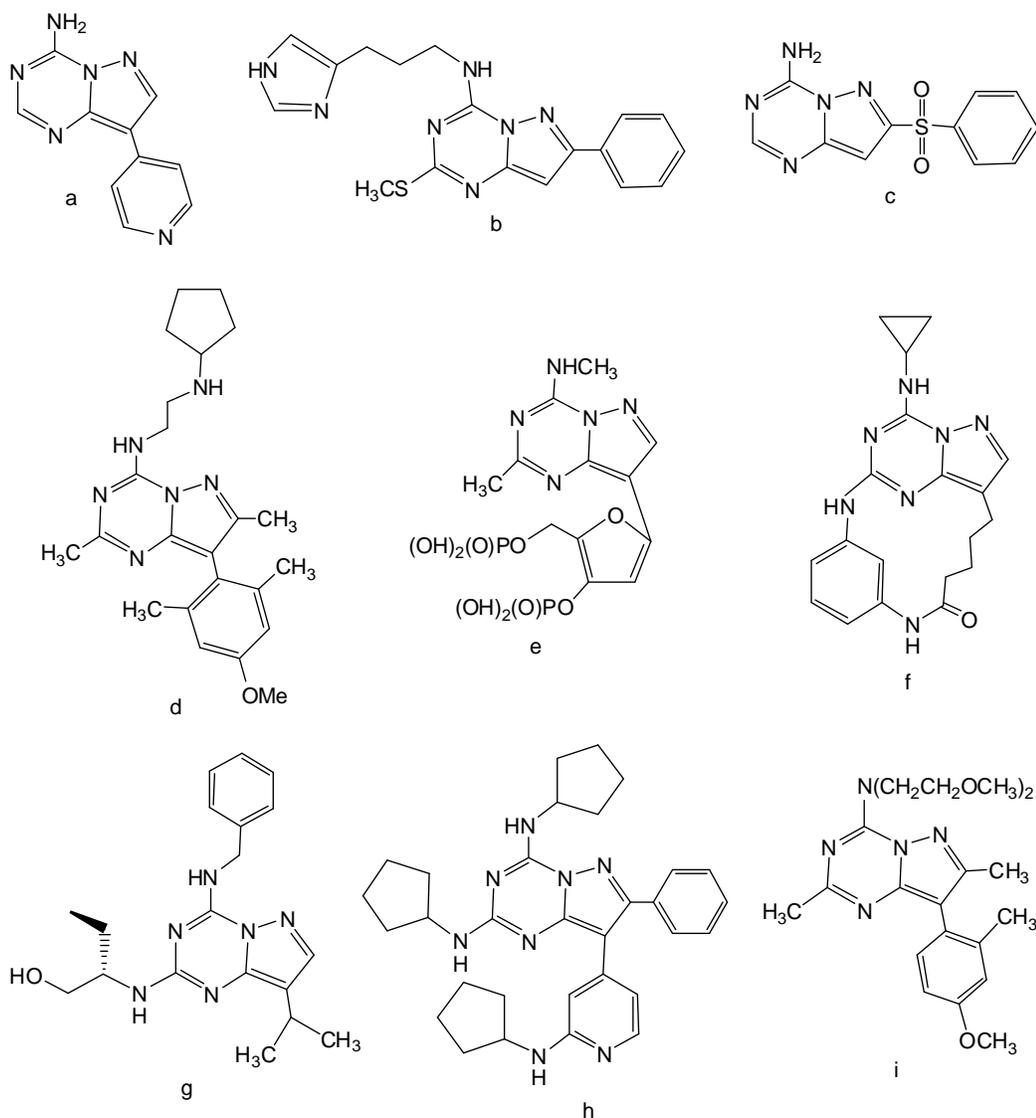
⁸ Rooney, S. C.; Windsor, H. R. y Williams, R. *Patente Estadounidense*; 3,995,039; 1976.

⁹ Kim, S. H. y Moreau, J. P. *Patente Estadounidense*. 4,565,815; 1986.

¹⁰ Bös, M.; Reimer, C. y Stadler, H. *Patente Estadounidense*. 6,194,410 B1; 2001.

Una aplicación novedosa fue reportada por Darrow y colaboradores,¹¹ la pirazolotriazina *d* de la Figura 5 actúa como antagonista no peptídico de los receptores del neuropéptido Y (NPY) cuya sobreexpresión en el organismo ocasionan respuestas fisiológicas como el incremento del apetito, la acumulación de grasa, el aumento en el nivel de glucosa en la sangre y la presión arterial, debido a esto, se ha comprobado que estas pirazolotriazinas son sustancias útiles en el tratamiento de desórdenes alimenticios como la obesidad y la bulimia o de desórdenes cardiovasculares como la hipertensión.

Figura 5. Compuestos bioactivos que contienen el sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico.



¹¹ Darrow, J.; De Lombaert, S.; Blum, CH.; Tran, J.; Giangiordano, M.; Griffith, D. y Carpino, P. *Patente Estadounidense*. 6,476.038 B1; 2002.

En la mayoría de estudios, el interés de esta clase de sustancias se debe a su analogía estructural con las bases purínicas, lo que permite incluso la construcción de análogos de los nucleótidos como el derivado e mostrado en la Figura 5, sintetizado por Raboisson y colaboradores,^{12,13} el cual es un antagonista selectivo de los receptores P2Y de nucleótidos, así como también es un inhibidor de la fosfodiesterasa tipo 4 (PDE4) resultando un agente terapéutico potencial para el control de enfermedades autoinmunes e inflamatorias. Cabe resaltar que este derivado tiene como sustituyente el 2-furilo, en este caso, este heterociclo está sobre el anillo pirazólico y no sobre el anillo triazínico como en esta investigación. En síntesis orgánica es importante el cambio de posición de los sustituyentes ya que esto permite evaluar cuál de los regioisómeros de un compuesto resulta biológicamente más activo.

En los últimos años Nie y colaboradores^{14,15} reportaron el diseño y la síntesis de pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas como el derivado *f* de la Figura 5, que presenta una estructura macrocíclica. Este compuesto exhibió actividad contra el cáncer de próstata y el cáncer de colon. La bioactividad se debe a que este tipo de compuestos son potentes inhibidores de la proteína cinasa 2 (CK2), y por ende, inhiben fuertemente el crecimiento y proliferación de células cancerosas produciendo apoptosis.

Recientemente, Popowycz y su grupo¹⁶ sintetizaron el compuesto *g* de la Figura 5, un potente inhibidor de las cinasas dependientes de ciclina (CDKs), enzimas que regulan el ciclo celular, de ahí que estas pirazolotriazinas también presenten actividad antiproliferativa de células cancerosas. En un segundo artículo¹⁷ estos autores reportaron otros derivados con el sistema pirazolotriazínico, los cuales evitan la proliferación celular inhibiendo la polimerización de microtubulos, esto resulta bastante útil cuando se trata de detener la proliferación de células cancerosas, resultado encontrado en ensayos realizados en células de tejido con cáncer colorrectal.

¹² Raboisson, P.; Schultz, D.; Lugnier, C.; Mathieu, R. y Bourguignon, J.-J. *Tetrahedron Letters*. 2003; 44, 703-705.

¹³ Raboisson, P.; Schultz, D.; Muller, C.; Reimund, J.-M.; Pinna, G.; Mathieu, R.; Bernard, P.; Do, Q.-T.; Desjarlais, R.; Justiano, H.; Lugnier, C. y Bourguignon, J.-J. *Eur. J. Med. Chem.* 2008; 43, 816-829.

¹⁴ Nie, Z.; Perretta, C.; Erickson, P.; Margosiak, S.; Almassy, R.; Lu, J.; Averill, A.; Yager, K. y Chu, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 17, 4191-4195.

¹⁵ Nie, Z.; Perretta, C.; Erickson, P.; Margosiak, S.; Lu, J.; Averill, A.; Almassy, R. y Chu, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 619-623.

¹⁶ Popowycz, F.; Fournet, G.; Schneider, C.; Bettayeb, K.; Ferandin, Y.; Lamigeon, C.; Tirado, O.; Mateo-Lozano, S.; Notario, V.; Colas, P.; Bernard, P.; Meijer, L. y Joseph, B. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 655-663.

¹⁷ Popowycz, F.; Schneider, C.; Debonis, S.; Skoufias, D.; Kozielski, F.; Galmarini, C. y Joseph, B. *Bioorg. Med. Chem.* 2009, 17, 3471-3478.

Gudmundsson y colaboradores¹⁸ reportaron la síntesis de nuevas pirazolotriazinas como la de estructura *h* (Figura 5), la cual, pese a su alto peso molecular, presentó elevada actividad contra los dos tipos de virus del herpes, virus herpes simplex tipo I (VHS-I) y tipo II (VHS-II), responsables de las infecciones mucocutáneas en los labios y genitales, respectivamente.

Finalmente, Gilligan y colaboradores¹⁹ reportaron la síntesis de la pirazolotriazina *i* de la Figura 5, la cual podría emplearse como medicamento para el tratamiento de desórdenes relacionados con el estrés, debido a que funciona como antagonista de los receptores del factor de liberación de corticotropina (CRF₁), hormona que induce respuestas en los organismos cuando estos se someten a estrés o condiciones difíciles.

2.2.3 Importancia farmacológica de los sustituyentes heterocíclicos. Debido a que la novedad de esta investigación es la introducción de anillos heterocíclicos de forma directa al anillo triazínico del sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico, se ha incluido esta sección, la cual describe la importancia farmacológica de compuestos que, pese a que no tienen el sistema pirazolotriazínico, presentan como sustituyentes los heterociclos empleados en esta investigación.

La propiedad de algunos sistemas bicíclicos, como el pirazolotriazínico, de presentar analogía estructural con las bases purínicas, constituye una vía para la síntesis de análogos de los nucleósidos y nucleótidos. Recientemente, Vu y colaboradores²⁰ sintetizaron un derivado del sistema triazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico (Estructura *a*, Figura 6), de igual manera, Gillespie y su grupo²¹ reportaron la obtención de una pirazolo[3,4-*d*]pirimidina (Estructura *b*, Figura 6). Estos derivados heteroarilsustituidos presentan similitud con la adenosina, compuesto que cumple un importante papel en el organismo como neuromodulador en el sistema nervioso central al interactuar con sus receptores (A₁, A_{2A}, A_{2B} y A₃). Además, estos derivados son potentes y selectivos antagonistas de los receptores A_{2A} de adenosina. Numerosas evidencias indican que la activación de los receptores A_{2A} producen efectos inhibidores de la locomoción. En contraste, los antagonistas de estos receptores estimulan la actividad locomotora, de ahí que

¹⁸ Gudmundsson, K. S.; Johns, B. A. y Weatherhead, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 5689-5692.

¹⁹ Gilligan, P.; He, L.; Clarke, T.; Tivitmahaisoon, P.; Lelas, S.; Li, Y.-W.; Heman, K.; Fitzgerald, L.; Miller, K.; Zhang, G.; Marshall, A.; Krause, C.; McElroy, J.; Ward, K.; Shen, H.; Wong, H.; Grossman, S.; Nemeth, G.; Zaczek, R.; Arneric, S.; Hartig, P.; Robertson, D. y Trainor, G. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 3073-3083.

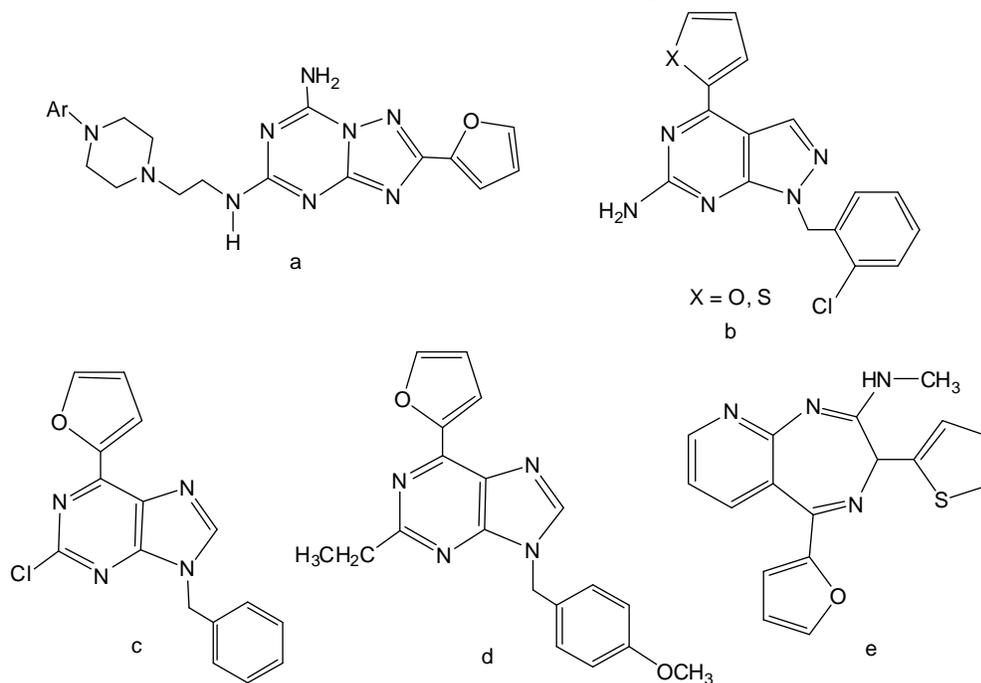
²⁰ Vu, Ch. B.; Shields, P.; Peng, B.; Gnanasambandam, K.; Jin, X.; Phadke, D.; Wang, J.; Engber, T.; Ayyub, E. y Petter, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 14, 4835-4838.

²¹ Gillespie, R.; Cliffe, I.; Dawson, C.; Dourish, C.; Gaur, S.; Jordan, A.; Knight, A.; Lerpiniere, J.; Misra, A.; Pratt, R.; Roffey, J.; Stratton, G.; Upton, R.; Weiss, S. y Williamson, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 2924-2929.

este tipo de compuestos presenten actividad frente a enfermedades que pueden provocar catalepsia, como son el mal de Parkinson, la esquizofrenia y la epilepsia.

En otra investigación realizada por Bakkestuen y su grupo,²² se reportaron compuestos que presentan el sistema purínico con el sustituyente 2-furilo sobre el carbono 6, de mayor importancia la 9-bencil-6-(2-furil)purina *c* (Figura 6), que presentó una elevada bioactividad *in vitro* contra enfermedades micobacterianas como la tuberculosis. En este estudio fue comparada la actividad obtenida por aril- y heteroarilpurinas, encontrando mayor efectividad cuando el sistema presenta un sustituyente heteroaromático como el furano. Además de la alta actividad de estos compuestos contra el *Mycobacterium tuberculosis*, estos exhibieron una débil actividad frente al *Mycobacterium avium* Complex (MAC), ampliamente distribuido en el ambiente, que solo afecta a personas inmunocomprometidas y casi exclusiva de pacientes con SIDA, produciendo infecciones oportunistas frecuentes.

Figura 6. Compuestos bioactivos sustituidos con fragmentos de 2-furilo y 2-tienilo.



En los últimos años, Brændvang y Gundersen²³ realizaron diferentes modificaciones al compuesto *c* de la Figura 6, para la obtención de derivados como la 2-etil-6-(2-furil)-9-(p-metoxibencil)purina *d*, la cual también resultó ser biológicamente activa contra bacterias como los *Estafilococos aureus* y la *Escherichia coli*.

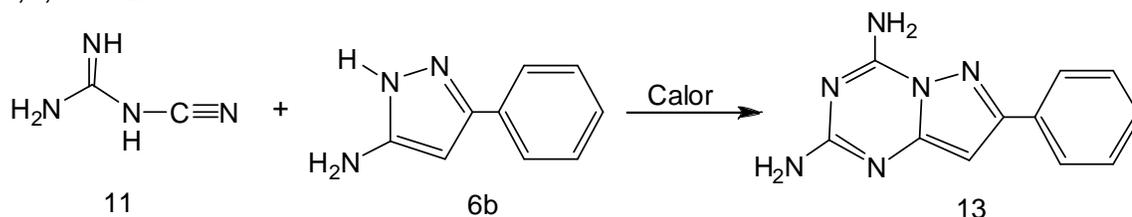
²² Bakkestuen, A. K.; Gundersen, L.-L. y Utenova, B. T. *J. Med. Chem.* 2005, 48(7), 2710-2723.

²³ Brændvang, M. y Gundersen, L.-L. *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15, 7144-7165.

Una piridodiazepina interesante, puesto que contiene los dos heterociclos empleados en esta investigación, fue reportado por Geng y su grupo (Estructura e, Figura 6),²⁴ este compuesto es un potente y selectivo inhibidor de la glutamato racemasa, enzima citoplasmática de bacterias, que cataliza la conversión de L-Glutamato a D-Glutamato, precursor clave para la formación de la cápsula bacteriana, de ahí que la inhibición de la enzima sea letal para las bacterias. La piridodiazepina resultó ser un agente anti-*Helicobacter pylori*, útil para el tratamiento de úlceras crónicas, gastritis y cáncer gástrico.

2.2.4 Métodos de obtención de pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas. El primer derivado de este sistema; la 2,4-diamino-7-fenilpirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazina 13, fue preparado por Checchi y Ridi²⁵ a partir de la ciclación térmica del 5-amino-3-fenilpirazol 6b con la cianoguanidina 11 (Esquema 3).

Esquema 3. Reacción de obtención del primer derivado de las pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas.



Desde entonces, se han sintetizado varios derivados de estos compuestos siguiendo estrategias similares, es decir, por reacción de diferentes 5-aminopirazoles con reactivos bielectrofilicos, los que permiten construir el anillo 1,3,5-triazínico sobre el anillo pirazólico existente.

Algunas estrategias de síntesis de pirazolotriazinas, agrupadas de acuerdo a los sitios más reactivos del 5-amino-1*H*-pirazol, se describen a continuación.

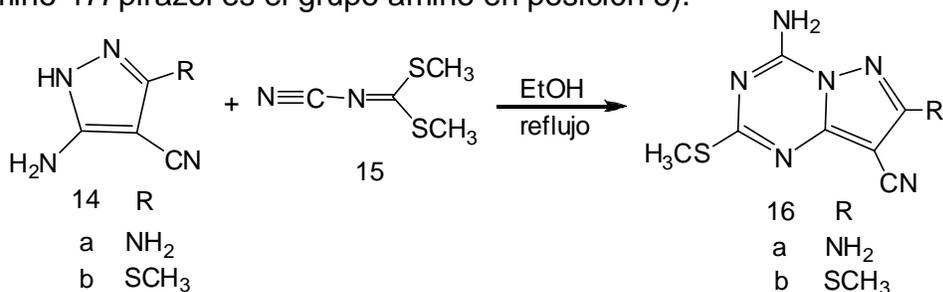
2.2.4.1 Métodos de obtención de pirazolotriazinas donde el centro más reactivo del 5-amino-1*H*-pirazol es el grupo amino en posición 5. Ried y Aboul-Fetouh,²⁶ sintetizaron en un solo paso las pirazolotriazinas 16a,b sometiendo a los 5-aminopirazoles 14a,b y al N-cianoiminoditiocarbonato de S,S-dimetilo 15 a calentamiento a reflujo en etanol en presencia de trietilamina y agitación magnética durante dos horas (Esquema 4).

²⁴ Geng, B.; Basarab, G.; Comita-Prevoir, J.; Gowravaram, M.; Hill, P.; Kiely, A.; Loch, J.; Macpherson, L.; Morningstar, M.; Mullen, G.; Osimboni, E.; Satz, A.; Eyermann, CH. y Lundqvist, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 930-936.

²⁵ Checchi, S. y Ridi, M. *Gazz. Chim. Ital.* 1957, 87, 597.

²⁶ Ried, W. y Aboul-Fetouh, S. *Tetrahedron.* 1988, 44, 7155-7162.

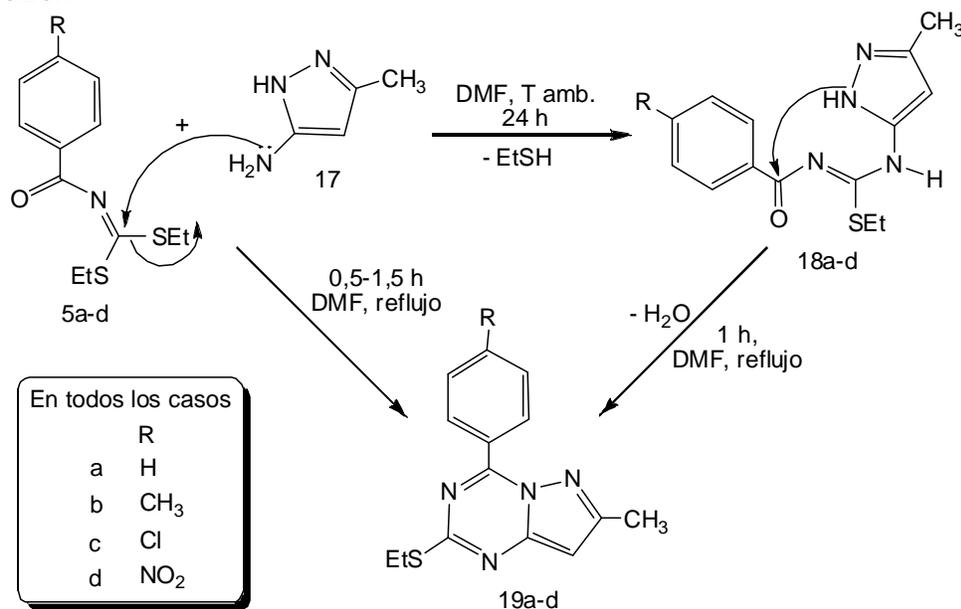
Esquema 4. Obtención de pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas (El centro más reactivo del 5-amino-1*H*-pirazol es el grupo amino en posición 5).



El análisis espectroscópico de los productos les permitió concluir que la reacción empieza con el ataque nucleofílico del nitrógeno exocíclico (sobre el carbono 5) y termina con la ciclación a través del nitrógeno en posición 1 del pirazol.

Otra síntesis de pirazolotriazinas se ha desarrollado en el Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad de Nariño.^{27,28} Se demostró que la reacción entre aroiliminoditiocarbonatos de *S,S*-dietilo 5a-d y el 5-amino-3-metilpirazol 17 es altamente regioselectiva y condujo en una sola etapa de reacción, bajo condiciones suaves y con rendimientos entre 50 y 93%, a las 4-aryl-7-metil-2-tioetilpirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas 19a-d, pasando por los intermedios 18a-d como se muestra en el Esquema 5.

Esquema 5. Reacción entre aroiliminoditiocarbonatos de *S,S*-dietilo y el 5-amino-3-metilpirazol.



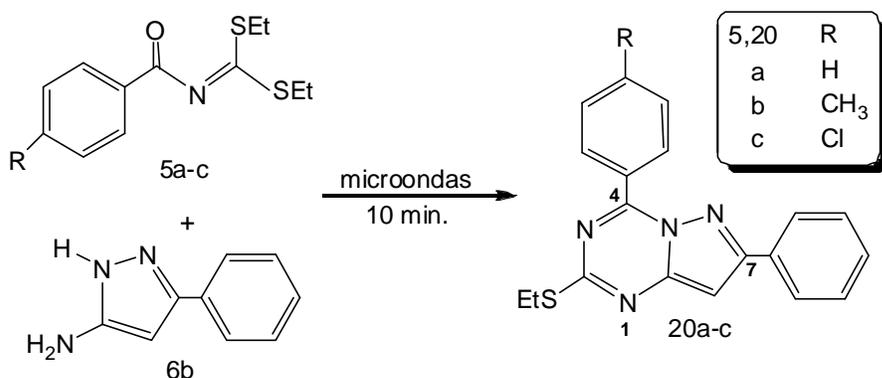
²⁷ Insuasty, H.; Estrada, M.; Cortés, E.; Quiroga, J.; Insuasty, B.; Abonía, R.; Noguera, M. y Cobo, J. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 5441-5443.

²⁸ Insuasty, H.; Estrada, M.; Cobo, J. y Low, J. *Acta Cryst. Section C*, 2006, 62, 122-124.

El estudio de esta reacción permitió concluir que la ruta de ciclación empieza con el ataque nucleofílico del nitrógeno del NH₂ en el carbono 5 del pirazol 17, al carbono imínico de los ditiocarbonatos 5a-d ocasionando la eliminación del grupo tioetilo en forma de etanotiol y conduciendo al correspondiente intermedio 18a-d, el cual finalmente se ciclocondensa entre el grupo amino en posición 1 y el grupo carbonilo, eliminando una molécula de agua para dar origen a las pirazolotriazinas 19a-d.

Otra investigación realizada por el GICH-UN,²⁹ estuvo encaminada a obtener nuevas pirazolotriazinas con dos anillos aromáticos en posiciones 4 y 7. Una de las reacciones realizadas fue entre los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo 5a-c y el 5-amino-3-fenilpirazol 6b, sometiendo los precursores a irradiación en un horno microondas casero durante 10 minutos. La irradiación condujo a las nuevas pirazolotriazinas 20a-c con altos rendimientos de reacción (70-80%). En el Esquema 6 se muestra esta reacción.

Esquema 6. Reacción entre aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo y el 5-amino-3-fenilpirazol.



2.2.4.2 Método de obtención de pirazolotriazinas donde el centro más reactivo del 5-amino-1*H*-pirazol es el grupo amino en posición 1. Elgemeie y colaboradores,³⁰ reportaron el uso del N-cianoiminoditiocarbonato de S,S-dimetilo 15 en la síntesis de las pirazolotriazinas 22a,c por reacción con los 5-aminopirazoles 6a,c a reflujo en etanol conteniendo cantidades catalíticas de piperidina.

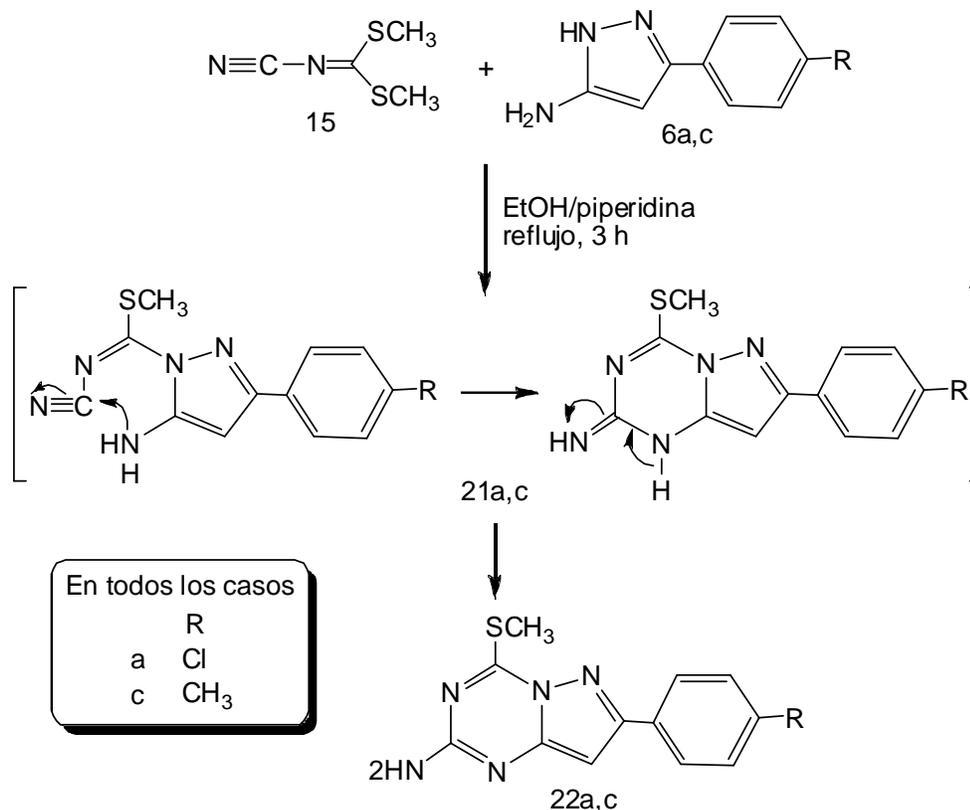
Los autores asumen que la formación de los productos 22a,c procede a través de los intermedios no aislados 21a,c. La estructura de los productos finales fue establecida con la ayuda de las técnicas espectroscópicas IR, RMN ¹H y ¹³C y por

²⁹ Mier, P. y Suarez, G. Evaluación de la reacción de aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo con 5-amino-3-arilpirazoles. Una ruta eficiente de obtención de nuevas pirazolo[1,5-a]-1,3,5-triazinas. San Juan de Pasto, 2007, 60 p. Trabajo de grado, Universidad de Nariño.

³⁰ Elgemeie, G. H.; El-Ezbawy, S. R. y El-Aziz, H. A. *Synthetic Commun.* 2001, 31(22), 3453-3458.

espectrometría de masas, confirmando que la reacción inicia con el ataque nucleofílico del nitrógeno endocíclico (1-NH) del pirazol sobre el carbono de la porción iminoéster de 15 y posteriormente ocurre la ciclación entre el grupo amino en posición 5 y el grupo ciano (Esquema 7).

Esquema 7. Obtención de pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas (el centro más reactivo del 5-amino-1*H*-pirazol es el grupo amino en posición 1).



Lo interesante de los dos trabajos propuestos por Ried y Aboul-Fetouh,²⁶ y Elgemeie y colaboradores,³⁰ es que a pesar de que ambos parten del N-cianoiminoditiocarbonato de S,S-dimetilo 15 y 5-aminopirazoles, estos últimos con la posibilidad de reaccionar por el grupo amino en el carbono 5 o el grupo amino en posición 1, la regioselectividad es totalmente opuesta; esto es fácil de observar si se comparan los productos 16a,b (Esquema 4) con los productos 22a,c (Esquema 7).

Lo anterior confirma la importancia del estudio de regioselectividad que se realizó en este trabajo de investigación, ya que los cambios en los materiales de partida y las condiciones de reacción, influyen significativamente en la orientación de esta clase de reacciones.

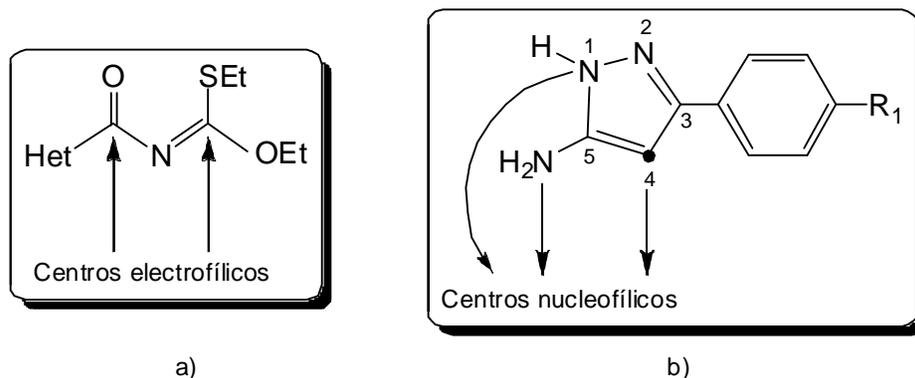
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro de la estrategia general para sintetizar pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas no se ha diseñado una metodología específica para la introducción de anillos heterocíclicos sobre el anillo triazínico, componente del sistema bicíclico. Por lo que la síntesis de estos compuestos aún no se ha reportado en la literatura. El interés en la síntesis de estos nuevos compuestos radica en que los heterociclos⁷ como el furano y el tiofeno, al ser empleados como sustituyentes pueden incrementar la amplia y reconocida actividad biológica de las pirazolotriazinas en el tratamiento y prevención de diversas enfermedades.⁸⁻¹⁹

En vista de la valiosa utilidad farmacológica que pueden presentar estos compuestos, se ha desarrollado el presente trabajo, el cual está basado en una metodología reportada por el Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad de Nariño (GICH-UN)^{2,3,27} para la síntesis de pirazolotriazinas con anillos aromáticos como sustituyentes en el anillo triazínico, e incorpora una metodología de radiación de microondas.

Inicialmente se sintetizarán los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b (Figura 1), precursores adecuados para la consecución de los productos finales dado que contienen dos centros electrofílicos, el carbono de la parte iminoéster y el carbono del grupo carbonilo, siendo más susceptible el primero de un ataque nucleofílico (Figura 7a).³¹ Posteriormente, los carbonatos se harán reaccionar con los 5-amino-3-*aril*-1*H*-pirazoles, los cuales presentan tres centros nucleofílicos: el carbono 4, el grupo amino sobre el carbono 5 y el NH en la posición 1 (Figura 7b).

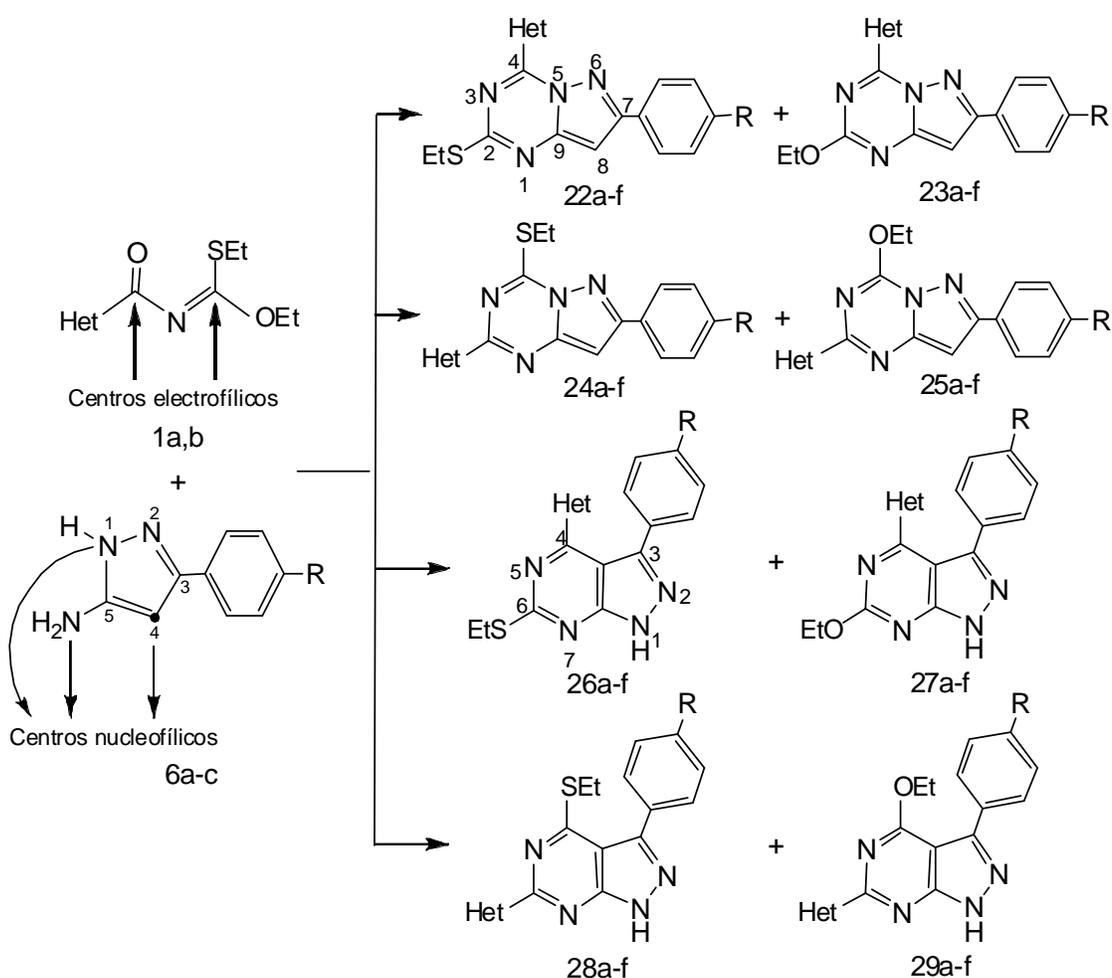
Figura 7. Centros reactivos de a) los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y b) los 5-amino-3-*aril*-1*H*-pirazoles.



³¹ Agustín, M.; Richter, M. y Salas, S. *J. Prakt. Chem.* 1980, 322, 55-68.

Debido a que las diferentes interacciones entre los centros reactivos de los precursores 1a,b y 6a-c teóricamente producirían ocho productos, cuatro de ellos con el sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico, y cuatro con el sistema pirazolo-[3,4-*d*]pirimidínico (Esquema 8), estos últimos con menor probabilidad de formación según trabajos del GICH-UN,^{27,29} se realizará el estudio de *regioselectividad*, mediante el cual se comprueba la estructura de los compuestos obtenidos, y por ende, se evalúa la capacidad de los centros reactivos de los precursores de actuar selectivamente para dar un solo tipo de productos.

Esquema 8. Productos posibles de la reacción entre los heteroariliminotio-carbonatos de O,S-dietilo 1a,b y los 5-amino-3-*aryl*-1*H*-pirazoles 6a-c.



22-29	a	b	c	d	e	f
R	Cl	H	Me	Cl	H	Me
Het						

Finalmente, los compuestos obtenidos serán analizados por RMN ^1H , RMN ^{13}C , técnicas bidimensionales y espectrometría de masas. La información suministrada por estas técnicas permitirá establecer la estructura de los nuevos productos, la regioselectividad de la reacción y proponer la ruta de ciclación de esta clase de reacciones.

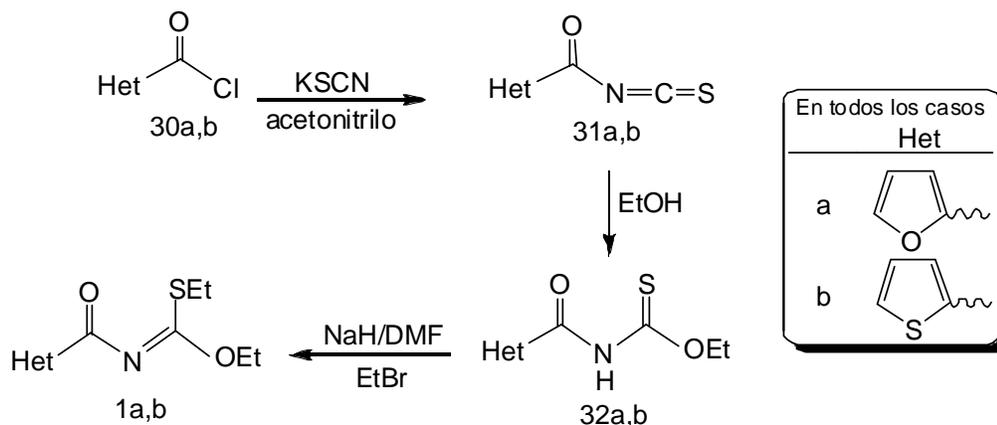
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar, se describirá la metodología de obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo, precursores clave de esta investigación. De igual manera, se describirá la evaluación de las interacciones entre los dos materiales de partida para dar las pirazolotriazinas objetivo. A medida que se describan estos nuevos compuestos se ilustrará su respectiva caracterización, la cual, además de contribuir a la determinación de la estructura, ayuda a corroborar la orientación de la reacción y a formular una propuesta mecanística de la ruta de ciclación que sigue esta clase de reacciones.

4.1 LOS HETEROAROILIMINOTIOCARBONATOS DE O,S-DIETILO

La estandarización de una metodología para la síntesis de los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo, reportada por Checa y Lagos² y por Castro y Sánchez,³ sirvió como base para lograr establecer las condiciones de reacción para la síntesis de los precursores clave de esta investigación, los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo. Al igual que en dicho reporte, el proceso se llevó a cabo en dos etapas según la reacción mostrada en el Esquema 9 y las cuales se describen a continuación.

Esquema 9. Reacción de obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.



4.1.1 Etapa 1. Establecimiento de la metodología de obtención de los heteroaroylitiocarbamatos de O-etilo 32a,b. En esta primera etapa se adaptó la metodología reportada para la síntesis de aroilditiocarbamatos de S-etilo 4a-d (Esquema 1), en esta se cambiaron los cloruros de aroilo por los cloruros de heteroaroylo 30a (cloruro de furan-2-oilo) y 30b (cloruro de tioen-2-oilo), y se continuó el procedimiento haciendo reaccionar estos cloruros con tiocianato de potasio (KSCN) en acetonitrilo, para producir los isotiocyanatos de heteroaroylo

31a,b. Para esta reacción se trabajó bajo atmósfera inerte de gas propano, puesto que los cloruros son lacrimógenos y el KSCN higroscópico. En este punto se observó la formación de un sólido blanco que se adhiere a las paredes del recipiente, que corresponde al cloruro de potasio (KCl) formado como subproducto de la reacción.

Otra modificación fue la adición de un exceso de etanol (EtOH) a la mezcla de reacción en lugar de etanotiol (EtSH), logrando el reemplazo de un reactivo altamente tóxico y contaminante, el resultado de esta sustitución, después de 15 horas de reacción y agitación magnética, es el carbamato 32a,b con un átomo de oxígeno unido al grupo etilo en lugar de un azufre. Puesto que los compuestos 32a,b se encuentran disueltos en un medio orgánico, la precipitación de estos se indujo con la adición de la mezcla de reacción sobre hielo triturado, lo que también favoreció la solubilización del KCl presente en el medio. Una vez filtrados y secados a temperatura ambiente, se tomó una CCD a cada uno de los compuestos, esta indicó que estaban puros y sin más tratamientos se utilizaron en la segunda etapa de reacción.

En la Tabla 4, se muestran las principales propiedades físicas de los heteroariltiocarbamatos de O-etilo 32a,b obtenidos en la presente investigación. Cabe resaltar que estos compuestos, en estado sólido, tienen un olor azufrado muy débil, casi imperceptible.

Tabla 4. Propiedades físicas de los heteroariltiocarbamatos de O-etilo 32a,b.

32	Het	p.f., °C	Rend., %	Color	Apariencia	Tiempo de reacción, h
a	2-furilo	64-66	73	Amarillo pálido	“algodón”	15
b	2-tienilo	74-76	75	Verde pálido	“algodón”	15

Las estructuras de los compuestos 32a,b obtenidos, se confirmaron mediante las técnicas espectroscópicas de resonancia magnética nuclear protónica (RMN ¹H) y de carbono trece (RMN ¹³C), y por Espectrometría de Masas (MS). Estos espectros fueron tomados en los laboratorios de espectroscopia y espectrometría de la Universidad del Valle.

La asignación correcta de todas las señales del espectro, especialmente, los carbonos y protones del anillo de 2-furilo o 2-tienilo, se hizo comparando los espectros de RMN de los precursores con los espectros de RMN de los productos finales, cuya asignación se realizó de manera contundente con todas las técnicas bidimensionales. La factibilidad de dicha comparación, facilitó la asignación de esas señales en los espectros de 32a,b.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto 32a (Figura 8) se observaron seis señales, discriminadas así: un singulete a 9.34 ppm, correspondiente al NH amídico, desplazado a campo bajo por la influencia de la electronegatividad de los grupos vecinales, carbonilo (C=O) y tiocarbonilo (C=S). En la región aromática se observan tres señales; un triplete a 7.54 ppm, un doblete a 7.31 ppm y un doblete a 6.58 ppm, cada uno de los cuales integra para un protón, asignados a los hidrógenos H-3', H-5' y H-4' del anillo de furano. En la región alifática aparece un cuartete a 4.66 ppm que integra para dos hidrógenos, y un triplete a 1.46 ppm que integra para tres, señales asignadas al CH₂ y CH₃ del grupo etoxilo.

El compuesto 32b presentó señales similares a las analizadas para el 32a. Los datos se resumen en la Tabla 5.

Figura 8. Espectro de RMN ^1H del compuesto 32a.

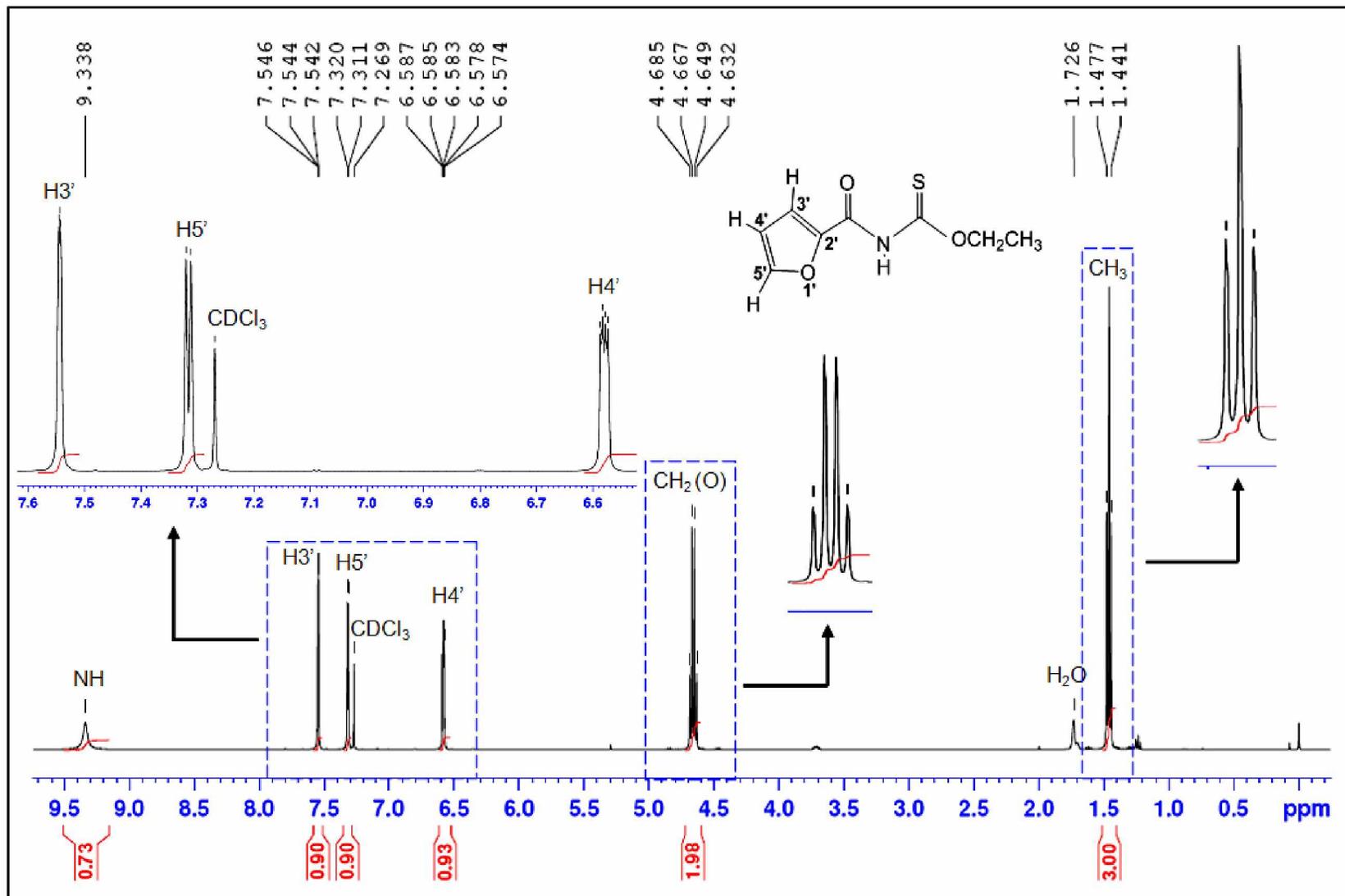


Figura 9. Numeración de los heteroaroiditiocarbamatos de O-etilo 32a,b.

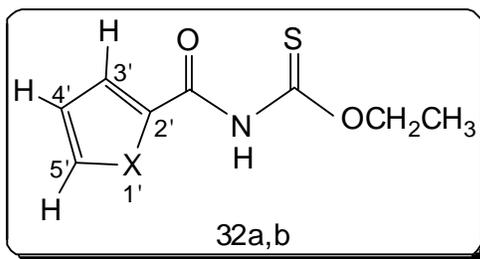


Tabla 5. Datos de RMN ^1H (δ ppm) de los compuestos 32a,b. CDCl_3 , 400 MHz (TMS-estándar interno).

32	X	Grupo Etoxilo		NH (s)	Anillo heteroaromático		
		CH_3 (t)	CH_2 (c)		H-3' (t)	H-5'(d)	H-4' (dd)
a	O	1.46	4.66	9.34	7.54	7.31	6.58 (dd)
b	S	1.47	4.67	9.05	7.65-7.64		7.14 (t)

s (singlete), d (doblete), t (tripleto), c (cuartete), dd (doble doblete).

En el espectro RMN ^{13}C -DEPT-135 del compuesto 32a (Figura 10), se asignaron las ocho señales. La parte sustituyente del anillo heteroaromático se asignó por comparación con los aroiditiocarbamatos de (O),S,S dialquilo sintetizados en el grupo de investigación,^{2,3} y la parte del anillo heteroaromático por comparación con los espectros de los productos finales que contienen este anillo. A campo bajo aparecen las señales del grupo tiocarbonilo (C=S) a 188.6 ppm y a 152.3 ppm la del grupo carbonilo amídico (C=O). En la región aromática hay cuatro señales correspondientes a los carbonos C-2', C-5', C-3' y C-4' del furano, que aparecen a 146.1, 145.4, 118.1 y 113.2 ppm, respectivamente en el espectro. En la parte alifática (fase positiva) del espectro DEPT-135 aparece la señal del metilo a 13.7 ppm, y en fase inversa la señal del metileno a 69.2 ppm.

El espectro HMBC (Figura 11) evidenció la correlación a dos enlaces (2J) del carbono metílico (CH_3) con los protones del metileno (CH_2) del fragmento etoxilo (pico cruzado a), y entre el carbono del CH_2 con los protones del CH_3 (pico cruzado b). Así mismo, muestra la correlación del grupo tiocarbonilo (C=S) a tres enlaces (3J) con los protones del CH_2 (pico cruzado c). El carbono en posición C-4' se asignó por sus correlaciones a dos enlaces (2J) con los protones H-3' y H-5' (picos cruzados d y e respectivamente). El carbono C-2' fue identificado por sus correlaciones con los tres protones del heterociclo, a dos enlaces (2J) con el H-3' y a tres enlaces (3J) con el H-4' y el H-5' (picos cruzados f, g y h respectivamente). Las correlaciones esperadas entre C-3' y H-5' y entre C-5' y H-3', así como entre el NH y carbonos como los de los grupos C=O y C=S, no fueron observadas en el espectro HMBC.

En la Tabla 6, se describen los datos de RMN ^{13}C para los compuestos 32a,b.

Figura 10. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 del compuesto 32a.

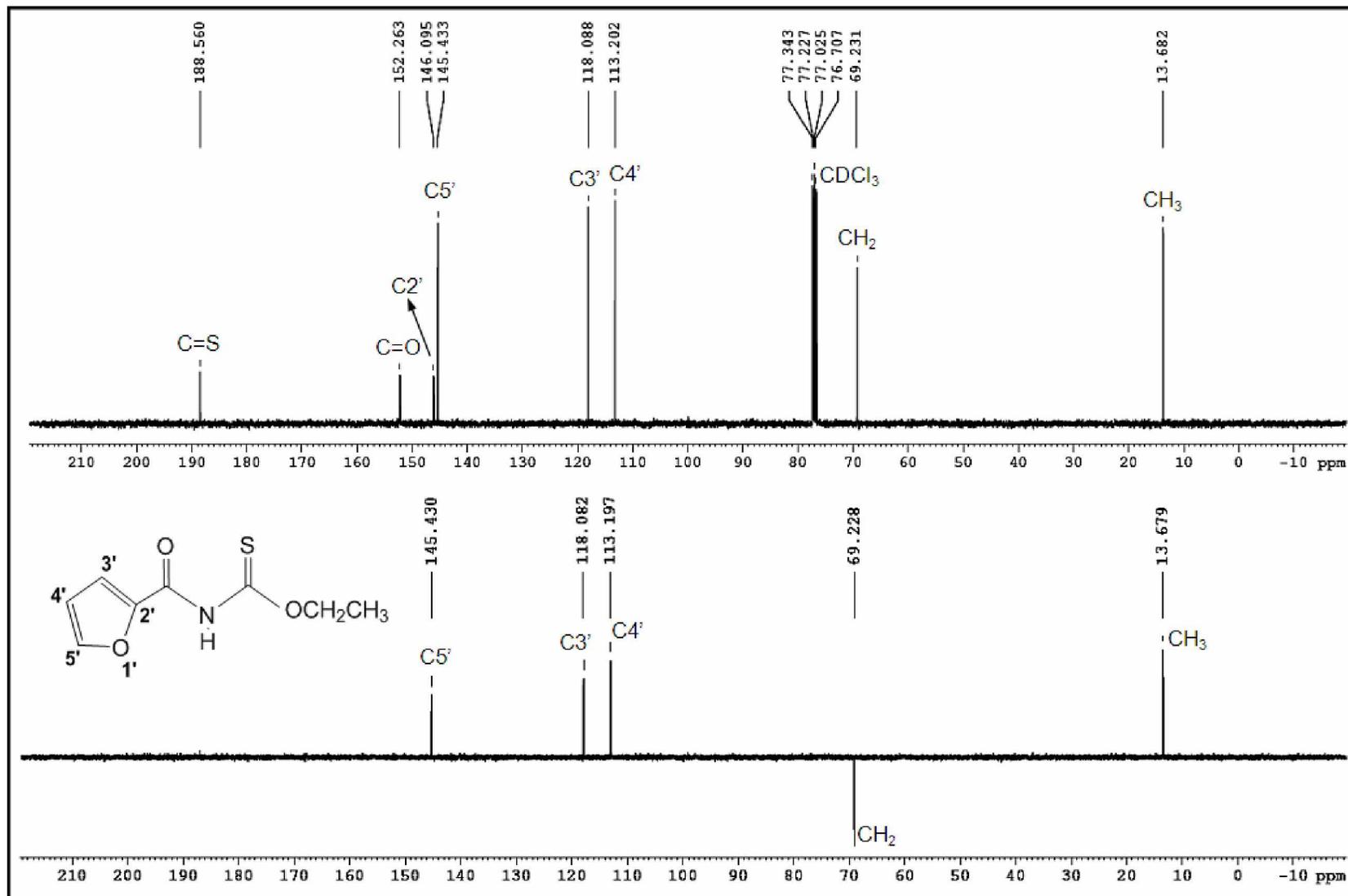


Figura 11. Espectro de HMBC del compuesto 32a.

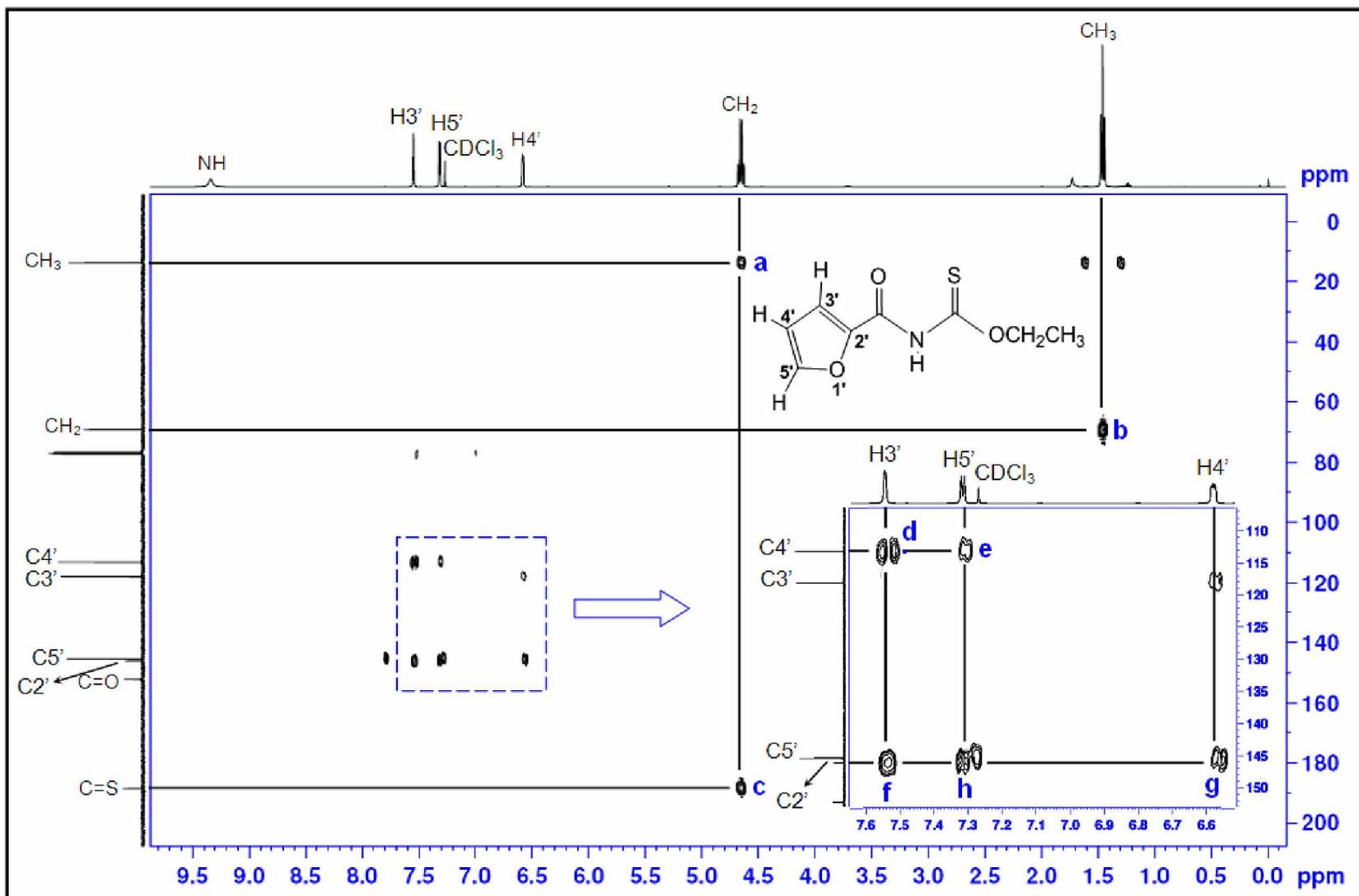
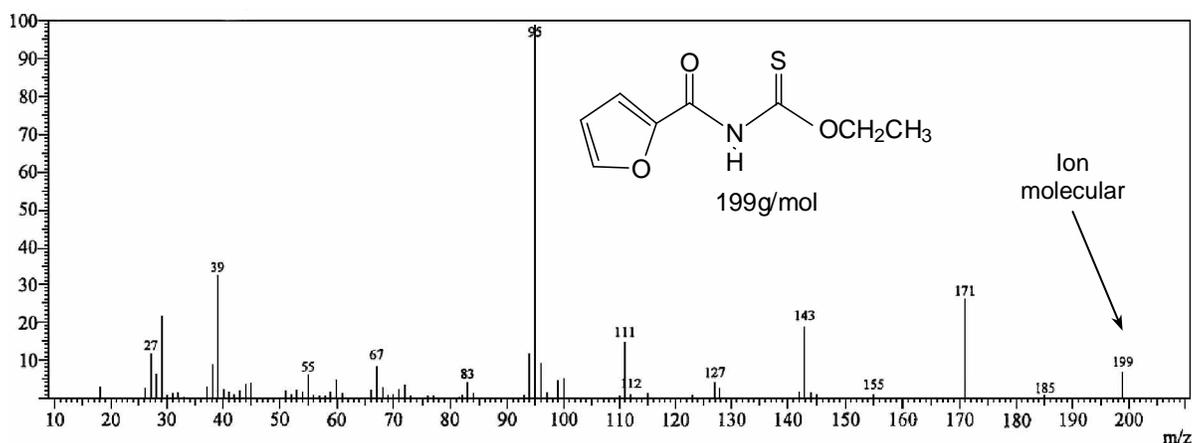


Tabla 6. Datos de RMN ^{13}C (δ ppm) de los compuestos 32a,b. CDCl_3 , 400 MHz (TMS-estándar interno).

32	X	Grupo Etoxilo		C=S	C=O	Anillo heteroaromático			
		CH ₃	CH ₂			C-2'	C-3'	C-4'	C-5'
a	O	13.7	69.2	188.6	152.3	146.1	118.1	113.2	145.4
b	S	13.7	69.5	189.0	156.4	137.5	133.4	128.1	130.2

En el espectro de masas del compuesto 32a (Figura 12) se observa el ion molecular con una relación de masa carga (m/z) = 199 que coincide con el peso molecular del compuesto.

Figura 12. Espectro de masas del compuesto 32a.

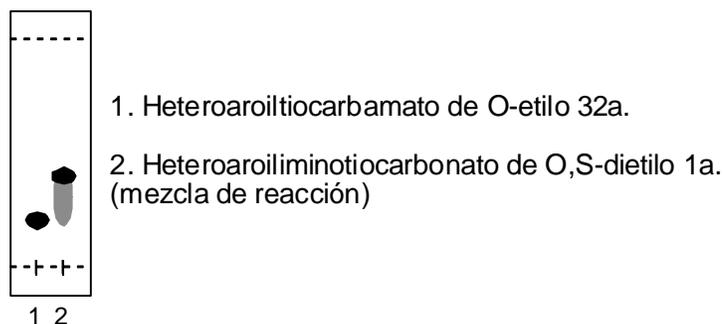


4.1.2 Etapa 2. Establecimiento de la metodología de obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b. La segunda etapa se logró siguiendo la etapa 2 de la metodología reportada por Checa y Lagos² y por Castro y Sánchez³ para la obtención de los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo. Los materiales de partida para esta reacción fueron los heteroaroiltiocarbonatos de O-etilo 32a,b (Esquema 9).

Para la obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b se adicionó un exceso de hidruro de sodio al 60% (NaH, aprox. 1,2 equiv) a una solución del correspondiente heteroaroiltiocarbonato de O-etilo 32a,b en dimetilformamida (DMF). Para esta reacción se prefirió trabajar bajo atmósfera inerte, lo que garantizó que el NaH no se descomponga, logrando mayor pureza y rendimiento de los productos obtenidos. La mezcla de reacción se dejó en agitación constante a temperatura ambiente durante 45 minutos, luego se inyectó gota a gota bromuro de etilo (EtBr) y la mezcla se agitó por 3 horas. Se observó que a medida que transcurre el tiempo la reacción se torna de un color más pálido que el inicial lo cual indicó que la S-etilación esta funcionando. Cumplidas las 3

horas se tomó una CCD para realizar el seguimiento de la reacción, en esta se utilizó como fase móvil una mezcla de Hexano-AcOEt 8:2. Los resultados se muestran en la Figura 13.

Figura 13. CCD de la reacción de obtención de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.



Como se observa en la figura, la CCD indicó que a las 3 horas los heteroaroiltiocarbamatos de O-etilo 32a,b no habían reaccionado completamente para producir el carbonato de interés 1a,b, por lo tanto, fue necesario agregar nuevamente otro equivalente de bromuro de etilo y mantener la agitación magnética a temperatura ambiente durante una noche más (aproximadamente 15 horas), de lo contrario parte del precursor 32a,b no reaccionaba disminuyendo el rendimiento de la reacción.

Al igual que para los carbamatos 32a,b, los carbonatos 1a,b de interés se aislaron adicionando la mezcla de reacción sobre hielo triturado, los sólidos formados se filtraron y se secaron a temperatura ambiente durante uno o dos días. La CCD de estos, indicó que estaban puros y sin más tratamientos se emplearon en la obtención de las nuevas pirazolotriazinas.

En la Tabla 7, se muestran las principales características de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b obtenidos en la presente investigación. Cabe mencionar que estos compuestos tienen un olor penetrante y por ende se deben trabajar en una campana de extracción de gases.

Tabla 7. Propiedades físicas de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.

1	X	<i>p.f.</i> , °C	<i>Rend.</i> , %	<i>Color</i>	<i>Apariencia</i>	<i>Tiempo de reacción, h</i>
a	O	80-82	84	Blanco	Cristales	18
b	S	36-38	72	Crema	Cristales	18

La estructura de los compuestos 1a,b se confirmó mediante las técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear protónica (RMN ^1H) y de carbono trece (RMN ^{13}C) y por espectrometría de masas. Como ejemplo, se presenta la caracterización del compuesto 1a.

El espectro de RMN ^1H del carbonato 1a (Figura 14), en comparación con el mismo espectro para el compuesto 32a (Figura 8) presenta dos nuevas señales en la región alifática: un triplete que integra para tres protones a 1.30 ppm y un cuartete que integra para dos hidrógenos a 3.00 ppm, que corresponden a los protones de los grupos metilo y metileno del sustituyente tioetilo, con valores de desplazamiento químico menores a los del grupo etoxilo, lo cual se debe a la menor electronegatividad del azufre en comparación con la del oxígeno. Así mismo, ya no se observa la señal del protón del NH amídico, puesto que con la etilación se forma un nuevo enlace imínico.

Las señales de la región aromática del compuesto 1a, prácticamente son iguales a las de su precursor 32a.

Los datos de RMN ^1H de los compuestos 1a,b se reportan en la Tabla 8.

Figura 14. Espectro de RMN ^1H del compuesto 1a.

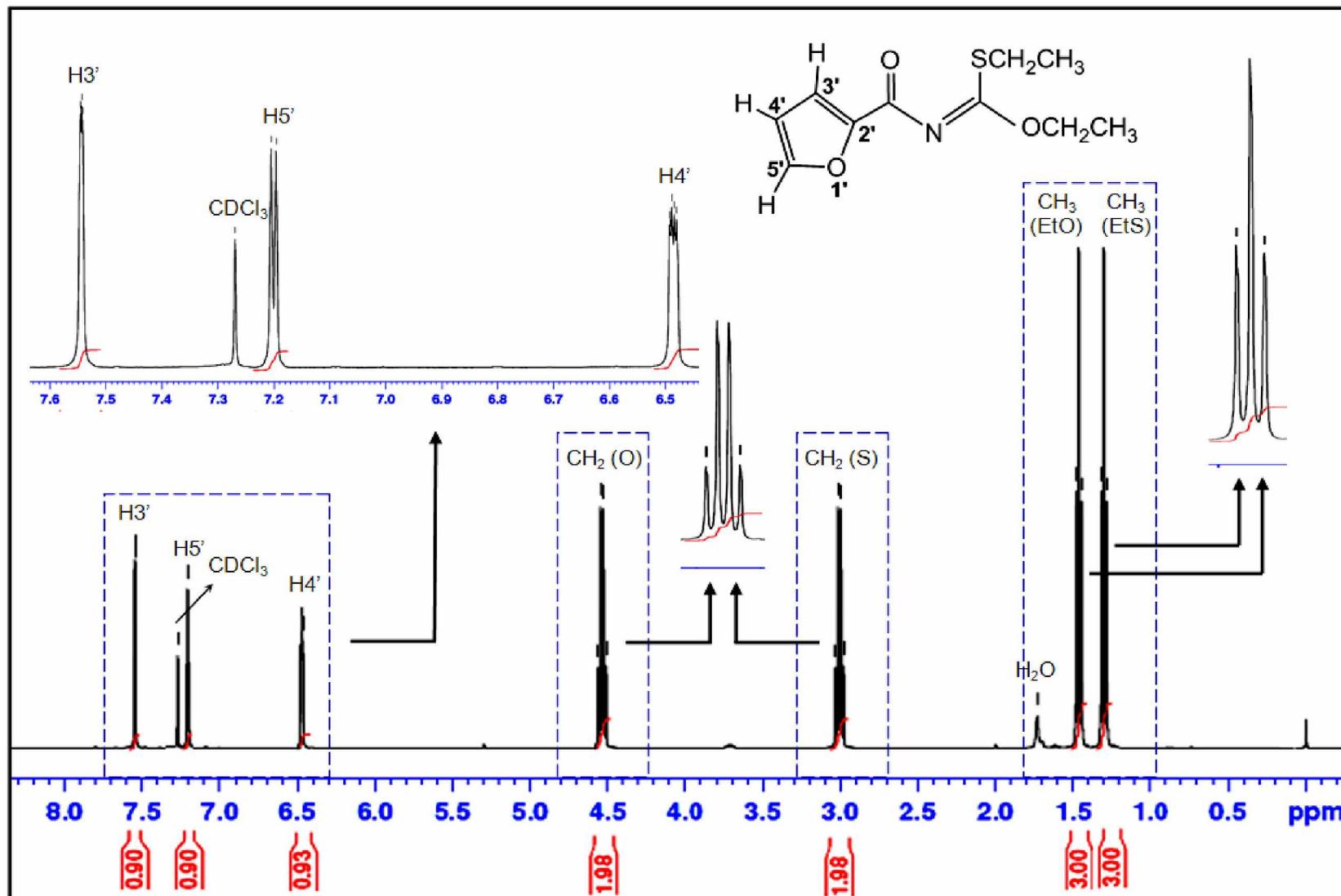


Figura 15. Numeración de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.

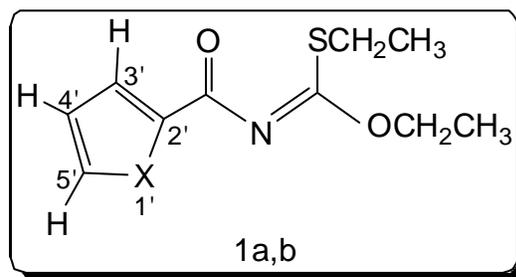


Tabla 8. Datos de RMN ^1H (δ ppm) de los compuestos 1a,b. CDCl_3 , 400 MHz (TMS-estándar interno).

1	X	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$		$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}-$		Anillo heteroaromático		
		CH_3 (t)	CH_2 (c)	CH_3 (t)	CH_2 (c)	H-3' (d)	H-4' (dd)	H-5' (d)
a	O	1.44	4.54	1.30	3.00	7.54 (t)	6.48	7.20
b	S	1.43	4.54	1.32	2.96	7.82	7.09 (t)	7.52

d (doblete), t (triplete), c (cuartete), dd (doble doblete).

Para el compuesto 1a, el espectro de RMN ^{13}C (Figura 16) presenta diez señales: cuatro en la región alifática que corresponden a los carbonos de los grupos metilo y metileno de los grupos tioetilo y etoxilo. Las señales del grupo etoxilo se encuentran a mayor desplazamiento químico que las del grupo tioetilo, debido a la mayor electronegatividad del oxígeno en comparación a la del azufre. Cuatro en la región aromática asignadas a los carbonos del anillo de 2-furilo: C-2' a 150.2 ppm, C-3' a 117.9 ppm, C-4' a 111.8 ppm y C-5' a 146.4 ppm y dos señales más a campo bajo, a 171.4 ppm y 166.4 ppm, correspondientes a los grupos carbonilo (C=O) e imino (C=N), respectivamente.

El espectro de RMN ^{13}C del compuesto 1b presentó señales similares a las analizadas para el 1a. Los datos se reportan en la Tabla 9.

Es importante mencionar que los desplazamientos químicos de los grupos metilo y metileno tanto del sustituyente tioetilo como del etoxilo en los espectros de RMN ^1H y ^{13}C de los precursores 1a,b, permiten predecir que la diferencia principal en los espectros que presentarán las pirazolotriazinas de interés 22a-f (con EtS-) y 23a-f (con EtO-), estará dado principalmente por los valores de desplazamiento químico de los grupos CH_3 y CH_2 , estos serán mucho mayores para los compuestos 23a-f con respecto a los 22a-f, debido, como ya se mencionó, al efecto inductivo del átomo de oxígeno que es superior al del azufre. Lo anterior se confirmará más adelante con la información espectroscópica de los productos finales.

Figura 16. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 1a.

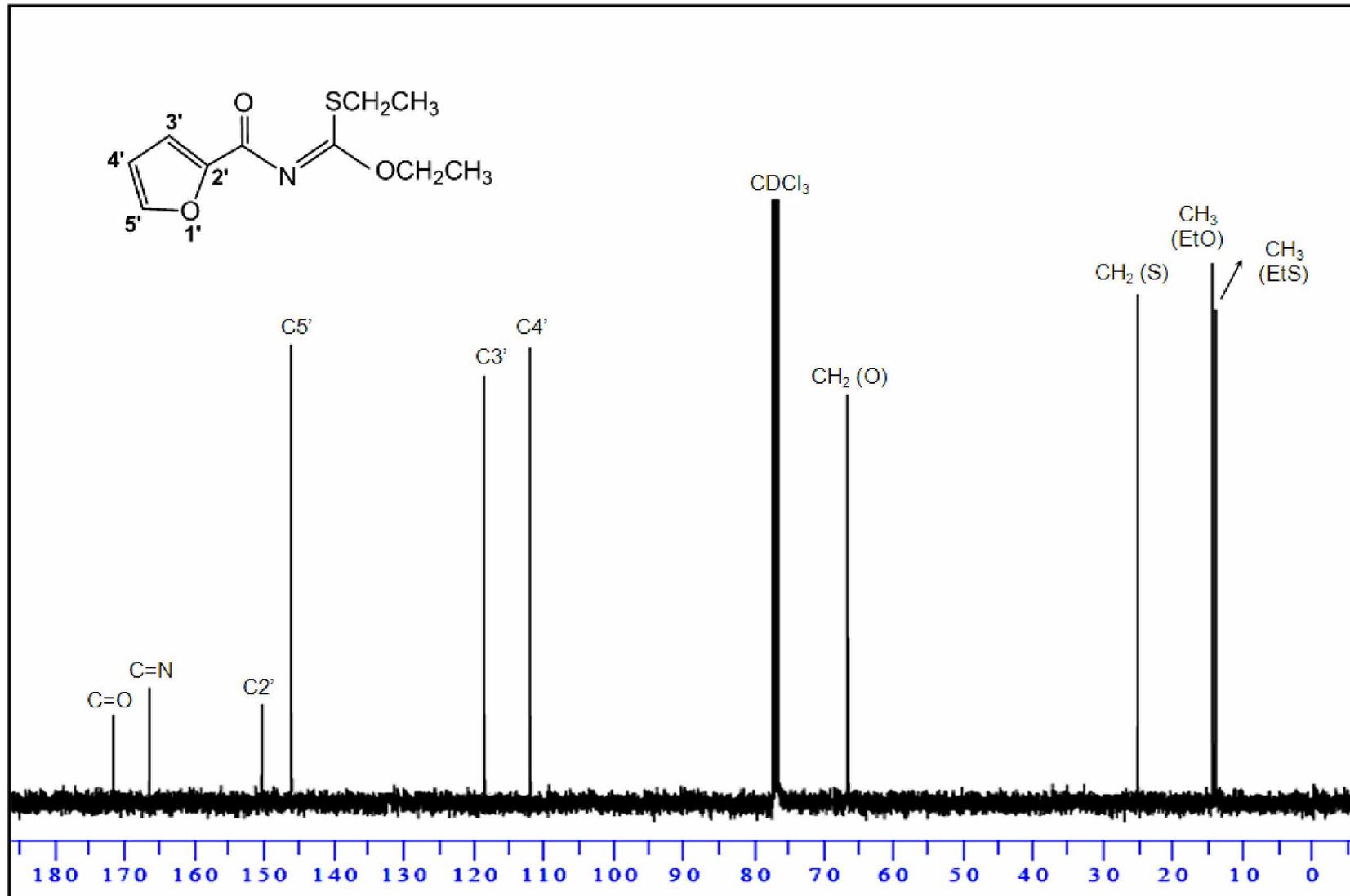
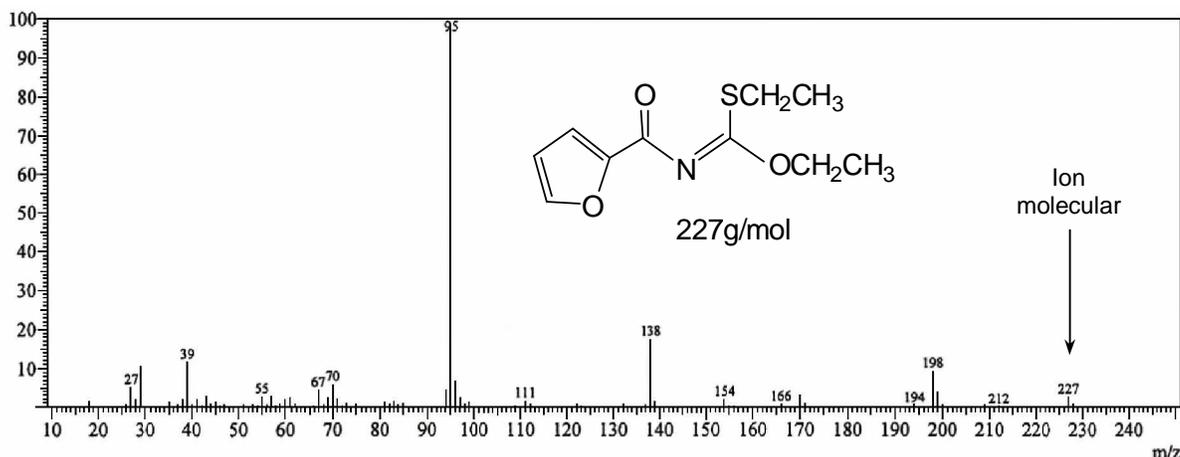


Tabla 9. Datos de RMN ^{13}C (δ ppm) de los compuestos 1a,b. CDCl_3 , 400 MHz (TMS-estándar interno).

1	X	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$		$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}-$		C=O	C=N	<i>Anillo heteroaromático</i>			
		CH_3	CH_2	CH_3	CH_2			C-2'	C-3'	C-4'	C-5'
a	O	14.5	66.5	14.0	25.3	171.4	166.4	150.2	117.9	111.8	146.4
b	S	14.4	66.6	14.0	25.2	171.9	170.1	141.5	132.7	127.9	132.5

En el espectro de masas del carbonato 1a (Figura 17) se observa el ion molecular con una relación de masa carga (m/z) = 227 que corresponde al peso molecular del compuesto.

Figura 17. Espectro de masas del compuesto 1a.



4.2 LOS 5-AMINO-3-ARIL-1H-PIRAZOLES

Debido a que estos precursores no se encuentran comercialmente disponibles, fue necesario prepararlos en el laboratorio reproduciendo la metodología reportada por Hartmann y Liebscher⁴⁻⁶. Esta metodología se aplicó sin modificaciones obteniendo similares resultados.

4.3 LAS NUEVAS PIRAZOLO[1,5-*a*]-1,3,5-TRIAZINAS

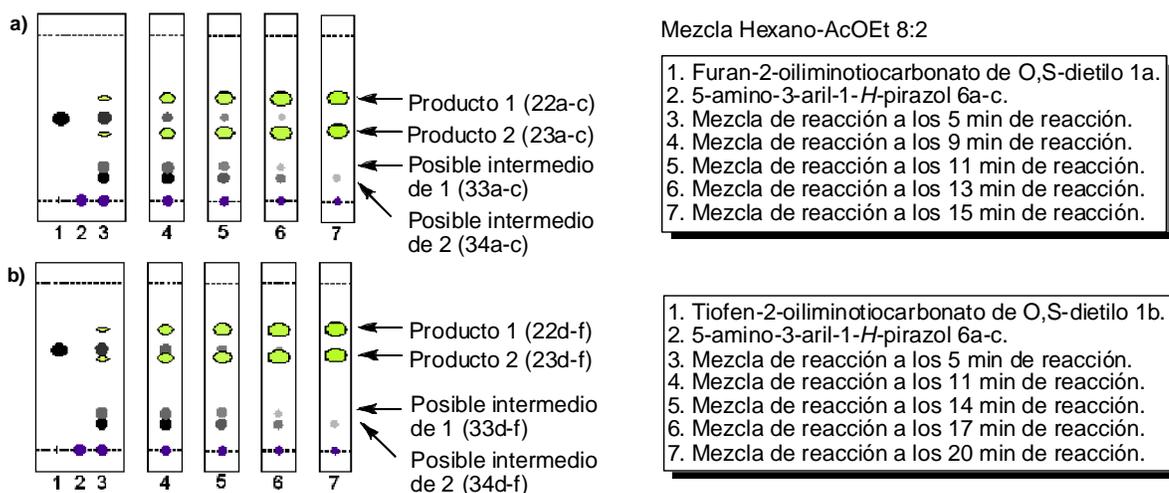
Hasta aquí, se han obtenido con éxito los dos precursores clave de esta investigación, los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b, además, se ha reproducido satisfactoriamente la metodología reportada por Hartmann y Liebscher⁴⁻⁶ para la obtención de los 5-amino-3-aril-1H-pirazoles 6a-c. La obtención de los productos finales, las pirazolotriazinas 22a-f y 23a-f (Esquema 8) se obtuvieron haciendo reaccionar cantidades equimolares de los materiales de partida correspondientes, bajo condiciones libre de disolvente, empleando la radiación de microondas como fuente de calentamiento.

Es importante mencionar que de los ocho regioisómeros posibles que podría producir esta reacción (Esquema 8), los productos 22a-f y 23a-f son los más probables de acuerdo a las reacciones estudiadas en la literatura.^{26,27,29} Con los estudios de regioselectividad que se realizarán más adelante, se corroborará que las dos estructuras de las pirazolotriazinas 22a-f y 23a-f, corresponden a los productos obtenidos en la presente investigación.

La estandarización del método de obtención de los productos de interés consistió en determinar el tiempo de reacción y la potencia del equipo más adecuados para promover la ciclación de los precursores a los productos objetivo.

4.3.1 Estandarización del método de obtención de las nuevas pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f. Inicialmente, se mezcló en un vial pequeño de vidrio pirex, un leve exceso del correspondiente 5-amino-3-*aril*-1-*H*-pirazol 6a-c con el respectivo heteroariliminotiocarbonato de O,S-dietilo 1a,b. Cada mezcla se homogenizó y se sometió a radiación de microondas. Para establecer la potencia del horno más adecuada se realizaron ensayos a potencias entre 140 y 1400 W, los cuales se controlaron por CCD. Los resultados obtenidos mostraron que la máxima potencia (1400 W) es la más adecuada y que a potencias menores los tiempos de reacción son más largos. Trabajando a la potencia máxima del equipo, se realizaron cada una de las seis reacciones a diferentes tiempos: 1 min., 2 min., 3 min., y así sucesivamente hasta que el control por CCD indicó el tiempo en el que termina la reacción (15-20 min, dependiendo del sustituyente). Las CCDs obtenidas se muestran en la Figura 18, en estas se empleó una mezcla hexano-AcOEt 8:2 como fase móvil.

Figura 18. CCDs de las reacciones entre los 5-amino-3-*aril*-1-*H*-pirazoles 6a-c y a) el furan-2-*oil*iminotiocarbonato de O,S-dietilo 1a. b) el tiofen-2-*oil*iminotiocarbonato de O,S-dietilo 1b, vía MW (1400 W).



Los resultados de la CCD plasmados en la Figura 18, muestran a nivel general el progreso de las seis reacciones de obtención de los productos finales. Desde los primeros minutos es fácil observar la formación de los productos nuevos, los cuales presentan luminiscencia bajo la luz ultravioleta de 365 nm. La CCD indicó la intensificación de las señales correspondientes a los productos a medida que transcurrían los minutos, y el consumo de los precursores, así como la aparición de dos señales de menor Rf, que luego desaparecen y que pueden corresponder a los posibles intermedios de reacción. La síntesis de pirazolotriazinas con 2-furilo como sustituyente tomó 15 minutos, mientras que con 2-tienilo tomó 20 minutos (el anillo de furano es más electroatrayente que el tiofeno y por lo tanto, intensifica la electrofilicidad del grupo carbonilo, acelerando un poco la reacción de ciclocondensación).

En las placas de la Figura 18, también se observó que, en todos los casos, a medida que transcurría el tiempo de reacción, la señal del producto "2" (23a-f) se volvía más intensa con respecto a la del producto "1" (22a-f). Esto concuerda con lo esperado porque el grupo EtS-, eliminado en forma de etanotiol, es mejor grupo saliente que el EtO-, eliminado en forma de etanol.

Al cumplirse el tiempo de reacción, la mezcla de reacción se retiró del horno microondas y se dejó solidificar a temperatura ambiente. Cada reacción produjo dos nuevas pirazolotriazinas que fueron separadas satisfactoriamente por cromatografía de columna, empleando sílica gel como fase estacionaria y mezclas apropiadas de hexano-acetato de etilo como fase móvil. Los compuestos 22 eluyen de la columna en primer lugar y los compuestos 23 en segundo lugar. Una vez separados se rotaevaporó el disolvente a sequedad y se comprobó la pureza de los productos individuales por CCD.

En la Tabla 10, se muestran las principales características de las pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f obtenidas en la presente investigación.

Tabla 10. Características físicas de los productos 22a-f y 23a-f obtenidos vía MW (1400 W).

<i>Productos</i> 22,23*	<i>Het</i>	<i>Ar</i>	<i>Tiempo.,</i> <i>min.</i>	<i>p.f., °C</i>		<i>Rend., %</i>	
				22	23	22	23
a	2-furilo	4-ClC ₆ H ₄	15	212	204	12	52
b	2-furilo	C ₆ H ₅	15	144	140	14	60
c	2-furilo	4-CH ₃ C ₆ H ₄	15	158	148	15	63
d	2-tienilo	4-ClC ₆ H ₄	20	146	190	13	54
e	2-tienilo	C ₆ H ₅	20	112	108	15	62
f	2-tienilo	4-CH ₃ C ₆ H ₄	20	110	139	16	64

* Los productos 22 son Amarillo-verdosos y los productos 23 son amarillos.

Una vez separadas las pirazolotriazinas resultantes de cada reacción, se procedió a la caracterización, la cual se hizo con ayuda de las técnicas espectroscópicas RMN ^1H y ^{13}C mono y bidimensional (DEPT-135, HSQC, HMBC y NOESY), y por espectrometría de masas. Estos análisis, fueron tomados en el laboratorio de espectroscopia y espectrometría de la Universidad del Valle-Cali y se describirán en la siguiente sección.

4.3.2 Caracterización de las nuevas pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas y evaluación de la regioselectividad de la reacción. Dadas las diferentes posibilidades de interacción entre los centros electrofílicos de los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b con los tres centros nucleofílicos de los 5-amino-3-*aril*-1*H*-pirazoles 6a-c, la reacción general podría producir ocho regioisómeros (Esquema 8). Sin embargo, este tipo de reacciones son *regioselectivas*, es decir, dan una sola clase de sistema de los dos posibles, hecho que se atribuye a la capacidad de los centros reactivos de los precursores de actuar selectivamente para dar un solo tipo de productos. Con base en la información espectroscópica se pudo establecer que los productos obtenidos pertenecen al sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico 22a-f y 23a-f y no a los productos posibles (24 y 25), incluyendo al sistema pirazolo[3,4-*d*]pirimidínico (26-29) (Esquema 8), demostrando así que, bajo las condiciones trabajadas en el laboratorio, la reacción involucra la interacción selectiva del grupo amino (NH_2) y el grupo amino endocíclico (NH) del pirazol, con el carbono de la porción iminoéster y el carbono carbonílico de los compuestos 1a,b, como se representará más adelante en el Esquema 10.

Para demostrar como se llegó a la conclusión anterior, se describirá el análisis espectroscópico del compuesto 22a y adicionalmente, se incluirán los espectros de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto 23a, con el fin de mostrar la similitud de los espectros de los dos productos finales de cada reacción.

Las señales que presenta el espectro de RMN ^1H del compuesto 22a (Figura 19) son: un triplete a 1.48 ppm que integra para tres protones y un cuartete a 3.25 ppm que integra para dos protones, señales asignadas al grupo metilo y metileno del sustituyente tioetilo. A campo bajo se observa un singulete a 6.70 ppm que integra para un hidrógeno, esta señal es típica del hidrógeno aromático en posición 8 (H-8) del anillo pirazólico, la presencia de esta señal confirma que la estructura de los compuestos obtenidos presenta el sistema pirazolotriazínico, y por ende, se descarta la formación del sistema pirazolopirimidínico. Adicionalmente, la formación de este segundo sistema implicaría la presencia de un singulete entre 10 y 12 ppm en el espectro RMN ^1H , correspondiente al NH en posición 1 del sistema pirazolopirimidínico, señal que no aparece en el espectro.

En la expansión de las señales aromáticas (Figura 20) se observan cinco señales esperadas para los dos anillos aromáticos sobre los carbonos 4 y 7 del sistema. Para el *p*-clorofenilo se observan claramente dos dobletes a 7.96 y 7.47 ppm, cada

uno de los cuales integra para dos protones, correspondientes a los hidrógenos de las posiciones *orto* y *meta* (Ho y Hm), respectivamente. Estos dobletes exhiben el “efecto techo” característico de un sistema *para*-sustituido.

Para el 2-furilo, se observan un doblete a 8.53 ppm, un singulete ancho a 7.86 ppm y un doble doblete a 6.77 ppm. Con base en la multiplicidad de cada señal, se pudo inferir fácilmente que la señal a 6.77 ppm corresponde al protón H-4’.

Los protones H-3’ y H-5’ del anillo heterocíclico, así como los Ho y Hm del *p*-clorofenilo, se asignaron correctamente con ayuda del espectro HMBC. En este espectro se observó la correlación única del carbono en posición 4 (C-4) a tres enlaces (3J) con el protón H-3’ (el C-4 también fue identificado por esta correlación). Por lo tanto, el doblete a 8.53 ppm correspondió al H-3’, y por ende, el singulete a 7.86 ppm correspondió al H-5’ del heterociclo. De igual manera, para la identificación de los protones del anillo aromático, se observó que los Ho presentan una correlación a tres enlaces (3J) con el carbono en posición 7 (identificado por su correlación adicional a dos enlaces con el H-8 del pirazol). Así, se concluyó que el doblete a 7.96 ppm corresponde a los Ho, y por lo tanto, el otro doblete a 7.47 ppm se asignó a los Hm del anillo aromático. La contribución completa de la técnica HMBC se describirá más adelante (Figura 25).

Los espectros RMN 1H de cada pareja de pirazolotriazinas obtenidas en esta investigación (22b-f y 23a-f), presentaron características similares, con excepción de la señal del grupo metileno, la cual aparece alrededor de 3.25 ppm en los productos 22 y alrededor de 4.52 ppm en los productos 23, esto se presenta por la mayor electronegatividad del oxígeno en el sustituyente etoxilo en comparación a la del azufre del grupo tioetilo. Para evidenciar esta diferencia se ha incluido el espectro RMN 1H del compuesto 23a (Figura 21). Los datos de RMN 1H de la serie completa de productos finales, se resume en la Tabla 11.

Figura 19. Espectro de RMN ^1H del compuesto 22a.

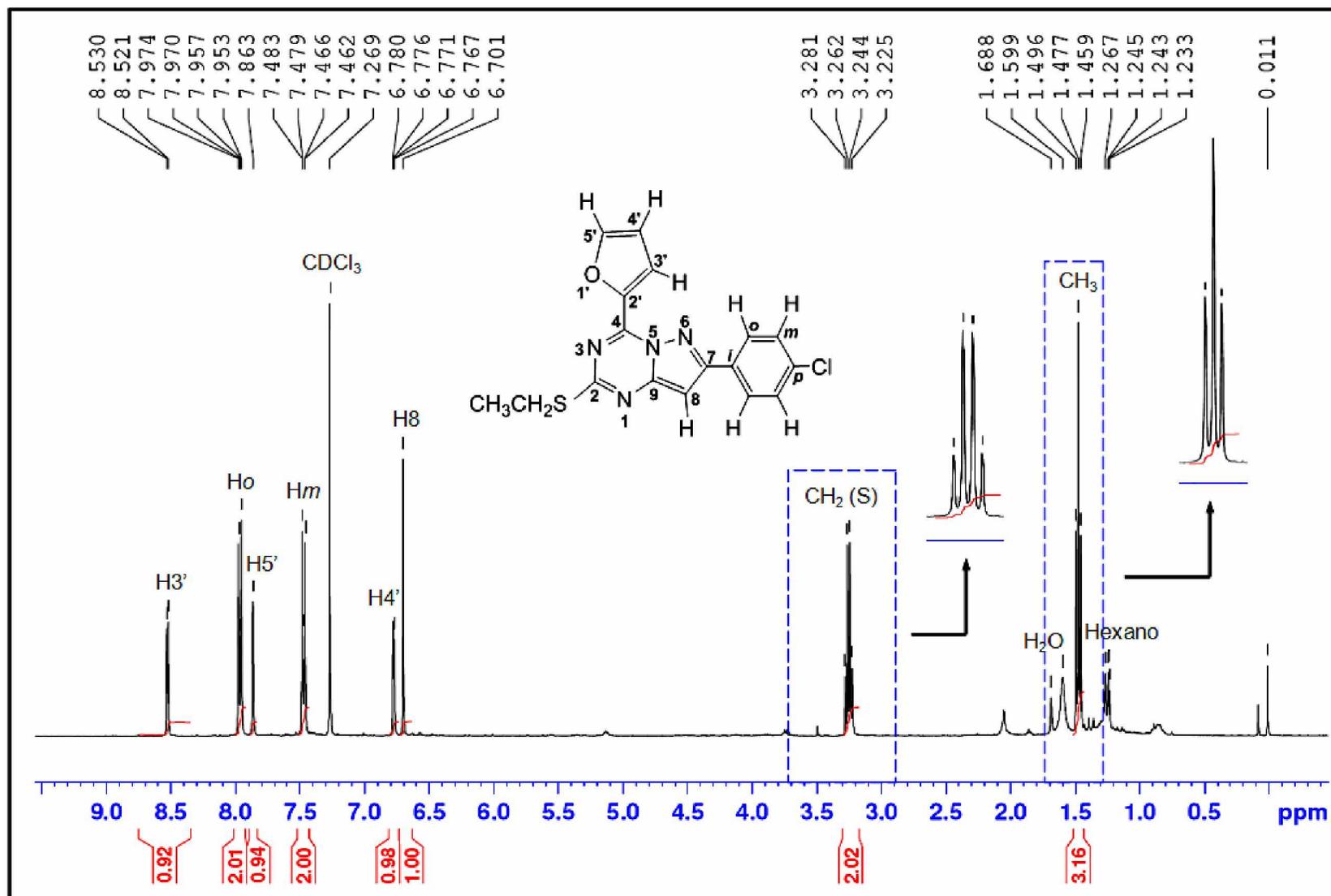


Figura 20. Espectro de RMN ^1H del compuesto 22a. Expansión de las señales aromáticas.

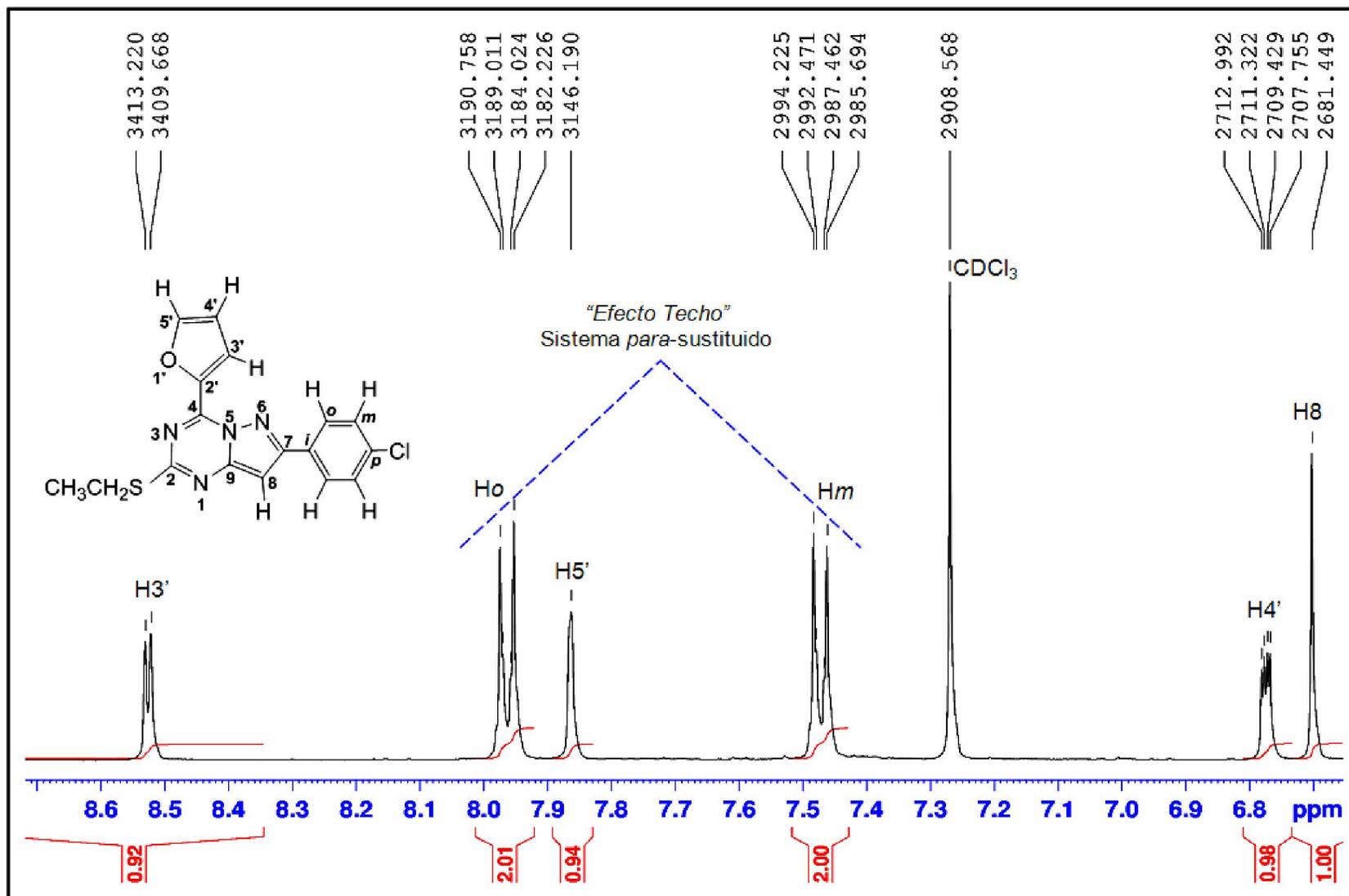


Figura 21. Espectro de RMN ^1H del compuesto 23a.

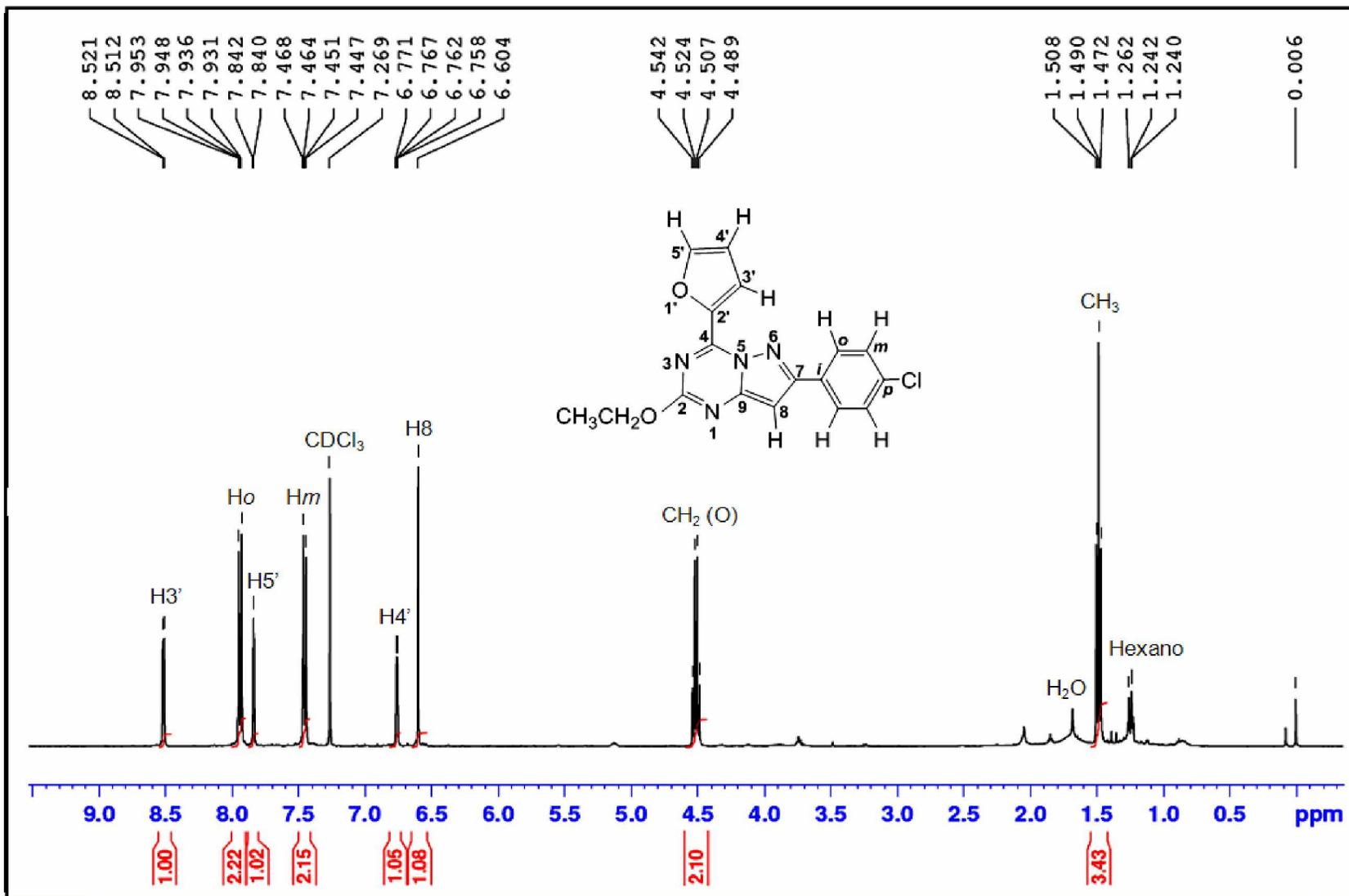


Figura 22. Numeración de los productos objetivo 22a-f y 23a-f.

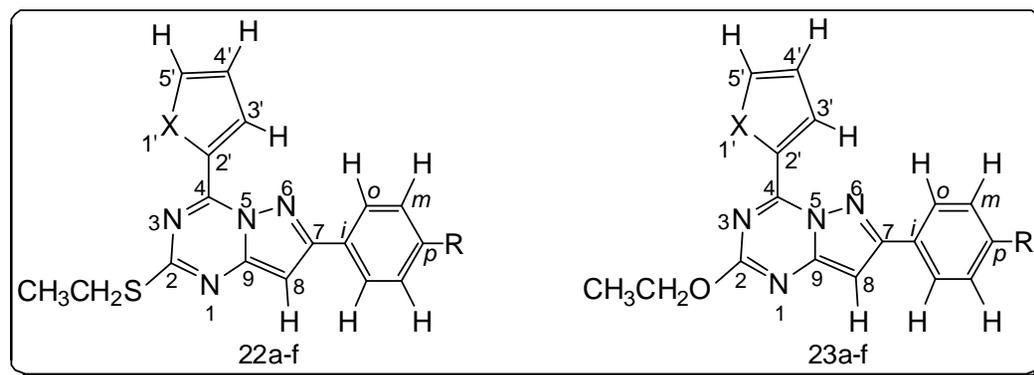


Tabla 11. Datos de RMN ^1H (δ ppm) de los compuestos 22a-f y 23a-f. CDCl_3 , 400 MHz (TMS-estándar interno).

Comp.	X	R	Grupo etilo		H-8 (s)	Anillo heteroaromático			Anillo aromático			
			CH_3 (t)	CH_2 (c)		H-3' (d)	H-4' (dd)	H-5' (d)	Ho (d)	Hm	Hp (t)	CH_3^* (s)
22a	O	Cl	1.48	3.25	6.70	8.53	6.77	7.86 (s an.)	7.96	7.47	---	---
22b	O	H	1.48	3.25	6.74	8.57	6.77	7.86 (s an.)	8.00	7.52-7.46 (m)		---
22c	O	CH_3	1.48	3.24	6.71	8.57	6.77	7.85 (s an.)	7.93	7.30	---	2.44
22d	S	Cl	1.49	3.25	6.69	8.94	7.32 (t)	7.86	7.99	7.48	---	---
22e	S	H	1.49	3.26	6.72	8.96	7.32 (t)	7.84	8.07	7.54-7.44 (m)		---
22f	S	CH_3	1.51	3.26	6.69	8.96	7.33-7.30 (m)	7.84	7.96	7.33-7.30 (m)		2.43
23a	O	Cl	1.49	4.51	6.60	8.52	6.76	7.84	7.94	7.46	---	---
23b	O	H	1.50	4.53	6.66	8.58	6.77	7.84 (dd)	8.04	7.52-7.45 (m)		---
23c	O	CH_3	1.49	4.51	6.62	8.56	6.76	7.83	7.91	7.29	---	2.43
23d	S	Cl	1.51	4.53	6.60	8.96	7.32 (t)	7.86	7.98	7.46	---	---
23e	S	H	1.51	4.52	6.64	8.98	7.31 (t)	7.84	8.05	7.51-7.44 (m)		---
23f	S	CH_3	1.51	4.52	6.60	8.97	7.31-7.27 (m)	7.84	7.93	7.31-127 (m)		2.43

*Grupo metilo del anillo aromático sobre C-7.

s (singulete), s an. (singulete ancho), d (doblete), t (triplete), c (cuartete), dd (doble doblete), m (multiplete).

El espectro de RMN ^{13}C del compuesto 22a (Figura 23) presenta 15 señales: dos en la región alifática correspondientes a los grupos metilo (CH_3) y metileno (CH_2) del sustituyente tioetilo, seis señales para los metinos aromáticos (C-3', C-4', C-5' del heterociclo; Co y Cm del anillo aromático y el C-8 del anillo pirazólico) y siete señales de los carbonos cuaternarios (C-2, C-4, C-7, C-9 del sistema pirazolotriazínico; C-2' del heterociclo, y Ci y Cp del *p*-clorofenilo). Con este espectro se pudo asignar sin problema las señales de la región alifática (CH_2 y CH_3).

El espectro DEPT-135 (Figura 23) presenta en la región alifática las señales de los grupos metilo y metileno, este último en fase inversa. En la fase positiva de la región aromática, aparecen 6 señales de los grupos metinos (CH), y aunque hasta aquí no han sido asignadas de manera específica, se sabe que tres de ellas pertenecen a los carbonos del heterociclo, dos a los del *p*-clorofenilo y aparece una señal adicional del CH en posición 8 del anillo pirazólico, corroborando una vez más que el sistema formado es el pirazolotriazínico y no el pirazolopirimidínico, el cual implicaría la aparición de 5 señales de los grupos metino en el espectro DEPT-135 y un carbono cuaternario más en el espectro de RMN ^{13}C .

Puesto que el experimento HSQC (Figura 24) permite correlacionar los carbonos con sus hidrógenos en forma directa, fácilmente se confirmó la asignación realizada en RMN ^1H y ^{13}C para los grupos metilo y metileno, así mismo se evidenció la correlación del hidrógeno con su carbono en posición 8. La previa identificación de las señales en el espectro de RMN ^1H permitió la asignación de las señales de los seis metinos aromáticos (C-3', C-4', C-5', Co y Cm) como se muestra en la expansión de la Figura 24.

Mediante la técnica bidimensional HMBC (Figura 25), que permite correlacionar carbonos con hidrógenos que estén a dos y tres enlaces respecto a él (2J y 3J), se realizó la asignación de las siete señales de los carbonos cuaternarios restantes.

El carbono dos (C-2) se asignó porque presenta una correlación a tres enlaces (3J) con los hidrógenos del grupo metileno del fragmento tioetilo (pico cruzado a), de igual manera, el carbono cuatro (C-4) se asignó porque es el único que presenta una interacción a tres enlaces (3J) con el protón H-3' del heterociclo (pico cruzado b).

La asignación del carbono siete (C-7) se realizó por sus dos correlaciones: la primera a dos enlaces (2J) con el protón en posición ocho (H-8) del anillo pirazólico (pico cruzado c), y la segunda, a tres enlaces (3J) con los hidrógenos *orto* (Ho) del anillo *p*-clorofenílico (pico cruzado d). El carbono nueve (C-9) se identificó fácilmente por su correlación a dos enlaces (2J) con el H-8 del anillo pirazólico (pico cruzado e). La asignación del carbono 2' (C-2') del heterociclo se realizó porque presenta dos de las tres correlaciones esperadas, la primera a dos enlaces

(²J) con el protón H-3' (pico cruzado f), y la segunda, a tres enlaces (³J) con el protón H-5' (pico cruzado g).

Finalmente, los carbonos *ipso* (Ci) y *para* (Cp) del anillo *p*-clorofenílico, se asignaron comparando los desplazamientos químicos de esta clase de carbonos con los respectivos carbonos de otros productos sintetizados previamente en el GICH-UN, que tienen los mismos sustituyentes aromáticos sobre el carbono C-7.²⁹

Los espectros RMN ¹³C de cada pareja de pirazolotriazinas obtenidas en esta investigación (22b-f y 23a-f), presentaron características similares, con excepción de la señal del grupo metileno, la cual aparece alrededor de 25.6 ppm en los compuestos 22 y alrededor de 64.1 ppm en los compuestos 23, debido a la presencia de los grupos tioetilo y etoxilo, respectivamente. Para evidenciar esta diferencia se ha incluido el espectro RMN ¹³C del compuesto 23a (Figura 26). Los datos de RMN ¹³C de todas las pirazolotriazinas obtenidas, se resumen en la Tabla 12.

Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 del compuesto 22a.

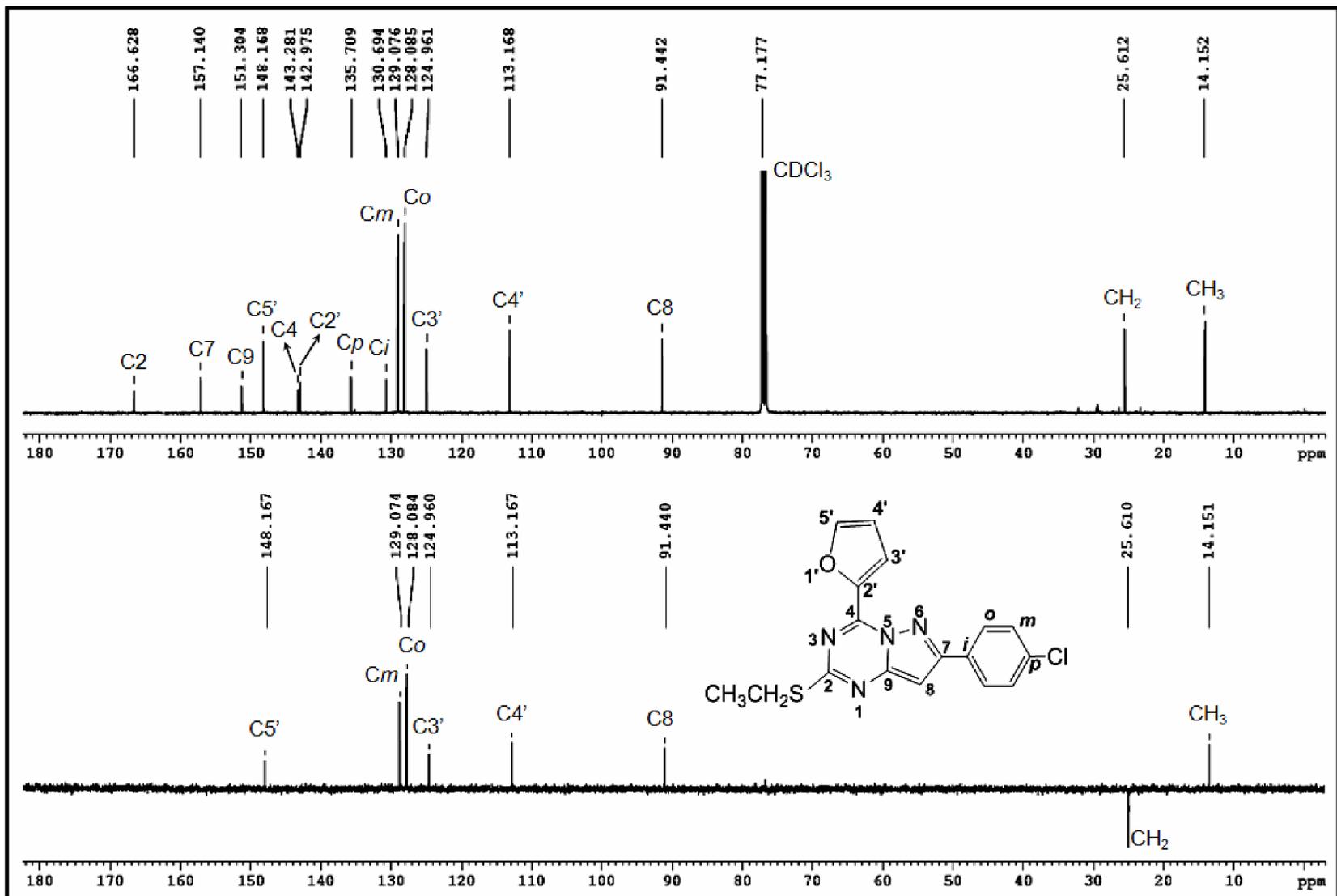


Figura 24. Espectro de HSQC del compuesto 22a.

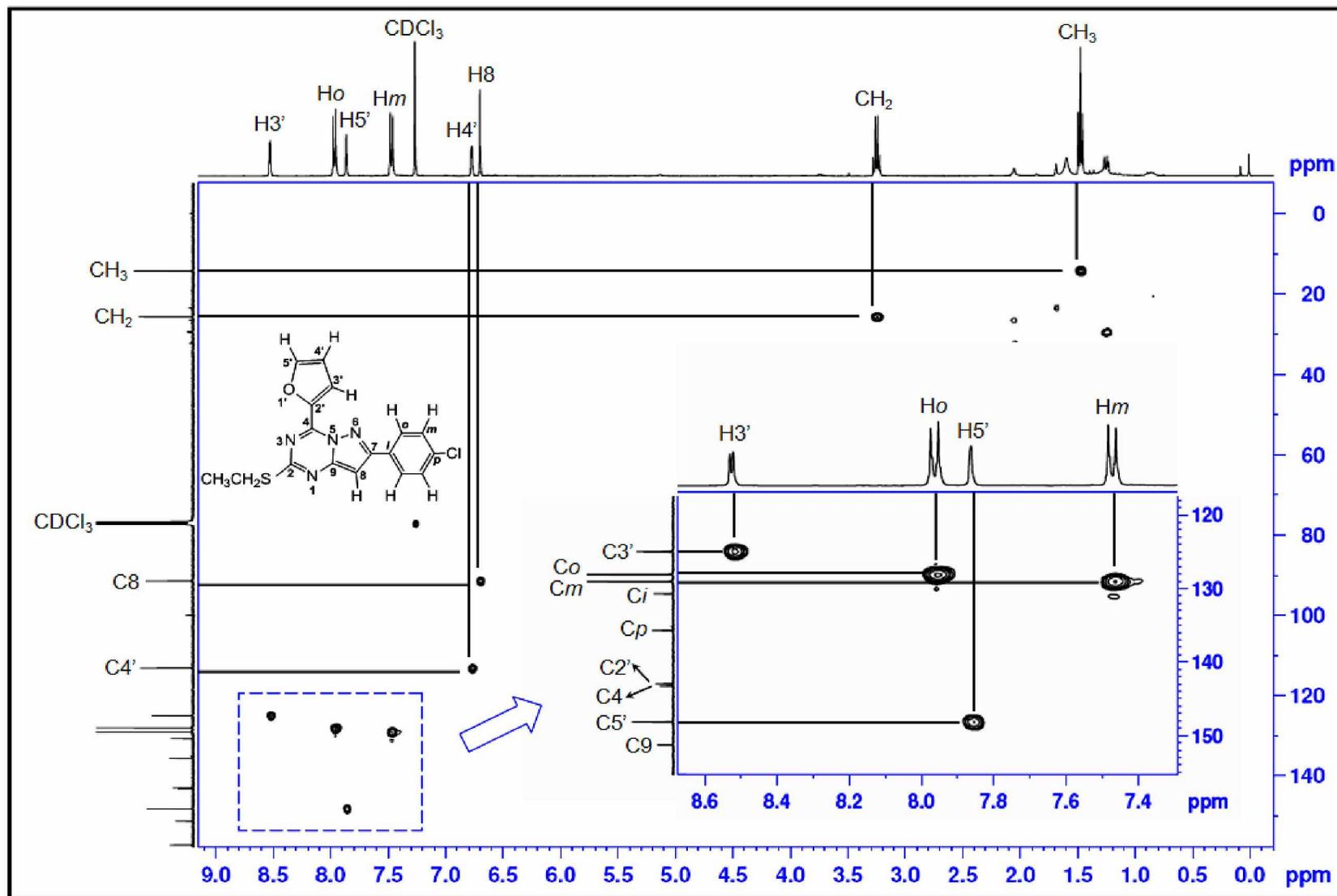


Figura 25. Espectro de HMBC del compuesto 22a.

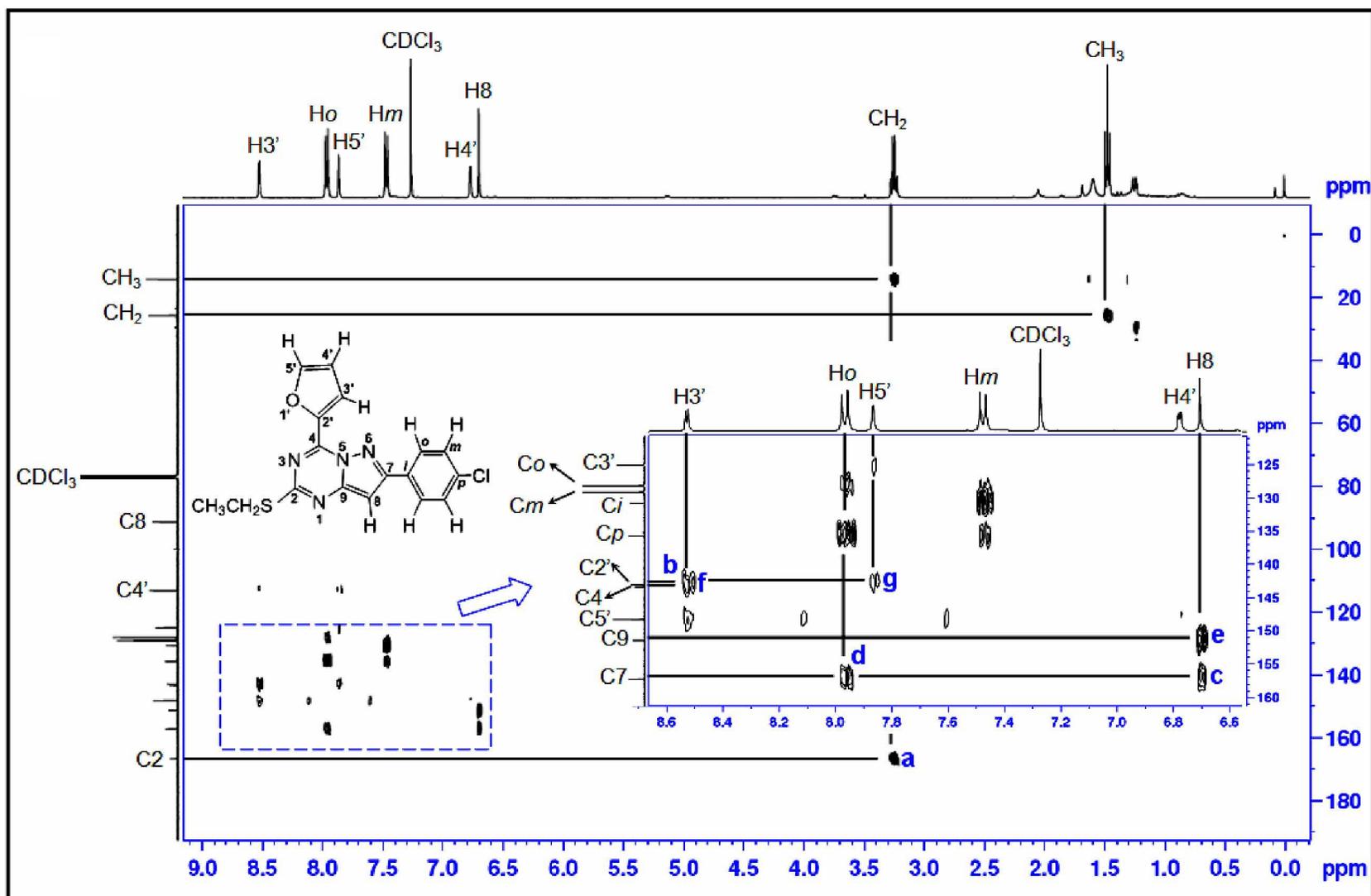


Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 23a.

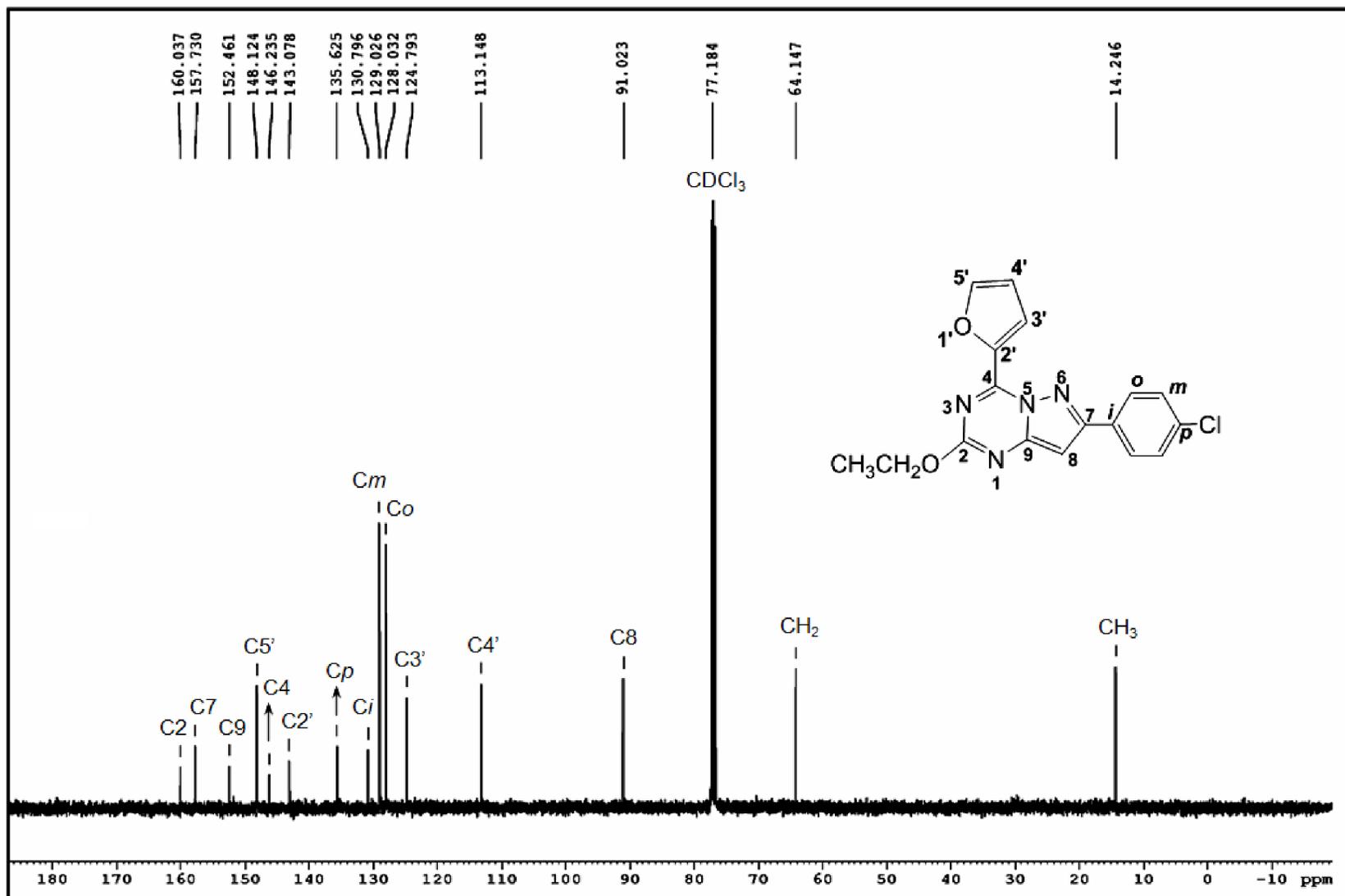


Tabla 12. Datos de RMN ^{13}C (δ ppm) de los compuestos 22a-f y 23a-f. CDCl_3 , 400 MHz (TMS-estándar interno).

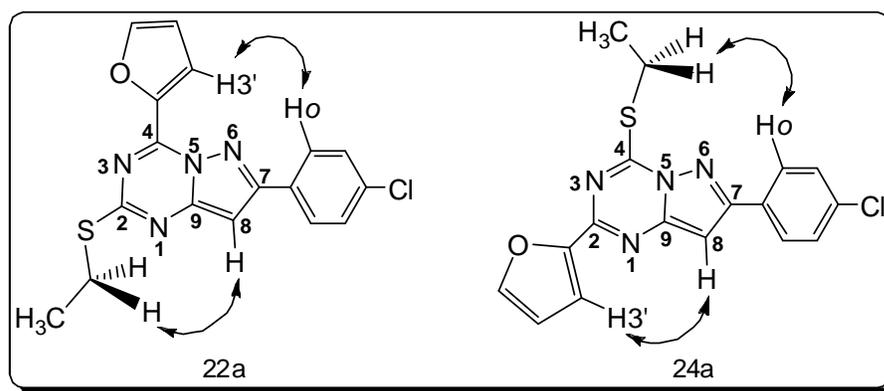
Compuesto		22a	22b	22c	22d	22e	22f	23a	23b	23c	23d	23e	23f
X		O	O	O	S	S	S	O	O	O	S	S	S
R		Cl	H	CH_3									
Grupo etilo	CH_3	14.2	14.2	14.2	14.4	14.4	14.4	14.2	14.3	14.3	14.3	14.4	14.4
	CH_2	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	25.6	64.1	64.1	64.0	64.2	64.1	64.1
Sistema pirazolotriazinico	C-2	166.6	166.4	166.2	166.5	166.2	166.1	160.0	160.0	160.0	160.1	160.0	160.0
	C-4	143.3	143.3	143.3	147.6	147.6	147.5	146.2	146.3	146.2	150.6	150.6	150.5
	C-7	157.1	158.3	158.5	157.1	158.3	158.4	157.7	159.0	159.0	157.6	158.8	158.8
	C-8	91.4	91.5	91.3	91.1	91.2	91.0	91.0	91.1	90.9	90.8	90.9	90.7
	C-9	151.3	151.2	151.2	151.6	151.5	151.4	152.5	152.3	152.3	152.6	152.5	152.4
Anillo heteroaromático	C-2'	143.0	143.1	143.1	132.1	132.3	132.3	143.1	143.2	143.2	131.9	132.1	132.1
	C-3'	125.0	125.0	124.9	137.0	137.0	136.9	124.8	124.8	124.7	137.0	137.0	137.0
	C-4'	113.2	113.1	113.1	128.3	128.3	128.3	113.1	113.1	113.1	128.3	128.2	128.2
	C-5'	148.2	148.1	148.0	136.0	135.9	135.8	148.1	148.0	148.0	136.2	136.0	135.9
Anillo aromático	<i>Ci</i>	130.7	132.2	129.4	130.7	132.2	129.4	130.8	132.3	129.5	130.8	132.2	129.4
	<i>Co</i>	128.1	126.9	126.8	128.1	126.9	126.8	128.0	126.8	126.7	128.1	126.9	126.8
	<i>Cm</i>	129.1	128.8	129.5	129.1	128.8	129.5	129.0	128.8	129.5	129.0	128.8	129.5
	<i>Cp</i>	135.7	129.7	139.9	135.7	129.7	139.8	135.6	129.6	139.8	135.6	129.6	139.8
	CH_3^*	---	---	21.4	---	---	21.4	---	---	21.4	---	---	21.4

*Grupo metilo del anillo aromático sobre C-7.

La contribución de las técnicas hasta aquí descritas, permitió establecer que los dos productos finales de cada reacción presentan el sistema pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazínico, sin embargo, se debía conocer si la estructura de estos dos productos corresponde a las pirazolotriazinas 22a-f y 23a-f (Esquema 8) o a sus correspondientes regioisómeros 24a-f y 25a-f, cuya diferencia radica en la posición que ocupan en la molécula el sustituyente tioetilo (ó etoxilo) y el heterociclo, los cuales pueden encontrarse en los carbonos C-2 y C-4 de dos formas diferentes como se muestra en la Figura 27. Con este fin, los productos obtenidos también fueron caracterizados con el experimento NOESY, que permite evidenciar la correlación entre hidrógenos espacialmente cercanos.

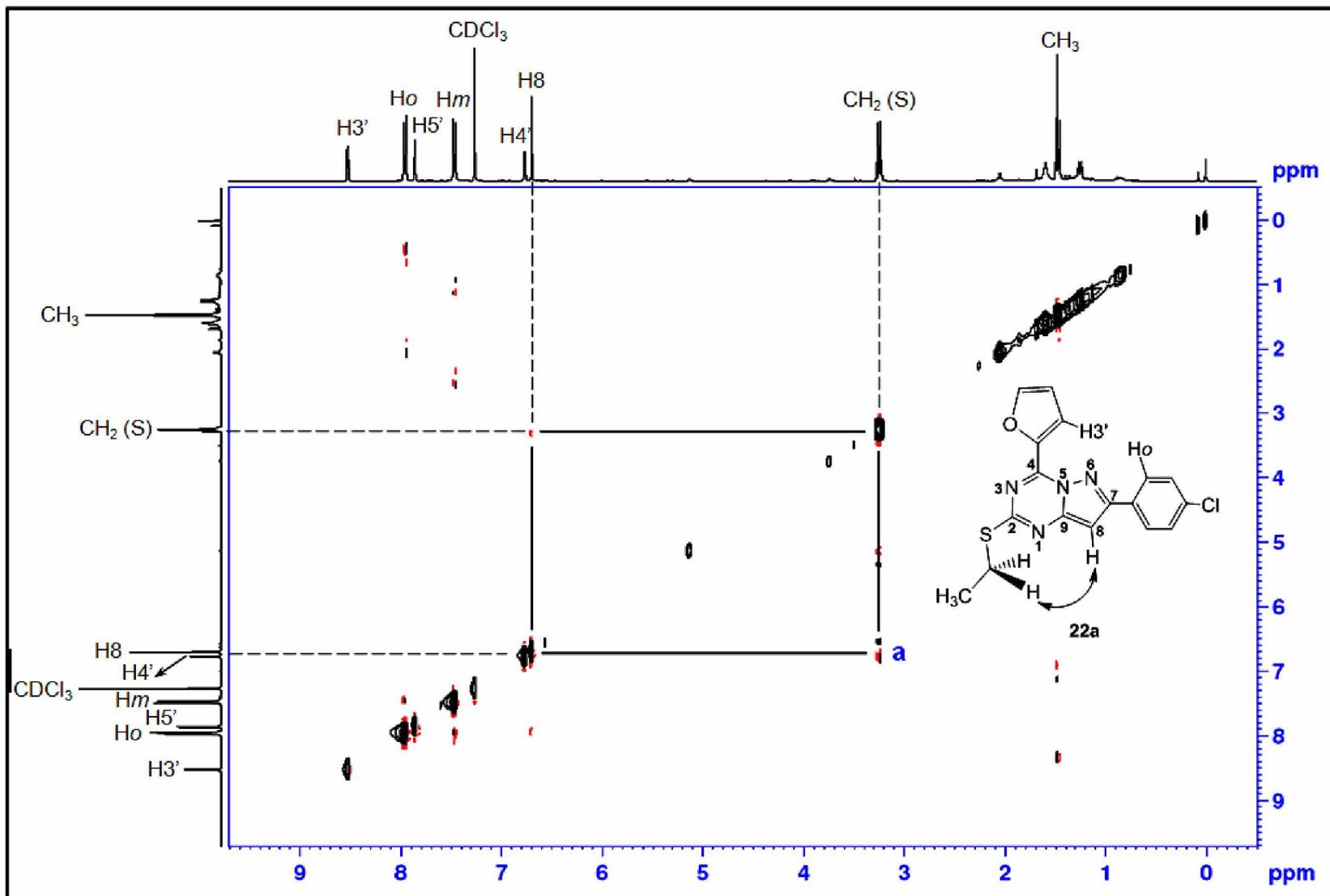
En el espectro NOESY se esperaban dos correlaciones para el compuesto 22a y dos diferentes para su regioisómero 24a (Figura 27). La correlación del protón H-3' del heterociclo puede darse con el protón *orto* (Ho) del *p*-clorofenilo (compuesto 22a) o con el protón en posición 8 (H-8) del anillo pirazólico (compuesto 24a), así mismo, la correlación entre los protones del metileno del sustituyente tioetilo puede darse con el H-8 del sistema, o con el Ho del fenilo aromático.

Figura 27. Correlaciones esperadas para el compuesto 22a y para su regioisómero 24a.



El espectro NOESY (Figura 28) presentó el pico cruzado a que correlaciona el protón H-8 y los protones del CH₂ del grupo tioetilo, que permitió concluir que el sustituyente tioetilo está sobre el carbono C-2 y que en consecuencia, el fragmento heterocíclico se encuentra sobre el carbono 4, demostrando la formación del compuesto 22a. Cabe resaltar que, la correlación observada por esta técnica y toda la caracterización anterior llevó a concluir que la reacción entre heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y 5-amino-3-aril-1*H*-pirazoles conduce regioselectivamente a las pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas con el heterociclo sobre el C-4 y el sustituyente tioetilo (compuestos 22a-f) o etoxilo (compuestos 23a-f) sobre el C-2 del sistema pirazolotriazínico.

Figura 28. Espectro NOESY del compuesto 22a.



En los espectros de masas de los compuestos 22a (Figura 29) y 23a (Figura 30) se observa que los iones moleculares presentan una relación masa carga que coincide con los correspondientes pesos moleculares: $m/z = 356/358$ (22a) y $m/z = 340/342$ (23a), lo cual, confirma la formación de los productos objetivo.

Figura 29. Espectro de masas del compuesto 22a.

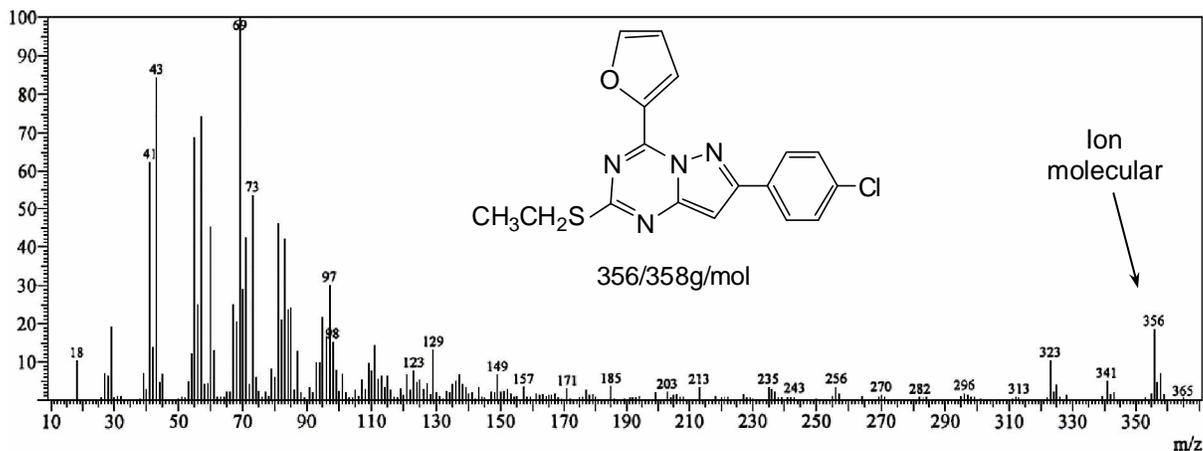
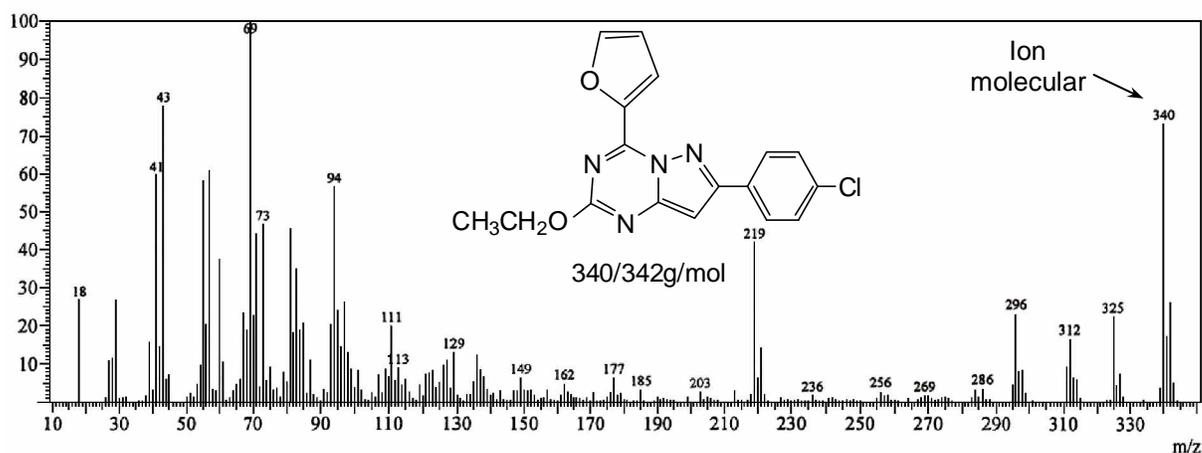


Figura 30. Espectro de masas del compuesto 23a.



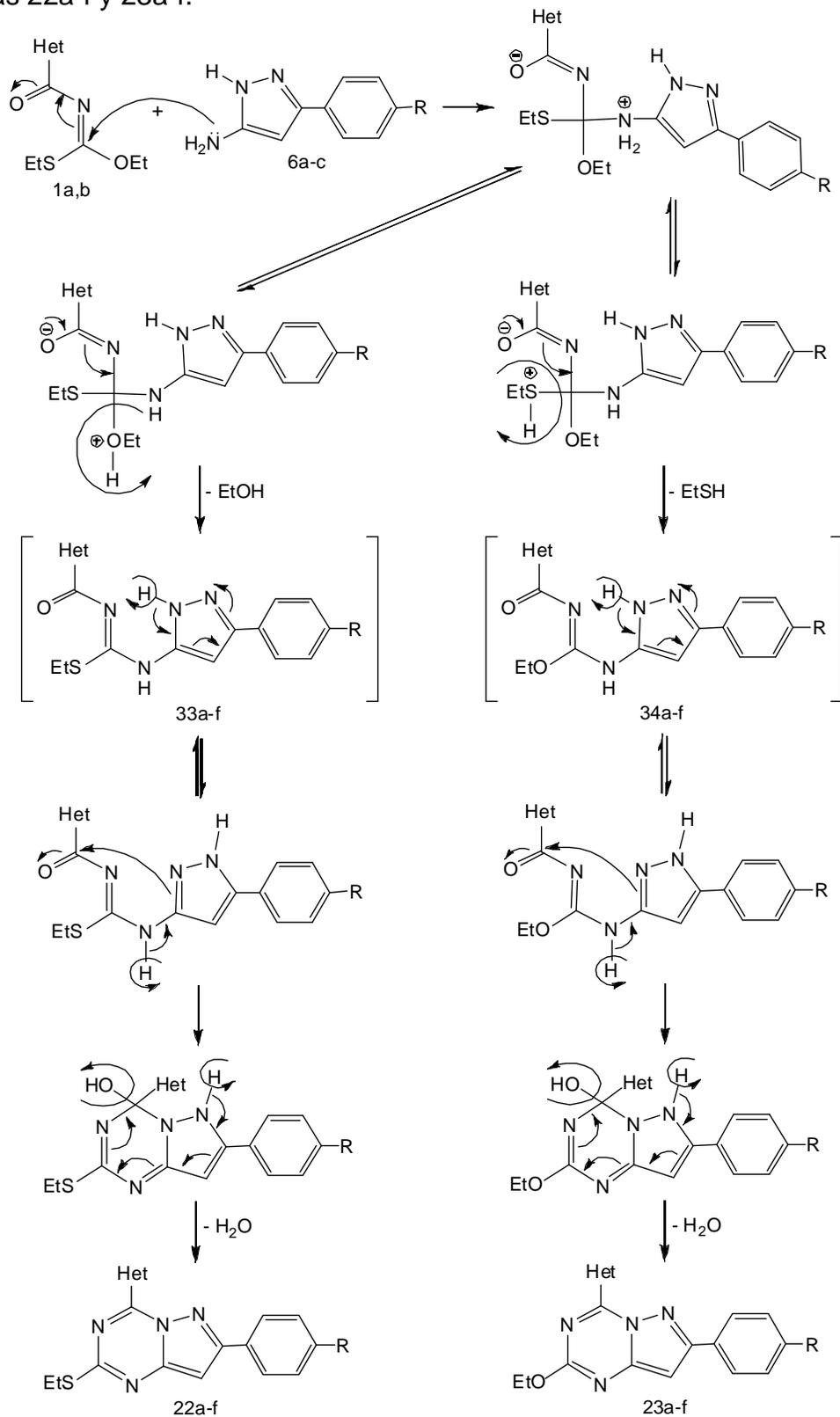
4.3.3 Posible ruta de formación de las pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f. Se ha propuesto una ruta de ciclación entre los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y los 5-amino-3-*aril*-1*H*-pirazoles, con base en la información espectroscópica de los productos finales. Esta propuesta está acorde a lo encontrado en las investigaciones anteriores del GICH-UN^{27,29} y proporciona detalles adicionales sobre el posible mecanismo que sigue esta clase de reacciones.

Se considera que la formación de los compuestos 22a-f y 23a-f procede de la siguiente forma: Inicialmente, el doble enlace C=N del heteroariliminotiocarbonato

de O,S-dietilo 1a,b sufre una adición nucleofílica del nitrógeno exocíclico del 5-amino-3-aryl-1*H*-pirazol 6a-c, provocando la eliminación de una molécula de etanol para generar los intermedios 33a-f, ó de una molécula de etanotiol para generar los intermedios 34a-f, tal como se muestra en el Esquema 10.

Posteriormente, cada intermedio formado sufre un rearrreglo intramolecular para formar un tautómero estable en el que un hidrógeno del anillo pirazólico pasa del nitrógeno en posición 1 al de la posición 2. El paso a esta nueva forma tautomérica involucra la activación de la molécula favoreciendo el ataque nucleofílico del nitrógeno endocíclico en posición 1 (1-NH) hacia el grupo carbonilo (C=O), en el que participan los electrones involucrados en el doble enlace C=N, esto constituye una *ciclocondensación intramolecular* que conlleva a dos nuevos aductos cíclicos que luego se deshidratan por el calentamiento por microondas, formando las respectivas pirazolotriazinas 22a-f y 23a-f. Cabe resaltar que el grupo tioetilo es mejor grupo saliente que el etoxilo, por lo tanto, los compuestos 23a-f (isómeros con el grupo etoxilo) son los productos mayoritarios y los 22a-f (isómeros con el grupo tioetilo) son los productos minoritarios.

Esquema 10. Posible ruta de formación de las nuevas pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f.



5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 GENERALIDADES

Los precursores clave de esta investigación, los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo fueron preparados por primera vez con base en trabajos previos realizados por el GICH-UN.^{2,3,27} Los otros materiales de partida, los 5-amino-3-aryl-1*H*-pirazoles, se obtuvieron reproduciendo metodologías ya reportadas en la literatura.⁴⁻⁶ Los reactivos y disolventes necesarios para la obtención de los precursores y los productos finales fueron adquiridos de las casas comerciales MERCK y SIGMA-ALDRICH.

Las reacciones para la obtención de los precursores se llevaron a cabo en sistemas de reflujo, utilizando solventes como MeCN, EtOH, DMF. En el caso de la síntesis de los productos objetivo, las reacciones se llevaron a cabo fundiendo los materiales de partida en un horno microondas ELECTROLUX con una potencia máxima de 1400 W. El seguimiento de las diferentes reacciones, tanto de precursores como de productos finales, se realizó mediante cromatografía de capa delgada (CCD) con placas de sílica gel con revelador ultravioleta-visible (UV-vis) como fase estacionaria y mezclas apropiadas de hexano-AcOEt como fase móvil. Para esto se empleó una lámpara manual UVFISCHER con dos longitudes de onda (257 y 365 nm).

La purificación de los precursores se realizó por recristalización de agua, hexano o etanol. Los productos objetivo se separaron mediante cromatografía de columna (CC) usando sílica gel como fase estacionaria y mezclas de hexano-AcOEt como fase móvil. La concentración de las muestras se llevó a cabo en un equipo de evaporación a presión reducida, Rotaevaporador HEIDOLPH laborota 4001, y los puntos de fusión se determinaron en un fusiómetro digital ELECTROTHERMAL.

La caracterización de los precursores y de los productos finales fue posible gracias a la financiación de esta investigación por parte de la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados VIPRI, de la Universidad de Nariño y a la cooperación vigente entre el Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad de Nariño (GICH-UN) con el Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad del Valle (GICH-UV). Los nuevos compuestos fueron analizados por RMN ¹H y ¹³C, DEPT-135, HSQC, HMBC, NOESY y Espectrometría de masas.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN ¹H) y de carbono trece (RMN ¹³C) se tomaron a 25 °C usando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y cloroformo deuterado (CDCl₃) como solvente, en un equipo

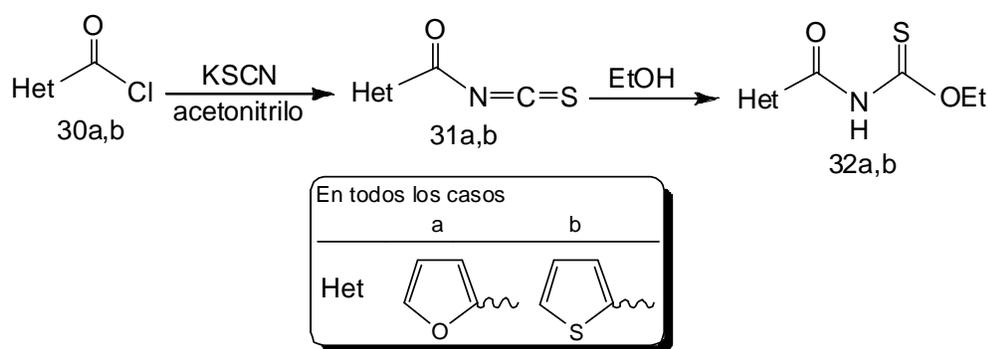
BRUKER ULTROSCHILD DPX operando a 400 MHz, del laboratorio de espectroscopia de la Universidad del Valle (Cali).

Los espectros de masas se tomaron en un espectrómetro HEWLETT PACKARD HP ENGINE-5959 con introducción directa de la muestra en la cámara de ionización (70 eV) con una corriente de emisión de 100 mA y variando la temperatura en un rango de 150 a 280 °C.

5.2 OBTENCIÓN DE LOS PRECURSORES

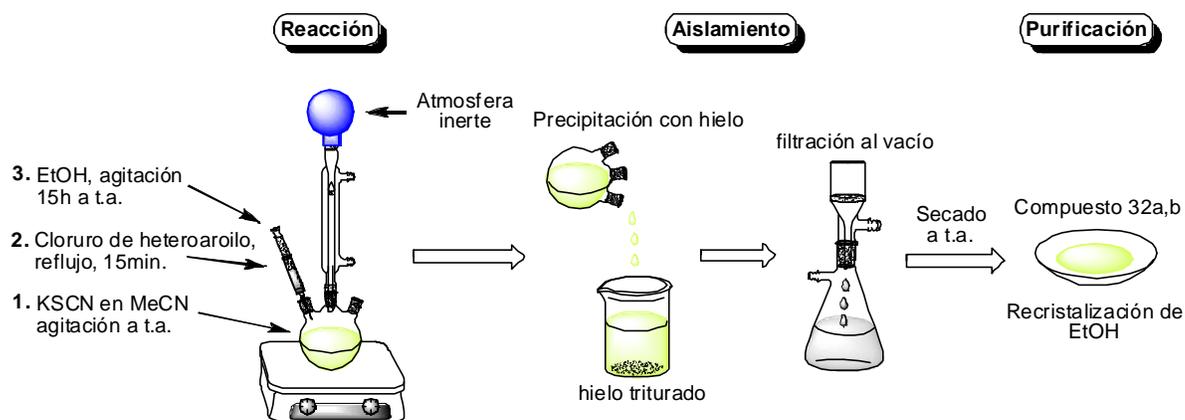
5.2.1 Preparación de los heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo. Estos precursores se obtuvieron por primera vez, tomando como base la metodología optimizada por el GICH-UN^{2,3} para la síntesis de aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo. El proceso se llevó a cabo en dos etapas según la reacción mostrada en el Esquema 9, y las cuales se describen a continuación.

5.2.1.1 Etapa 1. Obtención de los heteroaroiltiocarbonatos de O-etilo 32a,b.

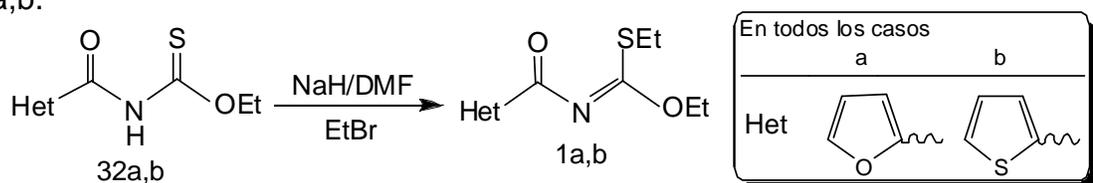


En un balón de tres bocas de 500 mL, provisto de un condensador y una plancha con agitación magnética, se preparó una solución de tiocianato de potasio seco (KSCN) (8,2 g para la reacción con 30a ó 7,3 g para la reacción con 30b ó 1,1 equiv) en acetonitrilo (150 mL). Se colocó atmósfera inerte de gas propano y se selló el sistema con ayuda de un globo. A esta solución se agregó gota a gota con una jeringa, el respectivo cloruro de heteroaroylo 30a,b (7,5 mL), se calentó a reflujo durante 15 minutos, se dejó enfriar y se inyectaron 100 mL de etanol (EtOH). La mezcla de reacción se agitó magnéticamente a temperatura ambiente durante 15 horas, tiempo después del cual la mezcla de reacción se adicionó sobre hielo triturado con el fin de precipitar el producto. El sólido formado se filtró al vacío y se dejó secar a temperatura ambiente durante uno o dos días. Se verificó la pureza del sólido mediante CCD, empleando como fase móvil una mezcla de hexano-AcOEt 8:2, previa disolución del producto en AcOEt, de no encontrarse puro se puede recristalizar de etanol. En la Figura 31 se ilustra este proceso.

Figura 31. Representación del proceso de obtención de los heteroaroiitio-carbamatos de O-etilo 32a,b (Etapa 1).



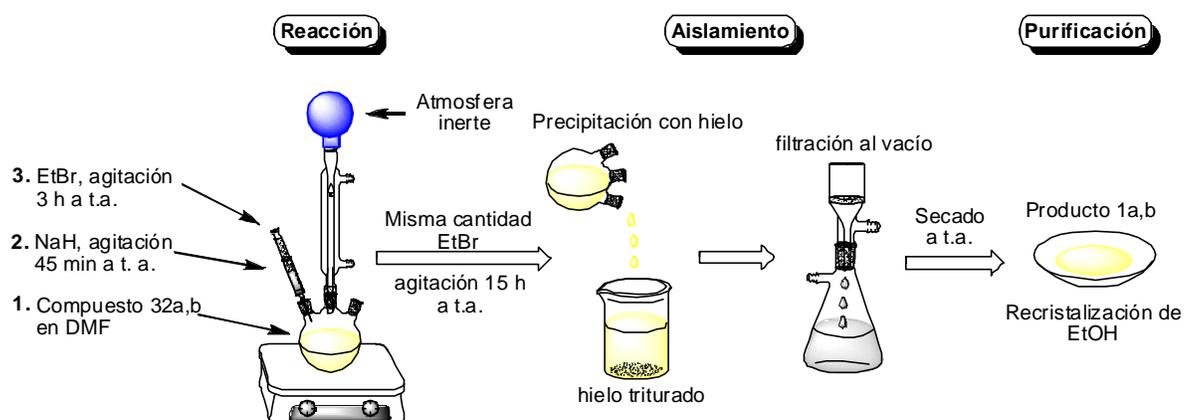
5.2.1.2 Etapa 2. Obtención de los heteroaroiiminotiocarbonatos de O,S-dietilo 1a,b.



En un balón de dos bocas de 100 mL provisto de un condensador y una plancha con agitación magnética, se preparó una solución del correspondiente heteroaroiitio-carbamato de O-etilo 32a,b (2,5 g, 12,5 mmol de 32a ó 11,6 mmol de 32b) en DMF (8 mL). A esta solución se adicionó NaH (0,75 g ó 1,5 equiv). Se colocó atmósfera inerte de gas propano y se selló el sistema con ayuda de un globo. Se dejó en agitación constante durante 45 minutos a temperatura ambiente, luego, se inyectó gota a gota bromuro de etilo (1,2 mL ó 1,5 equiv) y la mezcla se agitó por 3 horas. Transcurrido este tiempo fue necesario agregar más EtBr (1,2 mL ó 1,5 equiv) y mantener la agitación magnética a temperatura ambiente durante una noche más (aproximadamente 15 horas), de lo contrario parte del precursor 32a,b no reacciona disminuyendo el rendimiento de reacción. (Si la reacción se torna de un color más pálido que el inicial, la S-etilación está funcionando).

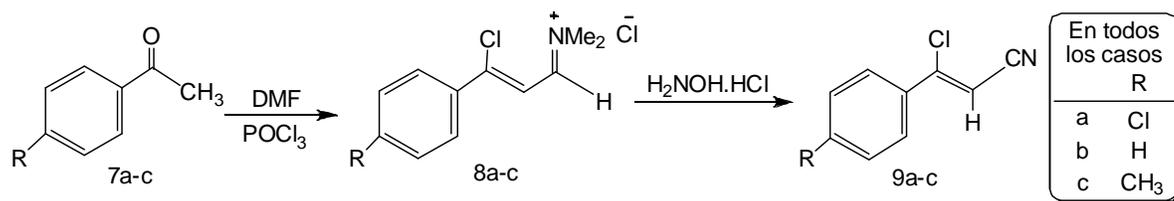
Posteriormente, la mezcla de reacción se adicionó sobre hielo triturado y el sólido formado se filtró al vacío y se dejó secar a temperatura ambiente durante 24 horas. Es importante verificar la pureza del sólido mediante CCD, empleando como fase móvil una mezcla de hexano-AcOEt 8:2, previa disolución del producto en AcOEt, de no encontrarse puro se puede recristalizar de etanol. La síntesis de los compuestos 1a,b se ilustra en la Figura 32.

Figura 32. Representación del proceso de obtención de los heteroaroiliminotio-carbonatos de O,S-dietilo 1a,b (Etapa 2).



5.2.2 Preparación de los 5-amino-3-aryl-1H-pirazoles. Estos materiales de partida se obtuvieron en dos etapas reproduciendo la metodología reportada por Hartmann y Liebscher (Esquema 2).⁴⁻⁶

5.2.2.1 Etapa 1. Obtención de los β -clorocinamonitrilos 9a-c.

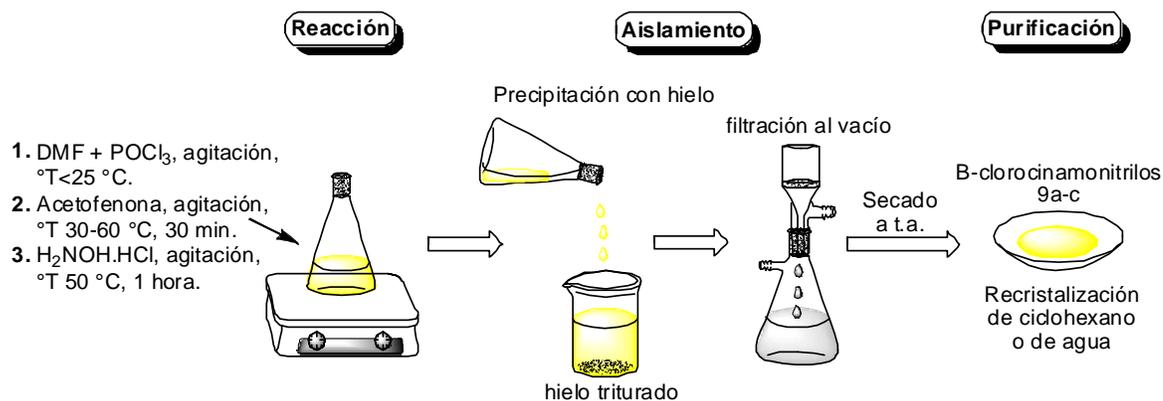


Sobre una plancha de agitación magnética, se colocó un baño de hielo, y en este un erlenmeyer de 200 mL con 50 mL (0.6 mol) de DMF. Se mantuvo la temperatura por debajo de los 25 °C y se adicionó, gota a gota y con fuerte agitación, 20 mL (0,2 mol) de oxicluro de fósforo (POCl₃). Se debe tener bastante cuidado con el POCl₃ ya que es muy tóxico y corrosivo. Se suspendió el baño de hielo y se aplicó calentamiento, cuando la temperatura alcanzó los 30 °C se agregó gota a gota la acetofenona correspondiente 7a-c (0.1 mol), manteniendo la temperatura entre 30-60 °C. La mezcla se agitó por 30 minutos, se estabilizó la temperatura a 50 °C y se agregó 3 g (0,04 mol) de hidrocloreto de hidroxilamina (NH₂OH.HCl), este compuesto debe pesarse y agregarse rápidamente puesto que es bastante higroscópico. Manteniendo la temperatura en 50 °C se pesó y se agregó por porciones más hidrocloreto de hidroxilamina (28 g, 0.4 mol). Se observó que la reacción se torna muy viscosa y poco a poco cambia de tonalidad desprendiendo cloruro de hidrógeno (HCl). La solución se agitó durante una hora y posteriormente se adicionó sobre hielo triturado para inducir la precipitación de los nitrilos. Los sólidos obtenidos se filtraron al vacío, se secaron a temperatura ambiente durante un día. Se debe comprobar su pureza mediante CCD, empleando como fase móvil una mezcla hexano-AcOEt 8:2, previa disolución del

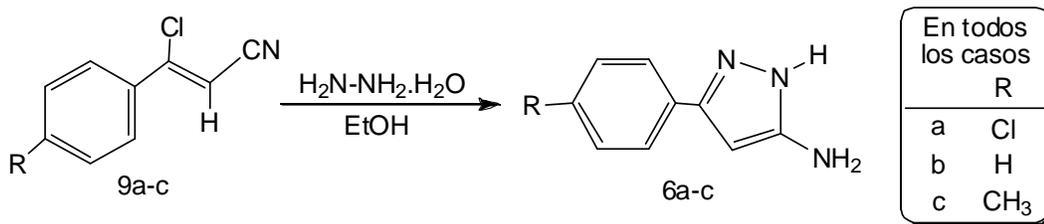
producto en AcOEt, de no encontrarse puros, estos se recrystalizan de ciclohexano o de agua. Este proceso se ilustra en la Figura 33.

Nota: Se debe tener en cuenta que en la recrystalización se forma un aceite viscoso de color café, el cual debe evitar agregarse en el momento de la filtración en caliente, ya que este aceite tiende a pasar a través del algodón y contaminar el producto.

Figura 33. Representación del proceso de obtención de los β -clorocinamonitrilos 9a-c (Etapa 1).



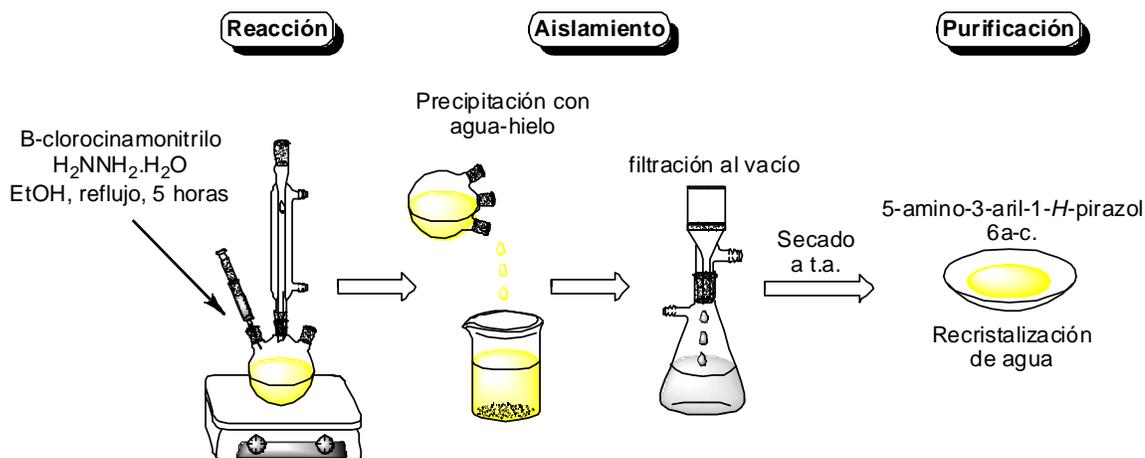
5.2.2.2 Etapa 2. Obtención de los 5-amino-3-aryl-1H-pirazoles 6a-c.



En un balón de dos o tres bocas de 500 mL, provisto de un condensador y una plancha con agitación magnética, se preparó una solución del respectivo β -clorocinamonitrilo 9a-c (0,1 mol) en etanol (50 mL) y se sometió a calentamiento. A esta solución se agregó gota a gota hidrato de hidrazina ($\text{H}_2\text{NNH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$) (0,2 mol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 5 horas, luego, se dejó enfriar y el producto se precipitó en agua-hielo (200 mL). Los sólidos formados se filtraron al vacío, se secaron a temperatura ambiente durante un día. Se debe comprobar su pureza mediante CCD, empleando como fase móvil una mezcla hexano-AcOEt 8:2, previa disolución del producto en tetrahidrofurano (THF), de no encontrarse puros, estos se recrystalizan de agua (gran cantidad). Este proceso se ilustra en la Figura 34.

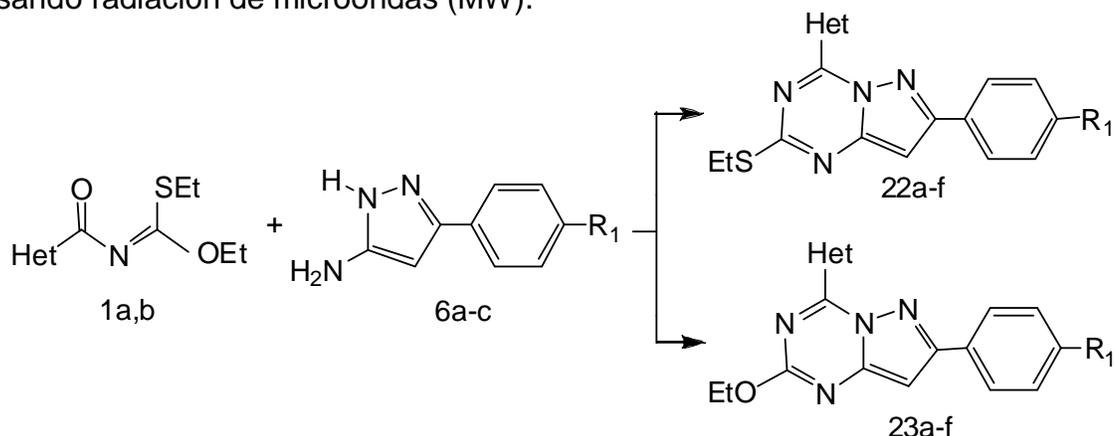
Nota: En la recristalización del 5-amino-3-aryl-1H-pirazol se forma un aceite muy viscoso café en el fondo del balón, el cual se debe evitar agregar en el momento de la filtración en caliente porque tiende a atravesar el algodón y contaminar el producto.

Figura 34. Representación del proceso de obtención de los 5-amino-3-aryl-1H-pirazoles 6a-c (Etapa 2).



5.3 OBTENCIÓN DE LOS PRODUCTOS OBJETIVO

5.3.1 Obtención de las nuevas pirazolo[1,5-a]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f usando radiación de microondas (MW).



Un leve exceso del correspondiente 5-amino-3-aryl-1H-pirazol 6a-c (180 mg de 6a, 150 mg de 6b ó 160 mg 6c) y el respectivo heteroaroiliminotiocarbonato de O,S-dietilo 1a,b (200mg), se mezclaron en un vial de vidrio pirex y se sometieron a reacción durante un determinado tiempo (15 min. cuando se parte de 1a, y 20 min. cuando se parte de 1b), a la máxima potencia de un horno microondas (1400 W). La reacción se controló por CCD utilizando como fase móvil una mezcla de Hexano-AcOEt 8:2.

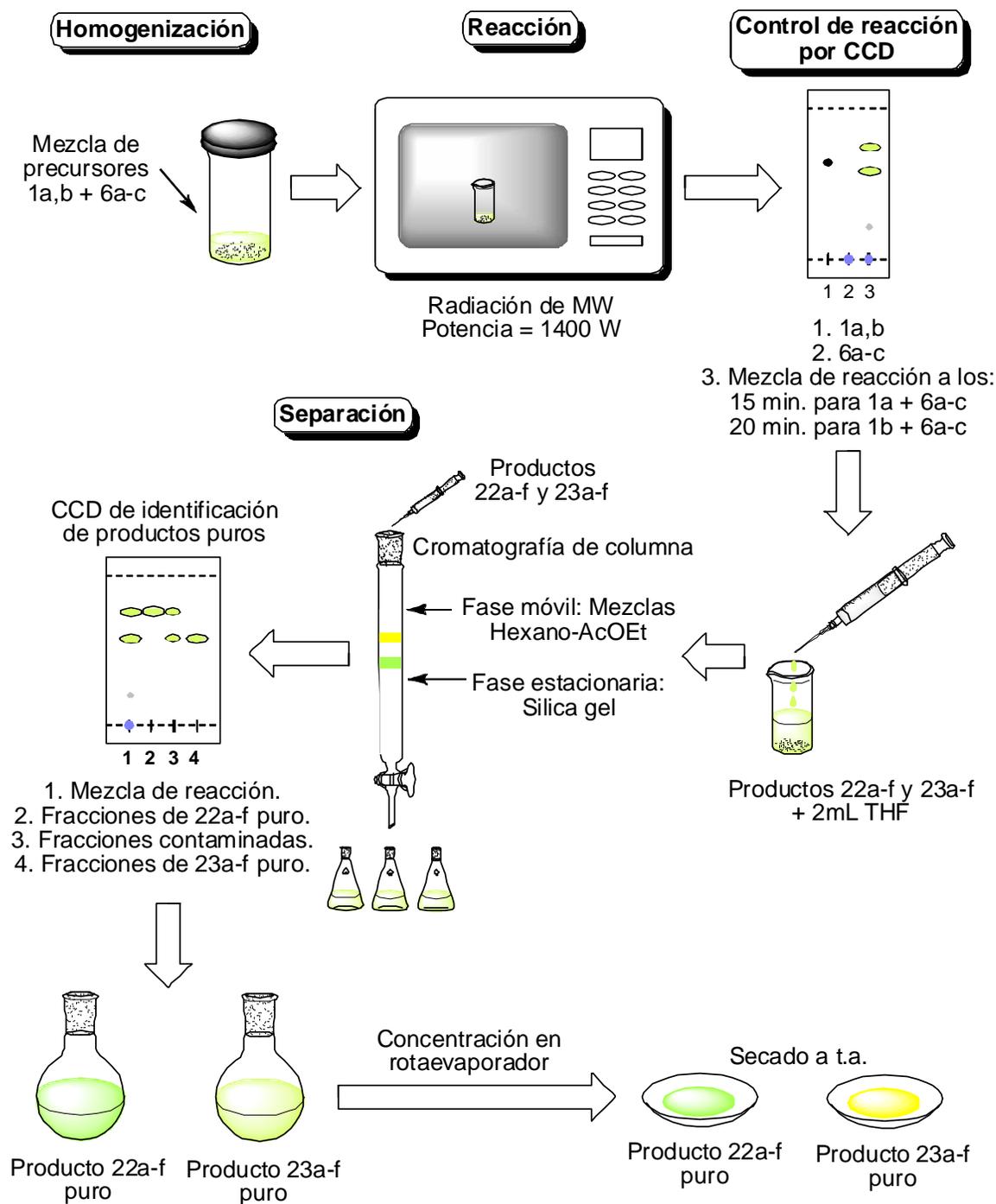
Los productos de cada reacción 22a-f y 23a-f, se purificaron por cromatografía de columna (CC) de la siguiente manera: el contenido del vial se disolvió a temperatura ambiente, en la mínima cantidad de THF (2 mL) y se aplicó sobre una columna cromatográfica de sílica gel, previamente humedecida con la fase móvil hexano-AcOEt. Se usó una columna de vidrio de 50 cm de largo y 3 cm de diámetro, la cual se empacó con sílica gel como fase estacionaria hasta alcanzar una altura entre 30-35 cm. La purificación de los productos de cada reacción requirió diferentes relaciones de la fase móvil y diferentes alturas de la sílica gel dentro de la columna. Estos datos se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Condiciones de la cromatografía en columna, para la separación de cada pareja de productos 22a-f y 23a-f.

<i>Compuestos 22 y 23</i>	<i>Relación fase móvil Hexano-AcOEt (V/V)</i>	<i>Altura fase estacionaria (sílica gel), cm.</i>
a, b, c	8:2	30
d, e	9:1	33
f	8,5:1,5	35

Las fracciones obtenidas en la CC, se colectaron en beakers de 25 mL, luego se les tomó la CCD para verificar cuales corresponden a los productos 22a-f y cuales a los producto 23a-f. Las fracciones puras de cada producto se colectaron y luego se evaporó el disolvente con ayuda de un rotaevaporador. Los productos individuales se secaron a temperatura ambiente durante 48 horas. En la Figura 35 se ilustra el proceso de obtención de estos nuevos compuestos.

Figura 35. Representación del proceso de obtención de las nuevas pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas 22a-f y 23a-f, vía MW (1400 W).



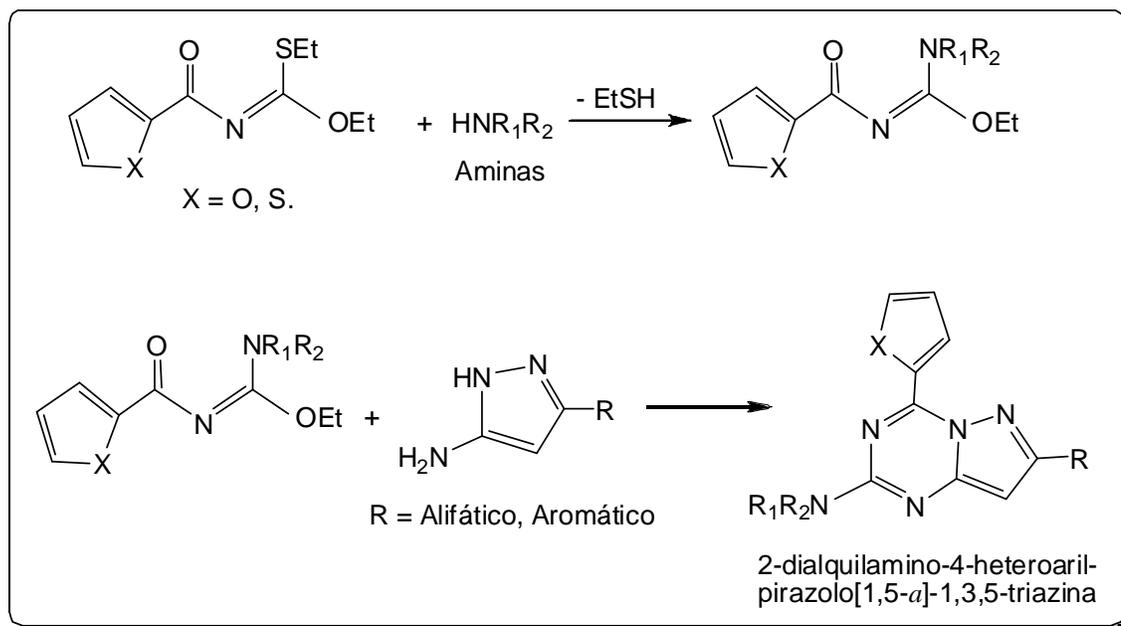
6. CONCLUSIONES

1. Los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo, precursores clave en la síntesis de 4-heteroarilpirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas, fueron sintetizados y caracterizados por primera vez y sus datos fisicoquímicos y espectroscópicos se describen en el presente trabajo de grado.
2. La reacción inducida por microondas entre heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y 5-amino-3-*aril*-1*H*-pirazoles, dio regioselectivamente una serie de nuevas 4-heteroarilpirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas descartando la formación de pirazolotriazinas 2-heteroarilsustituidas y de los posibles isómeros del sistema pirazolo[3,4-*d*]pirimidínico.
3. Se estableció que la síntesis de las nuevas pirazolotriazinas en condiciones libre de disolvente, empleando la radiación de microondas, es un método práctico y eficiente porque las reacciones proceden en pocos minutos y con rendimientos que van de moderados a buenos (52-64% para el producto principal).
4. Se encontró que las condiciones propicias para la síntesis vía microondas de las pirazolotriazinas objetivo son la máxima potencia del equipo (1400 W) y tiempos de reacción de 15 min. cuando el sustituyente heterocíclico es 2-furilo y 20 min. cuando es 2-tienilo.
5. Se propuso la posible ruta de formación de las nuevas pirazolotriazinas, con base en la información espectroscópica de los productos finales. Inicialmente, el enlace C=N de los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo es atacado nucleofílicamente por el nitrógeno exocíclico del pirazol, eliminando una molécula de etanol o etanotiol para dar dos intermedios acíclicos. Entonces, cada intermedio sufre una *ciclocondensación intramolecular* entre el NH endocíclico y el grupo carbonilo, eliminando una molécula de agua y conduciendo a la formación de las pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas objetivo de esta investigación.
6. Fueron sintetizadas un total de 12 nuevas 4-heteroarilpirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas, cuyas propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas se describen en este trabajo de grado y en un artículo científico que será sometido a publicación en una revista internacional.

7. RECOMENDACIONES

- Explorar la síntesis de heteroarilthioureas, a partir de la reacción de los heteroariliminotiocarbonatos de O,S-dietilo con aminas secundarias, y evaluar su interacción con 5-aminopirazoles para la obtención de nuevos derivados pirazolotriazínicos aminosustituídos con potencial actividad biológica.

Esquema 11. Síntesis de 2-dialquilaminopirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas.

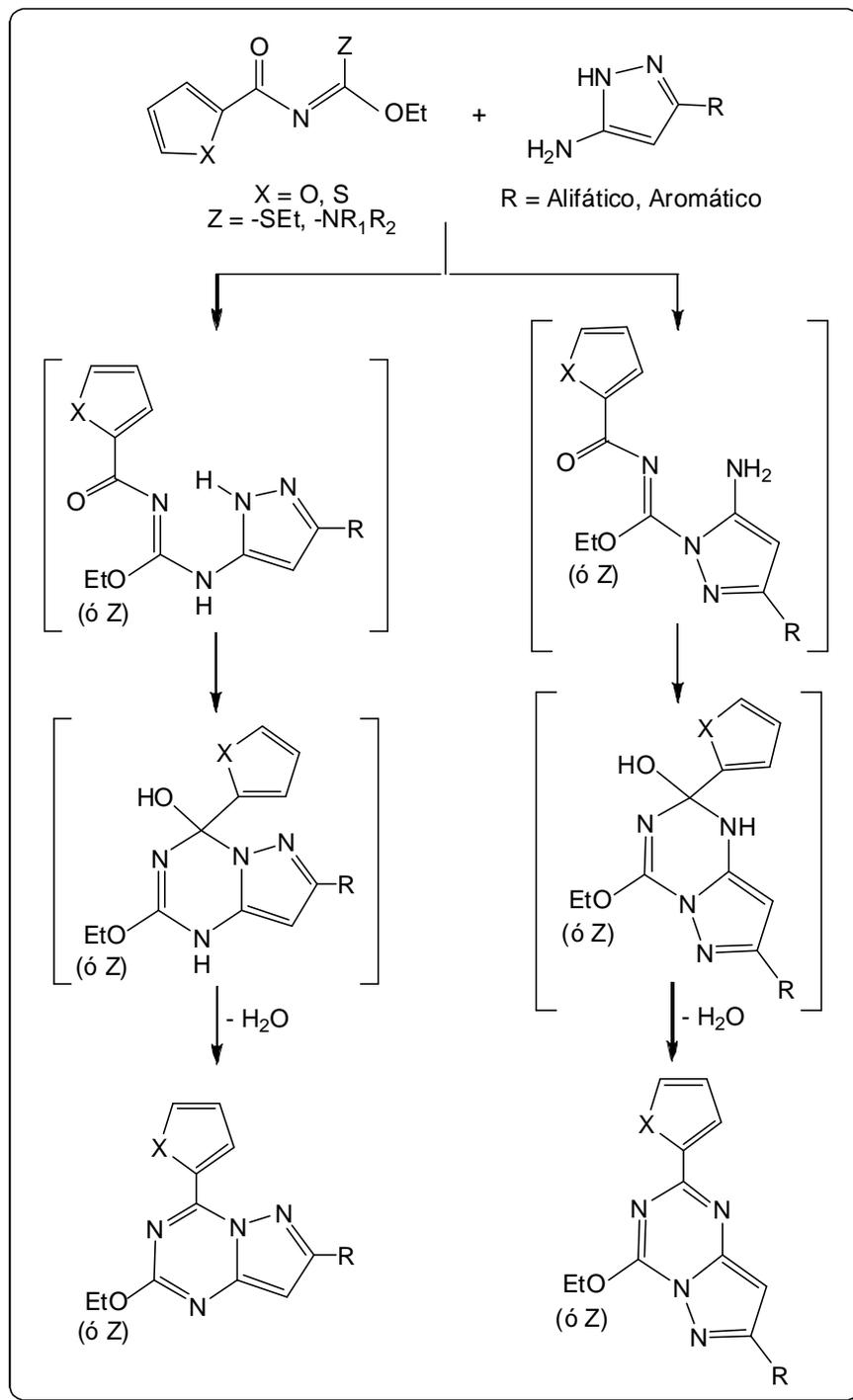


- Realizar un estudio de los intermedios de reacción en la formación de pirazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinas, por ejemplo por espectroscopia infrarroja (IR), ya que una vez aislados se pueden analizar en fase sólida, evitando así una posible ciclación favorecida en solución.

La técnica podría proporcionar información contundente para corroborar la estructura de los intermedios. Para la estructura propuesta, en la que la interacción se da entre el NH₂ exocíclico del 5-aminopirazol con el carbono imínico del heteroariliminotiocarbonato de O,S-dietilo o de la heteroarilthiourea, se observaría la banda del NH entre 3500 y 3300 cm⁻¹, la del grupo carbonilo amídico entre 1690 y 1650 cm⁻¹ y la del enlace imino aproximadamente a 1500 cm⁻¹. En el caso de que el intermedio sea producto de la interacción entre el grupo NH endocíclico y el carbono imínico de los precursores, se esperaría una señal importante para el grupo NH₂ exocíclico: dos bandas a 3500 cm⁻¹ y 3300 cm⁻¹.

Finalmente, en el caso de que los intermedios sean cíclicos, la señal clave sería una banda correspondiente al grupo OH aproximadamente a 3300 cm^{-1} .

Esquema 12. Intermedios más probables en la reacción de ciclación de 5-amino-1*H*-pirazoles con heteroaroiliminotiocarbonatos de O,S-dietilo y análogos.



BIBLIOGRAFÍA

- AUGUSTÍN, M.; RICHTER, M. y SALAS, S. *J. Prakt. Chem.* 1980, 322, 55-68.
- BAKKESTUEN, A. K.; GUNDERSEN, L.-L. y UTENOVA, B. T. *J. Med. Chem.* 2005, 48(7), 2710-2723.
- BÖS, M.; REIMER, C. y STADLER, H. *Patente Estadounidense.* 6,194,410 B1; 2001.
- BRÆNDVANG, M. y GUNDERSEN, L.-L. *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15, 7144-7165.
- CASTRO, E. y SÁNCHEZ, E. Evaluación de las interacciones entre las 4,5-diamino-6-pirimidonas y los aroil y heteroailiminotiocarbonatos de O,S-dietilo. San Juan de Pasto, 2008, 84 p. Trabajo de grado. Universidad de Nariño.
- CHECA, C. y LAGOS, Y. Evaluación de las interacciones del 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol con los isotiocianatos de aroilo y con los aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo. San Juan de Pasto, 2005, 97 p. Trabajo de grado, Universidad de Nariño.
- CHECCHI, S. y RIDI, M. *Gazz. Chim. Ital.* 1957, 87, 597.
- DARROW, J.; DE LOMBAERT, S.; BLUM, CH.; TRAN, J.; GIANGIORDANO, M.; GRIFFITH, D. y CARPINO, P. *Patente Estadounidense.* 6,476.038 B1; 2002.
- ELGEMEIE, G. H.; EL-EZBAWY, S. R. y EL-AZIZ, H. A. *Synthetic Commun.* 2001, 31(22), 3453-3458.
- GENG, B.; BASARAB, G.; COMITA-PREVOIR, J.; GOWRAVARAM, M.; HILL, P.; KIELY, A.; LOCH, J.; MACPHERSON, L.; MORNINGSTAR, M.; MULLEN, G.; OSIMBONI, E.; SATZ, A.; EYERMANN, CH. y LUNDQVIST, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 930-936.
- GILLESPIE, R.; CLIFFE, I.; DAWSON, C.; DOURISH, C.; GAUR, S.; JORDAN, A.; KNIGHT, A.; LERPINIÈRE, J.; MISRA, A.; PRATT, R.; ROFFEY, J.; STRATTON, G.; UPTON, R.; WEISS, S. y WILLIAMSON, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 2924-2929.
- GILLIGAN, P.; HE, L.; CLARKE, T.; TIVITMAHAISOON, P.; LELAS, S.; LI, Y.-W.; HEMAN, K.; FITZGERALD, L.; MILLER, K.; ZHANG, G.; MARSHALL, A.; KRAUSE, C.; MCELROY, J.; WARD, K.; SHEN, H.; WONG, H.; GROSSMAN, S.;

NEMETH, G.; ZACZEK, R.; ARNERIC, S.; HARTIG, P.; ROBERTSON, D. y TRAINOR, G. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 3073-3083.

GUDMUNDSSON, K. S.; JOHNS, B. A. y WEATHERHEAD, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 5689-5692.

HARTMANN, H. y LIEBSCHER, J. *Synthesis*, 1984, 275-276.

HARTMANN, H. y LIEBSCHER, J. *Synthesis*. 1984, 276-277.

INSUASTY, H.; ESTRADA, M.; COBO, J. y LOW, J. *Acta Cryst. Section C*, 2006, 62, 122-124.

INSUASTY, H.; ESTRADA, M.; CORTÉS, E.; QUIROGA, J.; INSUASTY, B.; ABONÍA, R.; NOGUERAS, M. y COBO, J. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 5441-5443.

KIM, S. H. y MOREAU, J. P. *Patente Estadounidense*. 4,565,815; 1986.

KOUZNETSOV, V. y PALMA, A. Química Básica de los Heterocíclicos y su Importancia Practica. 1ª Edición. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga-Colombia, 1997. 209p.

LIEBSCHER, J.; NEUMANN, B. y HARTMANN, H. *J. Prakt. Chem.* 1983, 325, 915-918.

LOW, J.; COBO, J.; INSUASTY, H.; CORTÉS, E. e INSUASTY, B. *Acta Cryst. Section C*, 2005, 61, 7-9.

MIER, P. y SUAREZ, G. Evaluación de la reacción de aroiliminoditiocarbonatos de S,S-dietilo con 5-amino-3-arilpirazoles. Una ruta eficiente de obtención de nuevas pirazolo[1,5-a]-1,3,5-triazinas. San Juan de Pasto, 2007, 60 p. Trabajo de grado, Universidad de Nariño.

NIE, Z.; PERRETTA, C.; ERICKSON, P.; MARGOSIAK, S.; ALMASSY, R.; LU, J.; AVERILL, A.; YAGER, K. y CHU, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 17, 4191-4195.

NIE, Z.; PERRETTA, C.; ERICKSON, P.; MARGOSIAK, S.; LU, J.; AVERILL, A.; ALMASSY, R. y CHU, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 619-623.

POPOWYCZ, F.; FOURNET, G.; SCHNEIDER, C.; BETTAYEB, K.; FERANDIN, Y.; LAMIGEON, C.; TIRADO, O.; MATEO-LOZANO, S.; NOTARIO, V.; COLAS, P.; BERNARD, P.; MEIJER, L. y JOSEPH, B. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 655-663.

POPOWYCZ, F.; SCHNEIDER, C.; DEBONIS, S.; SKOUFIAS, D.; KOZIELSKI, F.; GALMARINI, C. y JOSEPH, B. *Bioorg. Med. Chem.* 2009, 17, 3471-3478.

RABOISSON, P.; SCHULTZ, D.; LUGNIER, C.; MATHIEU, R. y BOURGUIGNON, J.-J. *Tetrahedron Letters.* 2003; 44, 703-705.

RABOISSON, P.; SCHULTZ, D.; MULLER, C.; REIMUND, J.-M.; PINNA, G.; MATHIEU, R.; BERNARD, P.; DO, Q.-T.; DESJARLAIS, R.; JUSTIANO, H.; LUGNIER, C. y BOURGUIGNON, J.-J. *Eur. J. Med. Chem.* 2008; 43, 816-829.

RIED, W. y ABOUL-FETOUH, S. *Tetrahedron.* 1988, 44, 7155-7162.

ROONEY, S. C.; WINDSOR, H. R. y WILLIAMS, R. *Patente Estadounidense*; 3,995,039; 1976.

VU, Ch. B.; SHIELDS, P.; PENG, B.; GNANASAMBANDAM, K.; JIN, X.; PHADKE, D.; WANG, J.; ENGBER, T.; AYYUB, E. y PETTER, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 14, 4835-4838.