

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LAS 2 Y 4-METILENDIOXIFENIL-8-FENIL-6-METIL-2,3-DIHIDROPIRAZOLO[3,4-*b*][1,4]DIAZEPINAS OBTENIDAS EN LA REACCIÓN DE 4,5-DIAMINO-1-FENIL-3-METILPIRAZOL CON 1 y 3-METILENDIOXICHALCONAS**

**MÓNICA ELIZABETH MOSQUERA ORTEGA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PASTO-COLOMBIA**

**2004**

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LAS 2 Y 4-METILENDIOXIFENIL-8-FENIL-6-METIL-2,3DIHIDROPIRAZOLO[3,4-*b*][1,4]DIAZEPINAS OBTENIDAS EN LA REACCIÓN DE 4,5-DIAMINO-1-FENIL-3-METILPIRAZOL CON 1 y 3-METILENDIOXICHALCONAS**

**MONICA ELIZABETH MOSQUERA ORTEGA**

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

Director

**BRAULIO INSUASTY OBANDO, Ph.D.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PASTO-COLOMBIA**

**2004**

## NOTA DE ACEPTACIÓN

Este trabajo de grado

---

ha sido aprobado como

---

requisito parcial para

---

optar al título de Químico

---

Braulio Insuasty Obando; Ph.D

---

**Director**

Henry Insuasty I; Ph.D

---

**Jurado**

Judy Andrea Albornóz; Msc.

---

**Jurado**

San Juan de Pasto, Marzo 12 de 2004

## **DEDICATORIA**

A la mujer más fuerte del mundo: Carmen Ortega

A mi Papá: Gerardo Mosquera

A mis hermanos: Erika, Paula y Gerardo

A mis sobrinos: Diana Paola y Nicolás

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco principalmente al Doctor Braulio Insuasty Obando, por todo el apoyo, confianza y asesoría brindados en la realización del presente trabajo de investigación en el grupo en Síntesis de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad del Valle.

Al Doctor Jairo Quiroga del grupo de Investigación en Síntesis de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad del Valle por su colaboración en la culminación del trabajo de investigación.

A todos los compañeros del grupo de Investigación en Síntesis de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad del Valle, por su amistad y colaboración en el transcurso de la investigación.

Al Departamento de Química de la Universidad de Nariño por su solidaridad en el transcurso de la carrera.

A Nelson García, Judy Reyes, Andrea Infante, Tania Vaca y Guillermo Revelo por haberme brindado su amistad y apoyo incondicional, facilitando de esta forma la culminación en esta investigación.

Un especial agradecimiento al Doctor Henry Insuasty por sus valiosas recomendaciones en la culminación del documento final, de igual manera a la M.Sc Judy Andrea Albornoz.

## CONTENIDO

|  | pág |
|--|-----|
| <b>RESUMEN</b>   | 11  |
| <b>INTRODUCCIÓN</b>  | 13  |
| <b>1. OBJETIVOS</b>  | 15  |
| 1.1 OBJETIVO GENERAL   | 15  |
| 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS  | 15  |
| <b>2. ANTECEDENTES</b>   | 16  |
| 2.1 SÍNTESIS DE <i>orto</i> -DIAMINOPIRAZOLES  | 16  |
| 2.1.1 Síntesis del 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol  | 16  |
| 2.1.2 Síntesis de 4-amino-5-bencilamino-3-fenilpirazol   | 17  |
| 2.2 OBTENCION DE PIRAZOLO[3,4- <i>b</i> ][1,4]DIAZEPINAS A PARTIR DE <i>orto</i> -DIAMINOPIRAZOLES | 18  |
| <b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>   | 28  |
| <b>4. RESULTADOS Y DISCUSION</b>   | 32  |

|            |  |    |
|------------|--|----|
| 4          | Obtención de las 2 y 4-metilendioxi-8-feni-6-metil-2,3-dihidropirazolo [3,4- <i>b</i> ][1,4]diazepinas 61a-d y 62a-d.            | 31 |
| 4.1        | Análisis espectroscópico   | 40 |
| 4.2        | Evaluación antifúngica de los compuestos <b>60b-d</b> y <b>63b-c</b>   | 67 |
| <b>5</b>   | <b>SECCIÓN EXPERIMENTAL</b>  | 70 |
| <b>5.1</b> | <b>GENERALIDADES</b>   | 70 |
| <b>5.2</b> | <b>OBTENCION DE PRECURSORES</b>  | 71 |
| 5.2.1      | Preparación del 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol   | 71 |
| 5.2.2      | Preparación de las chalconas 1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(aril)-2-propen-1-ona y 3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-(aril)-2-propen-1-ona | 73 |
| <b>5.3</b> | <b>OBTENCION DE LOS PRODUCTOS FINALES</b>  | 75 |
| 5.3.1      | Preparación del 4-(3,4-dioximetilenfenil)-2-aril-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4- <i>b</i> ][1,4]diazepina               | 75 |
| 5.3.2      | Preparación del 2-(3,4-dioximetilenfenil)-4-aril-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4- <i>b</i> ][1,4]diazepina               | 78 |
|            | <b>CONCLUSIONES</b>  | 81 |
|            | <b>RECOMENDACIONES</b>   | 82 |
|            | <b>BIBLIOGRAFIA</b>  | 83 |

## LISTADO DE FIGURAS

|   | <b>pág.</b> |
|---|-------------|
| <b>Figura 1.</b> Centros reactivos de la 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol     | 29          |
| <b>Figura 2.</b> Centros reactivos de las chalconas <b>59a-d</b> y <b>60a-d</b> | 29          |
| <b>Figura 3.</b> Espectro IR del compuesto <b>61a</b>                           | 41          |
| <b>Figura 4.</b> Espectro IR del compuesto <b>63c</b>                           | 43          |
| <b>Figura 5.</b> Espectro RMN $^1\text{H}$ del compuesto <b>61a</b>             | 45          |
| <b>Figura 6.</b> Espectro RMN $^{13}\text{C}$ del compuesto <b>61a</b>          | 47          |
| <b>Figura 7.</b> Espectro HSQC del compuesto <b>61a</b>                         | 48          |
| <b>Figura 8.</b> Espectro HMBC del compuesto <b>61a</b>                         | 50          |
| <b>Figura 9.</b> Espectro NOESY del compuesto <b>61a</b>                        | 52          |
| <b>Figura 10.</b> Espectro de masas del compuesto <b>61a</b>                    | 54          |
| <b>Figura 11.</b> Espectro de rayos X del compuesto <b>61a</b>                  | 56          |
| <b>Figura 12.</b> Espectro RMN $^1\text{H}$ del compuesto <b>62c</b>            | 58          |
| <b>Figura 13.</b> Espectro COSY del compuesto <b>62c</b>                        | 59          |
| <b>Figura 14.</b> Espectro RMN $^{13}\text{C}$ del compuesto <b>62c</b>         | 61          |
| <b>Figura 15.</b> Espectro HSQC del compuesto <b>62c</b>                        | 62          |
| <b>Figura 16.</b> Espectro HMBC del compuesto <b>62c</b>                        | 65          |
| <b>Figura 17.</b> Espectro NOESY del compuesto <b>62c</b>                       | 66          |



## LISTADO DE TABLAS

|  | pág |
|--|-----|
| <b>Tabla 1.</b> Características físicoquímicas de los compuestos <b>61a-d</b>  | 34  |
| <b>Tabla 2.</b> Características físicoquímicas de los compuestos <b>62a-d</b>  | 38  |
| <b>Tabla 3.</b> Correlaciones carbono-protón a dos ( $^2J$ ) y tres ( $^3J$ ) enlaces del compuesto <b>61a</b> presentes en el espectro HMBC | 49  |
| <b>Tabla 4.</b> Correlaciones carbono-protón a dos ( $^2J$ ) y tres ( $^3J$ ) enlaces del compuesto <b>62c</b> presentes en el espectro HMBC | 63  |
| <b>Tabla 5.</b> Acoplamientos del carbonos 2 para los compuestos <b>61a</b> y <b>62c</b> .   | 64  |
| <b>Tabla 6.</b> Resultados de las pruebas antifúngicas realizadas a compuestos <b>61b-c</b> y <b>62b-d</b> .                                 | 68  |

## ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

|   |  |
|---|--|
| <b>AcOH</b>                             | Acido acético  |
| <b>ADN</b>                              | Acido Desoxirribonucleico  |
| <b>ARN</b>                              | Acido Ribonucleico   |
| <b>°C</b>                               | Grados centígrados   |
| <b>CC</b>                               | Cromatografía de Columna   |
| <b>CCD</b>                              | Cromatografía de Capa Delgada  |
| <b>CDCl<sub>3</sub></b>                 | Cloroformo deuterado   |
| <b>cm<sup>-1</sup></b>                  | Centímetro recíproco, asociado con el número de onda                             |
| <b>COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H</b> | Resonancia magnética bidimensional de correlación <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H |
| <b>d</b>                                | Doblete  |
| <b>dd</b>                               | Doble doblete  |
| <b>DMF</b>                              | Dimetilformamida   |
| <b>DMSO</b>                             | Dimetilsulfóxido   |
| <b>DMSO-d<sub>6</sub></b>               | Dimetilsulfóxido deuterado   |
| <b>EtOH</b>                             | Etanol   |
| <b>EtONa</b>                            | Etóxido de sodio   |
| <b>eV</b>                               | Electronvoltios  |
| <b>g</b>                                | Gramos   |
| <b>h</b>                                | Horas  |
| <b>HMBC</b>                             | Heteronuclear múltiple bond connectivity   |

|  |   |
|--|---|
| <b>HSQC</b>  | H-Detected heteronuclear multiple quantum coherence           |
| <b>Hz</b>  | Hertz   |
| <b>IR</b>  | Infrarrojo  |
| <b><sup>n</sup>J</b>                                     | Constante de acoplamiento entre protones-carbonos a n-enlaces |
| <b><i>m</i></b>  | Posición <i>meta</i>  |
| <b>m</b>   | Multiplete  |
| <b>Me</b>  | Grupo metilo  |
| <b>MeO</b>   | Grupo metoxilo  |
| <b>MHz</b>   | MegaHertz   |
| <b>mL</b>  | Mililitros  |
| <b>mmol</b>  | Milimoles   |
| <b>m/z</b>   | Relación masa/carga   |
| <b>NOESY</b>   | Nuclear overhauser spectroscopy                               |
| <b><i>o</i></b>  | Posición <i>orto</i>  |
| <b><i>p</i></b>  | Posición <i>para</i>  |
| <b>p.f.</b>  | Punto de fusión   |
| <b>Ph</b>  | Grupo fenilo  |
| <b>R, R<sup>1</sup>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, X</b> | Sustituyente  |
| <b>Rend.</b>   | Rendimiento   |
| <b>RMN-<sup>13</sup>C</b>                                | Resonancia magnética nuclear-Carbono 13                       |
| <b>RMN-<sup>1</sup>H</b>                                 | Resonancia magnética nuclear de protones                      |

|               |   |
|---------------|---|
| <b>s</b>      | Singulete                               |
| <b>SIDA</b>   | Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida |
| <b>SNC</b>    | Sistema Nervioso Central                |
| <b>t</b>      | Triplete                                |
| <b>TMS</b>    | Trimetilsilano                          |
| <b>T.R</b>    | Tiempo de reacción                      |
| <b>UV-Vis</b> | Ultravioleta–visible                    |

## RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo la síntesis y caracterización de las 2 y 4–metilendioxfenil-8-fenil-2,3-dihidropirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepinas obtenidas a través de la reacción de las metilendioxicalconas (2t)-1(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(aril)-2-propen-1-ona y (2t)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-(aril)-2-propen-1-ona con el 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol. Además, se optimizaron las condiciones de reacción obteniendo los productos deseados con buenos rendimientos.

La caracterización de los nuevos productos se realizó con las técnicas **IR**, **RMN-<sup>1</sup>H** y **RMN-<sup>13</sup>C** mono y bidimensional (NOESY, HMBC, HSQC), espectrometría de masas y en algunos casos difracción de rayos X.

## ABSTRACT

In the present work, it was carried out the synthesis and characterization of the 2 and 4-methylenedioxyphenyl-8-phenyl-2,3-dihydropyrazolo[3,4-*b*][1,4]diazepines prepared by reaction of methylenedioxychalcones (2*t*)-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-3-(aryl)-2-propen-1-one and (2*t*)-3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-(aryl)-2-propen-1-one with the 4,5-diamino-3-methyl-1-phenylpyrazole. Furthermore, the reaction conditions were optimized to give the desired products in good yields.

The new products were characterized by **IR**, **RMN-<sup>1</sup>H** and **RMN-<sup>13</sup>C** mono and bidimensional (NOESY, HMBC, HSQC,) spectroscopy, mass spectrometry and X ray diffraction in some cases.

## INTRODUCCIÓN

Los compuestos heterocíclicos son compuestos orgánicos caracterizados por su amplia aplicabilidad en la medicina, como productos farmacéuticos y en el sector agrícola en forma de fungicidas, pesticidas y herbicidas<sup>1</sup>.

Estos compuestos están presentes en muchas sustancias biológicas, es el caso de pigmentos tales como la clorofila y la hemina, que dan el color verde a las plantas y el rojo a la sangre, respectivamente. Participan, además, en procesos como la herencia y la respiración ya que hacen parte de la estructura de muchas biomoléculas como ADN, ARN, vitamina C y riboflavina entre otros.<sup>2,3</sup>

Dentro de los compuestos heterocíclicos las 1,4-diazepinas son una clase importante de compuestos psicoterapéuticos. En años recientes, algunos ejemplos de anillos heterocíclicos fusionados de 7 miembros aparecen en la literatura como sistemas anulares diazepínicos,<sup>3,4</sup> la mejor actividad de estos sistemas fue reportada para varios derivados pirazolodiazepínicos que actúan como agentes psicotrópicos<sup>5,6</sup> y han presentado una buena actividad sobre el SNC<sup>7</sup>.

Los sistemas 1,4-diazepínicos se obtienen a nivel de laboratorio, siguiendo varias rutas sintéticas, entre ellas, la reacción de ciclocondensación de *orto*-diaminas heterocíclicas con compuestos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados. Esta ruta presenta ventajas como la mínima formación de subproductos lo que hace menos compleja la separación del producto final, la fácil preparación de los precursores y el corto tiempo de reacción, el cual, es menor comparado con los reportados en otras metodologías y además, es un factor indispensable en el proceso de la síntesis.

El grupo de investigación en síntesis de compuestos heterocíclicos de la Universidad del Valle, bajo la dirección del Doctor Braulio Insuasty, ha estudiado detalladamente la reacción de ciclocondensación de *orto*-diaminas<sup>8,9</sup> con chalconas como una ruta apropiada para sintetizar anillos diazepínicos fusionados.

Este trabajo de grado, hace parte del continuo interés en la línea de síntesis de diazepinas, desarrollado por el grupo de investigación de compuestos heterocíclicos de la Universidad del Valle.



## 1. OBJETIVOS

### 1.1 OBJETIVO GENERAL

- Sintetizar y caracterizar las 2 y 4-metilendioxfenil-8-fenil-2,3-dihidropirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepinas obtenidas en la reacción de ciclocondensación entre la 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol y la 1 y 3-metilendioxichalconas.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Preparar los precursores de reacción correspondientes al 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol y las 1 y 3-metilendioxichalconas.
- Establecer las condiciones óptimas de la reacción (solvente, temperatura, tiempo).
- Caracterizar los nuevos productos mediante las siguientes técnicas de análisis: IR, RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C mono y bidimensional, espectrometría de masas y difracción de rayos X en algunos casos.
- Proponer un posible mecanismo de reacción en la síntesis de las 2 y 4-metilendioxfenil-8-fenil-2,3-dihidropirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepinas.

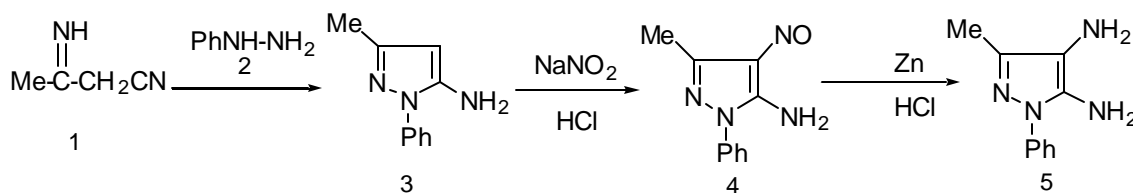
## 2. ANTECEDENTES

En esta sección se presenta una revisión bibliográfica relacionada con las propiedades biológicas y fisicoquímicas de compuestos análogos a las 1,4-diazepinas que se pretende obtener en esta investigación, como también de las metodologías sintéticas que se han reportado para su obtención y algunas de sus aplicaciones.

### 2.1 SINTESIS DE *orto*-DIAMINOPIRAZOLES

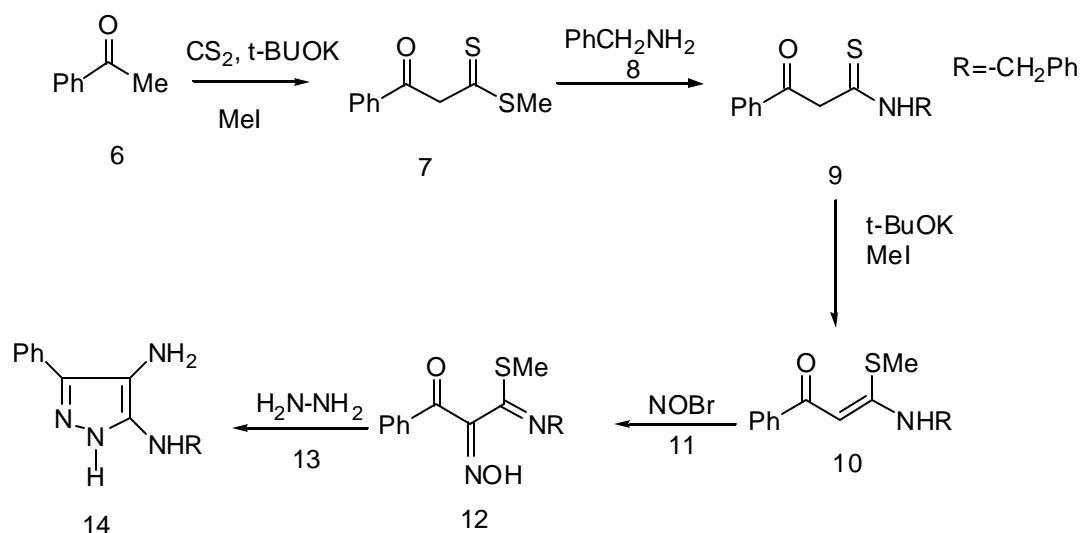
**2.1.1 Síntesis del 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol:** La síntesis del 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) fue reportada por primera vez por Grandberg y Klyuchko.<sup>7</sup> El 3-aminocrotonitrilo (**1**) reacciona con fenilhidrazina (**2**) para producir el 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol (**3**) que al ser nitrosado en presencia de nitrito de sodio y ácido clorhídrico forma el 5-amino-1-fenil-3-metil-4-nitrosopirazol (**4**), posteriormente, el compuesto (**4**) se reduce en presencia de zinc y ácido clorhídrico para obtener el *orto*-diaminopirazol **5** (Esquema 1).

#### ESQUEMA 1



**2.1.2 Síntesis del 4-amino-5-bencilamino-3-fenilpirazol:** El 4-amino-5-bencilamino-3-fenilpirazol (14) es una de las *orto*-diaminas más empleadas en la preparación de pirazolidiazepinas,<sup>8</sup> la cual, se obtiene a través de la reacción de la acetofenona (6) con disulfuro de carbono en medio básico seguido por la S-alquilación con yoduro de metilo para formar el derivado 7 que se condensa con la bencilamina (8) para obtener 9; posteriormente el compuesto 9 es S-alquilado con yoduro de metilo para obtener 10, el cual se nitrosa con 11 para formar la hidroxilamina (12). El *orto*-diaminopirazol 14 se obtiene finalmente al tratar 12 con hidrazina (13) (Esquema 2).

### ESQUEMA 2



## 2.2 OBTENCION DE PIRAZOLO [3,4-*b*][1,4] DIAZEPINAS A PARTIR DE *orto*-DIAMINOPIRAZOLES.

La importancia en la preparación de los derivados de las pirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepinas radica en su uso como agentes antiepilépticos,<sup>9,10</sup> antagonistas del Factor Activador Plaquetario PAF<sup>11,12</sup> entre otros.

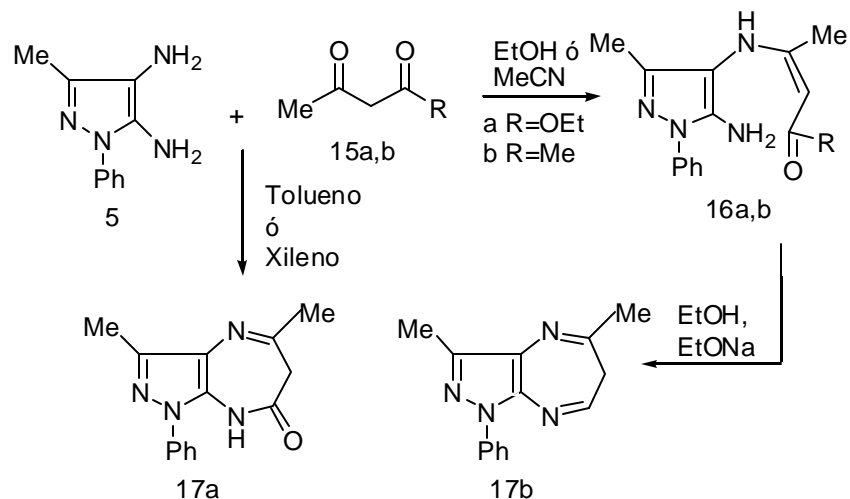
Para sintetizar las pirazolo [3,4-*b*][1,4]diazepinas, descritas a continuación, se emplean los 4,5-diaminopirazoles y precursores que contienen el anillo pirazólico sobre el cual se construye el anillo diazepínico.

Affane-Nguema y colaboradores<sup>13</sup> estudiaron la reacción de ciclación del 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) con acetoacetato de etilo (**15a**) y también con acetilacetona (**15b**) obteniendo un único producto **16a** ó **16b**, respectivamente.

Aunque la reacción procede en una sola etapa al emplear xileno o tolueno por calentamiento a reflujo se observan bajos porcentajes de rendimiento en la reacción (20%).

Posteriormente se encontró que al emplear etanol o acetonitrilo como solventes, la reacción procede en 2 etapas a través del intermedio abierto **16a,b** obteniendo un rendimiento del 90%, la formación de éste producto se debe a un ataque nucleofílico por parte del grupo amino que se encuentra en posición 4 del *orto*-diaminopirazol **5** sobre el grupo carbonilo de **17a** ó **17b**; el intermedio **16a** ó **16b** se cicla por acción del etanol y etóxido de sodio para finalmente obtener la pirazolodiazepína **17a** ó **17b** (Esquema 3).

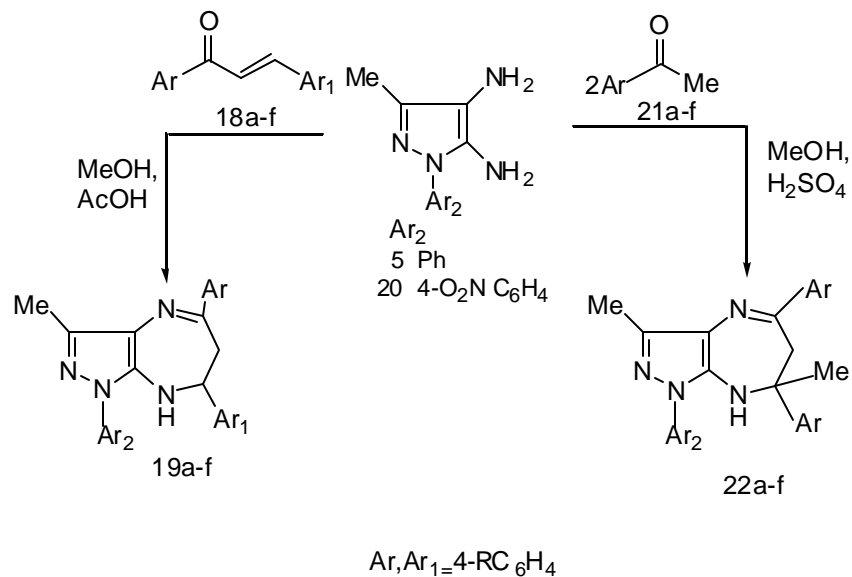
### ESQUEMA 3



Teórica y experimentalmente, se demostró que en los 4,5-diaminopirazoles, la mayor nucleofilicidad entre los grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) la presenta el grupo amino en posición 4,<sup>14,15</sup> por lo anterior, las reacciones de ciclocondensación en medio ácido del *orto*-diaminopirazol **5** con las chalconas **18a-f** y acetofenonas **21a-f** conllevan a la formación regioselectiva de las pirazolodiazepinas **19a-f** y **22a-f** respectivamente, lo anterior se debe a que el grupo amino en posición 4 es mucho más reactivo en presencia de los bielectrófilos utilizados.

De esta manera se obtuvieron los productos **19a-f** y **22a-f** con altos rendimientos (85%); si la reacción se lleva a cabo en medio básico no se realiza ó por el contrario se obtienen muy bajos rendimientos (20%) (Esquema 4).

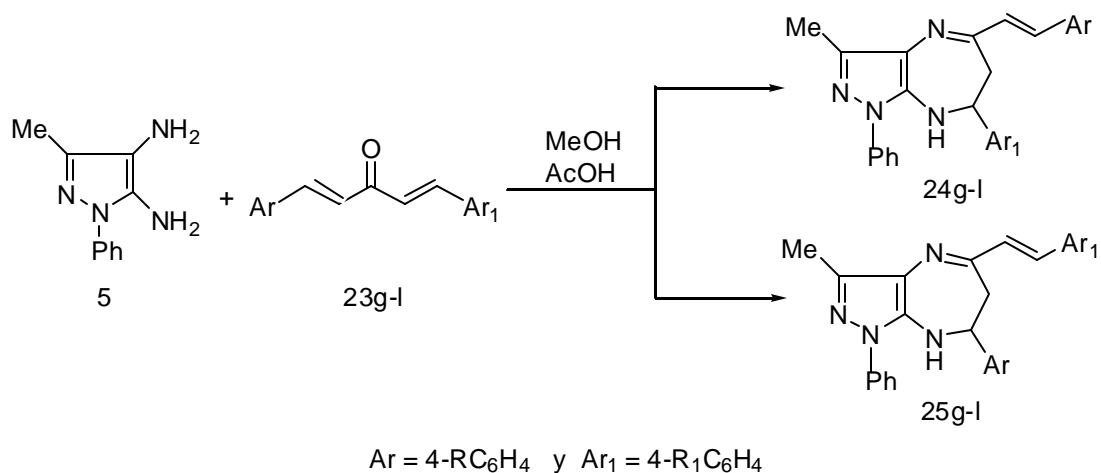
## ESQUEMA 4



| 18-22 | a | b  | c   | d  | e  | f  |
|-------|---|----|-----|----|----|----|
| R     | H | Me | MeO | Br | Cl | NO |

También se estudió la reacción del *orto*-diaminopirazol<sup>16</sup> **5** con las diarildénacetonas simétricas (Ar=Ar<sub>1</sub>) **23a-f** obteniéndose dihidropirazolo[1,4] diazepinas **24a-f**. Si la reacción se realiza con las diarildénacetonas asimétricas (Ar≠Ar<sub>1</sub>) **23g-l** se obtiene una mezcla de regioisómeros pirazolodiazepínicos **24g-l** y **25g-l** difíciles de separar, por ello fue preciso caracterizarlos por medio de técnicas espectroscópicas tales como UV, IR y RMN <sup>1</sup>H (Esquema 5); la formación de los dos regioisómeros se debe a la poca diferencia que hay entre los dos dobles enlaces de las diarildénacetonas **23g-l**.

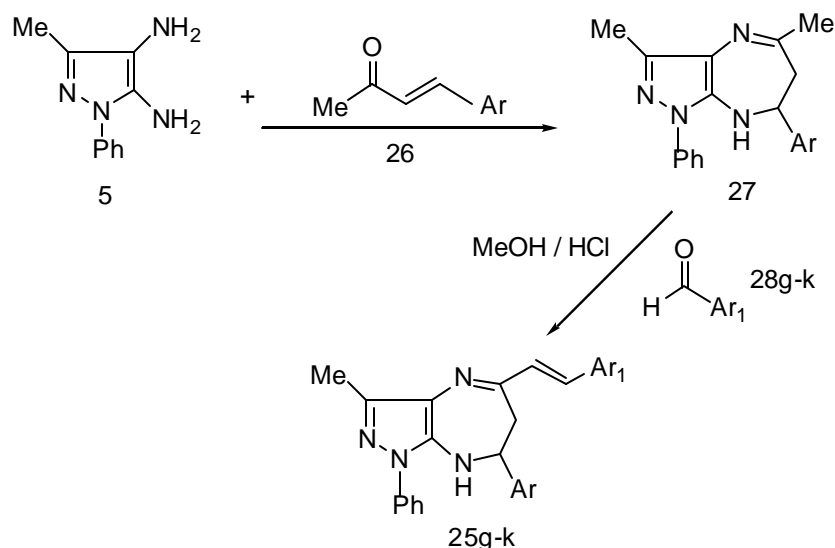
## ESQUEMA 5



| 23                 | a  | b   | c   | d  | e               | f               |
|--------------------|----|-----|-----|----|-----------------|-----------------|
| R y R <sub>1</sub> | H  | Me  | MeO | Br | Cl              | NO <sub>2</sub> |
| 23                 | g  | h   | i   | j  | k               | l               |
| R                  | H  | H   | H   | H  | H               | NO <sub>2</sub> |
| R <sub>1</sub>     | Me | MeO | Br  | Cl | NO <sub>2</sub> | NO <sub>2</sub> |

Los productos individuales **25g-k** se obtuvieron alternativamente a través de la reacción de la diamina **5** con la bencilidénacetona **26** para formar la dihidropirazolodiazepína **27**, la cual por condensación del grupo metilo en posición 4 y los aldehídos aromáticos **28g-k** en medio ácido se transforma al sistema pirazolodiazepínico **25g-k** (Esquema 6).

## ESQUEMA 6



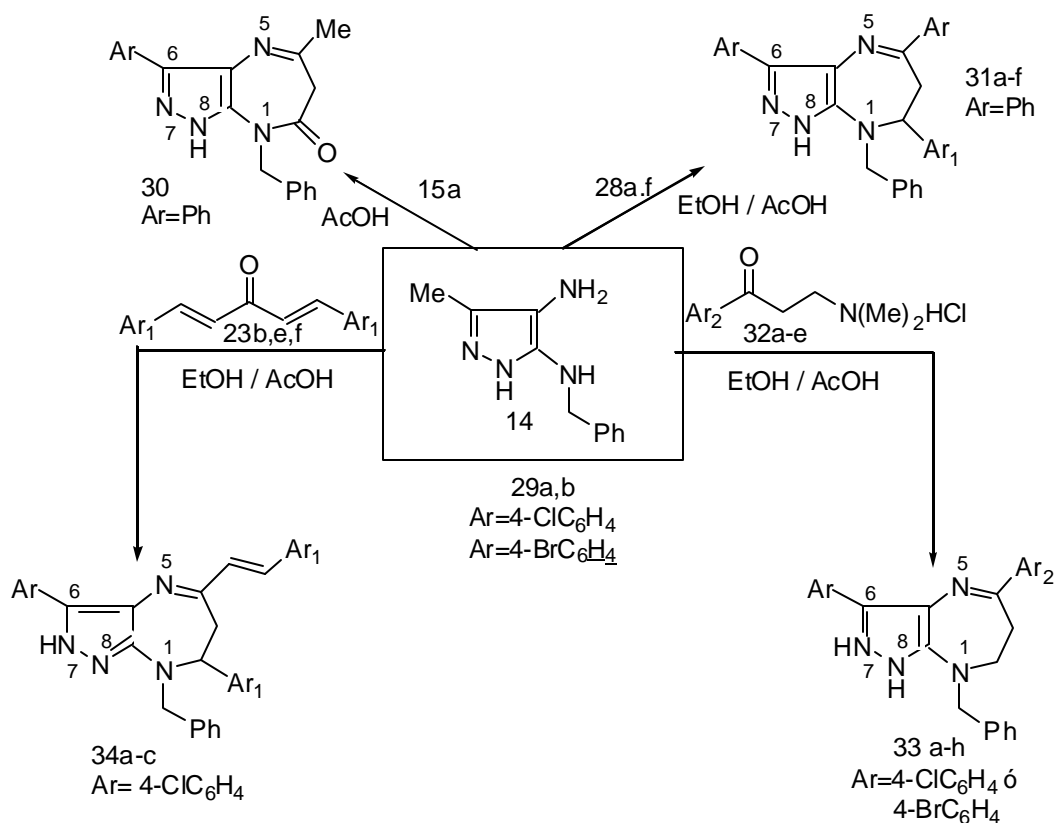
Otros trabajos de investigación<sup>8,16,17</sup> relacionados con la interacción de los orto-diaminopirazoles **14** y **29a-b** con diferentes bielectrófilos como los  $\beta$ -cetoésteres y compuestos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados, condujeron a la síntesis de la pirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepina **30** en la reacción del 4-amino-5-bencilamino-3-fenilpirazol (**14**) con acetoacetato de etilo **15a** en ácido acético realizada por Ila y su grupo,<sup>8</sup> concluyendo junto a Affane-Nguema y colaboradores<sup>13</sup> que esta reacción conlleva a la formación del producto **30** sin la presencia de subproductos.

El grupo de investigación en síntesis de compuestos heterocíclicos de la Universidad del Valle realizaron recientes estudios,<sup>17,18</sup> en los cuales, se llegó a la síntesis del 4-amino-5-bencilamino-3-fenilpirazol (**14**) (Ar=Ph) y los derivados **29a** (Ar=4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) y **29b** (Ar=4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), los cuales interactuaron con las chalconas<sup>17</sup> **18a-f**, las 3-dimetilaminopropiofenonas<sup>19</sup> **32a-e** y las diarildénacetonas simétricas<sup>18</sup> **23b,e,f** en etanol y por calentamiento a reflujo en medio ácido (ácido acético) para así obtener las pirazolo [3,4-*b*][1,4]diazepinas **31a-f**, **33a-h** y **34 a-c** respectivamente (Esquema 7).



Una característica notable de estos sistemas es la influencia de los grupos sustituyentes en la posición *para* de los anillos aromáticos presentes en los compuestos  $\alpha,\beta$ -insaturados. Los productos objetivo se obtienen con rendimientos más altos y tiempos de reacción más cortos por acción de los sustituyentes electroatrayentes (Cl, Br, NO<sub>2</sub>) ocurriendo lo contrario con los grupos electrodonantes (Me, MeO).

### ESQUEMA 7

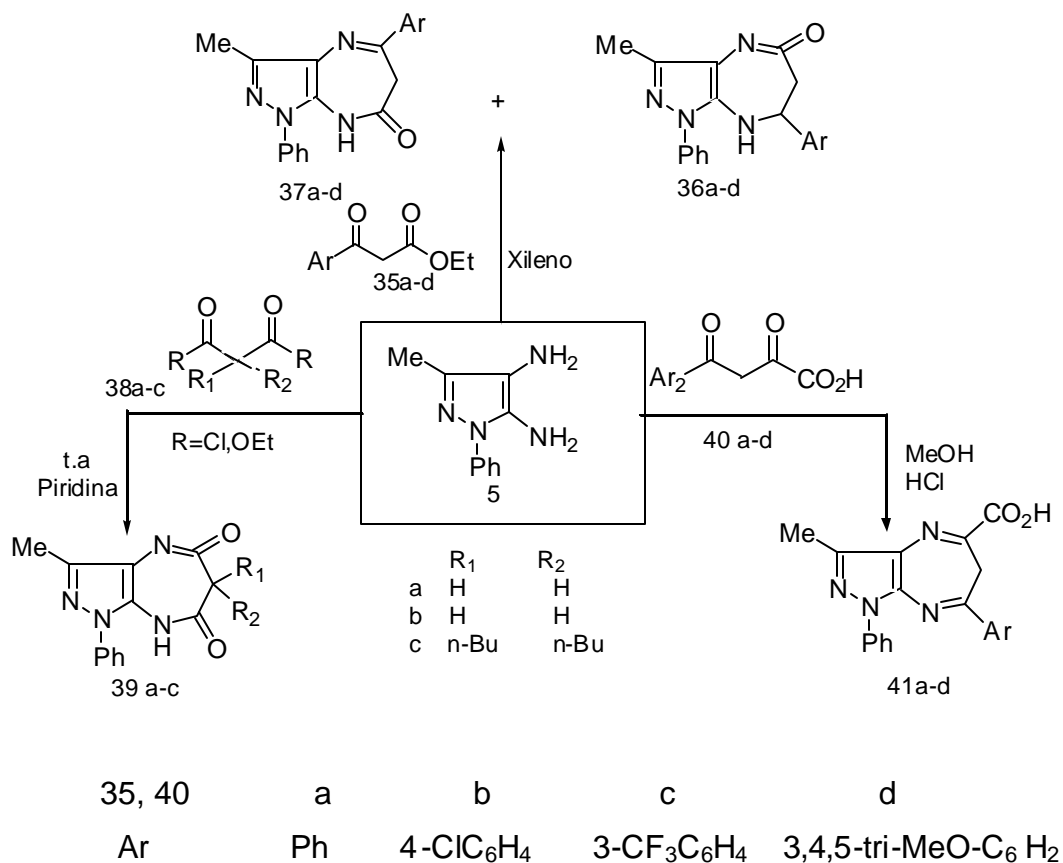


Con base en la importancia biológica que tienen algunas drogas derivadas de las 1,5-benzodiazepinas como el Clobazam A, la cual ha sido empleada en el tratamiento de la epilepsia<sup>20</sup>, Colombo y su grupo<sup>21</sup> diseñaron algunas rutas sintéticas para obtener drogas análogas a la mencionada anteriormente, por ello

reportaron la reacción de ciclocondensación del *orto*-diaminopirazol **5** con acetatos de aroilo **35a-d**, la cual produce pirazolidiazepinas **36a-d** y **37a-d** por calentamiento a reflujo en xileno (Esquema 8), además sintetizaron las pirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepin-5,7-dionas (**39a-c**), mediante una reacción del 4,5-diaminopirazol **5** con los derivados malónicos **38a-c** en piridina a temperatura ambiente (Esquema 8).

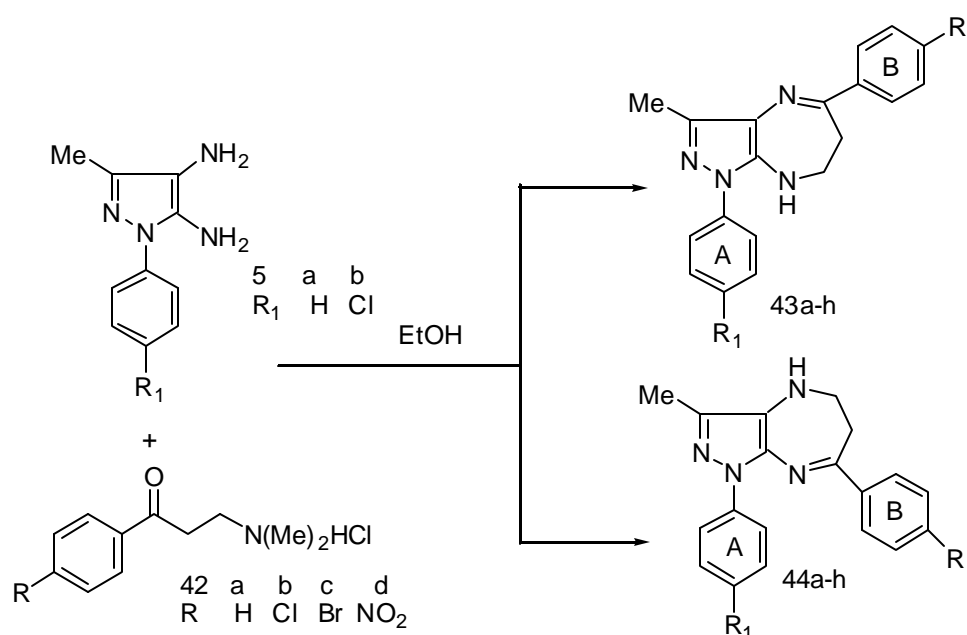
Sistemas análogos fueron sintetizados por Yamborisov y colaboradores<sup>22</sup> involucrando los 4,5-diaminopirazoles **5** con los ácidos aroilpirúvicos **40 a-c** en presencia de HCl en cantidades catalíticas, obteniendo las pirazolidiazepinas **41 a-d** (Esquema 8).

### ESQUEMA 8



En el grupo de investigación<sup>23</sup> en Síntesis de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad del Valle se sintetizaron los sistemas 2,3-dihidropirazolo diazepínicos **43** y **44** a partir de la interacción del 4,5-diamino-1-aryl-3-metilpirazoles (**5a-b**) y las 3-dimetilaminopropiofenonas (**43a-d**); los dos productos obtenidos fueron separados y caracterizados individualmente (Esquema 9).

### ESQUEMA 9

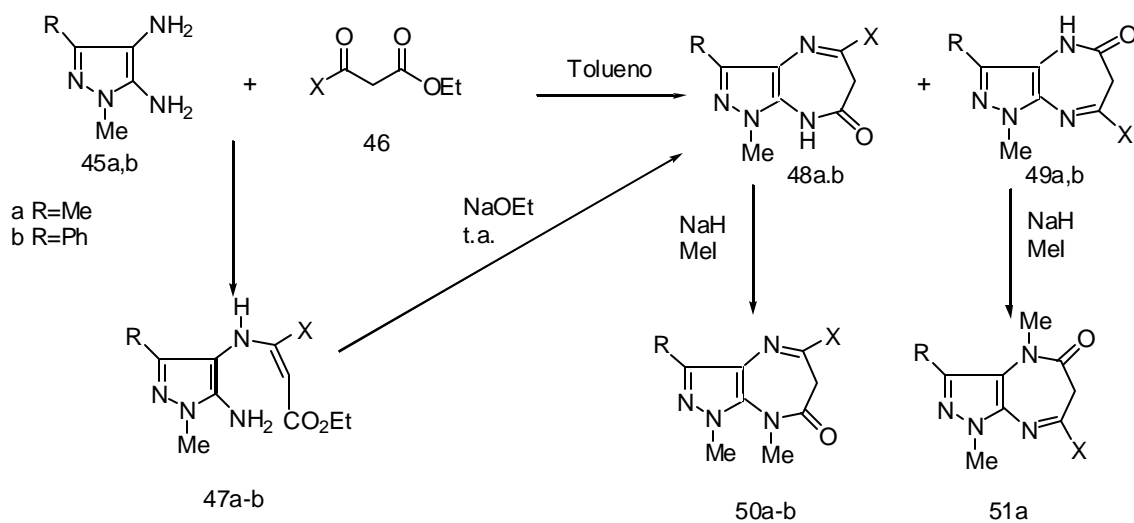


Fray y su grupo<sup>1</sup> reportaron la reacción de ciclación de los 4,5-diaminopirazoles **45a-b** con el β-cetoéster **46** en tolueno por calentamiento a reflujo, obteniendo la mezcla de las pirazolo [3,4-*b*][1,4]-diazepínonas **48a,b** y **49a-b** además de los productos **47a-b** que fueron ciclados con etóxido de sodio para obtener las pirazolidiazepinas **48a-b** (Esquema 10).

Las pirazolidiazepinas **48a-b** y **49a-b** posteriormente fueron metiladas con yoduro de metilo e hidruro de sodio obteniéndose de esta manera los derivados **50a-b** y

**51a-b** respectivamente, los cuales fueron separados por **CC** y caracterizados por métodos espectroscópicos.

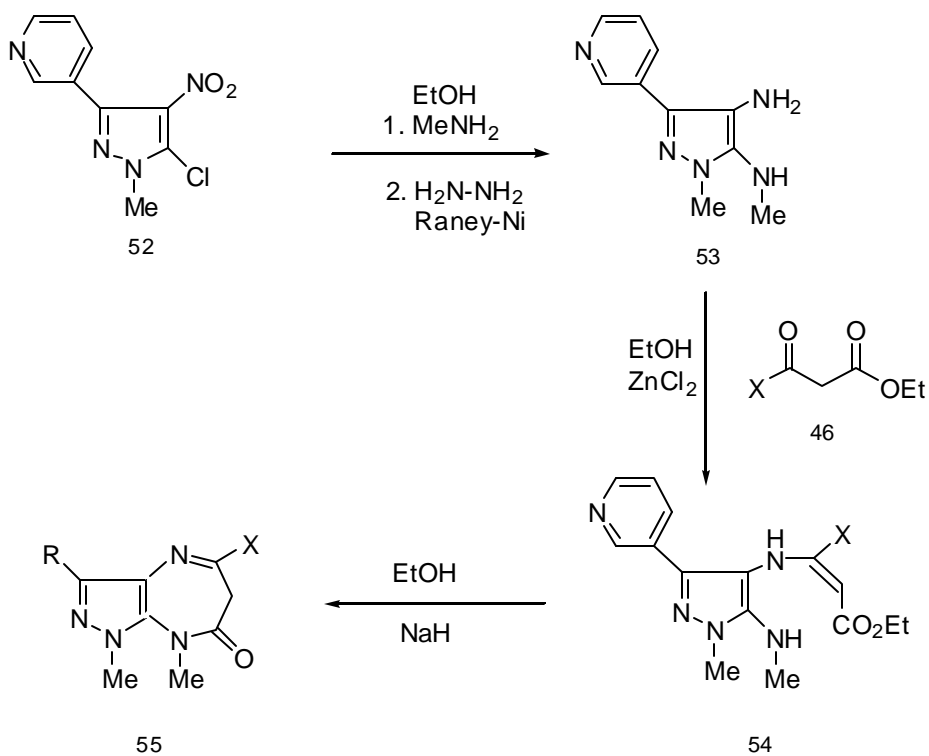
### ESQUEMA 10



X= 4-(2-metilimidazo [4,5-c]pirido-1-il)-fenilo

Con el fin de analizar la influencia en la actividad biológica que presentan otros grupos sustituyentes sobre el anillo pirazólico se sintetizaron por una ruta alterna la pirazolodiazepína **55** utilizando los 5-cloro-4-nitropirazoles **52** como precursores de reacción (Esquema 11).

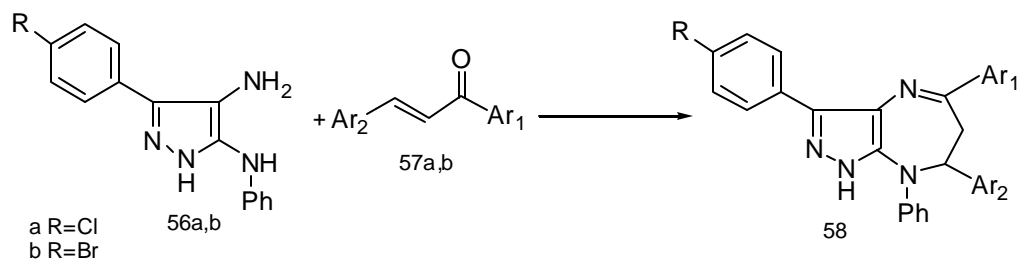
### ESQUEMA 11



X = 4-(2-metilimidazo[4,5-c]pirido-1-il)-fenilo

Insuasty, y colaboradores, estudiaron la condensación de las chalconas **57** con los 4,5-diaminopirazoles **56a,b**,<sup>14</sup> obteniendo así el sistema pirazolodiazepínico **58** (Esquema 12).

### ESQUEMA 12



### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

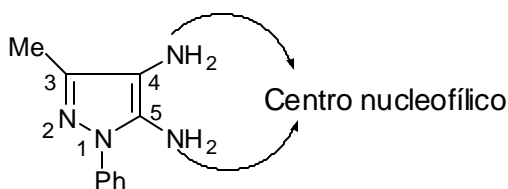
Las propiedades de las 1,4-pirazolodiazepinas descritas en el capítulo de antecedentes, su importancia a nivel biológico, farmacológico y agroquímico, como también las propiedades químicas de sus precursores, despertaron nuestro interés para realizar estudios encaminados a ampliar y explorar metodologías que conduzcan a la síntesis de nuevos derivados de estos sistemas que potencialmente pueden poseer propiedades biológicas similares a los ya existentes.

De acuerdo a lo anterior se plantea en esta investigación obtener nuevos derivados de las 2 y 4-metilendioxifenil-8-fenil-2,3-dihidropirazolo[3,4b][1,4] diazepinas a partir de la reacción de ciclocondensación entre el 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol, ampliamente utilizado en la obtención de este tipo de sistemas, y las 1 y 3-metilendioxichalconas, para posteriormente realizar el estudio de su posible actividad farmacológica.

Por otro lado, se pretende determinar si en la reacción propuesta existe algún tipo de regioselectividad en la formación de los productos finales, lo cual, es posible por las características químicas que presentan los precursores.

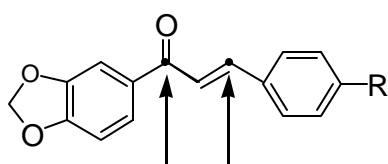
El 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol posee dos centros altamente reactivos correspondientes a los grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) en posición 4 y 5, a través de los cuales se pueden realizar reacciones de ciclocondensación con 1,3-bielectrófilos para formar el anillo diazepínico<sup>22</sup>, (figura 1).

**Figura 1.** Centros reactivos del 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol.



Por otra parte, las metilendioxichalconas **59a-d** y **60a-d**, que se utilizarán como precursores en esta investigación, presentan 2 centros electrofílicos: el grupo carbonilo (C=O) y el carbono  $\beta$  respecto al carbonilo (figura 2).

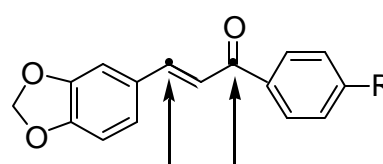
**Figura 2.** Centros reactivos de las chalconas **59a-d** y **60a-d**.



**Centros electrofílicos**

1-(1,3-benzodioxol-5-il)-  
3-(Aryl)-2-propen-1-ona

**59a-d**



**Centros electrofílicos**

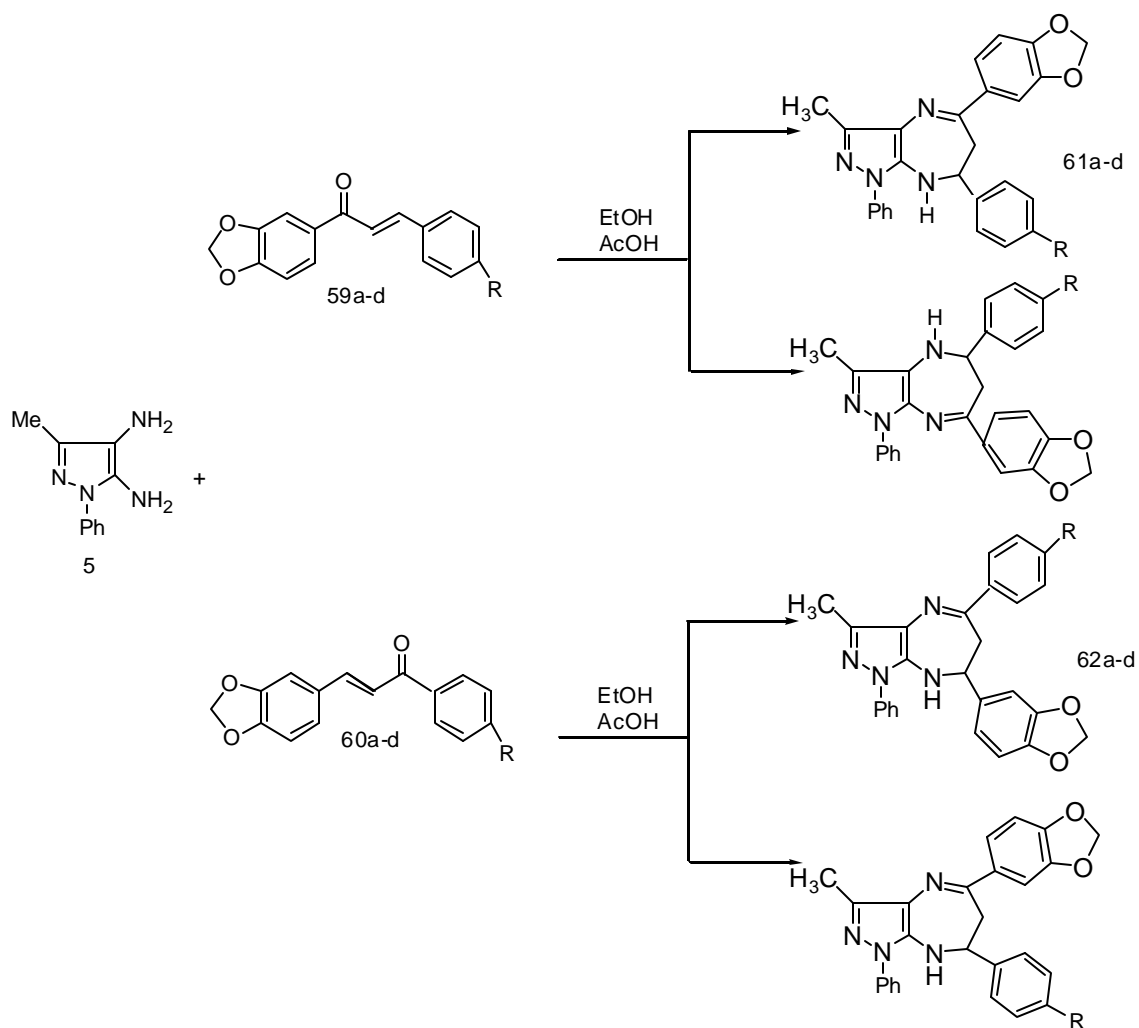
3-(1,3-benzodioxol-5-il)-  
1-(Aryl)-2-propen-1-ona

**60a-d**

|       |   |    |    |                 |
|-------|---|----|----|-----------------|
| 59-60 | a | b  | c  | d               |
|       | R | Cl | Br | NO <sub>2</sub> |
|       |   |    |    | H               |

Por lo anterior, se plantea ampliar el estudio del comportamiento químico de las metilendioxichalconas en reacción de ciclocondensación con la 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol para producir nuevos derivados de las 1,4-diazepinas (Esquema 13) que son de gran interés debido a la posible actividad farmacológica<sup>1,7, 24, 25</sup> que pueden presentar al realizar su respectivo estudio.

### ESQUEMA 13



Resulta interesante obtener derivados 1,4-diazepínicos que presenten como sustituyentes al grupo metilendioxi y a su vez contengan una variedad de sustituyentes aromáticos que aumenten su posible actividad biológica e igualmente es interesante estudiar si el tipo de sustituyente aromático proveniente de la chalcona afecta la velocidad y el rendimiento de las reacciones de obtención de estos sistemas.



Por lo anterior, este trabajo incluye la optimización de las condiciones de reacción como: solvente, medio, temperatura y tiempos de reacción. Además, la caracterización de los productos finales y el estudio de la regioselectividad de la reacción por medio de las técnicas espectroscópicas **IR**, **RMN <sup>1</sup>H** y **<sup>13</sup>C** mono y bidimensional, espectrometría de masas y en algunos casos difracción de rayos **X**.

Con el fin de evaluar la posible actividad biológica de los nuevos compuestos sintetizados, se suministrarán a laboratorios especializados algunas muestras obtenidas en este trabajo.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo de investigación se encuentran divididos en 3 partes; la primera parte comprende la obtención de las dos series de compuestos en la reacción entre el 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) con los derivados de las chalconas **59a-d** y **60a-d**. En la segunda parte, se describe detalladamente el análisis espectroscópico de las estructuras de los nuevos compuestos caracterizados por las técnicas IR, RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  mono y bidimensional tomando como ejemplo un compuesto por serie de reacción y en una tercera parte, se presenta los resultados del estudio de actividad biológica de las diazepinas como agentes antifúngicos.

Cabe destacar que en cada serie de reacción se realiza una discusión general del comportamiento químico de los precursores y de las características fisicoquímicas de los productos obtenidos; de la misma forma se plantea un posible mecanismo de reacción. Finalmente se presentan los datos experimentales involucrados en la obtención de los productos finales.

### 4.1 OBTENCIÓN DE LAS 2 Y 4-METILENDIOXI-8-FENIL-6-METIL-2,3-DIHIDROPIRAZOLO[3,4-*b*][1,4]DIAZEPINAS **61a-d** y **62a-d**.

Para estudiar la reacción de ciclocondensación entre el 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) y las chalconas 1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-*aril*-2-propen-1-ona (**59a-d**) y 3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-*aril*-2-propen-1-ona (**60a-d**), se requiere analizar la interacción entre los grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) del *orto*-diaminopirazol **5** con el grupo carbonilo ( $\text{C}=\text{O}$ ) y el carbono  $\beta$  presentes en las metilendioxi-chalconas **59a-d** y **60a-d**.

Es así, como los grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) de la 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) son centros reactivos de carácter nucleofílico y reaccionan con compuestos que poseen en su estructura centros electrofílicos, como es el caso de las metilendioxicalconas **59a-d** y **60a-d**, respectivamente. Por lo tanto, es de interés estudiar la interacción de los grupos amino y carbonilo al someterse en reacción de ciclocondensación y analizar si su comportamiento se mantiene o varía en cada serie.

Para realizar este estudio, se prepararon los precursores de reacción para la primera serie de compuestos: el *orto*-diaminopirazol **5** y las metilendioxicalconas **59a-d**. Como ninguno se encuentra disponible comercialmente, se los obtuvo modificando los métodos reportados por Grandberg<sup>10</sup> y Wattanasin<sup>27</sup>.

Tomando como referencia los estudios realizados por nuestro grupo de investigación, se llevó a cabo la reacción entre la 4,5-diaminopirazol **5** y las metilendioxicalconas **59a-d** empleando etanol como solvente, por ser el adecuado en la formación de los productos objetivo y ácido acético glacial (1ml) como catalizador.

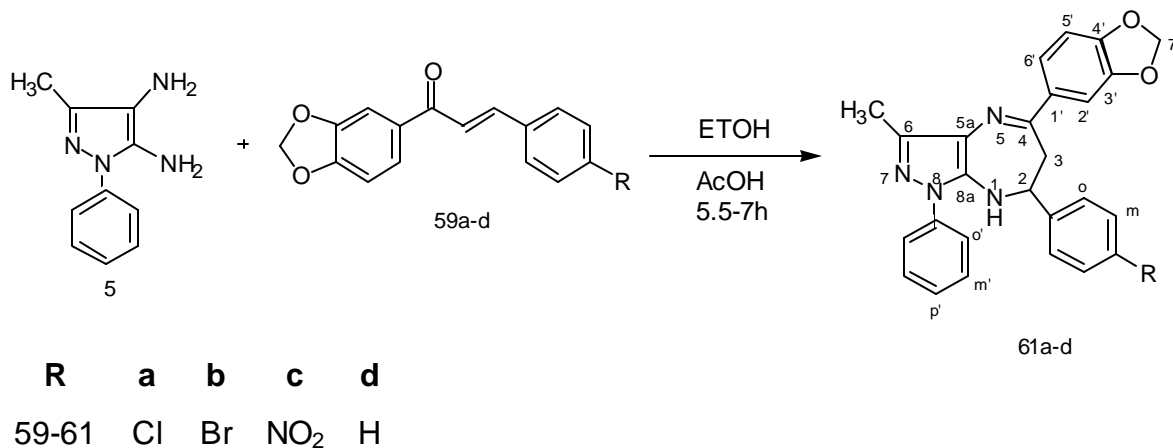
Así, el calentamiento a reflujo de cantidades equimolares de la 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) con las metilendioxicalconas **59a-d** en etanol absoluto y ácido acético, condujo a la formación de los 8-fenil-4-metilendioxifenil-2,3-dihidropirazol[3,4-*b*][1,4]diazepinas (**61a-d**) como único producto de reacción. La ciclación se monitoreó por CCD (Esquema 14).

Para neutralizar el AcOH presente en la solución, se empleó  $\text{NH}_4\text{OH}$ , el cual provoca la precipitación del producto final.

Los productos obtenidos, son sólidos estables de color amarillo, solubles a temperatura ambiente en cloroformo y medianamente solubles con un suave

calentamiento en EtOH, DMF, DMSO y acetato de etilo, e insolubles en hexano y benceno.

### ESQUEMA 14



Las propiedades fisicoquímicas de los compuestos **61a-d**, aparecen reportadas en la tabla 1.

**Tabla 1.** Características fisicoquímicas de los compuestos **61a-d**.

| Compuesto<br>61 | R               | p.f.<br>(°C) | Rend.<br>(%) | Tiempo de<br>reacción (h) |
|-----------------|-----------------|--------------|--------------|---------------------------|
| a               | Cl              | 189          | 73           | 7                         |
| b               | Br              | 210          | 57           | 6                         |
| c               | NO <sub>2</sub> | 229          | 43           | 5.5                       |
| d               | H               | 177          | 96           | 6.5                       |

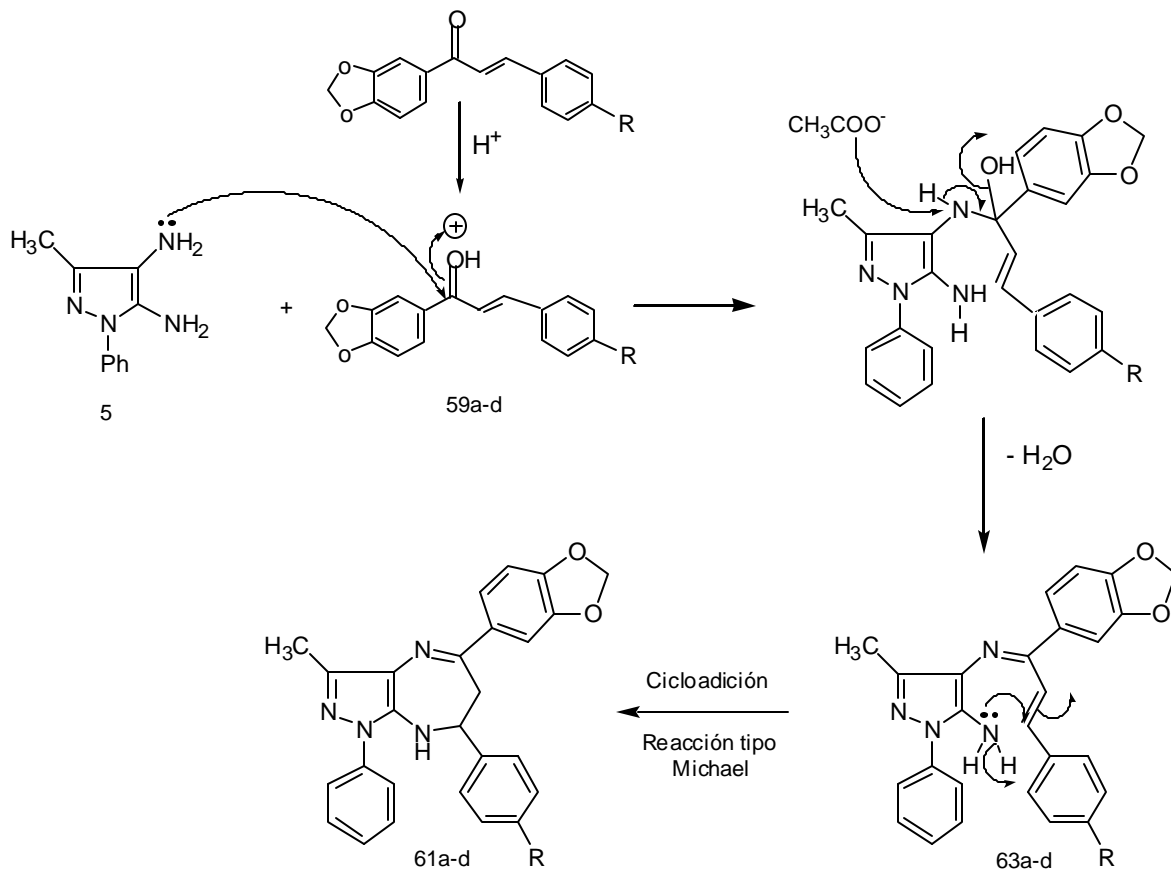
En general, los nuevos compuestos de esta serie se obtuvieron en tiempos de reacción cortos y con rendimientos altos a excepción del compuesto **61c** (R=NO<sub>2</sub>) (43%). Cabe anotar que cuando el sustituyente en el anillo aromático de la chalcona es el grupo nitro (NO<sub>2</sub>) la reacción es más rápida; sin embargo, el bajo rendimiento del producto puro, se debe a su baja solubilidad en diferentes solventes, hecho que dificulta su purificación.

Una característica importante de esta reacción es su alta regioselectividad, ya que de dos regioisómeros posibles, se obtuvo solo uno, hecho que se atribuye a la mayor nucleofilicidad del grupo amino en posición 4 sobre el grupo amino en posición 5 en la molécula del 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**). Además, es conocido que en medio ácido las chalconas aumentan la reactividad del grupo carbonilo (C=O), convirtiéndolo en el sitio más electrofílico, incluso, más que el carbono β.

Por lo tanto, se concluye que, las reacciones de ciclocondensación en medio ácido del orto-diaminopirazol **5** con las metilendioxicalconas **59a-d** conducen a la formación regioselectiva de las 1,4-pirazolodiazepínas **61a-d** con rendimientos de reacción de moderados a altos.

Una posible ruta de ciclación en la formación de los nuevos compuestos **61a-d**, sugiere un ataque inicial del grupo amino (NH<sub>2</sub>) en posición 4 del orto-diaminopirazol **5** sobre el carbono carbonilo (C=O) de la metilendioxicalcona **59a-d** obteniendo el intermedio azometínico **63a-d**. Posteriormente, una adición tipo Michael del grupo amino en posición 5 sobre el carbono β del doble enlace presente en el intermedio conduce a los compuestos objetivo (Esquema 15).

## ESQUEMA 15



Aunque los estudios realizados por nuestro grupo de investigación demuestran que la reacción entre la orto-diaminopirazol **5** con compuestos que poseen centros electrofílicos fuertes como el grupo carbonilo ( $C=O$ ) presente en las chalconas es regioselectiva, fue necesario sintetizar una segunda serie pirazolidiazepínica análoga a la ya descrita, con el fin de comprobar si la regioselectividad de la reacción podría presentarse si se varía la estructura de la chalcona, por lo cual, se resolvió preparar una nueva serie de metilendioxicalconas **60a-d** que a diferencia de las chalconas **59a-d** presentan el grupo carbonilo ( $C=O$ ) unido al grupo arilo en lugar del grupo metilendioxifenil.

Es así, como la segunda serie de compuestos fue sintetizada siguiendo la metodología aplicada en la serie 1, de igual manera fue necesario obtener inicialmente los precursores de reacción puesto que comercialmente no se encuentran disponibles, estos corresponden a la 4,5-diamino- 1-fenil- 3-metilpirazol (**5**) y a la 3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-aril-2-propen-1-ona (**60a-d**), los cuales se prepararon teniendo en cuenta las modificaciones aplicadas en la serie 1.

De igual manera los precursores se sometieron a reacción por calentamiento a reflujo en cantidades equimolares, empleando etanol absoluto como disolvente y ácido acético (1ml) como catalizador. La reacción fue controlada por cromatografía de capa delgada, y al igual que en el caso anterior, condujo a la formación de un único producto correspondiente a las 2-metilendioxifenil-8-fenil-2,3-dihidropirazol[3,4-*b*][1,4]diazepinas (**62a-d**).

Los nuevos sistemas 1,4-pirazolodiazepínicos obtenidos, son sólidos estables, de color amarillo, a excepción del compuesto **62c (R=NO<sub>2</sub>)**, el cual tiene un intenso color naranja, solubles a temperatura ambiente en CHCl<sub>3</sub> y con un ligero calentamiento en EtOH, DMF, DMSO y ACOEt, e insolubles en Hexano y Benceno.

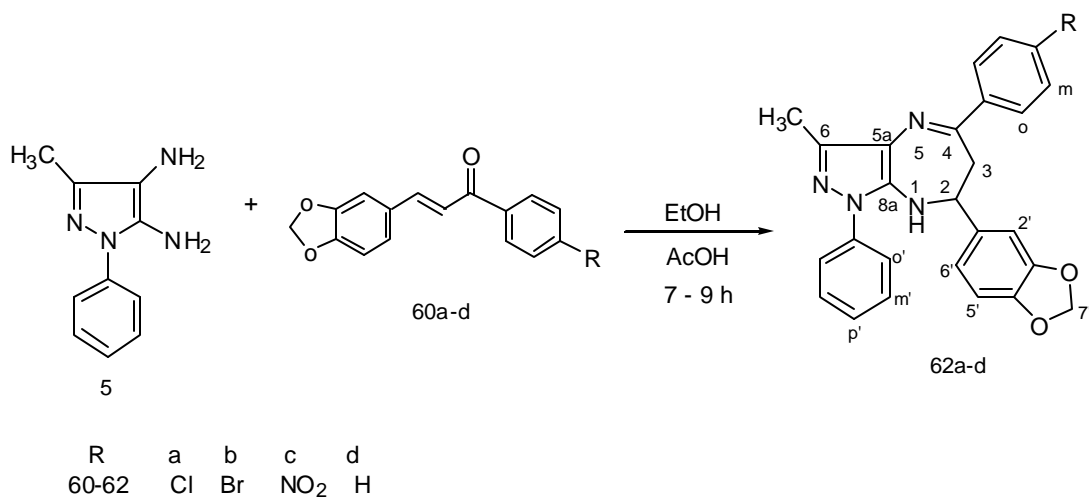
En la tabla 2 se describen las propiedades físicoquímicas de los compuestos **62a-d**.

**Tabla 2.** Características fisicoquímicas de los compuestos **62a-d**.

| Compuesto<br>62 | R                     | p.f.<br>(°C) | Rend.<br>(%) | Tiempo de<br>reacción (h) |
|-----------------|-----------------------|--------------|--------------|---------------------------|
| <b>a</b>        | <b>Cl</b>             | 194          | 95           | 9                         |
| <b>b</b>        | <b>Br</b>             | 198          | 87           | 7                         |
| <b>c</b>        | <b>NO<sub>2</sub></b> | 265          | 87           | 8                         |
| <b>d</b>        | <b>H</b>              | 136          | 70           | 8.5                       |

La reacción general para esta serie se observa en el esquema 16.

**ESQUEMA 16**





Como se puede observar, los compuestos de esta serie se obtuvieron en tiempos de reacción cortos y similares entre sí. Además, los altos rendimientos de reacción (70-95%) se deben a que los precursores reaccionan casi totalmente entre sí y el producto final fue fácilmente recristalizado de EtOH.

En esta reacción también se encontró que los centros reactivos de los compuestos **62a-d** coinciden con los de los compuestos **61a-d**: los grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) en posición 4 y 5 del *orto*-diaminopirazol **5** y el grupo carbonilo de la 3-metilendioxicalcona **60a-d**; además, una característica de estas reacciones es que el ataque nucleofílico del grupo amino es específico sobre el carbono carbonílico ( $\text{C}=\text{O}$ ) y no sobre el carbono  $\beta$ , aunque los dos son centros electrofílicos. El carbono carbonílico presenta mayor electrofilicidad debido a la acción ejercida por el medio (ácido). Cabe anotar que los sustituyentes (Cl, Br,  $\text{NH}_2$ , H) y el grupo arilo conectado directamente al grupo carbonilo en las chalconas, prácticamente no influyen en la electrofilicidad del carbonilo.

De esta manera se plantea una ruta de ciclación análoga al de la primera serie de compuestos, en donde el ataque nucleofílico es iniciado por el grupo amino en posición 4 sobre el carbono carbonílico ( $\text{C}=\text{O}$ ) de la chalcona **60a-d** seguido por una adición tipo Michael del grupo amino en posición 5 sobre el doble enlace de la 3-metilendioxicalcona **60a-d**.

De acuerdo con la estructura de los derivados pirazolodiazepínicos obtenidos en la presente serie de compuestos y la elucidada para la primera, se observa una marcada analogía entre ellos, aunque la **CCD** muestra la formación de un único producto, se verificó la regioselectividad de la reacción con los espectros tomados a los compuestos y el análisis respectivo de los mismos.

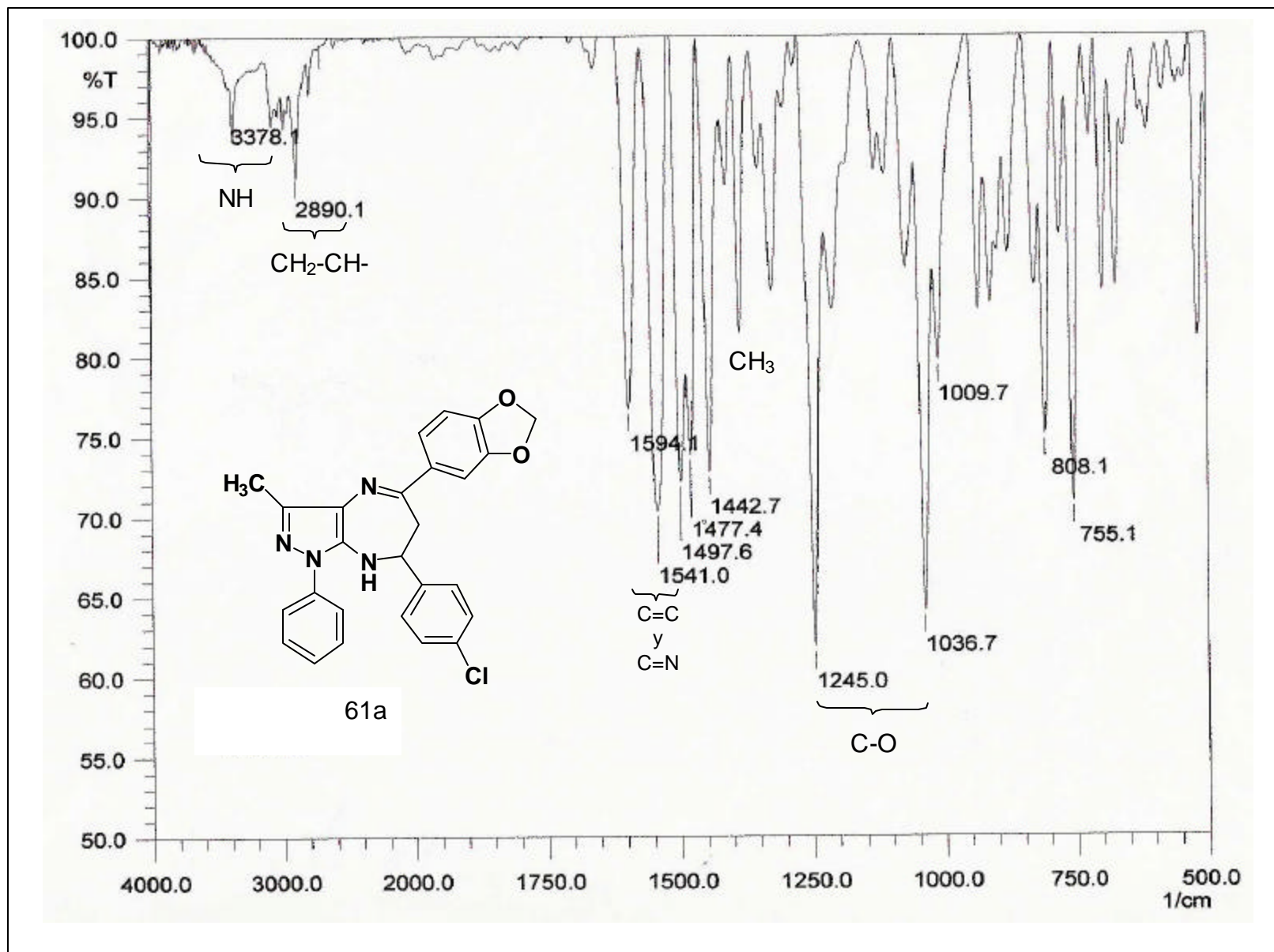
#### 4.1 ANALISIS ESPECTROSCÓPICO

El análisis espectroscópico para las dos series de compuestos se realizó con base en las técnicas espectroscópicas **IR**, **RMN <sup>1</sup>H** y **<sup>13</sup>C** mono y bidimensional, espectrometría de masas y difracción de rayos **X** en algunos casos, para ello se tomó como ejemplo un compuesto por serie **61a** y **62d** respectivamente, este análisis será paralelo entre las dos series con el fin de comparar la estructura de cada compuesto.

Además de confirmar la estructura de los productos de reacción, las técnicas espectroscópicas utilizadas son una herramienta fundamental para determinar la regioselectividad de cada reacción.

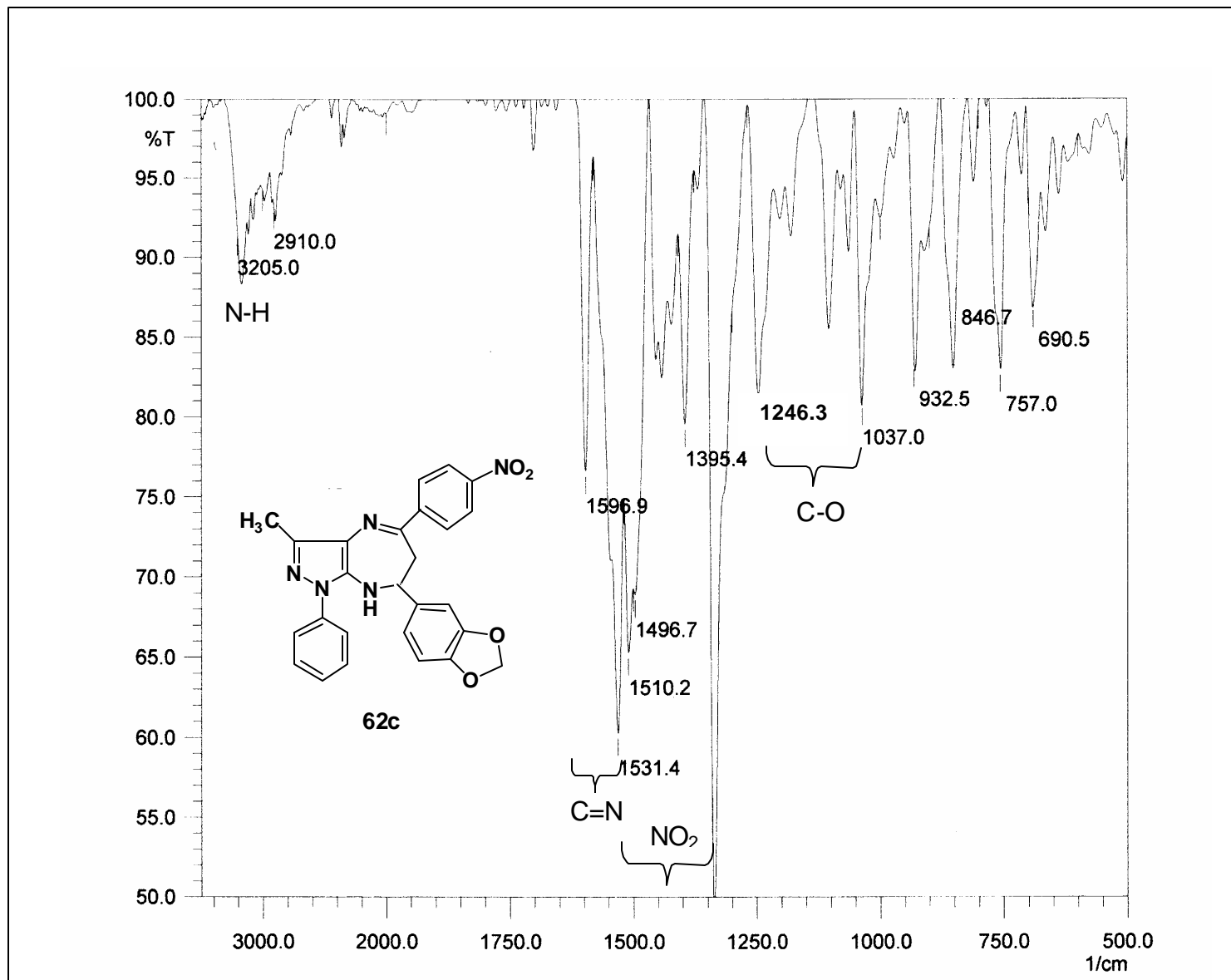
El espectro **IR** del compuesto **61a** (Figura 3), tomado en pastillas de KBr, indica la presencia de los grupos funcionales presentes en el nuevo compuesto, de esta manera se observa una banda a  $3378\text{ cm}^{-1}$  asociada con la vibración de tensión del grupo N-H, otra en  $1594\text{ cm}^{-1}$  asociada a la vibración de tensión del enlace azometínico C=N. En  $1036$  y  $1245\text{ cm}^{-1}$  se presentan dos bandas intensas correspondientes a la vibración de tensión simétrica y asimétrica de los grupos C-O presentes en el anillo metilendioxi.

Figura 3. Espectro IR del compuesto 61a.



El espectro **IR** del compuesto **62c** (figura 4) presenta bandas muy similares con relación al espectro del compuesto **61a** como la asociada a la vibración de tensión del grupo N-H amínico en  $3205\text{ cm}^{-1}$ , una banda en  $1596\text{ cm}^{-1}$  asociada a la vibración de tensión del enlace azometínico C=N y dos bandas en  $1037$  y  $1246\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los enlaces C-O del grupo metilendioxi. Además, se observan las bandas típicas para el sustituyente  $\text{NO}_2$  en  $1395\text{ cm}^{-1}$  y  $1531\text{ cm}^{-1}$ .

Figura 4. Espectro IR del compuesto



Los espectros de **RMN <sup>1</sup>H** y **<sup>13</sup>C** mono y bidimensionales del 2-(4-Clorofenil)-8-fenil-6-metil-4-(3,4-dioximetilfenil)-2,3-dihidropirazol[3,4-*b*][1,4]diazepina (**61a** **R=Cl**), se discutirán en esta primera serie. Los compuestos **61b-d** presentan espectros similares, por lo tanto sus datos se registran en la sección experimental.

Las señales más características en el espectro **RMN <sup>1</sup>H** del compuesto **61a** (figura 5) aparecen a 2.24 ppm (s,3H) de los protones del grupo metilo en posición 6. Se observan las señales del sistema **AMX**, correspondiente al acoplamiento entre los protones en posición 2 y 3, el protón H<sub>A</sub> (d,1H) se observa como un doblete ancho a 2.71 ppm, el protón H<sub>M</sub> (dd,1H) a 3.95 ppm como un doblete y el protón H<sub>X</sub> (t,1H) a 4.99 ppm como un triplete. También se observa la señal del grupo amino a 6.97 ppm (d,1H) como un doblete indicando el acoplamiento de este grupo con el protón en posición 2 (H<sub>X</sub>).

La señal de los protones del grupo metileno en posición 7' aparece como un singlete a 6.00 ppm, en ella se observa el desplazamiento de estos hacia campo bajo debido al efecto inductivo ejercido por los oxígenos a los cuales se encuentra conectado.

El resto de las señales para los protones en el espectro **RMN <sup>1</sup>H** corresponden a los protones aromáticos del compuesto (figura 5).



El espectro de **RMN <sup>13</sup>C** del compuesto **61a** (Figura 6) presenta las señales de los 22 carbonos no equivalentes presentes en la estructura. Uno del grupo metilo, dos de los grupos metilenos en posiciones 3 y 7', ocho CH aromáticos y un CH del anillo diazepínico y 10 carbonos cuaternarios, corroborando la estructura planteada.

Con las técnicas bidimensionales **HSQC** y **HMBC** se asignaron todos los protones y carbonos del compuesto **61a**.

Con la técnica **HSQC** se asignaron correctamente las señales de los carbonos correspondientes a: 11.4 ppm (C del grupo metilo), a 55.2 ppm (C-2), a 39.2 ppm (C-3), a 101.1 ppm (C-7'), a 125.6 ppm y 131 ppm (C-orto, C-meta y C-para del grupo arilo en posición 4), a 123.3 ppm, 126.3 ppm y 129.2 ppm (C-orto, C-meta y C-para del grupo fenilo en posición 8), (figura 7).



Figura 6. Espectro RMN <sup>13</sup>C del compuesto 61a.

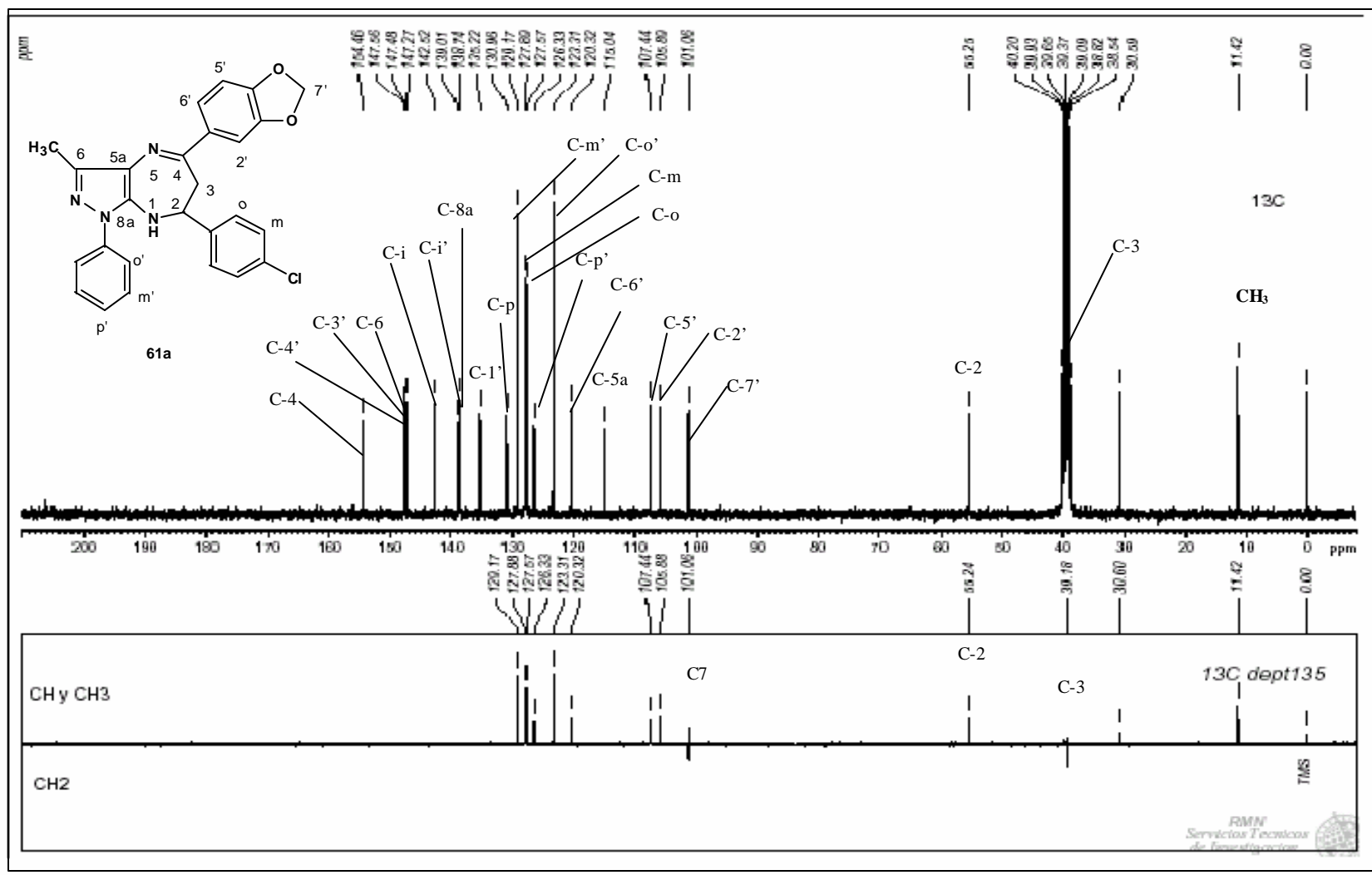
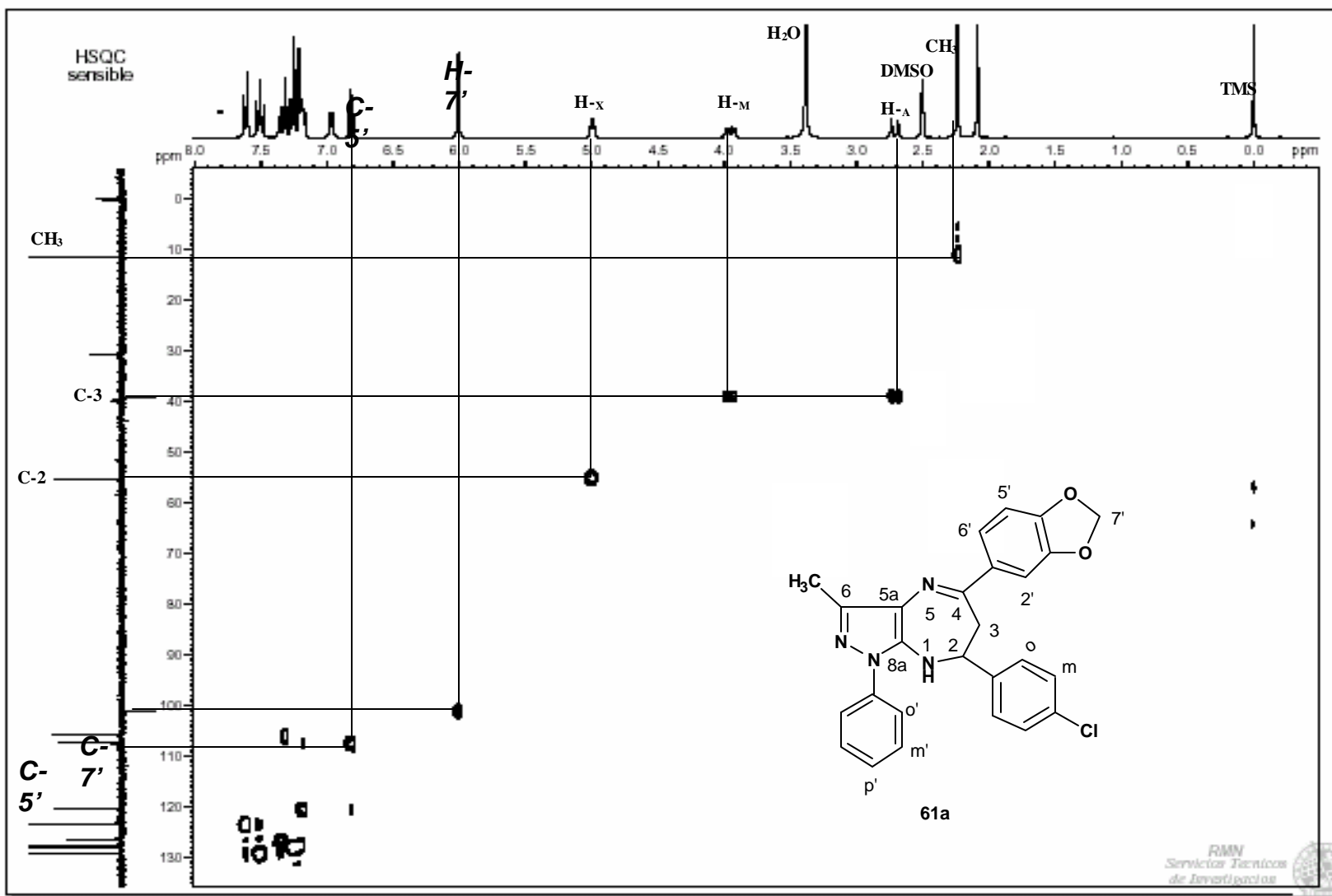


FIGURA 7. Espectro HSQC del compuesto 61a.



Las principales correlaciones carbono-protón a 2 y 3 enlaces encontradas en el espectro **HMBC** (figura 8) fueron suficientes para confirmar la estructura del compuesto **61a** y establecer la formación regioselectiva del mismo. Así, el carbono 5a acopla a tres enlaces con los protones del grupo metileno, el carbono 8a acopla a 3 enlaces con el protón H<sub>X</sub> y el carbono 4 acopla a dos enlaces con el protón H<sub>A</sub> y H<sub>M</sub> y a 3 enlaces con los protones 2', 6' y H<sub>X</sub>, el carbono 2 acopla a dos enlaces con los protones H<sub>A</sub> y H<sub>M</sub> y a 3 enlaces con el protón *orto* del grupo arilo, el carbono 1' acopla con el protón H<sub>A</sub> a 3 enlaces. En la tabla 5 se observan otras correlaciones importantes carbono-protón para el compuesto en mención.

**Tabla 3.** Correlaciones carbono-protón a dos (<sup>2</sup>J) y tres (<sup>3</sup>J) enlaces del compuesto **61a** presentes en el espectro **HMBC**.

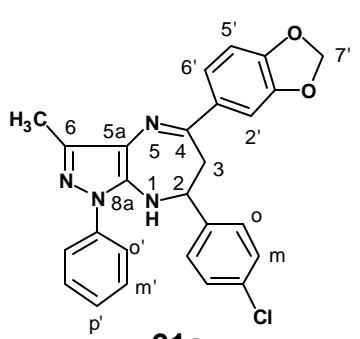
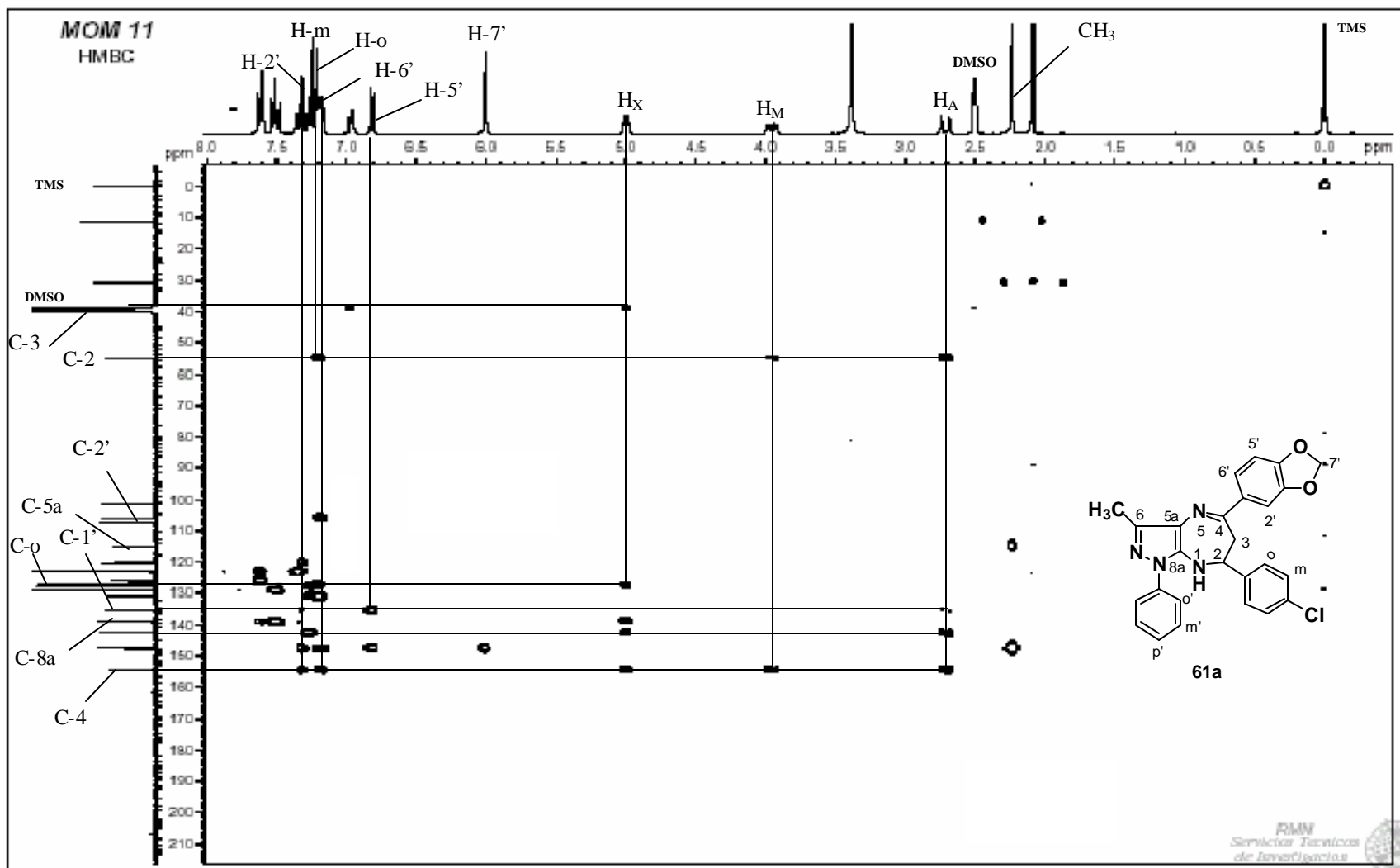
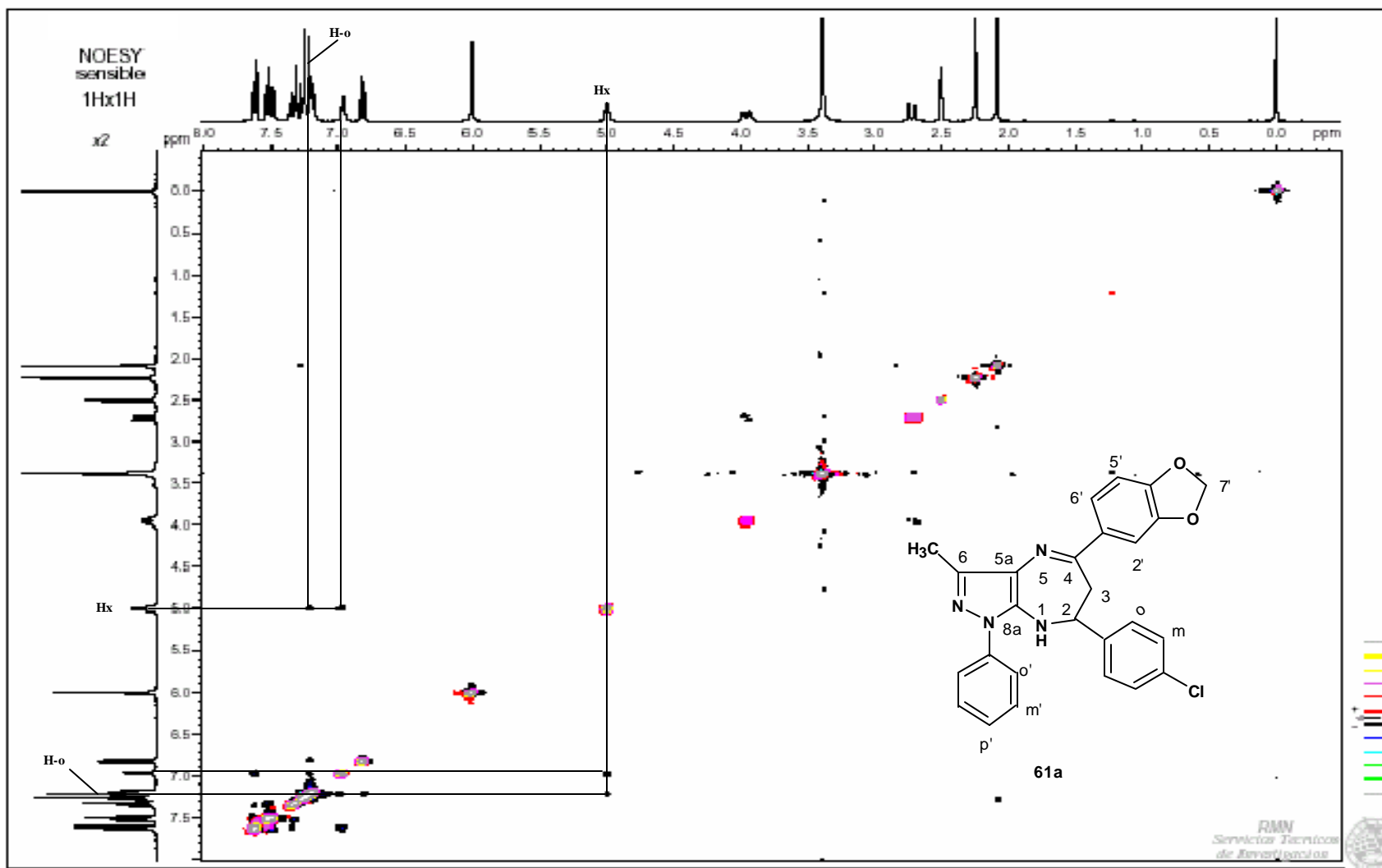
| <b>Compuesto</b>  | <b>Carbono</b> | <b><sup>2</sup>J</b>            | <b><sup>3</sup>J</b>        |
|---|----------------|---------------------------------|-----------------------------|
|  <p style="text-align: center;"><b>61a</b></p> | C-2            | H <sub>A</sub> y H <sub>M</sub> | H-o                         |
|   | C-3            | H <sub>X</sub>                  | N-H                         |
|   | C-4            | H <sub>A</sub> y H <sub>M</sub> | H-6', H-2' y H <sub>X</sub> |
|   | C-5a           | —                               | CH <sub>3</sub> , N-H       |
|   | C-8a           | —                               | H <sub>X</sub>              |
|   | C-1'           | —                               | H-5', H <sub>A</sub>        |
|   | C-2'           | —                               | H-6'                        |
|   | C-5'           | H-6'                            | —                           |
|   | C-o            | —                               | H <sub>X</sub>              |
|   | C-i            | H <sub>X</sub>                  | H <sub>A</sub>              |
|   | C-m            | H-o                             | ----                        |

FIGURA 8. Espectro HMBC del compuesto 61a.



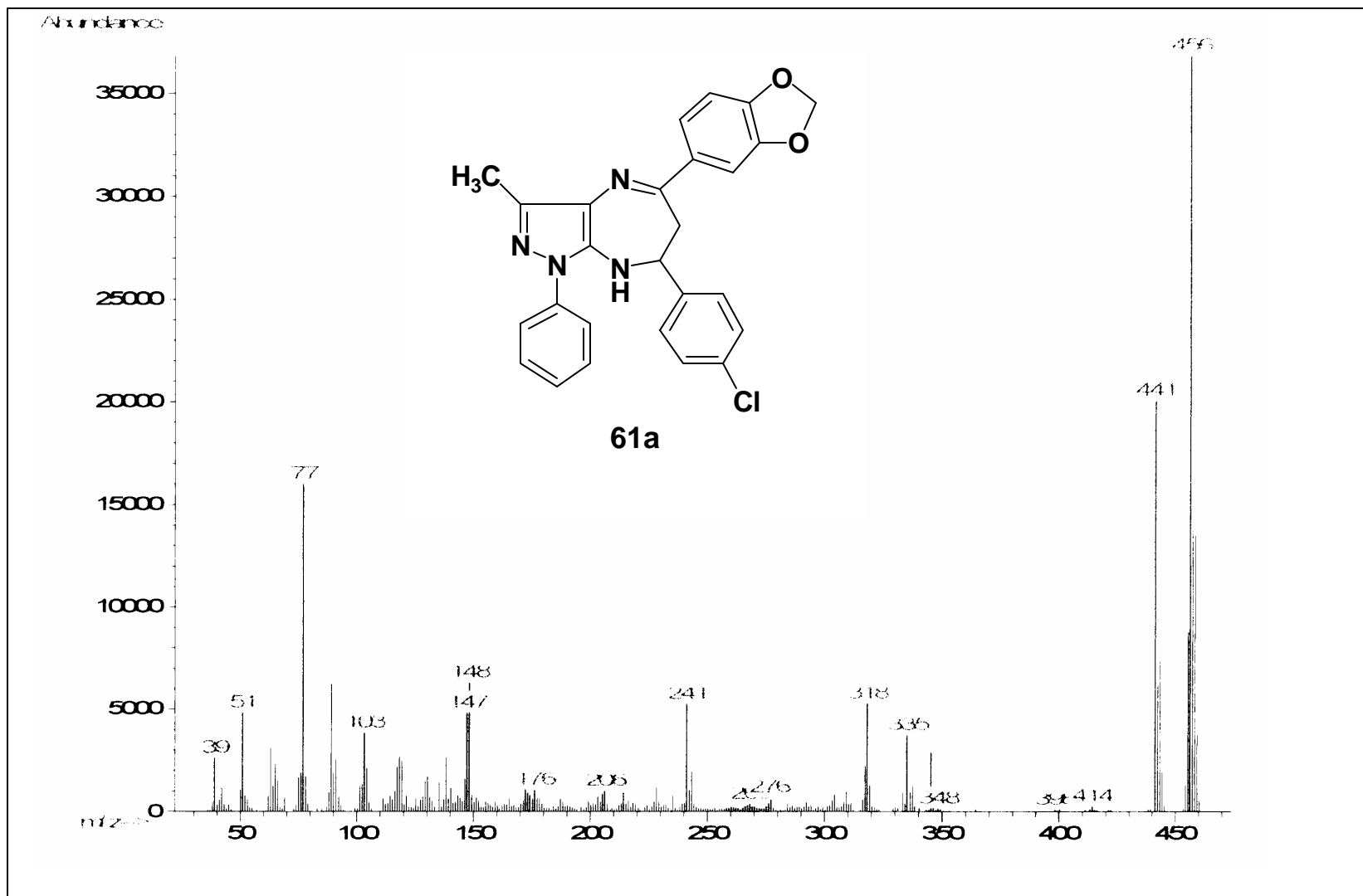
Algunas correlaciones espaciales entre los protones del compuesto **61a**, se observan en el espectro **NOESY** (figura 9), por ejemplo, la correlación que se presenta entre el protón del N-H con el protón de H<sub>x</sub> que confirma la formación del anillo diazepínico y la correlación entre los protones H<sub>x</sub> con H-*orto*, confirmando la presencia del grupo arilo (4-cloro-fenilo) en el carbono 2.

Figura 9. Espectro NOESY del compuesto 61a.



La estructura del compuesto **61a**, se confirmó finalmente por espectrometría de masas. En el espectro de masas (figura 10), se observa el ion molecular a  $m/z=458/456$ , corroborando así el peso molecular del compuesto, puesto que perfectamente coincide.

Figura 10. Espectro de masas del compuesto 61a



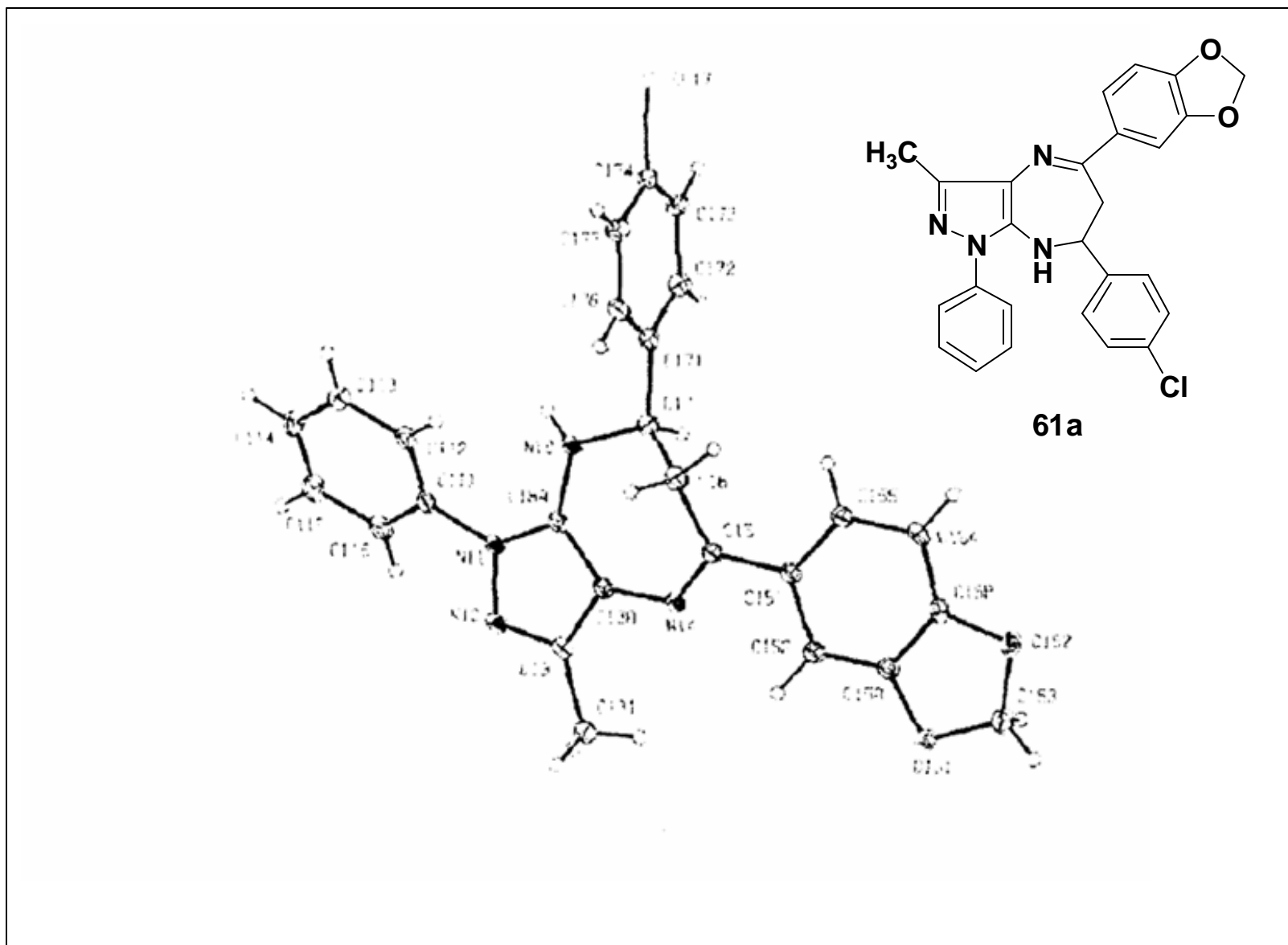


Además de las técnicas mencionadas anteriormente, se realizaron pruebas de difracción de rayos **X** para el compuesto **61a** confirmando que la asignación de la estructura para el compuesto en mención es correcta.

Este compuesto cristaliza en el grupo espacial ***P2<sub>1</sub>/C*** con dos moléculas en la unidad asimétrica, en donde ***P2<sub>1</sub>*** representa la existencia de un único eje binario que se repite cada 180° y ***C*** le atribuye las características cristalinas al compuesto **61a** correspondiente al sistema ***Monoclínico*** caracterizado por presentar 2 ángulos de 90° y un tercer ángulo con una inclinación de 92.437°.

Además, la técnica de difracción de rayos **X** confirma que el anillo diazepínico adquiere la conformación de bote (figura 11).

Figura 11. Espectro de rayos X del compuesto 61a.



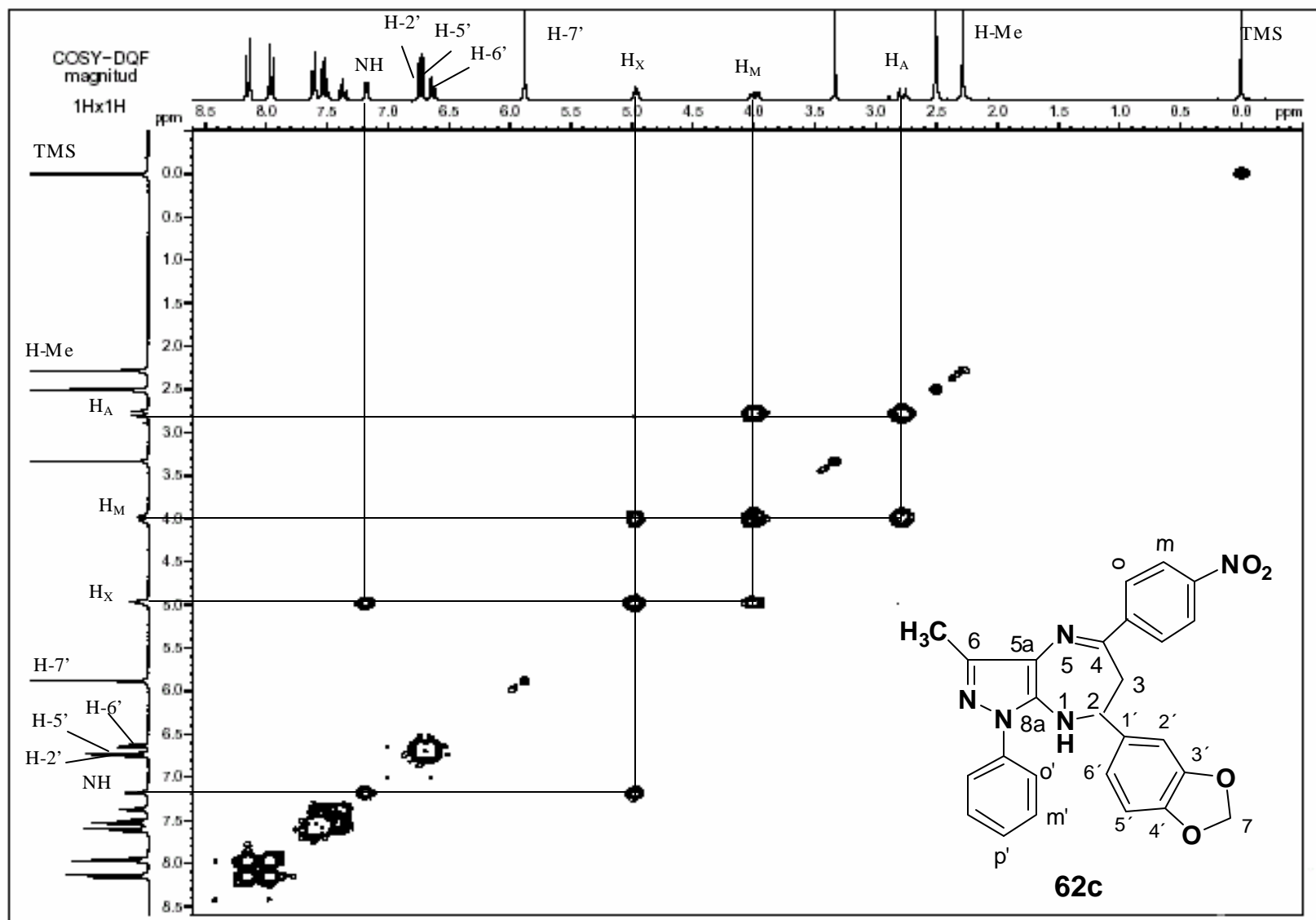
Después de confirmar la estructura del compuesto **61a** con la ayuda de las diferentes técnicas espectroscópicas, se realizó el análisis de los espectros **RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$**  mono y bidimensional y espectrometría de masas para la segunda serie de compuestos; con el fin de elucidar la estructura final del compuesto se tomó como ejemplo al 2-(3,4-dioximetilfenil)-8-fenil-6-metil-4-(4-nitrofenil)-2,3dihidropirazolo[3,4*b*][1,4]diazepina (**62c**), los datos de los compuestos restantes de la serie se encuentran reportados en la sección experimental.

Las señales más características en el espectro **RMN  $^1\text{H}$**  del compuesto **62c** (figura 12) son: a 2.28 ppm (s, 3H) una señal definida de los protones del grupo metilo en posición 6; las señales del sistema **AMX** correspondiente al fragmento  $\text{CH}_2\text{-CH}$  formado por el acoplamiento de los protones en posición 2 y 3 aparecen en 2.76 ppm (d, 1H,  $\text{H}_\text{A}$ ), 4.00 ppm (dd, 1H,  $\text{H}_\text{M}$ ) y a 4.97 ppm (t, 1H,  $\text{H}_\text{X}$ ), a 5.88 ppm (s, 2H) se observa la señal de los protones del grupo metilo en posición 7' desplazada a un campo bajo. La señal del protón 2' se observa a 6.75 ppm acoplado con el protón 6'; también se observa la señal para el protón del grupo amino (N-H) a 7.18 ppm (d, 1H).

Las señales asignadas para los protones aromáticos se observan entre 7.37-8.15 ppm, los protones del grupo arilo en posición 4, en comparación con los de la primera serie de compuestos, se desplazan a un campo más bajo incrementando su señal, debido al efecto causado por el enlace  $\text{C}=\text{C}$  presente en el anillo diazepínico. Los distintos acoplamientos protón-protón se observan en el espectro **COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$**  (figura13).



Figura 13. Espectro COSY del compuesto 62c



En el espectro **RMN <sup>13</sup>C** (DEPT) (figura 14), aparecen todas las señales de los carbonos primarios (1), secundarios (2), terciarios (9) y cuaternarios(10) presentes en la estructura del compuesto **62c**.

Otras técnicas bidimensionales como HSQC y HMBC fueron empleadas para confirmar la estructura y formación regioselectiva del 2-(3,4-dioximetilfenil)-8-fenil-6-metil-4-(4-nitrofenil)-2,3-dihidropirazo[3,4*b*] [1,4]diazepina (**62c**).

Con ayuda del espectro **HSQC** (figura 15) del compuesto **62c**, se realizaron correctamente las asignaciones de las señales del carbono correspondiente a CH en posición 2, como también las señales de los metilenos en posición 3 y 7'. Además, de las señales mencionadas se destacan los acoplamientos entre carbonos y protones aromáticos.

Figura 14. Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto **62c**.

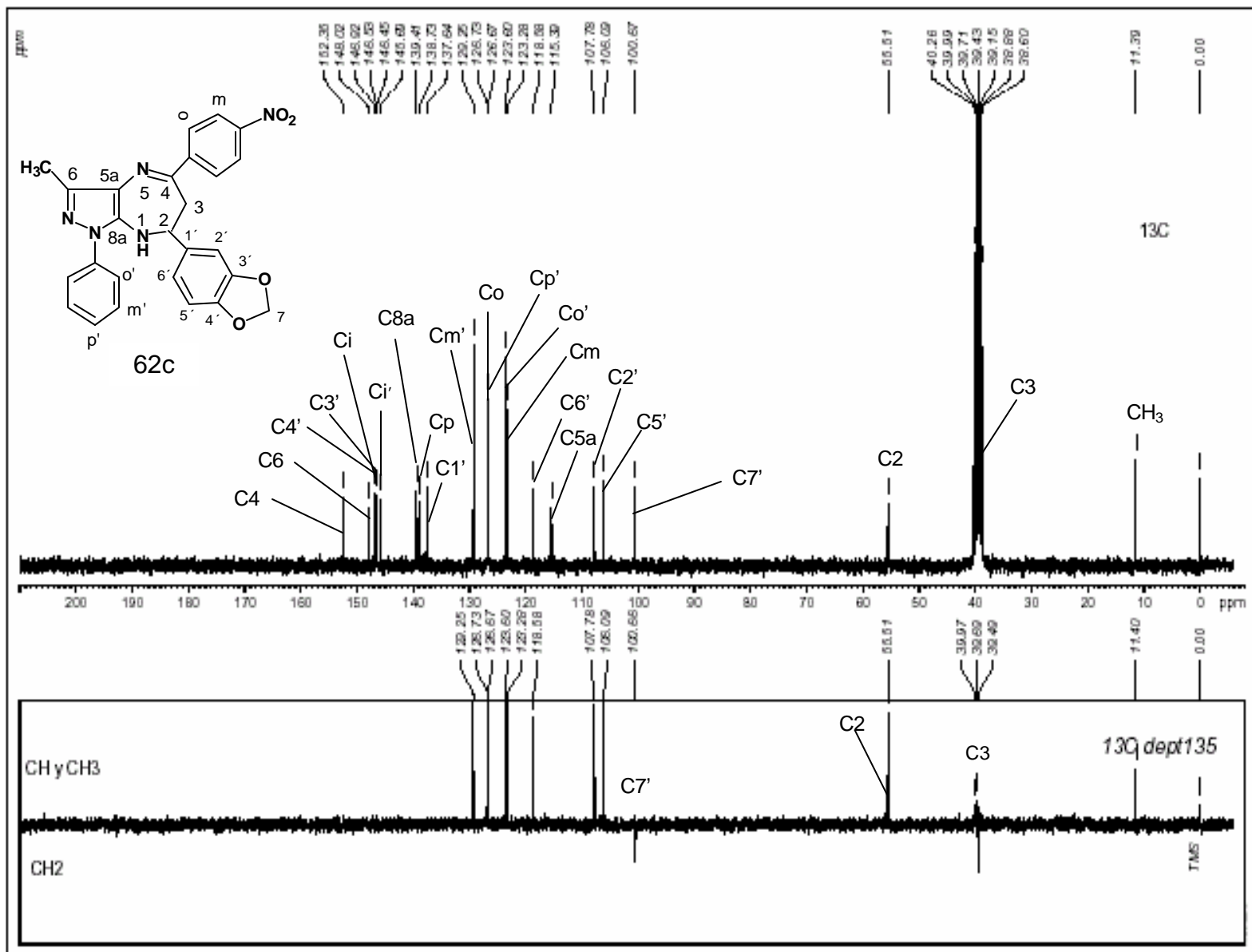
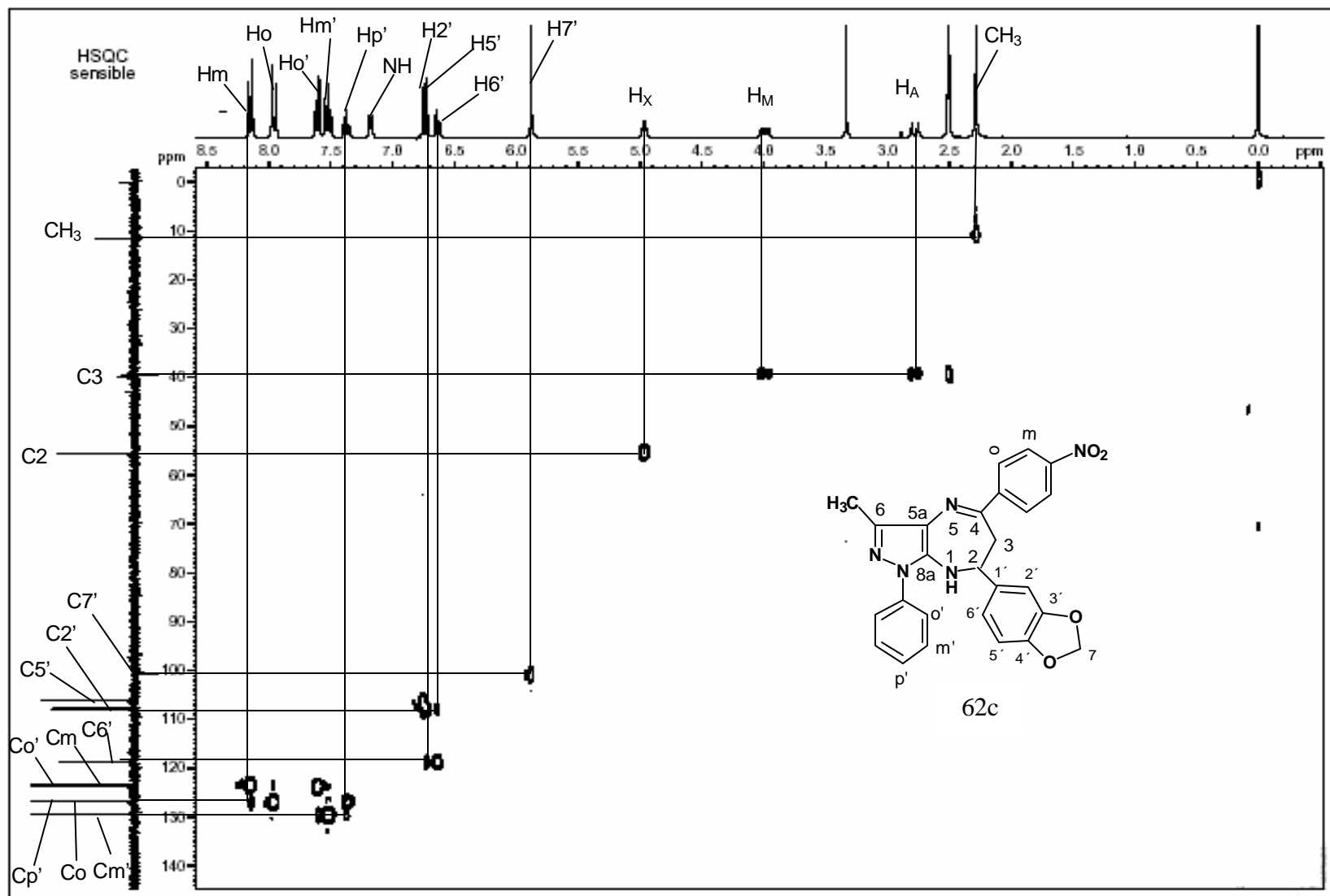


Figura 15. Espectro HSQC del compuesto 62c.

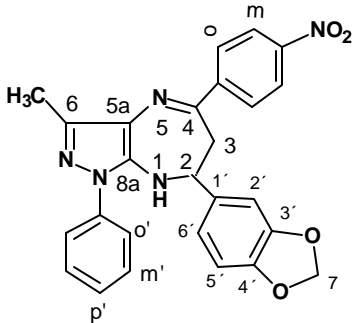




Con ayuda del espectro **HMBC** (figura 16) se confirmó la estructura del compuesto **62c**, es así como la adición del anillo metilendioxifenil al sistema dihidropirazolodiazepínico sobre el carbono 2, se manifiesta por los siguientes acoplamientos: los carbonos C-2' y C-6' acoplan a tres enlaces con el protón en posición 2 del sistema H<sub>X</sub>; el carbono C-3 acopla a 2 enlaces con el protón H<sub>X</sub> y a tres enlaces con el protón del N-H, el C-4 acopla a 2 enlaces con los protones del sistema H<sub>A</sub> y H<sub>M</sub> y 3 enlaces con el protón H<sub>X</sub> y H-*orto* del grupo arilo en posición 4. Además, en el espectro **HMBC** se observan los acoplamientos del carbono 8a a tres enlaces con el protón H<sub>X</sub> y el carbono 5a acopla igualmente a tres enlaces con los protones del metileno y con los del grupo amino.

Otras correlaciones carbono-protón a 2 (<sup>2</sup>J) y 3 (<sup>3</sup>J) enlaces se registran en la tabla 4.

**Tabla 4.** Correlaciones carbono-protón a 2 (<sup>2</sup>J) y 3 (<sup>3</sup>J) enlaces del compuesto **62c** presentes en el espectro **HMBC**.

| <b>Compuesto</b>  | <b>Carbono</b> | <b><sup>2</sup>J</b>            | <b><sup>3</sup>J</b>         |
|---|----------------|---------------------------------|------------------------------|
|  <p style="text-align: center;"><b>62c</b></p> | C-2            | H <sub>A</sub> y H <sub>M</sub> | H-2', H-6'                   |
|   | C-3            | H <sub>X</sub>                  | NH                           |
|   | C-4            | H <sub>A</sub> y H <sub>M</sub> | H <sub>X</sub> , H- <i>o</i> |
|   | C-5a           | —                               | NH y CH <sub>3</sub>         |
|   | C-8a           | —                               | H <sub>X</sub>               |
|   | C-2'           | —                               | H-6', H <sub>X</sub>         |
|   | C-6'           | —                               | H-2', H <sub>X</sub>         |

Al comparar los acoplamientos presentes en el espectro **HMBC** del compuesto **61a** con los del **62c** podemos corroborar la regioselectividad de cada reacción, sobre todo al tener en cuenta los acoplamientos del carbono 2 y el 4, en los cuales se diferencia la presencia del grupo arilo con el grupo metilendioxfenil (tabla 5).

**Tabla 5.** Acoplamientos del carbono 2 para los compuestos **61a** y **62c**.

| C-2   | <b>61a</b>                      | C-2   | <b>62c</b>                      |
|-------|---------------------------------|-------|---------------------------------|
| $^2J$ | H <sub>A</sub> y H <sub>M</sub> | $^2J$ | H <sub>A</sub> y H <sub>M</sub> |
| $^3J$ | H-o                             | $^3J$ | H-2', H-6'                      |

Con el experimento **NOESY** (Figura 17) se confirma la estructura propuesta para el compuesto **62c**, en el cual se observa la correlación entre los protones H-x con los protones H-2', H-5', H-6' y H-M, confirmando así la posición del anillo metilendioxfenil en el carbono 2 del anillo diazepínico.

Figura 16. Espectro HMBC del compuesto 62c

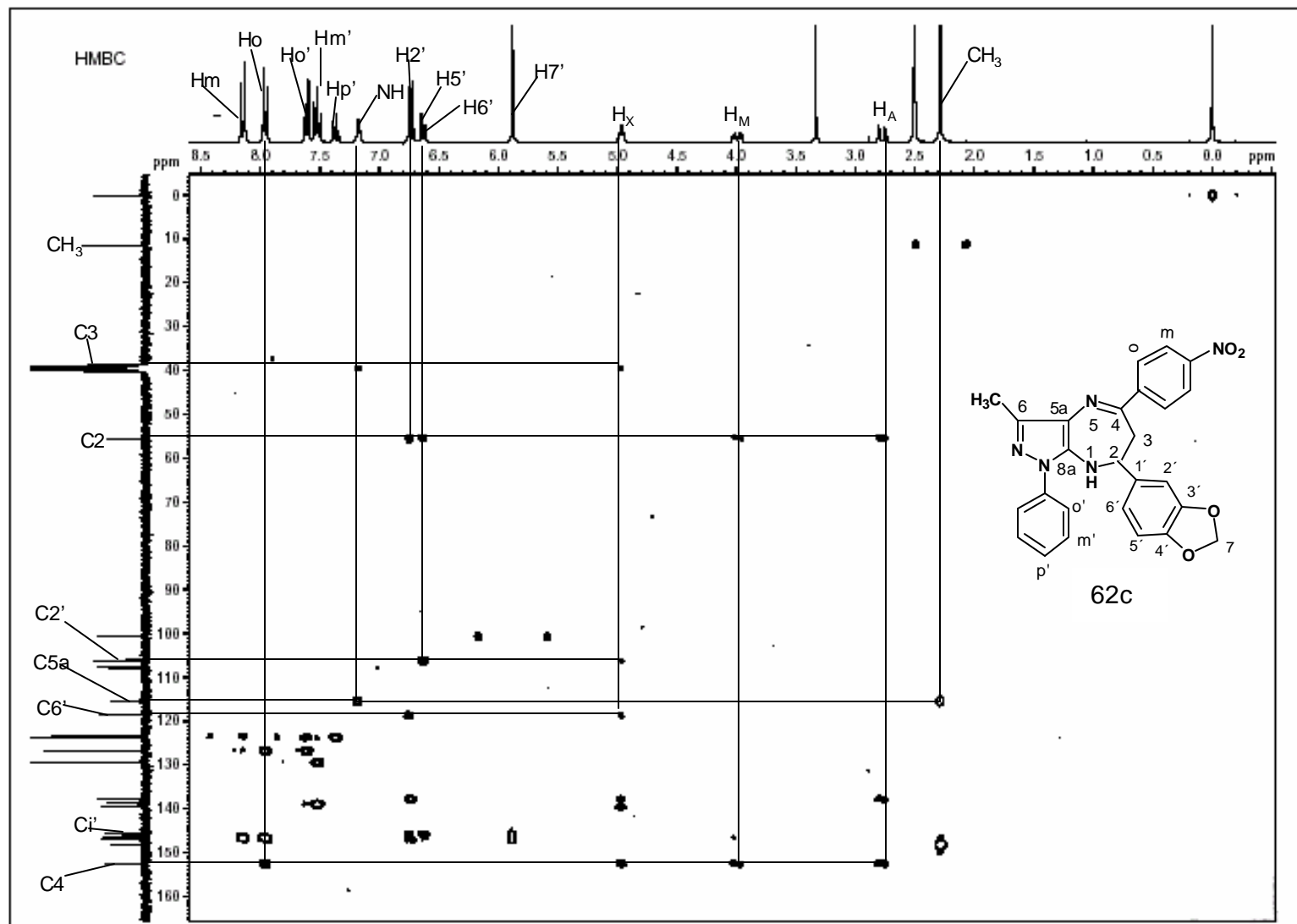
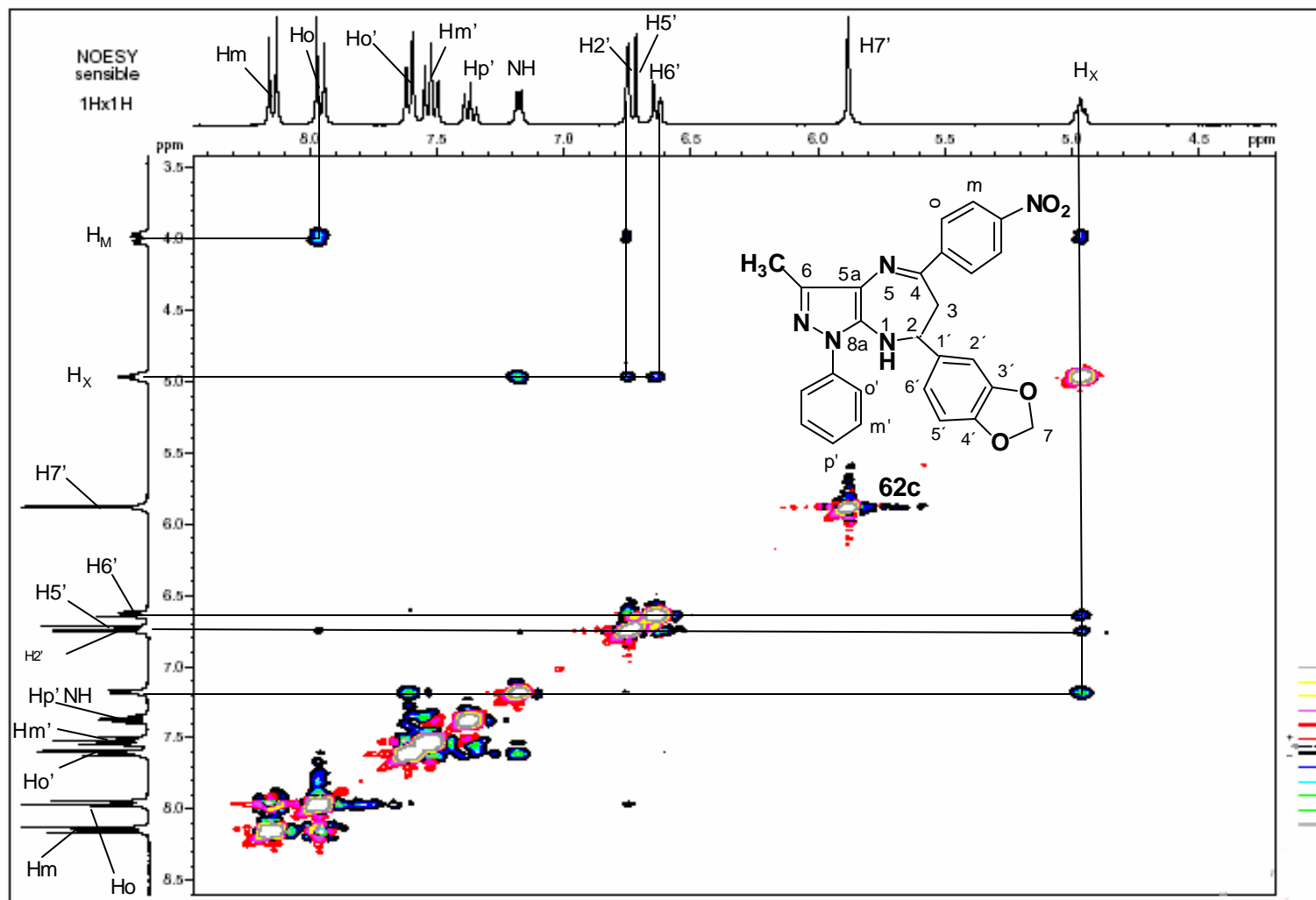


Figura 17. Espectro NOESY del compuesto 62c



Finalmente, en el espectro de masas obtenido para el compuesto en mención se observa el ión molecular a  $m/z = 467$ , el cual era el esperado de acuerdo a su estructura.

Cabe aclarar que de los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, se realizaron 3 publicaciones de circulación internacional.

#### **4.3 Evaluación de la actividad antifúngica de los compuestos 61a-d y 62 a-d.**

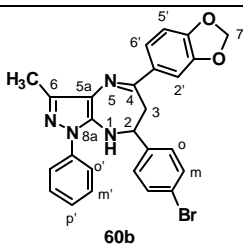
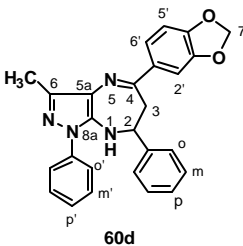
Las 2 y 4-metilendioxifenil-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-b][1,4]diazepinas se sometieron a ensayos *in vitro* con el fin de evaluar sus propiedades antifúngicas frente a un grupo de 12 hongos caracterizados por presentar efectos patógenos en el organismo humano por medio del método de disolución de agar<sup>28</sup>.

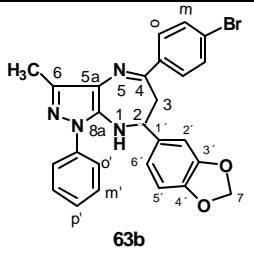
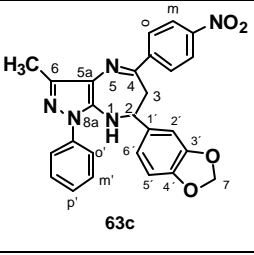
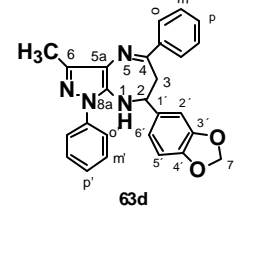
Este grupo de 12 hongos son dermatofitos filamentosos que afectan a la epidermis y anejos cutáneos<sup>29</sup>. La principal característica de ellos es que invaden las capas superficiales queratinizadas de la piel, pelos y uñas, produciendo manifestaciones clínicas muy variables, desde síntomas leves hasta lesiones supuradas e inflamatorias intensas, que reciben el nombre genérico de *dermatofitosis* o *tiñas*<sup>30</sup>.

Los resultados obtenidos mostraron que la nueva serie pirazólica no mostró capacidad alguna de inhibir al grupo de los 12 hongos a concentraciones superiores de  $250\mu\text{g/mL}$ , claramente se demostró que estas series pirazólicas se encuentran desprovistas de propiedades antifúngicas.

En la tabla 6 se registran los resultados obtenidos después de aplicar los compuestos **61b,d** y **62b-c** a la prueba antifúngica a los 12 hongos.

**Tabla 6.** Resultados de las pruebas antifúngicas realizadas a los compuestos **61b,c** y **62b-d**.

| COMPUESTO   | HONGOS             |                      |                      |                      |                     |                  |                 |                 |                   |                     |                  |                           |
|---|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|------------------|-----------------|-----------------|-------------------|---------------------|------------------|---------------------------|
|   | <i>C. albicans</i> | <i>C. tropicalis</i> | <i>S. cerevisiae</i> | <i>C. neoformans</i> | <i>A. fumigatus</i> | <i>A. flavus</i> | <i>A. niger</i> | <i>M. canis</i> | <i>M. gypseum</i> | <i>E. floccosum</i> | <i>T. rubrum</i> | <i>T. mentaagrophytes</i> |
|  <p><b>60b</b></p>   | >250               | >250                 | >250                 | >250                 | >250                | >250             | >250            |                 | >250              |                     | >250             | >250                      |
|  <p><b>60d</b></p> | >250               | >250                 | >250                 | >250                 | >250                | >250             | >250            |                 | 125               |                     | 100              | 100                       |

| COMPUESTO  | HONGOS             |                      |                      |                      |                     |                  |                 |                 |                   |                     |                  |                          |
|--|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|------------------|-----------------|-----------------|-------------------|---------------------|------------------|--------------------------|
|  | <i>C. albicans</i> | <i>C. tropicalis</i> | <i>S. cerevisiae</i> | <i>C. neoformans</i> | <i>A. fumigatus</i> | <i>A. flavus</i> | <i>A. niger</i> | <i>M. canis</i> | <i>M. gypseum</i> | <i>E. floccosum</i> | <i>T. rubrum</i> | <i>T. mentaagrophyte</i> |
|  <p>63b</p>   | >250               | >250                 | >250                 | >250                 | >250                | >250             | >250            |                 | >250              |                     | >250             | >250                     |
|  <p>63c</p>  | >250               | >250                 | >250                 | >250                 | >250                | >250             | >250            |                 | >250              |                     | >250             | >250                     |
|  <p>63d</p> | >250               | >250                 | >250                 | >250                 | >250                | >250             | >250            |                 | 125               |                     | 125              | >250                     |





## 5. SECCION EXPERIMENTAL

Este capítulo contiene algunas generalidades pertinentes a los equipos, reactivos e instrumentos utilizados en esta investigación. Además, se describe la metodología empleada en la obtención de los precursores de reacción. Finalmente se hará una descripción del procedimiento usado para la síntesis de los productos finales.

### 5.1 GENERALIDADES

La obtención de los productos en las dos series correspondientes al 4(3,4-dioximetilfenil)-4-aril-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepina y 2-(3,4-dioximetilfenil)-4-aril-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepina se realizó en etanol absoluto y en medio ácido por calentamiento a reflujo. La reacción se controló por cromatografía de capa delgada (**CCD**) empleando placas de silica gel con revelador UV-Vis y cloroformo como fase móvil, se utilizó además, una lámpara manual con 2 longitudes de onda **UV SPECTROLINE SERIE E**. Los productos finales se purificaron por recristalización con etanol absoluto y en algunos casos fue necesario concentrar las mezclas de reacción para lo cual se utilizó un rotaevaporador **HEIDOLPH VV2000**. Los puntos de fusión de los compuestos sintetizados se tomaron en un fusiometro **ELECTROTHERMAL 1A9100-MK1**.

Los espectros UV-Vis se tomaron en un espectrofotómetro **SHIMADZU UV-160A**, empleando cloroformo como solvente.

Para el análisis IR se utilizó un espectrofotómetro **SHIMADZU FTIR 8400** con transformada de Fourier ; los espectros se tomaron en pastillas de KBr.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN-<sup>1</sup>H) y de Carbono trece (RMN-<sup>13</sup>C) se tomaron en un equipo **BUKER DPX** se operado a 300 MHz y 75 MHz respectivamente, utilizando dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-*d*<sub>6</sub>) como solvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

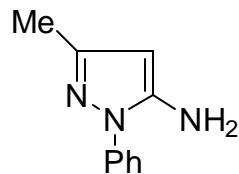
En la toma de espectros de masas se empleó un espectrómetro **HEWLETT PACKARD HP ENGINE-5989**, operado a 70 eV.

## 5.2 OBTENCION DE PRECURSORES

Para sintetizar y caracterizar las sistemas 2,3-dihidropirazolo[3,4*b*][1,4] diazepinas, se obtuvieron en el laboratorio los precursores involucrados en la reacción, los cuales corresponden a 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) y las 1 y 3-metilendioxicalconas **59a-d** y **60a-d**, estos se prepararán con base en los métodos que se han adaptado con éxito en el grupo de Investigación en Síntesis de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad del Valle en el desarrollo de trabajos anteriores<sup>15</sup>.

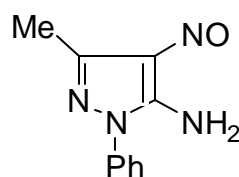
**5.2.1 Preparación del 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (5).** Para obtener este *orto*-diaminopirazol **5**, se recurrió a la metodología planteada por Grandberg y Klyuchko,<sup>10</sup> la cual consta de 3 etapas descritas a continuación:

**5.2.1.1 Preparación del 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol.** El 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol (**3**) se obtiene a partir de una solución de fenilhidrazina (**2**) y 3-aminocrotonitrilo (**1**) en HCl(c) y H<sub>2</sub>O agitada magnéticamente; luego se enfría y se adiciona NH<sub>4</sub>OH (c) hasta finalizar la precipitación. El producto que se obtiene corresponde al 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol (**3**).



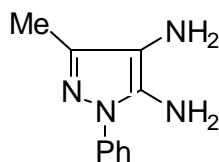
**3**

**5.2.1.2 Nitrosación del 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol (3).** Se adiciona HCl al 10% a una solución fría de 5-amino-1-fenil-3-metilpirazol (**3**) y se hace pasar una corriente en exceso de nitrito de etilo hasta completar la precipitación de un sólido rojo, el cual corresponde al 5-amino-1-fenil-3-metil-4-nitrosopirazol (**4**).



**4**

**5.2.1.3 Reducción del 5-amino-1-fenil-3-metil-4-nitrosopirazol (4).** A una solución del 5-amino-1-fenil-3-metil-4-nitrosopirazol (**4**) en metanol, se adiciona un exceso de hidrato de hidrazina y Pd/carbón activado; se calienta a reflujo y se filtra; el filtrado obtenido se evapora a presión reducida y el sólido resultante corresponde al 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**).



**5**

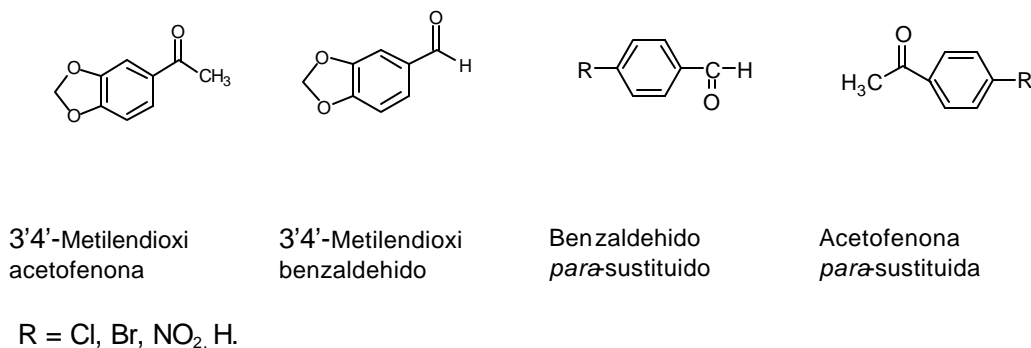
Las condiciones de las reacciones de nitrosación y reducción fueron modificadas con el fin de mejorar los rendimientos del método convencional reportado en la literatura<sup>10,19</sup>.

### 5.2.2 Preparación de chalconas 1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(aril)-2-propen-1-ona (59a-d) y 3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-(aril)-2-propen-1-ona (60a-d).

Las chalconas **59a-d** y **60a-d**, empleadas en la síntesis de las dos series de los sistemas 1,4-pirazolodiazepínicos, se prepararon siguiendo la metodología reportada por Wattanasin y Murphy<sup>26</sup>.

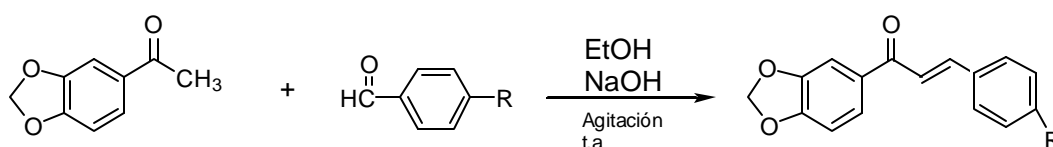
El procedimiento general de esta metodología se basa en una condensación de Claisen-Schmidt empleando acetofenonas y benzaldehidos comercialmente disponibles (figura 3) sometidas a un medio básico en soluciones aldólicas.

**Figura 3** . Reactivos disponibles en el comercio, empleados en la preparación de las chalconas **59a-d** y **60a-d**.



Así, por reacción en cantidades equimolares de una solución que contiene 3'4'-metilendioxiacetofenona (**64**) ( 2g, 0.0121moles) y benzaldehído *para*-sustituido (**65a-d**) ( 1,712g, 0.012moles), en etanol comercial (20mL) e hidróxido de sodio acuoso al 20%, se agitó magnéticamente a temperatura ambiente (19-22 °C) hasta completar la precipitación del producto final (8-10 horas), éste se filtró y lavó con etanol frío para finalmente recrystalizarlo (Esquema14).

#### ESQUEMA 14



**64a-d**  
3,4-Metilendioxi-  
acetofenona

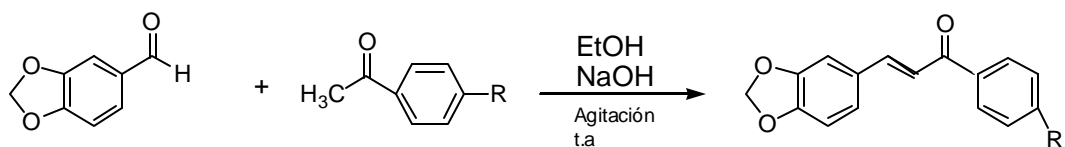
**65a-d**  
Benzaldehido  
*para*-sustituido

**59a-d**  
1(1,3-benzodioxol-5-il)-3-  
(aril)-2-propen-1-ona

|             |    |    |                 |   |   |
|-------------|----|----|-----------------|---|---|
| #           | R  | a  | b               | d | c |
| 59, 64 y 65 | Cl | Br | NO <sub>2</sub> | H |   |

Se empleó la misma metodología planteada anteriormente en la preparación de la 3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-(aril)-2-propen-1-ona (**60a-d**), la reacción del 3,4-metilendioxi-benzaldehído con la acetofenona *para*-sustituida se muestra en el esquema 15.

## ESQUEMA 15



**66a-d**

3,4-Metilendioxi-  
benzaldehido

**67a-d**

Acetofenona  
para-sustituido

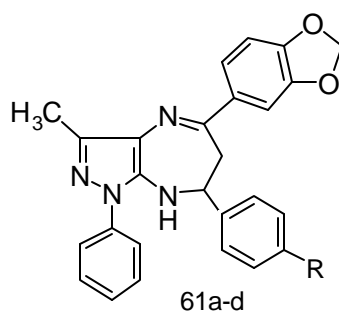
**60a-d**

3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-  
(aril)-2-propen-1-ona

| #     | R | a  | b  | c               | d |
|-------|---|----|----|-----------------|---|
| 60-67 |   | Cl | Br | NO <sub>2</sub> | H |

### 5.3 OBTENCION DE LOS PRODUCTOS FINALES

5.3.1 Preparación del 4-(3,4-dioximetilenfenil)-2-aryl-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepina (61a-d).



| #  | R | a  | b  | c               | d |
|----|---|----|----|-----------------|---|
| 61 |   | Cl | Br | NO <sub>2</sub> | H |

Una solución de 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) (3.2mmol) y 1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-(aril)-2-propen-1-ona (**59a-d**), en etanol absoluto (10ml) con 1ml de ácido acético glacial se calentó a reflujo por espacio de 5.5 a 7 horas. La evolución de la reacción se monitoreó por cromatografía de capa delgada (**CCD**). La solución se neutralizó con NH<sub>4</sub>OH hasta completar la precipitación del producto final, el cual se filtró, lavó y recristalizó con etanol absoluto.

**2-(4-clorofenil)-(3,4-dioximetilenfenil)-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo [3,4-*b*]diazepina ( 61a).**

Cristales amarillos, rendimiento 73%; p.f.189°C; UV-vis (CHCl<sub>3</sub>) λ<sub>max</sub> nm 234,362; IR (KBr), cm<sup>-1</sup>: 1036 y 1245 (C-O), 1590 (C=N), 3381 (N-H); RMN <sup>1</sup>H (300mHz, DMSO-*d*6) δ 2.24 (s, 3H, Me), 2.71 (d, 1H, H<sub>A</sub>), 3.95 (dd, 1H, H<sub>M</sub>), 4.99 (s, 1H, H<sub>K</sub>), 6.0 (d, 2H, H7'), 6.82 (d, 1H, H5'), 6.97 (d, 1H,NH), 7.18 (dd, 1H, H6'), 7.20 (d, 2H, H<sub>O</sub>), 7.26 (d, 2H, H<sub>M</sub>), 7.31 (d, 1H, H2'), 7.34 (t, 1H, H<sub>P</sub>'), 7.50 (t, 2H, H<sub>M</sub>'), 7.62 (d, 2H, H<sub>O</sub>'); RMN <sup>13</sup>C (75MHz,DMSO-*d*6) δ 11.4 (C-Me), 39.2 (C-3), 55.2 (C-2), 101.1 (C-7').105.9 (C-2'), 107.4 (C-5'), 115.0 (C-5a), 120.3 (C-6'), 123.3 (C-o'), 126.3 (C-p'), 127.9 (C-m), 129.2 (C-m'), 131.0 (C-p), 135.2 (C-1'), 138.7 (C-8a), 139.0 (C-i'), 142.5 (C-i), 147.3 (C-6), 147.5 (C-3'), 147.6 (C-4'), 154.5 (C-4), MS m/z 458/456 (M<sup>+</sup>37/100), 443 (20), 441 (54), 335 (10), 318 (14), 241 (14), 148 (17), 147 (13), 103 (10), 89 (17), 77 (43), 51(13).

**2-(4-bromofenil)-(3,4-dioximetilenfenil)-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo [3,4-*b*]diazepina ( 61b).**

Cristales amarillos, rendimiento 57%; p.f. 210°C; UV-vis (CHCl<sub>3</sub>) λ<sub>max</sub> nm 257,265,367; IR (KBr), cm<sup>-1</sup>: 1037 y 1245 (C-O), 1594 (C=N), 3378 (N-H); RMN <sup>1</sup>H (300mHz, DMSO-*d*6) δ 2.23 (s, 3H, Me), 2.72 (d, 1H, H<sub>A</sub>), 3.94 (dd, 1H, H<sub>M</sub>), 4.97 (t, 1H, H<sub>K</sub>), 6.07 (d, 2H, H7'), 6.82 (d, 1H, H5'), 6.93 (d, 1H,NH), 7.15 (d, 2H, H-o), 7.18 (d, 1H, H6'), 7.31 (d, 1H, H2'), 7.34 (t, 1H, H<sub>P</sub>'), 7.39 (d, 2H, H<sub>M</sub>), 7.50 (t, 2H, H<sub>M</sub>'), 7.61 (d, 2H, H<sub>O</sub>'); RMN <sup>13</sup>C (75MHz,DMSO-*d*6) δ 11.5 (C-Me),

39.2 (C-3), 55.4 (C-2), 101.1 (C-7'), 106.0 (C-2'), 107.5 (C-5'), 115.2 (C-5a), 119.6 (C-p), 120.4 (C-6'), 123.4 (C-o'), 126.4 (C-p'), 128 (C-o), 129.2 (C-m'), 130.9 (C-m), 135.3 (C-1'), 138.8 (C-8a), 139.1 (C-i'), 143 (C-i), 147.4 (C-6), 147.6 (C-3'), 147.7 (C-4'), 154.5 (C-4), MS  $m/z$  (%) = 503 (37), 502/500 ( $M^+$ , 100/97), 501 (66), 499 (25), 488 (16), 487 (56), 485 (46), 379 (13), 345 (13), 318 (21), 148 (26), 147 (25), 119 (10), 118 (13), 117 (10), 104 (11), 103 (19), 91 (12), 89 (29), 77 (73).

**6-Metil-2-(4-nitro fenil)-4-(3,4-dioximetilenfenil)-8-fenil-2,3-dihidropirazolo [3,4-*b*] diazepina (61c).**

Cristales amarillos, rendimiento 43%; p.f. 229°C; UV-vis ( $CHCl_3$ )  $\lambda_{max}$  nm 270, 362; IR (KBr),  $cm^{-1}$ : 1037 y 1250 (C-O), 1593 (C=N), 2394 ( $NO_2$ ), 3344 (N-H); RMN  $^1H$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  2.24 (s, 3H, Me), 2.76 (d, 1H,  $H_A$ ), 4.08 (dd, 1H,  $H_M$ ), 5.18 (t, 1H,  $H_K$ ), 5.99 (d, 2H, H-7'), 6.8 (d, 1H, H-5'), 7.06 (d, 1H, NH), 7.18 (d, 1H, H-6'), 7.30 (d, 1H, H-2'), 7.35 (t, 1H, H-p'), 7.46 (d, 2H, H-o), 7.52 (t, 2H, H-m'), 7.64 (d, 2H, H-m), 7.74 (d, 2H, H-o'); RMN  $^{13}C$  (75MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.5 (C-Me), 38.9 (C-3), 55.8 (C-2), 101.2 (C-7'), 105.9 (C-2'), 107.5 (C-5'), 115.3 (C-5a), 120.4 (C-6'), 123.3 (C-o), 123.5 (C-o'), 126.5 (C-p'), 127.1 (C-m), 129.3 (C-m'), 135.1 (C-1'), 138.7 (C-8a), 139.1 (C-i'), 146.2 (C-i), 147.4 (C-6), 147.6 (C-3'), 147.7 (C-4'), 151.0 (C-p), 154.4 (C-4); MS  $m/z$  (%) = 467 ( $M^+$ , 85), 452 (35), 148 (27), 147 (27), 119 (11), 118 (20), 117 (13), 104 (12), 103 (22), 102 (10), 91 (18), 90 (13), 89 (38), 77 (100), 65 (25), 64 (10), 63 (31), 51 (36).

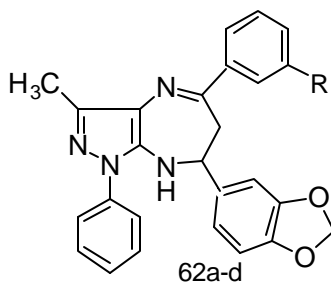
**6-Metil-4-(3,4-dioximetilenfenil)-2,8-difenil-2,3-dihidropirazolo [3,4-*b*] diazepina (61d).**

Cristales amarillos, rendimiento 96%; p.f. 177°C; UV-vis ( $CHCl_3$ )  $\lambda_{max}$  nm 273, 367; IR (KBr),  $cm^{-1}$ : 1036 y 1247 (C-O), 1593 (C=N), 3376 (N-H); RMN  $^1H$  (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  2.24 (s, 3H, Me), 2.77 (d, 1H,  $H_A$ ), 3.87 (dd, 1H,  $H_M$ ), 4.96 (t, 1H,  $H_K$ ), 5.99 (d, 2H, H-7'), 6.8 (d, 1H, H-5'), 6.88 (d, 1H, NH), 7.15 (d, 1H, H-6'), 7.08 – 7.26 (m, 5H, protones aromáticos), 7.29 (d, 1H, H-2'), 7.33 (t, 1H, H-p'), 7.50 (t, 2H, H-m'), 7.63 (d, 2H, H-o'); RMN  $^{13}C$  (75MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.5 (C-Me), 39.0 (C-3),



55.9 (C-2), 101.1 (C-7'), 106.0 (C-2'), 107.5 (C-5'), 115.1 (C-5a) 120.4 (C-6'), 123.4 (C-o'), 125.5 (C-p), 125.7 (C-o), 126.6 (C-p'), 128 (C-m), 129.2 (C-m'), 135.5 (C-1'), 139.0 (C-8a), 139.2 (C-i'), 143.7 (C-i), 147.3 (C- 6), 147.5(C- 3'), 147.6 (C-4'), 154.7 (C-4), MS *m/z* (%) = 423 (42), 422 (M<sup>+</sup>, 100), 421 (30), 408 (23), 407 (80), 318 (12), 301 (13), 207 (15), 148 (12), 147 (10), 104 (14), 103 (10), 89 (14), 77 (36).

### 5.3.2 Preparación del 2-(3,4-dioximetilfenil)-4-aryl-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-*b*][1,4]diazepina ( 62a-d).



| #  | R | a  | b  | c               | d |
|----|---|----|----|-----------------|---|
| 62 |   | Cl | Br | NO <sub>2</sub> | H |

Una mezcla de 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol (**5**) (3.2mmol) y 3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-(aril)-2-propen-1-ona (**60a-d**), en alcohol etílico absoluto (10ml) y ácido acético glacial (1ml) se calentó a reflujo durante un periodo de tiempo comprendido entre 7 y 9 horas. La reacción fue controlada por cromatografía de capa delgada (**CCD**) corrida en cloroformo La evolución de la reacción se controló con CCD, se adicionó NH<sub>4</sub>OH para neutralizar la solución y completar la formación del producto. El sólido obtenido se recuperó por filtración al vacío, y se lavó con etanol para finalmente recristalizarlo de etanol absoluto.

**4-(4-Clorfenil)-2-(3,4-dioximetilenfenil)-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-b]diazepina (62a).**

Cristales amarillos, rendimiento 95%; p.f. 194°C; UV-vis (CHCl<sub>3</sub>) λ<sub>max</sub> nm 275, 367; IR (KBr), cm<sup>-1</sup>: 1038 y 1247 (C-O), 1596 (C=N), 3203 (N-H); RMN-<sup>1</sup>H (300mHz, DMSO-*d*6) δ 2.25 (s, 3H, Me), 2.77 (d, 1H, H<sub>A</sub>), 3.86 (dd, 1H, H<sub>M</sub>), 4.89 (t, 1H, H<sub>X</sub>), 5.89 (s, 2H, H7'), 6.65 (d, 1H, H6'), 6.72 (d, 1H, H5'), 6.75 (d, 1H, H2'), 6.93 (d, 1H,NH), 7.34 (t, 1H, Hp'), 7.36 (d, 2H, Ho), 7.5 (t, 2H, H m'), 7.61 (d, 2H, Ho'), 7.7 (d, 2H, Hm); RMN <sup>13</sup>C (75MHz,DMSO-*d*6) δ 11.4 (C-Me), 39.6 (C-3), 55.5 (C-2), 100.6 (C-7'), 106.2 (C-2'), 107.7 (C-5'), 115.1 (C-5a), 118.7 (C-6'), 123.4 (C-o'), 126.4 (C-p'), 127.7 (C-m), 127.9 (C-o), 129.2 (C-m'), 132.9 (C-p), 137.8 (C-1'), 139.0 (C-8a), 139.1 (C-i'), 139.4 (C- i ), 145.7 (C-3'), 146.9 (C-4'), 147.6 (C-6), 153.9 (C-4); MS *m/z* (%) = 458/456 (M<sup>+</sup>, 33/95), 443 (25), 441 (65), 345 (20), 308 (15), 251 (13), 148 (20), 147 (12), 119 (16), 118 (13), 104 (14), 103 (30), 102 (19), 101 (15), 91 (18), 89 (14), 77 (100).

**4-(4-Bromofenil)-2-(3,4-dioximetilenfenil)-8-fenil 6metil-2,3-dihidropirazolo [3,4 b]diazepina(62b).**

Cristales amarillos, rendimiento 87%; p.f. 198°C; UV-vis (CHCl<sub>3</sub>) λ<sub>max</sub> nm 262, 345, 365; IR (KBr), cm<sup>-1</sup>: 1038 y 1248 (C-O), 1595 (C=N), 3415 (N-H); RMN-<sup>1</sup>H (300mHz, DMSO-*d*6) δ 2.26 (s, 3H, Me), 2.77 (d, 1H, H<sub>A</sub>), 3.85 (dd, 1H, H<sub>M</sub>), 4.89 (t, 1H, H<sub>X</sub>), 5.90 (s, 2H, H7'), 6.65 (d, 1H, H6'), 6.73 (d, 1H, H5'), 6.75 (d, 1H, H2'), 6.93 (d, 1H,NH), 7.34 (t, 1H, Hp'), 7.49 (d, 2H, Ho), 7.50 (t, 2H, H-m'), 7.61 (d, 2H, Ho'), 7.67 (d, 2H, Hm); RMN <sup>13</sup>C (75MHz,DMSO-*d*6) δ 11.5 (C-Me), 39.6 (C-3), 55.6 (C-2), 100.7 (C-7'), 106.3 (C-2'), 107.8 (C-5'), 115.1 (C-5a), 118.6 (C-6'), 121.2 (C-p), 123.5 (C-o'), 126.5 (C-p'), 128.0 (C-m), 129.3 (C-m'), 130.1 (C-o), 137.8 (C-1'), 139.0 (C-8a), 139.1 (C-i'), 139.9 (C- i ), 145.7 (C-3'), 147.0 (C-4'), 147.7 (C-6), 154.0 (C-5); MS *m/z* (%) = 502/500 (M<sup>+</sup>, 100/87), 487 (78), 485 (74), 345 (34), 251 (28), 148 (29), 147 (17), 119 (15), 118 (14), 117 (10), 103 (28), 102 (31), 91 (13), 89 (11), 77 (59), 51 (14).

**6-Metil-4-(4-nitrofenil)-2-(3,4-dioximetilenfenil)-8-fenil-2,3-dihidropirazolo [3,4-*b*]diazepina (62c).**

Cristales amarillos, rendimiento 87%; p.f. 265 °C; UV-vis (CHCl<sub>3</sub>) λ<sub>max</sub> nm 423, 257; IR (KBr), cm<sup>-1</sup>: 1037 y 1246 (C-O), 1596 (C=N), 3205 (N-H), 1395 y 1510 (NO<sub>2</sub>); RMN-<sup>1</sup>H (300mHz, DMSO-*d*6) δ 2.28 (s, 3H, Me), 2.76 (d, 1H, H<sub>A</sub>), 4.00 (dd, 1H, H<sub>M</sub>), 4.97 (t, 1H, H<sub>k</sub>), 5.88 (s, 2H, H<sub>7'</sub>), 6.63 (d, 1H, H<sub>6'</sub>), 6.73 (d, 1H, H<sub>5'</sub>), 6.75 (d, 1H, H<sub>2'</sub>), 7.18 (d, 1H, NH), 7.37 (t, 1H, H<sub>p'</sub>), 7.53 (t, 2H, H<sub>m</sub>), 7.60 (d, 2H, H<sub>o'</sub>), 7.95 (d, 2H, H<sub>o</sub>), 8.15 (d, 2H, H<sub>m</sub>); RMN <sup>13</sup>C (75MHz, DMSO-*d*6) δ 11.4 (C-Me), 38.7 (C-3), 55.5 (C-2), 100.7 (C-7'), 106.1 (C-2'), 107.8 (C-5'), 115.4 (C-5a), 118.6 (C-6'), 123.3 (C-m), 123.6 (C-o'), 126.7 (C-p'), 126.8 (C-o), 129.3 (C-m'), 137.6 (C-1'), 138.7 (C-p), 139.4 (C-8a), 145.7 (C-i'), 146.5 (C-i), 146.5 (C-3'), 146.9 (C-4'), 148.0 (C-6), 152.4 (C-5); MS *m/z* (%) = 467 (M<sup>+</sup>, 100), 452 (98), 345 (27), 251 (13), 148 (14), 147 (10), 119 (15), 118 (12), 103 (23), 102 (10), 91 (10), 89 (10), 77 (42), 51 (10).

**6-Metil-2-(3,4-dioximetilenfenil)-4,8-difenil-2,3-dihidropirazolo[3,4-*b*]diazepina (62d).**

Cristales amarillos, rendimiento 70%; p.f. 136°C; UV-vis (CHCl<sub>3</sub>) λ<sub>max</sub> nm 249, 274, 362; IR (KBr), cm<sup>-1</sup>: 1036 y 1249 (C-O), 1596 (C=N), 3366 (N-H); RMN-<sup>1</sup>H (300mHz, DMSO-*d*6) δ 2.27 (s, 3H, Me), 2.83 (d, 1H, H<sub>k</sub>), 3.83 (dd, 1H, H<sub>M</sub>), 4.88 (t, 1H, H<sub>k</sub>), 5.89 (s, 2H, H<sub>7'</sub>), 6.68 (d, 1H, H<sub>6'</sub>), 6.75 (d, 1H, H<sub>5'</sub>), 6.79 (d, 1H, H<sub>2'</sub>), 6.86 (d, 1H, NH), 7.27 (t, 1H, H<sub>p</sub>), 7.33 (t, 1H, H<sub>p'</sub>), 7.42 (d, 2H, H<sub>o</sub>), 7.54 (t, 2H, H<sub>m'</sub>), 7.66 (d, 2H, H<sub>o'</sub>), 7.74 (d, 2H, H<sub>m</sub>); RMN <sup>13</sup>C (75MHz, DMSO-*d*6) δ 11.5 (C-Me), 40.0 (C-3), 55.6 (C-2), 100.7 (C-7'), 106.4 (C-2'), 107.8 (C-5'), 115.2 (C-5a), 118.9 (C-6'), 123.4 (C-o'), 126.0 (C-m), 126.4 (C-p'), 128.0 (C-o), 128.2 (C-p), 129.2 (C-m'), 138.0 (C-1'), 139.0 (C-8a), 139.1 (C-i'), 140.8 (C-i), 145.7 (C-3'), 147.0 (C-4'), 147.7 (C-6), 155.4 (C-5); MS *m/z* (%) = 422 (M<sup>+</sup>, 100), 407 (82), 345 (18), 274 (15), 148 (15), 147 (10), 104 (27), 103 (29), 91 (10), 77 (45), 51 (12).

## CONCLUSIONES

1. Las 2 y 4-metilendioxfenil-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-b][1,4] diazepinas se presentaron como únicos productos en la reacción de ciclocondensación como anillos fusionados regioselectivos; la regioselectividad de la misma fue establecida por los resultados espectroscópicos obtenidos.
2. La reacción de ciclocondensación entre la 4,5-diamino-1-fenil-3-metilpirazol con las metilendioxicalconas se favorece por la mayor reactividad nucleofílica que presenta el grupo amino en posición 4 del la *orto*-diaminopirazol debido al efecto inductivo ejercido por el grupo metilo en posición 3 y la alta electrofilicidad del grupo carbonilo de las chalconas.
3. Las 2 y 4-metilendioxfenil-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-b][1,4] diazepinas presentan una baja acción antifúngica sobre organismos patógenos para el cuerpo humano a concentraciones mayores de 250ppm.
4. En la presente investigación se sintetizaron 8 nuevos compuestos y se han realizado 2 publicaciones en revistas internacionales y una tercer manuscrito fue sometido a publicación en el Heterocyclic Communications.

## RECOMENDACIONES

1. Estudiar el comportamiento químico de las 1,4-diazepinas sintetizadas en este trabajo de investigación.
2. Realizar reacciones de N-acilación, N-alquilación y N-acetilación a través de los grupos amino presentes en las 2 y 4-metilendioxfenil-8-fenil-6-metil-2,3-dihidropirazolo[3,4-b][1,4]diazepinas, con el fin de estudiar el comportamiento químico de los compuestos mencionados para obtener otras series de compuestos pirazólicos con posible actividad biológica.
3. Fortalecer los convenios con otras universidades del país con el fin de intercambiar conocimientos en el desarrollo de futuros trabajos de investigación en el área de la Química.

## CITAS BIBLIOGRAFICAS

1. MORRISON, and BOYD.; *Química Orgánica*. 5 Ed. Mexico.Addison Wesley. **1998**; 1185p, 2015.
2. KLINDLER, J. En: *Heterocyclic.Chem.* **1995**; 32p, 1687.
3. FRAY, M.J. et al. En: *J.Med.Chem*, **1995**; 38p ,3524.
4. KELLY, T.A.; et al. En: *J. Med. Chem.* **1990**, 40p, 2430.
5. STERNBACH, L. M.; En: *Prog. Drug. Res.* **1978**, 22p, 229.
6. TSUCHIYA, T. ;En: *Yuri Gosei Kagaku Kyokaishi*, **1983**, 41p, 641. *Chem. Abstr.*, **1983**, 99p, 212426n.
7. DEWALD, H.A.; LOBBESTAELL, S.; POSCHEL, B.H.P.; En: *J .Med .Chem.*, **1981**, 24p , 982.
8. INSUASTY, B.; QUIROGA, J.; and. MEIER, H.; *Trends in Heterocyclic Chem.* **1997**, 5p, 83.
1. INSUASTY, B. et al. En: *Molecules*. **2001** , 6p, 710.
10. Grandberg, I. I.; Klyuchko, G. V. En: *Zh. Obshch. Khim.* **1962**, 32p, 1898; *Chem. Abstr* **1963**, 58p, 4537f.
11. Chakrasali, R. T.; Rao, Ch. Srinivasa; Ila, H.; Junjappa, H. En: *J. Heterocycl. Chem.* **1993**, 30p, 129.
12. Colombo, A.; Frigola, J. et al. En: *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, 26p ,949.

13. Fray, M. J. et al. .En: *J. Med. Chem.* : **1995**, 38p, 3314.
14. Affane-Nguema, J. P. et al. En: *J. Heterocycl. Chem.* **1977**, 14p, 391.
15. Orlov, V. D.; Quiroga, J.; Kolos, N. N. En: *Chem. Heterocycl. Comp. (Engl. Transl.)* **1987**, 23p, 304.
16. Orlov, V. D. et al. En: *Khim. Geterotsikl. Soedin.* **1992**, 4p, 506, *Chem. Abstr.* **1993**, 118p, 3889q.
17. Orlov, V. D. et al. En: *Chem. Heterocycl. Compd. (Engl. Transl.)*. **1987**, 23p, 1254.
18. Insuasty, B. et al. En: *J. Heterocycl. Chem.* **1997**, 34p, 1131.
19. Insuasty, B. et al. En: *J. Heterocycl. Común.* **2000**, 6p, 231.
20. Bertram, G. *Farmacología Básica y Clínica.* **1994**, 23, 427.
21. Yanvorisov, J. N. et al. En: *Org. Khim.* **1992**, 28p, 2554; En: *Chem. Abstr.* **1994**, 120p, 77264t.
22. Insuasty, B. et al. En: *J. Heterocycl. Chem* **1999**, 36p, 635.
23. Roehnert, H. et al. En: *Patente Alemana* 55,957 (1996) ; *Chem. Abstr.* **1967**, 67p, 90854s.
24. Roehnert, H. . et al. En: *Patente Alemana* 1,080,530 (1967) ; *Chem. Abstr.* **1968**, 68p, 13011h.
25. Insuasty, B. et al. En: *Molecules.* **2001**, 6p, 710.
26. Wattanasin, S. ; Murphy, W. En: *An improved Procedure for the preparation of Chalcones an related enones.* **1980**, 647.
27. Mitscher, L. A. et al. En: *Lloydia*, **1992**, 35p, 157.

28. Badillet, G.; et al. En: *les dermatophytes. Atlas clinique et biologique*. Varia ed, Paris. **1974**.

29. Crissey, J. T. ; Lang, H. ; Parish, L. C. En: *Manual of medical micology*. Blackwell science. **1995**, 37p, 38.