



UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS
ACTA DE EVALUACION DE TRABAJO DE GRADO
PROGRAMA ACADEMICO DE QUIMICA.

JURADO CONFORMADO POR:

1. DR. BRAULIO A. INSUASTY OBANDO
2. DR. JOSE HIPOLITO ISAZA

El día 19 de Febrero de 2014 a las 10:00 A.M se llevó a cabo la ENTREGA DE LA EVALUACION () SUSTENTACION (X) del INFORME FINAL DEL TRABAJO DE GRADO titulado **"SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS COMPUESTOS HETEROCÍCLICOS NITROGENADOS DE CINCO MIEMBROS A PARTIR DE 3-METOXI-4- TOSILOXIBENZALDEHIDO Y 3-ARIL-1-FENILPIRAZOL-4-CARBOXALDEHIDO"** . Presentado por el estudiante LUIS GUILLERMO RODRÍGUEZ GÓMEZ código 0635103 bajo la dirección del Dr. BRAULIO A. INSUASTY OBANDO.

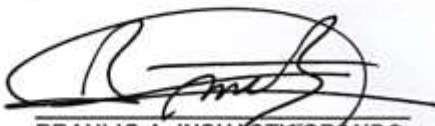
Candidato a Grado para la ceremonia de:

RESULTADO DE LA EVALUACION:

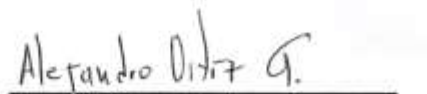
- ☒ APROBADO.
() RECOMENDACIÓN DE DISTINCION DE MERITORIO.
() RECOMENDACIÓN DE DISTINCION DE LAUREADO.
() REPROBADO.

Se recomienda modificaciones: SI () NO ().

OBSERVACIONES


BRAULIO A. INSUASTY OBANDO
DIRECTOR DEL TRABAJO


JOSE HIPOLITO ISAZA
JURADO


ALEJANDRO ORTIZ GONZÁLEZ
DIRECTOR PROGRAMA ACADEMICO

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS COMPUESTOS
HETEROCÍCLICOS NITROGENADOS DE CINCO MIEMBROS A PARTIR DE 3-
METOXI-4-TOSILOXIBENZALDEHIDO Y 3-ARIL-1-FENILPIRAZOL-4-
CARBOXALDEHIDO**

LUIS GUILLERMO RODRÍGUEZ GÓMEZ

0635103

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA
SANTIAGO DE CALI**

2013

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS COMPUESTOS
HETEROCÍCLICOS NITROGENADOS DE CINCO MIEMBROS A PARTIR DE 3-
METOXI-4-TOSILOXIBENZALDEHIDO Y 3-ARIL-1-FENILPIRAZOL-4-
CARBOXALDEHIDO**

LUIS GUILLERMO RODRÍGUEZ GÓMEZ

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

Director:

Braulio Insuasty O, Ph. D

Codirector

Juan Sebastián Ramírez Pradilla, Químico

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA
SANTIAGO DE CALI**

2013

UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE QUÍMICA

LUIS GUILLERMO RODRÍGUEZ GÓMEZ

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS COMPUESTOS
HETEROCÍCLICOS NITROGENADOS DE CINCO MIEMBROS A PARTIR DE 3-
METOXI-4-TOSILOXIBENZALDEHIDO Y 3-ARIL-1-FENILPIRAZOL-4-
CARBOXALDEHIDO

Palabras claves: Cloruro de *p*-toluensulfonilo, vainillina, compuestos carbonílicos α,β -insaturados, pirazolina, pirazol.

NOTA DE APROBACIÓN

El trabajo titulado, “Síntesis y caracterización de nuevos compuestos heterocíclicos nitrogenados de cinco miembros”, presentado por el estudiante **LUIS GUILLERMO RODRÍGUEZ GÓMEZ** para optar por el título de Químico, fue revisado por el jurado y calificado como _____

Braulio A. Insuasty Obando

Juan Sebastián Ramírez Pradilla

Jurado

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	VII
INTRODUCCIÓN	X
1. ANTECEDENTES.	1
1.1 Generalidades de las chalconas	1
1.2 Generalidades de las pirazolinas	4
1.3 Generalidades del pirazol	6
1.4 Generalidades del sustituyente <i>p</i> -toluensulfonilo	8
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
3. OBJETIVOS	12
3.1 Objetivo general	12
3.2 Objetivos específicos	12
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	13
4.1 Síntesis y caracterización de los nuevos compuestos carbonílicos α,β -insaturados (<i>E</i>)-1-(4-R-fenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-prop-2-en-1-ona. 45a-f	13
4.2 Síntesis y caracterización de 3-(4-R-fenil)-1-formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol 48a-f.	21
4.3 Síntesis y caracterización de 3-(4-R-fenil)-1-formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol. 50a-e.	30
4.4 Síntesis y caracterización de 5-[3-(4-clorofenil)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il]-3-(4-R-fenil)-1-formil 4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol. 51a-g.	39
4.5 Estudio de actividad antitumoral	47
5. CONCLUSIONES	53

6. SECCIÓN EXPERIMENTAL	55
6.1 Reactivos comerciales	55
6.2 Disolventes	55
6.3 Instrumentación	56
6.4 Síntesis de precursores	56
6.5 Síntesis de productos finales	57
7. REFERENCIAS	68

LISTA DE FIGURAS.

	Pág.
Figura 1. Compuestos carbonílicos α,β -insaturados biológicamente activos.	2
Figura 2. Clases estructurales de pirazolinas.	4
Figura 3. Pirazolinas anticonvulsivante y antimicrobiana.	6
Figura 4. Pirazoles que presentan actividad biológica.	8
Figura 5. Quinolina sustituida con <i>p</i> -toluensulfonilo.	9
Figura 6. Estructura y asignación alfabética-numérica de la (<i>E</i>)-1-(4-clorofenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-prop-2-en-1-ona.	14
Figura 7. Espectro IR del compuesto 45a .	15
Figura 8. Espectro RMN- ^1H del compuesto 45a .	16
Figura 9. Experimento COSY del compuesto 45a .	17
Figura 10. Expansión del experimento COSY del compuesto 45a .	18
Figura 11. Espectro RMN- ^{13}C del compuesto 45a .	19
Figura 12. Estructura y asignación alfabética-numérica de 1-formil-5-(3-metox-4-tosiloxifenil)-3- <i>p</i> -tolil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol 48b .	22
Figura 13. Espectro IR del compuesto 48b .	22
Figura 14. Espectro de RMN- ^1H del compuesto 48b .	25
Figura 15. Diagrama de Karplus para determinar la constante de acoplamiento vecinal según el ángulo diedro.	23
Figura 16. Sistema de espín AMX de la pirazolina 48b .	24
Figura 17. Experimento COSY del compuesto 48b .	26
Figura 18. Expansión del experimento COSY del compuesto 48b .	27
Figura 19. Espectro RMN- ^{13}C y DEPT-135 del compuesto 48b .	28

Figura 20. Estructura y asignación alfabética-numérica de 3-fenil-1-formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1H-pirazol (50e).	31
Figura 21. Espectro IR del compuesto 50e .	32
Figura 22. Espectro RMN- ¹ H del compuesto 50e .	34
Figura 23. Sistema de espín AMX de la pirazolina 50e .	33
Figura 24. Experimento COSY del compuesto 50e .	35
Figura 25. Ampliación del experimento COSY del compuesto 50e .	36
Figura 26. Espectro RMN- ¹³ C y DEPT-135 del compuesto 50e .	37
Figura 27. Estructura y asignación alfabética-numérica del 5-[3-(4-clorofenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-1-formil-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (51f).	39
Figura 28. Espectro IR del compuesto 51f .	40
Figura 29. Espectro RMN- ¹ H del compuesto 51f .	42
Figura 30. Sistema de espín AMX de la pirazolina 51f .	41
Figura 31. Experimento COSY del compuesto 51f .	43
Figura 32. Expansión del experimento COSY del compuesto 51f .	44
Figura 33. Espectro RMN- ¹³ C y DEPT-135 del compuesto 51f .	45
Figura 34. Estructura de los compuestos evaluados <i>in vitro</i> por el NCI	47

LISTA DE ESQUEMAS.

	Pág.
Esquema 1. Estructura general y síntesis de chalconas.	1
Esquema 2. Compuestos carbonílicos α,β -insaturados con importante actividad biológica.	3
Esquema 3. Ciclación de chalconas con compuestos 1,2, 1,3 y 1,4 binucleofílicos.	3
Esquema 4. Obtención de 2-pirazolinas mediante el método de Fischer y Knövenagel.	4
Esquema 5. Síntesis de la pirazolina 24 con actividad antitumoral	5
Esquema 6. Síntesis del derivado $-NH$ -pirazolílico 28 con actividad antimicrobiana.	6
Esquema 7. Síntesis de pirazol a partir de nitro-olefina.	7
Esquema 8. Síntesis del Pirazol 32 .	7
Esquema 9. Síntesis del pirazol 34 utilizando el reactivo de Vilsmeier–Haack.	7
Esquema 10. Síntesis de tosilatos.	8
Esquema 11. Síntesis de la quinolina 42 con sustituyente <i>p</i> -toluensulfonilo.	9
Esquema 12. Síntesis de compuestos carbonílicos α,β -insaturados.	10
Esquema 13. Síntesis de nuevas pirazolinas.	11
Esquema 14. Síntesis de nuevos compuestos carbonílicos α,β -insaturados.	13
Esquema 15. Síntesis de nuevas <i>N</i> -formilpirazolinas 48 .	21
Esquema 16. Síntesis de nuevas <i>N</i> -formilpirazolinas 50 .	30

LISTA DE TABLAS.

	Pág.
Tabla 1. Características de los compuestos α,β -insaturados 45a-f .	14
Tabla 2. Correlaciones observadas por medio de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para el compuesto 45a .	20
Tabla 3. Características de las pirazolinas 48a-f	21
Tabla 4. Correlaciones observadas por medio de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para el compuesto 48b .	29
Tabla 5. Características de las pirazolinas 50a-e .	31
Tabla 6. Correlaciones observadas por medio de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para el compuesto 50e .	38
Tabla 7. Características de las pirazolinas 51a-g	39
Tabla 8. Correlaciones observadas por medio de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para el compuesto 51f .	46
Tabla 9. Evaluación <i>in vitro</i> de los compuestos 45a y 48d .	48

RESUMEN

En este trabajo de investigación se llevó a cabo la síntesis de nuevos compuestos carbonílicos $\alpha\beta$ -insaturados a partir de 3-metoxi-4-tosiloxibenzaldehído, los cuales se sometieron a reacciones de ciclocondensación con hidrazina para la obtención de nuevas pirazolinas *N*-formiladas del tipo 3-(4-*R*-fenil)-1-formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol.

También se realizó la síntesis de nuevas pirazolinas *N*-formiladas del tipo 3-(4-*R*-fenil)-5-[3-(4-*R*-fenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-1-formil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol, a partir de las pirazolinas *NH*, reportadas previamente por el Grupo de Investigación de Compuestos Heterocíclicos de la Universidad del Valle.

Todos los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía IR, RMN ^1H , ^{13}C , (experimentos bidimensionales como COSY, HSQC y HMBC) y sometidos al National Cancer Institute (NCI) de los Estados Unidos para realizar los estudios de actividad antitumoral. De los compuestos solicitados por el NCI los compuestos **45a** ((*E*)-1-(4-clorofenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-prop-2-en-1-ona) y **48d** (1-Formil-5-(3-metox-4-tosiloxifenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol) presentaron una notable actividad biológica, el compuesto **45a** frente al panel celular de leucemia con un porcentaje de inhibición $\text{GI}_{50} = 1.90 \mu\text{M}$ y un índice de citotoxicidad $\text{LC}_{50} > 100 \mu\text{M}$ en la línea celular SR, y el compuesto **48d** frente al panel celular de cáncer de mama en la línea celular MDA-MB-468 con un porcentaje de inhibición $\text{GI}_{50} = 1,44 \mu\text{M}$ y un índice de citotoxicidad $\text{LC}_{50} > 100 \mu\text{M}$.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.

α	Posición adyacente respecto a un grupo funcional principal
β	Posición 1,3 respecto a un grupo funcional principal
Ar	Grupo arilo
°C	Grados centígrados
cm ⁻¹	Centímetro recíproco, asociado con el número de onda
COSY	Espectroscopía de correlación homonuclear
d	Doblete
DEPT	(Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)
DMF	Dimetilformamida
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
<i>E</i>	Designación que se le da a los isómeros cuando los sustituyentes de más alta prioridad de cada átomo enlazado por el doble enlace están opuestos <i>E</i> (del alemán Engegen= de través).
g	Gramos
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
Hz	Hertz
<i>C_i</i>	Carbono Cuaternario C-1 (<i>ipso</i>) en un anillo aromático
IR	Infrarrojo
ⁿ <i>J</i>	Constante de acoplamiento a <i>n</i> enlaces
m	Multiplete
<i>m</i>	Posición “ <i>meta</i> ” de un anillo aromático
M.W.	Microondas (radiación)
mmol	Milimoles
<i>o</i>	Posición “ <i>orto</i> ” de un anillo aromático
<i>p</i>	Posición “ <i>para</i> ” de un anillo aromático
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
R	Grupo sustituyente

Rend.	Rendimiento
RMN- ¹ H	Resonancia magnética nuclear protónica
RMN- ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
s	Singlete
t	Triplete
Ts	Tosilo

INTRODUCCIÓN

Los compuestos heterocíclicos cumplen un papel importante en el campo de la síntesis orgánica y química medicinal, debido a la gran versatilidad sintética para la obtención de bibliotecas de compuestos con potencial actividad biológica, lo cual se ve reflejado en el avance de métodos sintéticos cada día más económicos y amigables al medio ambiente, así como la producción de nuevos fármacos más potentes y selectivos.

Los compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno en su estructura son de especial interés, por lo cual en los últimos años muchos estudios se han enfocado en su obtención y búsqueda de actividad biológica frente a afecciones que afecten al ser humano, un ejemplo claro de este tipo de compuestos son los pirazoles, las pirazolinas y las diazepinas, las cuales se obtienen esencialmente por medio de reacciones de condensación de tipo nucleófilo-electrófilo. La inclusión en las moléculas de grupos funcionales que potencien la actividad biológica también es otra área de mucho interés, por lo cual en los últimos años se han evaluado diferentes tipos de grupos, entre ellos el *p*-toluensulfonilo el cual ha demostrado mejorar significativamente la actividad biológica de diferentes moléculas heterocíclicas.

Este trabajo se enfocó en la síntesis de nuevos sistemas heterocíclicos nitrogenados de cinco miembros, los cuales contienen el grupo *p*-toluensulfonilo, unido a una molécula de vainillina, formando así el compuesto precursor, que mediante una reacción tipo Claisen-Schmidt con acetofenonas forma los nuevos compuestos carbonílicos α,β -insaturados y posteriormente mediante una reacción tipo Fischer y Knövenagel genera las nuevas pirazolinas. Asimismo, se planteó la síntesis de nuevas pirazolinas *N*-formiladas a partir de las pirazolinas *NH* derivadas del 3-*aril*-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído, reportadas previamente por el grupo de investigación de compuestos heterocíclicos.

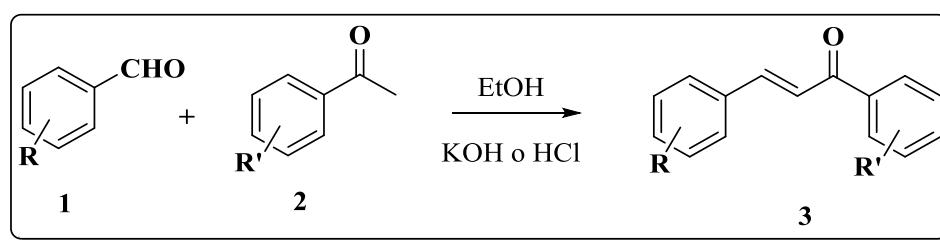
1. ANTECEDENTES

En esta sección, se describirán algunas generalidades sobre los compuestos carbonílicos α,β -insaturados, pirazol, pirazolinas y el sustituyente *p*-toluensulfonilo como sustituyente potencialmente activo.

1.1 Generalidades de las Chalconas

Las chalconas constan de un grupo carbonilo conjugado con un doble enlace, esta unidad se encuentra en medio de dos anillos aromáticos generalmente derivados de benceno y corresponden según la nomenclatura IUPAC a las 1,3-diarilprop-2-en-1-onas.

Las chalconas se sintetizan mediante una reacción de condensación tipo Claisen-Schmidt, a partir de acetofenonas y benzaldehídos sustituidos en medio ácido o básico y generalmente empleando etanol como disolvente.^[1] (**Esquema 1**)



Esquema 1. Estructura general y síntesis de chalconas

En los últimos años, diferentes estudios han demostrado que estos compuestos presentan un amplio espectro de actividad biológica en contra de diversas enfermedades asociadas al ser humano, entre las más destacables se encuentran, actividad antimicrobiana 4,^[2] actividad antidepressiva 5,^[3] antiinflamatoria 6,^[4] antifúngica 7,^[5] y antitumoral 8,^[6] (**Figura 1**).

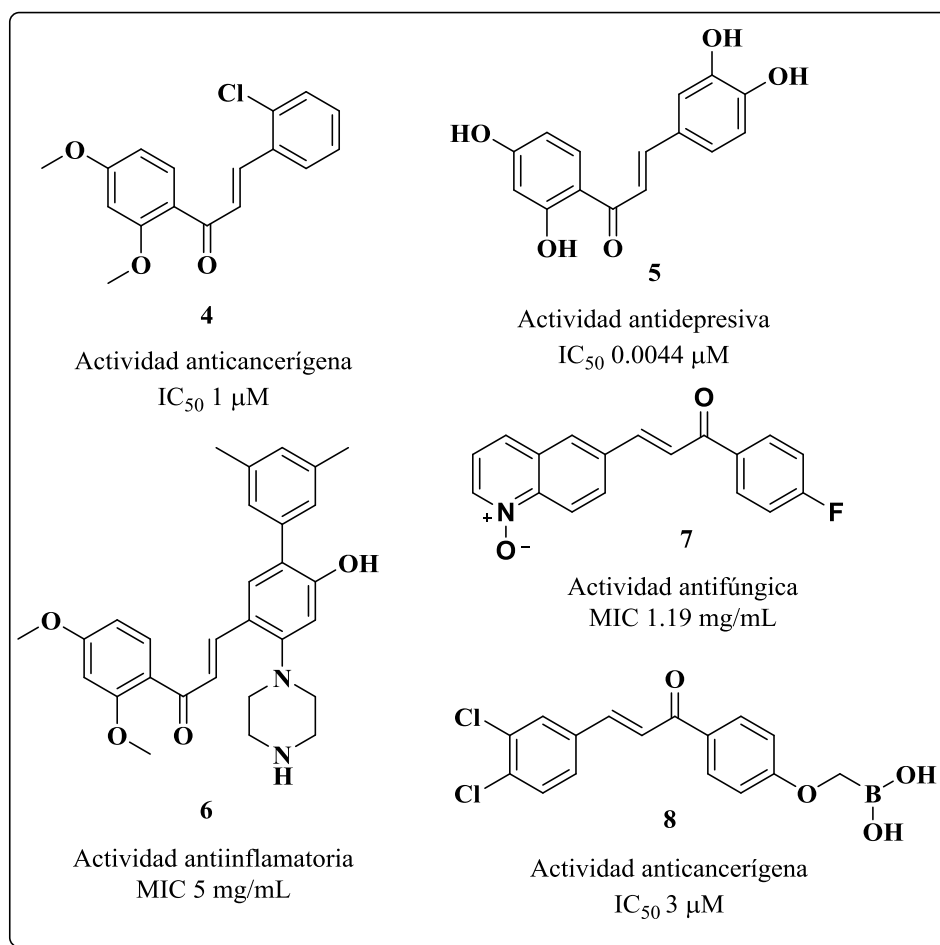
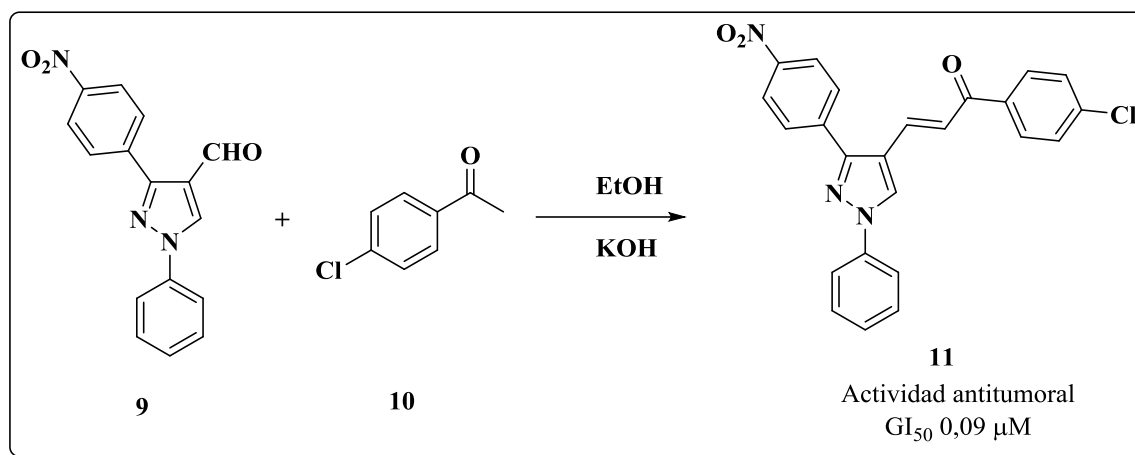


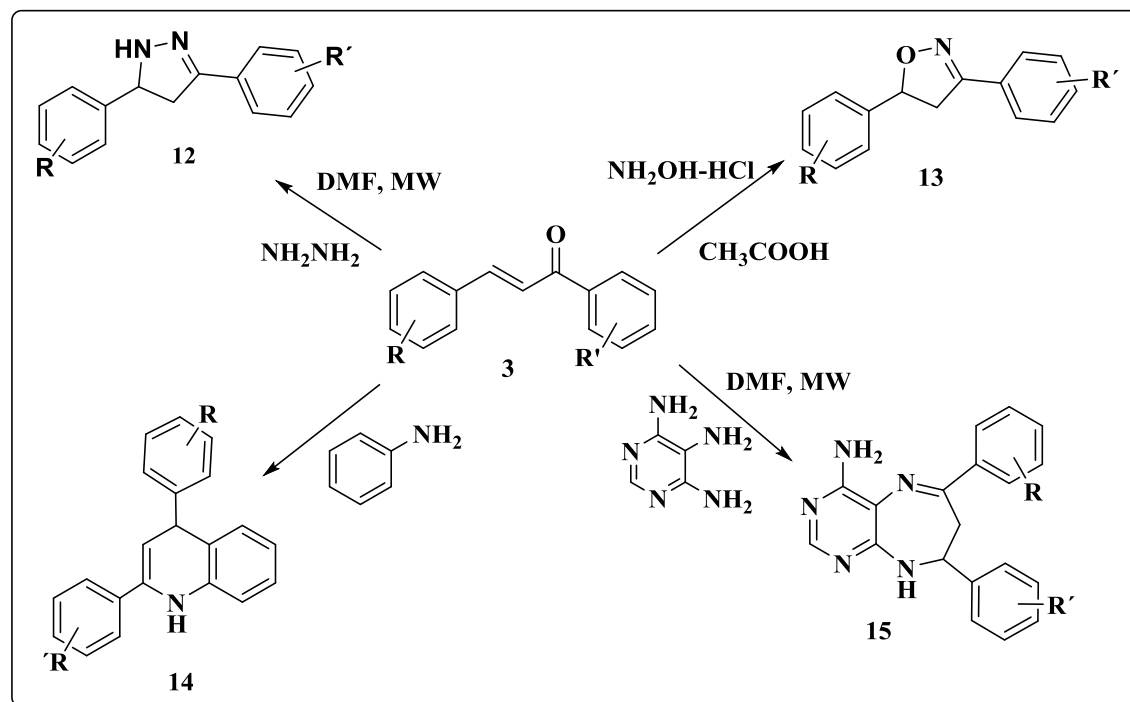
Figura 1. Compuestos carbonílicos α,β -insaturados biológicamente activos.

Recientemente, en el grupo de investigación de compuestos heterocíclicos de la Universidad del Valle, Insuasty, B y col,^[7] reportaron la síntesis del compuesto carbonílico α,β -insaturado **11**, a partir del aldehído **9**, derivado de pirazol y *p*-cloroacetofenonas, bajo condiciones de Claisen-Schmidt. Dicho compuesto, presentó interesante actividad antitumoral y es de gran importancia en el desarrollo de este trabajo (**Esquema 2**).



Esquema 2. Compuestos carbonílicos α,β -insaturados con importante actividad biológica.

Las chalconas también son compuestos de gran interés en síntesis orgánica debido a su carácter 1,3 dielectrofílico, el cual permite obtener diversos compuestos heterocíclicos en presencia de 1,2, 1,3 y 1,4 binucleófilos y empleando diversos métodos, como las pirazolinas **12**, oxazoles **13**, dihidropiridinas **14** y diazepinas **15**, compuestos de gran importancia en química medicinal (**Esquema 3**).



Esquema 3. Ciclación de chalconas con compuestos 1,2, 1,3 y 1,4 binucleofílicos. ^[8-11]

1.2 Generalidades de las pirazolinas

Las pirazolinas son compuestos heterocíclicos de cinco miembros que poseen un solo doble enlace y dos átomos de nitrógeno adyacentes, de esta manera se pueden tener tres tipos de pirazolinas, 1-pirazolina (**16**), 2-pirazolina (**17**) y 3-pirazolina (**18**). Siendo la 2-pirazolina la más interesante para este trabajo de investigación.

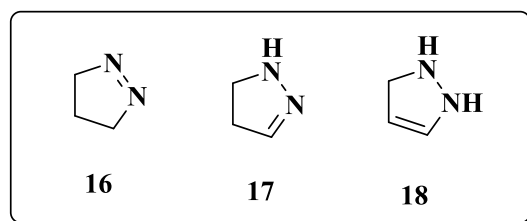
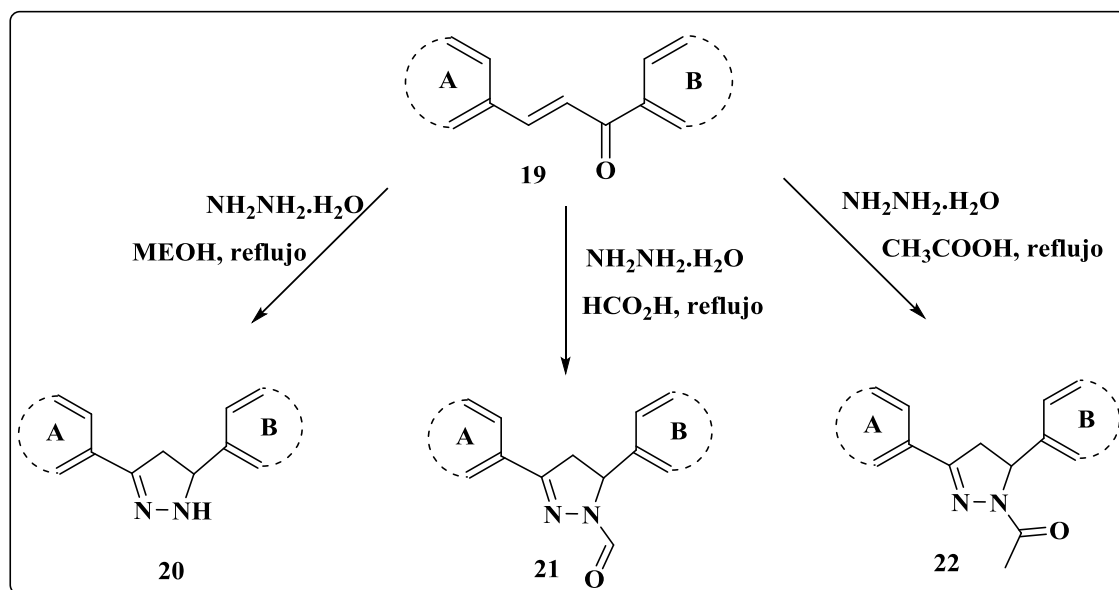


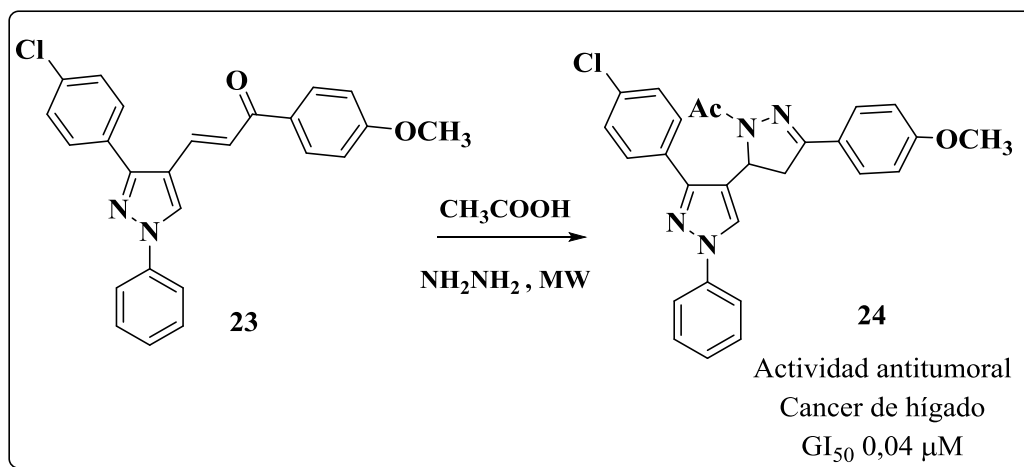
Figura 2. Clases estructurales de pirazolinas.

Las 2-pirazolinas se obtienen por medio de varias rutas,^[12,13] sin embargo el método más acogido ha sido el propuesto por Fischer y Knövenagel^[14,15] (**Esquema 4**) a finales del siglo XIX, en el cual se llevó a cabo la condensación de chalconas sustituidas con hidrato de hidracina.



Esquema 4. Obtención de 2-pirazolinas mediante el método de Fischer y Knövenagel.

En las NH pirazolinas el nitrógeno tiene la característica de presentar nucleofilicidad, por tal razón éste puede ser funcionalizado. En el grupo de investigación de compuestos heterocíclicos Insuasty, B y col, ^[16] reportaron la síntesis de diferentes pirazolinas *N*-sustituidas, utilizando la técnica de calentamiento por irradiación con microondas, en tiempos de reacción de 5 minutos, entre las que se destaca la pirazolina **24**, la cual presentó actividad antitumoral importante.(Esquema 5).



Esquema 5. Síntesis de la pirazolina **24** con actividad antitumoral importante.

Las pirazolinas, así como sus derivados han sido de gran interés, debido a su amplio espectro de actividad biológica, como antiinflamatorias, ^[17,18] antitumorales, ^[19] antiparasitarias, ^[20] antidepresivas y anticonvulsiantes, ^[21] antimicrobiales, ^[22,23] y antiartritis. ^[24]

Prasad, Y. y col, ^[25] reportaron la pirazolina **25** con actividad anticonvulsivante y Karthikeyan, M. y col, ^[26] la pirazolina **26** con actividad antimicrobiana (**Figura 3**).

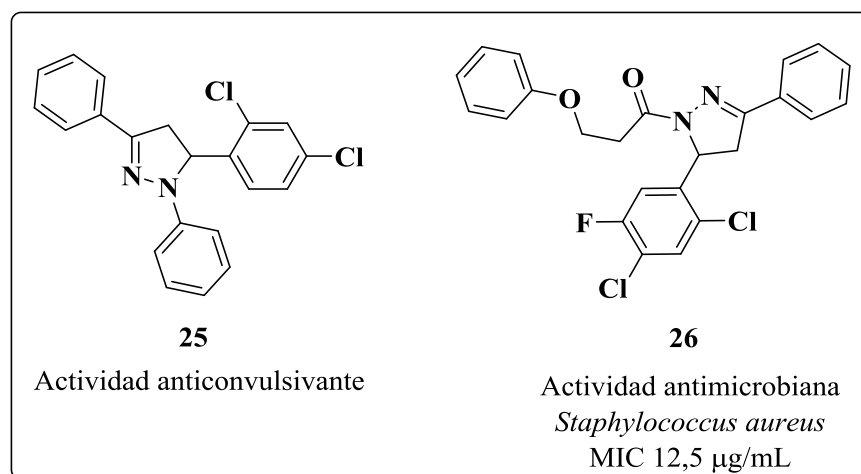
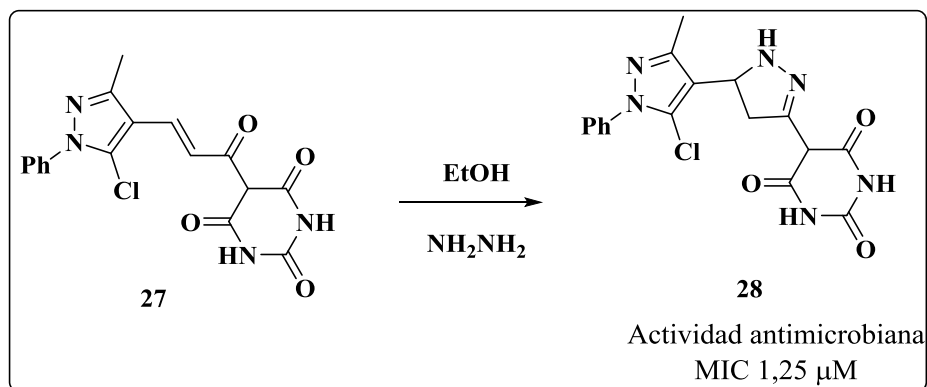


Figura 3. Pirazolas anticonvulsivante y antimicrobiana.

Siddiqui, Z. y col, ^[27] reportaron la síntesis de la pirazolina **28** derivada del ácido barbitúrico **27**, la cual presentó actividad antimicrobiana (**Esquema 6**).

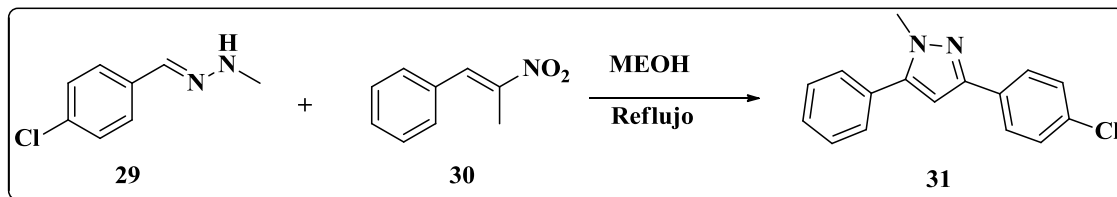


Esquema 6. Síntesis del derivado –NH-pirazolínico **28** con actividad antimicrobiana.

1.3 Generalidades del pirazol

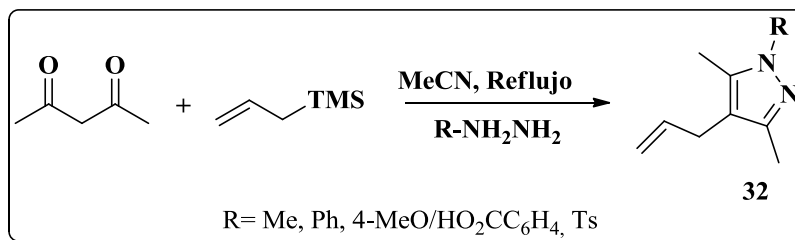
El pirazol que corresponde según la nomenclatura IUPAC al 1,2-diazaciclopenta-2,4-dieno, consiste en un anillo aromático de cinco miembros con dos átomos de nitrógeno en posición adyacente, el primer nitrógeno tiene su par de electrones libres comprometido en la aromaticidad del anillo y el otro se encuentra enlazado a un átomo de hidrógeno, debido a esto pueden presentar reacciones de sustitución electrofílica y nucleofílica siendo la última la menos común.

Los pirazoles se sintetizan mediante una gran variedad de métodos, se pueden obtener de la reacción de nitro-olefinas con hidrazonas utilizando metanol como disolvente. ^[28] (Esquema 7)



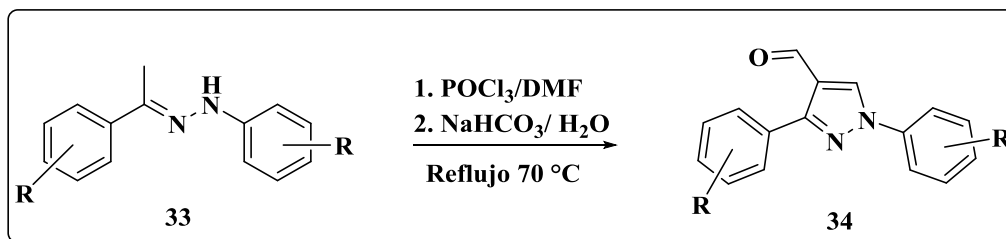
Esquema 7. Síntesis de pirazol a partir de nitro-olefina

S. Fustero y P. Barrio, ^[29] propusieron la síntesis de pirazoles sustituidos mediante la ciclocondensación de compuestos 1,3-dielectrofilicos con hidrazina, (Esquema 8).



Esquema 8. Síntesis de pirazol 32.

Recientemente en el grupo de investigación de compuestos heterocíclicos, Insuasty, B y col, ^[30] llevaron a cabo la síntesis del pirazol 34, partiendo de la hidrazona 33 y utilizando el reactivo de Vilsmeier–Haack (POCl₃/DMF). (Esquema 9)



Esquema 9. Síntesis del pirazol 34 utilizando el reactivo de Vilsmeier–Haack

El pirazol se encuentra en algunos compuestos que presentan actividad farmacológica, ^[31] como, antibacterial 35, ^[32] anti-inflamatorio 36, ^[33] antiangiogénica 37. ^[34]; Xian-Feng Huang

y col ^[35], sintetizaron el derivado del pirazol **38**, el cual presentó actividad frente al cáncer de seno. (**Figura 4**)

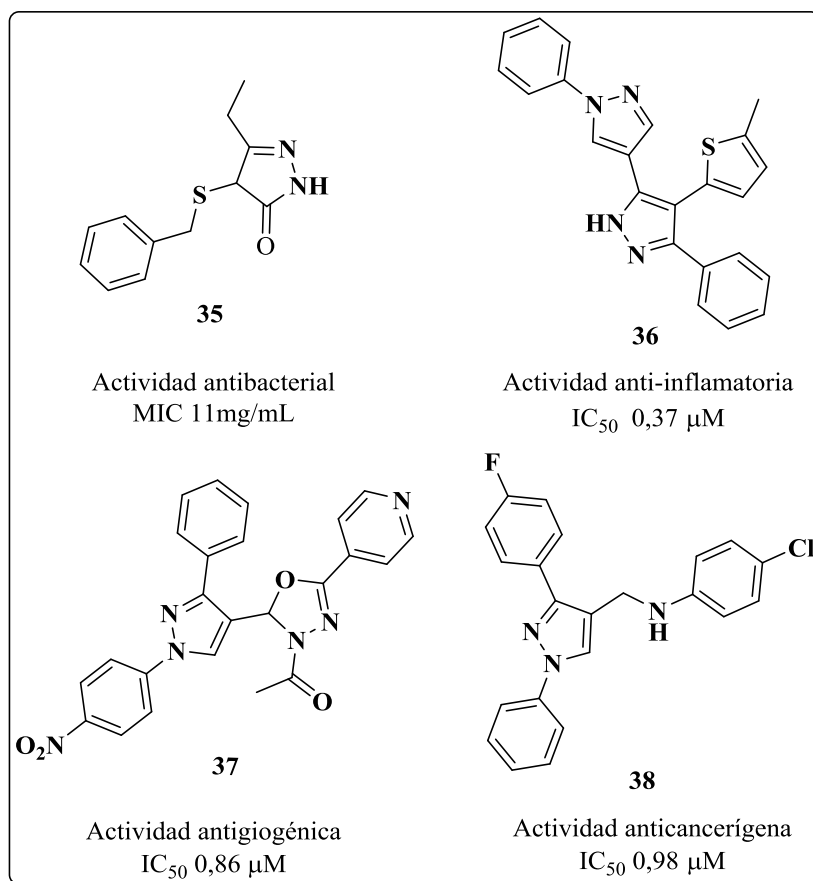
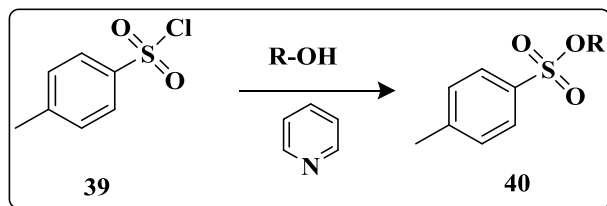


Figura 4. Pirazoles que presentan actividad biológica.

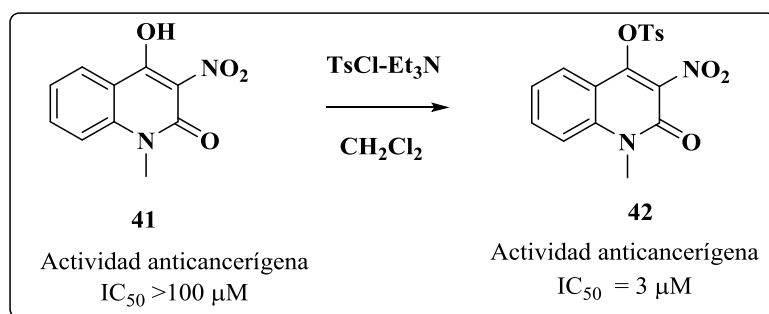
1.4 Generalidades del sustituyente *p*-toluensulfonilo (Tosilo)

El grupo tosilo o *p*-toluensulfonilo generalmente se utiliza como grupo saliente en reacciones de sustitución nucleofílica, ^[36] la síntesis de los tosilatos se lleva a cabo mediante la reacción del correspondiente alcohol con cloruro de tosilo. ^[37] (**Esquema 10**).



Esquema 10. Síntesis de tosilatos

Recientemente se ha encontrado que quinolinas sustituidas con el grupo *p*-toluensulfonilo presentan una remarcable actividad biológica, Audisio D. y Col,^[38] encontraron que al sustituir el grupo hidroxilo de la quinolina **41** por el grupo tosilo, se mejoró la actividad anticancerígena frente a la línea celular MCF-7. (**Esquema 11**).



Esquema 11. Síntesis de la quinolina **42** con sustituyente *p*-toluensulfonilo.

Guo-Biao Liu y col, ^[39] sintetizaron la quinolina **43** con el sustituyente tosilo, la cual presentó un alto porcentaje de inhibición como inmunosupresor del linfocito T, el cual juega un papel importante en los trasplantes de órganos y enfermedades autoinmunes.

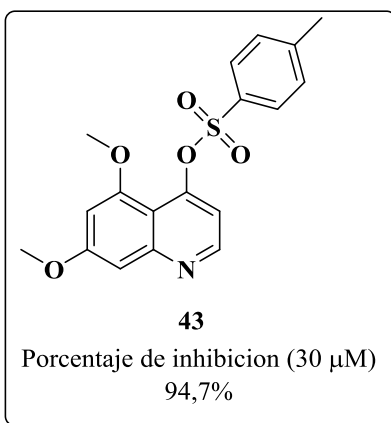
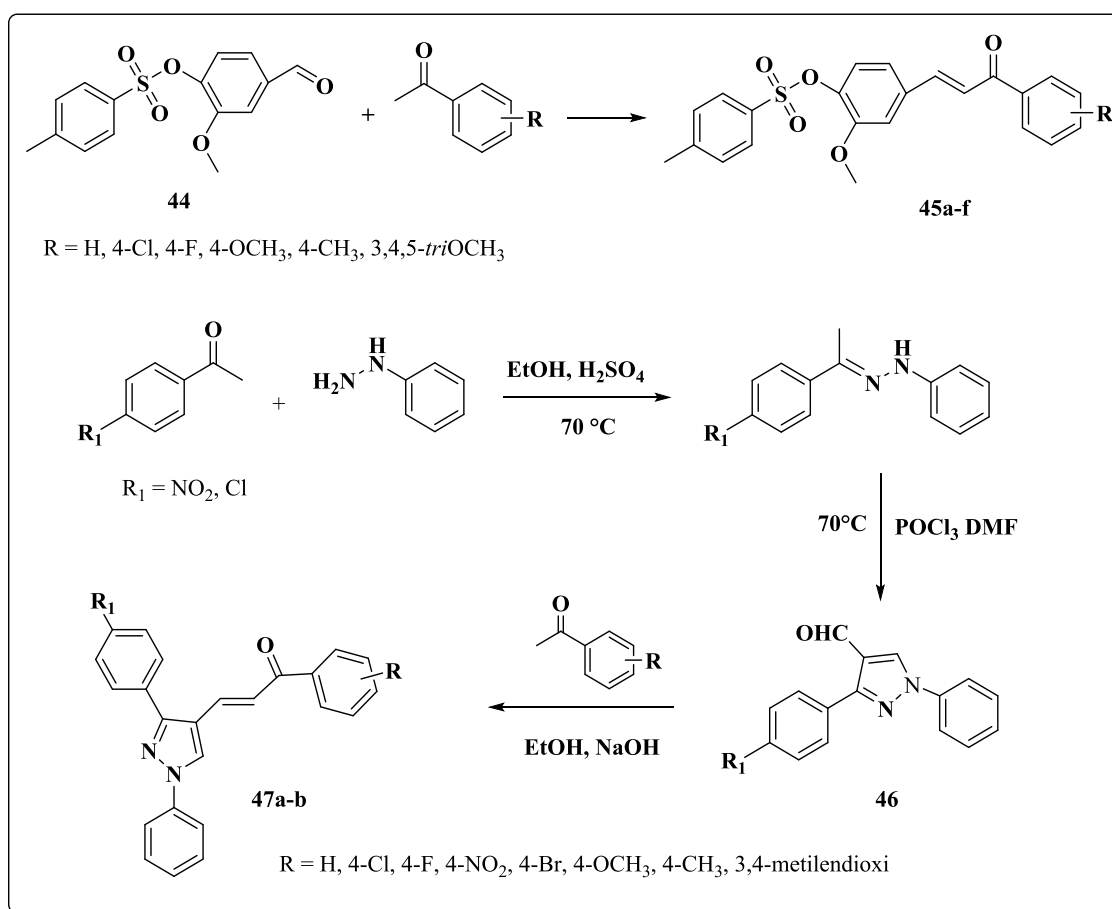


Figura 5. Quinolina substituida con *p*-toluensulfonilo.

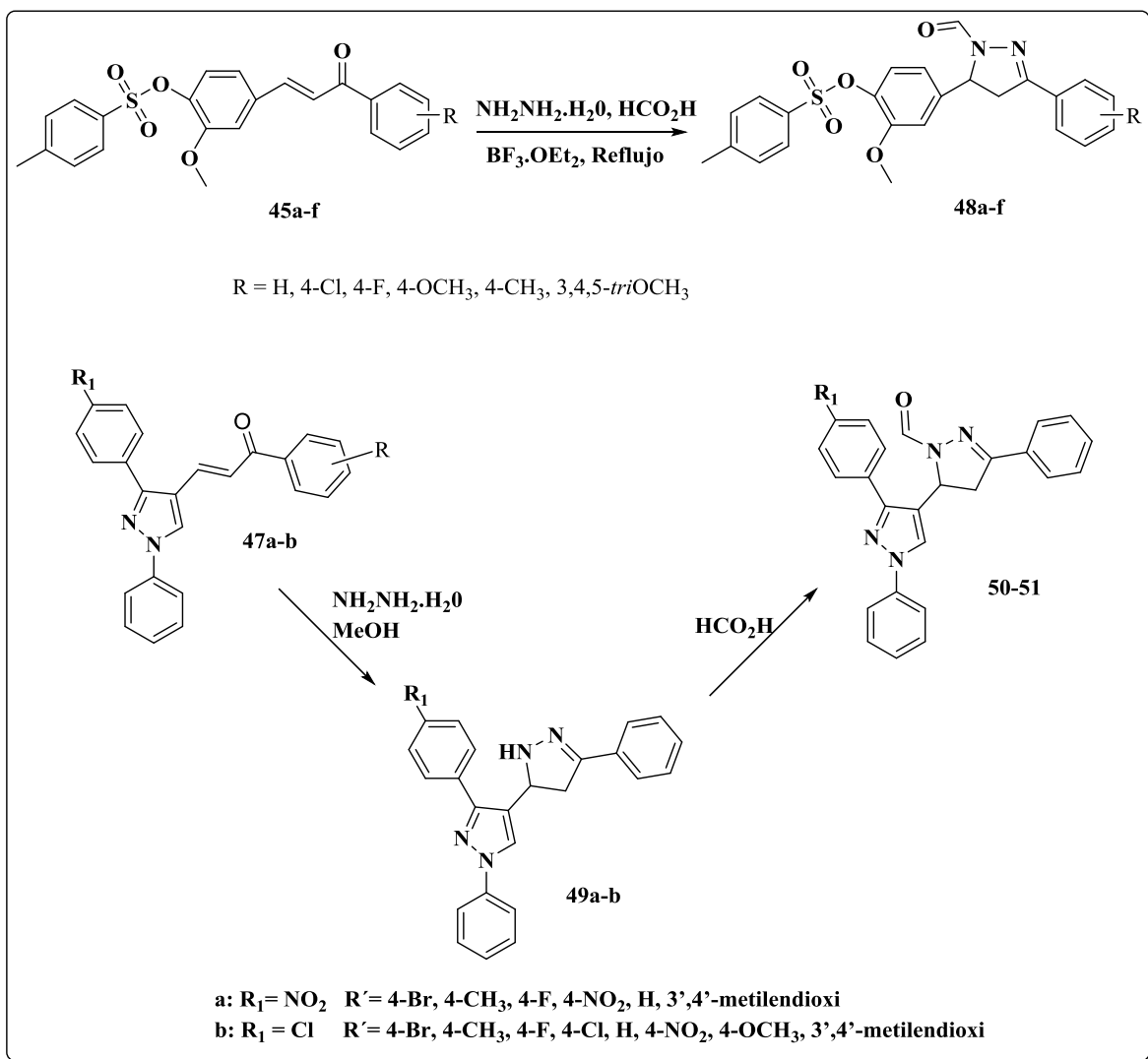
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Teniendo en cuenta la versatilidad sintética y biológica de compuestos como las chalconas, pirazoles y pirazolinas, se plantea la síntesis de compuestos carbonílicos α,β -insaturados **45a-f** y **47a-b**, mediante condensaciones tipo Claisen-Schmidt de 3-metoxi-4-tosiloxibenzaldehído **44** y 3-aryl-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído **46** como se muestra en el Esquema 12.

Se plantea la síntesis de derivados pirazolínicos mediante condensación tipo Fischer-Knövenagel de los compuestos **45a-f** y **47a-b**, (Esquema 13) con posterior fomicación para obtener *N*-formilpirazolinas **48** y **49**.



Esquema 12. Síntesis de compuestos carbonílicos α,β -insaturados.



Esquema 13. Síntesis de nuevas pirazolinas.

Se realizará la optimización de las condiciones de reacción, la caracterización de los nuevos compuestos mediante técnicas espectroscópicas como: IR-TF, RMN ^1H y ^{13}C mono y bidimensional, y se someterán al NCI (National Cancer Institute, US) con el fin de estudiar su posible actividad antitumoral.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general.

- Obtener nuevos compuestos carbonílicos α,β -insaturados y nuevos compuestos heterocíclicos nitrogenados de cinco miembros y evaluar su posible actividad anticancerígena.

3.2 Objetivos específicos.

- Sintetizar nuevos compuestos carbonílicos α,β -insaturados a partir de 3-metoxi-4-tosiloxibenzaldehído
- Obtener nuevos sistemas pirazolínicos, mediante reacciones de ciclocondensación con hidracina de las nuevas chalconas sintetizadas.
- Obtener nuevos sistemas pirazolínicos, a partir de los compuestos α,β -insaturados derivados del 3-aril-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído.
- Buscar condiciones óptimas de reacción para llevar a cabo la formación de los productos y mejorar la actividad biológica mediante la inclusión de grupos funcionales adecuados.
- Caracterizar los compuestos obtenidos mediante las técnicas espectroscópicas IR-TF, RMN- ^1H , RMN- ^{13}C , RMN bidimensionales (HSQC y HMBC).
- Evaluar la posible actividad anticancerígena de los compuestos obtenidos.

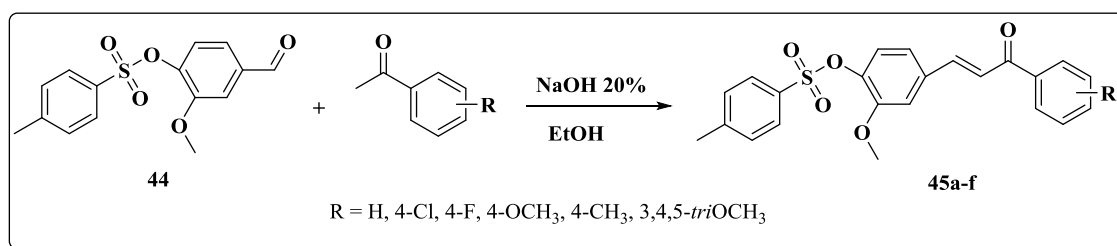
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Este trabajo de investigación estuvo centrado en la obtención de compuestos heterocíclicos nitrogenados de 5 miembros, más específicamente, de pirazolinas *N*-formiladas, para lo cual se utilizaron tres tipos diferentes de compuestos carbonílicos α,β -insaturados.

Los métodos de síntesis, las condiciones óptimas de reacción y la caracterización espectroscópica básica para un compuesto representativo de cada serie sintetizada se discuten a continuación.

4.1 Síntesis y caracterización de los nuevos compuestos carbonílicos α,β -insaturados (*E*)-1-(4-*R*-fenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-prop-2-en-1-ona. 45a-f

Se sintetizó la serie de compuestos carbonílicos α,β -insaturados derivados del 3-metoxi-4-tosiloxibenzaldehído, mediante la reacción de condensación tipo Claisen-Schmidt con las correspondientes acetofenonas. (**Esquema 14**). La reacción se llevó a cabo con una mezcla equimolar del aldehído **44** con la correspondiente acetofenona, se utilizó etanol como disolvente (5 mL) y NaOH 20% (0,25 mmol) como catalizador, se agitó la mezcla de reacción durante 2-3 horas a temperatura ambiente hasta observar la desaparición de los precursores empleando cromatografía de capa delgada, el sólido formado se aisló por filtración a vacío y se lavó con etanol y agua fría.



Esquema 14. Síntesis de nuevos compuestos carbonílicos α,β -insaturados.

Los compuestos sintetizados fueron caracterizados utilizando espectroscopia IR-TF, RMN ^1H y ^{13}C , además se tomaron los correspondientes puntos de fusión y se calculó el porcentaje de rendimiento para cada uno como se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Características de los compuestos carbonílicos α,β -insaturados **45a-f**

45	R	P.F. (°C)	Rendimiento (%)
a	4-Cl	104-105	78
b	4-CH ₃	99-100	69
c	4-F	115-116	75
d	4-OCH ₃	109-110	65
e	3,4,5- <i>tri</i> OCH ₃	145-146	74
f	4-H	107-108	59

Para la caracterización de los compuestos **45a-f**, se analizan los detalles espectroscópicos del compuesto **45a** (**figura 6**), como representativo de la serie, el cual muestra en su espectro de IR-TF (**Figura 7**), una banda de vibración de tensión C=O a 1660 cm^{-1} , esta se encuentra desplazada a menor frecuencia debido a la conjugación del grupo carbonilo con el grupo fenilo y el grupo olefínico; a 1600 cm^{-1} se observa la banda de vibración de tensión C=C.

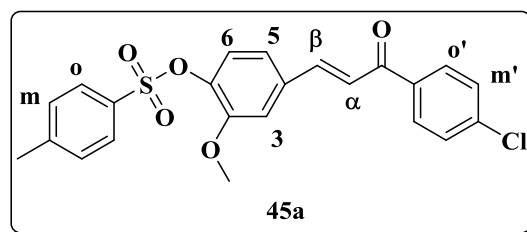


Figura 6. Estructura y asignación alfabética-numérica de la (*E*)-1-(4-clorofenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-prop-2-en-1-ona. **45a**.

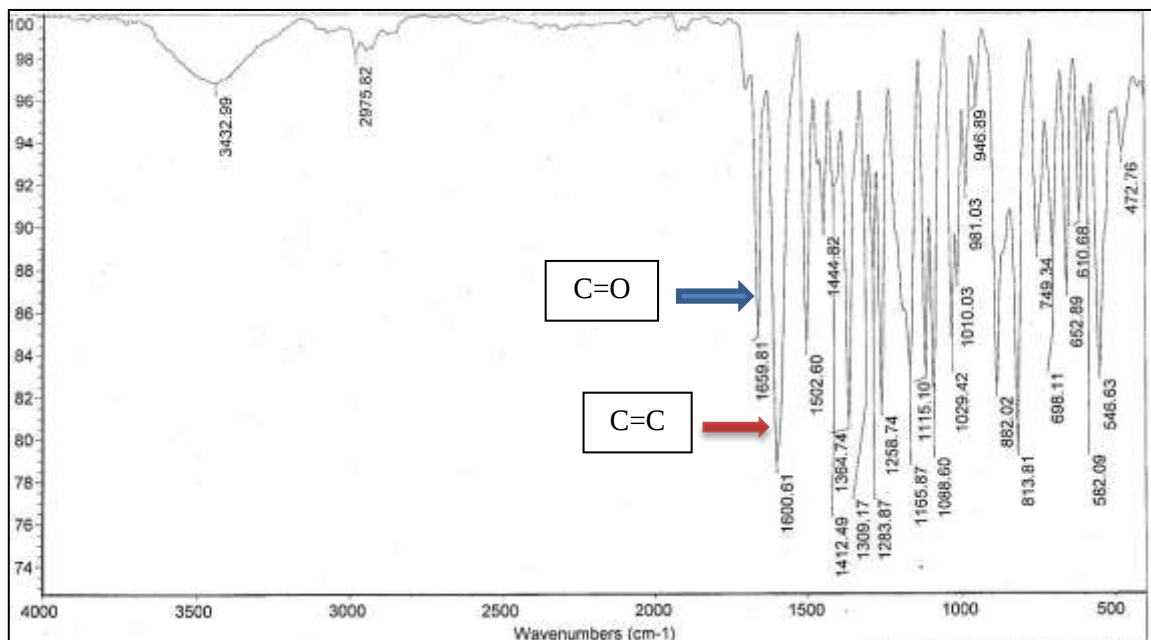


Figura 7. Espectro IR del compuesto **45a**.

En el espectro RMN- ^1H del compuesto **45a** (**Figura 8**) se observan dos singuletes a 2.46 y 3.86 ppm, las señales correspondientes a los grupos metilo y metoxi respectivamente. En la región aromática se pueden apreciar dos señales singulete, a 7.06 y 7.21 ppm que integran para 1H y 2H, correspondientes a los protones H-3, H-5 y H-6 respectivamente, las señales de estos dos últimos se observan como un singulete debido al solapamiento entre ellas. Dos dobletes a 7.39 y 7.71 ppm con constante de acoplamiento $J = 16.0$ Hz que integra cada uno para un protón, indican la presencia del sistema α,β -insaturado en configuración *trans*. Las señales de los sistemas “*para*” restantes, se observan a 7.33, 7.78 ppm H_m y H_o , y 7.49, 7.95 ppm, H_m' y H_o' . Las correlaciones a 3J entre los protones del compuesto **45a** se pueden observar en el experimento COSY (**Figuras 9 y 10**).

Con los espectros de RMN- ^{13}C y DEPT-135 (**Figura 11**), y con ayuda de los experimentos de RMN bidimensionales HSQC y HMBC los cuales muestran los acoplamientos a uno, dos y tres enlaces entre ^1H y ^{13}C , se asignaron todas las señales correspondientes a los carbonos de la molécula (**Tabla 2**), en el espectro se etiquetan las más representativas.

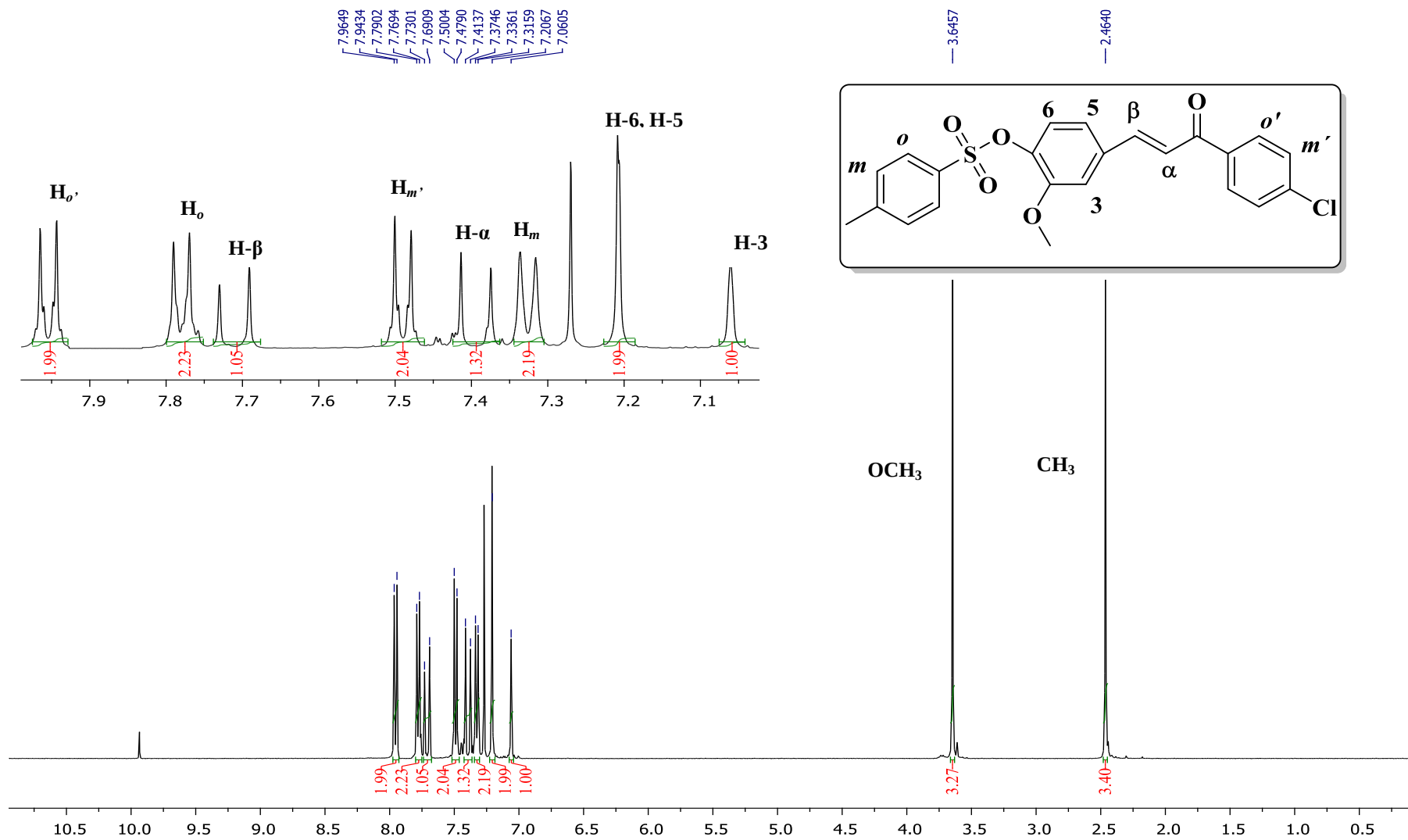


Figura 8. Espectro RMN-¹H del compuesto 45a.

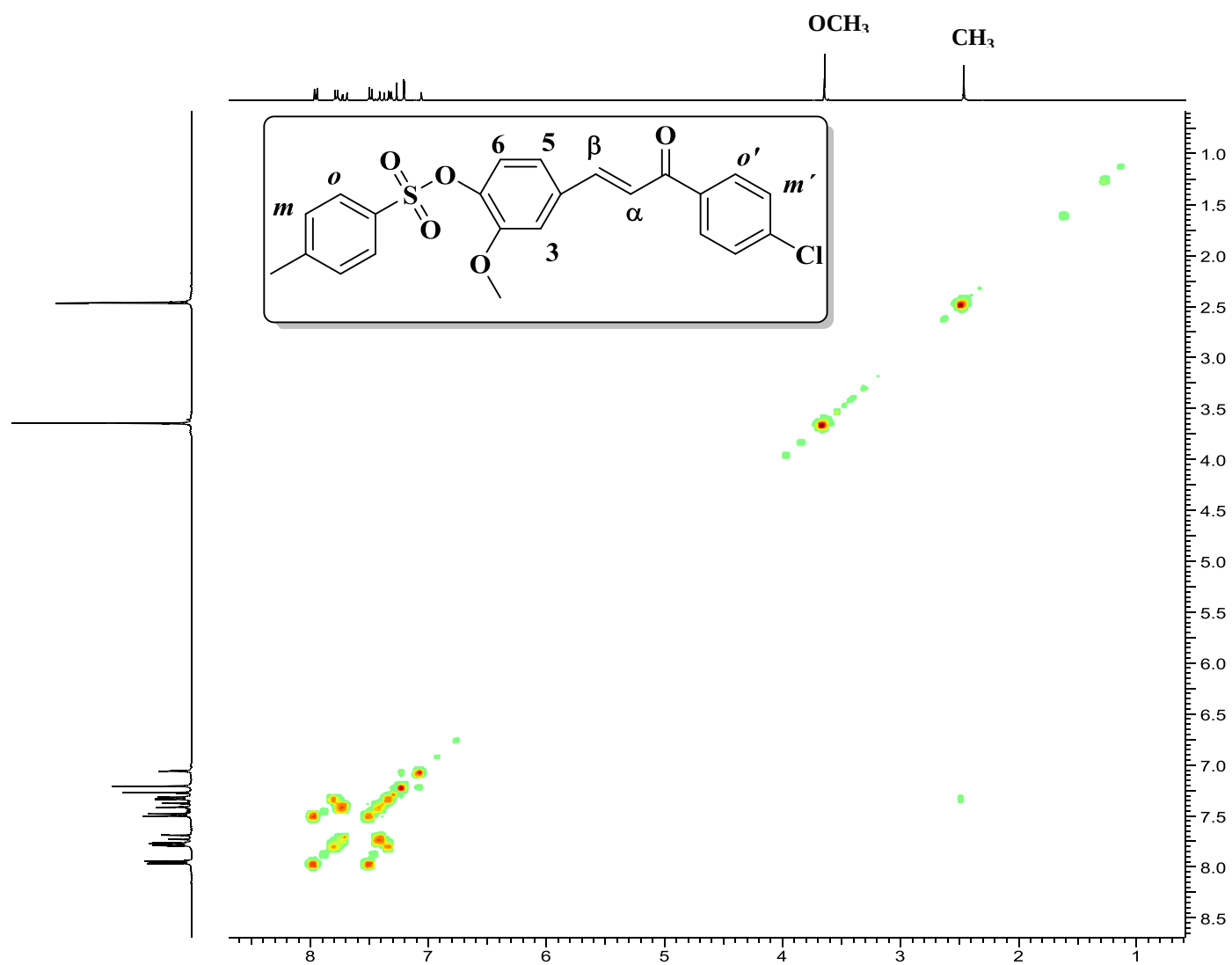


Figura 9. Experimento COSY del compuesto 45a.

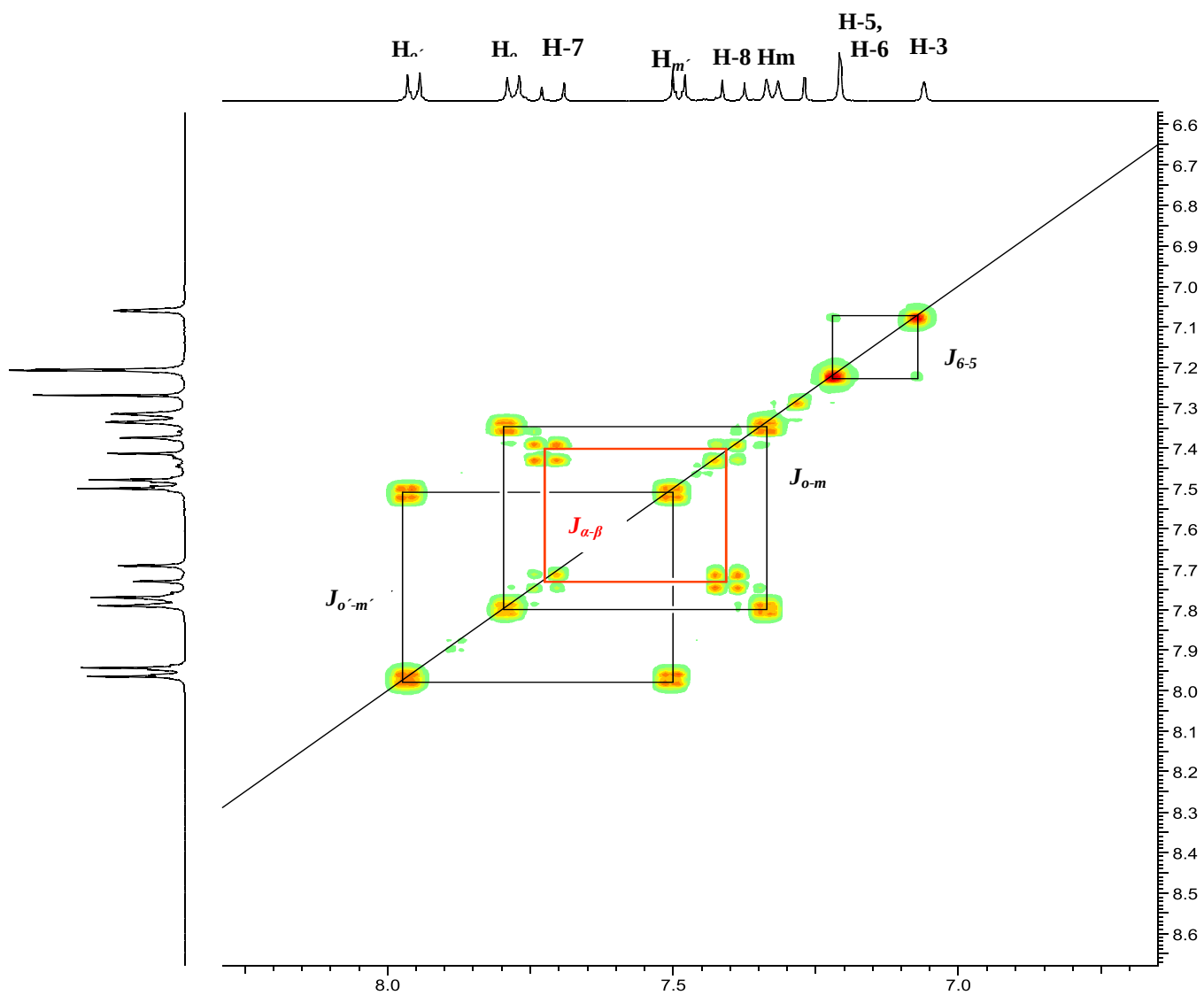


Figura 10. Expansión del experimento COSY del compuesto **45a**.

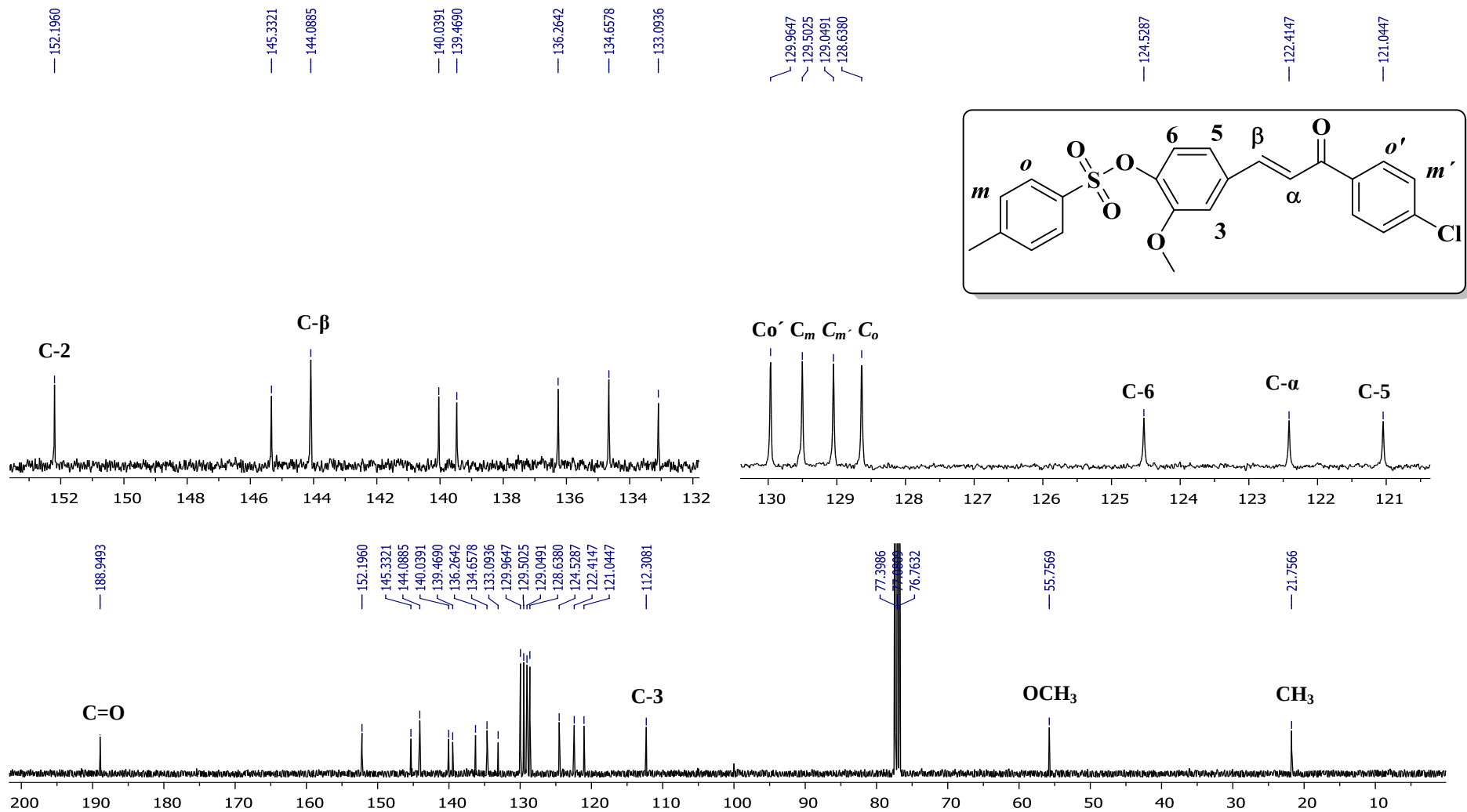


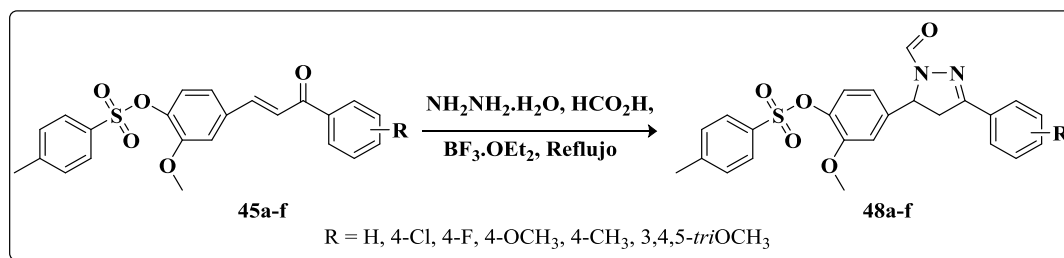
Figura 11. Espectro RMN-¹³C y DEPT-135 del compuesto 45a.

Tabla 2. Correlaciones observadas por medio de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para el compuesto **45a**.

δ (ppm)	C	HSQC	HMBC	
		1J	2J	3J
21,7	CH ₃	CH ₃		H _m
55,7	OCH ₃	OCH ₃		
112,3	C-3	H-3		H5, H-7
121,0	C-5	H-5		H-3, H-7
124,5	C-6	H-6		
122,4	C-8	H-8		
128,6	C _o	H _o		H-o
129,1	C _{m'}	H _{m'}		H _{m'}
129,5	C _m	H _m		H _m
129,9	C _{o'}	H _{o'}		H _{o'}
133,1	C _i			H _m
134,6	C-4			H-8, H-6
136,2	C _{i'}			H _{m'}
139,5	C _{p'}			H _{o'}
140,0	C-1		H-6	H-3, H-5
144,1	C-7	H-7		
145,3	C _p		CH ₃	H _o
152,2	C-2		H-3	OCH ₃ , H-6
188,9	C=O		H-8	H _o , H-7

4.2 Síntesis y caracterización de 3-(4-R-fenil)-1-formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol 48a-f.

Con base en la metodología citada en los antecedentes, se procedió a realizar el primer ensayo para la obtención de *N*-formilpirazolinas, utilizando el método de calentamiento a reflujo de la chalcona **45a** con hidrato de hidrazina, en una relación 1:2:2 chalcona-hidrato de hidrazina-ácido fórmico, obteniendo resultados insatisfactorios debido a tiempos de reacción demasiado largos y porcentajes de rendimiento muy bajos, además de la formación de subproductos lo cual se observó mediante cromatografía de capa delgada, de esta manera se realizó un segundo ensayo bajo las mismas condiciones pero empleando trifluoroborato etil etereato $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como catalizador, la mezcla de reacción se controló mediante cromatografía de capa delgada y al cabo de 2 horas se observó la formación de un nuevo producto, se adicionó agua fría y precipitó un sólido blanco el cual fue aislado mediante filtración al vacío con buen porcentaje de rendimiento correspondiente al compuesto **48a**. Estas condiciones se emplearon para llevar a cabo la síntesis de los compuestos **48b-f**.



Esquema 15. Síntesis de nuevas *N*-formilpirazolinas **48**.

Tabla 3. Características de las pirazolinas **48a-f**

48	R	P.F. (°C)	Rendimiento (%)
a	4-Cl	162-163	95
b	4-CH ₃	145-146	61
c	4-F	153-154	75
d	4-OCH ₃	164-165	65
e	3,4,5-triOCH ₃	185-188	62
f	4-H	150-151	60

Se confirmó que la ciclación transcurrió mediante el análisis espectral utilizando las técnicas de IR-TF, RMN- ^1H , ^{13}C , mono y bidimensionales. En este caso el compuesto **48b** (Figura 12) representativo de la serie, mostró en el espectro de infrarrojo (Figura 13), una banda de vibración de tensión de $\text{C}=\text{O}$ a 1658 cm^{-1} , y dos bandas de mediana intensidad correspondientes a la vibración de tensión $\text{C}-\text{H}$ del grupo formilo a 2852 cm^{-1} y 2921 cm^{-1} .

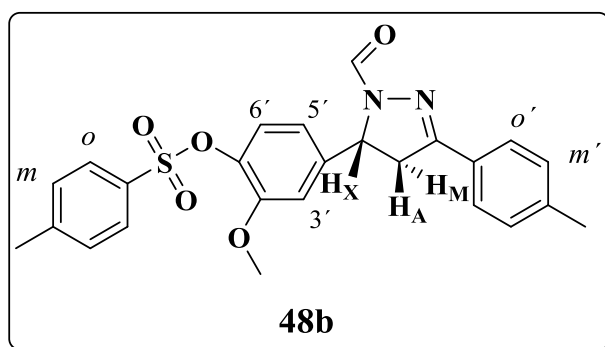


Figura 12. Estructura y asignación alfabético-numérica del 1-formil-5-(3-metox-4-tosiloxifenil)-3-*p*-tolil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol **48b**.

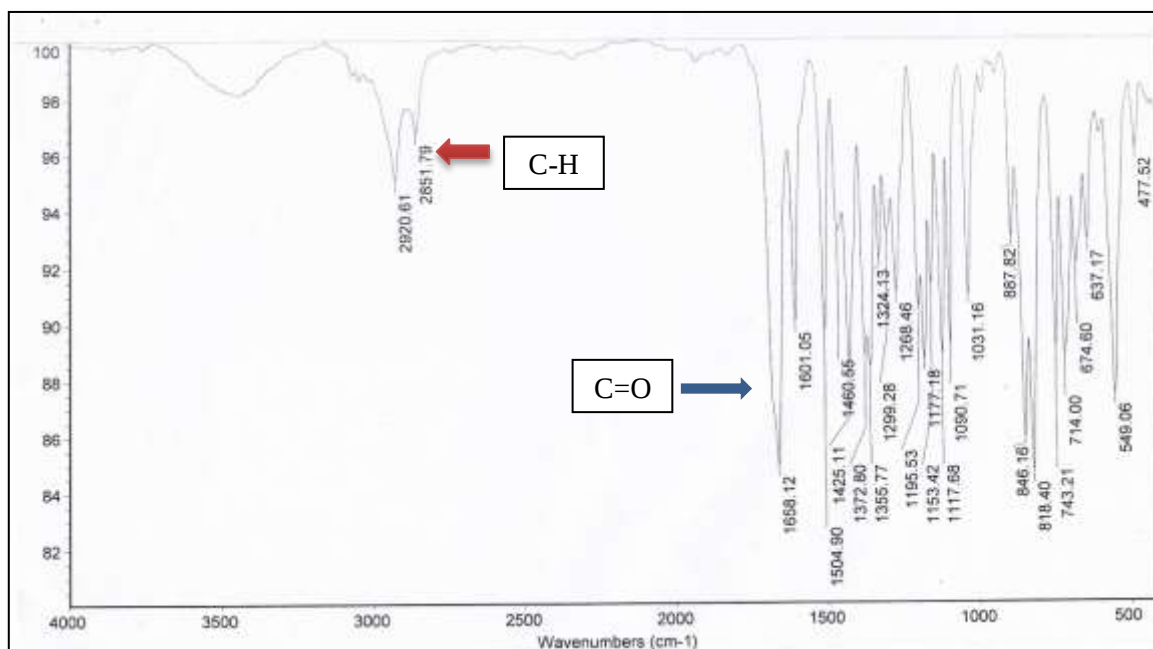


Figura 13. Espectro IR del compuesto **48b**.

En el espectro RMN-¹H del compuesto **48b** (**Figuras 14**) en (CDCl₃), se observan las señales correspondientes a los protones diastereotópicos del sistema pirazolínico *N*-formilado; a 3.19 ppm y 3.78 ppm dos doble dobletes que integran para 1H correspondientes a los protones H_A y H_M, con ²J_{AM} = 17.7 Hz y ²J_{MA} = 17.7 Hz, a 5.48 ppm un doble doblete que integra para 1-H correspondiente al proton H_X, con ³J_{XA} = 4.8 Hz y ³J_{XM} = 11.7 Hz, Con lo cual evidencia la existencia de un sistema AMX el cual se corrobora obteniendo el cociente entre la diferencia de desplazamiento químico y la constante de acoplamiento entre las señales de los protones A y M.

$$\frac{\Delta\delta}{J} = \frac{\vartheta_b - \vartheta_a}{J} = \frac{236 \text{ Hz}}{17.7 \text{ Hz}} = 13,11 > 10 \quad \therefore \text{AMX}$$

A partir de los valores obtenidos de las constantes de acoplamiento se conoce la configuración mediante la utilización del diagrama de Karplus (**Figura 15**), donde se muestra la dependencia de las constantes de acoplamiento con el ángulo diedro ϕ , con ayuda del diagrama, se observa que los protones H_A y H_X con constante de acoplamiento ³J_{AX} = 4.8 Hz tienen un ángulo menor a 90° y se encuentran orientados en posición *cis*, mientras que la constante de acoplamiento ³J_{MX} = 11.7 Hz muestra que los protones H_M y H_X tienen un ángulo cercano a 180° y se encuentran orientados en posición *trans*.

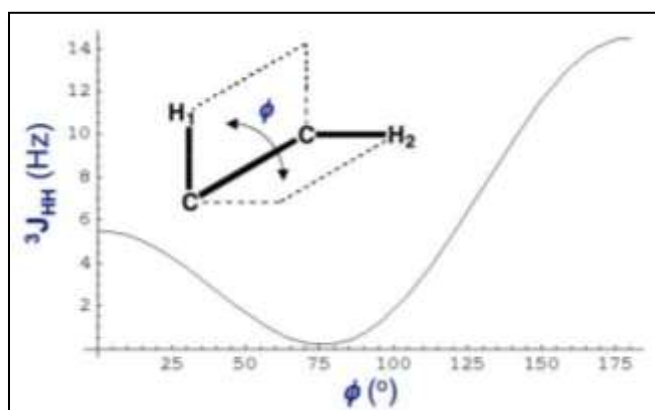


Figura 15. Diagrama de Karplus para la constante de acoplamiento vecinal según el ángulo diedro.

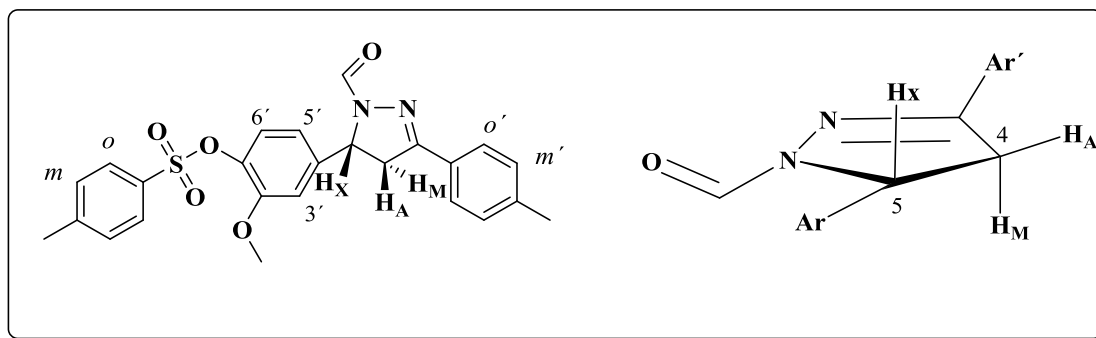


Figura 16. Sistema de espín AMX de la pirazolina **48b**.

Las señales restantes del compuesto **48b** se mencionan a continuación: A campo alto se observan tres singuletes a 2.41, 2.45 y 3,57 ppm correspondientes a los grupos metilo p' -CH₃, p -CH₃ y -OCH₃ respectivamente, en la región aromática se observa un multiplete a 6.74-6.77 ppm que integra para 2H correspondiente a los protones H-3', H-5', un doblete a 7.08 ppm correspondiente al proton H-6', también se aprecian las señales de los dos sistemas “*para*”, H_m, y H_o, a 7.32 y 7.76 ppm con $^3J = 8.0$ Hz y H_m, y H_o, a 7.25 y 7.53 ppm con $^3J = 8.0$ Hz, a campo bajo se observa un singulete correspondiente al protón del grupo formilo CHO a 8,95 ppm. Las correlaciones entre protones a 3J se observan en el experimento bidimensional COSY (**Figuras 17 y 18**).

Se asignaron todas las señales correspondientes a los carbonos, en los espectros de RMN ¹³C y DEPT-135 se muestran las más significativas, (**Figura 19**) con ayuda de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC los cuales muestran las correlaciones entre carbono e hidrogeno a dos y tres enlaces (**Tabla 4**).

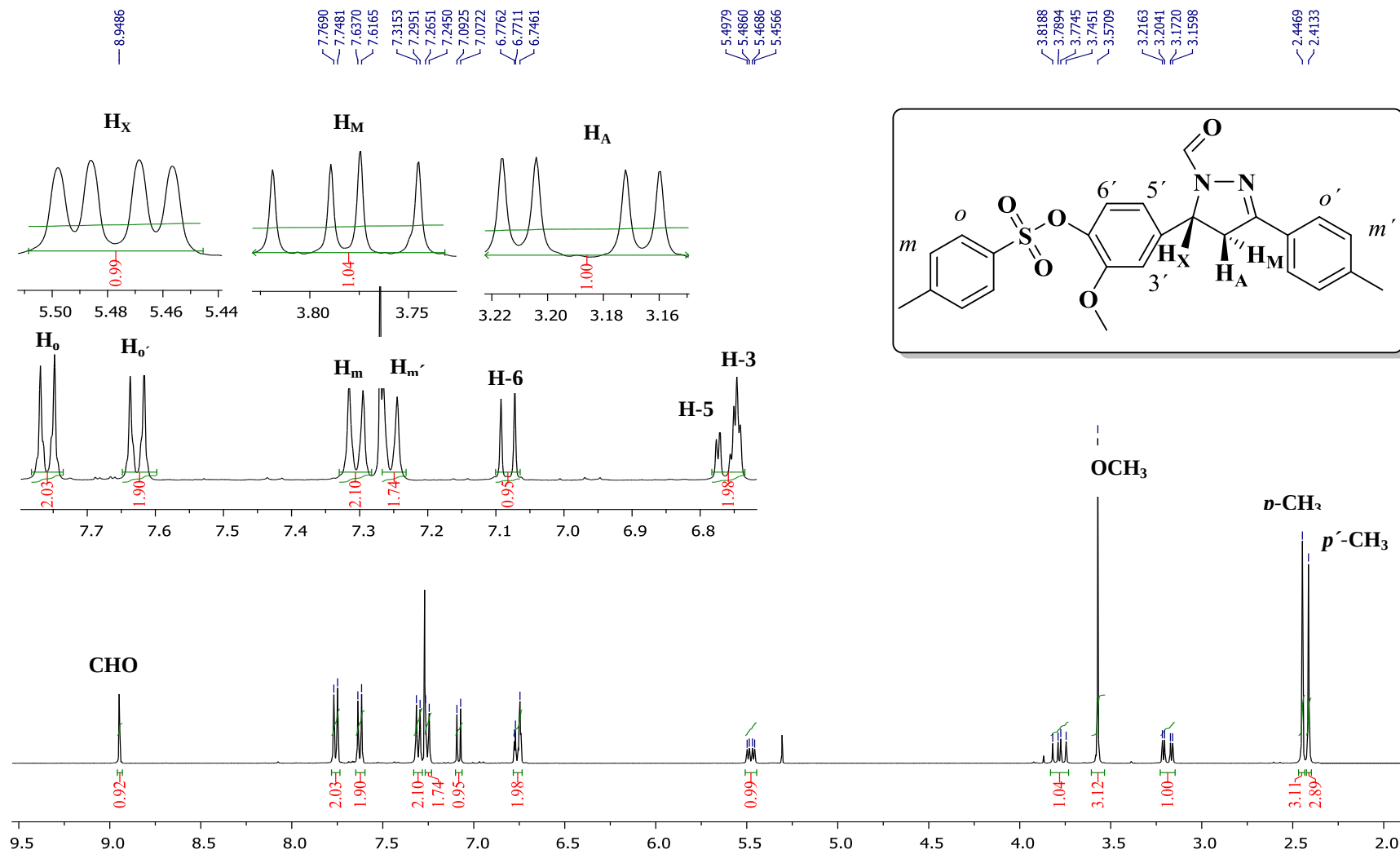


Figura 14. Espectro RMN- ^1H del compuesto **48b**.

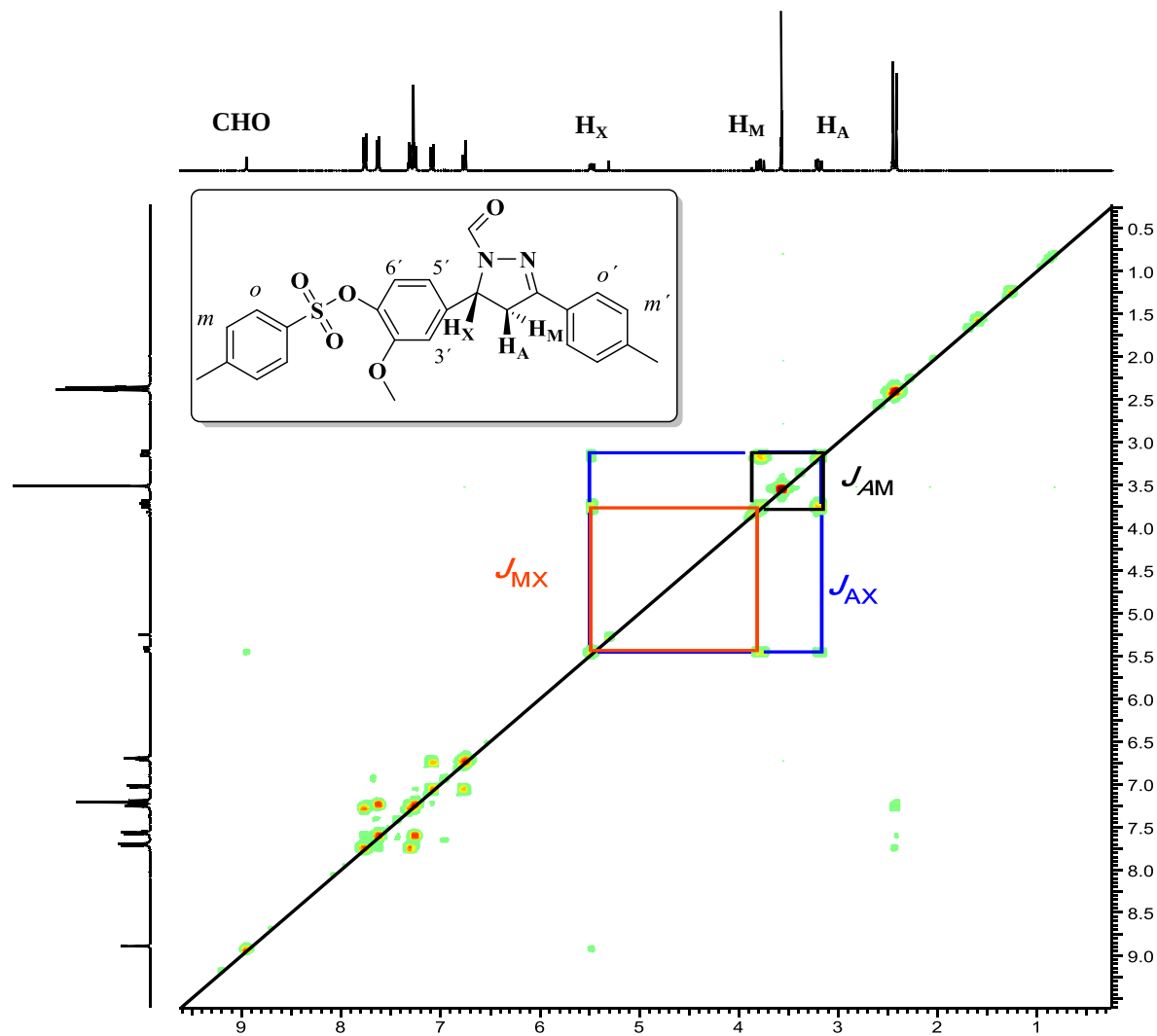


Figura 17. Experimento COSY del compuesto 48b.

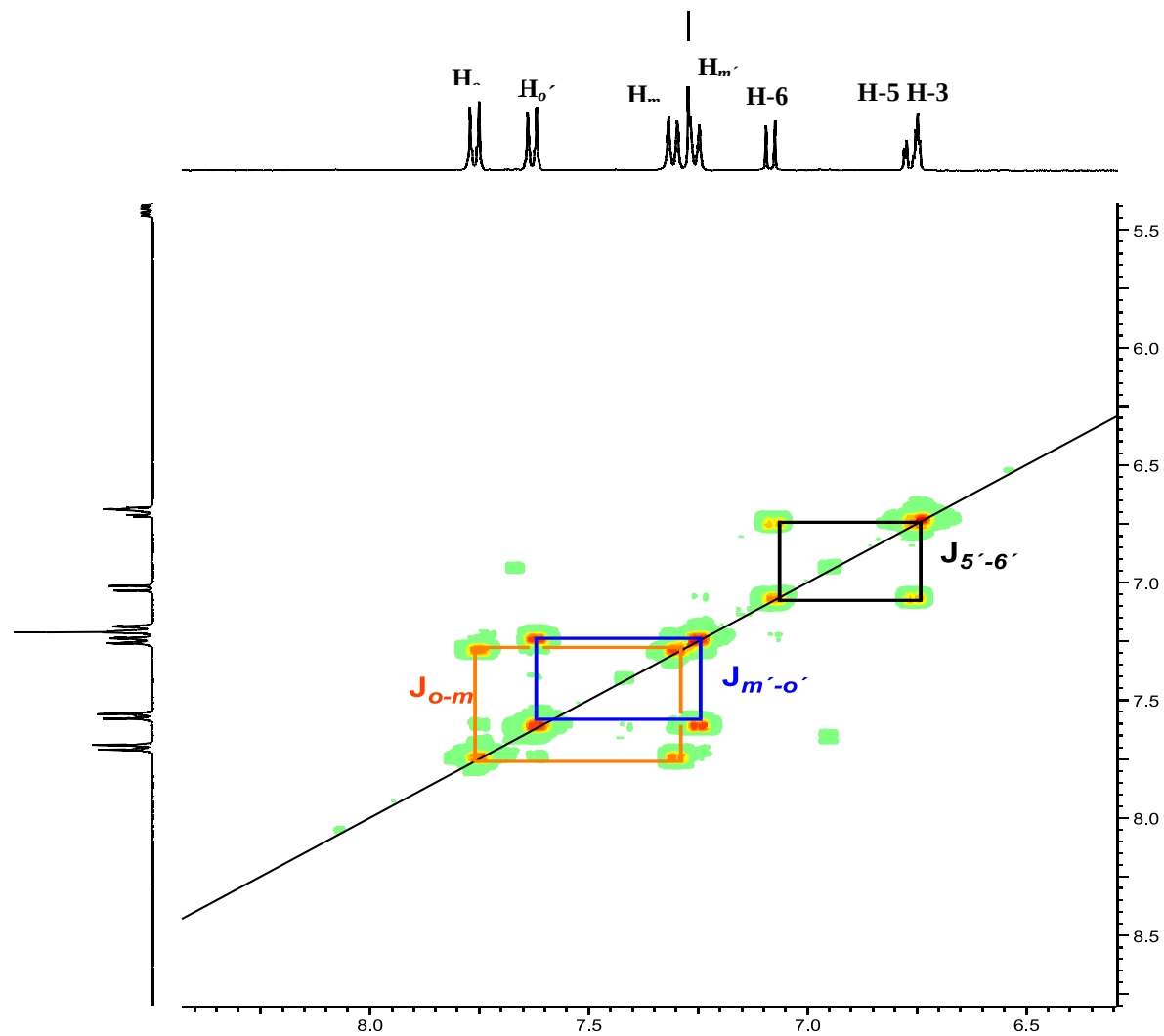


Figura 18. Expansión del experimento COSY del compuesto **48b**.

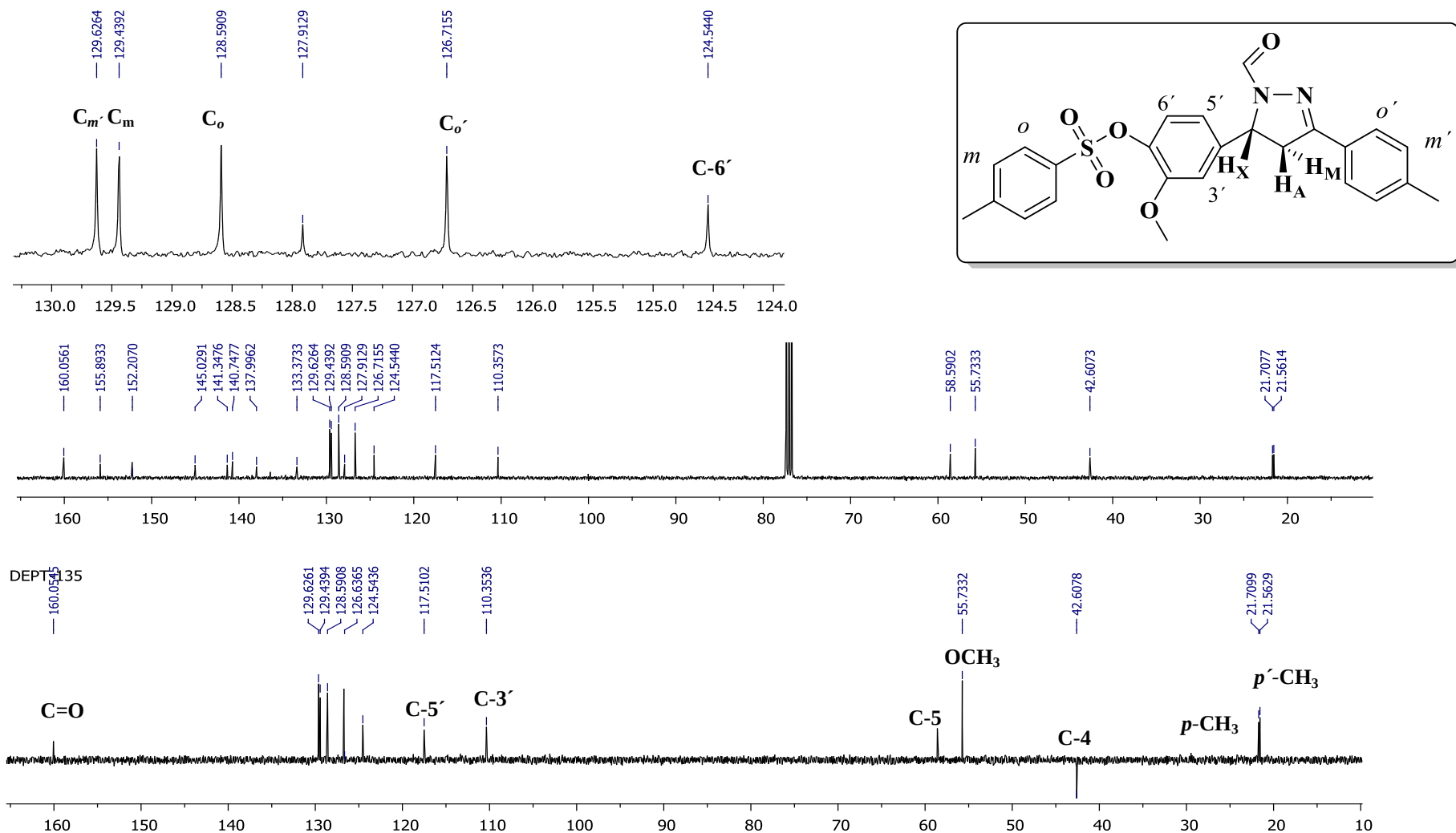


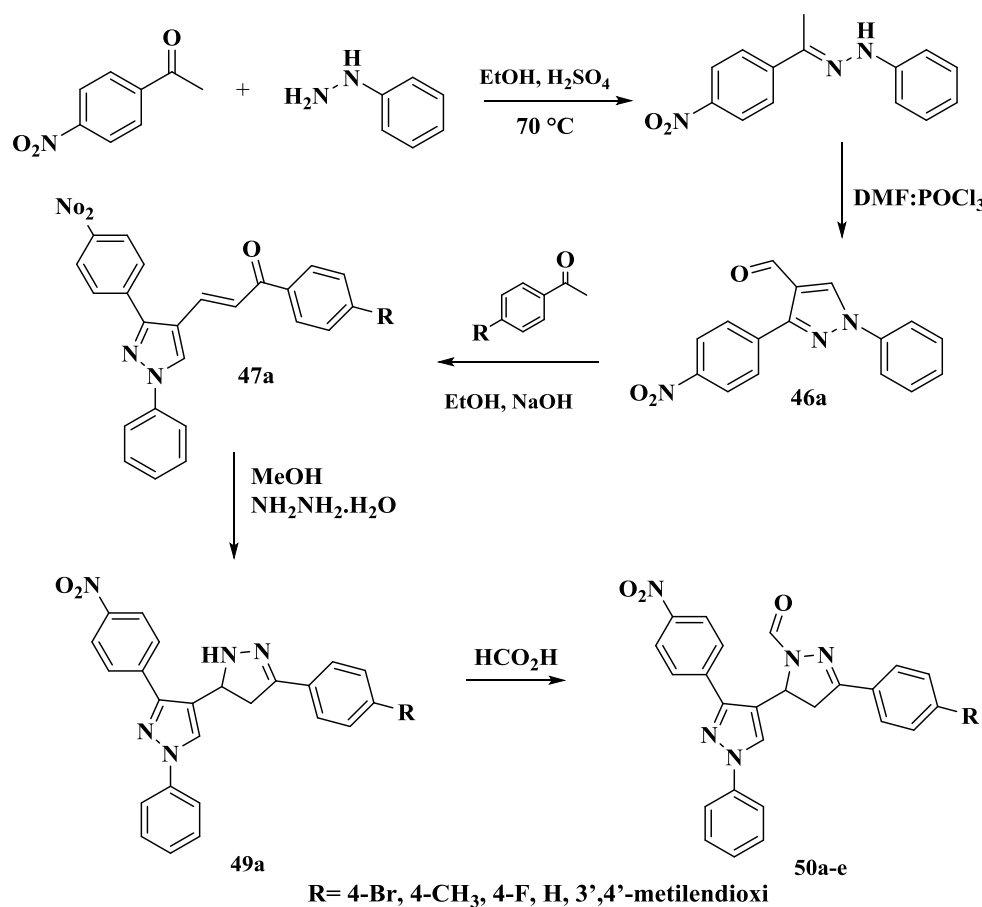
Figura 19. Espectro RMN-¹³C y DEPT del compuesto 48b.

Tabla 4. Correlaciones observadas por medio de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para el compuesto **48b**.

δ (ppm)	C	HSQC	HMBC	
		1J	2J	3J
21,6	p' -CH ₃	p' -CH ₃		H _{m'}
21,7	p -CH ₃	p -CH ₃		H _m
42,6	C-4	H _A , H _M		H _X
55,7	OCH ₃	OCH ₃		
58,6	C-5	H _X	H _A , H _M	H-3', H-5'
110,4	C-3'	H-3'		H-5, H-5'
117,5	C-5'	H-5'		H-3', H _X
124,5	C-6'	H-6'		
126,7	C _{o'}	H _{o'}		
127,9	C _{i'}			H _{m'}
128,6	C _o	H _o		
129,4	C _m	H _m		p -CH ₃
129,6	C _{m'}	H _{m'}		p' -CH ₃
133,4	C _i			H _m
138,0	C-1'		H-6'	H-3', H _X
140,8	C-4'		H _X	H _A , H _M , H-6
141,3	C _{p'}		p' -CH ₃	H _{o'}
145,0	C _p		p -CH ₃	H _o
152,2	C-2'			-OCH ₃ , H-6'
155,9	C-3		H _A , H _M	H _X , H _{o'}
160,1	C=O	H-C=O		

4.3 Síntesis y caracterización de 3-(4-R-fenil)-1-formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1H-pirazol. 50a-e.

Para la síntesis de las pirazolininas formiladas **50a-e** y **51a-g**, se parte de la condensación de acetofenonas con fenilhidrazina en medio ácido para obtener fenil-hidrazonas, las cuales se hicieron reaccionar con el reactivo Vilsmeier-Haack, (3:1 DMF:POCl₃) para obtener el formil pirazol **46a**, posteriormente mediante una condensación Claisen-Schmidt con acetofenona y etanol como disolvente, se formó el compuesto carbonílico αβ-insaturado **47a** que sirvió como precursor para la síntesis de *NH*-pirazolininas **49a**. Se hicieron reaccionar las correspondientes *NH*-pirazolininas obtenidas con ácido fórmico (2-5mL) bajo agitación a temperatura ambiente durante 6-7 horas aproximadamente hasta observar la formación de un nuevo compuesto mediante cromatografía de capa delgada, se adicionó agua y el precipitado se aisló por filtración a vacío, realizando lavados con etanol, obteniendo un sólido amarillo pálido.



Esquema 16. Síntesis de nuevas *N*-formilpirazolininas **50**.

Para la caracterización de los compuestos **50a-e** se tomará como referencia la pirazolina **50e** (**Figura 20**), la cual muestra en su espectro de infrarrojo (**Figura 21**) una banda intensa a 1672 cm^{-1} correspondiente a la vibración de tensión $\text{C}=\text{O}$, se observan dos bandas a 1596 y 1553 cm^{-1} asociadas a la vibración de tensión de los grupos $\text{C}=\text{C}$ y $\text{C}=\text{N}$, a 1338 y 1506 cm^{-1} las bandas de vibración de tensión $=\text{C}-\text{NO}_2$ aromático.

Tabla 5. Características de las pirazolinas **50a-e**.

50	R	P.F. (°C)	Rendimiento (%)
a	3',4'-OCH ₂ O	254-255	63
b	4-Br	282-283	79
c	4-CH ₃	270-271	60
d	4-F	259-260	84
e	4-H	268-269	67

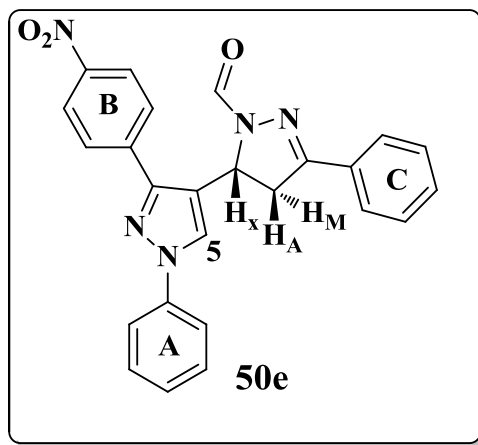


Figura 20. Estructura y asignación alfabética-numérica del 3-fenil-1-formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1*H*-pirazol. (**50e**)

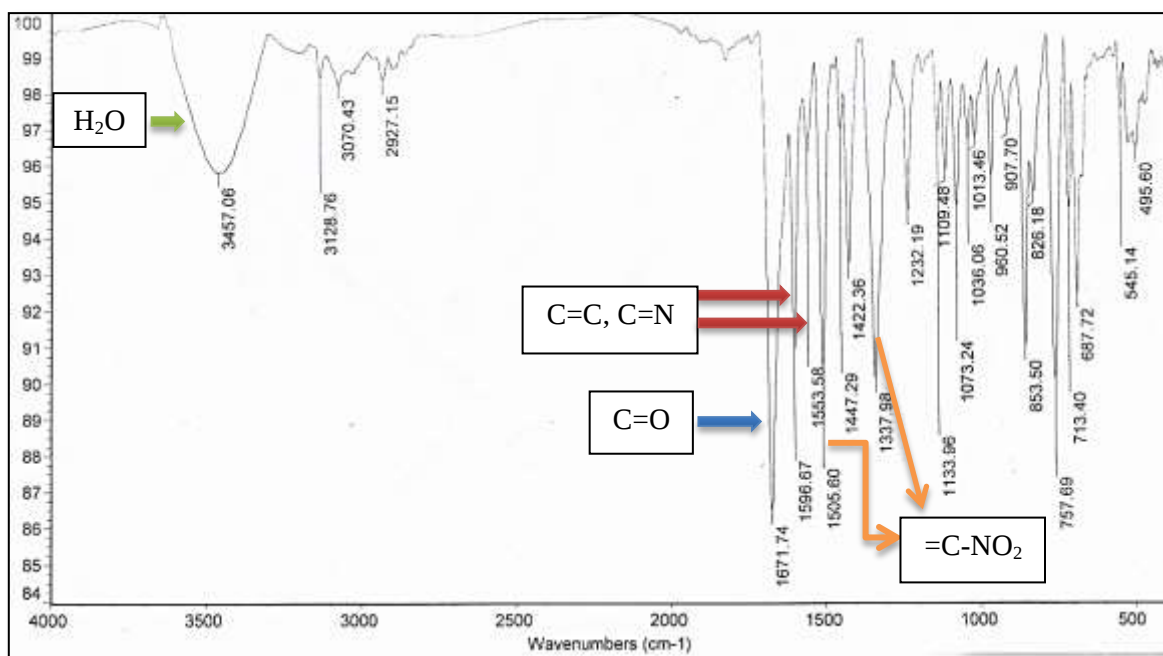


Figura 21. Espectro IR del compuesto **50e**.

El compuesto **50e** muestra en su espectro RMN- ^1H (**Figura 22**), las señales características de los protones presentes en el anillo pirazolínico, a 3.38 y 4.04 ppm se observan los protones H_A y H_M con $^2J_{\text{AM}} = 17.8$ Hz, la señal del protón H_X se observa a 5.78 ppm con $^3J_{\text{XA}} = 5.4$ Hz y $^3J_{\text{XM}} = 11.9$ Hz, teniendo en cuenta el coeficiente entre el desplazamiento químico y la constante de acoplamiento AM el cual es $13,2 > 10$, se tiene un sistema AMX. Utilizando el diagrama de Karplus mencionado en la sección 4.2 y teniendo en cuenta las constantes de acoplamiento a tres enlaces, se encuentra que la configuración de los protones presentes en el anillo pirazolinico es la siguiente: El protón H_X , se encuentra en posición *cis* con respecto a H_A , y en posición *trans* con respecto a H_M . (**Figura 23**)

En la región aromática se observan las señales de los protones presentes en los tres anillos aromáticos, H_pA , H_mA y H_oA a 7.35, 7.50 y 7.94 ppm respectivamente con $^3J = 8.0$ Hz, H_pC , H_mC y H_oC a 7.50, 7.54 y 7.79 ppm con $^3J = 8.0$ Hz, H_oB y H_mB a 8.14 y 8.35 ppm con $^3J = 8.0$ Hz, H_pC , a campo bajo se encuentran las señales de los protones H-5 a 8.62 y CHO a 8.92 ppm. Las correlaciones a dos y tres enlaces se observan gracias al experimento COSY (**Figuras 25 y 26**). Se realizó correctamente la asignación de las señales de los carbonos presentes en la estructura del compuesto **50e** en los espectros de RMN- ^{13}C y

DEPT-135 (**Figura 27**) utilizando los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para dicho fin. (**Tabla 6**)

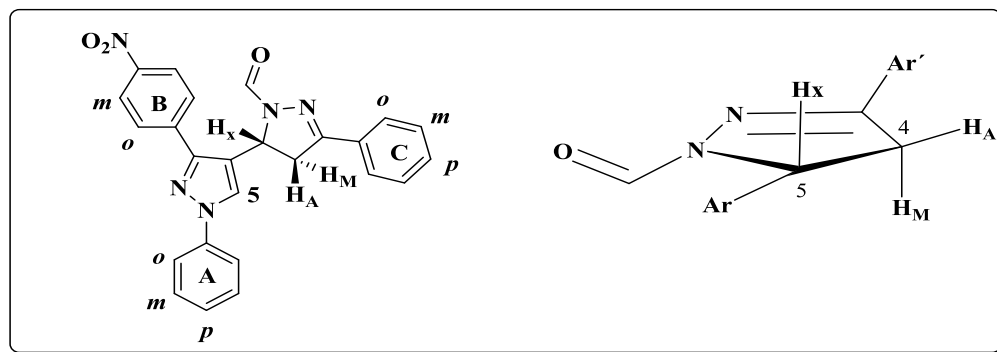


Figura 23. Sistema de espín AMX de la pirazolina **50e**.

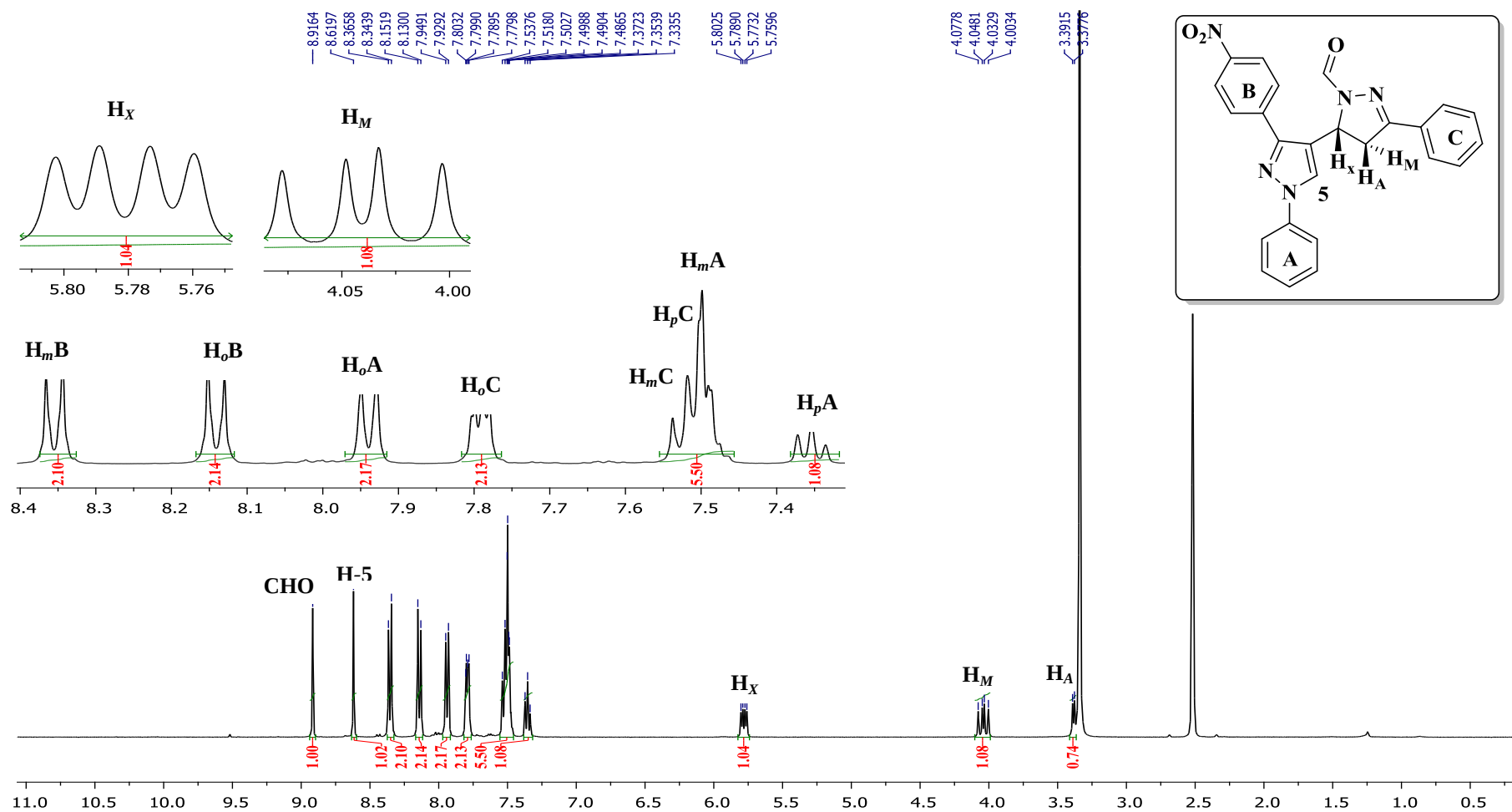


Figura 22. Espectro RMN-¹H del compuesto 50e.

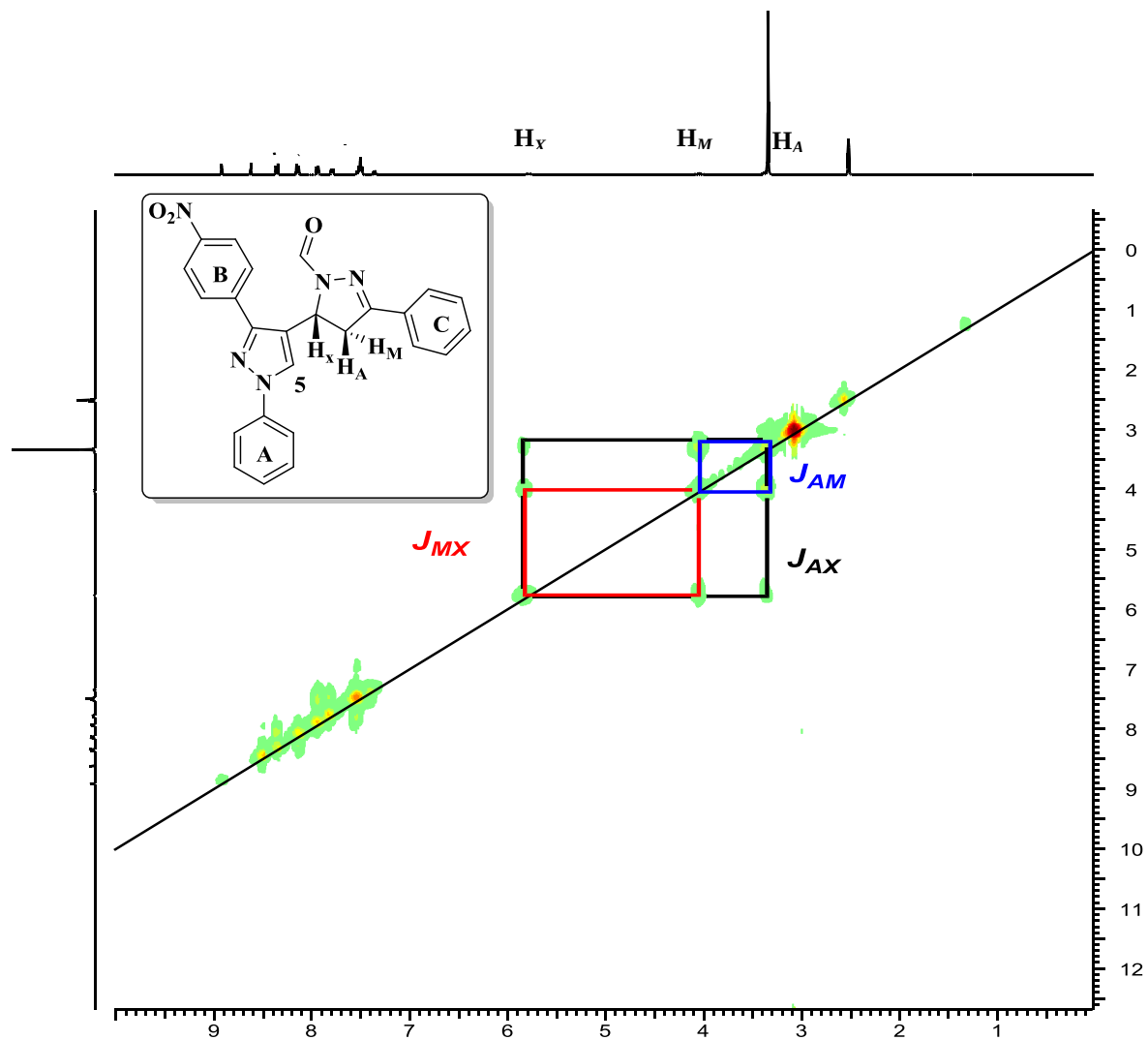


Figura 24. Experimento COSY del compuesto 50e.

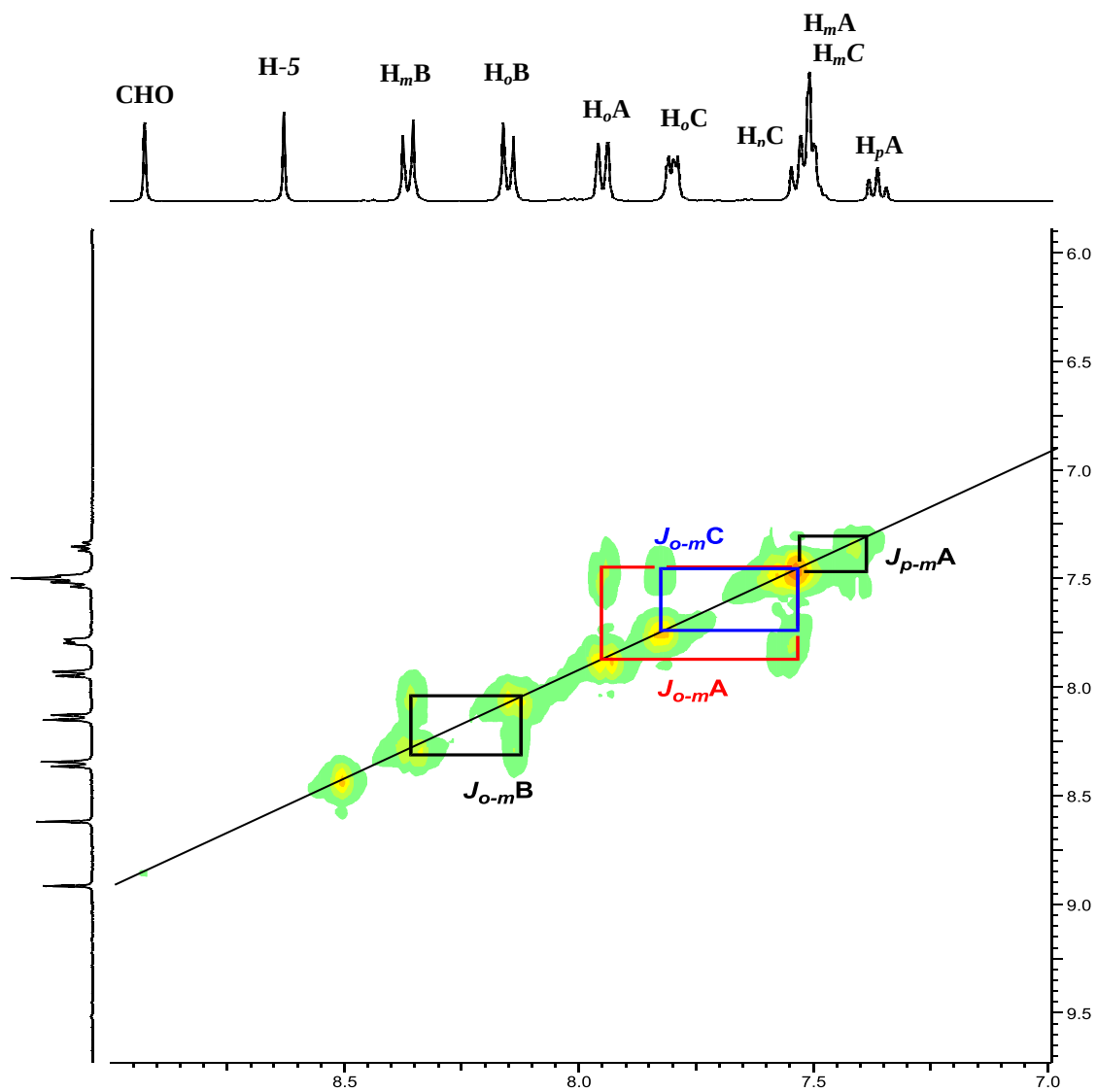


Figura 25. Expansión del experimento COSY del compuesto **50e**.

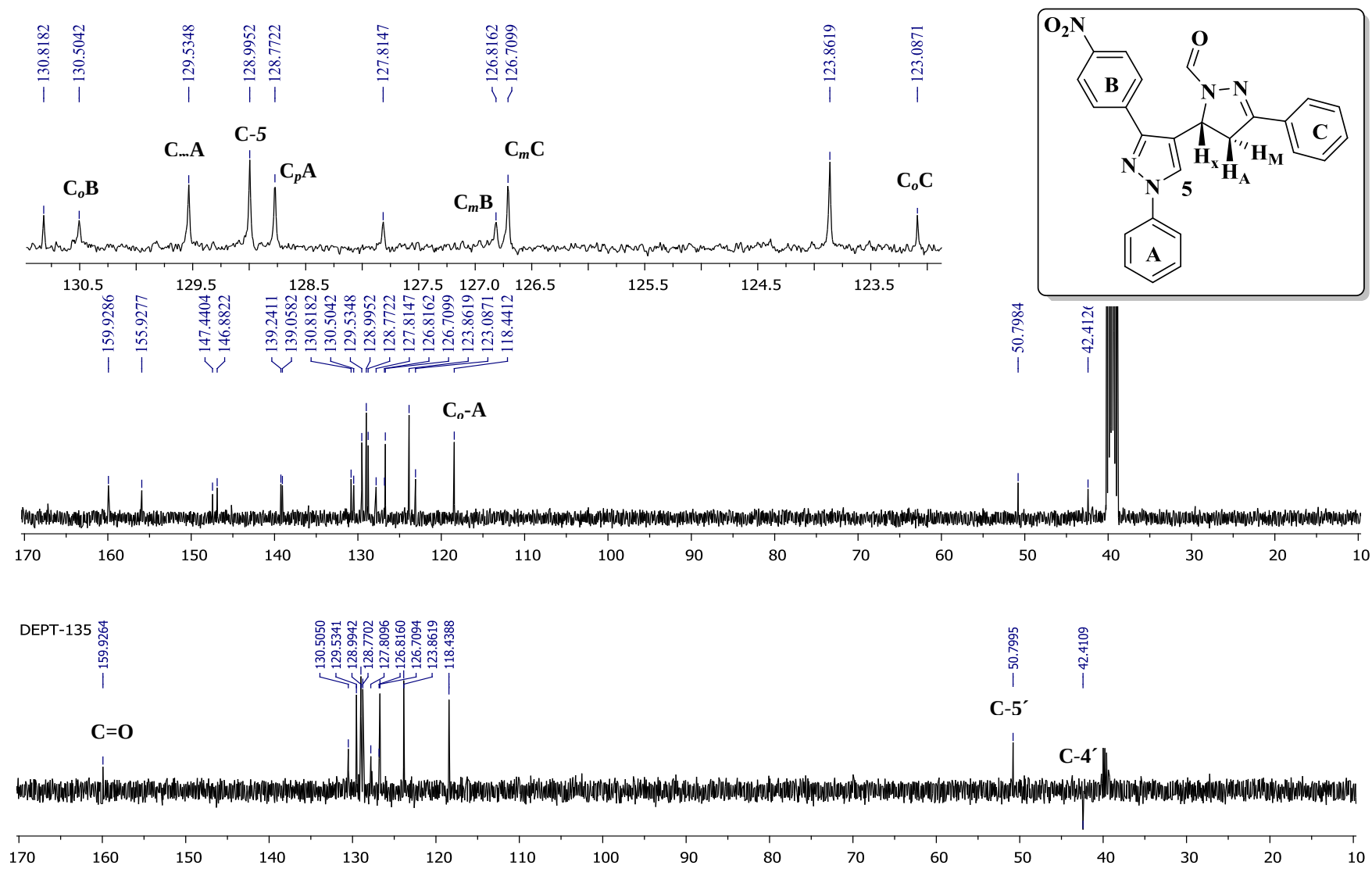


Figura 26. Espectro RMN-¹³C y DEPT del compuesto 50e.

Tabla 6. Correlaciones observadas por medio de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para el compuesto **50e**.

δ (ppm)	C	HSQC	HMBC	
		1J	2J	3J
42.4	C-4'	H _A , H _M ,		H _X
50.8	C-5'	H _X	H _A , H _M	H-5
118.4	C _o -A	H _o -A		
123.1	C _o -C	H _o -C	H _m -C	
123.8	C-4		H-5, H _X	H _A , H _M , H _m -C
126.7	C _m -C	H _m -C		
126.8	C _m -B	H _m -B		
127.8	C _p -C	H _p -C	H _m -C	
128.7	C _p -A	H _p -A		H _o -A
128.9	C-5	H-5		H _X
129.5	C _m -A	H _m -A	H _o -A, H _p -A	
130.5	C _o -B	H _o -B		
130.8	C _i -C			H _m -C
139.1	C _i -A		H _o -A	H _m -A
139.2	C _i -B			H _m -B
146.4	C _p -B			H _o -B
147.4	C-3			H-5, H _X
155.9	C-3'			H _X , H _o -A
159.9	C=O	CHO		

4.4 Síntesis y caracterización de 5-[3-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-3-(4-*R*-fenil)-1-formil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol. 51a-g

El procedimiento para la síntesis de las pirazolininas **51a-g** es igual al descrito en la sección anterior, por lo cual se omitirá en esta sección y se procederá directamente a la discusión de la caracterización espectroscópica.

Como referencia, se toman los datos espectroscópicos de la pirazolinina **51f**.

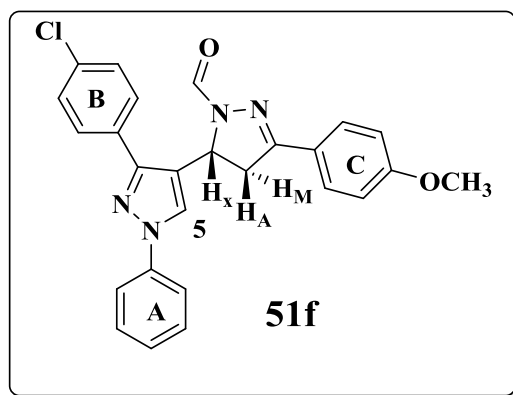


Figura 27. Estructura y asignación alfabético-numérica del 5-[3-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-1-formil-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (**51f**)

Tabla 7. Características de las pirazolininas **51a-g**

51	R	P.F.(°C)	Rendimiento (%)
a	3',4'-OCH ₂ O	237-238	63
b	4-NO ₂	190-191	37
c	4-CH ₃	230-231	60
d	4-F	214-215	68
e	4-H	225-226	46
f	4-OCH ₃	205-206	67
g	4-Cl	210-211	78

En el espectro infrarrojo (**Figura 28**), se observa la banda de vibración de tensión C=O a 1659 cm⁻¹, y las bandas de vibración de tensión asociadas a los grupos C=N y C=C, a 1603 y 1548 cm⁻¹.

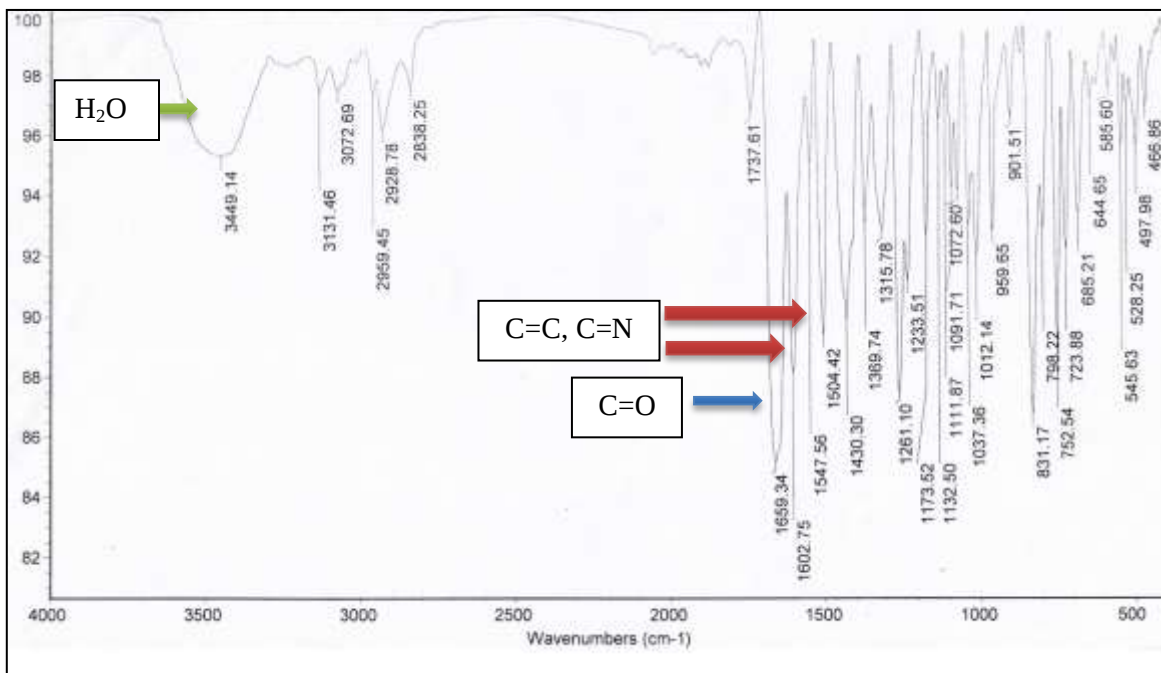


Figura 28. Espectro IR del compuesto **51f**.

En el espectro RMN-¹H del compuesto **51f**, (**Figura 29**), se aprecian las señales características de los protones diastereotópicos del sistema pirazolínico a 3.25 y 3.94 ppm se observan dos multipletes correspondientes a los protones H_A y H_M, los cuales integran para 1H cada uno, con ²J_{AM} = 18.0 Hz,, los tres protones equivalentes del grupo metoxi, se muestran como un singulete a 3.81 ppm, a 5.65 ppm se encuentra el multiplete correspondiente al protón H_X del sistema pirazolinico, con ³J_{XA} = 5.3 Hz y ³J_{XM} = 11.6 Hz, teniendo en cuenta que para este sistema el coeficiente entre el desplazamiento químico y la constante de acoplamiento ab es 11,7 > 10 se tiene un sistema AMX, de acuerdo a los valores de las constantes de acoplamiento y utilizando el diagrama de Karplus se determina que con respecto a H_X, el protón H_A se encuentra en posición *cis*, y el H_M en posición *trans* como se muestra en la **Figura 30**.

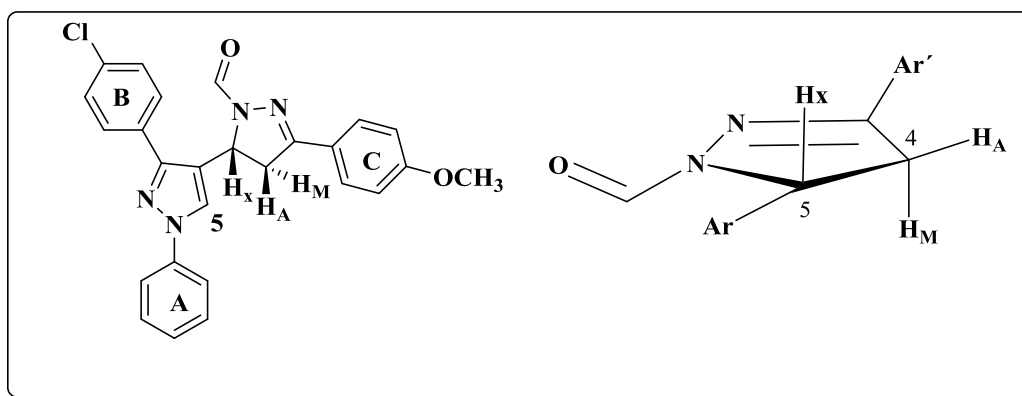


Figura 30. Sistema de espín AMX de la pirazolina **51f**.

En la región aromática se encuentran a 7.00 y 7.69 ppm, dos dobletes que integran para 2-H cada uno, con $^3J = 8.0$ Hz, correspondientes a los protones H_o y H_m del anillo C, a 7.29 y 7.46 ppm se observan dos tripletes que integran para 1H y 2H respectivamente, con $^3J = 8.0$ Hz y que pertenecen a las señales de los protones H_p y H_m del anillo A, la señal de los protones H_oA , se manifiesta como un doblete a 7.86 ppm, $^3J = 8.0$ Hz; los protones H_o y H_m del anillo B se observan como dos dobletes a 7.53 y 7.81 ppm, con $^3J = 8.0$ Hz, finalmente las señales de los protones H-5 a 8.45 ppm y del protón del grupo formilo CHO a 8.84 ppm, las correlaciones de los protones pirazolínicos y de los protones de los tres sistemas aromáticos se observan en el experimento bidimensional COSY (**Figuras 31 y 32**).

Se asignaron completamente las señales de los espectros de RMN- ^{13}C y DEPT-135 (**Figura 33**) a los carbonos presentes en el compuesto **51f**, esto se realizó haciendo uso de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC. (**Tabla 8**).

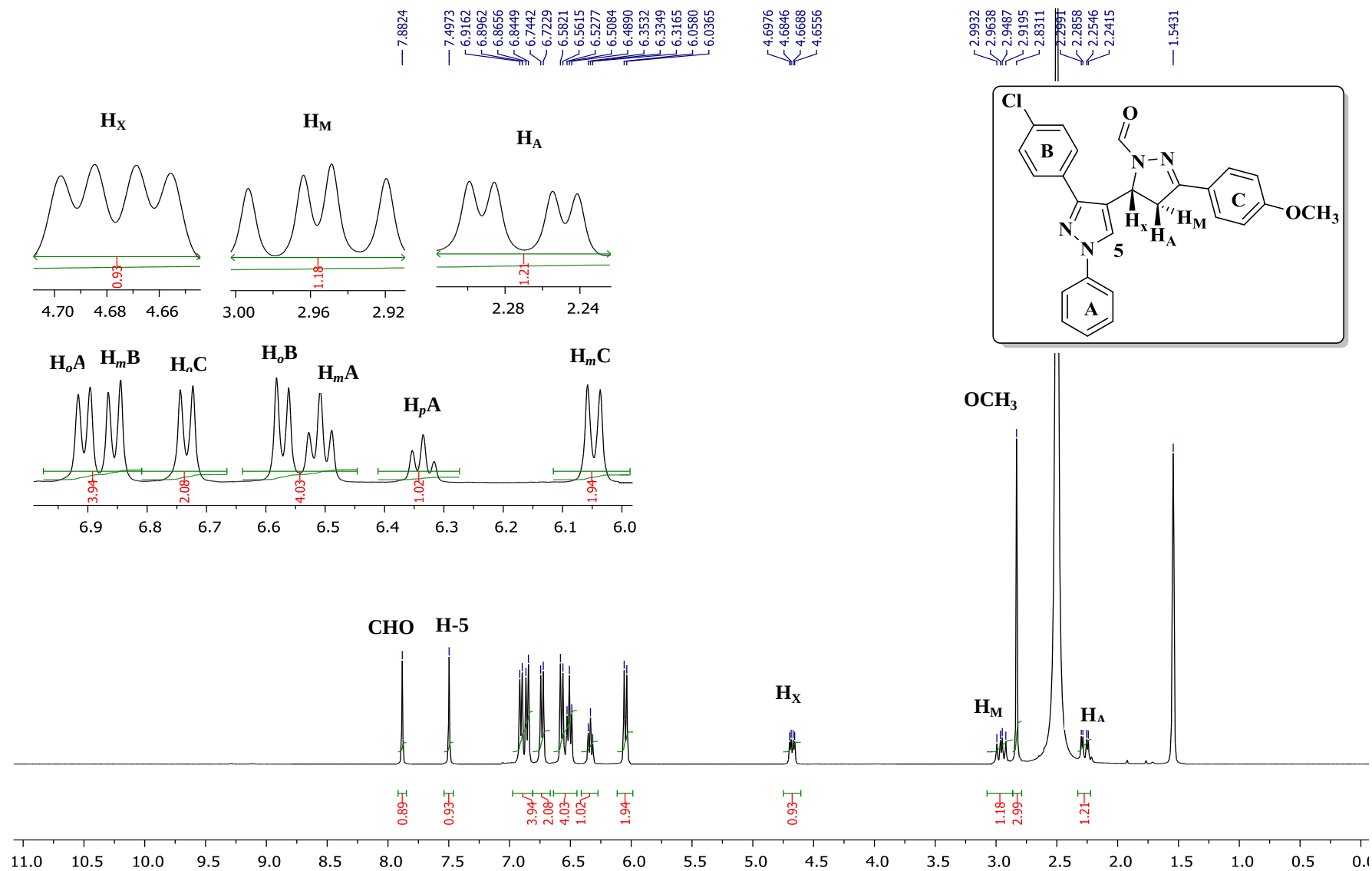


Figura 29. Espectro RMN- ^1H del compuesto **51f**.

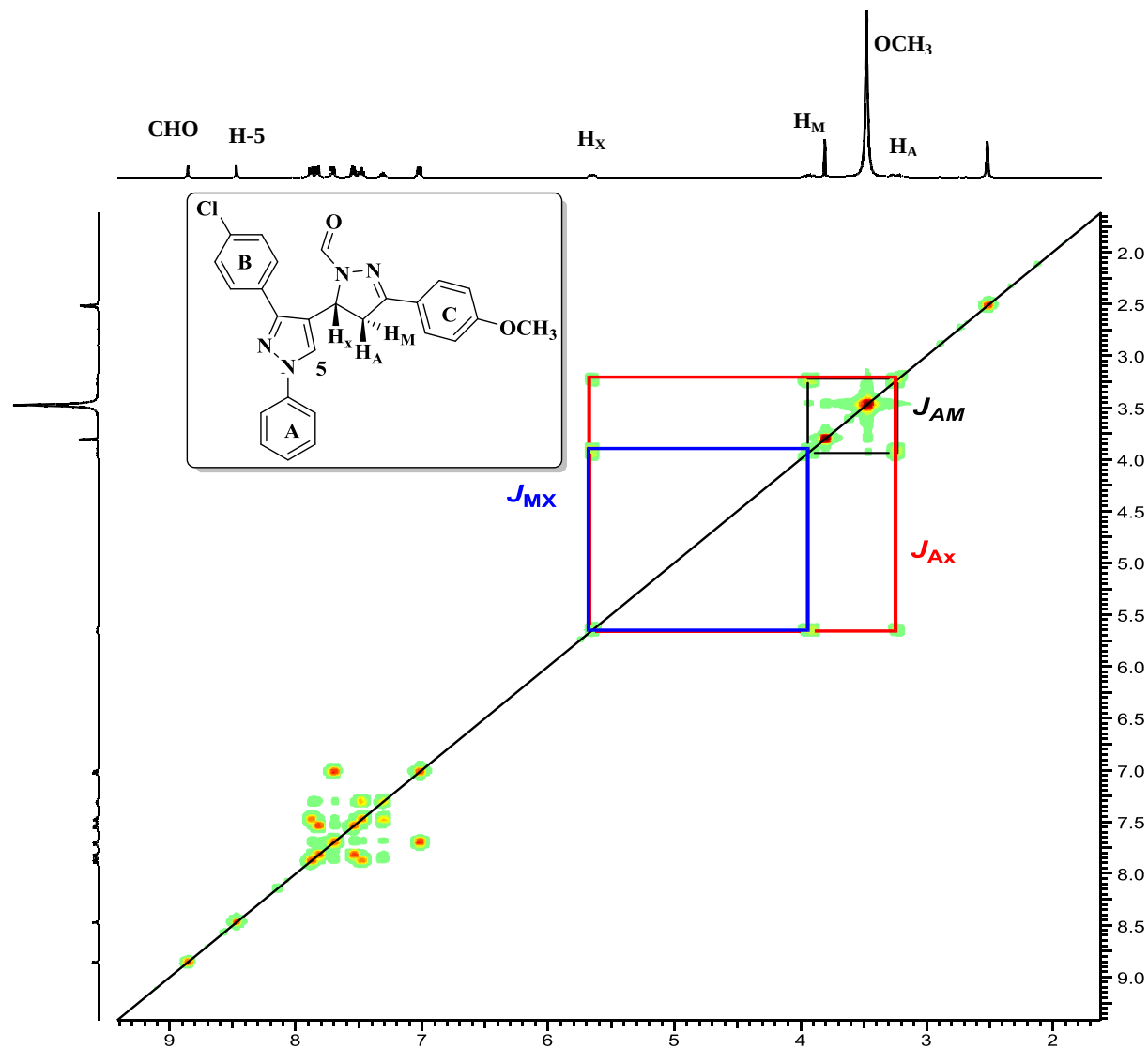


Figura 31. Experimento COSY del compuesto 51f.

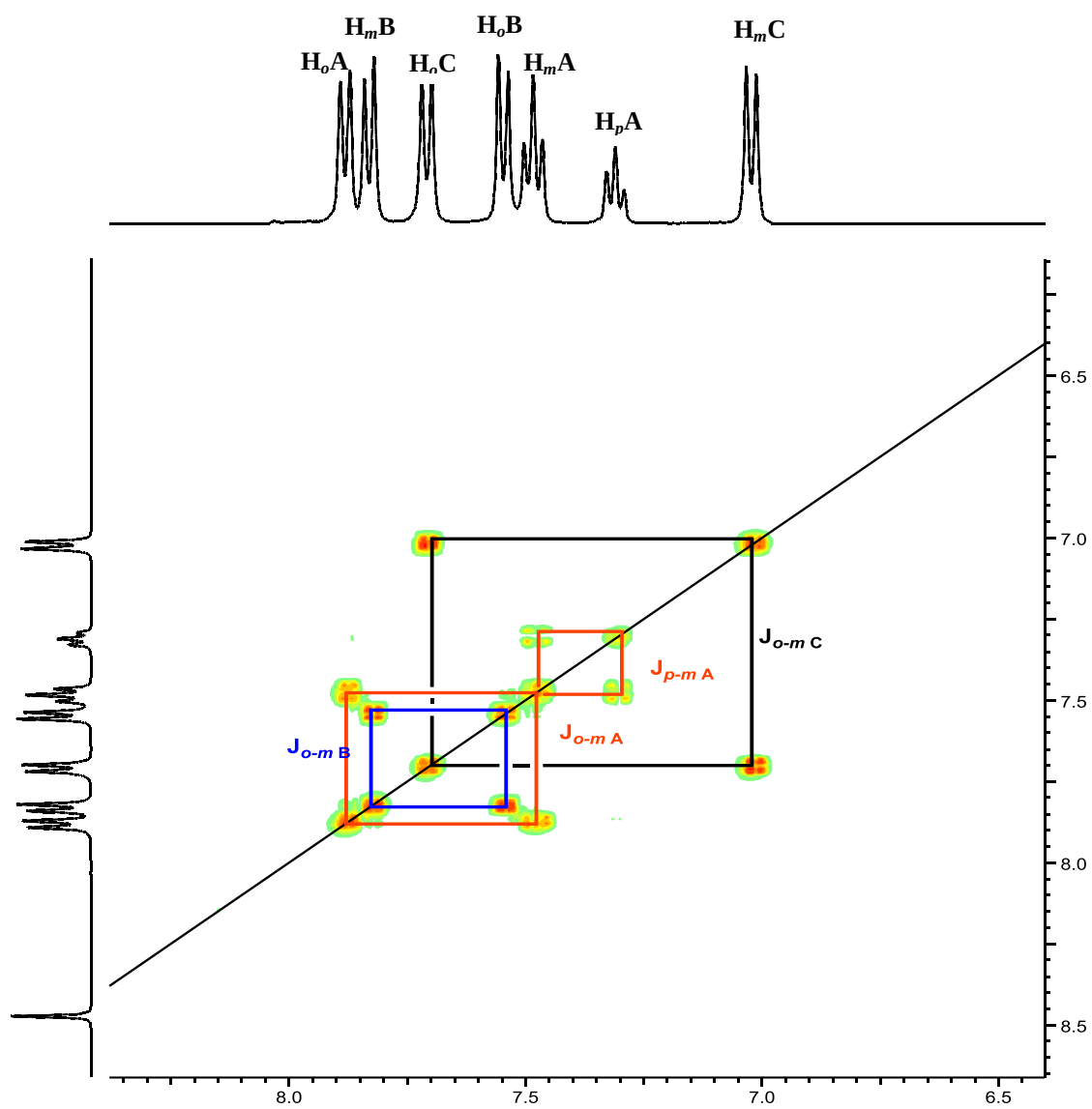


Figura 32. Expansión del experimento COSY del compuesto 51f.

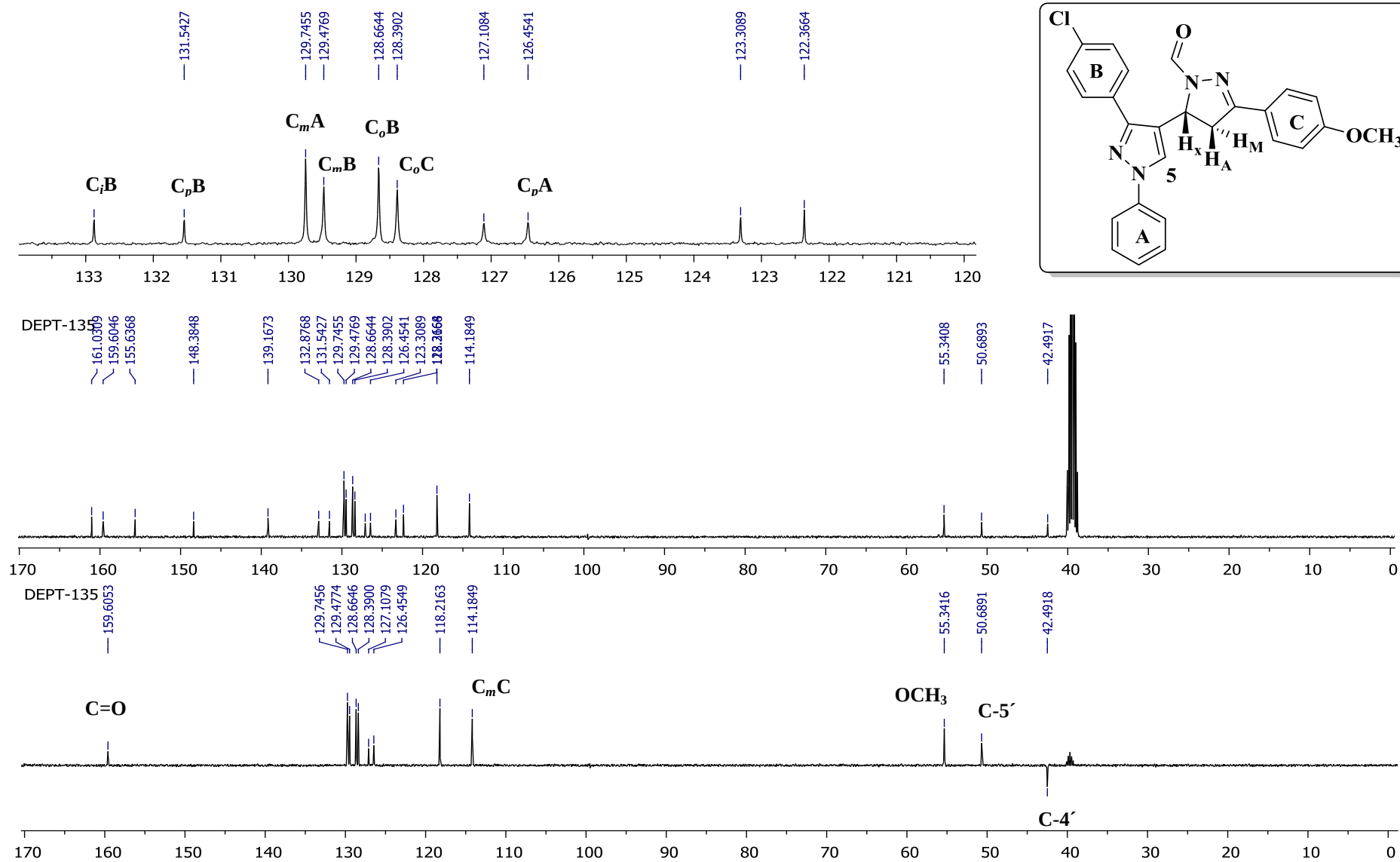


Figura 33. Espectro RMN-¹³C y DEPT-135 del compuesto **51f**.

Tabla 8. Correlaciones observadas por medio de los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC para el compuesto **51f**.

δ (ppm)	C	HSQC	HMBC	
		1J	2J	3J
42.5	C-4'	H _A , H _M		H _X
50.7	C-5'	H _X	H _A , H _M	CHO, H-5
55.3	OCH ₃	OCH ₃		
114.2	C _m -C	H _m -C	H _o -C	H _m -C
118.2	C _o -A	H _o -A		H _o -A, H _p -A
122.4	C-4		H-5, H _X	H _A , H _M
123.3	C _i -C			H _m -C
126.5	C _p -A	H _p -A		H _o -A
127.1	C-5	H-5		H _X
128.4	C _o -C	H _o -C		
128.7	C _o -B	H _o -B		
129.5	C _m -B	H _m -B		
129.8	C _m -A	H _m -A	H _o -A	
131.5	C _p -B			H _o -B
132.9	C _i -B			H _m -B
139.2	C _i -A			H _o -A, H _m -A
148.4	C-3			H-5
155.6	C-3'		H _A , H _M	H _X , H _o -C
159.6	C=O	CHO		
161.0	C _p -C		H _m -C	OCH ₃ , H _o -C

4.5 Estudio de actividad antitumoral

Los estudios de actividad antitumoral fueron llevados a cabo en el National Cancer Institute (NCI) de los estados unidos. Se sometieron todos los compuestos sintetizados, de los cuales fueron escogidos: **45a, 48a, 48d, 48e, 51a, 51c, 51f y 51g, (Figura 34)** que fueron evaluados *in vitro* frente a 60 líneas celulares tumorales diferentes a una dosis de 10 μM , comprendidas en 9 paneles: Leucemia, melanoma, cáncer de pulmón, colon, sistema nervioso central, mama, ovario, riñón y próstata.

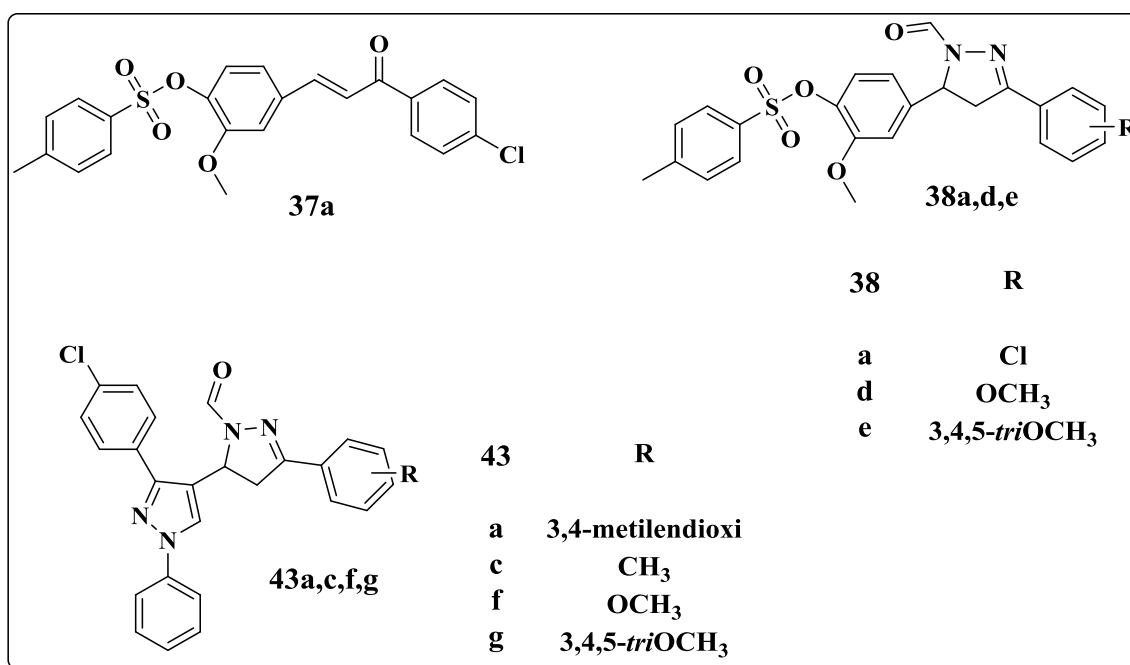


Figura 34. Estructura de los compuestos evaluados *in vitro* por el NCI.

El estudio experimental se realizó en un proceso de dos etapas, el cual inició con la evaluación de todos los compuestos aceptados frente a las 60 líneas celulares a una concentración única de 1.0 μM (ensayo “one dose”). El ensayo preliminar, mostró que los compuestos **45a** y **48d**, exhiben actividad importante por lo cual fueron escogidos para llevar a cabo un segundo proceso con el fin de evaluar su actividad citostática ante la batería de aproximadamente 60 líneas celulares subdivididas en los paneles mencionados anteriormente. Los compuestos fueron evaluados utilizando cinco concentraciones (100, 10, 1.0, 0.1 y 0.01 μM) por medio de un protocolo de exposición continua durante 48 horas,

empleando el ensayo de tinción proteínica con sulforodamida B (SRB) para estimar el crecimiento celular espectrofotométricamente.

Los resultados se expresaron en los siguientes términos:

- GI_{50} : concentración molar del compuesto requerida para inhibir el crecimiento de la línea celular en un 50 %
- TGI: Concentración molar que causa la inhibición total del crecimiento celular
- LC_{50} : Parametro de citotoxicidad; concentración molar para inhibir el 50% de las células normales.

Tabla 9. Evaluación *in vitro* de los compuestos **45a** y **48d**^a

Línea Celular	45a			48d		
	GI_{50}^b (μ M)	LC_{50}^c (μ M)	TI^d LC_{50}/GI_{50}	GI_{50}^b (μ M)	LC_{50}^c (μ M)	TI^d LC_{50}/GI_{50}
<i>Leukemia</i>						
CCRF-CEM	2.46	>100	>40.65	4.05	>100	>24.70
HL-60(TB)	3.29	>100	>30.40	2.56	>100	>39.06
K-562	2.87	>100	>34.84	2.45	>100	>40.82
MOLT-4	2.76	>100	>36.23	5.23	>100	>19.12
RPMI-8226	2.10	>100	>47.62	4.12	>100	>24.27
SR	1.90	>100	>52.63	3.02	>100	>33.11
<i>on Small Cell Lung</i>						
A549/ATCC	18.4	>100	>5.43	9.42	>100	>10.62
HOP-62	30.0	>100	>3.33	9.47	>100	>10.56
HOP-92	-	-	-	1.88	>100	>53.19
NCI-H226	12.7	61.1	4.81	8.81	>100	>11.35
NCI-H23	13.3	>100	>7.52	4.58	>100	>21.83
NCI-H460	17.3	>100	>5.78	8.86	>100	>11.29

NCI-H522	2.93	39.6	13,52	4.22	>100	23.70
<i>Colon Cancer</i>						
COLO 205	12.3	>100	>8.13	8.44	>100	>11.85
HCC-2998	12.4	57.5	4.64	100	>100	>1.0
HCT-116	1.76	7.82	4.44	4.56	>100	>21.93
HCT-15	1.74	8.36	4.80	4.19	>100	>23.87
HT29	2.15	12.9	6.0	-	-	-
KM12	3.63	62.3	17.16	9.23	>100	>10.83
SW-620	2.21	>100	>45.25	5.31	>100	>18.83
<i>CNS Cancer</i>						
SF-268	7.17	>100	>13.95	17.2	>100	>5.81
SF-295	9.27	70.5	7.61	3.58	>100	>27.93
SF-539	11.2	51.4	4.59	8.62	>100	>11.60
SNB-19	9.53	54.5	5.72	11.7	>100	>8.55
SNB-75	31.6	>100	>3.16	3.33	>100	>30.03
U251	2.18	17.5	8.03	-	-	-
<i>Melanoma</i>						
LOX IMVI	1.93	6.98	3.62	9.41	>100	>10.63
MALME-3M	13.1	86.5	6.60	7.09	>100	>14.10
M14	6.35	69.4	10.93	3.92	>100	>25.51
MDA-MB-435	2.74	79.0	28.83	2.40	>100	>42.67
SK-MEL-2	12.3	67.3	5.47	3.52	>100	>28.40
SK-MEL-28	18.3	>100	>5.46	10.6	>100	>9.43
SK-MEL-5	12.4	51.0	4.11	1.89	-	-
UACC-257	14.0	94.0	6.71	4.22	>100	>52.91

UACC-62	4.93	61.6	12.49	3.73	>100	26.81
<i>Ovarian Cancer</i>						
IGROV1	14.5	>100	>6.90	18.8	>100	>5.32
OVCAR-3	3.57	42.9	12.02	5.60	>100	>17.86
OVCAR-4	12.8	>100	>7.81	-	-	-
OVCAR-5	16.7	66.0	5.16	>100	>100	>1.0
OVCAR-8	3.23	>100	>30.96	10.2	>100	>9.80
NCI/ADR-RES	9.38	>100	>10.67	4.5	>100	>22.22
SK-OV-3	30.1	>100	>3.32	8.88	>100	>11.26
<i>Renal Cancer</i>						
786-0	10.7	56.3	5.26	21.6	>100	>4.63
A498	28.8	>100	>3.47	1.81	>100	>55.25
ACHN	9.68	49.7	5.13	10.1	>100	>9.90
CAKI-1	11.1	>100	>9.01	5.35	>100	>18.69
RXF 393	13.2	65.6	4.97	3.81	>100	>26.25
SN12C	10.0	>100	>10.0	65.9	>100	>1.52
UO-31	6.95	51.7	7.44	3.39	>100	>29.50
<i>Prostate Cancer</i>						
PC-3	3.6	65.2	18.11	3.34	>100	>29.94
DU-145	16.4	>100	>6.10	74.9	>100	>1.34
<i>Breast Cancer</i>						
MCF7	2.56	>100	>39.06	3.70	>100	>27.03
MDA-MB231/ATCC	9.02	82.3	9.12	5.52	>100	>18.11
HS 578T	3.99	>100	>25.06	5.66	>100	>17.67
BT-549	5.64	48.1	8.53	3.35	>100	>29.85

T-47D	9.27	84.6	9.13	2.27	>100	>44.05
MDA-MB-468	8.43	>100	>11.86	1.44	>100	>69.44

a Datos obtenidos de la evaluación *in vitro* frente a 60 líneas celulares cancerígenas, realizado por el National Cancer Institute (NCI) Estados Unidos.

b El GI_{50} se determinó a cinco niveles de concentración (100, 10, 1.0, 0.1 y 0.01 μM).

c LC_{50} es un parámetro de citotoxicidad y refleja la concentración molar para inhibir el 50% de las células normales.

d TI índice terapéutico.

La búsqueda de compuestos que presenten actividad biológica se ve encaminada a la obtención de porcentajes de inhibición más bajos e índices de citotoxicidad altos, pues este último es uno de los requisitos más importantes que debe tener una molécula para considerarla como un agente antitumoral importante.

Como se observa en la tabla 9 gracias a los datos suministrados por el NCI de la evaluación *in vitro*, el compuesto **45a** presenta la mejor actividad sobre el panel celular de leucemia con valores de inhibición GI_{50} entre 1.90 y 3.29 μM y valores de citotoxicidad LC_{50} mayores a 100 μM , siendo el mejor resultado el obtenido para la línea celular SR con GI_{50} 1.90 μM y LC_{50} >100 μM .

Para el cáncer de colon la línea celular SW-620 muestra una importante actividad con GI_{50} 2.21 μM y LC_{50} >100 μM , también en el panel de cáncer de Ovario, se observa una notable actividad en la línea celular OVCAR-8 con GI_{50} 3.23 μM y LC_{50} >100 μM , y en las líneas celulares MCF7 y HS 578T, para el cáncer de mama se tiene que presentan un índice de inhibición GI_{50} = 2.56 y 3.99 μM respectivamente y LC_{50} >100 μM .

El compuesto **48d**, muestra una importante actividad en el panel celular de cáncer de mama con valores de GI_{50} entre 1.44 y 5.66 μM y LC_{50} >100 μM , siendo el mejor resultado el obtenido para la línea celular MDA-MB-468 con GI_{50} = 1.44 μM y LC_{50} >100 μM ; igualmente el panel celular de leucemia presenta importante actividad con valores de GI_{50} entre 2.45 y 5.23 μM y LC_{50} >100 μM .

El panel celular de cáncer renal presenta una notable actividad en las líneas celulares A498, RXF-393 y UO-31 con valores de GI_{50} = 1.81, 3.81 y 3.39 μM y LC_{50} >100 μM respectivamente. Para el panel de melanoma se tienen valores de GI_{50} = 2.40, 3.52, 3.73 y 3.92 μM y LC_{50} >100 μM , en las líneas celulares MDA-MB-435, Sk-MEL-2, UACC-62 y

M14 respectivamente, y en el panel celular de cáncer de pulmón se observa un importante actividad en la línea celular HOP-92 con $GI_{50} = 1.88 \mu M$ y $LC_{50} > 100 \mu M$.

Finalmente se observa una notable actividad en las líneas celulares SF-295 y SNB-75 con $GI_{50} = 3.58$ y $3.33 \mu M$ y $LC_{50} > 100 \mu M$, en el panel celular de cáncer del sistema nervioso central, y en la línea PC-3 para el cáncer de próstata con $GI_{50} = 3.34 \mu M$ y $LC_{50} > 100 \mu M$.

5. CONCLUSIONES

Se sintetizaron los nuevos compuestos carbonílicos $\alpha\beta$ -insaturados **45a-f**, a partir de 3-methoxi-4-tosiloxibenzaldehído, mediante la reacción de condensación tipo Claisen-Schmidt con las correspondientes acetofenonas.

Se sintetizaron las nuevas *N*-formilpirazolininas del tipo 3-(4-R-fenil)-1-formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol **48a-f**, mediante la reacción de condensación tipo Fischer-Knövenagel de las nuevas chalconas obtenidas.

Se sintetizaron las nuevas pirazolininas *N*-formiladas del tipo 3-(4-R-fenil)-5-[3-(4-R-fenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-1-formil-4,5-dihidro-1H-pirazol. **50a-e** y **51a-g** empleando hidrato de hidrazina, temperatura ambiente y metanol como disolvente, obteniendo buenos rendimientos y tiempos cortos de reacción.

Por medio de las constantes de acoplamiento encontradas en los espectros de RMN- ^1H para los compuestos **48b**, **50e**, **51f**, se estableció la orientación de los protones que conforman el sistema AMX del anillo pirazolínico, en donde los protones H_A y H_X están orientados en configuración *cis* y los protones H_M y H_X en forma *trans*.

Se caracterizaron detalladamente todos los productos obtenidos, mediante análisis espectroscópicos, empleando las técnicas de IR-TF, RMN monodimensional ^1H , ^{13}C y DEPT 135 y bidimensional HSQC, HMBC y COSY.

Los compuestos **45a**, **48a,d,e** y **51a,c,f,g** fueron seleccionados por el National Cancer Institute (NCI), para realizar estudios *in vitro* frente a 60 líneas celulares cancerígenas humanas, encontrando que los compuestos **45a** y **48d**, presentaron una notable actividad frente a varios paneles celulares.

El compuesto **45a** presentó importante actividad en los paneles celulares de leucemia, en todas sus líneas celulares en especial la línea celular SR, con GI_{50} 1.90 μM y LC_{50} >100 μM , el panel de cáncer de colon con GI_{50} 2.21 μM y LC_{50} >100 μM en su línea celular SW-620, el panel de cáncer de ovario con GI_{50} 3.23 μM y LC_{50} >100 μM . y el panel de cáncer

de mama en las líneas celulares MCF7 y HS 578T con $GI_{50} = 2.56$ y $3.99 \mu M$ respectivamente y $LC_{50} > 100 \mu M$.

El compuesto **48d** presentó una importante actividad en los paneles celulares de cáncer de mama, en todas sus líneas celulares siendo el mejor resultado el obtenido para la línea celular MDA-MB-468 con $GI_{50} = 1.44 \mu M$ y $LC_{50} > 100 \mu M$, el panel de leucemia en todas sus líneas celulares en especial la línea celular K-562 con $GI_{50} = 2.45 \mu M$ y $LC_{50} > 100 \mu M$, el panel de cáncer renal en las líneas celulares A498, RXF-393 y UO-31 con valores de $GI_{50} = 1.81, 3.81$ y $3.39 \mu M$ y $LC_{50} > 100 \mu M$ respectivamente, el panel de melanoma en las líneas celulares MDA-MB-435, Sk-MEL-2, UACC-62 y M14 con $GI_{50} = 2.40, 3.52, 3.73$ y $3.92 \mu M$ y $LC_{50} > 100 \mu M$, respectivamente, y en el panel celular de cáncer de pulmón en la línea celular HOP-92 con $GI_{50} = 1.88 \mu M$ y $LC_{50} > 100 \mu M$.

6. SECCIÓN EXPERIMENTAL

6.1 REACTIVOS COMERCIALES

Acetofenonas sustituidas (R= 4-Cl, 4-F, H, 4-OCH₃, 3,4,5-*tri*OCH₃, 4-CH₃)

Ácido fórmico

Carbonato de potasio

Cloruro de *p*-toluensulfonilo

Fenil hidrazina

Hidrato de hidrazina

Hidróxido de sodio

Oxicloruro de fósforo

Trifluoroboratoetileterato

Vainillina

6.2 DISOLVENTES

CDCl₃

Cloroformo

Diclorometano

Dioxano

DMF

DMSO-*d*₆

Etanol

Hexano

Metanol

6.3 INSTRUMENTACIÓN

Cromatografía de capa delgada (CCD), se utilizó placas de sílica gel 60F 254 con espesor de 0.2 mm para el monitoreo de las reacciones y verificación de la pureza de los productos. Para la revelación de las placas se utilizó una lámpara Spectroline serie E con dos longitudes de onda: 254 y 363 nm, Los puntos de fusión se determinaron con un fusiómetro Stuart SMP3. Los espectros de IR-TF fueron tomados en pastillas de KBr en un espectrofotómetro SHIMADZU FTIR 8400 y para la toma de los espectros de RMN- ^1H , ^{13}C , y bidimensionales se utilizó un equipo Bruker DPX-400 MHz y tetrametilsilano (TMS) como estándar interno.

6.4 SÍNTESIS DE PRECURSORES

Síntesis de 3-metoxi-4-tosiloxibenzaldehído 44.

Una mezcla de 3-metoxi-4-hidroxibenzaldehído (vainillina) 1 mmol y carbonato de potasio, 1.5 mmol en dioxano (10 mL), se calentó a reflujo durante 30 minutos, posteriormente se adicionó cloruro de *p*-toluensulfonilo (1 mmol) y se calentó a reflujo durante 8 horas, el producto se filtró y lavó con etanol. Sólido blanco. Rendimiento 96%. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1659 (C=O) 1601 (C=C, Ar).

Síntesis de 3-aril-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído 46.

Una mezcla de 4-nitroacetofenona (1 mmol) y fenilhidrazina (1 mmol) en etanol (5 mL) y ácido sulfúrico (1 mL) se calentó a reflujo durante 4 horas, el precipitado rojo se filtró y lavó con etanol, el compuesto obtenido se hizo reaccionar con una mezcla 3:1 DMF: POCl_3 mediante calentamiento a reflujo durante 2 horas, se adicionó agua y se filtró al vacío obteniendo un sólido blanco.

Síntesis general de 3-(4-R-fenil)-4-[3-(4-R₁-fenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-il]-1H-pirazol 49a-b.

Siguiendo la metodología reportada por el grupo de investigación de compuestos heterocíclicos,^[7] se hizo reaccionar el 3-aryl-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído **46** (1 mmol) con acetofenonas sustituidas (1 mmol) en etanol (5 mL) y NaOH (0.5 mmol) como catalizador, se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se filtró y lavó con etanol el sólido blanco obtenido (**47a-b**), posteriormente se adicionó a 1 mmol de **47a-b**, 1 mL de hidrato de hidrazina en 2 mL de metanol como disolvente, se agitó durante 4-5 horas, se adicionó agua fría y se filtró al vacío obteniendo los compuestos como sólidos amarillos.

6.5 SÍNTESIS DE PRODUCTOS FINALES

6.5.1 Síntesis general de (E)-1-(4-R-fenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxi)-prop-2-en-1-ona 45a-e.

Una mezcla de 3-metoxi-4-tosiloxibenzaldehído **44** (1 mmol) y acetofenonas sustituidas (1mmol) en etanol (5 mL) con NaOH (0.5 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas controlando con CCD, el producto se filtró a vacío, se lavó con etanol y agua, obteniendo los productos sin procesos de purificación adicional.

(E)-1-(4-clorofenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-prop-2-en-1-ona (45a) Sólido blanco. Rendimiento 78%. Punto de fusión 105°C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1659 (C=O), 1600 (C=C). RMN-¹H (400MHz, CDCl₃) δ ppm 2.46 (s, 3H, CH₃) 3.65 (s, 3H, OCH₃) 7.06 (s, 1H, H-3') 7.21 (s, 2H, H-5', H-6') 7.33 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m) 7.39 (d, ³J = 16.0 Hz, 1H, H-8) 7.49 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m') 7.71 (d, ³J = 16.0 Hz, 1H, H-7) 7.78 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o) 7.95 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o'). RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 21.7 (CH₃) 55.7 (OCH₃) 112.3 (C-3) 121.0 (C-5) 122.4 (C-8) 124.5 (C-6) 128.6 (C_o) 129.1 (C_m') 129.5 (C_{-m}) 129.9 (C-o') 133.1 (C_i) 134.7 (C-4) 136.2 (C_i') 139.5 (C_p') 140.0 (C-1) 144.1 (C-7) 145.3 (C_p) 152.2 (C-2) 188.9 (C=O). Ms (IE 70 eV) m/z (%): 442/444 (16/7 M⁺), 306 (21), 289 (33), 287 (100), 155(55), 151(21), 139 (31), 91 (88). Análisis calculado para C₂₃H₁₉ClO₅S: C, 62.37; H, 4.32. Encontrado: C, 62.46; H, 4.38.

(E)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-1-p-toluil-prop-2-en-1-ona (45b) Sólido blanco. Rendimiento 69%. Punto de fusión 99 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1659 (C=O), 1604 (C=C). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.45 (s, 3H, $p\text{-CH}_3$) 2.45 (s, 3H, $p'\text{-CH}_3$) 3.64 (s, 3H, OCH_3) 7.06 (s, 1H, H-3') 7.20 (s, 2H, H-5', H-6') 7.32 (m, 4H, H_m , H_m') 7.44 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-8) 7.70 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-7) 7.78 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o) 7.92 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o') RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 21.7, 55.7, 112.2, 120.8, 123.1, 124.5, 128.6, 128.7, 129.4, 129.5, 133.2, 135.0, 135.4, 139.8, 143.1, 143.9, 145.3, 152.1, 189.7. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 422 (15, M^+), 306 (31), 267 (85), 239 (20), 155 (68), 151(26), 91 (100), 44 (53). Análisis calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{S}$: C, 62.37; H, 4.32. Encontrado: C, 62.43; H, 4.28.

(E)-1-(4-fluorofenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-prop-2-en-1-ona (45c). Sólido blanco. Rendimiento 75%. Punto de fusión 115 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1660 (C=O), 1603 (C=C). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.46 (s, 3H, CH_3) 3.64 (s, 3H, OCH_3) 7.06 (s, 1H, H-3') 7.20 (s, 2H, H-5', H-6') 7.32 (m, 4H, H_m , H_m') 7.41 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-8) 7.71 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-7) 7.78 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o) 7.92 (m, 2H, H_o') RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 21.7, 55.7, 112.3, 115.7, 115.9, 120.9, 122.5, 124.5, 128.6, 129.5, 131.1, 131.2, 133.2, 134.3, 134.7, 140.0, 143.7, 145.3, 152.2, 164.5, 188.6. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 426 (0.5, M^+), 306 (6), 271 (4), 155 (26), 151 (12) 91 (48), 85 (99), 83 (98), 47 (100). Análisis calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{FO}_5\text{S}$: C, 64.78; H, 4.49. Encontrado: C, 64.88; H, 4.61.

(E)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-1-(4-metoxifenil)-prop-2-en-1-ona (45d). Sólido blanco. Rendimiento 65%. Punto de fusión 110 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1655 (C=O), 1603 (C=C). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.46 (s, 3H, CH_3) 3.64 (s, 3H, OCH_3^1) 3.90 (s, 3H, OCH_3^2) 6.99 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m') 7.06 (s, 1H, H-3') 7.20 (s, 2H, H-5', H-6') 7.32 (d, 2H, H_m) 7.45 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-8) 7.69 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-7) 7.77 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o) 8.03 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o') RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 21.7, 55.6, 55.7, 112.3, 113.9, 120.8, 122.9, 124.4, 128.7, 129.5, 130.8, 131.2, 135.1, 139.8, 142.7, 145.2, 152.1, 163.6, 188.4. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 438 (17, M^+), 283 (100), 255 (33), 155 (13), 135 (18), 91 (29). Análisis calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{S}$: C, 65.74; H, 5.06. Encontrado: C, 64.88; H, 5.20.

(E)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-prop-2-en-1-ona (45e). Sólido blanco. Rendimiento 74%. Punto de fusión 146 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1658 (C=O), 1583 (C=C). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.46 (s, 3H, CH_3) 3.64 (s, 3H, OCH_3^1) 3.94 (s, 9H, OCH_3^2 , OCH_3^3) 7.05 (s, 1H, H-3') 7.21 (s, 2H, H-5', H-6') 7.26 (s, 2H, H_o') 7.32 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m) 7.40 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-8) 7.70 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-7) 7.78 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o) RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 21.7, 55.8, 56.5, 61.0, 106.3, 112.7, 120.6, 122.9, 124.5, 128.6, 129.5, 133.2, 133.3, 134.9, 139.9, 142.8, 143.5, 145.3, 152.2, 153.2, 189.0. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 498 (18, M^+), 343 (33), 315 (21), 91 (45), 87 (30), 85 (99), 83 (100). Análisis calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{S}$: C, 62.64; H, 5.26. Encontrado: C, 62.49; H, 5.33.

Síntesis y caracterización de (E)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (45f). Sólido blanco. Rendimiento 50%. Punto de fusión 107 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1659 (C=O), 1599 (C=C). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.46 (s, 3H, CH_3) 3.64 (s, 3H, OCH_3) 7.07 (s, 1H, H-3') 7.20 (s, 2H, H-5', H-6') 7.32 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m) 7.44 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-8) 7.42 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m') 7.61 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_p') 7.71 (d, $^3J = 16.0$ Hz, 1H, H-7) 7.78 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o) 8.01 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o') RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 21.7, 55.7, 112.2, 120.9, 123.0, 124.5, 128.5, 128.6, 128.7, 129.5, 133.0, 133.2, 134.9, 138.0, 139.9, 143.6, 145.3, 152.2, 190.3. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 408 (2, M^+), 306 (19), 253 (23), 225 (7), 155 (64), 151 (32), 91 (90), 83 (100). Análisis calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{S}$: C, 67.63; H, 4.94. Encontrado: C, 67.49; H, 5.11.

6.5.2 Síntesis general de 3-(4-R-fenil)-1-formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol 48a-e.

Una mezcla de (E)-1-(4-R-fenil)-3-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-prop-2-en-1-ona **45a-e** (1 mmol) e hidrato de hidrazina (1.5 mmol) en DMF (5 mL) con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (3 gotas) se calentó a reflujo durante 4 horas, se adicionó agua fría y se aisló el producto mediante filtración al vacío se lavó con etanol y agua, obteniendo los productos sin procesos de purificación adicional.

Síntesis y caracterización de 3-(4-clorofenil)-1-formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (48a). Sólido blanco. Rendimiento 95%. Punto de fusión 163 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1663 (C=O), 2701, 2918 (CHO). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.45 (s, 3H, CH_3) 3.18 (m, 1H, H-4a) 3.58 (s, 3H, OCH_3) 3.78 (m, 1H, H-4b) 5.48 (m, 1H, H-5) 6.75 (s, 2H, H-3', H-5') 7.09 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H-6') 7.31 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m) 7.49 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m') 7.67 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o') 7.76 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o) 8.95 (s, 1H, CHO). RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 21.7, 42.4, 55.7, 58.8, 110.3, 117.4, 124.6, 127.9, 128.5, 129.2, 129.4, 133.3, 136.9, 138.0, 140.4, 145.0, 152.2, 154.6, 160.1. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 484/486 (39/17, M^+), 329 (58), 303 (53), 301 (100), 273, (38), 241 (74), 123 (96), 95 (97), 91 (100). Análisis calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 59.44; H, 4.36; N, 5.78. Encontrado: C, 59.60; H, 4.51; N, 5.69.

1-Formil-5-(3-metox-4-tosiloxifenil)-3-p-toluil-4,5-dihidro-1H-pirazol (48b). Sólido blanco. Rendimiento 51%. Punto de fusión 146 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1658 (C=O), 2851, 2920 (CHO). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.41 (s, 3H, p' - CH_3) 2.45 (s, 3H, p - CH_3) 3.19 (m, 1H, H-4a) 3.57 (s, 3H, OCH_3) 3.78 (m, 1H, H-4b) 5.48 (m, 1H, H-5) 6.75 (m, 1H, H-3') 6.77 (d, $^3J = 4.0$ Hz, 1H, H-5') 7.08 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H-6') 7.25 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m') 7.31 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m) 7.63 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o') 7.76 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o) 8.95 (s, 1H, CHO). RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 21.6 (CH_3^2) 21.7 (CH_3^1) 42.6 (C-4) 55.7 (OCH_3) 58.6 (C-5) 110.3 (C-3') 117.5 (C-5') 124.5 (C-6') 126.7 (C_o') 127.9 (C_i') 128.6 (C_o) 129.4 (C_m) 129.6 (C_m') 133.4 (C_i) 138.0 (C-1') 140.7 (C-4') 141.3 (C_p') 145.0 (C_p) 152.2 (C-2') 155.9 (C-3) 160.1 (C=O). Ms (IE 70 eV) m/z (%): 464 (16, M^+), 391 (13), 281 (55), 149 (31), 123 (49), 111 (57), 97 (84), 83 (98), 57 (100). Análisis calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 64.64; H, 5.21; N, 6.03. Encontrado: C, 65.68; H, 5.39; N, 5.91.

3-(4-Fluorofenil)-1-formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (48c). Sólido blanco. Rendimiento 45%. Punto de fusión 153 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1668 (C=O), 2881, 2925 (CHO). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.47 (s, 3H, CH_3) 3.21 (m, 1H, H-4a) 3.61 (s, 3H, OCH_3) 3.80 (m, 1H, H-4b) 5.52 (m, 1H, H-5) 6.78 (s, 2H, H-3', H-5') 7.15 (m, 3H, H-6', H_m') 7.33 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m) 7.76 (m, 4H, H_o , H_o') 8.97 (s, 1H, CHO).

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 21.7, 42.6, 55.8, 58.8, 110.4, 116.0, 116.2, 117.4, 124.6, 128.6, 128.7, 128.8, 129.5, 133.4, 136.4, 138.0, 140.5, 145.1, 152.3, 160.1. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 468 (27, M⁺), 313 (34), 285 (75), 283 (69), 273 (32), 225 (33), 123 (100), 91 (63), 83 (25). Análisis calculado para C₂₄H₂₁FN₂O₅S: C, 61.53; H, 4.52; N, 5.98. Encontrado: C, 60.49; H, 4.78; N, 5.85.

1-Formil-5-(3-metox-4-tosiloxifenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (48d).

Sólido blanco. Rendimiento 55%. Punto de fusión 165 °C. IR (KBr) ν(cm⁻¹) 1655 (C=O), 2839, 2936 (CHO). RMN-¹H (400MHz, CDCl₃) δ ppm 2.45 (s, 3H, CH₃) 3.17 (m, 1H, H-4a) 3.57 (s, 3H, -OCH₃¹) 3.77 (m, 1H, H-4b) 3.87 (s, 3H, -OCH₃²) 5.47 (m, 1H, H-5) 6.75 (s, 1H, H-3') 6.77 (d, ³J = 4.0 Hz, 1H, H-5') 6.96 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m) 7.08 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H, H-6') 7.31 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m) 7.68 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o) 7.76 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o) 8.95 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 21.7, 42.6, 55.5, 55.7, 58.6, 110.4, 114.3, 117.5, 123.3, 124.5, 128.4, 128.6, 129.4, 133.3, 137.9, 140.8, 145.1, 152.2, 155.6, 159.9, 161.8. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 480 (64, M⁺), 464 (25), 297 (96), 281 (80), 149 (99), 135 (82), 123 (89), 97 (68), 91 (92), 57 (100). Análisis calculado para C₂₅H₂₄N₂O₆S: C, 62.49; H, 5.03; N, 5.83. Encontrado: C, 62.66; H, 4.96; N, 6.08.

1-Formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol

(48e). Sólido blanco. Rendimiento 52%. Punto de fusión 187 °C. IR (KBr) ν(cm⁻¹) 1678 (C=O), 2885, 2921 (CHO). RMN-¹H (400MHz, CDCl₃) δ ppm 2.45 (s, 3H, CH₃) 3.20 (m, 1H, H-4a) 3.59 (s, 3H, OCH₃¹) 3.78 (m, 1H, H-4b) 3.90 (s, 3H, OCH₃²) 3.92 (s, 6H, OCH₃³) 5.49 (m, 1H, H-5) 6.75 (s, 1H, H-3') 6.77 (d, ³J = 4.0 Hz, 1H, H-5') 6.96 (s, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o) 7.09 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H, H-6') 7.31 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m) 7.77 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o) 8.96 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 21.7, 42.7, 55.7, 56.4, 58.8, 61.0, 104.2, 110.3, 117.4, 124.6, 126.0, 128.6, 129.5, 133.4, 138.0, 140.6, 140.7, 145.1, 152.3, 153.5, 155.6, 160.0. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 540 (2, M⁺), 391 (6), 287 (7), 149 (11), 111 (17), 85 (100), 83 (100), 47 (68). Análisis calculado para C₂₇H₂₈N₂O₈S: C, 59.99; H, 5.22; N, 5.18. Encontrado: C, 61.03; H, 5.37; N, 5.01.

3-Fenil-1-formil-5-(3-metoxi-4-tosiloxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (48f). Sólido blanco. Rendimiento 70%. Punto de fusión 151 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1670 (C=O), 2922 (CHO). RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3) δ ppm 2.46 (s, 3H, CH_3) 3.17 (m, 1H, H-4a) 3.64 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$) 3.79 (m, 1H, H-4b) 5.50 (m, 1H, H-5) 7.07 (s, 1H, H-3') 7.21 (2, 2H, H-5', H-6,) 7.33 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m) 7.52 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m') 7.60 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_p') 7.78 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o) 8.01 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o') 8.95 (s, 1H, CHO) RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 21.7, 42.4, 55.7, 58.8, 112.2, 120.9, 124.5, 128.5, 128.6, 128.7, 129.5, 130.0, 133.3, 134.9, 138.0, 140.0, 145.3, 152.2, 155.6, 160.1. Ms (IE 70 eV) m/z (%): 450 (60, M^+), 295 (64), 267 (100), 239 (28), 207 (53), 123 (42), 83 (58). Análisis calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 63.99; H, 4.92; N, 6.22. Encontrado: C, 63.90; H, 5.09; N, 6.35.

6.5.3 Síntesis de 3-(4-R-fenil)-1-formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1H-pirazol 50a-e.

Una mezcla de 3-(4-R-fenil)-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-4-il]- 1H-pirazol **49a** (1 mmol) los cuales fueron reportado anteriormente por Insuasty y Col,⁷ y ácido fórmico (1.5 mmol) en metanol (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se adicionó agua fría y se aisló el producto mediante filtración al vacío se lavó con etanol, obteniendo los productos sin procesos de purificación adicional.

1-Formil-3-(3,4-metilendioxifenil)-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1H-pirazol (50a). Sólido amarillo. Rendimiento 61%. Punto de fusión 254 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1650 (C=O), 1620 (C=C, Ar), 2919, 2799 (C-H metileno) RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3.27 (m, 1H, H-4a') 3.96 (m, 1H, H-4b') 5.73 (m, 1H, H-5') 6.10 (s, 2H, CH_2MD) 7.00 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, $\text{H}_m\text{-C}$) 7.23 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, $\text{H}_6\text{-C}$) 7.35 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, $\text{H}_p\text{-A}$, $\text{H}_2\text{-C}$) 7.50 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, $\text{H}_m\text{-A}$) 7.94 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, $\text{H}_o\text{-B}$) 8.11 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, $\text{H}_m\text{-B}$) 8.33 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, $\text{H}_o\text{-A}$) 8.57 (s, 1H, H-5) 8.85 (s, 1H, CHO). RMN- ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 42.3, 51.6, 102.1, 106.6, 108.8, 119.3, 122.4, 123.3, 124.1, 125.7, 127.3, 128.3, 128.9, 129.6, 129.9, 139.8, 139.9, 147.8, 148.4, 149.9, 156.1, 160.2. Análisis calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_5$: C, 64.86; H, 3.98; N, 14.55. Encontrado: C, 64.69; H, 4.04; N, 14.68.

3-(4-Bromofenil)-1-formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (50b). Sólido amarillo. Rendimiento 79%. Punto de fusión 282 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1660 (C=O), 1597 (C=C, Ar), 1340 y 1504 (=C-NO₂ aromático). RMN-¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.33 (m, 1H, H-4a') 3.97 (m, 1H, H-4b') 5.79 (m, 1H, H-5') 7.36 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 1H, H_p-A) 7.52 (t, 2H, H_m-A) 7.66 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-C) 7.71 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-C) 7.89 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-A) 8.04 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-B) 8.30 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-B) 8.46 (s, 1H, H-5) 8.86 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 42.7, 51.8, 119.3, 123.3, 124.1, 124.3, 127.3, 128.3, 129.1, 129.6, 129.9, 130.8, 132.2, 139.8, 139.9, 147.7, 148.3, 155.6, 160.2. Análisis calculado para C₂₅H₁₈BrN₅O₃: C, 58.15; H, 3.51; N, 13.56. Encontrado: C, 58.04; H, 3.48; N, 13.72.

1-Formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-3-*p*-toluil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (50c). Sólido amarillo. Rendimiento 60%. Punto de fusión 270 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1660 (C=O), 1597 (C=C, Ar), 1339 y 1505 (=C-NO₂ aromático). RMN-¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2.36 (s, 3H, CH₃) 3.27 (m, 1H, H-4a') 3.96 (m, 1H, H-4b') 5.75 (m, 1H, H-5') 7.27 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-C) 7.34 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 1H, H_p-A) 7.50 (t, 2H, H_m-A) 7.64 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-C) 7.87 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-A) 8.05 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-B) 8.28 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-B) 8.41 (s, 1H, H-5) 8.83 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 21.4, 42.9, 51.5, 119.3, 123.4, 124.1, 127.2, 127.3, 128.3, 128.8, 129.6, 129.7, 129.9, 139.8, 139.9, 140.9, 147.7, 148.3, 156.4, 160.1. Análisis calculado para C₂₆H₂₁N₅O₃: C, 69.17; H, 4.69; N, 15.51. Encontrado: C, 69.30; H, 4.75; N, 15.33.

3-(4-Fluorofenil)-1-formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (50d). Sólido amarillo. Rendimiento 82%. Punto de fusión 260 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1672 (C=O), 1599 (C=C, Ar), 1339 y 1509 (=C-NO₂ aromático). RMN-¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.38 (m, 1H, H-4a') 4.02 (m, 1H, H-4b') 5.78 (m, 1H, H-5') 7.34 (m, 3H, H_p-A, H_o-C) 7.52 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-A) 7.84 (m, 2H, H_m-C) 7.94 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-A) 8.13 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-B) 8.35 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-B) 8.62 (s, 1H, H-5) 8.90 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 43.0, 55.6, 116.1, 116.3, 119.3, 123.4, 124.1, 127.3, 128.2, 128.3, 129.5, 129.6, 129.9, 139.8, 139.9, 147.7, 148.3, 155.5,

165.2. Análisis calculado para $C_{25}H_{18}FN_5O_3$: C, 65.93; H, 3.98; N, 15.38. Encontrado: C, 66.02; H, 4.14; N, 15.50.

3-Fenil-1-formil-5-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-4,5-dihidro-1H-pirazol

(50e). Sólido amarillo. Rendimiento 67%. Punto de fusión 268 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1671 (C=O), 1596 (C=C, Ar), 1337 y 1505 (=C-NO₂ aromático). RMN-¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.38 (m, 1H, H-4a') 4.04 (m, 1H, H-4b') 5.78 (m, 1H, H-5') 7.35 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 1H, H_p-A) 7.50 (m, 5H, H_m-A, H_m-C, H_p-C) 7.79 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-C) 7.94 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-A) 8.14 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-B) 8.35 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-B) 8.62 (s, 1H, H-5) 8.93 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 42.4 (C-4') 50.8 (C-5') 118.4 (C_o-A) 123.0 (C_o-C) 123.8 (C-4) 126.7 (C_m-C) 126.8 (C_m-B) 127.8 (C_p-C) 128.7 (C_p-A) 128.9 (C-5) 129.5 (C_m-A) 130.5 (C_o-B) 130.8 (C_i-C) 139.0 (C_i-A) 139.2 (C_i-B) 146.8 (C_p-B) 147.4 (C-3) 155.9 (C-3') 159.9 (C=O). Análisis calculado para $C_{25}H_{19}N_5O_3$: C, 68.64; H, 4.38; N, 16.01. Encontrado: C, 69.49; H, 4.21; N, 15.98.

6.5.4 5-[3-(4-Clorofenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]- 3-(4-R-fenil)- 1-formil-4,5-dihidro-1H-pirazol 51a-g.

Una mezcla de 5-[3-(4-clorofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-4-il]- 3-(4-R-fenil)- 1H-pirazol **49b** (1 mmol) los cuales fueron previamente reportados por Insuasty y Col, ^[7] e hidrato de hidrazina (1.5 mmol) en metanol (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, se adicionó agua fría y se aisló el producto mediante filtración al vacío se lavó con etanol, obteniendo los productos sin procesos de purificación adicional.

5-[3-(4-Clorofenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-1-formil-3-(3,4-metilendioxfenil)-4,5-

dihidro-1H-pirazol (51a). Sólido beige. Rendimiento 63%. Punto de fusión 237 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1656 (C=O), 1600 (C=C, Ar). RMN-¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.24 (m, 1H, H-4a') 3.94 (m, 1H, H-4b') 5.65 (m, 1H, H-5') 6.11 (s, 2H, CH₂ MD) 7.01 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 1H, H_m-C) 7.25 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 1H, H₆-C) 7.32 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_p-A, H₂-C) 7.50 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-A) 7.56 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-B) 7.83 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_m-B) 7.90 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2H, H_o-A) 8.50 (s, 1H, H-5) 8.86 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 42.9, 51.6, 102.1, 106.7, 108.8, 119.3, 122.4, 123.4, 124.1, 125.7,

127.3, 128.3, 128.9, 129.6, 129.9, 139.8, 139.9, 147.8, 148.4, 149.9, 156.1, 160.2. Análisis calculado para $C_{26}H_{19}ClN_4O_3$: C, 66.32; H, 4.07; N, 11.90. Encontrado: C, 66.40; H, 4.24; N, 11.88.

5-[3-(4-Clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-1-formil-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (51b). Sólido amarillo. Rendimiento 37%. Punto de fusión 190 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1669 (C=O), 1598 (C=C, Ar). RMN- ^1H (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.41 (m, 1H, H-4a') 4.02 (m, 1H, H-4b') 5.75 (m, 1H, H-5') 7.33 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_p-A) 7.50 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-A) 7.56 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o-B) 7.84 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-B) 7.90 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o-A) 8.02 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o-C) 8.33 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-C) 8.58 (s, 1H, H-5) 8.96 (s, 1H, CHO). RMN- ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 42.5, 52.2, 119.1, 122.3, 124.2, 127.0, 127.9, 128.3, 128.9, 129.9, 130.4, 132.2, 133.6, 137.6, 139.9, 148.9, 149.4, 154.8, 160.6. Análisis calculado para $C_{25}H_{18}ClN_5O_3$: C, 63.63; H, 3.84; N, 14.84. Encontrado: C, 63.80; H, 3.78; N, 15.02.

5-[3-(4-Clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-1-formil-3-*p*-toluil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (51c). Sólido blanco. Rendimiento 60%. Punto de fusión 230 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1672 (C=O), 1598 (C=C, Ar). RMN- ^1H (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.37 (s, 3H, CH₃) 3.46 (m, 1H, H-4a') 3.97 (m, 1H, H-4b') 5.67 (m, 1H, H-5') 7.32 (m, 3H, H_p-A, H_m-C) 7.50 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-A) 7.56 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o-B) 7.68 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o-C) 7.85 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-B) 7.90 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o-A) 8.51 (s, 1H, H-5) 8.88 (s, 1H, CHO). RMN- ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 21.5, 43.0, 51.3, 118.7, 122.4, 126.9, 127.2, 127.7, 128.6, 129.2, 129.8, 129.9, 130.3, 132.1, 133.4, 139.7, 140.8, 148.8, 156.4, 160.2. Análisis calculado para $C_{26}H_{21}ClN_4O$: C, 70.82; H, 4.80; N, 12.71. Encontrado: C, 71.01; H, 4.75; N, 12.66.

5-[3-(4-Clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-3-(4-fluorofenil)-1-formil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (51d). Sólido amarillo. Rendimiento 68%. Punto de fusión 214 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1651 (C=O), 1600 (C=C, Ar). RMN- ^1H (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.27 (m, 1H, H-4a') 3.93 (m, 1H, H-4b') 5.69 (m, 1H, H-5') 7.26 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-A) 7.31 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_p-A) 7.47 (m, 4H, H_o-B, H_m-C) 7.76 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o-C) 7.80 (d, $^3J =$

8.0 Hz, 2H, H_m-B) 7.84 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o-A) 8.21 (s, 1H, H-5) 8.35 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 42.4, 50.9, 115.7, 115.9, 118.2, 122.2, 126.6, 127.2, 127.4, 128.7, 129.0, 129.1, 129.5, 129.7, 131.4, 132.9, 139.1, 148.5, 155.2, 159.9, 162.1. Análisis calculado para C₂₅H₁₈ClFN₄O: C, 67.49; H, 4.08; N, 12.59. Encontrado: C, 67.61; H, 4.19; N, 12.53.

5-[3-(4-Clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-3-fenil-1-formil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol

(51e). Sólido blanco. Rendimiento 46%. Punto de fusión 225 °C. IR (KBr) ν(cm⁻¹) 1668 (C=O), 1597 (C=C, Ar). RMN-¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.36 (m, 1H, H-4a') 4.03 (m, 1H, H-4b') 5.76 (m, 1H, H-5') 7.34 (t, ³J = 8.0 Hz, 1H, H_p-A) 7.50 (m, 5H, H_m-A, H_o-B, H_p-C,) 7.78 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m-C) 7.92 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m-B) 8.12 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o-A) 8.34 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o-C) 8.60 (s, 1H, H-5) 8.90 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 42.9, 51.7, 119.1, 122.7, 126.9, 127.2, 127.8, 128.9, 129.1, 129.5, 129.9, 130.4, 130.8, 131.6, 132.4, 133.5, 139.9, 149.3, 156.4, 160.2. Análisis calculado para C₂₅H₁₉ClN₄O: C, 70.34; H, 4.49; N, 13.12. Encontrado: C, 70.47; H, 4.54; N, 12.98.

5-[3-(4-Clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-1-formil-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (51f). Sólido blanco. Rendimiento 67%. Punto de fusión 205 °C. IR (KBr) ν(cm⁻¹) 1659 (C=O), 1602 (C=C, Ar). RMN-¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.23 (m, 1H, H-4a') 3.70 (s, 3H, OCH₃) 3.91 (m, 1H, H-4b') 5.63 (m, 1H, H-5') 7.00 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m-C) 7.29 (t, ³J = 8.0 Hz, 1H, H_p-A) 7.46 (t, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m-A) 7.53 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o-B) 7.69 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o-C) 7.81 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_m-B) 7.86 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H_o-A) 8.45 (s, 1H, H-5) 8.84 (s, 1H, CHO). RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 42.5 (C-4') 50.7 (C-5') 55.3 (OCH₃) 114.2 (C_m-C) 118.2 (C_o-A) 122.4 (C-4) 123.3 (C_p-C) 126.5 (C_p-A) 127.1 (C-5) 128.4 (C_o-C) 128.7 (C_o-B) 129.5 (C_m-B) 129.8 (C_m-A) 131.5 (C_p-B) 132.9 (C_i-B) 139.2 (C_i-A) 148.4 (C-3) 155.6 (C-3') 159.6 (C_i-C) 160.0 (C=O). Análisis calculado para C₂₆H₂₁ClN₄O₂: C, 68.34; H, 4.63; N, 12.26. Encontrado: C, 67.50; H, 4.74; N, 12.17.

3-(4-Clorofenil)--5-[3-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-1-formil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (51g). Sólido blanco. Rendimiento 78%. Punto de fusión 210 °C. IR (KBr) $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1673 (C=O), 1595 (C=C, Ar). RMN- ^1H (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.26 (m, 1H, H-4a') 3.95 (m, 1H, H-4b') 5.67 (m, 1H, H-5') 7.30 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_p-A) 7.47 (t, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-A) 7.53 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 5H, H_o-B, H_o-C) 7.76 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-C) 7.80 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_m-B) 7.86 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H_o-A) 8.50 (s, 1H, H-5) 8.87 (s, 1H, CHO). RMN- ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 42.3, 51.0, 118.2, 122.2, 126.5, 127.2, 128.4, 128.7, 128.8, 129.5, 129.8, 131.5, 132.9, 135.1, 136.9, 139.2, 148.4, 154.9, 159.9. Análisis calculado para C₂₅H₁₈Cl₂N₄O: C, 65.09; H, 3.93; N, 12.14. Encontrado: C, 64.21; H, 4.05; N, 12.32.

7. REFERENCIAS

1. López, S.; Castelli, M.; Zacchino, S.; Domínguez, J.; Lobo, G.; Charris-Charris, J.; Cortés, J.; Ribas, J.; Devia, C.; Rodriguez, A.; Enriz, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 1999-2013.
2. Kumar, S.; Hager, E.; Pettit, C.; Gurulingappa, H., Davidson, N.; Khan, S. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 2813.
3. Chimenti, F.; Bolasco, A.; Manna, F.; Secci, D.; Chimenti, P.; Befani, O.; Turini, P.; Giovannini, V.; Mondovi, B.; Cirilli, R.; La Torre, F. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 2071-2074.
4. Nowakowska, Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 125-130.
5. Tavares, L.; Johann, S.; Almeida, M.; Guerra, J.; De Souza-Fagundes, M.; Cisalpino, P.; Bortoluzzi, A.; Caramori, G.; De Mattos, P.; Braibante, H.; Braibante, M.; Pizzolatti, M. *J. Med. Chem.* **2011**, 50, 5.
6. Modzelewskaa, A.; Pettita, C.; Achantab, G.; Davidson, N.; Huang, P.; Khan, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 3491-3495.
7. Insuasty, B.; Tigreros, A; Orozco, F.; Quiroga, J.; Abonia, R.; Nogueras, M.; Sánchez, A.; Cobo, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 4968.
8. Siddiqui, Z.; Musthafa, M.; Ahmad, A.; Khan, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 2860.
9. Adib, M.; Tahermansouri, H.; Koloogani, S.; Mohammadi, B.; Bijanzadeh, H. *Tet. Lett.* **2006**, 47, 5958.
10. Insuasty, B.; Orozco, F.; Quiroga, J.; Abonía, R.; Nogueras, M.; Cobo, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1958.
11. Boumendjel, A.; Boccard, J.; Carrupt, P.; Nicolle, E.; Blanc, M.; Geze, A.; Choisnard, L.; Wouessidjewe, D.; Matera, E.; Dumontet, C. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 2307-2310.
12. Wiley, R.; Weissberger, A. *Pyrazoles, Pyrazolines, Pyrazolidines, Indazoles and Condensed Rings*. New York: Interscience Publishers, **1967**, 22.
13. Elguero, J.; Katritzky, R.; Rees, W.; Scriven, F. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*. Oxford: Pergamon Press, **1996**, 31.

- 14.** Lévai, A. *Arkivoc.* **2005**, 344-352.
- 15.** Nepali, K.; Singh, G.; Turan, A.; Agarwal, A.; Sapra, S.; Kumar, R.; Banerjee, U.C.; Verma, P.K.; Satti, N.K.; Gupta, M.K.; Suri, O.P.; Dhar, K.L. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 1950-1958.
- 16.** Insuasty, B.; Tigreros, A.; Orozco, F.; Quiroga, J.; Abonia, R.; Nogueras, M.; Sánchez, A.; Cobo, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 4966-4967
- 17.** Ramana, M. V.; Billa, V. K.; Pallela, V. R.; Muralidhar, R. M. R.; Boominathan, R.; Gabriel, J. L.; Reddy, E. P. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 3907.
- 18.** Drabu, S.; Rana, A.; Harish, K. *Indian J Heterocycl Chem.* **2007**, 16, 399- 400.
- 19.** Johnson, M.; Younglove, B.; Lee, L.; LeBlanc, R.; Holt, H.; Hills, P.; Mackay, H.; Brown, T.; Mooberry, L. S.; Lee, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 17, 5897.
- 20.** Bhat, A. R.; Athar, F.; Azam, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 926.
- 21.** Ozdemir, Z.; Kandilci, H. B.; Gumusel, B. H.; Calıs, U.; Bilgin, A. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, 42, 373.
- 22.** Ozdemir, A.; Zitouni, G. T.; Kaplancıklı, Z. A.; Revial, G.; Guven, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 403.
- 23.** Karthikeyan, M.S.; Holla, B.S.; Suchetha, N. *Eur J Med Chem.* **2007**, 42, 30-36.
- 24.** Carrión, M. D.; Luisa, C.; López, L. C.; Camacho, M. E.; Tapias, V.; Escames, G.; Castroviejo, D. A.; Espinosa, A.; Gallo, M. A.; Entrena, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 2579.
- 25.** Prasad, Y.; Rao, A.; Prasoon, L.; Murali, K.; Kumar, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 5030
- 26.** Karthikeyan, M.; Holla, B.; Suchetha, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 33
- 27.** Siddiqui, Z.; Musthafa, M.; Ahmad, A.; Khan, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 2861.
- 28.** Xiaohu Deng, N. S. M., *Org. Lett.*, **2006**, 8, 3505.
- 29.** Santos Fustero, M.; Barrio, P.; Fuentes, A. *Chem. Rev.*, **2011**, 111, 6985.
- 30.** Insuasty, B.; Tigreros, A.; Orozco, F.; Quiroga, J.; Abonia, R.; Nogueras, M.; Sánchez, A.; Cobo, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 4966
- 31.** Xi Li, J.; Xian-Hui, Y.; Xiang, L.; Ting-Ting, Z.; Hai-Bin, G.; Hai-Liang, Z. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2012**, 20, 4430-4436.

- 32.** Venkat, R.; Suchetha, K.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, 44, 3852-3857.
- 33.** Adnan, A.; Bekhita, T.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2004**, 12, 1935-1945
- 34.** Ashraf, H.; Amal, H.; Ghaneya, H. *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, 51, 838-844.
- 35.** Xian-Feng, H.; Yong, Z.; Guo-Qiang, S.; Qi-Long, H.; Qing-Shan, L.; Xian-Hui, Y.; Hai-Liang, Z. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2012**, 20, 4895-4900.
- 36.** McMurry, J., Química Orgánica, 5ª. Edición, México, Ed. International Thomson Editores, S.A. de C.V., **2001**.
- 37.** Espinosa, E., Belmant, C.; Pont, F.; Luciani, B.; Poupot, R.; Romagné, F.; Brailly, H.; Bonneville, M.; Fournié, J. *J. Biological Chemistry*, **2001**, 276, 18337-18344.
- 38.** Audisio, D.; Cojean, S.; Peyrat, J.; Brion, J.; Bories, C.; Loiseau, P.; Alami, M. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, 52, 44-50.
- 39.** Guo-Biao, L.; Cui-Cui, H.; Gong, C.; Qiang, X.; Hong-Xi, X.; Jian-Xin, L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2009**, 17, 5433-5441.