

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Diseño racional y síntesis de derivados heterocíclicos azufrados y nitrogenados con potencial actividad farmacológica sobre canales iónicos reguladores de las señales nerviosas.

Christian Alonso Becerra Rivas.

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química.
Bogotá, Colombia

2023

Diseño racional y síntesis de derivados heterocíclicos azufrados y nitrogenados con potencial actividad farmacológica sobre canales iónicos reguladores de las señales nerviosas.

Christian Alonso Becerra Rivas.

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctor en Ciencias – Química.

Director (a):

PhD., Químico, Profesor Fabian Orozco López

Línea de Investigación:

Síntesis Química.

Grupo de Investigación:

Grupo de Estudios en Síntesis y Aplicaciones de Compuestos Heterocíclicos (GESACH)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química.

Bogotá, Colombia

2023

*Aunque no te vea físicamente, aunque te
extrañe todos los días desde que te fuiste...
Sé que siempre estás conmigo, en tus
enseñanzas, en mi corazón...*

Esto es para ti padrecito...

*„Lassen Sie uns lernen zu träumen, dann
werden wir vielleicht die Wahrheit erkennen.
Hüten wir uns jedoch davor, unsere Träume
öffentlich kundzutun, bevor sie nicht vom
wachen Verstande geprüft worden sind.“*

*("Aprendamos a soñar, entonces tal vez nos
demos cuenta de la verdad. Pero
guardémonos de hacer públicos nuestros
sueños antes de que hayan sido probados
por la mente despierta.")*

August Friedrich Kekulé.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



Nombre: Christian Alonso Becerra Rivas.

Fecha 31/01/2023

Agradecimientos.

A Dios, porque en su infinita sabiduría me ha permitido realizar este trabajo y llevarlo a feliz término.

A mi familia, a Solecito, por sus dibujos, por su hermosa compañía en todo este proceso, por el ánimo y por todo el apoyo que me ha dado. También quiero agradecer muy especialmente a mis padres por todo su apoyo incondicional, por su paciencia, por enseñarme el valor de la tenacidad, por darme todo y más de cuanto ellos tienen para hacerme la persona que soy. A Jaime, por apoyar e incentivar mi curiosidad científica, por hacerme filosofar, por dudar y permitirme dudar y por enseñarme que en la inquietud está la sabiduría y que la búsqueda de ésta nos hace seres completos. A mi mami, por su amor, por su ternura, su paciencia, su amor infinito y esa maravillosa capacidad de hacernos felices a todos los que la rodeamos... Y a mi papi... quien ya no está, pero que su espíritu aún presente, sigue impactando nuestras vidas, sigue cubriéndonos con su cariño, y que me enseñó que siempre hay que perseverar, siempre hay que seguir, siempre hemos de continuar...

A Adriana, mi amor, mi razón para seguir adelante, aunque tuviera mil dificultades, gracias, por ser mi epifanía, mi *raison d'être*, mi musa de inspiración, mi compañera incondicional en todo este camino... *Mein Leben... Mein Schatz...*

A mis compañeros del grupo de investigación: A Liliana, por enseñarme que a pesar de los problemas, no hay nada imposible. A Jeisson, porque gracias a sus consejos y su gran sentido del humor; gracias a él pasé momentos muy divertidos en el laboratorio aún en los momentos en los que las reacciones no resultaban como se planearon. A Wilmer, por su increíble paciencia, colaboración y disposición a ayudar en los momentos más críticos. A Diego, por su observación crítica y su amistad incondicional en los momentos más duros, a Mateo, por la inyección de paciencia y tranquilidad que le dio a nuestro grupo de trabajo; a John, que nos enseñó a todos, que no hay dificultades insuperables, sino que la perseverancia y el trabajo duro permiten superar cualquier obstáculo. A Germán, por su toque de filosofía, de pedagogía y de reflexión crítica que nos impregnó en cada pequeña charla que compartimos. A Juan Felipe, por ser no solo un gran compañero de investigación, sino un gran estudiante, un gran amigo y un ejemplo a seguir para las nuevas generaciones de profesionales químicos que vendrán... En fin,

quiero agradecer también a todos aquellos que aunque ya no estén, o que por descuido del autor de este documento, no fueron incluidos en esta sección, y que aportaron a la formación de este maravilloso grupo de investigación. Agradezco a mis amigos por todo su apoyo, a Merly, a David (Andes) a Checho, a Santiago (Pitu), y muy especialmente a Leo por su colaboración directa con el desarrollo de esta tesis.

Agradezco también a todos los profesores del departamento, en especial a los profes con quienes vi la línea de química orgánica: Ricardo Fierro, Ricaurte Rodríguez, Cesar Sierra, Jaime Ríos, Augusto Rivera, Cristian Ochoa, Eliseo Avella, Bárbara Moreno, Paola Cuervo y Fabián Orozco; puesto que sembraron en mí esa pasión por la química orgánica desde las materias que vi con ellos.

A la Universidad Nacional de Colombia y al Departamento de Química, por la formación que me han dado, por todas las vivencias, por ser mi segundo hogar, por permitirme crecer dentro de sus claustros y hacerme el hombre que hoy soy.

Además, agradezco especialmente no solo al Departamento de Química, sino al Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación, que financió gran parte de esta investigación, así como a la Dirección Académica de la sede Bogotá, que gracias a la beca Asistente Docente, me permitió realizar mis estudios doctorales con la adquisición de experiencia en docencia y el incentivo económico que ello conllevó y me permitió terminar estos estudios en el tiempo establecido.

Por último, y no menos importante, a mis directores, los profesores Fabián Orozco López y Paola Andrea Cuervo, quienes me acogieron desde el primer día en el grupo de investigación con un cariño y una confianza tan grande que ni siquiera puedo creer.

Gracias profes, por todas sus enseñanzas, no solo en cuanto a la química orgánica (que fueron demasiadas) sino también por enseñarme vivencialmente y con su ejemplo los valores que un buen profesional, una buena persona, un buen amigo, un buen científico debe tener. Gracias, profesores, por ser casi que unos segundos padres en mi segundo hogar, por acogerme con tanto cariño en esta familia llamada GESACH.

Por último, PROFES NUNCA CAMBIEN.

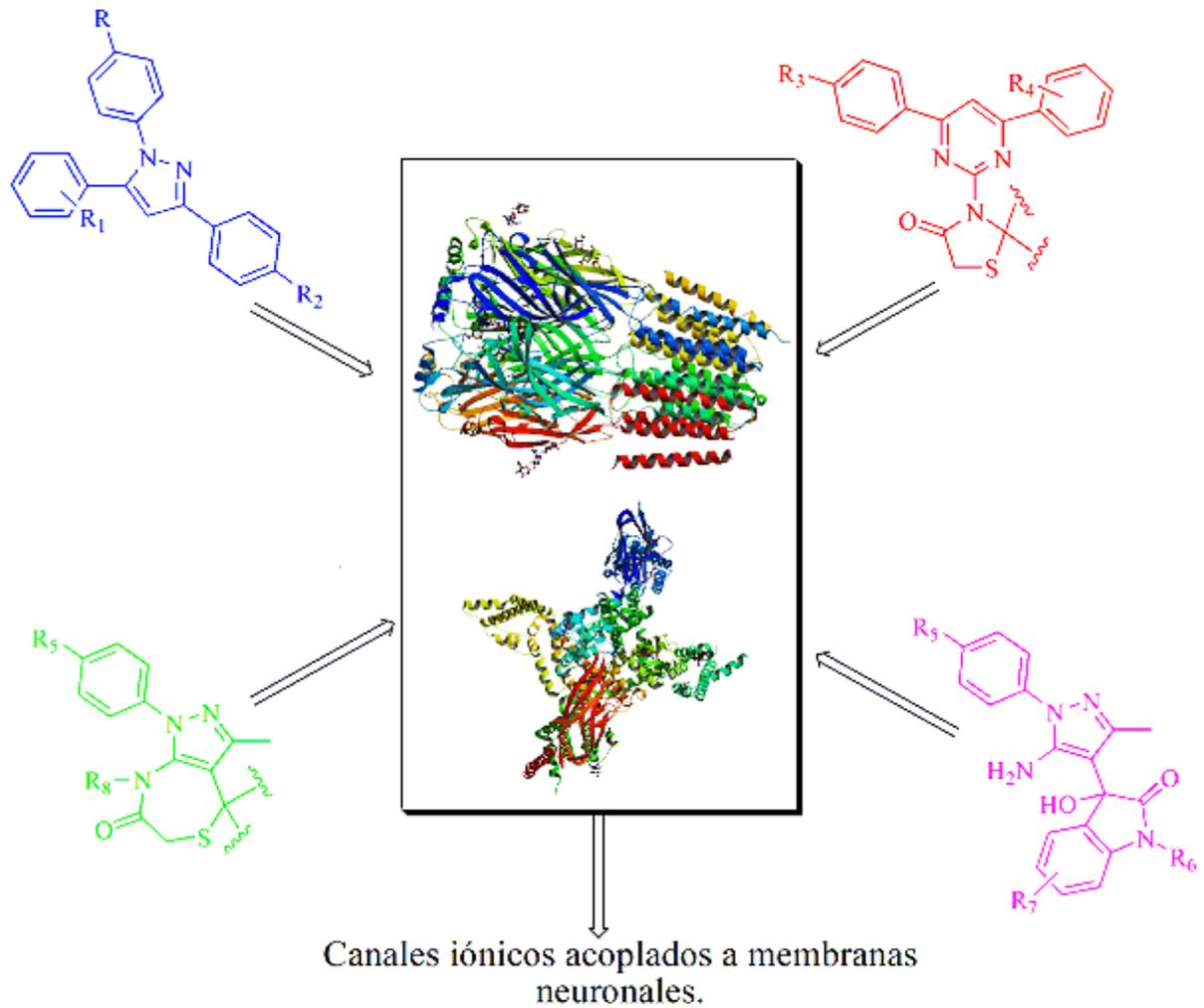
Resumen

Diseño racional y síntesis de derivados heterocíclicos azufrados y nitrogenados con potencial actividad farmacológica sobre canales iónicos reguladores de las señales nerviosas.

Los canales iónicos han despertado recientemente el interés de estudio desde la farmacología dada su potencial aplicación como dianas terapéuticas en el tratamiento de diversas patologías. En esta medida se planteó una biblioteca de compuestos de núcleo heterocíclico pirazólico, tiazolidinónico, tiazepínico y pirimidínico que pudieran interactuar con dianas moleculares de esta familia de proteínas; resultando de especial interés para este trabajo el receptor GABA_A y el canal de sodio dependiente de voltaje NaV1.7. Dicha biblioteca se sometió a un proceso de cribado mediante *docking molecular* usando 3 programas (AutoDock4, AutoDock-VINA y DOCK6), determinación *in silico* de los descriptores moleculares de biodisponibilidad de Lipinski (ADME) y predicción de las propiedades toxicológicas, seleccionando los prototipos más promisorios y llevándolos a la fase de síntesis donde se estudiaron también las condiciones óptimas, así como sutilezas estructurales y de reactividad orientadas al mejoramiento de los procesos químicos que permitieron obtener con buenos rendimientos, 4 series de compuestos con un alto perfil promisorio en modulación de los canales iónicos diana para el tratamiento de enfermedades derivadas de una desregulación autonómica de las señales nerviosas. Además del nuevo conocimiento obtenido sobre los aspectos estructurales, cinéticos y termodinámicos pertinentes para la síntesis de las moléculas objetivo de interés para este estudio.

Palabras clave: Pirazoles, pirimidinas, tiazolidin-4-onas, GABA-A, canal de sodio, síntesis orgánica

Resumen gráfico.



Abstract

Rational design and synthesis of sulfur and nitrogen heterocycles with potential pharmacological activity on ion channels as regulators of nervous signals.

Ion channels have recently aroused study interest from pharmacology, given their potential usage as therapeutic targets in the treatment of diverse pathologies. To this purpose, a library of compounds with heterocyclic nucleus such as pyrazole, thiazolidine, thiazepine and pyrimidine was proposed, so that they could interact with molecular targets of this family of proteins; resulting especially interesting for the purpose of this work, GABA-A receptor and voltage gated sodium channel NaV1.7. Mentioned library was subjected to a screening process by molecular docking using three programs (AutoDock4, AutoDock-VINA, and DOCK6), *in silico* calculus of Lipinski bioavailability descriptors (ADME) and prediction of toxicological properties, selecting the most promising prototypes and taking them to synthesis phase, where optimal conditions as well as structural and reactivity subtleties were studied, aiming for the improvement of the chemical processes that allowed to obtain with good yields, four series of compounds with high promising profile in modulation of the target ion channels for the treatment of diseases related from autonomic deregulation of nerve signals. Besides of new knowledge acquired about the structural, kinetic and thermodynamic aspects related with the synthesis of target molecules interesting for the purposes of this work.

Keywords: Pyrazoles, pyrimidines, thiazolidin-4-ones, GABA-A, sodium ion channel, organic synthesis.

Contenido

	Pág.
Resumen	XI
Lista de figuras	XVII
Lista de esquemas	XXII
Lista de tablas	XXVI
Lista de Símbolos y abreviaturas	XXVIII
Introducción	1
Justificación	1
Objetivos	2
Objetivo general	2
Objetivos específicos	2
1. Capítulo 1: Marco teórico	3
1.1 Canales iónicos.	3
1.1.1 Receptor GABA _A	5
1.1.2 Canal de sodio dependiente de voltaje NaV1.7.	8
1.2 Diseño racional de fármacos.....	13
1.2.1 Modelos cuantitativos de relación estructura-actividad (QSAR).....	14
1.2.2 Propiedades fisicoquímicas deseables: Criterios de Lipinski.	15
1.2.3 Propiedades toxicológicas.....	16
1.2.4 Acoplamiento molecular.	17
1.3 Núcleos heterocíclicos de interés.....	19
1.3.1 Pirazoles.	19
1.3.2 Pirimidinas.....	33
1.3.3 Tiazolidin-4-onas.....	39
1.3.4 1,4-Tiazepin-3-onas.	46
1.3.5 Indol e indolinonas.	52
2. Capítulo 2: Metodología	61
2.1 Procedimiento general de trabajo.	61
2.2 Búsqueda bibliográfica.....	62
2.3 Planteamiento de las estructuras objetivo.....	62
2.4 Búsqueda de las estructuras cristalográficas de los receptores biológicos de interés.....	63
2.5 Obtención del compuesto cabeza de serie.....	64
2.5.1 Síntesis de las espiro pirazolotiazepinonas (Serie A).	65
2.5.2 Síntesis de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas (Serie B).	66
2.5.3 Síntesis de las pirazolil 3-hidroxiindolinonas (Serie C).....	67
2.5.4 Síntesis de 1,3,5-triarilpirazoles (Serie D).....	68

2.6	Optimización de las condiciones de reacción.	69
2.7	Cribado por propiedades ADMETox.	69
2.8	Evaluación mediante acoplamiento molecular.	70
2.8.1	Refinamiento de las estructuras de los receptores GABA _A y NaV1.7.	70
2.8.2	Refinamiento de las estructuras de los ligandos.	70
2.8.3	Acoplamiento molecular.	70
2.9	Síntesis de los compuestos seleccionados como promisorios de cada serie.	72
3.	Capítulo 3: Resultados de los estudios realizados para las series A y B: Espiro compuestos con promisorio actividad sobre el receptor GABA_A.	73
3.1	Compuestos planteados.	73
3.1.1	Compuestos planteados de la serie A.	73
3.1.2	Compuestos planteados de la serie B.	74
3.2	Evaluación <i>in silico</i> de las propiedades ADMETox y posible interacción con GABA _A de los compuestos de las series A y B.	74
3.2.1	Propiedades ADMETox de las moléculas propuestas de la serie A (Espiro pirazolotiazepinonas).	75
3.2.2	Acoplamiento molecular de los fármacos de referencia: Clonazepam, diazepam y flunitrazepam con el receptor GABA _A	81
3.2.3	Acoplamiento molecular de los compuestos de la serie A (espiro pirazolotiazepinonas) con el receptor GABA _A	85
3.2.4	Propiedades ADMETox de las moléculas propuestas de la serie B (Espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas).	92
3.2.5	Acoplamiento molecular de los compuestos de la serie B (espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas).	94
3.3	Exploración sintética para la obtención de los compuestos seleccionados de las series A y B.	102
3.3.1	Síntesis de los compuestos de la serie A: Espiro pirazolotiazepinonas.	102
3.3.2	Síntesis de los compuestos de la serie B: Espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.	151
4.	Capítulo 4: Resultados de los estudios realizados para las series C y D: Pirazolil hidroxindolinonas y 1,3,5-triarilpirazoles con potencial actividad sobre el canal NaV1.7.	167
4.1	Compuestos planteados.	167
4.1.1	Compuestos planteados de la serie C.	167
4.1.2	Compuestos planteados de la serie D.	168
4.2	Evaluación <i>in silico</i> de las propiedades ADMETox y posible interacción con el canal de sodio NaV1.7 de los compuestos de las series C y D.	168
4.2.1	Propiedades ADMETox de las moléculas propuestas de la serie C (Pirazolil hidroxindolinonas).	169
4.3	Acoplamiento molecular de las moléculas de referencia: Saxitoxina, tetrodotoxina y vixotrigina.	173
4.3.1	Acoplamiento molecular de los compuestos de la serie C (Pirazolil hidroxindolinonas) con el canal de sodio NaV1.7.	177
4.3.2	Propiedades ADMETox de las moléculas propuestas de la serie D (1,3,5-triarilpirazoles).	186
4.3.3	Acoplamiento molecular de los compuestos de la serie D (1,3,5-triarilpirazoles).	188
4.4	Exploración sintética para la obtención de los compuestos seleccionados de las series C y D.	195
4.4.1	Síntesis de los compuestos de la serie C: Pirazolil hidroxindolinonas.	195

4.4.2	Síntesis de los compuestos de la serie D: 1,3,5-Triarilpirazoles.	211
5.	Conclusiones y recomendaciones	224
5.1	Conclusiones	224
5.2	Recomendaciones y perspectivas.....	225
A.	Anexo A: Propiedades ADMETox y puntajes de acoplamiento molecular con GABA_A calculadas para la serie A: Espiro pirazolotiazepinonas.	227
B.	Anexo B: Sección experimental Serie A: Espiro pirazolotiazepinonas.....	281
C.	Anexo C: Propiedades ADMETox y puntajes de acoplamiento molecular con GABA_A calculadas para la serie B: Espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.....	295
D.	Anexo D: Sección experimental Serie B: Espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas..	304
E.	Anexo E: Propiedades ADMETox y puntajes de acoplamiento molecular con NaV1.7 calculadas para la serie C: Pirazolil hidroxindolinonas.	313
F.	Anexo F: Sección experimental Serie C: Pirazolil hidroxindolinonas.....	322
G.	Anexo G: Propiedades ADMETox y puntajes de acoplamiento molecular con NaV1.7 calculadas para la serie D: 1,3,5-triarilpirazoles.	344
H.	Anexo H: Sección experimental Serie D: 1,3,5-triarilpirazoles.	354
	Bibliografía	359

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1. Representación general de los canales iónicos en la membrana celular.	4
Figura 1-2. Estructura del ácido gamma-aminobutírico (ligando endógeno del receptor GABA).....	5
Figura 1-3. Estructura tridimensional del receptor GABA _A	6
Figura 1-4. Algunos sitios de recepción de sustancias endógenas y exógenas en la estructura del receptor GABA _A	6
Figura 1-5. Estructura de algunos fármacos moduladores de GABA _A de núcleo benzodiazepínico (Resaltado en rojo en las estructuras).....	7
Figura 1-6. Mecanismo de acción de las benzodiazepinas en el receptor GABA _A	8
Figura 1-7. Estructura tridimensional del canal NaV1.7.	9
Figura 1-8. Estructura de algunas toxinas inhibitorias de la función de los canales de sodio.	10
Figura 1-9. Funcionamiento de los canales de sodio dependientes de voltaje.	11
Figura 1-10. Estructura de tres fármacos usados para el tratamiento de afecciones somatosensoriales y dolor neuropático.	12
Figura 1-11. Estructura química de la capsaicina y lamotrigina.	12
Figura 1-12. Estructuras de los isómeros de posición 1,2 y 1,3 diazol (pirazol e imidazol).	20
Figura 1-13. A. Distancias de enlace en Å encontradas para el pirazol. B. Ángulos de enlace en grados (°) encontrados para el pirazol, en rojo se señala el momento dipolar neto de la molécula en Debyes (D).....	21
Figura 1-14. Carga π total y en cada átomo del anillo pirazólico; calculada mediante el método de orbitales moleculares de Hückel (HMO).....	21
Figura 1-15. Tipos de cicloadición 1,3-dipolar con base en la diferencia de energía en los orbitales moleculares frontera de los sustratos.....	30
Figura 1-16. Estructuras de algunos fármacos comerciales que contienen el núcleo pirazólico.	32
Figura 1-17. Algunos ejemplos de compuestos de núcleo pirazólico en estudios de actividad biológica en diversos campos terapéuticos.....	33
Figura 1-18. Estructura de los isómeros de posición de heteroátomo piridazina, pirimidina y pirazina.....	33
Figura 1-19.A. Distancias de enlace en Angstrom encontradas para el anillo pirimidínico. B. Ángulos de enlace de la pirimidina.....	34
Figura 1-20. Estructura de las bases nitrogenadas pirimidínicas presentes en el ADN y ARN.	37
Figura 1-21. Estructura de algunos derivados barbitúricos de reconocida actividad depresora del SNC.	38
Figura 1-22. Algunos fármacos comerciales con el núcleo de pirimidina en su estructura (Señalado en azul).	39
Figura 1-23. Estructuras isoméricas de las tiazolidinonas.....	39

Figura 1-24. Conformación de semisilla adoptada por las tiazolidin-4-onas [101].....	40
Figura 1-25. Proyección de Newman de dos conformeros del anillo tiazolidin-4-ona inequivalentes en RMN.	40
Figura 1-26. Algunas moléculas con el núcleo tiazolidin-4-ona en su estructura con actividad anticonvulsivante.....	45
Figura 1-27. Ejemplos de 1,3-tiazolidinas con actividad sobre el sistema cardiovascular.	46
Figura 1-28. Estructura de los posibles isómeros de posición de heteroátomo de las tiazepinas.....	46
Figura 1-29. Estructuras de los isómeros de posición del carbonilo de las indolinonas. .	52
Figura 1-30. Porciones estructurales de las indolin-2-onas.	53
Figura 1-31. Algunos fármacos aprobados con el núcleo indolónico en su estructura (Marcado en azul).	59
Figura 1-32. Dependencia de las modificaciones estructurales sobre la actividad promisorio de distintos derivados indol-2-ónicos.	60
Figura 2-1. Series de compuestos planteados para el desarrollo de este trabajo.	62
Figura 2-2. Estructura cristalográfica del receptor GABA _A , código PDB 6DW0.....	63
Figura 2-3. Estructura cristalográfica del canal NaV1.7. código PDB 6J8G.	64
Figura 2-4. Estructura y código de los compuestos seleccionados como cabezas de cada serie.....	65
Figura 3-1. Estructuras de los compuestos de la serie A planteados para su evaluación <i>in silico</i>	73
Figura 3-2. Estructuras de los compuestos de la serie B planteados para su evaluación <i>in silico</i>	74
Figura 3-3. Estructuras de los fármacos de referencia usados en el acoplamiento molecular con el receptor GABA _A	81
Figura 3-4. Interacciones del clonazepam con el receptor GABA _A , halladas mediante acoplamiento molecular.	82
Figura 3-5. Interacciones del diazepam con el receptor GABA _A , halladas mediante acoplamiento molecular.	82
Figura 3-6. Interacciones del flunitrazepam con el receptor GABA _A , obtenidas mediante acoplamiento molecular.	83
Figura 3-7. Interacciones halladas del receptor GABA _A con el compuesto cpTP-0 (Entrada 1 de la tabla 9).....	90
Figura 3-8. Interacciones halladas del receptor GABA _A con el compuesto cpTP-7 (Entrada 2 de la tabla 9).....	91
Figura 3-9. Interacciones halladas del receptor GABA _A con el compuesto cpTP-6 (Entrada 3 de la tabla 9).....	91
Figura 3-10. Compuestos de la serie A (espiro pirazolotiazepinonas) seleccionados como promisorios moduladores del receptor GABA _A de acuerdo con el cribado computacional realizado.	92
Figura 3-11. Interacciones halladas del receptor GABA _A con el compuesto B-TAP5 (Entrada 1 de la tabla 12).....	100

Figura 3-12. Interacciones halladas del receptor GABAA con el compuesto B-TAP2 (Entrada 2 de la tabla 12).	100
Figura 3-13. Interacciones halladas del receptor GABAA con el compuesto B-cpTAP2 (Entrada 3 de la tabla 12).	101
Figura 3-14. Compuestos de la serie B (espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas) seleccionados como promisorios moduladores del receptor GABA _A de acuerdo con el cribado computacional realizado.	101
Figura 3-15. Espectro de infrarrojo en pastilla de KBr tomado para el aminopirazol 3a	104
Figura 3-16. Espectro ¹ H-RMN del aminopirazol 3a (tomado en CDCl ₃).	105
Figura 3-17. Espectro ¹³ C-RMN del aminopirazol 3a (Tomado en CDCl ₃).	106
Figura 3-18. Espectro de infrarrojo del compuesto 9a	108
Figura 3-19. Espectro ¹ H-RMN del compuesto 9a (Tomado en CDCl ₃).	109
Figura 3-20. Experimento de intercambio químico para la determinación de protones intercambiables en la molécula.	110
Figura 3-21. Espectro ¹³ C-RMN del compuesto 9a (Tomado en CDCl ₃).	111
Figura 3-22. Espectro DEPT-135 del compuesto 9a	112
Figura 3-23. Experimento HSQC del compuesto 9a	112
Figura 3-24. Experimento HMBC del compuesto 9a	113
Figura 3-25. Espectro de masas de alta resolución (HRMS) del compuesto 9a	113
Figura 3-26. Espectro ¹ H-RMN del compuesto 11 . (Tomado en CDCl ₃).	117
Figura 3-27. Espectro ¹³ C-RMN del compuesto 11 (Tomado en CDCl ₃).	118
Figura 3-28. Espectro DEPT-135 del compuesto 11 (Tomado en CDCl ₃).	120
Figura 3-29. Espectro HSQC del compuesto 11 (Tomado en CDCl ₃).	120
Figura 3-30. Espectro HMBC del compuesto 11 (Tomado en CDCl ₃).	121
Figura 3-31. Espectro infrarrojo del compuesto 12e	124
Figura 3-32. Espectro ¹ H-RMN del compuesto 12e (Tomado en CDCl ₃).	125
Figura 3-33. Espectro ¹³ C-RMN del compuesto 12e (Tomado en DMSO- <i>d</i> 6).	126
Figura 3-34. Espectro infrarrojo del compuesto Bn-9a	133
Figura 3-35. Espectro ¹ H-RMN del compuesto Bn-9a (Tomado en CDCl ₃).	135
Figura 3-36. Espectro ¹³ C-RMN del compuesto Bn-9a (Tomado en CDCl ₃).	136
Figura 3-37. Experimento HSQC del compuesto Bn-9a	136
Figura 3-38. Sistemas de acoplamiento de espín observados por ¹ H-RMN para el compuesto Bn-9a	137
Figura 3-39. Comparación de los espectros ¹ H-RMN de los compuestos 9a , Me-9a , Et-9a y Pr-9a	138
Figura 3-40. Espectro ¹ H-RMN del compuesto 15 (Tomado en CDCl ₃).	139
Figura 3-41. Espectro ¹³ C-RMN del compuesto 15 (Tomado en CDCl ₃).	140
Figura 3-42. Experimento DEPT-135 del compuesto 15	141
Figura 3-43. Experimento HSQC para el compuesto 15	142
Figura 3-44. Expansión de la región alifática del espectro HSQC del compuesto 15	143
Figura 3-45. Expansión de la región aromática del espectro HSQC del compuesto 15	143
Figura 3-46. Experimento HMBC para el compuesto 15	144
Figura 3-47. Expansión de la región alifática del espectro HMBC del compuesto 15	145
Figura 3-48. Expansión de la región aromática del espectro HMBC del compuesto 15	145

Figura 3-49. Comparación de los espectros ^1H -RMN de los compuestos 14 y 15	147
Figura 3-50. A. Estructura cristalográfica de la tiazepinona 9a . B. Ángulos de enlace del nitrógeno lactámico en 9a . C. Distancias de enlaces alrededor del nitrógeno lactámico en 9a	148
Figura 3-51. Estructuras cristalográficas de las tiazepinonas A. Me-9a. B. Et-9a. C. Bn-9a. D. 15	148
Figura 3-52. Espectro de infrarrojo del compuesto 22a	153
Figura 3-53. Espectro ^1H -RMN del compuesto 22a (Tomado en CDCl_3).	154
Figura 3-54. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto 22a (Tomado en CDCl_3).	155
Figura 3-55. Espectro de infrarrojo del compuesto 26a	158
Figura 3-56. Espectro ^1H -RMN del compuesto 26a (Tomado en CDCl_3).	159
Figura 3-57. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto 26a (Tomado en CDCl_3).	160
Figura 3-58. Cromatograma y espectro de masas de alta resolución del compuesto 26a	161
Figura 4-1. Estructuras de los compuestos planteados de la serie C para su evaluación <i>in silico</i>	168
Figura 4-2. Estructuras de los compuestos de la serie D planteados para su evaluación y cribado <i>in silico</i>	168
Figura 4-3. Estructura de las moléculas de referencia usadas en el acoplamiento molecular con el canal iónico NaV1.7	174
Figura 4-4. Interacciones de la A. Saxitoxina y B. Tetrodotoxina con el poro del canal de sodio NaV1.7 halladas mediante acoplamiento molecular.	175
Figura 4-5. Interacciones de la vixotrigina con el poro del canal de sodio NaV1.7 halladas mediante acoplamiento molecular.	175
Figura 4-6. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto C-A6c (Entrada 1 de la tabla 34).	184
Figura 4-7. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto C-A1e (Entrada 2 de la tabla 34).	184
Figura 4-8. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto C-A6e (Entrada 3 de la tabla 34).	185
Figura 4-9. Compuestos de la serie C (pirazolil hidroxindolinonas) seleccionados como promisorios moduladores del canal NaV1.7 , de acuerdo con el cribado computacional realizado.	185
Figura 4-10. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto D-PFHNO2 (Entrada 1 de la tabla 37).	193
Figura 4-11. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto D-PH2NO (Entrada 2 de la tabla 37).	193
Figura 4-12. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto D-PHNO2H (Entrada 3 de la tabla 37).	194
Figura 4-13. Compuestos de la serie D (1,3,5-triarilpirazoles) seleccionados como promisorios moduladores del canal NaV1.7 , de acuerdo con el cribado computacional realizado.	194
Figura 4-14. Espectro de infrarrojo del compuesto C-A0	201
Figura 4-15. Espectro ^1H -RMN del compuesto C-A0 . (Tomado en $\text{DMSO}-d_6$).....	202

Figura 4-16. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto C-A0 . (Tomado en $\text{DMSO-}d_6$)	203
Figura 4-17. Espectro DEPT-135 del compuesto C-A0	204
Figura 4-18. Experimento HSQC del compuesto C-A0	205
Figura 4-19. Experimento HMBC del compuesto C-A0	206
Figura 4-20. Montaje empleado para la síntesis en paralelo de los compuestos de interés de la serie C.	207
Figura 4-21. Espectro ^1H -RMN del 1,3,5-trifenil-4,5-dihidropirazol (Tomado en CDCl_3).	214
Figura 4-22. Espectro ^{13}C -RMN del 1,3,5-trifenil-4,5-dihidropirazol (Tomado en CDCl_3).	215
Figura 4-23. Espectro ^1H -RMN del 1,3,5-trifenilpirazol (Tomado en CDCl_3).....	218
Figura 4-24. Espectro ^{13}C -RMN del 1,3,5-trifenilpirazol (Tomado en CDCl_3).....	219

Lista de esquemas.

	Pag
Esquema 1-1. Ejemplo de tautomería 1 <i>H</i> – 2 <i>H</i> del pirazol.	22
Esquema 1-2. Reacción ácido – base entre el pirazol y el ácido pícrico.	22
Esquema 1-3. Reacción de desprotonación del pirazol. A. <i>N</i> -desprotonación con sodio y luego precipitación por intercambio del metal. B. C-5 desprotonación con BuLi y posterior reacción con electrófilos.	23
Esquema 1-4. Metilación de la sal sódica del 5(3)-metil-1 <i>H</i> -pirazol.	23
Esquema 1-5. Estructuras resonantes del pirazol.	24
Esquema 1-6. Análisis de las estructuras resonantes de los complejos σ no favorecidos termodinámicamente.	25
Esquema 1-7. Análisis de las estructuras resonantes de los complejos σ favorecidos termodinámicamente.	26
Esquema 1-8. Análisis retrosintético para la síntesis clásica del pirazol.	27
Esquema 1-9. A. Ciclocondensación de hidracinas sustituidas con compuestos carbonílicos α,β -insaturados y posterior oxidación de la pirazolina obtenida. B. Ciclocondensación directa de hidracinas con compuestos 1,3-dicarbonílicos.	28
Esquema 1-10. Síntesis del fármaco Sildenafil usando la estrategia de ciclocondensación [3+2] para la obtención del núcleo pirazólico.	28
Esquema 1-11. Formación de nitrilimas por A. Descomposición de tetrazoles. B. Oxidación de hidrazonas. C. Deshidrohalogenación de cloruros de hidrazonoilo.	29
Esquema 1-12. Formas resonantes de las nitrilimas.	29
Esquema 1-13. Síntesis de Rimonabant mediante la estrategia de cicloadición 1,3-dipolar.	31
Esquema 1-14. Reactividad usual de las pirimidinas con electrófilos.	35
Esquema 1-15. Reacción de las pirimidinas de alto grado de activación con electrófilos.	35
Esquema 1-16. Reacción general de sustitución nucleofílica aromática (S_NAr) de pirimidinas halogenadas.	36
Esquema 1-17. Análisis retrosintético para la obtención de pirimidinas.	36
Esquema 1-18. Reacción tricomponente de Biginelli para la síntesis de pirimidin-2(1 <i>H</i>)-onas.	37
Esquema 1-19. Reacción de mono y dibromación de la posición 5 de tiazolidin-4-onas.	40
Esquema 1-20. Reacción de condensación entre tiazolidin-4-onas con compuestos carbonílicos.	41
Esquema 1-21. Reacción de alquilación de la posición 5 del anillo tiazolidin-4-ona.	41
Esquema 1-22. Reacción de las tiazolidin-4-onas con derivados de ácido nitroso.	41
Esquema 1-23. Reacción de oxidación de las tiazolidin-4-onas para la obtención de sulfonas y sulfóxidos.	42
Esquema 1-24. Oxidación de tiazolidin-4-onas por acción de oxígeno singlete.	42

Esquema 1-25. Análisis retrosintético para la obtención de tiazolidin-4-onas.	43
Esquema 1-26. Mecanismo de formación del anillo tiazolidinónico por ciclocondensación de ácido mercaptoacético (MAA) y bases de Schiff.	43
Esquema 1-27. Derivados de tiazolidin-4-onas diseñados por QSAR como antimicrobianos.	45
Esquema 1-28. Contracción anular de algunas 1,4-tiazepinas para producir isotiazolonas.	47
Esquema 1-29. Oxidación de dihidrobenzotiazepinas.	47
Esquema 1-30. Reacciones de tipo Pummerer presentadas por los sulfóxidos de benzopirrolotiazepinonas.	48
Esquema 1-31. Mecanismo general del rearrreglo de Pummerer.	48
Esquema 1-32. Reacción de N-alkilación o N-acilación de benzotiazepinonas.	49
Esquema 1-33. Síntesis de piridinas por extrusión de azufre de tiazepinonas.	49
Esquema 1-34. Desconexiones clásicas para la síntesis de 1,4-tiazepin-3-onas.	50
Esquema 1-35. Síntesis de 1,4-tiazepin-3-onas por la estrategia de desconexión [4+3].	50
Esquema 1-36. Reacción ilustrativa de síntesis de tiazepinonas mediante estrategia [5+2].	51
Esquema 1-37. Síntesis de las tiazepinas evaluadas como anticancerígenas.	51
Esquema 1-38. Estructuras resonantes responsables de la regioselectividad de las reacciones S_EAr en las indolin-2-onas.	54
Esquema 1-39. Ejemplo de ciclación intramolecular por S_EAr para la obtención de heterociclos indol-fusionados.	54
Esquema 1-40. Reacción general de condensación aldólica de indolin-2-onas.	55
Esquema 1-41. Reacción general de alquilación de la posición 3 de las indolin-2-onas.	55
Esquema 1-42. Reacción de oxidación de indolin-2-ona para la obtención de isatina. ..	55
Esquema 1-43. Análisis retrosintético de las diversas rutas para la obtención de indolin-2-onas.	56
Esquema 1-44. Síntesis de 3-hidroxiindolin-2-onas mediante adición nucleofílica sobre el carbonilo de la isatina.	56
Esquema 1-45. Obtención de indol-2-onas por oxidación de 3-alkil indoles.	57
Esquema 1-46. Rearreglo oxidativo de 2-carboxialquil indoles para la obtención de 3-carboxialquil indol-2-onas.	57
Esquema 1-47. Síntesis de indolin-2-onas por ciclación de ácido <i>o</i> -aminofenilacético. .	57
Esquema 1-48. Síntesis de 3-tioalquil indolin-2-onas mediante rearrreglos tipo Sommelet-Hauser.	58
Esquema 1-49. Estrategia de ciclación Friedel-Crafts intramolecular a partir de α -haloacetanilidas para la obtención de indolin-2-onas.	58
Esquema 1-50. Síntesis de 3-tioalquil indolin-2-onas mediante el rearrreglo de Pummerer.	58
Esquema 2-1. Síntesis de los precursores 5-amino-1-aryl-3-metil-1 <i>H</i> -pirazólicos.	65
Esquema 2-2. Reacciones de síntesis de los derivados espiro pirazolotiazepinónicos. .	66
Esquema 2-3. Reacciones de síntesis para la obtención de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.	67
Esquema 2-4. Síntesis de las <i>N</i> -alkil indol-2,3-dionas.	67

Esquema 2-5. Síntesis de los compuestos pirazolil-3-hidroxiindolinónicos.	68
Esquema 2-6. Ruta sintética para la obtención de los 1,3,5-triarilpirazoles.	68
Esquema 3-1. Síntesis de los precursores 5-amino-1-aril-3-metil-1 <i>H</i> -pirazólicos.	103
Esquema 3-2. Síntesis del precursor 5-amino-1-fenil-3-(<i>terc</i> -butil)-1 <i>H</i> -pirazol.	103
Esquema 3-3. Condiciones iniciales ensayadas para la obtención de la espirotiazepinona 9a	107
Esquema 3-4. Primer planteamiento sintético para la obtención del compuesto 9a	115
Esquema 3-5. Reacción efectuada entre el aminopirazol 5 , ciclohexanona y ácido mercaptoacético.	116
Esquema 3-6. Estructura de los posibles atropoisómeros obtenidos y protones heterotópicos de la espiro tiazolidin-4-ona 11 obtenida a partir del pirazol <i>terc</i> -butilado 5	118
Esquema 3-7. Correlaciones a J^3 y J^4 más relevantes halladas mediante el experimento bidimensional HMBC para el compuesto 11	122
Esquema 3-8. Productos obtenidos en la exploración de la reactividad de los aminopirazoles 3a – f	124
Esquema 3-9. Primera propuesta mecanística planteada para la formación de las espirotiazepinonas objetivo.	127
Esquema 3-10. Segunda propuesta mecanística planteada para la formación de las espirotiazepinonas objetivo.	128
Esquema 3-11. Tercera propuesta mecanística planteada para la formación de la espirotiazepinona objetivo.	129
Esquema 3-12. Primer experimento de control para la comprobación de la primera propuesta mecanística de formación de 9a	130
Esquema 3-13. Segundo experimento de control, diseñado para la comprobación de la segunda propuesta mecanística para la formación de 9a en la reacción tricomponente. ²¹	130
Esquema 3-14. Tercer experimento de control, diseñado para la comprobación de la tercera propuesta mecanística para la formación de 9a en la reacción tricomponente..	131
Esquema 3-15. Reacción general de alquilación planteada.	132
Esquema 3-16. Hiperconjugación de tipo $n - \sigma^*$ planteada como causante de la restricción en la inversión del par del nitrógeno lactámico de las tiazepinonas sintetizadas.	137
Esquema 3-17. Síntesis de la tiazepinona 14 (gem-dimetilada) y su posterior <i>N</i> -metilación en aras de comprobar el efecto del espirociclo en la inequivalencia de los protones <i>alfa</i> al acilo.	139
Esquema 3-18. Correlaciones halladas en el experimento HMBC del compuesto 15 ..	146
Esquema 3-19. Contribuyentes al híbrido de resonancia de las tiazepinonas de estudio.	149
Esquema 3-20. Interconversión de confórmeros dada por la resonancia imina – amida.	150
Esquema 3-21. Reacción realizada para la síntesis de los compuestos objetivo.	150
Esquema 3-22. Síntesis de las chalconas precursoras iniciales de las 5-aminopirimidinas.	152

Esquema 3-23. Síntesis tricomponente tipo Biginelli de las 2-aminopirimidinas.....	152
Esquema 3-24. Síntesis de las aminopirimidinas 23 , 24 , y 25	156
Esquema 3-25. Síntesis de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas 26a – f	157
Esquema 3-26. Reacciones ensayadas con las aminopirimidinas 23 , 24 y 25 para la obtención de las espiro tiazolidin-4-onas.	157
Esquema 3-27. Mecanismo de reacción planteado para la síntesis tricomponente de tiazolidin-4-onas de acuerdo con la estrategia utilizada.	162
Esquema 3-28. Primer experimento de control en el estudio del mecanismo de la reacción tricomponente para la síntesis de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas de interés.	163
Esquema 3-29. Experimento de control realizado para comprobar el segundo mecanismo de reacción propuesto en la formación de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.....	163
Esquema 3-30. Segundo mecanismo de reacción propuesto para la síntesis tricomponente de las espirotiazolidin-4-onas.	164
Esquema 3-31. Síntesis del compuesto 26b (B-TAP2)	164
Esquema 3-32. Síntesis del compuesto 26e (B-TAP5)	165
Esquema 3-33. Síntesis del compuesto 29e (B-cpTAP5)	165
Esquema 4-1. Reacción de activación de la nucleofilia de la posición 1 de la isatina. ...	196
Esquema 4-2. Ensayos de alquilación y acilación de la posición 1 de la isatina.	197
Esquema 4-3. Reacción típica de adición nucleofílica para la formación de bases de Schiff.	198
Esquema 4-4. Reacción observada entre el aminopirazol 3a y la isatina (30).	198
Esquema 4-5. Correlaciones halladas en el experimento bidimensional HSQC del compuesto C-A0	205
Esquema 4-6. Correlaciones halladas mediante el experimento bidimensional HMBC del compuesto C-A0	206
Esquema 4-7. Reacción general en paralelo para la obtención de las pirazolil hidroxindolinonas (Serie C).....	207
Esquema 4-8. Metodología de síntesis del compuesto C-A3c	210
Esquema 4-9. Metodología de síntesis del compuesto C-A1e	210
Esquema 4-10. Reacción de ciclocondensación para la obtención de 1,3,5-triarilpirazolinas.	212
Esquema 4-11. Experimentos iniciales de síntesis del derivado 1,3,5-trifenil-4,5-dihidropirazol.	213
Esquema 4-12. Mecanismo de oxidación propuesto en literatura [133] para la oxidación de pirazolinas por acción de tetracloruro de carbono.....	216
Esquema 4-13. Mecanismo de reacción planteado para la oxidación de las pirazolinas en medio ácido (Ácido acético) con oxígeno como oxidante.....	221
Esquema 4-14. Ruta sintética seguida para la obtención del compuesto D-PH2NO	222
Esquema 4-15. Segunda ruta sintética realizada para la mejora del rendimiento global en la obtención de D-PH2NO	223

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Desplazamientos químicos en resonancia magnética nuclear del pirazol.	20
Tabla 2. Desplazamientos químicos de la pirimidina en ¹ H-RMN y ¹³ C-RMN.....	34
Tabla 3. Desplazamientos químicos de indol, indolin-2-ona e indolin-3-ona.	52
Tabla 4. Compuestos seleccionados mediante filtrado ADMETox de la serie A.....	76
Tabla 5. Valores de scores obtenidos para los fármacos de referencia en el <i>docking</i> con 6DW0.....	81
Tabla 6. Interacciones de los fármacos de referencia con algunos residuos del sitio de recepción de benzodiazepinas halladas con el software AutoDock 4.	83
Tabla 7. Interacciones de los fármacos de referencia con algunos residuos del sitio de recepción de benzodiazepinas halladas con el software AutoDock VINA.....	84
Tabla 8. Interacciones de los fármacos de referencia con algunos residuos del sitio de recepción de benzodiazepinas halladas con el software DOCK 6.	84
Tabla 9. Consenso de puntuación normalizada de los diez mejores compuestos de la serie A en la evaluación mediante acoplamiento molecular.	85
Tabla 10. Interacciones observadas en los acoplamientos moleculares de los 10 mejores prototipos de la serie A con el receptor GABA _A	88
Tabla 11. Compuestos seleccionados mediante filtrado ADMETox de la serie B.....	93
Tabla 12. Consenso de puntuación normalizada de los diez mejores compuestos de la serie A en la evaluación mediante acoplamiento molecular.	95
Tabla 13. Interacciones observadas en los acoplamientos moleculares de los 10 mejores prototipos de la serie B con el receptor GABA _A	97
Tabla 14. Rendimientos obtenidos para la síntesis de los precursores 5-aminopirazólicos.	103
Tabla 15. Estudio de disolvente realizado para la síntesis de 9a	114
Tabla 16. Optimización de las cantidades estequiométricas en la reacción de síntesis de la espirotiazepinona 9a	115
Tabla 17. Condiciones ensayadas para la optimización de la síntesis de 11	122
Tabla 18. Rendimientos obtenidos de los ensayos con los aminopirazoles 3a – f	123
Tabla 19. Exploración de las condiciones de reacción para la <i>N</i> -alquilación de las espiro pirazolotiazepinonas.	132
Tabla 20. Rendimientos obtenidos en la alquilación de la tiazepinona 9a	133
Tabla 21. Resumen de las asignaciones de señales en RMN para el compuesto 15 ...	146
Tabla 22. Ángulos y distancias de enlace halladas mediante difracción de rayos X para las tiazepinonas estudiadas.	148
Tabla 23. Estudio de escalamiento de la reacción de obtención de los derivados más promisorios de acuerdo con el cribado virtual.	150
Tabla 24. Rendimientos de las chalconas sintetizadas.	152
Tabla 25. Rendimiento de las dos metodologías de síntesis de los precursores 2-aminopirimidínicos.	153

Tabla 26. Rendimientos obtenidos en los ensayos realizados para la síntesis de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.	158
Tabla 27. Datos de $[M+H]^+$ encontrados para la serie de pirimidinil espiro tiazolidin-4-onas sintetizadas.	161
Tabla 28. Estudio de escalamiento de la reacción de obtención de los derivados más promisorios de la serie B de acuerdo con el cribado virtual.	165
Tabla 29. Compuestos seleccionados mediante filtrado ADMETox de la serie C.	170
Tabla 30. Valores de <i>scores</i> obtenidos para las moléculas de referencia en el <i>docking</i> con 6J8G.	174
Tabla 31. Interacciones de las moléculas de referencia con algunos residuos del poro del canal iónico NaV1.7 halladas con el software AutoDock4.	176
Tabla 32. Interacciones de las moléculas de referencia con algunos residuos del poro del canal iónico NaV1.7 halladas con el software AutoDock Vina.	176
Tabla 33. Interacciones de las moléculas de referencia con algunos residuos del poro del canal iónico NaV1.7 halladas con el software Dock6.	177
Tabla 34. Consenso de puntuación normalizada de los diez mejores compuestos de la serie C en la evaluación mediante acoplamiento molecular.	178
Tabla 35. Interacciones observadas en los acoplamientos moleculares realizados de los 10 mejores prototipos de la serie C con el canal iónico NaV1.7.	181
Tabla 36. Compuestos seleccionados mediante filtrado ADMETox de la serie D.	186
Tabla 37. Consenso de puntuación normalizada de los diez mejores compuestos de la serie D en la evaluación mediante acoplamiento molecular.	189
Tabla 38. Interacciones observadas en los acoplamientos moleculares realizados de los 10 mejores prototipos de la serie D con el canal iónico NaV1.7.	191
Tabla 39. Rendimientos de la reacción de sustitución del nitrógeno lactámico de la isatina.	196
Tabla 40. Ensayos de optimización de las condiciones de reacción y validación de la regioquímica de la misma.	199
Tabla 41. Estudio del efecto de la polaridad del disolvente en el tiempo y rendimiento de la reacción de síntesis de C-A0	199
Tabla 42. Optimización de las condiciones de la reacción asistida por ultrasonido.	200
Tabla 43. Resultados de la primera exploración de la reacción en paralelo asistida por ultrasonido para la obtención de los compuestos de la serie C.	208
Tabla 44. Rendimientos obtenidos durante la síntesis en paralelo asistida por ultrasonido de los derivados pirazolil hidroxindolinónicos.	209
Tabla 45. Estudio de escalamiento de la reacción de síntesis de los compuestos más promisorios de la serie C de acuerdo con el cribado virtual.	211
Tabla 46. Rendimientos de la síntesis de las chalconas precursoras.	212
Tabla 47. Condiciones ensayadas para la oxidación de la trifenilpirazolina.	216
Tabla 48. Exploración del efecto del efecto del sustituyente en la síntesis de los 1,3,5-triarilpirazoles.	220

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura Término

<i>SNC</i>	Sistema nervioso central.
<i>GABA_A</i>	Receptor GABA-A.
<i>GABA</i>	Ácido gamma-aminobutírico.
<i>NaV1.7.</i>	Canal de sodio dependiente de voltaje isoforma 1.7.
<i>BDZs</i>	Benzodiazepinas.
<i>PDB</i>	Protein Data Bank.
<i>DIFAC</i>	Diseño de fármacos asistido por computadora.
<i>ADME</i>	Absorción-distribución-metabolismo-excreción.
<i>QSAR</i>	Quantitative Structure-Activity Relationships.
<i>¹H-RMN</i>	Resonancia magnética nuclear de protón.
<i>¹³C-RMN</i>	Resonancia magnética nuclear de carbono-13.
<i>pKa</i>	Constante de acidez expresada como su logaritmo negativo.
<i>S_EAr</i>	Sustitución electrofílica aromática.
<i>DMAP</i>	<i>N,N</i> -dimetilamino piridina
<i>DCM</i>	Diclorometano
<i>DMF</i>	<i>N,N</i> -dimetilformamida
<i>Et₃N</i>	Trietilamina.
<i>EtOH</i>	Etanol.
<i>hν</i>	Irradiación con luz.
<i>ADH</i>	Alcohol deshidrogenasa.
<i>FDA</i>	Foods and drugs administration (Agencia regulatoria de los Estados Unidos de America).
<i>LDA</i>	Diisopropil amiduro de litio.
<i>LTMP</i>	Tetrametil piperiduro de litio.
<i>MAA</i>	Ácido mercaptoacético.
<i>Tyr</i>	Tirosina.
<i>Phe</i>	Fenil alanina.
<i>Hys</i>	Histidina.
<i>Thr</i>	Treonina.
<i>Met</i>	Metionina.
<i>HSQC</i>	Heteronuclear Single Quantum Correlation.
<i>HMBC</i>	Heteronuclear Multiple Bond Correlation.
<i>HRMS</i>	High Resolution Mass Spectrometry (Espectrometría de masas de alta resolución).
<i>DCC</i>	Diciclohexilcarbodiimida.
<i>S_N2</i>	Sustitución nucleofílica bimolecular.
<i>Gly</i>	Glicina.
<i>Glu</i>	Ácido glutámico.
<i>Asp</i>	Ácido aspártico.
<i>Lys</i>	Lisina.
<i>s</i>	Singlete.
<i>d</i>	Doblete.
<i>t</i>	Triplete.
<i>q</i>	Cuarteto.
<i>Á</i>	Amstrong

Introducción

Los canales iónicos son proteínas transmembranales que permiten el flujo de iones a través de membranas celulares, proceso que dada la naturaleza hidrofóbica de estas membranas, suele ser no-espontáneo por procesos de transporte pasivo [1], siendo de vital importancia para el correcto funcionamiento celular a nivel tisular; los canales iónicos resultan dianas farmacológicas de interés para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la anómala regulación de los impulsos eléctricos fisiológicos. Estas patologías son variadas y pueden afectar la funcionalidad a nivel del sistema cardiovascular, sistema nervioso central y periférico, así como la función motora a nivel muscular[1]. Algunas de las patologías relacionadas u ocasionadas por el anómalo o nulo funcionamiento de los canales iónicos transmembranales a nivel celular han sido enmarcadas dentro de un grupo denominado “canalopatías” [2] y comprenden desde desórdenes cardiacos, como los síndromes de QT-largo (ocasionados por desregulación de los potenciales de acción dados por los canales de potasio presentes en el musculo cardiaco) [3], hasta desórdenes neurológicos como la epilepsia y la migraña (los cuales se presentan por disfunciones de distintos canales iónicos, así como de receptores acoplados a canales como son el receptor GABA_A y los receptores nicotínicos)[4]; en consecuencia, estas proteínas muchas veces son el origen y al mismo tiempo, son potenciales dianas moleculares a intervenir en patologías que involucren desequilibrios electrolíticos a nivel intracelular.

Dentro de estos desórdenes, resultan de interés para este trabajo, los dependientes de dos tipos de canales iónicos: los primeros, son los de origen GABAérgico en sistema nervioso central (SNC), tales como los trastornos neuroconductuales (ansiedad, depresión, insomnio, entre otros), que resultan de hiper o hipo actividad neuronal dadas por mecanismos que involucran una anómala conducción nerviosa en sitios cerebrales de alta concentración de receptores GABA_A [5]. El segundo tipo son las enfermedades derivadas de la hiperexcitación de canales iónicos mayoritariamente localizados en células del sistema nervioso periférico, tales como neuralgias, neuropatías de extremidades de carácter doloroso entre otras [6].

Es de notar que estas enfermedades pueden no resultar directamente mortales para los pacientes que las padecen; sin embargo, dada la grave afectación que estos sufren en cuanto a su calidad de vida y a las altas tasas de prevalencia e incidencia que se

reportan [7], se hace necesario estudiar nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de estas enfermedades. En el caso de las patologías de carácter neuroconductual, se suele tener una tasa de prevalencia subestimada, esto debido al estigma social generado alrededor de estos padecimientos y en algunas regiones al escaso acceso a métodos de diagnóstico efectivos [7]. Sin embargo, las estadísticas existentes ya denotan una alta carga de este tipo de enfermedades sobre el sistema de salud en países como Colombia; donde para el año 2015, al menos el 2.42% de los pacientes hospitalizados se atendieron como consecuencia directa de un trastorno mental [8]. A nivel mundial estas tasas y el subregistro de las mismas siguen una tendencia similar, tan solo por trastornos de ansiedad, siendo así, para el año 2019 se reportaron alrededor de 45 millones de pacientes afectados, sin contar con aquellos que por diversos motivos no suelen atender su condición [9]. Es notable también que además del tabú que supone padecer una enfermedad de este tipo, los pacientes sufren consecuencias debilitantes de su calidad de vida aún con los tratamientos actuales, los cuales presentan diversos efectos adversos, además del peligro que supone la adicción a los psicofármacos [10]. En cuanto al segundo tipo de enfermedades (aquellas que afectan el sistema nervioso periférico), éstas suelen tener repercusiones importantes en poblaciones con afecciones crónicas preexistentes. Para Colombia en el año 2013, las neuropatías dolorosas en, se presentaron en aproximadamente el 42% de pacientes con diabetes mellitus [11] y en el 2016 se observó una prevalencia de esta afección entre un 30 y 68% de pacientes oncológicos tratados con diversos fármacos quimioterapéuticos [12]. Esto hace que la gravedad de estas patologías aumente mientras que la adhesión terapéutica de los pacientes con condiciones como las expuestas previamente al igual que su calidad de vida disminuyan drásticamente. A esto se suma que la efectividad de los fármacos existentes tales como gabapentina y la pregabalina no suelen proveer alivio suficiente del dolor neuropático al usar dosis que resulten seguras para pacientes con regímenes farmacológicos complejos [13, 14]. Estos factores resaltan aún más la importancia del desarrollo de nuevas entidades farmacológicamente activas, seguras y efectivas para el tratamiento de estas condiciones, aumentando así la esperanza y calidad de vida de pacientes que ya viven con una enfermedad crónica de base [15]. Dada la necesidad de nuevas moléculas bioactivas para el tratamiento de enfermedades como las expuestas previamente, se han desarrollado estrategias para el diseño racional de compuestos con promisoría actividad biológica y parámetros aceptables de

farmacocinética y farmacodinámica. Para este fin, se suele requerir el uso de herramientas computacionales que faciliten la búsqueda de nuevas entidades moleculares que cumplan estos criterios [16]. Algunos de estos métodos buscan similitudes moleculares con fármacos ya existentes [17], mientras otros se enfocan en la modificación de núcleos farmacofóricos ya conocidos [18] y los basados en el diseño *de novo*, donde se toma como base el receptor biológico de interés, para el desarrollo de moléculas que pueden interactuar con este [17]. Para los efectos de esta tesis resultó de especial utilidad esta última estrategia llamada también *diseño basado en el receptor*, en la cual mediante el conocimiento previo de la estructura de los receptores GABA_A (implicados en la modulación de la sinapsis en SNC) y el canal de sodio dependiente de voltaje NaV1.7 (diana molecular novedosa para el tratamiento de desórdenes neuropáticos periféricos) [6], permitió la evaluación *in silico* de las posibles interacciones de estas biomoléculas con una biblioteca de compuestos heterocíclicos planteados desde el conocimiento previo de núcleos privilegiados en química medicinal [19]. Como complemento a este diseño basado en el receptor, se realizó el cálculo de descriptores moleculares asociados con la farmacocinética de una posible molécula que se absorba por vía oral, esto de acuerdo con los criterios extendidos de la regla de 5 de Lipinski [20].

Las moléculas evaluadas mediante las herramientas computacionales contienen núcleos heterocíclicos de alto valor en química medicinal tales como pirimidina (presente en fármacos antivirales, antineoplásicos, e inmunomoduladores, entre otros [21]), pirazol (bloque estructural incluido en moléculas con actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antidepresiva, entre otras [22]), tiazolidinona (el cual ha presentado actividad antimicrobiana, antioxidante, antituberculosis, entre muchas más [23]), tiazepinona (heterociclo encontrado en la estructura de promisorios candidatos a fármacos anticonvulsivantes y con efectos sobre SNC [24]) e indolinona (núcleo definido desde la química medicinal como *scaffold* privilegiado en términos de diversidad en cuanto a su actividad biológica en terapéutica [25]). Es de notar que además de estos núcleos, que han exhibido un amplio espectro de actividad biológica [19], se incluyeron en algunos de los prototipos moleculares planteados, fragmentos estructurales espirofusionados, puesto que es bien sabido que dichas porciones estructurales mejoran las propiedades de afinidad con receptores biológicos, dada la mayor restricción conformacional respecto de los análogos cíclicos fusionados [26]. Una vez realizado el cribado *in silico*, las moléculas seleccionadas desde el punto de vista del interés farmacológico como potenciales

moduladores de las proteínas de estudio, fueron sintetizadas mediante protocolos multicomponente o de síntesis lineal multipaso, estudiando los patrones de estructura-reactividad, cinética de reacción, y optimización de las condiciones de obtención de estas, en aras de mejorar los rendimientos, pureza y el cumplimiento de parámetros de sostenibilidad ambiental de acuerdo con los postulados de la química verde [27]. Dados los tópicos a tratar en este documento, se implica la cohesión de diversas áreas de la química como son la química medicinal, computacional, fisicoquímica, y la síntesis orgánica. Así pues, el presente manuscrito se ha organizado de la siguiente manera: una primera sección de marco teórico y generalidades de las dianas moleculares a trabajar y los conceptos básicos de las estrategias del diseño racional de fármacos relevantes para este trabajo; luego se expondrá la metodología general de trabajo y por último dos grandes secciones, cada una de estas correspondiente a la investigación computacional y experimental de los compuestos planteados para modular el receptor GABA_A y el canal iónico dependiente de voltaje NaV1.7. En cada una de estas secciones se ha expuesto el estado del arte de las investigaciones previas pertinentes a los blancos moleculares y a los núcleos estructurales de interés planteados en cada caso, para así dar paso a los resultados computacionales y finalizando con los resultados experimentales. En una última sección se presentan las conclusiones generales del trabajo, así como las perspectivas, comentarios, productos académicos derivados de esta tesis y las referencias empleadas para la construcción de este documento.

Justificación

Patologías que afectan el sistema nervioso como la ansiedad, la epilepsia y el dolor por causas neuropáticas, son enfermedades que aunque no llegan a ser mortales, disminuyen drásticamente la calidad de vida de quienes las padecen; en Colombia del 30 al 68% de los pacientes con diagnóstico y tratamiento para el cáncer sufren de neuropatía [12]; de los pacientes con diabetes mellitus, el 42% padece de dolores neuropáticos asociados a esta afección; muchas de estas personas aún con los medicamentos actuales no logran una calidad de vida que pueda llamarse “normal” [11].

Es aún más dramático el caso de los pacientes con enfermedades mentales asociadas a los trastornos de ansiedad, donde la prevalencia oscila entre el 2,4 y el 18,2% de la población colombiana, quienes además de la estigmatización y discriminación que sufren por su padecimiento clínico, son proclives a desarrollar adicción a los medicamentos que mantienen su condición psiquiátrica dentro los límites aceptables para llevar una vida en sociedad; adoleciendo además los efectos adversos que tales medicinas puedan presentar al administrarse de forma regular [28].

El estudio de nuevos tratamientos es imperativo dadas las razones expuestas anteriormente; siendo así, este proyecto pretende abordar este problema desde las estrategias *in silico* de la química medicinal y el desarrollo sintético de la química orgánica, e intenta proponer moléculas viables desde el punto de vista farmacológico así como económico, mediante el desarrollo de estudios de docking molecular, evaluación virtual de propiedades fisicoquímicas que permitan determinar la biodisponibilidad de los prototipos, protocolos de síntesis ambientalmente sostenibles, eficientes y que puedan a largo plazo ser escalables o al menos reproducibles en condiciones de laboratorio.

Objetivos

Objetivo general.

Sintetizar y estudiar las rutas de obtención de compuestos de núcleo heterocíclico pirazólico, pirimidínico, tiazepinónico y tiazolidínico con potencial terapéutico por modulación de la acción biológica de proteínas de transporte iónico tales como el receptor GABA_A y el canal de sodio dependiente de voltaje NaV1.7.

Objetivos específicos.

1. Seleccionar los derivados más promisorios en cuanto a actividad biológica, mediante aproximaciones *in silico* sobre los receptores moleculares GABA_A y Na_v1.7., mediante *docking* molecular y estrategias computacionales de predicción de propiedades fisicoquímicas asociadas a los fenómenos ADMETox.
2. Obtener los derivados seleccionados con buenos rendimientos mediante estrategias sintéticas novedosas empleando métodos de calentamiento no convencional y/o rutas de síntesis orientadas a la diversidad estructural, así como caracterizar estos productos mediante técnicas espectroscópicas como infrarrojo, resonancia magnética nuclear protónica (¹H-RMN), carbono-13 (¹³C-RMN) y experimentos bidimensionales (HSQC y HMBC) y en caso de obtener monocristales, difracción de rayos X.
3. Ampliar el conocimiento de los aspectos estructurales, termodinámicos y cinéticos que afectan el curso de algunas de las reacciones clave para la síntesis de los núcleos heterocíclicos de interés y los rendimientos globales de las rutas sintéticas planteadas para la obtención de las moléculas objetivo.

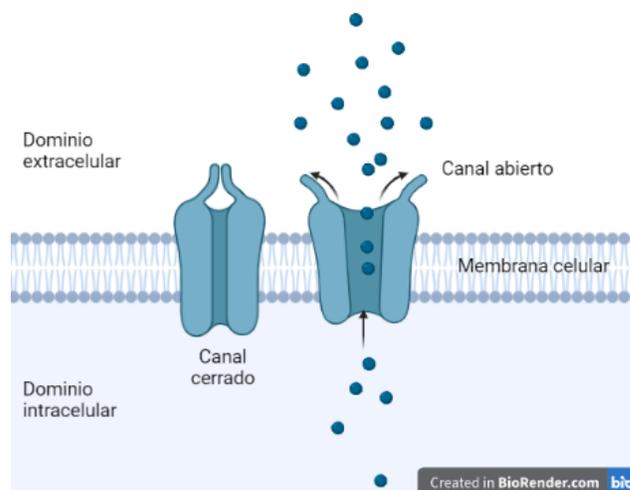
1. Capítulo 1: Marco teórico.

En esta sección se exponen los conceptos, definiciones y estado del arte de la temática trabajada en este documento. En primera instancia se introduce al lector en el contexto de las dianas biológicas estudiadas de forma computacional en acoplamiento con las moléculas diseñadas; luego se desarrollará un marco de referencia del diseño de fármacos asistido por computador. Por último, se explicarán las generalidades de los núcleos heterocíclicos que son objeto de estudio computacional y sintético.

1.1 Canales iónicos.

Los canales iónicos se definen como proteínas transmembranales que forman porosidades acuosas capaces de permitir el paso de hasta 10^7 iones por segundo de un lado a otro de la membrana celular (Figura 1) [29]. Dentro de sus funciones se encuentran, mantener el gradiente de fuerza iónica a través de la bicapa lipídica, además de cumplir funciones inhibitorias o excitatorias en células nerviosas, cardíacas y de musculo esquelético. Esto se logra mediante el paso o bloqueo de iones mediante cambios conformacionales inducidos por dos vías que pueden ser: cambios en el potencial eléctrico de la membrana o por acción de mensajeros intracelulares [30].

Estas proteínas pueden clasificarse de acuerdo con su selectividad por ciertos tipos de iones como son los canales de sodio, potasio, o cloruro entre otros; también son clasificados por el tipo de señalización que induce la apertura o cierre de estos como inducidos por voltaje, e inducidos por ligando [29]. Los canales inducidos o mediados por voltaje, como su nombre lo indica, presentan apertura dada la diferencia de potencial eléctrico entre el exterior y el interior de la membrana celular, de forma que estos canales se regulan por potenciales de acción los cuales a su vez están dados por gradientes de fuerza iónica en la membrana de células como son los *miocitos* (musculares) y *neuronas* (nerviosas). Esto hace que dichos canales se asocien con la conducción de energía bioeléctrica y su ubicación en tejidos se da preferencialmente en el musculo liso y en sistema nervioso, tanto central como periférico [30][31].

Figura 1-1. Representación general de los canales iónicos en la membrana celular¹.

En cuanto a los canales iónicos mediados por ligando, se tienen los canales acoplados a proteínas G, receptores dependientes de neuropéptidos, de histamina, receptores adrenérgicos, muscarínicos, así como receptores de tipo GABAérgicos. Estos tienen como característica común que la apertura o cierre de los mismos depende de moléculas pequeñas, usualmente neurotransmisores, que al unirse a ciertos dominios de la estructura de estos receptores, generan cambios conformacionales causados por el plegamiento de estas proteínas permitiendo así el paso de iones a través de la membrana [32].

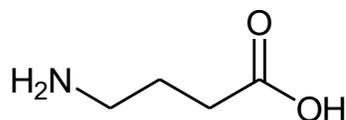
Para el interés específico de este trabajo, se hace hincapié en dos canales iónicos; el primero es el receptor GABA_A el cual es objeto de estudio de la primera parte del trabajo. El segundo es el canal iónico de sodio mediado por voltaje NaV1.7., objeto de la segunda parte de este documento. Ambos receptores están presentes en células del sistema nervioso y tienen en común el hecho de que su modulación puede conllevar a efectos terapéuticos deseables para el tratamiento de patologías neuropsiquiátricas, neuromotoras y/o relacionadas con dolor no nociceptivo [5] [29].

¹ Figura creada en www.biorender.com.

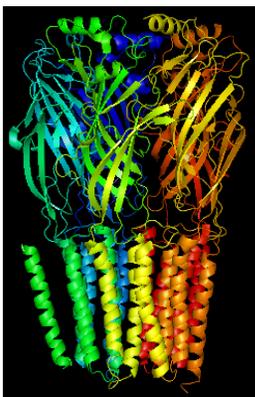
1.1.1 Receptor GABA_A.

Este receptor pertenece a la subdivisión de canales iónicos modulados por ligando y su nombre proviene del ligando endógeno que provoca la apertura de este; el ácido gamma-aminobutírico GABA (Figura 1-2); responsable de desencadenar la entrada de aniones cloruro al interior de la célula (Figura 1-3). Dicho proceso genera una hiperpolarización, que a su vez efectúa una disminución en el potencial eléctrico de la membrana celular. En este sentido, este receptor es considerado un canal iónico de tipo inhibitorio, y precisamente la acción biológica del mismo consiste en la disminución de la conducción nerviosa presináptica en aquellas neuronas donde está presente, usualmente en el sistema nervioso central [33].

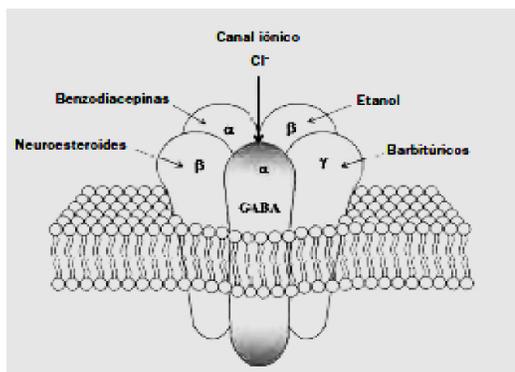
Figura 1-2. Estructura del ácido gamma-aminobutírico (ligando endógeno del receptor GABA).



A nivel estructural, el receptor GABA_A está conformado por cinco subunidades α_{1-6} ; β_{1-3} ; γ_{1-3} ; δ ; θ y ρ_{1-3} (Figura 1-4). Dependiendo de la distribución de dichas subunidades en la estructura del receptor, surgen isoformas que varían en abundancia y ubicación en ciertas regiones cerebrales [34]. La estructura de diversas de estas isoformas ha sido elucidada exitosamente a partir de la extracción y purificación de esta proteína desde diversos organismos y usando técnicas analíticas como la difracción de rayos X en monocristal, la resonancia magnética nuclear y más recientemente, la criomicroscopía electrónica [35][36].

Figura 1-3. Estructura tridimensional del receptor GABA_A^2 

Esta elucidación estructural ha permitido la apreciación de dominios alostéricos de recepción de ciertas moléculas exógenas como son las benzodiazepinas (BDZs), neuroesteroides, derivados de picrotoxina, barbitúricos, etanol, entre otros (Figura 1-4) [34].

Figura 1-4. Algunos sitios de recepción de sustancias endógenas y exógenas en la estructura del receptor GABA_A^3 .

- **Receptor GABA_A y su rol en patologías neuropsiquiátricas.**

La acción inhibitoria del receptor GABA_A lo posiciona como una diana farmacológica interesante para un posible tratamiento de patologías ocasionadas por desregulación de

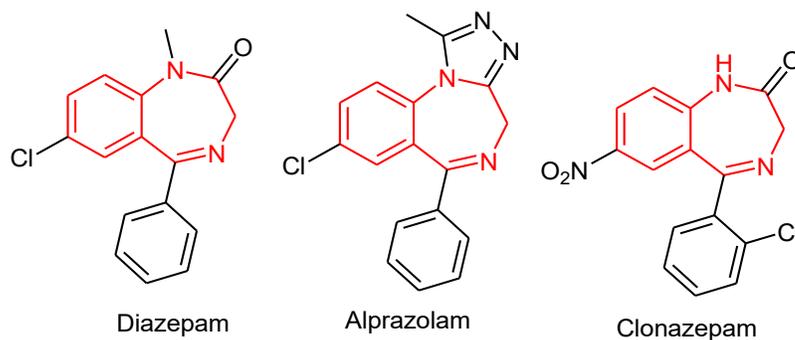
² Figura obtenida con el programa Discovery Studio a partir de la proteína 6DW0 depositada en el PDB [35].

³ Tomado de la referencia [33].

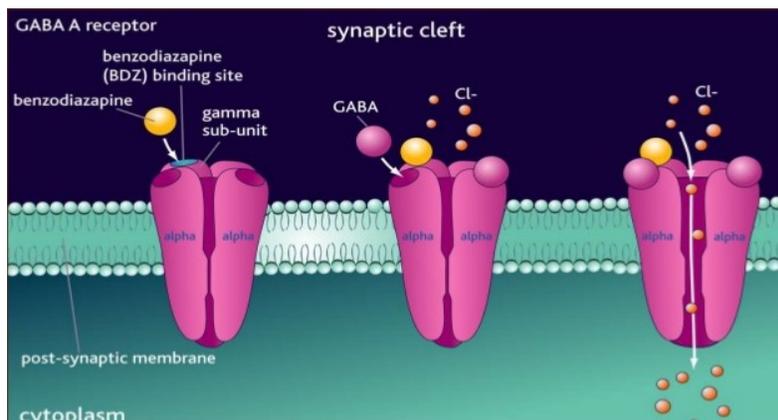
la conducción eléctrica a nivel del SNC. Estos desórdenes suelen ser desencadenados por desequilibrios en los niveles de ciertos neurotransmisores como serotonina, norepinefrina, e incluso el mismo ácido gamma-aminobutírico (GABA)[37].

Las enfermedades relacionadas con niveles anómalos de estos neurotransmisores suelen aparecer como condiciones o trastornos de ansiedad, los cuales en la actualidad son conocidos y tratados mediante el uso de fármacos, cuyo mecanismo de acción se basa justamente en la modulación de los niveles de GABA a nivel de su receptor GABA_A [38]. Estos fármacos suelen tener como característica común la presencia del núcleo heterocíclico benzodiazepina en su estructura (Figura 1-4).

Figura 1-5. Estructura de algunos fármacos moduladores de GABA_A de núcleo benzodiazepínico (Resaltado en rojo en las estructuras).



El mecanismo de acción de las benzodiazepinas incluye la modulación alostérica positiva del receptor GABA_A; esto es, la unión de estas moléculas a un sitio auxiliar en la estructura terciaria de la proteína incrementando la afinidad del ligando endógeno por el receptor, incidiendo en la frecuencia de apertura del canal. Esto ocasiona la entrada de una mayor cantidad de iones cloruro a las neuronas, generando una menor excitabilidad de las células del tejido neuronal (Figura 1-5) [39].

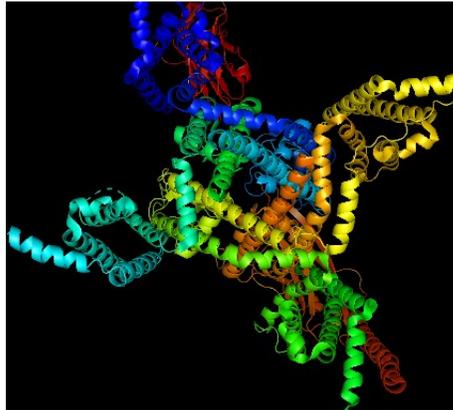
Figura 1-6. Mecanismo de acción de las benzodiazepinas en el receptor GABA_A ⁴.

A pesar de las ventajas que pueden presentar estos medicamentos, algunos efectos adversos como desórdenes del ciclo de sueño-vigilia, dependencia y subsecuente síndrome de abstinencia al hacer ajustes en la dosis, así como la disminución general de la calidad de vida del paciente [10], han llevado a la búsqueda de nuevas alternativas farmacológicas para el tratamiento de estos desórdenes neuropsiquiátricos.

1.1.2 Canal de sodio dependiente de voltaje NaV1.7 .

A diferencia del receptor GABA_A mencionado anteriormente, el canal de sodio Nav1.7 , se encuentra mayoritariamente en tejido de carácter nervioso. Es bien sabido que esta isoforma es especialmente abundante en neuronas del sistema nervioso periférico. A nivel estructural, los canales de sodio en general están constituidos por cuatro monómeros acoplados que forman el poro de entrada y salida de los iones sodio a través de la membrana celular (Figura 1-7) [40].

⁴ Tomado de la referencia [38].

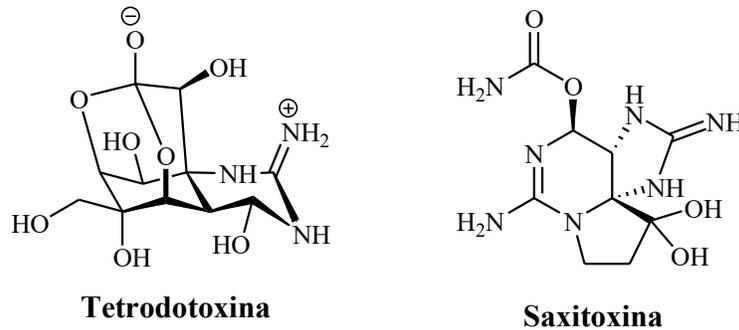
Figura 1-7. Estructura tridimensional del canal NaV1.7.⁵

Las isoformas de estos canales (NaV1.1 a NaV1.9) resultan de las nueve subunidades α distintas que pueden formar la estructura selectiva a la entrada de los cationes sodio, cada subunidad contiene seis segmentos transmembranales (S1 – 6) que generan el dominio sensible a diferencias de potencial eléctrico [41].

Las distintas isoformas de este canal de sodio, resultan más o menos sensibles a compuestos naturales que tienen la capacidad de bloquear total o parcialmente la apertura del poro, inhibiendo el paso de iones sodio a través de la membrana celular; algunas de estas sustancias son reconocidas toxinas tales como la tetrodotoxina, proveniente del pez globo, del pulpo australiano y algunas ranas de Sudamérica [42]; o la saxitoxina proveniente de las algas verde-azules [43] (Figura 1-8). Por el contrario, también se encuentran algunas toxinas que actúan como activadores de estos canales, este es el caso de la veratridina y la batracotoxina, provenientes también de fuentes naturales.

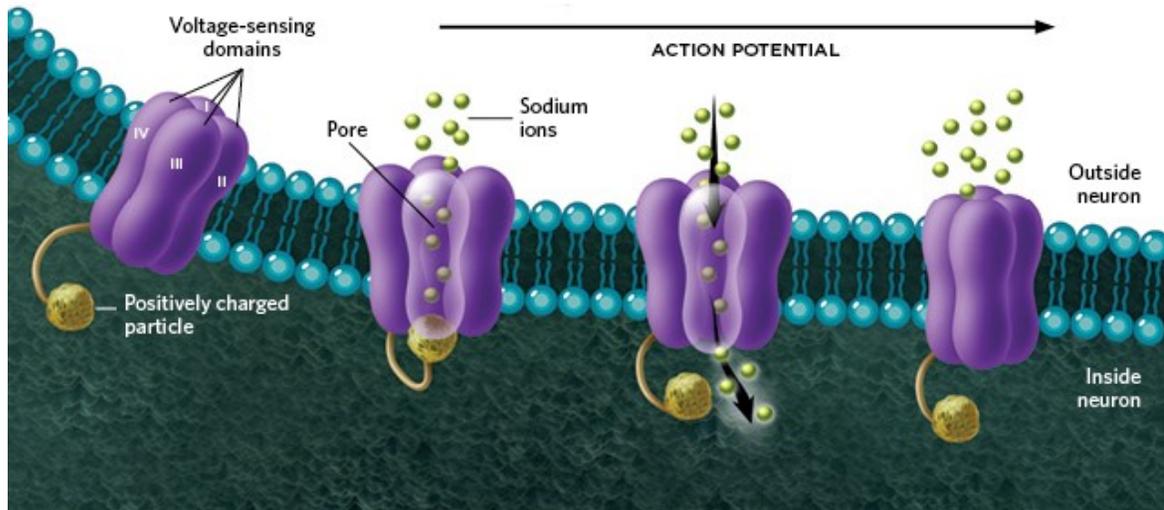
⁵ Figura obtenida con el programa Discovery Studio a partir de la proteína 6J8G depositada en el PDB [46].

Figura 1-8. Estructura de algunas toxinas inhibitorias de la función de los canales de sodio.



▪ **Canal de sodio NaV1.7. y su rol en patologías del sistema nervioso periférico.**

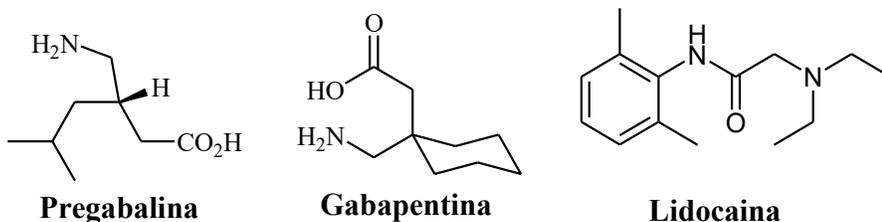
La función de esta familia de proteínas se centra en la generación de potenciales de acción para la excitación de células de tipo neuronal y cardíaco (Figura 1-9); jugando un papel importante en el correcto funcionamiento de las células encargadas de la regulación del ritmo cardíaco y en la transmisión de las señales de dolor a nivel nervioso, como es el caso de la neuropatía periférica; trastorno en el cual por diversos motivos como pueden ser daño nervioso periférico, infecciones virales, tratamientos por quimioterapia, entre otros, se puede dar una sobre o sub-excitación neuronal, generándose muchas veces dolor que no responde a tratamientos con antiinflamatorios y analgésicos comunes [44].

Figura 1-9. Funcionamiento de los canales de sodio dependientes de voltaje⁶.

Los fármacos usados actualmente para el tratamiento del dolor crónico consecuencia de daños en el sistema somato-sensorial (neuropatías), pueden clasificarse en tres grandes familias que difieren en cuanto al mecanismo farmacológico de acción para aliviar esta dolencia; la primera se refiere a los antidepresivos tricíclicos que inhiben la recaptación de neurotransmisores como la serotonina y la norepinefrina; la segunda familia que comprende anestésicos locales como la lidocaína y la tercera, que hace referencia a medicamentos que bloquean canales de calcio dependientes de voltaje, como la gabapentina (Figura 1-10) [45]; aun cuando estas tres líneas de acción terapéutica son utilizadas en la actualidad, son pocos los pacientes que logran un alivio real y aumento en su calidad de vida, una vez han sido diagnosticados con esta condición clínica; es por esto que múltiples investigaciones en el campo de la farmacología, en conjunción con la química bio-orgánica y medicinal se han publicado dejando en evidencia la necesidad de nuevas entidades farmacológicas para el tratamiento de estas afecciones.

⁶ Tomado de la referencia [38].

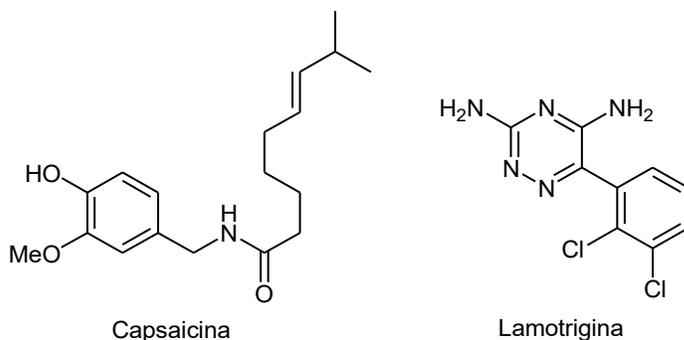
Figura 1-10. Estructura de tres fármacos usados para el tratamiento de afecciones somatosensoriales y dolor neuropático.



▪ **Nuevas dianas terapéuticas en el tratamiento del dolor neuropático.**

Compuestos que bloquean las entradas simpáticas y la producción del neurotransmisor peptídico conocido como sustancia P, han sido propuestos como posibles tratamientos de esta dolencia. Entre estos se encuentran la capsaicina y la lamotrigina (Figura 1-11); otro grupo farmacológico que podría resultar de interés es el resultante de la modulación de los receptores opioides en neuronas periféricas; siendo así, se proponen fármacos como el tramadol, fentanilo, entre otros. Aunque recientemente se ha observado que estos compuestos presentan una moderada efectividad analgésica, tienen la gran desventaja de generar un alto grado de dependencia al administrarse en un régimen crónico [6].

Figura 1-11. Estructura química de la capsaicina y lamotrigina.



La modulación de los canales iónicos de calcio, receptores GABA y *N*-metil-D-aspartato (NMDA), ha sido investigada, resultando en tratamientos con moderada eficacia. Ejemplos relativamente exitosos de estos estudios dieron pie al desarrollo de los fármacos gabapentina y pregabalina; sin embargo, su uso resulta limitado por su pobre selectividad hacia las dianas específicas en neuronas periféricas, resultando en

interacción e incluso bloqueo de los canales iónicos acoplados al musculo cardiaco, generando desequilibrios eléctricos en las células del corazón [6].

Recientemente se logró elucidar mediante cristalografía de rayos X en monocristal, la estructura del canal de sodio NaV1.7 [46]. Sabiendo que este tipo de canales son ubicuos en las células excitables del cuerpo humano y que esta isoforma en especial es abundante en las neuronas del sistema nervioso periférico, se propuso dicha macromolécula como una diana farmacológica de interés para el tratamiento de neuropatías dolorosas; esto dada su implicación directa en estos procesos de dolor no nociceptivo. Dicho canal fue cocrystalizado con tetrodotoxina, lo cual resulta en la sorpresiva propuesta de emplear derivados o análogos estructurales de esta como posibles prototipos promisorios en el tratamiento de dicha dolencia, que puede disminuir drásticamente la calidad de vida de los pacientes que la sufren. Además de derivados de toxinas biológicas, recientemente se ha empleado un fármaco bloqueador de los canales de sodio denominado vixotrigina; su eficacia ha sido probada y se tienen resultados prometedores acerca de su uso crónico. Sin embargo, no se ha observado que este fármaco pueda reemplazar totalmente la terapia con analgésicos, lo que implica un régimen terapéutico combinado y de cierta forma complejo, lo que puede ocasionar interacciones medicamentosas indeseables así como una menor adherencia del paciente al tratamiento [47].

1.2 Diseño racional de fármacos.

El descubrimiento de nuevas entidades químicas con propiedades farmacológicas de interés, es una tarea ardua y de difícil consecución; entre 12 y 15 años de estudios pre- y clínicos son requeridos en promedio para obtener un nuevo medicamento [48]. Sin embargo, en los últimos años, algunas estrategias para el diseño *de novo* de moléculas bioactivas y con mayor probabilidad de llegar a la etapa de ensayos clínicos han sido desarrolladas; entre estas metodologías se puede encontrar el diseño de fármacos asistido por computadora (DIFAC), que comprende estrategias basadas en los ligandos y en los receptores, haciendo posible con el conocimiento de las bases moleculares de la patología a investigar, y permitiendo así desarrollar moléculas de conocida actividad como el imatinib, gefitinib, erlotinib, y fármacos usados para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer[16]. Dentro de los objetivos de esta aproximación se pueden enmarcar

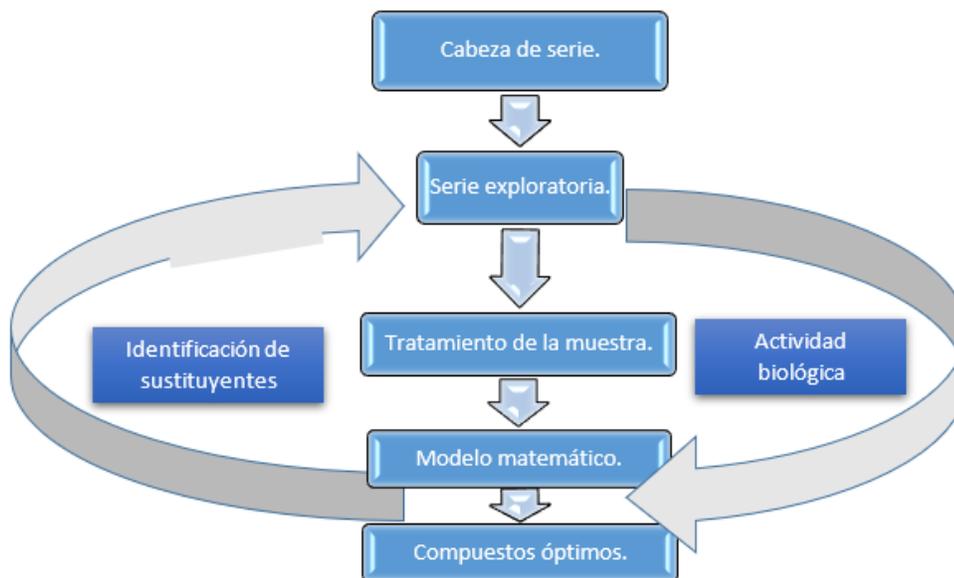
tres principales: el descubrimiento de nuevas moléculas farmacológicamente activas, optimización de moléculas conocidas y cribado de extensas bibliotecas moleculares para la obtención de los prototipos con mayor probabilidad de actividad biológica [49].

Dado que este trabajo se basa en la metodología del diseño racional de fármacos mediante el uso de herramientas computacionales, en este apartado se tratarán los modelos *in silico* para la predicción de las propiedades farmacocinéticas, farmacológicas y toxicológicas de interés para los propósitos de esta investigación.

1.2.1 Modelos cuantitativos de relación estructura-actividad (QSAR).

La predicción de ciertos parámetros como la toxicidad y biodisponibilidad de un compuesto se basa en métodos cuantitativos de relación estructura – actividad (QSAR), los cuales se basan en la interpretación de cierta propiedad (no necesariamente actividad biológica) como una función de ciertos descriptores de la estructura química.

Pese a la naturaleza computacional del modelo *per se*, esta aproximación requiere el uso de datos experimentales de una serie de compuestos de la familia de sustancias a analizar; usualmente se utiliza la información consignada en bases de datos como el *Drugbank*, *World Drug Index*, entre otras [50]. Aunque cada modelo QSAR requiere de un manejo matemático y estadístico diferente hay ciertos pasos comunes a todas las investigaciones de este tipo; esta secuencia común se presenta en la ilustración 1 [51].

Ilustración 1. Algoritmo general de la investigación QSAR⁷.

1.2.2 Propiedades fisicoquímicas deseables: Criterios de Lipinski.

En 1997 el investigador de la multinacional PFIZER, Christopher A. Lipinski, formuló su ahora conocida *regla de 5 de Lipinski*; una herramienta empírica que resultó de la evaluación experimental y computacional de distintas moléculas de conocido uso terapéutico, de su correlación con algunas propiedades fisicoquímicas y la posible biodisponibilidad oral que estas presentan al ingresar en el entorno fisiológico. Esta regla se condensa en los siguientes postulados, donde los parámetros tienen relación numérica de múltiplos de cinco (por ello su nombre “regla de 5”) y aunque no es mandatorio que todas las estructuras moleculares que se deseen ensayar como posibles candidatos a fármaco las cumplan, es deseable que no se violen más de dos de estos sencillos parámetros [20].

1. La molécula no debe tener más de 5 átomos donadores de puente de hidrógeno.
2. El peso molecular del compuesto no debe exceder los 500 Da.

⁷ Adaptado de la referencia [50].

3. El compuesto no debe tener un logaritmo de la constante de partición (K_{OW}) ó LogP mayor a 5.
4. La estructura no debe poseer más de 10 átomos aceptores de puente de hidrógeno.

Es de notar, que todas las anteriores propiedades tienen relación directa con la permeabilidad de las membranas a traspasar en el transporte de un fármaco hasta su sitio de acción; siendo así, debe haber un balance entre lipo e hidrofiliidad en la molécula de estudio; esto en busca de una absorción eficiente, pero sin una eliminación o metabolización inmediata de este. Un peso molecular excesivamente alto impide el paso de la membrana intestinal, pero un compuesto muy pequeño tiene el riesgo de ser poco selectivo a la diana terapéutica de interés.

Los parámetros 1 y 4, relacionados con los átomos donadores y aceptores de enlaces de hidrógeno también afectan la capacidad de un fármaco de permear las barreras biológicas de naturaleza fosfolipídica [52].

Algunos de estos parámetros han sido corregidos a través del tiempo, buscando mejores aproximaciones al diseño de compuestos biodisponibles al administrarse oralmente; así mismo, buscando una concordancia entre valores calculados computacionalmente por distintos métodos y los determinados experimentalmente; ejemplo de esto es el MLogP ó logaritmo de la constante de partición calculado mediante el método de Moriguchi [53], para el cual, el valor aceptado debe ser menor a 4,15 [54].

1.2.3 Propiedades toxicológicas.

La toxicidad de un compuesto químico puede ser asociada a distintos efectos negativos sobre las funciones biológicas de un ser vivo; entre estos, se puede encontrar daños al genoma, carcinogenicidad o daño a tejidos que pueda conllevar a la muerte o a serias enfermedades.

Modelos como la toxicidad aguda en rata permiten dar cuenta de los posibles efectos que una sustancia generaría al ingresar al organismo humano; indicadores cuantitativos de esto son las dosis letales medias (LD_{50} por sus siglas en inglés) y concentraciones letales medias (LC_{50} por sus siglas en inglés) dadas en mg/Kg (de peso corporal) y en M/Kg (de peso corporal) respectivamente; estas son cantidades de sustancia que administradas en

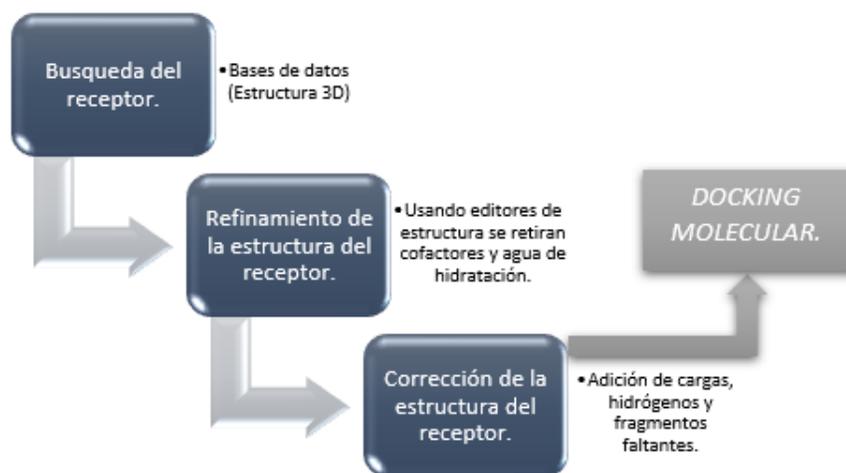
100 sujetos de prueba se produce la muerte a 50 de ellos por causa del compuesto evaluado [55].

El parámetro de carcinogenicidad se puede estimar mediante un parámetro análogo al LD₅₀ denominada *dosis tumorigénica media* (TD₅₀ por sus siglas en inglés) donde se evalúa la dosis a la cual la mitad de la población expuesta de manera crónica a un agente potencialmente carcinogénico desarrolla tumores [56].

La mutagenicidad se define como la capacidad que tiene un compuesto de generar daño a nivel genético expresado como mutaciones irreversibles a nivel fenotípico en generaciones posteriores a las del sujeto expuesto a la sustancia en cuestión [57]; el test de Ames, es una forma de evaluar de forma rápida este parámetro para una batería de posibles sustancias mutagénicas; se basa en la inducción de mutaciones en genoma bacteriano (usualmente se usa como sujeto de prueba una colonia de *Salmonella typhimurium*) en un cultivo con un licuado de tejido hepático de mamíferos (rata o humano), esto para introducir el factor metabólico que algunos compuestos requieren para activar su potencial mutagénico [58].

1.2.4 Acoplamiento molecular.

El *docking* o acoplamiento molecular es una técnica de pre-filtrado de moléculas con potencial actividad sobre una diana biológica de interés terapéutico; está enmarcada dentro del llamado diseño de fármacos basado en el receptor; para el desarrollo de esta estrategia se requiere en primera instancia el conocimiento previo de la estructura tridimensional de la macromolécula biológica que se quiere intervenir mediante acción farmacológica; para esto se requiere la elucidación de la estructura terciaria del receptor anteriormente mencionado, por medio de técnicas como la cristalografía de rayos X, y técnicas bidimensionales acopladas de resonancia magnética nuclear. Con base en esta información previa se pueden realizar estudios de interacción entre el posible fármaco de estudio y la diana biológica de interés terapéutico; esta labor se realiza gracias al compilado de estructuras 3D de proteínas, enzimas y receptores biológicos consignados en bases de datos como el PDB (Protein Data Bank), BRENDA (BRaunschweig ENzyme Database), entre otras. El protocolo general de trabajo con los receptores, para realizar la predicción mediante *docking molecular* se esquematiza en la ilustración 2.

Ilustración 2. Tratamiento del receptor para realizar *docking molecular*.

El tratamiento del ligando requiere la búsqueda de una conformación óptima para interactuar con el receptor; así pues, se realiza primero una optimización de la estructura molecular del compuesto de interés, esto se hace mediante paquetes computacionales que permitan este cálculo usando aproximaciones mecano-clásicas o mecano-cuánticas.

Por último, una vez hecho el pretratamiento del receptor y del ligando se realiza el acoplamiento en una zona específica de la macromolécula si se conoce el sitio activo o de interacción óptima con el compuesto a probar; así pues, generando un “grid” o caja imaginaria que encierra el sitio aceptor [59].

El *docking* molecular permite evaluar las diferentes interacciones cohesivas o disociativas entre el ligando y la proteína (o receptor molecular) algunas de estas pueden ser:

1. Fuerzas electrostáticas: Inherentes a la presencia de cargas. Usualmente se dan carga – carga, dipolo – dipolo y carga – dipolo.
2. Fuerzas electrodinámicas: Usualmente enmarcadas dentro de las fuerzas intermoleculares de Van der Waals.
3. Interacciones estéricas: Se dan por cercanía de dos moléculas o fragmentos estructurales; estas suelen afectar la reactividad química y ciertos aspectos conformacionales.
4. Fuerzas relacionadas con el disolvente: Como su nombre lo indica, se dan por presencia de un disolvente que está en contacto con las moléculas que interactúan.

Para evaluar estas interacciones y la energía de estabilidad del complejo Receptor – Ligando en términos de energía libre de Gibbs (ΔG) o de la constante de unión (K_d), se utiliza un campo de fuerza que en el software AutoDock está definido según la ecuación 1.

$$\Delta G = (V_{Enlace}^{L-L} - V_{No\ enlace}^{L-L}) + (V_{Enlace}^{R-R} - V_{No\ enlace}^{R-R}) + (V_{Enlace}^{R-L} - V_{No\ enlace}^{R-L} + \Delta S_{Conformacion})$$

Ecuación 1. Campo de fuerza para la determinación de la energía libre de Gibbs del complejo Receptor ligando. Donde V es la energía potencial. R hace referencia al receptor, L al ligando y ΔS al cambio de entropía.

Dependiendo del tipo de algoritmo utilizado para hallar las conformaciones óptimas que llevan a la determinación de la energía libre de unión R-L el campo de fuerza puede simplificarse aún más. Así pues, se pueden realizar aproximaciones donde tanto la macromolécula y el ligando pueden ser rígidos (solo se contemplan 3 grados de libertad rotacionales y traslacionales); donde el ligando es flexible mientras el receptor es rígido, o ambos pueden ser flexibles [60].

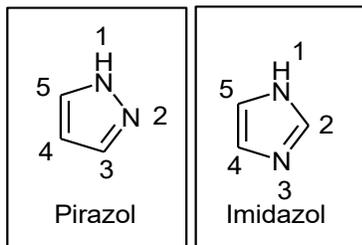
1.3 Núcleos heterocíclicos de interés.

En el desarrollo de esta tesis se llevaron a cabo reacciones de síntesis de compuestos heterocíclicos con cinco núcleos que resultaron de especial interés para la química medicinal; una breve introducción a sus propiedades físicas y químicas se desarrollará en esta sección.

1.3.1 Pirazoles.

▪ Estructura de los pirazoles.

Los pirazoles o 1,2 diazoles, son compuestos heterocíclicos de 5 miembros con 2 átomos de nitrógeno en posiciones vecinales; son isómeros de posición de los heteroátomos, de los bien conocidos imidazoles o 1,3-diazoles (Figura 1-12) [61].

Figura 1-12. Estructuras de los isómeros de posición 1,2 y 1,3 diazol (pirazol e imidazol).

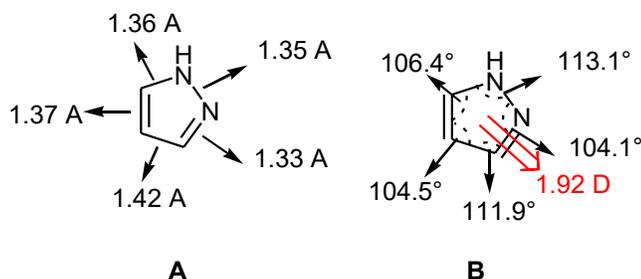
Los pirazoles al igual que su isómero de posición son compuestos aromáticos, cumpliendo la regla de Hückel ($4n+2$), el criterio de planaridad y presentando señales en resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono en las respectivas regiones de desplazamiento químico aromático ($^1\text{H-RMN}$: δ : 6 – 8 ppm y $^{13}\text{C-RMN}$: δ : 100 – 170 ppm) (Tabla 1).

Tabla 1. Desplazamientos químicos en resonancia magnética nuclear del pirazol.

Número de H o C	Desplazamiento químico $^1\text{H-RMN}$	Desplazamiento químico $^{13}\text{C-RMN}$
1	12.64	-
3	7.61	134.6
4	6.31	105.8
5	7.61	134.6

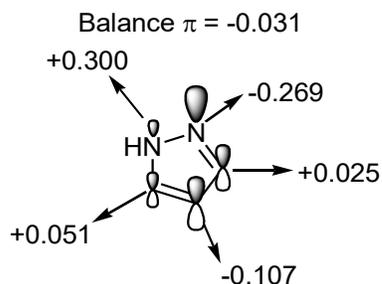
En cuanto a características como el momento dipolar, distancias y ángulos de enlace, estas fueron calculadas a partir de técnicas como espectroscopia de microondas; siendo el primero de estos parámetros con una magnitud de 1.92 D y una dirección desde el centro de la molécula hacia el enlace entre los átomos 2 y 3. Es de notar que el enlace entre las posiciones 3 y 4 es el más largo del sistema (Figura 1-13 A y B) [62].

Figura 1-13. A. Distancias de enlace en Å encontradas para el pirazol. **B.** Ángulos de enlace en grados (°) encontrados para el pirazol, en rojo se señala el momento dipolar neto de la molécula en Debyes (D)⁸.



En cuanto a la naturaleza electrónica del pirazol, se puede decir que este es un heterociclo π -excedente debido al criterio del número de electrones π deslocalizados endocíclicos con relación al número de átomos que conforman el ciclo; sin embargo, cálculos teóricos de la distribución de la nube electrónica en el anillo pirazólico (Figura 1-14), así como algunas de las reacciones que presentan dan cuenta de un carácter π -anfótero con sitios electro-excesivos y electro-deficientes [62].

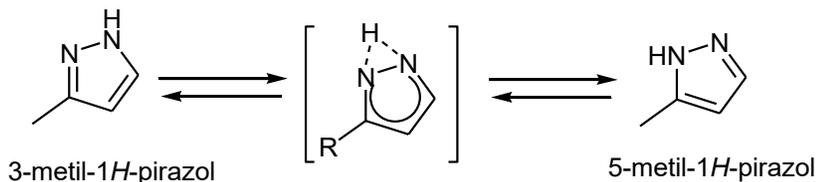
Figura 1-14. Carga π total y en cada átomo del anillo pirazólico; calculada mediante el método de orbitales moleculares de Hückel (HMO).



Dada la alta movilidad de carga dentro del anillo heterocíclico, se observa un fenómeno de tautomería $1H - 2H$, por lo cual, la posición del hidrógeno indicado en este compuesto podría ser tratado como un sistema de 3 centros y 2 electrones ($3c2e$) [63].

⁸ Adaptado de la referencia [61].

Esquema 1-1. Ejemplo de tautomería 1H – 2H del pirazol.



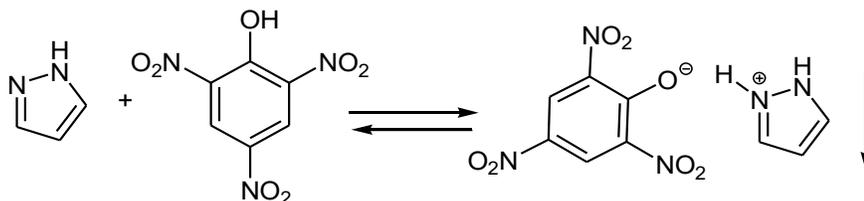
▪ **Reactividad de los pirazoles.**

Dadas las características electrónicas de este núcleo heterocíclico y su carácter aromático, estos pueden presentar las siguientes reacciones.

Reacciones ácido – base.

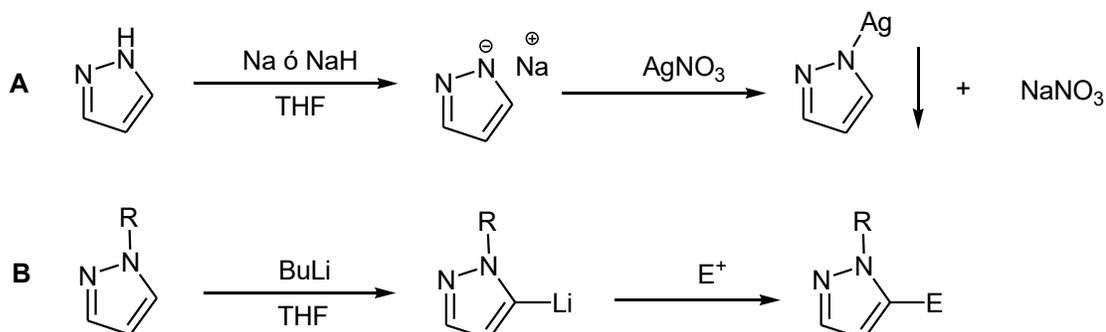
Dado que el pirazol contiene un átomo de nitrógeno de carácter azometínico, puede presentar un carácter básico de Bronsted, puesto que no compromete la conjugación del sexteto aromático que lo conforma. El ácido conjugado del pirazol posee un pKa de 2.52, lo que implica que es una base relativamente débil; es de notar que los pirazoles pueden ser precipitados como picratos de pirazolio (Esquema 1-2) [62].

Esquema 1-2. Reacción ácido – base entre el pirazol y el ácido pícrico.



Los pirazoles no sustituidos en la posición 1, presentan un carácter ácido de Bronsted, con un pKa de 14.21, esta acidez puede comprobarse experimentalmente por reacción de este núcleo con sodio metálico o hidruro de sodio generando el pirazol-1-uro de sodio, el cual, al ser tratado con una solución de nitrato de plata, genera el intercambio del metal. El producto de dicho intercambio resulta ser ligeramente soluble en agua (Esquema 1-3A). Si el pirazol está sustituido en el nitrógeno de la posición 1 se puede realizar una desprotonación del carbono 5 generando un carbanión altamente reactivo que puede ser usado como nucleófilo para la derivatización del anillo pirazólico en dicha posición (Esquema 1-3B) [63].

Esquema 1-3. Reacción de desprotonación del pirazol. **A.** *N*-desprotonación con sodio y luego precipitación por intercambio del metal. **B.** C-5 desprotonación con BuLi y posterior reacción con electrófilos.



Los *N*-metal pirazoles 5-sustituidos también son nucleófilos fuertes y dada la tautomería *1H-2H*, se presenta la deslocalización del anión y por tanto mezcla de productos en reacciones con electrófilos; un ejemplo de esto es la metilación de la sal sódica del 5-metil-1(2)*H*-pirazol (Esquema 1-4). Los *N*-aniones del pirazol pueden reaccionar para generar no solo los 1(2)-alquilpirazoles, sino también en procesos de acilación, metilsulfonación, metoxycarbonilación y trimetilsililación.

Esquema 1-4. Metilación de la sal sódica del 5(3)-metil-1*H*-pirazol.



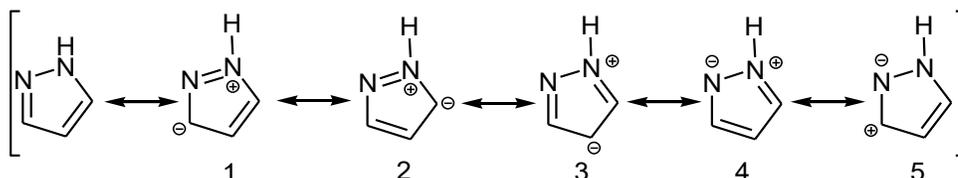
Reacciones de sustitución electrofílica aromática.

Siendo los pirazoles compuestos aromáticos π -excesivos, presentan reacciones de sustitución electrofílica aromática con cierta facilidad; sin embargo, a diferencia del benceno, todos sus átomos constituyentes no son equivalentes química ni electrónicamente, pues habrá posiciones preferenciales de reacción con electrófilos en este tipo de procesos.

Las posiciones más reactivas del pirazol son la posición 1 y 4; éstas están dadas por la acumulación de densidad electrónica sobre los átomos, sin embargo, al plantear las

formas canónicas de este compuesto (Esquema 1-5), esto no resulta fácilmente evidenciable.

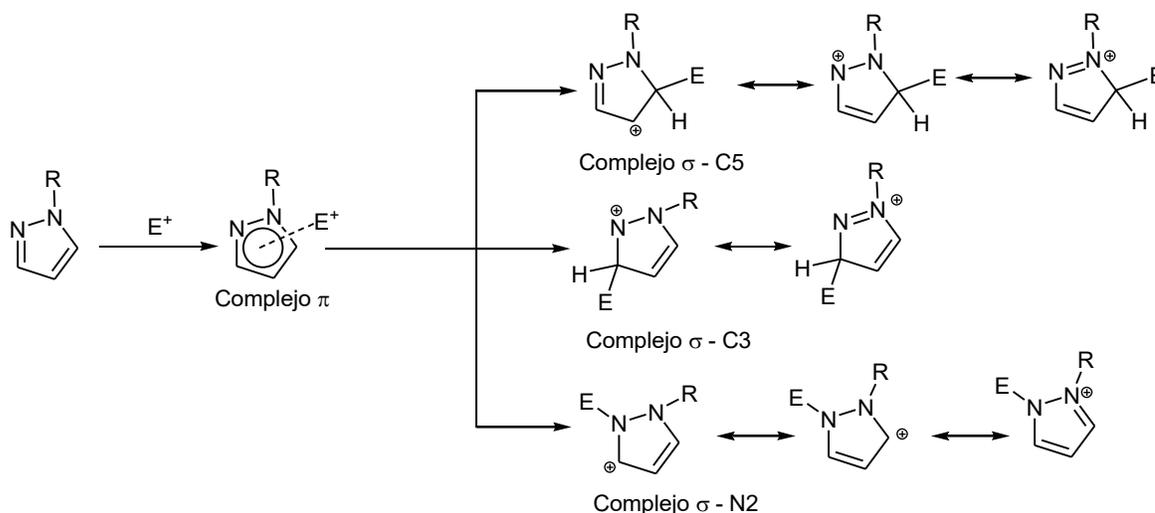
Esquema 1-5. Estructuras resonantes del pirazol.



En las estructuras resonantes del pirazol se observa que la forma aniónica puede estar presente en todas las posiciones de la molécula, sin embargo, de acuerdo con las reglas empíricas para el planteamiento de las estructuras de mayor contribución al híbrido de resonancia de una molécula conjugada. Las cuales dictan que según la ley de Coulomb, las cargas opuestas deben tener la mínima separación posible y que la carga debe estar depositada en un átomo con una electronegatividad concordante al signo de la carga [64]; siendo así, del esquema 1-5, podría decirse que las estructuras canónicas más contribuyentes al híbrido de resonancia serán **5**, **4** y **2**, por tanto, la carga estará mayormente estabilizada en estas estructuras; lo cual no necesariamente implica que sean las más reactivas, esto debido a que según el postulado de Hammond [65] será la cercanía de los intermedios o intermediarios en términos de energía libre al estado de transición, la que determine la estructura de este, y por tanto su energía interna.

Dado esto, se debe analizar la reactividad del pirazol en términos de la cinética, en este tipo de reacciones desde lo observado en la figura 1-14 de este documento, en donde se muestra que la densidad de carga negativa en el anillo se encuentra en las posiciones N-1 y C-4. En cuanto al componente termodinámico se debe analizar la estructura de los complejos σ -catiónicos no favorecidos (Esquema 1-6) y aquellos que sí lo son (Esquema 1-7) y que resultan claves en el mecanismo de este tipo de reacciones [64].

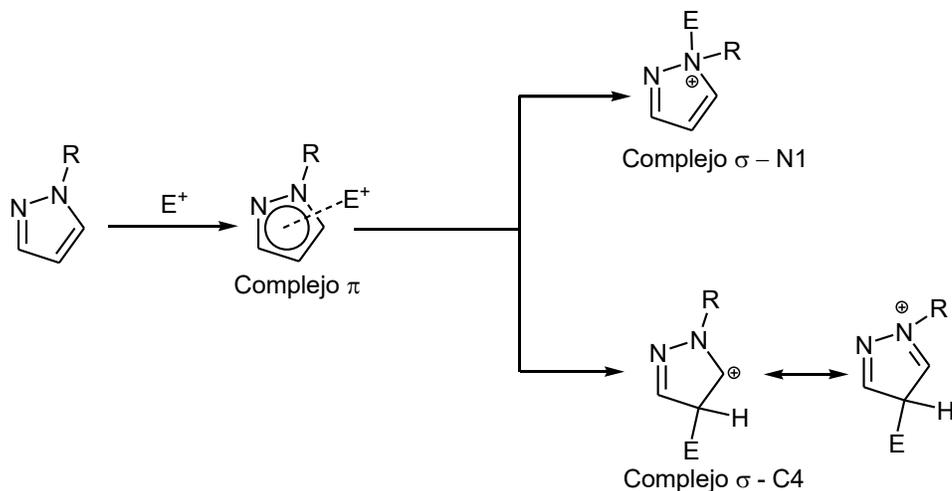
Esquema 1-6. Análisis de las estructuras resonantes de los complejos σ no favorecidos termodinámicamente.



En el esquema 1-6 se pueden observar los 3 complejos σ resultantes de la adición del electrófilo en las posiciones C-5, C-3 y N-2; en un pirazol 1-sustituido, los dos primeros conducen a una forma resonante donde se observa un catión ubicado en el nitrógeno 2 no cuaternizado; por lo tanto, incapaz de estabilizar esta carga positiva de forma eficiente; esto hace que el híbrido de resonancia sea altamente energético y por tanto desfavorecido en términos termodinámicos. El tercero de estos complejos σ es poco viable dado que la sustitución en la posición 1, no permite la eliminación de un hidrógeno para dar término a la reacción y por tanto simplemente resulta en la formación de la sal de pirazolio cuaternaria.

En contraste, el esquema 1-7 muestra las estructuras resonantes de los complejos σ resultantes de la adición de un electrófilo en las posiciones N-1 y C-4, en donde no se observan estructuras con cargas positivas depositadas en nitrógenos no cuaternizados, sin embargo, la primera de estas genera la desaromatización del sistema si esta posición esta sustituida, y por tanto un aumento bastante importante en la energía interna en este intermediario. Siendo así podemos decir que la única posición donde resulta favorable cinética y termodinámicamente la reacción S_EAr es en la posición del carbono 4 del pirazol y es allí donde la evidencia experimental lo demuestra.

Esquema 1-7. Análisis de las estructuras resonantes de los complejos σ favorecidos termodinámicamente.

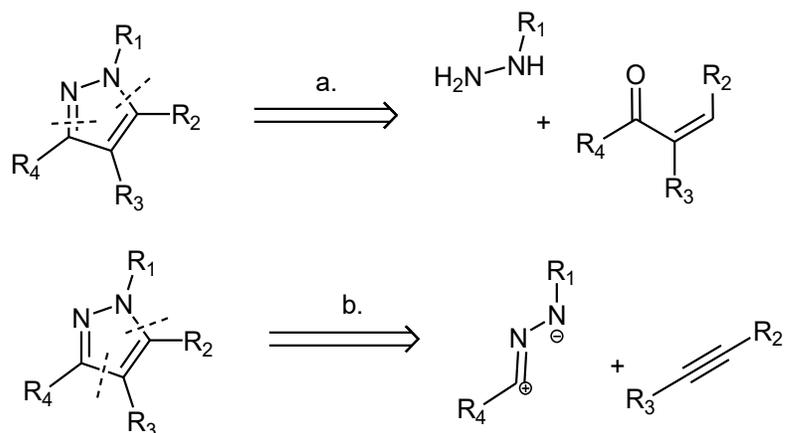


Además de la regioselectividad observada en las reacciones de sustitución electrofílica; es de notar que estas reacciones S_EAr en el pirazol proceden con velocidades comparables a las del benceno, el anión pirazolo reacciona mucho más rápido y el catión pirazolio más lentamente, sin embargo, dada la capacidad coordinante que tiene este heterociclo aromático, no se pueden llevar a cabo estas reacciones con catálisis metálica como se suele hacer con carbociclos aromáticos. Siendo así, las condiciones de reacción cambian significativamente [61].

- **Estrategias de síntesis de pirazoles.**

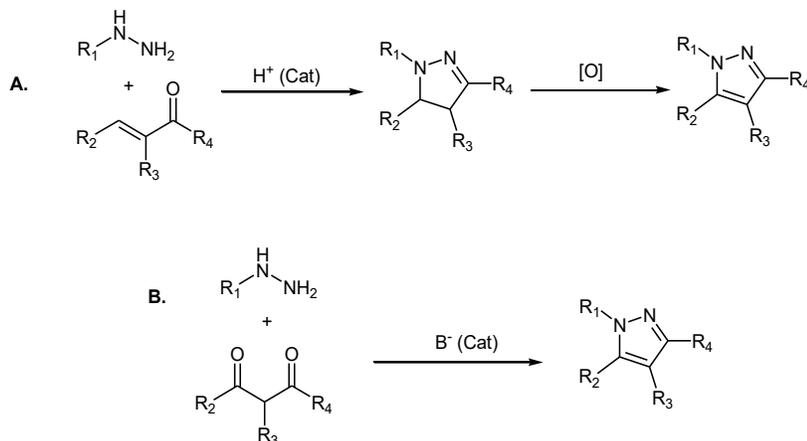
Clásica y principalmente los pirazoles pueden ser sintetizados mediante dos estrategias del tipo [3+2] (Esquema 1-8): la primera está basada en una estrategia de ciclocondensación de hidracinas con compuestos 1,3-dielectrófilos [62]. Dependiendo de este último, se puede requerir un posterior paso de oxidación.

La segunda estrategia se basa en una reacción de cicloadición 1,3-dipolar / dipolarófilo, entre nitrilimas y derivados acetilénicos [65]; según se requiera activar el compuesto dipolarófilo, puede requerir catálisis organometálica para llevar a cabo la reacción con buenos rendimientos.

Esquema 1-8. Análisis retrosintético para la síntesis clásica del pirazol.**Estrategia de ciclocondensación [3+2].**

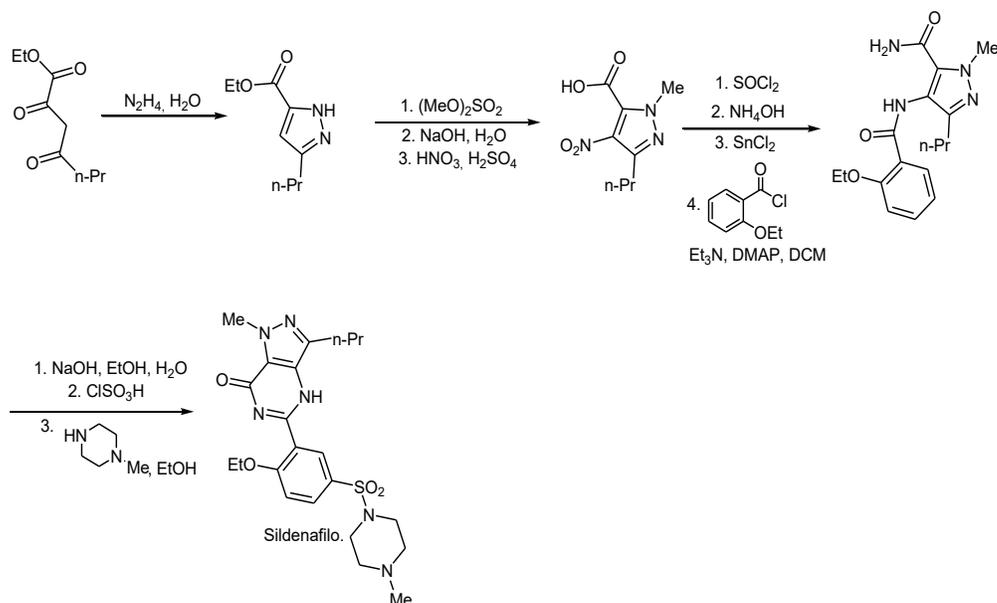
La estrategia [3+2] se realiza típicamente a partir de hidracinas monosustituidas y compuestos carbonílicos α,β -insaturados, produciendo 4,5-dihidro-1*H*-pirazólicos (pirazolinas)[66], que usualmente presentan oxidación espontánea al pirazol, esto en búsqueda de mayor estabilidad termodinámica dada la aromaticidad del producto obtenido (Esquema 1-9A). Cuando no se da esta autooxidación de las pirazolinas obtenidas, esta puede ser facilitada mediante calentamiento con nitrobenceno o por deshidrogenación con paladio soportado sobre carbono, o por oxidación con agentes suaves como DDQ o disolventes halogenados, usualmente tetracloruro de carbono. Cuando la ciclocondensación se realiza sobre sustratos 1,3-dicarbonílicos, no se requiere ulterior oxidación dado que se tiene desde el inicio el grado de insaturación adecuado para obtener el producto aromático (Esquema 1-9B).

Esquema 1-9. A. Ciclocondensación de hidracinas sustituidas con compuestos carbonílicos α,β -insaturados y posterior oxidación de la pirazolina obtenida. **B.** Ciclocondensación directa de hidracinas con compuestos 1,3-dicarbonílicos.



Esta estrategia resulta bastante versátil para la construcción de moléculas de relativamente alta complejidad estructural con el núcleo pirazólico en su estructura; un ejemplo de esto es la síntesis del fármaco Sildenafil, usando esta estrategia (Esquema 1-10)[67].

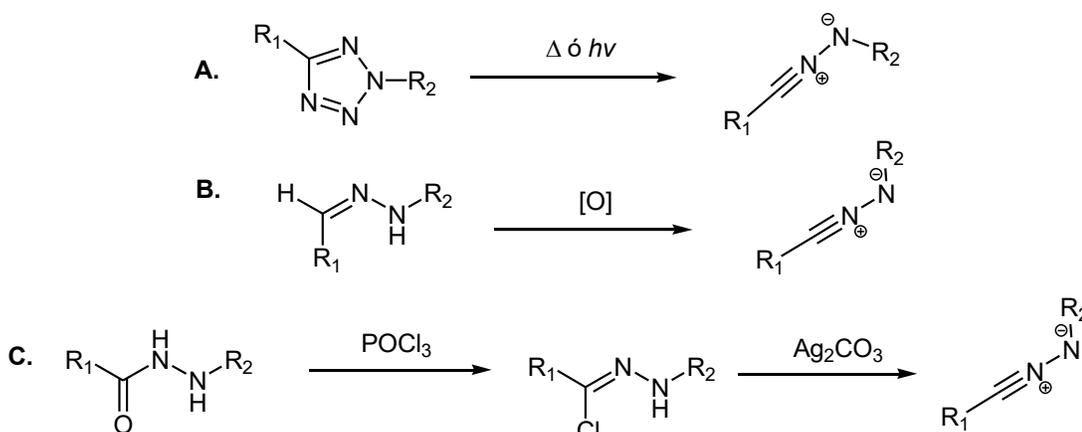
Esquema 1-10. Síntesis del fármaco Sildenafil usando la estrategia de ciclocondensación [3+2] para la obtención del núcleo pirazólico.



Estrategia de cicloadición [3+2] dipolar / dipolarófilo.

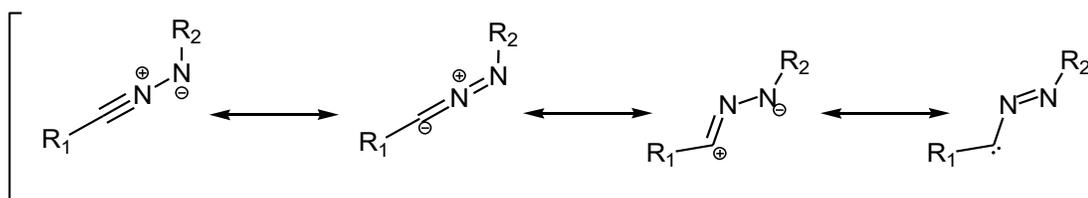
La síntesis de pirazoles mediante esta estrategia se realiza mediante calentamiento de nitrilimas en presencia de compuestos derivados del acetileno. Se puede catalizar dicha reacción mediante la adición de metales. La generación del compuesto 1,3-dipolar se realiza por termólisis de 1,2,3,4-tetrazoles (Esquema 1-11A) [68], oxidación catalítica de hidrazonas provenientes de aldehídos (Esquema 1-11B) [69] o por deshidrohalogenación de cloruros de hidrazonoilo (Esquema 1-11C) [70].

Esquema 1-11. Formación de nitrilimas por **A.** Descomposición de tetrazoles. **B.** Oxidación de hidrazonas. **C.** Deshidrohalogenación de cloruros de hidrazonoilo.



Estas nitrilimas son moléculas con un alto grado de deslocalización electrónica; se tienen cuatro formas canónicas planteadas: propargílica, alénica, 1,3-dipolar y carbenoide (Esquema 1-12), de las cuales la tercera es la más reactiva en cicloadiciones útiles para la síntesis de pirazoles.

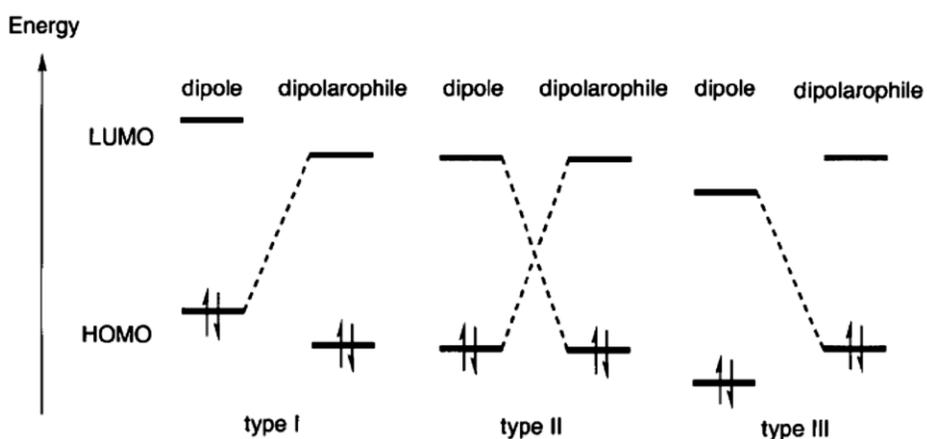
Esquema 1-12. Formas resonantes de las nitrilimas.



El mecanismo de reacción, (como toda cicloadición) es concertado y depende de la interacción de los orbitales frontera HOMO y LUMO de los sustratos (dipolo y dipolarófilo), dependiendo de la naturaleza de estos y la diferencia de energía entre los FMO estas reacciones pueden ser de tres tipos: Reacciones con demanda electrónica

normal, es decir, cuando el HOMO del alquino o imiduros de nitrilo interactúa con el LUMO del sustrato 1,3-dipolar. II) Reacciones con demanda electrónica mixta, cuando la energía de los FMO es bastante cercana e interactúan HOMO y LUMO de ambos sustratos. III) Reacciones con demanda electrónica inversa que en contraste con el primer tipo el HOMO del sustrato dipolar interactúa con el LUMO del sustrato acetilénico (Figura 1-) [71].

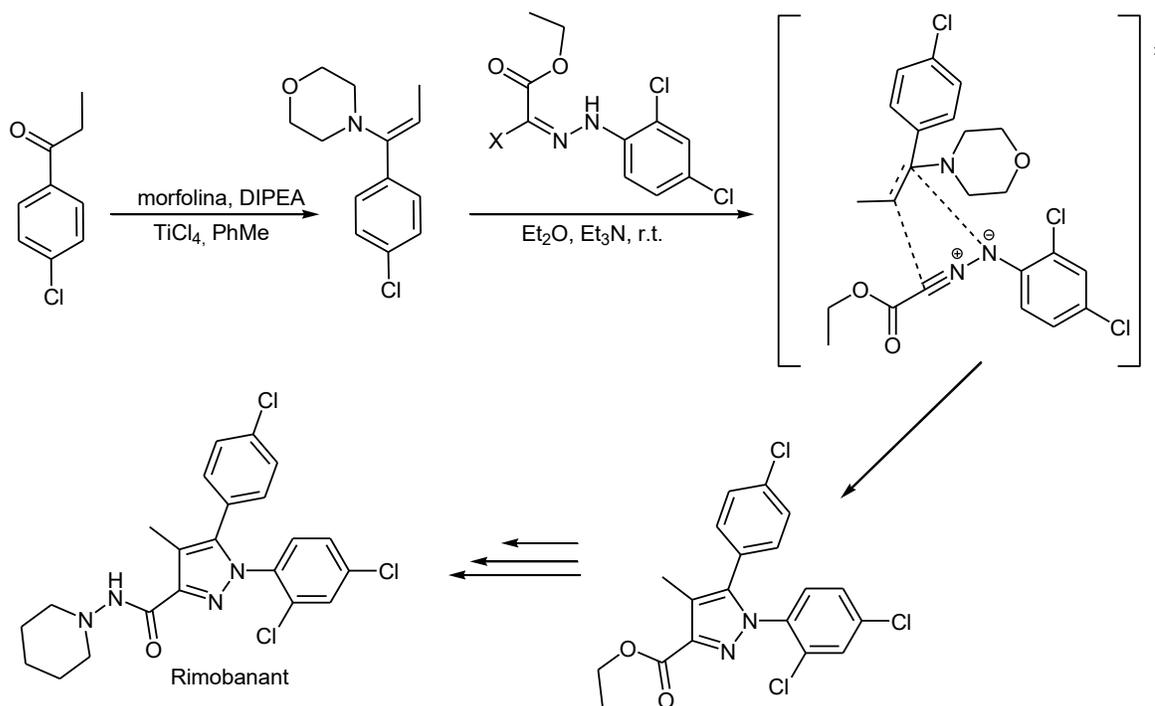
Figura 1-15. Tipos de cicloadición 1,3-dipolar con base en la diferencia de energía en los orbitales moleculares frontera de los sustratos⁹.



Esta metodología sintética resulta bastante conveniente dada la alta selectividad y buenos rendimientos que pueden obtenerse de este tipo de reacciones. Un ejemplo de la versatilidad de esta vía es la obtención del fármaco contra la obesidad Rimonabant (Esquema 1-16) [72].

⁹ Tomado de la referencia [70].

Esquema 1-13. Síntesis de Rimobanant mediante la estrategia de cicloadición 1,3-dipolar¹⁰.



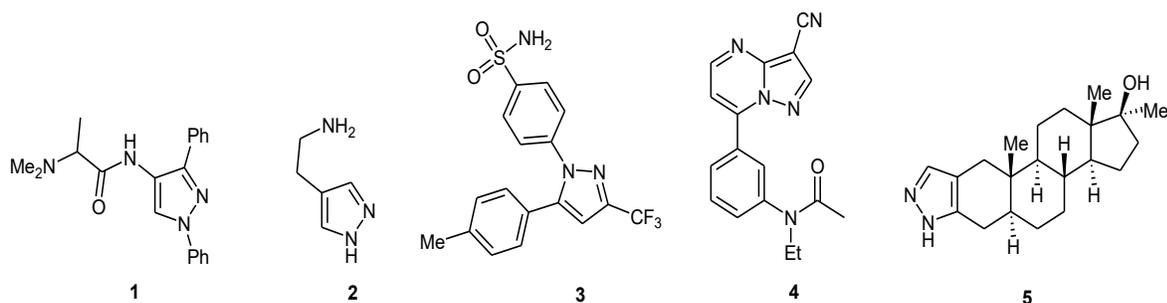
▪ Actividad biológica de los pirazoles.

Los pirazoles son núcleos comunes a muchos fármacos en el mercado, este núcleo heterocíclico está presente en una amplia gama de actividades terapéuticas que van desde AINEs como el Difenamizol (**1**), antihistamínicos como el Betazol (**2**) que resulta bloqueador del receptor H_2 , tienen función como antiartríticos por inhibición de COX-2, ejemplo de esto es el Celecoxib (**3**), también como el Zaleplon (**4**) que es un compuesto pirazolopirimidinico usado como agente hipnótico [62]. El 4-metilpirazol (Fomepizol), se ha usado recientemente para el tratamiento en la intoxicación con metanol dada la capacidad inhibitoria del fármaco de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) [73], se reporta también un uso del derivado pirazoloesteroidal Stanozolol (**5**) como esteroide anabólico (ahora prohibido por la FDA) [74] además del anteriormente mencionado Rimobanant, agente anorexigénico usado para el tratamiento de la obesidad por su agonismo inverso de los receptores cannabinoides CB_1 [72], y el Sildenafil [67] más conocido por el nombre de Viagra[™] usado para el tratamiento de la disfunción eréctil por

¹⁰ Adaptado de la referencia [71].

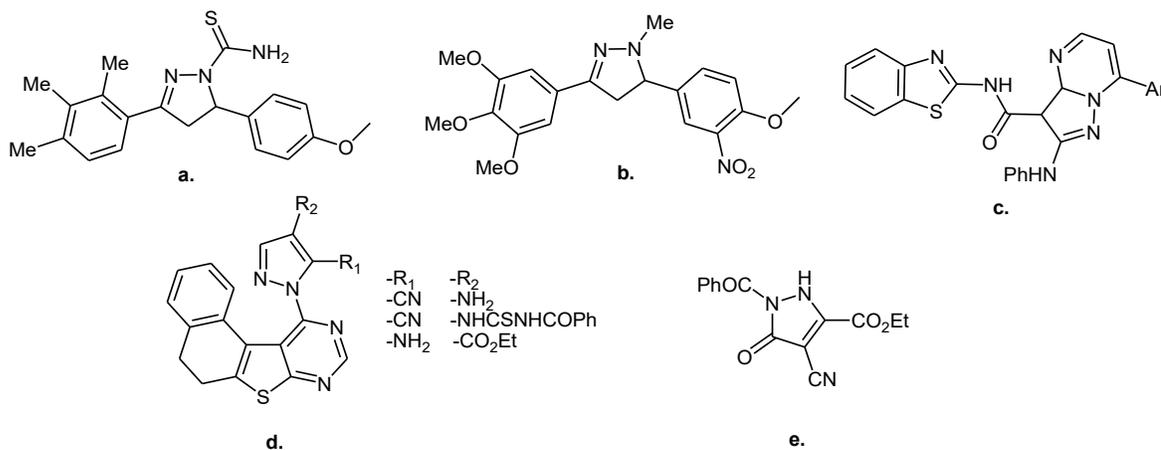
inhibición selectiva de la enzima fosfodiesterasa tipo 5 PDE₅, son claros ejemplos de esta gran variedad de actividad farmacológica de este núcleo (Figura 1-16).

Figura 1-16. Estructuras de algunos fármacos comerciales que contienen el núcleo pirazólico.



Además de los fármacos ya disponibles en el mercado que contienen este núcleo heterocíclico, nuevos compuestos pirazólicos han sido sintetizados recientemente con la idea de evaluar su potencial actividad biológica en diversos campos de acción farmacológica. Algunas aplicaciones incluyen actividad como antagonistas de receptores CB-1 (AM6538) [75]; antitumorales que actúan como antiproliferativos (Figura 1-17a) [76], agentes anti angiogénesis [77], e inhibidores de la enzima quinasa dependiente de ciclina [78] [79]; también se han sintetizado pirazoles con actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina-I (Figura 1-17b) [80], también se han encontrado evidencias de actividad antimicrobiana de compuestos de núcleo pirazólico como antifúngicos (Figura 1-17c) contra *A. fumigatus*, *S. cerevisiae*, *C. albicans*, *A. niger* y *F. Oxysporum*, con actividad comparable al Cloramfenicol y la Estreptomina [81] [82], como antibacterianos contra *S. aureus*, *S. typhi*, *E. coli* [82] [83], *E. faecalis*, *P. aeuroginosa* [84], se ha encontrado también actividad antiviral [85] [86] para compuestos de núcleo pirazólico (Figura 1-17d). Se han sintetizado también pirazoles con actividad antiinflamatoria [83] [85], además de actividad sobre SNC, como antidepresivos y anticonvulsivantes [87] [88] (Figura 1-17e).

Figura 1-17. Algunos ejemplos de compuestos de núcleo pirazólico en estudios de actividad biológica en diversos campos terapéuticos.

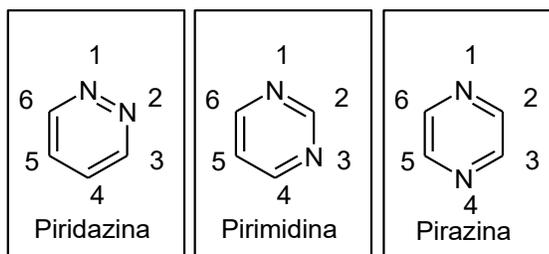


1.3.2 Pirimidinas.

▪ Estructura de las pirimidinas.

El anillo de pirimidina está incluido dentro del grupo de los heterociclos aromáticos de tipo 1,3-diazina, es decir un anillo de seis miembros con nitrógenos en las posiciones relativas 1,3. Es un isómero de posición de heteroátomo de los compuestos piridazina (1,2-diazina) y pirazina (1,4-diazina) (Figura 1-18) [63].

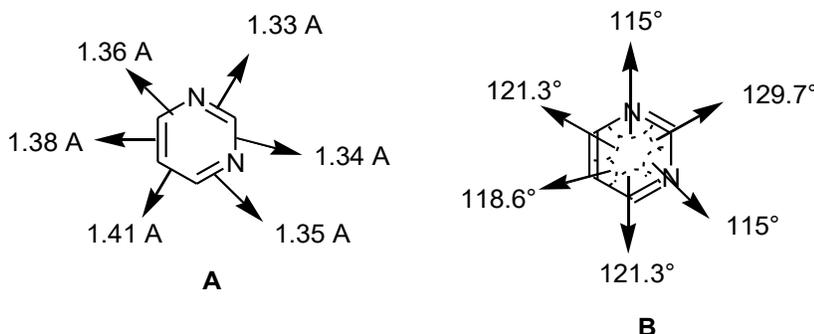
Figura 1-18. Estructura de los isómeros de posición de heteroátomo piridazina, pirimidina y pirazina.



Como se mencionó anteriormente, las pirimidinas son compuestos aromáticos dado que cumplen el criterio de Hückel ($4n + 2$), son anillos planares y todos los electrones π endocíclicos están en resonancia generando una corriente interna en el anillo [64].

De acuerdo con estudios de difracción de rayos X, la pirimidina a nivel estructural se puede visualizar como un hexágono distorsionado con longitudes de enlace que oscilan entre 1.33 y 1.41 Å, y ángulos de enlace desde 115° hasta 129.7° (Figura 1-19) [62].

Figura 1-19.A. Distancias de enlace en Angstrom encontradas para el anillo pirimidínico. **B.** Ángulos de enlace de la pirimidina.



Se aprecian en resonancia magnética nuclear, tanto de protón como de carbono, tres señales a campo más bajo en comparación con el pirazol (Tabla 2), dando un indicio claro del grado de desprotección inducido por la corriente anisotrópica de la resonancia de los electrones π de este anillo.

Tabla 2. Desplazamientos químicos de la pirimidina en $^1\text{H-RMN}$ y $^{13}\text{C-RMN}$.

Número de H o C	Desplazamiento químico $^1\text{H-RMN}$	Desplazamiento químico $^{13}\text{C-RMN}$
2	9.26	158.4
4/6	8.78	156.9
5	7.36	121.9

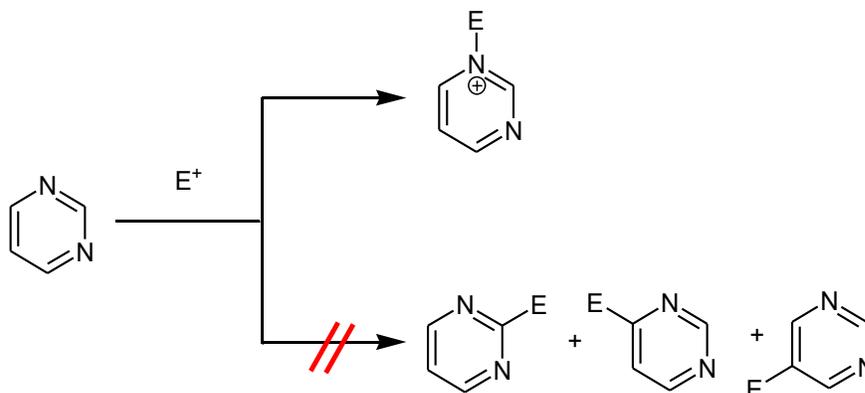
▪ Reactividad de las pirimidinas.

Reacciones de sustitución electrofílica aromática S_{EAr} .

El anillo pirimidínico presenta la reactividad típica de los anillos aromáticos π -deficientes, esto debido a su naturaleza de heteroareno desactivado; esta reactividad es comparable con la del 1,3-dinitrobenceno. Por esta razón, las reacciones que presenta con electrófilos en procesos de sustitución electrofílica aromática (S_{EAr}) son limitadas y requieren condiciones fuertes para su consecución. Es tanto así, que las pirimidinas reaccionan con electrófilos en las posiciones nitrogenadas en reacciones de alquilación o

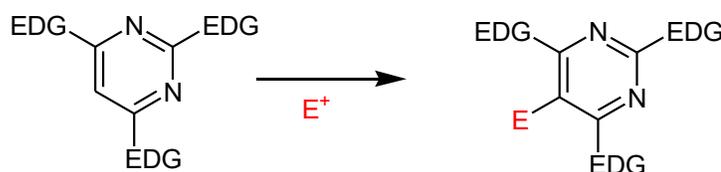
protonación sin comprometer el sexteto electrónico aromático, esto implica que no suele haber reacción en los carbonos de la estructura (Esquema 1-14) [63].

Esquema 1-14. Reactividad usual de las pirimidinas con electrófilos.



En aras de incrementar la reactividad del anillo pirimidínico en procesos de sustitución electrofílica aromática, se requiere la introducción de sustituyentes electrodonores en el anillo ($-NH_2$, $-OH$); usualmente dos sustituyentes activadores incrementan la reactividad S_EAr hasta igualarla con la del benceno, mientras que tres, la hacen comparable con la del fenol, permitiendo reacciones de nitración, nitrosación, entre otras. Todas en la posición 5 del anillo (Esquema 1-15) [62].

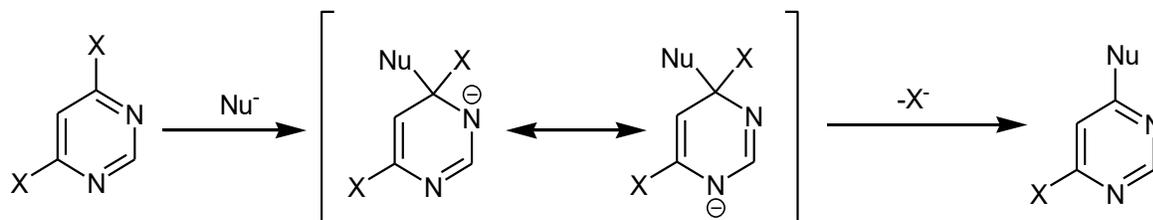
Esquema 1-15. Reacción de las pirimidinas de alto grado de activación con electrófilos.



Reacciones de sustitución nucleofílica aromática S_NAr .

Dado el carácter π -deficiente del anillo pirimidínico, las reacciones de sustitución nucleofílica con pérdida de grupos salientes como halógenos e incluso hidruro, se ven altamente favorecidas en las posiciones C-4/C-6 y C-2, siendo las dos primeras las cinéticamente más favorecidas en este tipo de procesos (Esquema 1-16) [62].

Esquema 1-16. Reacción general de sustitución nucleofílica aromática (S_NAr) de pirimidinas halogenadas¹¹.

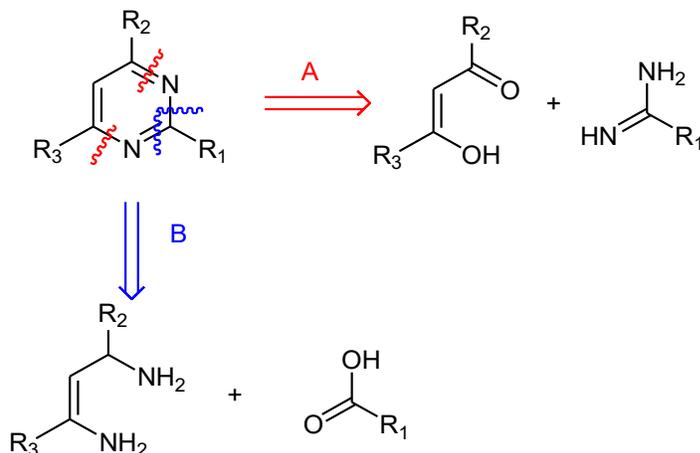


▪ Síntesis de pirimidinas.

El análisis de desconexiones permite visualizar dos rutas generales para la síntesis de pirimidinas, la primera de estas involucra la ciclocondensación de compuestos 1,3-dicarbonílicos (o carbonilos α - β insaturados) con derivados de tipo amidina (Esquema 1-17A). La segunda desconexión conlleva la reacción entre 1,3-diamino olefinas con compuestos derivados de ácidos carboxílicos (Esquema 1-17B) [62].

Compuestos 1,3-dioxigenados o sus equivalentes sintéticos, pueden reaccionar con reactivos dinitrogenados como son ureas, tioureas, amidinas y guanidinas, obteniéndose 2-pirimidonas, 2-tiopirimidonas, 2-alkilpirimidinas y 2-aminopirimidinas respectivamente; al tener como sustratos dioxigenados, β -cetoésteres, se obtendrán pirimidin-4(3*H*)-onas.

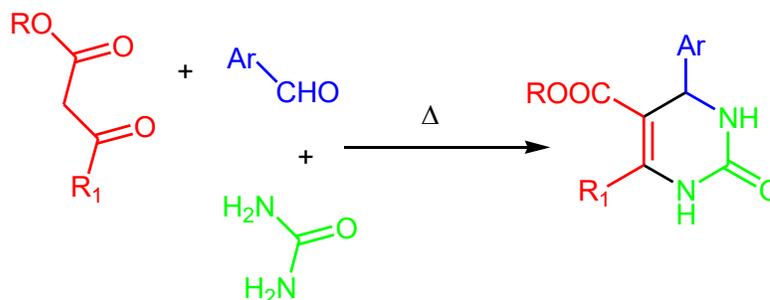
Esquema 1-17. Análisis retrosintético para la obtención de pirimidinas.



¹¹ Adaptado de la referencia [61].

Un caso especial donde se puede formar *in situ* el compuesto 1,3-dielectrofilo es la reacción tricomponente de Biginelli [89]. En esta reacción, el proceso consiste en el tratamiento en medios ácidos o básicos de ésteres acetoacéticos, aldehídos y urea para la obtención de 2-pirimidinonas carboxialquiladas (Esquema 1-18), generándose el núcleo pirimidínico en un único proceso.

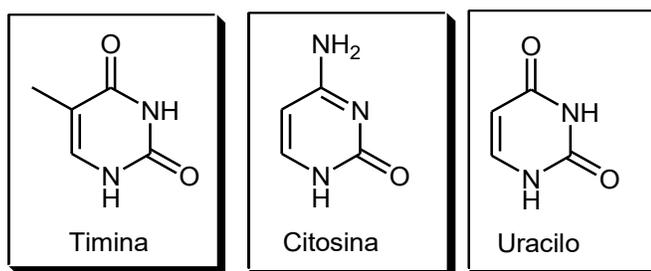
Esquema 1-18. Reacción tricomponente de Biginelli para la síntesis de pirimidin-2(1*H*)-onas¹².



▪ **Actividad biológica de las pirimidinas.**

Este núcleo heterocíclico es bien conocido, dada su presencia como parte de las bases nitrogenadas constituyentes del ADN y el ARN, estas son, la timina, la citosina y el uracilo (Figura 1-20); además de estar presente en la estructura de otras biomoléculas como son las vitaminas [90].

Figura 1-20. Estructura de las bases nitrogenadas pirimidínicas presentes en el ADN y ARN.



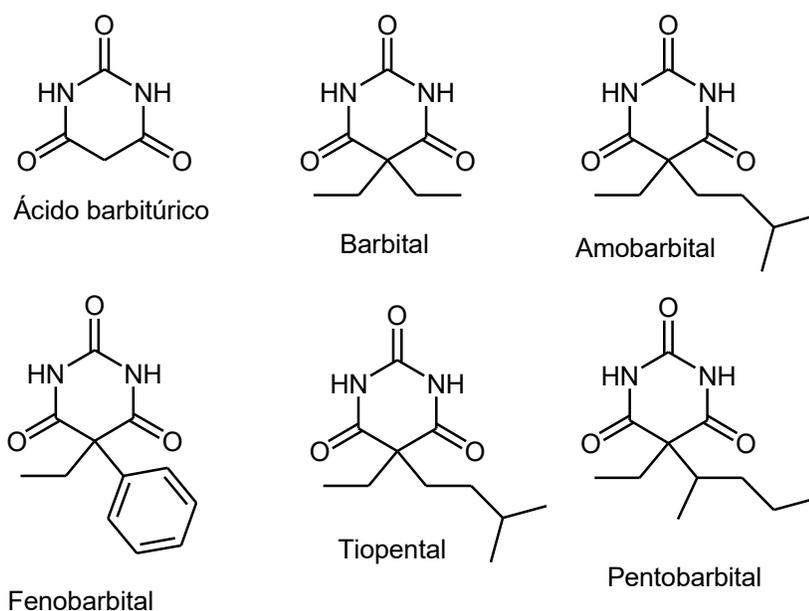
Dada su presencia natural dentro de los sistemas biológicos; el núcleo pirimidínico ha sido estudiado ampliamente dentro del campo de la química medicinal. Esto ha permitido el descubrimiento de moléculas con este heterociclo en su estructura con gran diversidad

¹² Adaptado de la referencia [88].

en cuanto a su actividad farmacológica; incluyendo desde efectos neuro-protectores evitando el posible progreso de enfermedades degenerativas como la demencia de Alzheimer [91], inhibidores de la angiogénesis [92], hasta compuestos pirimidínicos con actividad antiepiléptica [93] e incluso antimicrobiana [94][95], antiviral [96][97], antimalárica [98] entre otras [21].

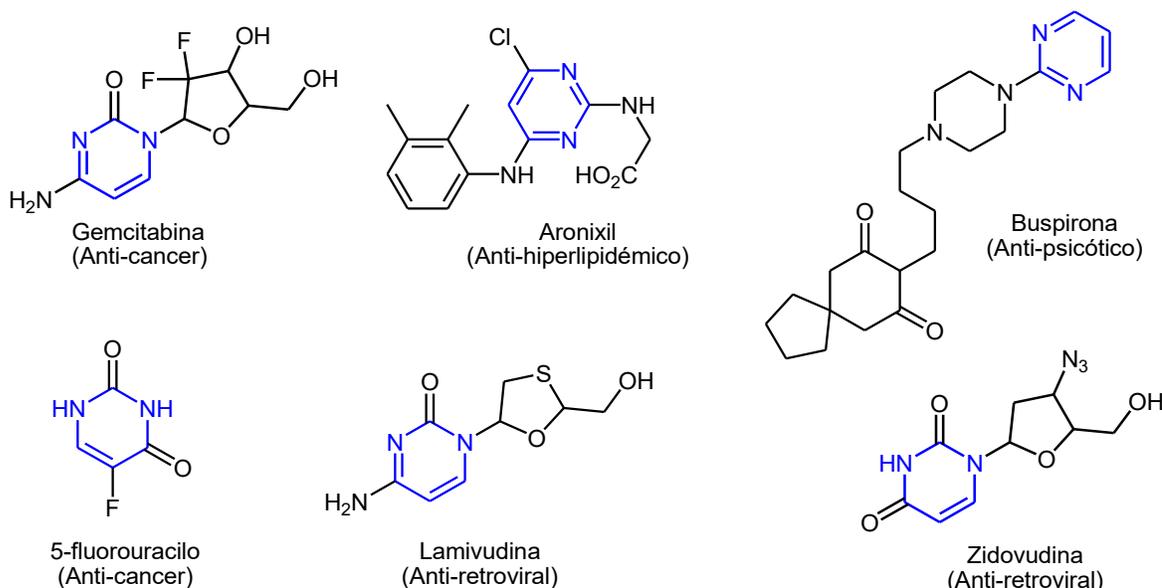
Es de notar un uso especialmente reconocido de estos compuestos y es el de agentes sobre SNC como sedantes, hipnóticos y en general como agentes depresores a nivel central, siendo estos los derivados del ácido barbitúrico (Figura 1-21), de los cuales se conoce además diversos mecanismos de acción donde se involucran dianas moleculares como suelen ser receptores acoplados a proteínas G, canales iónicos y receptores GABA [99].

Figura 1-21. Estructura de algunos derivados barbitúricos de reconocida actividad depresora del SNC.



Tanto es el potencial medicinal que tiene este núcleo heterocíclico, que diversos fármacos aprobados, comercializados y con amplio uso en terapéutica contienen este fragmento heterocíclico; ejemplos de algunos de estos fármacos y sus usos se presentan en la figura 1-22.

Figura 1-22. Algunos fármacos comerciales con el núcleo de pirimidina en su estructura (Señalado en azul).

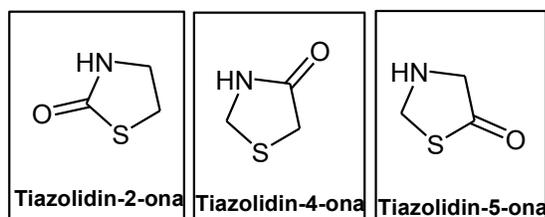


1.3.3 Tiazolidin-4-onas.

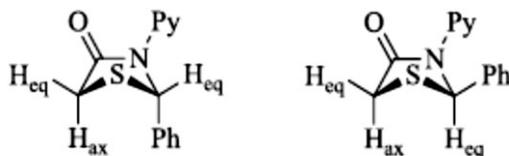
- **Estructura de las tiazolidin-4-onas.**

Las tiazolidin-4-onas son oxo-derivados de las tiazolidinas; es decir, heterociclos de cinco miembros azufrados y nitrogenados en posiciones relativas 1,3. Siendo así, las distintas formas isoméricas dependen de la posición del grupo carbonilo (Figura 1-23).

Figura 1-23. Estructuras isoméricas de las tiazolidinonas.



Dado que son heterociclos saturados, tienen una relativamente alta flexibilidad conformacional. Esto les confiere algunas características termodinámicas interesantes. Observaciones espectroscópicas en la región del infrarrojo lejano dan cuenta de la no-planaridad de estos ciclos y una preferencia por la conformación de semisilla (Figura 1-24) con barreras de interconversión de aproximadamente 0.5 kJ/mol [100].

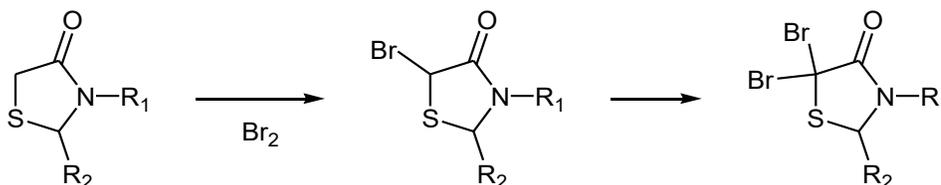
Figura 1-24. Conformación de semisilla adoptada por las tiazolidin-4-onas [101]¹³.

Los conformeros más estables de estos compuestos que contribuyen de forma diferencial a los desplazamientos químicos en ¹H-RMN de los hidrógenos de la posición 5 del anillo se muestran a continuación (Figura 1-25) [101].

Figura 1-25. Proyección de Newman de dos conformeros del anillo tiazolidin-4-ona inequivalentes en RMN.

▪ Reactividad de las tiazolidin-4-onas.

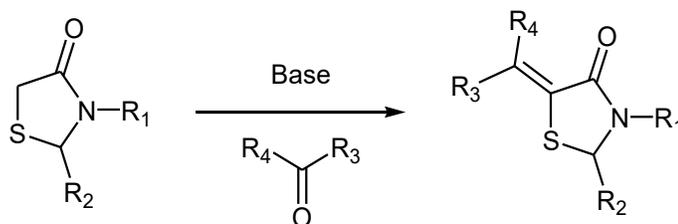
Los anillos de tipo tiazolidin-4-onas presentan reacciones en el carbono α al acilo lactámico, una de estas es la halogenación, la cual se realiza en condiciones favorables para la generación de las especies radicalarias necesarias para que se dé el proceso (Esquema 1-19) [100].

Esquema 1-19. Reacción de mono y dibromación de la posición 5 de tiazolidin-4-onas.

Otra reacción que presentan estos heterociclos es la condensación con compuestos carbonílicos de segundo orden (aldehídos y cetonas), usualmente en medio básico y de nuevo, en la posición α al acilo lactámico (Esquema 1-20) [100].

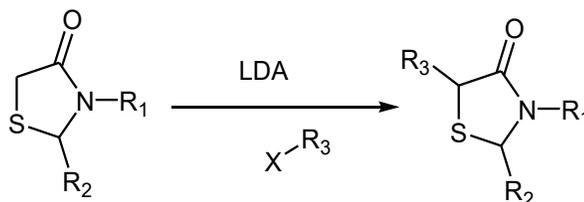
¹³ Imagen tomada de la referencia [88].

Esquema 1-20. Reacción de condensación entre tiazolidin-4-onas con compuestos carbonílicos.



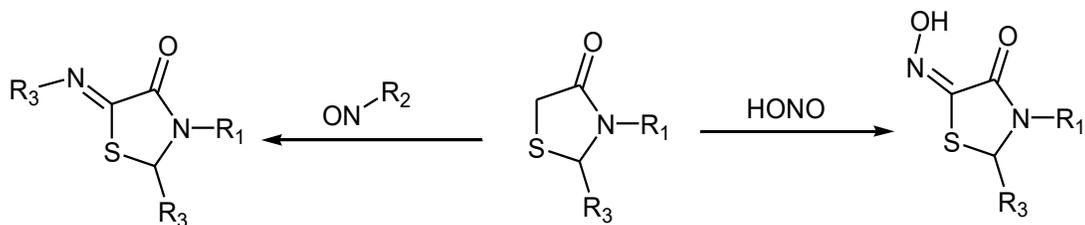
Esta posición α a la posición lactámica es también funcionalizable mediante reacción con agentes alquilantes en presencia de bases fuertes no nucleofílicas, como amiduros de litio (LDA o LTMP), como se presenta en el esquema 1-21.

Esquema 1-21. Reacción de alquilación de la posición 5 del anillo tiazolidin-4-ona.



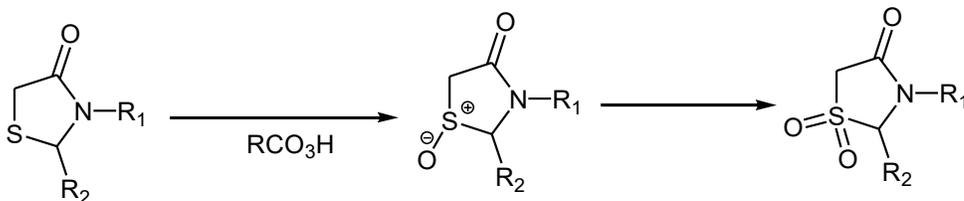
Así mismo, estos heterociclos pueden reaccionar con ácido nitroso o nitroso-compuestos orgánicos en la posición 5 del anillo para formar oximas (en el primer caso) con rendimientos moderados; o iminas por ataque nucleofílico del carbanión formado en la posición α -acíclica sobre el grupo nitrosilo y posterior deshidratación de este (Esquema 1-22) [102].

Esquema 1-22. Reacción de las tiazolidin-4-onas con derivados de ácido nitroso.



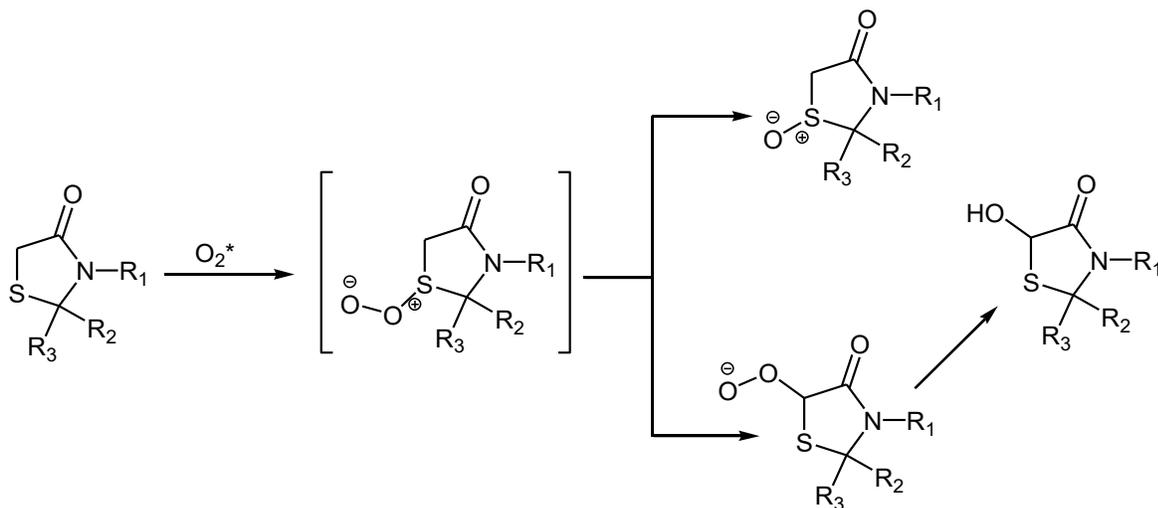
Tiazolidin-4-onas, N-3 sustituidas presentan reacción de oxidación selectiva al azufre por acción de peroxiácidos, el grado de oxidación está dado por el potencial de reducción del agente oxidante, llegándose a obtener sulfóxidos o en condiciones más severas se da la obtención de sulfonas (Esquema 1-23) [100].

Esquema 1-23. Reacción de oxidación de las tiazolidin-4-onas para la obtención de sulfonas y sulfóxidos.



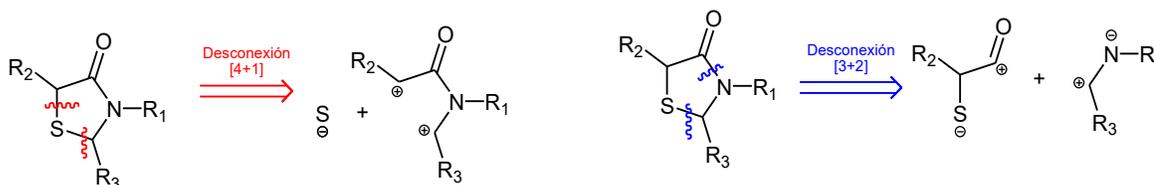
Otra reacción de oxidación de estos compuestos es la formación de 5-hidroperóxidos; las condiciones para esta transformación requieren la presencia de oxígeno singlete y pueden producir como subproducto el derivado de tipo sulfóxido dependiendo de los sustituyentes; se presume que el mecanismo de formación de ambos productos va vía tiodioxaniduro (Esquema 1-24); es de notar que el hidroperóxido se descompone a la 5-hidroxi-tiazolidin-4-ona, más estable, y con un mayor valor sintético [100].

Esquema 1-24. Oxidación de tiazolidin-4-onas por acción de oxígeno singlete.



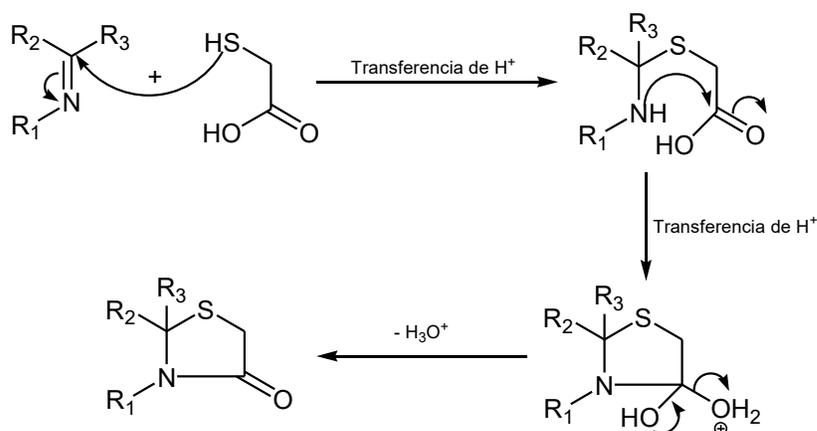
▪ Síntesis de tiazolidin-4-onas.

La síntesis de tiazolidin-4-onas se puede racionalizar mediante desconexiones de tipo [4+1] o [3+2] (Esquema 1-25), siendo más típicas estas últimas. A continuación, se enunciarán algunos ejemplos de síntesis mediante desconexiones [3+2].

Esquema 1-25. Análisis retrosintético para la obtención de tiazolidin-4-onas.**Estrategias de síntesis [3+2].**

Reacciones entre iminas y ácido mercaptoacético (MAA), han sido ampliamente reportadas para la síntesis de este tipo de compuestos heterocíclicos. Se ha planteado que el mecanismo de esta reacción inicia con el ataque nucleofílico desde el grupo tiol del MAA sobre el carbono electrofílico de la base de Schiff, el siguiente paso es la desprotonación del grupo tiol protonado, por último se da un cierre lactámico de tipo 5-*exo-trig* con pérdida de agua para generar el heterociclo azólico (Esquema 1-26) [101].

Esquema 1-26. Mecanismo de formación del anillo tiazolidinónico por ciclocondensación de ácido mercaptoacético (MAA) y bases de Schiff.



Una mejora en cuanto a los principios de la química verde, que se hizo a la aproximación sintética previamente descrita, es la generación *in situ* de la base de Schiff, se hace entonces una reacción tricomponente involucrando una amina, un compuesto carbonílico de segundo orden y MAA. El mecanismo de esta reacción se plantea prácticamente igual que el mostrado en el esquema 1-26, simplemente se da la adición nucleofílica de la amina sobre la cetona o aldehído para generar la especie reactiva de tipo azometino.

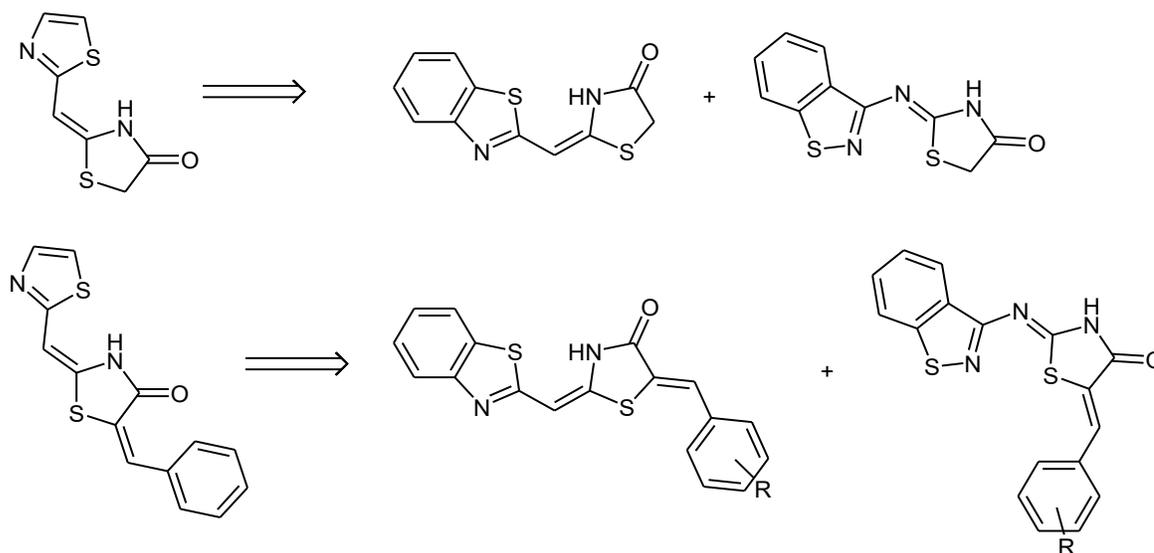
Las bases de Schiff usadas para la ciclocondensación, ya sea de tipo di- o tricomponente, son variables, van desde derivados de tipo hidrazona, N-alquiliden o ariliden-(tio)ureas, hasta cetiminas o aldiminas, siendo estas últimas quienes usualmente generan mayores rendimientos en la síntesis, esto dada su reactividad diferencial [101].

Aunque estas dos estrategias sintéticas son las más usadas; en los últimos años, diversos reportes dan cuenta de un sinnúmero de modificaciones en las condiciones de reacción, que pueden aplicarse a estas dos reacciones clásicas; entre ellas se encuentran el uso de líquidos iónicos como disolventes; ejemplo de esto es el [BMIM][PF₆] (hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio) [103] el uso de metodologías libres de disolvente [104] e irradiación por microondas [105], entre otros

▪ **Actividad biológica de las tiazolidin-4-onas.**

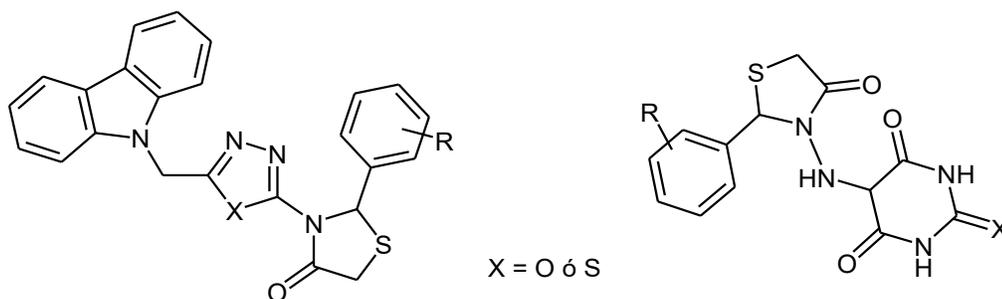
El núcleo tiazolidin-4-ona, puede considerarse una estructura privilegiada, esto dada su amplia versatilidad de bioactividades aprovechables en el campo de la química medicinal. Algunas tiazolidin-4-onas han sido reportadas como potentes inhibidores de la enzima bacteriana Mur-B; implicada en la biosíntesis del peptidoglicano estructural de la pared celular de las bacterias [106]; además se ha publicado en años recientes, derivados de tipo benciliden tiazolidinónico diseñados mediante herramientas de tipo QSAR para la disminución de la patogenicidad de microorganismos de carácter bacteriano por inhibición de sistemas de excreción de proteínas que promueven la capacidad de transmisión de estos patógenos (Esquema 1-27) [107].

Esquema 1-27. Derivados de tiazolidin-4-onas diseñados por QSAR como antimicrobianos.



Se han publicado también algunos derivados de tipo tiazolidin-4-onas con actividad anticonvulsivante [108] evaluada *in vivo* en modelo felino, encontrando que funcionan como agentes protectores en ensayos de convulsiones electro y quimio inducidas; así mismo, como algunas tiazolidinonas aril y heteroaril sustituidas (triazolil, pirimidinil, quinazolil, y piridinil) mostraron potente actividad antiepiléptica en modelo murino (Figura 1-26) [109].

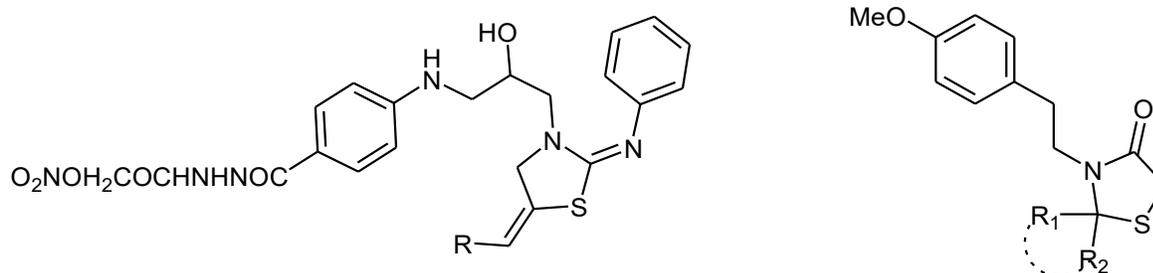
Figura 1-26. Algunas moléculas con el núcleo tiazolidin-4-ona en su estructura con actividad anticonvulsivante.



Algunos derivados de tiazolidinas han sido utilizados como agentes farmacológicos, en especial como antihipertensivos, bloqueando los receptores β -adrenérgicos encargados de la regulación del sistema nervioso central autónomo y que toman parte como diana molecular en algunas enfermedades cardiovasculares generalizadas. Algunos

conjugados de tiazolidinonas (Figura 1-27) con el fragmento propanolamina han sido estudiados (como potenciador de la inhibición de la producción de óxido nítrico), encontrándose una potente actividad como antiarrítmicos y antihipertensivos; se cree entonces que tienen actividad de tipo adrenolítica [101].

Figura 1-27. Ejemplos de 1,3-tiazolidinas con actividad sobre el sistema cardiovascular.

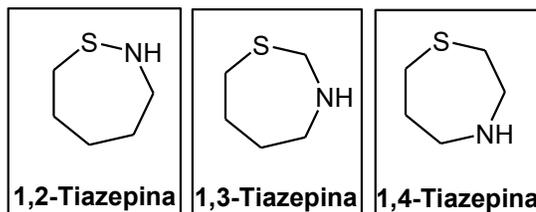


1.3.4 1,4-Tiazepin-3-onas.

▪ Estructura de las 1,4-tiazepin-3-onas.

Las 1,4-tiazepin-3-onas son 3-oxoderivados de las 1,4-tiazepinas; las cuales pertenecen a la familia de los heterociclos de siete miembros. En su estructura contienen un átomo de nitrógeno y uno de azufre en posiciones relativas 1,4 (Figura 1-28).

Figura 1-28. Estructura de los posibles isómeros de posición de heteroátomo de las tiazepinas.

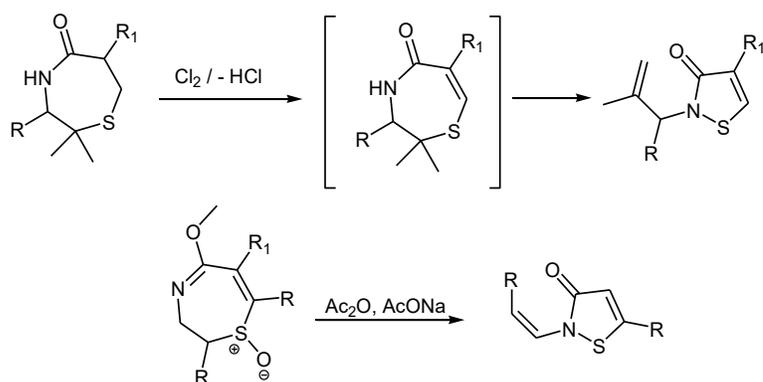


Dada la alta flexibilidad que presentan los análogos saturados de estos compuestos, tienden a presentar altas tensiones estéricas de forma similar al cicloheptano; esto implica una menor estabilidad que los heterociclos de 6 y 5 miembros. Sus ángulos de enlace son en contraste, menos constreñidos lo que los hace más estables que los heterociclos de 4 miembros [110].

▪ **Reactividad de las 1,4-tiazepin-3-onas.**

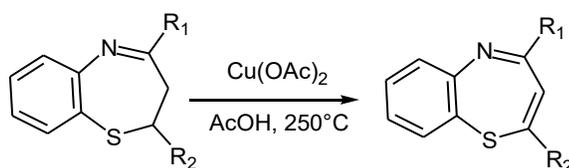
Los compuestos saturados de naturaleza 1,4-tiazepinica pueden presentar rearrreglos de contracción anular como se espera para ciclos de gran tamaño y por tanto alta tensión estérica; un ejemplo de esto es el tratamiento de perhidro-1,4-tiazepin-5-onas con agentes oxidantes relativamente suaves como el cloro gaseoso, o ciertas dihidrotiazepin-sulfóxidos en condiciones de la reacción de Pummerer (anhídridos acético o trifluoroacético con las respectivas sales sódicas de los ácidos precedentes), donde se evidencian reacciones de contracción anular, produciendo isotiazolonas (más estables termodinámicamente) (Esquema 1-28) [110].

Esquema 1-28. Contracción anular de algunas 1,4-tiazepinas para producir isotiazolonas.



Además de las contracciones de anillo presentadas anteriormente, los derivados parcialmente saturados de benzo[2.3][1,4]-tiazepinas pueden oxidarse a sus análogos insaturados por tratamiento con acetato de cobre (II) en caliente. Esta relativamente sencilla reacción se da por la aromatización que resulta de estos procesos oxidativos (Esquema 4-16) [110] lo que resulta en mayor estabilidad termodinámica del producto.

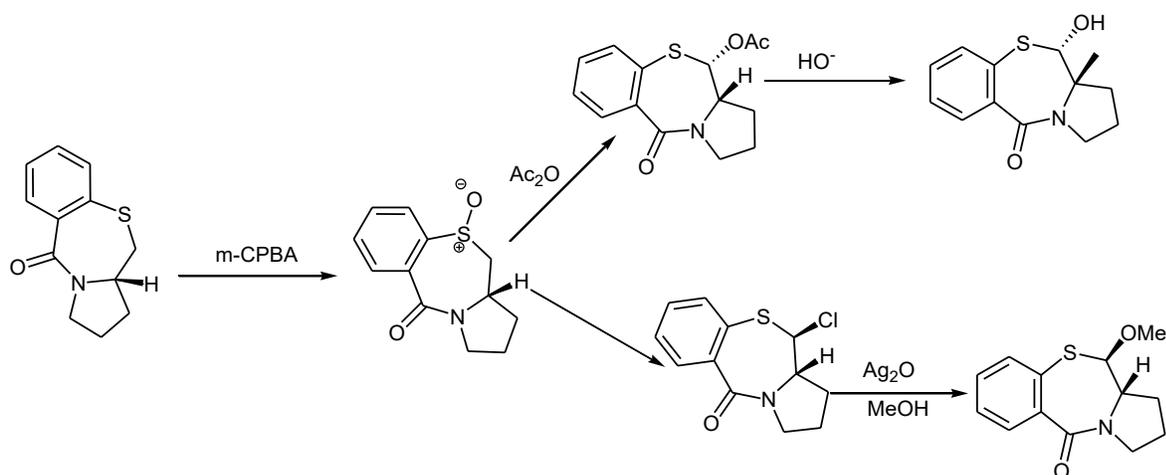
Esquema 1-29. Oxidación de dihidrobenzotiazepinas.



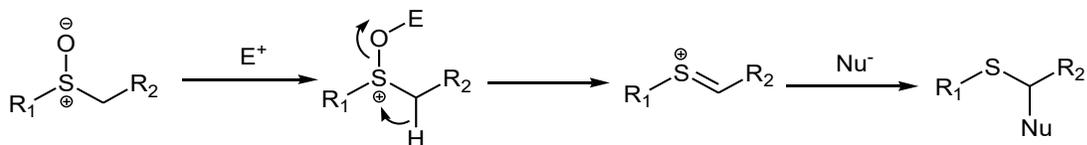
Como es de esperarse, la S-oxidación de las tiazepinas se da mediante el tratamiento con peroxiácidos orgánicos como el *m*-CPBA para producir los derivados sulfóxido de tiazepina. Los derivados benzopirrolofusionados de estos compuestos pueden reaccionar

con anhídrido acético para formar ésteres acetato en la posición 2 del anillo; estos a su vez pueden ser hidrolizados para generar 2-hidroxitiazepinonas; también reaccionan con cloruro de tionilo para generar 2-clorotiazepinonas; que pueden convertirse en los éteres metoxilo por tratamiento con óxido de plata en metanol [110] (Esquema 1-30); ésta reacción es conocida como el rearrreglo de Pummerer y su mecanismo se presenta en el esquema 1-31 [111].

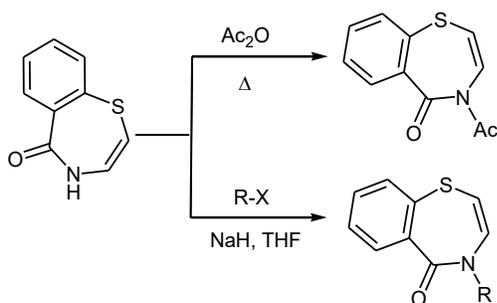
Esquema 1-30. Reacciones de tipo Pummerer presentadas por los sulfóxidos de benzopirrolotiazepinonas.



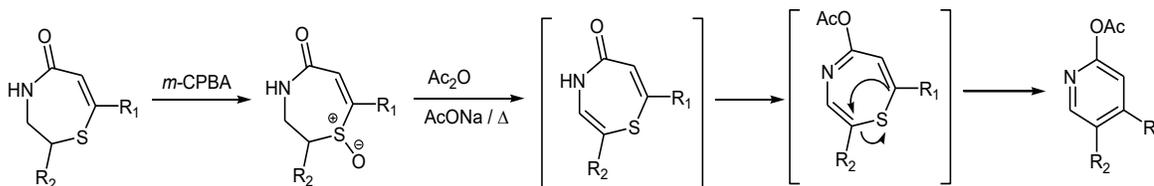
Esquema 1-31. Mecanismo general del rearrreglo de Pummerer.



Derivados de tipo benzo[*f*][1,4]tiazepin-5(4*H*)-ona son proclives a sufrir reacciones de N-alkilación y acilación en la posición N-4 mediante tratamiento con halogenuros de alquilo e hidruro de sodio en condiciones anhidras, o anhídridos de ácido a reflujo (Esquema 1-32) [110].

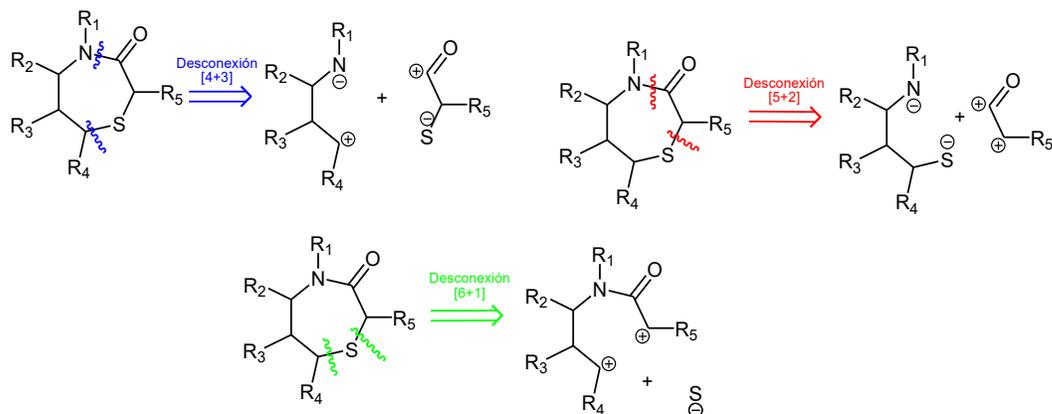
Esquema 1-32. Reacción de N-alquilación o N-acilación de benzotiazepinonas.

Algunas tiazepinas benzo[*f*]pirido[4.3-*b*]fusionadas presentan reacción de acoplamiento con cianuro de trimetilsilano usando cloruro de zinc como catalizador para generar 5-ciano-4,5-dihidrobenczo[*f*]pirido[4.3-*b*]tiazepinas, o al tratarlas con óxido de manganeso (IV) se generan los 5-oxoderivados tiazepínicos, además las 1,4-tiazepin-5-onas sufren reacciones de extrusión del azufre endocíclico; esto se logra mediante previa conversión al sulfóxido, acto seguido, se procede al tratamiento térmico del compuesto con anhídrido acético y acetato de sodio produciendo *O*-acetil-2-hidroxipiridina (Esquema 1-33).

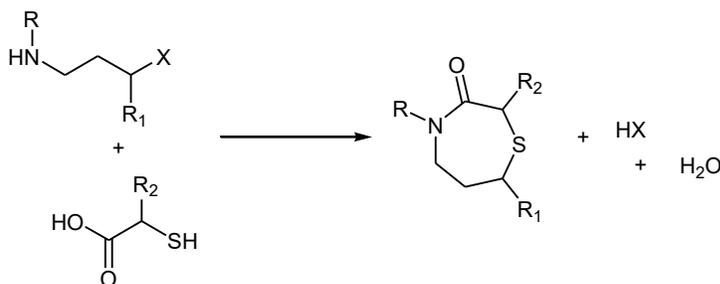
Esquema 1-33. Síntesis de piridinas por extrusión de azufre de tiazepinonas.

- **Síntesis de 1,4-tiazepin-3-onas.**

El núcleo 1,4-tiazepin-3-ona tiene tres tipos de desconexiones lógicas para su síntesis; la primera correspondiente a estrategias [4+3], la segunda enfocada a sintones de tipo [5+2] y por último desconexiones [6+1] (Esquema 1-34).

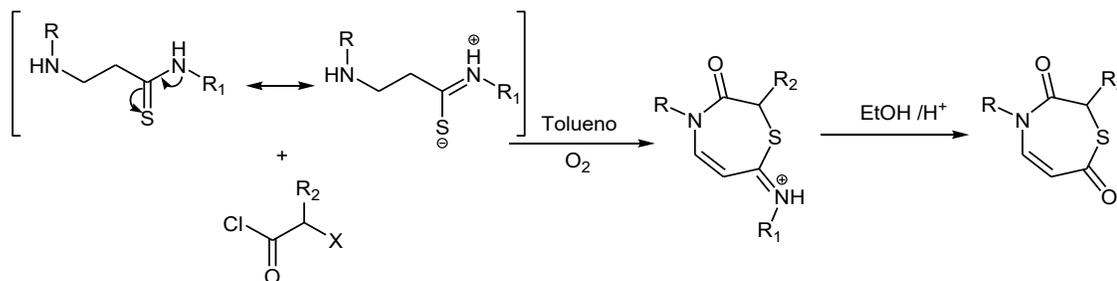
Esquema 1-34. Desconexiones clásicas para la síntesis de 1,4-tiazepin-3-onas.*Estrategias del tipo [4+3].*

Como se mostró en el esquema general de las desconexiones (Esquema 1-34), las estrategias de este tipo se basan en una retrosíntesis con fragmentos de naturaleza dipolar, siendo uno de estos un compuesto de tipo amina con un carbono electrofílico en la posición 4 y el otro, un derivado de tipo 2-mercapto-acilo. Ejemplo de esto es la reacción de entre el ácido 2-mercaptoacético y 3-halo-1-aminopropanos (Esquema 1-35).

Esquema 1-35. Síntesis de 1,4-tiazepin-3-onas por la estrategia de desconexión [4+3].*Estrategias del tipo [5+2].*

En este grupo de desconexiones se encuentran aquellas que involucran sintones de tipo 3-amino-1-propanotioles (1,5-dinucleofílicos) y compuestos α -haloácidos (1,2-dielectrofílicos) se presenta entonces como forma de ilustración la reacción entre una 3-amino-1-propanotioamida y un cloruro de α -haloacilo (Esquema 1-36) [112].

Esquema 1-36. Reacción ilustrativa de síntesis de tiazepinonas mediante estrategia [5+2].

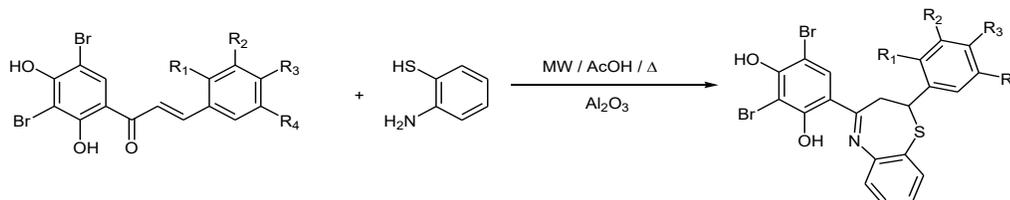


▪ **Actividad biológica de las 1,4-tiazepin-3-onas.**

Las tiazepinas y sus análogos diazepínicos, son esqueletos estructurales privilegiados en términos de actividad biológica, esto puesto que poseen un alto grado de versatilidad en cuanto a sus potenciales aplicaciones en el campo de la terapéutica. Por su relación de analogía estructural han sido estudiados como agentes moduladores de las funciones del sistema nervioso central (SNC), como parte del grupo de posibles fármacos psicoterapéuticos, sin embargo, en diversas fuentes bibliográficas se han encontrado estudios sobre estos compuestos actuando en otros tipos de actividad farmacológica [113].

Algunos compuestos con este núcleo estructural han exhibido potente actividad antiinflamatoria con dosis terapéuticas en ratas de hasta 10 mg por kilogramo de peso corporal [114]. Algunos otros derivados tiazepínicos sintetizados por condensación de chalconas con 2-aminotiofenol usando radiación de microondas para promover la reacción (Esquema 1-37), exhibieron moderada actividad contra células tumorales de cáncer de pulmón registrando valores de GI₅₀ entre 41.4 a 66.1 μM respecto al fármaco Adriamicina con un valor de concentración media inhibitoria de 6.6 μM [115].

Esquema 1-37. Síntesis de las tiazepinas evaluadas como anticancerígenas¹⁴.



¹⁴ Adaptado de la referencia [114].

1.3.5 Indol e indolinonas.

▪ Estructura de las indolinonas.

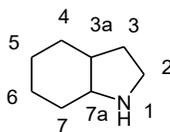
Las indolinonas son oxo-compuestos derivados del indol (benzo[3,4]pirrol) y son compuestos parcialmente saturados dada la presencia del carbonilo en las posiciones 2 o 3 del sistema anular (Figura 1-29).

Figura 1-29. Estructuras de los isómeros de posición del carbonilo de las indolinonas.



Relativo al indol, los oxoderivados de este poseen un alto grado de planaridad dada la fusión con el fragmento benzo, y la inserción del carbonilo; sin embargo, a diferencia del primero, estos compuestos pierden su carácter aromático. Esto se puede observar en resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN) y de carbono-13 (^{13}C -RMN) [100], [116], [117] (Tabla 3).

Tabla 3. Desplazamientos químicos de indol, indolin-2-ona e indolin-3-ona.



Compuesto	Posición	Desplazamiento químico ^1H -RMN	Desplazamiento químico ^{13}C -RMN
Indol	2	6.52	124.7
Indol-2-ona	2	-	178.8
Indol-3-ona	2	3.89	54.1
Indol	3	6.29	102.1
Indol-2-ona	3	3.55	36.4
Indol-3-ona	3	-	200.5
Indol	4	7.55	120.8
Indol-2-ona	4	7.20	124.4
Indol-3-ona	4	7.45	136.9
Indol	5	7.00	121.8
Indol-2-ona	5	7.01	122.2
Indol-3-ona	5	6.92	118.9

Continúa en la siguiente página.

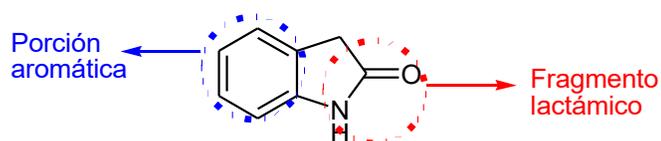
Tabla 3. Continuación.

Compuesto	Posición	Desplazamiento químico ¹ H-RMN	Desplazamiento químico ¹³ C-RMN
Indol	6	7.08	119.7
Indol-2-ona	6	7.23	127.8
Indol-3-ona	6	7.62	136.9
Indol	7	7.40	111.3
Indol-2-ona	7	6.89	110.0
Indol-3-ona	7	6.84	112.9
Indol	3a	-	128.3
Indol-2-ona	3a	-	142.8
Indol-3-ona	3a	-	162.6
Indol	7a	-	135.6
Indol-2-ona	7a	-	125.3
Indol-3-ona	7a	-	121.9

▪ **Reactividad de las indolin-2-onas.**

Las indolin-2-onas son compuestos heterocíclicos parcialmente saturados de tipo benzofusionado, esto implica una reactividad mixta que combina las propiedades de la porción aromática y una porción lactámica que sustituye dicho anillo (Figura 1-30).

Figura 1-30. Porciones estructurales de las indolin-2-onas.

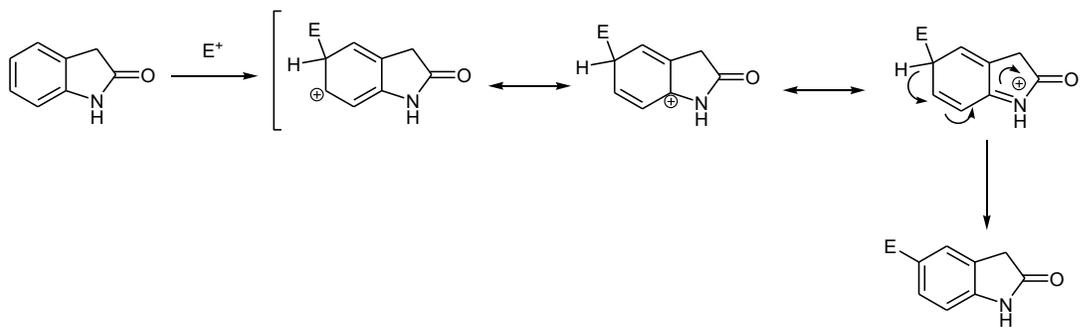


Dadas estas dos porciones claramente diferenciables, se tiene que estos compuestos presentan dos tipos de reactividad; la primera, corresponde a las reacciones propias de compuestos aromáticos carbocíclicos con sustituyentes activadores en posiciones *orto* (Reacciones S_EAr). La segunda, responde a las reacciones típicas de amidas cíclicas (lactamas) con un bajo grado de torsión anular (Reacciones de sustitución acil nucleofílica, especialmente hidrólisis y apertura del anillo, así como condensaciones sobre el carbono α)[100].

Reacciones de sustitución electrofílica aromática (S_EAr).

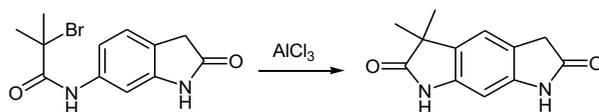
Dado que se tiene un sustituyente del anillo bencénico de naturaleza electrodonora por efecto mesomérico, se favorece una primera sustitución por vía S_EAr en la posición 5 del núcleo indolinónico (Esquema 1-38).

Esquema 1-38. Estructuras resonantes responsables de la regioselectividad de las reacciones S_EAr en las indolin-2-onas.



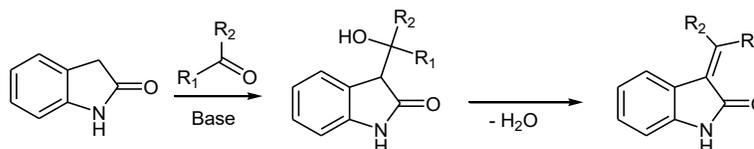
Típicamente las reacciones de este tipo suelen ser halogenaciones, nitración, y alquilación (u acilación) de Friedel-Crafts en condiciones similares a las usadas para la sustitución de anillos aromáticos débilmente activados. Estas reacciones resultan especialmente útiles para la anulación intramolecular, permitiendo la síntesis de compuestos de tipo hetero o cicloalcano[5,6]indoles (Esquema 1-39) [118].

Esquema 1-39. Ejemplo de ciclación intramolecular por S_EAr para la obtención de heterociclos indol-fusionados.

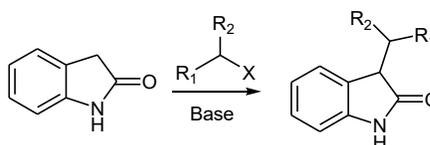
*Reacciones de condensación sobre el carbono α -lactámico.*

Dada la estabilidad de los carbaniones formados en la posición metilénica *pseudo-bencílica* de este tipo de heterociclos; mediante tratamiento con bases no-nucleofílicas, se pueden generar estas formas aniónicas y hacerlas reaccionar con electrófilos en procesos de tipo condensación aldólica (Esquema 1-40) y alquilación (Esquema 1-41) [119].

Esquema 1-40. Reacción general de condensación aldólica de indolin-2-onas.



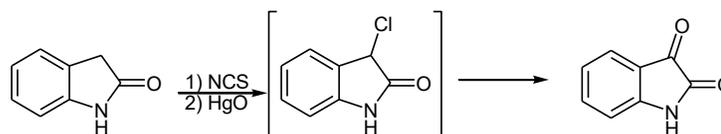
Esquema 1-41. Reacción general de alquilación de la posición 3 de las indolin-2-onas.



Reacciones de óxido-reducción.

Las indolin-2-onas pueden sufrir reacciones de oxidación sobre el carbono metilénico mediante el uso de *N*-clorosuccinimida y posterior tratamiento con óxido de mercurio (II) dando lugar a la obtención de isatina [119] (Esquema 1-42).

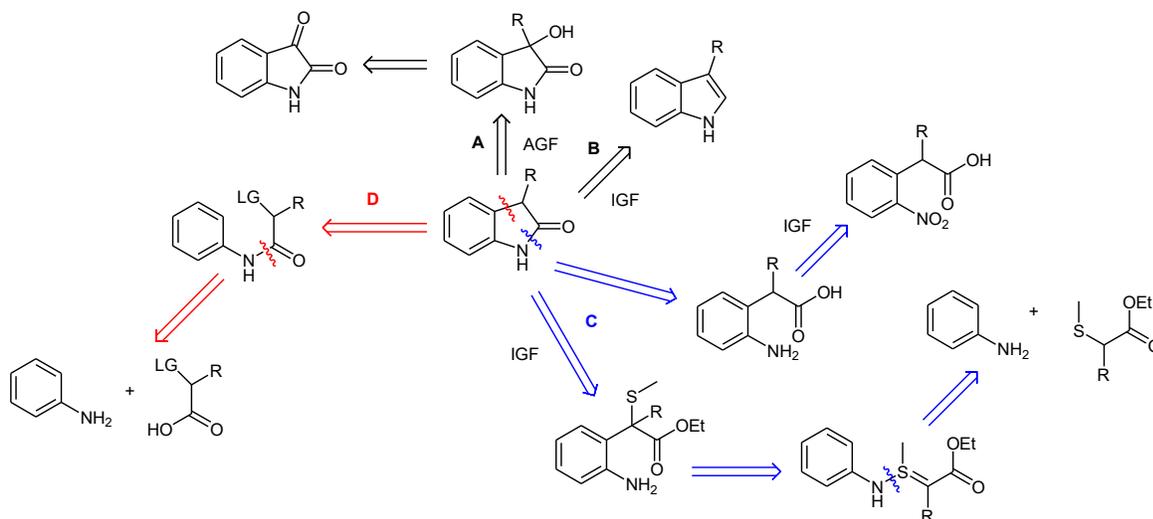
Esquema 1-42. Reacción de oxidación de indolin-2-ona para la obtención de isatina.



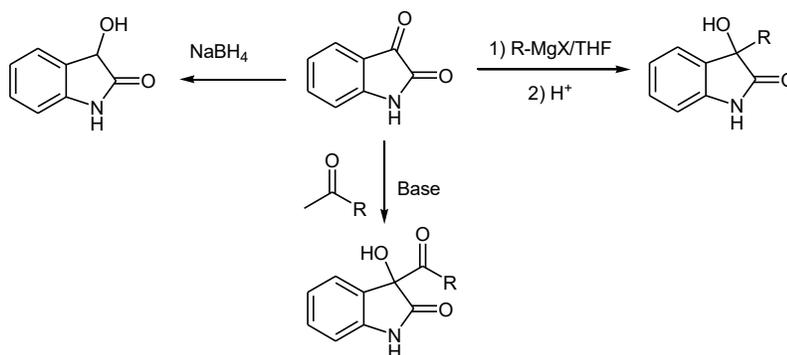
Así mismo, el núcleo *N*-alquil indolin-2-ónico también puede sufrir reacciones de reducción del carbonilo mediante el uso de agentes reductores fuertes como borohidruro de litio, hidruro de litio y aluminio y DIBAL para obtener 2,3-dihidro-1*H*-indol [120].

▪ **Síntesis de indolin-2-onas.**

Este núcleo heterocíclico puede ser sintetizado mediante tres rutas principalmente: La primera de estas involucra la modificación de núcleos indólicos por oxidación de este, e isatínicos mediante reacciones de adición nucleofílica al carbonilo cetónico y/o reducción del mismo. La segunda estrategia involucra la ciclación mediante formación de enlaces N-C usualmente partiendo de derivados del ácido *o*-nitrofenilacético o rearrreglos de tipo Sommelet-Hauser [121]. También puede obtenerse este núcleo heterocíclico mediante estrategias de ciclación por formación del enlace C-arilo por alquilaciones y reacciones de tipo S_EAr (Esquema 1-42) [119].

Esquema 1-43. Análisis retrosintético de las diversas rutas para la obtención de indolin-2-onas.**Síntesis a partir de isatina e indol.**

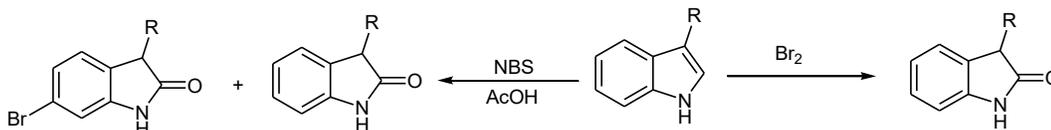
La obtención del núcleo indol-2-ona a partir de isatina, tal como se muestra en el esquema anterior, se basa en la adición nucleofílica sobre el carbono carbonílico de la posición 3 del anillo isatínico, esto puede darse mediante la formación de carbaniones (metálicos o de forma enolato) o con nucleófilos como hidruros blandos que generan la 3-hidroxiindolin-2-ona (Esquema 1-44).

Esquema 1-44. Síntesis de 3-hidroxiindolin-2-onas mediante adición nucleofílica sobre el carbonilo de la isatina.

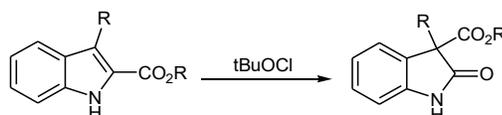
A partir de 3-alkil indoles, se puede oxidar selectivamente el carbono de la posición 2 del heterociclo mediante tratamiento con *N*-bromosuccinimida en ácido acético para obtener 3-alkil-indol-2-onas con rendimientos moderados (Esquema 1-45). Partiendo de

2-carboxialquil indoles y por tratamiento con hipocloritos de alquilo se puede lograr la obtención de 3-carboxialquil indol-2-onas por rearrreglo oxidativo en el que migra el grupo acilo y generando la oxigenación de la posición 2 del anillo heteroaromático (Esquema 1-46).

Esquema 1-45. Obtención de indol-2-onas por oxidación de 3-alkil indoles.



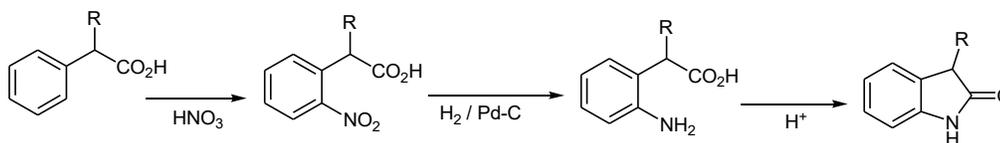
Esquema 1-46. Rearreglo oxidativo de 2-carboxialquil indoles para la obtención de 3-carboxialquil indol-2-onas.



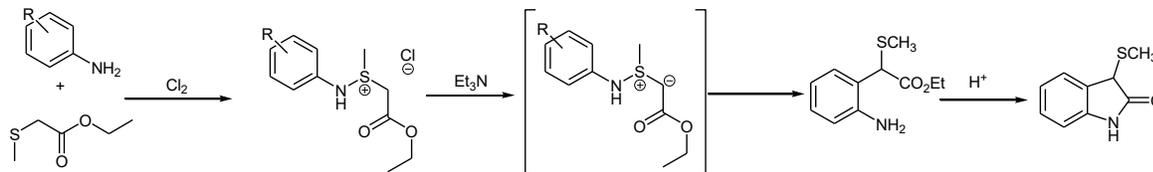
Síntesis por formación de enlaces N-C:

De acuerdo con la ruta C presentada en el esquema 1-43; la síntesis se plantea mediante formación del enlace lactámico correspondiente a las posiciones 2 y 3 del anillo indolónico de interés. Este proceso puede realizarse por dos vías principalmente; la primera es a partir de derivados del ácido *o*-nitrofenilacético, los cuales mediante una secuencia de reducción y ciclación intramolecular generan el núcleo objetivo (Esquema 1-47).

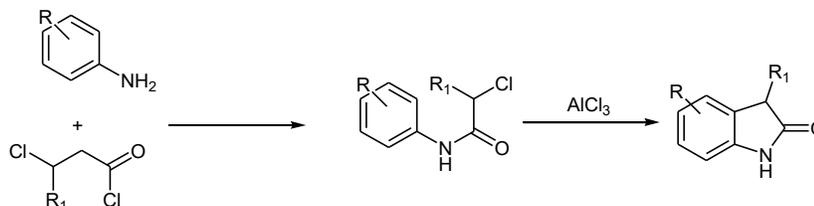
Esquema 1-47. Síntesis de indolin-2-onas por ciclación de ácido *o*-aminofenilacético.



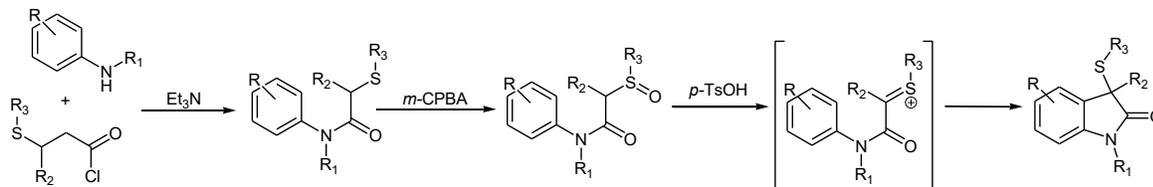
La segunda vía de formación de este tipo de enlaces está dada por reacciones tipo rearrreglo de Sommelet-Hauser desde anilinas y derivados alquilados del éster etílico del ácido mercaptoacético (Esquema 1-48) [119].

Esquema 1-48. Síntesis de 3-tioalquil indolin-2-onas mediante rearrreglos tipo Sommelet-Hauser.*Síntesis de indolin-2-onas a partir de reacciones de tipo S_EAr .*

De acuerdo con la ruta D planteada en el esquema retrosintético (Esquema 1-43) esta estrategia en general plantea la formación de anilidas con buenos grupos salientes (aptos para procesos de tipo Friedel-Crafts) en la posición α al acilo. Siendo así, el proceso típico puede ejemplificarse mediante la acilación de anilina con cloruro de cloroacetilo y posterior tratamiento de esta α -cloroacetanilida con tricloruro de aluminio en una alquilación intramolecular del anillo aromático (Esquema 1-49) [119].

Esquema 1-49. Estrategia de ciclación Friedel-Crafts intramolecular a partir de α -haloacetanilidas para la obtención de indolin-2-onas.

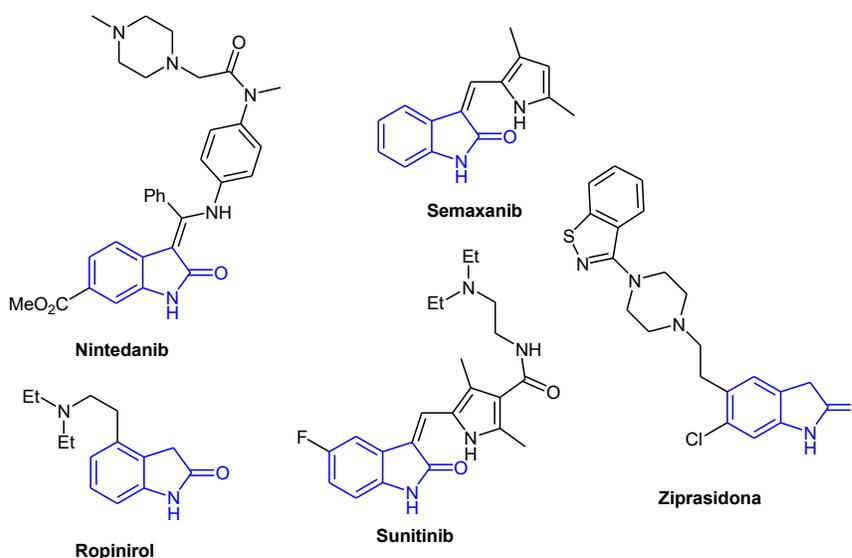
Una variante de este proceso es la reacción de Pummerer [122], la cual implica la formación de α -sulfóxidos de acetanilidas y ciclación de estos intermedios para la obtención de 3-tioalquil indolin-2-onas (Esquema 1-50).

Esquema 1-50. Síntesis de 3-tioalquil indolin-2-onas mediante el rearrreglo de Pummerer.

▪ Actividad biológica de las indolin-2-onas.

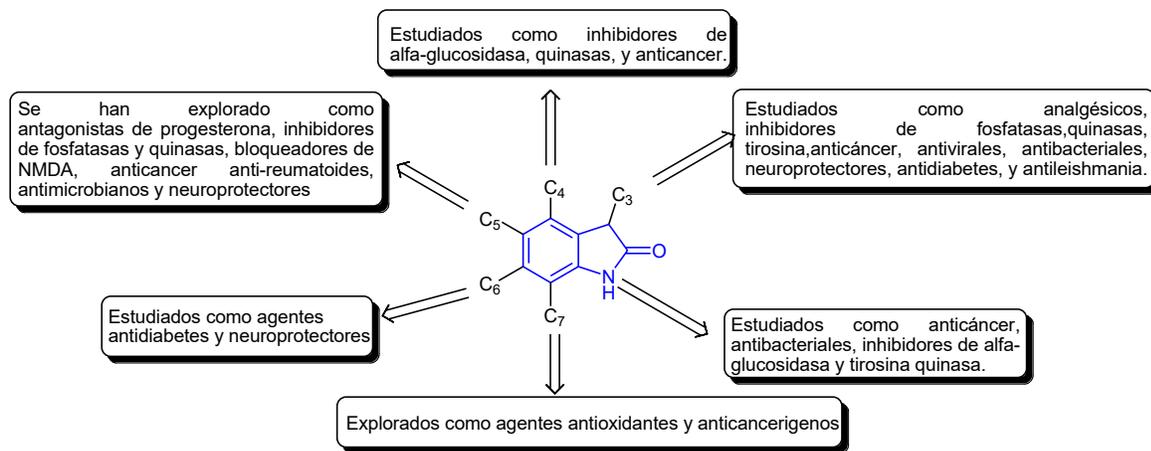
Diversos fármacos aprobados y usados en la actualidad poseen el núcleo indolinónico en su estructura con diversas y versátiles actividades farmacológicas; entre estos se encuentran una familia de inhibidores de tirosina quinasas con aplicaciones en el tratamiento de diversos tipos de cáncer como son el Nintedanib (Aprobado por la FDA en marzo de 2020 para el tratamiento de enfermedades intersticiales pulmonares así como fibrosis pulmonar idiopática), Sunitinib y Semaxanib (Aprobados desde el 2006 como agentes antiproliferativos en el tratamiento de tumores renales y gastrointestinales). Algunos otros ejemplos de medicamentos aprobados con este heterociclo en su estructura incluyen agentes anti-parkinsonianos como el RopinirolTM y agentes antipsicóticos como la ZiprasidonaTM (Figura 1-31) [123].

Figura 1-31. Algunos fármacos aprobados con el núcleo indolinónico en su estructura (Marcado en azul).



Algunos compuestos de núcleo indolinónico han sido estudiados buscando aplicaciones en la química medicinal encontrándose algunos prototipos con actividades que van desde antimicrobianos [124], anti-artríticos [125], anti-leishmaniasis [126], antioxidante [127] e incluso actividad antiviral [128]. Estudios de tipo QSAR han mostrado la dependencia entre ciertos patrones de sustitución y el tipo de actividad que este núcleo muestra en el área de la terapéutica (Figura 1-32) [123].

Figura 1-32. Dependencia de las modificaciones estructurales sobre la actividad promisoriosa de distintos derivados indol-2-ónicos¹⁵.



¹⁵ Adaptado de la referencia [123].

2. Capítulo 2: Metodología.

En esta sección se definirán los pasos seguidos para la consecución de los objetivos planteados para este trabajo, así como las herramientas computacionales, experimentales y bibliográficas utilizadas en el desarrollo de este proyecto.

2.1 Procedimiento general de trabajo.

Dado que en este trabajo se involucran protocolos de naturaleza experimental y computacional, así como dos versiones del diseño racional de fármacos (basado en receptor y en ligando) se hizo necesario desarrollar un algoritmo que permitiera la máxima eficiencia en los procedimientos realizados. Este se presenta a continuación en la ilustración 3.

Ilustración 3. Procedimiento general empleado para el desarrollo de este trabajo.



2.2 Búsqueda bibliográfica.

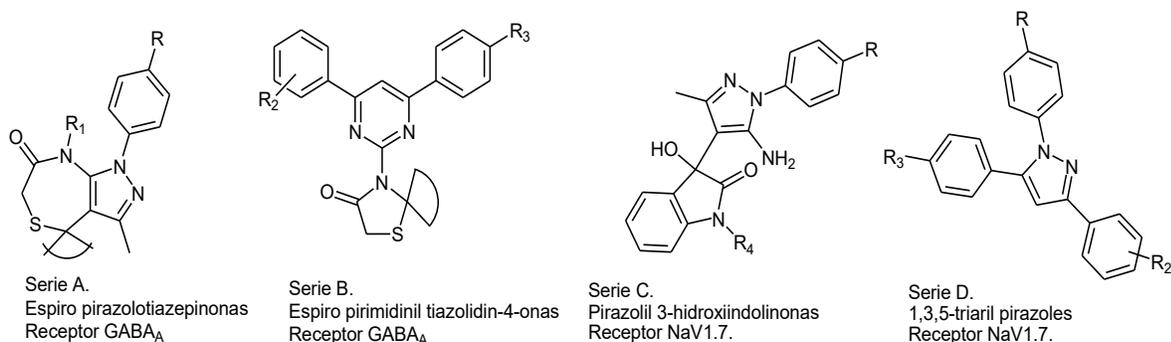
Aunque este paso se encuentra al principio del diagrama de flujo presentado anteriormente, la búsqueda de información es una constante en el trabajo científico; transversal a todo el proceso desarrollado se hizo necesaria la consulta de diversas fuentes para la explicación, sustento y argumentación de toda la idea del proyecto. Para llevar a cabo esta tarea, se utilizaron las bases de datos, recursos electrónicos y físicos del sistema nacional de bibliotecas SINAB de la Universidad Nacional de Colombia.

2.3 Planteamiento de las estructuras objetivo.

A partir de la búsqueda bibliográfica y con base en los datos obtenidos de bioactividad para cada núcleo heterocíclico a construir, se plantearon los compuestos objetivo. Esto buscando similitud o analogía estructural con moléculas con conocida interacción con las dianas moleculares de interés para el desarrollo de este trabajo; es decir; el receptor GABA_A y el canal de sodio NaV1.7.

Siendo así, y con base en el conocimiento previo, se plantearon cuatro series de compuestos, de las cuales dos se trabajaron con la hipótesis de interacción con el receptor GABA_A (Figura 2-1) y las otras dos con el canal NaV1.7. (Figura 2-1)

Figura 2-1. Series de compuestos planteados para el desarrollo de este trabajo.



2.4 Búsqueda de las estructuras cristalográficas de los receptores biológicos de interés.

Con base en el arreglo estructural de un ligando con reconocida actividad, se realizó la búsqueda de la estructura proteínica y farmacología asociada del correspondiente receptor biológico en el Protein Data Bank (PDB) y en la literatura científica reciente. Dado el caso de encontrarse más de una estructura cristalográfica reportada, se seleccionó aquella con una mejor resolución, preferiblemente aislada desde una especie taxonómica de interés.

En este caso específico, donde se trabajaron dos dianas terapéuticas de interés, se seleccionaron las estructuras cristalográficas del receptor GABA_A [35] y del canal iónico NaV1.7. [46] que se presentan a continuación:

Figura 2-2. Estructura cristalográfica del receptor GABA_A, código PDB 6DW0.¹⁶

Biological Assembly 1

6DW0
Cryo-EM structure of the benzodiazepine-sensitive alpha1beta1gamma2S tri-heteromeric GABA_A receptor in complex with GABA (Whole map)

PDB DOI: [10.2210/pdb6DW0/pdb](https://doi.org/10.2210/pdb6DW0/pdb) EM Map EMD-8922: [EMDB EMDDataResource](https://emdb.emddata.org/emdb/EMD-8922)

Classification: **MEMBRANE PROTEIN**
Organism(s): *Rattus norvegicus*
Expression System: *Homo sapiens*
Mutation(s): No
Membrane Protein: Yes [OPM](#) [PDBTM](#) [MemProtMD](#) [mpstruc](#)

Deposited: 2018-06-26 **Released:** 2018-08-08
Deposition Author(s): Phulera, S., Zhu, H., Yu, J., Yoshioka, C., Gouaux, E.
Funding Organization(s): National Institutes of Health/National Institute of General Medical Sciences (NIH/NIGMS), Howard Hughes Medical Institute (HHMI)

Experimental Data Snapshot

Method: ELECTRON MICROSCOPY
Resolution: 3.80 Å
Aggregation State: PARTICLE
Reconstruction Method: SINGLE PARTICLE

wwPDB Validation [3D Report](#) [Full Report](#)

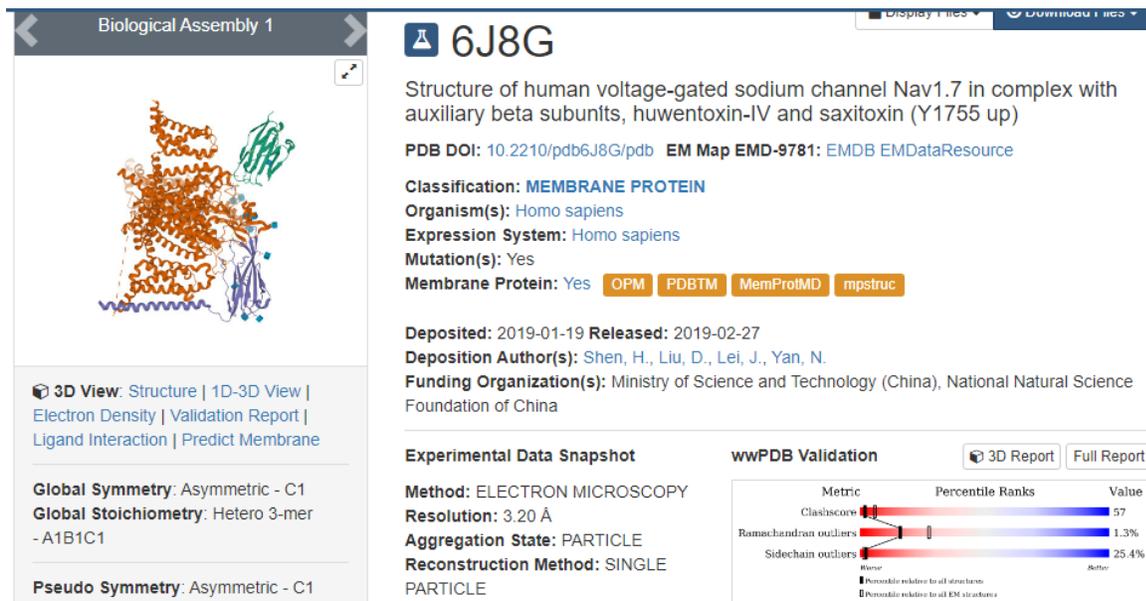
Metric	Percentile Ranks	Value
Clashscore	0-100	5
Ramachandran outliers	0-100	0
Sidechain outliers	0-100	0.7%

3D View: [Structure](#) | [1D-3D View](#) | [Electron Density](#) | [Validation Report](#) | [Ligand Interaction](#) | [Predict Membrane](#)

Global Symmetry: Asymmetric - C1
Global Stoichiometry: Hetero 5-mer - A2B2C1

Pseudo Symmetry: Cyclic - C5 ([3D View](#))

¹⁶ Imagen tomada de <https://www.rcsb.org/structure/6dw0> revisado el 23 de diciembre de 2022 a las 11:39.

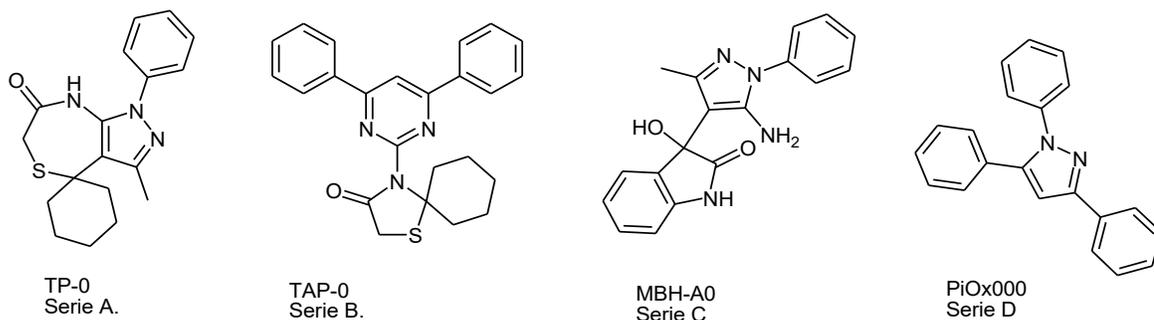
Figura 2-3. Estructura cristalográfica del canal Nav1.7. código PDB 6J8G.¹⁷

2.5 Obtención del compuesto cabeza de serie.

Para cada una de las cuatro series, se seleccionó el compuesto con el menor patrón de sustitución, respetando la estructura mínima planteada (Figura 2-4). Para la obtención de esta cabeza de serie, se realizó un diseño sintético que involucró los precursores disponibles con un patrón de sustitución mínimo o básico, las condiciones de reacción con menor impacto ambiental y los protocolos de purificación más amigables con el medio ambiente y de fácil ejecución en la medida de lo posible.

¹⁷ Imagen tomada de <https://www.rcsb.org/structure/6J8G> revisado el 23 de diciembre de 2022 a las 11:41.

Figura 2-4. Estructura y código de los compuestos seleccionados como cabezas de cada serie.

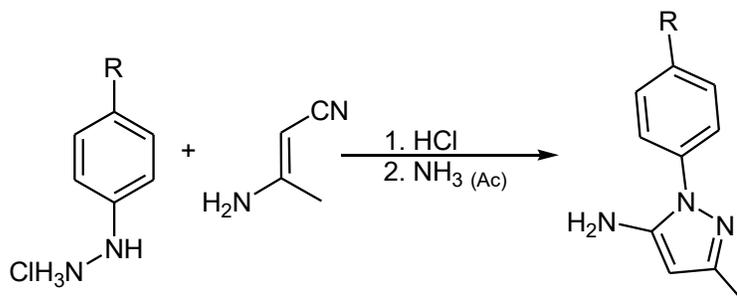


Una vez obtenido el compuesto con el menor patrón de sustitución se realizó la caracterización de éste por determinación de sus constantes físicas (punto de fusión para sólidos o índice de refracción para líquidos), espectrofotometría de infrarrojo, resonancia magnética nuclear de hidrógeno (^1H -RMN), de carbono-13 acoplados (^{13}C -RMN) y desacoplados (DEPT-135), experimentos bidimensionales (HSQC y HMBC) y en algunos casos espectrometría de masas de alta resolución (HRMS). Todo esto en aras de establecer la identidad química del producto de forma inequívoca. A continuación, se explicarán más detalladamente las aproximaciones sintéticas para cada serie propuesta:

2.5.1 Síntesis de las espiro pirazolotiazepinonas (Serie A).

La síntesis de estos compuestos requirió en primera medida de la síntesis de las aminas pirazólicas; la cual se realizó por ciclocondensación en medio ácido de hidrocloreuro de arilhidracinas con β -aminocrotononitrilo (Esquema 2-1) [129].

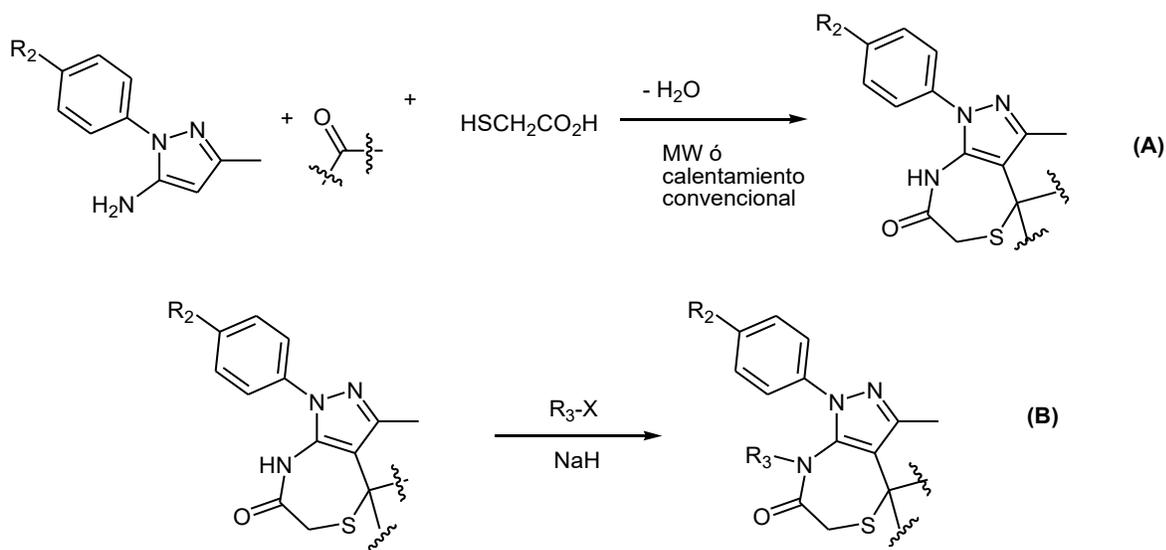
Esquema 2-1. Síntesis de los precursores 5-amino-1-aryl-3-metil-1*H*-pirazólicos.



A partir de estos aminopirazoles sintetizados, se realizó la construcción del heterociclo de siete miembros, mediante una reacción tricompente con ácido mercaptoacético y

cetonas cíclicas en medios desecantes, para desplazar el equilibrio hacia los productos. Para este propósito se ensayó la inducción por microondas y por calentamiento convencional (Esquema 2-2 A) [130]; para la derivatización de estos compuestos se realizó una N-alkilación del anillo lactámico inducida por hidruro de sodio con haluros de alquilo (Esquema 2-2B) [131].

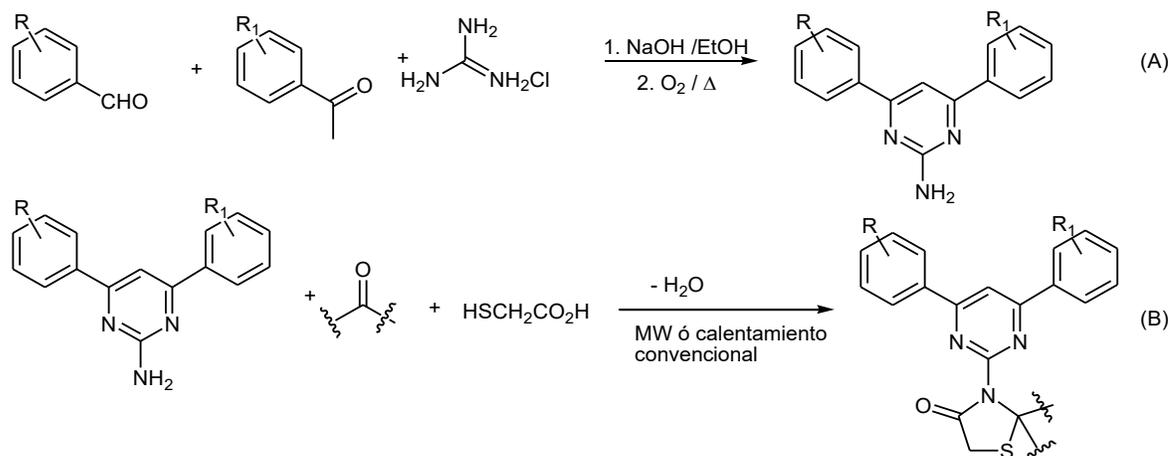
Esquema 2-2. Reacciones de síntesis de los derivados espiro pirazolotiazepinonicos.



2.5.2 Síntesis de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas (Serie B).

La obtención de estas moléculas objetivo se realizó mediante una estrategia multipaso donde el primer paso fue la síntesis de 2-amino-4,6-diarilpirimidinas por reacción tricomponente tipo Biginelli entre aldehídos, acetofenonas e hidrocloreuro de guanidina (Esquema 2-3A), seguido de esto, se realizó una ciclocondensación tricomponente de estas aminas con compuestos carbonílicos cíclicos y ácido mercaptoacético en medios desecantes empleando calentamiento convencional e intentando inducción con radiación microondas (Esquema 2-3B).

Esquema 2-3. Reacciones de síntesis para la obtención de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.

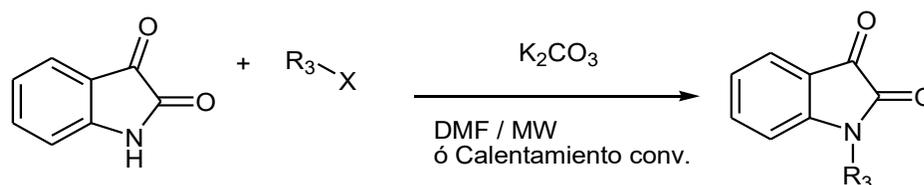


2.5.3 Síntesis de las pirazolil 3-hidroxiindolinonas (Serie C).

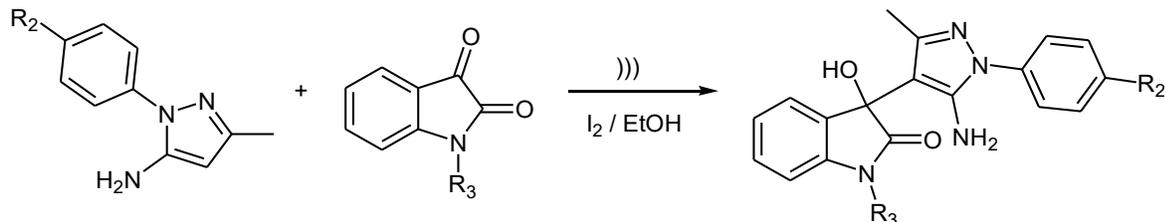
La síntesis de estos compuestos requirió la formación previa de dos compuestos precursores como son 5-amino-1-aryl-3-metil-1*H*-pirazoles (Esquema 2-1) y derivados *N*-alquilados o *N*-acilados de la isatina (indol-2,3-diona); ambos bloques sintéticos se hicieron reaccionar en una estrategia convergente para la obtención de las moléculas deseadas.

La síntesis de las aminas pirazólicas se realizó de acuerdo con lo expuesto en el esquema 2-1. En cuanto a la alquilación de la isatina, se realizó una reacción tipo S_N2 mediante desprotonación de la lactama con carbonato de potasio y posterior reacción de este anión con haluros de alquilo, o anhídridos de ácido (Esquema 2-4) [132].

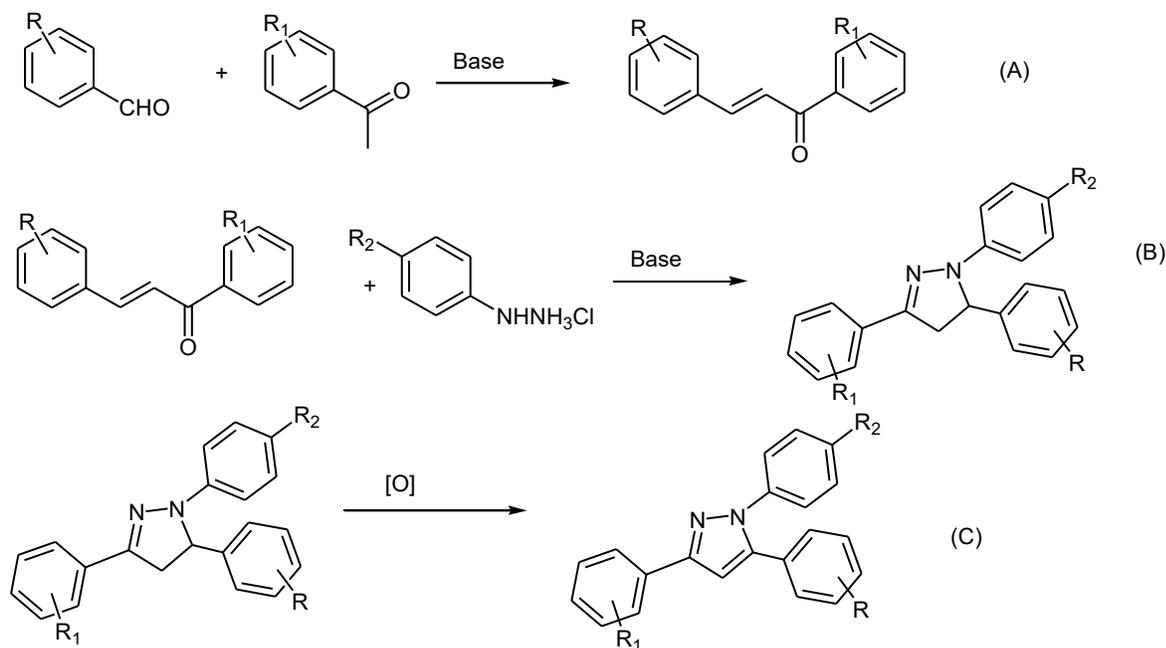
Esquema 2-4. Síntesis de las *N*-alquil indol-2,3-dionas.



La reacción de adición de los dos precursores para la formación del aducto deseado se realizó usando catálisis con yodo y asistencia con ultrasonido como medio de inducción (Esquema 2-5).

Esquema 2-5. Síntesis de los compuestos pirazolil-3-hidroxiindolinónicos.**2.5.4 Síntesis de 1,3,5-triarilpirazoles (Serie D).**

La reacción inicial para la síntesis de esta familia de compuestos fue una condensación de Claisen-Schmidt con aldehídos y acetofenonas que conllevó a la obtención de compuestos tipo chalcona (Esquema 2-6A). A partir de estos bloques de construcción se realizó una ciclocondensación con hidroclicuro de arilhidracinas en medio básico, obteniéndose 1,3,5-triaril-4,5-dihidro-1*H*-pirazoles (Esquema 2-6B) [66]; estos compuestos se oxidaron teniendo presente el carácter aromático al que conlleva la generación del doble enlace C-C en la estructura (Esquema 2-6C) [133].

Esquema 2-6. Ruta sintética para la obtención de los 1,3,5-triarilpirazoles.

2.6 Optimización de las condiciones de reacción.

Dado que no siempre se obtuvieron los rendimientos deseados en el primer ensayo de síntesis, se realizaron experimentos adicionales para mejorarlos; en estos, se variaron parámetros como disolventes, catalizadores, temperatura, tiempo de reacción, y metodologías sintéticas en general (multipaso, “one pot”, uso de ultrasonido, calentamiento convencional, mecano-química, etc.). Una vez conseguida la metodología más eficiente se realizó la síntesis por triplicado garantizando la reproducibilidad de la reacción.

Cuando resultó interesante el estudio del mecanismo de reacción, se realizaron experimentos de control, y estudios de la reactividad de los sustratos en función de la naturaleza electrónica de los sustituyentes.

Una vez realizado este estudio y con base en los reactivos disponibles en el grupo de investigación, así como el conocimiento adquirido mediante los experimentos de control y la búsqueda bibliográfica; se plantearon los sustituyentes que harían parte de las estructuras base de los compuestos a evaluar *in silico*.

2.7 Cribado por propiedades ADMETox.

Usando el software *Medchem Designer*TM versión 5.5.0.11 Copyright 2011 – 2019 (Versión académica) desarrollado por SimulationPlus. Inc. [134] se realizó la evaluación de los descriptores fisicoquímicos concernientes a la *regla de cinco de Lipinski* [20] y se seleccionaron aquellos compuestos de la serie planteada que no incurrieran en más de dos violaciones a estos parámetros [54]. Acto seguido, se evaluaron las propiedades toxicológicas gracias a la herramienta virtual AdmetSar 2.0. [135] descartando aquellos compuestos de cada serie que resultaran posibles carcinógenos, agentes mutagénicos o con toxicidad oral mayor a la de ciertos fármacos de referencia utilizados como control en este protocolo.

2.8 Evaluación mediante acoplamiento molecular.

2.8.1 Refinamiento de las estructuras de los receptores GABA_A y NaV1.7.

Aunque la estructura cristalográfica del receptor suele (o debe) tener una resolución óptima, algunos cofactores ajenos a la actividad natural de la macromolécula, así como moléculas de agua quedan incluidos en el mapa de coordenadas atómicas del archivo a trabajar más adelante en el *docking*; así pues, estos se retiraron con la ayuda del software PYMOL [136]. Adicional a esto, en este visualizador de estructura se pudo identificar visualmente el sitio activo (o de recepción) de la diana molecular.

2.8.2 Refinamiento de las estructuras de los ligandos.

Sea conocida la estructura de la serie de ligandos a acoplar con el receptor se realizó una optimización geométrica tridimensional de la misma por medio del software Avogadro versión 1.2.0, [137], utilizando el campo de fuerza GAFF adecuado para moléculas orgánicas con heteroátomos como O, N, S, P, F, Cl, I y Br, usando un algoritmo de gradientes conjugados hasta la convergencia del cálculo.

Debido a que el cálculo arroja un valor aproximado de energía de formación del compuesto, este paso sirve como un estimativo de la estabilidad relativa de los compuestos sintetizados respecto a sus homólogos de la serie diseñada.

Para cada integrante de la serie, se tomó la estructura con la conformación de menor energía obtenida por este método, la cual se guardó como archivo con extensión .PDB y fue la que se utilizó para realizar el *docking molecular* en los programas AutoDock 4 y AutoDock Vina. En el caso de las estructuras para trabajar en DOCK6, se realizó la misma optimización geométrica y se guardaron las estructuras como archivos con extensión .mol2.

2.8.3 Acoplamiento molecular.

El acoplamiento molecular o *docking* se realizó con los archivos con extensión .PDB del receptor refinado y del ligando en su conformación de mínima energía, por medio del

entorno AutoDock 4.2.6. y sus herramientas AutoDock Tools y AutoGrid [138], así como AutoDock Vina. Con los archivos de estructuras con extensión .mol2, se realizó el acoplamiento molecular mediante el software Dock6 [139].

De estos cálculos, se obtuvieron las energías correspondientes a las 10 poses de menor energía potencial (más estables), sus respectivas constantes de afinidad K_M y su visualización de interacciones tipo enlace de hidrógeno, electrostáticas, interacciones hidrofóbicas y apilamiento π (ó π – *stacking*) entre la estructura del ligando y ciertos residuos aminoacídicos del receptor. Este procedimiento se realizó también con moléculas de conocida interacción con la proteína que sirvieron como patrón comparativo de la eficiencia de unión receptor – ligando.

Dado que los tres programas tienen algoritmos de puntuación diferentes y por tanto las afinidades receptor – ligando no resultan comparables entre sí, se realizó una normalización de dichos puntajes mediante la ecuación 2, donde se define X_e como el puntaje escalado, x como el puntaje a ordenar, x_{min} y x_{max} como los puntajes menores y mayores de la serie a evaluar respectivamente [140].

$$X_e = \frac{x - x_{min}}{x_{max} - x_{min}}$$

Ecuación 2. Normalización de puntajes para cada afinidad obtenida con cada programa¹⁸.

Con las afinidades escaladas, resultó posible la comparación cuantitativa de las energías de unión receptor – ligando obtenidas con cada uno de los softwares; para hacer dicha comparación se utilizó el método de consenso [141], donde se aplicó la ecuación 3; definiéndose X_P como la afinidad promedio, x_{ADT} como el puntaje escalado obtenido con el programa AutoDock 4, x_{VINA} como el puntaje escalado obtenido con el programa AutoDock Vina, x_{DOCK6} como el puntaje escalado obtenido con el programa DOCK6 [140].

$$X_P = \frac{x_{ADT} + x_{VINA} + x_{DOCK6}}{3}$$

Ecuación 3. Ecuación de consenso utilizada para la evaluación *in silico* de los compuestos planteados.

¹⁸ Tomada de la referencia [140].

Una vez realizado el consenso, se ordenaron los compuestos de menor a mayor afinidad con el receptor; evaluándose también, de forma cualitativa, las interacciones con algunos residuos que interactúan con las moléculas de referencia. Dicha evaluación cualitativa se realizó mediante la visualización de las estructuras de los complejos receptor-ligando, usando el programa Discovery Studio 2019 v19.1.0.20298 desarrollado por Dassault Systèmes Biovia Corp.

A partir de los valores de puntuación normalizada y evaluada por consenso, así como de las interacciones tanto de las moléculas propuestas como de las moléculas de referencia, se obtuvo una lista ordenada dependiente de la eficiencia en la unión de los compuestos diseñados en este trabajo con la proteína elegida como *target* biológico; además mediante el análisis de los distintos conformeros e interacciones cohesivas que favorecen la formación del complejo R-L; se puede predecir cualitativamente si la unión es más o menos favorecida con respecto a las moléculas usadas como patrón de comparación [59] [60].

2.9 Síntesis de los compuestos seleccionados como promisorios de cada serie.

A partir de los experimentos iniciales expuestos en la sección **2.1.4.** y mediante la optimización de las condiciones de reacción para la síntesis de cada una de las series, se sintetizó un gramo de cada compuesto seleccionado mediante la evaluación *in silico*.

3. Capítulo 3: Resultados de los estudios realizados para las series A y B: Espiro compuestos con promisorio actividad sobre el receptor GABA_A.

En esta sección se presentarán los resultados computacionales y experimentales obtenidos para las dos series de espiro compuestos (Serie A: espiro pirazolotiazepinonas y Serie B: espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas) postulados como promisorios agentes moduladores alostéricos del receptor GABA_A.

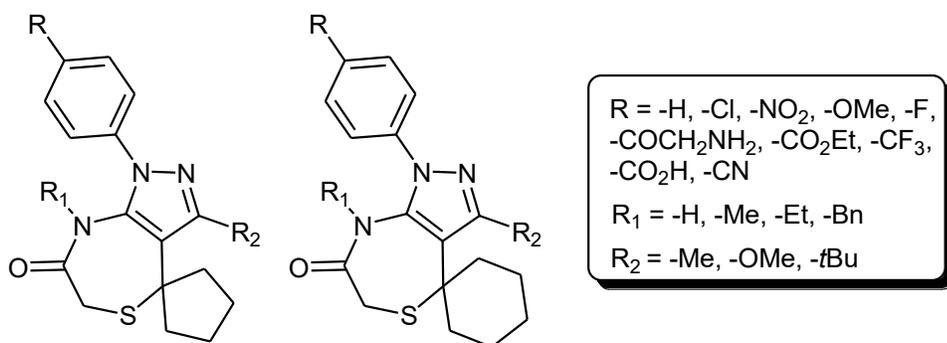
3.1 Compuestos planteados.

Tal y como se presentó en el capítulo anterior, estas dos series se caracterizan por tener fragmentos espirocíclicos en su estructura (Figura 2-1). Es de notar que esta porción estructural resulta muchas veces en la mejora de las propiedades ADMETox así como en la selectividad y afinidad por ciertas dianas biológicas de interés en terapéutica [26].

3.1.1 Compuestos planteados de la serie A.

De la serie de espiro pirazolotiazepinonas se plantearon 240 compuestos dada la combinación de los sustituyentes y anillo espirofusionado como se muestra en la figura 3-1.

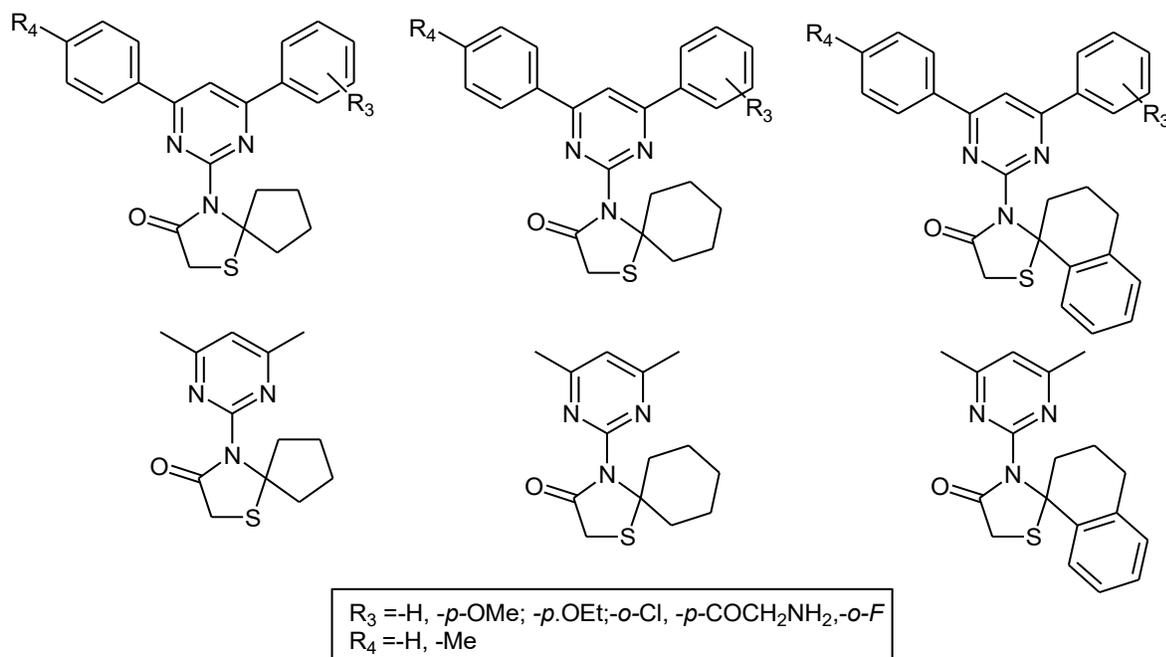
Figura 3-1. Estructuras de los compuestos de la serie A planteados para su evaluación *in silico*.



3.1.2 Compuestos planteados de la serie B.

De la serie de espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas se plantearon 39 compuestos dadas las combinaciones de los diferentes sustituyentes y variación en el tamaño del anillo espirofusionado (Figura 3-2):

Figura 3-2. Estructuras de los compuestos de la serie B planteados para su evaluación *in silico*.



3.2 Evaluación *in silico* de las propiedades ADMETox y posible interacción con GABA_A de los compuestos de las series A y B.

Para los compuestos de estas dos series se realizó el análisis de sus propiedades ADME usando la herramienta MedChem Designer. Esta herramienta generó el reporte de bastantes propiedades que podrían ser útiles para este pre-filtrado; siendo así, se ordenaron de menor a mayor riesgo de baja absorción y alta toxicidad, de acuerdo con el parámetro “ADMET_Risk” calculado por el programa. Es de notar que este parámetro se calcula por suma de contribuciones de las violaciones de la regla de 5 de Lipinski, alta

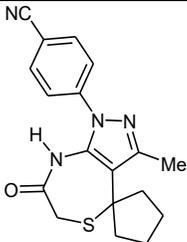
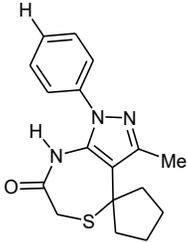
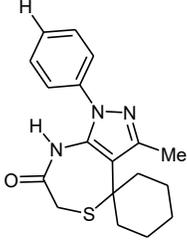
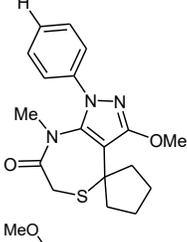
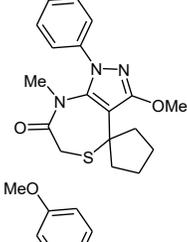
tasa de metabolismo por vía de los citocromos (CYP), alta toxicidad relacionada, así como contribuciones de alta unión a proteínas plasmáticas y alto volumen de distribución en estado estacionario.

Se consideró además el parámetro de cruce de barrera hematoencefálica “BBB_filter” en el cual se predice la tasa cualitativa de penetración de esta barrera (como alta o baja), así como la probabilidad de acierto en esta predicción. Este parámetro se tomó como criterio de exclusión de las moléculas que resultaron con baja permeabilidad de esta barrera biológica. También se tomaron como parámetros de exclusión los riesgos por mutagénesis “MUT_Risk > 0” y riesgo de toxicidad “TOX_Risk > 2”; las moléculas que incumplieron estos parámetros no se presentarán en las tablas de resultados. Se descartaron además aquellos compuestos con toxicidad aguda en rata predicha con un valor menor a 300 mg/kg. Los resultados de propiedades toxicológicas se predijeron y corroboraron mediante la herramienta online AdmetSar 2.0.

3.2.1 Propiedades ADMETox de las moléculas propuestas de la serie A (Espiro pirazolotiazepinonas).

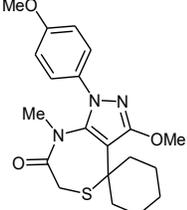
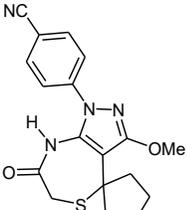
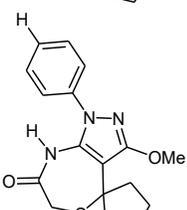
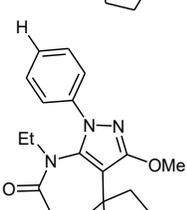
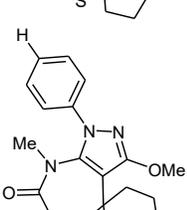
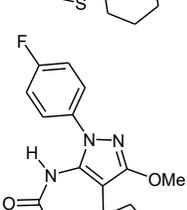
Se realizó la evaluación de los 240 compuestos propuestos inicialmente para esta serie de espirocompuestos; a partir del pre-filtrado ADMET realizado, se descartaron 120 de los prototipos inicialmente diseñados; esto debido principalmente a la presencia de grupos toxicóforos tales como el *p*-nitrofenilo, el cual se señaló como una alerta estructural en la herramienta AdmetSar 2.0. Además, se descartaron los compuestos con sustituyentes de alto peso molecular en la posición nitrogenada del anillo tiazepinonico, como los derivados *N*-bencil y *N*-propil tiazepinonicos y los sustituidos con el grupo *terc*-butilo en la posición 3 del anillo pirazólico. Los 30 compuestos con mejores perfiles de biodisponibilidad y toxicidad se presentan a continuación en la tabla 3, junto con sus descriptores más relevantes para este proceso de preselección.

Tabla 4. Compuestos seleccionados mediante filtrado ADMETox de la serie A.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	BBB_filter	Tox aguda rata (mg/kg)
1		1,242	1	High (76%)	722,291
2		1,697	1	High (98%)	843,871
3		1,906	1	High (76%)	719,606
4		2	1	High (98%)	385,390
5		2	1	High (86%)	425,890
6		2	1	High (86%)	392,592

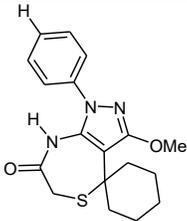
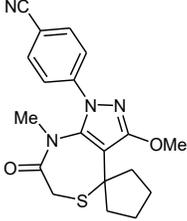
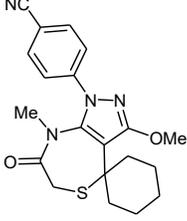
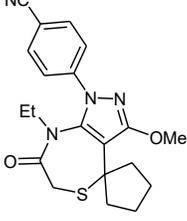
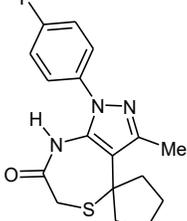
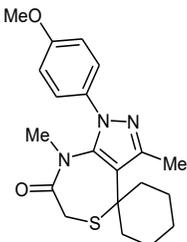
Continúa en la siguiente página.

Tabla 3. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	BBB_filter	Tox aguda rata (mg/kg)
7		2	1	High (86%)	427,721
8		2,062	1	High (68%)	429,218
9		2,068	1	High (98%)	382,492
10		2,072	1	High (98%)	354,656
11		2,072	1	High (98%)	384,224
12		2,095	1,073	High (76%)	311,194

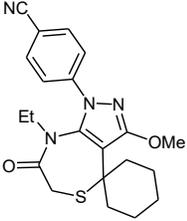
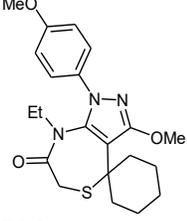
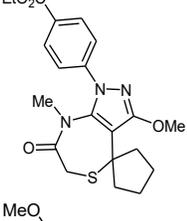
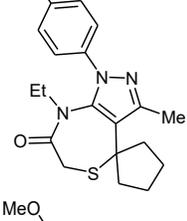
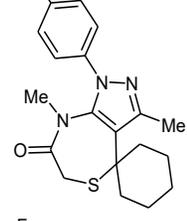
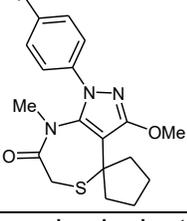
Continúa en la siguiente página.

Tabla 3. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	BBB_filter	Tox aguda rata (mg/kg)
13		2,124	1	High (98%)	378,850
14		2,193	1	High (78%)	416,072
15		2,198	1	High (78%)	411,775
16		2,198	1	High (80%)	384,664
17		2,198	1	High (86%)	413,055
18		2,265	1	High (80%)	502,361

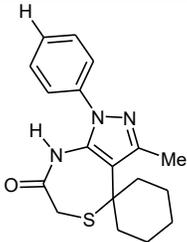
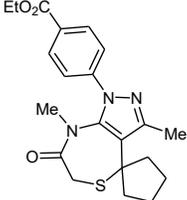
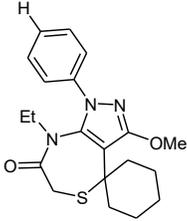
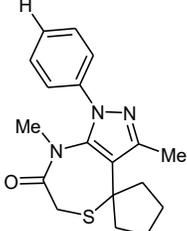
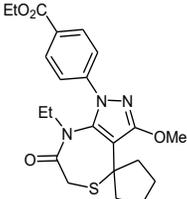
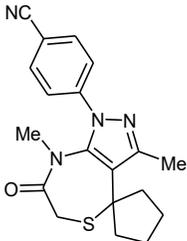
Continúa en la siguiente página.

Tabla 3. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	BBB_filter	Tox aguda rata (mg/kg)
19		2,294	1	High (80%)	379,985
20		2,362	1	High (86%)	392,562
21		2,369	1	High (98%)	425,173
22		2,379	1	High (86%)	452,507
23		2,429	1	High (86%)	495,956
24		2,482	1,156	High (86%)	301,269

Continúa en la siguiente página.

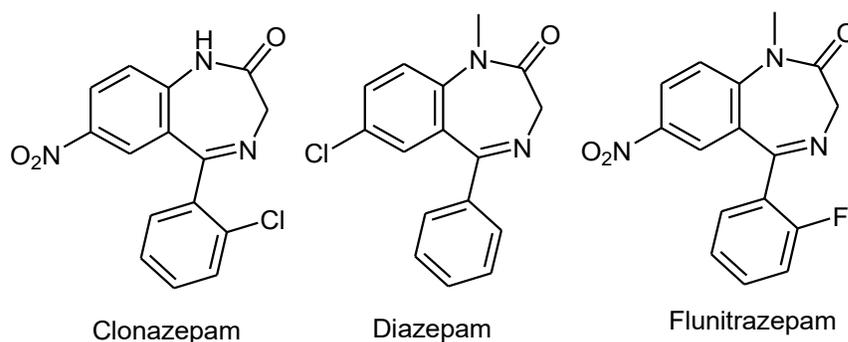
Tabla 3. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	BBB_filter	Tox aguda rata (mg/kg)
25		2,536	1	High (98%)	847,732
26		2,545	1	High (98%)	642,833
27		2,561	1	High (98%)	352,524
28		2,589	1	High (98%)	847,694
29		2,595	1	High (98%)	389,716
30		2,619	1	High (83%)	718,488

3.2.2 Acoplamiento molecular de los fármacos de referencia: Clonazepam, diazepam y flunitrazepam con el receptor GABA_A.

Se realizó la optimización geométrica y posteriormente los acoplamientos moleculares de estos compuestos de referencia (Figura 3-3), mediante el uso de los tres programas descritos en la sección de metodología. Se evaluó la interacción de estos fármacos en el sitio de recepción de benzodiazepinas del receptor GABA_A, cuya estructura cristalográfica con código 6DW0 fue obtenida del PDB.

Figura 3-3. Estructuras de los fármacos de referencia usados en el acoplamiento molecular con el receptor GABA_A.



Dichos resultados fueron tabulados (Tabla 4) y las estructuras de los complejos receptor – ligando se visualizaron para su evaluación cualitativa (Figura 3-4 a 3-7); estos sirvieron como comparación para el proceso de selección de los prototipos más promisorios de las series A y B.

Tabla 5. Valores de scores obtenidos para los fármacos de referencia en el *docking* con 6DW0.

Fármaco	Score ADT	S.N. ADT	Score VINA	S.N. VINA	Score DOCK6	S.N. DOCK6	Score medio
Clonazepam	-8.79	0.54	-8.4	0.68	-30.314	0.75	0.66
Diazepam	-7.60	0.23	-8.8	0.79	-34.613	0.84	0.62
Flunitrazepam	-7.99	0.33	-8.2	0.62	-31.526	0.77	0.58

S.N. ADT: Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock 4. **S.N. VINA:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock Vina. **S.N. DOCK6:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software DOCK6.

Figura 3-4. Interacciones del clonazepam con el receptor GABA_A, halladas mediante acoplamiento molecular.

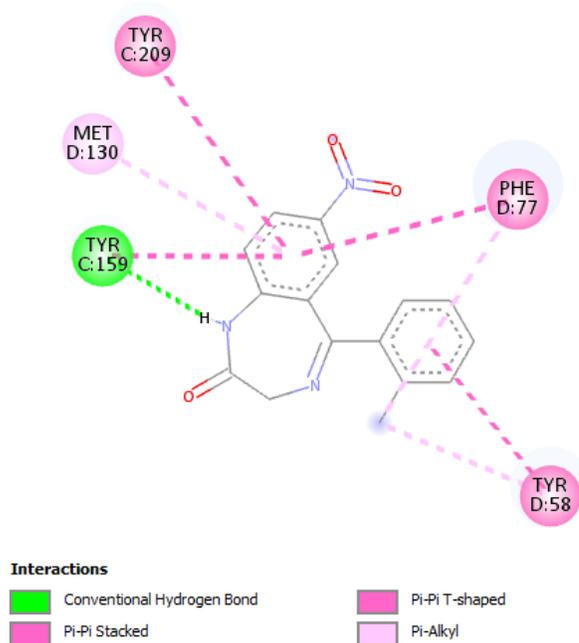


Figura 3-5. Interacciones del diazepam con el receptor GABA_A, halladas mediante acoplamiento molecular.

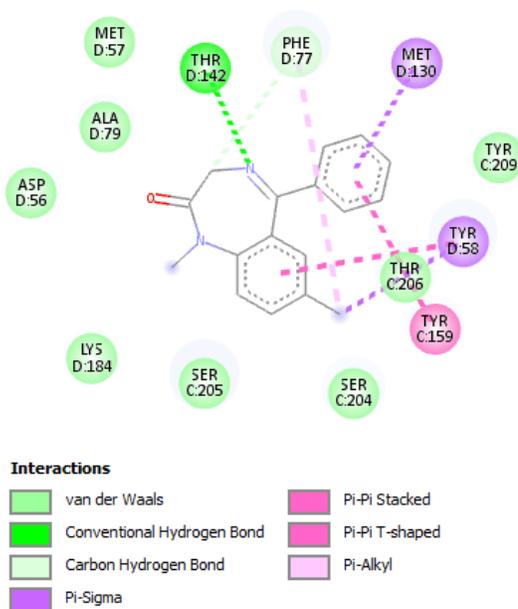
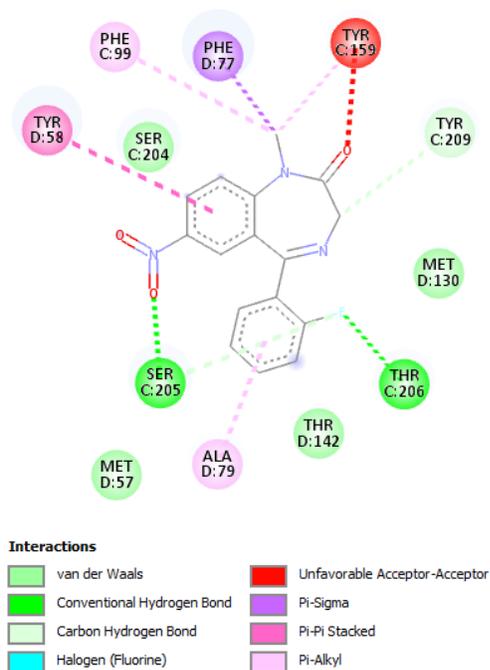


Figura 3-6. Interacciones del flunitrazepam con el receptor GABA_A, obtenidas mediante acoplamiento molecular.



Se resumen las interacciones halladas con cada uno de los programas usados para el acoplamiento molecular de los compuestos de referencia en las tablas 5 a 7

Tabla 6. Interacciones de los fármacos de referencia con algunos residuos del sitio de recepción de benzodiazepinas halladas con el software AutoDock 4.

Nombre	His 101	Tyr 159	Tyr 58	Thr 206	Tyr 209	Phe 77	Met 130	Thr 142
Clonazepam		XX	XX		X	XX	X	
Diazepam		X	XX			X	X	X
Flunitrazepam		XX	XXX	X		X		

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-catión, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Tabla 7. Interacciones de los fármacos de referencia con algunos residuos del sitio de recepción de benzodiazepinas halladas con el software AutoDock VINA.

Nombre	His 101	Tyr 159	Tyr 58	Thr 206	Tyr 209	Phe 77	Met 130	Thr 142
Clonazepam						X		X
Diazepam	X	X	X		XX	X	X	
Flunitrazepam								X

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-catión, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Tabla 8. Interacciones de los fármacos de referencia con algunos residuos del sitio de recepción de benzodiazepinas halladas con el software DOCK 6.

Nombre	His 101	Tyr 159	Tyr 58	Thr 206	Tyr 209	Phe 77	Met 130	Thr 142
Clonazepam	X	X	XX		X			
Diazepam		XX	X		XX	X		
Flunitrazepam	X		X		X	XX		

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-catión, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

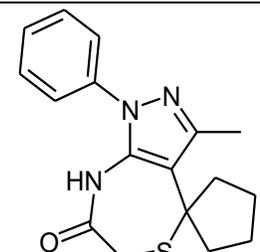
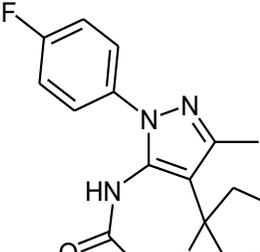
Se observa que en los compuestos de referencia predominan las interacciones de tipo hidrofóbico, especialmente de tipo dispersivo y apilamiento π : estas últimas dadas con residuos de tipo aromático, tales como tirosina (Tyr), fenil alanina (Phe) entre otros. Se nota también que en los tres programas evaluados resultan coincidentes, interacciones con los residuos Tyr-158, Tyr-58 y Phe-77. Estos aminoácidos y sus interacciones con las moléculas propuestas de las series A y B serán evaluados en aras de establecer posible afinidad y actividad moduladora sobre el receptor estudiado.

3.2.3 Acoplamiento molecular de los compuestos de la serie A (espiro pirazolotiazepinonas) con el receptor GABA_A.

Se realizó la optimización geométrica y posteriormente los acoplamientos moleculares de las moléculas de la serie A que no fueron descartadas mediante el pre-filtrado por propiedades ADMETox, mediante el uso de los tres programas descritos en la sección de metodología. Se evaluó la interacción de estos prototipos en el sitio de recepción de benzodiazepinas del receptor GABA_A cuya estructura cristalográfica con código 6DW0 fue obtenida del PDB.

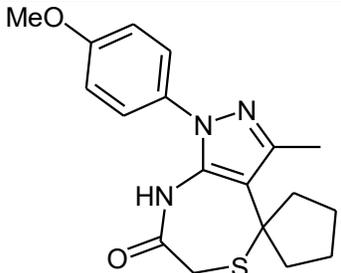
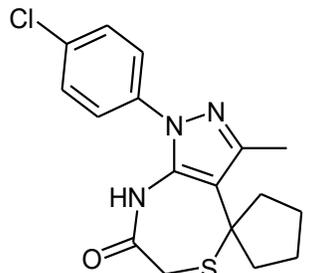
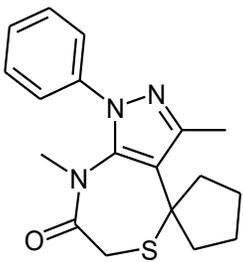
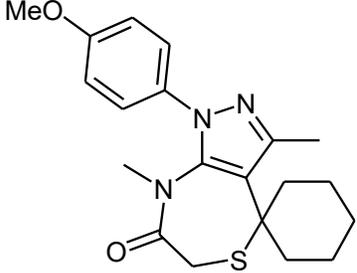
Dichos resultados fueron normalizados y comparados cuantitativamente mediante la ecuación de consenso descrita previamente. Mediante esta evaluación se observó que los compuestos más promisorios a nivel cuantitativo, resultaron aquellos con patrones de sustitución alquímica de menor tamaño (Tabla 8).

Tabla 9. Consenso de puntuación normalizada de los diez mejores compuestos de la serie A en la evaluación mediante acoplamiento molecular.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
1.		0.45	0.85	0.90	0.73
2.		0.57	0.91	0.70	0.73

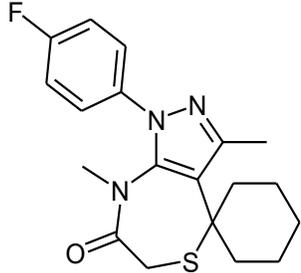
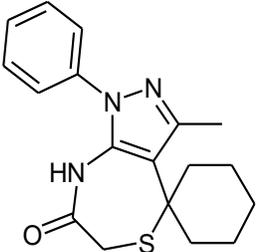
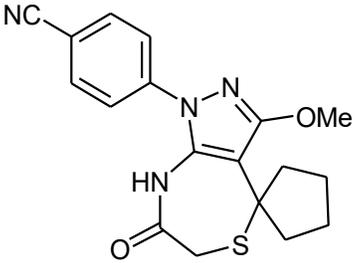
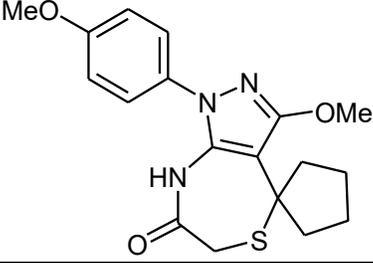
Continúa en la siguiente página.

Tabla 8. Continuación.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
3.		0.49	0.85	0.79	0.71
4.		0.59	0.59	0.80	0.66
5.		0.56	0.65	0.60	0.60
6.		0.55	0.59	0.66	0.60

Continúa en la siguiente página.

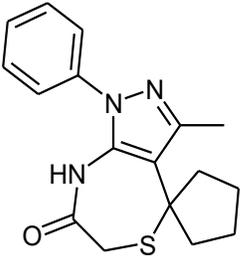
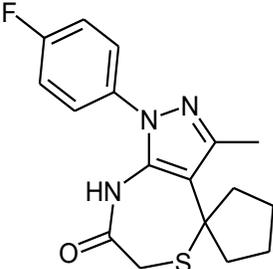
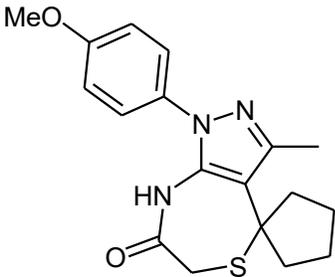
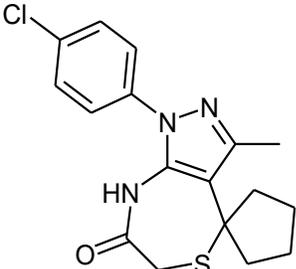
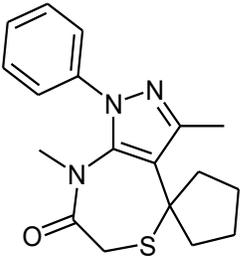
Tabla 8. Continuación.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
7.		0.50	0.68	0.59	0.59
8.		0.35	0.76	0.63	0.58
9.		0.39	0.59	0.73	0.57
10.		0.32	0.62	0.73	0.56

S.N. ADT: Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock 4. **S.N. VINA:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock Vina. **S.N. DOCK6:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software DOCK6.

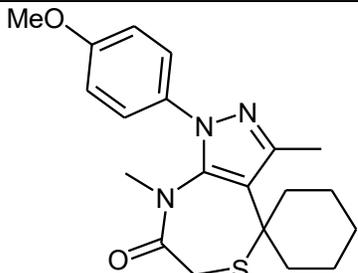
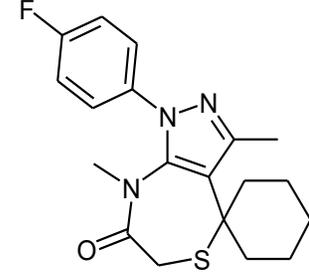
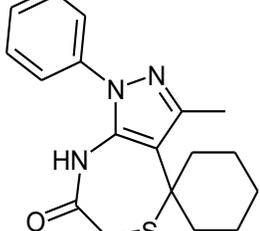
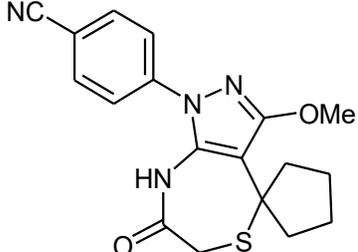
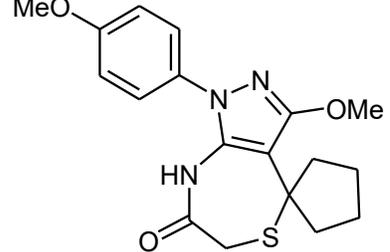
De acuerdo con los acoplamientos realizados, se observaron interacciones con los residuos comunes a los fármacos de referencia como se muestra en la tabla 9.

Tabla 10. Interacciones observadas en los acoplamientos moleculares de los 10 mejores prototipos de la serie A con el receptor GABA_A.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
1.		Tyr-159 Tyr-209 Phe-77 Met-130	His-101 Tyr-209 Phe-77 Met-130	His-101
2.		Tyr-159 Thr-206 Tyr-209 Phe-77 Met-130 Thr-142	His-101 Tyr-159 Tyr-58 Phe-77	Ninguna con los residuos seleccionados.
3.		Tyr-159 Tyr-209 Phe-77 Met-130	His-101 Tyr-209 Phe-77 Met-130 Thr-142	Ninguna con los residuos seleccionados.
4.		His-101 Tyr-159 Phe-77	His-101 Tyr-58 Phe-77	His-101
5.		Tyr-159 Tyr-209 Phe-77 Thr-142	His-101 Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77 Met-130	Ninguna con los residuos seleccionados.

Continúa en la siguiente página.

Tabla 10. Continuación.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
6.		His-101 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77	His-101 Tyr-159 Tyr-58 Phe-77	His-101
7.		His-101 Tyr-58 Thr-206 Tyr-209 Phe-77	His-101 Tyr-159 Tyr-58 Phe-77	His-101 Tyr-58
8.		Tyr-159 Thr-206 Tyr-209 Phe-77 Met-130	Tyr-58 Phe-77	Ninguna con los residuos seleccionados
9.		Tyr-58 Phe-77	His-101 Tyr-58 Phe-77	His-101 Phe-77
10.		His-101 Tyr-209 Phe-77 Met-130 Thr-142	His-101 Tyr-58 Thr-206 Phe-77	His-101

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-catión, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Dada esta lista ordenada y notándose que se encuentran interacciones coincidentes con los fármacos de referencia (Figuras 3-7, 3-8 y 3-9), se seleccionaron los primeros tres compuestos de la tabla anterior (Figura 3-10) para ser sintetizados en cantidades de un gramo.

Figura 3-7. Interacciones halladas del receptor GABA_A con el compuesto cpTP-0 (Entrada 1 de la tabla 9).

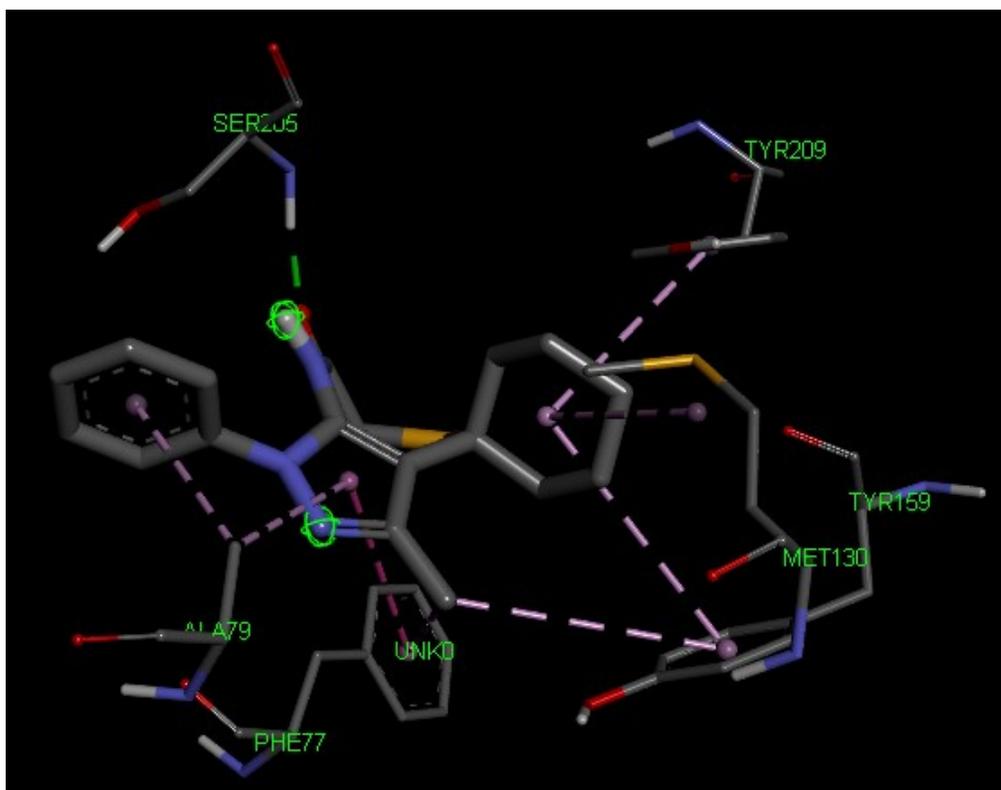


Figura 3-8. Interacciones halladas del receptor GABA_A con el compuesto cpTP-7 (Entrada 2 de la tabla 9).

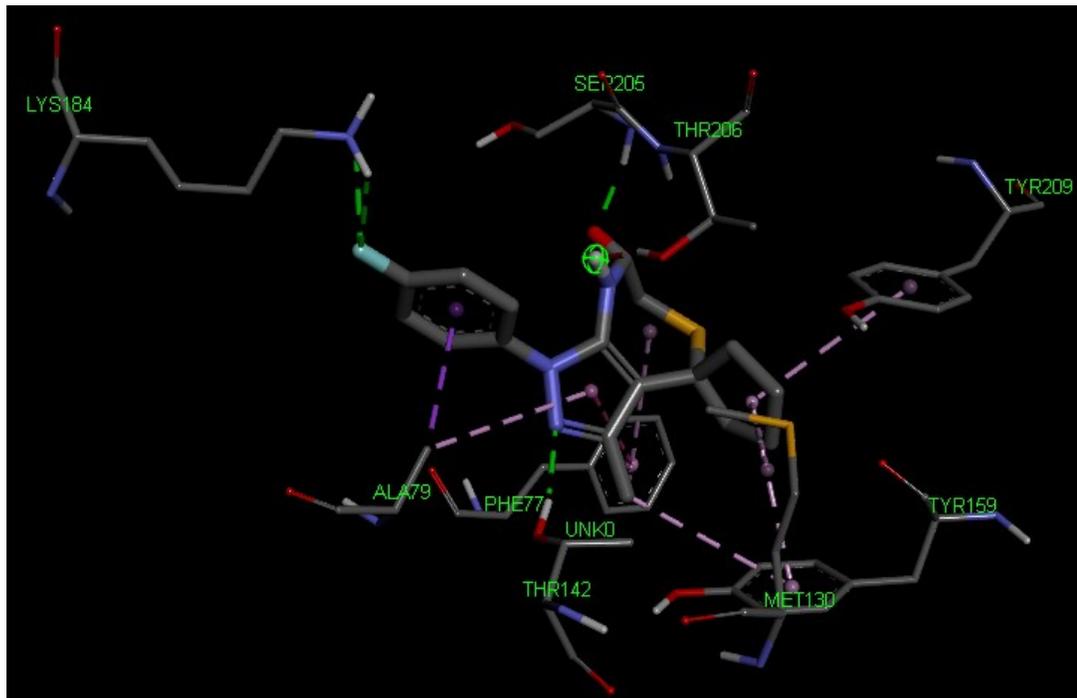


Figura 3-9. Interacciones halladas del receptor GABA_A con el compuesto cpTP-6 (Entrada 3 de la tabla 9).

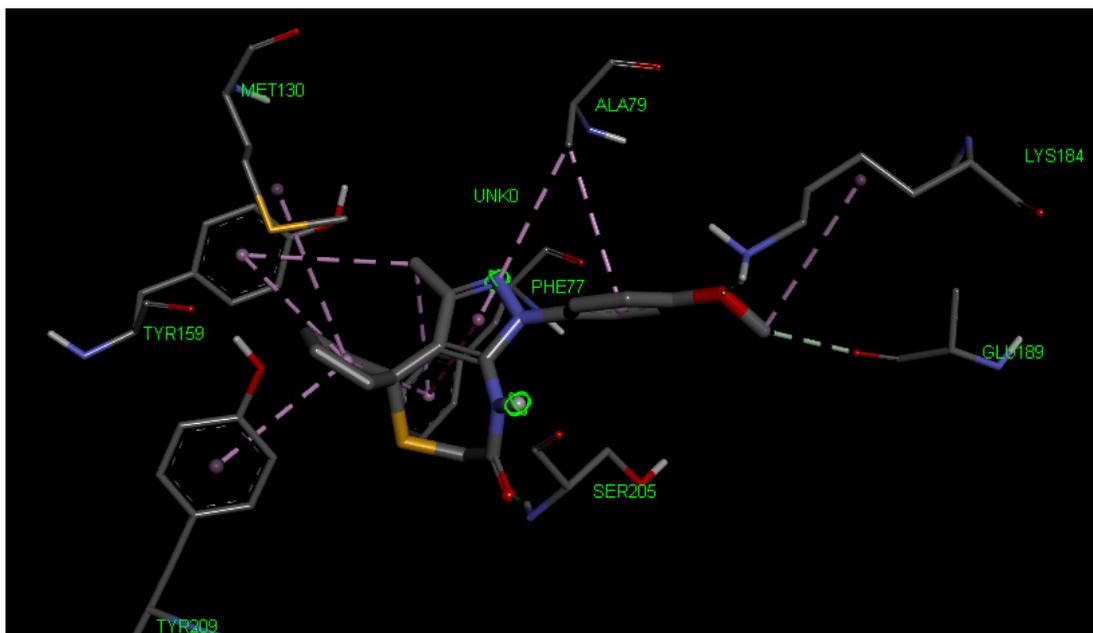
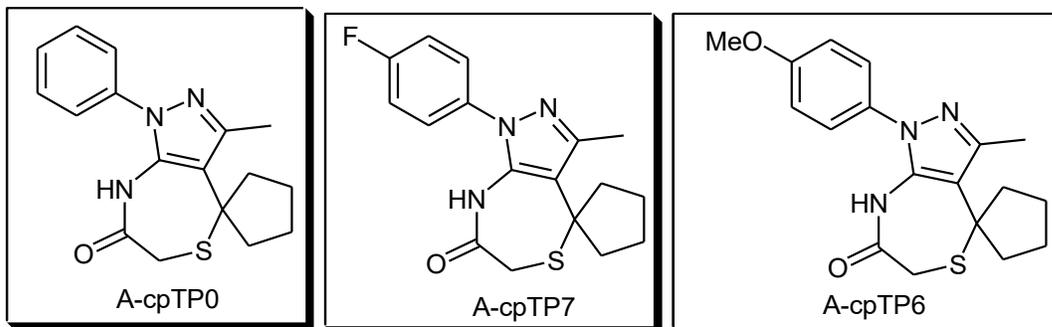


Figura 3-10. Compuestos de la serie A (espiro pirazolotiazepinonas) seleccionados como promisorios moduladores del receptor GABA_A de acuerdo con el cribado computacional realizado.

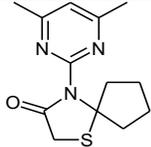
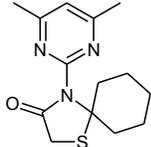
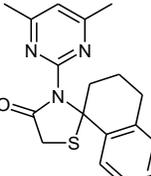
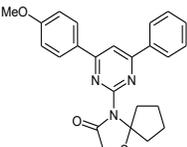
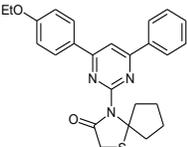
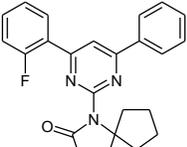
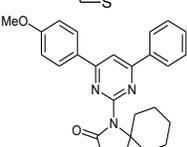
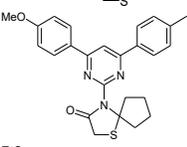
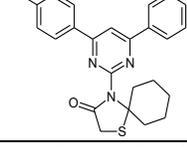


3.2.4 Propiedades ADMETox de las moléculas propuestas de la serie B (Espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas).

De forma análoga que con la serie A, se realizó el pre-filtrado de los compuestos mediante el cálculo de sus propiedades ADMETox usando las herramientas computacionales AdmetSar y MedChem Designer. Se partió de los 39 compuestos planteados inicialmente (Sección 3.1.2), de los cuales se apreció que en su mayoría resultan poco viables en cuanto a descriptores de biodisponibilidad, aquellos con el fragmento tetrahidronaftaleno espirofusionado en su estructura (esto dada la alta masa molar y lipofilia predicha *in silico*), exceptuando un compuesto señalado en la Tabla 10. Siendo así, se descartaron 12 compuestos dada su baja probabilidad de atravesar la membrana sangre-intestino.

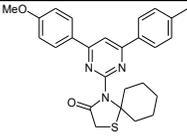
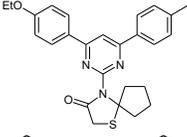
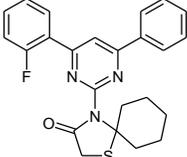
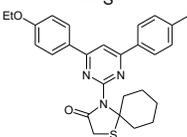
Además de esto, se descartaron los compuestos con el sustituyente α -aminoacetilo ($-\text{COCH}_2\text{NH}_2$), dado que exhibieron en los cálculos realizados un perfil de toxicidad riesgoso, debido a la presencia de este sustituyente. Así pues, se presentan en la tabla 10 los compuestos no excluidos mediante este proceso de pre-filtrado.

Tabla 11. Compuestos seleccionados mediante filtrado ADMETox de la serie B.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	BBB_filter	Tox aguda rata (mg/kg)
1		1.000	0	High (98%)	777.14
2		1.055	0	High (98%)	817.85
3		2.525	0.767	High (98%)	814.52
6		4.153	0.309	High (89%)	901.07
7		4.220	0.198	High (89%)	957.254
8		4.232	0.06	High (98%)	646.51
9		4.238	0.23	High (89%)	925.377
10		4.417	0.357	High (89%)	925.19
11		4.517	0.111	High (86%)	979.283

Continúa en la siguiente página.

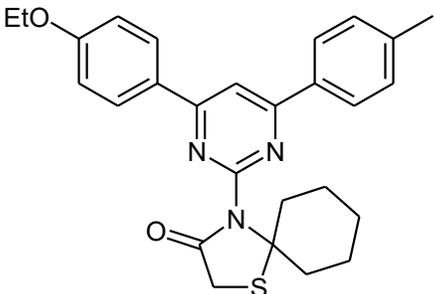
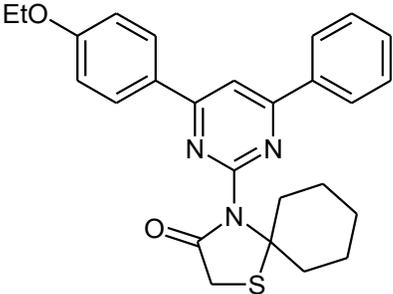
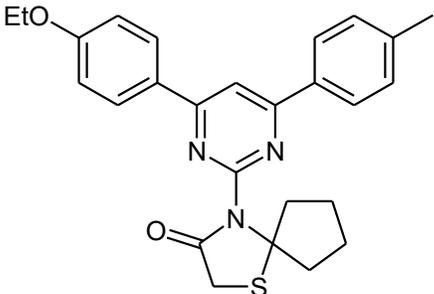
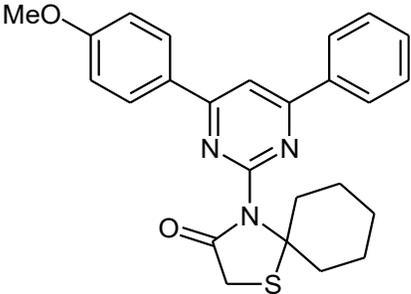
Tabla 10. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	BBB_filter	Tox aguda rata (mg/kg)
12		4.677	0.277	High (89%)	948.396
13		4.695	0.251	High (89%)	962.03
14		4.725	0	High (98%)	657.627
15		4.906	0.162	High (86%)	985.747

3.2.5 Acoplamiento molecular de los compuestos de la serie B (espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas).

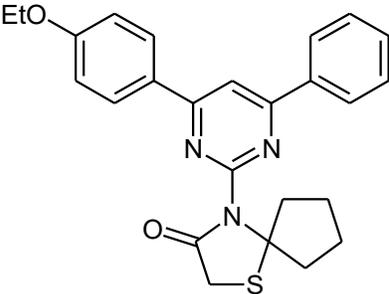
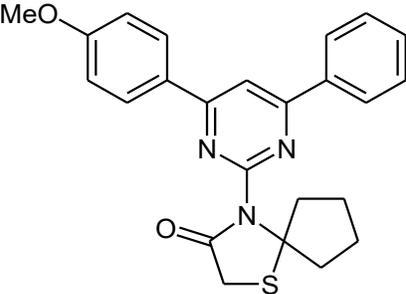
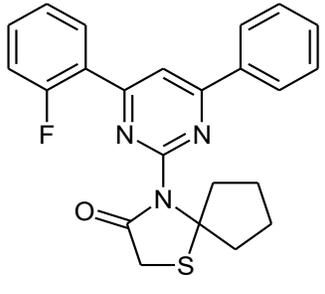
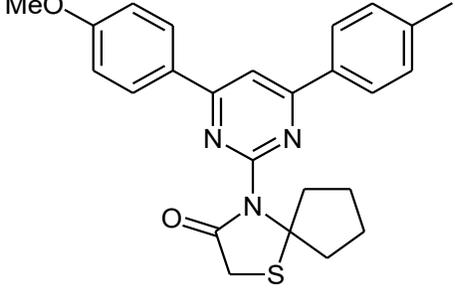
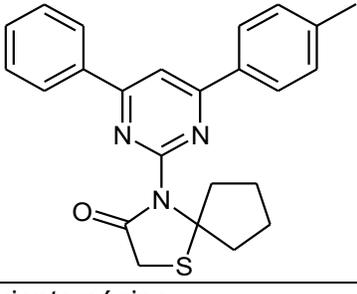
Al igual que con los prototipos de la serie A, se realizó la optimización geométrica y posteriormente los acoplamientos moleculares de las moléculas de esta serie de pirimidinil tiazolidinonas que no fueron descartadas mediante el pre-filtrado por propiedades ADMETox, mediante el uso de los tres programas descritos en la sección de metodología. Se evaluó la interacción de estos prototipos en el sitio de recepción de benzodiazepinas del receptor GABA_A. De igual forma, los resultados fueron normalizados y comparados cuantitativamente mediante la ecuación de consenso descrita previamente (Tabla 11).

Tabla 12. Consenso de puntuación normalizada de los diez mejores compuestos de la serie A en la evaluación mediante acoplamiento molecular.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
1.		0.64	0.45	0.96	0.68
2.		0.62	0.43	0.99	0.68
3.		0.60	0.47	0.97	0.68
4.		0.62	0.47	0.89	0.66

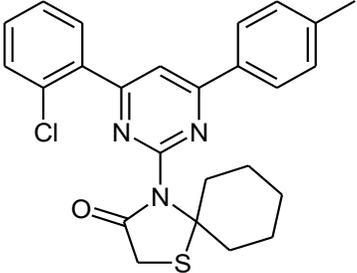
Continúa en la siguiente página.

Tabla 11. Continuación.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
5.		0.63	0.42	0.92	0.66
6.		0.60	0.47	0.86	0.64
7.		0.57	0.55	0.82	0.64
8.		0.55	0.53	0.85	0.64
9.		0.66	0.57	0.66	0.63

Continúa en la siguiente página.

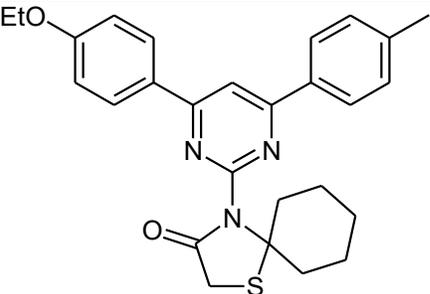
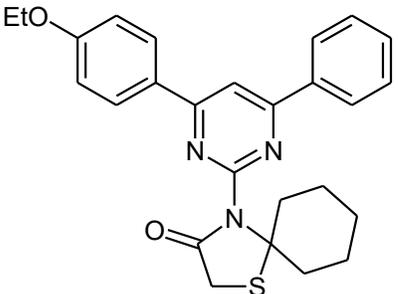
Tabla 11. Continuación.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
10.		0.83	0.58	0.40	0.60

S.N. ADT: Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock 4. **S.N. VINA:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock Vina. **S.N. DOCK6:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software DOCK6.

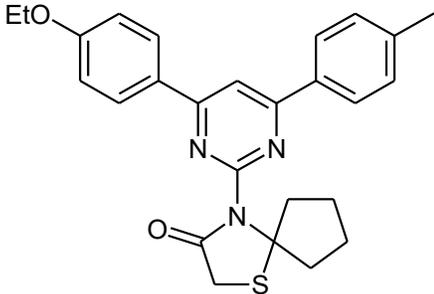
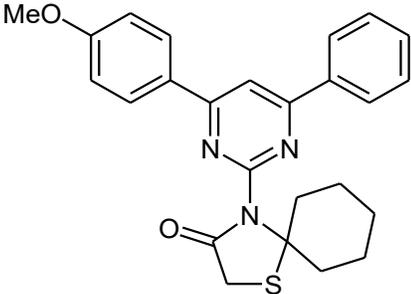
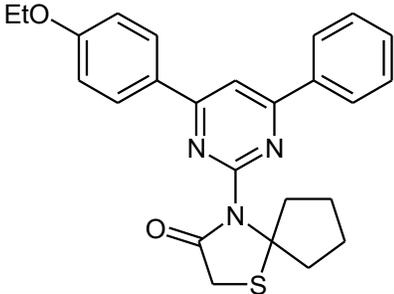
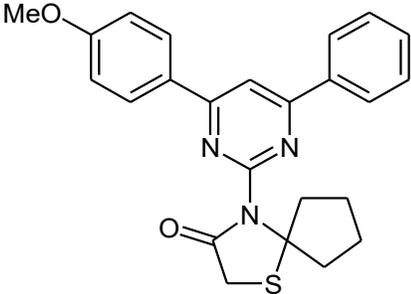
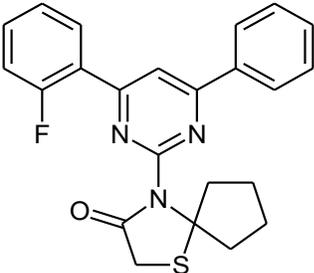
De acuerdo con los acoplamientos realizados, se observaron interacciones con los residuos comunes a los fármacos de referencia como se muestra en la tabla 12.

Tabla 13. Interacciones observadas en los acoplamientos moleculares de los 10 mejores prototipos de la serie B con el receptor GABA_A.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
1.		His-101 Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77	His-101 Tyr-58 Phe-77	Tyr-159 Tyr-58 Met-130
2.		Tyr-159 Tyr-58 Thr-206 Tyr-209 Phe-77 Met-130	His-101 Tyr-58 Phe-77	Tyr-58

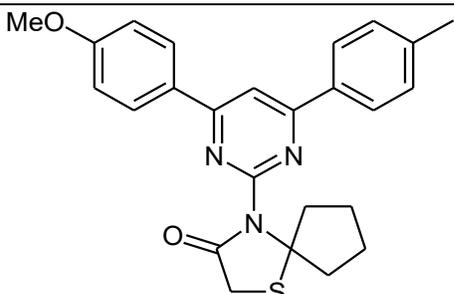
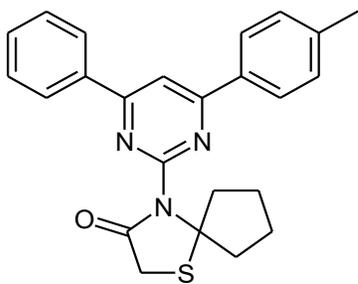
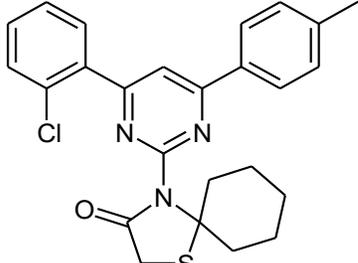
Continúa en la siguiente página.

Tabla 12. Continuación.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
3.		Tyr-159 Tyr-58 Thr-206 Tyr-209 Phe-77 Met-130	His-101 Tyr-58 Tyr-209	His-101 Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209 Met-130
4.		Tyr-159 Tyr-58 Thr-206 Tyr-209 Phe-77 Met-130	His-101 Tyr-58 Phe-77 Thr-142	Tyr-159 Tyr-58
5.		Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209 Thr-142	His-101 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77	His-101 Tyr-58
6.		Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209 Thr-142	His-101 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77 Thr-142	His-101 Tyr-58
7.		Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77 Met-130 Thr-142	His-101 Tyr-58 Phe-77	His-101 Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77

Continúa en la siguiente página.

Tabla 12. Continuación.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
8.		Tyr-159 Tyr-58 Thr-206 Tyr-209 Phe-77 Met-130	His-101 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77	Tyr-159 Tyr-58
9.		Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209	His-101 Tyr-58 Tyr-209	Tyr-159 Tyr-58
10.		Tyr-159 Tyr-58 Tyr-209	His-101 Tyr-58 Tyr-209 Phe-77	Tyr-58 Tyr-209 Phe-77

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-cación, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Dada esta lista ordenada y de forma análoga a como se realizó la selección de los compuestos más promisorios a sintetizar de la serie A, se seleccionaron los compuestos con mayor puntaje de consenso y con interacciones coincidentes con los fármacos de referencia (Figuras 3-11, 3-12 y 3-13); las estructuras con sus respectivos códigos se presentan en la figura 3-14.

Figura 3-11. Interacciones halladas del receptor GABA_A con el compuesto B-TAP5 (Entrada 1 de la tabla 12).

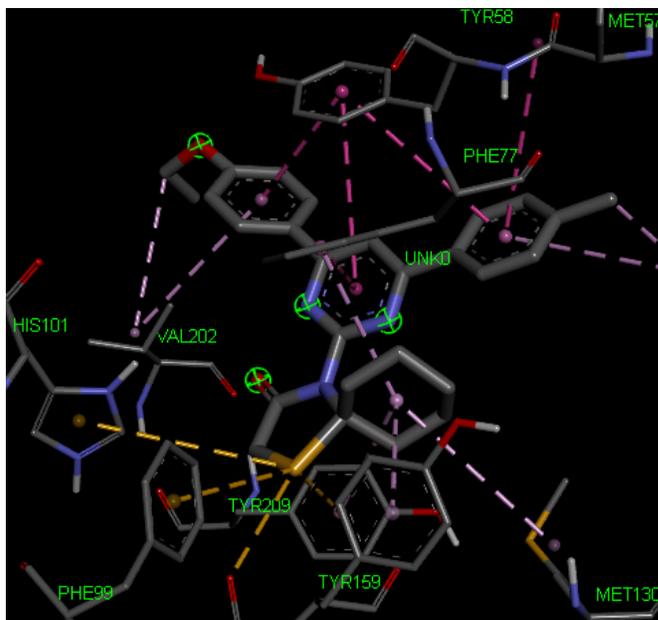


Figura 3-12. Interacciones halladas del receptor GABA_A con el compuesto B-TAP2 (Entrada 2 de la tabla 12).

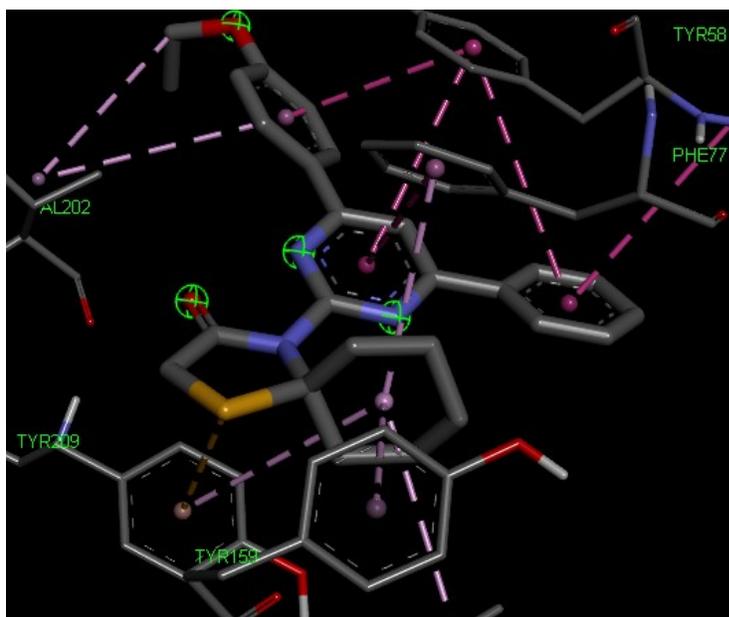
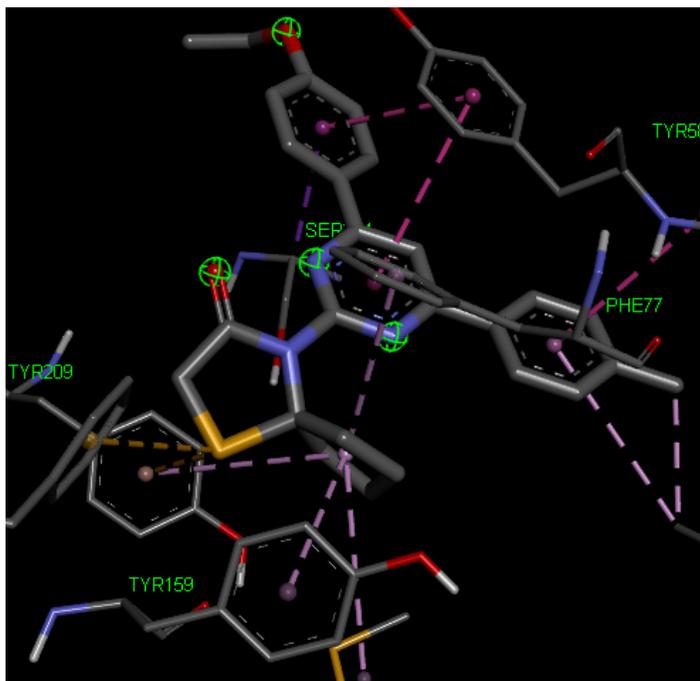
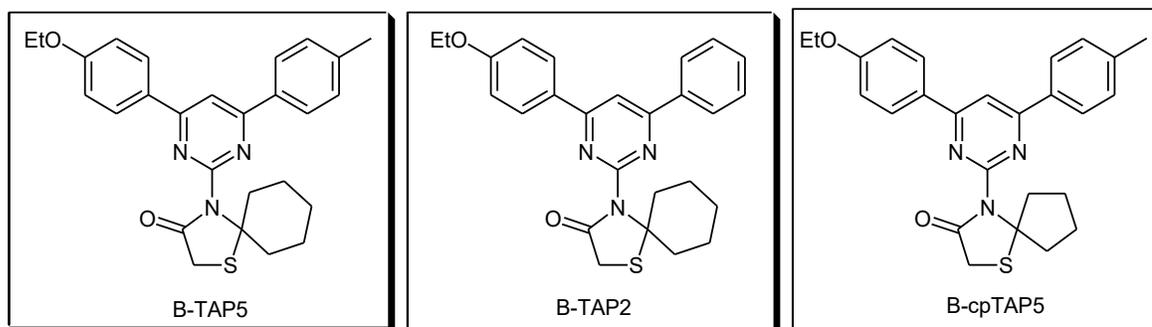


Figura 3-13. Interacciones halladas del receptor GABA_A con el compuesto B-cpTAP2 (Entrada 3 de la tabla 12).



Es de notar que los compuestos de la anterior lista (Tabla 12) en su mayoría contienen el fragmento *p*-etoxifenilo, sobre el cual se observan interacciones de tipo apilamiento π con residuos aromáticos como la tirosina y la fenil alanina. Siendo así, se seleccionaron los siguientes compuestos para su síntesis (Figura 3-14).

Figura 3-14. Compuestos de la serie B (espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas) seleccionados como promisorios moduladores del receptor GABA_A de acuerdo con el cribado computacional realizado.



3.3 Exploración sintética para la obtención de los compuestos seleccionados de las series A y B.

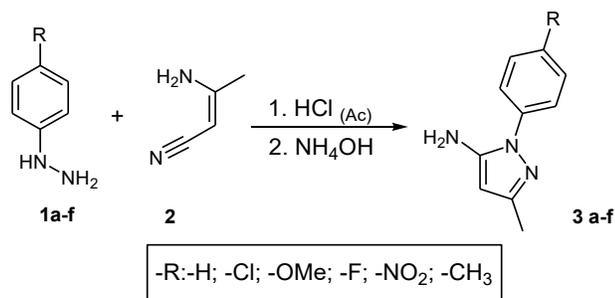
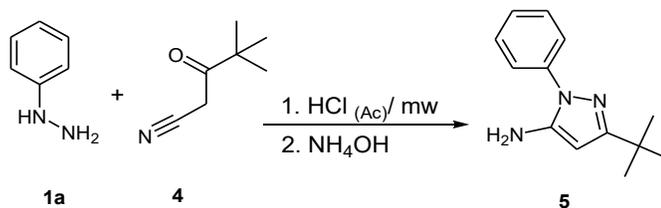
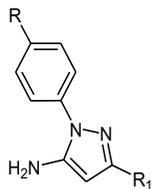
En esta sección se expondrá la síntesis, experimentos de control y caracterización espectroscópica de los compuestos seleccionados mediante el cribado virtual. Inicialmente se dio pie a algunos ensayos de optimización de las condiciones de reacción, tiempos y demás variables del proceso de síntesis; una vez optimizados se procedió al escalamiento de las reacciones y obtención de un gramo de los compuestos objetivo.

3.3.1 Síntesis de los compuestos de la serie A: Espiro pirazolotiazepinonas.

Como bien se planteó en la sección **2.5.1**, la síntesis de estos compuestos se realizó mediante una estrategia a 3 pasos; el primero de estos implica la síntesis de 3-alquil-5-amino-1-aril-1*H*-pirazoles, los cuales se sometieron a una ciclocondensación tricomponente con ácido mercaptoacético (MAA) y cetonas cíclicas; dicha reacción conllevó a la obtención del espirociclo deseado, el cual se logró funcionalizar mediante una reacción de *N*-alquilación con haluros de alquilo promovida por base.

▪ Síntesis de los precursores 5-aminopirazólicos.

La reacción de obtención de estos precursores es bien conocida y ha sido empleada previamente en nuestro grupo de investigación; se trata de una reacción de ciclocondensación en medio ácido de compuestos de tipo β -enaminonitrilo o β -cetonitrilo con hidracinas monoaril sustituidas. Para los propósitos de este trabajo se sintetizaron seis aminopirazoles variando el sustituyente en la hidracina (Esquema 3-1) y uno variando el nitrilo de partida (Esquema 3-2). Es de notar que este último se sintetizó mediante inducción por microondas con ayuda de un reactor CEM monomodal. Estos compuestos se lograron obtener con rendimientos desde el 60% hasta el 83% (Tabla 13).

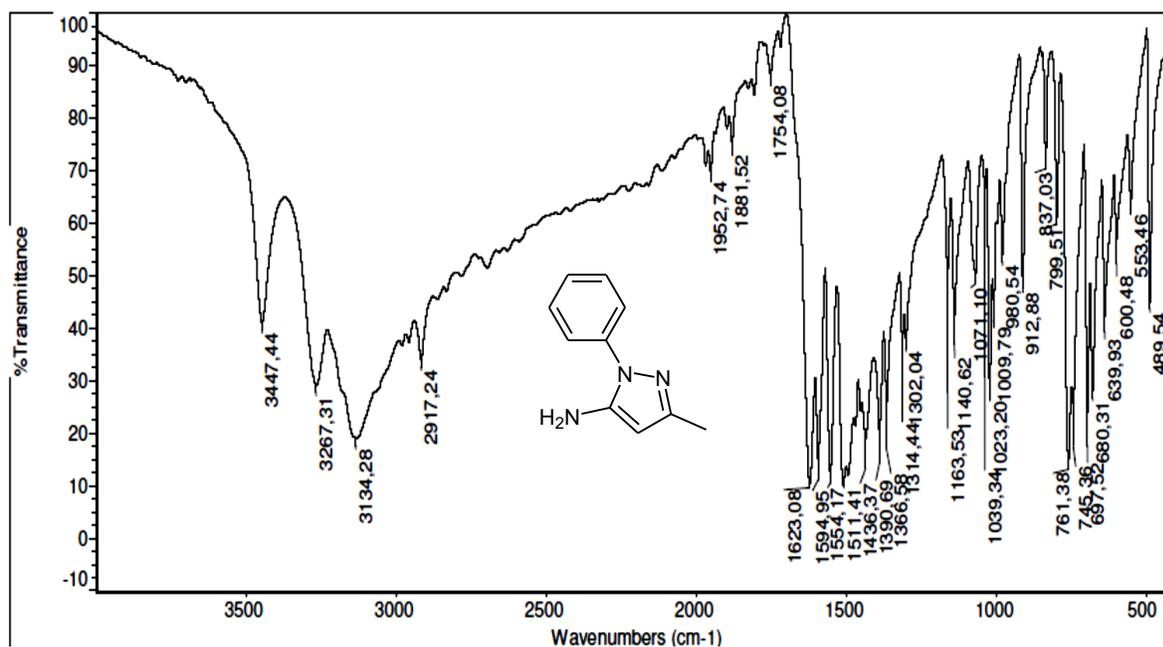
Esquema 3-1. Síntesis de los precursores 5-amino-1-*aril*-3-metil-1*H*-pirazólicos.**Esquema 3-2.** Síntesis del precursor 5-amino-1-fenil-3-(*terc*-butil)-1*H*-pirazol.**Tabla 14.** Rendimientos obtenidos para la síntesis de los precursores 5-aminopirazólicos.

Entrada	-R	-R ₁	% Rendimiento	Observaciones
3a.	-H	-Me	82	0.5 h
3b.	-Cl	-Me	80	0.5 h
3c.	-OMe	-Me	73	0.5 h
3d.	-F	-Me	75	0.5 h
3e.	-NO ₂	-Me	72	0.5 h
3f.	-Me	-Me	78	0.5 h
5.	-H	- <i>t</i> -Bu	60	Inducción microondas 200W 120°C / 0.33h

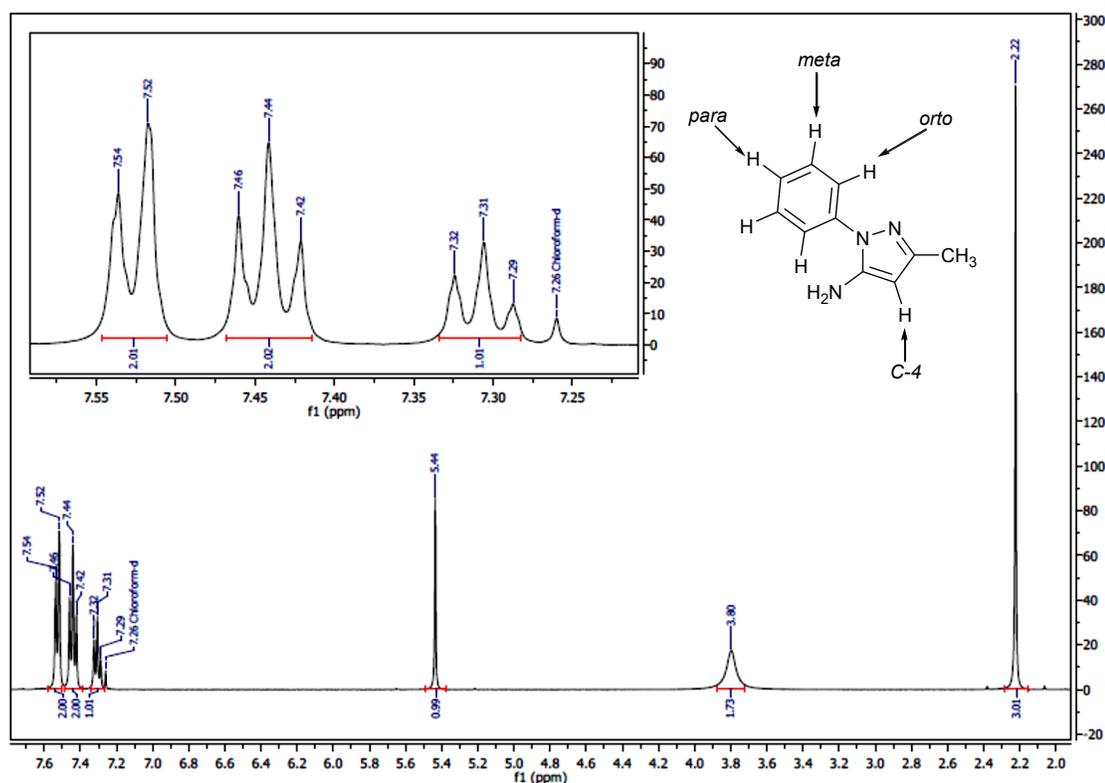
Estos compuestos independientemente de la forma de calentamiento se purificaron mediante neutralización del medio, lo cual indujo la precipitación del compuesto en el medio acuoso, por lo que se filtró al vacío y se dejó secar a temperatura ambiente.

La identidad química de estos compuestos fue corroborada mediante espectroscopia IR en pastilla de KBr (Figura 3-15), y experimentos de resonancia ^1H -RMN tomados en CDCl_3 (Figura 3-16) y ^{13}C -RMN tomados en CDCl_3 (Figura 3-17).

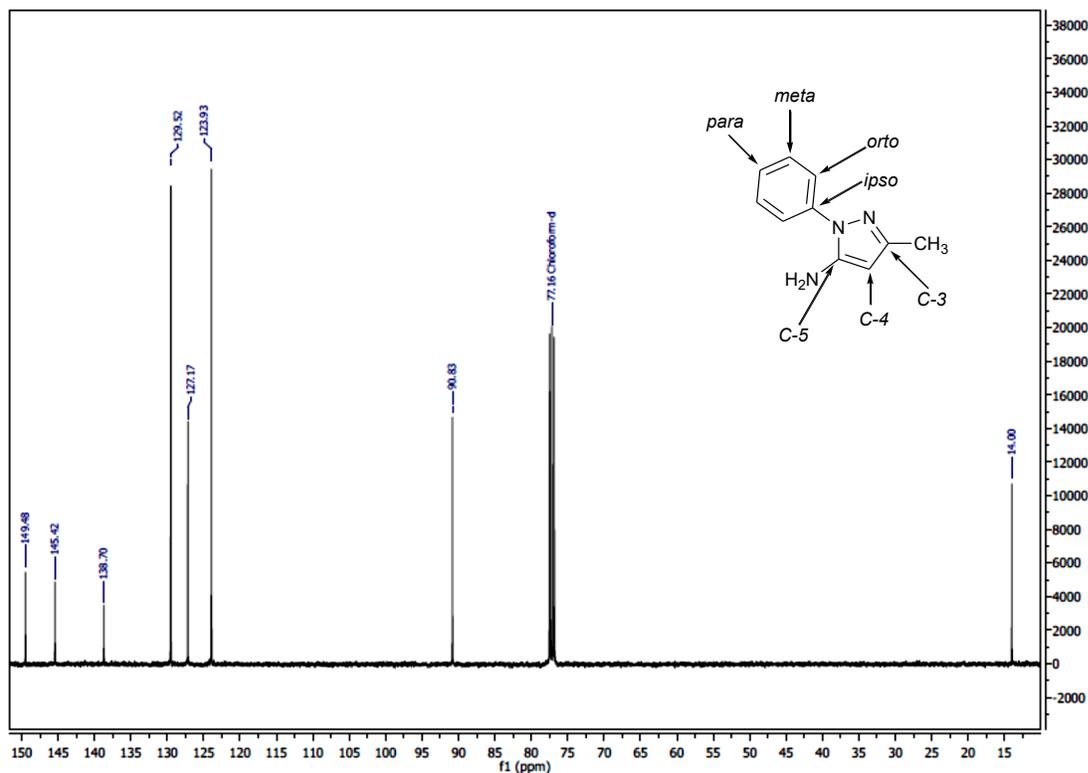
Figura 3-15. Espectro de infrarrojo en pastilla de KBr tomado para el aminopirazol **3a**.



En el espectro IR del compuesto **3a** se observan dos bandas en 3447 y 3267 cm^{-1} que corresponden los estiramientos típicos de los enlaces N-H de amina primaria; una banda en 3134 cm^{-1} asignada a la tensión de los enlaces C-H aromáticos, los estiramientos C-H del único carbono tetraédrico de la molécula ($-\text{CH}_3$) se aprecian como una banda de intensidad moderada en 2917 cm^{-1} ; por último, se puede ver una banda en 1623 cm^{-1} asignada a la tensión C=N de la porción estructural de tipo azometino presente en el anillo pirazólico.

Figura 3-16. Espectro ^1H -RMN del aminopirazol **3a** (tomado en CDCl_3).

En cuanto al espectro ^1H -RMN, se pueden observar seis señales; la primera es un singlete a 2.22 ppm que integra para 3 hidrógenos asignada al grupo metilo; luego se observa un singlete de base ancha a 3.80 ppm con integral de 2 hidrógenos asignada a los protones intercambiables del grupo amino; a 5.44 ppm y con integral para 1 hidrogeno se observa el singlete esperado para el protón unido a la posición C-4 del anillo pirazólico; en la región entre 7.31 hasta 7.56 ppm, se observan 3 señales cuya integral global es de 5 hidrógenos; la primera de estas tres señales es un triplete a 7.31 ppm, con constante de acoplamiento $J = 7.4$ Hz integrando para 1 hidrogeno, asignado al protón del grupo fenilo en posición *para* al anillo pirazólico; la siguiente señal es otro triplete a 7.46 ppm, con $J = 7.8$ Hz integrando para 2 hidrógenos asignado para los protones del grupo fenilo en la posición *meta* al anillo pirazólico; por último, se observa un doblete a 7.55 ppm con $J = 7.5$ Hz e integral para 2 hidrógenos; se asignó a los protones del fenilo en posición *orto* al anillo pirazólico.

Figura 3-17. Espectro ^{13}C -RMN del aminopirazol **3a** (Tomado en CDCl_3).

En el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono-13 del compuesto **3a**, se observan las ocho señales de los carbonos inequivalentes químicamente en la estructura; en 14.0 ppm se observa la única señal de carbono alifático asignada al carbono del grupo metilo; las señales de los carbonos del anillo pirazólico C-3, C-4, C-5 se hallaron en 149.5, 90.8 y 145.4 ppm respectivamente, los carbonos del fenilo, *ipso*, *orto*, *meta* y *para*, al anillo pirazólico se asignaron a las señales en 138.7, 123.9, 129.5 y 127.2 ppm respectivamente.

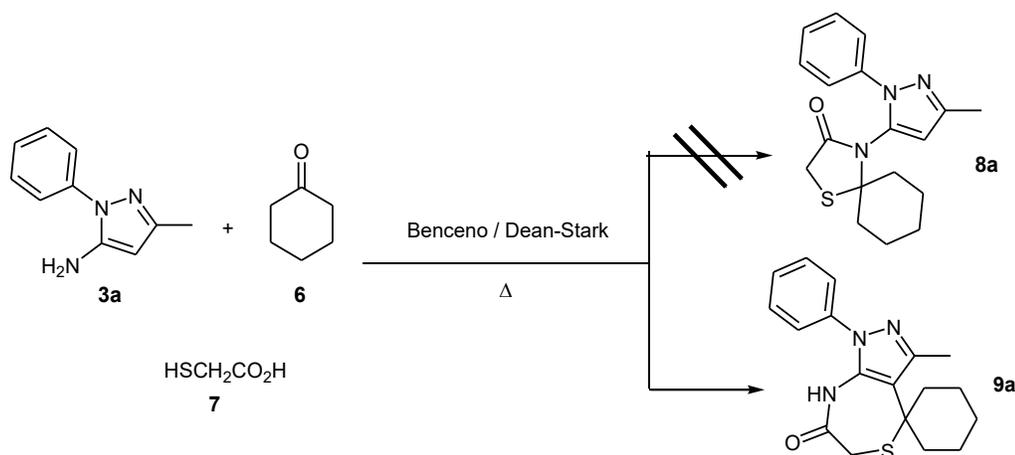
Los demás aminopirazoles se caracterizaron de forma análoga y exhibieron los mismos patrones espectroscópicos incluyendo cada variación estructural propia de los compuestos **3b – 3f** y **5**.

▪ **Experimentos iniciales de síntesis de los compuestos espiro pirazolotiazepinónicos.**

Se realizaron los primeros ensayos de síntesis de los compuestos espiránicos usando como sustrato de control el aminopirazol **3a**, esto en aras de establecer la reactividad de este tipo de heterociclos sin el efecto de sustituyentes electrodonores o electroattractores sobre el anillo aromático de la posición 1 del pirazol; además se utilizaron como bloques de construcción para esta reacción modelo la ciclohexanona y el ácido mercaptoacético (MAA) en condiciones anhidras retirando el agua formada por destilación azeotrópica con trampa Dean – Stark para desplazar el equilibrio hacia la formación de los espirociclos de acuerdo con el principio de Le Chatelier [65].

Para esto, en primera instancia se utilizó benceno a reflujo como disolvente de reacción obteniéndose únicamente el heterociclo de siete miembros **9a** (Esquema 3-3) con un rendimiento relativamente bajo (15%); es de notar, que el producto resulta insoluble en la mezcla de reacción, por tanto, es fácilmente separable de la misma.

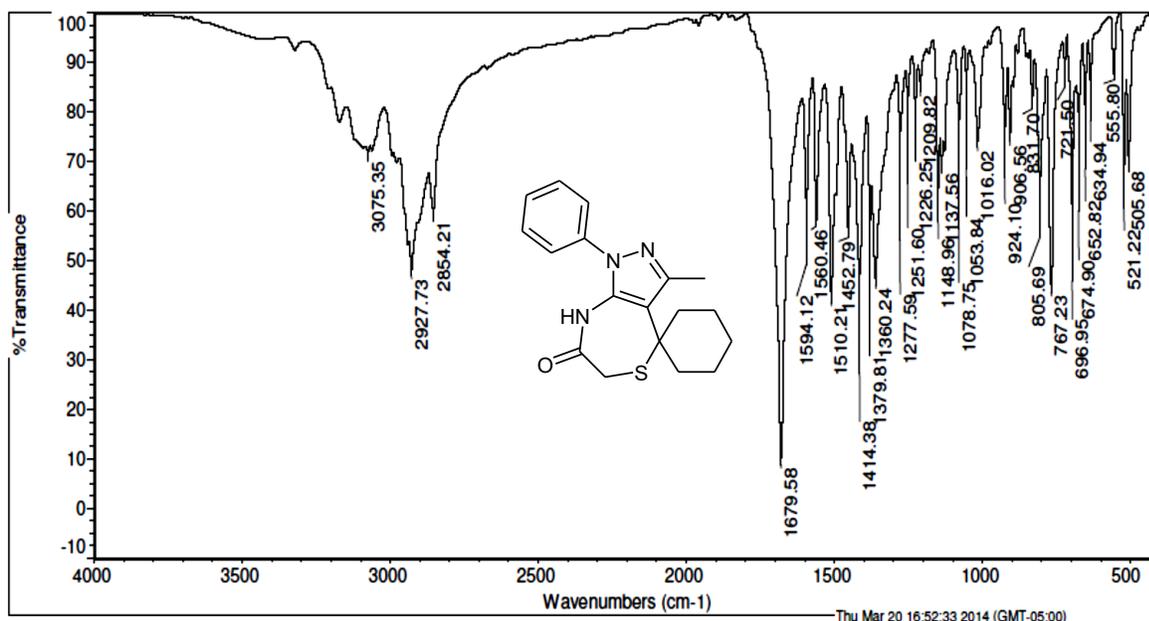
Esquema 3-3. Condiciones iniciales ensayadas para la obtención de la espirotiazepinona **9a**.



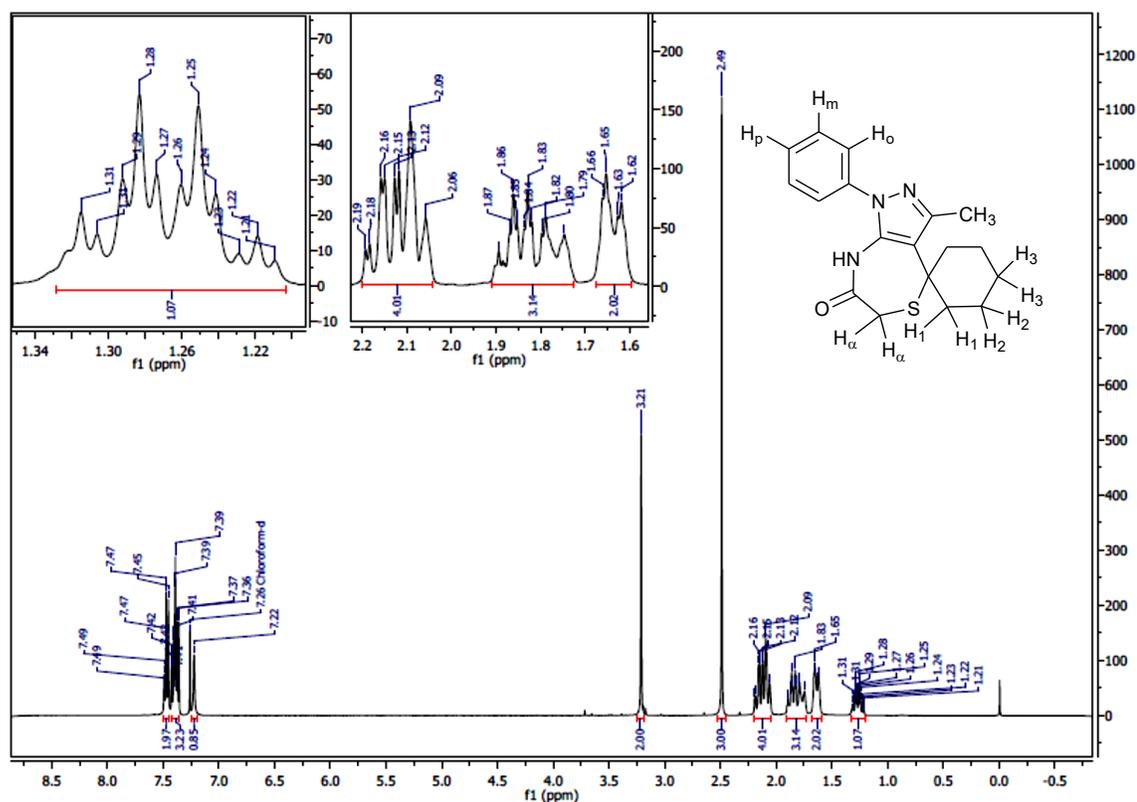
Pese a que se podría obtener también el producto espiro tiazolidin-4-onico **8a** (Esquema 3-3), las condiciones de reacción ensayadas solo produjeron el heterociclo de siete miembros, el cual fue caracterizado mediante técnicas espectroscópicas tales como espectrofotometría de infrarrojo (Figura 3-18), ^1H -RMN con experimentos de intercambio isotópico H-D (Figuras 3-19 y 3-20), ^{13}C -RMN (Figura 3-21), DEPT-135 (Figura 3-22), los experimentos de RMN bidimensionales HSQC (Figura 3-23) y HMBC (Figura 3-24), así

como espectrometría de masas de alta resolución HRMS (Figura 3-25) y por último, se logró la obtención de un monocristal que se sometió a la técnica de difracción de rayos X en monocristal, lo cual permitió el estudio de su estructura molecular en el estado sólido (Aspecto que se tratará en la sección “**Experimentos de derivatización de los productos espirotiazepinonicos: Reacciones de N-alquilación**”).

Figura 3-18. Espectro de infrarrojo del compuesto **9a**.

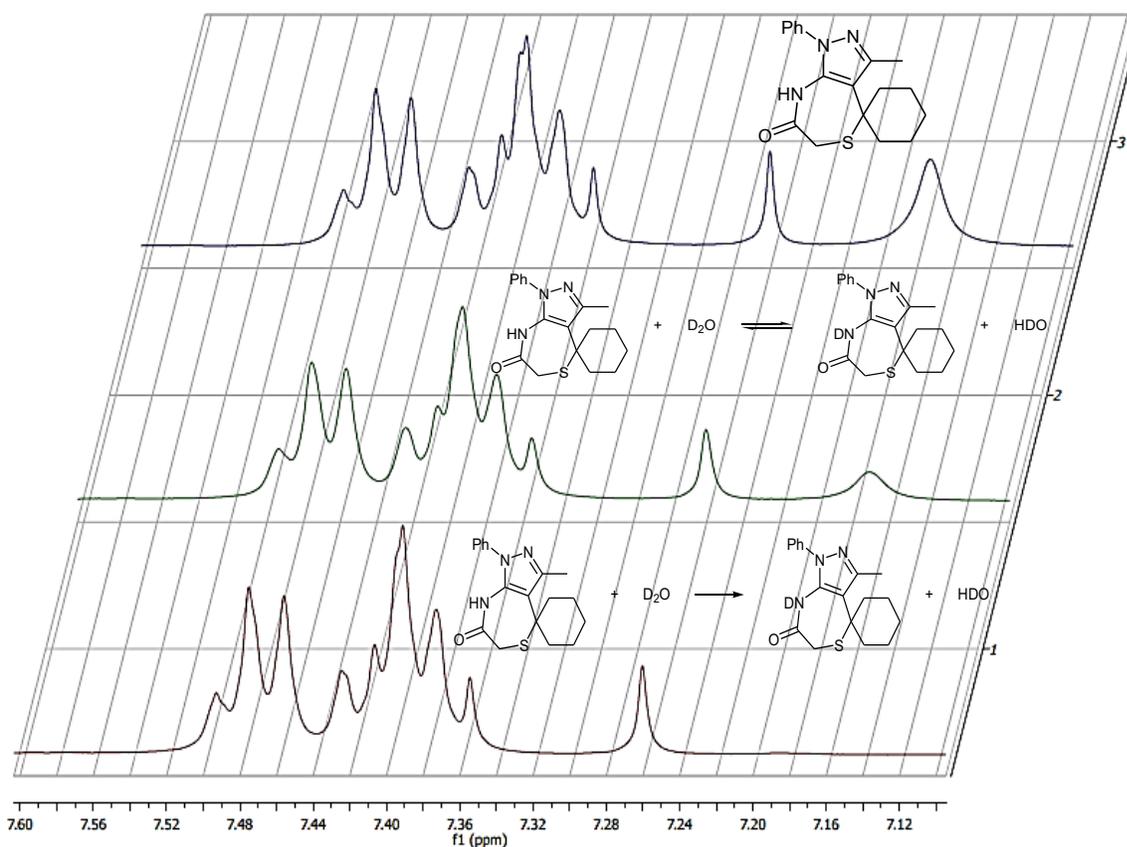


Se tomó el espectro de infrarrojo mediante la técnica ATR (Reflectancia Total Atenuada por sus siglas en inglés); observándose con baja intensidad bandas después de 3100 cm⁻¹ que pueden asignarse al estiramiento N-H presente en la molécula planteada; esta baja intensidad se debe a la técnica de toma del espectro usada (ATR). En 3075 cm⁻¹ se aprecia una banda ancha que podría asignarse a los estiramientos C-H de los carbonos Sp² aromáticos de la molécula; en esta misma región, en 2927 y 2854 cm⁻¹ se observan los estiramientos C-H Sp³ típicos de fragmentos cíclicos de 5 y 6 miembros [142]; el grupo carbonilo de lactama de siete miembros se observa como una banda en 1679 cm⁻¹.

Figura 3-19. Espectro ^1H -RMN del compuesto **9a** (Tomado en CDCl_3)

En el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno del compuesto **9a**, se observa hacia campo alto en 1.26 ppm un triplete cuarteto, con constantes de acoplamiento $J = 3.8$ Hz y 5.3 Hz, así como una integral para un hidrógeno; esta señal fue asignada a uno de los protones H_3 aparentemente desdoblado por su naturaleza diastereotópica. Entre 1.62 y 2.19 ppm se observan tres multipletes, que sumados integran para nueve protones y que se asignaron a los H 's restantes del fragmento ciclohexilo de la molécula. En 2.49 ppm se observa un singlete asignado a los hidrógenos del grupo metilo pirazólico; en 3.21 ppm se puede apreciar otro singlete, esta vez asignado a los protones H_α del metileno del fragmento tiazepinónico. Otra señal diagnóstico claramente observada, es el singlete de base ancha a 7.22 ppm correspondiente al protón N-H; esto se corroboró mediante experimentos de intercambio químico con agua pesada (Figura 3-20); hacia campo más bajo se observan las señales correspondientes a los protones del fragmento fenilo monosustituido como una serie de multipletes desde 7.36 a 7.49 ppm, que dan cuenta de los cinco protones del anillo aromático.

Figura 3-20. Experimento de intercambio químico para la determinación de protones intercambiables en la molécula.



En el experimento de intercambio isotópico, se tomaron tres espectros ^1H -RMN para el compuesto de estudio; en el primero, se observa la región aromática del espectro sin ningún aditivo más que la muestra y el disolvente empleado; en el segundo se puede apreciar una disminución de la señal a 7.18 ppm asignada al N-H lactámico, dada la adición de 50 μL de agua pesada D_2O . En el último de estos espectros se observa la total desaparición de dicha señal dada la adición de 100 μL de D_2O ; esto dada las reacciones sucedidas de acuerdo con la figura 3-20 y aprovechando la nula detección de núcleos de deuterio por parte de la técnica RMN.

Respecto al experimento de ^{13}C -RMN tomado para el compuesto de interés (Figura 3-21), se observaron las catorce señales correspondientes a los carbonos inequivalentes presentes en la molécula, de las cuales se destacan la señal del carbono del acilo

lactámico en 171.4 ppm; se observaron también las señales de los carbonos C-5 y C-3 a 146,4 y 115.4 ppm, respectivamente; el carbono C-4 se observa a 137.3 ppm, mientras que las señales de los carbonos *ipso*, *orto*, *meta* y *para* del fenilo se aprecian en 133.4, 129.8, 125.4 y 128.8 ppm respectivamente; en la región alifática se observan las señales correspondientes al carbono alfa al acilo lactámico (C_α) en 31.0 ppm; el carbono espiránico (C_s) en 49.5 ppm, el metilo pirazólico en 16.9 ppm y los carbonos C₃, C₂ y C₁ del fragmento ciclohexilo se aprecian en 37.1, 22.1 y 25.4 ppm. Estas asignaciones se corroboraron mediante experimentos DEPT-135 (Figura 3-22), HSQC (Figura 3-23), HMBC (Figura 3-24).

Figura 3-21. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **9a** (Tomado en CDCl_3).

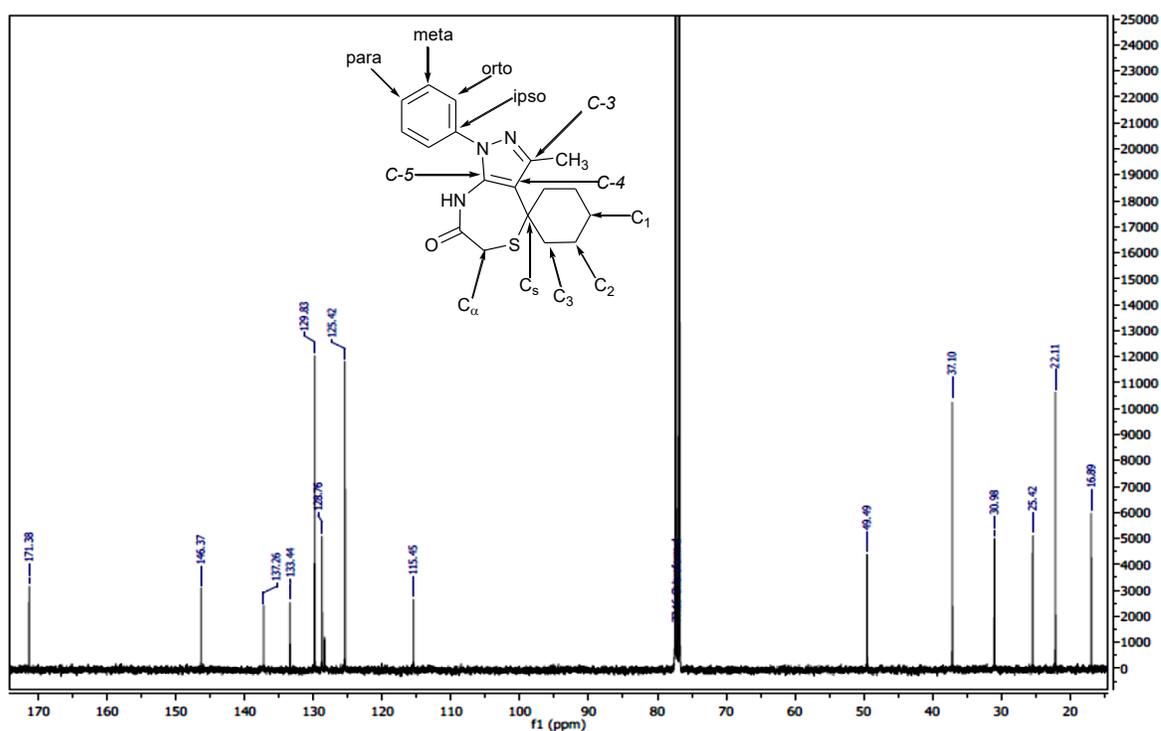


Figura 3-22. Espectro DEPT-135 del compuesto 9a.

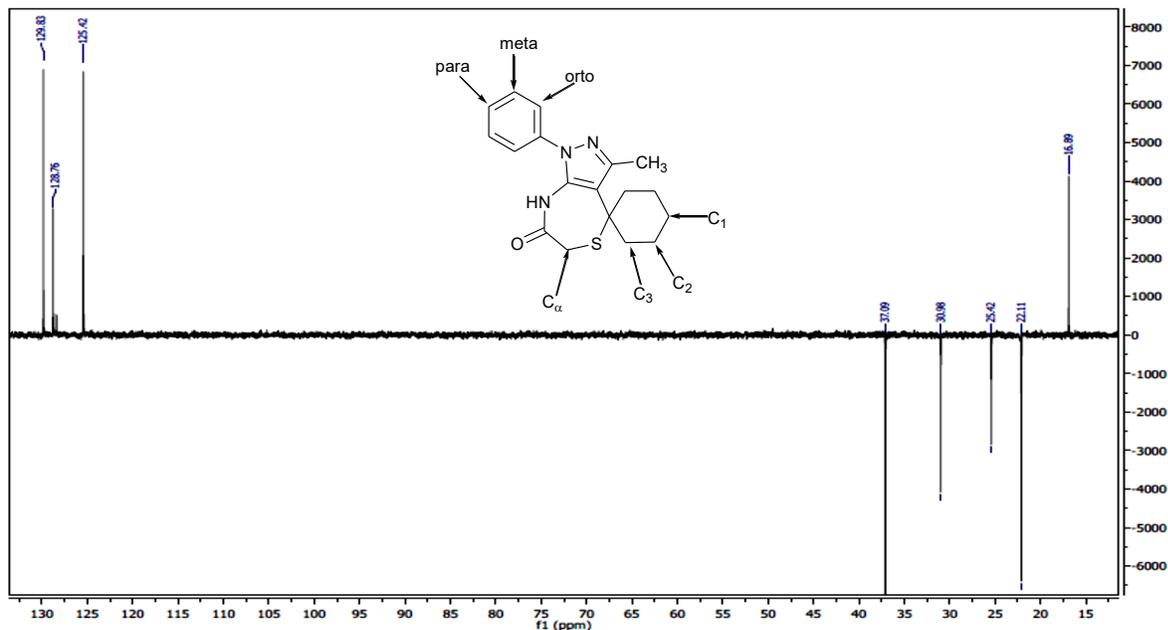


Figura 3-23. Experimento HSQC del compuesto 9a.

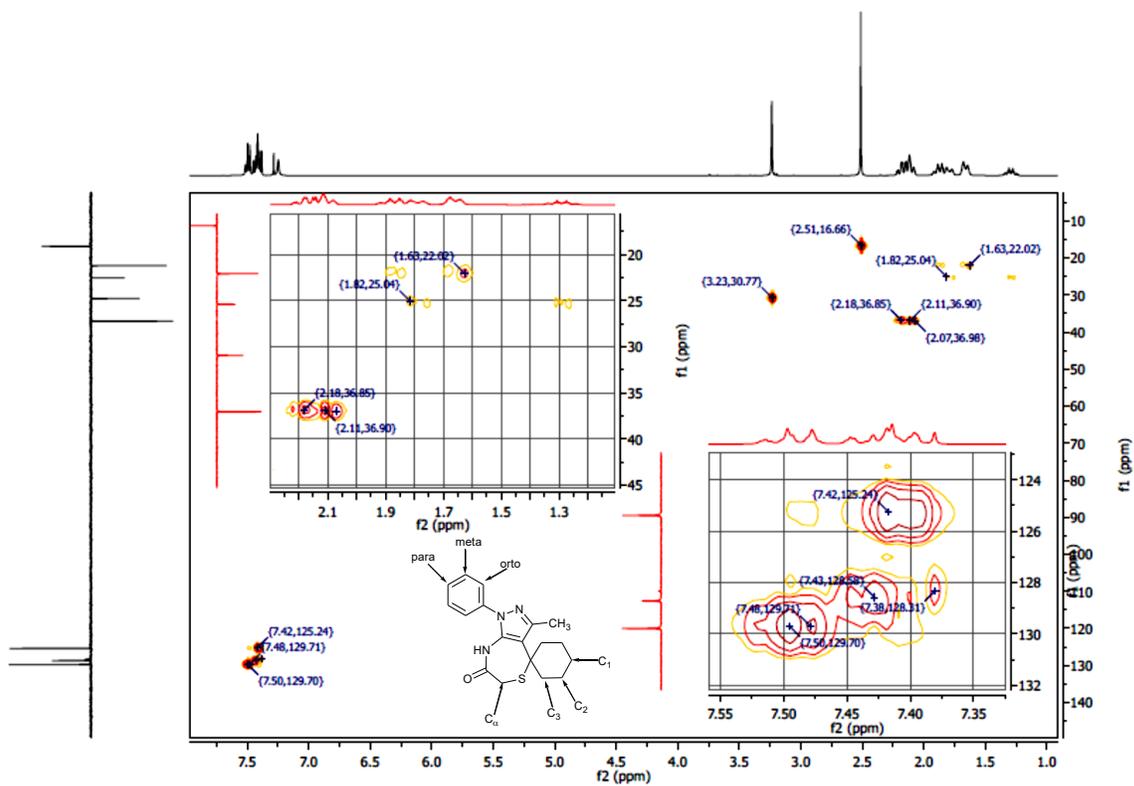
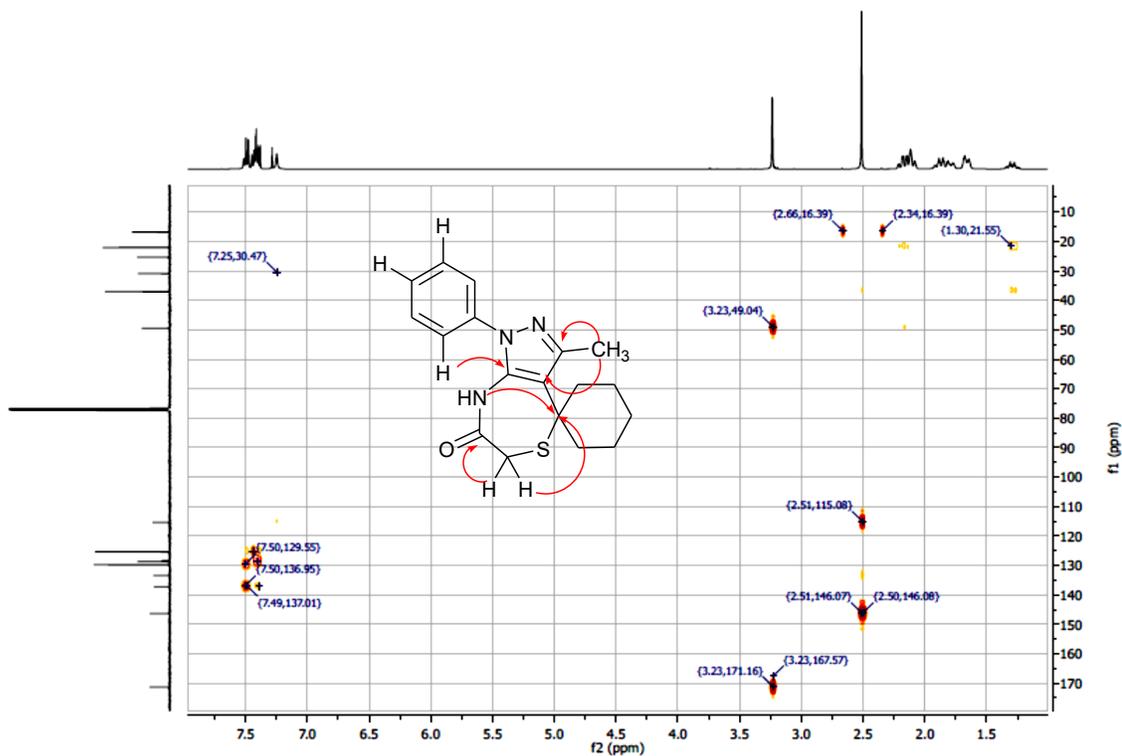
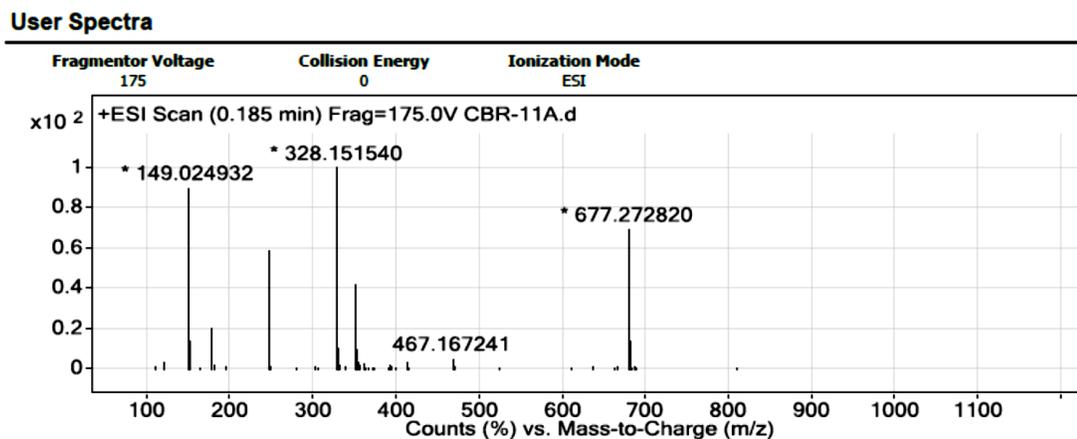


Figura 3-24. Experimento HMBC del compuesto 9a.



Por último, en el espectro HRMS del compuesto de interés (Figura 3-25), se observó el pico $[M+H]^+$, que según lo esperado ($m/z = 328.147809$) tuvo una desviación menor a 0.0015%.

Figura 3-25. Espectro de masas de alta resolución (HRMS) del compuesto 9a.



▪ **Optimización de las condiciones de reacción para la síntesis de las espiro pirazolotiazepinonas.**

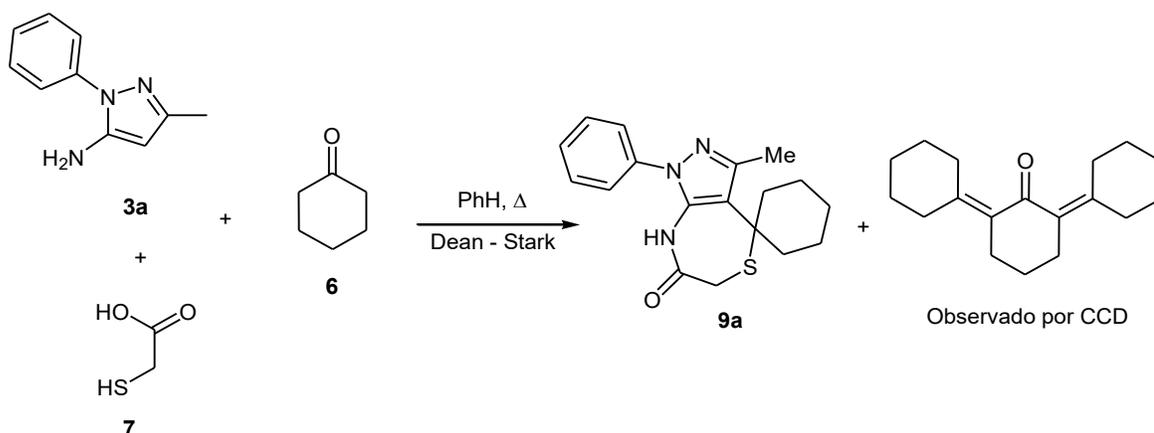
Al observarse el bajo rendimiento obtenido en el primer ensayo de la síntesis, se intentó evaluar si esto era debido al efecto del disolvente en la reactividad de los precursores utilizados; lo cual reveló que no solo el benceno da un mayor rendimiento de la reacción, sino que además a altas temperaturas, el precursor aminopirazólico **3a** resulta ser termolábil. En contraste, con disolventes de alta polaridad a bajas temperaturas la reacción no procede (Tabla 14).

Tabla 15. Estudio de disolvente realizado para la síntesis de **9a**.

Entrada	Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento
1.	MeCN	Reflujo	48	NR
2.	MeCN/M.S. 4 A	Reflujo	20	5%
3.	THF	Reflujo	>90	NR
4.	PhMe	Reflujo ^a	72	6%
5.	PhMe	70 ^a	72	NR
6.	DMF	100	2	DEG
7.	DMF	70	10	NR
8.	PhH	Reflujo ^a	72	15
9.	-	Fusión	0.033	DEG

^a Se usó trampa Dean-Stark. NR: No hubo reacción. DEG: Hubo degradación de los precursores de partida.

En todos los ensayos realizados se observó la formación de un producto de baja retención en cromatografía en capa fina y luminiscente a 365 nm, consistente con el producto de autocondensación de la ciclohexanona (Esquema 3-4); hecho confirmado por la observación de la persistencia de la aparición del aminopirazol aún a largos tiempos de reacción; se realizó entonces un aumento en la relación estequiométrica de la cetona y el ácido mercaptoacético; así pues, aunque parte de esta se autocondensó, el restante entró en reacción con el precursor 5-aminopirazólico.

Esquema 3-4. Primer planteamiento sintético para la obtención del compuesto **9a**.

Además de estos estudios, se realizaron otros ensayos usando de nuevo el aminopirazol **3a** como sustrato, para determinar la relación estequiométrica óptima entre la ciclohexanona, el ácido mercaptoacético y el mencionado aminopirazol (Tabla 15); esto dilucidó que se requieren dos equivalentes de la cetona, y además se logró mejorar sustancialmente el rendimiento de la reacción (del 15 al 74%).

Tabla 16. Optimización de las cantidades estequiométricas en la reacción de síntesis de la espirotiazepinona **9a**.

Entrada	Relación molar de ciclohexanona ^a	Relación molar de MAA ^a	Tiempo (h)	Rendimiento
1.	1	1	72	15%
2.	1	2	60	18%
3.	2	2	60	24%
4.	2	3	24	74%
5.	2	4	60	50%
6.	3	3	36	25%

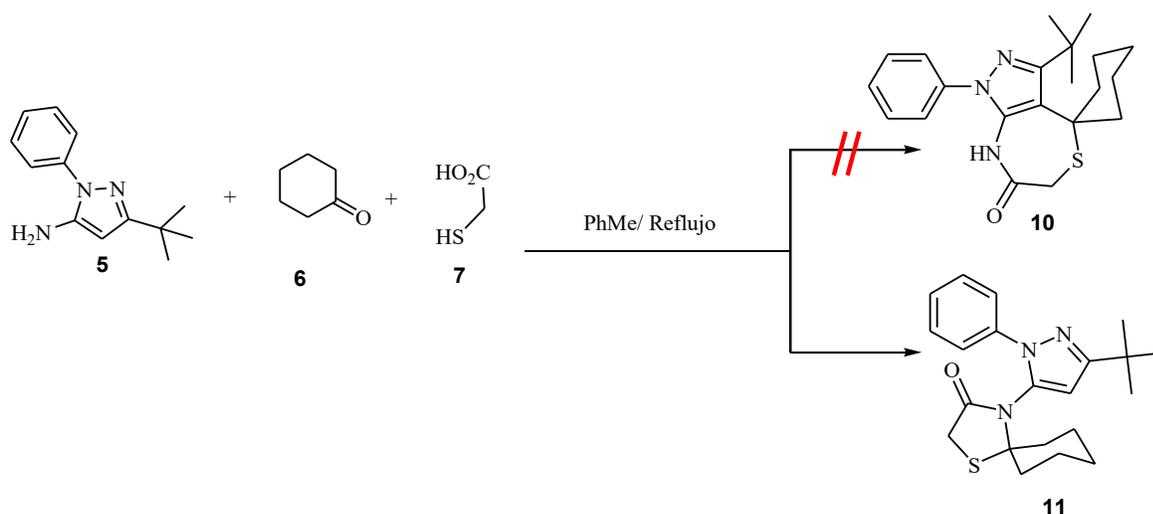
^a En relación con el precursor aminopirazólico.

▪ **Ensayos de síntesis con el 5-amino-1-fenil-3-(*terc*-butil)-1*H*-pirazol (5).**

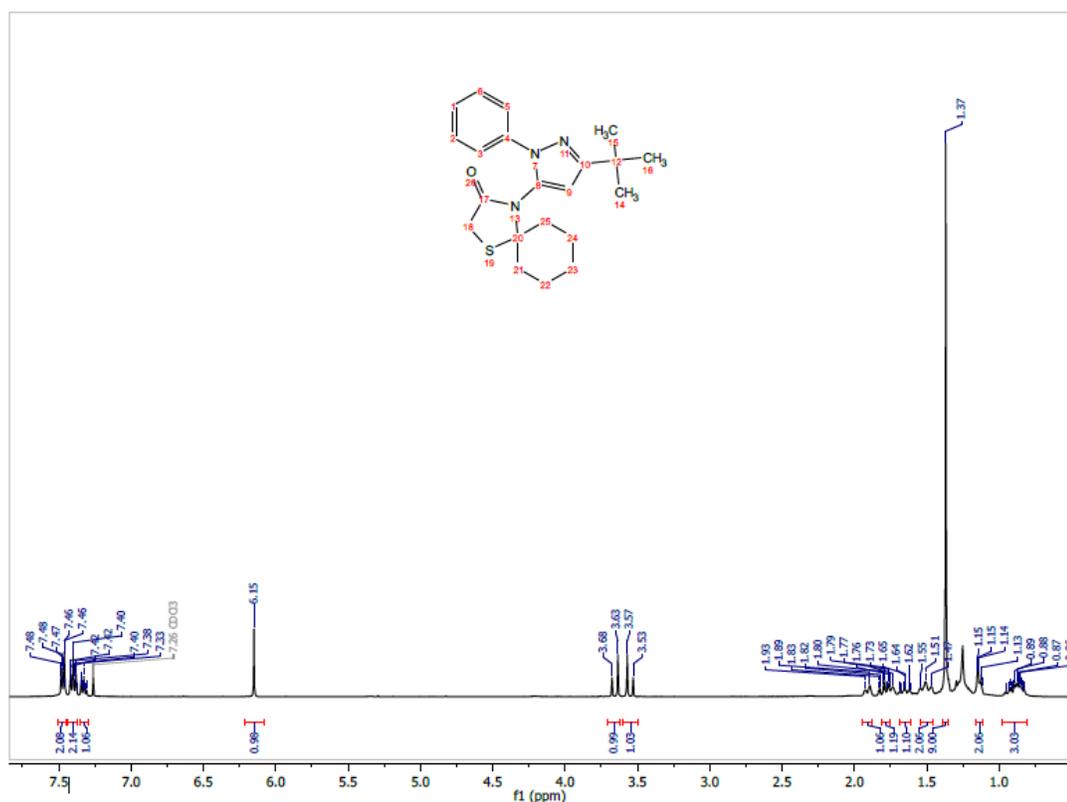
Se esperaba según las observaciones previas, en cuanto a los resultados obtenidos con el aminopirazol **3a**, que con el aminopirazol **5** (con el sustituyente *terc*-butilo), las mismas condiciones de reacción darían lugar en mayor o menor medida a la obtención de la tiazepinona derivada de este precursor; sin embargo, ensayadas estas condiciones, no se logró transformación alguna del precursor heterocíclico. Esto posiblemente se pudo deber a una menor reactividad en general del pirazol, dado el gran volumen estérico que

genera la presencia del sustituyente en la posición 3 del anillo. Con base en esto, se realizó la reacción a una mayor temperatura empleando como disolvente tolueno en reemplazo del benceno; esto logró la transformación con un rendimiento del 8% del precursor; sin embargo, la reacción no condujo al producto tiazepinonico, sino al compuesto espirotiazolidin-4-onico derivado (Esquema 3-5).

Esquema 3-5. Reacción efectuada entre el aminopirazol **5**, ciclohexanona y ácido mercaptoacético.



Dado este bajo rendimiento y la formación de este isómero, se evidencia el efecto estérico predominante en el avance de la reacción. La identidad química de este producto se corroboró mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (Figura 3-26), de carbono-13 (Figura 3-27), DEPT-135 (Figura 3-28) y experimentos bidimensionales HSQC (Figura 3-29) y HMBC (Figura 3-30).

Figura 3-26. Espectro ^1H -RMN del compuesto **11**. (Tomado en CDCl_3).

En el espectro de ^1H -RMN del compuesto **11**, se pueden observar a campo alto las señales correspondientes a los metilenos de la porción ciclohexano espirofusionada, como varios multipletes entre 0.90 ppm a 1.92 ppm con integral global de 10 protones; los protones de los metilos del sustituyente *tert*-butilo se observan como un singlete a 1.39 ppm (con integral para 9 protones); hacia 3.57 y 3.68 ppm se observan dos señales con multiplicidad doblete ($J = 16.3 \text{ Hz}$), que integran cada una para un protón; dado el desplazamiento químico y la multiplicidad de estas señales, se pueden asignar a los protones (inesperadamente) heterotópicos del metilo en la posición *alfa* al grupo acilo lactámico, con un sistema de acoplamiento de espín de tipo A-B. A 6.17 ppm se observa un singlete que podría ser asignado al protón del nitrógeno lactámico o al protón del metino de la posición 4 del anillo pirazólico. Por último, hacia campo más bajo se aprecian los protones correspondientes al anillo fenilo monosustituido de la molécula.

Es notable que la topicidad de los protones del carbono *alfa*-lactámico se puede explicar, debido la restricción rotacional de la porción pirazólica respecto del fragmento

espirofusionado lo que daría lugar a un fenómeno de estereoisomería de tipo axial, posiblemente una atropoisomería (Esquema 3-6).

Esquema 3-6. Estructura de los posibles atropisómeros obtenidos y protones heterotópicos de la espiro tiazolidin-4-ona **11** obtenida a partir del pirazol *tert*-butilado **5**.

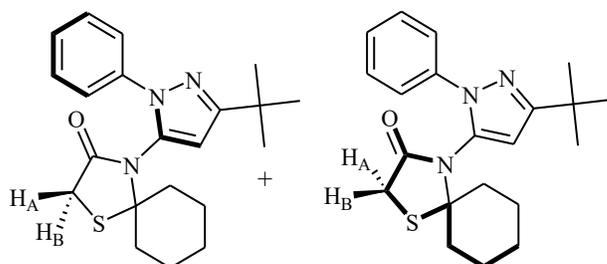
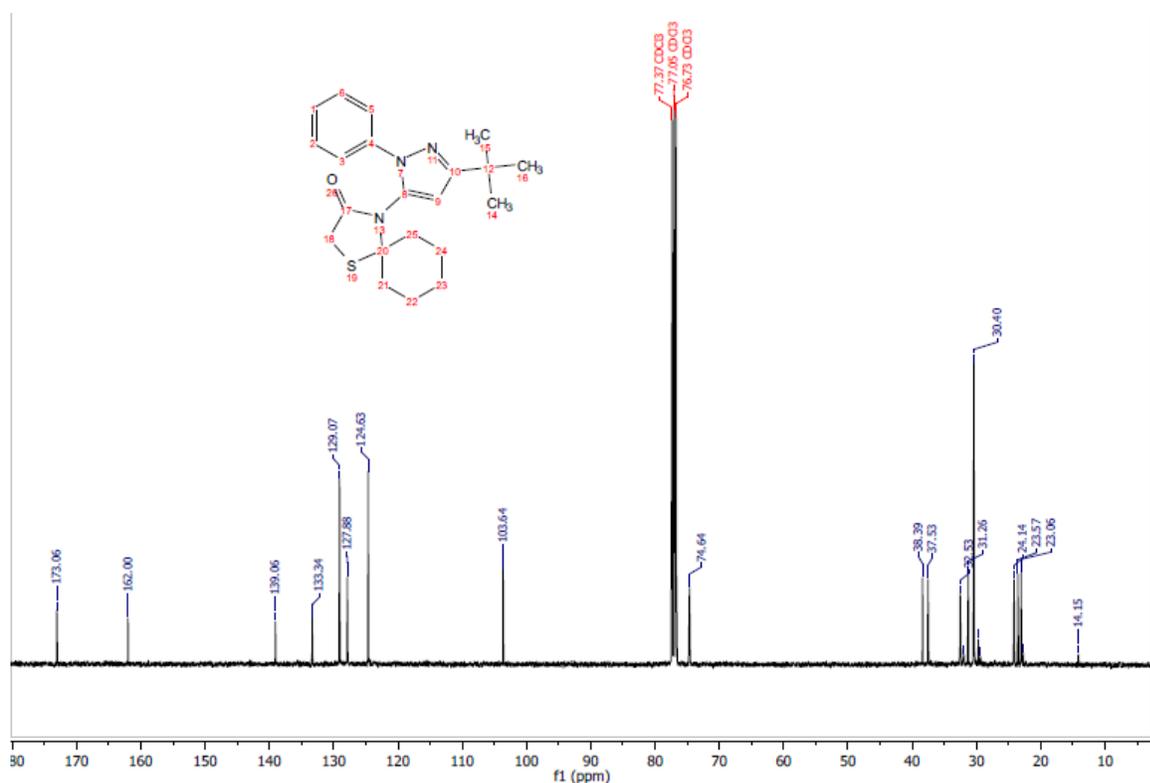


Figura 3-27. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **11** (Tomado en CDCl_3).

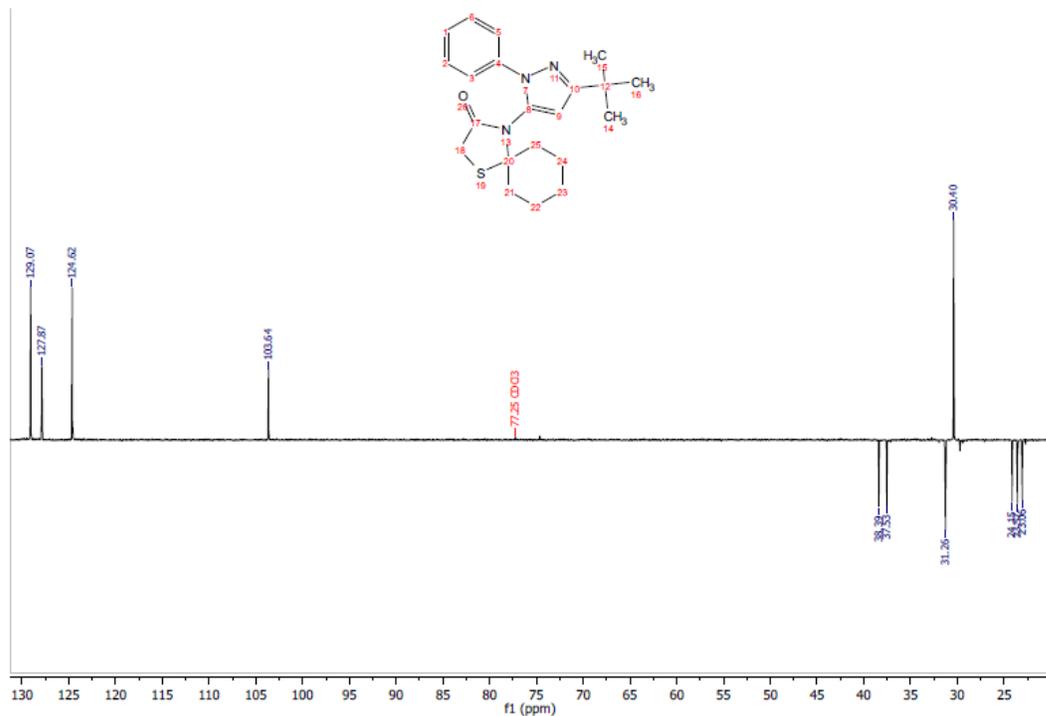
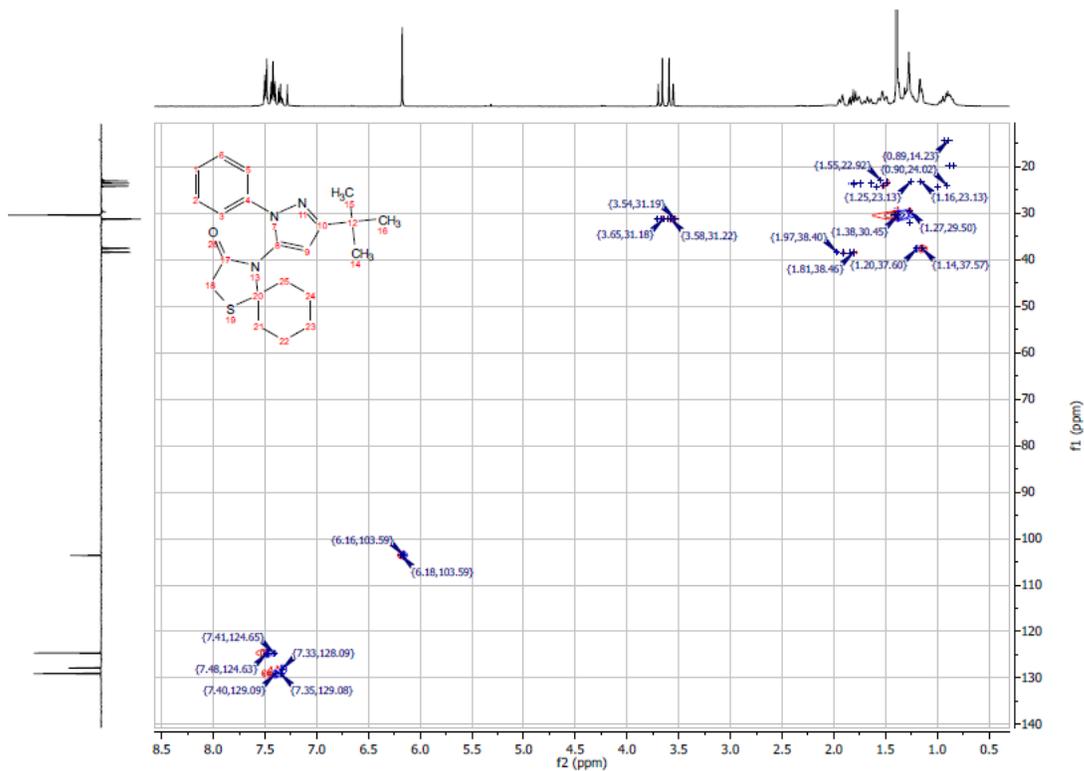


En el espectro de ^{13}C -RMN de la espirotiazolidinona sintetizada (Figura 3-27), se observaron las señales correspondientes a los carbonos de los metilenos del fragmento espirociclohexano y el carbono cuaternario del grupo *t*-butilo (δ (ppm): 23.1, 23.6, 24.1,

31.3, 32.5); así mismo, por la intensidad característica, se logró identificar la señal correspondiente a los metilos del grupo *t*-butilo (δ (ppm): 30.4). El carbono espiránico se identificó como la señal a 74.6 ppm y el metileno *alfa* al acilo de la lactama se observa a 103.6 ppm; en la región aromática se observan las señales de los carbonos del anillo pirazólico y del carbono cuaternario del fenilo (δ (ppm): 127.9, 133.3, 139.1, 162.1) y las señales de los metinos del fenilo a 124.6 y 129.1 ppm. Por último, se puede observar a 173.1 ppm, la señal correspondiente a carbono del acilo lactámico, completando así las 17 señales de los carbonos inequivalentes de la estructura.

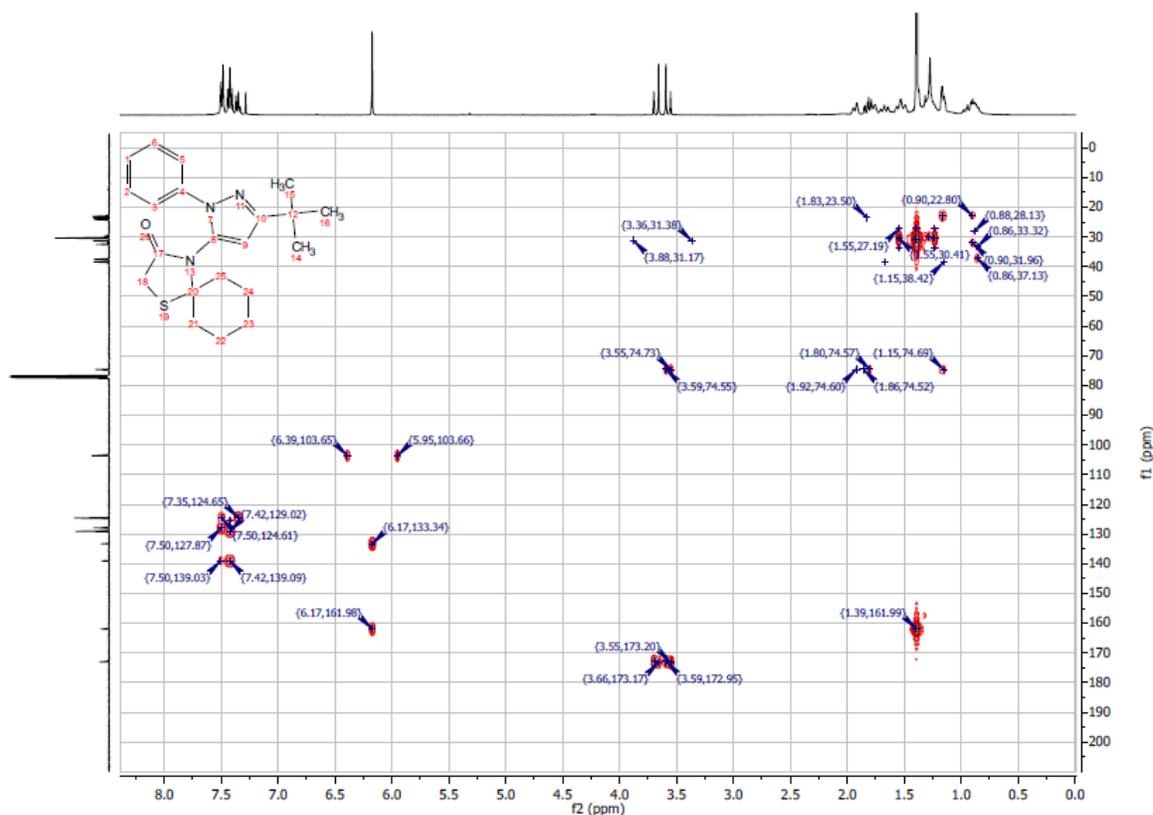
Puesto que los espectros unidimensionales podrían ser ambiguos y de cierta manera acomodarse a ambas estructuras (tiazepinona (**10**) o tiazolidinona (**11**)), al analizar el experimento DEPT-135 (Figura 3-28) se observaron evidencias de la estructura de la molécula, permitiendo resolver esta duda. Siendo así, se puede apreciar una señal en fase positiva a 103.6 ppm (indicativa de un carbono de tipo metino), que no sería posible en la estructura del heterociclo de 7 miembros, mientras que resulta consistente con la estructura del anillo heterocíclico espirofusionado de 5 miembros.

Se confirmó además la presencia de este metino, mediante el experimento HSQC (Figura 3-29), donde se aprecia que el carbono mencionado anteriormente, presenta correlación con la señal del protón a 6.17 ppm (Lo que descarta que este corresponda al NH lactámico en el caso de la tiazepinona); además de esto, se presentan también las correlaciones de los metilenos del fragmento ciclohexano (23.1, 23.6, 24.1, 37.5 y 38.4 ppm), con sus respectivos protones (multipletes de 0.90 ppm a 1.92 ppm); la correlación de los protones de los metilos del grupo *t*-butilo (1.39 ppm) con su señal de carbono-13 (30.4 ppm). Se puede observar también la correlación de la señal desdoblada de los protones heterotópicos (3.57 y 3.68 ppm) con una única señal de carbono que corresponde a un metileno, dada su fase negativa en DEPT-135 (31.2 ppm). En la región aromática se observan las correlaciones de los protones entre 7.35 y 7.51 ppm con los carbonos (C-H) a 124.6, 127.9 y 129.1 ppm.

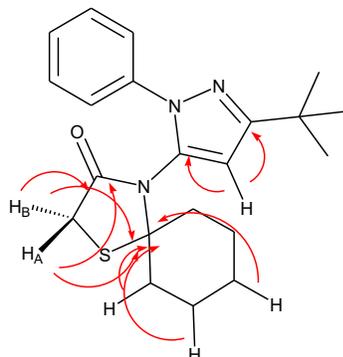
Figura 3-28. Espectro DEPT-135 del compuesto **11** (Tomado en CDCl_3).**Figura 3-29.** Espectro HSQC del compuesto **11** (Tomado en CDCl_3).

El experimento HMBC (Figura 3-30), mostró correlaciones a 3J y 4J de los protones de los metilenos de la porción ciclohexano, con los carbonos alifáticos (δ : 23.1, 23.6, 24.1, 31.3, 37.5 y 38.4) y el carbono espiránico (74.6 ppm); este mismo carbono tiene correlación con las señales de los protones del metileno *alfa* al acilo, que a su vez correlaciona con el carbono del acilo a 173.0 ppm. El metino a 6.17 ppm correlaciona con los carbonos a 133.3 y 161.9 ppm. Por último, se pueden apreciar las correlaciones de los protones aromáticos con los carbonos a 124.6, 127.9 y 129.1 ppm (Esquema 3-7).

Figura 3-30. Espectro HMBC del compuesto **11** (Tomado en CDCl_3).



Esquema 3-7. Correlaciones a J^3 y J^4 más relevantes halladas mediante el experimento bidimensional HMBC para el compuesto **11**.



Una vez caracterizado este producto, se intentó la mejora del rendimiento de síntesis, así como la obtención del heterociclo de siete miembros; sin embargo, esto no resultó posible pese a las distintas condiciones ensayadas (Tabla 16). Dado esto, el mejor rendimiento obtenido fue del 8% empleando tolueno como disolvente y las mismas cantidades relativas de ciclohexanona y MAA respecto del aminopirazol **5** (relación 2:3:1 respectivamente). Es de notar que nunca se observó transformación total del precursor, ni formación de subproductos de interés como la espirotiazepinona **10** o intermedios de reacción entre el aminopirazol, la ciclohexanona y/o el ácido mercaptoacético.

Tabla 17. Condiciones ensayadas para la optimización de la síntesis de **11**.

Entrada	Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento
1.	MeCN	Reflujo	96	NR
2.	MeCN/M.S. 4 A	Reflujo	96	NR
3.	MeCN/DCC	Reflujo	48	NR
4.	PhMe	Reflujo ^a	72	8%
5.	PhMe/M.S. 4 A	Reflujo ^a	72	8%
6.	DMF	100	24	DEG
7.	DMF	70	40	DEG
8.	PhH	Reflujo ^a	96	NR
9.	PhH/M.S. 4 A	Reflujo ^a	96	NR
10.	PhH/DCC	Reflujo ^a	72	NR
11.	Xileno	Reflujo ^a	72	5%
12.	Xileno/M.S. 4 A	Reflujo ^a	72	5%

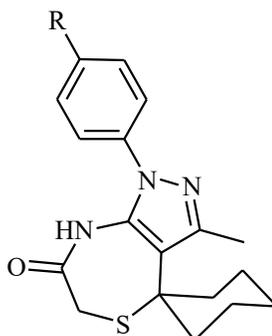
^a Se usó trampa Dean-Stark. NR: No hubo reacción. DEG: Hubo degradación de los precursores de partida. DCC: Agente desecante: Diciclohexilcarbodiimida.

▪ **Síntesis de las espiro pirazolotiazepinonas derivadas de los aminopirazoles 3b – f: Exploración del efecto del sustituyente arilo en el precursor pirazólico.**

Una vez realizados los ensayos con el aminopirazol **5**, se realizaron experimentos para determinar si la naturaleza de los sustituyentes en el arilo de la posición 1 del precursor heterocíclico tiene influencia en la reactividad de este en el proceso tricomponente de síntesis de los compuestos tiazepinonicos.

Con los aminopirazoles **3b – 3f**, se observó un limitado efecto de los sustituyentes en el rendimiento de la reacción (Tabla 17). Sin embargo, se pudo apreciar que el aminopirazol nitrado (**3e**) no reaccionó totalmente para la formación del espirociclo de interés, sino que en su lugar se obtuvo un aducto deshidratado (**12e**), producto de reacción entre este sustrato y la cetona (Esquema 3-8); esto implica que el carácter electrotractor de este sustituyente afecta considerablemente la nucleofilia del grupo amino mas no la del carbono de la posición 4 del heterociclo.

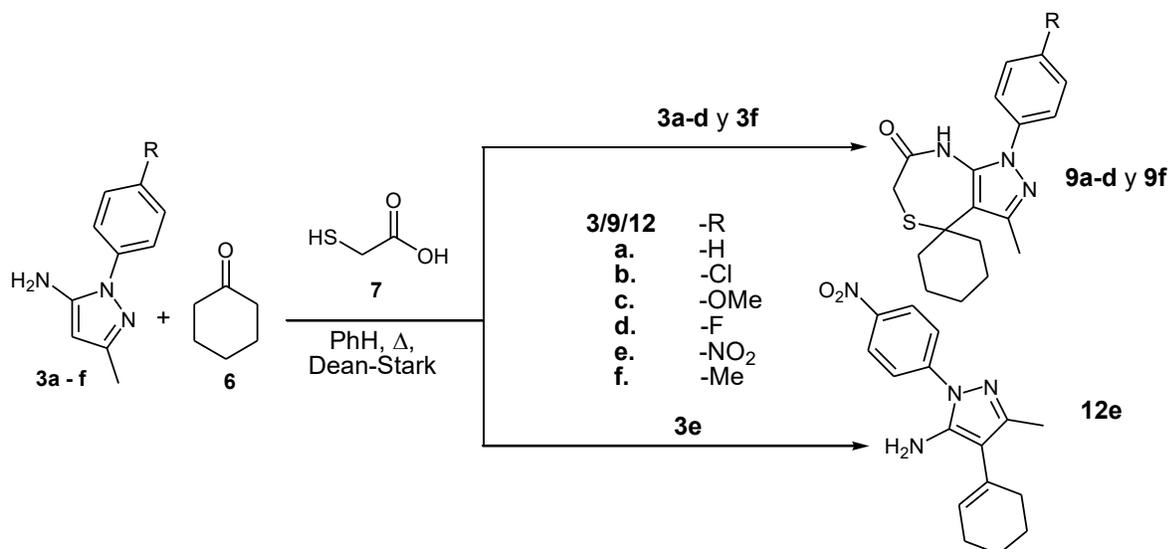
Tabla 18. Rendimientos obtenidos de los ensayos con los aminopirazoles **3a – f**.



Código	-R	% Rendimiento	Punto de fusión (°C)
9a	-H	74	257 – 258
9b	-Cl	70	181 – 183
9c	-NO ₂	NR	NA
9d	-CH ₃	66	216 – 219
9e	-OCH ₃	76	258 – 259
9f	-F	66	223 – 225

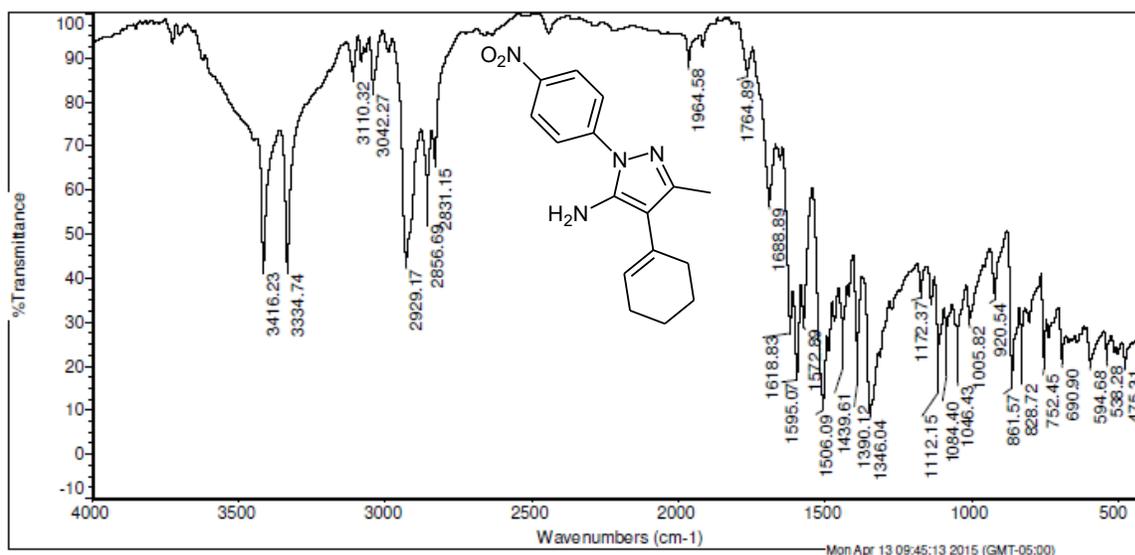
N.R. No hubo formación de este producto. N.A. No aplica.

Esquema 3-8. Productos obtenidos en la exploración de la reactividad de los aminopirazoles **3a – f**.



El producto de deshidratación obtenido fue caracterizado mediante espectroscopia infrarroja (Figura 3-31), ¹H-RMN (Figura 3-32) y ¹³C-RMN (Figura 3-33).

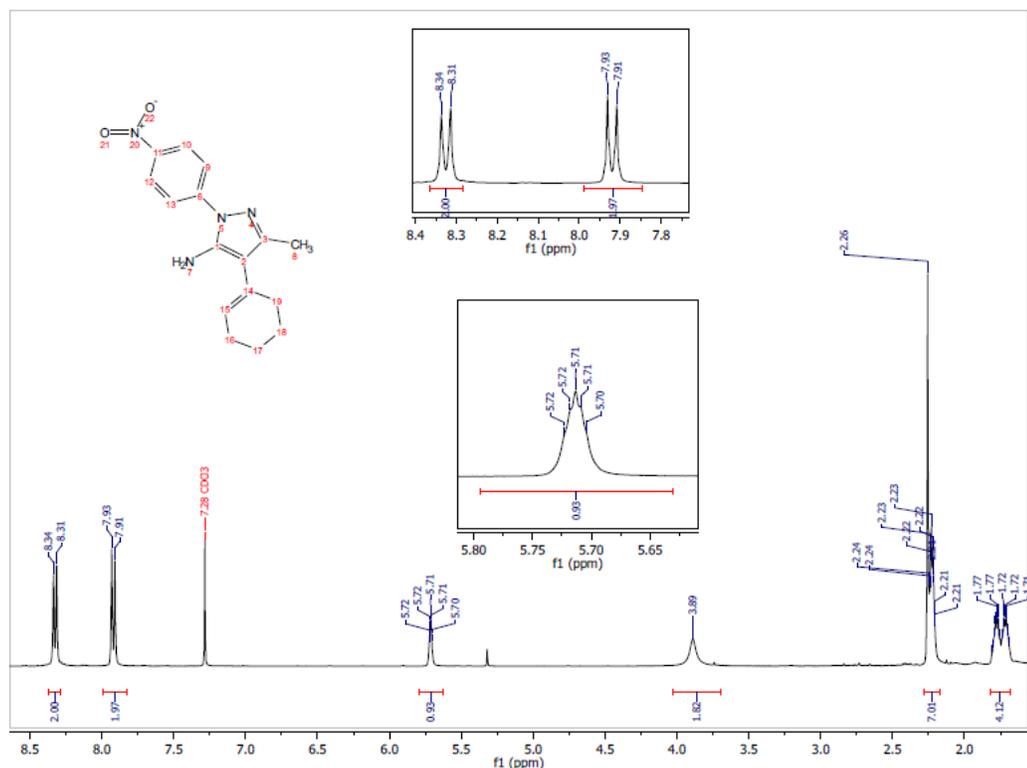
Figura 3-31. Espectro infrarrojo del compuesto **12e**.



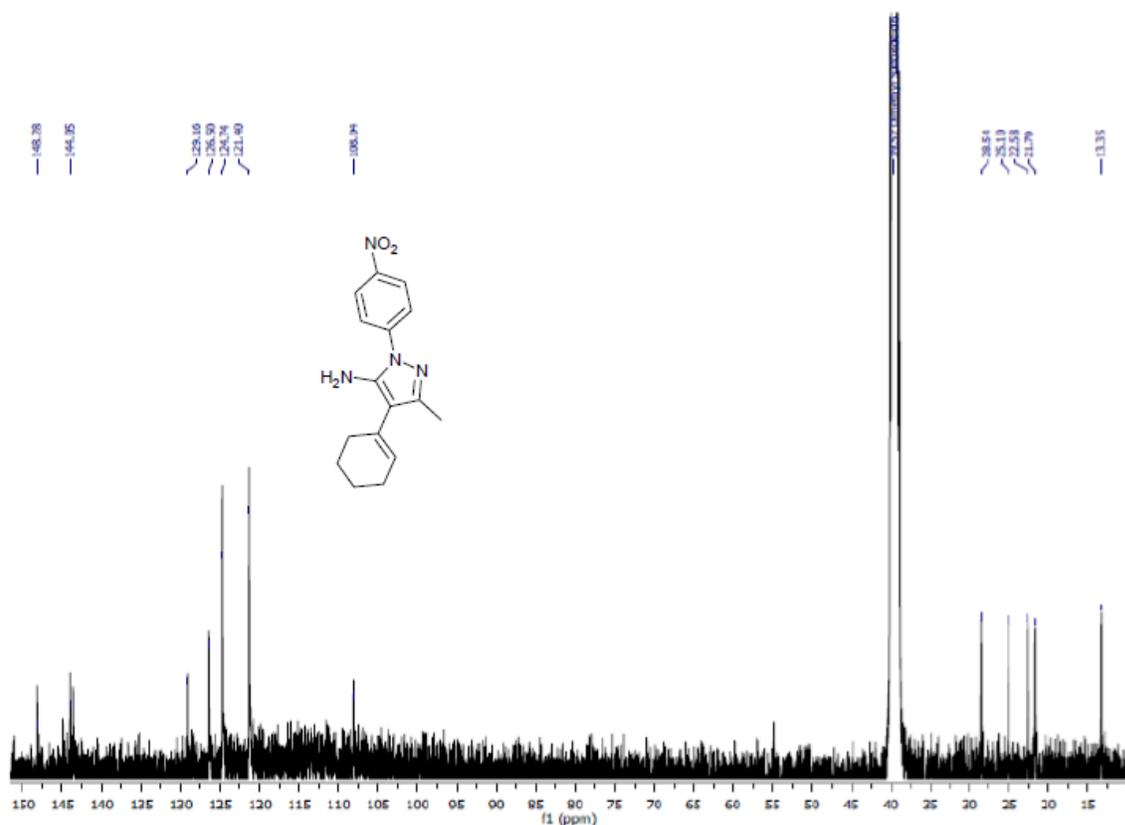
En el espectro de infrarrojo del producto **12e** se observan dos bandas a 3416 y 3334 cm⁻¹ asignadas a los estiramientos simétrico y asimétrico de los enlaces N-H de la amina

primaria; a 3110 cm^{-1} y 3042 cm^{-1} se observan los estiramientos C-H de carbonos con hibridación Sp^2 tanto de la olefina, como de los metinos aromáticos del grupo fenilo. Entre 2929 cm^{-1} y 2831 cm^{-1} se observan los estiramientos C-H de carbonos con hibridación Sp^3 debidos a la porción saturada de la porción ciclohexilo. A 1506 cm^{-1} y 1346 cm^{-1} se observan los estiramientos N=O del grupo nitro de la molécula.

Figura 3-32. Espectro ^1H -RMN del compuesto **12e** (Tomado en CDCl_3).

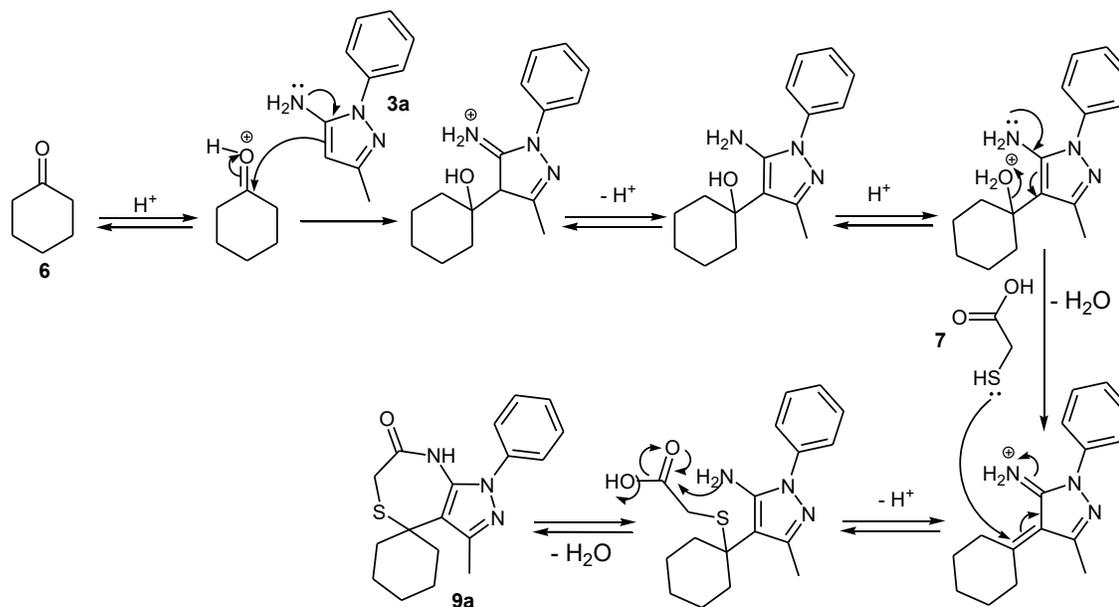


En el espectro ^1H -RMN del compuesto de interés se pueden apreciar las señales alifáticas correspondientes a los protones de la porción saturada del fragmento ciclohexeno (1.72 ppm , m, 4H y 2.22 ppm , m, 4H), así como el singlete de los tres hidrógenos del metilo pirazólico a 2.26 ppm . A campo más bajo (3.89 ppm) se puede apreciar la señal (singlete de base ancha) que da cuenta de los hidrógenos del grupo amino y a 5.71 ppm como un quinteto ($J = 1.9\text{ Hz}$), el protón olefínico del anillo ciclohexeno. Por último, en la región aromática del espectro se pueden observar las dos señales como dobletes a 7.92 ppm y 8.33 ppm , con constante de acoplamiento $J = 9.0\text{ Hz}$, correspondientes a los protones aromáticos del anillo fenilo *p*-disustituido.

Figura 3-33. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **12e** (Tomado en $\text{DMSO-}d_6$).

El espectro de resonancia magnética nuclear de carbono-13 del compuesto de interés fue tomado en $\text{DMSO-}d_6$ en aras de aumentar la solubilidad de este e intensificar las señales en este espectro. Se observaron las cinco señales alifáticas correspondientes a los carbonos del metilo y la porción saturada del anillo ciclohexeno. Se observaron también las señales entre 105 y 148 ppm correspondientes a los carbonos inequivalentes insaturados en la estructura propuesta. La obtención de este aducto y su posterior elucidación estructural permitió postular tres rutas mecanísticas plausibles para la formación de las espirotiazepinonas (Esquemas 3-9 a 3-11) [130].

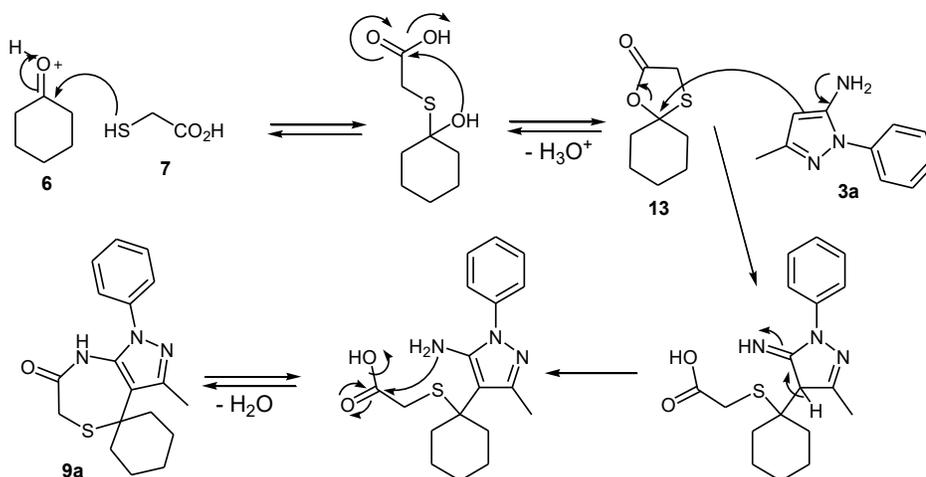
Esquema 3-9. Primera propuesta mecanística planteada para la formación de las espirotiazepinonas objetivo¹⁹.



Esta primera propuesta mecanística, se basa en la reacción inicial del 5-aminopirazol con la cetona activada por el medio ácido provisto por el MAA en exceso. Así pues, formado el aducto entre estos dos precursores, se dio la eliminación de una molécula de agua generándose un tautómero insaturado, que sufre una reacción de adición nucleofílica con un equivalente de MAA; que luego reacciona mediante una sustitución acil nucleofílica intramolecular, con el grupo amino de la posición cinco del pirazol formando el producto espirotiazepinónico.

¹⁹ Adaptada de [117].

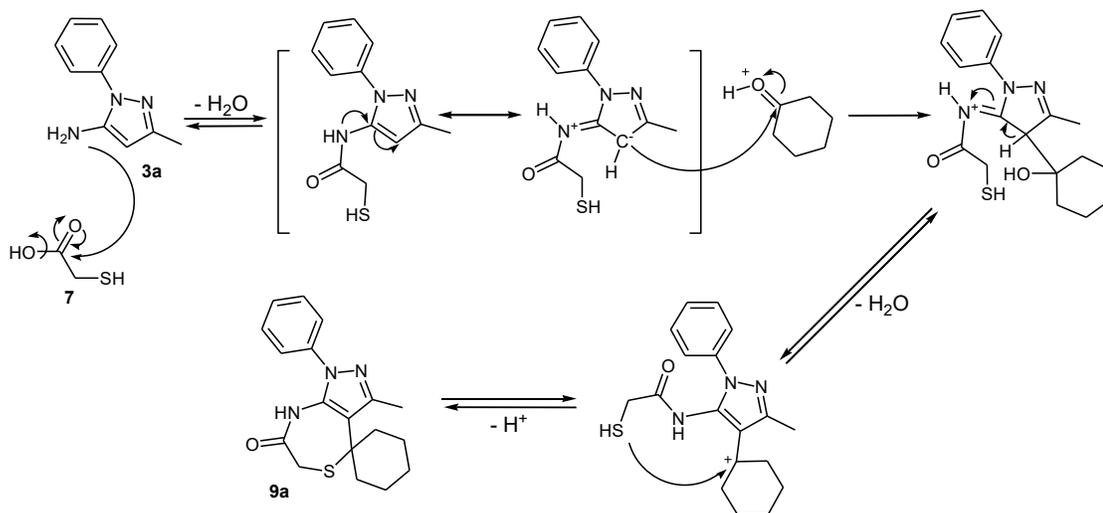
Esquema 3-10. Segunda propuesta mecánica planteada para la formación de las espirotiazepinonas objetivo²⁰.



En esta segunda propuesta, se postuló la formación de una espiro oxatolan-4-ona (**13**) generada por ciclocondensación de la ciclohexanona con el ácido mercaptoacético, este compuesto intermediario que puede darse en el medio de reacción según lo publicado previamente [87], reacciona con el aminopirazol generando un producto abierto que luego mediante una sustitución acil nucleofílica intramolecular, forma el heterociclo de siete miembros.

²⁰ Adaptada de [117].

Esquema 3-11. Tercera propuesta mecanística planteada para la formación de la espirotiazepinona objetivo²¹.

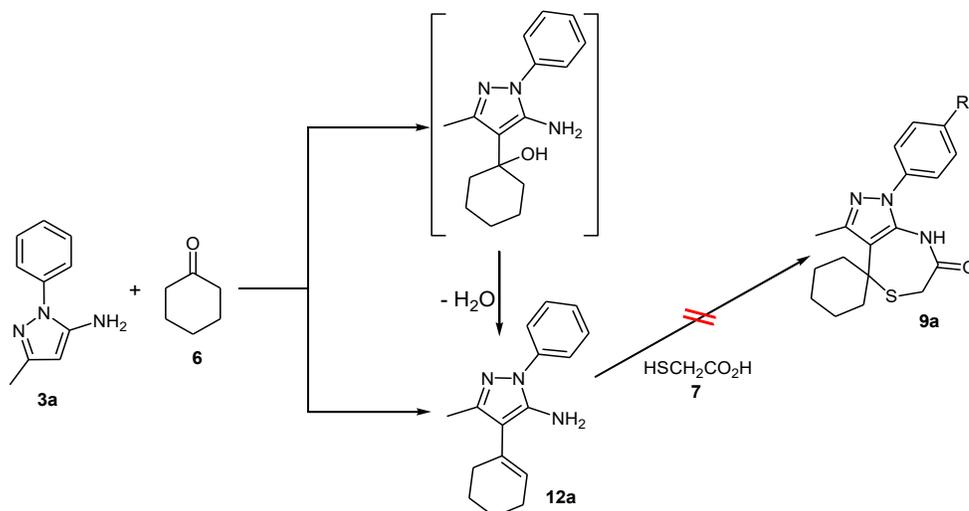


En esta última propuesta se planteó una reacción inicial del aminopirazol **3a** con el ácido mercaptoacético, formándose un intermedio de tipo 2-sulfanil acetamida; este reacciona con la cetona para generar nuevamente un aducto que puede sufrir deshidratación, generando un sitio electrofílico; lo que permite el cierre del anillo y formación del compuesto objetivo **9a**.

La posibilidad de ocurrencia de estos tres mecanismos fue comprobada mediante experimentos de control, que involucraron la formación de los intermedios propuestos en las secuencias mecanísticas planteadas previamente; siendo así, para la comprobación del primer mecanismo propuesto se sintetizó el compuesto **12a** y se hizo reaccionar con MAA, en aras de comprobar si se formaba el espirocompuesto de interés; sin embargo, no se observó transformación de este en el medio de reacción, lo que descartó esta ruta mecanística como plausible para la formación de **9a** (Esquema 3-12).

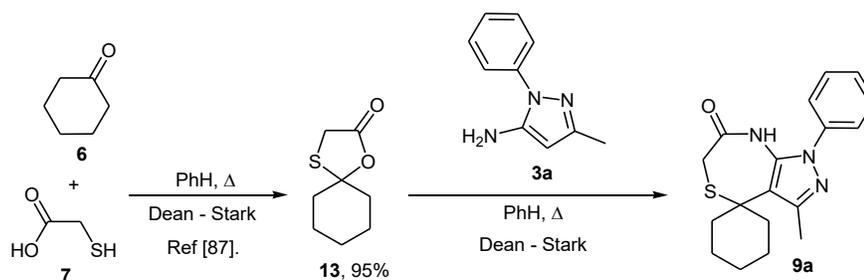
²¹ Adaptada de [117].

Esquema 3-12. Primer experimento de control para la comprobación de la primera propuesta mecanística de formación de **9a**²².



Descartada esta primera ruta mecanística, se diseñó un segundo experimento en el cual se sintetizó la espiro oxatiazolona **13**, mediante un protocolo publicado previamente [87] (con un rendimiento del 95%) y se hizo reaccionar con el aminopirazol **3a**, lo que generó en las condiciones de reacción el producto deseado; esto confirma que este intermedio puede participar en el proceso tricomponente para la formación del espirocompuesto **9a** (Esquema 3-13).

Esquema 3-13. Segundo experimento de control, diseñado para la comprobación de la segunda propuesta mecanística para la formación de **9a** en la reacción tricomponente.²¹

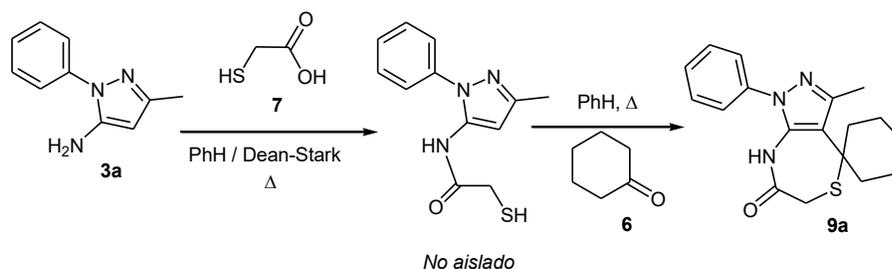


En aras de comprobar la tercera propuesta mecanística se intentó sintetizar el intermedio de tipo 2-sulfanilacetamido pirazol; sin embargo, el aislamiento de este resultó imposible

²² Adaptada de [117].

dada la inestabilidad del mismo; es por esto que se recurrió a la formación *in situ* de éste (seguida por cromatografía en capa fina) y posterior reacción con ciclohexanona en las mismas condiciones del proceso tricomponente; dicho experimento arrojó también resultados positivos en la formación del compuesto **9a**, demostrando también la plausibilidad de esta propuesta como mecanismo de formación del espirocompuesto de interés (Esquema 3-14).

Esquema 3-14. Tercer experimento de control, diseñado para la comprobación de la tercera propuesta mecanística para la formación de **9a** en la reacción tricomponente²³.



Estos experimentos en su conjunto dieron luces sobre dos posibles rutas mecanísticas que pueden llevar a la formación de estos espirocompuestos de interés mediante un proceso tricomponente con buenos rendimientos y facilidad en su purificación; esto debido a que los productos espirotiazepinonicos tienen una solubilidad diferencial respecto de los precursores en el disolvente de reacción, por lo que mediante un proceso de enfriamiento y filtración al vacío, así como lavados con benceno y agua ya se obtienen estos productos con un grado de pureza que permite su caracterización y trabajo posterior en subsecuentes reacciones para la derivatización de estos heterociclos.

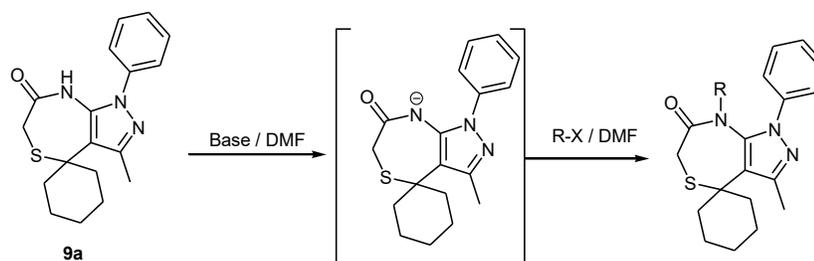
▪ **Experimentos de derivatización de los productos espirotiazepinonicos:
Reacciones de N-alquilación.**

Una vez obtenidos los productos **9a – d** y **9f**, así como estudiada su reactividad y los posibles mecanismos de reacción que podrían conducir a la formación de estos; se realizaron ensayos de alquilación en el nitrógeno lactámico del espirociclo de siete miembros; esto se realizó usando como sustrato de control el compuesto **9a** y diversos halogenuros de alquilo.

²³ Adaptada de [117].

Se realizó la reacción de alquilación del sustrato de estudio mediante condiciones de tipo S_N2 , activando la nucleofilia del nitrógeno lactámico mediante desprotonación de este con una base no nucleofílica, buscando nula reactividad con los halogenuros de alquilo usados (Esquema 3-15) [131].

Esquema 3-15. Reacción general de alquilación planteada.



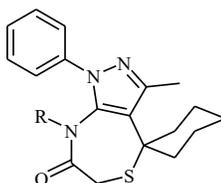
Dada la limitada solubilidad de la tiazepinona **9a**, se realizó la reacción en dos disolventes DMF y DMSO, observándose transformación del precursor en ambos; sin embargo, el segundo no permitió la recuperación del producto dado su alto punto de ebullición y la alta solubilidad del producto en este disolvente. Se realizó, además, usando yodo metano como agente alquilante, una exploración de diferentes bases y temperaturas de reacción (Tabla 18) encontrándose que las mejores condiciones de reacción son el uso de hidruro de sodio como base y temperaturas bajas (0°C a 25°C), además del uso de Argón como atmósfera inerte.

Tabla 19. Exploración de las condiciones de reacción para la *N*-alquilación de las espiro pirazolotiazepinonas.

Entrada.	Disolvente.	Base.	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tiempo de reacción (h).	Rendimiento (%).
1.	DMF	NaH	0 – t.a.	0.83 (0°C) 24 (t.a.)	88
2.	DMF	<i>t</i> -BuONa	0 – t.a.	0.5 (0°C) 25 (t.a.)	77
3.	DMF	K_2CO_3	90 – t.a.	2 (90°C) 12 (t.a.)	79
4.	PhH	NaH	Reflujo	72	50
5.	-	K_2CO_3	t.a. (ultrasonido)	6 (ultrasonido) 60 (t.a.)	N.R.

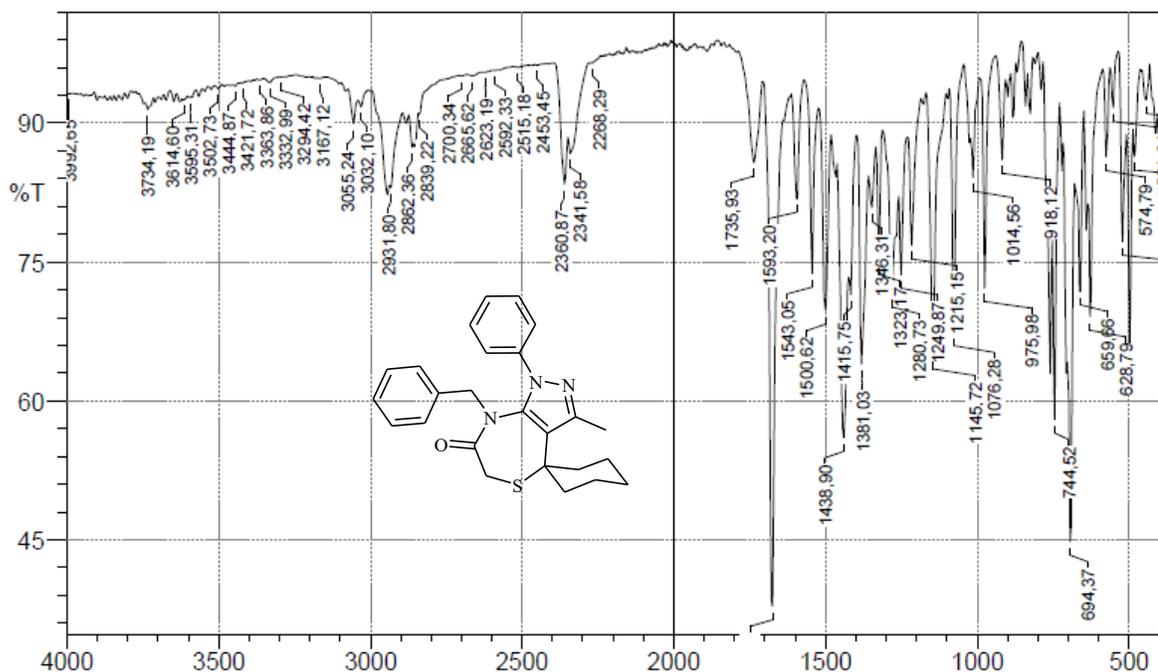
t.a. Temperatura ambiente. N.R. No hubo reacción.

La reacción se realizó además con diferentes haluros de alquilo en aras de diversificar la serie de tiazepinonas sintetizadas (Pese a que ninguno de los compuestos *N*-alquilados fue seleccionado como promisorio como modulador del receptor GABA_A de acuerdo con el cribado virtual realizado previamente). Los resultados se presentan en la tabla 19.

Tabla 20. Rendimientos obtenidos en la alquilación de la tiazepinona **9a**.

Código.	-R	Agente alquilante.	Rendimiento alquilación.	Rendimiento global de la síntesis.	Punto de fusión (°C)
9a.	-H	-	-	61%	254 – 256
Me-9a.	-Me	Me-I	88%	53%	222 – 224
Et-9a.	-Et	Et-Br	82%	50%	176 – 178
Pr-9a.	- <i>n</i> Pr	<i>n</i> -Pr-I	78%	47%	154 – 156
Bn-9a.	-Bn	Bn-Br	98%	59%	203 – 204

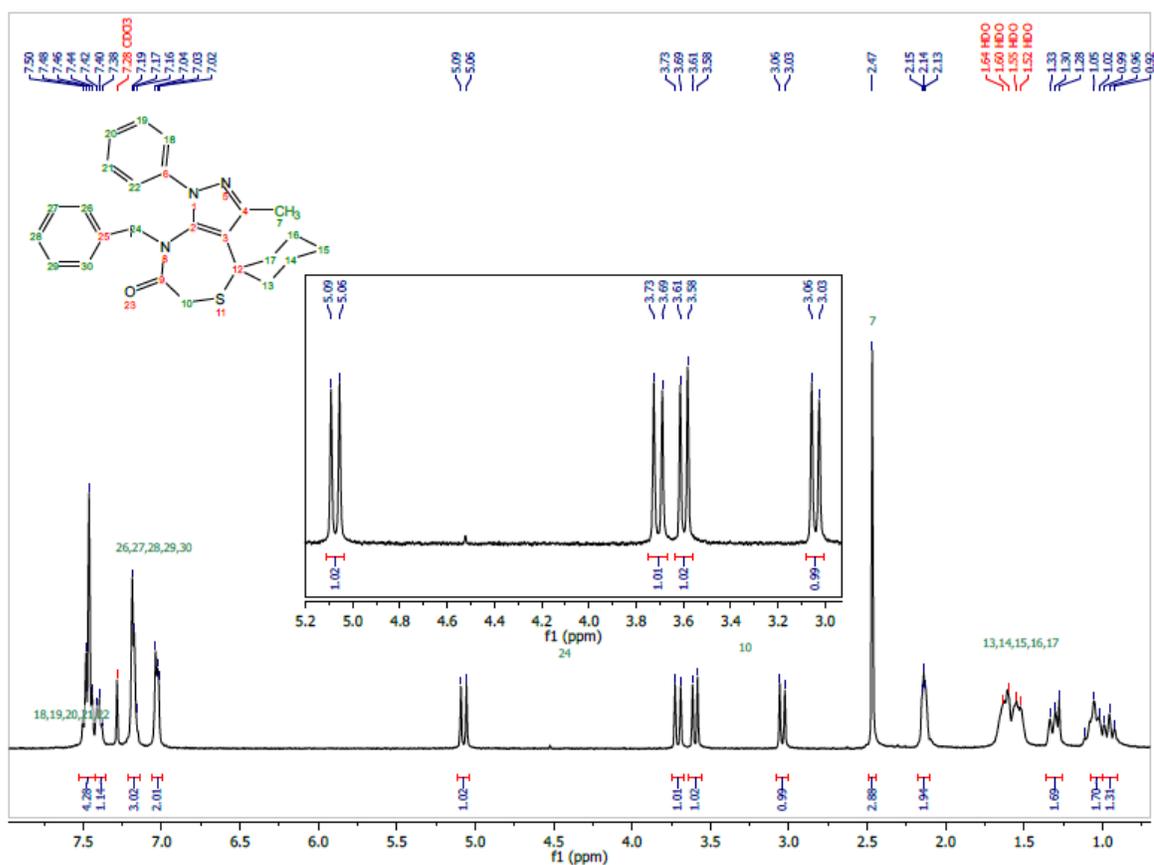
Estos compuestos fueron caracterizados mediante espectrofotometría infrarroja, espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón, de carbono-13, y experimento bidimensional HSQC. Se presentan a continuación los espectros del compuesto *N*-metilado (**Bn-9a**) (Figuras 3-34 a 3-37).

Figura 3-34. Espectro infrarrojo del compuesto **Bn-9a**.

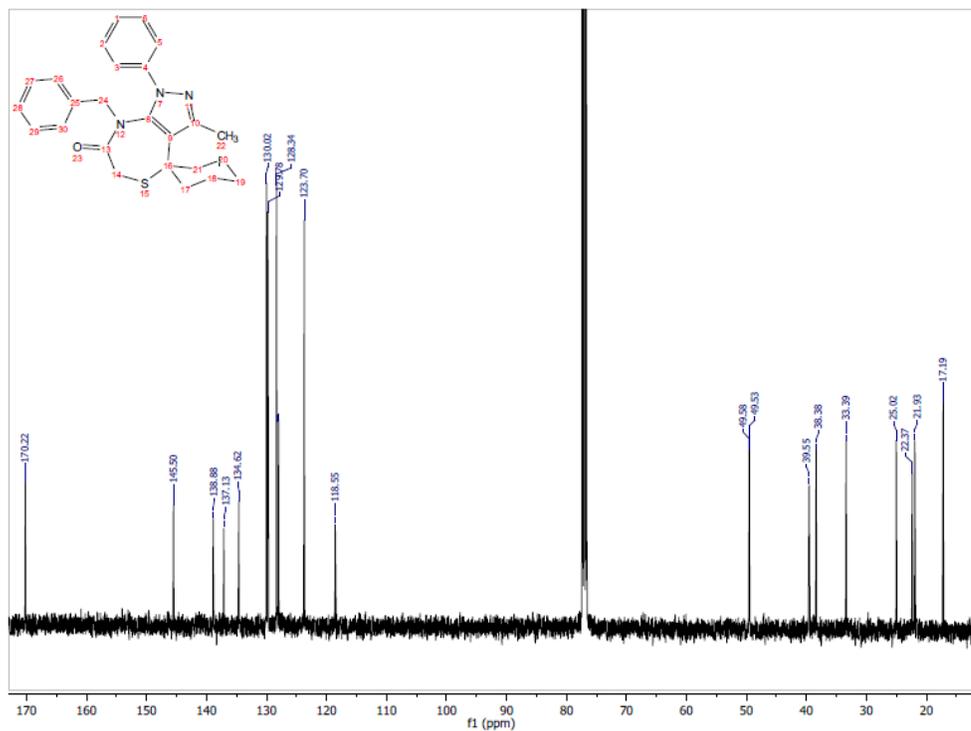
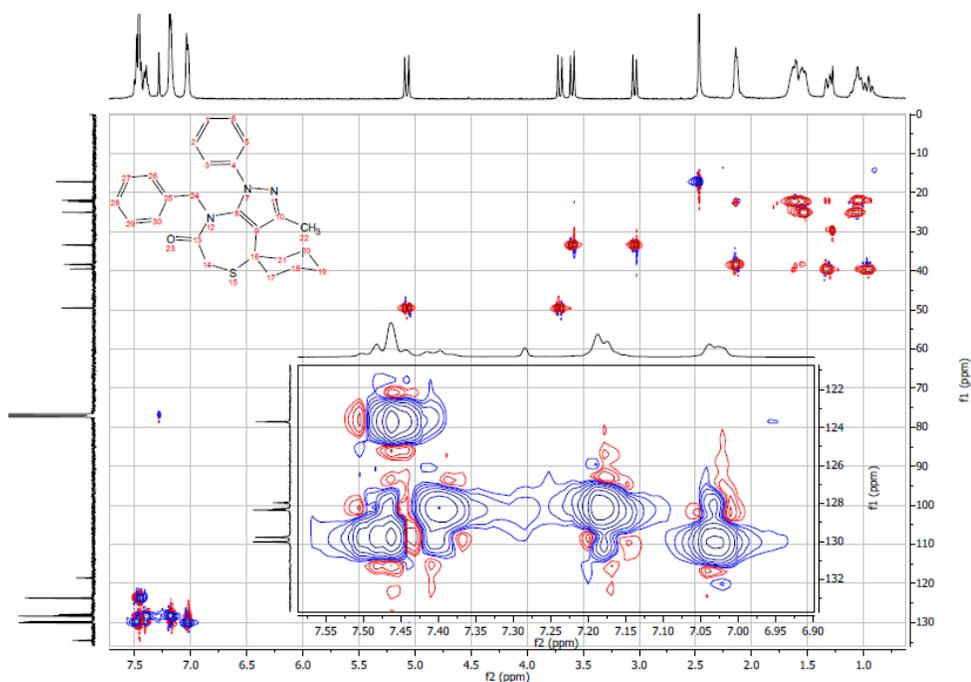
En el espectro de infrarrojo del compuesto **Bn-9a** se pueden observar las bandas correspondientes a los estiramientos C-H a 3055 cm^{-1} (para carbono con hibridación Sp^2) y a 2931 y 2862 cm^{-1} (para carbono con hibridación Sp^3), a 1708 cm^{-1} se puede apreciar

la banda asociada al estiramiento C=O del acilo lactámico; a 694 y 740 cm^{-1} se aprecian las bandas de flexión fuera de plano de los anillos fenilo con un patrón de monosustitución.

En el espectro de ^1H -RMN del compuesto en cuestión (Figura 3-35) se aprecian en la región alifática las señales correspondientes a los protones alifáticos de los metilenos de la porción ciclohexano espirofusionado (como cuatro multipletes entre 0.92 y 2.15 ppm), a 2.47 ppm se observa la señal como singlete, asignada para los protones del metilo pirazólico. A campo más bajo se pueden apreciar cuatro dobletes; los cuales, dadas las constantes de acoplamiento, se infiere que son dos sistemas de acoplamiento distintos: El primero está conformado por los dobletes a 3.05 y 3.59 ppm que tienen una $J = 12.8$ Hz, mientras que el segundo está dado por los otros dos (3.71 y 5.08 ppm) con una $J = 14.3$ Hz. Se asignaron estas señales a los protones de los metilenos de la porción bencilo (primer par de dobletes) y al metileno *alfa* al acilo de la lactama (segundo par de dobletes); estas asignaciones se corroboraron mediante las correlaciones observadas en experimentos bidimensionales (Figura 3-37). Por último, en la región aromática del espectro, se aprecian las señales que dan cuenta de los protones de los dos anillos aromáticos carbocíclicos monosustituídos en la estructura del producto.

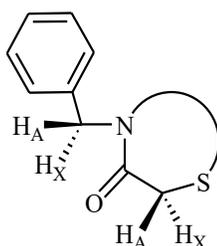
Figura 3-35. Espectro ^1H -RMN del compuesto **Bn-9a** (Tomado en CDCl_3).

En el espectro de carbono-13 (Figura 3-36) del compuesto mencionado, se pueden apreciar nueve señales en la región alifática, hecho que tiene lógica si se plantea el hecho de que todos los carbonos del fragmento ciclohexano espirofusionado, son inequivalentes entre sí. A campo más bajo, se pueden observar las 11 señales aromáticas esperadas para los carbonos inequivalentes en los tres anillos insaturados de la molécula; por último, se puede apreciar la señal más desprotegida del espectro (170.2 ppm), asignada al carbono de tipo acilo de la porción tiazepinónica de la estructura.

Figura 3-36. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **Bn-9a** (Tomado en CDCl_3).**Figura 3-37.** Experimento HSQC del compuesto **Bn-9a**.

En el experimento HSQC se aprecian principalmente las correlaciones entre los protones metilénicos de los sistemas de dobles mencionados previamente en el análisis del espectro ^1H -RMN. Se puede apreciar que dichos protones coincidentes en constantes de acoplamiento, correlacionan directamente con una única señal en la traza de carbono; lo que corrobora un efecto de desdoblamiento heterotópico consistente con la presencia de dos sistemas de acoplamiento de espín de tipo A-X (Figura 3-38). Es de notar que estas señales heterotópicas correspondientes a los protones de los metilenos tanto del fragmento bencilo, como el *alfa* al acilo lactámico, podrían ser un indicio de una quiralidad puntual sobre el nitrógeno de la lactama.

Figura 3-38. Sistemas de acoplamiento de espín observados por ^1H -RMN para el compuesto **Bn-9a**.



Es de notar que dicho fenómeno podría darse por la restricción en la inversión del par electrónico de este heteroátomo, presumiblemente por efectos estereoelectrónicos de tipo hiperconjugativos de tipo $n - \sigma^*$ (Esquema 3-16) o por restricción conformacional dada la presencia del espirociclo en la molécula. En aras de comprobar estas hipótesis se decidió comparar los espectros de todos los derivados *N*-alquilados, para observar si era un efecto propio de un tipo de sustituyente o si el solo hecho de sustituir esta posición generaba esta heterotopidad en las señales de los protones metilénicos indicados previamente (Figura 3-39).

Esquema 3-16. Hiperconjugación de tipo $n - \sigma^*$ planteada como causante de la restricción en la inversión del par del nitrógeno lactámico de las tiazepinonas sintetizadas.

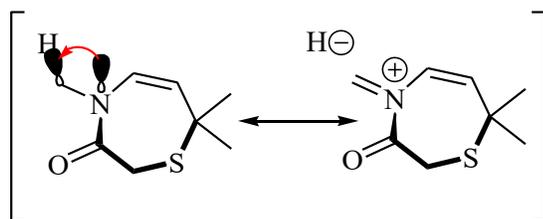
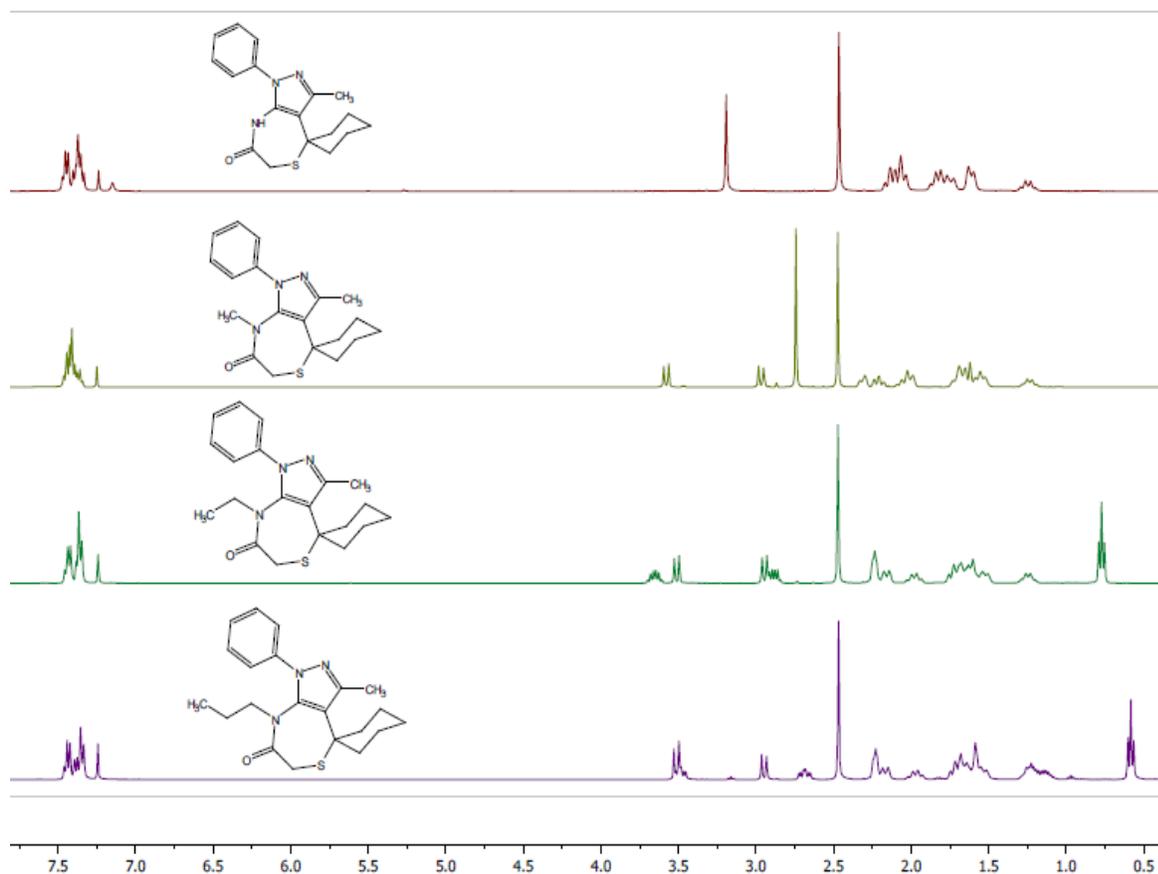


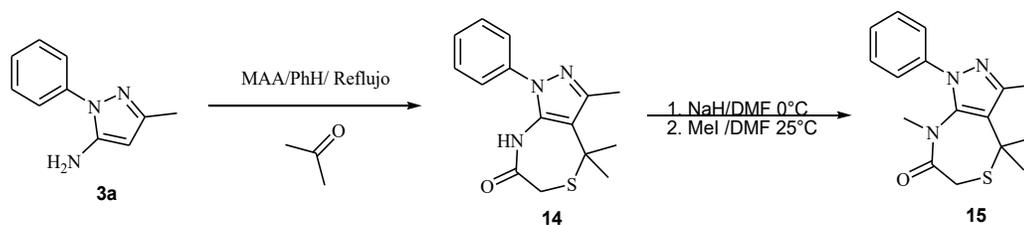
Figura 3-39. Comparación de los espectros ^1H -RMN de los compuestos **9a**, **Me-9a**, **Et-9a** y **Pr-9a**.



La comparación de los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno de los derivados seleccionados arrojó que independientemente del grupo alquilo introducido en esta posición de la molécula se aprecia un desdoblamiento de la señal del metileno *alfa* al acilo tiazepinónico. Esto demuestra que el solo hecho de sustituir dicha posición afecta directamente la simetría de la molécula haciendo que dichos protones geminales sean inequivalentes uno del otro.

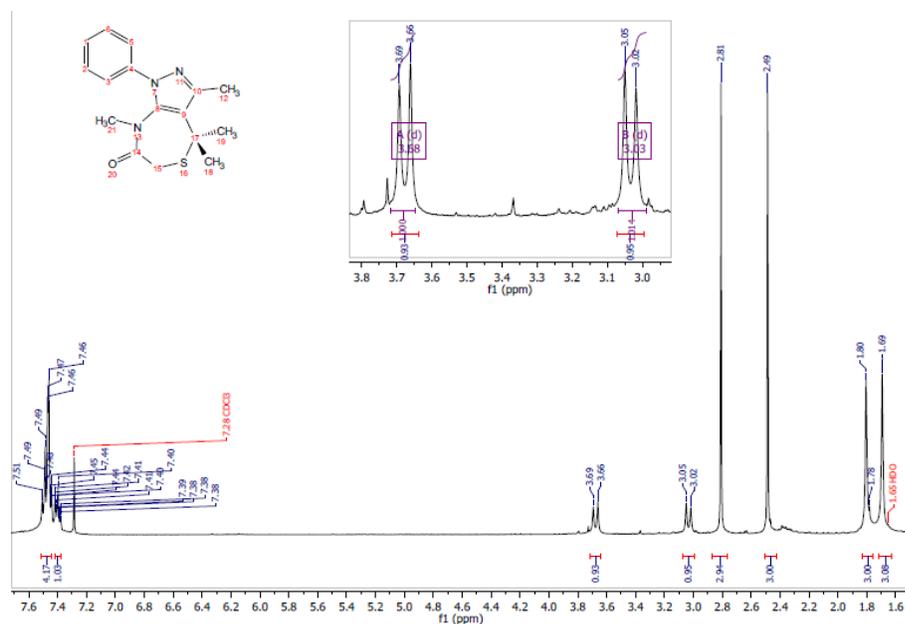
Siendo así, se planteó que esta inequivalencia sea producto de la alta restricción conformacional dada por la porción espirofusionada en la molécula; en aras de comprobar esto, se sintetizó una nueva tiazepinona derivada de acetona en lugar de ciclohexanona (eliminando el espirociclo y remplazándolo por dos metilos geminales) y sustituyendo el nitrógeno lactámico con un grupo metilo (Esquema 3-17).

Esquema 3-17. Síntesis de la tiazepinona **14** (gem-dimetilada) y su posterior *N*-metilación en aras de comprobar el efecto del espirociclo en la inequivalencia de los protones *alfa* al acilo.



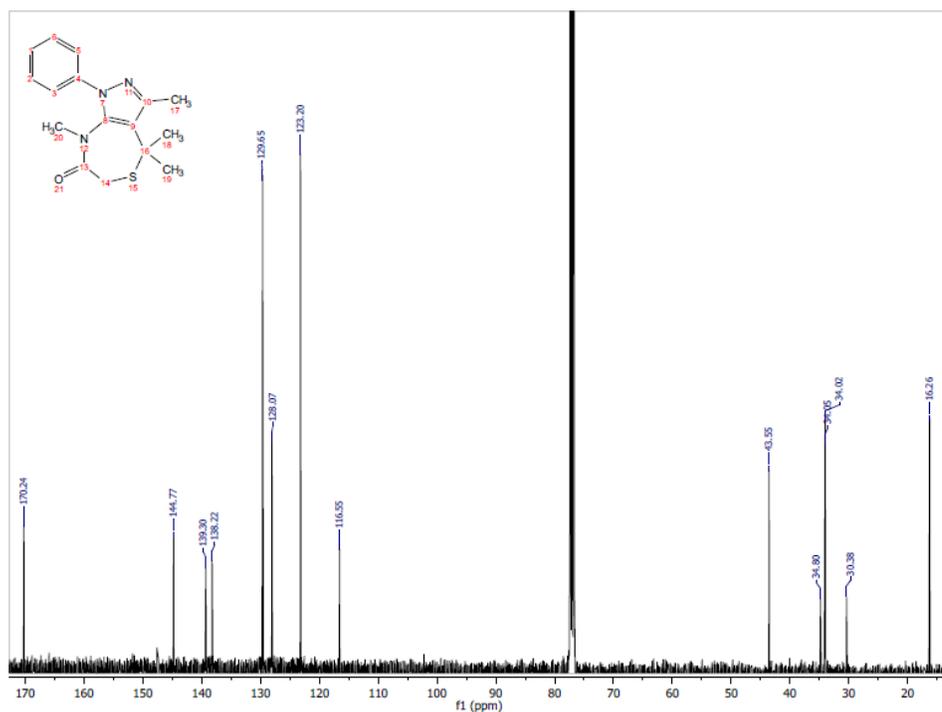
La síntesis del compuesto **14** fue lograda con un rendimiento del 80% mientras que la metilación tuvo un rendimiento del 33%, esto por problemas de solubilidad de **14** en el medio de reacción. Dicho producto fue caracterizado mediante espectroscopia RMN como ^1H -RMN (Figura 3-40), ^{13}C -RMN (Figura 3-41), DEPT-135 (Figura 3-42), HSQC (Figuras 3-43 a 3-45) y HMBC (Figura 3-46 a 3-48). Como es de notar, se esperaba que no se observara desdoblamiento heterotópico de los hidrógenos del carbono *alfa* en los espectros de resonancia magnética nuclear dada la ausencia del fragmento espiránico, sin embargo, no solo se apreció este desdoblamiento, sino que se pudo observar que los metilos geminales de la posición 7 del anillo tiazepinónico, también presentaron inequivalencia química al derivatizar el nitrógeno lactámico; esto se pudo observar mediante comparación de los espectros ^1H -RMN de **14** y **15** (Figura 3-49).

Figura 3-40. Espectro ^1H -RMN del compuesto **15** (Tomado en CDCl_3).



Se observó en el espectro de protón, dos señales a campo bajo (1.69 y 1.80 ppm) con integral para 3 protones cada una, concordantes por desplazamiento químico con los protones de los metilos *geminales* de la posición 7 del anillo tiazepínico, dicha inequivalencia se puede deber al efecto quirotópico de la introducción del fragmento metilo en el nitrógeno lactámico. A 2,49 ppm se observa otra señal de protones correspondientes a uno de los metilos de la estructura; dado el desplazamiento químico, se puede asumir que corresponde al metilo unido al anillo pirazólico. A 2.81 ppm se observa otro singlete, el cual se puede asignar al metilo *N*-sustituyente de la molécula. A 3.03 y 3.68 ppm se observan las señales de los protones diastereotópicos del metileno *alfa* al acilo de la lactama, estas señales con una multiplicidad *doblete* y poseen idéntica constante de acoplamiento ($J = 12.7$ Hz). A campo más bajo, en la región aromática, se observan dos multipletes consistentes con los 5 protones aromáticos del fenilo monosustituido de la posición 1 del anillo pirazólico.

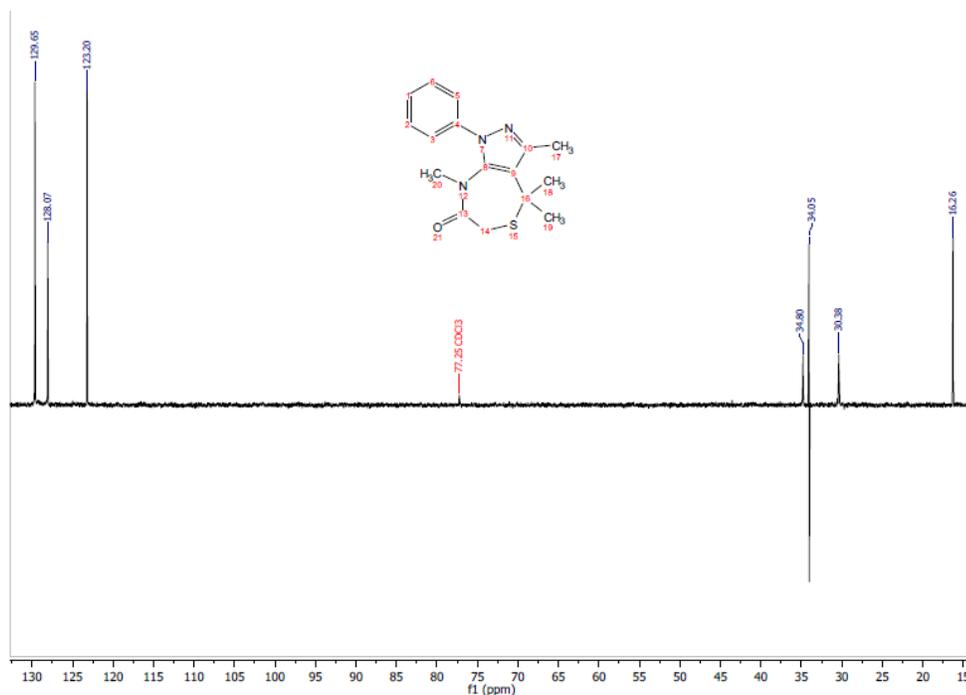
Figura 3-41. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **15** (Tomado en CDCl_3).



En el espectro ^{13}C -RMN (Figura 3-41) se observaron las señales de los carbonos alifáticos hacia campo alto del espectro, donde se observan 6 carbonos asignables a las posiciones 17, 14, 16, 20, 19 y 18 de la estructura; siendo la señal a 16.26 ppm, la

correspondiente al metilo de la posición 17 (unido directamente al anillo pirazólico), a 30.38 y 34.80 ppm se observan las 2 señales de los metilos *geminales* sustituyentes del anillo tiazepínico (lo que comprueba la relación diastereotópica de estos carbonos), la señal del metilo de la posición nitrogenada del anillo tiazepínico se observa a 34.02 ppm, el carbono del metileno *alfa* al acilo lactámico aparece como una señal a 34.05 ppm (corroborada como una señal en fase negativa en el experimento DEPT-135 (Figura 3-42); por último, en esta región del espectro se observa la señal a 43.55 ppm, correspondiente al carbono de la posición 16, completando así los carbonos alifáticos saturados de la molécula obtenida. En cuanto a los carbonos de tipo aromático, se observan los metinos del fenilo monosustituido (carbonos 3(5), 2(6) y 1) siendo estas las señales a 123.20 ppm, 129.65 ppm y 128.07 ppm, respectivamente. El carbono 4 se asignó a la señal a 138.22 ppm, y las señales de los carbonos aromáticos cuaternarios del pirazol (8, 9 y 10) se observan como señales de baja intensidad a 139.30, 144.77 y 116.55 ppm respectivamente; por último, y a campo más bajo en el espectro se puede apreciar la señal a 170.24 ppm asignada al carbono de tipo acilo lactámico presente en la estructura.

Figura 3-42. Experimento DEPT-135 del compuesto **15**.



Las asignaciones mencionadas anteriormente se realizaron mediante la interpretación combinada de los experimentos mono (¹H-RMN, ¹³C-RMN y DEPT-135) y

bidimensionales (HSQC (Figura 3-43 a 3-45) y HMBC (Figura 3-46 a 3-48)), dichos experimentos también demostraron la presencia de efectos quirotópicos, que ocasionaron el desdoblamiento de las señales de los protones del metileno *alfa* al acilo de la lactama y de los metilos geminales sustituyentes del anillo saturado de siete miembros. Las correlaciones C-H de conectividad indirecta (vecinal y a larga distancia) observadas en el experimento HMBC, se muestran en el esquema 3-18 y las asignaciones de las señales (determinadas por el análisis completo de los espectros) se muestran en la tabla 20.

Figura 3-43. Experimento HSQC para el compuesto **15**.

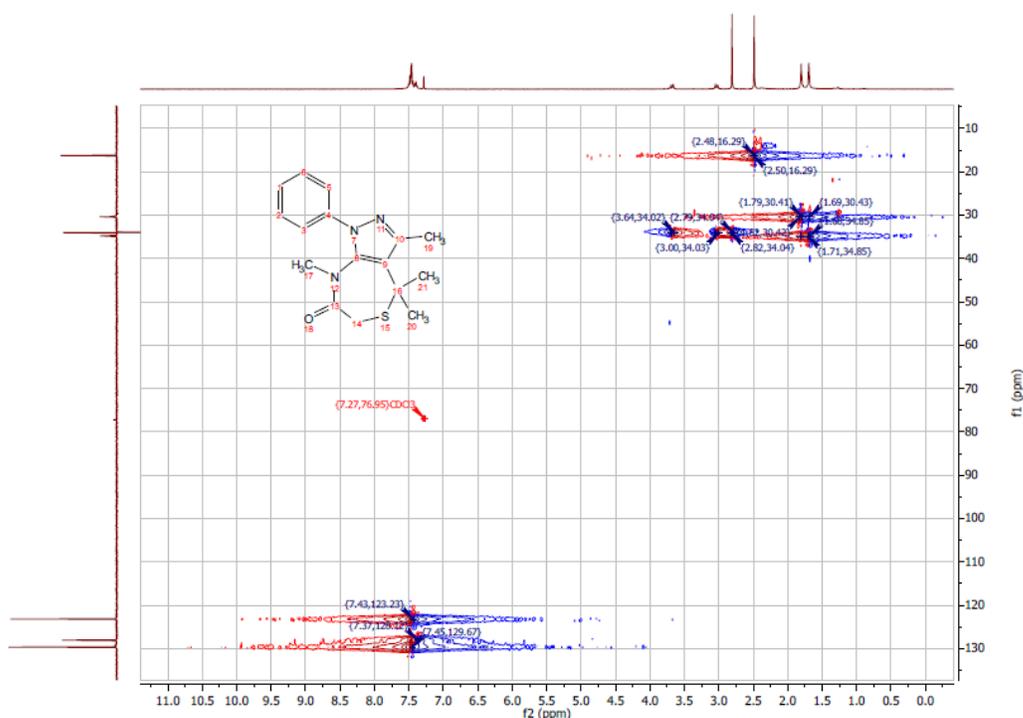
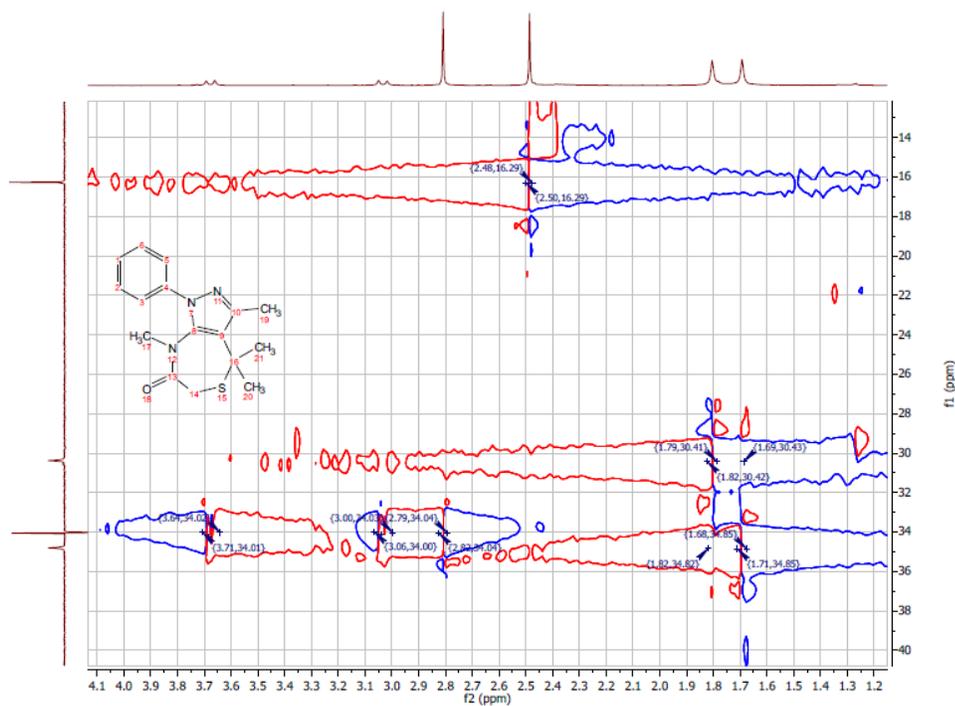
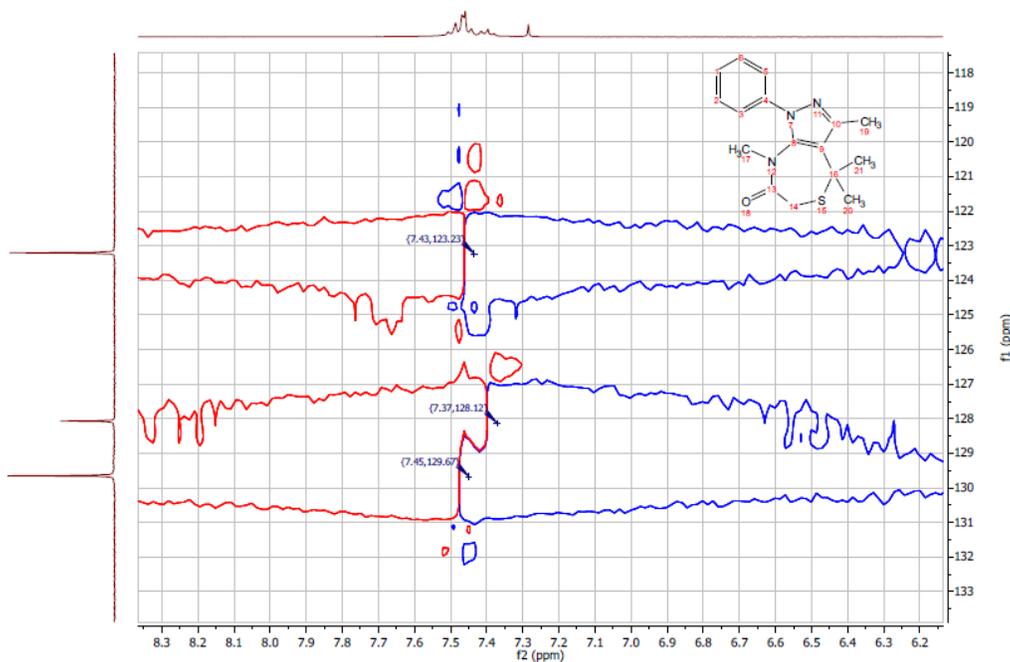


Figura 3-44. Expansión de la región alifática del espectro HSQC del compuesto **15**.**Figura 3-45.** Expansión de la región aromática del espectro HSQC del compuesto **15**.

El experimento HSQC mostró correlaciones C-H a un enlace de los protones metilénicos a 3.03 y 3.68 ppm (en el espectro ^1H -RMN) con el único carbono de tipo secundario a

34.05 ppm (en el espectro DEPT-135), lo que indica un desdoblamiento diastereotópico típico de efectos de inequivalencia magnética presentada en un sistema de acoplamiento de espín AMX, también se observó inequivalencia de los metilos geminales (cuyos protones se observan a 1.69 y 1.80 ppm); esto dado que cada señal en la traza horizontal correlaciona con una señal distinta en la traza vertical (34.85 y 30.41 ppm respectivamente). Además de esto, se observan las correlaciones heteronucleares C-H a un enlace esperadas para la estructura planteada.

Figura 3-46. Experimento HMBC para el compuesto **15**.

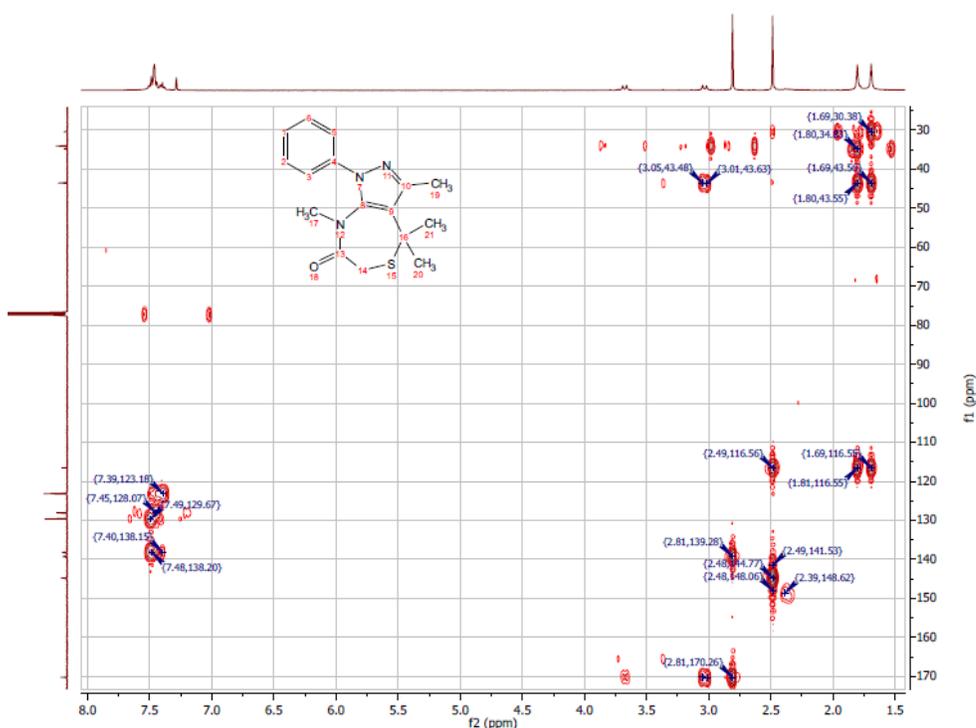


Figura 3-47. Expansión de la región alifática del espectro HMBC del compuesto **15**.

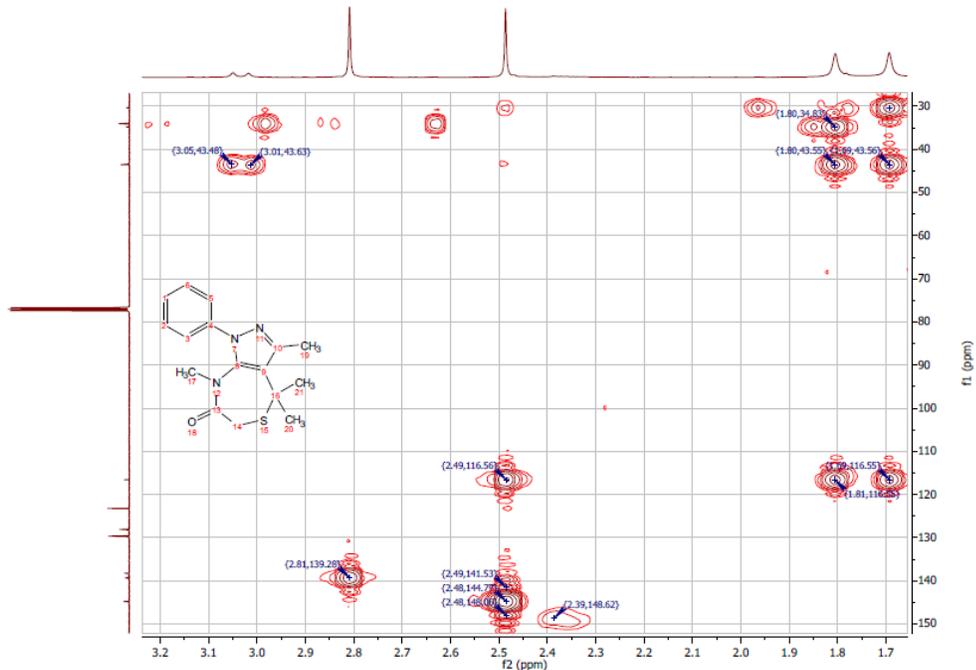
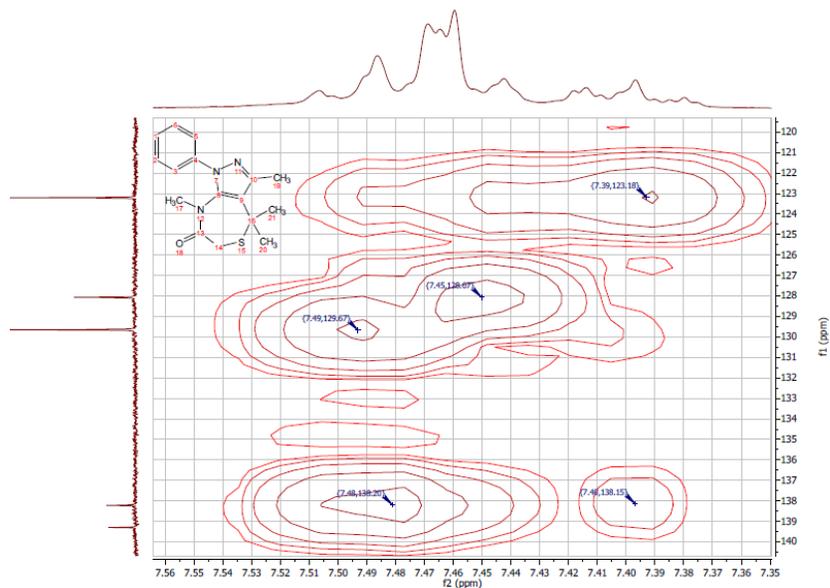


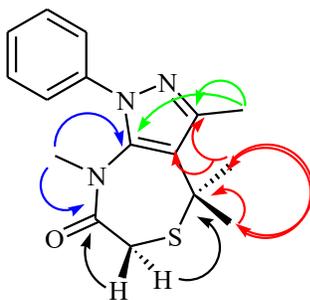
Figura 3-48. Expansión de la región aromática del espectro HMBC del compuesto **15**.



La asignación de las señales se presenta en la tabla 20 y las correlaciones halladas en el experimento HMBC se presentan a continuación en el esquema 3-18.

Tabla 21. Resumen de las asignaciones de señales en RMN para el compuesto **15**.

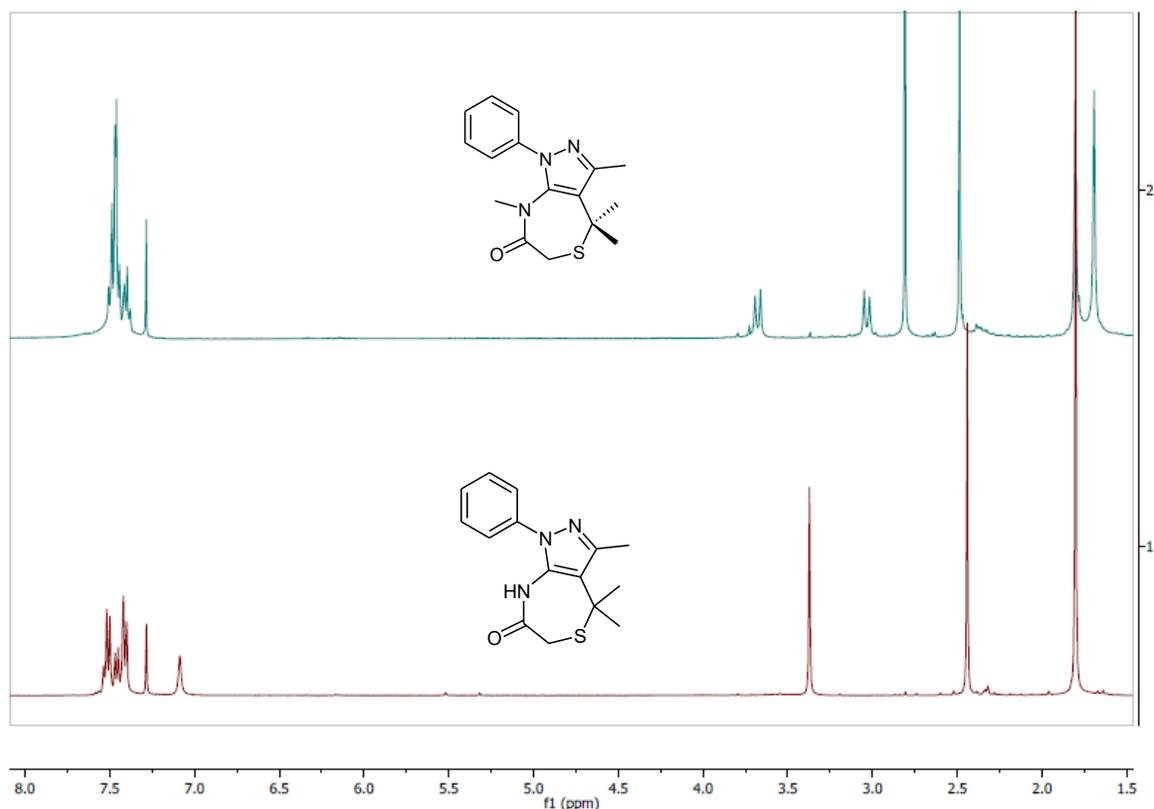
Átomo.	δ Señal ^1H .	Multiplicidad	δ Señal ^{13}C	Tipo de C
1	7.38 – 7.51	m	128.07	C-H Sp ²
2(6)	7.38 – 7.51	m	129.65	C-H Sp ²
3(5)	7.38 – 7.51	m	123.20	C-H Sp ²
4	-	-	138.22	C Sp ²
8	-	-	139.30	C Sp ²
9	-	-	144.77	C Sp ²
10	-	-	116.55	C Sp ²
12	2.49	s	16.26	-CH ₃
14	-	-	170.24	C=O
15_A	3.03	d	34.05	-CH ₂
15_M	3.68	d	34.05	-CH ₂
17	-	-	43.55	C Sp ³
19	1.69	s	34.85	-CH ₃
20	1.80	s	30.41	-CH ₃
21	2.81	s	34.02	-CH ₃

Esquema 3-18. Correlaciones halladas en el experimento HMBC del compuesto **15**.

La evidencia espectroscópica muestra inequivalencia entre los protones metilénicos *alfa* al acilo de la lactama, en un sistema de acoplamiento de espín de tipo AMX, al igual que los metilos geminales del anillo tiazepínico, los cuales se observaron como señales inequivalentes en espectros de ^{13}C -RMN y ^1H -RMN. Esto denota la pérdida de simetría que sufre la molécula al introducir el grupo metilo en la posición nitrogenada de la lactama; fenómeno observado previamente en los derivados espirocíclicos obtenidos a partir de la reacción tricomponente entre 5-aminopirazoles, ácido mercaptoacético y cetonas cíclicas, seguido de reacción de *N*-alquilación. El hecho de observar este

fenómeno en la tiazepinona metilada **15** demuestra que dicha pérdida de simetría no está relacionada con la presencia de la porción espiranica en la molécula, pero si con la alquilación de la posición nitrogenada (Figura 3-49).

Figura 3-49. Comparación de los espectros ^1H -RMN de los compuestos **14** y **15**.



Se decidió estudiar más a profundidad la estructura de estas tiazepinonas mediante la obtención de cristales de los derivados **9a**, **Me-9a**, **Et-9a**, **Bn-9a**, y **15**, los cuales fueron estudiados por difracción de rayos X en monocristal. Dichos cristales fueron obtenidos mediante la técnica de difusión utilizando tolueno como medio de disolución y etanol como medio difusivo de precipitación.

Las estructuras de estos compuestos en el estado sólido se muestran en las figuras 3-50 a 3-54 y revelan dados los ángulos y distancias de enlace alrededor del nitrógeno lactámico (Tabla 21) que se tiene una predominancia por una hibridación Sp^2 en dicho nitrógeno favoreciendo en el estado sólido la forma tautomérica de tipo imina sobre la amida (Esquema 3-19).

Figura 3-50. A. Estructura cristalográfica de la tiazepinona **9a**. **B.** Ángulos de enlace del nitrógeno lactámico en **9a**. **C.** Distancias de enlaces alrededor del nitrógeno lactámico en **9a**.

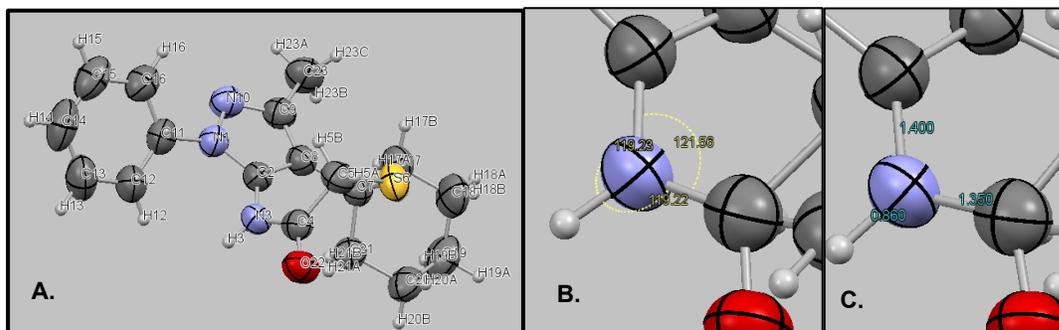


Figura 3-51. Estructuras cristalográficas de las tiazepinonas **A. Me-9a. B. Et-9a. C. Bn-9a. D. 15.**

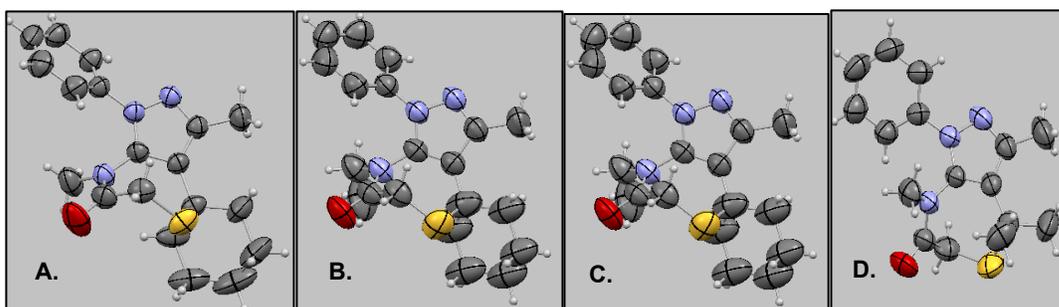
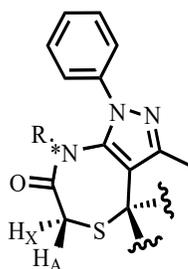


Tabla 22. Ángulos y distancias de enlace halladas mediante difracción de rayos X para las tiazepinonas estudiadas.

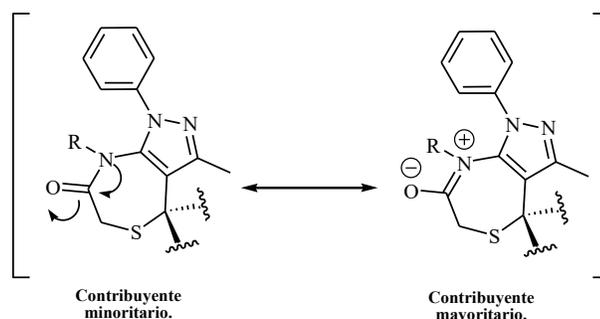


Código.	R-	Distancia N*-R (Å)	Distancia N*-CO (Å)	Distancia N*-C (Å)	Distancia C=O (Å)	Ángulo dihedro R-N*-C	Ángulo dihedro R-N*-CO	Ángulo dihedro C-N*-CO
9a.	H-	0.860	1.350	1.400	1.228	119.23	119.22	121.56
Me-9a.	Me-	1.460	1.365	1.405	1.219	119.22	119.82	120.47
Et-9a.	Et-	1.476	1.362	1.405	1.216	120.07	118.89	120.97

Código.	R-	Distancia N*-R (Å)	Distancia N*-CO (Å)	Distancia N*-C (Å)	Distancia C=O (Å)	Ángulo dihedro R-N*-C	Ángulo dihedro R-N*-CO	Ángulo dihedro C-N*-CO
Bn-9a.	Bn-	1.484	1.371	1.408	1.218	120.46	118.93	120.39
15	Me-	1.466	1.363	1.406	1.224	119.37	118.87	120.71

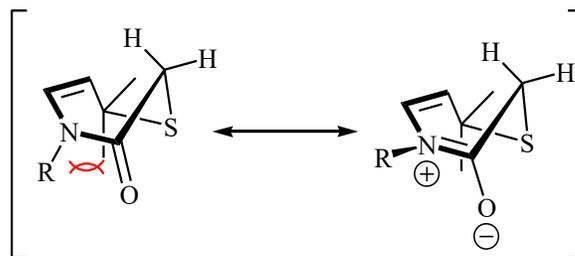
El análisis de las estructuras cristalográficas, así como de las distancias y ángulos de enlace hallados, muestra no solo el alto carácter Sp^2 del nitrógeno lactámico, sino que además revela que en el estado sólido, se tiene un contribuyente mayoritario al híbrido de resonancia; siendo este la forma imina sobre la amida (Esquema 3-19).

Esquema 3-19. Contribuyentes al híbrido de resonancia de las tiazepinonas de estudio.



Además de los efectos resonantes, se puede apreciar una conformación del anillo tiazepinónico de tipo bote torcido; esto implica y puede explicar la inequivalencia química de los protones del metileno *alfa*, dado que se puede apreciar que uno de estos (axial) presenta eclipsamiento con el anillo pirazólico, mientras que el otro (ecuatorial) se alejará de la nube π del anillo heteroaromático. Aunque este efecto se muestra en la estructura cristalina de todas las tiazepinonas difractadas, se verá intensificado (aún en solución) por la presencia de un sustituyente alquilo; dada la mayor restricción en la tasa de interconversión de los posibles conformeros de este anillo de siete miembros (Esquema 3-20).

Esquema 3-20. Interconversión de confómeros dada por la resonancia imina – amida.



Terminado este estudio, se procedió a la síntesis de los compuestos seleccionados mediante el cribado virtual realizado y explicado en las secciones iniciales de este capítulo.

- **Síntesis de los compuestos espiro pirazolotiazepinonicos (Serie A) seleccionados como promisorios moduladores del receptor GABA_A de acuerdo con el cribado virtual.**

Dado que los compuestos seleccionados (Figura 3-10) son pirazolotiazepinonas derivadas de la reacción con los 5-aminopirazoles **3a**, **3c** y **3d** con ciclopentanona y MAA se realizó la síntesis en cantidades del orden de 1 a 2 mmoles (Esquema 3-21) y luego el escalamiento directo de la reacción para la obtención de un gramo de los productos de interés; esto en aras de observar los posibles efectos que tiene en el rendimiento de la reacción (Tabla 22).

Esquema 3-21. Reacción realizada para la síntesis de los compuestos objetivo.

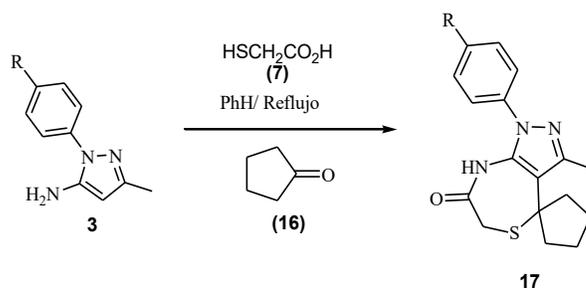


Tabla 23. Estudio de escalamiento de la reacción de obtención de los derivados más promisorios de acuerdo con el cribado virtual.

Código	-R	% Rendimiento (1 mmol)	% Rendimiento (4.5 mmol)	Variación del rendimiento.	Caída porcentual.
A-cpTP0	-H	62	49	-13%	21%
A-cpTP1	-Cl	58	40	-18%	31%
A-cpTP6	-OMe	55	30	-25%	45%
A-cpTP7	-F	60	33	-27%	45%

Se puede observar de los resultados mostrados en la tabla 22 que hay una severa caída en el rendimiento de la reacción tricomponente, debido al incremento de las cantidades de precursores a usar; esto probablemente se pueda deber a que los reactores de síntesis empleados resultan ser idénticos, aun variando las cantidades de material de partida, ocasionando problemas en la homogeneidad del calentamiento, así como problemas en los diferentes fenómenos de transporte de masa y calor. Pese a esto, se logró obtener los compuestos deseados en cantidades de un gramo, los cuales fueron utilizados en el marco del proyecto Minciencias “Síntesis multicomponente, cribado virtual y evaluación de la actividad tranquilizante de nuevos compuestos tiacepínicos, tiazolidínicos y quinolínicos” de la convocatoria 807 para proyectos de ciencia, tecnología e innovación en salud 2018; en evaluación *in vivo* de posible actividad ansiolítica, antidepressiva, sedante e hipnótica.

3.3.2 Síntesis de los compuestos de la serie B: Espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.

Tal como se planteó en la sección 2.5.2, la síntesis de estos compuestos se diseñó a partir de una estrategia tricomponente de tipo Biginelli, seguida de una reacción de ciclocondensación de la aminopirimidina con cetonas cíclicas y MAA (Esquema 2-3).

La primera etapa involucra la síntesis de derivados 2-amino-4,6-diarilpirimidínicos y se expondrá a continuación.

▪ Síntesis de los precursores 2-aminopirimidínicos.

Estos experimentos iniciaron con la síntesis de chalconas como precursores 1,3-dielectrofilicos de las 2-aminopirimidinas (Esquema 3-22); estos compuestos se obtuvieron con rendimientos iguales o superiores al 69% (Tabla 23) mediante la reacción de condensación de Claisen – Schmidt [143] [144] [145].

Esquema 3-22. Síntesis de las chalconas precursoras iniciales de las 5-aminopirimidinas.

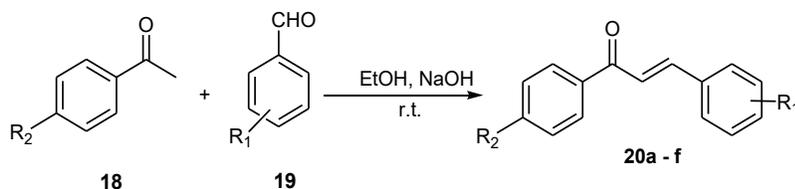


Tabla 24. Rendimientos de las chalconas sintetizadas.

Entrada	R ₁ -	R ₂ -	Rendimiento.
20a.	H-	<i>p</i> -MeO-	94 %
20b.	H-	<i>p</i> -EtO-	78 %
20c.	H-	<i>o</i> -Cl-	60 %
20d.	Me-	<i>p</i> -MeO-	96 %
20e.	Me-	<i>p</i> -EtO-	69 %
20f.	Me-	<i>o</i> -Cl-	> 99 %

Luego de obtener las chalconas, se hicieron reaccionar con hidrocóloro de guanidinio en medio alcalino, sin embargo las monoaminas deseadas se obtuvieron con rendimientos moderados; así pues, se cambió la aproximación sintética por una reacción tricomponente tipo Biginelli [146] entre los aldehídos, acetofenonas e hidrocóloro de guanidinio (Esquema 3-23), obteniéndose un aumento en el rendimiento de la reacción (Tabla 24).

Esquema 3-23. Síntesis tricomponente tipo Biginelli de las 2-aminopirimidinas.

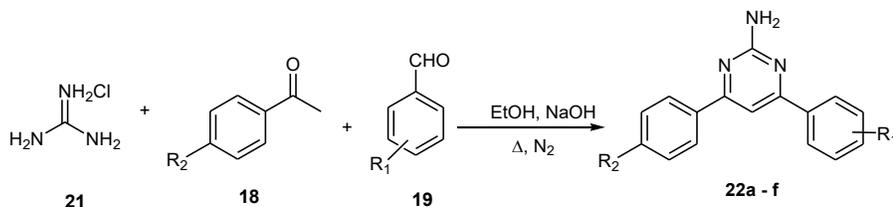
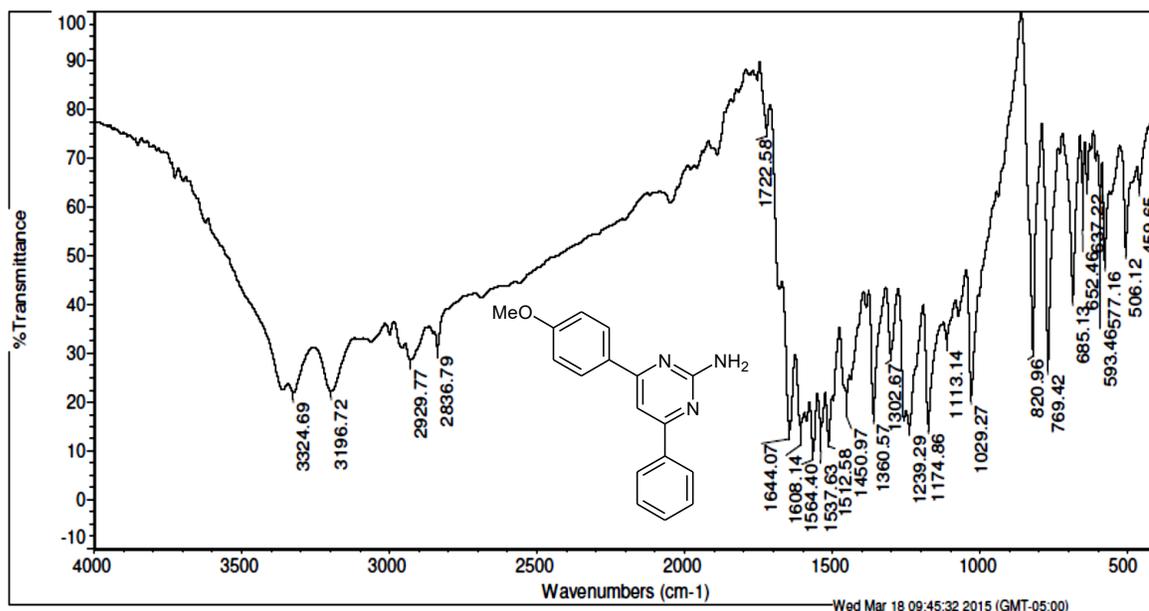


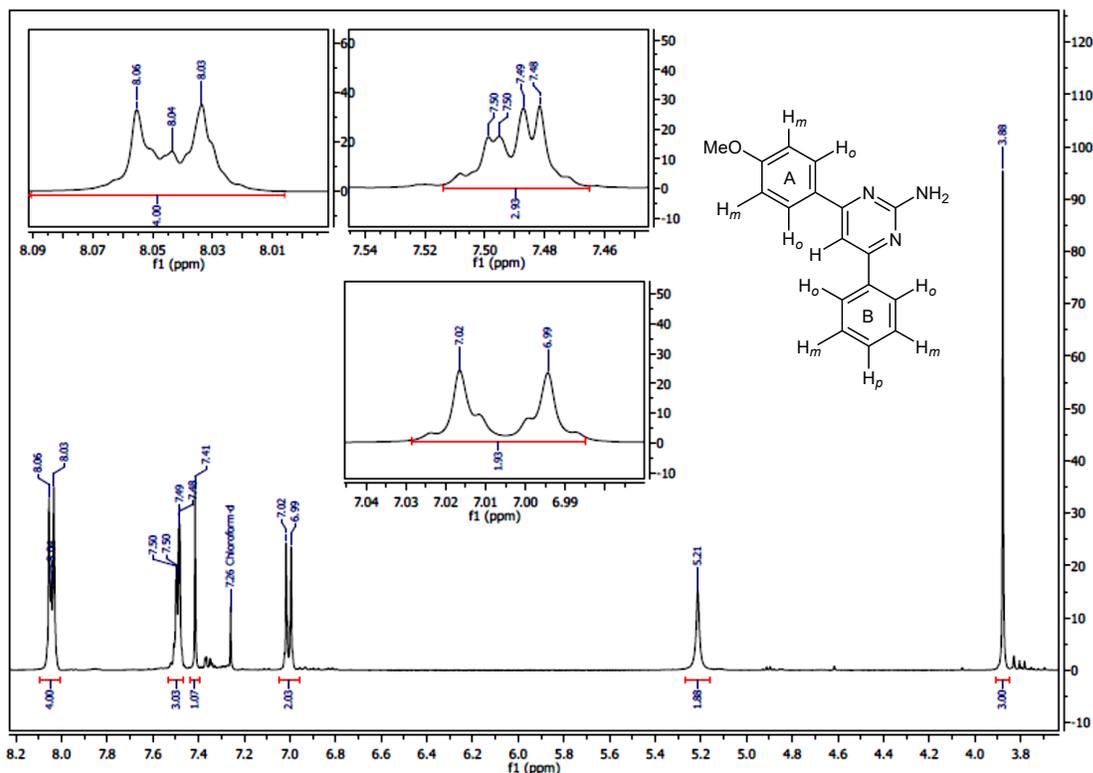
Tabla 25. Rendimiento de las dos metodologías de síntesis de los precursores 2-aminopirimidínicos.

Entrada	R ₁ -	R ₂ -	Rendimiento global método a 2 pasos.	Rendimiento método Biginelli.	Punto de fusión.
22a.	H-	<i>p</i> -MeO-	30 %	90 %	134 – 136°C
22b.	H-	<i>p</i> -EtO-	16 %	92 %	91 – 92°C
22c.	H-	<i>o</i> -Cl-	40 %	80 %	62 – 63°C
22d.	Me-	<i>p</i> -MeO-	66 %	93 %	119 – 121°C
22e.	Me-	<i>p</i> -EtO-	19 %	74 %	110 – 112°C
22f.	Me-	<i>o</i> -Cl-	15 %	90 %	99 – 101°C

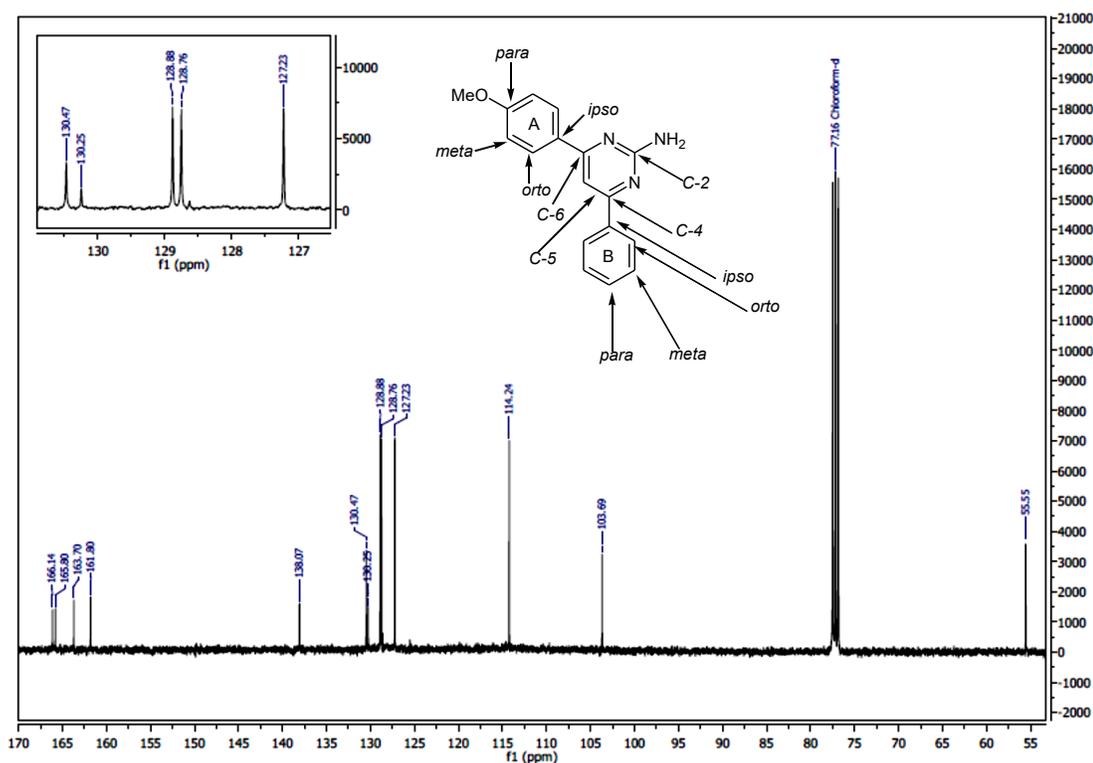
Las 2-aminopirimidinas obtenidas fueron caracterizadas por espectrofotometría IR (Figura 3-52), ¹H-RMN (Figura 3-53) y ¹³C-RMN (Figura 3-54). Se presentan a continuación los espectros del compuesto **22a**.

Figura 3-52. Espectro de infrarrojo del compuesto **22a**.

En el espectro de infrarrojo del compuesto **22a** se observan las bandas típicas del grupo amino hacia 3324 y 3196 cm^{-1} , se observan los estiramientos C-H Sp^2 en 2929 cm^{-1} y Sp^3 en 2836 cm^{-1} ; se puede ver también en 1644 cm^{-1} una banda asignada a la tensión C=N presente en el anillo pirimidínico.

Figura 3-53. Espectro ^1H -RMN del compuesto **22a** (Tomado en CDCl_3).

En el espectro protónico del compuesto **22a** se pueden observar seis señales que se asignaron de la siguiente manera: en 3.88 ppm un singlete que integra para 3 hidrógenos asignado al metoxilo; en 5.21 ppm un singlete de base ancha de los protones del grupo amino; en 7.01 ppm un doblete con constante de acoplamiento $J = 8.8$ Hz que integra para 2 protones asignado a los protones del fenilo "A" en posición *orto* al anillo pirimidínico; un singlete en 7.41 ppm con integral de 1 hidrógeno asignado al protón de la posición C-5 del anillo de pirimidina; un multiplete en 7.50 que integra para 3 hidrógenos asignado a los protones del anillo fenilo "B", por ultimo un multiplete en 8.04 ppm que integra para 4 hidrógenos de los cuales sobresale el doblete con $J = 8.8$ Hz, de los protones del fenilo "A" en posición *meta* al anillo pirimidínico; los otros dos protones solapados son asignados a los restantes del anillo "B".

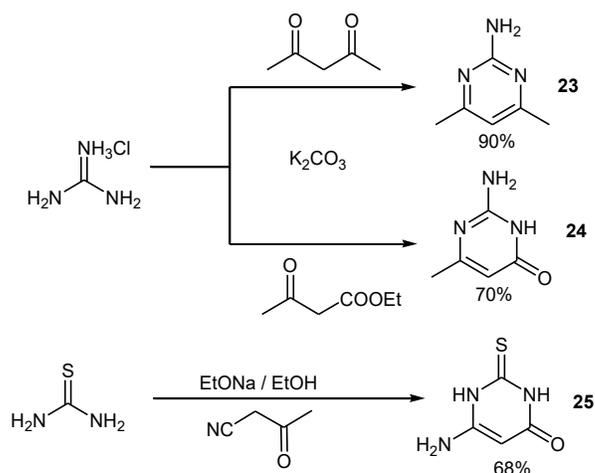
Figura 3-54. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **22a** (Tomado en CDCl_3).

En el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono-13 del compuesto **22a** se observan las 13 señales de los carbonos inequivalentes de la molécula planteada; la primera de estas a 55.5 ppm corresponde al carbono del metoxilo sustituyente del anillo fenilo "A", las señales de los carbonos en las posiciones *orto*, *meta*, *para* e *ipso* de este fenilo se observan en 114.2, 128.9, 165.8, y 130.5 ppm respectivamente. Las señales del anillo "B" en las posiciones *orto*, *meta*, *para* e *ipso* se encuentran en 128.8, 127.7, 103.7 y 130.2 ppm respectivamente; por último, las señales correspondientes a las posiciones C-2, C-4, C-5 y C-6 del anillo pirimidínico se hallan en 166.1, 161.8, 163.7 y 138.1 ppm respectivamente. Los compuestos **22b** a **22f** se caracterizaron de forma análoga observándose un patrón espectroscópico similar con las variaciones estructurales introducidas en cada una de las 2-aminopirimidinas sintetizadas.

Además de estas 4,6-diaril-2-aminopirimidinas se sintetizó, 4,6-dimetil-2-aminopirimidina (**23**), 6-metil-2-aminopirimidin-4(3*H*)-ona (**24**), y 2-tioxo-6-amino-2,3-dihidropirimidin-4(1*H*)-ona (**25**), también mediante una reacción de ciclocondensación, pero esta vez entre hidrócloruro de guanidina y acetilacetona o acetoacetato de etilo en medio básico

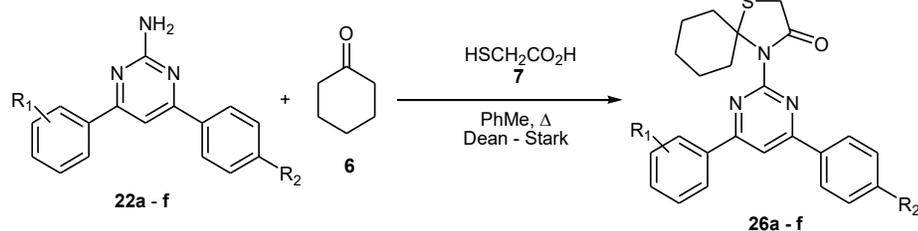
respectivamente [147] o tiourea y cianoacetato de etilo para la síntesis de **25** [148] (Esquema 3-24) con un rendimiento del 90% para **23**, del 70% para **24** y 68% para **25**.

Esquema 3-24. Síntesis de las aminopirimidinas **23**, **24**, y **25**.



▪ **Síntesis de los derivados espiro pirimidinil tiazolidin-4-onicos.**

Con las anteriormente mencionadas 2-aminopirimidinas sintetizadas, ahora mediante una metodología sencilla y eficiente; se realizó la reacción tricomponente de ciclocondensación para la formación de heterociclos de núcleo [1,3]tiazolidin-4-ona; esto se hizo en primera instancia usando benceno como disolvente sin resultados positivos, indicando que posiblemente la elección del disolvente no fue la más adecuada. Luego de esto, se realizó la reacción con un disolvente de mayor punto de ebullición (Tolueno) y con remoción azeotrópica del agua mediante el uso de una trampa Dean – Stark, obteniéndose los compuestos objetivos **26a – f** (Esquema 3-25) con bajos rendimientos (Método 1), excepto por el compuesto derivado de **23**. Después de esto se realizó la reacción usando una estrategia de control estequiométrico de la ciclohexanona por adición controlada de la misma y usando dos equivalentes de ácido mercaptoacético (Método 2), mejorando los rendimientos de los productos obtenidos (Tabla 25).

Esquema 3-25. Síntesis de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas **26a – f**.

La 4,6-dimetil-2-aminopirimidina (**23**) mostró una reactividad muy baja en comparación con los derivados diarilpirimidínicos (con el método 1, se obtuvo el producto con un rendimiento del 23%); el rendimiento de la obtención del derivado espiroanico desmejoró notablemente al aplicar la metodología 2 (dos equivalentes de ácido mercaptoacético y adición controlada de ciclohexanona), lo que da cuenta de la relación basicidad/nucleofilicidad del grupo amino del mencionado precursor; por otra parte, los compuestos **24** y **25** no sufrieron conversión alguna al derivado espirotiazolidínico (Esquema). Se presume que dado que la densidad electrónica del grupo amino esta mayormente comprometida con la resonancia endocíclica de la pirimidina, posee una baja nucleofilia en comparación con los derivados más reactivos **22a – f** (Tabla 25).

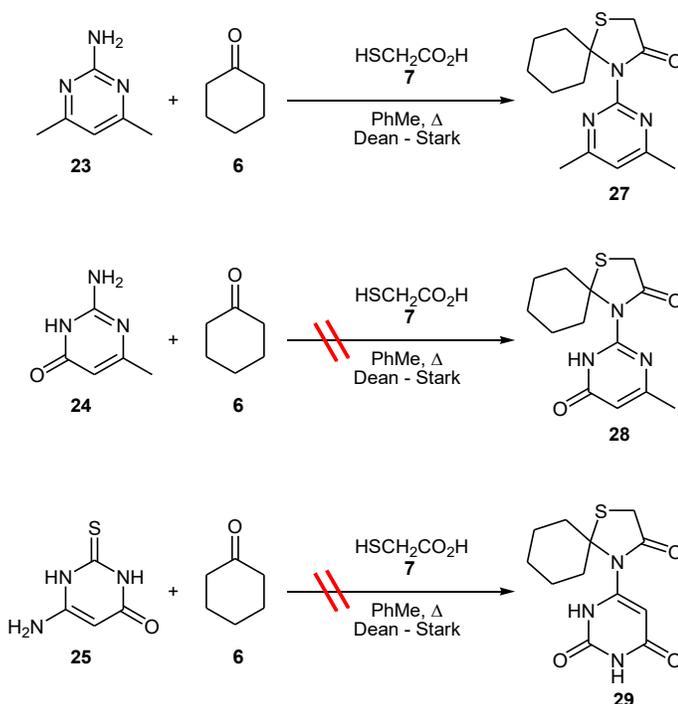
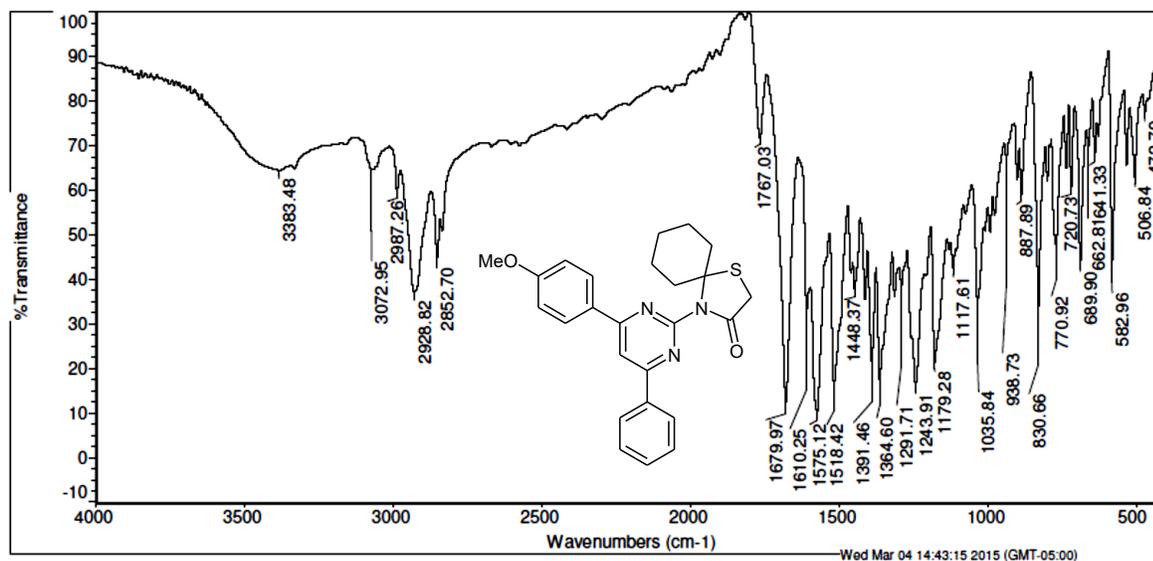
Esquema 3-26. Reacciones ensayadas con las aminopirimidinas **23**, **24** y **25** para la obtención de las espiro tiazolidin-4-onas.

Tabla 26. Rendimientos obtenidos en los ensayos realizados para la síntesis de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.

Entrada	R ₁ -	R ₂ -	Rendimiento método	Rendimiento método	Punto de fusión.
			1.	2.	
26a.	H-	<i>p</i> -MeO-	40 %	56 %	165 – 167°C
26b.	H-	<i>p</i> -EtO-	22 %	53 %	143 – 145°C
26c.	H-	<i>o</i> -Cl-	67 %	54 %	98 – 100°C
26d.	Me-	<i>p</i> -MeO-	30 %	63 %	148 – 159°C
26e.	Me-	<i>p</i> -EtO-	37 %	67 %	196 – 197°C
26f.	Me-	<i>o</i> -Cl-	48 %	58 %	91 – 92°C
27	-	-	26 %	5 %	129 – 131°C
28	-	-	N.R.	N.R.	-
29	-	-	N.R.	N.R.	-

N.R. No hubo reacción.

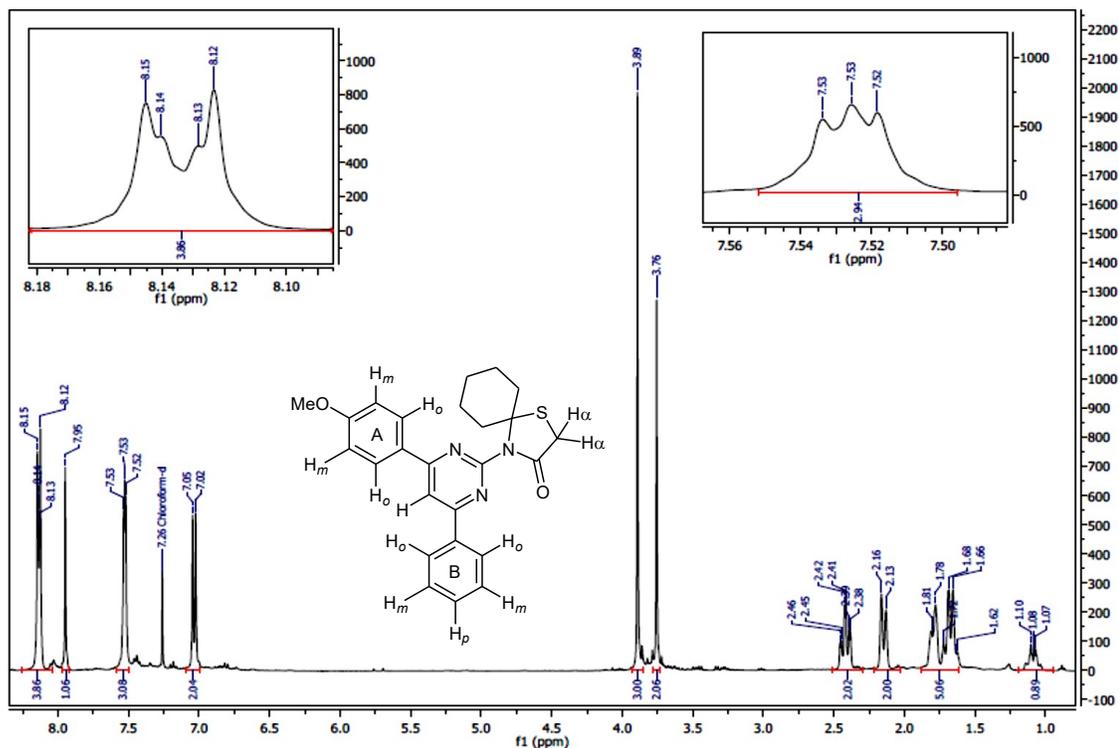
Estos compuestos se caracterizaron mediante la toma de sus espectros de infrarrojo (Figura 3-55), ¹H-RMN (Figura 3-56), ¹³C-RMN (Figura 3-57) y HRMS (Figura 3-58). A continuación se presentarán estos espectros correspondientes al compuesto **26a**.

Figura 3-55. Espectro de infrarrojo del compuesto **26a**.

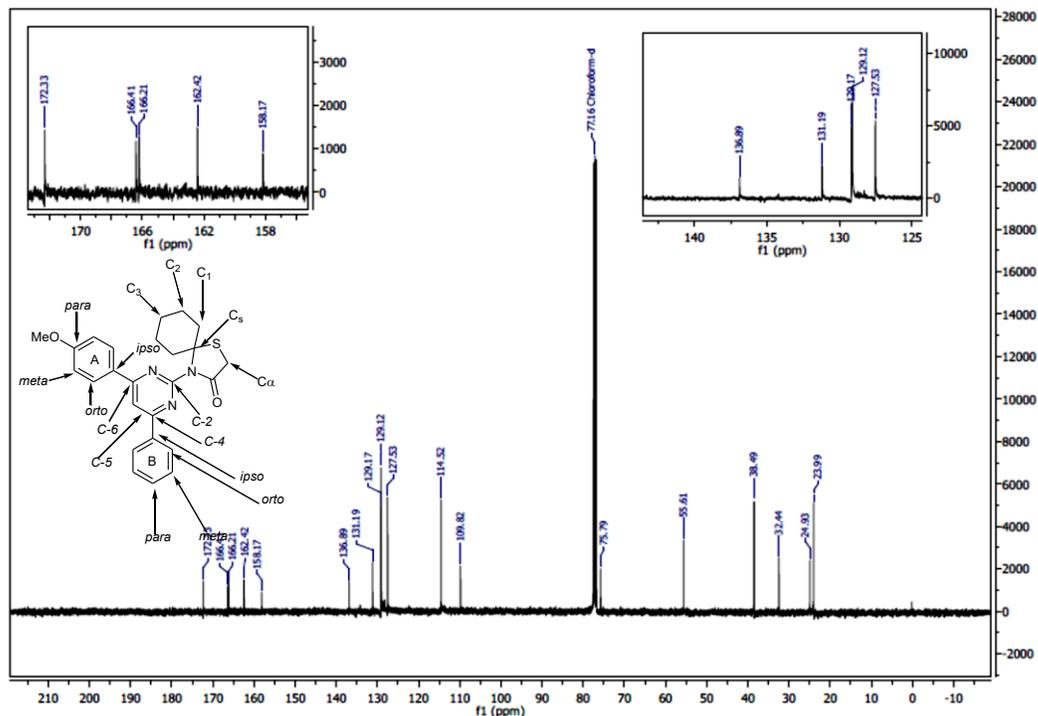
En el espectro infrarrojo del compuesto **26a** se observan las bandas de los estiramientos C-H Sp² en 3072 cm⁻¹ y C-H Sp³ en 2928 y 2852 cm⁻¹; estas bandas de intensidad media suelen ser típicas de los anillos de cinco y seis miembros; nótese además que en esta región ya no se observan las bandas de los estiramientos N-H por encima de 3200 cm⁻¹

propias del precursor aminopirimidínico; se observa también una banda en 1679 cm^{-1} asignada al estiramiento C=O de lactama de cinco miembros y hacia 1610 cm^{-1} se observa en el espectro una banda correspondiente al estiramiento C=N presente en el anillo pirimidínico.

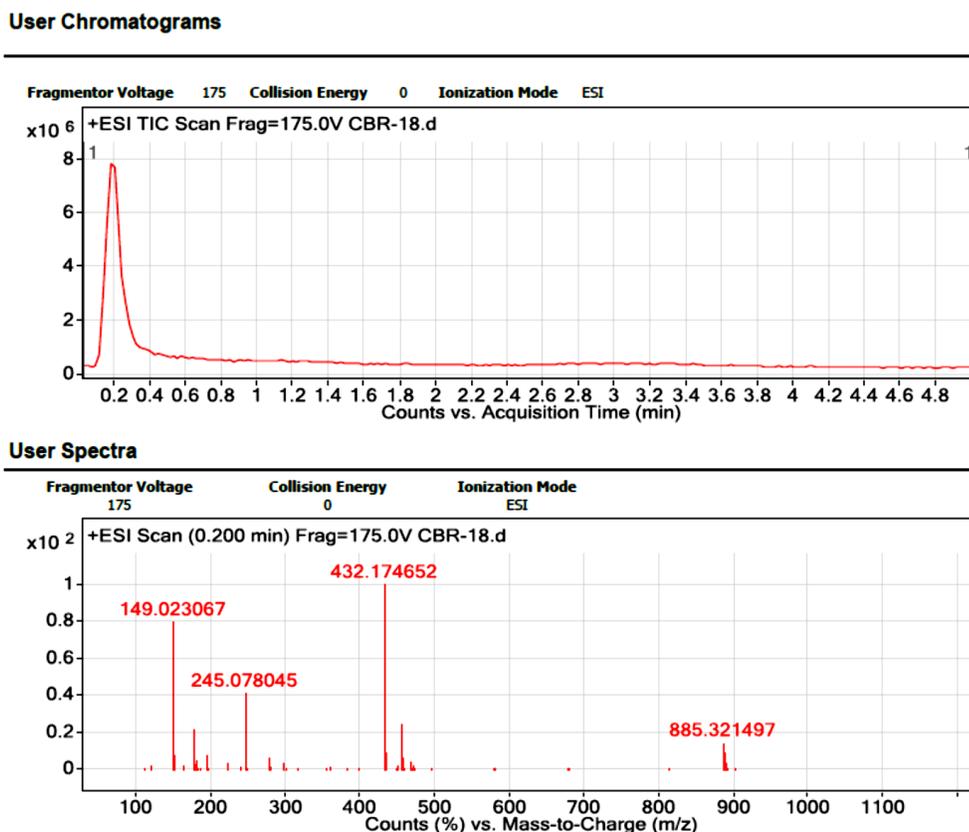
Figura 3-56. Espectro ^1H -RMN del compuesto **26a** (Tomado en CDCl_3).



El espectro ^1H -RMN del compuesto **26a** muestra en la región alifática 5 multipletes (a 1.08 (1H), 1.67 (3H), 1.79 (2H), 2.15 (2H) y 2.42 (2H) ppm) correspondientes a los 10 protones del anillo ciclohexano espirofusionado. A 3.76 ppm, aparece un singlete con integral para 2 hidrógenos, correspondiente a los protones del metileno en posición α al acilo de la lactama; un singlete a 3.89 ppm da cuenta de la señal de los 3 protones del metoxilo unido al fenilo "A" de la molécula; en la región aromática se observa un patrón de señales muy similar al precursor 2-aminopirimidínico, con un ligero desplazamiento hacia campo bajo del espectro; lo que es lógico, debido a que esta porción estructural permanece inalterada.

Figura 3-57. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **26a** (Tomado en CDCl_3).

El espectro de resonancia magnética de carbono-13 del compuesto en cuestión, muestra 6 señales en la región alifática (24.0, 24.9, 32.4, 38.5, 55.6 y 75.8 ppm) que dan cuenta de los carbonos C_2 , C_3 , C_α , C_1 , OCH_3 y C_β respectivamente; por encima de los 100 ppm hasta los 150 ppm se encuentran las señales aromáticas, de las cuales se destacan cuatro señales de mayor intensidad en 114.5, 127.5, 129.1 y 129.2 ppm asignadas a los carbonos C_{meta} del fenilo "A"; C_{orto} del mismo fenilo; y los carbonos orto y meta del fenilo "B" respectivamente. El carbono C_5 del anillo pirimidínico se observa en 109.8 ppm, mientras que los carbonos C_4 y C_6 se observan a 136.9 y 131.2 ppm respectivamente. Por último, el carbono del acilo de la lactama se asignó a la señal más desplazada a campo bajo en 172.3 ppm.

Figura 3-58. Cromatograma y espectro de masas de alta resolución del compuesto **26a**.

En el cromatograma del compuesto **26a**, se observa un único pico, a tiempo de retención de 0.2 minutos, en la zona del tiempo muerto del cromatograma; en cuanto al espectro HRMS, se observa un pico base en $m/z = 432.174652$, coincidente en un 99.9998% en comparación con la masa exacta calculada para el pico $[M+H]^+$ de la molécula ($m/z = 432.174023$), asegurando la pureza del compuesto sintetizado; esta corroboración de la pureza se realizó para todos los compuestos objetivo (Tabla 26).

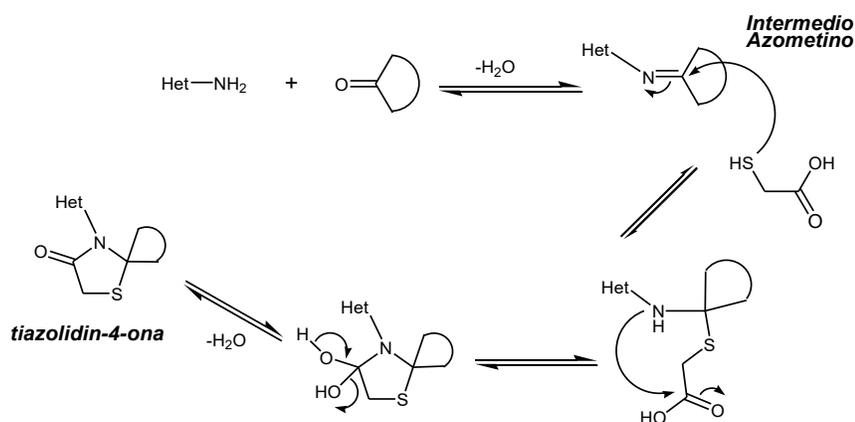
Tabla 27. Datos de $[M+H]^+$ encontrados para la serie de pirimidinil espiro tiazolidin-4-onas sintetizadas.

Compuesto	Masa de $[M+H]^+$ Calculada	Masa de $[M+H]^+$ Experimental	Desviación (%).
26a.	432.174023	432.174652	$1.45 \cdot 10^{-4}$ %
26b.	446.189674	446.189730	$1.25 \cdot 10^{-5}$ %
26c.	436.124486	436.124707	$5.07 \cdot 10^{-5}$ %
26d.	446.189674	446.190037	$8.13 \cdot 10^{-5}$ %
26e.	460.205324	460.207584	$4.91 \cdot 10^{-4}$ %
26f.	450.140137	450.139675	$1.03 \cdot 10^{-4}$ %
27.	278.132159	278.132714	$1.99 \cdot 10^{-4}$ %

▪ **Estudio del mecanismo de reacción para la formación de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.**

El mecanismo de la reacción de ciclocondensación tricomponente entre aminas, compuestos carbonílicos y ácido mercaptoacético ha sido descrito previamente en la literatura [101]; se presume que en un primer paso la amina reacciona con el compuesto carbonílico, para generar un intermedio de tipo azometino; el cual reacciona como electrófilo con el grupo tiol del ácido mercaptoacético generando un intermediario de tipo γ – aminoácido, el cual mediante un cierre de tipo *5-exo-trig* (favorecido por las reglas de Baldwin) [65], genera el compuesto tiazolidin-4-onico (Esquema 3-27).

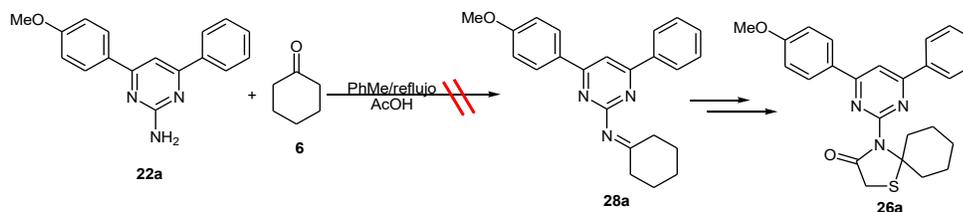
Esquema 3-27. Mecanismo de reacción planteado para la síntesis tricomponente de tiazolidin-4-onas de acuerdo con la estrategia utilizada.²⁴



Pese a que la propuesta en literatura es plausible y puede funcionar para diversos sustratos, se decidió corroborar esta propuesta mediante un experimento de control sintetizando el intermedio de tipo azometino derivado de **22a** en las mismas condiciones de la reacción tricomponente y luego haciéndolo reaccionar con MAA (de forma análoga a los experimentos de control realizados para el estudio mecanístico de la serie A); sin embargo, no se observó conversión alguna del precursor aminopirimidínico (Esquema 3-28) por lo que se puede descartar este intermedio en la ruta mecanística seguida por la reacción tricomponente.

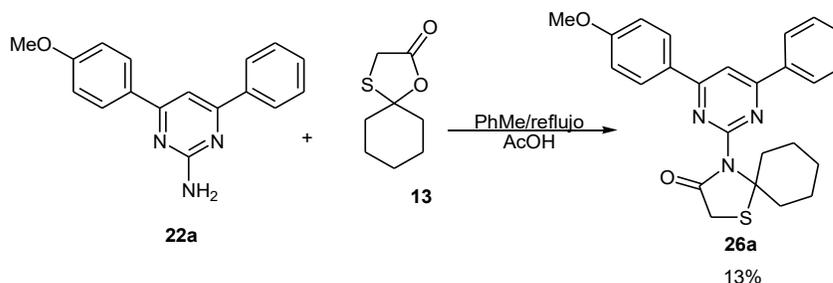
²⁴ Adaptado de la referencia [101].

Esquema 3-28. Primer experimento de control en el estudio del mecanismo de la reacción tricomponente para la síntesis de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas de interés.

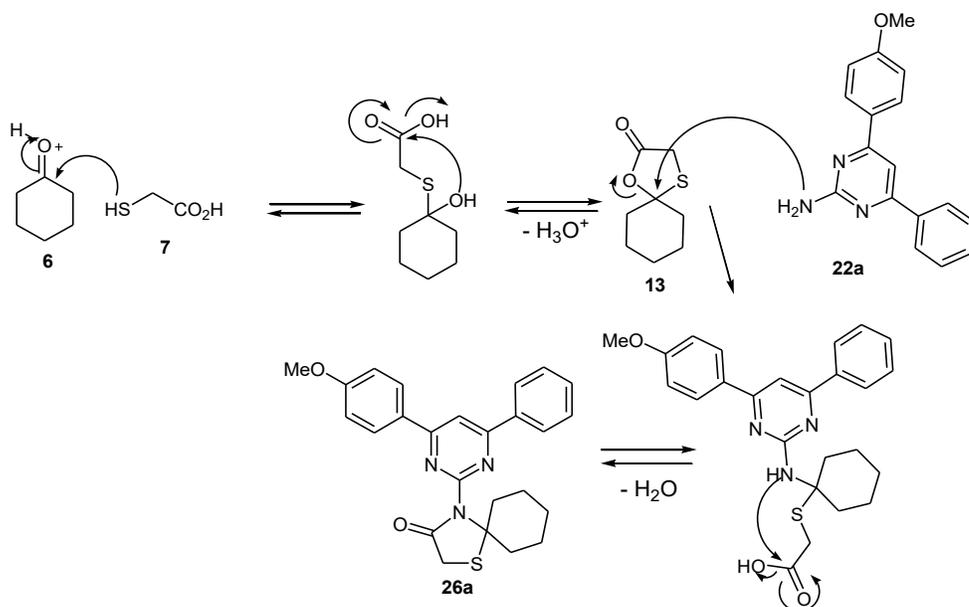


Como segundo experimento de control se hizo reaccionar el precursor **22a** con la espiro oxatiolanona **13**, buscando corroborar si este intermedio pudiera estar presente y participar en la reacción tricomponente de formación de los productos tiazolidin-4-ónicos de interés (Esquema 3-29); en este experimento se observó formación de una pequeña cantidad del producto esperado, lo que dejó abierta la posibilidad de que este intermedio participe en el mecanismo propuesto (Esquema 3-30).

Esquema 3-29. Experimento de control realizado para comprobar el segundo mecanismo de reacción propuesto en la formación de las espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.



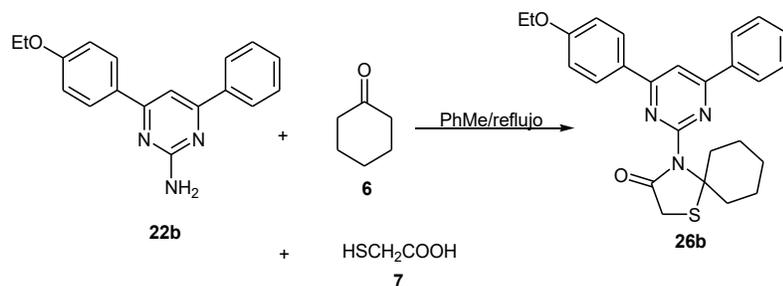
Esquema 3-30. Segundo mecanismo de reacción propuesto para la síntesis tricomponente de las espirotiazolidin-4-onas.



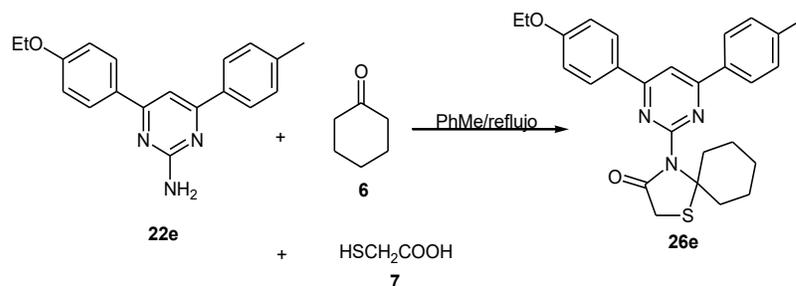
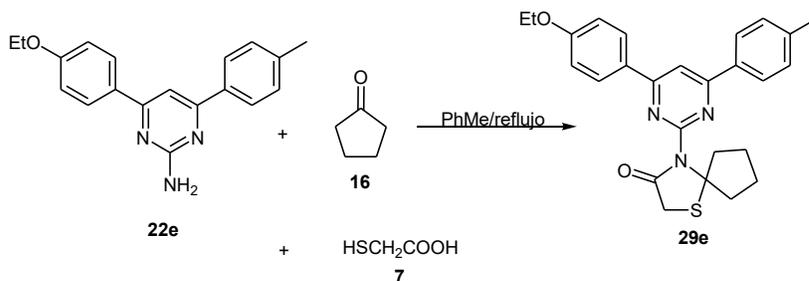
- **Síntesis de los compuestos espiro pirimidinil tiazolidin-4-onicos (Serie B) seleccionados como promisorios moduladores del receptor GABA_A de acuerdo con el cribado virtual.**

De acuerdo con el cribado virtual, se seleccionaron tres compuestos (Figura 3-14) para sintetizar (Esquemas 3-31 a 3-33) en cantidad de un gramo, para pruebas de actividad *in vivo* en el marco del proyecto global de investigación en el que se enmarca este trabajo.²⁵

Esquema 3-31. Síntesis del compuesto **26b (B-TAP2)**.

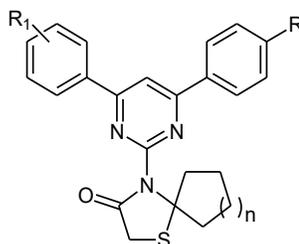


²⁵ Proyecto Minciencias "Síntesis multicomponente, cribado virtual y evaluación de la actividad tranquilizante de nuevos compuestos tiacepínicos, tiazolidínicos y quinolínicos" de la convocatoria 807 para proyectos de ciencia, tecnología e innovación en salud 2018.

Esquema 3-32. Síntesis del compuesto **26e** (B-TAP5).**Esquema 3-33.** Síntesis del compuesto **29e** (B-cpTAP5).

De manera análoga que con los compuestos seleccionados de la serie A, se realizó el estudio de escalamiento de la síntesis de forma comparativa con la metodología en cantidades de 1 mmol y de 4.5 mmoles (Tabla 27).

Tabla 28. Estudio de escalamiento de la reacción de obtención de los derivados más promisorios de la serie B de acuerdo con el cribado virtual.



Entrada	R ₁ -	R ₂ -	n	Rendimiento 1.0 mmol	Rendimiento 4.5 mmoles	Variación de rendimiento	Caída porcentual
26b.	H-	<i>p</i> -EtO-	2	53 %	45 %	-8 %	15 %
26e.	Me-	<i>p</i> -EtO-	2	67 %	55 %	-12 %	18 %
29e.	Me-	<i>p</i> -EtO-	1	57 %	40 %	-17 %	30 %

Se observó una caída del rendimiento al incrementar las cantidades de los materiales de partida; aunque esta disminución no fue tan drástica como en el caso del escalamiento

de la serie A, si se debió reajustar las cantidades para obtener las cantidades deseadas de los compuestos a emplear para los estudios posteriores a realizar. Aun así, se logró la obtención de los mismos en escala de un gramo de producto.

4. Capítulo 4: Resultados de los estudios realizados para las series C y D: Pirazolil hidroxindolinonas y 1,3,5-triarilpirazoles con potencial actividad sobre el canal NaV1.7.

En esta sección se presentarán los resultados computacionales y experimentales obtenidos para las dos series de compuestos pirazólicos (Serie C: pirazolil hidroxindolinonas y Serie D: 1,3,5-triarilpirazoles), postuladas como promisorios agentes moduladores del canal de sodio dependiente de voltaje NaV1.7.

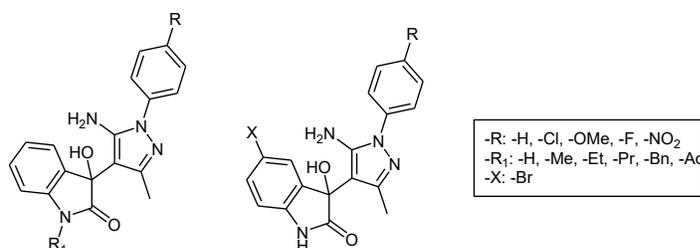
4.1 Compuestos planteados.

Los compuestos propuestos de estas dos series (Figura 2-1) tienen en común el fragmento pirazólico en su estructura; como se mencionó en la sección 1.3.1, este núcleo heterocíclico puede ser considerado un *scaffold* privilegiado en la investigación y desarrollo de nuevas entidades farmacológicamente activas. A continuación, se presentan las moléculas planteadas inicialmente para hacer el cribado virtual, selección y síntesis en aras de contribuir al conocimiento y expansión del espacio químico de nuevos compuestos promisorios en el tratamiento de patologías relacionadas con la sobre excitación celular dada por anomalías en el funcionamiento del canal de sodio de interés.

4.1.1 Compuestos planteados de la serie C.

Con base en la disponibilidad de reactivos en nuestro grupo de investigación, de la serie de pirazolil hidroxindolinonas se plantearon 35 compuestos en cada variación de sustituyentes tanto en el fenilo de la posición 1 de la porción aminopirazólica, así como de las posiciones 1 y 5 del anillo indolónico (Figura 4-1).

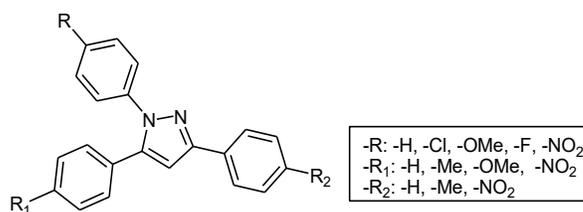
Figura 4-1. Estructuras de los compuestos planteados de la serie C para su evaluación *in silico*.



4.1.2 Compuestos planteados de la serie D.

De la serie de 1,3,5-triarilpirazoles se seleccionaron 35 compuestos en combinación de los diferentes sustituyentes sobre los tres anillos fenilo del esqueleto base de estos prototipos (Figura 4-2); esto con base en la disponibilidad de reactivos en el grupo de investigación.

Figura 4-2. Estructuras de los compuestos de la serie D planteados para su evaluación y cribado *in silico*.



4.2 Evaluación *in silico* de las propiedades ADMETox y posible interacción con el canal de sodio NaV1.7 de los compuestos de las series C y D.

De manera análoga que para los prototipos de las series A y B, para estos compuestos de las series C y D, se realizó el análisis de sus propiedades ADME usando la herramienta MedChem Designer. Esta herramienta generó el reporte de numerosas propiedades que podrían ser útiles para este pre-filtrado; siendo así, se ordenaron de menor a mayor riesgo de baja absorción y alta toxicidad, de acuerdo con el parámetro

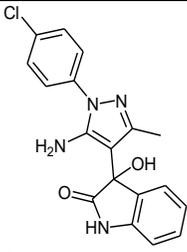
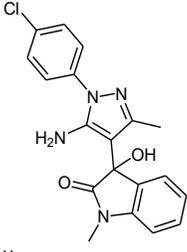
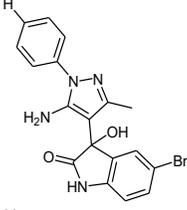
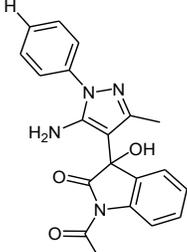
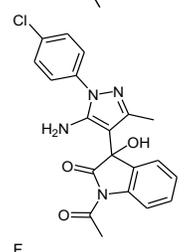
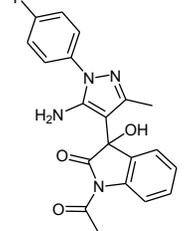
“ADMET_Risk” calculado por el programa. Una vez más, es de notar que este parámetro se calcula por suma de contribuciones de las violaciones de la regla de 5 de Lipinski, alta tasa de metabolismo por vía de los citocromos (CYP), alta toxicidad relacionada, así como contribuciones de alta unión a proteínas plasmáticas y alto volumen de distribución en estado estacionario.

En este caso, dado que la ubicación predominante del canal de sodio NaV1.7 es en las neuronas del sistema nervioso periférico, no se tomó en cuenta el parámetro de probabilidad de cruce de barrera hematoencefálica (como si se hizo para las series A y B); en lugar de este criterio de exclusión, se dio preponderancia a las propiedades predichas de toxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad, expresados una vez más como “MUT_Risk > 0.9” y riesgo de toxicidad “TOX_Risk > 2”; las moléculas que incumplieron estos parámetros no se presentarán en las tablas de resultados. Se descartaron además aquellos compuestos con toxicidad aguda en rata predicha con un valor menor a 300 mg/kg. Los resultados de propiedades toxicológicas se predijeron y corroboraron mediante la herramienta online AdmetSar 2.0.

4.2.1 Propiedades ADMETox de las moléculas propuestas de la serie C (Pirazolil hidroxindolinonas).

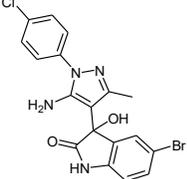
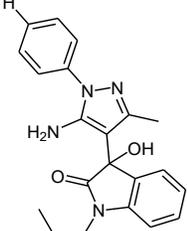
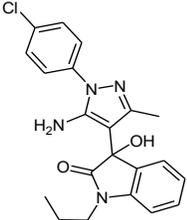
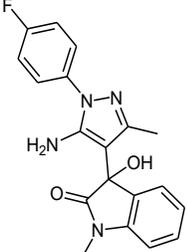
Se realizó la evaluación de los 35 prototipos moleculares propuestos inicialmente para esta serie de compuestos. A partir del pre-filtrado ADMET realizado, se descartaron 13 de los prototipos inicialmente propuestos; esto debido principalmente a las alertas de posible mutagenicidad y alta toxicidad predicha en modelo de rata. En cuanto a los descriptores de biodisponibilidad, no se observaron en general un gran número de violaciones a los parámetros de Lipinski. Los compuestos con mejores perfiles de biodisponibilidad y toxicidad se presentan a continuación en la tabla 28, junto con sus descriptores más relevantes para este proceso de preselección.

Tabla 29. Compuestos seleccionados mediante filtrado ADMETox de la serie C.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	Mut_Risk	Tox aguda rata (mg/kg)
1		1,673	1	0.9	726.691
2		1,764	1	0.9	646.686
3		1.768	1	0.9	482.904
4		2	1	0.3	560.624
5		2	1	0.3	553.591
6		2.261	2	0.6	463.077

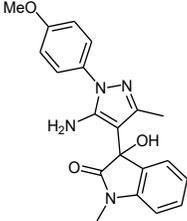
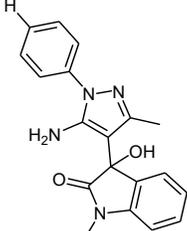
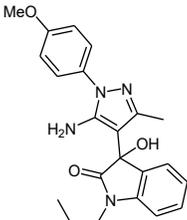
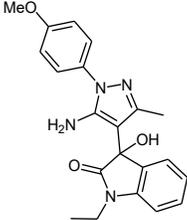
Continúa en la siguiente página.

Tabla 28. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	Mut_Risk	Tox aguda rata (mg/kg)
7		2.361	1	0.9	610.781
8		2.410	1.534	0.9	700.488
9		2.417	1	0.3	584.699
10		2.523	1	0.3	570.492
11		2.565	1	0.9	383.810
12		2.681	1	0.9	354.223

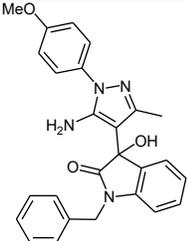
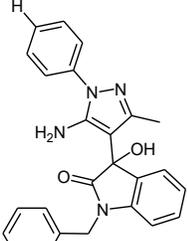
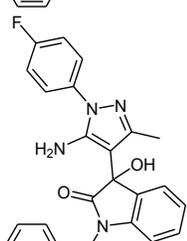
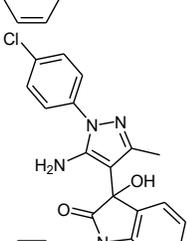
Continúa en la siguiente página.

Tabla 28. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	Mut_Risk	Tox aguda rata (mg/kg)
13		2.763	1.28	0.9	478.202
14		2.798	1.587	0.3	634.164
15		2.955	1	0.9	432.099
16		3.000	1	0.9	441.778
17		3.000	1	0.9	364.796
18		3.080	1.095	0.3	599.770

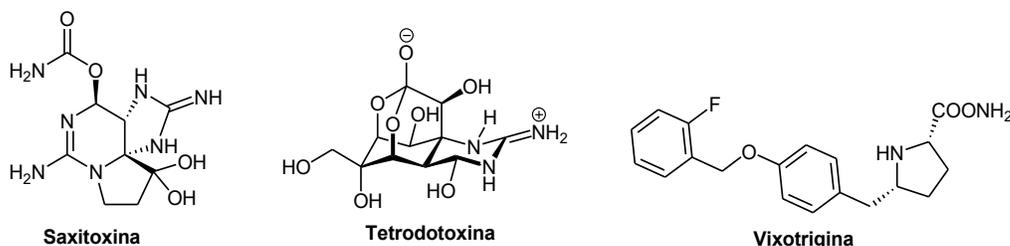
Continúa en la siguiente página.

Tabla 28. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	Mut_Risk	Tox aguda rata (mg/kg)
19		5.099	1	0.3	388.650
20		5.260	1.154	0.3	538.211
21		5.980	1	0.3	321.612
22		6.933	2	0.3	437.847

4.3 Acoplamiento molecular de las moléculas de referencia: Saxitoxina, tetrodotoxina y vixotrigina.

Se realizó la optimización geométrica de las estructuras de las moléculas de referencia (Figura 4-3) y posteriormente el acoplamiento molecular con el receptor NaV1.7 (Código PDB: 6J8G), mediante el uso de los tres programas descritos en la sección de metodología. Se evaluó la interacción de estas moléculas en el poro del canal iónico.

Figura 4-3. Estructura de las moléculas de referencia usadas en el acoplamiento molecular con el canal iónico NaV1.7.

Dichos resultados fueron tabulados (Tabla 29) y las estructuras de los complejos receptor – ligando se visualizaron para su evaluación cualitativa (Figura 4-4 y 4-5 A y B) y sirvieron como comparación para el proceso de selección de los prototipos más promisorios de las series C y D.

Tabla 30. Valores de *scores* obtenidos para las moléculas de referencia en el *docking* con 6J8G.

Molécula	Score ADT	S.N. ADT	Score VINA	S.N. VINA	Score DOCK6	S.N. DOCK6	Score medio
Saxitoxina	-8.02	0.71	-7.2	0.60	-49.075	0.94	0.83
Tetrodotoxina	-10.06	1.53	-7.8	0.40	-52.002	1.20	1.57
Vixotrigina	-9.36	1.25	-8.0	0.53	-53.250	1.31	1.55

S.N. ADT: Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock 4. **S.N. Vina:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock Vina. **S.N. DOCK6:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software DOCK6.

Figura 4-4. Interacciones de la **A.** Saxitoxina y **B.** Tetrodotoxina con el poro del canal de sodio NaV1.7 halladas mediante acoplamiento molecular.

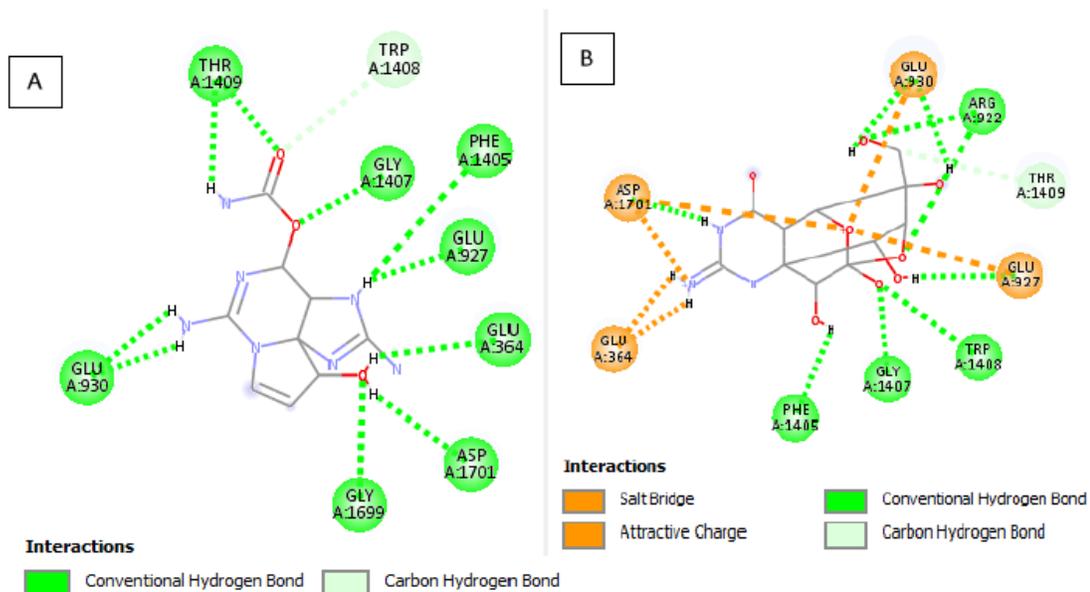
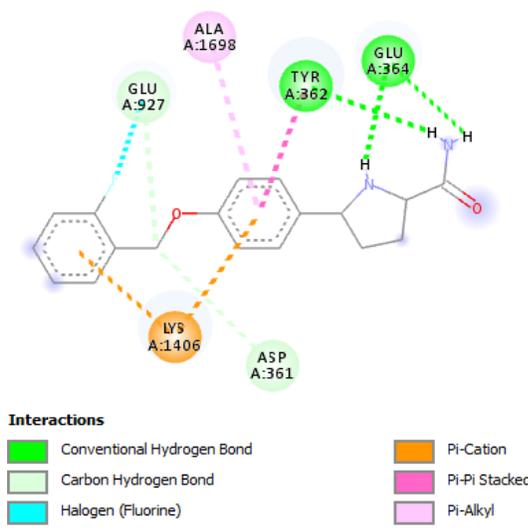


Figura 4-5. Interacciones de la vixotrigina con el poro del canal de sodio NaV1.7 halladas mediante acoplamiento molecular.



Se resumen las interacciones halladas con cada uno de los programas usados para el acoplamiento molecular de los compuestos de referencia en las tablas 30 a 32.

Tabla 31. Interacciones de las moléculas de referencia con algunos residuos del poro del canal iónico NaV1.7 halladas con el software AutoDock4.

Código	Thr 1409	Gly 1407	Phe 1405	Trp 1408	Glu 927	Glu 930	Glu 364	Asp 1701	Lys 1406	Tyr 362
Saxitoxina	XX	X	X	X	X	XX	X	X		
Tetrodotoxina		X	X	X	X	XXX	XX	XXX		
Vixotrigina					XX		XX		XX	XX

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-catión, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Tabla 32. Interacciones de las moléculas de referencia con algunos residuos del poro del canal iónico NaV1.7 halladas con el software AutoDock Vina.

Código	Thr 1409	Gly 1407	Phe 1405	Trp 1408	Glu 927	Glu 930	Glu 364	Asp 1701	Lys 1406	Tyr 362
Saxitoxina		X			X		XX		X	
Tetrodotoxina	XX	XX	X	XX	XX	XX	X	X		X
Vixotrigina		X	X		X				X	

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-catión, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Tabla 33. Interacciones de las moléculas de referencia con algunos residuos del poro del canal iónico NaV1.7 halladas con el software Dock6.

Código	Thr 1409	Gly 1407	Phe 1405	Trp 1408	Glu 927	Glu 930	Glu 364	Asp 1701	Lys 1406	Tyr 362
Saxitoxina	X				XX	XX	X		X	
Tetrodotoxina	X	X	X	X	X	X		X		X
Vixotrigina		X	X							X

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-catión, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Se observa que en los compuestos de referencia predominan las interacciones de tipo polar, especialmente de tipo iónico y puente de hidrógeno; esto dada la alta cantidad de grupos polares que tienen los compuestos de referencia, así como los aminoácidos que conforman el poro del canal de sodio de estudio; el cual, presenta una gran abundancia de residuos de tipo ácido, como son el Glu-927, Glu-930, Glu-364, Asp-1701; de tipo básico como es la Lys-1406 y algunos aminoácidos neutros polares como Thr-1409, neutros apolares (Gly-1407) y neutros aromáticos (Phe-1405, Trp-1408 y Tyr-362).

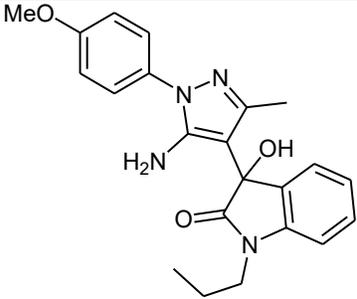
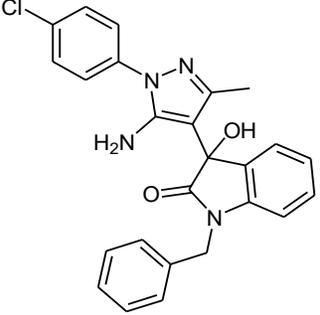
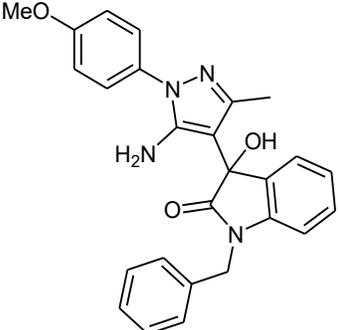
Estos aminoácidos y sus interacciones con las moléculas propuestas de las series C y D fueron evaluados, en aras de establecer posible afinidad y actividad moduladora sobre el receptor estudiado.

4.3.1 Acoplamiento molecular de los compuestos de la serie C (Pirazolil hidroxindolinonas) con el canal de sodio NaV1.7.

Se realizó la optimización geométrica y posteriormente los acoplamientos moleculares de las moléculas de la serie C, que no fueron descartadas mediante el pre-filtrado por propiedades ADMETox. Mediante el uso de los tres programas descritos en la sección de metodología. Se evaluó la interacción de estos prototipos en el poro del canal de sodio dependiente de voltaje NaV1.7. cuya estructura cristalográfica con código 6J8G fue obtenida del PDB.

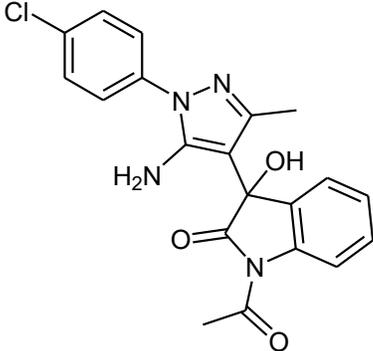
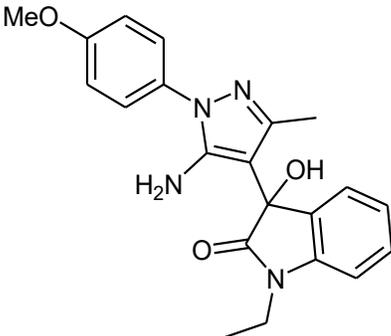
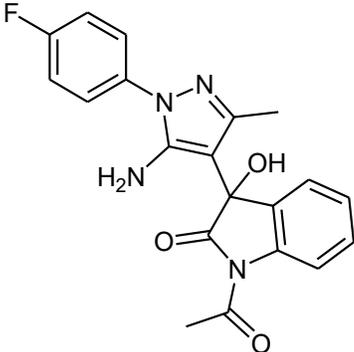
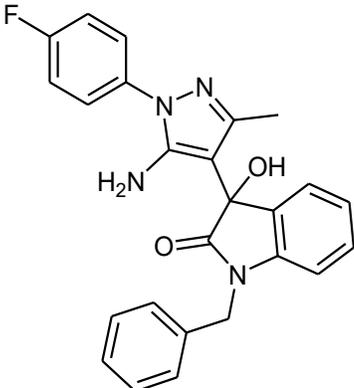
Dichos resultados fueron normalizados y comparados cuantitativamente mediante la ecuación de consenso descrita previamente. Mediante esta evaluación se observó que en la lista de los diez mejores compuestos predominan aquellos con sustituyentes metoxilo y cloro en la posición *para* del fenilo sustituyente de la posición 1 de la porción pirazólica (Tabla 33).

Tabla 34. Consenso de puntuación normalizada de los diez mejores compuestos de la serie C en la evaluación mediante acoplamiento molecular.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
1.		0.64	0.53	0.60	0.59
2.		0.54	0.60	0.56	0.57
3.		0.41	0.53	0.75	0.57

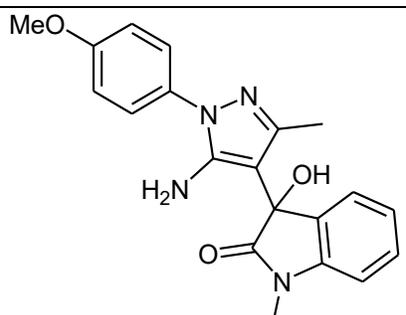
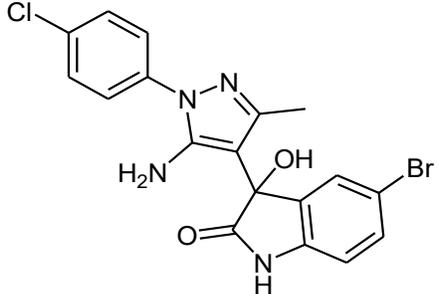
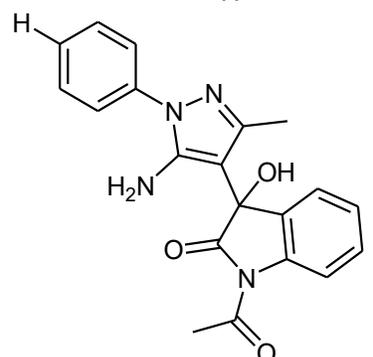
Continúa en la siguiente página.

Tabla 33. Continuación.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
4.		0.47	067	0.45	0.53
5.		0.53	0.47	0.57	0.52
6.		0.37	0.73	0.36	0.49
7.		0.43	0.60	0.43	0.48

Continúa en la siguiente página.

Tabla 33. Continuación.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
8.		0.32	0.60	0.51	0.48
9.		0.55	0.40	0.30	0.42
10.		0.47	0.60	0.15	0.41

S.N. ADT: Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock 4. **S.N. Vina:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock Vina. **S.N. DOCK6:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software DOCK6.

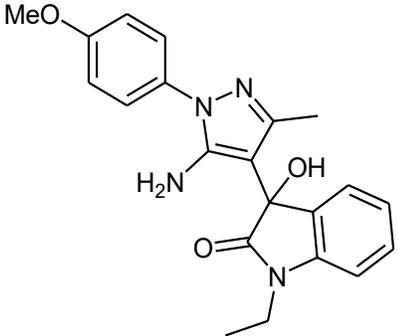
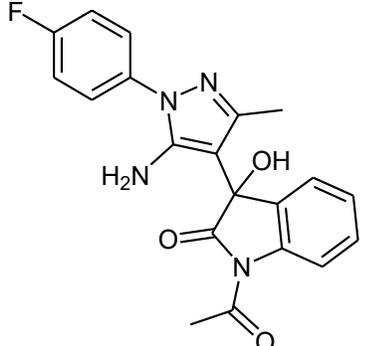
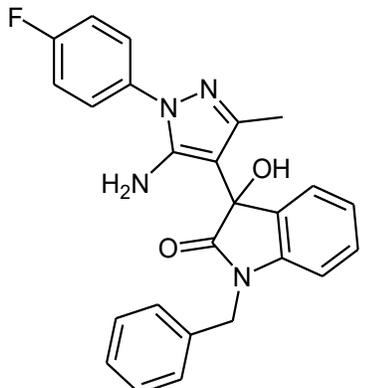
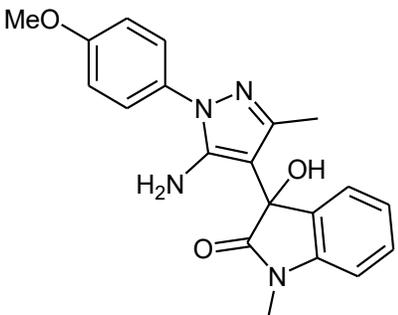
De acuerdo con los acoplamientos realizados, se observaron interacciones con los residuos comunes a las moléculas de referencia como se muestra en la tabla 34.

Tabla 35. Interacciones observadas en los acoplamientos moleculares realizados de los 10 mejores prototipos de la serie C con el canal iónico NaV1.7.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
1.		Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Gly-1407 Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Phe-1405 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362
2.		Thr-1409 Glu-927 Glu-930 Glu-364 Lys-1406	Glu-927 Glu-930 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Thr-1409 Gly-1407 Phe-1405 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362
3.		Thr-1409 Gly-1407 Trp-1408 Glu-927 Glu-930 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406	Glu-927 Glu-930 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Phe-1405 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362
4.		Gly-1407 Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Gly-1407 Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Thr-1409 Gly-1407 Phe-1405 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362

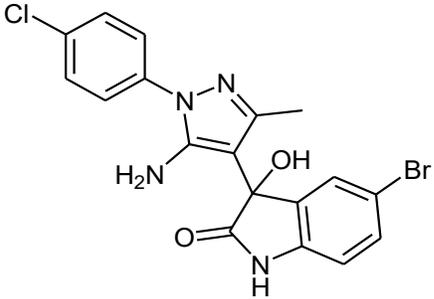
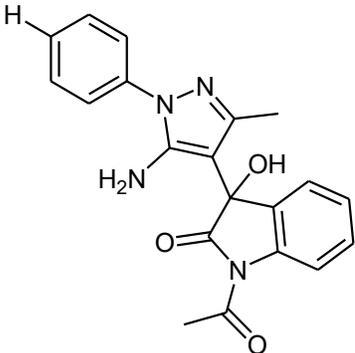
Continúa en la siguiente página.

Tabla 34. Continuación.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
5.		Glu-927 Glu-930 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406	Gly-1407 Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Phe-1405 Glu-927 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362
6.		Thr-1409 Gly-1407 Phe-1405 Trp-1408 Glu-927 Lys-1406 Tyr-362	Gly-1407 Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Gly-1407 Phe-1405 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362
7.		Thr-1409 Gly-1407 Phe-1405 Trp-1408 Glu-927 Asp-1701 Lys-1406	Glu-927 Glu-930 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Gly-1407 Phe-1405 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362
8.		Gly-1407 Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Gly-1407 Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Gly-1407 Phe-1405 Glu-927 Glu-930 Tyr-362

Continúa en la siguiente página.

Tabla 34. Continuación.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
9.		<p>Thr-1409 Gly-1407 Phe-1405 Trp-1408 Glu-927 Lys-1406 Tyr-362</p>	<p>Gly-1407 Glu-930 Glu-364 Lys-1406 Tyr-362</p>	<p>Phe-1405 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362</p>
10.		<p>Thr-1409 Gly-1407 Phe-1405 Trp-1408 Glu-927 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362</p>	<p>Gly-1407 Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362</p>	<p>Phe-1405 Glu-930 Lys-1406 Tyr-362</p>

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-cación, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Dada esta lista ordenada y de forma análoga a como se realizó la selección de los compuestos más promisorios a sintetizar de las anteriores series; se seleccionaron los compuestos con mayor puntaje de consenso y con interacciones coincidentes con los fármacos de referencia (Figuras 4-6, 4-7 y 4-8); las estructuras con sus respectivos códigos se presentan en la figura 4-9.

Figura 4-6. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto C-A6c (Entrada 1 de la tabla 34).

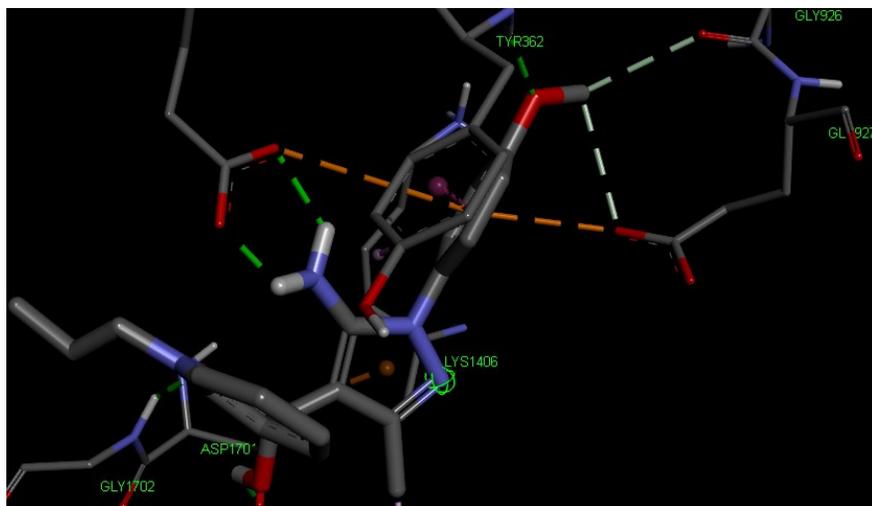


Figura 4-7. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto C-A1e (Entrada 2 de la tabla 34).

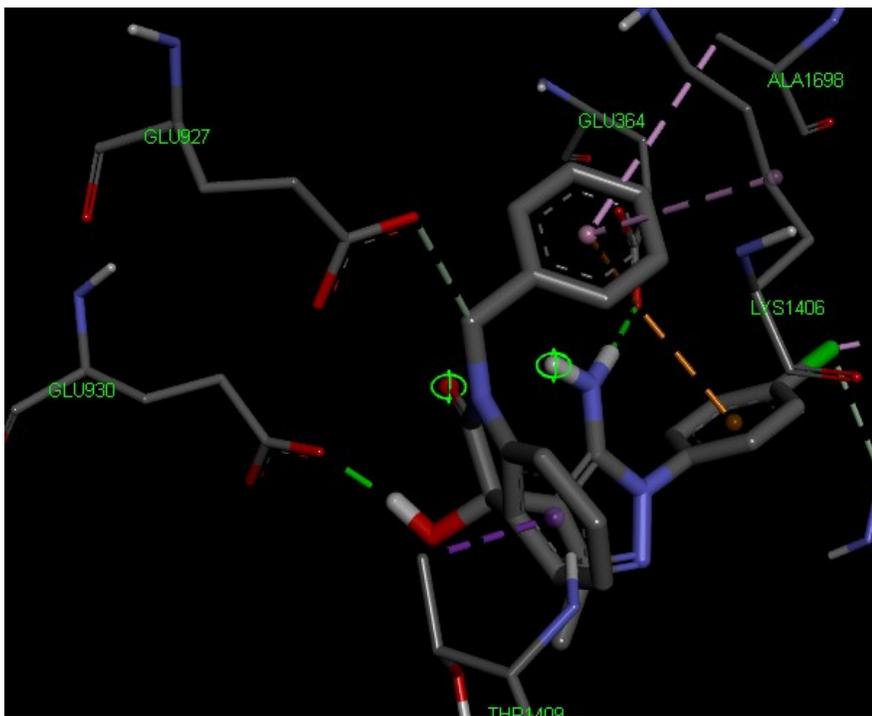


Figura 4-8. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto C-A6e (Entrada 3 de la tabla 34).

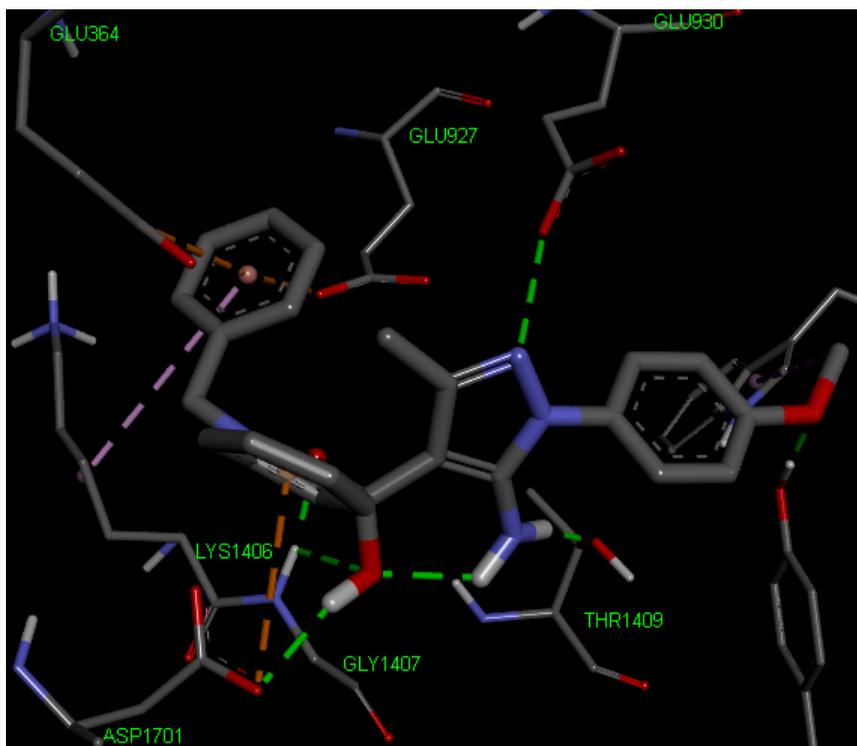
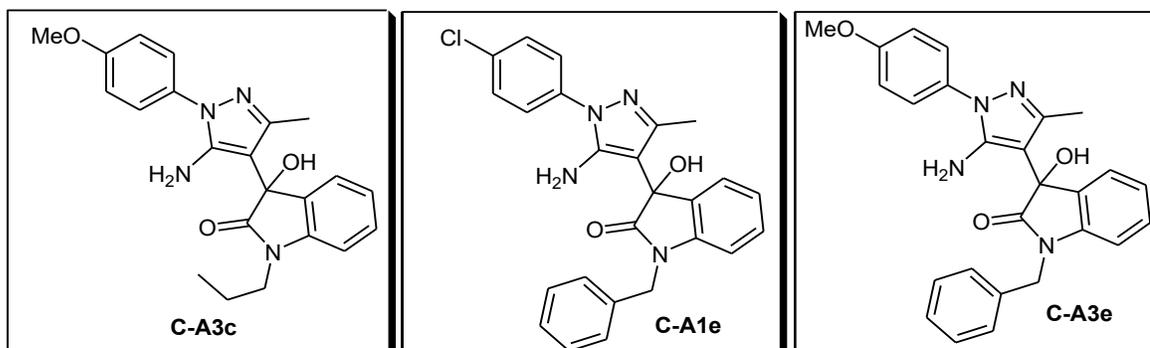


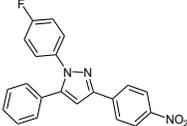
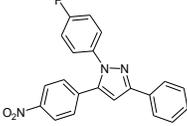
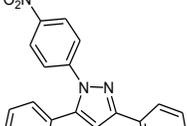
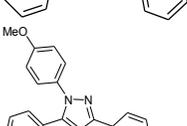
Figura 4-9. Compuestos de la serie C (pirazolil hidroxindolinonas) seleccionados como promisorios moduladores del canal NaV1.7, de acuerdo con el cribado computacional realizado.



4.3.2 Propiedades ADMETox de las moléculas propuestas de la serie D (1,3,5-triarilpirazoles).

Se realizó la evaluación de los 35 prototipos moleculares inicialmente planteados para esta serie de compuestos. Con base en este pre-filtrado ADMETox realizado, se descartaron 17 de los prototipos inicialmente propuestos; esto debido principalmente a las alertas de posible mutagenicidad y alta toxicidad predicha en modelo de rata. En cuanto a los descriptores de biodisponibilidad, en el caso de esta serie y a diferencia de la serie C, se observó en general varias violaciones a los parámetros de Lipinski; sin embargo, este parámetro dado el uso general que se le da a nivel predictivo para absorción por vía oral; se tuvo en menor cuenta, sabiendo previamente que la forma de administración de compuestos como los planteados en esta serie podrían ser administrados diseñando una forma tópica (común y con posible utilidad para tratamientos de neuropatía dolorosa o mialgias localizadas). Los compuestos con mejores perfiles de biodisponibilidad y toxicidad se presentan a continuación en la tabla 35, junto con sus descriptores más relevantes para este proceso de preselección.

Tabla 36. Compuestos seleccionados mediante filtrado ADMETox de la serie D.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	Mut_Risk	Tox aguda rata (mg/kg)
1		4.414	1	0.9	1141.367
2		4.175	1	0.9	1164.269
3		4.079	1	0.9	1911.329
4		5.377	1	0.3	3311.861

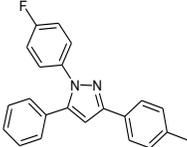
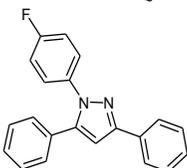
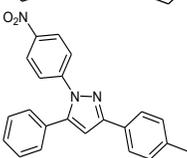
Continúa en la página siguiente.

Tabla 35. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	Mut_Risk	Tox aguda rata (mg/kg)
5		4.159	1	0.9	1763.455
6		4.000	2	0.6	1741.378
7		5.544	1.067	0.3	2479.452
8		5.306	1.124	0.3	2639.895
9		5.539	1.137	0	2776.199
10		5.182	1.147	0	1769.110
11		5.060	1.147	0	2460.616
12		5.893	1.156	0	2664.772
13		5.222	1.176	0	1846.297
14		5.573	1.226	0	2051.467
15		4.513	1.270	0	1680.586

Continúa en la siguiente página.

Tabla 35. Continuación.

No.	Estructura	ADMET_Risk	TOX_Risk	Mut_Risk	Tox aguda rata (mg/kg)
16		6.008	1.584	0	1236.916
17		5.449	1.731	0	1186.855
18		5.698	2	0.9	1791.968

4.3.3 Acoplamiento molecular de los compuestos de la serie D (1,3,5-triarilpirazoles).

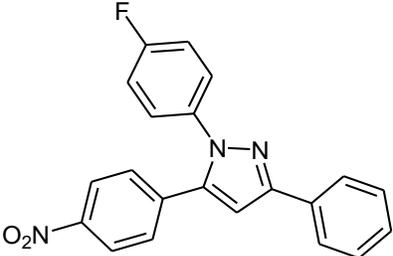
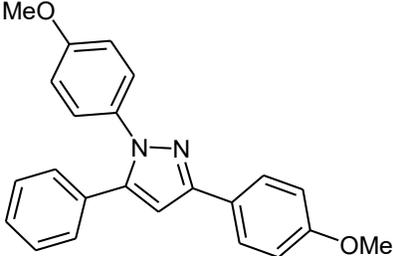
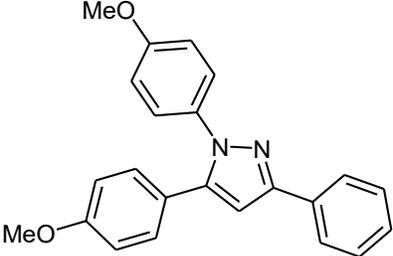
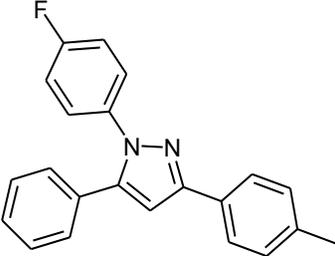
Al igual que con los prototipos de las series anteriores, se realizó la optimización geométrica, seguida de los acoplamientos moleculares de las moléculas de esta serie de pirimidinil tiazolidinonas, que no fueron descartadas mediante el pre-filtrado por propiedades ADMETox. Mediante el uso de los tres programas descritos en la sección de metodología. Se evaluó la interacción de estos prototipos en el poro del canal iónico NaV1.7. De igual forma, los resultados fueron normalizados y comparados cuantitativamente mediante la ecuación de consenso descrita previamente (Tabla 36).

Tabla 37. Consenso de puntuación normalizada de los diez mejores compuestos de la serie D en la evaluación mediante acoplamiento molecular.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
1.		0.33	0.85	0.80	0.66
2.		0.33	0.62	0.81	0.58
3.		0.72	0.62	0.22	0.52
4.		0.45	0.38	0.71	0.52
5.		0.69	0.46	0.34	0.50
6.		0.27	0.46	0.76	0.50

Continúa en la siguiente página.

Tabla 36. Continuación.

Número	Estructura	S.N. ADT	S.N. VINA	S.N. DOCK6	Score medio.
7.		0.37	0.85	0.26	0.49
8.		0.23	0.31	0.93	0.49
9.		0.33	0.38	0.67	0.46
10.		0.39	0.46	0.23	0.36

S.N. ADT: Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock 4. **S.N. Vina:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software AutoDock Vina. **S.N. DOCK6:** Puntuación normalizada obtenida mediante el software DOCK6.

De acuerdo con los acoplamientos realizados, se observaron interacciones con los residuos comunes a las moléculas de referencia como se muestra en la tabla 37.

Tabla 38. Interacciones observadas en los acoplamientos moleculares realizados de los 10 mejores prototipos de la serie D con el canal iónico NaV1.7.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
1.		Thr-1409 Glu-927 Asp-1701 Lys-1406	Glu-927 Glu-364 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Lys-1406 Tyr-362
2.		Glu-927 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Asp-1701	Glu-927 Glu-364 Lys-1406 Tyr-362
3.		Glu-927 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406
4.		Gly-1407 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Lys-1406 Tyr-362
5.		Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-930 Glu-364 Asp-1701 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406
6.		Gly-1407 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Tyr-362	Glu-927 Lys-1406 Tyr-362

Continúa en la siguiente página.

Tabla 37. Continuación.

Número	Estructura	Interacciones ADT	Interacciones VINA	Interacciones DOCK6
7.		Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406
8.		Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Asp-1701 Tyr-362	Glu-927 Lys-1406 Tyr-362
9.		Glu-930 Glu-364 Asp-1701 Lys-1406 Tyr-362	Glu-927 Glu-930 Glu-364 Lys-1406 Tyr-362	Glu-364 Asp-1701
10.		Glu-927 Lys-1406 Tyr-362	Glu-364 Asp-1701 Tyr-362	Lys-1406 Tyr-362

X = Interacciones de tipo dispersivo (Alquilo – alquilo ó pi – alquilo). X = Interacciones de tipo apilamiento pi. X = Interacciones de puente de hidrógeno. X = Interacciones iónicas (pi-anión, pi-catión, catión – anión). X = Interacciones pi – sulfuro. X = Interacciones repulsivas.

Con base en esta lista ordenada y de forma análoga a como se realizó la selección de los compuestos más promisorios a sintetizar de las anteriores series; se seleccionaron los compuestos con mayor puntaje de consenso y con interacciones coincidentes con los fármacos de referencia (Figuras 4-10 a 4-12); las estructuras con sus respectivos códigos se presentan en la figura 4-13.

Figura 4-10. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto D-PFHNO2 (Entrada 1 de la tabla 37).

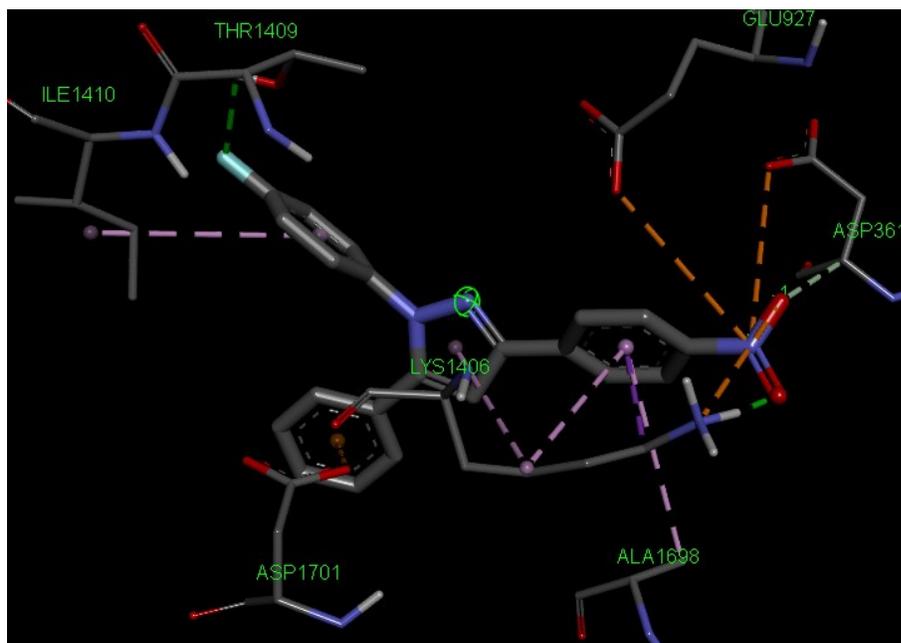


Figura 4-11. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto D-PH2NO (Entrada 2 de la tabla 37).

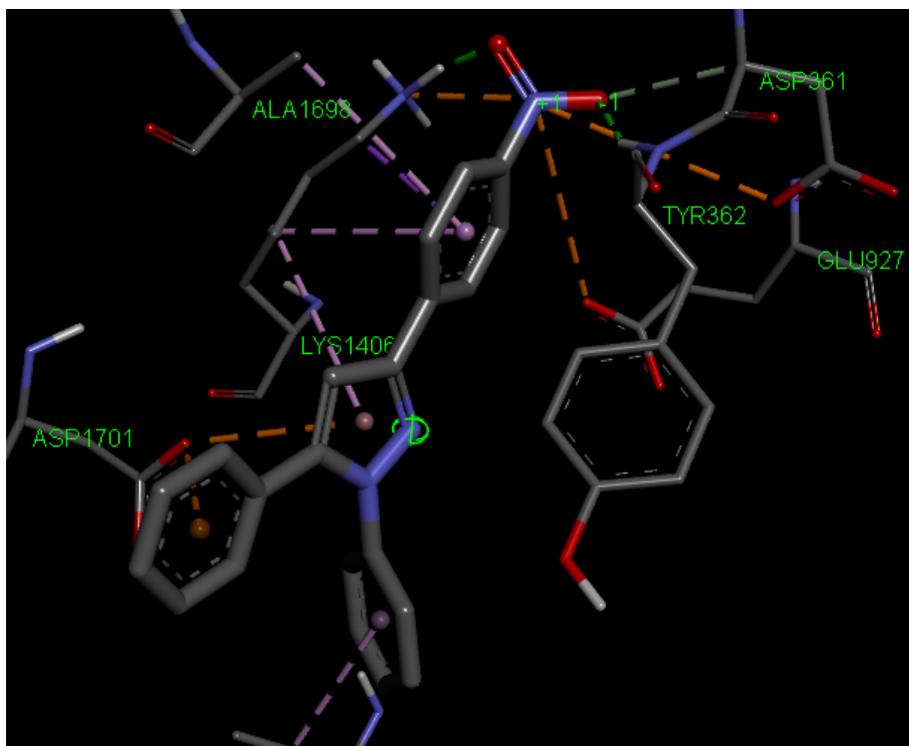


Figura 4-12. Interacciones halladas del canal iónico NaV1.7 con el compuesto D-PHNO2H (Entrada 3 de la tabla 37).

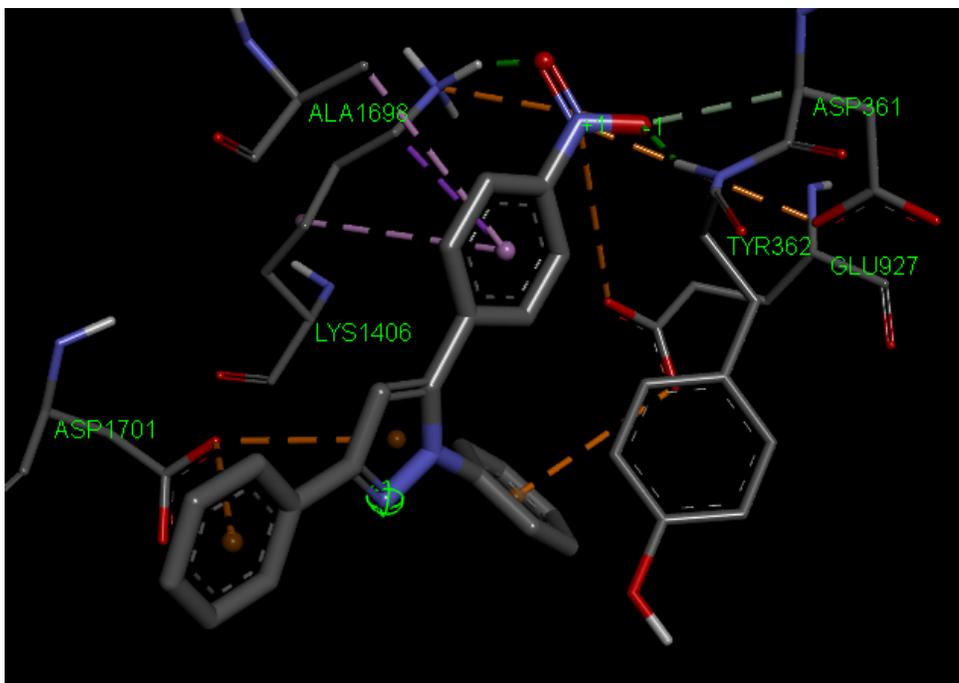
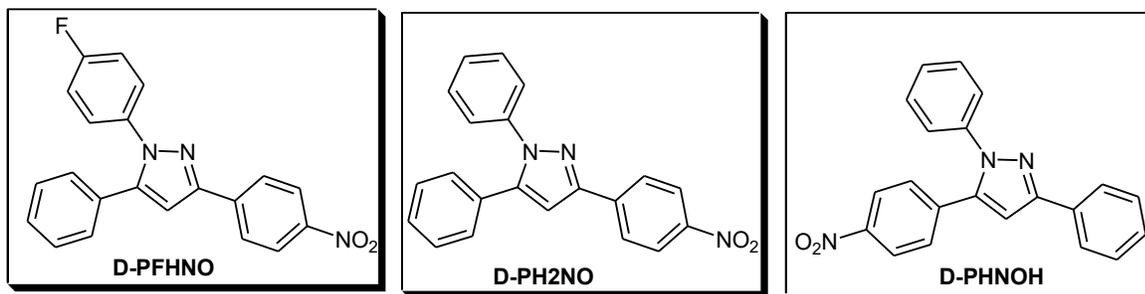


Figura 4-13. Compuestos de la serie D (1,3,5-triarilpirazoles) seleccionados como promisorios moduladores del canal NaV1.7, de acuerdo con el cribado computacional realizado.



4.4 Exploración sintética para la obtención de los compuestos seleccionados de las series C y D.

De forma análoga que en la sección 3.3, se expondrá la síntesis, experimentos de control y caracterización espectroscópica de los compuestos seleccionados mediante el cribado virtual. Inicialmente se dio pie a algunos ensayos de optimización de las condiciones de reacción, tiempos y demás variables del proceso de síntesis; una vez optimizados se procedió al escalamiento de las reacciones y obtención de un gramo de los compuestos objetivo.

4.4.1 Síntesis de los compuestos de la serie C: Pirazolil hidroxindolinonas.

Dados los resultados obtenidos en los estudios mecanísticos desarrollados en la reacción de obtención de heterociclos de siete miembros (Sección 3.3.1), se evidenció una marcada tendencia a la reactividad diferencial entre el grupo amino y el carbono 4 de los compuestos 5-aminopirazólicos con carbonilos secundarios de tipo cetónico, siendo la posición 4 del anillo, un nucleófilo más reactivo con este tipo de sustratos. Es por esta razón que se decidió seguir una ruta de síntesis como la expuesta en la metodología (Sección 2.5.3, Esquema 2-5).

Es de notar que con cetonas que contienen hidrógenos en posición α (como la ciclohexanona o ciclopentanona), la reacción suele proceder con deshidratación del carbinol terciario formado por adición del pirazol sobre el grupo carbonilo; sin embargo, dada la naturaleza no enolizable de la isatina y sus derivados *N*-alquílicos, se pueden obtener los compuestos hidroxilados de forma sencilla dada la estabilidad de estos.

▪ Síntesis de los precursores 5-aminopirazolicos.

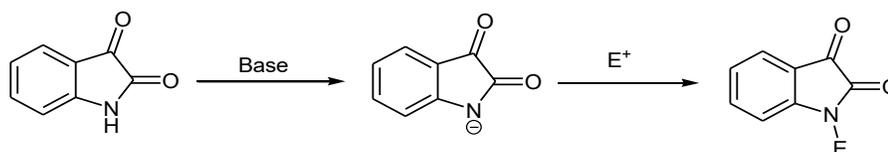
La síntesis de estos precursores se realizó de acuerdo con lo expuesto en la sección 3.3.1.

▪ Síntesis de los precursores *N*-alquil indol-2,3-diónicos.

De acuerdo con lo expuesto en la sección 2.5.3, se realizó la derivatización de la posición 1 del anillo indólico de la isatina mediante una reacción S_N2 ; activando la nucleofilia de

este nitrógeno de tipo lactámico mediante conversión en su forma aniónica (Esquema 4-1).

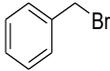
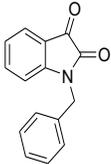
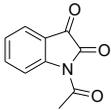
Esquema 4-1. Reacción de activación de la nucleofilia de la posición 1 de la isatina.



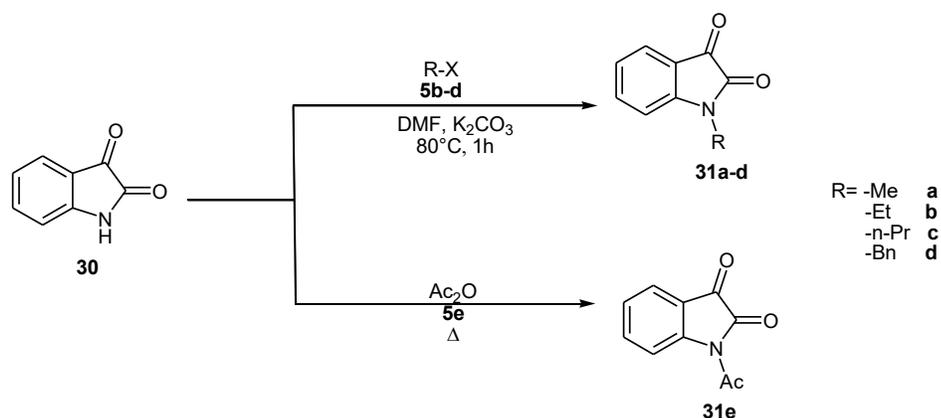
Con base en lo anteriormente expuesto, se procedió a realizar la reacción de alquilación con varios agentes alquilantes (Tabla 38), en aras de aumentar la diversidad estructural de los compuestos a obtener; siendo así, se realizó la reacción usando carbonato de potasio como base y haluros de alquilo como sustratos electrofílicos, adicionalmente se realizaron ensayos de acilación mediante un proceso de tipo sustitución acil-nucleofílica sin asistencia de base utilizando anhídrido acético (Esquema 4-2).

Tabla 39. Rendimientos de la reacción de sustitución del nitrógeno lactámico de la isatina.

Entrada	Agente alquilante o acilante	Producto	Rendimiento
1.			51 %
2.			89 %
2.			59 %
3.			92 %

Entrada	Agente alquilante o acilante	Producto	Rendimiento
4.			65 %
5.			91 %

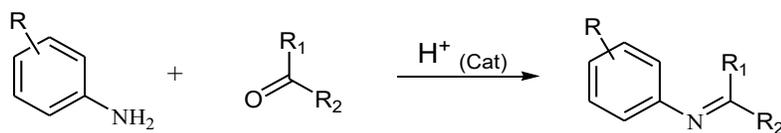
Esquema 4-2. Ensayos de alquilación y acilación de la posición 1 de la isatina.



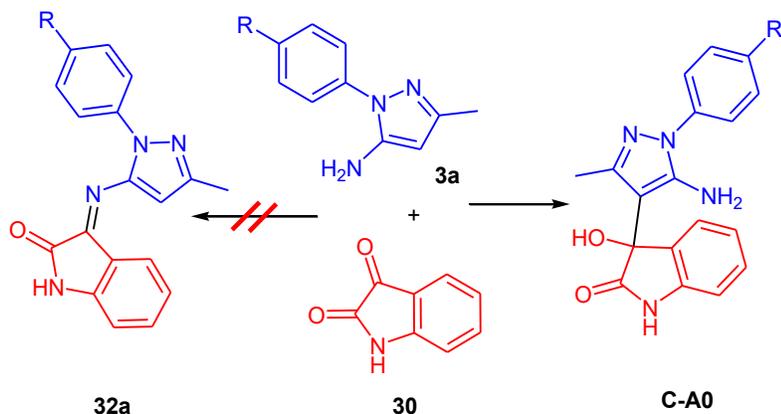
▪ **Síntesis de los derivados pirazolil hidroxindolinónicos.**

Con el aminopirazol **3a** y la isatina (sin sustitución en la posición 1), se inició el estudio exploratorio de síntesis de estos compuestos; en primera medida y dada la posibilidad latente de reacción del grupo amino con el carbonilo isatínico, en un proceso de adición nucleofílica para la formación de la base de Schiff [65] (Esquema 4-3), se corroboró la regioselectividad de la reacción mediante la ejecución de experimentos publicados previamente [149] [150] (Esquema 4-4), así como otras condiciones de reacción (Tabla 39), en aras de obtener el producto deseado con mejores rendimientos que los logrados previamente.

Esquema 4-3. Reacción típica de adición nucleofílica para la formación de bases de Schiff.



Esquema 4-4. Reacción observada entre el aminopirazol **3a** y la isatina (**30**).



El primer ensayo de síntesis consistió en una metodología usando calentamiento convencional como se planteó en la referencia [149], haciendo reaccionar **3a** e isatina (**30**) (Esquema 4-4) en acetonitrilo, para obtener el producto deseado. La reacción fue catalizada con ácido *p*-toluensulfónico (30 % molar) y el producto fue obtenido con un 63% de rendimiento. Otras condiciones de reacción fueron intentadas intentando mejorar este rendimiento. Mediante estos experimentos se determinó que el máximo rendimiento se logra usando yodo (1%) como catalizador y etanol como disolvente a 40°C (Tabla 39).

Tabla 40. Ensayos de optimización de las condiciones de reacción y validación de la regioquímica de la misma.

Entrada	Catalizador	% molar	Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento.
1 [149]	p-TsOH	30%	MeCN	80	2	63 %*
2 [150]	I ₂	1 %	EtOH	25	2	55 %*
3	-	-	EtOH	25	2	50 %
4	AcOH	10 %	MeOH:H ₂ O ^a	25	24	58 %
5	p-TsOH	10 %	EtOH	25	12	23 %
6	I ₂	1 %	EtOH	40	2	88 %
7	-	-	MeOH:H ₂ O ^a	25	24	10 %

*Rendimiento no reportado por los autores para este compuesto. ^a Proporción (1:1). En negrita las condiciones óptimas para la obtención de **C-A0**.

Además de esta corroboración de la regioquímica de la reacción y optimización de algunas condiciones de síntesis del compuesto **C-A0**, se estudió el efecto de la polaridad del disolvente (expresada en términos de su constante dieléctrica) en la velocidad de la reacción y en el rendimiento de esta (Tabla 40).

Tabla 41. Estudio del efecto de la polaridad del disolvente en el tiempo y rendimiento de la reacción de síntesis de **C-A0**.

Entrada	Solvente	Constante dieléctrica (ε)[ref]	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento
1	H ₂ O	80.0 [151]	25	36	N.R.
2	H ₂ O	73.2 [151]	40	36	N.R.
3	DMSO	43.5 [152]	25	11	41
4	DMSO	44.9 [152]	40	7	63
5	MeCN	35.9 [153]	25	5	50

Continúa en la siguiente página.

Tabla 40. Continuación.

Entrada	Solvente	Constante dieléctrica (ϵ)[ref]	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento
6	MeCN	33.7 [153]	40	3	77
7	MeOH	32.7 [151]	25	4.5	80
8	MeOH	30.0 [152]	40	3.3	92
9	EtOH ^a	24.3 [151]	25	4.5	82
10	EtOH ^a	22.2 [153]	40	3.5	86
11	Tolueno	2.4 [154]	25	36	N.R.
12	Tolueno	2.3 [154]	40	36	N.R.
13	Benceno	2.3 [155]	25	32	56
14	Benceno	2.2 [155]	40	20	70

N.R. No se observó reacción. ^a Se usó etanol absoluto.

Una vez realizada la exploración de la reacción en calentamiento convencional y buscando disminuir los tiempos de reacción y mejorar los rendimientos de esta, se evaluó el método sonoquímico con ayuda de un baño ultrasónico y realizando nuevamente un barrido de las condiciones de la reacción (Tabla 40). Intentando optimizar el protocolo de purificación, se decidió cambiar también el disolvente a etanol, debido a la solubilidad diferencial de los precursores y el producto en este medio.

Tabla 42. Optimización de las condiciones de la reacción asistida por ultrasonido.

Entrada	Catalizador	% molar	Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento
1	p-TsOH	10%	EtOH	40	0.5	53 %
2	p-TsOH	30 %	EtOH	40	0.5	55 %
3	-	-	EtOH	40	2	50 %
4	-	-	EtOH	25	2	48 %

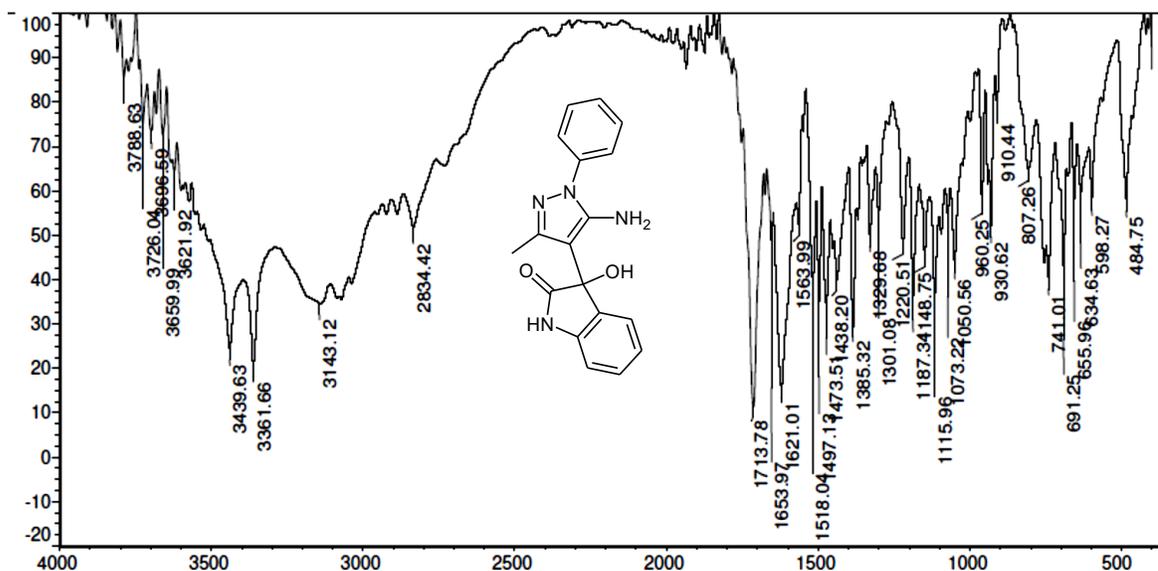
Continúa en la siguiente página.

Tabla 41. Continuación.

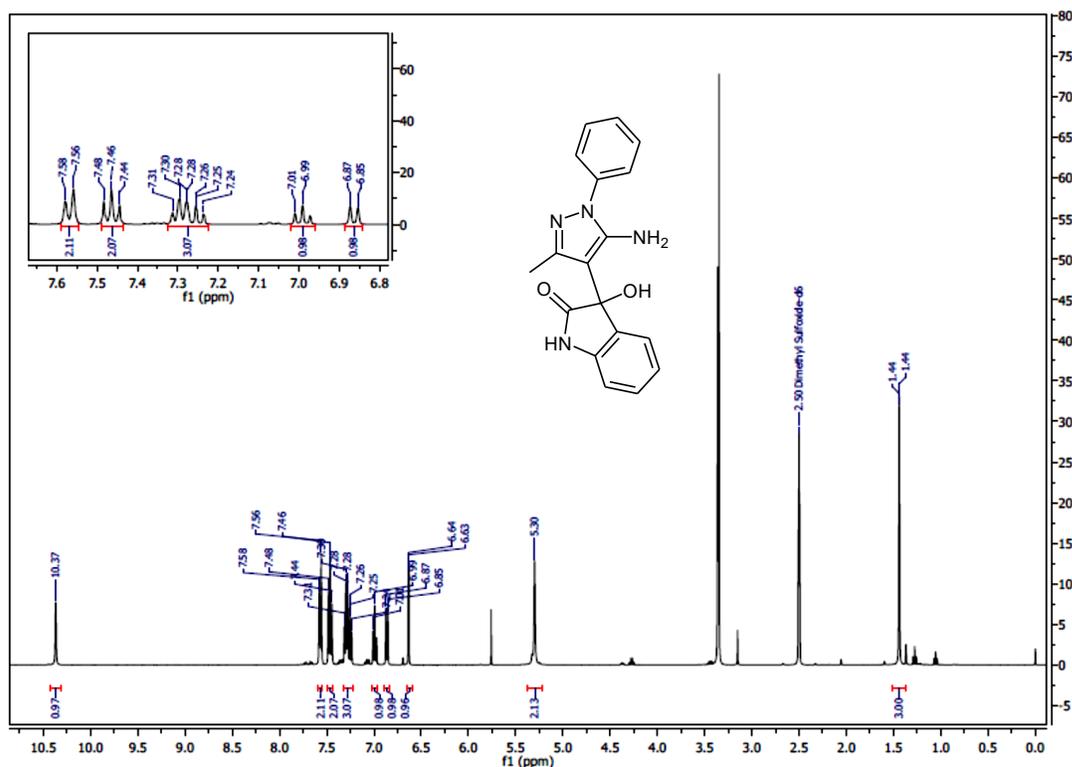
Entrada	Catalizador	% molar	Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento
5	I ₂	1 %	EtOH	25	0.5	>99 %
6	I ₂	1 %	EtOH	40	0.5	>99 %
7	I ₂	1 %	EtOH	25	2	>99 %

En **negrita** las condiciones más suaves con las cuales se obtuvo el máximo rendimiento en la síntesis de **C-A0**.

Dada la mejora en el rendimiento de la síntesis al emplear el ultrasonido como fuente de irradiación, se obtuvo el producto de sustitución electrofílica aromática del pirazol **3a** y se caracterizó por espectroscopia de infrarrojo (Figura 4–14), ¹H-RMN (Figura 4–15) y ¹³C-RMN (Figura 4–16).

Figura 4-14. Espectro de infrarrojo del compuesto **C-A0**.

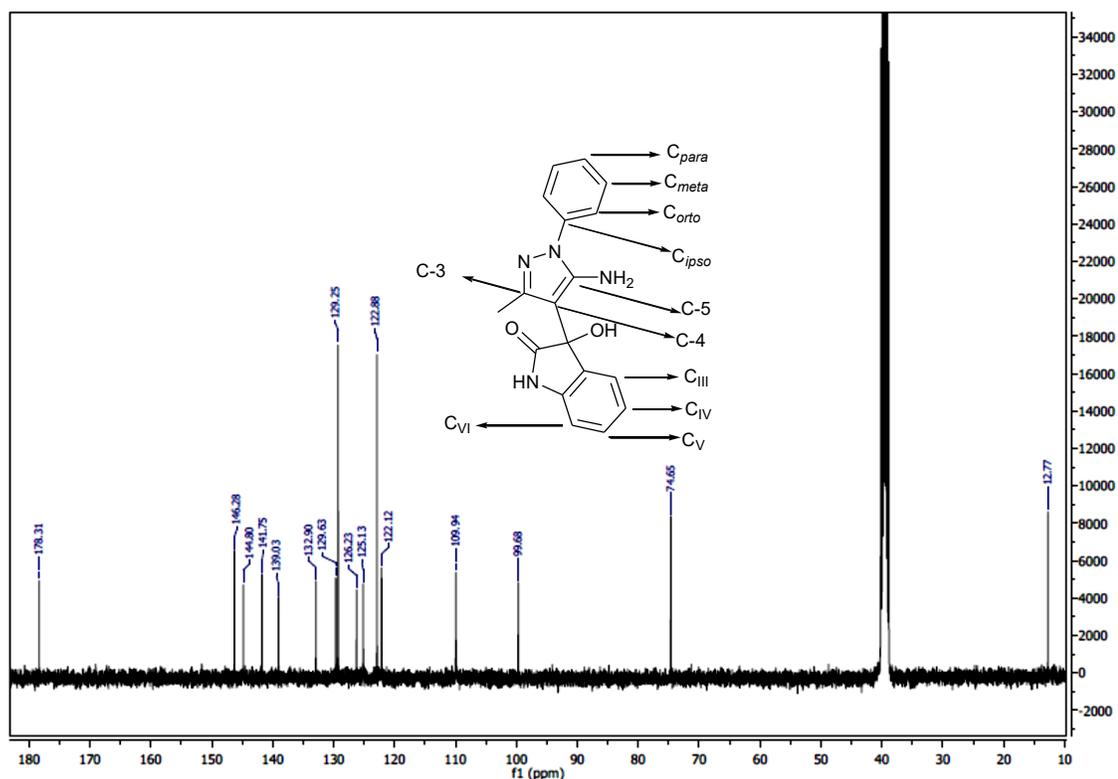
En el espectro IR del compuesto **32a** se observan dos bandas agudas de intensidad alta en la región de los 3300 a 3500 cm⁻¹, asignadas a los estiramientos N-H del grupo amino; en 3143 cm⁻¹ se observa una banda ancha asignada al estiramiento O-H del grupo hidroxilo terciario presente en la molécula; en 2843 cm⁻¹ se observan los estiramientos C-H_{sp2} de los anillos aromáticos del grupo fenilo y de la isatina. Otra banda diagnóstico que da cuenta de la identidad química del producto es la asignada al estiramiento C=O del grupo acilo lactámico en 1713 cm⁻¹; por último, el estiramiento C=N del anillo pirazólico se observa a 1653 cm⁻¹ como una banda fina de intensidad alta.

Figura 4-15. Espectro ^1H -RMN del compuesto **C-A0**. (Tomado en $\text{DMSO-}d_6$)

En el espectro protónico del compuesto **C-A0** se pueden apreciar nueve señales que dan cuenta de los hidrógenos de la molécula. Hacia campo bajo en 10.4 ppm se observa un singlete con integral para un hidrógeno, asignado al NH de amida del fragmento indolinona de la molécula, mientras que en 7.55 ppm aparece un doblete integrando para 2 protones con constante de acoplamiento $J = 7.51$ Hz, asignado a uno de los protones aromáticos del fragmento fenilo pirazólico; en 7.47 ppm un triplete con $J = 7.51$ Hz e integral para 2 hidrógenos; mediante la constante de acoplamiento se infirió que estos protones están acoplado mutuamente, por tanto pertenecen a un sistema de espín común, en este caso el fenilo monosustituido; la siguiente señal en 7.28 ppm, corresponde a un multiplete que integra para 3 protones y se asume que son tres señales solapadas: una se asigna al protón del fenilo en la posición *para* al anillo pirazólico, y la otras corresponden a dos de los cuatro protones aromáticos del fragmento benzofusionado de la isatina; la siguiente señal es un triplete a 7.00 ppm con integral para 1 hidrógeno, cuya $J = 7.44$ Hz denota que pertenece a otro sistema de espín aromático, por tanto debe ser parte del fragmento aromático de la isatina; la última señal aromática es un doblete en 6.87 ppm que integra para un hidrógeno y con constante de

acoplamiento de 7.68 Hz, por tanto lejano del protón evidenciado anteriormente. En 6.64 ppm se observa una señal de base ancha asignada al protón OH de la molécula; en 5.32 ppm aparece otra señal de base ancha, esta vez con integral para 2 hidrógenos y se asignó a los protones del grupo amino del fragmento pirazólico; por último, se observa un singlete en 1.44 ppm que con una integral para 3 protones se asigna a los hidrógenos del metilo presente en la molécula.

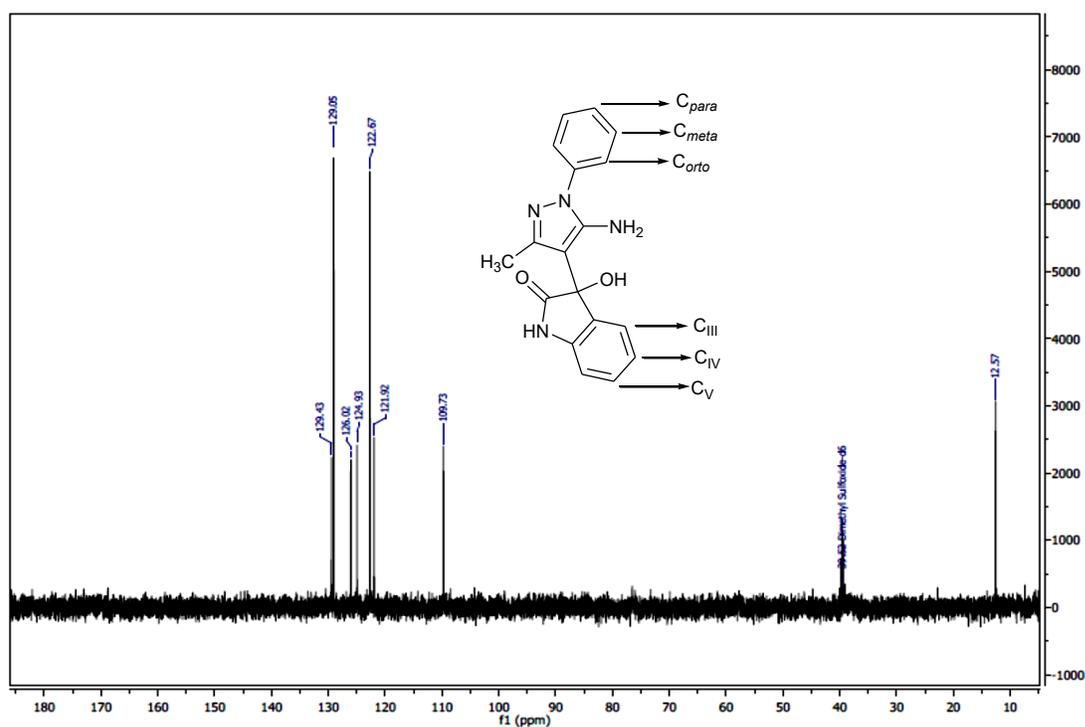
Figura 4-16. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **C-A0**. (Tomado en $\text{DMSO-}d_6$)



En el espectro ^{13}C -RMN del compuesto de interés; se observan 16 señales, consistentes con el número de carbonos inequivalentes químicamente en la molécula; hacia campo alto en 12.8 ppm se observa una señal alifática que pertenece al carbono primario del grupo metilo; en 74.6 ppm la señal observada fue comparada con el experimento DEPT-135 (Figura 4-17) notándose que pertenece a un carbono cuaternario, dado su desplazamiento químico se asignó a la posición carbinólica en el anillo isatínico; a 99.7 ppm otra señal de carbono cuaternario se observó y se asignó mediante experimentos bidimensionales HSQC (Figura 4-18) y HMBC (Figura 4-19) al carbono de la posición denotada como C-4; las señales con desplazamiento químico 109.9, 122.1, 122.9, 125.1, 126.2, 129.2 y 129.6 ppm corresponden a los siete metinos aromáticos inequivalentes en

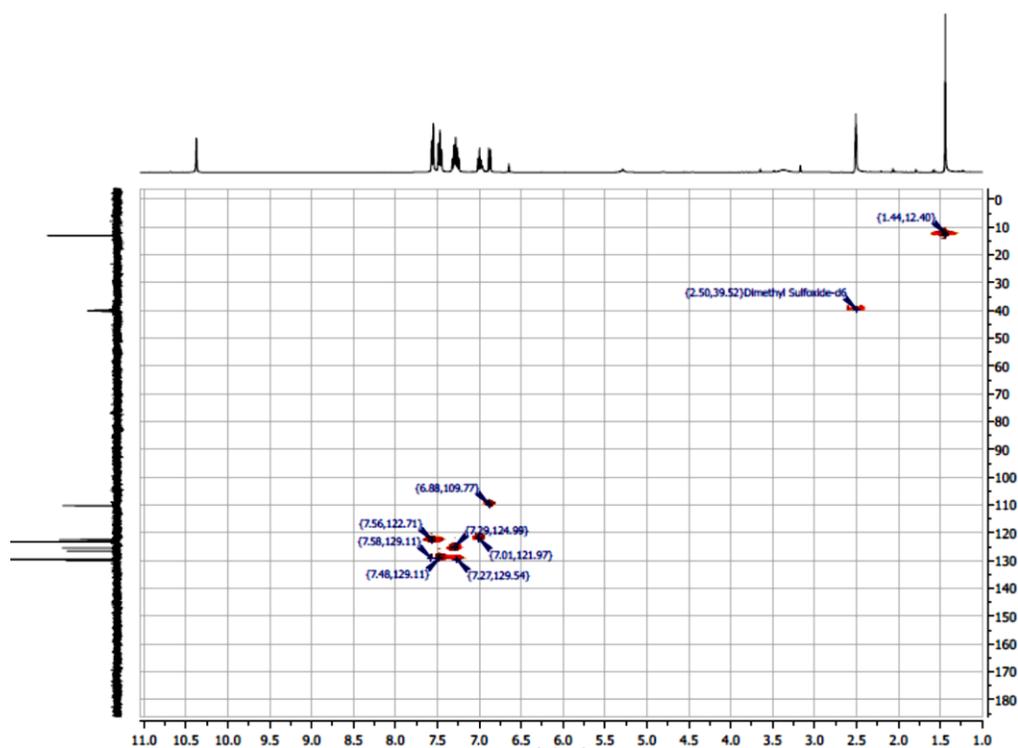
la molécula y se asignaron a los carbonos C_{IV} , C_{VI} , C_{orto} , C_{III} , C_V , C_{para} y C_{meta} respectivamente; por otra parte, las señales en 132.9, 139.0, 141.7, 144.8 y 146.3 corresponden a las señales C_I , C_{ipso} , C_{II} , C-5 y C-3 respectivamente. Por último, la señal a 178.3 ppm da cuenta del carbono del acilo lactámico del fragmento indolónico de la molécula.

Figura 4-17. Espectro DEPT-135 del compuesto **C-A0**.



En cuanto al experimento DEPT-135, es notoria la ausencia de señales en fase negativa en el espectro, lo cual implica la ausencia de carbonos de tipo metileno; por otra parte, las ocho señales que aparecen en este experimento concuerdan con los siete metinos de la estructura propuesta y el metilo del fragmento pirazólico. La asignación se realizó mediante interpretación de los experimentos bidimensionales HSQC (Figura 4-18), cuyas correlaciones se muestran en el esquema 4-5 y HMBC (Figura 4-19), con correlaciones ilustradas en el esquema 4-6.

Figura 4-18. Experimento HSQC del compuesto C-A0.



Esquema 4-5. Correlaciones halladas en el experimento bidimensional HSQC del compuesto C-A0.

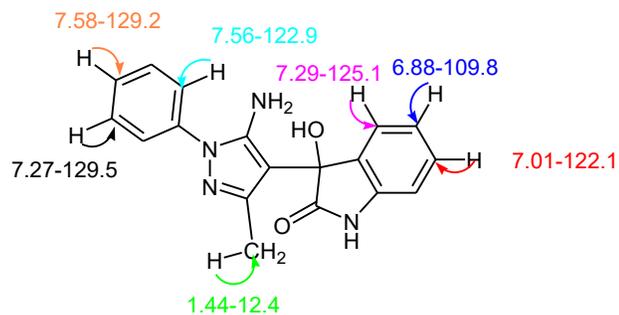
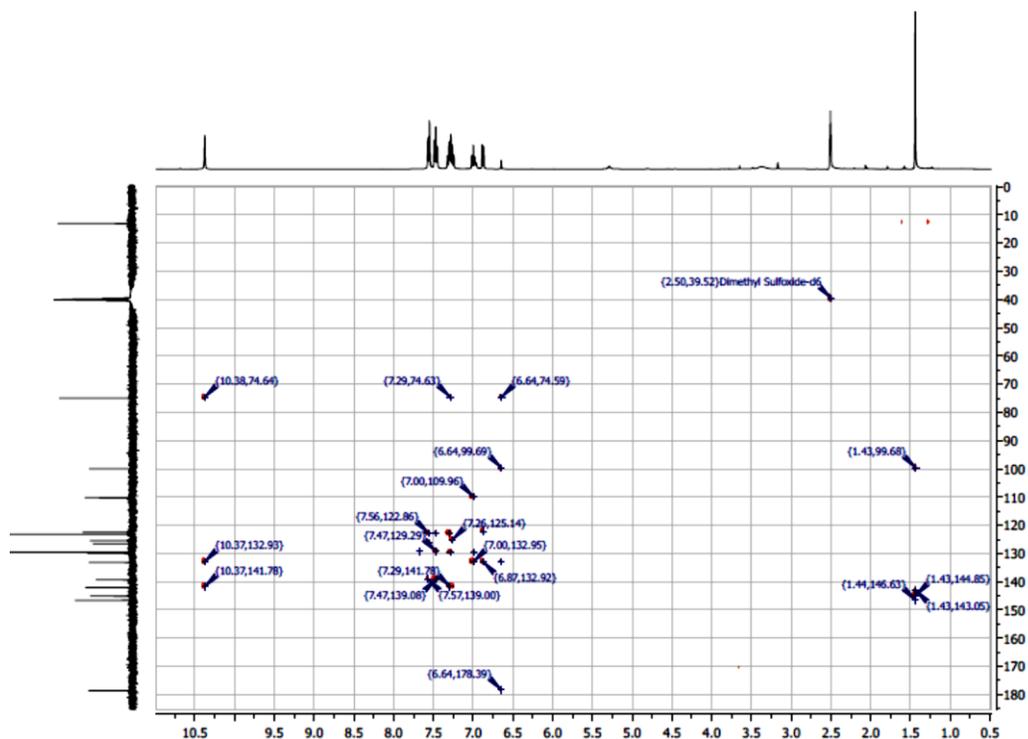
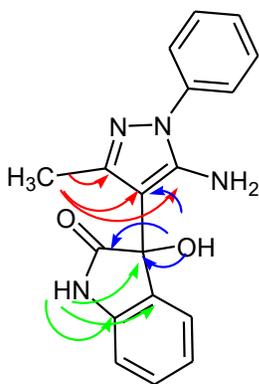


Figura 4-19. Experimento HMBC del compuesto **C-A0**.**Esquema 4-6.** Correlaciones halladas mediante el experimento bidimensional HMBC del compuesto **C-A0**.

- **Síntesis en paralelo de los derivados pirazolil hidroxindolinónicos.**

Habiendo optimizado las condiciones de síntesis asistida por ultrasonido del derivado **C-A0**, se decidió explorar la opción de diseñar un protocolo para la obtención de todos los

compuestos de interés en un único procedimiento (Esquema 4-7) mediante el uso de un baño de ultrasonido (Figura 4-20).

Esquema 4-7. Reacción general en paralelo para la obtención de las pirazolil hidroxindolinonas (Serie C).

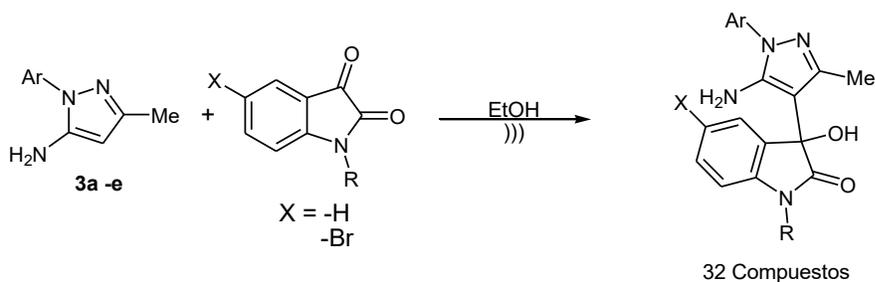
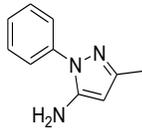
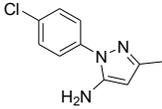
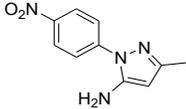
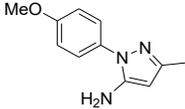
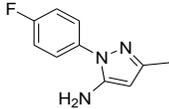
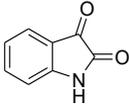
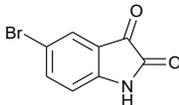
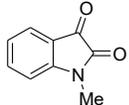
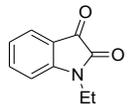
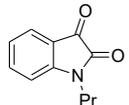
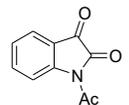
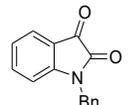


Figura 4-20. Montaje empleado para la síntesis en paralelo de los compuestos de interés de la serie C.



En una aproximación inicial se realizó la reacción en paralelo en condiciones libres de catalizador; esto con el fin de observar problemas de reactividad, selectividad, estabilidad de los productos y para evaluar el tiempo requerido para la obtención de todos los compuestos en un mismo procedimiento. Siendo así, los rendimientos de los productos obtenidos en esta reacción inicial no excedieron el 77% y tres de los compuestos planteados no pudieron ser obtenidos (Tabla 42).

Tabla 43. Resultados de la primera exploración de la reacción en paralelo asistida por ultrasonido para la obtención de los compuestos de la serie C.

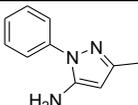
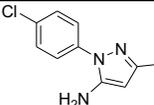
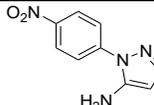
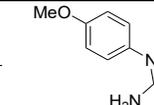
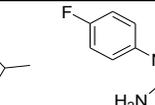
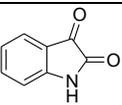
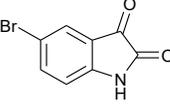
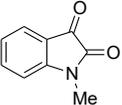
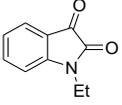
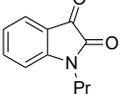
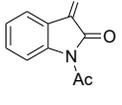
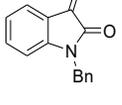
Pirazol Indolinona					
	(Rend/tiempo)	(Rend/tiempo)	(Rend/tiempo)	(Rend/tiempo)	(Rend/tiempo)
	C-A0 48%/0.5h	C-A1 34%/0.5h	C-A2 49%/0.5h	C-A3 15%/1.5h	C-A4 71%/1h
	C-B0 34%/0.5 h	C-B1 47% / 0.5h	C-B2 68%/0.5h	C-B3 45%/1h	C-B4 40%/ h
	C-A0a 60%/0.5h	C-A1a 58%/0.5h	C-A2a 28%/1h	C-A3a 22%/2h	C-A4a 55%/1h
	C-A0b 44%/1.5h	C-A1b 70%/0.5h	C-A2b 49%/1h	C-A3b N.R.	C-A4b 76%/0.5h
	C-A0c 50%/1.5h	C-A1c 23%/0.5h	C-A2c 69%/0.5h	C-A3c 27%/1.5h	C-A4c 77%/0.5h
	C-A0d 26%/0.5h	C-A1d 55%/0.5h	C-A2d 15%/0.5h	C-A3d 44%/0.5h	C-A4d 44%/0.5h
	C-A0e 44%/1h	C-A1e N.R.	C-A2e 13%/2h	C-A3e N.R.	C-A4e 48%/1h

Rend: Rendimiento. N.R. No hubo reacción.

Es notable de los resultados en la tabla 42, que los rendimientos del proceso para la mayoría de los derivados tuvo bajos rendimientos y para los compuestos **C-A3b**, **C-A1e** y **C-A3e**, no se evidencia formación de los mismos; adicionalmente, la reacción solo se pudo continuar por dos horas, dada la degradación de los compuestos **C-A3d** y **C-A3a**. Dados estos resultados, se realizó nuevamente la reacción, esta vez utilizando yodo

como catalizador al 1% mol, resultando en una mejora sustancial del rendimiento del proceso, siendo este superior al 53%, y requiriendo solo 30 minutos para su consecución (Tabla 43).

Tabla 44. Rendimientos obtenidos durante la síntesis en paralelo asistida por ultrasonido de los derivados pirazolil hidroxindolinónicos.

Pirazol Isatina					
	C-A0	C-A1	C-A2	C-A3	C-A4
	>99%	64%	59%	82%	>99%
	C-B0 55%	C-B1 58%	C-B2 90%	C-B3 97%	C-B4 75%
	C-A0a >99%	C-A1a 69%	C-A2a 67%	C-A3a 85%	C-A4a >99%
	C-A0b 68%	C-A1b 75%	C-A2b 78%	C-A3b 84%	C-A4b 91%
	C-A0c 64%	C-A1c 63%	C-A2c 73%	C-A3c 95%	C-A4c 89%
	C-A0d 61%	C-A1d 64%	C-A2d 53%	C-A3d 58%	C-A4d 78%
	C-A0e 64%	C-A1e 53%	C-A2e 54%	C-A3e NR	C-A4e 94%

N.R. No hubo reacción.

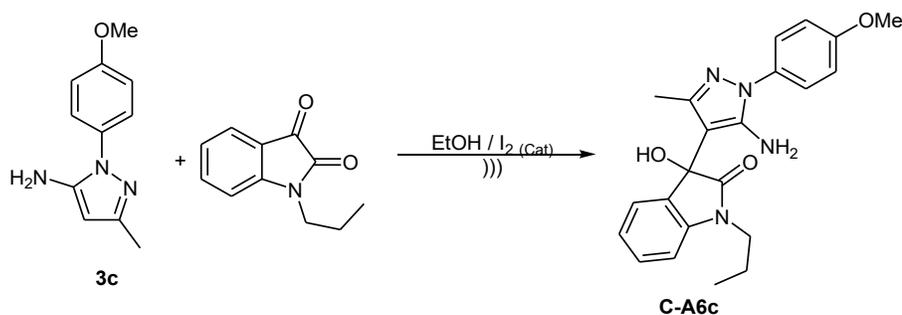
Es de notar que solo uno de los compuestos (**C-A3e**) no se logró obtener mediante el protocolo establecido; esto se puede explicar ya que mediante cromatografía en capa

delgada se observaron diversos productos de degradación, lo que da cuenta de la baja estabilidad del producto formado. Por otra parte, la purificación de los productos obtenidos se realizó mediante una filtración al vacío y lavados del sólido obtenido con etanol frío, logrando un nivel de pureza aceptable para su caracterización y uso en posteriores ensayos.

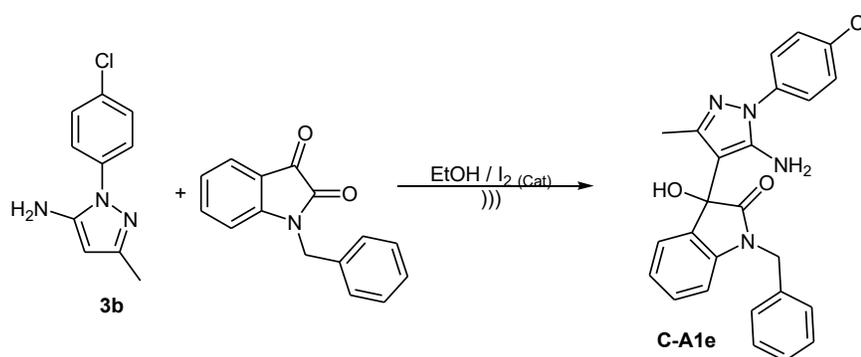
- **Síntesis de los candidatos más promisorios como moduladores del canal de sodio NaV1.7 de la serie C (Pirazolil hidroxiindolinonas) de acuerdo con el cribado virtual.**

De acuerdo con los resultados de la sección 4.3.1 se seleccionaron tres compuestos como se puede observar en la figura 4-9 de esta sección. Sin embargo, dado lo observado sobre la estabilidad del tercer compuesto **C-A3e** se decidió sintetizar únicamente los dos primeros compuestos **C-A3c** y **C-A1e** (Esquemas 4-8 y 4-9).

Esquema 4-8. Metodología de síntesis del compuesto **C-A3c**.

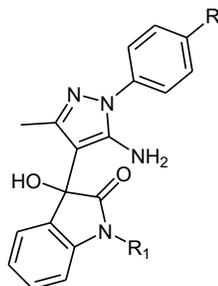


Esquema 4-9. Metodología de síntesis del compuesto **C-A1e**.



Se realizó el estudio de escalamiento de las reacciones para sintetizar los compuestos objetivo observándose una caída mínima del rendimiento al aumentar las cantidades de precursores (Tabla 44).

Tabla 45. Estudio de escalamiento de la reacción de síntesis de los compuestos más promisorios de la serie C de acuerdo con el cribado virtual.



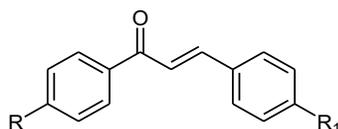
Entrada	R ₁ -	R ₂ -	Rendimiento 1.0 mmol	Rendimiento 4.5 mmoles	Variación de rendimiento	Caída porcentual
C-A3c.	MeO-	<i>n</i> -Pr-	95 %	93 %	-2 %	2 %
C-A1e.	Cl-	Bn-	53 %	50 %	-3 %	6 %

4.4.2 Síntesis de los compuestos de la serie D: 1,3,5-Triarilpirazoles.

De acuerdo con la ruta de síntesis de estos compuestos planteada en la sección 2.5.4 se inició con la obtención de las chalconas precursoras de este núcleo heterocíclico; luego se realizó la reacción de ciclocondensación de estas con las aril hidracinas y por último la oxidación de la pirazolina obtenida, tal como se planteó en el esquema 2-6. De esta exploración sintética se expondrán los resultados a continuación:

- **Síntesis de las chalconas precursoras.**

La reacción general de síntesis de estos precursores fue presentada en la sección 3.3.2, sin embargo, para esta exploración se realizaron cambios en los sustituyentes de los anillos; así pues, los rendimientos específicos para la reacción de Claisen – Schmidt en este caso se presentan en la tabla 45.

Tabla 46. Rendimientos de la síntesis de las chalconas precursoras.

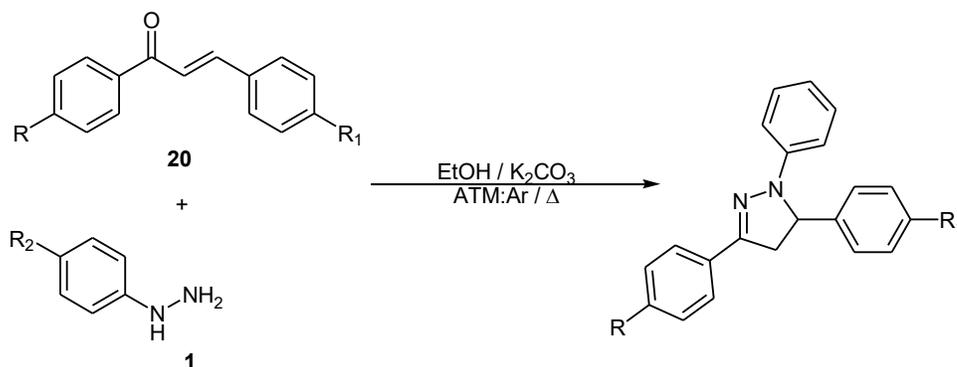
Entrada	R-	R ₁ -	Rendimiento.
20a.	H-	<i>p</i> -MeO-	94 %
20g.	H-	NO ₂ -	95 %
20h.	NO ₂ -	-H	43 %
20i.	H-	Cl-	95 %
20j.	H-	H-	83 %
20k.	Me-	H-	98 %

Con estos precursores se procedió a hacer la reacción subsecuente de ciclocondensación.

▪ **Síntesis de los derivados 1,3,5-triaril-4,5-dihidropirazólicos.**

Se realizó la reacción de condensación con las chalconas previamente sintetizadas, variando la arilhidracina. Esta reacción se realizó en medio básico usando carbonato de potasio y usando etanol absoluto como disolvente y temperatura de reflujo de esta mezcla de reacción (Esquema 4-10).

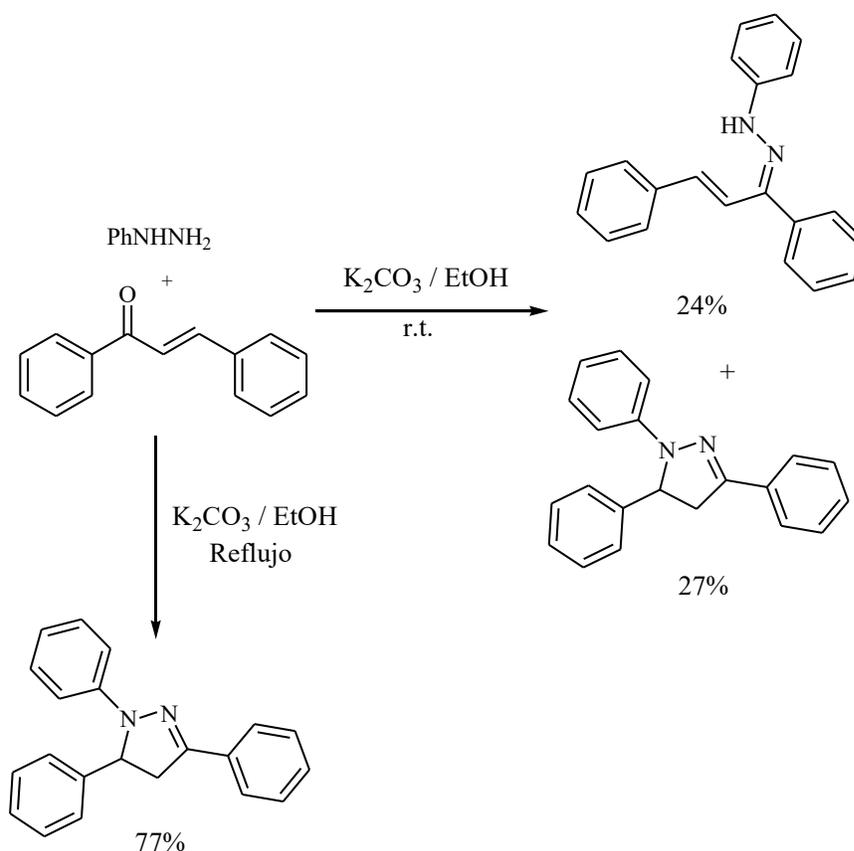
Esquema 4-10. Reacción de ciclocondensación para la obtención de 1,3,5-triarilpirazolininas.



Esta reacción inicialmente se realizó con la chalcona sin sustituyentes en los anillos (**20j**) y fenilhidrazina **1a**, a temperatura ambiente, lográndose obtener el 1,3,5-trifenil-3,4-dihidropirazol con un rendimiento del 37 %; este bajo porcentaje es explicado dada la

ciclación incompleta que sufre el precursor. Se requiere entonces calentamiento para promover totalmente la formación del anillo pirazolínico (Esquema 4-11); siendo así, el rendimiento se mejoró mediante la ejecución de la reacción a reflujo de la mezcla hasta llegar al 77 %.

Esquema 4-11. Experimentos iniciales de síntesis del derivado 1,3,5-trifenil-4,5-dihidropirazol.

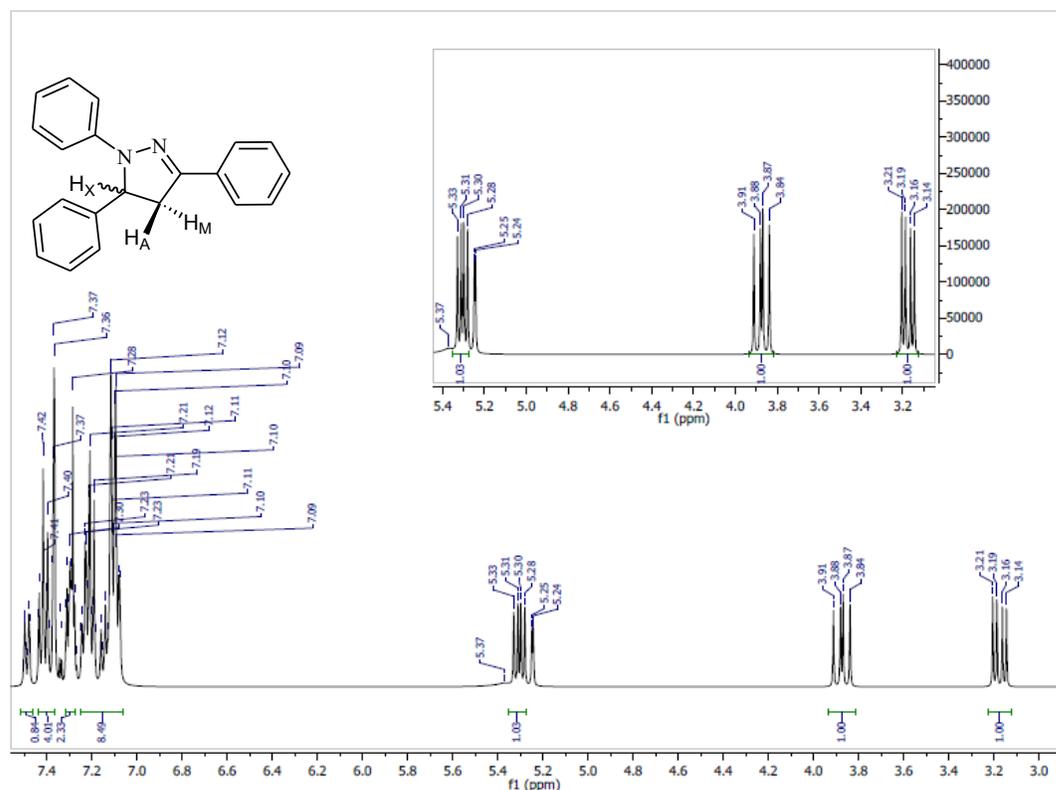


El producto obtenido se caracterizó mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (Figura 4-21) y de carbono-13 (Figura 4-22).

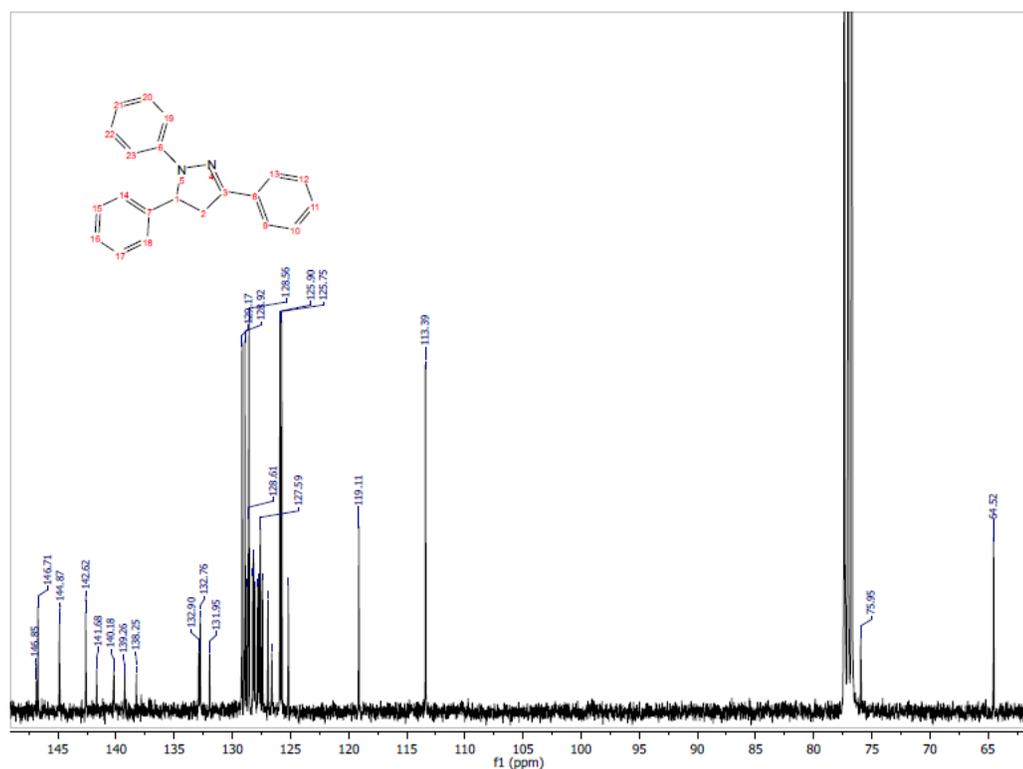
En el espectro ¹H-RMN, se pudieron apreciar las señales correspondientes al sistema de acoplamiento de espín de tipo AMX, donde los protones del metileno de la pirazolina se observan cada uno como una señal independiente, dada la naturaleza diastereotópica de estos; el primero se aprecia como un doble doblete a 3.17 ppm con constantes de acoplamiento $J = 17.1$ y 7.3 Hz; el segundo protón se aprecia como otro doble doblete más desprotegido (3.87 ppm) y con constantes $J = 17.1$ y 12.4 Hz. La señal del protón del centro quiral de la pirazolina (H_x) se ubica en 5.31 ppm, también como un doblete de

dobletes, esta vez con constantes $J = 12.4$ y 7.3 Hz que muestran el acoplamiento diferencial con cada uno de los protones A y M. Se observan además las señales aromáticas correspondientes a los 15 protones de los tres anillos fenilo sustituyentes del núcleo pirazólico.

Figura 4-21. Espectro ^1H -RMN del 1,3,5-trifenil-4,5-dihidropirazol (Tomado en CDCl_3).



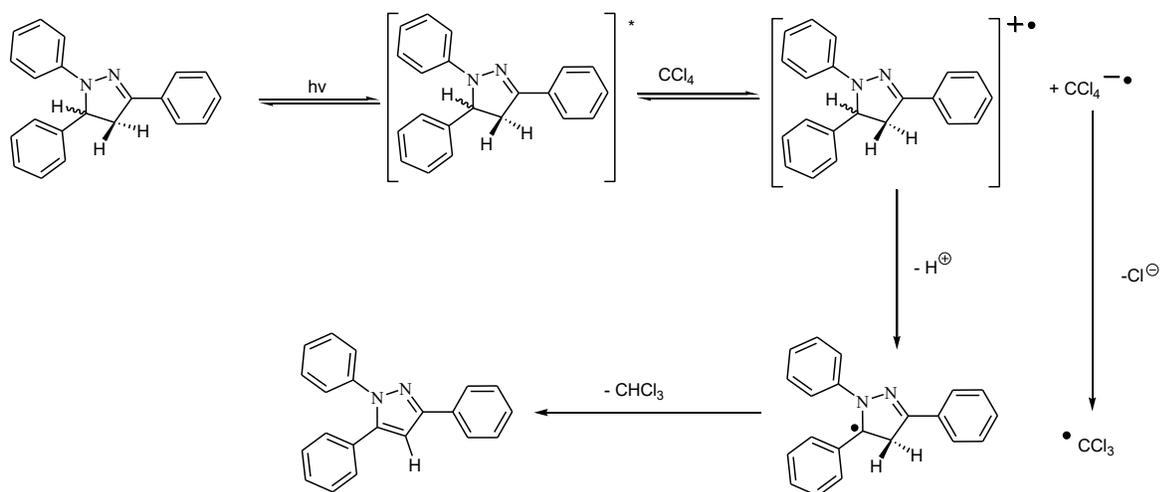
En el espectro ^{13}C -RMN del producto de interés (Figura 4-22), se observan las dos señales alifáticas (a 64.5 y 75.9 ppm) esperadas para la estructura propuesta; así como las 18 señales aromáticas y la señal del carbono del azometino endocíclico de la pirazolina. En este mismo espectro se observan algunas señales adicionales, debidas al inicio de la oxidación de la pirazolina al pirazol, esto por el disolvente halogenado en el que se tomaron los espectros [133].

Figura 4-22. Espectro ^{13}C -RMN del 1,3,5-trifenil-4,5-dihidropirazol (Tomado en CDCl_3).

Estudios de oxidación de la 1,3,5-trifenilpirazolina.

Una vez obtenida la pirazolina de estudio y notándose la espontaneidad que tiene para su oxidación en disolventes halogenados; se decidió realizar ensayos en aras de mejorar los parámetros de sostenibilidad de este proceso de oxidación. En literatura se encuentra el reporte de un protocolo de oxidación de estos sustratos que involucra la transferencia de electrones en un mecanismo radicalario en tetracloruro de carbono [133] (Esquema 4-12); sin embargo, es bien sabido el grado de contaminación y riesgo ambiental, así como de afectación a la salud humana que tiene el uso de este tipo de disolventes.

Esquema 4-12. Mecanismo de oxidación propuesto en literatura [133] para la oxidación de pirazolinas por acción de tetracloruro de carbono.²⁶



Se ensayó entonces la reacción de oxidación de la pirazolina en diferentes condiciones (incluyéndose las publicadas en la referencia [120]) consiguiéndose reemplazar el disolvente y el agente oxidante por sustancias con menor impacto ambiental como son el ácido acético y aire como oxidante con rendimiento ligeramente menor al obtenido previamente (Tabla 46).

Tabla 47. Condiciones ensayadas para la oxidación de la trifenilpirazolina.

Ensayo.	Disolvente.	Agente oxidante.	Tiempo (h).	Temperatura (°C).	Rendimiento.
1.	CHCl ₃	CHCl ₃	36	25	58 %
2.	CCl ₄	CCl ₄ / UV	12	25	70 %
3.	AcOH	Aire	80	25	65 %
4.	AcOH	Aire	70	60	42 %
5.	AcOH	Aire	70	Reflujo	45 %
6.	AcOH	H ₂ O ₂	24	Reflujo	38 %
7.	-	UV	12	25	N.R.
8.	AcOH	UV	48	25	40 %
9.	DMF	Aire	24	80	Deg.
10.	DMF/[NMe ₄]OH	Aire	24	25	N.R.
11.	DMF/[NMe ₄]OH	Aire	24	50	N.R.
12.	DMF/[NMe ₄]OH	Aire	24	80	Deg.
13.	DMF/K ₂ CO ₃	Aire	48	25	N.R.
14.	DMF/K ₂ CO ₃	Aire	48	80	N.R.
15.	DMF/K ₂ CO ₃	Aire	48	100	Deg.
16.	CCl ₄ / K ₂ CO ₃	Aire	70	Reflujo	10%

²⁶ Adaptado de la referencia [120].

N.R. No hubo reacción. Deg. Se observó degradación del precursor pirazólico. En **negrita** se pueden apreciar las condiciones que resultan en el mejor rendimiento para la reacción.

Es de notar que en el reporte previo de la referencia 120, se realiza la fotoaromatización del compuesto usando tetracloruro de carbono o cloroformo; así mismo se observa que en otros disolventes como EtOH, DMF o tolueno no se observa oxidación. El medio básico (dado por el anión hidroxilo de la sal de tetrametilamonio) podría influir significativamente en los resultados obtenidos en este experimento. Esta observación es corroborada mediante la entrada 16 de la tabla 46, donde se descartó el efecto del disolvente puesto que se utilizó CCl₄ y medio básico (carbonato de potasio), observándose mínima oxidación del precursor (5%); lo que denota que esta oxidación está facilitada por la presencia de ácido en el medio de reacción.

El compuesto obtenido (1,3,5-trifenilpirazol) fue caracterizado por espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (Figura 4-23) y de carbono-13 (Figura 4-24), observándose las señales esperadas para esta estructura, como son el protón del metino de la posición 4 del anillo pirazólico (s, 1H, 6.86 ppm) y las señales que dan cuenta de los protones aromáticos de los tres fenilos monosustituídos de la estructura. También se observaron las 15 señales en el espectro ¹³C-RMN, correspondientes a los carbonos inequivalentes de la estructura.

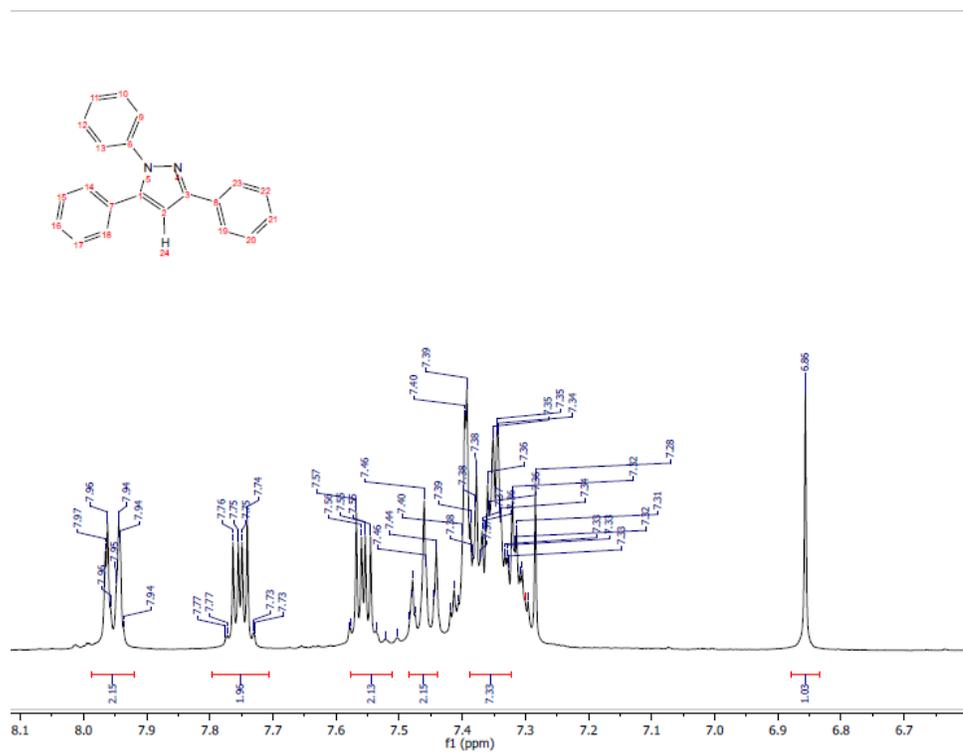
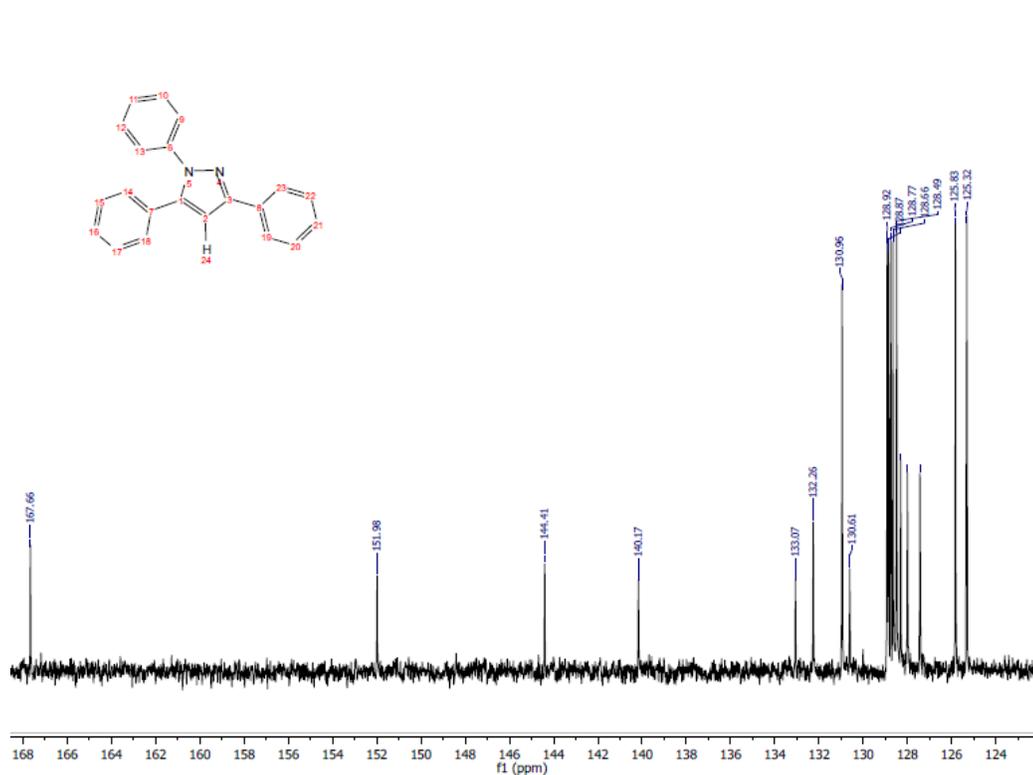
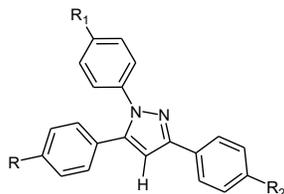
Figura 4-23. Espectro ^1H -RMN del 1,3,5-trifenilpirazol (Tomado en CDCl_3).

Figura 4-24. Espectro ^{13}C -RMN del 1,3,5-trifenilpirazol (Tomado en CDCl_3).

A partir de estos resultados se realizó el estudio del efecto de los sustituyentes en los anillos de las posiciones 1,3 y 5 del anillo pirazólico, sobre el rendimiento de la reacción de ciclocondensación y de oxidación en las condiciones establecidas (Tabla 46), evidenciándose que los sustituyentes electroattractores como lo es el grupo nitro, disminuyen la velocidad de oxidación de la pirazolina, mientras que los grupos electroattractores, por el contrario, favorecen esta reacción (Tabla 48).

Aunque pueda pensarse que la oxidación del compuesto D-PMNH₂ rompe la tendencia general, es de notar que en el medio de reacción conformado por el ácido acético, el grupo dimetilamino podría estar en forma de sal de amonio, que representa un grupo altamente desactivante por su efecto inductivo sobre el anillo aromático de la posición 5 del heterociclo a oxidar; esto hace que dicho grupo se convierta, en las condiciones de trabajo, en un grupo de naturaleza electroattractora. Se nota también que las pirazolinas polinitradas resultan altamente inestables, al igual que la pirazolina trimetoxilada.

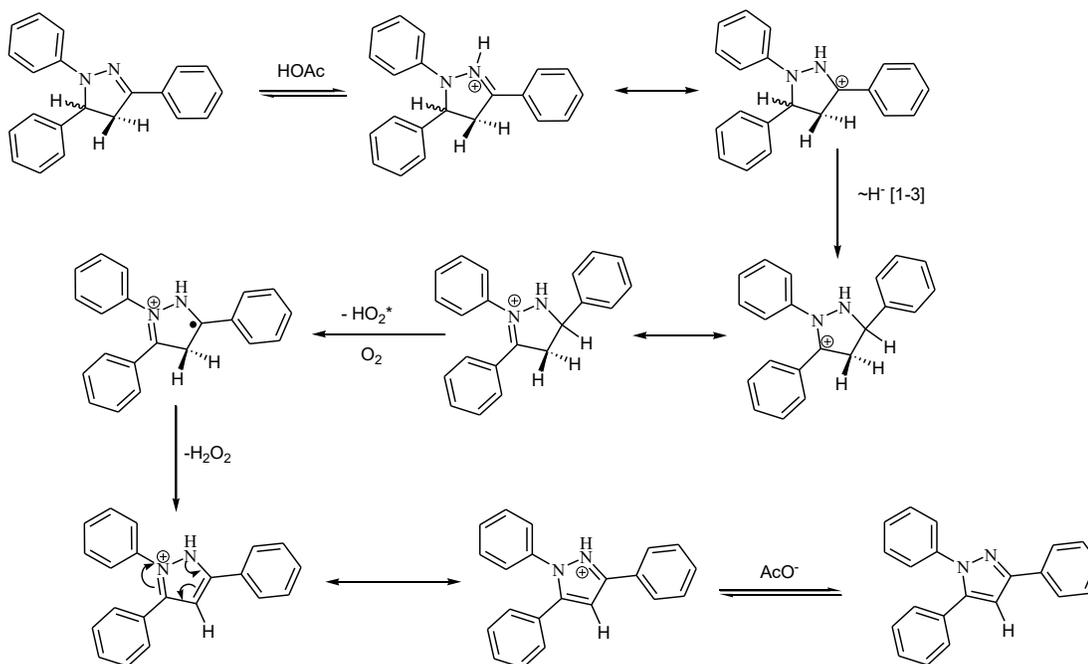
Tabla 48. Exploración del efecto del efecto del sustituyente en la síntesis de los 1,3,5-triarilpirazoles.

Código	R-	R ₁ -	R ₂ -	Rendimiento ciclocondensación	Rendimiento oxidación
D-PMOH2	MeO-	H-	H-	84%	92%
D-PNOH2	O ₂ N-	H-	H-	86%	43%
D-PNOMOH	O ₂ N-	MeO-	H-	95%	50%
D-PMO2H	MeO-	MeO-	H-	91%	>99%
D-PMNH2	Me ₂ N-	H-	H-	80%	85%
D-PNO2H	O ₂ N-	O ₂ N-	H-	Deg.	N.D.
D-PH3	H-	H-	H-	77%	65%
D-PNO3	O ₂ N-	O ₂ N-	O ₂ N-	Deg.	N.D.
D-PMO3	MeO-	MeO-	MeO-	N.D.	97%
D-PFHNO	F-	H-	N ₂ O-	Deg	N.D.
D-PHNOH	H-	O ₂ N-	H-	Deg	N.D.
D-PH2NO	H-	H-	O ₂ N-	39%	60%

N.D. No determinado. Deg. Se observó degradación del precursor.

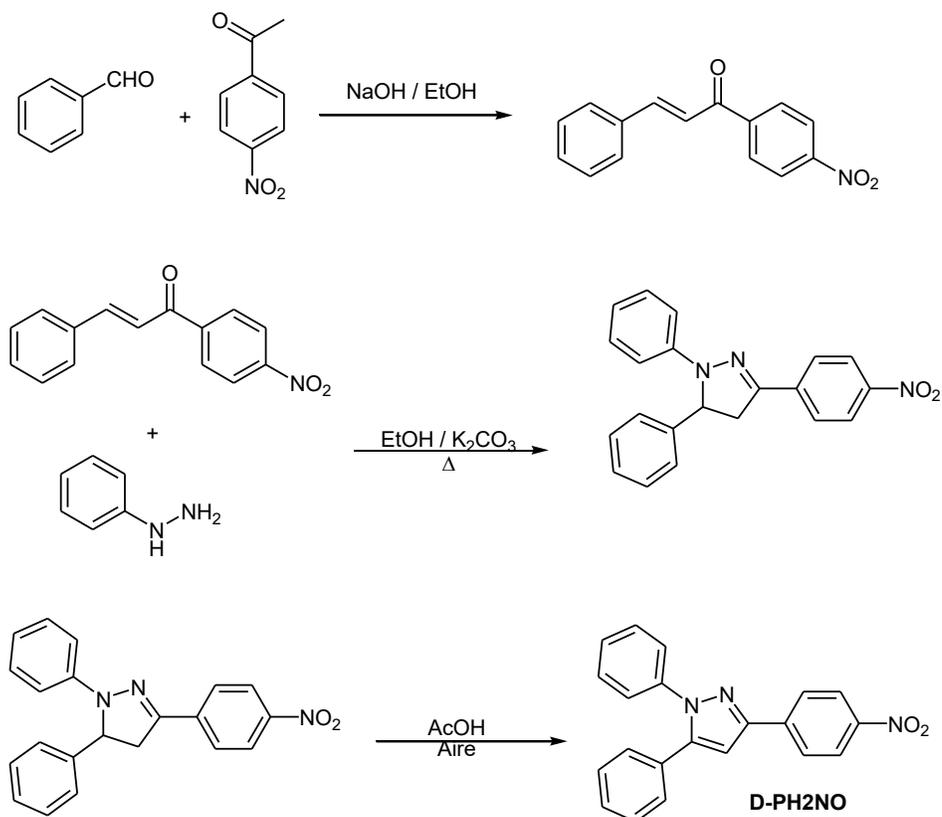
Dados estos resultados, se plantea el siguiente mecanismo de reacción (Esquema 4-13), con el fin de explicar el proceso de oxidación de las pirazolininas en las condiciones planteadas. Dado que en esta propuesta se observa la formación de un carbocatión de tipo bencílico que se deslocaliza por todo el anillo pirazolínico, en una primera instancia se justificaría el efecto desestabilizante que grupos electroattractores generarían en este paso del mecanismo; efecto contrario tendrían los grupos electrodonores.

Esquema 4-13. Mecanismo de reacción planteado para la oxidación de las pirazolinas en medio ácido (Ácido acético) con oxígeno como oxidante.



- **Síntesis de los candidatos más promisorios como moduladores del canal de sodio NaV1.7 de la serie D (1,3,5-triarilpirazoles) de acuerdo con el cribado virtual.**

De acuerdo con los resultados de la sección **4.3.3**, se seleccionaron tres compuestos como se puede observar en la figura 4-13 de esta sección. Sin embargo, dado lo observado sobre la estabilidad del primer y tercer compuesto (Tabla 47) **D-PFHNO** y **D-PHNOH** respectivamente, se decidió sintetizar únicamente el segundo compuesto **D-PH2NO** en cantidades de un gramo (Esquema 4-14).

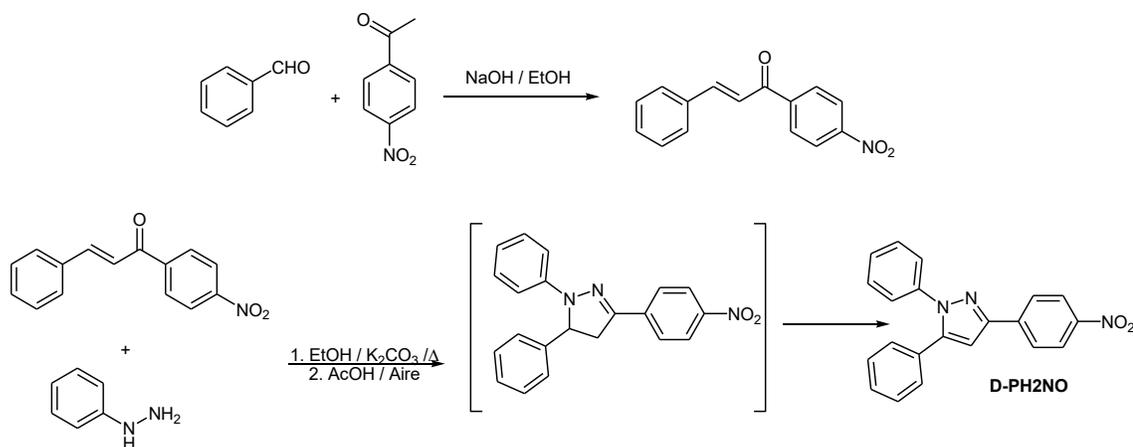
Esquema 4-14. Ruta sintética seguida para la obtención del compuesto **D-PH2NO**.

Al realizarse la síntesis de la molécula objetivo en cantidades de 4.5 mmoles se observó un aumento en el rendimiento del primer paso pasando de 43% (a escala de 1 mmol) a 55%. Por el contrario en el segundo paso, la ciclocondensación presentó un rendimiento ligeramente menor al aumentar la escala de la síntesis, pasando del 39% (a 1 mmol) al 33% (a escala de 4.5 mmoles) y por último el paso de oxidación presentó un rendimiento ligeramente mayor al aumentar la cantidad de precursor (pasando del 60% al 65%); lo que implica un rendimiento global en cantidades de 1 mmol del 10% al 12% en escala mayor. Esto indica una mejora ligera del rendimiento global de los tres pasos de síntesis al aumentar la escala de las reacciones.

Dado este bajo rendimiento, se decidió intentar reducir la ruta de síntesis a dos pasos, haciendo que la reacción de ciclocondensación y oxidación tuvieran lugar en un único paso *one-pot*; siendo así, se realizó la reacción del paso 2, de la misma manera pero en lugar de aislar la pirazolina, se acidificó el medio de reacción con ácido acético glacial y se burbujeó aire al medio de reacción, al tiempo que se llevaba a reflujo de la mezcla;

esto dio lugar a la obtención del producto pirazólico con un rendimiento del 78%; lo que conllevó a una mejora sustancial del rendimiento global del proceso, siendo ahora del 43 %. Con este rendimiento, se realizó exitosamente la síntesis del compuesto de interés en la cantidad de un gramo.

Esquema 4-15. Segunda ruta sintética realizada para la mejora del rendimiento global en la obtención de **D-PH2NO**.



5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

Mediante la estrategia del diseño racional de fármacos, se evaluaron 240 compuestos de núcleo pirazolotiazepinónico y 39 de núcleo espiro tiazolidinónico como potenciales moduladores del receptor GABA_A. Mediante la predicción de las propiedades ADMETox y la metodología del acoplamiento molecular, así como el consenso de puntuación normalizada, se logró seleccionar de esta lista de prototipos iniciales, tres moléculas de cada serie con apropiadas propiedades farmacológicas para servir como potenciales moduladores de esta diana biológica.

De igual manera, pero con el canal iónico mediado por voltaje NaV1.7 se seleccionaron 3 compuestos de la serie de pirazolil hidroxindolinonas y tres de la serie de 1,3,5-triarilpirazoles, como posibles candidatos a ser moduladores de este canal de sodio, con propiedades aceptables para realizar ensayos *in vivo* e *in vitro* de modulación de esta diana molecular.

Se realizaron estudios de la reactividad para la optimización de los rendimientos de síntesis de los compuestos de cada una de las cuatro series, ejecutando experimentos de control y explorando los efectos de los sustituyentes, sustratos y condiciones termodinámicas, llegando a lograrse la obtención de las moléculas objetivo en cantidades de un gramo.

Adicionalmente, en el marco de este estudio de reactividad, para los compuestos de la serie A, se hallaron interesantes efectos estructurales de aparente asimetría puntual, al introducir patrones de sustitución en el nitrógeno lactámico del anillo tiazepinónico; donde se realizó además el estudio de tres posibles propuestas mecanísticas en el paso de ciclocondensación tricomponente, de las cuales se descartó una mediante la ejecución de experimentos de control. Para los compuestos de la serie B, se realizó también un estudio del mecanismo de reacción, hallándose una propuesta plausible que concuerda con las observaciones experimentales.

Los estudios de reactividad para la síntesis de los compuestos de la serie C, conllevaron al diseño y ejecución exitosa de una metodología en paralelo asistida por ultrasonido, que permitió la obtención de estos derivados pirazolil hidroxindolinónicos, en una única secuencia de síntesis con rendimientos que van desde el 53 % hasta los rendimientos cuantitativos. En el caso de las moléculas de la serie D, se determinaron sutilezas estructurales que permitieron predecir el comportamiento de los precursores hacia su oxidación, dependiendo de la naturaleza electrónica de los sustituyentes en los anillos aromáticos, lo cual dio luces para el planteamiento de una ruta sintética novedosa, usando aire como fuente de oxígeno (autooxidación); de modo que esto, en conjunción con un medio ácido permitieran la obtención de las moléculas objetivo, además del planteamiento mecanístico para este paso de oxidación.

5.2 Recomendaciones y perspectivas.

Este estudio puede verse como un avance importante en el estudio de nuevos compuestos con posible actividad moduladora sobre canales iónicos involucrados en la transmisión de las señales nerviosas, tanto en sistema nervioso central como periférico; por esto, y en el marco de los proyectos de investigación en curso del Grupo de estudios en Síntesis y Aplicaciones de Compuestos Heterocíclicos (GESACH), se sugiere continuar los estudios de actividad biológica de los compuestos seleccionados de las series A y B, como agentes tranquilizantes en modelo murino.

Respecto de los compuestos de las series C y D, se sugiere también la realización de estudios *in vivo* y/o *in vitro*, para evaluar a nivel experimental la actividad sobre el canal iónico de interés farmacológico para este trabajo.

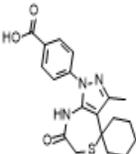
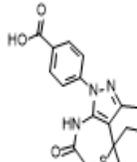
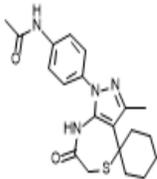
Adicionalmente, es de notar que los resultados de este trabajo conllevaron a la publicación de un artículo científico titulado "*Efficient catalyst-free tricomponent synthesis of new spiro[cyclohexane-1,4'-pyrazolo[3,4-e][1,4]thiazepin]-7'(6'H)-ones*" en la revista *Synthetic communications* con DOI: 10.1080/00397911.2018.1554143 y se sometió a publicación en la revista *Universitas Scientiarum* el manuscrito titulado "*A comparative study of microwave and conventional heating approaches for the multicomponent synthesis of 4,6-diarylpyrimidines*" el cual se encuentra en proceso de revisión por parte del comité editorial de la revista mencionada. Además, se socializaron dichos resultados

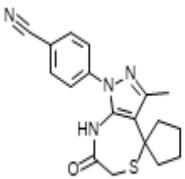
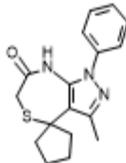
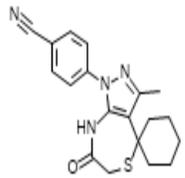
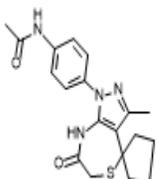
en dos congresos internacionales: 34to Congreso Latinoamericano de Química (CLAQ-2020) celebrado en la ciudad de Cartagena de Indias (Colombia) en noviembre de 2021 con el trabajo titulado: "Evidencia de quiralidad puntual depositada en nitrógeno no cuaternizado en sistemas heterocíclicos de tipo *N*-alquil-espiro[ciclohexano-1,4-pirazolo][1,4]tiazepinónicos" en modalidad ponencia virtual; y en el Congreso Latinoamericano de Química 2022 (CLAQ-2022) en la ciudad de Rio de Janeiro (Brasil) en noviembre de 2022 con el trabajo titulado: "Síntesis paralela combinatoria de aminopirazolil-hidroxiindol-2-onas mediante una sustitución electrofílica heteroaromática no convencional", presentado en modalidad poster.

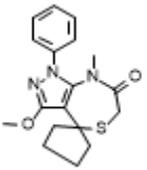
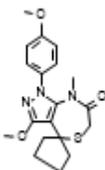
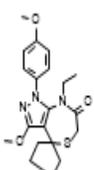
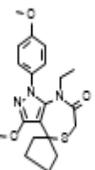
Al momento de presentación de este documento se encuentran en preparación tres manuscritos con resultados directamente vinculados al desarrollo de este trabajo, con el fin de someter los mismos a publicación éste mismo semestre en revistas nacionales o internacionales indexadas; así también, se orientó un semillero de investigación (Semillero GESACH 2021) y se co-dirigió el trabajo de grado de pregrado en química del estudiante Juan Felipe Niño Galindo, titulado: "Estudio de la reacción multicomponente del 5-amino-3-metilsoxazol con ácido mercaptoacético y cetonas cíclicas", derivado también de los resultados de este trabajo y que fue socializado el 2 de diciembre del 2022.

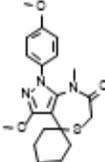
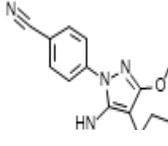
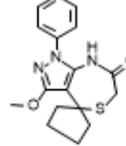
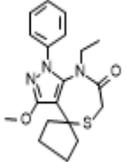
A. Anexo A: Propiedades ADMETox y puntajes de acoplamiento molecular con GABA_A calculadas para la serie A: Espiro pirazolotiazepinonas.

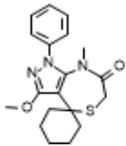
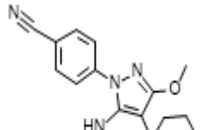
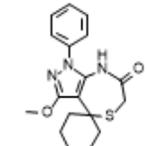
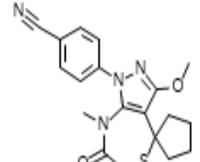
Propiedades ADMETox serie A:

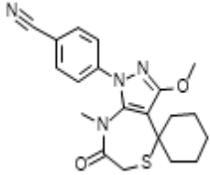
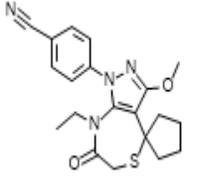
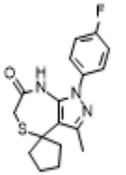
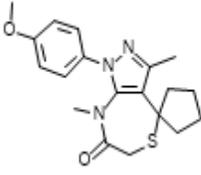
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MW	T_PSA	HB	HB
	TPe	1,906	2,891	Low (92%)	952,06	49,711	21,415	0	0,906	371	84,22	2	5
	TPe1	1,935	2,659	Low (92%)	960,63	44,133	20,974	0	0,935	357	84,22	2	5
	TP10	1,982	3,119	Low (40%)	778,89	11,643	20,272	0	0,982	385	76,02	2	5

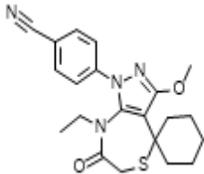
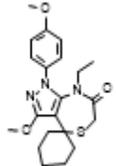
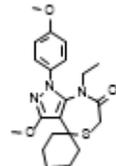
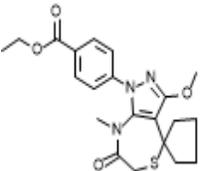
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpTP14	1,242	3,025	High (76%)	722,29	12,235	9,254	0	1	338	70,71	1	4
	CpTP-0	1,697	3,387	High (98%)	843,87	17,223	8,272	0	1	313	46,92	1	3
	TP14	1,906	3,257	High (76%)	719,61	13,858	9,569	0	1	352	70,71	1	4
	TP10es	2	2,891	Low (38%)	784,95	10,304	19,785	0	1	370	76,02	2	5

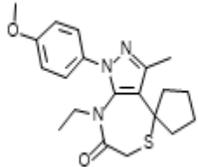
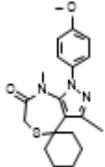
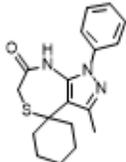
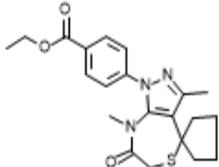
Structure	Identifer	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpMeTPOMe0	2	3,511	High (98%)	385,39	27,145	5,329	0	1	343	47,36	0	4
	cpMeTPOMe6	2	3,239	High (86%)	425,89	24,499	6,611	0	1	373	56,59	0	5
	cpEtTPOMe6	2	3,467	High (86%)	392,59	34,255	7,692	0	1	388	56,59	0	5
	cpBnTPOMe6	2	3,467	High (86%)	392,59	34,255	7,692	0	1	388	56,59	0	5

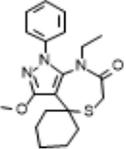
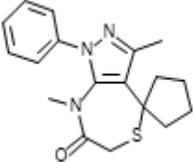
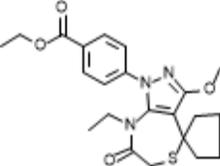
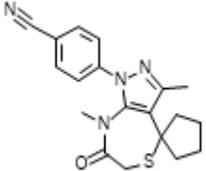
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTPOMe6	2	3,467	High (86%)	427,72	26,839	6,873	0	1	388	56,59	0	5
	cpTPOMe14	2,062	2,927	High (68%)	429,22	18,507	9,656	0	1	354	79,94	1	5
	cpTPOMe0	2,068	3,273	High (98%)	382,49	26,196	8,645	0	1	329	56,15	1	4
	cpEtTPOMe0	2,072	3,743	High (98%)	354,66	39,421	6,196	0	1	357	47,36	0	4

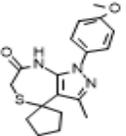
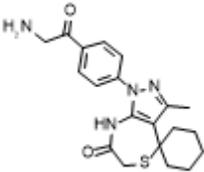
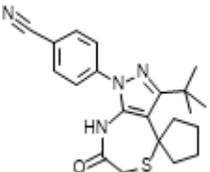
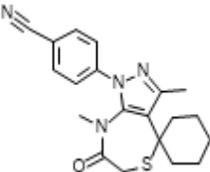
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTPOMe0	2,072	3,743	High (98%)	384,22	28,682	5,541	0	1	357	47,36	0	4
	TPOMe14	2,095	3,159	High (28%)	422,49	19,743	9,985	0	1	368	79,94	1	5
	TPOMe0	2,124	3,511	High (98%)	378,85	27,129	8,968	0	1	343	56,15	1	4
	cpMeTPOMe14	2,193	3,159	High (78%)	416,07	18,626	5,924	0	1	368	71,15	0	5

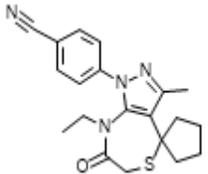
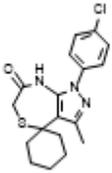
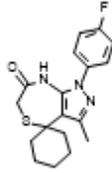
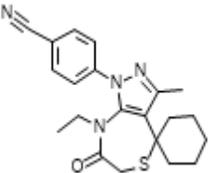
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTPOMe14	2,198	3,387	High (78%)	411,78	20,348	6,153	0	1	382	71,15	0	5
	cpEtTPOMe14	2,198	3,387	High (80%)	384,66	25,751	6,885	0	1	382	71,15	0	5
	CpTP-7	2,198	3,774	High (86%)	413,06	22,062	10,13	0	1	331	46,92	1	3
	cpMeTP6	2,265	3,337	High (86%)	502,36	17,59	6,447	0	1	357	47,36	0	4

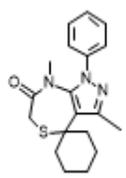
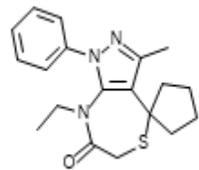
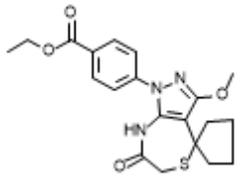
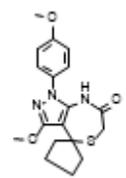
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MW	T_PSA	HB D	HB A
	EtTPOMe14	2,294	3,61	High (80%)	379,99	28,94	7,165	0	1	397	71,15	0	5
	EtTPOMe6	2,362	3,69	High (86%)	392,56	38,594	8,015	0	1	402	56,59	0	5
	BnTPOMe6	2,362	3,69	High (86%)	392,56	38,594	8,015	0	1	402	56,59	0	5
	cpMeTPOMe1	2,369	3,257	High (98%)	425,17	17,482	8,169	0	1	416	73,66	0	6

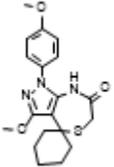
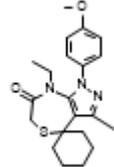
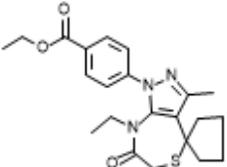
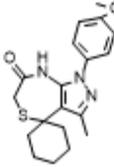
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpEtTP6	2,379	3,564	High (86%)	452,51	25,251	7,475	0	1	372	47,36	0	4
	MeTP6	2,429	3,564	High (86%)	495,96	20,295	6,696	0	1	372	47,36	0	4
	TP-0	2,536	3,624	High (98%)	847,73	19,106	8,573	0	1	327	46,92	1	3
	cpMeTP11	2,545	3,342	High (98%)	642,83	12,58	7,846	0	1	400	64,43	0	5

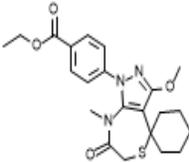
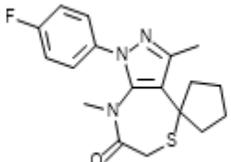
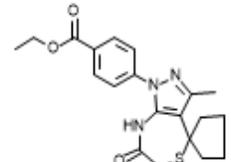
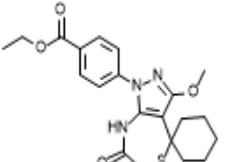
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	EtTPOMe0	2,561	3,97	High (98%)	352,52	42,528	6,451	0	1	372	47,36	0	4
	cpMeTP0	2,589	3,624	High (98%)	847,69	19,549	5,095	0	1	327	38,13	0	3
	cpEtTPOMe11	2,595	3,475	High (98%)	389,72	23,386	9,581	0	1	430	73,66	0	6
	cpMeTP14	2,619	3,257	High (83%)	718,49	13,316	5,678	0	1	352	61,92	0	4

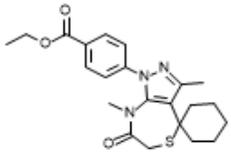
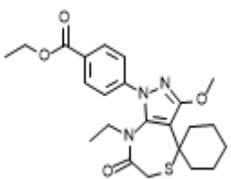
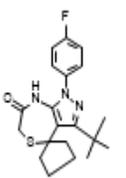
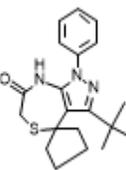
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	CpTP-6	2,669	3,105	High (71%)	535,14	15,739	10,485	0	1	343	56,15	1	4
	TP9	2,694	2,713	High (72%)	771,47	8,328	10,978	0	1	385	90,01	2	5
	cpTPtBu14	2,698	3,708	High (80%)	619,73	16,873	9,501	0	1	381	70,71	1	4
	MeTP14	2,737	3,485	High (81%)	715,88	15,31	5,893	0	1	366	61,92	0	4

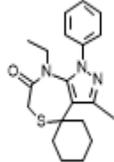
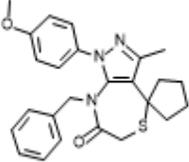
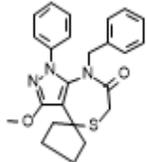
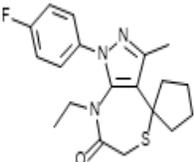
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpEtTP14	2,744	3,485	High (81%)	683,38	18,858	6,573	0	1	366	61,92	0	4
	TP-1	2,795	4,125	High (83%)	1004,8	23,516	8,348	0	1	362	46,92	1	3
	TP-7	2,809	4,009	High (83%)	409,18	24,794	10,453	0	1	345	46,92	1	3
	EtTP14	2,905	3,708	High (81%)	677,97	21,994	6,826	0	1	381	61,92	0	4

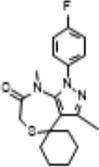
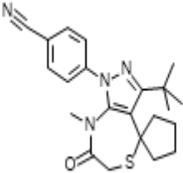
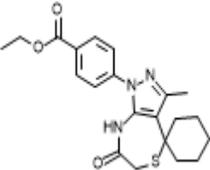
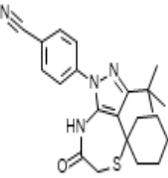
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTP0	2,992	3,857	High (98%)	851,8	21,926	5,291	0	1	341	38,13	0	3
	cpEtTP0	2,995	3,857	High (98%)	834,83	29,545	5,892	0	1	341	38,13	0	3
	cpTPOMe11	3	3,034	High (86%)	417,64	17,73	13,787	0	1	401	82,45	1	6
	cpTPOMe6	3	3,007	High (73%)	434,18	23,804	10,759	0	1	359	65,38	1	5

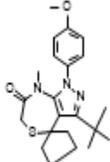
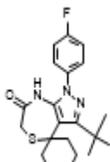
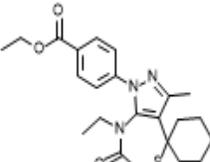
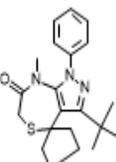
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	TPOMe6	3	3,239	High (73%)	433,42	25,471	11,131	0	1	373	65,38	1	5
	EtTP6	3,057	3,787	High (83%)	444,43	29,549	7,771	0	1	386	47,36	0	4
	cpEtTP11	3,063	3,56	High (98%)	592,9	17,06	9,156	0	1	414	64,43	0	5
	TP-6	3,066	3,337	High (69%)	527,33	17,892	10,845	0	1	357	56,15	1	4

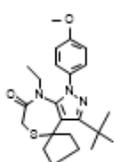
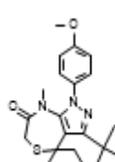
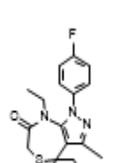
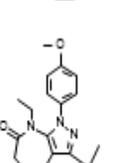
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTPOMe11	3,125	3,475	High (98%)	430,31	19,456	8,473	0	1	430	73,66	0	6
	cpMeTP7	3,187	4,009	High (98%)	396,75	24,553	6,031	0	1	345	38,13	0	3
	cpTP11	3,192	3,119	High (80%)	687,32	11,916	13,295	0	1	385	73,22	1	5
	TPOMe11	3,233	3,257	High (83%)	420,14	19,307	14,202	0	1	416	82,45	1	6

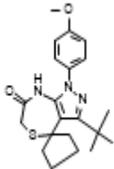
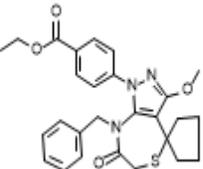
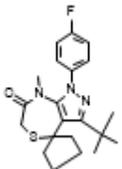
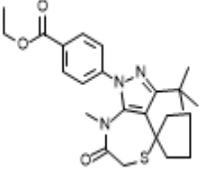
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTP11	3,338	3,56	High (89%)	634,9	14,512	8,133	0	1	414	64,43	0	5
	EtTPOMe11	3,359	3,69	High (98%)	392,87	26,643	9,963	0	1	444	73,66	0	6
	cpTPtBu7	3,408	4,464	High (86%)	348,38	31,777	10,255	0	1	373	46,92	1	3
	cpTPtBu0	3,476	4,084	High (98%)	781,34	26,623	8,577	0	1	356	46,92	1	3

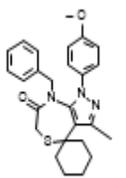
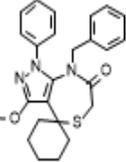
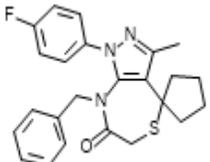
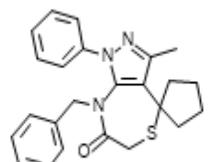
Structure	Identifíer	ADMET_Ris k	Mlog P	BBB_Filte r	Rat_Acut e	Rat_TD5 0	Mouse_TD5 0	MUT_Ris k	TOX_Ris k	MW t	T_PS A	HB D	HB A
	EtTP0	3,543	4,084	High (98%)	834,49	33,315	6,12	0	1	356	38,13	0	3
	cpBnTP6	3,654	4,407	High (73%)	503,81	38,281	7,083	0	1	434	47,36	0	4
	cpBnTPOMe0	3,666	4,605	High (89%)	447,79	44,56	5,562	0	1	420	47,36	0	4
	cpEtTP7	3,708	4,239	High (98%)	390	36,179	6,996	0	1	359	38,13	0	3

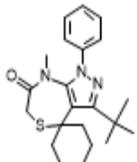
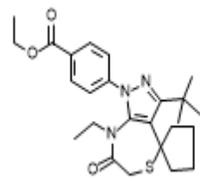
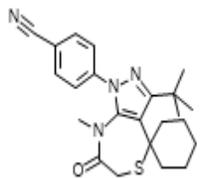
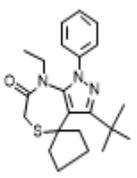
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTP7	3,711	4,239	High (98%)	393,33	27,995	6,249	0	1	359	38,13	0	3
	cpMeTPtBu14	3,743	3,926	High (81%)	605,21	17,448	6,212	0	1	395	61,92	0	4
	TP11	3,792	3,342	High (77%)	676,7	13,548	13,697	0	1	400	73,22	1	5
	TPtBu14	3,813	3,926	High (80%)	624,69	17,883	9,792	0	1	395	70,71	1	4

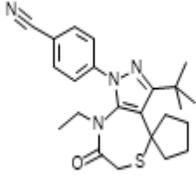
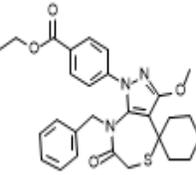
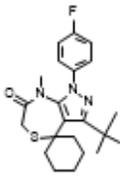
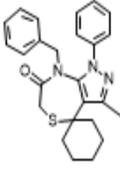
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpMeTPtBu6	3,824	4,006	High (81%)	365,21	23,458	7,039	0	1	400	47,36	0	4
	TPtBu7	3,887	4,685	High (86%)	350,7	32,926	10,554	0	1	388	46,92	1	3
	EtTP11	3,948	3,775	High (89%)	583,28	19,934	9,501	0	1	428	64,43	0	5
	cpMeTPtBu0	3,966	4,307	High (98%)	760,18	28,125	5,617	0	1	370	38,13	0	3

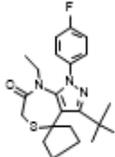
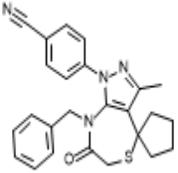
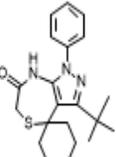
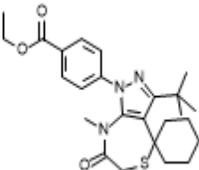
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpEtTPtBu6	4	4,221	High (81%)	344,74	30,608	8,008	0	1	414	47,36	0	4
	MeTPtBu6	4	4,221	High (80%)	367,93	24,756	7,269	0	1	414	47,36	0	4
	EtTP7	4,001	4,464	High (98%)	384,83	41,731	7,254	0	1	373	38,13	0	3
	EtTPtBu6	4,013	4,432	High (78%)	346,47	32,01	8,259	0	1	428	47,36	0	4

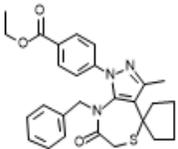
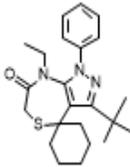
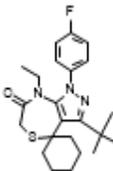
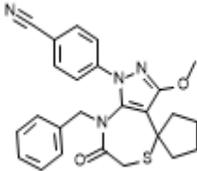
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpTPtBu6	4,062	3,787	High (71%)	391,72	22,114	10,715	0	1	386	56,15	1	4
	cpBnTPOMe11	4,072	4,287	High (76%)	458,16	30,988	8,465	0	1	492	73,66	0	6
	cpMeTPtBu7	4,094	4,685	High (98%)	323,67	33,216	6,548	0	1	388	38,13	0	3
	cpMeTPtBu11	4,121	3,986	High (86%)	479,77	15,286	8,496	0	1	442	64,43	0	5

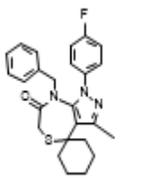
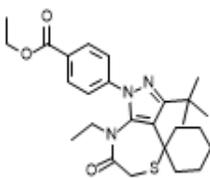
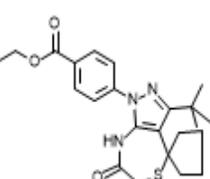
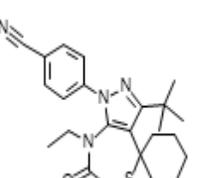
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTP6	4,123	4,611	High (73%)	486,31	51,803	7,433	0	1	448	47,36	0	4
	BnTPOMe0	4,146	4,813	High (83%)	440,19	56,234	5,843	0	1	434	47,36	0	4
	cpBnTP7	4,268	5,091	High (98%)	426,26	52,063	6,488	0	1	422	38,13	0	3
	cpBnTP0	4,293	4,719	High (98%)	938,77	36,411	5,525	0	1	404	38,13	0	3

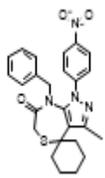
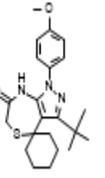
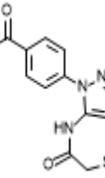
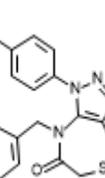
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTPtBu0	4,336	4,526	High (98%)	773,79	28,293	5,807	0	1	384	38,13	0	3
	cpEtPtBu11	4,364	4,194	High (86%)	467,14	19,497	9,72	0	1	456	64,43	0	5
	MeTPtBu14	4,383	4,141	High (81%)	611,83	18,382	6,414	0	1	409	61,92	0	4
	cpEtPtBu0	4,384	4,526	High (98%)	771,32	37,388	6,381	0	1	384	38,13	0	3

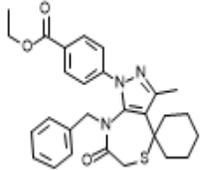
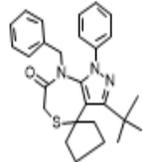
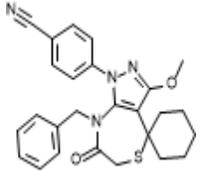
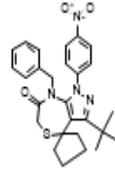
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpEtTPtBu14	4,415	4,141	High (81%)	591,7	22,501	7,062	0	1	409	61,92	0	4
	BnTPOMe11	4,497	4,486	High (75%)	452,4	38,325	8,868	0	1	506	73,66	0	6
	MeTPtBu7	4,566	4,902	High (98%)	327,24	34,24	6,754	0	1	402	38,13	0	3
	BnTP0	4,582	4,927	High (98%)	939,87	46,947	5,782	0	1	418	38,13	0	3

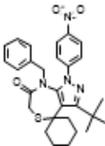
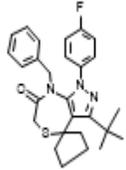
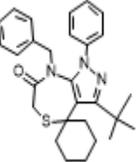
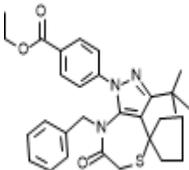
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpEtTPtBu7	4,589	4,902	High (98%)	329,35	43,717	7,455	0	1	402	38,13	0	3
	cpBnTP14	4,634	4,333	High (83%)	752,75	28,649	6,228	0	1	429	61,92	0	4
	TPtBu0	4,638	4,307	High (98%)	793,05	26,858	8,861	0	1	370	46,92	1	3
	MeTPtBu11	4,689	4,194	High (83%)	485,1	16,591	8,752	0	1	456	64,43	0	5

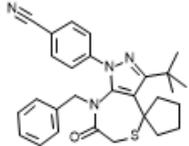
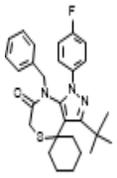
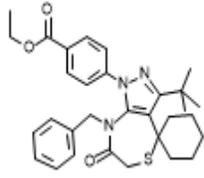
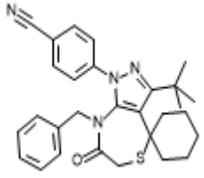
Structure	Identifler	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpBnTP11	4,805	4,373	High (74%)	656,85	22,781	8,422	0	1	476	64,43	0	5
	EtTPtBu0	4,826	4,741	High (98%)	782,83	37,379	6,592	0	1	398	38,13	0	3
	EtTPtBu7	4,83	5,115	High (98%)	332,02	44,697	7,682	0	1	416	38,13	0	3
	cpBnTPOMe14	4,846	4,235	High (71%)	456,42	38,189	6,265	0	1	445	71,15	0	5

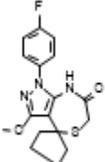
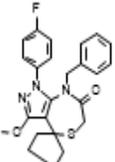
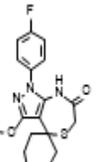
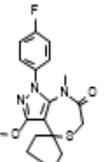
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTP7	4,861	5,297	High (98%)	421,78	71,499	6,806	0	1	436	38,13	0	3
	EtTPtBu11	4,888	4,398	High (86%)	471,39	20,998	9,997	0	1	470	64,43	0	5
	cpTPtBu11	4,943	3,775	High (76%)	518,02	14,902	13,365	0	1	428	73,22	1	5
	EtTPtBu14	4,952	4,352	High (81%)	596,94	23,499	7,282	0	1	423	61,92	0	4

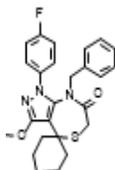
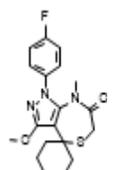
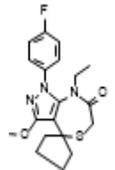
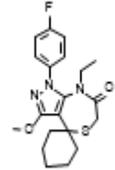
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTP2	4,98	4,974	High (89%)	957,31	24,287	6,708	0	1	463	83,95	0	5
	TPtBu6	5	4,006	High (68%)	392,55	23,48	11,043	0	1	400	56,15	1	4
	TPtBu11	5,013	3,986	High (73%)	520,55	16,229	13,72	0	1	442	73,22	1	5
	BnTP14	5,377	4,537	High (81%)	743,94	38,625	6,53	0	1	443	61,92	0	4

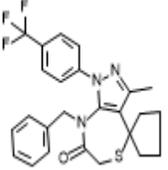
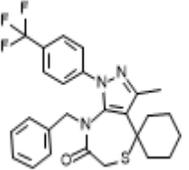
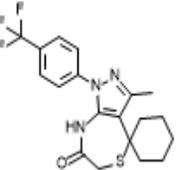
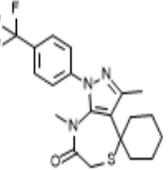
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTP11	5,427	4,571	High (74%)	635,4	28,794	8,798	0	1	490	64,43	0	5
	cpBnTPtBu0	5,444	5,332	High (98%)	824,26	32,772	5,899	0	1	446	38,13	0	3
	BnTPOMe14	5,46	4,439	High (71%)	446,41	50,043	6,589	0	1	459	71,15	0	5
	cpBnTPtBu2	5,575	5,379	High (83%)	862,2	20,08	6,828	0	1	491	83,95	0	5

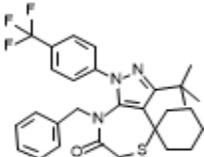
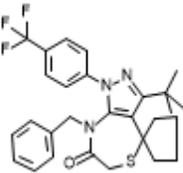
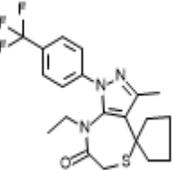
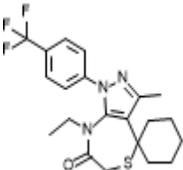
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTPtBu2	5,783	5,578	High (83%)	879,34	24,08	7,095	0	1	505	83,95	0	5
	cpBnTPtBu7	6,129	5,7	High (86%)	350,79	51,427	6,886	0	1	464	38,13	0	3
	BnTPtBu0	6,28	5,53	High (98%)	835,65	39,808	6,153	0	1	460	38,13	0	3
	cpBnTPtBu11	6,281	4,959	High (73%)	495,55	25,218	8,951	0	1	518	64,43	0	5

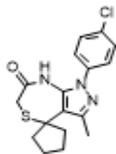
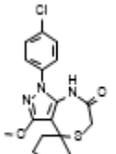
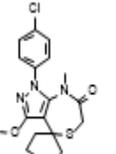
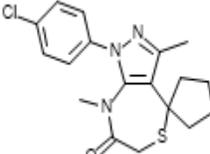
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpBnTPtBu14	6,783	4,937	High (83%)	632,55	30,948	6,676	0	1	471	61,92	0	4
	BnTPtBu7	7,043	5,896	High (86%)	352,7	64,647	7,186	0	1	478	38,13	0	3
	BnTPtBu11	7,174	5,149	High (72%)	492,34	29,78	9,291	0	1	532	64,43	0	5
	BnTPtBu14	7,299	5,132	High (83%)	635,02	38,415	6,962	0	1	485	61,92	0	4

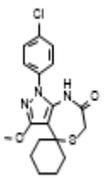
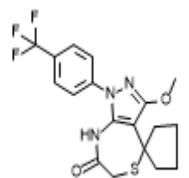
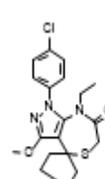
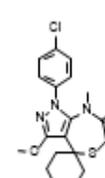
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpTPOMe7	2,095	3,661	High (76%)	311,19	34,348	10,547	0	1,073	347	56,15	1	4
	cpBnTPOMe7	3,773	4,978	High (74%)	305,5	67,434	6,515	0	1,121	438	47,36	0	4
	TPOMe7	2,665	3,895	High (75%)	304,09	36,075	10,894	0	1,133	361	56,15	1	4
	cpMeTPOMe7	2,482	3,895	High (86%)	301,27	34,829	6,29	0	1,156	361	47,36	0	4

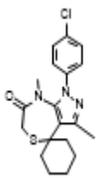
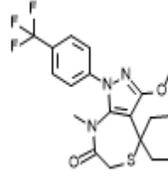
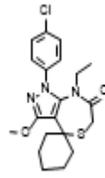
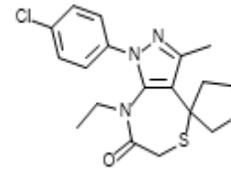
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTPOMe7	4,658	5,183	High (74%)	298,23	89,343	6,854	0	1,181	452	47,36	0	4
	MeTPOMe7	3	4,125	High (86%)	296,17	37,45	6,525	0	1,199	375	47,36	0	4
	cpEtTPOMe7	3,114	4,125	High (89%)	275,99	49,542	7,335	0	1,367	375	47,36	0	4
	EtTPOMe7	3,691	4,351	High (86%)	270,76	54,704	7,623	0	1,41	389	47,36	0	4

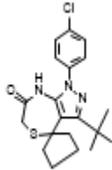
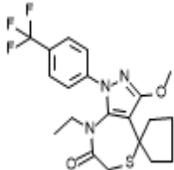
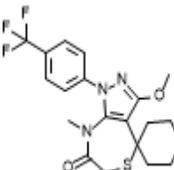
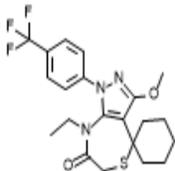
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpBnTP12	6,637	5,5	High (98%)	260,26	11,225	6,001	0	1,498	472	38,13	0	3
	BnTP12	6,98	5,7	High (98%)	260,19	14,325	6,286	0	1,498	486	38,13	0	3
	TP12	5,519	4,464	High (89%)	219,98	6,504	9,14	0	1,834	395	46,92	1	3
	MeTP12	5,384	4,685	High (98%)	212,31	6,746	5,674	0	1,897	409	38,13	0	3

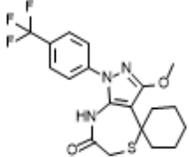
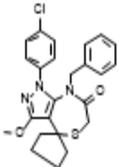
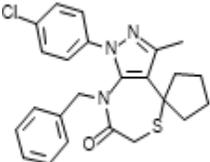
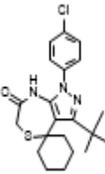
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTPtBu12	9,222	6,282	High (89%)	208,8	14,436	6,597	0	1,927	528	38,13	0	3
	cpBnTPtBu12	8,46	6,091	High (89%)	204,29	12,153	6,354	0	1,964	514	38,13	0	3
	cpEtTP12	5,509	4,685	High (98%)	203,47	7,96	6,324	0	1,971	409	38,13	0	3
	EtTP12	5,742	4,902	High (98%)	201,4	9,222	6,563	0	1,988	424	38,13	0	3

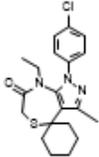
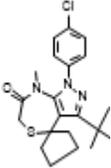
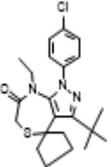
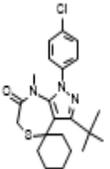
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	CpTP-1	2,79	3,892	High (86%)	1028,6	20,958	8,081	0	2	348	46,92	1	3
	cpTPOMe1	3,394	3,779	High (74%)	473,95	32,254	8,478	0	2	364	56,15	1	4
	cpMeTPOMe1	3,627	4,011	High (86%)	473,62	33,062	5,344	0	2	378	47,36	0	4
	cpMeTP1	3,699	4,125	High (98%)	1023,1	23,506	5,106	0	2	362	38,13	0	3

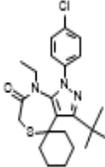
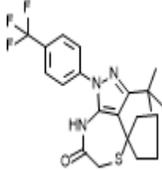
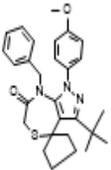
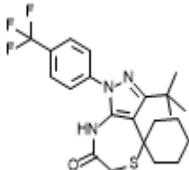
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	TPOMe1	4,175	4,011	High (74%)	451,22	33,856	8,764	0	2	378	56,15	1	4
	cpTPOMe12	4,202	4,125	High (86%)	169,22	8,265	9,235	0	2	397	56,15	1	4
	cpEtTPOMe1	4,203	4,238	High (89%)	445,36	46,968	6,138	0	2	392	47,36	0	4
	MeTPOMe1	4,31	4,238	High (86%)	453,41	35,512	5,534	0	2	392	47,36	0	4

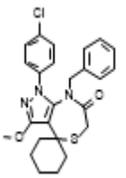
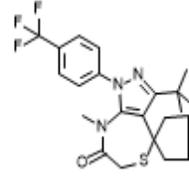
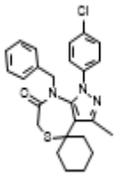
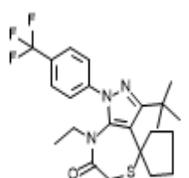
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTP1	4,454	4,352	High (98%)	999,01	26,74	5,282	0	2	376	38,13	0	3
	cpMeTPOMe1 2	4,502	4,351	High (98%)	168,01	7,917	5,698	0	2	411	47,36	0	4
	EtTPOMe1	4,736	4,461	High (86%)	425,43	51,794	6,367	0	2	406	47,36	0	4
	cpEtTP1	4,853	4,352	High (98%)	1025,1	34,505	5,831	0	2	376	38,13	0	3

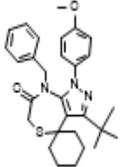
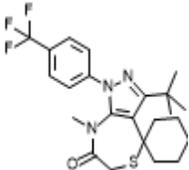
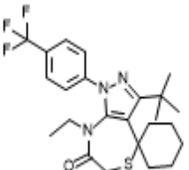
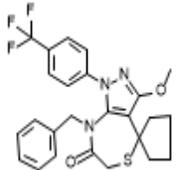
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpTPtBu1	4,872	4,575	High (86%)	1037,7	30,444	8,318	0	2	390	46,92	1	3
	cpEtTPOMe12	4,983	4,571	High (98%)	153,61	10,533	6,605	0	2	425	47,36	0	4
	MeTPOMe12	5	4,571	High (98%)	165,84	8,708	5,902	0	2	425	47,36	0	4
	EtTPOMe12	5	4,788	High (98%)	151,67	11,872	6,86	0	2	440	47,36	0	4

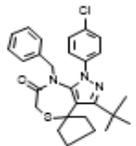
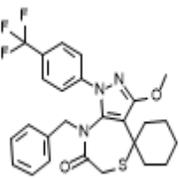
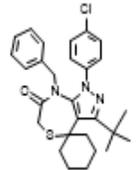
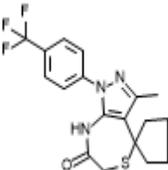
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	TPOMe12	5	4,351	High (89%)	165,94	8,894	9,535	0	2	411	56,15	1	4
	cpBnTPOMe1	5,045	5,081	High (70%)	388,81	63,363	5,58	0	2	454	47,36	0	4
	cpBnTP1	5,053	5,195	High (89%)	883,75	49,143	5,508	0	2	438	38,13	0	3
	TPtBu1	5,127	4,794	High (86%)	1021,1	31,502	8,571	0	2	404	46,92	1	3

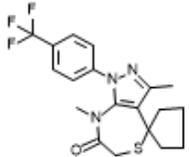
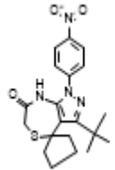
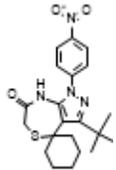
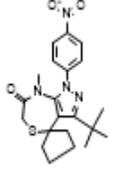
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	EtTP1	5,189	4,575	High (98%)	996,62	39,709	6,035	0	2	390	38,13	0	3
	cpMeTPtBu1	5,299	4,794	High (98%)	993,21	32,075	5,551	0	2	404	38,13	0	3
	cpEtTPtBu1	5,631	5,009	High (98%)	1014,8	42,092	6,232	0	2	418	38,13	0	3
	MeTPtBu1	5,633	5,009	High (98%)	978,87	33,008	5,718	0	2	418	38,13	0	3

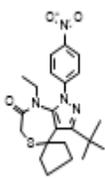
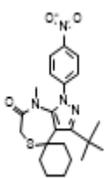
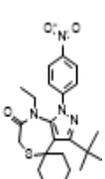
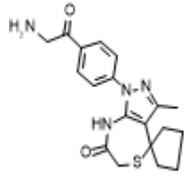
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	EtTPtBu1	5,661	5,22	High (98%)	998,19	42,962	6,414	0	2	432	38,13	0	3
	cpTPtBu12	5,713	4,902	High (89%)	176,41	7,223	8,966	0	2	424	46,92	1	3
	cpBnTPtBu6	5,822	5,011	High (70%)	374,4	41,921	7,566	0	2	476	47,36	0	4
	TPtBu12	5,839	5,115	High (89%)	178,91	7,776	9,224	0	2	438	46,92	1	3

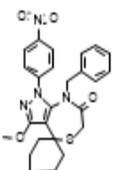
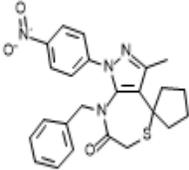
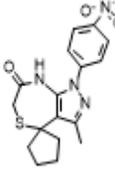
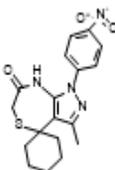
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTPOMe1	5,955	5,285	High (70%)	380,77	83,937	5,854	0	2	468	47,36	0	4
	cpMeTPtBu12	6,162	5,115	High (98%)	168,43	7,122	5,906	0	2	438	38,13	0	3
	BnTP1	6,179	5,399	High (89%)	888,13	67,344	5,759	0	2	452	38,13	0	3
	cpEtTPtBu12	6,379	5,324	High (98%)	165,23	9,005	6,689	0	2	452	38,13	0	3

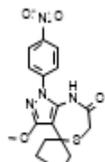
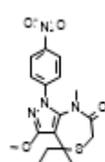
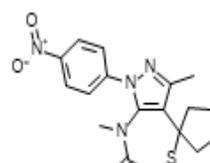
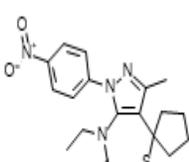
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTPtBu6	6,494	5,206	High (70%)	369,78	52,195	7,892	0	2	490	47,36	0	4
	MeTPtBu12	6,521	5,324	High (98%)	171,68	7,647	6,071	0	2	452	38,13	0	3
	EtTPtBu12	6,816	5,53	High (98%)	168,32	9,596	6,864	0	2	466	38,13	0	3
	cpBnTPOMe12	7,153	5,386	High (86%)	194,39	14,824	6,009	0	2	488	47,36	0	4

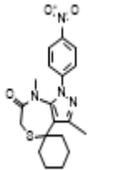
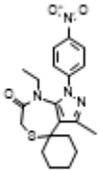
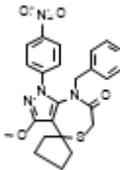
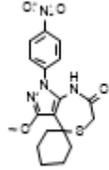
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpBnTPtBu1	7,586	5,798	High (83%)	807,88	49,12	5,858	0	2	480	38,13	0	3
	BnTPOMe12	7,651	5,586	High (86%)	193,26	18,532	6,3	0	2	502	47,36	0	4
	BnTPtBu1	8,691	5,994	High (83%)	817,89	61,526	6,099	0	2	494	38,13	0	3
	cpTP12	5,351	4,239	High (89%)	222,47	5,773	8,845	0	2,104	381	46,92	1	3

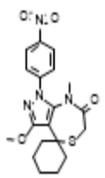
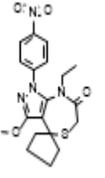
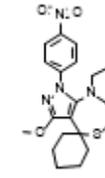
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpMeTP12	5,28	4,464	High (98%)	213,99	5,899	5,473	0	2,124	395	38,13	0	3
	cpTPtBu2	2,719	4,131	High (86%)	842,42	11,837	10,086	0,3	1	401	92,74	1	5
	TPtBu2	3,239	4,354	High (83%)	839,98	12,601	10,367	0,3	1	415	92,74	1	5
	cpMeTPtBu2	3,728	4,354	High (98%)	820,9	11,802	6,478	0,3	1	415	83,95	0	5

Structure	Identifler	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpEtTPtBu2	3,751	4,573	High (98%)	834,93	14,672	7,338	0,3	1	429	83,95	0	5
	MeTPtBu2	3,753	4,573	High (98%)	820,88	12,505	6,667	0,3	1	429	83,95	0	5
	EtTPtBu2	3,785	4,788	High (98%)	835,67	15,437	7,544	0,3	1	443	83,95	0	5
	TPes	2,434	2,485	High (72%)	749,47	7,35	10,646	0,6	1	370	90,01	2	5

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	BnTPOMe2	4,256	4,899	High (72%)	345,73	32,617	6,868	0,9	1	479	93,18	0	6
	cpBnTP2	4,444	4,766	High (89%)	950,58	18,776	6,422	0,9	1	449	83,95	0	5
	CpTP-2	2,501	3,434	High (86%)	922,42	9,257	9,939	1,2	2	358	92,74	1	5
	TP-2	2,527	3,672	High (86%)	903,87	10,381	10,247	1,2	2	372	92,74	1	5

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	cpTPOMe2	2,932	3,36	High (81%)	329,74	13,6	10,546	1,2	2	374	101,97	1	6
	cpMeTPOMe2	3	3,597	High (83%)	324,82	13,672	6,343	1,2	2	388	93,18	0	6
	cpMeTP2	3,594	3,672	High (98%)	920,39	9,633	5,999	1,2	2	372	83,95	0	5
	cpEtTP2	3,968	3,904	High (98%)	911,91	12,877	6,915	1,2	2	386	83,95	0	5

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTP2	3,97	3,904	High (98%)	901,59	10,969	6,204	1,2	2	386	83,95	0	5
	EtTP2	4,379	4,131	High (98%)	893,73	14,879	7,157	1,2	2	401	83,95	0	5
	cpBnTPOMe2	4,815	4,692	High (73%)	348,62	25,843	6,556	1,2	2	465	93,18	0	6
	TPOMe2	3,128	3,597	High (77%)	317,46	14,477	10,875	1,2	2,021	388	101,97	1	6

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HB D	HB A
	MeTPOMe2	3,266	3,83	High (83%)	313,95	14,899	6,564	1,2	2,05	402	93,18	0	6
	cpEtTPOMe2	3,363	3,83	High (83%)	302,33	17,888	7,359	1,2	2,147	402	93,18	0	6
	EtTPOMe2	3,818	4,057	High (83%)	293,25	20,035	7,631	1,2	2,223	417	93,18	0	6

Puntajes de acoplamiento molecular serie A.

Código	Score ADT	Scaled score ADT	Score VINA	Scaled score VINA	Score DOCK6	Scaled score DOCK6	Afin promedio
cpTP0	-8,45	0,45	-9,0	0,85	-37,36	0,90	0,73
cpTP7	-8,89	0,57	-9,2	0,91	-27,963	0,70	0,73
cpTP6	-8,58	0,49	-9,0	0,85	-32,326	0,79	0,71
cpTP1	-8,49	0,46	-9,1	0,88	-24,519	0,63	0,66
cpMeTP6	-8,96	0,59	-8,1	0,59	-32,612	0,80	0,66
cpTPOMe11	-8,63	0,50	-8,1	0,59	-35,716	0,86	0,65
cpMeTP1	-8,87	0,56	-8,4	0,68	-27,097	0,68	0,64
cpTP11	-8,39	0,44	-8,4	0,68	-32,397	0,79	0,64
cpMeTP7	-8,69	0,52	-8,4	0,68	-28,405	0,71	0,63
TP6	-8,45	0,45	-9,0	0,85	-19,181	0,51	0,61
cpMeTP0	-8,87	0,56	-8,3	0,65	-23,337	0,60	0,60
MeTP6	-8,81	0,55	-8,1	0,59	-25,973	0,66	0,60
MeTP7	-8,63	0,50	-8,4	0,68	-22,953	0,59	0,59
cpEtTP0	-8,9	0,57	-7,8	0,50	-26,723	0,67	0,58
TP0	-8,03	0,35	-8,7	0,76	-24,676	0,63	0,58
TPOMe11	-7,9	0,31	-8,2	0,62	-33,203	0,81	0,58
EtTP1	-9,25	0,66	-7,3	0,35	-28,052	0,70	0,57
cpTPOMe14	-8,2	0,39	-8,1	0,59	-29,592	0,73	0,57
cpTPOMe6	-7,94	0,32	-8,2	0,62	-29,517	0,73	0,56
TP11	-8,31	0,42	-7,7	0,47	-31,483	0,77	0,55
cpMeTPOMe11	-8,18	0,38	-7,4	0,38	-36,989	0,89	0,55
cpMeTP11	-7,88	0,31	-7,7	0,47	-36,279	0,87	0,55
cpTP14	-8,11	0,37	-8,3	0,65	-24,922	0,64	0,55
cpEtTP7	-8,26	0,41	-7,9	0,53	-27,718	0,69	0,54
cpEtTP6	-8,25	0,40	-7,7	0,47	-30,14	0,74	0,54

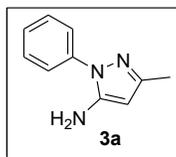
Código	Score ADT	Scaled score ADT	Score VINA	Scaled score VINA	Score DOCK6	Scaled score DOCK6	Afin promedio
MeTP1	-9,12	0,63	-7,4	0,38	-23,55	0,61	0,54
EtTP6	-8,86	0,56	-7,1	0,29	-30,274	0,75	0,53
cpTPOMe1	-8,03	0,35	-8,0	0,56	-26,63	0,67	0,53
EtTP7	-8,88	0,57	-7,3	0,35	-25,668	0,65	0,52
TP1	-8,07	0,36	-8,9	0,82	-13,241	0,39	0,52
EtTP11	-8,28	0,41	-7,4	0,38	-30,78	0,76	0,52
cpMeTPOMe12	-7,7	0,26	-8,0	0,56	-28,808	0,72	0,51
EtTPOMe11	-8,13	0,37	-7,1	0,29	-36,077	0,87	0,51
TP7	-7,89	0,31	-9,0	0,85	-12,028	0,36	0,51
MeTPOMe11	-7,8	0,29	-7,5	0,41	-33,966	0,83	0,51
MeTP11	-7,93	0,32	-7,5	0,41	-31,337	0,77	0,50
TPOMe6	-7,38	0,18	-8,1	0,59	-29,528	0,73	0,50
MeTP0	-8,86	0,56	-8,2	0,62	-9,5961	0,31	0,50
cpTPOMe7	-7,69	0,26	-8,0	0,56	-26,441	0,67	0,49
cpTPOMe0	-7,68	0,25	-7,7	0,47	-29,151	0,72	0,48
TP14	-8,26	0,41	-7,5	0,41	-24,285	0,62	0,48
EtTP0	-8,89	0,57	-6,8	0,21	-25,786	0,65	0,48
MeTPOMe1	-8	0,34	-7,3	0,35	-29,203	0,73	0,47
cpEtTP11	-7,62	0,24	-7,4	0,38	-32,086	0,79	0,47
cpEtTP1	-8,66	0,51	-6,8	0,21	-27,036	0,68	0,46
cpEtTP14	-8,1	0,36	-7,2	0,32	-27,258	0,68	0,46
MeTP14	-8,07	0,36	-7,4	0,38	-24,278	0,62	0,45
cpMeTP14	-7,89	0,31	-7,3	0,35	-26,47	0,67	0,44
cpEtTPOMe11	-7,92	0,32	-7,2	0,32	-26,156	0,66	0,43
cpMeTPOMe1	-7,94	0,32	-7,0	0,26	-28,651	0,71	0,43
cpMeTPOMe14	-8,09	0,36	-6,8	0,21	-29,585	0,73	0,43

Código	Score ADT	Scaled score ADT	Score VINA	Scaled score VINA	Score DOCK6	Scaled score DOCK6	Afin promedio
EtTP14	-8,24	0,40	-6,9	0,24	-25,522	0,65	0,43
MeTPOMe14	-7,7	0,26	-7,1	0,29	-29,273	0,73	0,43
TPOMe1	-7,57	0,23	-7,2	0,32	-29,371	0,73	0,43
EtTPOMe0	-8,01	0,34	-6,6	0,15	-30,339	0,75	0,41
MeTPOMe6	-7,56	0,22	-7,0	0,26	-29,818	0,74	0,41
EtTPOMe14	-7,64	0,24	-6,8	0,21	-30,893	0,76	0,40
cpMeTPOMe6	-7,62	0,24	-6,8	0,21	-30,52	0,75	0,40
EtTPOMe1	-7,88	0,31	-6,6	0,15	-30,075	0,74	0,40
cpMeTPOMe0	-7,51	0,21	-7,1	0,29	-26,958	0,68	0,39
cpEtTPOMe14	-7,83	0,29	-6,6	0,15	-29,229	0,73	0,39
cpEtTPOMe1	-7,76	0,28	-6,6	0,15	-29,038	0,72	0,38
cpEtTPOMe0	-7,99	0,34	-6,4	0,09	-28,319	0,71	0,38
TPOMe0	-7,34	0,17	-6,9	0,24	-28,997	0,72	0,37
MeTPOMe0	-7,61	0,24	-6,8	0,21	-26,427	0,67	0,37
cpEtTPOMe6	-7,55	0,22	-6,6	0,15	-29,762	0,74	0,37
TPOMe7	-7,02	0,08	-7,2	0,32	-27,267	0,68	0,36
cpMeTPOMe7	-7,39	0,18	-6,8	0,21	-27,541	0,69	0,36
EtTPOMe6	-7,48	0,20	-6,4	0,09	-30,985	0,76	0,35

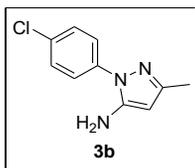
B. Anexo B: Sección experimental Serie A: Espiro pirazolotiazepinonas.

Procedimiento general para la síntesis de los 5-amino-1-aryl-3-metil-1H-pirazoles (3a – f): A una solución agitada de la correspondiente hidracina (10 mmoles) en ácido clorhídrico concentrado (5 mL) se adicionaron 820 mg (10 mmoles) de β -aminocrotononitrilo. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 10 minutos; luego se adicionaron 5 mL de HCl concentrado y se calentó la mezcla por 15 minutos más. Después de completada la reacción se adicionó hielo picado y se neutralizó adicionando amoniaco concentrado por goteo lento; el precipitado obtenido se filtró al vacío y se lavó con agua destilada obteniéndose el compuesto deseado.

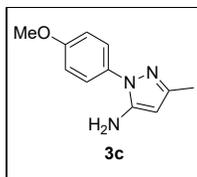
5-Amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol (3a).



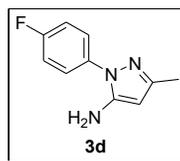
Sólido color crema (Rend: 82 %), pf: 109-110°C (Reportado 111°C)¹. IR (KBr):(ν_{\max} cm⁻¹): 3447, 3134, 2917, 1623, 1554, 1039, 761. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ : 2.18 (3H, s, -CH₃), 3.72 (2H, s, -NH₂), 5.40 (1H, s, C-H), 7.25 (1H, t, J = 7.18 Hz, -C-H), 7.40 (2H, t, J = 7.57 Hz, -C-H), 7.48 (2H, d, J = 7.48 Hz, -C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃): δ : 13.9, 90.7, 123.8, 127.1, 129.4, 138.6, 145.3, 149.4.

5-Amino-1-[4-clorofenil]-3-metil-1H-pirazol (3b).

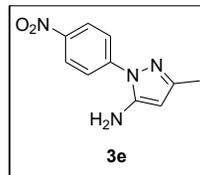
Sólido color crema (Rend: 80 %), pf: 109-111°C. (Reportado 109 – 110°C)²² IR (KBr): (ν_{\max} cm⁻¹): 3366, 3201, 2918, 1624, 1563, 1039, 837, 758. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ : 2.22 (3H, s, -CH₃), 3.74 (2H, s, -NH₂), 5.46 (1H, s, C-H), 7.41 (2H, d, J = 8.80 Hz, -C-H), 7.51 (2H, d, J = 8.80 Hz, -C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃): δ : 13.9, 91.3, 119.9, 124.8, 128.9, 129.5, 132.5, 149.8.

5-Amino-1-[4-metoxifenil]-3-metil-1H-pirazol (3c).

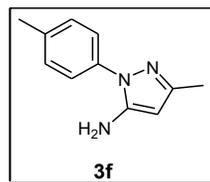
Sólido color crema (Rend: 73 %), pf: 110-112°C. (Reportado 111°C)¹ IR (KBr):(ν_{\max} cm⁻¹): 3388, 3297, 2940, 1624, 1562, 1020, 756. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ : 2.22 (3H, s, -CH₃), 3.70 (2H, s, -NH₂), 3.83 (3H, s, -CH₃), 5.42 (1H, s, C-H), 6.96 (2H, d, J = 8.71 Hz, -C-H), 7.42 (2H, d, J = 8.71 Hz, -C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃): δ : 13.9, 55.5, 90.2, 114.6, 125.9, 131.4, 145.3, 148.9, 158.8.

5-Amino-1-[4-fluorofenil]-3-metil-1H-pirazol (3d).

Sólido beige (Rend: 75 %), pf: 109-110°C. (Reportado 108 - 110°C)²³ IR (KBr):(v_{max} cm⁻¹): 3408, 3292, 3173, 1626, 1569, 1034, 839, 740. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ: 2.21 (3H, s, -CH₃), 3.72 (2H, s, -NH₂), 5.44 (1H, s, C-H), 7.14 (2H, m, -C-H), 7.51 (2H, m, -C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃): δ: 14.0, 91.0, 116.3, 116.5, 125.9, 126.0 134.8, 145.4, 149.6, 160.3, 162.8.

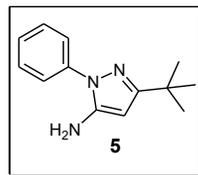
5-Amino-1-[4-nitrofenil]-3-metil-1H-pirazol (3e).

Sólido amarillo (Rend: 72 %), pf: 158-159°C. (Reportado 161 - 162°C)¹ IR (KBr):(v_{max} cm⁻¹): 3400, 3290, 3180, 1435, 1626, 1569, 1001, 744. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ: 2.23 (3H, s, -CH₃), 3.86 (2H, s, -NH₂), 5.53 (1H, s, C-H), 7.85 (2H, d, J = 8.96 Hz, -C-H), 8.29 (2H, d, J = 8.96 Hz, -C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃): δ: 14.1, 93.5, 122.3, 125.2, 144.5, 144.9, 145.9, 151.5.

5-Amino-1-[4-tolil]-3-metil-1H-pirazol (3f).

Sólido crema (Rend: 78 %), pf: 128-131°C. (Reportado 128 - 129°C)¹ IR (KBr):(v_{max} cm⁻¹): 3420, 3280, 3150, 2980, 2720, 1626, 1556, 1001, 755, 694. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ: 2.10 (3H, s, -CH₃), 2.26 (3H, s, -CH₃), 4.75 (2H, s, -NH₂), 5.25 (1H, s, C-H), 7.22 (2H, d, J = 7.61 Hz, -C-H), 7.37 (2H, d, J = 7.61 Hz, -C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃): δ: 14.1, 21.2, 90.3, 122.3, 129.2, 136.2, 138.5, 146.4, 144.9, 149.9.

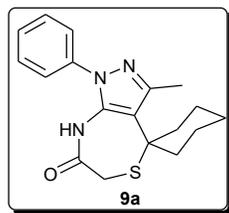
Procedimiento general para la síntesis del 5-amino-1-fenil-3-(*t*-butil)-1H-pirazoles (5): En un tubo sellado para reacciones en microondas se mezclan 1 mmol de fenilhidrazina, con 1.1 mmoles de pivaloil acetonitrilo y se disuelven en 5 mL de HCl (3M), se sella el tubo y se irradia con agitación magnética en el reactor CEM a 120°C con 200 W de potencia por 20 minutos. La mezcla se deja enfriar y se neutraliza con solución de hidróxido de sodio (2M) en un baño de hielo; el precipitado formado se filtra al vacío y se lava con agua destilada, se deja secar a temperatura ambiente obteniéndose el producto de interés.

5-Amino-1-fenil-3-(*t*-butil)-1H-pirazol (5).

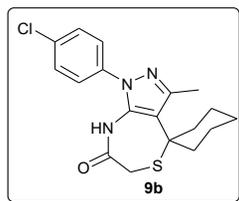
Sólido crema (Rend: 60 %), pf: 57-59°C. (Reportado 65 - 67°C)¹ IR (KBr):(ν_{\max} cm⁻¹): 3420, 3280, 3150, 2980, 2720, 1626, 1556, 1001, 755, 694. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ : 1.34 (9H, s, -CH₃), 2.26 (3H, s, -CH₃), 3.77 (2H, s, -NH₂), 5.55 (1H, s, -C-H), 7.45 (1H, m, -C-H), 7.58 (2H, m, -C-H), 7.59 (2H, m, -C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃): δ : 30.3, 32.3, 87.7, 124.0, 126.9, 129.4, 138.9, 144.8, 162.4.

Procedimiento general para la síntesis de las espiro[cicloalcano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7(6'H)-onas (9a - f): 1 mmol del correspondiente aminopirazol fue mezclada con 2 mmoles de la cetona cíclica y 3 mmoles de ácido mercaptoacético en 20 mL de benceno seco. La mezcla resultante fue calentada a reflujo por 24 horas usando una trampa Dean – Stark. El crudo de reacción se dejó enfriar y se agitó a temperatura ambiente por toda la noche. El sólido resultante fue filtrado al vacío y se lavó con benceno frío y luego agua obteniéndose los compuestos mencionados. En los casos donde los compuestos no precipitaron, se evaporó el disolvente y se recristalizó el crudo de reacción con etanol.

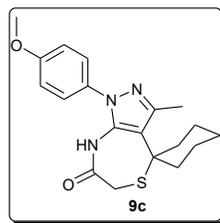
3'-metil-1'-fenil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (9a).



Sólido blanco (Rend: 74%), pf: 257 – 258°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm⁻¹): 3075, 2927, 2854, 1679, 767. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ : 1.29 (1H, qt, J = 12.8 Hz, 3.7 Hz, -CH₂), 1.65 (2H, dd, J = 13.7 Hz, 3.2 Hz, -CH₂), 1.81 (3H, m, -CH₂), 2.15 (4H, m, -CH₂), 2.51 (3H, s, -CH₃), 3.23 (2H, s, -CH₂), 7.25 (1H, s, -NH), 7.41 (3H, m, -C-H), 7.50 (2H, m, -C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃): δ : 16.9, 22.1, 25.4, 31.0, 37.1, 49.5, 115.4, 125.4, 128.7, 129.8, 133.4, 137.2, 146.3, 171.3. HRMS (ESI) m/z [M+H]⁺ Calculado para C₁₈H₂₁N₃O₂S: 328.147809; experimental: 328.151540.

1'-(4-clorofenil)-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (9b).

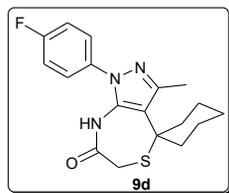
Sólido blanco (Rend: 70%), pf: 230 – 231°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2944, 2857, 1689, 773, 700. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.26 (1H, qt, $J = 12.8$ Hz, 3.8 Hz, $-\text{CH}_2$), 1.63 (2H, dd, $J = 13.7$ Hz, 3.3 Hz, $-\text{CH}_2$), 1.74 - 1.81 (3H, m, $-\text{CH}_2$), 2.08 - 2.18 (4H, m, $-\text{CH}_2$), 2.47 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.18 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.35 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.40 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.44 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 16.8, 22.1, 25.3, 31.0, 37.2, 49.4, 115.9, 126.4, 129.9, 133.5, 135.9, 146.7, 171.4. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{OS}$: 362.108836; experimental: 362.109837.

1'-(4-metoxifenil)-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (9c).

Sólido blanco -amarillo (Rend: 76%), pf: 258 – 259°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2958, 2927, 1691, 1571, 1030. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.22 – 1.32 (1H, m, $-\text{CH}_2$), 1.62 – 1.65 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 1.75 - 1.90 (3H, m, $-\text{CH}_2$), 2.05 (2H, d, $J = 13.6$ Hz, $-\text{CH}_2$), 2.13 – 2.21 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.48 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.21 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.84 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 6.97 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.06 (1H, s, $-\text{N-H}$), 7.27

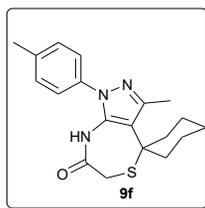
(2H, d, $J = 8.9$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 16.8, 22.1, 25.4, 30.9, 36.9, 49.4, 55.6, 114.8, 127.2, 129.9, 133.5, 145.9, 159.9, 171.2. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: 358.158373; experimental: 358.158784.

1'-(4-fluorofenil)-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (9d).



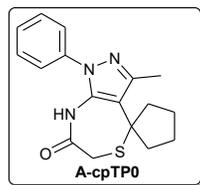
Sólido blanco (Rend: 66%), pf: 150 – 152°C. IR (KBr): (ν_{max} cm^{-1}): 2932, 2855, 1679, 1513, 1355. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.27 – 1.31 (1H, m, - CH_2), 1.66 (2H, d, $J = 13.8$ Hz, - CH_2), 1.77 - 1.92 (3H, m, - CH_2), 2.07 – 2.21 (4H, m, - CH_2), 2.50 (3H, s, - CH_3), 3.23 (2H, s, - CH_2), 7.16 - 7.21 (3H, m, -C-H y -NH), 7.40 (2H, dd, $J = 6.8$ Hz, 4.7 Hz, C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 17.0, 22.2, 25.5, 31.1, 37.2, 49.6, 115.6, 116.9 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 23.0$ Hz C-m), 127.6 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.0$ Hz C-o), 133.4 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 3.0$ Hz C-i), 133.7, 146.6, 162.5 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 248.0$ Hz C-o), 171.4. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{OS}$: 346.138387; experimental: 346.140899.

1'-(4-metoxifenil)-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (9f).



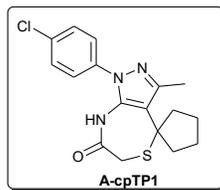
Sólido blanco (Rend: 66%), pf: 216 – 219°C. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.24 – 1.33 (1H, m, $-\text{CH}_2$), 1.67 – 1.84 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 1.87 - 1.90 (3H, m, $-\text{CH}_2$), 2.09 – 2.17 (4H, m, $-\text{CH}_2$), 2.41 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 2.50 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.22 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.27 – 7.29 (5H, m, $-\text{C-H}$ y $-\text{N-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 16.8, 21.2, 22.1, 25.4, 30.9, 37.0, 49.5, 115.1, 125.3, 130.3, 133.4, 134.6, 139.0, 146.1, 171.5.

3'-metil-1'-fenil-1',8'-dihidroespiro[ciclopentano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (A-cpTP0).



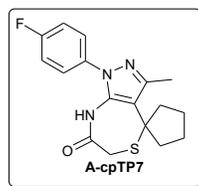
Sólido blanco (Rend: 62%), pf: 197 – 199°C. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.86 – 1.89 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 1.99 – 2.01 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.11 – 2.13 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.28 – 2.31 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.37 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.27 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.25 (1H, s, NH), 7.38 - 7.41 (3H, m, $-\text{C-H}$), 7.46 - 7.50 (2H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 15.4, 24.5, 33.0, 40.8, 54.2, 114.0, 125.4, 128.7, 129.8, 133.8, 137.2, 146.2, 171.1.

1'-(4-clorofenil)-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4] tiazepin]-7'-(6'H)-ona (A-cpTP1).



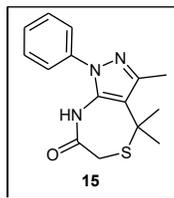
Sólido blanco (Rend: 58%), pf: 213 – 215°C. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.84 – 1.93 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 1.97 – 2.05 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.11 - 2.17 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.26 - 2.23 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.38 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.27 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.39 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.44 (1H, s, $-\text{N-H}$), 7.47 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 15.4, 24.4, 32.9, 40.7, 54.1, 114.6, 126.4, 129.9, 133.9, 134.4, 135.9, 146.5, 171.3.

1'-(4-fluorofenil)-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclopentano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4] tiazepin]-7'-(6'H)-ona (9d).



Sólido blanco (Rend: 60%), pf: 162 – 163°C. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.86 – 1.94 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 1.97 – 2.07 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.09 - 2.15 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.27 – 2.35 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.38 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.29 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.20 (2H, dd, $J = 9.0, 8.0$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.31 (1H, s, $-\text{N-H}$), 7.39 – 7.44 (2H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 15.4, 24.5, 33.0, 40.7, 54.1, 114.1, 116.8 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 23.1$ Hz C-*m*), 127.5 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 8.9$ Hz C-*o*), 133.3, 133.9, 146.3, 161.1, 163.6 171.2.

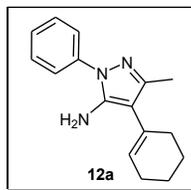
1-fenil-3,4,4-trimetil-1H-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7(4H,6H,8H)-ona (14).



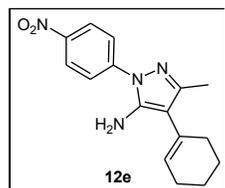
Sólido café (Rend: 80%), pf: 136 – 138°C. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.80 (6H, s, $-\text{CH}_3$), 2.44 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.37 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.09 (1H, s, $-\text{N-H}$), 7.40 – 7.42 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.50 – 7.52 (3H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 15.9, 30.2, 31.7, 43.2, 113.8, 125.7, 128.9, 129.9, 132.7, 137.1, 146.7, 170.8.

Procedimiento general para la síntesis de los aductos 4-ciclohexenil-5-amino-1-aryl-3-metil-1H-pirazoles (12a y e): 1 mmol del correspondiente aminopirazol fue mezclado con 2 mmoles de ciclohexanona y 3 mmoles de ácido acético en 20 mL de benceno seco. La mezcla resultante fue calentada a reflujo por 24 horas usando una trampa Dean – Stark. El crudo de reacción se dejó enfriar, se evaporó el disolvente y se recristalizó el crudo de reacción con etanol.

4-ciclohexenil-5-amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol (12a).

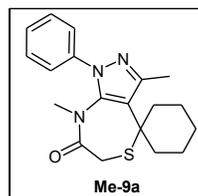


Sólido blanco (Rend: 46%), pf: 190 – 192°C. IR (KBr): ($\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$): 3416, 3334, 2920, 2856, 750. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.66 – 1.77 (4H, m, CH_2), 2.18 – 2.20 (4H, m, CH_2), 2.23 (3H, s, CH_3), 3.77 (2H, s, NH_2), 5.67 (1H, s, C-H), 7.30 (1H, t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, C-H), 7.45 (2H, t, $J = 7.4 \text{ Hz}$, C-H), 7.57 (2H, d, $J = 7.63 \text{ Hz}$, C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 13.9, 22.5, 23.4, 25.9, 29.5, 107.5, 123.8, 126.4, 127.0, 130.8, 139.2, 141.8, 147.4. Análisis elemental calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3$: C, 75.85; H, 7.56; N, 16.59. Experimental: C, 75.79; H, 7.53; N, 16.55.

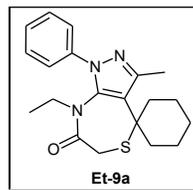
4-ciclohexenil-5-amino-1-(4-nitrofenil)-3-metil-1H-pirazol (12e).

Sólido amarillo (Rend: 67%), pf: 193 – 195°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm⁻¹): 3416, 3334, 2929, 2831, 1506, 1390, 861. ¹H-NMR: (400 MHz, DMSO): δ : 1.61 – 1.68 (4H, m, CH₂), 2.07 (3H, s, CH₃), 2.14 – 2.15 (4H, m, CH₂), 5.17 (2H, s, NH₂), 5.74 (1H, s, C-H), 7.93 (2H, d, J = 9.1 Hz, C-H), 8.30 (2H, d, J = 9.1 Hz, C-H). ¹³C-NMR: (100 MHz, DMSO): δ : 13.4, 21.7, 22.6, 25.1, 28.5, 108.0, 121.4, 124.7, 126.5, 129.2, 143.7, 144.5, 148.3. Análisis elemental calculado para C₁₆H₁₈N₄O₂: C, 64.41; H, 6.08; N, 18.78; O, 10.73. Experimental: C, 64.50; H, 6.06; N, 18.81; O, 10.63.

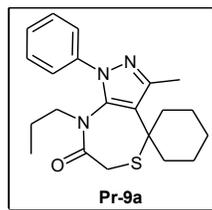
Procedimiento general para la síntesis de las *N*-alquil-1'-fenil-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'*H*)-ona y la *N*-metil-1-fenil-3,4,4-trimetil-1H-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7(4*H*,6*H*,8*H*)-ona: 1 mmol de la correspondiente tiazepinona se disolvió en 5 mL de DMF seca; dicha solución se enfrió en un baño de hielo/sal; luego se adicionaron lentamente 1.2 mmoles de NaH, la mezcla se agitó por 50 minutos y se dejó alcanzar una temperatura de 25°C; una vez alcanzada esta temperatura se inició la adición por goteo de una solución previamente preparada del correspondiente halogenuro de alquilo (1.5 mmoles en 3 mL de DMF). Una vez adicionada esta solución se dejó la reacción en agitación por 24 horas. Transcurrido este tiempo se adicionó hielo picado a la mezcla y el sólido formado se filtró al vacío, se lavó con agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente.

1'-fenil-3',8'-dimetil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (Me-9a).

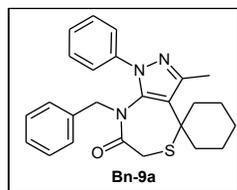
Sólido blanco (Rend 88%), pf: 222 – 224°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 3050, 2920, 1681, 1500, 1423, 1076, 763, 698. ^1H -RMN: (400 MHz, DMSO): δ : 1.26 (dddd, $J = 16.1, 12.4, 8.2, 4.1$ Hz, 1H), 1.58 (m, 2H), 1.69 (m, 3H), 2.05 (m, 2H), 2.24 (td, $J = 12.4, 3.6$ Hz, 1H), 2.35 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.77 (s, 3H), 3.00 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 3.61 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H) 7.44 (m, 5H). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ : 16.8, 22.1, 22.5, 25.3, 33.2, 33.8, 38.6, 40.2, 49.5, 117.3, 123.4, 128.1, 129.6, 138.2, 139.2, 144.9, 170.2.

8'-etil-1'-fenil-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (Et-9a).

Sólido blanco (Rend 82%), pf: 176 – 178°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2931, 2854, 1674, 763, 698, 659. ^1H -RMN: (400 MHz, DMSO): δ : 0.81 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 1.29 (q, $J = 12.1, 11.7$ Hz, 1H), 1.55 (m, 1H), 1.72 (m, 4H), 2.01 (m, 1H), 2.19 (dd, $J = 10.8, 6.8$ Hz, 1H), 2.28 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.92 (dt, $J = 14.3, 7.2$ Hz, 1H), 2.99 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 3.55 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 3.69 (dq, $J = 14.6, 7.5$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 7.9$ Hz, 3H), 7.48 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ : 11.8, 17.0, 22.2, 22.6, 25.2, 33.7, 38.5, 40.4, 41.7, 49.6, 118.0, 124.1, 128.3, 129.6, 138.1, 138.6, 145.2, 170.3.

1'-fenil-3'-metil-8'-propil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (Pr-9a).

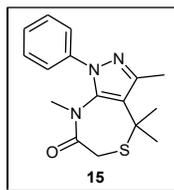
Sólido blanco (Rend 78%), pf: 154 – 156°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2974, 2927, 2877, 2839, 1678, 763, 690, 663. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ : 0.62 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.16 (dq, $J = 12.6, 6.3$ Hz, 1H), 1.26 (td, $J = 12.5, 6.6$ Hz, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.74 (dtd, $J = 15.6, 11.9, 10.5, 4.9$ Hz, 3H), 2.01 (q, $J = 12.4$ Hz, 1H), 2.20 (dd, $J = 11.2, 7.0$ Hz, 1H), 2.27 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.73 (ddd, $J = 13.4, 11.6, 5.1$ Hz, 1H), 2.99 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 3.53 (m, 1H), 3.55 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 7.8$ Hz, 3H), 7.48 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ : 11.3, 17.1, 20.0, 22.2, 22.5, 25.2, 33.6, 38.5, 40.3, 48.8, 49.6, 117.8, 124.2, 128.4, 129.6, 138.4, 138.7, 145.2, 170.3.

8'-bencil-1'-fenil-3'-metil-1',8'-dihidroespiro[ciclohexano-1,4'-pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin]-7'-(6'H)-ona (Bn-9a).

Sólido blanco (Rend 98%), pf: 203 – 204°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2931, 2862, 1674, 744, 694, 659. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ : 0.91 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 1.03 (t, $J = 12.4$ Hz, 1H), 1.28 (m, 1H), 1.58 (m, 5H), 2.12 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 2.44 (s, 3H), 3.02 (d, $J = 12.7$, 1H), 3.57 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 3.68 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 5.05 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 7.0, 2.6$ Hz, 2H), 7.16 (m, 3H), 7.36

(d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.44 (m, 3H). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ : 17.2, 21.9, 22.4, 25.0, 33.4, 38.4, 39.6, 49.5, 49.6, 118.5, 123.7, 128.0, 128.3, 128.4, 129.8, 130.0, 134.6, 137.1, 138.9, 145.5, 170.2.

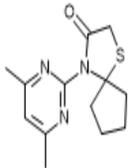
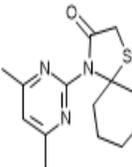
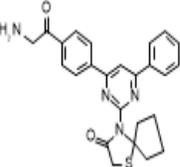
1-fenil-3,4,4,8-tetrametil-1*H*-pirazolo[3,4-*e*][1,4]tiazepin]-7(4*H*,6*H*,8*H*)-ona (15).

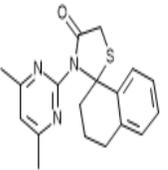
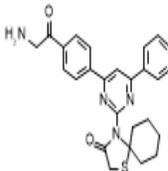
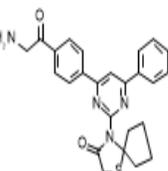
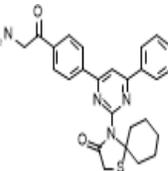
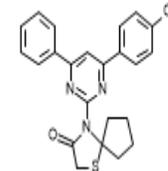


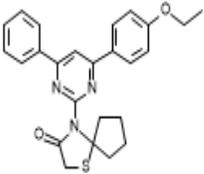
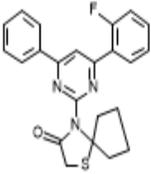
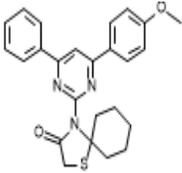
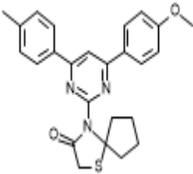
Sólido blanco (Rend 33%), pf: 104 – 106°C. ^1H -NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ : 1.69 (s, 3H), 1.80 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.81 (s, 3H), 3.03 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 3.68 (d, $J = 12.7$ Hz 1H), 7.40 (m, 1H), 7.47 (m, 4H). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ : 16.3, 30.4, 34.0, 34.1, 34.8, 43.6, 116.6, 123.2, 128.1, 129.6, 138.2, 139.3, 144.8, 170.2.

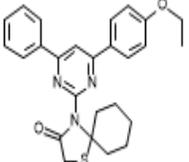
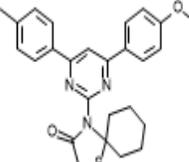
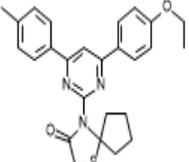
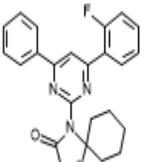
C. Anexo C: Propiedades ADMETox y puntajes de acoplamiento molecular con GABA_A calculadas para la serie B: Espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.

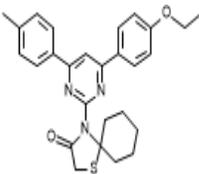
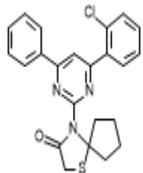
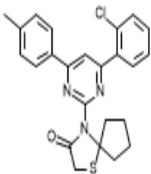
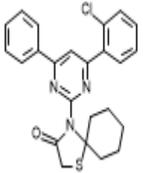
Propiedades ADMETox serie B.

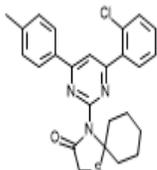
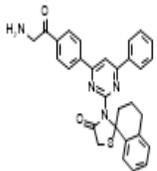
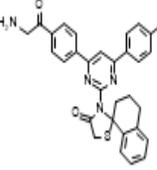
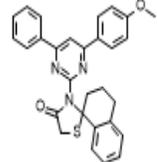
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HBD	HBA
	CpTAP-08	1	2,275	High (98%)	777,14	13,845	50,142	0	0	263,363	46,09	0	4
	TAP-08	1,055	2,538	High (98%)	817,85	16,279	51,455	0	0	277,39	46,09	0	4
	cpTAP9	1,91	3,757	High (73%)	1461,344	15,664	26,168	0,6	0,893	444,558	89,18	1	6

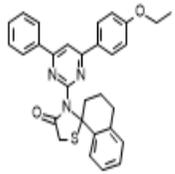
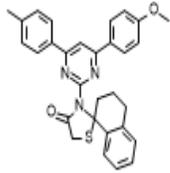
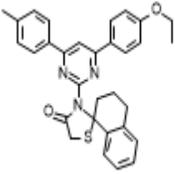
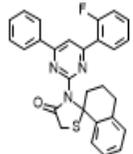
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HBD	HBA
	TETAP-08	2,525	3,276	High (98%)	814,502	5,482	29,608	0	0,767	325,435	46,09	0	4
	TAP9	2,719	3,961	High (70%)	1520,015	17,507	27,231	0,6	1,015	458,585	89,18	1	6
	cpTAP10	3,614	3,961	High (69%)	1424,929	16,666	25,964	0	1,789	458,585	89,18	1	6
	TAP10	3,82	4,162	High (68%)	1467,32	19,036	27,05	0	1,901	472,612	89,18	1	6
	CpTAP-01	4,153	4,393	High (89%)	901,07	42,954	30,362	0	0,309	417,533	55,32	0	5

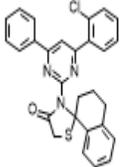
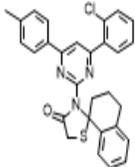
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HBD	HBA
	CpTAP-02	4,22	4,601	High (89%)	957,254	39,932	32,035	0	0,198	431,56	55,32	0	5
	cpTAP11	4,232	5,076	High (98%)	646,51	79,932	34,093	0	0,06	405,497	46,09	0	4
	TAP-01	4,238	4,601	High (89%)	925,377	45,439	31,553	0	0,23	431,56	55,32	0	5
	CpTAP-04	4,417	4,601	High (89%)	925,19	48,757	29,643	0	0,357	431,56	55,32	0	5

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HBD	HBA
	TAP-02	4,517	4,805	High (86%)	979,283	44,375	33,341	0	0,111	445,587	55,32	0	5
	TAP-04	4,677	4,805	High (89%)	948,396	51,616	30,841	0	0,277	445,587	55,32	0	5
	CpTAP-05	4,695	4,805	High (89%)	962,03	43,067	31,242	0	0,251	445,587	55,32	0	5
	TAP11	4,725	5,285	High (98%)	657,627	76,275	35,188	0	0	419,524	46,09	0	4

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HBD	HBA
	TAP-05	4,906	5,007	High (86%)	985,747	48,951	32,569	0	0,162	459,614	55,32	0	5
	CpTAP-03	5,545	5,181	High (98%)	903,327	57,451	21,373	0	1,908	421,951	46,09	0	4
	CpTAP-06	5,966	5,389	High (98%)	798,774	54,786	21,342	0	1,911	435,978	46,09	0	4
	TAP-03	6,075	5,389	High (98%)	894,558	54,874	22,2	0	1,853	435,978	46,09	0	4

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HBD	HBA
	TAP-06	6,288	5,593	High (98%)	796,002	52,606	22,193	0	1,854	450,005	46,09	0	4
	TTAP9	6,677	4,538	Low (28%)	1204,024	7,563	22,259	0	2,176	506,63	89,18	1	6
	TTAP10	6,757	4,729	Low (34%)	1167,69	8,523	22,83	0	2,029	520,657	89,18	1	6
	TETAP-01	7,603	5,187	High (70%)	773,365	14,919	23,455	0	1,77	479,604	55,32	0	5

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HBD	HBA
	TETAP-02	7,682	5,379	High (71%)	783,556	16,084	24,771	0	1,682	493,631	55,32	0	5
	TETAP-04	7,752	5,379	High (69%)	791,005	16,4	23,721	0	1,752	493,631	55,32	0	5
	TETAP-05	7,92	5,57	High (69%)	788,46	18,179	25,121	0	1,659	507,658	55,32	0	5
	TTAP11	7,982	5,877	High (98%)	469,523	20,43	26,084	0	0,594	467,568	46,09	0	4

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	BBB_Filter	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	T_PSA	HBD	HBA
	TETAP-03	9,229	5,974	High (98%)	519,916	15,497	18,111	0	2,387	484,023	46,09	0	4
	TETAP-06	9,807	6,167	High (98%)	466,918	15,434	18,526	0	2,303	498,05	46,09	0	4

Puntajes de acoplamiento molecular serie B.

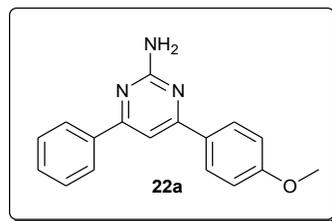
Código	Score ADT	Scaled score ADT	Score VINA	Scaled score VINA	Score DOCK6	Scaled score DOCK6	Afin promedio
TAP5	-9,86	0,64	-8,8	0,45	-46,396	0,96	0,68
TAP2	-9,75	0,62	-8,7	0,43	-47,089	0,99	0,68
cpTAP5	-9,63	0,60	-8,9	0,47	-46,598	0,97	0,68
TAP1	-9,75	0,62	-8,9	0,47	-44,740	0,89	0,66
cpTAP2	-9,82	0,63	-8,6	0,42	-45,576	0,92	0,66
cpTAP1	-9,66	0,60	-8,9	0,47	-44,109	0,86	0,64
cpTAP11	-9,46	0,57	-9,3	0,55	-43,153	0,82	0,64
cpTAP4	-9,36	0,55	-9,2	0,53	-43,987	0,85	0,64

Código	Score ADT	Scaled score ADT	Score VINA	Scaled score VINA	Score DOCK6	Scaled score DOCK6	Afin promedio
cpTAP0a	-9,98	0,66	-9,4	0,57	-39,661	0,66	0,63
TAP6	-10,86	0,83	-9,5	0,58	-33,777	0,40	0,60
TAP0a	-9,88	0,64	-9,3	0,55	-37,818	0,58	0,59
cpTAP3	-10,13	0,69	-9,1	0,51	-36,935	0,54	0,58
TAP3	-10,27	0,72	-9,0	0,49	-36,396	0,52	0,57
TAP0	-10,1	0,69	-8,9	0,47	-37,068	0,55	0,57
cpTAP6	-10,25	0,71	-9,5	0,58	-33,839	0,40	0,57
TAP4	-9,77	0,62	-8,3	0,36	-38,235	0,60	0,53
cpTAP0	-9,78	0,63	-9,0	0,49	-34,014	0,41	0,51
TAP11	-9,73	0,62	-8,6	0,42	-35,414	0,47	0,50
TETAP8	-6,76	0,06	-7,3	0,17	-29,999	0,23	0,15
cpTAP8	-6,44	0,00	-7,0	0,11	-27,190	0,11	0,07
TAP8	-6,95	0,10	-6,4	0,00	-24,716	0,00	0,03

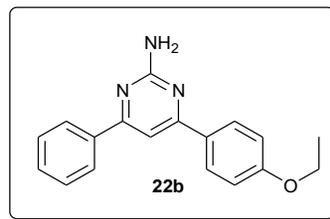
D. Anexo D: Sección experimental Serie B: Espiro pirimidinil tiazolidin-4-onas.

Procedimiento general para la síntesis de las aminopirimidinas (22a - f): A una mezcla de 10 mmoles del correspondiente aldehído, la correspondiente acetofenona (10 mmoles) y guanidina-HCl (16 mmoles) en 10 mL de etanol absoluto se adicionó una perla de NaOH, se purgó con nitrógeno por 10 minutos usando un borboteador y se mantuvo un flujo constante de este, se calentó la mezcla a reflujo hasta término de los precursores observado por CCD (Hexano/AcOEt 7:3). Se adicionaron 15 mL de HCl (0.5 M), la emulsión formada se destruyó por extracción con DCM (3 x 15 mL) y la fase orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó a presión reducida, el sólido obtenido se secó en horno a 70°C obteniéndose las mencionadas aminopirimidinas en un grado de pureza aceptable.

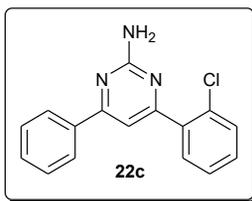
4-(4-metoxifenil)-6-fenilpirimidin-2-amina (22a).



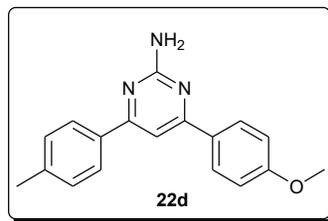
Sólido amarillo (Rend: 90%), pf: 134 – 136°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 3324, 3196, 2929, 2836, 1644, 1029, 820, 769. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 3.88 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.21 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 7.00 (2H, dd, $J = 8.9$ Hz, 5.7 Hz, $-\text{C-H}$), 7.41 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.49 (2H, d, $J = 2.14$ Hz $-\text{C-H}$), 7.50 (1H, d, $J = 1.02$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.04 (4H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 55.5, 103.7, 114.2, 127.2, 128.8, 128.9, 130.3, 130.5, 138.1, 161.8, 163.7, 165.8, 166.1.

4-(4-etoxifenil)-6-fenilpirimidin-2-amina (22b).

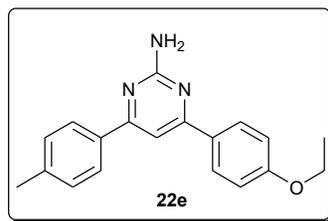
Sólido amarillo (Rend: 92%), pf: 91 – 92°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 3324, 3196, 2929, 2836, 1644, 1029, 820, 769. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.48 (3H, t, $-\text{CH}_3$), 4.13 (2H, c, $-\text{CH}_2$), 5.25 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 7.02 (2H, d, $-\text{C-H}$), 7.44 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.50 -7.53 (3H, m, $-\text{C-H}$), 8.05 – 8.08 (4H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 14.8, 21.4, 63.6, 103.5, 114.6, 127.1, 128.6, 128.8, 129.9, 130.3, 138.0, 161.1, 163.6, 165.7, 166.0.

4-(2-clorofenil)-6-fenilpirimidin-2-amina (22c).

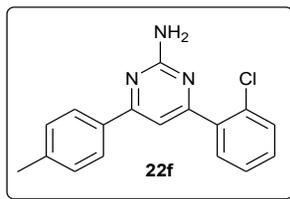
Sólido naranja (Rend: 80%), pf: 62 – 63°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 3201, 1675, 1036, 830, 756, 695. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : . $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 5.50 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 7.28 (2H, d, $-\text{C-H}$), 7.30 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.35 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.49 (1H, m, $-\text{C-H}$), 7.60 (1H, m, $-\text{C-H}$), 7.94 (2H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 21.5, 108.4, 127.1, 127.3, 129.3, 129.6, 130.4, 130.5, 131.0, 132.3, 134.8, 138.0, 141.0, 163.6, 165.6, 165.9.

4-(4-metoxifenil)-6-(4-tolil)pirimidin-2-amina (22d).

Sólido amarillo (Rend: 93%), pf: 119 – 121°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 3466, 3327, 3186, 2928, 2833, 1647, 1030, 809, 568. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 2.47 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.92 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.88 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 7.06 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.26 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.36 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.04 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.16 (2H, d, $J = 7.81$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 21.5, 55.4, 103.5, 114.2, 127.3, 128.9, 129.3, 129.6, 134.2, 141.2, 162.0, 162.8, 165.5, 165.8, 176.1.

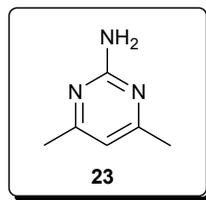
4-(4-etoxifenil)-6-(4-tolil)pirimidin-2-amina (22e).

Sólido amarillo (Rend: 74%), pf: 110 – 112°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 3466, 3327, 3186, 2928, 2833, 1647, 1030, 809, 568. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.47 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, $-\text{CH}_3$), 2.44 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 4.12 (2H, q, $J = 6.8$ Hz, $-\text{CH}_2$), 5.25 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 7.01 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.32 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.42 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.98 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.05 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 14.8, 21.4, 63.6, 103.2, 114.6, 127.0, 128.6, 129.5, 130.0, 135.1, 140.6, 161.0, 163.6, 165.6, 165.9.

4-(2-clorofenil)-6-(4-tolil)pirimidin-2-amina (22f).

Sólido naranja (Rend: 90%), pf: 99 – 101°C. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 2.41 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.50 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 7.28 (2H, d, $-\text{C-H}$), 7.34 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.36 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.49 (1H, m, $-\text{C-H}$), 7.60 (1H, m, $-\text{C-H}$), 7.93 (2H, d, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 21.5, 108.4, 127.1, 127.3, 129.3, 129.6, 130.4, 130.5, 131.0, 132.3, 134.8, 138.0, 141.0, 163.6, 165.6, 165.9.

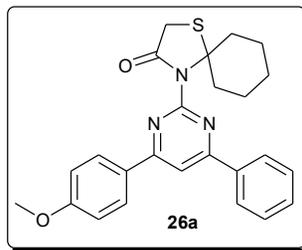
Procedimiento para la síntesis de la 4,5-dimetil-2-aminopirimidina (23): A una solución de 37 mmoles de guanidina-HCl (3.51 g) y 79 mmoles de carbonato de potasio (10.90 g) en 25 mL de agua destilada, 58 mmoles de acetilacetona (5.80 g) fueron adicionadas. La mezcla resultante se calentó a reflujo por toda la noche (8 – 12 horas) y el precipitado obtenido (cristales blancos) se filtró al vacío, se lavó con agua fría y se secó en horno por 3 horas a 70°C.

4,6-dimetil-2-aminopirimidina (23).

Sólido blanco (Rend: 90%), pf: 152 – 154°C. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 2.27 (6H, s, $-\text{CH}_3$), 5.23 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.36 (1H, s, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 24.1, 111.0, 163.3, 168.2.

Procedimiento general para la síntesis de 4-[4,6-diarilpirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-onas: 1 mmol de la correspondiente 2-aminopirimidina fue mezclada con 2 mmoles de ácido mercaptoacético en 20 mL de tolueno seco. Luego una solución de ciclohexanona en 7 mL de tolueno fue goteada por 2 horas mientras la mezcla se calentó a reflujo usando una trampa Dean – Stark. La reacción se continuó por 14 horas hasta completa conversión de la monoamina (CCD (Hexano:AcOEt 7:3)). El crudo resultante se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (4 x 10 mL); la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se rotaevaporó a presión reducida. El crudo obtenido se trató con etanol (96%) y se dejó secar a temperatura ambiente obteniéndose los compuestos anteriormente mencionados.

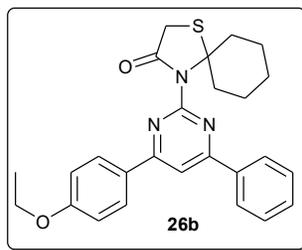
4-[4-(4-metoxifenil)-6-fenilpirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-ona (26a).



Sólido amarillo (Rend: 56%), pf: 165 – 167°C. IR (KBr): (ν_{max} cm^{-1}): 2932, 2852, 1680, 1575, 1391, 1035, 831, 690. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.08 (1H, dt, $J = 3.90$ Hz, 5.27 Hz, $-\text{CH}_2$), 1.67 (3H, m, $-\text{CH}_2$), 1.79 (2H, d, $J = 11.0$ Hz $-\text{CH}_2$), 2.14 (2H, d, $J = 12.8$ Hz $-\text{CH}_2$), 2.42 (2H, td, $J = 4.0$ Hz, 9.1 Hz, $-\text{CH}_2$), 3.76 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 3.89 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 7.03 (2H, d, $J = 8.8$ Hz $-\text{C-H}$), 7.53 (3H, t, $J = 3.2$ Hz $-\text{C-H}$), 7.95 (1H, s, $-\text{C-H}$), 8.13 (4H, dd, $J = 4.8$ Hz, 2.0 Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 24.0, 24.9, 32.4, 38.5,

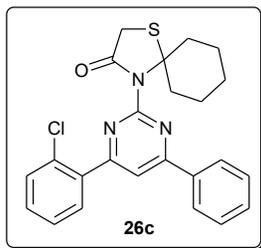
55.6, 75.8, 109.8, 114.5, 127.5, 129.1, 129.2, 131.2, 136.9, 158.2, 162.4, 166.2, 166.4, 172.3. HRMS (ESI) m/z $[M+H]^+$ Calculado para $C_{25}H_{25}N_3O_2S$: 432.174023; experimental: 432.174652.

4-[4-(4-etoxifenil)-6-fenilpirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-ona (26b).



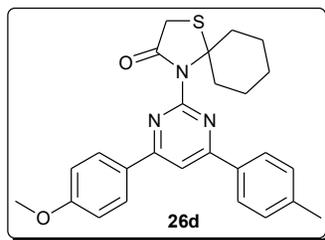
Sólido amarillo (Rend: 53%), pf: 143 – 145°C. IR (KBr): (ν_{max} cm^{-1}): 2927, 2856, 1682, 1579, 1390, 1045, 828, 690. 1H -NMR: (400 MHz, $CDCl_3$): δ : 1.08 (1H, m, $-CH_2$), 1.46 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, $-CH_3$), 1.67 (3H, m, $-CH_2$), 2.14 (2H, d, $J = 13.1$ Hz $-CH_2$), 2.42 (2H, dt, $J = 4.0$ Hz, 13.1 Hz, $-CH_2$), 3.75 (2H, s, $-CH_2$), 4.12 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, $-CH_2$), 7.02 (2H, d, $J = 8.9$ Hz $-C-H$), 7.52 (3H, m, $-C-H$), 7.94 (1H, s, $-C-H$), 8.12 (4H, m, $-C-H$). ^{13}C -NMR: (100 MHz, $CDCl_3$): δ : 14.9, 24.0, 24.9, 32.4, 38.5, 63.8, 75.8, 109.8, 115.0, 127.5, 128.9, 129.1, 129.2, 131.2, 136.9, 158.2, 161.8, 166.3, 166.4, 172.3. HRMS (ESI) m/z $[M+H]^+$ Calculado para $C_{26}H_{27}N_3O_2S$: 446.189674; experimental: 446.189730.

4-[4-(2-clorofenil)-6-fenilpirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-ona (26c).

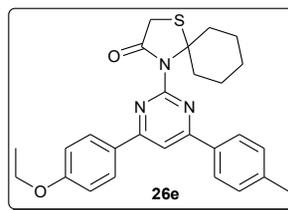


Sólido amarillo (Rend: 54%), pf: 98 – 100°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2928, 2855, 1684, 1596, 1573, 1358, 1036, 831, 756, 694. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.10 (1H, m, $-\text{CH}_2$), 1.66 (3H, m, $-\text{CH}_2$), 1.79 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.13 (2H, d, $J = 12.7$ Hz $-\text{CH}_2$), 2.45 (2H, dt, $J = 3.7$ Hz, 9.2 Hz, $-\text{CH}_2$), 3.77 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.43 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.55 (4H, m, $-\text{C-H}$), 8.06 (1H, s, $-\text{C-H}$), 8.08 (2H, t, $J = 2.6$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.16 (1H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 23.8, 24.7, 32.3, 38.3, 75.8, 108.7, 115.4, 127.3, 127.5, 129.1, 130.4, 132.3, 136.3, 137.3, 137.6, 163.3, 165.6, 165.9, 166.1, 172.3. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{OS}$: 436.124486; experimental: 436.124707.

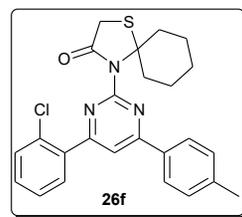
4-[4-(4-metoxifenil)-6-(4-tolil)pirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-ona (26d).



Sólido amarillo (Rend: 63%), pf: 148 – 149°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2925, 2855, 1694, 1608, 1584, 1363, 1022, 816, 669. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.08 (1H, m, $-\text{CH}_2$), 1.66 (3H, m, $-\text{CH}_2$), 1.78 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.14 (2H, d, $J = 12.4$ Hz $-\text{CH}_2$), 2.39 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.44 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.75 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.89 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.03 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.32 (2H, d, $J = 8.0$ Hz $-\text{C-H}$), 7.92 (1H, s, $-\text{C-H}$), 8.04 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.12 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 21.5, 23.9, 24.8, 32.3, 38.4, 55.5, 75.6, 109.3, 114.4, 127.3, 129.0, 129.1, 129.7, 134.0, 141.5, 158.0, 162.2, 172.2. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: 446.189674; experimental: 446.190037.

4-[4-(4-etoxifenil)-6-(4-tolil)pirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-ona (26e).

Sólido amarillo (Rend: 67%), pf: 196 – 197°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2923, 2854, 1695, 1607, 1584, 1389, 1040, 818, 669. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.08 (1H, m, $-\text{CH}_2$), 1.48 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.68 (3H, m, $-\text{CH}_2$), 1.79 (2H, m, $-\text{CH}_2$) 2.16 (2H, d, $J = 12.8$ Hz $-\text{CH}_2$), 2.42 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 2.46 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.78 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 4.14 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, $-\text{CH}_2$), 7.04 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.35 (2H, d, $J = 8.0$ Hz $-\text{C-H}$), 7.94 (1H, s, $-\text{C-H}$), 8.06 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.13 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 14.9, 21.6, 24.0, 24.9, 32.4, 38.5, 63.8, 75.8, 109.4, 114.9, 127.4, 129.0, 129.1, 129.8, 134.1, 141.6, 158.1, 161.7, 166.1, 166.3, 172.2. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: 460.205324; experimental: 460.207584.

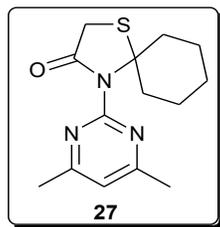
4-[4-(2-clorofenil)-6-(4-tolil)pirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-ona (26f).

Sólido amarillo (Rend: 58%), pf: 91 – 92°C. IR (KBr): (ν_{\max} cm^{-1}): 2924, 2856, 1681, 1597, 1572, 1391, 1035, 755. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.09 (1H, m, $-\text{CH}_2$), 1.66 (3H, m, $-\text{CH}_2$), 1.79 (2H, m, $-\text{CH}_2$) 2.13 (2H, d, $J = 12.1$ Hz $-\text{CH}_2$), 2.44 (2H, m, $-\text{CH}_3$), 2.45 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 3.74 (2H, s, $-\text{CH}_2$), 7.33 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.44 (2H, m, C-H), 7.52 (1H, m, $-\text{C-H}$), 7.76 (1H, m, $-\text{C-H}$), 8.02 (1H,

s, -C-H), 8.04 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 21.7, 24.0, 24.9, 32.4, 38.4, 75.9, 115.2, 127.5, 127.6, 130.0, 130.6, 131.1, 132.0, 132.4, 133.6, 136.7, 142.1, 158.0, 165.9, 166.1, 172.2. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: 450.140137; experimental: 450.139675.

Procedimiento de síntesis de la 4-[4,6-dimetilpirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-ona (27): 1 mmol de la 4,6-dimetil-2-aminopirimidina fue mezclada con 1 mmol de ácido mercaptoacético en 20 mL de tolueno seco. Luego una solución de ciclohexanona en 5 mL de tolueno fue goteada por 2 horas mientras la mezcla se calentó a reflujo usando una trampa Dean – Stark. La reacción se continuó por 14 horas hasta completa conversión de la monoamina (CCD (Hexano:AcOEt 7:3)). El crudo resultante se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (4 x 10 mL); la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se rotaevaporó a presión reducida. El crudo obtenido se trató con etanol (96%) y se dejó secar a temperatura ambiente obteniéndose los compuestos anteriormente mencionados.

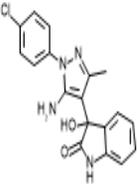
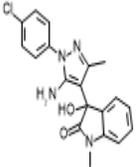
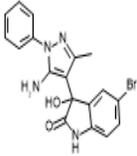
4-[4,6-dimetilpirimidin-2-il]-1-tia-4-azaespiro[4.5]decan-3-ona (27).

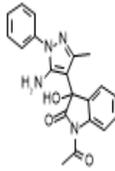
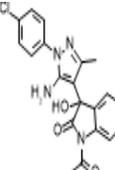
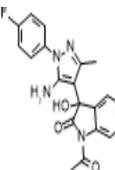
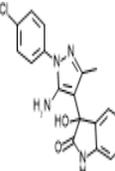


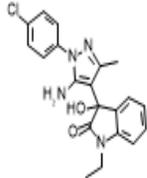
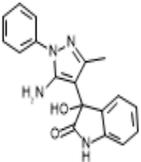
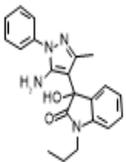
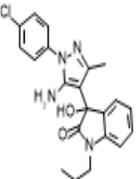
Sólido blanco (Rend: 26%), pf: 129 – 131°C. IR (KBr): (ν_{max} cm^{-1}): 2939, 2857, 1692, 1595, 1535, 1373, 1032, 789, 726. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3): δ : 1.01 (1H, m, CH_2), 1.62 (3H, m, CH_2), 1.75 (2H, m, CH_2), 2.09 (4H, m, CH_2), 2.52 (6H, s, CH_3), 3.69 (2H, s, CH_2), 6.99 (1H, s, C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3): δ : 23.9, 24.1, 24.7, 32.3, 38.6, 75.5, 119.1, 157.3, 169.0, 172.3. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: 278.132159; experimental: 278.132714.

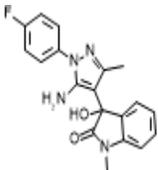
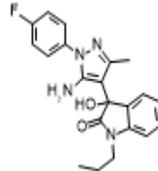
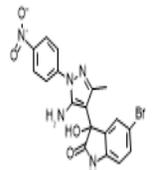
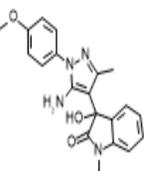
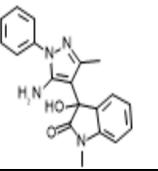
E. Anexo E: Propiedades ADMETox y puntajes de acoplamiento molecular con NaV1.7 calculadas para la serie C: Pirazolil hidroxindolinonas.

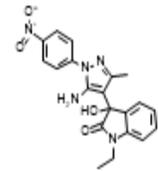
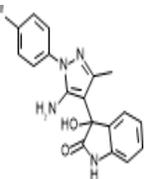
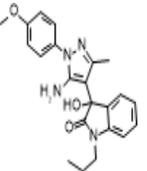
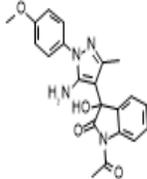
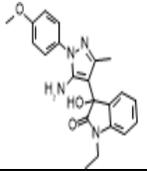
Propiedades ADMETox de la serie C.

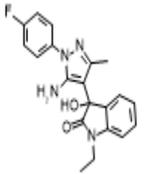
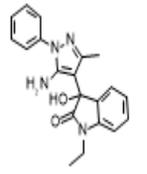
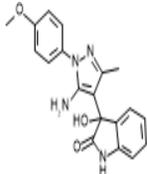
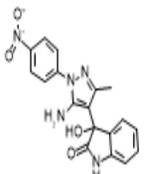
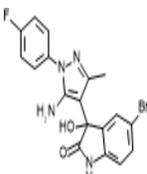
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	C-A1	1,673	3,111	726,691	7,501	15,365	0,9	1	354,798	3	5
	C-A1a	1,764	3,339	646,686	7,306	11,057	0,9	1	368,825	2	5
	C-B0	1,768	3,225	482,904	8,764	16,547	0,9	1	399,254	3	5

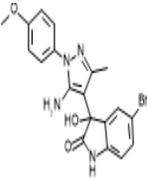
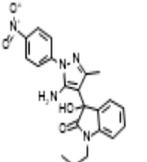
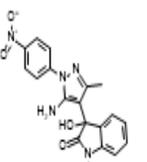
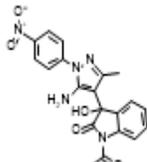
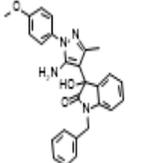
Structure	Identifíer	ADMET_Risk	MlogP	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	C-A0d	2	2,643	560,624	7,106	11,984	0,3	1	362,39	2	6
	C-A1d	2	3,134	553,591	10,125	12,279	0,3	1	396,835	2	6
	C-A4d	2	3,024	353,77	10,527	16,681	0,9	1	380,381	2	6
	C-B1	2,261	3,451	463,077	8,703	17,041	0,6	2	433,699	3	5

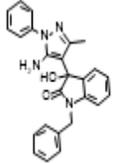
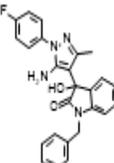
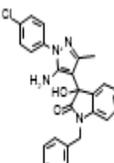
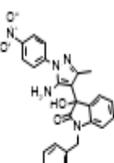
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	C-A1b	2,361	3,562	610,781	8,912	10,955	0,9	1	382,852	2	5
	C-A0	2,41	2,611	700,488	5,164	15,222	0,9	1,534	320,353	3	5
	C-A0c	2,417	3,294	584,699	7,38	10,661	0,3	1	362,434	2	5
	C-A1c	2,523	3,78	570,492	10,349	10,785	0,3	1	396,879	2	5

Structure	Identifíer	ADMET_Risk	MlogP	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	C-A4a	2,565	3,225	383,81	7,575	15,451	0,9	1	352,37	2	5
	C-A4c	2,681	3,671	354,223	10,776	14,867	0,9	1	380,424	2	5
	C-B2	2,697	3,077	399,753	5,688	22,74	1,5	2,142	444,251	3	7
	C-A3a	2,763	2,579	478,202	5,801	15,568	0,9	1,28	364,406	2	6
	C-A0a	2,798	2,843	634,164	5,033	10,845	0,3	1,587	334,38	2	5

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	C-A2b	2,846	3,19	542,341	5,286	14,046	1,5	2,486	393,405	2	7
	C-A4	2,847	2,996	424,808	7,874	22,293	1,5	1,847	338,343	3	5
	C-A3c	2,955	3,021	432,099	8,039	15,045	0,9	1	392,46	2	6
	C-A3d	3	2,386	396,569	7,79	16,874	1,5	2	392,417	2	7
	C-A3b	3	2,802	441,778	6,967	15,349	0,9	1	378,433	2	6

Structure	Identifíer	ADMET_Risk	MlogP	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	C-A4b	3	3,451	364,796	9,253	15,213	0,9	1	366,397	2	5
	C-A0b	3,08	3,071	599,77	6,262	10,793	0,3	1,095	348,407	2	5
	C-A3	3,087	2,352	532,996	5,939	22,061	2,1	2,087	350,379	3	6
	C-A2	3,212	2,73	628,669	4,787	20,24	1,5	2,669	365,35	3	7
	C-B4	3,539	3,339	267,519	9,269	24,084	1,5	2,165	417,244	3	5

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	C-B3	3,579	2,691	322,347	6,938	23,771	1,5	2,749	429,28	3	6
	C-A2c	3,647	3,413	518,771	5,932	13,715	1,5	2,227	407,432	2	7
	C-A2a	3,703	2,963	571,226	4,625	14,294	1,5	2,75	379,377	2	7
	C-A2d	3,943	2,791	534,062	6,606	15,51	1,5	2	407,388	2	8
	C-A3e	5,099	3,642	388,65	<u>6,915</u>	13,411	0,3	1	440,505	2	6

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	Rat_Acute	Rat_TD50	Mouse_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	C-A0e	5,26	3,928	538,211	<u>6,115</u>	9,752	0,3	1,154	410,478	2	5
	C-A4e	5,98	4,299	321,612	<u>8,868</u>	13,161	0,3	1	428,469	2	5
	C-A1e	6,933	4,401	437,847	<u>8,546</u>	9,903	0,3	2	444,923	2	5
	C-A2e	7,391	4,048	456,317	<u>5,197</u>	12,295	1,5	2,521	455,476	2	7

Puntajes de acoplamiento molecular serie C.

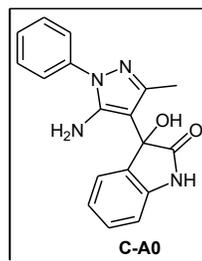
Código	Score ADT	Scaled score ADT	Score VINA	Scaled score VINA	Score DOCK6	Scaled score DOCK6	Afin promedio
C-A3c	-7,84	0,64	-8,0	0,53	-45,307	0,60	0,59
C-A1e	-7,6	0,54	-8,1	0,60	-44,865	0,56	0,57
C-A3e	-7,28	0,41	-8,0	0,53	-46,985	0,75	0,57
C-A1d	-7,41	0,47	-8,2	0,67	-43,555	0,45	0,53
C-A3b	-7,57	0,53	-7,9	0,47	-44,957	0,57	0,52
C-A4d	-7,16	0,37	-8,3	0,73	-42,553	0,36	0,49
C-A4e	-7,31	0,43	-8,1	0,60	-43,355	0,43	0,48
C-A3a	-7,05	0,32	-8,1	0,60	-44,312	0,51	0,48
C-B1	-7,62	0,55	-7,8	0,40	-41,935	0,30	0,42
C-A0d	-7,43	0,47	-8,1	0,60	-40,216	0,15	0,41
C-A0e	-7,46	0,49	-7,9	0,47	-40,871	0,21	0,39
C-A1b	-7,35	0,44	-7,4	0,13	-42,633	0,36	0,31
C-A1a	-7,05	0,32	-7,6	0,27	-41,806	0,29	0,29
C-A1	-6,76	0,20	-7,7	0,33	-41,635	0,28	0,27
C-A4c	-6,87	0,25	-7,5	0,20	-41,934	0,30	0,25
C-A1c	-6,58	0,13	-7,3	0,07	-43,071	0,40	0,20
C-B0	-7,51	0,51	-7,3	0,07	-38,822	0,02	0,20
C-A4b	-6,61	0,14	-7,4	0,13	-41,399	0,25	0,18
C-A4a	-6,25	0,00	-7,7	0,33	-40,606	0,18	0,17
C-A0a	-6,75	0,20	-7,6	0,27	-38,639	0,01	0,16
C-A0c	-7,08	0,33	-7,2	0,00	-39,993	0,13	0,15
C-A0	-7,12	0,35	-7,3	0,07	-38,553	0,00	0,14
C-A0b	-6,72	0,19	-7,3	0,07	-39,545	0,09	0,11

F. Anexo F: Sección experimental Serie C: Pirazoli hidroxindolinonas.

Protocolo general para la alquilación de la isatina: En un balón de dos bocas se disolvieron 10 mmoles de isatina en 5 mL de DMF, luego se adicionaron 20 mmoles de carbonato de potasio (K_2CO_3); esta mezcla se agitó por 15 minutos hasta observarse una coloración morada oscura. Luego se adicionó por goteo una solución de 10 mmoles del correspondiente haluro de alquilo en 2 mL de DMF y se calentó la mezcla de reacción hasta observarse consumo de los precursores. Una vez concluida la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionó hielo picado y el sólido formado se filtró al vacío y se lavó con agua fría; el sólido se dejó secar a temperatura ambiente obteniéndose los productos deseados.

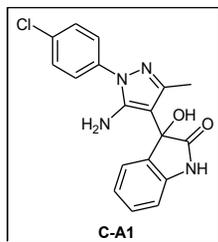
Protocolo general para la síntesis de las 1-alquil-2-(1-aryl-3-metil-5-amino-1H-pirazol-4-il)-2-hidroxi-1,2-dihidro-3H-indol-3-onas): Se pesaron 0.5 mmoles de la indol-2,3-diona correspondiente (**31a – e**) en un tubo de ensayo; luego se pesaron 0.5 mmoles del correspondiente 5-aminopirazol (**3a - e**), este tubo se ubicó en el baño ultrasónico, luego se adicionó 1 mL de una solución de yodo al 5×10^{-3} M en etanol (96%). El tubo se tapó con algodón y vinipel para evitar salpicaduras y se inició la reacción a temperatura ambiente por 30 minutos; el sólido obtenido se filtró al vacío y se lavó con etanol frío obteniéndose así los compuestos objetivo.

3-(5-amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A0):



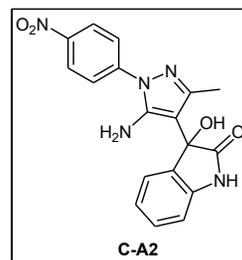
Sólido blanco: (Rend > 99%). pf.189 – 191°C (236 Descomposición) (Reportado: 235 – 236°C), IR (ν_{\max} cm^{-1}): 3414, 3327, 3185, 3069, 2925, 1750, 1612, 803. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.44 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.35 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.87 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.00 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.28 (3H, m, $-\text{C-H}$), 7.47 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.55 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, $-\text{C-H}$), 10.4 (1H, s, $-\text{NH}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.1, 75.0, 100.0, 110.3, 122.4, 123.2, 125.5, 126.5, 129.6, 130.0, 133.2, 139.3, 142.1, 145.1, 146.6, 178.6.

3-(5-amino-1-(4-clorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A1):



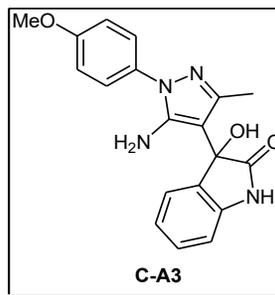
Sólido blanco: (Rend 64%). pf.215 – 217°C, IR (ν_{\max} cm^{-1}): 3437, 3357, 3147, 1711, 1618, 742. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.43 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.36 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.65 (1H, s, $-\text{OH}$), 6.87 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.00 (1H, dt, $J = 0.73$ Hz, 7.5 Hz, $-\text{C-H}$), 7.26 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.52 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.62 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.1, 14.3, 61.8, 74.9, 100.4, 110.3, 122.4, 124.6, 129.5, 129.9, 130.5, 131.9, 133.1, 142.1, 146.9, 167.4, 178.5.

3-(5-amino-1-(4-nitrofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A2):



Sólido amarillo (Rend: 59%). pf. 212 – 214°C, ¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 1.45 (3H, s, -CH₃), 5.68 (2H, s, -NH₂), 6.79 (1H, s, -OH), 6.89 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, -C-H), 7.01 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, -C-H), 7.29 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, -C-H), 7.96 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, -C-H), 8.34 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, -C-H), 10.45 (1H, s, -NH). ¹³C-NMR: (100 MHz): δ 12.7, 54.9, 74.4, 101.2, 109.9, 121.7, 122.0, 124.8, 125.0, 129.6, 132.4, 141.7, 144.0, 144.5, 146.9, 147.4, 177.8.

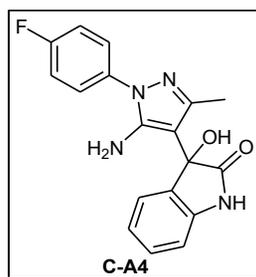
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A3):



Sólido blanco (Rend: 83%). pf. 209 – 210°C IR (ν_{\max} cm⁻¹): 3379, 3303, 3100, 2961, 2854, 1730, 1622, 1525, 1473, 1247, 1188, 1117, 944, 839, 744. ¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400 MHz): δ: 1.43 (3H, s, -CH₃), 3.79 (3H, s, -CH₃), 5.16 (2H, s, -NH₂), 6.60 (1H, s, -OH), 6.86 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, -C-H), 6.99 (1H, m, -C-H), 7.02 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, -C-H), 7.28 (2H, m, -C-H), 7.44 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, -C-H),

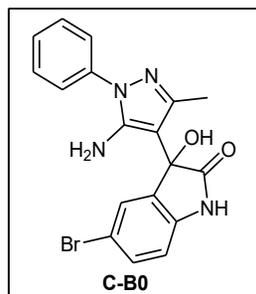
10.37 (1H, s, -OH). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 13.1, 55.8, 74.9, 99.5, 110.2, 114.7, 122.4, 125.2, 125.5, 129.9, 132.4, 133.4, 142.1, 144.4, 146.4, 158.0, 178.7.

3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A4):



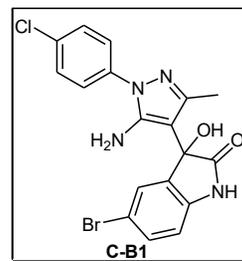
Sólido blanco (Rend: > 99%). pf. 224 – 225°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.43 (3H, s, -CH₃), 5.31 (2H, s, -NH₂), 6.65 (1H, s, -OH), 6.87 (1H, d, J = 7.6 Hz, -C-H), 7.00 (1H, td, J = 7.5 Hz, 1.0 Hz, -C-H), 7.29 (4H, m, -C-H), 7.59 (2H, m, -C-H), 10.39 (1H, s, -NH). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 13.1, 74.9, 100.1, 110.2, 116.2 (d, $^2J_{\text{C-F}}$ = 22.6 Hz), 122.4, 125.4 (d, $^3J_{\text{C-F}}$ = 8.7 Hz), 129.9, 133.2, 135.8 (d, $^4J_{\text{C-F}}$ = 2.8 Hz), 142.1, 145.1, 146.7, 159.3, 161.7, 178.6.

3-(5-amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-5-bromo-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-B0):

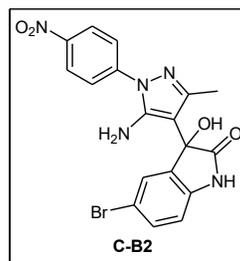


Sólido blanco: (Rend 93%). pf. 229 – 231°C, IR (ν_{\max} cm⁻¹): 3452, 3409, 3303, 3068, 2816, 1712, 1614, 1550, 1185, 947, 814, 700. ¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 1.50 (3H, s, -CH₃), 5.33 (2H, s, -NH₂), 6.81 (1H, s, -OH), 6.85 (1H, d, J = 8.2 Hz, -C-H), 7.31 (1H, t, J = 7.3 Hz, -C-H), 7.40 (2H, d, J = 2.1 Hz, -C-H), 7.47 (3H, m, -C-H), 7.58 (2H, d, J = 7.9 Hz, -C-H), 10.56 (1H, s, -NH). ¹³C-NMR: (100 MHz): δ 13.2, 75.0, 99.5, 112.4, 114.0, 123.3, 126.6, 128.0, 129.5, 132.6, 135.7, 139.4, 141.3, 144.7, 146.7, 178.1.

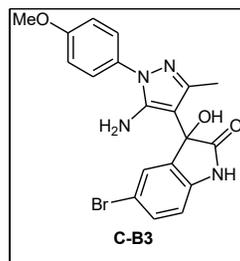
3-(5-amino-1-(4-clorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-5-bromo-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-B1):



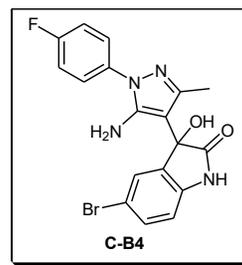
Sólido blanco: (Rend 58%). pf. 235 – 237°C, ¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 1.49 (3H, s, -CH₃), 5.41 (2H, s, -NH₂), 6.85 (2H, d, J = 6.4 Hz, -C-H), 7.39 (1H, s, -OH), 7.45 (1H, d, J = 8.3 Hz, -C-H), 7.52 (2H, d, J = 8.4 Hz, -C-H), 7.62 (2H, d, J = 8.4 Hz, -C-H), 10.58 (1H, s, -NH). ¹³C-NMR: (100 MHz): δ 13.2, 74.9, 99.9, 112.4, 114.1, 124.8, 128.0, 129.5, 130.7, 132.6, 135.6, 138.2, 141.3, 145.2, 146.9, 178.0.

3-(5-amino-1-(4-nitrofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-5-bromo-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-B2):

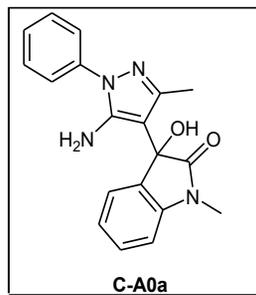
Sólido amarillo: (Rend 90%). pf. 185 – 187°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.50 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.67 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 5.74 (1H, s, $-\text{OH}$), 6.84 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, $-\text{C-H}$), 6.92 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.38 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.44 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.96 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.31 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, $-\text{C-H}$), 10.59 (1H, s, $-\text{NH}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.2, 55.4, 74.9, 101.1, 112.5, 114.1, 122.3, 125.3, 128.1, 132.8, 135.3, 141.4, 144.8, 147.0, 147.9, 177.8.

3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-5-bromo-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-B3):

Sólido blanco: (Rend 97%). pf. 226 – 227°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.48 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.79 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.19 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.78 (1H, s, $-\text{OH}$), 6.85 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.03 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.43 (4H, m, $-\text{C-H}$), 10.56 (1H, s, $-\text{NH}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 13.2, 55.8, 74.9, 112.4, 114.0, 114.7, 125.3, 128.0, 132.2, 132.5, 135.8, 141.3, 144.1, 146.5, 158.1, 178.2.

3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-5-bromo-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-B4):

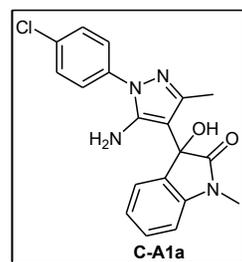
Sólido blanco: (Rend 74%). pf. 208 – 211°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.49 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.33 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.82 (1H, s, $-\text{OH}$), 6.84 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.31 (2H, t, $J = 8.8$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.40 (1H, s, $-\text{C-H}$), 7.59 (2H, m, $-\text{C-H}$), 10.57 (1H, s, $-\text{NH}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.2, 19.0, 56.5, 74.9, 99.5, 112.4, 114.0, 116.2, 116.4, 125.5, 125.6, 128.0, 132.6, 135.7, 141.3, 144.8, 146.8, 159.4, 178.1.

3-(5-amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-metil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A0a):

Sólido blanco: (Rend > 99%). pf. 224 – 226°C, . IR (ν_{max} cm^{-1}): 3440, 3362, 3070, 2833, 1714, 1621, 741. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.45 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.37 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.31 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.55 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, $-\text{C-H}$) 6.87 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.00

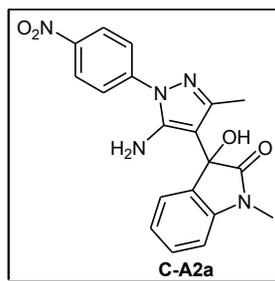
(1H, t, $J = 7.4$ Hz, -C-H), 7.28 (3H, m, -C-H), 7.47 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, -C-H), 7.58 (2H, m, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 12.9, 74.7, 99.8, 109.9, 122.1, 122.9, 125.2, 126.2, 129.3, 129.7, 133.3, 139.2, 141.9, 144.8, 146.3, 178.3.

3-(5-amino-1-(4-clorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-metil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A1a):



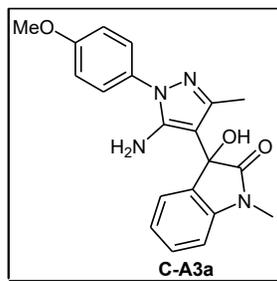
Sólido blanco: (Rend 69%). pf. 212 – 214°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.36 (3H, s, - CH_3), 3.15 (3H, s, - CH_3), 5.41 (2H, s, - NH_2), 6.73 (1H, s, -OH), 7.08 (2H, m, -C-H), 7.35 (2H, m, -C-H), 7.52 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, -C-H), 7.61 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.1, 26.4, 74.7, 100.2, 109.2, 123.1, 124.7, 124.9, 129.4, 130.0, 130.6, 132.5, 138.3, 143.5, 145.4, 146.9, 176.7.

3-(5-amino-1-(4-nitrofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-metil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A2a):

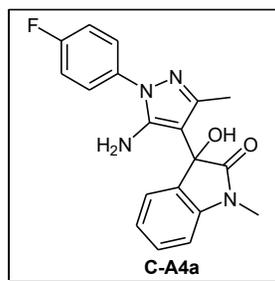


Sólido amarillo: (Rend 67%). pf. 220 – 222°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.38 (3H, s, -CH $_3$), 3.16 (3H, s, -CH $_3$), 5.70 (2H, s, -NH $_2$), 6.83 (1H, s, -OH), 7.08 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, -C-H), 7.23 (2H, m, -C-H), 7.94 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, -C-H), 8.32 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 13.1, 26.4, 74.6, 101.5, 109.3, 122.2, 123.2, 125.0, 125.3, 130.2, 132.3, 143.6, 144.5, 144.9, 147.2, 147.9, 176.5.

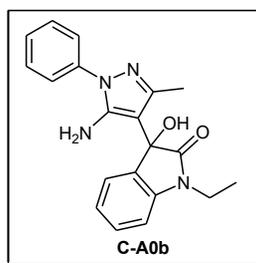
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-metil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A3a):



Sólido blanco: (Rend 85%). pf. 198 – 200°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.36 (3H, s, -CH $_3$), 3.15 (3H, s, -CH $_3$), 3.79 (3H, s, -CH $_3$), 5.19 (2H, s, -NH $_2$), 6.66 (1H, s -OH), 7.03 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, -OH), 7.07 (2H, m, -C-H), 7.43 (2H, m, -C-H), 7.43 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.1, 26.4, 55.8, 74.7, 99.4, 109.1, 114.7, 123.1, 125.0, 125.2, 130.0, 132.3, 132.7, 143.5, 144.2, 146.4, 158.0, 176.8.

3-(5-amino-1-(4-fluorfenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-metil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A3a):

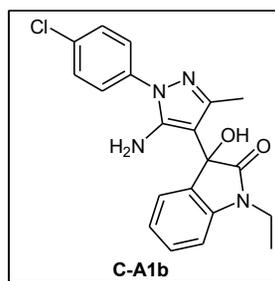
Sólido blanco: (Rend > 99%). pf. 210 – 212°C, IR (ν_{\max} cm^{-1}): 3441, 3360, 3163, 2840, 1710, 1620, 1512, 1225, 842, 758. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.36 (3H, s, - CH_3), 3.15 (3H, s, - CH_3), 5.33 (2H, s, - NH_2), 6.71 (1H, s, -OH), 7.08 (2H, td, $J = 8.0, 1.5$ Hz, -C-H), 7.33 (4H, m, -C-H), 7.57 (2H, m, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 13.1, 26.4, 74.7, 99.9, 109.1, 116.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22.3$ Hz), 123.1, 125.0, 125.5 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 8.5$ Hz), 130.0, 132.6, 135.8 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 2.8$ Hz), 143.5, 145.0, 146.7, 159.4, 161.8, 176.8.

3-(5-amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-etil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A0b):

Sólido blanco: (Rend 68%). pf. 196 – 198°C, IR (ν_{\max} cm^{-1}): 3456, 3358, 3067, 2978, 2939, 1720, 1611, 760, 746. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.19 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, - CH_3), 1.39 (3H, s, - CH_3), 3.72 (2H, m, - CH_2), 5.35 (2H, s, - NH_2), 6.71 (1H, s, -OH), 7.10 (2H,

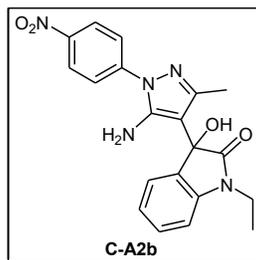
m, -C-H), 7.31 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, -C-H) 7.36 (2H, m, -C-H), 7.48 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, -C-H), 7.58 (2H, m, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 12.8, 13.1, 34.5, 74.7, 99.9, 109.2, 122.9, 123.2, 125.2, 126.5, 129.5, 130.0, 132.9, 139.4, 142.5, 144.9, 146.7, 176.3.

3-(5-amino-1-(4-clorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-etil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A1b):



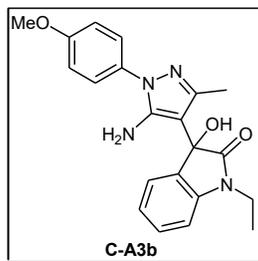
Sólido blanco: (Rend 75%). pf. 208 – 210°C, IR (ν_{max} cm^{-1}): 3433, 3333, 2925, 1705, 1612, 1093, 745. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.18 (3H, t, $J = 6.1$ Hz, - CH_3), 1.37 (3H, s, - CH_3), 3.71 (2H, m, - CH_2), 5.41 (2H, s, - NH_2), 6.72 (1H, s, -OH), 7.09 (2H, m, -C-H), 7.34 (2H, m, -C-H), 7.51 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, -C-H), 7.61 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 12.4, 12.6, 34.1, 74.7, 99.8, 108.7, 122.5, 124.2, 124.8, 129.0, 129.6, 130.1, 132.3, 137.9, 142.1, 144.9, 146.5, 175.7.

3-(5-amino-1-(4-nitrofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-etil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A2b):

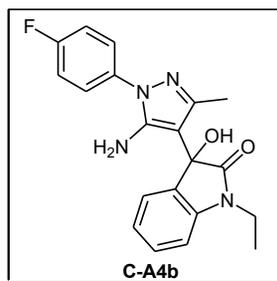


Sólido amarillo: (Rend 78%). pf. 223 – 225°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.19 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.40 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.72 (2H, dq, $J = 10.0$ Hz, 7.1 Hz, $-\text{CH}_2$), 5.71 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.84 (1H, s, $-\text{OH}$), 7.10 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.36 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.96 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.31 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 12.8, 13.1, 34.5, 55.4, 74.6, 101.4, 109.3, 122.2, 123.1, 125.2, 125.3, 130.3, 132.4, 142.6, 144.5, 144.9, 147.2, 147.9, 176.0.

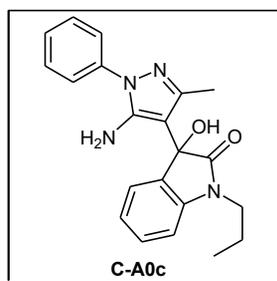
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-3-metil-1*H*-pirazol-4-il)-1-etil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2*H*-indol-2-ona (C-A3b):



Sólido blanco: (Rend 84%). pf. 196 – 198°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.19 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.37 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.71 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 3.79 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.20 (2H, s $-\text{NH}_2$), 6.67 (1H, s, $-\text{OH}$), 7.07 (4H, m, $-\text{C-H}$), 7.34 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.44 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 12.8, 13.1, 34.5, 55.8, 74.7, 99.4, 109.1, 114.7, 122.9, 125.2, 130.0, 132.4, 133.0, 142.5, 144.2, 146.5, 158.0, 176.3.

3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-etil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A4b):

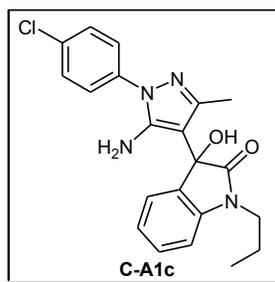
Sólido blanco: (Rend 91%). pf. 208 – 209°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.19 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.37 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 3.72 (2H, dp, $J = 25.5, 7.1$ Hz, $-\text{CH}_2$), 5.34 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.72 (1H, s, $-\text{OH}$), 7.08 (2H, m, $-\text{OH}$), 7.33 (4H, m, $-\text{C-H}$), 7.58 (2H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 12.8, 13.1, 34.5, 74.7, 99.9, 109.2, 116.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22.7$ Hz), 123.0, 125.2, 125.5 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 8.6$ Hz), 130.1, 132.8, 135.8 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 2.5$ Hz), 142.5, 144.9, 146.8, 159.4, 161.8, 176.3.

3-(5-amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1-propil-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A0c):

Sólido blanco: (Rend 64%). pf. 193 – 195°C, IR (v_{max} cm^{-1}): 3418, 3321, 3145, 2971, 2874, 1715, 1613, 772, 751. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 0.93 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.38 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 1.64 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 3.64 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 5.36 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.72

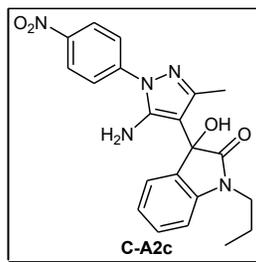
(1H, s, -OH), 7.08 (2H, m, -C-H), 7.31 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, -C-H), 7.36 (2H, m, -C-H), 7.48 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, -C-H), 7.58 (2H, dd, $J = 1.0$ Hz; $J = 7.5$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 11.7, 13.2, 20.9, 41.3, 74.6, 99.9, 109.3, 122.9, 123.2, 125.2, 126.9, 129.5, 130.0, 132.7, 139.4, 143.1, 144.9, 146.7, 176.7.

3-(5-amino-1-(4-clorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1-propil-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A1c):



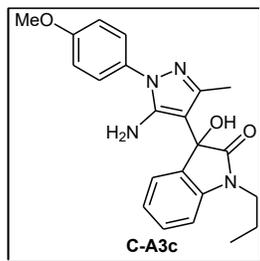
Sólido blanco: (Rend 63%). pf. 191 – 193°C, IR (ν_{max} cm^{-1}): 3441, 3340, 3051, 2966, 1722, 1611, 929, 760, 748. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 0.92 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, - CH_3), 1.37 (3H, s, - CH_3), 1.63 (2H, m, - CH_2), 3.62 (2H, m, - CH_2), 5.41 (2H, s, - NH_2), 6.73 (1H, s, -OH), 7.09 (2H, m, -C-H), 7.33 (2H, m, -C-H), 7.52 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, -C-H), 7.61 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 11.3, 12.7, 41.0, 74.2, 99.9, 109.9, 122.5, 124.2, 124.8, 129.1, 129.7, 130.2, 132.1, 137.9, 142.6, 145.0, 146.5, 176.2.

3-(5-amino-1-(4-nitrofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1-propil-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A2c):

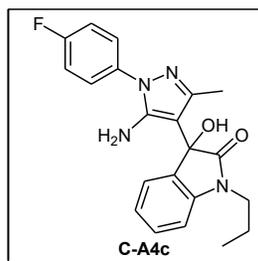


Sólido amarillo: (Rend 73%). pf. 220 – 221°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 0.93 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.39 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 1.64 (2H, m, $-\text{CH}_2$), 3.64 (2H, dq, $J = 25.1$ Hz, 6.8 Hz, $-\text{CH}_2$), 5.70 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.84 (1H, s, $-\text{OH}$), 7.11 (2H, dd, $J = 14.4$ Hz, 7.6 Hz, $-\text{C-H}$), 7.36 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.96 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.33 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 11.3, 12.7, 20.4, 40.9, 74.1, 101.0, 108.9, 121.7, 122.6, 124.8, 124.8, 129.8, 131.8, 142.6, 144.0, 144.4, 146.7, 147.5, 176.0.

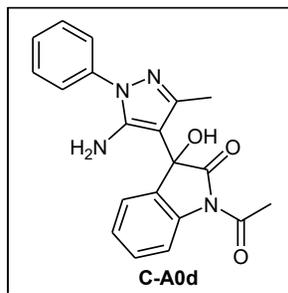
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1-propil-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A3c):



Sólido blanco: (Rend 95%). pf. 185 – 186°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 0.93 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.36 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 1.64 (2H, dt, $J = 13.6$ Hz, 7.8 Hz, $-\text{CH}_2$), 3.62 (2H, dh, $J = 28.3$ Hz, 7.1 Hz, $-\text{CH}_2$), 5.20 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.67 (1H, s, $-\text{OH}$), 7.02 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.09 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.34 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.44 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 11.8, 13.1, 20.9, 41.3, 55.8, 74.6, 99.4, 109.3, 114.7, 122.9, 125.1, 125.2, 130.0, 132.4, 132.8, 143.0, 144.2, 146.5, 158.0, 176.8.

3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1-propil-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A4c):

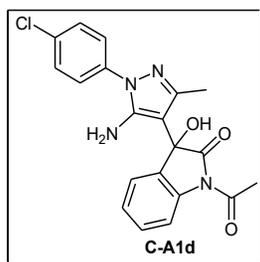
Sólido blanco: (Rend 89%). pf. 226 – 229°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 0.92 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.63 (2H, dtd, $J = 13.5, 8.5, 7.8, 4.4$ Hz, $-\text{CH}_2$), 3.63 (2H, dq, $J = 26.8$ Hz, 7.0 Hz, $-\text{CH}_2$), 5.34 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.72 (s, $-\text{OH}$), 7.08 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.33 (4H, pd, $J = 8.9, 1.8$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.59 (2H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 11.7, 13.1, 41.4, 74.6, 99.9, 109.3, 116.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22.8$ Hz), 122.9, 125.2, 125.4 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 8.5$ Hz), 130.1, 132.6, 135.8 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 2.9$ Hz), 143.1, 144.9, 146.8, 159.3, 161.8, 176.7.

1-acetil-3-(5-amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A0d):

Sólido blanco: (Rend 61%). pf. 221 – 223°C, IR (ν_{max} cm^{-1}): 3456, 3364, 3018, 1770, 1712, 1612, 1272, 761. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.34 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 2.61 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 5.37 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 7.05 (1H, s, $-\text{OH}$), 7.29 - 7.34 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.44 – 7.50 (4H,

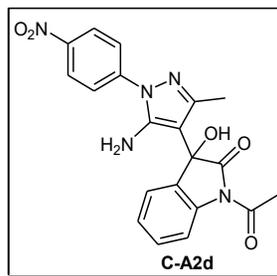
m, -C-H), 7.57 (2H, dd, $J = 1.1$ Hz, $J = 7.4$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.2, 26.7, 74.8, 99.3, 116.4, 123.4, 125.7, 126.1, 126.7, 129.6, 130.3, 132.1, 139.3, 139.7, 145.1, 146.7, 171.0, 177.7.

1-acetil-3-(5-amino-1-(4-clorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A1d):



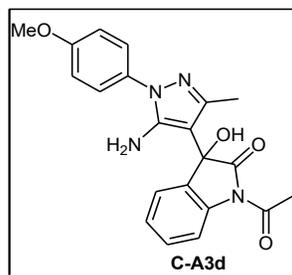
Sólido blanco: (Rend 64%). pf. 213 – 215°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.33 (3H, s, - CH_3), 2.60 (3H, s, - CH_3), 5.44 (2H, s, - NH_2), 7.07 (1H, s, -OH), 7.29 (1H, t, $J = 7.5$ Hz -C-H), 7.46 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, -C-H), 7.52, (2H, d, $J = 8.8$ Hz, -C-H), 7.61 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, -C-H), 8.17 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 12.7, 26.2, 54.9, 74.3, 99.2, 116.0, 124.4, 125.2, 125.7, 129.1, 129.9, 130.4, 131.6, 137.7, 139.3, 146.2, 146.5, 170.6, 177.2.

1-acetil-3-(5-amino-1-(4-nitrofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A2d):

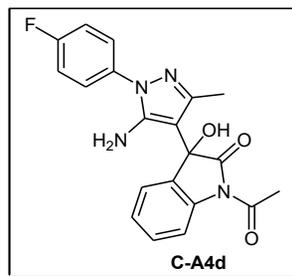


Sólido amarillo: (Rend 53%). pf. 225 – 227°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.36 (3H, s, -CH $_3$), 2.61 (3H, s, -CH $_3$), 5.75 (2H, s, -NH $_2$), 7.19 (1H, s, -OH), 7.32 (1H, td, J = 7.5 Hz, 1.1 Hz, -C-H), 7.48 (2H, m, -C-H), 7.95 (2H, d, J = 9.2 Hz, -C-H), 8.18 (1H, m, -C-H), 8.34 (2H, d, J = 9.2 Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.3, 26.7, 74.7, 100.8, 116.5, 122.5, 125.3, 125.7, 126.2, 130.5, 131.7, 139.8, 144.7, 144.8, 147.4, 147.9, 171.0, 177.5.

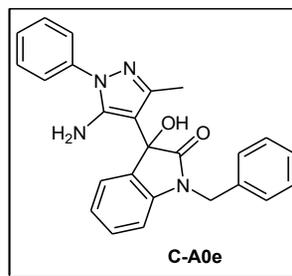
1-acetil-3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A3d):



Sólido blanco: (Rend 58%). pf. 206 – 208°C, IR (ν_{max} cm $^{-1}$): 3425, 3336, 3085, 3855, 1773, 1711, 1615, 1520, 1271, 1164, 846. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.32 (3H, s, -CH $_3$), 2.61 (3H, s, -CH $_3$), 3.80 (3H, s, -CH $_3$), 5.23 (2H, s, -NH $_2$), 7.03 (3H, m, -C-H), 7.31 (1H, td, J = 7.5 Hz, 1.1 Hz, -C-H), 7.45 (4H, m, -C-H), 8.17 (1H, d, J = 8.1 Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 13.2, 26.7, 55.8, 74.8, 98.8, 114.7, 116.4, 125.4, 125.7, 126.1, 130.3, 132.1, 132.2, 139.7, 144.5, 146.5, 158.2, 171.1, 177.8.

1-acetil-3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A4d):

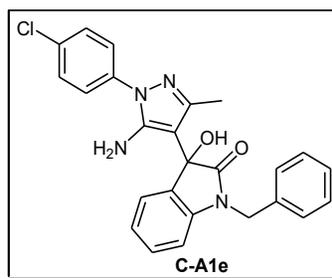
Sólido blanco: (Rend 78%). pf. 226 – 229°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.33 (3H, s, -CH $_3$), 2.60 (3H, s, -CH $_3$), 5.37 (2H, s, -NH $_2$), 7.07 (1H, s, -OH), 7.32 (3H, m, -C-H), 7.46 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, -C-H), 7.58 (2H, m, -C-H), 8.17 (1H, m, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 13.2, 26.7, 74.7, 99.3, 116.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22.8$ Hz), 116.4, 125.7 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.0$ Hz), 126.1, 130.3, 132.1, 135.6 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 2.6$ Hz), 139.7, 145.2, 146.8, 159.5, 161.9, 171.1, 177.7.

3-(5-amino-1-fenil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-bencil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A0e):

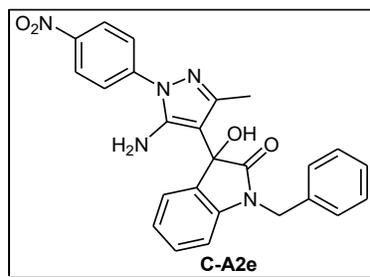
Sólido blanco: (Rend 64%). pf. 194 – 196°C, IR (ν_{max} cm^{-1}): 3437, 3358, 3060, 1716, 1613, 753, 693. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.30 (3H, s, -CH $_3$), 4.90 (2H, q, $J = 15.7$ Hz, -CH $_2$), 5.37 (2H, s, -NH $_2$), 6.86 (1H, s, -OH), 6.97 (1H, m, -C-H), 7.07 (1H, td, $J = 7.5$

Hz, 1.0 Hz, -C-H), 7.31 (2H, m, -C-H), 7.38 (3H, m, -C-H), 7.48 (3H, td, $J = 8.6$ Hz, 2.1 Hz, -C-H), 7.58 (2H, ddd, $J = 7.4$ Hz, 3.7 Hz, 2.0 Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.2, 43.2, 74.8, 99.8, 109.8, 123.1, 123.2, 125.3, 126.5, 128.0, 129.0, 129.5, 129.6, 129.9, 132.6, 136.7, 139.4, 142.7, 145.0, 146.8, 177.0.

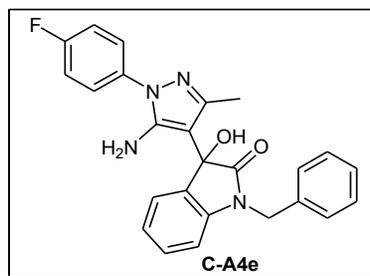
3-(5-amino-1-(4-clorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-bencil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A1e):



Sólido blanco: (Rend 52%). pf. 187 – 189°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.28 (3H, s, -CH₃), 4.89 (2H, dd, $J = 15.7$ Hz, 14.6 Hz, -CH₂), 5.44 (2H, s, -NH₂), 6.88 (1H, s, -OH), 6.96 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, -C-H), 7.06 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, -C-H), 7.28 – 7.40 (7H, m, -C-H), 7.52 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, -C-H), 7.62 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 12.7, 42.8, 54.9, 74.3, 99.7, 109.4, 122.8, 124.2, 124.9, 127.6, 128.6, 129.0, 129.6, 130.1, 132.0, 136.3, 137.9, 142.3, 145.0, 146.6, 176.5.

3-(5-amino-1-(4-nitrofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-bencil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A2e):

Sólido amarillo: (Rend 54%). pf. 155 – 157°C, $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 1.30 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 4.90 (2H, d, $J = 15.6$ Hz, 13.0 Hz, $-\text{CH}_2$), 5.74 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 7.01 (1H, s, $-\text{OH}$), 7.07 (1H, m, $-\text{C-H}$), 7.36 (8H, m, $-\text{C-H}$), 7.96 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, $-\text{C-H}$), 8.34 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ 13.2, 43.3, 74.7, 109.9, 112.7, 122.2, 123.3, 125.3, 128.1, 129.0, 130.2, 132.1, 136.7, 138.9, 142.8, 144.5, 144.9, 147.3, 148.0, 159.8, 176.7.

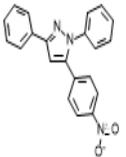
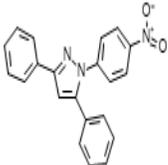
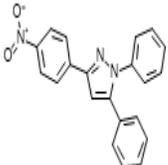
3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-bencil-3-hidroxi-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (C-A4e):

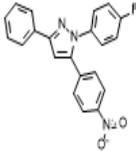
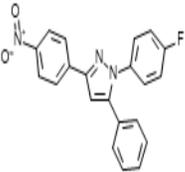
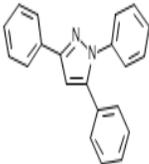
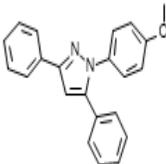
Sólido blanco: (Rend 94%). pf. 185 – 187°C, IR (ν_{max} cm^{-1}): 3442, 3361, 3175, 1714, 1353, 930, 840, 758. $^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ : 1.29 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 4.90 (2H, q, $J = 15.5$ Hz, $-\text{CH}_2$), 5.36 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 6.87 (1H, s, $-\text{OH}$), 6.98 (1H, m, $-\text{C-H}$), 7.07 (1H, m, -

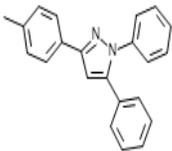
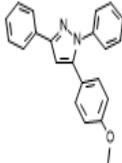
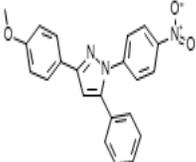
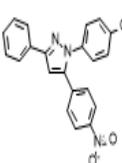
C-H), 7.34 (9H, m, -C-H), 7.60 (2H, m, -C-H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz): δ : 13.1, 19.0, 43.2, 74.7, 99.7, 109.8, 110.2, 116.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 22.8$ Hz), 123.2, 125.3, 125.5 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 8.4$ Hz), 127.9, 128.0, 129.0, 130.0, 132.5, 135.8, 136.7, 142.7, 145.0, 146.9, 176.9.

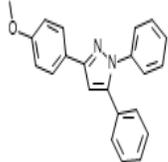
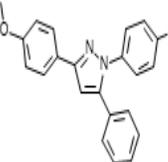
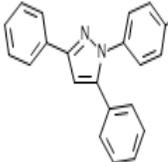
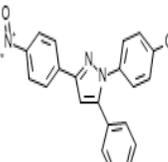
G. Anexo G: Propiedades ADMETox y puntajes de acoplamiento molecular con NaV1.7 calculadas para la serie D: 1,3,5-triarilpirazoles.

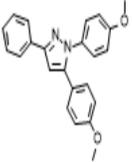
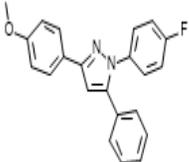
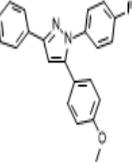
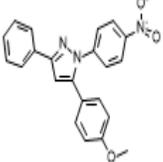
Propiedades ADMETox de la serie D.

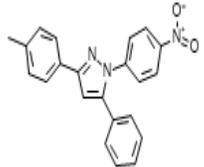
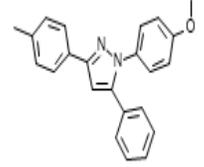
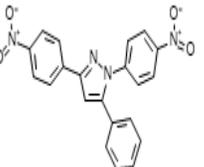
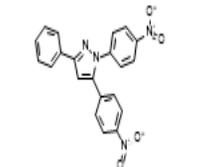
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PHNOH	4	4,962	1	1741,378	37,869	0,6	1	341,372	0	3
	D-PNOH2	4,079	4,962	1	1911,329	35,823	0,9	1	341,372	0	3
	D-PH2NO	4,159	4,962	1	1763,455	26,392	0,9	1	341,372	0	3

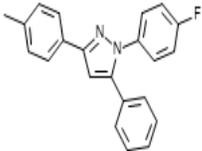
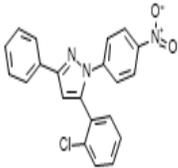
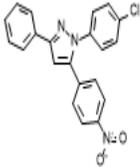
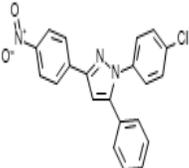
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PFNOH	4,175	5,072	1	1164,269	54,997	0,9	1	359,362	0	3
	D-PFHNO	4,414	5,072	1	1141,367	33,717	0,9	1	359,362	0	3
	D-PH3	4,513	5,027	1	1680,586	51,394	0	1,27	296,374	0	1
	D-PMOH2	5,06	4,678	1	2460,616	55,622	0	1,147	326,4	0	2

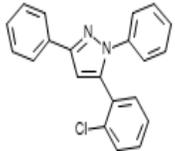
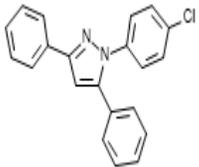
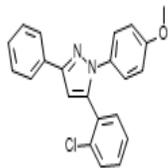
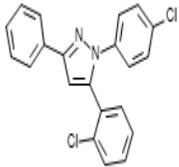
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PH2M	5,182	5,246	1	1769,11	33,406	0	1,147	310,401	0	1
	D-PHMOH	5,222	4,678	1	1846,297	54,003	0	1,176	326,4	0	2
	D-PNOHMO	5,288	4,409	1	1901,599	27,707	1,2	2	371,398	0	4
	D-PMONOH	5,296	4,409	1	1358,239	47,907	1,2	2	371,398	0	4

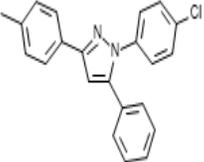
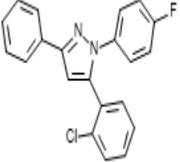
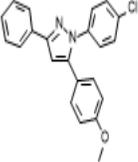
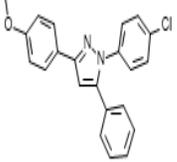
Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PH2MO	5,306	4,678	1	2639,895	38,344	0,3	1,124	326,4	0	2
	D-PMOHMO	5,377	4,085	0	3311,861	38,707	0,3	1	356,427	0	3
	D-PFH2	5,449	5,405	1	1186,855	83,076	0	1,731	314,364	0	1
	D-PMOHNO	5,454	4,409	1	1320,678	26,814	1,2	2	371,398	0	4

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PMOMOH	5,539	4,085	0	2776,199	69,02	0	1,137	356,427	0	3
	D-PFHMO	5,544	4,786	1	2479,452	48,631	0,3	1,067	344,391	0	2
	D-PFMOH	5,573	4,786	1	2051,467	80,52	0	1,226	344,391	0	2
	D-PNOMOH	5,625	4,409	1	1348,627	44,583	1,2	2	371,398	0	4

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PNOHM	5,698	5,181	1	1791,968	28,93	0,9	2	355,399	0	3
	D-PMOHM	5,893	4,893	1	2664,772	<u>42,966</u>	0	1,156	340,428	0	2
	D-PNOHNO	6	4,781	1	1761,687	27,81	1,2	3	386,369	0	5
	D-PNONOH	6	4,781	1	1805,668	47,008	1,2	3	386,369	0	5

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PFHM	6,008	5,622	1	1236,916	57,117	0	1,584	328,391	0	1
	D-PNOCIH	6,223	5,181	1	1690,7	43,09	0,6	2,575	375,817	0	3
	D-PCINOH	6,57	5,181	1	1841,316	50,401	0,6	3	375,817	0	3
	D-PCIHNO	6,727	5,181	1	1677,97	30,748	0,9	3	375,817	0	3

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PCH1H	6,97	5,514	1	1493,853	75,347	0	2,602	330,819	0	1
	D-PCIH2	7,181	5,514	1	1647,199	73,851	0	2,882	330,819	0	1
	D-PMOCIH	7,219	4,893	1	1418,257	64,951	0	2,553	360,845	0	2
	D-PCI2H	7,336	5,729	1	1171,639	85,56	0	2,738	365,264	0	1

Structure	Identifier	ADMET_Risk	MlogP	RuleOf5	Rat_Acute	Rat_TD50	MUT_Risk	TOX_Risk	MWt	HBD	HBA
	D-PCIHM	7,438	5,729	1	1636,93	50,646	0	2,761	344,846	0	1
	D-PFCIH	7,472	5,622	1	879,304	97,705	0	3	348,809	0	1
	D-PCIMOH	7,649	4,893	1	1288,739	71,86	0	2,686	360,845	0	2
	D-PCIHMO	8,087	4,893	1	1851,099	42,875	0	2,601	360,845	0	2

Puntajes de acoplamiento molecular serie D.

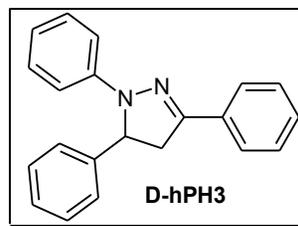
Código	Score ADT	Scaled score ADT	Score VINA	Scaled score VINA	Score DOCK6	Scaled score DOCK6	Afin promedio
D-PFHNO	-6,67	0,33	-7,9	0,85	-37,689	0,80	0,66
D-PH2NO	-6,67	0,33	-7,6	0,62	-37,788	0,81	0,58
D-PHNOH	-7,32	0,72	-7,6	0,62	-32,072	0,22	0,52
D-PH2MO	-6,88	0,45	-7,3	0,38	-36,842	0,71	0,52
D-PNOH2	-7,27	0,69	-7,4	0,46	-33,209	0,34	0,50
D-PFHMO	-6,58	0,27	-7,4	0,46	-37,311	0,76	0,50
D-PFNOH	-6,74	0,37	-7,9	0,85	-32,492	0,26	0,49
D-PMOHMO	-6,51	0,23	-7,2	0,31	-38,981	0,93	0,49
D-PMOMOH	-6,67	0,33	-7,3	0,38	-36,417	0,67	0,46
D-PFHM	-6,78	0,39	-7,4	0,46	-32,137	0,23	0,36
D-PHMOH	-7,25	0,68	-7,1	0,23	-31,499	0,16	0,36
D-PFMOH	-6,9	0,47	-7,1	0,23	-32,516	0,27	0,32
D-PNOHM	-6,18	0,02	-7,4	0,46	-34,081	0,43	0,30
D-PMOH2	-6,92	0,48	-7,1	0,23	-31,596	0,17	0,29
D-PMOHM	-6,37	0,14	-7,3	0,38	-32,898	0,31	0,28
D-PFH2	-6,96	0,50	-7,1	0,23	-29,908	0,00	0,24
D-PH3	-6,98	0,52	-6,8	0,00	-30,617	0,07	0,20
D-PH2M	-6,26	0,07	-7,0	0,15	-30,742	0,09	0,10

H. Anexo H: Sección experimental Serie D: 1,3,5-triarilpirazoles.

Procedimiento general para la síntesis de las chalconas : Se mezclaron 10 mmoles de la correspondiente acetofenona con 10 mmoles del aldehído correspondiente en 5 mL de etanol (96%). A esta mezcla se adicionó una lenteja de hidróxido de sodio y se agitó hasta observar consumo total de los precursores por cromatografía en capa fina usando como fase móvil diclorometano, el precipitado obtenido se filtró al vacío y se lavó con etanol frío obteniéndose el compuesto deseado.

Procedimiento general para la síntesis de los 1,3,5-triaril-4,5-dihidro-1H-pirazoles: 1.0 mmoles de la chalcona correspondiente se disolvieron en 15 mL de etanol absoluto, la mezcla se purgó con argón por 5 minutos y se adicionaron 1.5 mmoles de la correspondiente arilhidracina y se adicionaron 2 mmoles de carbonato de potasio. La mezcla se dejó en agitación a temperatura de reflujo hasta consumo completo de la chalcona, evidenciado por cromatografía en capa delgada (Fase móvil: DCM/hexano 2:1). Una vez terminada la reacción se dejó llegar a temperatura ambiente y el sólido formado se filtró al vacío y se lavó con agua destilada.

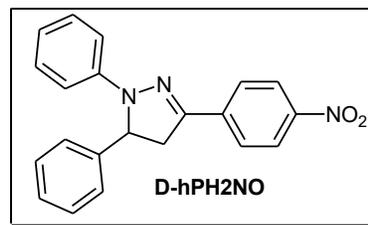
1,3,5-trifenil-4,5-dihidro-1H-pirazol (D-hPH3).



Sólido amarillo pálido (Rend: 77%) pf. 140 – 143°C, ¹H-RMN: (CDCl₃ 400 MHz) δ: 3.17 (1H, dd, *J* = 17.1 Hz, 7.3 Hz, -CH₂), 3.87 (1H, dd, *J* = 17.1 Hz, 12.4 Hz, -CH₂), 5.31 (1H, dd, *J* = 12.4 Hz, 7.3 Hz, -C-H), 6.79 – 6.88 (4H, m, -C-H), 7.08 – 7.12 (4H, m, -C-H), 7.29

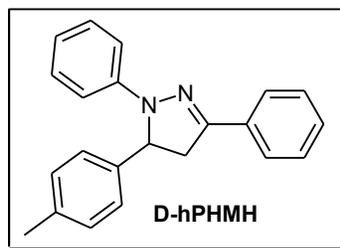
– 7.31 (2H, m, -C-H), 7.36 – 7.41 (4H, m, -C-H), 7.48 – 7.51 (1H, m, -C-H). ^{13}C -RMN: (CDCl_3 100 MHz) δ : 64.5, 75.9, 113.4, 119.1, 125.7, 127.6, 128.5, 128.9, 129.2, 132.8, 138.2, 139.3, 140.2, 142.6 146.8.

1,5-difenil-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (D-hPH2NO).



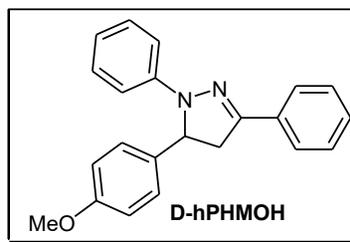
Sólido rojo (Rend: 39%) pf. 180 – 183°C, ^1H -RMN: (CDCl_3 400 MHz) δ : 3.19 (1H, dd, $J = 17.1$ Hz, 7.0 Hz, $-\text{CH}_2$), 3.89 (1H, dd, $J = 17.1$ Hz, 12.7 Hz, $-\text{CH}_2$), 5.44 (1H, dd, $J = 12.7$ Hz, 7.0 Hz, -C-H), 6.87 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, -C-H), 7.10 – 7.12 (2H, m, -C-H), 7.27 – 7.29 (2H, m, -C-H), 7.31 – 7.33 (2H, m, -C-H), 7.35 – 7.38 (3H, m, -C-H), 7.84 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, -C-H), 8.25 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, -C-H). ^{13}C -RMN: (CDCl_3 100 MHz) δ : 42.8, 64.8, 113.8, 120.3, 124.0, 125.7, 125.8, 127.9, 129.1, 129.3, 139.0, 141.7, 143.6, 143.9 147.0.

1,3-difenil-5-(4-tolil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (D-PHMH).



Sólido naranja (Rend 60 %), pf. 149 – 150°C, $^1\text{H-RMN}$: (CDCl_3 400 MHz) δ : 2.18 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 2.77 (1H, dd, $J = 13.1$ Hz, 8.0 Hz, $-\text{CH}_2$), 3.12 (1H, dd, $J = 13.1$ Hz, 4.2 Hz, $-\text{CH}_2$), 5.52 (1H, dd, $J = 7.2$ Hz, 8.0 Hz, $-\text{C-H}$), 6.87 – 7.42 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.10 – 7.12 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.27 – 7.29 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.31 – 7.33 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.35 – 7.38 (3H, m, $-\text{C-H}$), 7.84 (14H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-RMN}$: (CDCl_3 100 MHz) δ : 21.2, 42.3, 58.8, 121.8, 124.7, 125.0, 125.8, 127.9, 128.8, 129.0, 129.4, 129.8, 137.8, 139.7, 140.3 152.5.

1,3-difenil-5-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (D-PHMOH).

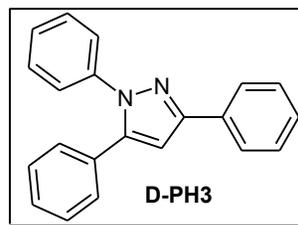


Sólido amarillo (Rend: 84 %), pf. 128 – 129°C, $^1\text{H-RMN}$: (CDCl_3 400 MHz) δ : 3.08 (1H, dd, $J = 17.5$ Hz, 6.3 Hz, $-\text{CH}_2$), 3.88 (1H, dd, $J = 17.5$ Hz, 12.2 Hz, $-\text{CH}_2$), 5.43 (1H, dd, $J = 12.2$ Hz, 6.3 Hz, $-\text{C-H}$), 6.71 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, $-\text{C-H}$), 6.86 – 6.92 (2H, m, $-\text{C-H}$), 7.02 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.15 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.21 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.38 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.43 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.73 – 7.75 (2H, m, $-\text{C-H}$). $^{13}\text{C-RMN}$: (CDCl_3 100 MHz) δ : 42.3, 58.8, 75.5, 121.8, 124.7, 125.0, 125.8, 127.9, 128.8, 129.0, 129.4, 129.8, 137.8, 139.7, 140.3 152.5.

Procedimiento general para la oxidación de las pirazolinas: En un balón de dos bocas se adiciona 1 mmol de la correspondiente pirazolina y se disuelve en 5 mL de ácido acético glacial, esta mezcla se agita y se burbujea aire mediante el uso de una bomba de pecera adaptada con una cánula. La reacción se monitorea por cromatografía en capa delgada (Fase móvil: DCM/hexano 2:1) hasta consumo de la pirazolina precursora. Una vez terminada la reacción se enfrió con hielo picado y se hizo extracción con acetato de

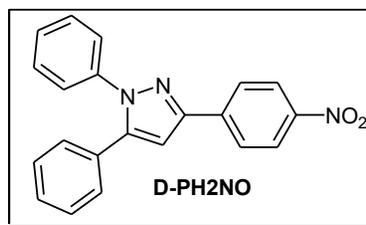
etilo y la fase orgánica se lavó con salmuera y bicarbonato de sodio. Una vez separada, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente obteniéndose el producto de interés.

1,3,5-trifenil-4,5-dihidro-1H-pirazol (D-PH3).



Sólido blanco (Rend: 65%) pf. 130 – 132°C, $^1\text{H-RMN}$: (CDCl_3 400 MHz) δ : 6.80 (1H, s, -C-H), 6.87 – 7.12 (2H, m, -C-H), 7.14 – 7.16 (4H, m, -C-H), 7.26 – 7.29 (4H, m, -C-H), 7.48 – 7.51 (5H, m, -C-H). $^{13}\text{C-RMN}$: (CDCl_3 100 MHz) δ : 64.5, 75.9, 113.4, 119.1, 125.7, 127.6, 128.5, 128.9, 129.2, 132.8, 138.2, 139.3, 140.2, 142.6 146.8.

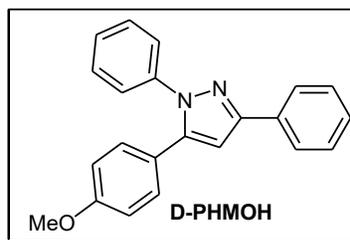
1,5-difenil-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (D-PH2NO).



Sólido rojo (Rend: 60%) pf. 110 – 112°C, $^1\text{H-RMN}$: (CDCl_3 400 MHz) δ : 6.90 (1H, td, $J = 7.3$ Hz, 1.2 Hz, -C-H), 7.11 – 7.19 (2H, m, -C-H), 7.25 – 7.35 (4H, m, -C-H), 7.38 – 7.41 (2H, m, -C-H), 7.55 – 7.58 (1H, m, -C-H), 7.64 – 7.70 (2H, m, -C-H), 7.91 (1H, m, -C-H).

^{13}C -RMN: (CDCl_3 100 MHz) δ : 115.8, 120.3, 124.0, 125.7, 125.8, 127.9, 129.1, 129.3, 139.0, 141.7, 143.6, 143.9, 145.4, 145.7, 147.0.

1,3-difenil-5-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol (D-PHMOH).



Sólido amarillo (Rend: 92 %), pf. 92 – 93°C, ^1H -RMN: (CDCl_3 400 MHz) δ : 3.82 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 6.85 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.20 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, $-\text{C-H}$), 7.30 – 7.45 (8H, m, $-\text{C-H}$) 7.91 – 7.93 (2H, m, $-\text{C-H}$). ^{13}C -RMN: (CDCl_3 100 MHz) δ : 104.7, 113.9, 123.0, 125.3, 125.8, 127.3, 127.9, 128.6, 128.9, 130.0, 133.7, 140.3, 144.2, 151.8, 159.6.

Bibliografía

- [1] M. Martínez-Rosas, "Los canales iónicos: la biología y patología," *Arch. Cardiol. México*, vol. 74, no. 2, pp. S205–S210, 2004.
- [2] K. June-Bum, "Channelopathies," *Korean J Pediatr*, vol. 57, no. 1, pp. 194–194, 2014.
- [3] S. M. Modell and M. H. Lehmann, "The long QT syndrome family of cardiac ion channelopathies: A HuGE review," *Genet. Med.*, vol. 8, no. 3, pp. 143–155, 2006.
- [4] D. M. Kullmann, "Neurological channelopathies," *Annu. Rev. Neurosci.*, vol. 33, pp. 151–172, 2010.
- [5] P. Nuss, "Anxiety disorders and GABA neurotransmission: A disturbance of modulation," *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, vol. 11, pp. 165–175, 2015.
- [6] Y. B. Martin, G. Herradon, and L. Ezquerra, "Uncovering New Pharmacological Targets to Treat Neuropathic Pain by Understanding How the Organism Reacts to Nerve Injury," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 17, no. 5, pp. 434–448, 2011.
- [7] Grupo de Gestión Integrada para la Salud Mental, "Boletín de salud mental Salud mental en niños, niñas y adolescentes," 2017.
- [8] Grupo Gestión Integrada para la Salud Mental, "Boletín de salud mental: Análisis de Indicadores en Salud Mental por territorio," 2018.
- [9] P. Xiong, M. Liu, B. Liu, and B. J. Hall, "Trends in the incidence and DALYs of anxiety disorders at the global, regional, and national levels: Estimates from the Global Burden of Disease Study 2019," *J. Affect. Disord.*, vol. 297, no. October 2021, pp. 83–93, 2022.
- [10] C. Gudex, "Adverse effects of Benzodiazepines," *Soc. Sci. Med.*, vol. 33, no. 5, pp. 587–596, 1991.
- [11] D. C. Tamayo, "Diabetes en Colombia: Descripción de la epidemiología actual," 2013.
- [12] J. W. Martinez, J. C. Sánchez-Naranjo, and P. A. Londoño de los Rios, "Prevalencia de neuropatía periférica asociada a quimioterapia en cuatro centros oncológicos de Colombia," *Rev. Neurol.*, vol. 69, pp. 94–98, 2019.
- [13] J. Moore and C. Gaines, "Gabapentin for chronic neuropathic pain in adults," *Br. J. Community Nurs.*, vol. 24, no. 12, pp. 608–609, 2019.
- [14] V. Verma, N. Singh, and A. Jaggi, "Pregabalin in Neuropathic Pain: Evidences and Possible Mechanisms," *Curr. Neuropharmacol.*, vol. 12, no. 1, pp. 44–56, 2014.
- [15] J. T. Hong *et al.*, "Pharmacological target therapy of neuropathic pain and patient-reported outcomes in patients with chronic low back pain in Korea: Results from the NLBP Outcomes Research," *Med. (United States)*, vol. 97, no. 35, pp. 1–8, 2018.
- [16] S. Mandal, M. Moudgil, and S. K. Mandal, "Rational drug design," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 625, no. 1–3, pp. 90–100, 2009.
- [17] G. Thomas, *Fundamentals of medicinal chemistry.*, vol. 32, no. 3. 2004.

- [18] T. Langer and R. D. Hoffmann, *Methods and principles in Medicinal Chemistry. Pharmacophores and pharmacophore searches*. 2006.
- [19] M. E. Welsch, S. A. Snyder, and B. R. Stockwell, "Privileged scaffolds for library design and drug discovery," *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 14, no. 3, pp. 347–361, 2010.
- [20] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 46, pp. 3–26, 2001.
- [21] M. Sahu and N. Siddiqui, "A review on biological importance of pyrimidines in the new era.," *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 8, no. 5, pp. 8–21, 2016.
- [22] S. Kumar, S. Bawa, S. Drabu, R. Kumar, and H. Gupta, "Biological Activities of Pyrazoline Derivatives -A Recent Development," *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.*, 2009.
- [23] S. Nirwan, V. Chahal, and R. Kakkar, "Thiazolidinones: Synthesis, Reactivity, and Their Biological Applications," *J. Heterocycl. Chem.*, vol. 56, no. 4, pp. 1239–1253, 2019.
- [24] X. Q. Deng, M. X. Song, S. Ben Wang, and Z. S. Quan, "Synthesis and evaluation of the anticonvulsant activity of 8-alkoxy-4,5-dihydrobenzo[b][1,2,4]triazolo[4,3-d][1,4]thiazepine derivatives," *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, vol. 29, no. 2, pp. 272–280, 2014.
- [25] F. de Sa Alves, E. Barreiro, and C. Manssour Fraga, "From Nature to Drug Discovery: The Indole Scaffold as a Privileged Structure," *Mini-Reviews Med. Chem.*, vol. 9, no. 7, pp. 782–793, 2009.
- [26] K. Hiesinger, D. Dar'In, E. Proschak, and M. Krasavin, "Spirocyclic Scaffolds in Medicinal Chemistry," *J. Med. Chem.*, vol. 64, no. 1, pp. 150–183, 2021.
- [27] P. Anastas and N. Eghbali, "Green Chemistry: Principles and Practice," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 1, pp. 301–312, 2010.
- [28] C. Gómez-restrepo, N. Tamayo, and A. Bohórquez, "Trastornos depresivos y de ansiedad y factores asociados en la población adulta colombiana , Encuesta Nacional de Salud Mental 2015," *Rev. Colomb. Psiquiatr.*, vol. 5, no. S 1, pp. 58–67, 2016.
- [29] B. A. Kotsias, "LOS CANALES IÓNICOS COMO BLANCO DE DROGAS," *Medicina (B. Aires)*, vol. 81, pp. 308–309, 2021.
- [30] S. Alexander, A. Mathie, and J. Peters, "ION CHANNELS," *Br. J. Pharmacol.*, vol. 164, no. supplement s1, pp. S137–S174, Nov. 2011.
- [31] W. A. Catterall, "Structure and Function of Voltage-Sensitive," *Science (80-)*, vol. 242, pp. 51–61, 1988.
- [32] J. J. Galligan, "Ligand-gated ion channels in the enteric nervous system," *Neurogastroenterol. Motil.*, vol. 14, no. 6, pp. 611–623, 2002.
- [33] J. Medel, L. Cortijo, E. Gasca, P. Tepetlan, A. Pérez, and F. Ramos, "Receptor GABAA: implicaciones farmacológicas a nivel central," *Arch. neurociencias (México, D.F.)*, vol. 16, no. 1, pp. 40–45, 2011.

- [34] J. Egebjerg, A. Schousboe, and P. Krosgaard - Larsen, *Glutamate and GABA receptors and transporters*. Taylor and Francis Inc., 2002.
- [35] S. Zhu, C. M. Noviello, J. Teng, R. M. Walsh, J. J. Kim, and R. E. Hibbs, "Structure of a human synaptic GABA_A receptor," *Nature*, vol. 559, no. 7712, pp. 67–88, 2018.
- [36] H. Zuo *et al.*, "Structural basis for auxiliary subunit KCTD16 regulation of the GABA-B receptor," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 116, no. 17, pp. 8370 LP – 8379, Apr. 2019.
- [37] J. Morelli, "PRESCRIPTION ANXIETY MEDICATIONS." [Online]. Available: https://www.rxlist.com/anxiety_medications/drugs-condition.htm.
- [38] R. Olsen and H. Betz, "GABA and Glycine," in *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects.*, Septima ed., G. Siegel, R. Albers, S. Brady, and D. Price, Eds. Elsevier, 2006, pp. 291–302.
- [39] U. Handa and K. Saroha, "Research and development of diazepam solid dispersion powder using natural polymers," *Int. J. Appl. Pharm.*, vol. 10, no. 5, pp. 220–225, 2018.
- [40] J. Payandeh, T. Scheuer, N. Zheng, and W. A. Catterall, "THE CRYSTAL STRUCTURE OF A VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL," *Nature*, vol. 475, no. 7356, pp. 353–358, 2012.
- [41] S. D. Dib-Hajj and S. G. Waxman, "Sodium Channels in Human Pain Disorders: Genetics and Pharmacogenomics.," *Annu. Rev. Neurosci.*, vol. 42, pp. 87–106, Jul. 2019.
- [42] B. Furman, "Tetrodotoxin," in *Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier, 2018, pp. 1–4.
- [43] D. van der Merwe, "Chapter 31 - Cyanobacterial (Blue-Green Algae) Toxins," in *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents*, R. C. B. T.-H. of T. of C. W. A. (Second E. Gupta, Ed. Boston: Academic Press, 2015, pp. 421–429.
- [44] D. L. Bennett, A. J. Clark, J. Huang, S. G. Waxman, and S. D. Dib-Hajj, "The Role of Voltage-Gated Sodium Channels in Pain Signaling.," *Physiol. Rev.*, vol. 99, no. 2, pp. 1079–1151, Apr. 2019.
- [45] R. H. Dworkin *et al.*, "Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: An overview and literature update," *Mayo Clin. Proc.*, vol. 85, no. 3 SUPPL., pp. S3–S14, 2010.
- [46] H. Shen, H. Shen, D. Liu, K. Wu, J. Lei, and N. Yan, "Structures of human Na^v1.7 channel in complex with auxiliary subunits and animal toxins," *Science (80-.)*, vol. 2493, no. February, pp. 1–12, 2019.
- [47] A. Alcántara Montero and C. I. Sánchez Carnerero, "Voltage-gated sodium channel blockers: New perspectives in the treatment of neuropathic pain," *Neurologia*, vol. 36, no. 2, pp. 169–171, 2021.
- [48] R. B. Silverman, *The organic chemistry of drug design and drug action*, Second edi. Elsevier Academic Press, 2004.

- [49] D. S. Wishart *et al.*, "DrugBank : a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration," *Nucleic Acids Res.*, vol. 34, pp. 668–672, 2006.
- [50] C. Saavedra-Coronado, "DISEÑO RACIONAL DE NUEVOS COMPUESTOS ESPIROHETEROCÍCLICOS NITROGENADOS Y AZUFRADOS COMO POTENCIALES MODULADORES ALOSTÉRICOS DE RECEPTORES GABA-A," Universidad Nacional de Colombia, 2018.
- [51] J. C. Escalona-Arranz, R. Carrasco-velar, and J. Padrón-García, *Introducción al diseño racional de fármacos*, 1ra edició. Ciudad de la Habana: Editorial Universitaria, 2008.
- [52] D. A. Paterson, R. A. Conradi, A. R. Hilgers, T. J. Vidmar, and P. S. Burton, "A Non-aqueous Partitioning System for Predicting the Oral Absorption Potential of Peptides," *Quant. Struct. Relationships*, vol. 13, no. 1, pp. 4–10, 1994.
- [53] I. Moriguchi, S. Hirono, Q. Liu, I. Nakagome, and Y. Matsushita, "Simple Method of Calculating Octanol/Water Partition Coefficient," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 40, no. 1, pp. 127–130, 1992.
- [54] A. K. Ghose, V. N. Viswanadhan, and J. J. Wendoloski, "A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases," *J. Comb. Chem.*, vol. 1, no. 1, pp. 55–68, 1999.
- [55] H. Zhu, T. M. Martin, L. Ye, A. Sedykh, D. M. Young, and A. Tropsha, "Quantitative structure-activity relationship modeling of rat acute toxicity by oral exposure," *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 22, no. 12, pp. 1913–1921, 2009.
- [56] C. Sawyer, R. Peto, L. Bernstein, M. C. Pike, and L. Bernstein, "Calculation of Carcinogenic Potency from Long-term Animal Carcinogenesis Experiments," *Biometrics*, vol. 40, no. 1, pp. 27–40, 1984.
- [57] C. Xu, F. Cheng, L. Chen, Z. Du, and Y. Tang, "In silico Prediction of Chemical Ames Mutagenicity," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 52, pp. 2840–2847, 2012.
- [58] D. M. Maron and B. N. Ames, "Revised methods for the Salmonella mutagenicity test," *Mutat. Res.*, vol. 113, pp. 173–215, 1983.
- [59] T. Khan, A. J. Lawrence, I. Azad, S. Raza, and A. R. Khan, "Molecular Docking Simulation with Special Reference to Flexible Docking Approach," *JSM Chem.*, vol. 6, pp. 1053–1057, 2018.
- [60] N. Foloppe and R. Hubbard, "Towards Predictive Ligand Design With Free-Energy Based Computational Methods?," *Curr. Med. Chem.*, vol. 13, pp. 3583–3608, 2006.
- [61] A. F. Pozharskii, A. T. Soldatenkov, and A. R. Katritzky, *Heterocycles in Life and Society*. 2011.
- [62] T. Eicher and S. Hauptmann, *The Chemistry of Heterocycles: Structures, Reactions, Synthesis, and Applications.*, Second edi. John Wiley & Sons press, 2003.

- [63] R. A. Stockman, *Heterocyclic chemistry*, vol. 103. 2007.
- [64] J. Clayden, N. Greeves, and S. Warren, *Organic Chemistry*, 2nd Editio., vol. 270, no. 5234. New York: Oxford University Press, 2012.
- [65] I. Eggleston, *Advanced Organic Chemistry Part B: Reactions and Synthesis, 4th Ed.*, vol. 2001, no. 16. 2004.
- [66] B. Insuasty *et al.*, "Synthesis of novel pyrazolic analogues of chalcones and their 3-aryl-4-(3-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-1-phenyl-1H-pyrazole derivatives as potential antitumor agents," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 18, no. 14, pp. 4965–4974, 2010.
- [67] N. K. Terrett, A. S. Bell, D. Brown, and P. Ellis, "Sildenafil (Viagra(TM)), a potent and selective inhibitor of type 5 CGMP phosphodiesterase with utility for the treatment of male erectile dysfunction," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 6, no. 15, pp. 1819–1824, 1996.
- [68] S. L. Zheng, Y. Wang, Z. Yu, Q. Lin, and P. Coppens, "Direct observation of a photoinduced nonstabilized nitrile imine structure in the solid state," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 131, no. 50, pp. 18036–18037, 2009.
- [69] K. M. L. Rai and N. Linganna, "Mercuric acetate in organic synthesis: A simple procedure for the synthesis of pyrazolines," *Synth. Commun.*, vol. 27, no. 21, pp. 3737–3744, 1997.
- [70] G. Broggin, L. Garanti, G. Molteni, T. Pilati, A. Ponti, and G. Zecchi, "Stereoselective intramolecular cycloadditions of homochiral nitrile imines: Synthesis of enantiomerically pure 3,3a-dihydro-pyrazolo[1,5-a][1,4]benzodiazepine-6(4H)-ones," *Tetrahedron Asymmetry*, vol. 10, no. 11, pp. 2203–2212, 1999.
- [71] I. Fleming, *Orbital interaction theory of organic chemistry. Arvi Rauk. 2nd edn. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2001. xv?+?343 pages. €67.50. ISBN 0-471-35833-9*, vol. 15, no. 10. 2001.
- [72] S. R. Donohue, C. Halldin, and V. W. Pike, "A facile and regioselective synthesis of rimonabant through an enamine-directed 1,3-dipolar cycloaddition," *Tetrahedron Lett.*, vol. 49, no. 17, pp. 2789–2791, 2008.
- [73] O. L. Melo Trujillo, D. Alonso Pérez, M. Zabalza Cerdeiriña, S. Nogué Xarau, J. M. Grau Junyent, and P. Munné Mas, "Tratamiento con fomepizol de una intoxicación aguda por metanol," *Rev. Toxicol.*, vol. 21, no. 1, pp. 41–43, 2004.
- [74] A. S. Cheung and M. Grossmann, "Physiological basis behind ergogenic effects of anabolic androgens," *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 464, no. November 2016, pp. 14–20, 2018.
- [75] T. Hua *et al.*, "Crystal structures of agonist-bound human cannabinoid receptor CB 1," *Nature*, vol. 547, no. 7664, pp. 468–471, 2017.
- [76] P. C. Lv, H. Q. Li, J. Sun, Y. Zhou, and H. L. Zhu, "Synthesis and biological evaluation of pyrazole derivatives containing thiourea skeleton as anticancer agents," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 18, no. 13, pp. 4606–4614, 2010.

- [77] R. Lin *et al.*, "Design, synthesis, and evaluation of 3,4-disubstituted pyrazole analogues as anti-tumor CDK inhibitors," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 17, no. 16, pp. 4557–4561, 2007.
- [78] M. S. Christodoulou, S. Liekens, K. M. Kasiotis, and S. A. Haroutounian, "Novel pyrazole derivatives: Synthesis and evaluation of anti-angiogenic activity," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 18, no. 12, pp. 4338–4350, 2010.
- [79] A. Chauhan, P. K. Sharma, and N. Kaushik, "Pyrazole: A versatile moiety," *Int. J. ChemTech Res.*, vol. 3, no. 1, pp. 11–17, 2011.
- [80] M. Bonesi, M. R. Loizzo, G. A. Statti, S. Michel, F. Tillequin, and F. Menichini, "The synthesis and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitory activity of chalcones and their pyrazole derivatives," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 20, no. 6, pp. 1990–1993, 2010.
- [81] R. Sridhar *et al.*, "Design, synthesis and anti-microbial activity of 1H-pyrazole carboxylates," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 14, no. 24, pp. 6035–6040, 2004.
- [82] S. Radi, S. Salhi, and A. Radi, "Synthesis and Preliminary Biological Activity of Some New Pyrazole Derivatives as Acyclonucleoside Analogues," *Lett. Drug Des. Discov.*, vol. 7, no. 1, pp. 27–30, 2009.
- [83] F. F. Barsoum and A. S. Girgis, "Facile synthesis of bis(4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboxamides) and their thio-analogues of potential PGE2 inhibitory properties," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 44, no. 5, pp. 2172–2177, 2009.
- [84] A. A. Bekhit, H. M. A. Ashour, Y. S. Abdel Ghany, A. E. D. A. Bekhit, and A. Baraka, "Synthesis and biological evaluation of some thiazolyl and thiadiazolyl derivatives of 1H-pyrazole as anti-inflammatory antimicrobial agents," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 43, no. 3, pp. 456–463, 2008.
- [85] O. I. El-Sabbagh *et al.*, "Synthesis and antiviral activity of new pyrazole and thiazole derivatives," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 44, no. 9, pp. 3746–3753, 2009.
- [86] C. A. Luscombe, Z. Huang, M. G. Murray, M. Miller, J. Wilkinson, and G. D. Ewart, "A novel Hepatitis C virus p7 ion channel inhibitor, BIT225, inhibits bovine viral diarrhoea virus in vitro and shows synergism with recombinant interferon- α -2b and nucleoside analogues," *Antiviral Res.*, vol. 86, no. 2, pp. 144–153, 2010.
- [87] M. F. El-zohry, I. M. A. Awad, and A. A. Abdel-hafez, "Spiroheterocycles Related to 1-oxa-4-thiaspiro[4.4]nonan-2-one and 1-oxa-4-thiospiro[4.5]decan-2-one," *Arch. Pharm. (Weinheim)*, vol. 326, pp. 115–118, 1993.
- [88] M. Abdel-Aziz, G. E. D. A. Abuo-Rahma, and A. A. Hassan, "Synthesis of novel pyrazole derivatives and evaluation of their antidepressant and anticonvulsant activities," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 44, no. 9, pp. 3480–3487, 2009.
- [89] P. Biginelli, "Ueber aldehyduramide des acetessigäthers," *Berichte der deutschen Chem.*

- Gesellschaft.*, pp. 1317–1319, 1891.
- [90] R. Merugu, S. Garimella, D. Balla, and K. Sambaru, "Synthesis and biological activities of pyrimidines: A review," *Int. J. PharmTech Res.*, vol. 8, no. 6, pp. 88–93, 2015.
- [91] Y. Loidreau *et al.*, "Synthesis and biological evaluation of N-arylbenzo[b]thieno[3,2-d]pyrimidin-4-amines and their pyrido and pyrazino analogues as Ser/Thr kinase inhibitors," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 58, pp. 171–183, 2012.
- [92] E. Perspicace *et al.*, "Design, synthesis and biological evaluation of new classes of thieno[3,2-d]pyrimidinone and thieno[1,2,3]triazine as inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2)," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 63, pp. 765–781, 2013.
- [93] A. E. G. E. Amr, H. H. Sayed, and M. M. Abdulla, "Synthesis and reactions of some new substituted pyridine and pyrimidine derivatives as analgesic, anticonvulsant and antiparkinsonian agents," *Arch. Pharm. (Weinheim)*, vol. 338, no. 9, pp. 433–440, 2005.
- [94] M. M. M. Ramiz, W. A. El-Sayed, A. I. El-Tantawy, and A. A. H. Abdel-Rahman, "Antimicrobial activity of new 4, 6-disubstituted pyrimidine, pyrazoline, and pyran derivatives," *Arch. Pharm. Res.*, vol. 33, no. 5, pp. 647–654, 2010.
- [95] N. C. Desai, A. H. Makwana, and R. D. Senta, "Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some novel 4-(4-(arylamino)-6-(piperidin-1-yl)-1,3,5-triazine-2-ylamino)-N-(pyrimidin-2-yl)benzenesulfonamides," *J. Saudi Chem. Soc.*, vol. 20, no. 6, pp. 686–694, 2016.
- [96] D. L. Guo *et al.*, "Structural modifications of 5,6-dihoxypyrimidines with anti-HIV activity," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 22, no. 23, pp. 7114–7118, 2012.
- [97] T. Michal, P. Radek, Y. X. Hao, C. Yen-Liang, Y. Fumiaki, and S. PeiYong, "Synthesis and Antiviral Activity of 4,6-Disubstituted Pyrimido[4,5-b]indole Ribonucleosides," *Bioorg. Med. Chem.*, vol. 20, no. 20, pp. 6123–6133, 2012.
- [98] U. R. Mane *et al.*, "Pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-ones as antiplasmodial falcipain-2 inhibitors," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 20, no. 21, pp. 6296–6304, 2012.
- [99] I. K. Ho and R. A. Harris, "Mechanism of action of barbiturates.," *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 21, pp. 83–111, 1981.
- [100] A. R. Katritzky and A. F. Pozharskii, *Handbook of heterocyclic chemistry*, 2nd editio. Elsevier Academic Press, 2000.
- [101] A. C. Tripathi, S. J. Gupta, G. N. Fatima, P. K. Sonar, A. Verma, and S. K. Saraf, "4-Thiazolidinones: The advances continue.," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 72, pp. 52–77, 2014.
- [102] F. C. Brown, "4-Thiazolidinones," *Chem. Rev.*, vol. 61, no. 5, pp. 463–521, 1961.
- [103] X. Zhang *et al.*, "Ionic liquid mediated and promoted eco-friendly preparation of thiazolidinone and pyrimidine nucleoside-thiazolidinone hybrids and their antiparasitic activities," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 19, no. 22, pp. 6280–6283, 2009.

- [104] P. D. Neuenfeldt, B. B. Drawanz, W. Cunico, E. R. T. Tiekink, J. L. Wardell, and S. M. S. V. Wardell, "4-(Pyrimidin-2-yl)-1-thia-4-azaspiro-[4.5]decan-3-one," *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online*, vol. 65, no. 12, 2009.
- [105] A. Dandia, R. Singh, S. Khaturia, C. Mérienne, G. Morgant, and A. Loupy, "Efficient microwave enhanced regioselective synthesis of a series of benzimidazolyl/triazolyl spiro [indole-thiazolidinones] as potent antifungal agents and crystal structure of spiro[3H-indole-3,2'-thiazolidine]- 3'(1,2,4-triazol-3-yl)-2,4'(1H)-dione," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 14, no. 7, pp. 2409–2417, 2006.
- [106] C. J. Andres *et al.*, "4-Thiazolidinones: Novel inhibitors of the bacterial enzyme MurB," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 10, no. 8, pp. 715–717, 2000.
- [107] P. Vicini, A. Geronikaki, M. Incerti, F. Zani, J. Dearden, and M. Hewitt, "2-Heteroarylrimino-5-benzylidene-4-thiazolidinones analogues of 2-thiazolylimino-5-benzylidene-4-thiazolidinones with antimicrobial activity: Synthesis and structure-activity relationship," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 16, no. 7, pp. 3714–3724, 2008.
- [108] H. D. Troutman and L. M. Long, "The synthesis of 2,3-disubstituted 4-thiazolidinones," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 70, pp. 3436–3439, 1948.
- [109] M. R. Shiradkar *et al.*, "Synthesis and anticonvulsant activity of clubbed thiazolidinone-barbituric acid and thiazolidinone-triazole derivatives," *Arkivoc*, vol. 2007, no. 14, pp. 58–74, 2007.
- [110] K. A. M. El-Bayouki, "Synthesis, reactions, and biological activity of 1,4-thiazepines and their fused aryl and heteroaryl derivatives: A review," *J. Sulfur Chem.*, vol. 32, no. 6, pp. 623–690, 2011.
- [111] L. H. S. Smith, S. C. Coote, H. E. Sneddon, and D. J. Procter, "Beyond the Pummerer reaction: Recent developments in thionium ion chemistry," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 49, no. 34, pp. 5832–5844, 2010.
- [112] D. J. Le Count, "Azepines and their Fused-ring Derivatives," in *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II: A Review of the Literature 1982-1995*, vol. 9, no. 17, 1996, pp. 1–43.
- [113] A. K. K. N. Renuka, K. R. Raghavendra, V. K. G. and B. K. Ranjitha, "BENZOTHIAZEPINES-AN OVERVIEW," *Int. J. Basic Appl. Chem. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 79–88, 2015.
- [114] G. R. Mhaske, S. S. Bajod, D. M. Ambhore, and S. N. Shelke, "Synthesis and Evaluation of Novel 1, 5-Benzothiazepine Derivatives as Anti-Inflammatory Agents," *Int. J. Innov. Res. Technol. Sci. Eng.*, vol. 3, no. 6, pp. 13208–13215, 2014.
- [115] K. L. Ameta, N. S. Rathore, and B. Kumar, "Synthesis and preliminary evaluation of novel 1, 5-benzothiazepine derivatives as anti-lung cancer agents," *Int. J. Pharm.*, vol. 3, no. 2, pp. 328–333, 2013.
- [116] A. P. Gaywood and H. McNab, "Methylene mel drums acid derivatives of indoxyl and their

- cyclization reactions under flash vacuum pyrolysis conditions," *Synthesis (Stuttg.)*, no. 8, pp. 1361–1364, 2010.
- [117] Y. Motoyama, K. Kamo, and H. Nagashima, "Catalysis in polysiloxane gels: Platinum-catalyzed hydrosilylation of polymethylhydrosiloxane leading to reusable catalysts for reduction of nitroarenes," *Org. Lett.*, vol. 11, no. 6, pp. 1345–1348, 2009.
- [118] W. Von Der Saal, J. peter Hoick, W. Kampe, A. Mertens, and B. Muller-beckmann, "Nonsteroidal Cardiotonics. 2. The Inotropic Activity of Linear, Tricyclic 5-6-5 Fused Heterocycles," *J. Med. Chem.*, vol. 32, no. 7, pp. 1481–1491, 1989.
- [119] G. M. Karp, "Preparation and reactions of indolin-2(3H)-ones. A review," *Org. Prep. Proced. Int.*, vol. 25, no. 5, pp. 481–513, 1993.
- [120] A. Mahamadi, P. Parimoo, W. G. Haney, and B. F. Grabowski, "Potential psychoactive indole derivatives II: Synthesis of 5-alkoxyindolines via reduction of 5-alkoxy-2-indolinones," *J. Pharm. Sci.*, vol. 62, no. 3, pp. 490–492, 1973.
- [121] P. G. Gassman, T. J. Van Bergen, and G. Gruetzmacher, "Use of Halogen-Sulfide Complexes in the Synthesis of Indoles, Oxindoles, and Alkylated Aromatic Amines," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 95, no. 19, pp. 6508–6509, 1973.
- [122] T. Takeda and A. Tsubouchi, *Pummerer Reaction*. 2007.
- [123] Y. M. Khetmalis, M. Shivani, S. Murugesan, and K. V. G. Chandra Sekhar, "Oxindole and its derivatives: A review on recent progress in biological activities," *Biomed. Pharmacother.*, vol. 141, no. June, p. 111842, 2021.
- [124] S. Yagnam *et al.*, "1,2,3-Triazole derivatives of 3-ferrocenyliidene-2-oxindole: Synthesis, characterization, electrochemical and antimicrobial evaluation," *Appl. Organomet. Chem.*, vol. 33, no. 4, pp. 1–15, 2019.
- [125] M. Kaur, M. Singh, and O. Silakari, "Oxindole-based SYK and JAK3 dual inhibitors for rheumatoid arthritis: Designing, synthesis and biological evaluation," *Future Med. Chem.*, vol. 9, no. 11, pp. 1193–1211, 2017.
- [126] M. Yousuf *et al.*, "Synthesis and biological evaluation of polyhydroxylated oxindole derivatives as potential antileishmanial agent," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 28, no. 6, pp. 1056–1062, 2018.
- [127] Y. Hirata *et al.*, "Novel Oxindole-Curcumin Hybrid Compound for Antioxidative Stress and Neuroprotection," *ACS Chem. Neurosci.*, vol. 11, no. 1, pp. 76–85, 2020.
- [128] S. Chander *et al.*, "Hit optimization studies of 3-hydroxy-indolin-2-one analogs as potential anti-HIV-1 agents," *Bioorg. Chem.*, vol. 79, no. December 2017, pp. 212–222, 2018.
- [129] N. L. Nam, I. I. Grandberg, V. I. Sorokin, K. A. T. Moscow, A. Academy, and G. Soedinenii, "Synthesis of N1 substituted 5-amino-3-methylpyrazoles," *Chem. Heterocycl. Compd.*, vol. 36, no. 3, pp. 342–344, 2000.

- [130] C. Becerra-Rivas, P. Cuervo-Prado, and F. Orozco-Lopez, "Efficient catalyst-free tricomponent synthesis of new spiro[cyclohexane-1,4'-pyrazolo[3,4-e][1, 4]thiazepin]-7'(6'H)-ones," *Synth. Commun.*, vol. 49, no. 3, pp. 367–376, Feb. 2019.
- [131] M. Yu, K. Stevenson, and G. Zhou, "N-alkylation of lactams with secondary heterobenzylic bromides," *Tetrahedron Lett.*, vol. 55, no. 41, pp. 5591–5594, 2014.
- [132] M. S. Schmidt, A. M. Reverdito, L. Kremenchuzky, and I. A. Perillo, "Simple and Efficient Microwave Assisted N-alkylation of isatin," *Molecules*, vol. 13, pp. 831–840, 2008.
- [133] V. F. Traven and I. V. Ivanov, "New reaction of photoaromatization of aryl- and hetarylpyrazolines," *Russ. Chem. Bull.*, vol. 57, no. 5, pp. 1063–1069, 2008.
- [134] P. Mohanty and S. Bhatnagar, "In silico screening to identify inhibitors of growth factor receptor 2-focal adhesion kinase interaction for therapeutic treatment of pathological cardiac hypertrophy," *Assay Drug Dev. Technol.*, vol. 17, no. 2, pp. 58–67, 2019.
- [135] H. Yang *et al.*, "AdmetSAR 2.0: Web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties," *Bioinformatics*, vol. 35, no. 6, pp. 1067–1069, 2019.
- [136] S. LLC., "PyMOL Molecular Graphic System." Schrödinger LLC, 2015.
- [137] M. D. Hanwell, D. E. Curtis, and D. C. Lonie, "Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform," *J. Cheminform.*, vol. 4, p. 17, 2012.
- [138] Michel F. Sanner., "AutoDock-Tools 1.5.6." pp. 57–61, 1999.
- [139] W. Allen *et al.*, "DOCK 6: Impact of New Features and Current Docking Performance," *J. Comput. Chem.*, vol. 36, no. 15, pp. 1132–1156, 2015.
- [140] I. P. Lancho, "Estudio in silico e in vivo de compuestos inhibidores de la enzima lipasa pancreática: una contribución al reposicionamiento de fármacos antiobesidad," Universidad Nacional de Colombia, 2016.
- [141] K. Palacio-Rodríguez, I. Lans, C. N. Cavasotto, and P. Cossio, "Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–14, 2019.
- [142] R. Silverstein, F. Webster, and D. Kiemle, *Spectrometric identification of organic compounds - 7th ed silverstein 2005.pdf*, 7th editio. John Wiley & Sons press, 2005.
- [143] A. Rammohan, J. Satyanarayana, R. Gundala, S. Chittluri, and N. Rao, "Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review," *Environ. Chem. Lett.*, no. 0123456789, 2020.
- [144] L. Claisen and A. Claparède, "Condensationen von Ketonen mit Aldehyden" [Condensations of ketones with aldehydes], *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, vol. 14, no. 1, pp. 2460–2468, 1881.
- [145] J. G. Schmidt, "Über die Einwirkung von Aceton Furfurol und auf Bittermandelöl bei Gegenwart von Alkalilauge.," *Berichte der deutschen Chem. Gesellschaft.*, vol. 14, no. 1, pp. 1459–1461, 1881.

- [146] D. M. Arnold, M. G. Laporte, S. M. Anderson, and P. Wipf, "Condensation reactions of guanidines with bis-electrophiles: Formation of highly nitrogenous heterocycles," *Tetrahedron*, vol. 69, no. 36, pp. 7719–7731, 2013.
- [147] A. S. Hecht *et al.*, "MULTIFUNCTIONAL RADICAL QUENCHERS AND THEIR USES," US 8,952,025 B2, 2015.
- [148] M. Engelmann, "Über eine Synthese des 1-Methyl-xanthins.," *Berichte der deutschen Chem. Gesellschaft.*, vol. 42, no. 1, pp. 177–182, 1909.
- [149] H. Chen and D. Shi, "Efficient one-pot synthesis of spiro[indoline-3,4'-pyrazolo[3,4-e][1,4]thiazepine]dione via three-component reaction," *Tetrahedron*, vol. 67, no. 31, pp. 5686–5692, 2011.
- [150] A. O. Pushechnikov, D. M. Volochnyuk, and A. A. Tolmachev, "Interaction of izatins with some five-membered aminoheterocycles," *Synlett*, no. 7, pp. 1140–1142, 2002.
- [151] M. Uematsu and E. U. Frank, "Static Dielectric Constant of Water and Steam," *J. Phys. Chem. Ref. Data*, vol. 1291, no. 1980, pp. 1291–1306, 1997.
- [152] A. H. Johnstone, *CRC Handbook of Chemistry and Physics-69th Edition*, 69 Edition., vol. 50, no. 2. 2007.
- [153] P. W. Khirade, A. Chaudhari, J. B. Shinde, S. N. Helambe, and S. C. Mehrotra, "Static dielectric constant and relaxation time measurements on binary mixtures of dimethyl sulfoxide with ethanol, 2-ethoxyethanol, and propan-1-ol at 293, 303, 313, and 323 K," *J. Chem. Eng. Data*, vol. 44, no. 5, pp. 879–881, 1999.
- [154] U. V. Mardolcar, C. a. Castro, and F. J. V. Nieto De Santos, "Dielectric Benzene Measurements of Toluene The measurements," *Fluid Phase Equilib.*, vol. 79, pp. 255–264, 1992.
- [155] K. R. Srinivasan and R. L. Kay, "The Pressure Dependence of the Dielectric Constant and Density of Acetonitrile at Three Temperatures," vol. 6, no. 5, pp. 357–367, 1977.