



**Universitat Ramon Llull**

## **TESIS DOCTORAL**

Título	<b>Síntesis de pirido[2,3-<i>d</i>]pirimidin-7(8<i>H</i>)-onas 2-arilamino sustituidas y derivados</b>
Realizada por	<b>Iñaki Galve Murillo</b>
en el Centro	<b>IQS School of Engineering</b>
y en el Departamento	<b>Química Orgánica</b>
Dirigida por	<b>Dr. José Ignacio Borrell Bilbao</b>







*A mis seres queridos: presentes, ausentes y por llegar.*

*Todo el esfuerzo aquí reflejado es también el vuestro.*



*Pensamos demasiado, sentimos demasiado poco.*

Charles Spencer Chaplin (*El Gran Dictador*)

*Uno sólo se pierde sino tiene claro un propósito.*

Juan Moreno y Herrera Jiménez (Jean Reno) (*León el Profesional*)

*Si he llegado hasta aquí no es por el camino que tengo  
delante mío, si no por el camino que he dejado tras de mí.*

Andy Wachowski (Laurence Fishburne) (*Matrix Reloaded*)







Este trabajo ha sido realizado en el laboratorio de Síntesis del Grup d'Enginyeria Molecular del departament de Química Orgànica del Institut Químic de Sarrià bajo la direcció del Dr. J. I. Borrell a quien quiero expresar mi agradecimiento por la oportunidad de participar en este proyecto. Agradezco también su cordialidad, su comprensión, su camaradería y su franca sinceridad. Por último, no tengo palabras para darle las gracias por todo el esfuerzo y apoyo moral, técnico y logístico que me ha brindado durante los dos años que ha durado la redacción de esta tesis doctoral. Por cierto, nunca dejes de enviarme tus sudokus sintéticos. De verdad, ¡gracias!

Aprofitant l'avinentesa, vull agrair al Dr. J. Teixidó les idees, comentaris i aportacions que ha realitzat pel desenvolupament d'aquest treball.

També voldria agrair els integrants del Servei d'Espectroscopia de l'IQS per la paciència que han demostrat davant dels meus inacabables comentaris, preguntes, dubtes...i pels munts de "capes primes virtuals" que han hagut de patir... *Coses dels dissenys d'experiències, no?*

Però com no tot a la vida ha de ser feina, vull agrair a aquells qui han tingut cura de la part més humana de la meva persona durant tot aquest temps:

Papa, Mama, ¡conseguido! A partir de aquí ya es cosa mía, vosotros ya habéis hecho todo lo posible. Ahora disfrutad de la vida juntos, que os lo habéis más que ganado. Jamás podré agradeceros completamente todo el esfuerzo que habéis invertido en mí, pero al mirar atrás, ni que sean sólo dos generaciones, creo que tenéis motivos más que suficientes para sentirnos orgullosos de vosotros mismos: el segundo universitario de las dos familias, pero ¡el primer doctor! De verdad, gracias por intentar estar a mi lado en todo momento aunque yo no lo pusiera fácil. En definitiva, gracias por quererme y darme tanto.

Titi i Ricardo: amics i tiets. M'agrada veure que la vida ha seguit malgrat tot i que hem aconseguit seguir junts: l'afecte sempre troba la manera d'expressar-se! Bobito y Leprechaun, que mai us falti l'energia per ser vosaltres mateixos, perquè sou meravellosos. També vosaltres teniu motius per sentir-vos feliços i orgullosos...i no només parlo de mi. Us estimo!

Montse, totes les planes d'aquest treball serien insuficients per expressar-te el que signifiqués per mi. Jo, que volia oblidar i tu que et vas creuar en el meu erràtic camí...i d'ençà que no he volgut ser si no és amb tu, la parella amb qui vull compartir la meva vida. Agraïments? Per on puc començar? Per deixar-me ser i voler-ho ser amb mi, per ser el meu esbarjo, per ser la meva tutora, per ser la meva correctora, per estudiar anglès, per lluitar per l'existència de Pirènia, per ser la meva confident, per suportar els meus canvis d'humor i, com no, per deixar-me ser el teu Pere i viure plegats a la Vall d'Ussat. Quina gran sort haver trobat el teu amor!

Als *cuentistes* Maria (companya i amiga en tantes coses, entre elles la vida, que mai et falti l'energia per tants projectes), Bet (el teu riure dóna força, conserva sempre aquesta alegria i sort amb la teva nova vida italiana), Uri (el Presi-Presi, sempre aconsegueixes fer-me riure, ah, tranquil que ara com a mínim ja he dipositat una de les dues coses que esperes), Noe (puc dir una cosa?! ets meravellosa, pur enginy i no pares mai, ni dormint!), Caste (sense renunciar als teus orígens, ets la mena de persona que jo voldria tenir sempre com amic, quantes coses bones amagaves darrera de les ulleres) i Pepo (sempre m'agrada sentir-te parlar, tan mesurat, tan saberut, donant forma al coneixement i on no arriben les paraules les teves mans arriben) perquè viure del *cuentu* sigui una manera de viure per sempre: la nostra veritable família!

A Xosé. Todo comenzó con el concierto para dos violines de Bach, y ahora espero ansioso que el destino te vuelva a traer a Barcelona (o me lleve a mi a Santiago). Siempre fuiste y serás como el hermano mayor que nunca tendré. Qué grande es tu amistad y qué pequeña la distancia. *As darradeiras!*

A en Josep Maria, mestre i amic, t'agreixo les classes magistrals de violí on, a més, em regales el teu gran humor, la teva visió bonhomiosa de la vida i la passió per la vessant humana de la música: sempre surto feliç de classe! Per cert, *compte amb tantes nòvies!*

A la Victoria, que de entusiasta alumna (suerte la mía el haber podido disfrutarlo), has pasado a ser estupenda amiga. Espero que tu vida esté tan llena de vida como hasta ahora, pero exempta de los pequeños sustos que ya te has llevado... Y splash! Es decir, ¡viva nuestras pequeñas exploraciones de los parques acuáticos de Catalunya! Que tu experiencia en los EUA sea todo lo plena que esperas.

Als germans Ramon Beseny, Ramon Serra, Miquel i Alain, per haver estat uns autèntics germans, per haver estat companys, per haver estat profundament humans i, sobre tot, per haver acollit el vostre "germà" Iñaki, que per sempre més us estarà agraït i que, de tant en tant, peregrinarà cercant la vostra companyia. Aprofitant que som a Les Avellanes, sense haver-los conegut mai, als Abats Jacint Martí (102) i Ignasi Ribot (105), només vosaltres sabeu l'esforç esmerçat. A tots ells gràcies per la inspiració. I espero que us en sentiu una mica partícips i orgullosos...

Especial agraïment per a l'Ofir (sempre atent per despertar la meva curiositat i per satisfer el meu interès per una cultura que sempre m'ha fascinat), a Juan (compañero en la lucha revolucionaria pero, sobre todo, fuente de ánimo en esos momentos tan críticos que eran el final de cada jornada), a Xavi (compañero TKiste, viste, ¡sólo puede quedar uno! y fue Rai) i a en Rai (per haver anat guanyant confiança l'un en l'altre, pel "Pollo's Region", pels riures i les bromes, pel Rellano...pels "hasta los \*\*\*\*\*" ben musicats, per ajudar-me a acabar aquesta història interminable i per fer créixer la criatura amb el judici i mestratge d'un autèntic especialista) tots ells integrants d'un bell moment de camaraderia sintètica: la Brigada Dental! Visca la higiene!

A la resta de persones amb qui hem compartit en un moment o un altre el laboratori de Síntesi: Míriam, Maia, Gemma, Sofia, Marta, Lyhen, David, Núria, Laia, Jordi, Anna, Sònia, Xevi, Alberto, Àstrid, Sergi, Ignasi, Irene, Adaya, Maria, Gonzalo, Albert, Marta, Llorenç...i segur que algú altre que dec estar oblidant, perquè heu format part d'una de les experiències més intenses que he viscut mai.

A la bona gent del Teatre Casal Corpus: els pobres són de Gràcia, no s'hi pot fer més...calla, que jo ara també! Els vull agrair que m'hagin acollit d'una manera tan càlida. Però sobre tot per donar-me l'oportunitat de vestir-me la vida de persones que mai no seré, però que conviuen en mi...em fascina i m'apassiona! Gràcies per descobrir-m'ho! Espero que el futur més enllà del bressol existeixi...

A en Manel i en Mares (d'alumnes a col-laboradors, tan genuïns i tan autènticament ells mateixos, quant agraeixo l'afecte que sempre m'heu demostrat), a na Maria (sé que et vaig marejar, però les proves preliminars és el que tenen, perdona'm, si pots) a n'Oriol, na Júlia i n'Eduard (una tropa ben avinguda i pencaire com poques, gràcies per "completar les taules" del meu capítol 1), no puc agrair-vos prou tota la feinada que heu fet per a aquesta tesi. Gràcies per creure en la meva visió.

A la bona gent d'Iberhospitex (digues-li iHTinnovation). Quant patim...però també riem força. Tan de bo les coses fossin diferents...però en qualsevol cas gràcies per ser-hi!

Acabo! Gràcies Alfons per seguir sense fer-me la prova de nivell i per la complicitat que em demostres cada dissabte. Visca les músiques...vull dir la música!! *Pillín!*





---

**ÍNDICE**

SUMARIO.....	1
0. INTRODUCCIÓN .....	11
0.1. El control de la biología celular.....	13
0.2. Inhibición de quinasas y desarrollo de terapias contra el cáncer .....	19
0.3. Síntesis heterocíclica en el Grupo de Ingeniería Molecular (GEM) .....	34
0.4. Objetivos.....	47
1. CAPÍTULO 1: Síntesis de 2-amino-4-amilamino-pirido[2,3-d]pirimidinas .....	49
1.1. Antecedentes.....	51
1.2. Ensayos preliminares de agentes de guanidinación.....	57
1.3. Optimización de la reacción de guanidinación empleando AIMSOA.....	66
1.4. Acoplamiento de la formación de bicíclo 35 y la reacción de guanidinación .....	100
1.5. Obtención de 2-amilamino-4-aminopirido[2,3-d]pirimidinas a partir de 3-ciano-2-metoxipiridonas.....	123
1.6. Reacción de las piridonas 33{x} con los crudos de la reacción de guanidinación con AIMSOA .....	160
2. CAPÍTULO 2: Propuesta y estudio de una nueva estrategia sintética orientada a diversidad.....	165
2.1. Antecedentes.....	167
2.2. Optimización de la obtención del <i>cabeza de serie</i> 35{1,6} .....	182
2.3. Monobromación del compuesto <i>cabeza de serie</i> 35{1,6} .....	196
2.4. Dibromación del compuesto <i>cabeza de serie</i> 35{1,6}.....	222
2.5. Sustituciones del grupo 4-amino mediante diazotización .....	277
2.6. Consideraciones alrededor de la estrategia sintética global.....	316
3. EXPERIMENTAL SECTION .....	319
4. CONCLUSIONES .....	393
5. BIBLIOGRAFÍA .....	401
6. ANEXO: Publicaciones derivadas.....	421



## **SUMARIO**

Las Quinasas de Proteína (PKs) se hallan implicadas en procesos fundamentales de la regulación del ciclo celular. La acumulación de anomalías en los mecanismos de control y el consiguiente comportamiento disfuncional han sido detectados en células de diferentes tejidos afectadas por cáncer, desórdenes inmunológicos, endocrinos, nerviosos, neurodegenerativos, cardiovasculares, enfermedades infecciosas, diabetes, Alzheimer, asma, restenosis, arteriosclerosis, leucemia, artritis, etc. Pero de entre todas las PKs, las Quinasas de Tirosina (TKs) han demostrado ser un elemento central en todos estos procesos y, por tanto, han atraído sobre sí un enorme esfuerzo investigador que ha remarcado, aun más si cabe, su innegable interés como diana terapéutica. Así pues, el desarrollo de inhibidores selectivos de TKs se ha convertido en un área muy activa de investigación.

El Laboratorio de Síntesis del IQS posee amplia experiencia en la síntesis de compuestos heterocíclicos, en especial pirido[2,3-*d*]pirimidinas, de gran similitud con inhibidores conocidos de TKs. Ahora bien, de todos los *building blocks* empleados en las estrategias sintéticas desarrolladas, las guanidinas (especialmente las arilguanidinas) siempre han limitado el espacio químico asequible habida cuenta de la poca diversidad de estos reactivos comercialmente asequibles. Por consiguiente, el objetivo fundamental del presente estudio es el desarrollar una metodología lo más amplia posible para la obtención de guanidinas y, en especial de arilguanidinas, que sea compatible con las herramientas sintéticas disponibles para la obtención masiva de pirido[2,3-*d*]pirimidinas.

A tal efecto se optimiza un proceso de guanidinación de aminas con ácido aminoiminometanosulfónico (AIMSOA, siglas en inglés de *aminoiminomethanesulfonic acid*) en metanol con vistas a poder acoplarlo con la reacción multicomponente de Victory. Desgraciadamente los rendimientos con arilguanidinas son bajos como consecuencia de su baja nucleofilia, su degradación por efecto del metanol y el efecto competente del disolvente de reacción. Para circunvalar este contratiempo se ensayan reacciones de condensación de piridonas en 1,4-dioxano para favorecer la nucleofilia de estas guanidinas. Sorprendentemente no se obtienen directamente las piridopirimidinas sino unos intermedios que tras un proceso de transposición de Dimroth rinden los heterobiciclos deseados con rendimientos bastante superiores a los referidos para otras metodologías.

Por último, se plantea y estudia una propuesta estratégica alternativa al tradicional enfoque de síntesis orientado a diversidad del Laboratorio de Síntesis del IQS. En este sentido, se construye el esqueleto pirido[2,3-*d*]pirimidínico para después activarlo mediante bromación y diazotización, y finalmente introducir la diversidad deseada. Fruto de este estudio se ha obtenido y aislado un intermedio de Wheland bicíclico nunca antes descrito y que posteriormente rinde por tratamiento en DMSO un término piropirimidínico dibromado y deshidrogenado en el anillo piridónico. Adicionalmente, se han desarrollado herramientas sintéticas para la obtención de sistemas 4-oxopirido[2,3-*d*]pirimidínicos a partir de sus análogos 4-amino, lo que supone una atractiva alternativa a las estrategias anteriormente desarrolladas.



## **SUMARI**

Les Cinases de Proteïna (PKs) estan implicades en processos fonamentals de la regulació del cicle cel·lular. L'acumulació d'anomalies als mecanismes de control i el comportament disfuncional que se'n deriva han estat detectats a cèl·lules de diferents teixits afectades per càncer, desordres immunològics, endocrins, nerviosos, neurodegeneratius, cardiovasculars, malalties infeccioses, diabetis, Alzheimer, asma, restenosi, arteriosclerosi, leucèmia, artritis, etc. Però d'entre totes les PKs, les Cinases de Tirosina (TKs) han estat destacades com a l'element central de tots aquests processos i, per tant, han estat objecte d'una gegantina tasca investigadora que n'ha augmentat el seu innegable interès com a diana terapèutica. És per aquest motiu, que el desenvolupament d'inhibidors selectius de TKs ha esdevingut una àrea d'investigació molt activa.

El Laboratori de Síntesi de l'IQS disposa d'una dilatada experiència de síntesi de compostos heterocíclics, especialment pirido[2,3-*d*]pirimidines, de gran semblança amb coneguts inhibidors de TKs. Malauradament, d'entre tots els *building blocks* emprats per les estratègies sintètiques desenvolupades, les guanidines (especialment les arilguanidines) sempre han limitat l'espai químic assequible per culpa de la poca diversitat d'aquests reactius comercialment disponibles. Per tant, l'objectiu fonamental d'aquest treball és desenvolupar una metodologia com més genèrica millor que permeti obtenir guanidines i, especialment arilguanidines, i que sigui compatible amb les eines sintètiques disponibles emprades per a l'obtenció massiva de pirido[2,3-*d*]pirimidines.

Amb aquest objectiu s'optimitza un procediment de guanidinació d'amines amb àcid aminoiminometanosulfònic (AIMSOA, acrònim de l'anglès *aminoiminomethanesulfonic acid*) en metanol procurant acoblar-lo amb la reacció multicomponent de Victory. Desgraciadament els rendiments amb arilguanidines són baixos com a resultat de llur baixa nucleofília, llur degradació causada pel metanol i per la competència amb el dissolvent de reacció. Com a alternativa, s'assagen protocols de condensació de piridones en 1,4-dioxà per tal d'afavorir la nucleofília d'aquestes arilguanidines. Sorprenentment no s'obtenen directament les piridopirimidines sinó uns intermedis que després d'un procés de transposició de Dimroth donen lloc als heterobíclics esperats amb rendiments força superiors als descrits mitjançant altres metodologies.

En darrer lloc, es planteja i estudia una nova proposta estratègica alternativa al tradicional plantejament del Laboratori de Síntesi de l'IQS per a la síntesi orientada a diversitat. Aquesta proposta implica la construcció de l'esquelet pirido[2,3-*d*]pirimidínic, seguida de la seva activació mitjançant bromació i diazotització, i finalment introducció de la diversitat química. Arran d'aquest estudi s'ha obtingut i aïllat un intermedi de Wheland bicíclic mai descrit fins ara i que posteriorment és transformat per tractament amb DMSO en un terme piropirimidínic dibromat i deshidrogenat a l'anell piridònic. A més a més, s'han desenvolupat eines sintètiques per obtenir sistemes 4-oxopirido[2,3-*d*]pirimidínics partint de llurs anàlegs 4-amino, metodologies que són una alternativa molt atractiva de les estratègies ja desenvolupades.



## **SUMMARY**

Protein Kinases (PKs) are involved in many basic cellular cycle regulatory mechanisms. Deregulation of those mechanisms has been found on cells of different tissues with cancer, immunological disorders, endocrine disorders, nervous disorders, neurodegenerative disorders, cardiovascular disorders, infectious diseases, diabetes, Alzheimer syndrome, asthma, restenosis, atherosclerosis, leukemia, arthritis, and more. Among all the PKs huge family, Tyrosine Kinases (TKs) have been described as key point of those regulatory mechanisms and so stated as promising drug targets for treating such diseases. As a result of this biological knowledge, there have been a lot of developments in this field, resulting in some interesting and commercial TKs selective inhibitors.

The *Laboratori de Síntesi de l'IQS* has developed some highly efficient heterocyclic synthetic procedures, especially for the synthesis of pyrido[2,3-*d*]pyrimidines that are structurally closely related to some well stated TKs inhibitors. Unfortunately, some of the building blocks used in those methodologies have a very narrow commercial variety and are only available from unusual vendors. This is the case for arylguanidines. As a result, the accessible chemical space is shortened. So then, the present work deals with the establishment of general procedures for the synthesis of arylguanidines and how to couple them with our previous described methodologies in order to obtain pyrido[2,3-*d*]pyrimidine libraries.

*Aminoiminomethanesulfonic acid* (AIMSOA) is selected as guanidination agent and a protocol is optimized by Experimental Design. The coupling of this guanidination with the one-pot multicomponent Victory reaction is also studied. Unfortunately, coupling reaction yields with arylguanidines are very low as a result of lack of nucleophilicity, methanol mediated degradation and nucleophilic competition with this reaction solvent. Pyridone condensation with arylguanidines in 1,4-dioxane is stated as methodological alternative in order to improve nucleophilicity of the arylguanidines. Surprisingly, this procedure does not yield the expected pyridopyrimidines but a family of new, not previously described, heterobicyclic compounds that can be converted to the desired pyridopyrimidines through Dimroth rearrangement. The overall yields for the final pyridopyrimidines are higher with this new procedure than with the previous methodologies.

Finally, a new global strategy is developed for the diversity oriented synthesis of 2-arylamino substituted pyrido[2,3-*d*]pyrimidines. Firstly, the heterobicyclic skeleton is build and, secondly, this skeleton is activated by bromination and diazotization. Finally, diversity is introduced by substitution reactions. During this development a pyridopyrimidine Wheland intermediate, never described before, has been isolated and its structure spectroscopically confirmed. The subsequent treatment of this compound with DMSO yields a new dibrominated pyridopyrimidine dehydrogenated on the pyridone ring. In addition, some synthetic procedures for the conversion of 4-aminopyrido[2,3-*d*]pyrimidines into their 4-oxo analogues have been established. Such methodologies are a useful alternative to our old strategies for the synthesis of this kind of compounds.



## Tabla de abreviaturas

%(p/p)	Tanto por ciento peso-peso
<sup>13</sup> C-RMN	Resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup> C
<sup>1</sup> H-RMN	Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup> H
ACN	Acetonitrilo
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido desoxiribonucleico
ADP	Adenosindifosfato
AEO	Análisis elemental orgánico
AIMSOA	Ácido aminoiminometanosulfónico
ANOVA	Análisis de Varianza
ATP	Adenosintrifosfato
bp	Temperatura de ebullición
br s	Señal ancha
CCF	Cromatografía por Capa Fina
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CDKs	Quinasas dependientes de ciclina
CHCl <sub>3</sub>	Cloroformo
CKIs	Inhibidores de quinasas dependientes de ciclina
CV	Coefficiente de variación
Cyc	Ciclina
d	Doblete
δ (ppm)	Desplazamiento químico (partes por millón)
D <sub>2</sub> O	Agua deuterada
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
dd	Doblete de dobletes
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido

DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
ECR	Estructura canónica resonante
EGFR	Receptor del Factor de Crecimiento Epidermial
EM	Espectrometría de masas
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
eq	Equivalente
Et <sub>3</sub> N	Trietilamina
FAB	<i>Fast Atom Bombardment</i> (bombardeo con átomos pesados)
Film evap. CHCl <sub>3</sub>	Film evaporado de cloroformo
HGFR	Receptor de Factor de Crecimiento de Hepatocitos
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
Hx	Hexano
Hz	Hertz
IC50	Concentración de inhibidor para actividad enzimática reducida al 50%
IGFR	Receptor de Factor de Crecimiento de Insulina
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
KI	Inhibidor de Quinasa
m	Multiplete
m/z	Relación masa-carga
M <sup>+</sup>	Ion molecular
mAb	Anticuerpo monoclonal
MAPK	Protein-quinasas activadas por mitógeno
MAPKs	Protein quinasa dependiente de mitogeno
<i>m</i> -CPBA	Ácido <i>m</i> -cloroperbenzoico
MeOH	Metanol
mp	Punto de fusión
MW	Microondas
mw	Masa molecular
$\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	Número de onda

NaOMe	Metóxido sódico
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
pág	Página
PDGFR	Receptor de Factor de Crecimiento derivado de Plaqueta
q	Cuadruplete
QSAR	Relaciones cuantitativas de estructura-actividad
rdto	Rendimiento
Rf	Factor de retención en CCF
rpm	revoluciones por minuto
rt	Temperatura ambiente
RTKs	Receptores con actividad Tyr-quinasa
s	Singulete
SEAr	Sustitución electrófila aromática
Ser	Serina
t	Triplete
T	Temperatura
TFA	Ácido trifluoroacético
TGF	Factor de crecimiento tumoral
THF	Tetrahidrofurano
Thr	Treonina
TK	Tirosina Quinasa
TKI	Inhibidor de Tirosina Quinasa
TMS	Tetrametilsilano
TSPNa	Trimetilsililpropionato sódico
Tyr	Tirosina
VEGFR	Receptor de Factor de Crecimiento Vascular Endotelial
%(p/p)	Tanto por ciento peso-peso



# **INTRODUCCIÓN**



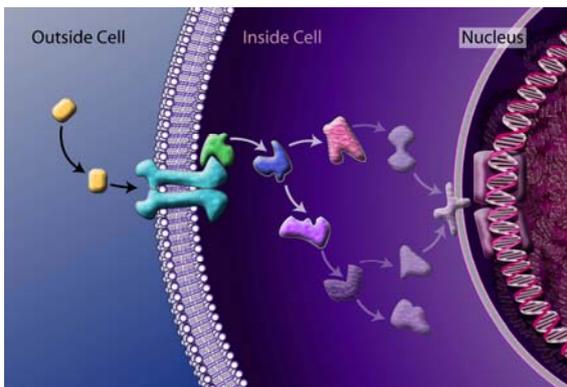
La correcta evolución de una célula a lo largo de su ciclo de vida requiere de un robusto y complejo sistema de control. El fallo de éste puede llevar a la célula a acumular progresivamente errores graves en su dotación genética que la lleven a estimular la expresión de genes dañados que acrecientan el nivel de mutación celular, o bien a la disfunción e inexpressión de genes capaces de corregir dicha situación. Establecida esta inestabilidad genética, la célula puede adoptar comportamientos anómalos tales como la proliferación descontrolada, la capacidad de migración entre tejidos, etc.

Concretamente, dicha inestabilidad genética suele estar asociada a disfunciones y patologías severas: afecciones inmunológicas, endocrinas o nerviosas, desórdenes neurodegenerativos, cardiovasculares, enfermedades infecciosas, diabetes, asma, restenosis, arteriosclerosis, leucemia, rechazo de trasplantes, procesos de crecimiento tumoral...

## **0.1. El control de la biología celular**

### **0.1.1. La transducción de señales**

El fenómeno de transducción de señales consiste en la transmisión de información del medio hasta los elementos centrales de la maquinaria que regula el ciclo vital de la célula. Las rutas de señalización suelen organizarse así:



**Figura 0.1:** Esquema general de la transmisión de señales ([www.nsf.gov](http://www.nsf.gov))

- a. Formación de una señal bioquímica, usualmente en forma de mensajero químico, y transporte hasta las células diana.
- b. Recepción mediante proteínas especializadas que transforman el estímulo recibido en un cambio conformacional que las activa.
- c. Transformación del impulso en una respuesta bioquímica intracelular, transmitida hasta las dianas finales mediante una cadena de reacciones químicas.
- d. Terminación de la señal.

La fosforilación/defosforilación de los residuos aminoácidos de proteínas claves es uno de los mecanismos más potentes para la regulación de la transmisión de información y de la arquitectura proteica del control del ciclo celular (Jonson y Lewis, **2001**): con la fosforilación se activan enzimas y proteínas adaptadoras, mientras que con la defosforilación se desactivan. Por tanto, el acoplamiento quinasa/fosfatasa actúa como un interruptor que encendido activa la transmisión de información y apagado la inhibe.

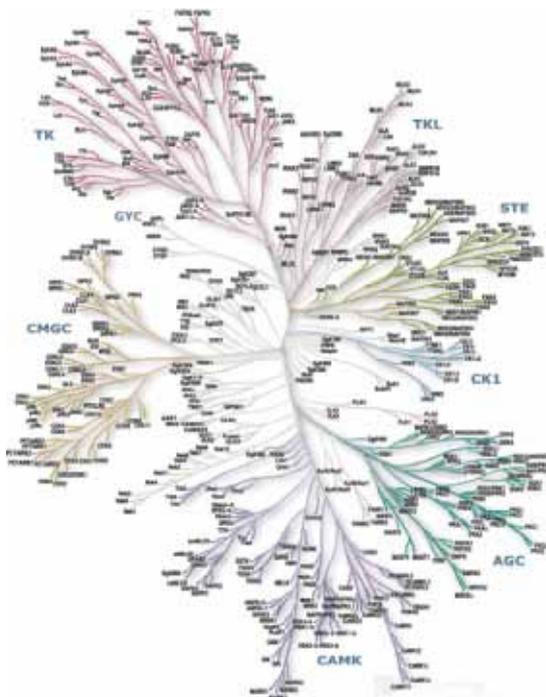
A parte de la transducción de señales, este mecanismo también resulta fundamental para la activación de determinadas rutas metabólicas, fenómenos de transporte, supervivencia celular, reproducción celular, adhesión a la matriz extracelular, etc.

Otro de los elementos más relevantes para articular la transmisión de información son las proteínas o módulos adaptadores. Se trata de regiones proteicas altamente conservadas -con una longitud de entre 20-250 aminoácidos- que reconocen partes concretas de otras proteínas (Pawson et al. **1997**, Pawson et al. **2002**) y que facilitan la unión entre ambas. Es decir, mediante esta unión se consigue poner en contacto proteínas que se reconocen o bien como sustrato o bien como cofactor. Estos macrocomplejos aumentan la eficiencia de la comunicación entre los diferentes elementos de las rutas de señalización. Además, una misma proteína adaptadora, puede presentar más de un lugar de unión, con lo que puede actuar como enlace entre rutas de transducción distintas.

En concreto, existen nueve grandes tipos de módulos proteicos, pero los más comunes y conocidos son SH2 (Src -la primera Tyr-quinasa descubierta- homólogo tipo 2) (Cantley et al., **1997**) y SH3.

### 0.1.2. Las proteín-quinasas

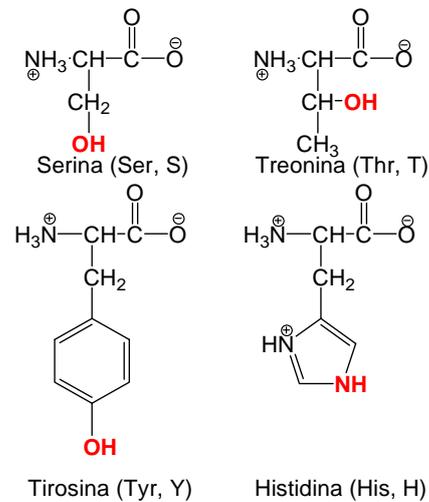
Las quinasas de proteínas constituyen unas de las superfamilias enzimáticas más grandes que se conoce y cuya particularidad es un dominio catalítico altamente conservado entre todos sus miembros (Hanks y Hunter, **1995**). Hasta la fecha han sido halladas más de 500 variantes de estas enzimas que han podido ser clasificadas filogenéticamente en 20 familias (Manning et al., **2002**).



**Figura 0.2:**

*La superfamilia de las quinasas de proteínas clasificadas en familias según criterios de analogía de secuencia, selectividad de sustrato y requerimiento de cofactores (www.chemicon.com).*

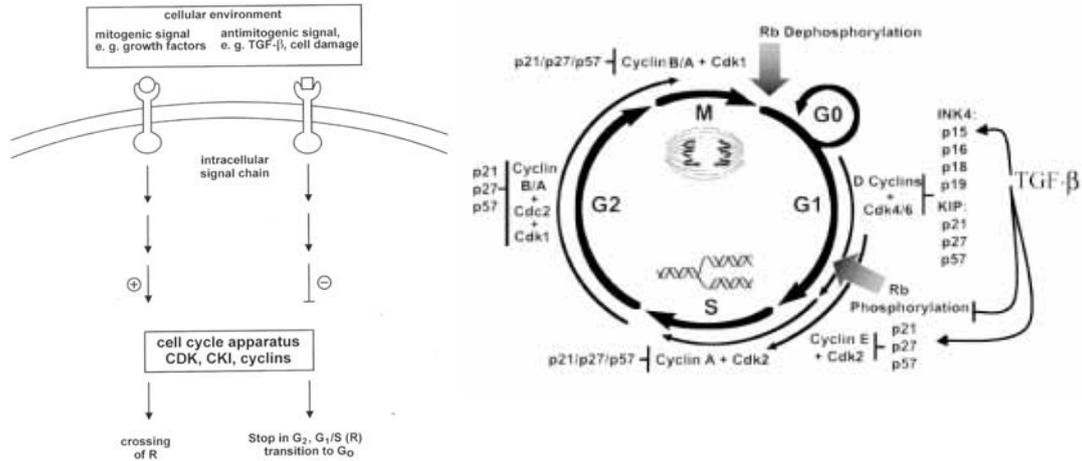
La acción catalítica de estas proteínas consiste en la transferencia de un grupo fosfato del ATP a residuos serina, treonina, tirosina y -raramente- histidina de la secuencia aminoácida de la misma u otra proteína.



**Figura 0.3:** Residuos aminoácidos cuya fosforilación es utilizada como mecanismo de activación/desactivación enzimática. En rojo se indican los puntos sometidos a este régimen de control.

Así pues, según el residuo aminoácido que fosforilan, las proteín-quinasas pueden ser clasificadas en:

- Tyr-quinasas:
  - Receptores de membrana con actividad Tyr-quinasa (RTKs): se trata de grandes estructuras proteicas transmembrana que integran uno o varios dominios extracelulares capaces de captar información del entorno celular y un dominio quinasa citoplasmático que la convierte en respuestas bioquímicas concretas en el citoplasma.
  - Tyr-quinasas no receptoras o asociadas a receptor (nRTKs): responsables de la amplificación y transmisión de la señal recibida en las RTKs hasta las dianas bioquímicas pertinentes.
- Ser/Thr-quinasas:
  - Quinasas dependientes de ciclina (CDKs): centralizan la información del interior y exterior de la célula y, por ello, constituyen el núcleo fundamental de la maquinaria que controla los eventos claves de la vida celular. El estado de fosforilación, la ubicación celular y la unión de las correspondientes ciclinas son sólo algunos de los mecanismos que las regulan y que son controlados por complejos entramados de cadenas de reacciones enzimáticas. Miembros destacados de esta familia son CDK1, CDK2, CDK4 y CDK6.
  - Quinasas activadas por mitógeno (MAPK): constituyen el esqueleto fundamental de las rutas bioquímicas responsables de la transducción de señales, actuando como nodo de captación y distribución de la información.

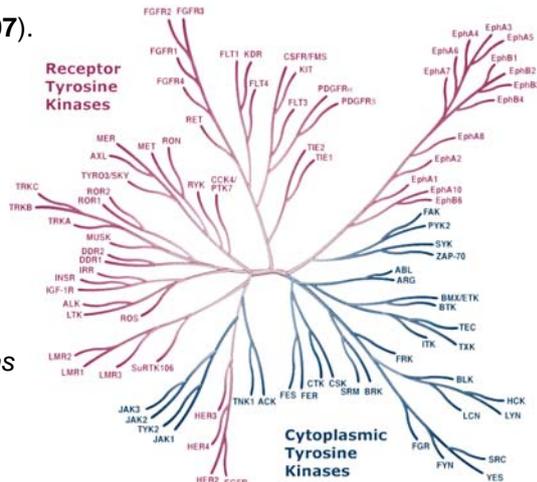


**Figura 0.4:** El complejo sistema de regulación del ciclo celular con las CDKs como elemento central que integra señales intra y extracelulares (Donovan et al., 2000 y Krauss, 2005).

**0.1.3. Las Tyr-quinasas**

Estas enzimas pueden formar parte integral de receptores transmembrana (RTKs), pueden asociarse a ellos (nRTKs) o formar parte integral de las rutas de transducción de señales. Por tanto, son enzimas clave en la fase de interiorización de señales a través de la membrana citoplasmática.

Hasta el presente se conocen 91 enzimas humanas responsables de la fosforilación de Tyr proteicas, de las cuales 59 son RTKs y 32 nRTKs, agrupadas filogenéticamente en 20 y 10 subfamilias respectivamente (Giamas et al., 2007).

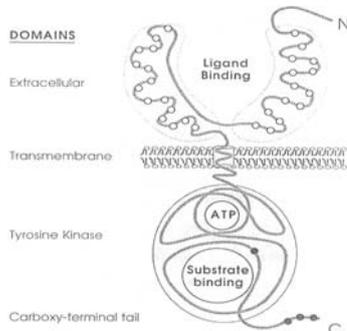


**Figura 0.5:** La familia de las Tyr-quinasas de proteínas. En rojo las transmembrana y en azul las nRTKs o asociadas a membrana. (www.chemicon.com)

Hasta la fecha se han detectado comportamientos anómalos de estas enzimas en células de diferentes tejidos afectadas por cáncer, desórdenes inmunológicos, endocrinos, nerviosos, neurodegenerativos, cardiovasculares, por enfermedades infecciosas, diabetes, Alzheimer (Ho et al., 2005), asma (Wong, 2005), restenosis, arteriosclerosis, leucemia (Noriko et al., 2005), artritis (Cohen, 2001), etc. Por este motivo y por su innegable implicación en la biología celular, resulta innegable su interés como diana terapéutica.

0.1.3.1. Receptores de membrana con actividad Tyr-quinasa

Se trata de proteínas transmembrana que integran funciones de recepción de señales químicas (extracelular) y de transducción mediante actividad Tyr-quinasa (intracelular). Es por ello que estas proteínas presentan región citoplasmática, transmembrana y extracelular.



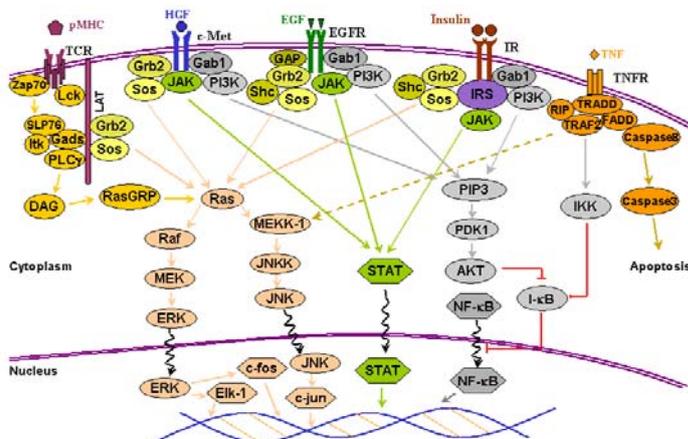
**Figura 0.6:** Estructura general de las RTKs (Yarden et al., 1988)

La región extracelular está constituida por un único dominio cuya función es la de unir selectivamente los distintos mensajeros químicos.

La región citoplasmática puede comprender un dominio de unión de sustrato, un dominio quinasa, uno o varios dominios de regulación enzimática, uno o varios dominios de apoyo a la transducción de señal, etc. Si bien los elementos presentes y su organización a lo largo de la secuencia aminoácida dependen de la variedad concreta de RTK que se considere, todas las RTKs presentan como mínimo un dominio con actividad Tyr-quinasa.

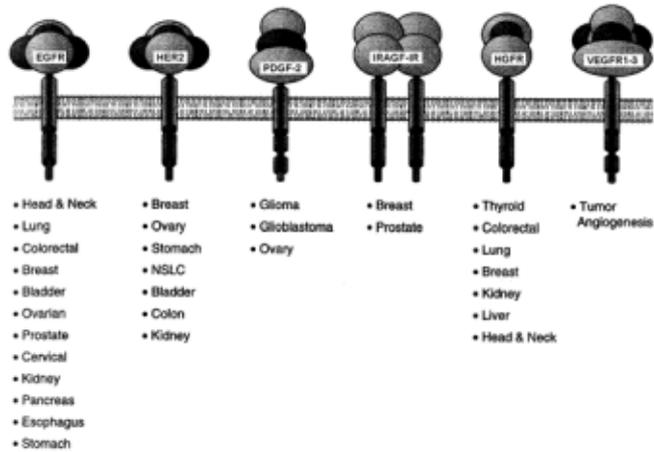
0.1.3.2. Implicaciones oncogénicas de las RTKs

Las RTKs se encuentran a la cabeza de la compleja red de cadenas de transducción de señales que regulan eventos tan fundamentales del ciclo vital celular como son crecimiento, metabolismo, reproducción, diferenciación y apoptosis. Así pues, la disfunción de estas enzimas puede llevar a la célula a desarrollar algún tipo de patología.



**Figura 0.7:** Ejemplo de la interconexión de redes de transducción iniciadas por RTKs

Concretamente, dramáticos incrementos de actividad de las RTKs llevan a la acumulación de defectos genéticos. A resultas de éstos, se crea una situación de descontrol celular que difícilmente puede ser revertida y la célula se ve abocada a un comportamiento anómalo que hace peligrar su propia supervivencia y la del organismo del que forma parte.



**Figura 0.8:** Implicación de distintas RTKs en procesos de cáncer (Gutkind et al., 2003)

Existen 3 mecanismos por los que una RTK puede convertirse en promotora de procesos patológicos:

1. Estructural: las mutaciones de residuos específicos suelen dar lugar a RTKs constitutivamente activas, es decir, enzimáticamente en funcionamiento aun en ausencia del pertinente estímulo.
2. Hormonal: se establece un *loop* de autoseñalización celular que promueve la acción transductora de sus RTKs.
3. Sobreexpresión: el mecanismo más influyente. Se suele deber a una excesiva transcripción de los genes que las codifican. A un mismo nivel de estímulos extracelulares, una mayor concentración en superficie de receptores implica una respuesta celular sobredimensionada.

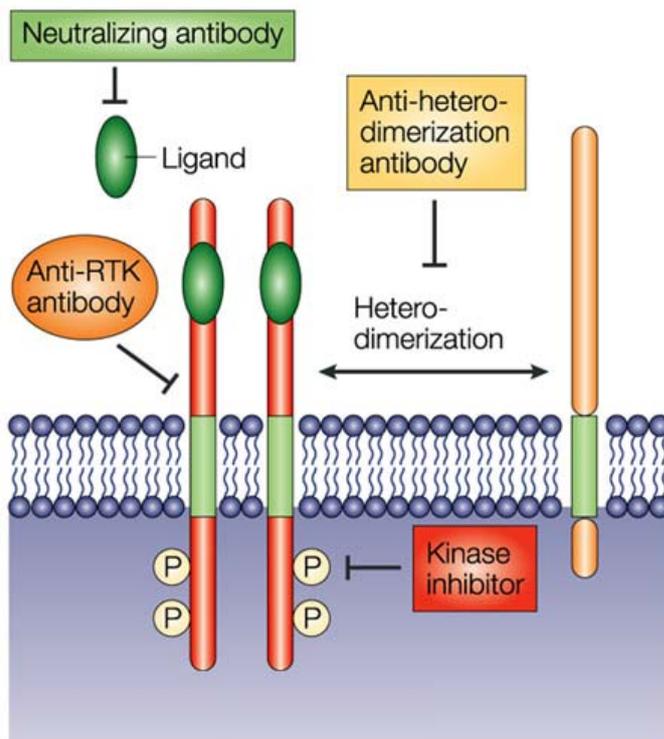
Estos mecanismos pueden actuar aisladamente o en combinación.

## 0.2. Inhibición de quinasas y desarrollo de terapias contra el cáncer

En los últimos 25 años se ha llevado a cabo un gran esfuerzo científico para desarrollar productos que sean capaces de inhibir la actividad enzimática de las quinasas. Empresas farmacéuticas y centros universitarios han aunado esfuerzos con la esperanza de hallar inhibidores potentes y selectivos que pudieran representar una alternativa terapéutica para el cáncer o cualquier otra dolencia asociada a quinasas: el estudio de las proteín-quinatas supone el 30% del total de I+D+i invertido en todas las dianas terapéuticas conocidas (Giamas et al., 2007).

Ante este reto se han planteado multitud de estrategias con resultados bien dispares. Mientras algunos enfoques han proporcionado candidatos capaces de superar fases preclínicas, clínicas y llegar a la comercialización, otros han quedado en poco más que una propuesta teórica. No obstante, todas estas aproximaciones han contribuido a la investigación básica en este campo: desarrollo de nuevas metodologías sintéticas, nuevas técnicas de análisis, elucidación (aún no completa) del fenómeno de transducción de señales, comprensión de fenotipos tipo de enfermedades genéticas y un larguísimo etc.

### 0.2.1. Estrategias de inhibición planteadas



**Figura 0.9:** Estrategias de inhibición de RTKs con mayor tasa de éxitos (Gschwind et al., 2004)

Las diferentes estrategias pretenden incidir a nivel molecular sobre distintas etapas del proceso de transducción señal y sobre elementos concretos de la cadena, ya sean RTKs, nRTKs, factores de crecimiento, proteínas adaptadoras, etc.

Los anticuerpos biespecíficos son capaces de unir selectivamente una célula cancerosa y una célula del sistema inmunitario al mismo tiempo. Así, la célula del sistema inmunitario desencadena una respuesta citotóxica únicamente sobre la célula tumoral (Pfosser et al., 1999) y respeta las células sanas.

Paralelamente se han desarrollado anticuerpos de cadena simple -correspondientes sólo a la fracción con alta afinidad de unión- que pueden estar derivatizados con toxinas (Raag y Whitlow, **1995**). Su acción consiste en, o bien impedir la unión del factor de crecimiento pertinente, o bien evitar la maduración y/o expresión de las RTKs en la superficie celular.

Por desgracia estas estrategias han resultado poco afortunadas por problemas de estabilidad de los anticuerpos *in vivo* -respuesta autoinmune y degradación (Negri et al., **1995**)- y por la enorme dificultad tecnológica que supone su producción y purificación. Sin embargo, han contribuido prominentemente en la investigación del perfil de expresión genética en la superficie de células enfermas.

Los agentes derivatizados con toxinas son proteínas de fusión bifuncionales cuyo segmento de interacción con el sistema de transducción puede ser, o un anticuerpo de cadena simple contra el dominio extracelular de la RTK o contra el ligando, o este mismo ligando obtenido de forma recombinante, sintética o mixta (Fitzgerald, **1996**), o análogo de sustrato. Esta estrategia tiene en la especificidad su punto fuerte, pero como graves debilidades la ineficacia para penetrar en tumores sólidos y la dificultad de internalización celular.

Los inhibidores selectivos de sustrato tuvieron su gran momento cuando se consideró que los inhibidores del ATP podían presentar problemas: el alto grado de conservación de su lugar de unión en el dominio quinasa, sus altos niveles (alrededor de 5mM) que saturan la célula y la presencia de multitud de enzimas ATP-dependientes (fundamentales para la fisiología celular) podían provocar toxicidades farmacológica y médicamente no asumibles (Morin, **2000**).

Tradicionalmente se centró en la síntesis de oligopéptidos que emularan el sustrato pero substituyendo la Tyr fosforilable por un análogo no fosforilable y mimetizando la secuencia primaria alrededor de dicho residuo (Fry et al., **1994**). En general, adolecen de baja solubilidad en medios fisiológicos, son extremadamente sensibles a la proteólisis -extra e intracelular (Noonberg y Benz, **2000**)-, presentan baja afinidad y poca eficacia como inhibidores *in vivo* -seguramente porque el sitio catalítico está lejos del segmento de reconocimiento del sustrato-, pero, sobretodo, exhiben una pésima capacidad de atravesar la membrana celular. Por ello, sus principales aportaciones a este campo de investigación han sido la elucidación de los mecanismos de activación de las Tyr-quinasas, la elaboración de mapas farmacofóricos y el establecimiento de *leads* para el lugar de unión del sustrato que han permitido desarrollar inhibidores químicos más pequeños y de naturaleza no peptídica (Al-Obeidi y Lam, **2000**).

Otra aproximación muy similar a la anterior es la síntesis de análogos peptídicos a los lugares de unión de las proteínas responsables de la transmisión de información (Noonberg y Benz, **2000**). Desgraciadamente esta estrategia adolece de los mismos defectos que la anterior.

Los anticuerpos monoclonales (mAbs) actúan, o como secuestradores del ligando activador, o como bloqueantes de la región extracelular -previniendo la unión de ligandos-, o como inhibidores de la oligomerización necesaria para su autofosforilación. Se trata de una estrategia de intensa investigación (Marshall, **2006**) que ha obtenido resultados positivos más allá de etapas preclínicas. Para ilustrarlo basta detallar cuatro de los agentes existentes en el mercado (European Medicines Agency, **2010**):

1. Trastuzumab (Herceptin<sup>®</sup>) de Roche: mAb recombinante contra HER2, de la familia del EGFR, ha sido aprobado para su uso en cáncer gástrico y de mama.
2. Cetuximab (Erbix<sup>™</sup>) de ImClone: mAb quimérico contra EGFR y que ha sido aprobado para su uso en cánceres colorectal, cerebral y de laringe.
3. Panitumomab (Vectibix<sup>®</sup>) de Amgen: mAb humano contra EGFR y que ha sido aprobado para su uso en cánceres colorectales.
4. Bevacizumab (Avastin<sup>™</sup>) de Genetech: mAb humanizado contra VEGFR y que ha sido aprobado para su uso en cánceres colorectal, pulmonar, renal y de mama.

Se ha demostrado que estos agentes, además de inhibir la acción enzimática, promueven la internalización de las RTKs y su posterior degradación sin autofosforilación, lo que supone una ventaja sobre los agentes inhibidores del dominio quinasa (Hadari et al., **2004**). Así mismo, presentan una mayor especificidad, lo que les permite alcanzar niveles similares de inhibición con menores concentraciones. Por norma general, han demostrado que son más eficientes para inhibir la proliferación de células tumorales en los estudios *in vivo* que en los *in vitro*, hecho que demuestra que también aportan cierto efecto antiangiogénico (Bozec et al., **2006**), mayor que el observado con los agentes inhibidores del dominio quinasa (Petit et al., **1997**) pero que enfatiza la interdependencia que existe entre las rutas gobernadas por EGFR y VEGFR (Goldman et al., **1993**).

No obstante, presentan varias desventajas frente la estrategia contra el dominio quinasa. En primer lugar, deben ser administrados por vía intravenosa, mientras que los agentes inhibidores lo pueden ser por vía oral. En segundo lugar, su gran tamaño limita la capacidad de penetración en tumores sólidos. En tercer lugar, su mayor especificidad los hace muy vulnerables a la heterogeneidad de antígenos expresados en la superficie celular, que depende del tipo de célula y puede modificarse drástica y rápidamente por efecto de mutaciones tumorales (Herbst, **2004**). Por último, el coste mensual de la terapia es bastante mayor debido a una producción y una formulación farmacéutica tecnológicamente mucho más complejas: 10.000\$ frente 2.000\$ (2004 US Dollar) -sin incluir los otros agentes necesarios para la terapia (Pollack, **2004** y Chabner, **2004**)-.

### 0.2.1.1. Inhibidores del dominio quinasa

Un agente dirigido contra el dominio quinasa debería solventar los siguientes problemas:

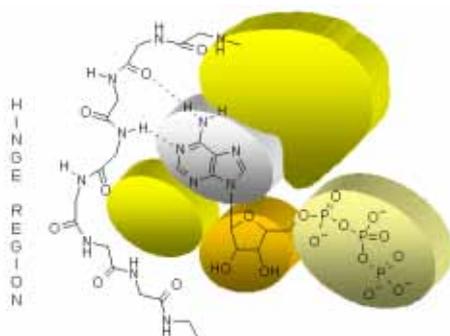
- falta de potencia de los fármacos por saturación de las dianas en el medio celular
- toxicidad colateral sobre otras enzimas ATP-dependientes
- falta de selectividad sobre las dianas de una dolencia concreta porque se trata de una región muy conservada

Además debería tener la capacidad de inhibir totalmente la autofosforilación de las RTKs -evento desencadenante de la transducción de señales-, ser permeable a través de la membrana citoplasmática -puesto que su diana es intracelular-, ser biodisponible en condiciones de pH fisiológico, no ser tóxico ni presentar un metabolismo que genere subproductos que lo sean y presentar propiedades farmacocinéticas suficientes (Levitzki y Gazit, **1995**).

El dominio quinasa incluye un lugar de unión para ATP y otro para sustrato: su unión es independiente y no secuencial (Levitzki, **2000**). Además, se ha podido determinar por análisis de la cinética enzimática -no michaeliana (Morin, **2000**)- que se trata de una unión de encaje inducido: el modo de unión para sustratos e inhibidores varía según las entidades químicas que se considere y según si la enzima está activada o desactivada. Es decir, cuando una quinasa ha sido activada por fosforilación, aumentan sus afinidades de unión de sustrato y de ATP, y aumenta su capacidad catalítica, con lo que resulta más difícil inhibirla (Levitzki, **2000**).

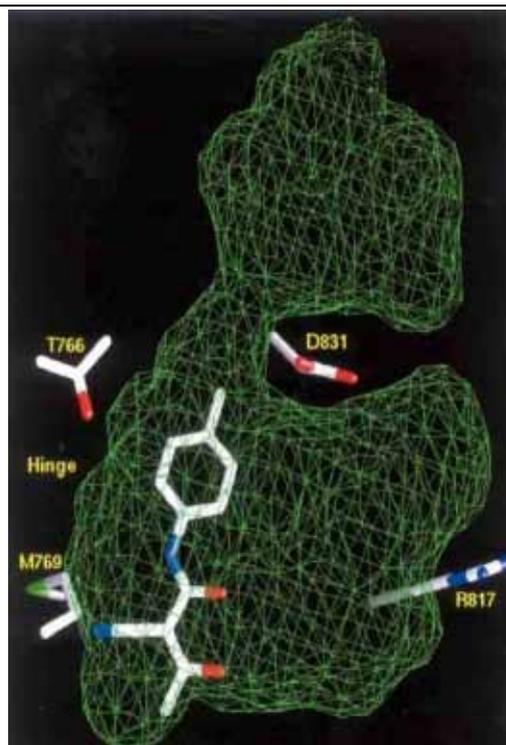
Concretamente, un estudio de diferentes quinastas cristalizadas con inhibidores de actividad contrastada (Ghosh et al., **2001**) revela que residuos altamente conservados del centro de unión de ATP toman diferentes orientaciones según el agente empleado (Ventura y Nebreda, **2006**). Además, cuando se compara una enzima en forma oncogénica con su forma nativa se descubre que la primera mimetiza el estado activado de la segunda. Esto significa que determinadas mutaciones fijan permanente la enzima en su forma activa (Anafi, **1992**). Así pues, un inhibidor potente debería fijar la enzima en alguna conformación inactiva.

Otros estudios y modelizaciones computacionales de las enzimas han permitido establecer la estructura de su centro activo. Se ha observado que los residuos responsables de la unión del sustrato (más externos) son altamente variables pero que los del ATP (internos) están muy conservados. De esta información podría deducirse que los análogos de sustrato serían inhibidores selectivos pero que los de ATP no. Sin embargo, en la zona más interna de la región de unión del ATP, existe una pequeña hendidura que se abre a una cavidad de residuos hidrófobos muy poco conservados, y que el ATP no utiliza para unirse a la enzima. Esta región -más los residuos poco conservados que hay en las cercanías del lugar de unión del sustrato- es suficiente para lograr un perfil de interacción significativamente diferente entre distintas quinastas y permite desarrollar inhibidores selectivos de ATP (Levitzki, **2002**).



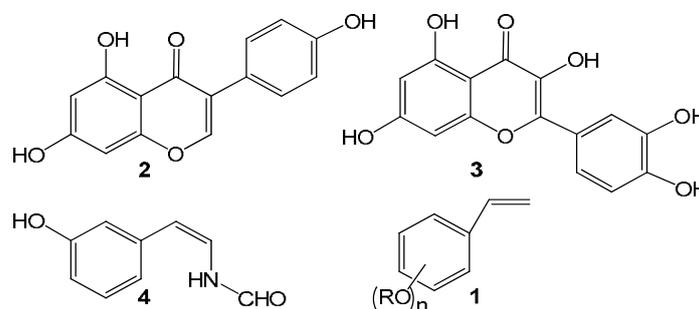
**Figura 0.10:** Derecha: modelo de unión a la enzima donde pueden observarse las zonas no ocupadas por el ATP y las interacciones que unen el núcleo de adenosina.

Izquierda: estructura del lugar de unión en EGFR; en la zona superior, la cavidad interna no usada por el ATP (Ghosh et al., 2001).



Así pues, la investigación en pos de inhibidores del dominio quinasa se ha centrado en el desarrollo de inhibidores contra el lugar de unión de sustrato o el de unión de ATP. Aunque hay que tener en cuenta que en algunos casos las entidades químicas empleadas pueden ser inhibidores de ambos lugares de unión (Levitzki y Gazit, 1995): a nivel molecular el agente químico se une a los residuos adyacentes al centro de unión de ATP (Marshall, 2006).

El primer tipo de inhibidores ensayados fue un pequeño grupo de agentes químicos diseñados para inhibir el lugar de unión del sustrato. Dichos compuestos comparten una subestructura común de estireno fenólico **1** (Levitzki y Gazit, 1995). Se trata de derivados y análogos sintéticos de los compuestos naturales genisteína **2**, quercetina **3** y erbastatina **4**, de evidentes similitudes con la tirosina. Presentan valores de inhibición del orden micromolar y, a pesar de ello, su estudio se halla en decadencia.



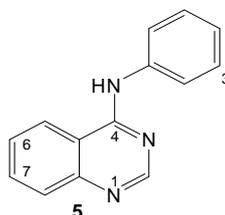
**Figura 0.11:** Genisteína **2**, quercetina **3**, erbastatina **4** y estructura general de tirfostinas **1**.

Los compuestos de esta familia se nombran genéricamente como Tirfostinas (en inglés Tyrphostins, acrónimo de Tyrosine Phosphorylation Inhibitors). Estos agentes presentan buena selectividad frente Tyr-quinasas, gran capacidad de difusión a través de la membrana celular -gracias a su naturaleza hidrofóbica-, pero insuficiente biodisponibilidad para su uso clínico.

El segundo tipo de inhibidores ensayados se diseñaron específicamente como análogos de ATP. A pesar de unos primeros resultados descorazonadores -falta de selectividad, perfil de biodisponibilidad deficiente, problemas de citotoxicidad- su estudio ha dado frutos en forma de diversos agentes aprobados para ser comercializados.

El desarrollo de estos inhibidores se basa en el refinado de una subestructura central heterocíclica (*core*) que presenta un conveniente perfil de interacción con los residuos aminoácidos del centro de unión y que en muchos casos mimetiza las interacciones básicas de la adenosina del ATP (fig. 0.10). Establecida esta entidad central, se optimizan los sustituyentes unidos a ella -mediante análisis masivos de quimiotecas o selección computacional- con el fin de obtener candidatos de características válidas para convertirse en futuros fármacos (*hits*): selectividad, potencia inhibidora, solubilidad, biodisponibilidad, etc.

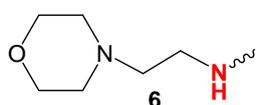
La primera familia de este tipo de compuestos fue desarrollada a principio de los 90 y presenta un *core* de 4-anilinoquinazolina (**5**).



**Figura 0.12:** Core quinazolínico de inhibidores análogos a ATP.

El refinado de esta estructura ha generado excelentes inhibidores cuyas potencias son de entre 3 a 5 órdenes de magnitud menores (nanomolar y picomolar) a los análogos de genisteína (**2**). Típicamente son selectivos de las RTKs de la familia de la EGFR, si bien existe alguna excepción que inhibe a quinasas de otras familias o que es altamente selectivo y sólo inhibe unas pocas quinasas. Los mejores resultados se obtuvieron con un perfil de sustitución que incluye un grupo lipófilo (por ejemplo bromo) en la posición 3' (Thompson et al., **1995** y Bridges et al., **1996**). Por desgracia, los compuestos de este tipo presentan una muy baja solubilidad en medios fisiológicos y, por ello, malos perfiles de biodisponibilidad (Bridges, **2001**).

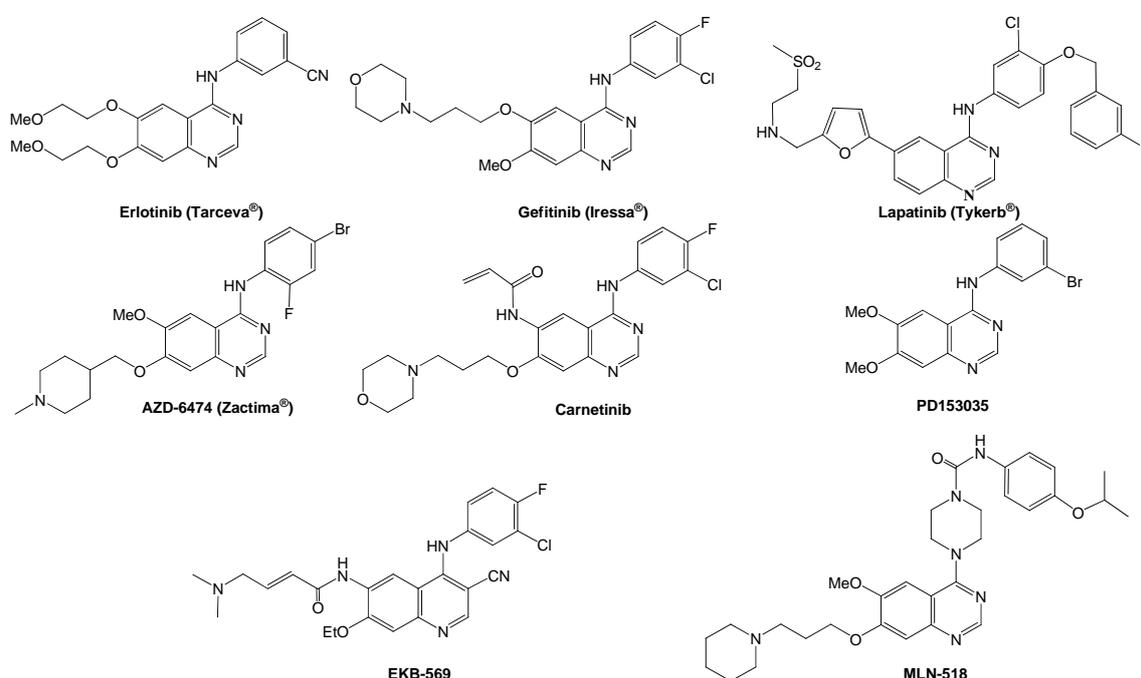
Para mejorar la potencia, selectividad y solubilidad de esta familia de agentes se realizaron extensos estudios QSAR que revelan la importancia de incorporar cadenas laterales electrodonadoras en las posiciones 6 y/o 7 (Rewcastle et al., **1996**). Las posibilidades ensayadas incluyen éteres, alcoholes/polióles, aminas, ácidos carboxílicos y combinaciones de todos ellos. En general, se observa que los alcoholes dificultan la unión a la enzima y que los ácidos impiden el paso a través la membrana citoplasmática. Por el contrario, éteres y aminas alquiladas -combinados entre sí o no- representan buenas opciones para mejorar las capacidades de penetración celular. De entre todos los sustituyentes con efectos positivos, el 2-morfolinoetilamino (**6**) es el más privilegiado (Bridges, **2001**).



**Figura 0.13:** Radical 2-morfolinoetilamino, el sustituyente más privilegiado de cores quinazolínicos.

Los estudios computacionales de este tipo de inhibidores (Ghosh, **2001** y Palmer, **1997**) muestran que los átomos de nitrógeno N1 y N3 del núcleo quinazolínico suplantán las interacciones por puente de hidrógeno que establece el nucleótido de adenina. La potencia inhibitoria y la selectividad se regulan gracias a la presencia del anillo de anilina 3'-sustituido que se introduce a través de la ranura posterior del lugar de unión del ATP hacia la cavidad interna (anteriormente mencionada) con un ángulo de 30° respecto al núcleo quinazolínico. Los residuos de las posiciones 6 y 7 se sitúan en la entrada de la cavidad de unión (como la unidad de ribosa y los grupos fosfato del ATP) quedando expuestos al solvente (de ahí su influencia sobre la solubilidad) e interactuando con residuos de esa región, hecho que confiere selectividad y potencia extras.

Esta familia de inhibidores ha dado frutos muy relevantes en forma de diversos agentes aprobados para su comercialización y multitud de otros agentes en diferentes fases clínicas.



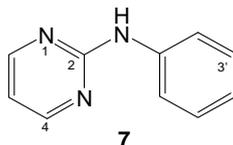
**Figura 0.14:** Derivados de quinazolina más relevantes (Noonberg y Benz, 2000; García-Echeverría, 2005; Arora y Scholar, 2005).

Cabe destacar que todos los agentes presentados son inhibidores competitivos reversibles de ATP, exceptuando Carnetinib y EKB-569 que son irreversibles. Este tipo de agentes presenta un aceptor/sustrato de tipo Michael (una amida  $\alpha,\beta$ -insaturada en estos casos) que recibe el ataque de aquellos residuos nucleófilos presentes en el lugar de unión de la ribosa del ATP (típicamente una cisteína) para formar un enlace covalente. Gracias a este mecanismo irreversible se mejora la selectividad de los inhibidores unas 100.000 veces (García-Echeverría y Fabbro, **2004**).

Nombre	Diana	IC50 (nM)	Cáncer tratado	Desarrollado por
Erlotinib	EGFR	2	Pulmón/páncreas	Roche
Gefitinib	EGFR	23	Pulmón	AstraZeneca
Lapatinib	EGFR/erbB-2	9,2/98	Mama	GlaxoSmithKline
AZD6474	VEGFR	40	Pulmón	AstraZeneca
Carnetinib	EGFR/erbB-2	0,8/9	Piel	Pfizer (Parke-Davis)
PD153035	EGFR	29	Mama/Hígado	Pfizer (Parke-Davis)
EKB-569	EGFR	38,5	Colorectal	Wyeth-Ayerst
MLN-518	PDGFR/c-Kit/Flt3	200/170/220	Leucemia	Millenium

**Tabla 0.1:** Derivados de quinazolina más relevantes (Madhusadan y Ganesan, 2004; Corbin et al., 2004; García-Echeverría, 2005; Arora y Scholar, 2005; Marshall, 2006; Giamas, 2007).

La segunda familia de compuestos inhibidores de ATP que se desarrolló presenta un core de 2-fenilaminopirimidina (7).



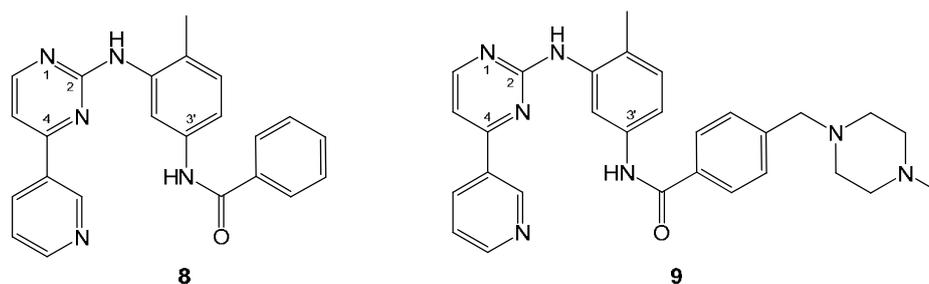
**Figura 0.15:** Core 2-fenilaminopirimidínico de inhibidores análogos a ATP.

La primera referencia a esta familia de compuestos como potenciales inhibidores de las Tyr-quinasas PDGFR, PKA, PKC $\alpha$ , c-Kit y v-Abl data de 1986, del equipo de investigación oncológica de Ciba-Geigy (ahora Novartis) encabezado por Lydon. Estos primeros estudios cayeron en el olvido por la falta de selectividad de sus agentes y, en consecuencia, por su supuesta citotoxicidad.

Gracias a los prometedores resultados de los inhibidores quinazolínicos **5** que se fueron publicando durante esos años, Ciba-Geigy reabrió de nuevo la línea de investigación de la familia 2-fenilaminopirimidina **7**. Tras el refinado de la estructura, se obtienen un par de agentes **-8** y **9** (Zimmermann et al., 1996; Druker et al., 1996; Zimmermann et al., 1997)- con buenos perfiles de actividad *in vitro* e *in vivo* (Deininger et al., 2005).

Enzyme	Substrate phosphorylation IC <sub>50</sub> [μM]	Cellular tyrosine phosphorylation IC <sub>50</sub> [μM]	Enzyme	Substrate phosphorylation IC <sub>50</sub> [μM]	Cellular tyrosine phosphorylation IC <sub>50</sub> [μM]	Enzyme	Substrate phosphorylation IC <sub>50</sub> [μM]	Cellular tyrosine phosphorylation IC <sub>50</sub> [μM]
c-ABL	0.025*	ND	γ-LYN	> 100	ND	c-MET	> 100	ND
v-ABL	0.038	0.3-0.3	v-PGR	> 100	ND	PKA	> 500	ND
PtyGPKA $\alpha$	0.025*	0.25	LOK	8.8	ND	PKC	> 500	ND
PtyGPKA $\beta$	0.025*	0.25	TYK (TPK1/2)	> 100	ND	PKC $\alpha$ , $\beta$ 1, $\beta$ 2, $\gamma$ , $\delta$ , $\epsilon$ , $\zeta$ , $\eta$ , $\theta$	> 100	ND
TEL-ABL	ND	0.35	JAK-2	> 100*	> 100	Protein Kinase CK-1, CK-2	> 100	ND
PDGF- $\beta$ $\alpha$ and $\beta$	0.38 (PDGF- $\beta$ )	0.1	EGFR	> 100	> 100	PKD	> 10	ND
TyI-PDGFR- $\beta$	ND	0.15	Insulin receptor	> 10	> 100	PKB	> 10	ND
c-RT	0.41	0.1	IGF-IR	> 10	> 100	PKC1	> 10	ND
FLT-3	> 10	> 10	FGF-IR	31.2	ND	c-Raf-1	0.47	ND
Bcr	> 10	ND	VEGFR2 (KDR)	10.7	ND	CDC2/cyclin B	> 100	ND
c-FMS and v-FMS	ND	> 10	VEGFR1 (FLT-1)	19.3	ND			
v-SRC	> 100	ND	VEGFR3 (FLT-4)	5.7	ND			
v-SRC	ND	> 10	TIE-2 (TEK)	> 50	ND			

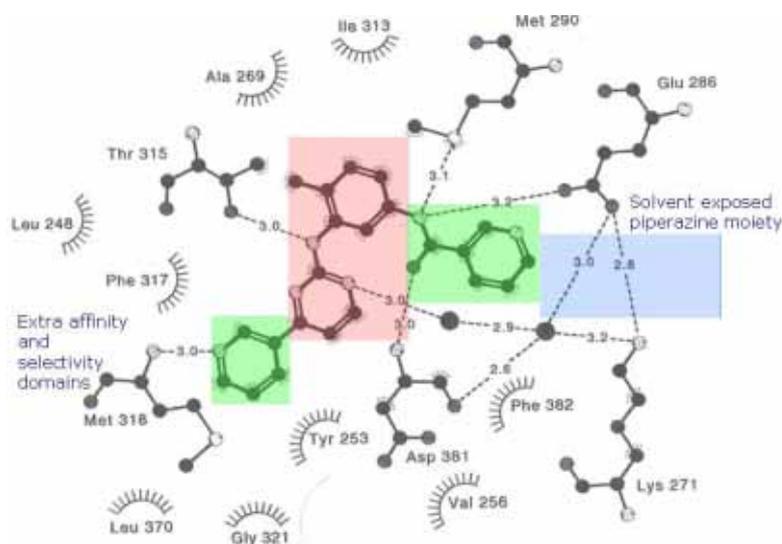
**Tabla 0.2:** Selectividad de **9** frente a diferentes quinastas (Deininger et al., 2005).



**Figura 0.16:** Derivados 2-fenilaminopirimidínico más relevantes.

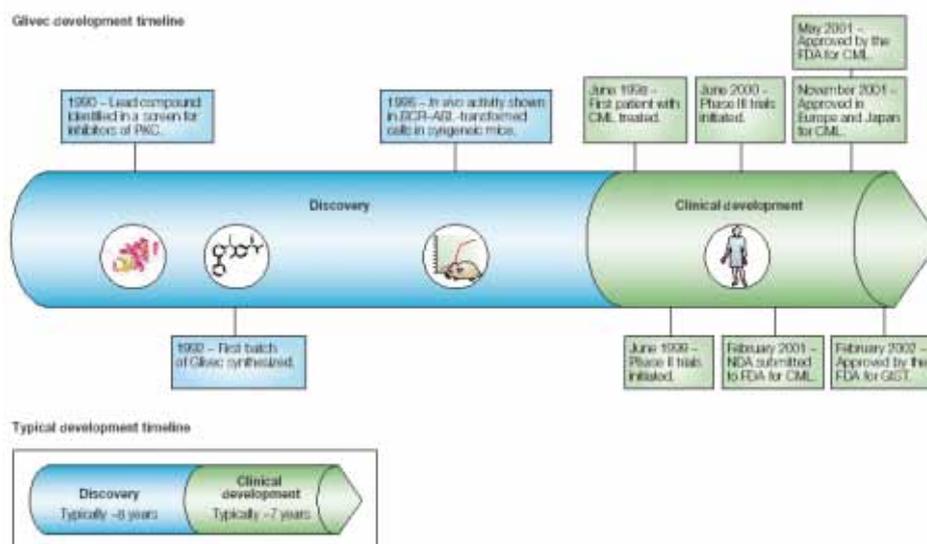
Si bien ambos agentes presentan potencias similares -de orden nanomolar-, sólo **9** es suficiente soluble -gracias al residuo 4-metilpiperazino, muy similar al 2-morfolinoetilamino **6** (fig. 0.13)- para tener buen perfil de actividad *in vivo*.

Los estudios del inhibidor cristalizado con las diferentes enzimas sobre las que actúa (Mol et al.; **2004**) revelan un modelo de unión muy similar al de los derivados quinazolínicos: el átomo de nitrógeno en la posición N1 y el exocíclico (en la posición C2) suplantando las interacciones que establece el nucleótido de adenina y que también están a distancia 1-3. El anillo de piridina se encuentra en la ranura interna de la enzima, girado respecto al *core* molecular. El resto de la molécula se sitúa hacia el exterior de la enzima (con un ángulo de 30° respecto al núcleo 2-aminofenilpirimidínico) y contribuye a la solubilidad y la potencia.



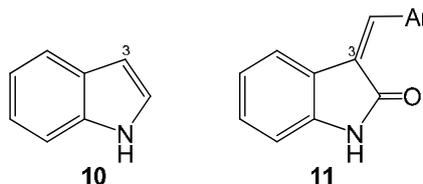
**Figura 0.17:** Unión de los inhibidores 2-fenilaminopirimidínicos a *c-Kit* (Mol et al., 2004)

En un tiempo récord, el compuesto **9** (Gleevec® o Glivec®) fue el primer inhibidor de Tyr-quinasa aprobado para ser comercializado como agente contra determinados tipos de leucemia, cánceres de poca frecuencia epidemiológica y otras dolencias menores. Esta noticia demostró la validez terapéutica de los inhibidores miméticos de ATP, revitalizó la investigación sobre la implicación de las proteín-quinasas en dolencias humanas y fomentó el desarrollo de nuevos agentes contra ellas.



**Figura 0.18:** Glivec<sup>®</sup>: desarrollo y aprobación meteóricas (Capdeville et al., 2002).

El tercer tipo de inhibidores análogos de ATP presenta un *core* de indol **10**; si bien, en la mayoría de los casos, se trata de un núcleo oxindol **11**.

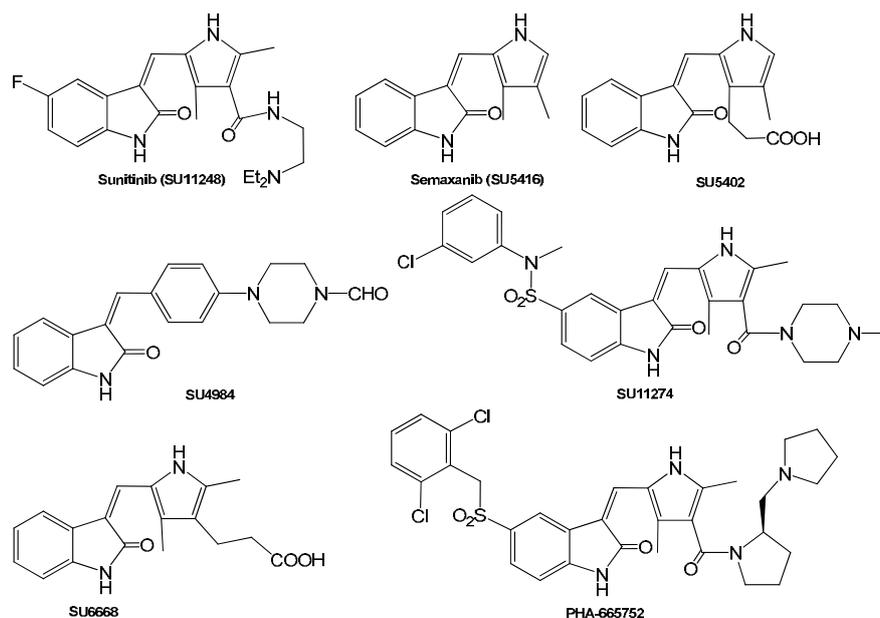


**Figura 0.19:** Core quinazolínico de inhibidores análogos a ATP.

Los agentes con núcleo de indol -selectivos de EGFR- fueron descartados muy temprano por falta de actividad *in vivo* (Al-Obeidi y Lam, 2000). Por el contrario, los derivados de oxindol presentan mejores perfiles de potencia -ligeramente inferiores a micromolar- y selectividad *in vivo*: principalmente frente VEGFR y, en menor medida, PDGFR y c-Kit (Sun et al., 1998 y Sun et al., 2000).

De manera similar a las anteriores familias, la presencia de heteroátomos a distancia 1-3 en el *core* mimetiza las interacciones de la adenina, de ahí su potencia. De hecho, los estudios de la unión a enzima muestran como el núcleo se sitúa en el lugar de unión de la adenina, los restos lipófilos del anillo aromático indólico penetran en la parte más interna de la cavidad enzimática y aumentan la potencia, y el resto de la molécula -rotada en ángulo de 90°- se halla expuesto hacia el exterior de la enzima, por lo que grupos hidrófilos aumentan solubilidad, selectividad, potencia y biodisponibilidad.

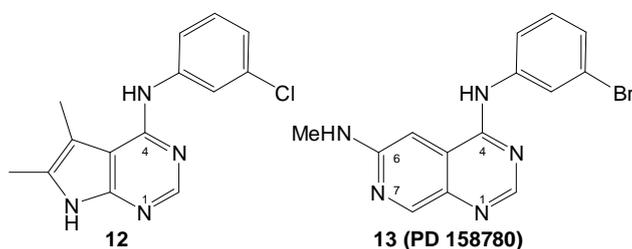
Esta familia de compuestos -desarrollados principalmente por Sugen y Pfizer- ha alumbrado agentes ya a la venta y agentes en estados muy avanzados de investigación clínica, cuya aprobación puede ser inminente.



**Figura 0.20:** Oxindoles más relevantes (Al-Obeidi et al., 2000; García-Echeverría, 2005).

SU11248 es capaz de inhibir a c-Kit, Flt-3, PDGFR (10nM) y VEGFR (10nM) y ya ha sido aprobado para su uso en casos de cáncer renal y gastrointestinal (van der Kuip et al., 2005). De manera muy similar, SU5416 es capaz de inhibir a c-Kit, Flt-3 y VEGFR (1040nM), pero parece que su uso es indicado para tratar ciertos tipos de leucemia (Madhusadan y Ganesan, 2004). SU6668 inhibe VEGFR, PDGFR y FGFR, SU4984 inhibe PDGFR y FGFR, y SU11274 y PHA-665752 sólo son inhibidores de c-Met. De estos cuatro agentes su utilidad terapéutica aún está por determinar (García-Echeverría, 2005).

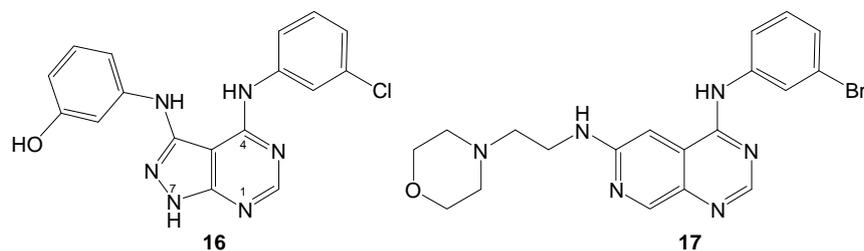
Por último, la familia de compuestos inhibidores competitivos de ATP descubierta más recientemente está compuesta por sistemas pirimidínicos fusionados con anillos de pirazol, pirrol y piridina. Su aparición se debe, entre otros, a Ciba-Geigy y Parke-Davis (actualmente Novartis y Pfizer) que, buscando inhibidores con núcleos análogos a la quinazolina **5**, desarrollaron respectivamente **12** (Traxler et al., 1996) y **13** (Thompson et al., 1995).



**Figura 0.21:** Primeros inhibidores pirrolopirimidínicos y piridopirimidínicos con potencia relevante (Bridges, 2001).

Ambos compuestos presentan buena actividad frente a EGFR *in vitro* (IC50s de 120nM y 130pM respectivamente) e *in vivo*. Alcanzaron estadios de desarrollo preclínico pero no prosperaron más allá por su deficiente biodisponibilidad, debida a la pésima solubilidad en medios fisiológicos. Con el fin de mejorar esta carencia se llevaron a cabo sendos estudios

QSAR que presentaron el núcleo de pirazolopirimidina como una alternativa atractiva (Traxler et al., 1997) y que rindieron compuestos con cadenas solubilizantes muy similares a las empleadas con los inhibidores quinazolínicos (Thompson et al., 1997).

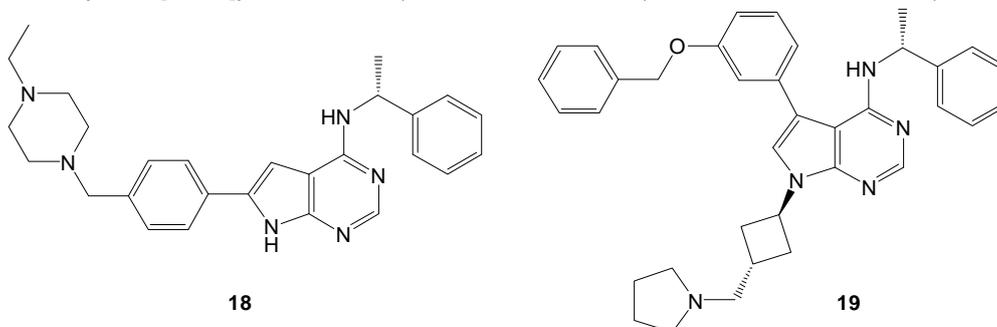


**Figura 0.22:** Mejoras de los primeros inhibidores pirrolopirimidínicos y piridopirimidínicos.

Ambos compuestos presentan una potencia inhibidora de orden nanomolar frente EGFR (1nM y 0,65nM, respectivamente), pero los estudios de fases clínicas desaconsejaron su comercialización por diversos motivos.

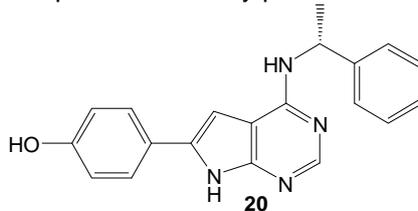
A pesar de que algunas de sus dianas son comunes, los modos de unión son ligeramente diferentes: todos ellos emulan la interacción a distancia 1-3 que establece el núcleo de adenina, pero mientras los compuestos piridopirimidínicos se unen de manera análoga a los quinazolínicos, los derivados de pirrolopirimidina y pirazolopirimidina lo hacen a través de puentes de hidrógeno en N1 y N7 (Traxler et al., 1997).

La familia de derivados de la pirrolopirimidina es muy versátil ya que diferentes agentes son capaces de inhibir un amplio espectro de quinasas. Por ejemplo, la pirrolo[2,3-*d*]pirimidina **18** de Novartis, actúa sobre EGFR (2nM), erbB-2 (6nM), VEGFR (77nM) y Flt-1 (59nM). Por el contrario, la pirrolo[2,3-*d*]pirimidina **19** (también de Novartis) es inhibidora de IGFR (170nM).



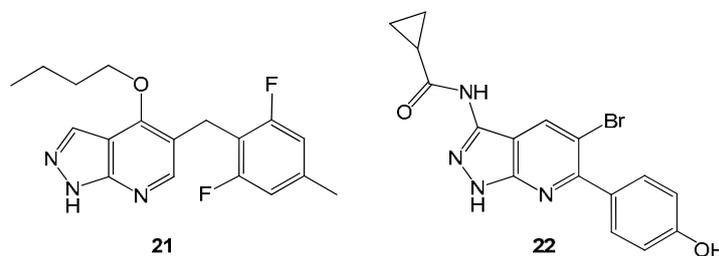
**Figura 0.23:** Pirrolopirimidinas de amplio espectro (García-Echeverría, 2005).

Además, Novartis tiene otro agente de esta familia (el PKI-166) con actividad contra EGFR (0,7nM) y erbB-2 (11nM) y con un perfil clínico muy prometedor.



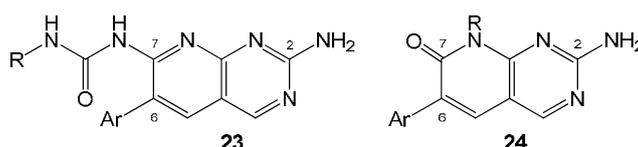
**Figura 0.24:** PKI-166 una pirrolopirimidina prometedor (García-Echeverría y Fabbro, 2004).

Curiosamente, las pirazolopiridinas (familia análoga a las pirrolopirimidinas y pirazolopirimidinas) aunque son relativamente activas frente a multitud de Tyr-quinasas son muy activas frente a Ser/Thr-quinasas. En este sentido se han descrito estructuras del tipo pirazolo[3,4-*b*]piridinas como **21** (Kim et al., **2003**) y **22** (Witherington et al., **2003**), especialmente activas frente CDK2 y GSK-3.



**Figura 0.25:** pirazolo[3,4-*b*]piridinas inhibidoras de CDK2 y GSK-3.

Explorando las posibilidades de los derivados de piridopirimidina, Parke-Davis desarrolló sucesivamente dos nuevas familias de compuestos con núcleo de pirido[2,3-*d*]pirimidina: las 7-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **23** (Connolly et al., **1997** y Hamby et al., **1997**) y las 8H-pirido[2,3-*d*]pirimidin-7-onas **24** (Klutchko et al., **1998**).

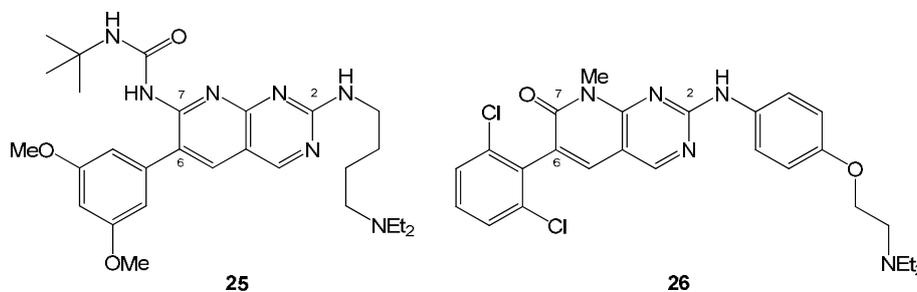


**Figura 0.26:** Nuevas familias de pirido[2,3-*d*]pirimidinas.

Ambas familias de compuestos presentan problemas de solubilidad a pH fisiológico (especialmente los derivados de **23**) y un perfil de inhibición demasiado amplio. Por ello se llevaron a cabo estudios del modo de unión a enzima (Trump-Kallmeyer et al., **1998**) y extensos estudios de estructura-actividad para explorar al máximo las posibilidades de sustitución en C2, C6 y C7 y su efecto en la solubilidad y la selectividad. Las conclusiones de estos estudios revelan que ambas moléculas se unen de manera muy similar:

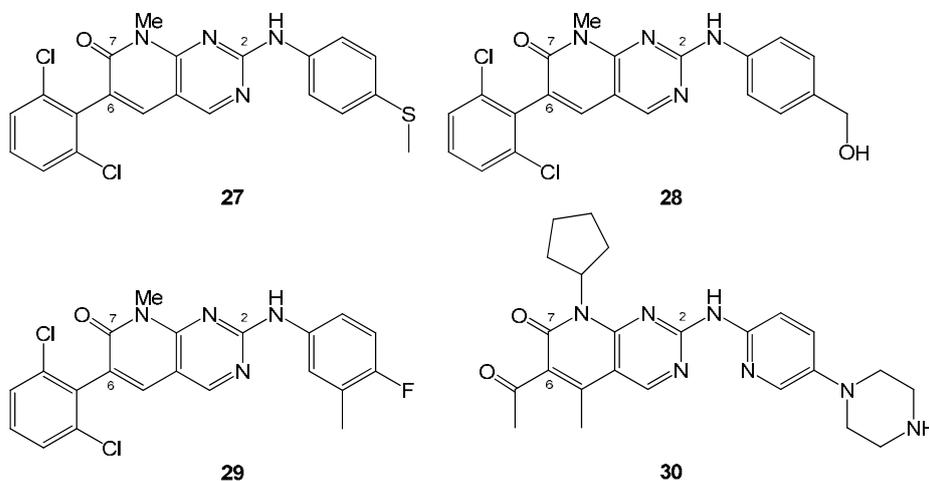
- Los nitrógenos N3 y el exocíclico situado en C2 se unen con la enzima de manera análoga a la adenina.
- Los residuos aromáticos en C6 se internan con un ángulo de 30° hacia la cavidad más interna que el ATP no ocupa y por ello interesa que tengan una sustitución voluminosa que fuerce la rotación. Juntamente con los residuos en 7, los residuos en C6 median en la potencia y selectividad.
- Los residuos unidos a C2 se sitúan en la zona más externa de la cavidad de unión y se hallan expuestos al disolvente del medio. Por ello interesa una sustitución que favorezca la solubilización del compuesto. Además, la presencia de grupos aromáticos que interaccionen hidrofólicamente con la enzima, aporta potencia inhibitoria extra.

Teniendo en cuenta toda esta información se desarrollaron los compuestos **25** y **26** como *leads* de sus respectivas familias. Sorprendentemente, **25** resulta muy selectivo y potente frente a FGFR (26nM) (Hamby et al., **1997**), mientras que **26** es un compuesto de amplio espectro: PDGFR (79nM), FGFR (43nM), c-Src (9nM), EGFR (44nM) (Klutchko et al., **1998**) y Wee1 (165nM) (Palmer et al., **2005**) -Ser/Thr-quinasa muy relevante para el control de la integridad del ADN durante el ciclo celular-.



**Figura 0.27:** Leads emergidos de las nuevas familias de pirido[2,3-d]pirimidinas.

Así pues, parece que el núcleo **24** es versátil frente multitud de quinasas, no solamente de Tyr si no también de Ser/Thr: EGFR, PDGFR, FGFR, c-Src, Lck, CDK2, CDK4, CDK6, MAPK, etc. Este hecho es una constatación más de que un núcleo central que mimetice las interacciones del ATP puede ser optimizado para conseguir compuestos con las características deseadas, siempre y cuando se halle la sustitución pertinente. Para ilustrar esta idea, a continuación se presentan compuestos con dicha estructura central y selectividad absolutamente diferenciada: **27** inhibe Lck y c-Src, **28** y **29** EGFR y erbB-2, **30** CDK4 y CDK6.

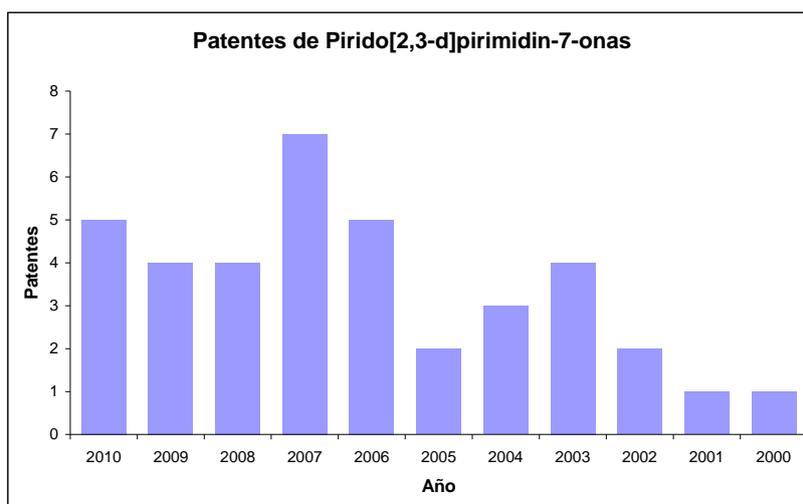


**Figura 0.28:** Versatilidad de los inhibidores con núcleo **24**.

No es de extrañar, pues, que el núcleo **24** esté en el centro de una gran empresa científica en pos de nuevos agentes. A nivel bioquímico y sintético, el mayor esfuerzo se está centrando en el estudio de la sustitución y de las modificaciones de la estructura central necesarias para conseguir potencia, solubilidad, penetración celular, biodisponibilidad, selectividad definida y predeterminada (agentes monodiana, duales, multiespectro), etc.

Este gran esfuerzo puede verse reflejado en el número ingente y creciente de literatura científica generada en este campo.

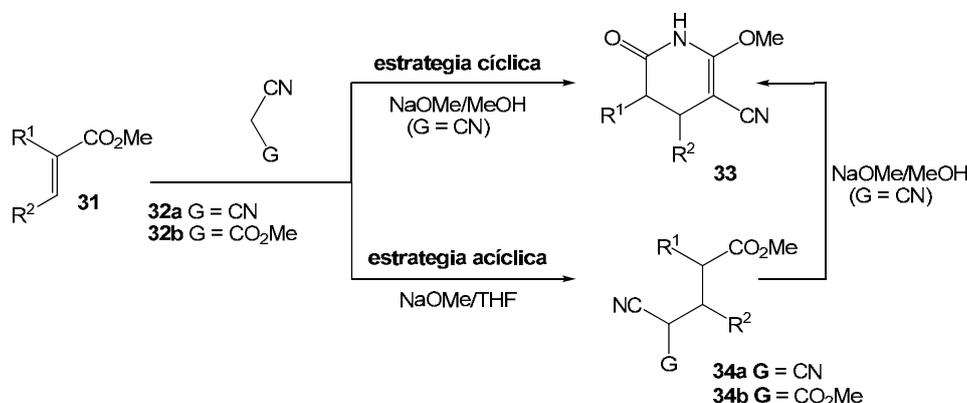
Como el número de publicaciones que versan sobre la infinidad de etapas que median entre la síntesis de una nueva molécula y su aprobación como fármaco comercializable es enorme, un indicador más simple y fiable sobre el estado y evolución de este campo de estudio son las patentes. Si se consideran las 38 patentes con agentes 8*H*-pirido[2,3-*d*]pirimidin-7-onas que han evolucionado hasta fases de desarrollo preclínicas y clínicas, solamente en los últimos tres años y medio se han publicado 20 patentes, un 53% del total. Estas cifras nos indican la actividad investigadora alrededor de estos agentes potenciales contra la multitud de dolencias en las que las quinasas juegan un papel relevante. En conclusión, este es un campo de investigación muy activo y atractivo.



**Figura 0.29:** Evolución del número de patentes sobre pirido[2,3-*d*]pirimidin-7-onas.

### 0.3. Síntesis heterocíclica en el Grupo de Ingeniería Molecular (GEM)

En 1975 P. Victory (Madrid, 1928-Barcelona, 1994) y J. Diago descubrieron la síntesis de los sistemas 2-metoxi-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidropiridin-3-carbonitrilos **33** (fig. 0.30) por reacción de un éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31** y malononitrilo **32a** en NaOMe/MeOH, con posterior ciclación intramolecular (Diago, 1975).



**Figura 0.30:** Obtención de los sistemas 2-metoxi-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidropiridínicos.

Posteriormente, se desarrolló una vía alternativa de síntesis en THF como disolvente (en lugar de MeOH) y cantidad catalítica de NaOMe que permite obtener un intermedio acíclico **34a**. Dicho intermedio es aislable y por ulterior tratamiento con NaOMe/MeOH rinde los sistemas **33**. La obtención de los intermedios **34a** demostró que la síntesis de los heterociclos **33** requiere de la formación del monoadducto de Michael intermedio no aislable en MeOH. Además, esta metodología sintética permitía obtener los sistemas acíclicos tipo **34b**, correspondientes al término de condensación del éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31** con cianacetato de metilo **32b** en lugar de malononitrilo (Borrell et al., 1996).

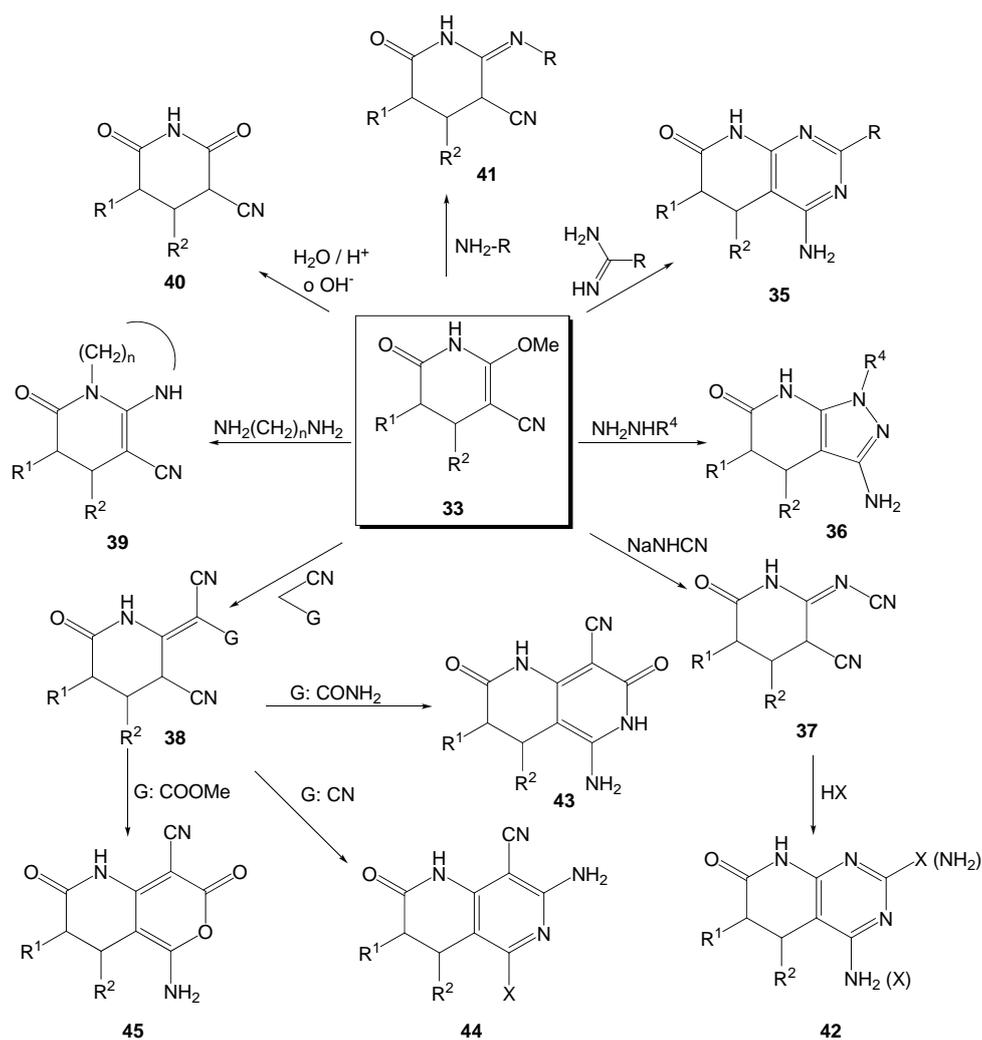
Los heterociclos **33** son sistemas especialmente atractivos porque el metoxilo presente en C2 es un excelente grupo saliente frente a sustituciones nucleófilas de tipo etilénico: el carbono  $sp^2$  que lo sustenta se halla en el extremo de un sistema nitrílico  $\alpha,\beta$ -insaturado y doblemente conjugado con el metoxilo y el nitrógeno lactámico. En los últimos años se ha explorado extensamente la diversidad química asequible a partir de dichos heterociclos mediante la sustitución de **33** con los correspondientes nucleófilos: carbonados (Teixidó, 1991; Victory, Teixidó y Borrell, 1992 y Victory et al., 1993), oxigenados (Victory y Diago, 1978 y Victory et al., 1981) y nitrogenados (Victory et al., 1981).

Por otro lado, también se ha estudiado la diversidad que es posible incorporar a los heterociclos **33** derivada de los ésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados **31**. Así pues, se ha logrado sintetizar sistemas **33** con R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> alquílicos, arílicos, heteroarílicos (Diago, 1975), derivados sililados (Pujolà, 1997), derivados fosfonados, ésteres, cadenas de tipo folato y grupos [1,3]-dioxolano.

Recapitulando, mediante la química estudiada se han podido sintetizar 2-cianoglutarimidias **40** (Victory y Diago, 1978), pirido[2,3-*d*]pirimidinas **35** y **42** (Victory et al., 1985; Victory y Garriga, 1985; Victory y Garriga, 1986), 1,6-naftiridinas **43** y **44** (Victory et al., 1992 y Victory et

al., 1993), pirano[4,3-*d*]piridinonas **45** (Victory et al., 1993), pirazolo[3,4-*b*]piridinas **36** (Victory et al., 1981).

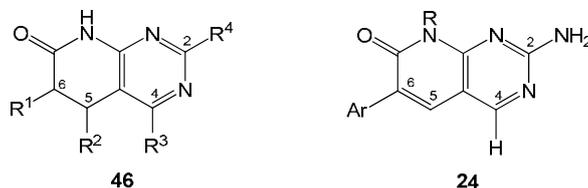
En conclusión, las 2-metoxipiridonas **33** son excelentes precursores de sistemas heterocíclicos que permiten incorporar con gran variedad de sustituyentes. Para subrayar su interés hay que destacar que muchos de los compuestos obtenidos desde su descubrimiento han demostrado poseer actividad farmacéutica (antibiótica, antitumoral y antineoplásica) (Matallana, 1998 y Borrell et al., 2001) o agroquímica (herbicida, fungicida e insecticida) (Lunt et al., 1984 y Lowe, 1984).



**Figura 0.31:** Reactividad de los sistemas 2-metoxi-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidropiridínicos.

### 0.3.1. Síntesis de sistemas pirido[2,3-*d*]pirimidínicos en el GEM

El Laboratorio de Síntesis del IQS tiene amplia experiencia en la síntesis de sistemas heterocíclicos cuya estructura genérica **46** presenta evidentes similitudes con **24**, núcleo privilegiado de multitud de inhibidores de quinasa conocidos.



**Figura 0.32:** Similitudes entre los sistemas **46** y el núcleo **24** de exitosos KI.

Establecida esta similitud, hay que considerar las posibilidades que la química desarrollada en el Laboratorio de Síntesis del IQS ofrece para la síntesis de compuestos con propiedades inhibitoras de quinasa. De especial consideración será la diversidad química asequible con cada uno de los métodos sintéticos desarrollados.

#### 0.3.1.1. La estrategia cíclica y la 1ª estrategia acíclica

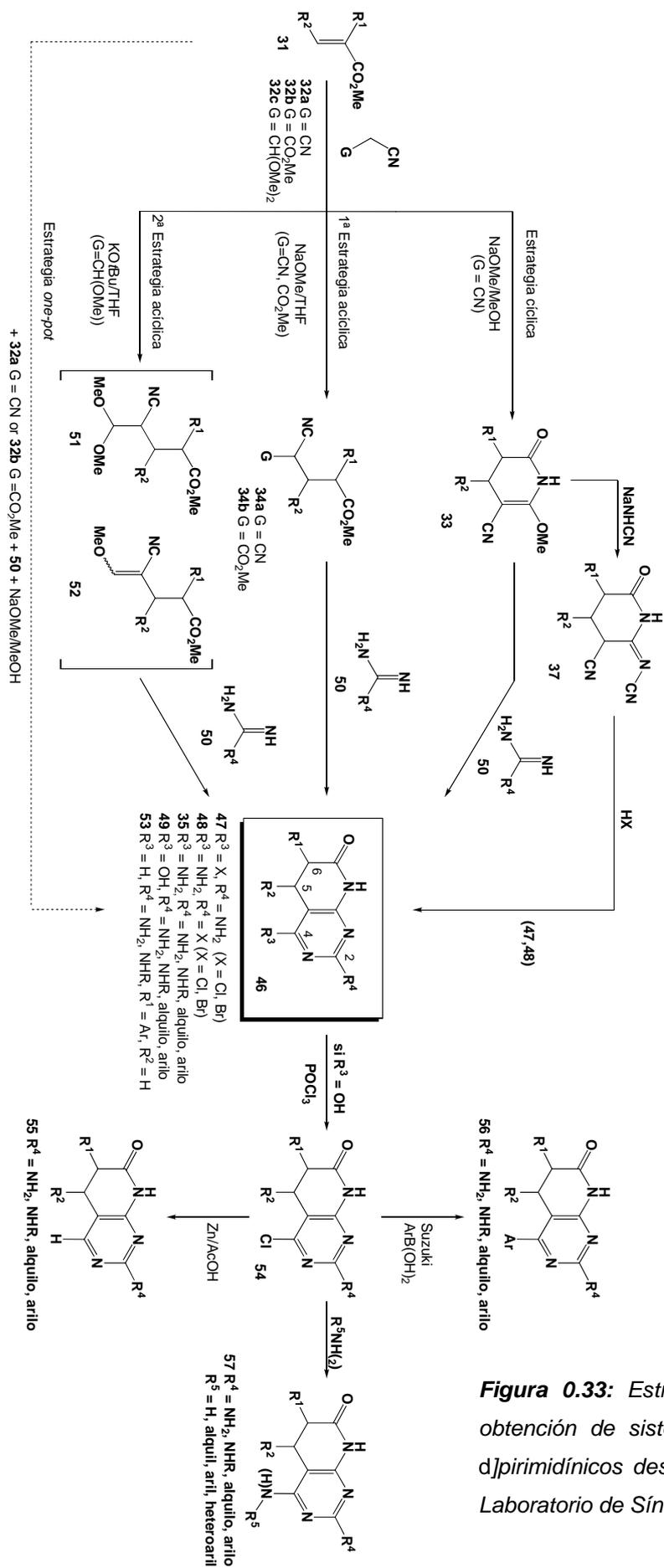
La estrategia cíclica consiste en la condensación directa de las 2-metoxipiridonas **33** con sistemas guanidínicos o amidínicos **50** ( $R^4 = \text{NH}_2, \text{NHR}, \text{H}, \text{alquil}, \text{aril}, \text{heteroaril}$ ) (Victory et al., **1985**) para rendir pirido[2,3-*d*]pirimidinas en dos etapas sintéticas. Esta estrategia sólo es útil para la obtención de 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35** ( $R^3 = \text{NH}_2$ ).

Además, mediante la estrategia acíclica también es posible obtener las 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35** si se emplea malononitrilo **32a** en la síntesis de **34**. A partir de este intermedio, se emplea una metodología equivalente a la utilizada con **33** (Matallana, **1998**) para rendir el biciclo.

Por el contrario, los sistemas 4-oxo-sustituídos **49** -representados como su tautómero hidroxílico- únicamente pueden ser obtenidos mediante la estrategia acíclica: el aducto intermedio **34b** es tratado con reactivos guanidínicos o amidínicos **50** ( $R^4 = \text{NH}_2, \text{NHR}, \text{H}, \text{alquil}, \text{aril}, \text{heteroaril}$ ) para obtener pirido[2,3-*d*]pirimidinas no sustituidas en C4 **49** ( $R^3 = \text{OH}$ ) (Borrell et al., **1996**).

#### 0.3.1.2. La 2ª estrategia acíclica

Esta estrategia permite obtener los análogos de **34** donde G puede ser, o bien un acetal dimetílico **51**, o bien un enol metiléter **52**; es decir, se trata del intermedio **34** con un grupo aldehído protegido. A partir de estos intermedios **51** y/o **52** -por tratamiento con guanidinas **50** en condiciones distintas de las empleadas para **34**- se obtienen los sistemas bicíclicos no sustituidos en C4 **53** (Berzosa et al., **2010**).



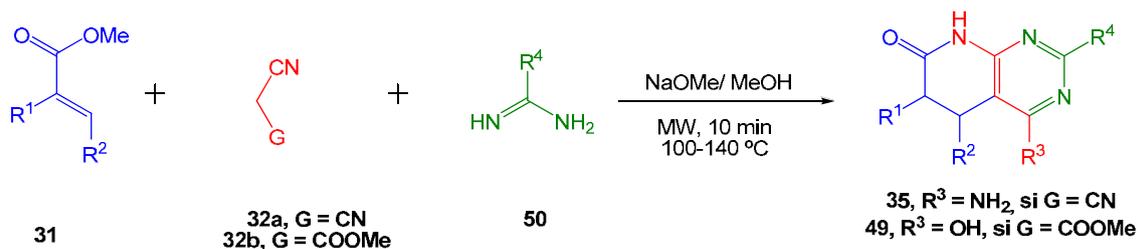
**Figura 0.33:** Estrategias para la obtención de sistemas pirido[2,3-d]pirimidínicos desarrolladas en el Laboratorio de Síntesis del IQS.

Esta es la única estrategia que permite la obtención de pirido[2,3-*d*]pirimidinas no sustituidas en C4 en pocas etapas sintéticas. Además esta ruta no obliga a formar previamente el sistema bicíclico con sustituyentes distintos en la posición 4 que deben ser transformados en etapas posteriores, lo que suele complicar enormemente la obtención de pirido[2,3-*d*]pirimidinas no sustituidas en C4 y limita la diversidad de sus sustituyentes.

Desgraciadamente, esta ruta sintética tiene una importante limitación: únicamente permite emplear ésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados **31** sin sustituyentes en  $\beta$  de carbonilo y con sustituyentes aromáticos en  $\alpha$  cuya posición *orto* esté ocupada por grupos voluminosos.

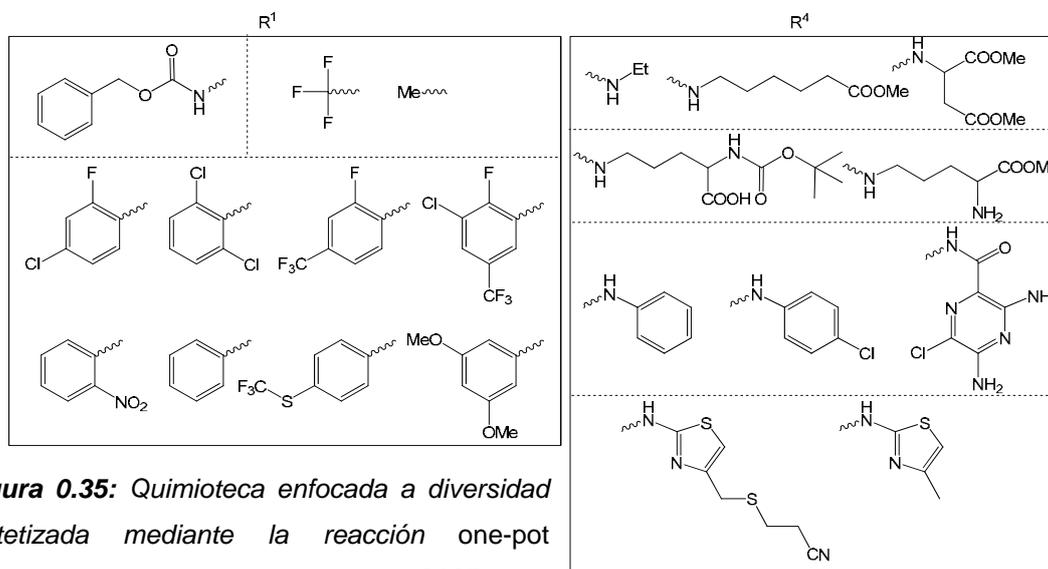
### 0.3.1.3. La estrategia one-pot

Apoyándose en la síntesis de las 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35** según la estrategia cíclica, se ha desarrollado una metodología sintética multicomponente en un solo paso (sin aislamiento de las piridonas **33**) asistida por microondas para la obtención de dichos sistemas con tiempos de reacción muy reducidos (10 minutos frente a 12-24h) y rendimientos muy elevados (incluso cuantitativos), muy superiores a los obtenidos mediante la estrategia en dos pasos (Mont et al., 2003).



**Figura 0.34:** Reacción one-pot multicomponente (Mont et al., 2003).

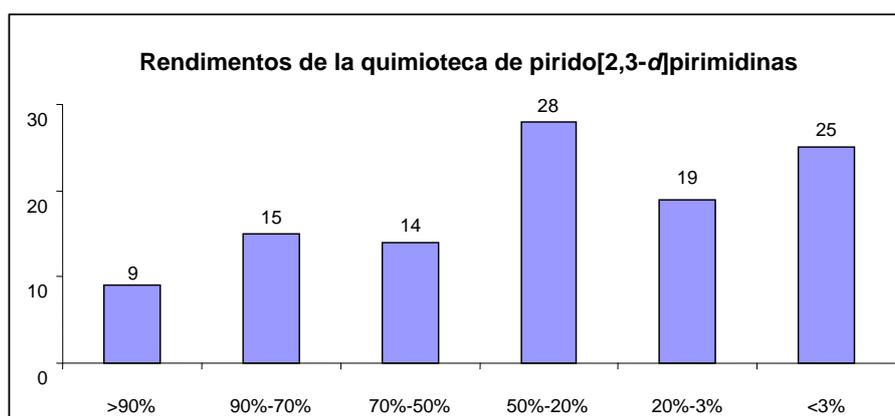
Puesto que esta nueva metodología permite acelerar la obtención de este tipo de sistemas se decidió sintetizar una quimioteca de 2,4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35** que explorara al máximo la diversidad química asequible y permitiera estudiar su robustez.



**Figura 0.35:** Quimioteca enfocada a diversidad sintetizada mediante la reacción one-pot desarrollada por nuestro grupo (Mont, 2005)

Para la síntesis de dicha quimioteca se seleccionaron 11 ésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados **31** y 10 guanidinas **50** tales que los compuestos resultantes no presentaran grupos funcionales de toxicidad conocida y que cumplieran las reglas de Lipinski (Lipinski et al., 1997) -que relacionan parámetros fisicoquímicos de las estructuras químicas con perfiles farmacocinéticos aceptables para un fármaco-.

Se obtuvieron 84 de las 110 moléculas posibles con rendimientos muy variados, pero mayoritariamente iguales o inferiores al 50%. Así pues, la metodología sintética desarrollada permite obtener diversidad química de manera sencilla y rápida.



**Figura 0.36:** Rendimientos de la quimioteca de 2,4-diaminopiridopirimidinas **35** (Mont, 2005).

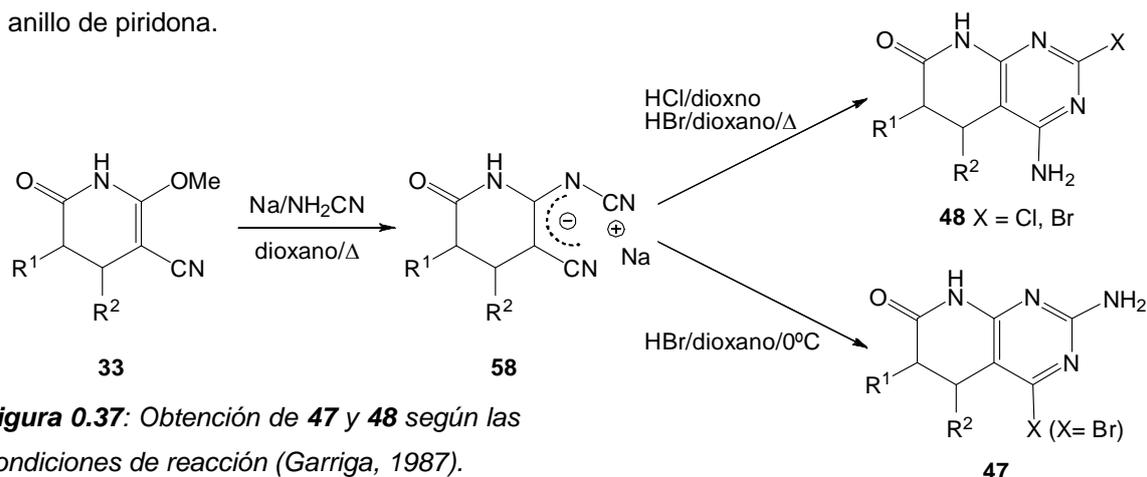
Al emplear esta estrategia para la síntesis de 4-oxopirido[2,3-d]pirimidinas **49**, a pesar de unos ensayos preliminares esperanzadores, no se obtienen los compuestos o se obtienen con un rendimiento demasiado pequeño. Concretamente, se ha apuntado a la solubilidad del compuesto final -efecto que se agrava al aumentar la complejidad de los sustituyentes  $R^1$  y  $R^4$ - y a la dificultad de ciclar los intermedios **34b** con los sistemas guanidínicos y amidínicos **50** como causas más probables para justificar este comportamiento (Berzosa, 2010).

#### 0.3.1.4. Síntesis de halopirido[2,3-d]pirimidinas

La obtención de los isómeros posicionales **47** y **48** ha sido descrita bajo condiciones de control cinético y control termodinámico a partir de la sal **58** (Victory y Garriga, 1985; Victory y Garriga, 1985; Victory y Garriga, 1986).

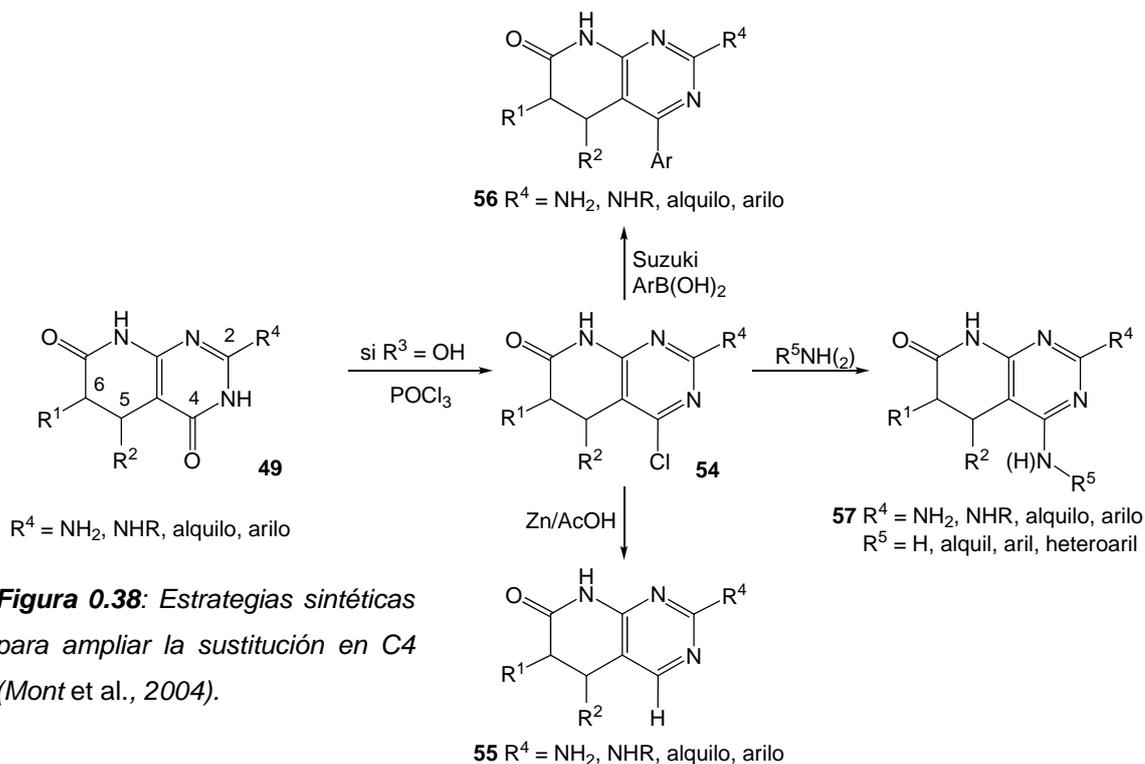
La reacción de **33** con cianamida sódica en dioxano a reflujo y cantidad estequiométrica de sodio rinde cuantitativamente la sal sódica **58**, que se puede recuperar del medio de reacción con rendimientos elevados por neutralización de la sal con cloruro de hidrógeno en metanol (Victory et al., 1985). La reacción de **58** con haluros de hidrógeno permite obtener **47** o **48** dependiendo del nivel térmico y del haluro empleado: con bromuro de hidrógeno a baja temperatura se obtiene mayoritariamente **47**; por el contrario, a temperatura elevada y con cloruro de hidrógeno, se obtiene, de forma predominante, **48**. Se ha demostrado que este

control es independiente de la naturaleza y la posición de los sustituyentes presentes en el anillo de piridona.



Esta estrategia resulta muy interesante porque incorpora al anillo de pirimidina unos halógenos que son fácilmente sustituibles y, por tanto, abre las puertas a toda aquella diversidad química que pueda lograrse de su sustitución. Sin embargo, el proceso de obtención de ambos compuestos no es simple, lo que dificulta su empleo masivo con vistas a la síntesis de una quimioteca.

Para evitar los problemas asociados a la síntesis de **47** y **48** se desarrolló una metodología sintética (Mont et al., 2004) que es más compatible con la variabilidad de sustituyentes y que aprovecha el carácter enólico de las pirido[2,3-*d*]pirimidinas **49** para activarlas por reacción del carbonilo en C4 mediante el tratamiento con  $\text{POCl}_3$ .



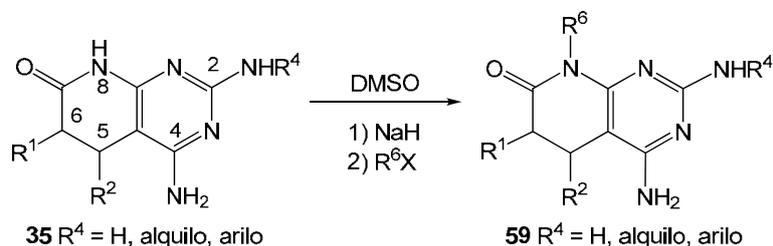
Los sistemas resultantes **54** pueden ser transformados en estructuras con un alto grado de diversidad mediante distintas estrategias (Mont et al., **2004** y Mont, **2005**): reacción de Suzuki **53**, sustitución nucleófila aromática **54** y reducción **55**.

Sin embargo, se ha observado que dicha estrategia puede no ser compatible con determinados perfiles de sustitución en las otras posiciones del biciclo. Además, resulta inevitable obtener en primer lugar el correspondiente biciclo **49**, lo que puede no resultar sencillo ni rápido.

### 0.3.1.5. La solubilidad: un problema y una oportunidad

Los biciclos con los que el Laboratorio de Síntesis del IQS tiene experiencia son altamente insolubles en los disolventes orgánicos más habituales (metanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo) y sólo son solubles en DMSO, DMF o TFA. Por ello hay que considerar la posibilidad que, aun y ser activos frente a quinasas, no fueran farmacológicamente atractivos.

Los sistemas 2,4-diaminopirido[2,3-d]pirimidínicos **35** son especialmente insolubles a causa de los 6 grupos polares con capacidad de donación y aceptación de enlaces por puente de hidrógeno que presenta la estructura: 3 aminas como dadores y 1 carbonilo, 2 nitrógenos pirimidínicos como aceptores que permiten a estas moléculas asociarse fuertemente de múltiples maneras (Borrell et al., **1993**).



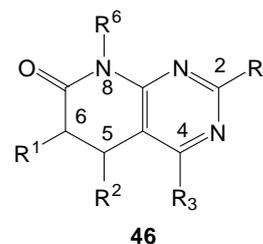
**Figura 0.39:** Alquilación selectiva de 4-aminopirido[2,3-d]pirimidina en N8 (Marsellés, 1997).

Se ha comprobado la importancia de dichos grupos mediante la supresión del carbonilo y la alquilación del nitrógeno lactámico (Victory y Garriga, **1985** y Marsellés, **1997**), que resulta en un aumento espectacular de la solubilidad de estos sistemas en disolventes mucho menos polares como cloroformo, AcOEt, ACN y MeOH.

Pero además, estos estudios han permitido establecer nuevos protocolos sintéticos que amplían las posibilidades de sustitución de los sistemas bicíclicos. Concretamente, la sustitución del hidrógeno en N8 ha permitido introducir cadenas y ciclos alquílicos de diferentes tamaños (metilo, etilo, ciclopentilo, etc.) y también sustituyentes aralquílicos (Berzosa, **2010**) (bencilo, 3-metoxibencilo).

### 0.3.1.6. La diversidad asequible

Considerando la química desarrollada por el Laboratorio de Síntesis del IQS, los sistemas **46** permiten multitud de sustituyentes en varias posiciones del heterociclo: los puntos que permiten diversidad química son C2, C4, C5, C6 y N8. Ahora bien, no todas las combinaciones son compatibles entre sí.



**Figura 0.40:** posiciones de diversidad

Los sustituyentes en C5 y C6 dependen del éster de partida  $\alpha,\beta$ -insaturado **31**. Se han ensayado opciones de distinta naturaleza: alquílicos, arílicos, heteroarílicos (Diago, **1975**), derivados sililados (Pujolà, **1997**), derivados fosfonados, ésteres, cadenas de tipo folato y grupos [1,3]-dioxolano, etc. Por tanto, estas posiciones son muy versátiles y son una gran fuente de diversidad para los sistemas pirido[2,3-*d*]pirimidínicos. Aún y con todo, teniendo en cuenta que estos reactivos son empleados al inicio de cualquiera de las rutas expuestas, el perfil de sustitución introducido en estos puntos debe ser compatible con las etapas sintéticas posteriores, lo que puede limitar las opciones viables.

En la posición C4 la diversidad que es más fácilmente asequible se limita a amina (**35**) y carbonilo (**49**). Además, la 2ª estrategia acíclica permite acceder a bicíclo 4-hidrógenosustituidos **53** con relativa facilidad pero limita la diversidad de C5 y C6; afortunadamente, el perfil de sustitución permitido coincide con el más atractivo para desarrollar inhibidores de quinasas: C5 = H y C6 = Ar *orto*-sustituido.

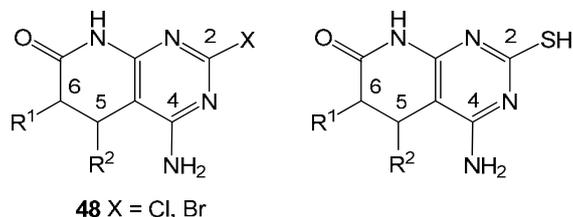
Las rutas que permiten colocar un bromo (**47**) o un cloro (**54**) en la posición C4 son muy atractivas ya que permiten generar una gran diversidad mediante sustitución nucleófila aromática, reacciones catalizadas por metales o, incluso, reducción. Desgraciadamente hay que añadir que la obtención de sistemas **47** es ligeramente más complicada metodológicamente que sus análogos **48** (Garriga, **1987**), por lo que esta ruta no es recomendable para la síntesis masiva de compuestos. Así mismo, para obtener los bicíclo **54** deben sintetizarse los correspondientes análogos 4-oxo sustituidos **49** (Mont et al., **2004**) (con las consiguientes dificultades e incompatibilidades de sustituyentes) y transformarlos en unas condiciones tales que no todos los perfiles de sustitución pueden soportar.

La diversidad en la posición C2 depende de los reactivos guanidínicos o amidínicos **50** ( $R^4 = NH_2, NHR, H, \text{alquil, aril, heteroaril}$ ) empleados en la síntesis de los sistemas **35**, **49** y **53**. Sin embargo, la disponibilidad comercial de este tipo de sistemas no ofrece una gran diversidad química, por lo que esta posición resulta poco versátil.

Por ello, los derivados halogenados **48** representan una opción atractiva, puesto que se pueden derivatizar mediante sustitución nucleófila (Victory et al., **1988**) y reacciones

catalizadas por metales. Sin embargo, esta metodología presenta dos inconvenientes que limitan enormemente su utilidad de cara a la diversidad química asequible:

- la obtención de dichos derivados puede ser incompatible con la presencia de algunos sustituyentes en las posiciones C5 y C6,
- los sistemas **48** obtenidos, y sus derivados, sólo pueden presentar aminas en la posición C2.



**Figura 0.41:** Sistemas pirido[2,3-d]pirimidínicos con versatilidad en C2.

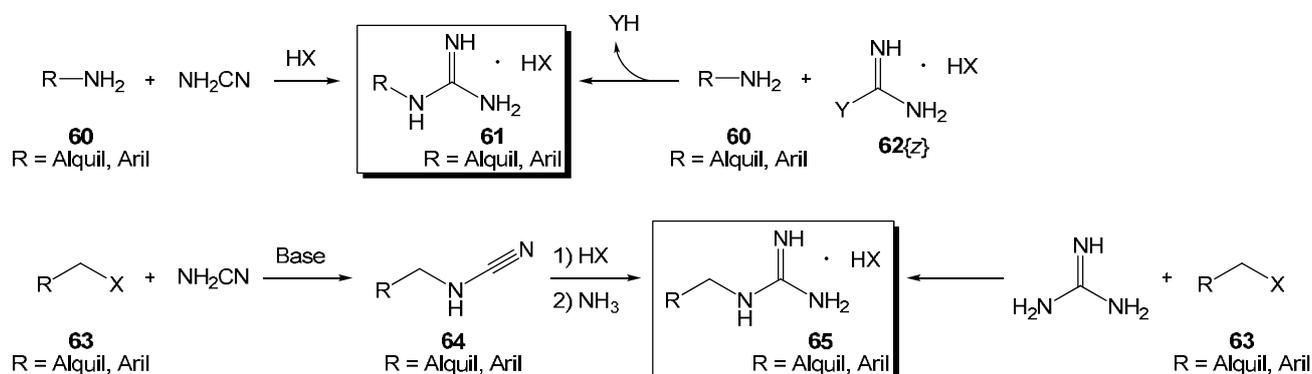
Como alternativa se ha ensayado la obtención de sistemas **46** 2-tioderivados usando la tiourea como análogo de los reactivos guanidínicos/amidínicos **50**. A priori, dichos sistemas resultarían muy atractivos puesto que la posición C2 sería fácilmente sustituible. Sin embargo, hasta la fecha, ni en la estrategia cíclica ni en la 1<sup>a</sup> acíclica se ha observado que la tiourea presente reactividad análoga a los compuestos **50** (Victory et al., **1985**).

Los sustituyentes en la posición N8 se introducen con el biciclo ya formado: alquilos y cicloalquilos de diferentes tamaños (Marsellés, **1997**) (metilo, etilo, ciclopentilo, etc.) y aralquilos (Berzosa, **2010**) (bencilo, 3-metoxibencilo). A pesar de no permitir una gran diversidad química, la gran ventaja de esta metodología es que introduce la variabilidad al final del proceso sintético. Así se evitan incompatibilidades que pudieran surgir durante el proceso de construcción del biciclo.

En conclusión, si bien las posiciones C2, C5, C6 y N8 de los sistemas **46** son puntos sobre los cuales la química desarrollada hasta el momento permite acceder a cierta diversidad química, C4 es una posición muy poco versátil. Además, las incompatibilidades inherentes a ciertos procesos sintéticos limitan las múltiples combinaciones de sustituyentes posibles, especialmente en las posiciones C5 y C6. Así mismo, la poca diversidad de los reactivos guanidínicos **50** comercialmente asequibles limita las posibilidades de sustitución.

### 0.3.2. La síntesis de guanidinas N-monosustituidas

Las metodologías de obtención de guanidinas N-monosustituidas se pueden clasificar en dos grupos dependiendo del reactivo de partida que incorpore la diversidad química.



**Figura 0.42:** Estrategias para la obtención de guanidinas.

El primer grupo de estrategias emplea compuestos **63** con algún grupo fácilmente reemplazable por sustitución nucleófila:

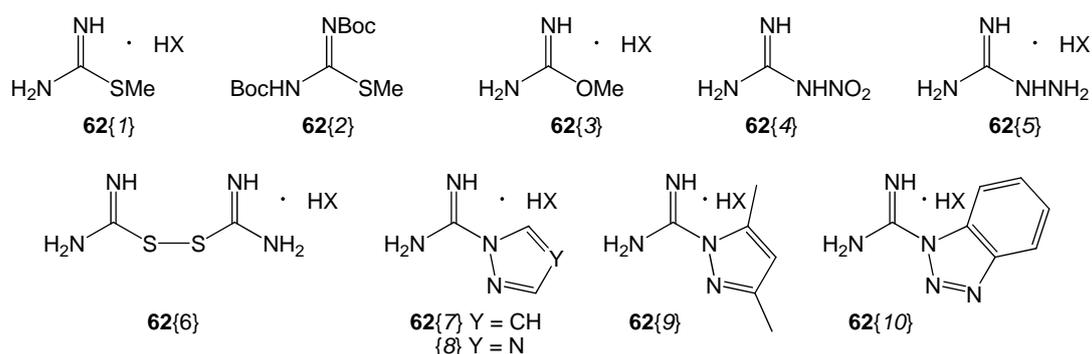
- Se intercambia dicho grupo por cianamida (intermedio **64**), se activa en medio ácido y se trata con amoníaco para obtener la correspondiente guanidina **65** (Jensen et al., **2001**).
- Se sustituye sobre **63** directamente con una unidad de guanidina controlando que la proporción entre reactivos sea adecuada para evitar polisustituciones (Wunz et al., **1987**).

Sin embargo, ambas estrategias únicamente son aplicables de manera general sobre compuestos cuyo átomo reemplazable se encuentre en posición alquílica (secundaria a lo sumo) o bencílica. Es decir, las estrategias de este primer grupo no permiten la obtención de guanidinas aromáticas.

El segundo grupo de estrategias emplea aminas como fuente de diversidad para hacerlas reaccionar como nucleófilos sobre reactivos que incorporen los otros dos nitrógenos necesarios para formar guanidinas:

- Tras activar la cianamida en medio ácido, se condensa con la amina **60** para rendir la correspondiente guanidina **61** (Braunerová et al., **2004** y Tavares et al., **2004**).
- Se emplean como reactivos de guanidinación de aminas los compuestos **62**: derivados de guanidina en los que uno de los nitrógenos ha sido reemplazado por un grupo saliente que puede ser tioéter o éter -**62**{1} (Lange et al., **1989**), **62**{2} (Danilewicz et al., **2002**), **62**{3} (Callahan et al., **1989**)-, compuestos de nitrógeno -nitroamina **62**{4} (Zha, **2009**), hidrazina **62**{5} (Dräger et al., **2002**)-, heterociclos aromáticos -**62**{7} (Porcheddu et al., **2004**), **62**{8} (Kokai Tokkyo Koho, **1995**), **62**{9} (Werbél et al., **1987**), **62**{10}

(Katritzky et al., 1995)-, otras unidades del propio reactivo -62{6} (Srivastava et al., 1976)-, etc.

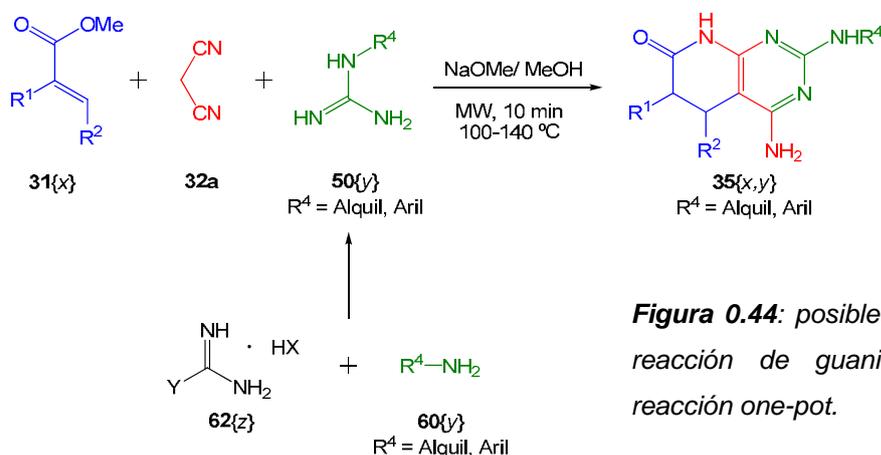


**Figura 0.43:** Agentes de guanidinación.

La ventaja estratégica que ofrece este segundo grupo de metodologías respecto el primero es la posibilidad de sintetizar guanidinas aromáticas. Ahora bien, no todas las variantes permiten la obtención de todas las guanidinas aromáticas a partir de las correspondientes aminas; es decir, dado que los nitrógenos de las aminas aromáticas son menos nucleófilos que los de aminas alifáticas, y dado que el efecto de los sustituyentes en el anillo aromático tiene gran influencia sobre el carácter nucleófilo, puede darse el caso que alguna amina no pueda formar la guanidina si no es mediante un reactivo de guanidinación muy activo.

Así pues, con la idea de implementar un método lo más general posible que permita sintetizar guanidinas **50** con el máximo de diversidad posible (y por ende biciclos **35** con variedad de sustituyentes  $\text{R}^4$ ), las estrategias más adecuadas son las correspondientes al segundo grupo.

Si además se considera el hecho que la mayoría de reactivos de guanidinación **62** funcionan correctamente en disolventes alcohólicos -incluido el propio metanol-, cabría la posibilidad de acoplar la reacción de obtención de guanidinas **50** con la metodología *one-pot* de obtención de 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35** expuesta anteriormente. Dicho acoplamiento permitiría la obtención de los sistemas bicíclicos en sendos procesos consecutivos y sin aislamiento de intermedios.



**Figura 0.44:** posible acoplamiento de la reacción de guanidinación y de la reacción *one-pot*.



#### **0.4. Objetivos**

Por todo lo expuesto anteriormente, se proponen como objetivos de la presente tesis doctoral:

1. Selección de un agente de guanidación **62** y estudio del rango de utilidad frente a un panel de aminas aromáticas y alifáticas.
2. Optimización de la reacción de guanidación con el agente **62** seleccionado.
3. Estudio del acoplamiento de la reacción de guanidación con la reacción *one-pot* de obtención de sistemas 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35**.
4. Síntesis de una pequeña quimioteca de 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35** empleando el proceso *one-pot two-processes* implementado.

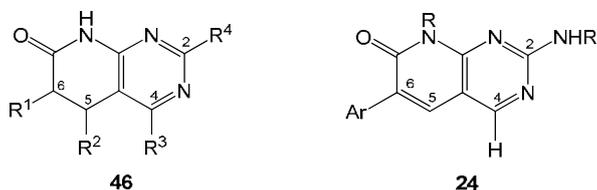


**CAPÍTULO 1: Síntesis de 2-amino-4-  
-arilamino-pirido[2,3-*d*]pirimidinas**



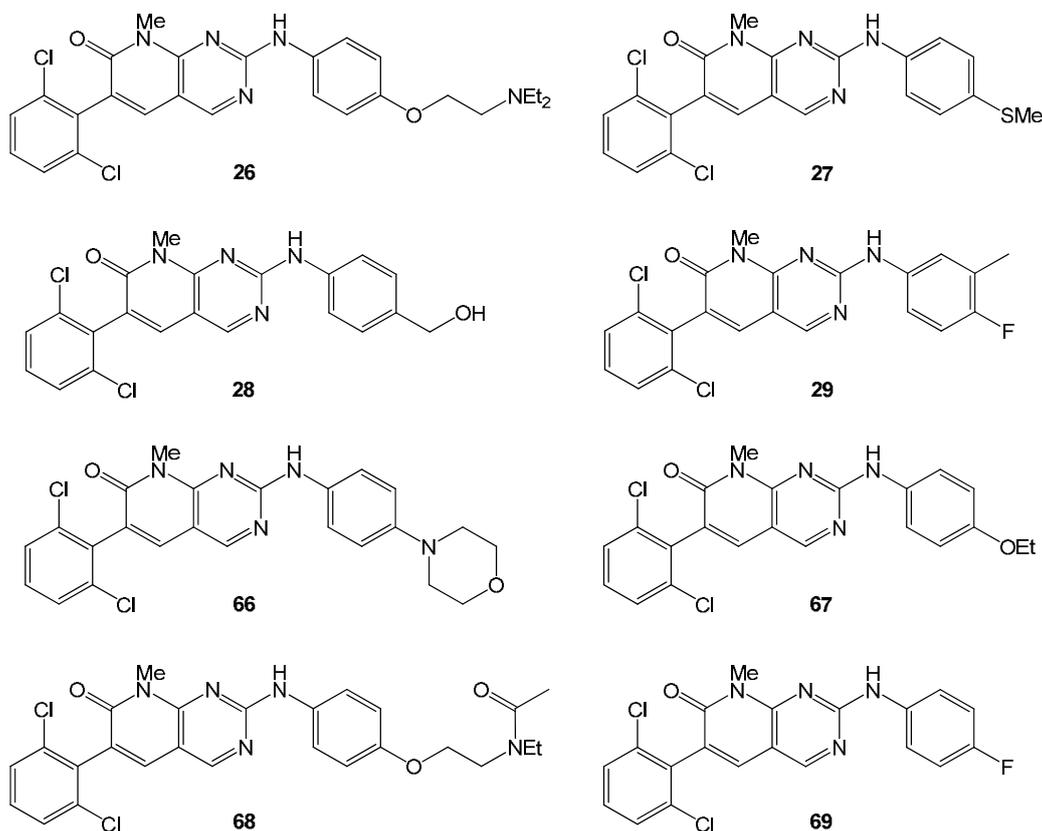
## 1.1. Antecedentes

El Laboratorio de Síntesis del IQS tiene amplia experiencia en la síntesis de sistemas heterocíclicos cuya estructura genérica **46** presenta evidentes similitudes con **24**, núcleo privilegiado de multitud de inhibidores de quinasa conocidos.



**Figura 1.1:** Similitudes entre los sistemas **46** y el núcleo **24** de exitosos KI.

El grupo de síntesis de Parke-Davis (ahora Pfizer) fue el pionero en el desarrollo de sistemas del tipo **24**. De entre la ingente cantidad de compuestos sintetizados existen miembros destacados por su selectividad y potencia frente a un reducido número de quinasas, o por ser multidiana y presentar una potencia media-alta. A continuación se presentan algunos de los elementos de estas quimiotecas con mejor relación potencia/capacidad multiespectro.



**Figura 1.2:** Hits pirido[2,3-d]pirimidínicos de Pfizer (Kraker et al., 2000; Palmer et al., 2005)

Teniendo en cuenta el modo de unión a enzima propuesto por este mismo grupo (Trumpp-Kallmeyer et al., 1998; Wissing et al., 2004), las características comunes más destacables de las estructuras de la anterior figura son:

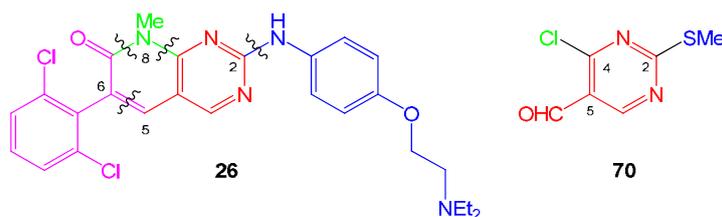
- un residuo 2,6-diclorofenilo en C6 como sustituyente privilegiado y que sugiere que la sustitución de los residuos aromáticos debe ser voluminosa y poco (o nada) polar para

forzar la rotación del plano del anillo respecto el plano del núcleo pirido[2,3-*d*]pirimidínico. Esto se corresponde con los modelos computacionales de unión a enzima y difractogramas de rayos X que revelan como el residuo se interna con un ángulo de 30° hacia una cavidad interna que el ATP no ocupa.

- Los residuos en C2 suelen presentar un espaciador aromático al que se unen residuos muy polares y con capacidad de formación de enlaces por puente de hidrógeno. Ello sugiere que existe algún tipo de requerimiento estérico e hidrofóbico en esa zona del enzima, pero que también es importante la presencia distal de residuos con capacidad donadora o aceptora de enlace por puente de hidrógeno. De hecho, los modelos computacionales de unión a enzima y los difractogramas de rayos X revelan que los sustituyentes en C2 están en la zona más externa de la cavidad de unión, dónde existe una región hidrofóbica muy poco conservada. Así pues, los grupos unidos al anillo aromático quedan expuestos al exterior de la enzima y pueden formar enlaces por puente de hidrógeno con el disolvente del medio. En resumen, este perfil de sustitución en C2 favorece la solubilidad del compuesto (por efecto de los grupos polares) y aporta selectividad y potencia inhibidora extras (por efecto de grupos aromáticos con sustitución hidrofoba).

### 1.1.1. La estrategia sintética de Parke-Davis

Todas las estrategias sintéticas desarrolladas por este grupo parten de algún tipo de análogo del núcleo de pirimidina **70** que presenta una serie de grupos ortogonales activables para su sustitución/condensación de manera secuencial. De esta manera se consigue una estrategia muy versátil, robusta y capaz de rendir un gran número de estructuras diferentes con un perfil de sustitución muy amplio (Klutchko et al, **1998**; Boschelli et al., **1998**).



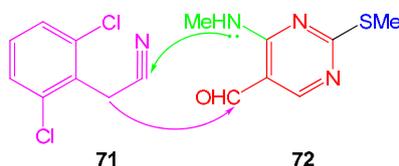
**Figura 1.3:** La piridopirimidina **26** y su precursor pirimidínico análogo **70**.

De forma más detallada:

- El derivado halogenado en C4 (usualmente cloro) es el primer punto de sustitución puesto que es el más reactivo de todos los grupos. Para ello basta tratar el núcleo análogo a **70** que corresponda al caso en una solución básica de metilamina, etilamina o la amina primaria que se desee.
- El tioéter en la posición C2 puede ser sustituido en cualquier momento por reacción directa con amina, o bien en condiciones drásticas (alta temperatura y/o presión), o bien

en condiciones más suaves -previa activación del tioéter por oxidación a sulfona o sulfóxido-.

- El grupo aldehído en posición C5 permanece en una forma más oxidada (ciano o éster) hasta que se activa para la formación del ciclo de piridona. Esta ciclación se lleva a cabo mediante la condensación del grupo aldehído contra un nucleófilo que presente algún grupo reactivo frente a la amina situada en la posición C4.



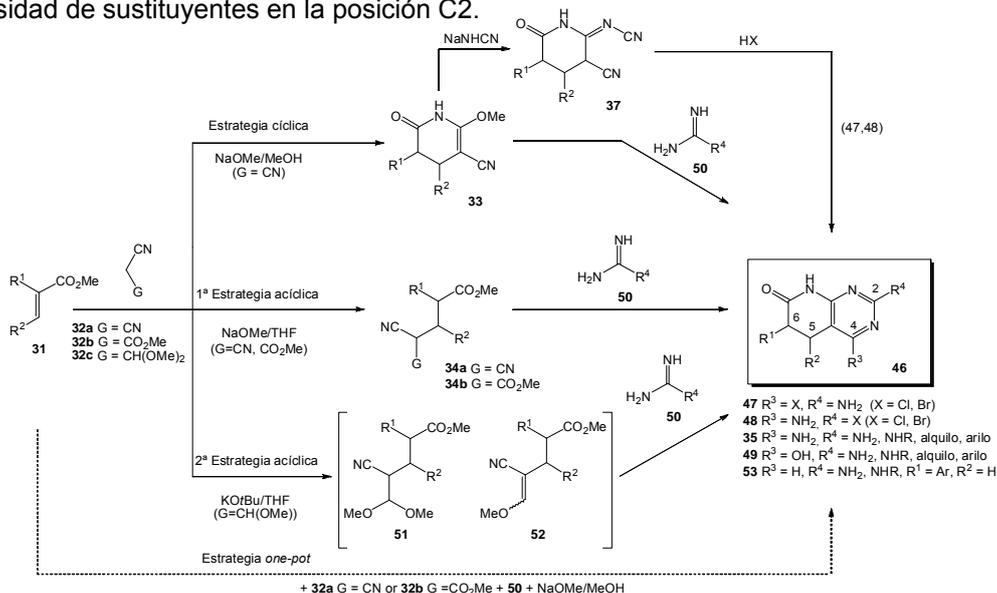
**Figura 1.4:** Paso clave para la formación del sistema bicíclico: doble condensación de **71** y **72**.

- La secuencia de reacciones para la sustitución de las posiciones C2 y C5 no es importante en la mayoría de los casos y puede ser intercambiada si existe alguna incompatibilidad entre grupos funcionales.

Esta estrategia sintética está en clara contraposición con las metodologías de obtención de sistemas bicíclicos desarrolladas en el laboratorio de Síntesis-GEM del Instituto Químico de Sarriá.

### 1.1.2. La estrategia sintética del Laboratorio de Síntesis - GEM

La principal divergencia entre la química de ambos grupos es que la mayoría de las metodologías del GEM se basan en la obtención de un intermedio aislable (**33**, **34a**, **34b**, **51**, **52**) correspondiente al anillo de piridona (o análogos de cadena abierta). Éstos presentan ya un par de puntos de diversidad (C5, C6) incorporados a partir del éster de partida **31** cuyos sustituyentes deben resistir ulteriores etapas sintéticas. Posteriormente, se forma el anillo pirimidínico por condensación de estos intermedios con los sistemas **50**, responsables de la diversidad de sustituyentes en la posición C2.



**Figura 1.5:** Algunas de las estrategias sintéticas desarrolladas en el GEM.

Desgraciadamente, las rutas sintéticas para la obtención de los intermedios piridónicos **33** (o sus análogos **34a**, **34b**, **51**, **52**) limitan el abanico de sustituyentes posibles, aunque esto no es una gran desventaja respecto Parke-Davies porque su metodología también presenta limitaciones para esas mismas posiciones. Concretamente, para formar el anillo piridónico emplean metilenos activos (como **71** o similares) de los que no existen muchas variantes comerciales pero cuya síntesis es relativamente sencilla. Además, sus condiciones de condensación también limitan el perfil de sustituyentes posibles. Otra limitación, común en las estrategias de ambos grupos, es que los residuos introducidos en esta etapa deben permanecer inalterados el resto del itinerario sintético, lo que puede limitar la diversidad química asequible.

Ahora bien, la clara desventaja de las metodologías del GEM es el modo en que se forma el ciclo pirimidínico: la diversidad química en C2 depende de la amidina o guanidina **50** que se emplee para cerrar el anillo y no de la amina con que Parke-Davis sustituye el tioéter o sulfona pirimidínica. Es decir, mientras que la diversidad de aminas comercialmente disponibles es muy amplia, para amidinas y guanidinas es muy limitada. Por lo tanto, la estrategia de ese grupo de investigación resulta más versátil a la hora de explorar la variabilidad de sustituyentes en C2.

La estrategia *one-pot* para la síntesis de piridopirimidinas no resuelve estas limitaciones pues emplea los mismos reactivos de partida que las otras estrategias del GEM, pero en cambio presenta ciertas ventajas: menor manipulación, menor tiempo de reacción, mayores rendimientos, etc.

De lo expuesto hasta ahora puede deducirse que la diversidad en C2 es uno de los puntos que la química del Laboratorio de Síntesis aún tiene pendiente.

El primer intento para superar este vacío sintético fue la obtención de los derivados halógenados **48** que permiten derivatizar el sistema bicíclico mediante sustitución nucleófila (Victory et al., **1988**) de manera análoga al tioéter o sulfona pirimidínica de Parke-Davis. Sin embargo, esta metodología presenta inconvenientes que desaconsejan su empleo masivo de cara a diversidad química.

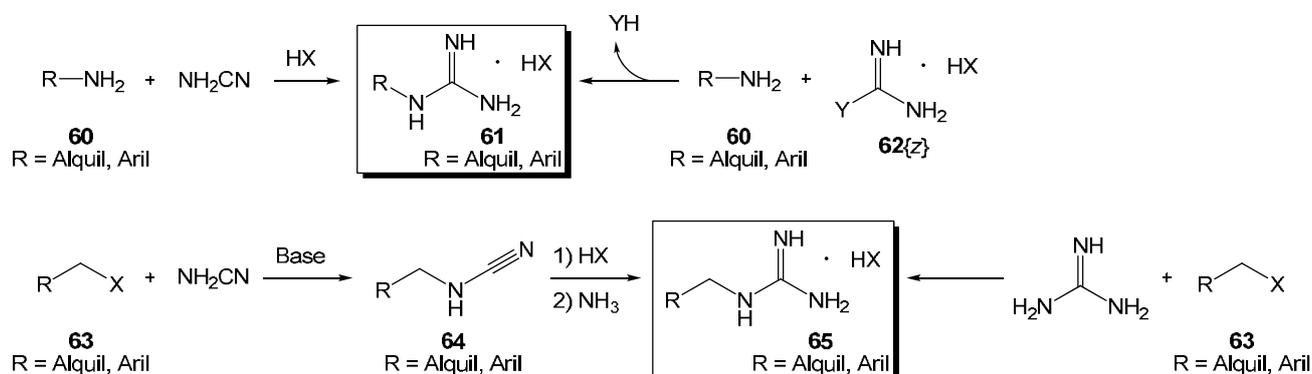
La siguiente alternativa ensayada empleó sin éxito la tiourea (o S-metilisotiourea) como análogo de los reactivos guanidínicos/amidínicos **50** para intentar obtener sistemas **46** 2-tioderivados similares a los de Parke-Davis.

Lo cierto es que hasta la fecha no ha sido posible solventar esta carencia. Por tanto, para conseguir ampliar el espacio químico asequible mediante las metodologías del GEM, resulta imprescindible desarrollar alguna estrategia sintética enfocada a diversidad que permita obtener sistemas guanidínicos y amidínicos **50**.

En conclusión, este trabajo pretende implementar una metodología sintética de obtención de guanidinas **50** que complemente la química desarrollada hasta la fecha por el GEM.

### 1.1.3. La síntesis de guanidinas N-monosustituidas

Las metodologías de obtención de guanidinas N-monosustituidas se pueden clasificar en dos grupos dependiendo del reactivo de partida que incorpore la diversidad química.



**Figura 1.6:** Estrategias para la obtención de guanidinas.

El primer grupo de estrategias emplea compuestos **63** con algún grupo fácilmente reemplazable por sustitución nucleófila:

- Se intercambia dicho grupo por cianamida (intermedio **64**), se activa en medio ácido y se trata con amoníaco para obtener la correspondiente guanidina **65** (Jensen et al., **2001**).
- Se sustituye sobre **63** directamente con una unidad de guanidina controlando que la proporción entre reactivos sea adecuada para evitar polisustituciones (Wunz et al., **1987**).

Sin embargo, ambas estrategias únicamente son aplicables de manera general sobre compuestos cuyo átomo reemplazable se encuentre en posición alquílica (secundaria a lo sumo) o bencílica. Es decir, las estrategias de este primer grupo no permiten la obtención de guanidinas aromáticas.

El segundo grupo de estrategias emplea aminas como fuente de diversidad para hacerlas reaccionar como nucleófilos sobre reactivos que incorporen los otros dos nitrógenos necesarios para formar guanidinas:

- Tras activar la cianamida en medio ácido, se condensa con la amina **60** para rendir la correspondiente guanidina **61** (Braunerová et al., **2004** y Tavares et al., **2004**).
- Se emplean como reactivos de guanidinación de aminas los compuestos **62**: derivados de guanidina en los que uno de los nitrógenos ha sido reemplazado por un grupo saliente que puede ser tioéter o éter -**62**{1} (Lange et al., **1989**), **62**{2} (Danilewicz et al., **2002**), **62**{3} (Callahan et al., **1989**)-, compuestos de nitrógeno -nitroamina **62**{4} (Zha, **2009**), hidrazina **62**{5} (Dräger et al., **2002**)-, heterociclos aromáticos -**62**{7} (Porcheddu et al., **2004**), **62**{8} (Kokai Tokkyo Koho, **1995**), **62**{9} (Werbel et al., **1987**), **62**{10}

(Katritzky et al., 1995)-, otras unidades del propio reactivo -62{6} (Srivastava et al., 1976)-, etc.

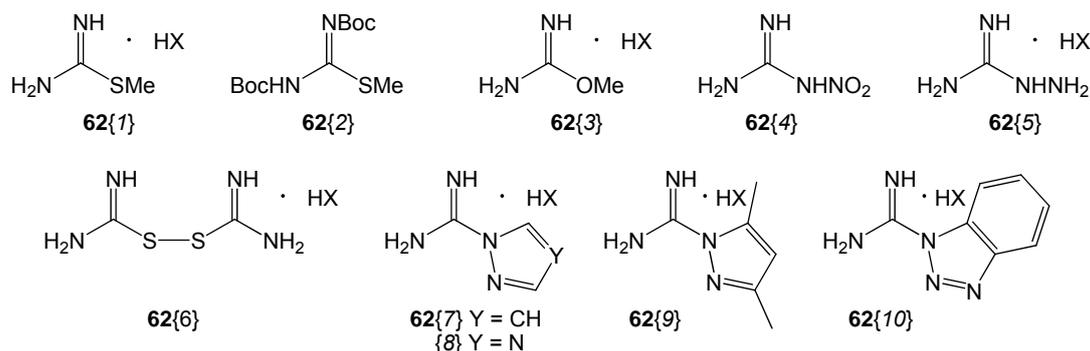


Figura 1.7: Agentes de guanidinación.

La ventaja estratégica que ofrece este segundo grupo de metodologías respecto el primero es la posibilidad de sintetizar guanidinas aromáticas. Ahora bien, no todas las variantes permiten la obtención de todas las guanidinas aromáticas a partir de las correspondientes aminas; es decir, dado que los nitrógenos de las aminas aromáticas son menos nucleófilos que los de aminas alifáticas, y dado que el efecto de los sustituyentes en el anillo aromático tiene gran influencia sobre el carácter nucleófilo, puede darse el caso que alguna amina no pueda formar la guanidina si no es mediante un reactivo de guanidinación muy activo.

Así pues, con la idea de implementar un método lo más general posible que permita sintetizar guanidinas 50 con el máximo de diversidad posible (y por ende biciclos 35 con variedad de sustituyentes R<sup>4</sup>), las estrategias más adecuadas son las correspondientes al segundo grupo.

Si además se considera el hecho que la mayoría de reactivos de guanidinación 62 funcionan correctamente en disolventes alcohólicos (incluido el propio metanol), cabría la posibilidad de acoplar la reacción de obtención de guanidinas 50 con la metodología *one-pot* de obtención de 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas 35. Dicho acoplamiento permitiría la obtención de los sistemas bicíclicos en sendos procesos consecutivos y sin aislamiento de intermedios.

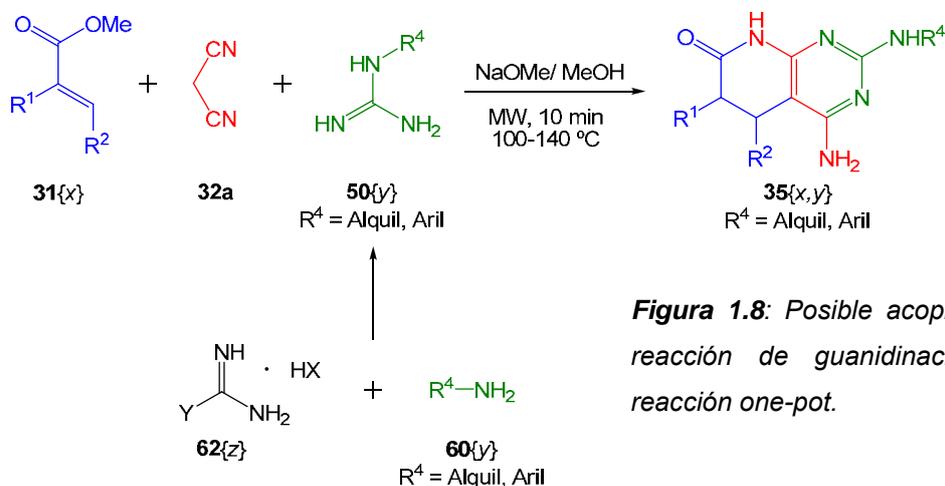
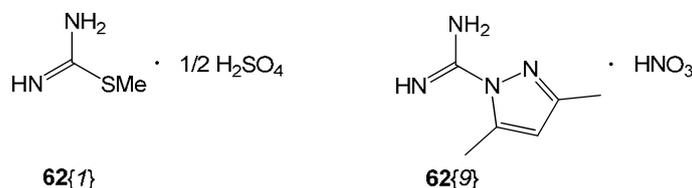


Figura 1.8: Posible acoplamiento de la reacción de guanidinación y de la reacción *one-pot*.

## 1.2. Ensayos preliminares de agentes de guanidinación

Para seleccionar un agente de guanidinación conveniente a los objetivos propuestos, en primer lugar, se estudian dos agentes ampliamente descritos en la bibliografía para la síntesis de guanidinas aromáticas: hemisulfato de *S*-metilisotiourea **62{1}** (Jensen et al., **2001**) y nitrato de 3,5-dimetil-1-pirazolilformamidinio **62{9}** (Scott et al., **1953**).

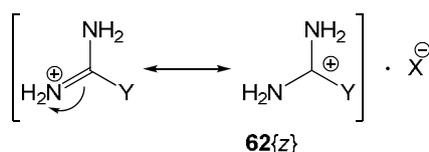


**Figura 1.9:** Primeros agentes de guanidinación estudiados.

### 1.2.1. Parámetros de ensayo

Respecto al disolvente de reacción, la metodología *one-pot* de obtención de pirido[2,3-*d*]pirimidinas funciona de manera óptima en metanol, si bien también puede ser etanol o, incluso, acetonitrilo (Mont, **2005**). Por lo tanto, con vistas a implementar una metodología de guanidinación de aminas **60** que pueda ser acoplada directamente con dicho proceso -sin aislamiento de intermedios ni cambio de disolvente de reacción- el metanol debería ser la primera opción ensayada.

Usualmente los reactivos de guanidinación son sales pues de este modo la electrofilia del carbono guanidínico es mayor. No obstante, para facilitar la reacción suelen emplearse catálisis básica: trietilamina en medios orgánicos o carbonato potásico en agua. A pesar de ello, en este caso, no se emplea ninguna de estas bases auxiliares para evitar que en solución haya compuestos ajenos a los estrictamente necesarios para la reacción *one-pot*.

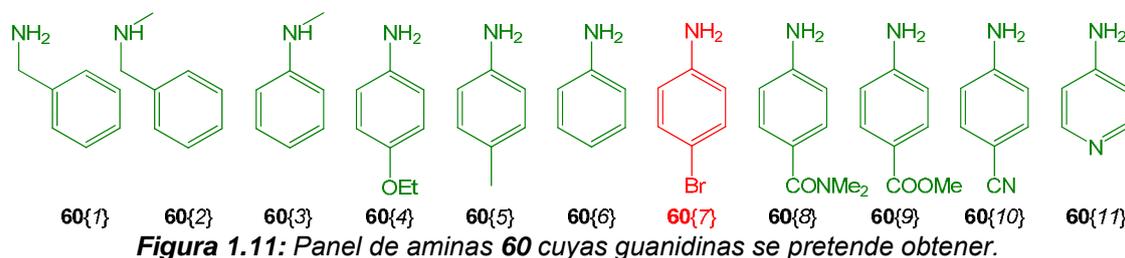


**Figura 1.10:** Justificación de la electrofilia de los agentes de guanidinación salinos.

Cabe destacar del panel de aminas sobre el que se pretende estudiar la guanidinación que es bastante amplio con la intención de contemplar la mayor casuística posible. Los aspectos que se persigue estudiar con esta selección son:

- Efecto del anillo aromático y sus sustituyentes sobre la nucleofilia de la amina y, por lo tanto, sobre la capacidad de reaccionar con los reactivos de guanidinación,
- Efectos estéricos por la presencia de más de un sustituyente en el grupo amina, con lo que la formación de guanidinas debería ser previsiblemente más difícil como consecuencia del impedimento estérico.

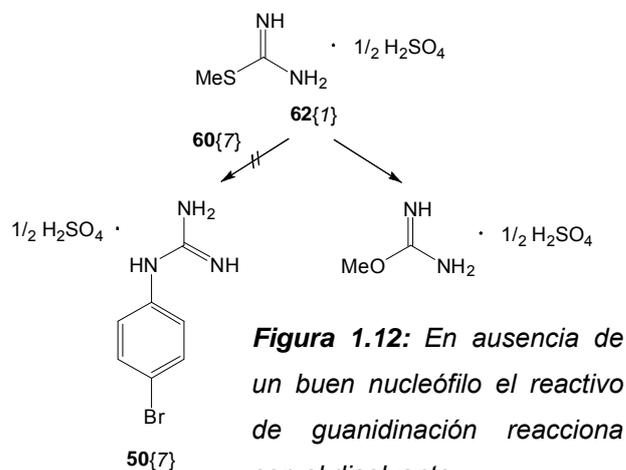
El panel incluye aminas alifáticas (una primaria y otra secundaria), pero sobre todo una amplia variedad de aminas aromáticas (una de ellas secundaria) con sustituyentes aceptores y cesores de tipo inductivo y mesómero. Incluso, incluye una amina aromática tan poco nucleófila como la 4-aminopirimidina **60{11}**.



Con todo, en esta fase del estudio no se trabaja con todo el panel de aminas si no con un único elemento representativo para agilizar la selección del agente de guanidinación más apropiado. A tal efecto se selecciona la *p*-bromoanilina **60{7}** como amina modelo: si un reactivo de guanidinación es capaz de lograr su completa conversión a pesar de su nucleofilia relativamente baja, seguramente dicho reactivo serviría para obtener las guanidinas de aminas más nucleófilas que ella y, en cierto grado, también las de aminas menos nucleófilas.

### 1.2.2. Ensayo de la S-metilisotiurea **62{1}**

Siguiendo la metodología descrita por Jensen (Jensen et al., **2001**) para la obtención de la *N*-fenilguanidina a partir de anilina, se trata la amina **60{7}** con un exceso de 4:3 de reactivo de guanidinación a 60°C durante tres días en la mínima cantidad de metanol anhidro.



No se observa ninguna evolución de la reacción mediante cromatografía de capa fina sobre sílica gel (CCF). Por el contrario, sí que se percibe un fuerte olor a tiol. Todo ello parece indicar que la S-metilurea reacciona con el disolvente para rendir la O-metilurea como consecuencia de la baja nucleofilia de la amina modelo.

Se realiza otro ensayo con un exceso de **62{1}**: amina de 5:1 a temperatura ambiente para minimizar el efecto de la nucleofilia del disolvente. De nuevo, tras tres días no se observa por CCF ningún tipo de evolución aunque el olor de tiol es mucho menos acusado.

De este último resultado parece deducirse que para forzar alguna evolución debe ser necesario activar térmicamente la reacción. Por lo tanto, se realiza un nuevo intento manteniendo las mismas proporciones de reactivos que en el ensayo anterior y utilizando etoxietanol anhidro (bp 135°C) como disolvente de reacción. Tras 24 h de reflujo se observa

cierta evolución de la reacción mediante CCF: aparecen varias manchas muy tenues a Rf menores que la amina. Pero desgraciadamente, tras tres días a 135°C se percibe un fuerte olor de tiol y no se observa un significativo aumento de los productos formados pues la CCF sigue mostrando las mismas manchas tenues.

A tenor de estos resultados, parece que la sal de S-metilisotiourea **62{1}** no es suficientemente electrófila para una amina tan poco nucleófila como la *p*-bromoanilina **60{7}**, por lo tanto, debe descartarse el hemisulfato de S-metilisotiourea como reactivo de guanidinación por su falta de reactividad frente a aminas aromáticas no muy nucleófilas en medio alcohólico.

### **1.2.3. Ensayo del 3,5-dimetil-1-pirazolilformamidinio 62{9}**

Tras 49 h de calefacción a reflujo en metanol (65 °C) de una mezcla con exceso de 5:1 de este agente de guanidinación frente a la amina **60{7}** se observa por CCF que se consume parte de la amina y que se forma un único producto de mayor Rf, que, por el momento se supone que es la correspondiente guanidina **50{7}**.

Contrastando este resultado con el obtenido al emplear el hemisulfato de S-metilisotiourea -ninguna evolución observada-, parece que el 3,5-dimetil-1-pirazolilformamidinio **62{9}** es ligeramente más reactivo frente a una amina tan poco nucleófila como la *p*-bromoanilina.

No obstante, la reacción no es completa y a mayor tiempo no se mejora mucho más la conversión si no más bien al contrario, pues aparecen multitud de subproductos. Según algunos autores (Buzzetti, et al., 1995) a las 20 h se logra conversión completa en presencia de catálisis básica y a reflujo de etanol (78 °C). Por el contrario, otros autores (Werbel et al., 1987) aseguran que la reacción transcurre en sólo 30 min a 120 °C y sin presencia de base.

Por todo ello, parece pertinente estudiar qué efecto provoca incrementar la temperatura sobre el grado de conversión de la amina **60{7}**. Para ello, se ensaya de nuevo la reacción manteniendo la proporción 5:1 **62{9}**:**60{7}** reemplazando el disolvente por 1,4-dioxano como disolvente.

Tras 18 h a reflujo (102 °C) se puede observar por CCF como se forma de manera inequívoca un único producto en una proporción mayor a la observada cuando se emplea metanol como disolvente. Desgraciadamente, al aumentar el tiempo de reacción se detecta la formación de gran cantidad de subproductos, tal como ya se constata en el ensayo en metanol. Por consiguiente, se puede deducir que para lograr un alto nivel de conversión es preferible un tiempo de reacción corto y una alta temperatura de reflujo.

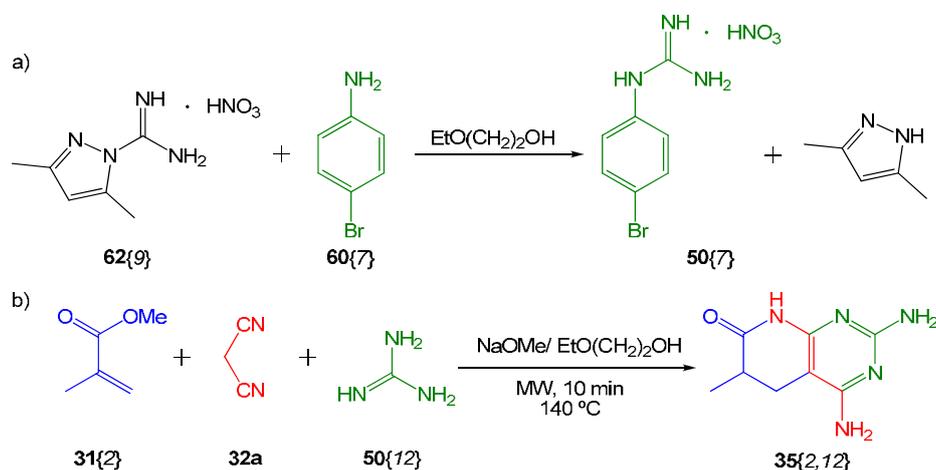
Para comprobar esta suposición se ensaya de nuevo la reacción con las mismas proporciones de reactivos pero empleando DMF como disolvente. Tras una hora de reflujo (153 °C) la reacción es completa. Este resultado corrobora completamente la hipótesis anterior.

Aprovechando el éxito de este ensayo, se decide averiguar cuál es la influencia de la proporción de reactivos sobre el grado de conversión. Para ello se repite el experimento anterior pero con una proporción de reactivos 1:1 **62**{9}:**60**{7} y se observa que son necesarias 3 h de reacción para consumir toda la amina pero apenas se forman subproductos a pesar de aumentar el tiempo de reacción. Por lo tanto, como es necesario más tiempo de calefacción para obtener un resultado equivalente, se puede concluir que la proporción de reactivos influye en la conversión de la amina **60**{7} en su correspondiente guanidina, pero menos que la temperatura.

Desgraciadamente, aunque la DMF es un disolvente conveniente para lograr una buena guanidinación, no es un disolvente adecuado para los objetivos propuestos en el presente trabajo. El motivo se halla en los estudios de optimización de la metodología *one-pot* para la obtención de pirido[2,3-*d*]pirimidinas (Mont, 2005): la reacción funciona de manera óptima en metanol, pero no es posible implementarla en DMF.

Estos trabajos no estudian si el etoxietanol puede emplearse como disolvente para esta reacción multicomponente. No obstante, al tratarse de un disolvente alcohólico pudiera ser que la metodología *one-pot* también permitiera la obtención de piridopirimidinas con rendimientos aceptables.

Un disolvente así sería también adecuado para la reacción de guanidinación: su alto punto de ebullición (135°C) permitiría una calefacción a alta temperatura, requisito fundamental para lograr buenas conversiones, tal como el ensayo en DMF demuestra.

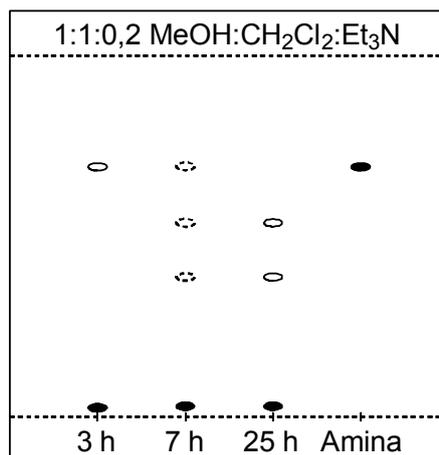


**Figura 1.13:** a) Síntesis de **50**{7} empleando **62**{9} como agente de guanidinación.

b) Síntesis heterocíclica *one-pot* con alto rendimiento descrito en MeOH.

Para estudiar si el acoplamiento de ambas reacciones en etoxietanol es posible, primero deben ensayarse separadamente ambas reacciones.

Así pues, se ensaya la conversión de la amina **60**{7} en su correspondiente guanidina manteniendo una mezcla 1:1 de *p*-bromoanilina:agente de guanidinación a reflujo en este disolvente (135 °C).



**Figura 1.14:** Evolución de la reacción de guanidinación en etoxietanol a reflujo con **62**{9}.

Tras 3 h de reacción aún queda cierta cantidad de amina (muy poca), tal como puede observarse en las correspondientes CCF. ¿Qué duda cabe de que el descenso de la temperatura de reflujo (153 °C DMF, 135 °C etoxietanol) es responsable de este cambio de comportamiento? Efectivamente, el descenso del aporte térmico provoca una evolución de la reacción más lenta, como ya se había constatado anteriormente.

Después de 7 h de reacción la cantidad de amina residual es prácticamente nula, pero aún apreciable por CCF. Sin embargo, se detecta la formación de ciertos subproductos no identificados.

Para forzar la reacción y consumir completamente la amina se mantiene la reacción a reflujo durante 25 h en total. Después de tanto tiempo sí que se logra el consumir totalmente la amina, pero también aumenta ostensiblemente la cantidad de subproductos formados.

Según estos resultados la reacción funciona correctamente en estas condiciones. Ahora bien, habrá que estudiar si los subproductos formados o la amina residual interfieren en la reacción *one-pot* de formación de las piridopirimidinas. Si ese fuera el caso habría que hallar un tiempo de reacción a medio camino entre ambos extremos, o bien reducir el tiempo de reacción aumentando los equivalentes de reactivo de guanidinación para minimizar la formación de los subproductos que se obtienen a tiempos largos.

Para estudiar el comportamiento en etoxietanol de la reacción *one-pot* se utiliza la misma combinación de reactivos empleada para la optimización de esta reacción (Mont, **2005**): metacrilato de metilo **31**{2}, malononitrilo **32a** y guanidina **50**{12}.

Desafortunadamente, ni tras 10 min a 140 °C con calefacción de microondas ni 3 h a 135 °C con calefacción tradicional se obtiene el producto deseado si no crudos de reacción extremadamente complejos. Del análisis de dichos crudos mediante RMN, parece intuirse que en ninguno de los dos casos se ha formado el heterociclo **35**{2,12} deseado.

Para comprobarlo, habida cuenta de la conocida insolubilidad de este tipo de productos en agua, se reemplaza el etoxietanol por este disolvente, se agita y se le aplica ultrasonidos largo tiempo. Únicamente se obtienen aceites muy viscosos, pero no sólidos.

Por lo tanto, se puede concluir que la reacción *one-pot* para la obtención de pirido[2,3-*d*]pirimidinas no funciona en etoxietanol.

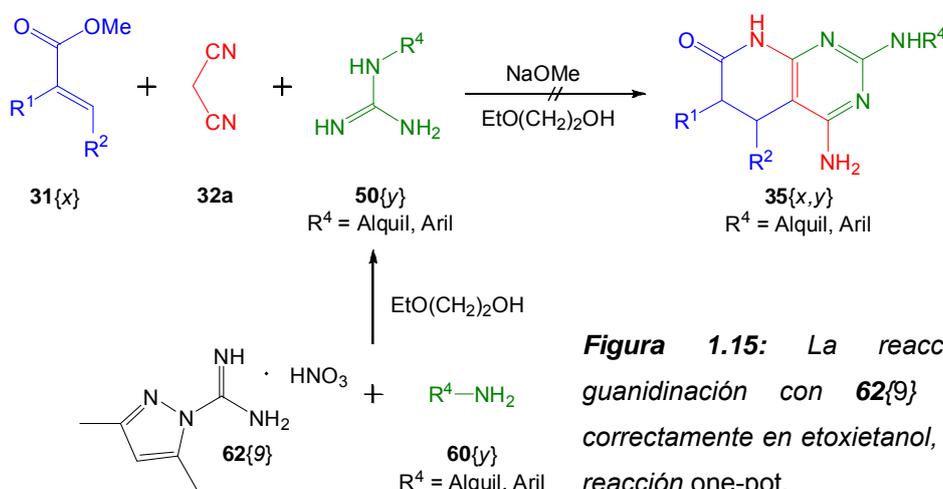
Para sortear este contratiempo se ensaya la misma reacción con otros alcoholes de alto punto de ebullición que permitieran afrontar con garantías la guanidinación de aminas. Se estudian el *i*-PrOH (bp 82 °C) y el *n*-BuOH (bp 118 °C). Lamentablemente, tras calentar con microondas 10 min a 140 °C en *i*-PrOH sí se obtiene el correspondiente biciclo con un muy modesto 8,1 % de rendimiento y en *n*-BuOH apenas se obtiene la piridopirimidina **35**{2,12} (rendimiento inferior al 3 %).

Disolvente	Rendimiento (%) <b>35</b> {2,12} (R <sup>1</sup> = Me, R <sup>2</sup> = R <sup>4</sup> = H)
MeOH	> 98 <sup>1</sup>
EtOH	88 <sup>1</sup>
<i>i</i> -PrOH	8,1
<i>n</i> -BuOH	< 3

**Tabla 1.1:** Rendimientos de obtención de **35**{2,12} en distintos alcoholes.

<sup>1</sup>Rendimientos descritos por Mont, 2005.

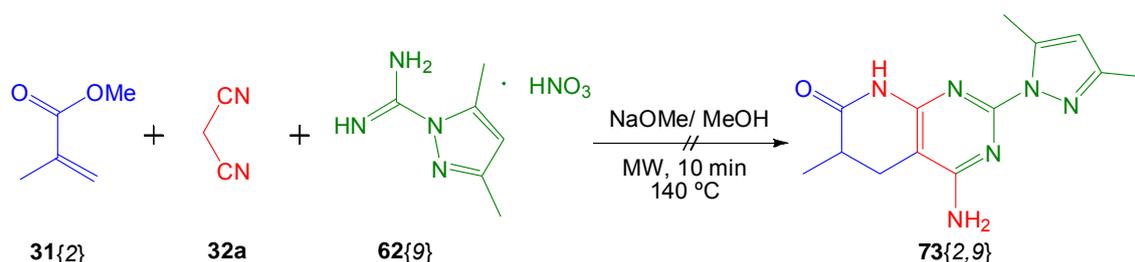
Estos resultados concuerdan con la tendencia observada en anteriores trabajos del grupo (Mont, 2005): a mayor tamaño del residuo alquílico del alcohol menor rendimiento de la reacción *one-pot*. Desgraciadamente, si este proceso no funciona convenientemente en ninguno de estos alcoholes de alto punto de ebullición, difícilmente es posible realizar el acoplamiento con la reacción de guanidinación.



**Figura 1.15:** La reacción de guanidinación con **62**{9} funciona correctamente en etoxietanol, no así la reacción *one-pot*.

Frente a estos resultados existen cuatro alternativas posibles:

- Eliminar el etoxietanol por destilación al vacío tras la reacción de guanidinación, reconstituir el crudo con MeOH y proseguir el protocolo habitual de la reacción multicomponente. Se realiza la prueba de concepto de esta alternativa: tras obtener la guanidina **50**{7} en etoxietanol, se reemplaza el disolvente por metanol, se activa la guanidina con metóxido sódico, se adicionan al medio las cantidades apropiadas de metacrilato de metilo **31**{2} y malononitrilo **32a** y se irradia la mezcla con microondas 10 min a 140 °C. Desgraciadamente, tampoco así se logra obtener la correspondiente pirido[2,3-*d*]pirimidina. Por lo tanto, este enfoque alternativo no es válido.
- Obtener la guanidina en MeOH sobrecalentándolo por encima de su punto de ebullición a presión y, a continuación, proseguir el protocolo habitual de la reacción *one-pot*. Se realiza la prueba de concepto de esta alternativa: se pesan en un vial de microondas las cantidades convenientes de la amina **60**{7} y el agente de guanidinación **62**{9}, se disuelven en la mínima cantidad de disolvente, se sella el vial y se irradia la mezcla con microondas a 140 °C 10 min, 1 h, 3 h y 12 h. De este modo no se obtiene la correspondiente guanidina pues por CCF no se observa su formación a ningún tiempo de reacción. La causa de este comportamiento es el incremento de la nucleofilia del propio metanol asociado al aumento de la temperatura. Es decir, el disolvente consume todo el agente de guanidinación sin que la *p*-bromoanilina suponga ninguna competencia pues su nucleófila muy baja y su proporción mínima frente al metanol.
- Realizar la reacción *one-pot* empleando, en lugar de guanidinas, el propio agente de guanidinación. De este modo se obtendría la piridopirimidina **73**, cuya posición C2 presenta un grupo lábil fácilmente sustituible por cualquier nucleófilo. Al ensayar esta alternativa activando **62**{9} a temperatura ambiente con metóxido sódico, adicionando el éster **31**{2} y el malononitrilo **32a** y calentando con microondas la mezcla a 140 °C 10 min, no se obtiene el producto deseado por motivos similares a los de la alternativa anterior.



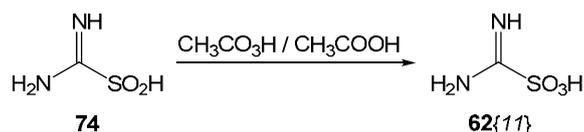
**Figura 1.16:** *one-pot* empleando el agente de guanidinación en lugar de una guanidina.

- Sustituir el agente de guanidinación por algún otro que sea suficientemente activo como para reaccionar preferentemente con las aminas a baja temperatura incluso empleando metanol como disolvente.

### 1.2.4. Ensayo del ácido de aminoiminometanosulfónico 62{11}

Tras una exhaustiva búsqueda bibliográfica de métodos de guanidinación y agentes guanidilantes, se halla el ácido aminoiminometanosulfónico **62{11}** (AIMSOA, siglas en inglés de *aminoiminomethanesulfonic acid*) como agente de guanidinación.

El AIMSOA no es comercial, pero su obtención con alto rendimiento a partir del ácido aminoiminometanosulfínico (comercial) consiste en una simple oxidación mediante, o bien ácido peracético (Kim et al., **1988**), o bien agua oxigenada (Pan y Pan, **2001**).

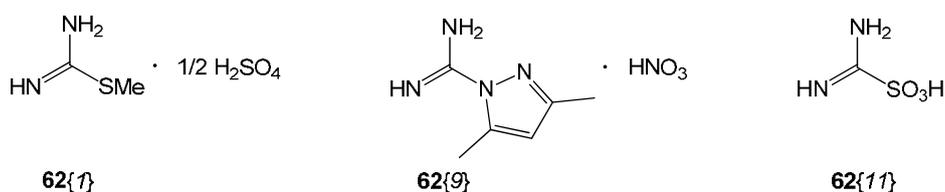


**Figura 1.17:** Obtención de AIMSOA a partir del ácido aminoiminometanosulfínico.

Este reactivo de guanidinación es un agente muy activo (Kim et al., **1988**) y, por lo tanto, muy versátil. Su gran capacidad de reacción está relacionada con su peculiar grupo saliente (Bannard et al., **1958**; Miller et al., **1986**; Maryanoff et al., **1986**): el hidrogenosulfito.

En general, la obtención de guanidinas empleando agentes de guanidinación por sustitución depende de la facilidad con la que la amina es capaz de reemplazar el grupo saliente presente en la estructura genérica **62{z}**. Ahora bien, la influencia del grupo saliente en el mecanismo de reacción es doble:

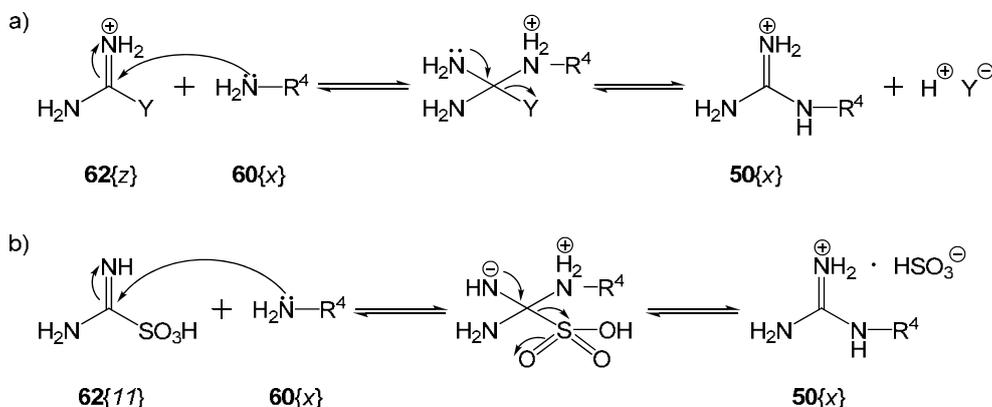
- El carbono imínico es más o menos electrófilo en función de la naturaleza del sustituyente Y. Por lo tanto, cuánto más cesor sea Y, menor densidad de carga positiva en el carbono imínico y mayor dificultad para el ataque nucleófilo de la amina **60{y}**. Por el contrario, un sustituyente aceptor favorece dicho ataque. Si ahora se consideran los sustituyentes Y de los agentes guanidiladores estudiados hasta el momento se aprecia que el -SMe de **62{1}** es un potente cesor mesómero, el 3,5-dimetilpirazol de **62{9}** es un cesor mesómero relativamente débil por su conjugación por el ciclo y el -SO<sub>3</sub>H de **62{11}** es fuertemente aceptor mesómero. En consecuencia, según esta gradación el agente de guanidinación más receptivo al ataque nucleófilo es el AIMSOA. No obstante, la protonación de uno de los nitrógenos en los primeros dos agentes mitiga estas diferencias de reactividad porque contribuye a aumentar la electrofilia del carbono imínico.



**Figura 1.18:** Agentes de guanidinación estudiados en el presente trabajo.

- Tras el ataque nucleófilo de la amina **60{y}** se forma un intermedio tetraédrico que debe eliminar el grupo Y para rendir la correspondiente guanidina **50{y}**. La eliminación del grupo saliente es tanto más fácil cuanto mayor sea la estabilidad de su correspondiente

anión. En consecuencia, tanto con el AIMSOA como con el nitrato de 3,5-dimetil-1-pirazolilformamidinio **62{9}** son agentes con facilidad para eliminar el grupo saliente Y, pues la conjugación interna de sus grupos salientes les proporciona mayor grado de estabilidad.



**Figura 1.19:** Mecanismos de reacción de los agentes de guanidinación de **62{1}** y **62{9}** (a) y de **62{11}** (b).

Así pues, si se toman en consideración ambas influencias, se pueden ordenar dichos agentes de guanidinación de más a menos activo como sigue: primero el hemisulfato de S-metilisotiourea **62{1}**, segundo el nitrato de 3,5-dimetil-1-pirazolilformamidinio **62{9}** y, finalmente, el AIMSOA, el más reactivo de todos ellos.

Pero además, el AIMSOA presenta otra notable ventaja sobre los agentes **62{1}** y **62{9}** de especial relevancia para lograr el acoplamiento de la reacción de guanidinación y de la reacción *one-pot*. Los dos primeros agentes liberan al medio de reacción un nuevo compuesto (a parte de la guanidina formada) derivado del grupo saliente: metanotiol en el caso de **62{1}** y 3,5-dimetil-1*H*-pirazol en el de **62{9}**. Por el contrario, el AIMSOA libera hidrosulfito, que se convierte en el contraión de la sal de la guanidina recién formada y que puede ser eliminado del medio por filtración tras hacerlo precipitar como sal sódica mediante tratamiento con metóxido sódico. Por lo tanto, si se pretende minimizar la cantidad de subproductos presentes en el medio cuando se desarrolla la reacción multicomponente, resulta más conveniente emplear AIMSOA.

Según algunos autores (Kim et al., **1988**) una mezcla equimolar de anilina y AIMSOA en metanol anhidro sin ninguna base auxiliar permite obtener la *N*-fenilguanidina en tan solo cuatro horas con un rendimiento del 73%. Sin embargo, al ensayar la guanidinación de la *p*-bromoanilina a temperatura ambiente no se observa apenas evolución tras 3 días. Se repite la experiencia empleando un exceso de 2 equivalentes de AIMSOA y tras una hora de reflujo en metanol anhidro (65°C), se observa por CCF que apenas queda amina de partida.

Tras este primer resultado esperanzador, se procede a un estudio más en profundidad de la reacción de guanidinación empleando el AIMSOA como reactivo.

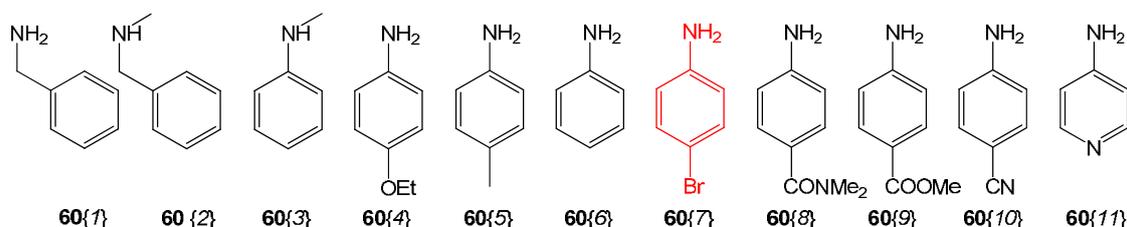
### 1.3. Optimización de la reacción de guanidinación empleando AIMSOA

El AIMSOA es el único de los agentes ensayados que reacciona significativamente en metanol con la amina modelo (*p*-bromoanilina). En consecuencia, se procede a un exhaustivo estudio de las condiciones de reacción más favorables. A tal efecto, se emplea un diseño de experiencias para establecer los valores apropiados de temperatura, tiempo de reacción, proporción entre reactivos y concentración de reactivos.

#### 1.3.1. Consideraciones previas

El estudio realizado parte de la premisa fundamental de que las condiciones de reacción optimizadas para el caso de la amina modelo **60{7}** deberían ser generalizables para cualquiera de las aminas del panel referido en la siguiente figura.

Para **60{1}**, **60{4}**, **60{5}** y **60{6}**, por tratarse de aminas más nucleófilas que la modelo, cabe suponer que dichas condiciones son más que suficiente para lograr un grado de conversión equivalente o, incluso, mejor.



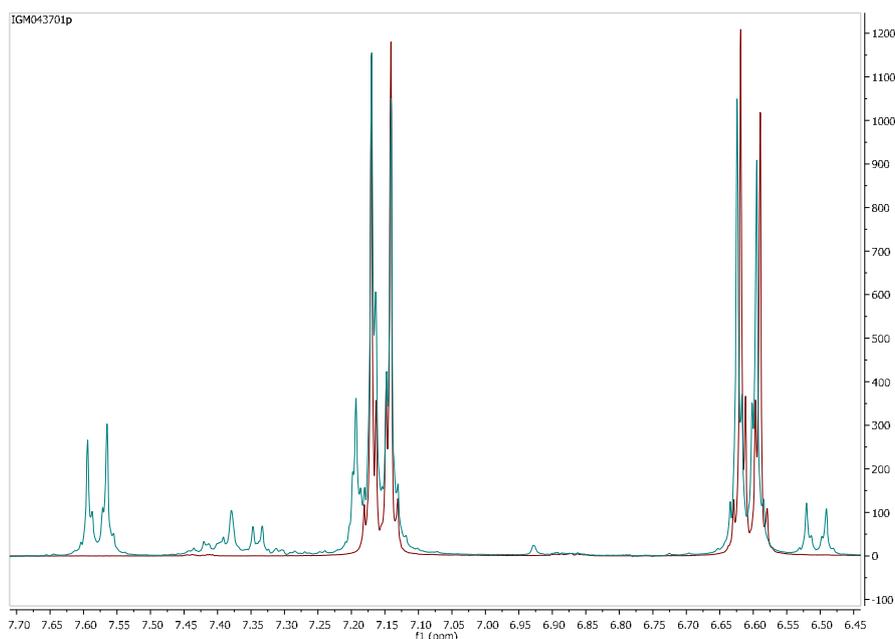
**Figura 1.20:** Panel de aminas **60** cuyas guanidinas se pretende obtener.

Sin embargo, para el resto de aminas puede que estas mismas condiciones no sean suficiente para lograr un grado de conversión equivalente: en el caso de **60{2}** y **60{3}** por impedimento estérico, y en el caso de **60{8}**, **60{9}**, **60{10}** y **60{11}** por tratarse de aminas bastante menos nucleófilas. En este caso habrá que forzar un grado de conversión mayor modificando el valor de alguno de los parámetros, principalmente de los más influyentes en el proceso.

#### 1.3.2. Cuantificación

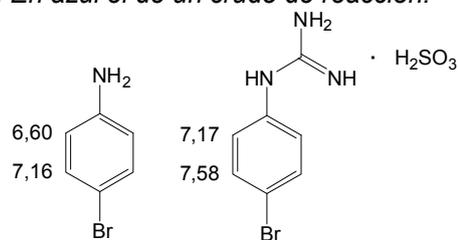
Hasta el momento todas las conclusiones de este estudio son fundamentalmente cualitativas. Sin embargo, para lograr una mayor capacidad de análisis de la bondad del método de guanidinación resulta imprescindible cuantificar el grado de conversión de la amina modelo **60{7}** en su correspondiente guanidina **50{7}**.

A tal efecto, tras finalizar cada ensayo, el crudo de reacción es destilado al vacío y temperatura ambiente -para no adulterar en absoluto el grado de conversión- y el aceite obtenido se disuelve en la mínima cantidad de metanol deuterado para registrar el espectro de  $^1\text{H-RMN}$ .



**Figura 1.21:** En rojo, espectro  $^1\text{H}$ -RMN de la amina  $60\{7\}$ . En azul el de un crudo de reacción.

El espectro de la amina (rojo) superpuesto sobre el espectro del crudo de reacción (azul) permite constatar la formación de un producto de reacción mayoritario que se corresponde con la guanidina, como indica la CCF. Sus señales son dos multipletes a desplazamientos mayores a los de la amina, especialmente los protones en *orto* por el efecto desapantallante del grupo guanidina.



**Figura 1.22:** Desplazamientos de  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{CD}_3\text{OD}$  de la amina  $60\{7\}$  y su guanidina  $50\{7\}$  en ppm.

Para poder cuantificar la proporción entre ambas especies tras un ensayo concreto, habría que comparar las integrales correspondientes a protones equivalentes en ambas sustancias. Es decir, los protones *orto* de la amina con los *orto* de la guanidina o bien los *meta* con los *meta*.

Desgraciadamente, las señales de los protones en *meta* de la amina (7,16 ppm) y de los protones en *orto* de la guanidina (7,17 ppm) se superponen y sus respectivas integrales no pueden emplearse para cuantificar el grado de conversión. Por lo tanto, no hay más alternativa que considerar las integrales de las señales correspondientes a los protones en *orto* de la amina (6,60 ppm) y a los protones en *meta* de la guanidina (7,58 ppm).

Por otro lado, para cuantificar se asume que en los crudos de reacción las únicas especies relacionadas con la amina de partida son la correspondiente guanidina y la amina que no ha reaccionado. Es decir, no consideran posibles subproductos de reacción formados a partir de la amina o de la guanidina. Por fortuna, esta premisa es particularmente cierta si el tiempo de reacción es corto y la temperatura baja.

Pero para evitar que la cuantificación basada en la comparación de estas integrales sea un valor absolutamente falseado o irrelevante, se descartan aquellos crudos cuyos espectros muestren un nivel apreciable de otros productos. Por ejemplo: el espectro de <sup>1</sup>H-RMN de la anterior figura sería un claro ejemplo de crudo de reacción que habría que descartar por mostrar que en esas condiciones la guanidinación es poco selectiva.

$$X_{exp} = \frac{I_{mG}}{I_{oA} + I_{mG}} \quad (1) \quad X_{calc} = \left\{ \begin{array}{l} \text{si } n_A \geq n_{AIMSOA} \quad \frac{n_{AIMSOA}}{n_A} \\ \text{si } n_A < n_{AIMSOA} \quad 1 \end{array} \right\} \quad (2) \quad Y = \frac{X_{exp}}{X_{calc}} \quad (3)$$

donde  $X_{exp}$  es el cociente molar de guanidina en el crudo  
 $X_{calc}$  es el cociente molar de guanidina prevista  
 $I_{mG}$  es la integral de los protones en *meta* de la guanidina  
 $I_{oA}$  es la integral de los protones en *orto* de la amina  
 $n_A$  son los moles de amina antes del tratamiento  
 $n_{AIMSOA}$  son los moles de AIMSOA antes del tratamiento

**Ecuaciones 1.1, 1.2, 1.3: Cuantificación de la conversión de la amina en guanidina.**

Para cuantificar de algún modo el grado de conversión de la amina, se emplean las ecuaciones anteriores. Concretamente, mediante la relación de integrales descrita en la ecuación 1.1 es posible determinar la fracción de guanidina en el crudo de reacción tras un determinado tratamiento. Sin embargo, este cociente no sirve para cuantificar el éxito del proceso de guanidinación si la proporción inicial entre amina y AIMSOA no es equimolar.

Por ejemplo, si la proporción inicial de reactivos es de 1:1 amina:AIMSOA y la reacción es completa (estequiometría de reacción 1:1), el cociente  $X_{exp}$  toma el valor de 1. No obstante, si la proporción inicial de reactivos es de 2:1 amina:AIMSOA, es de esperar que el cociente  $X_{exp}$  tome el valor de 0,5. Por lo tanto, la proporción inicial de reactivos determina el valor máximo de  $X_{exp}$  que puede alcanzarse, pero no es igual para cada proporción inicial de reactivos (tabla adjunta). Es decir, emplear sólo este cociente para cuantificar no permite comparar entre sí todos los resultados obtenidos porque la variable de evaluación no es continua.

Amina : AIMSOA	$X_{exp}$ máximo = $X_{calc}$
2 : 1	0,500
1,5 : 1	0,667
1 : 1	1,000
1 : 1,5	1,000
1 : 2	1,000

**Tabla 1.2:** Ejemplos del valor máximo de  $X_{exp}$  en función de la proporción de reactivos. Estos valores están descritos por la ecuación 1.2.

Proceder a la comparación de resultados con una variable de este tipo puede llevar a cierta confusión. Por ello, resulta conveniente reescalar todos los resultados en forma de una variable que sí sea continua.

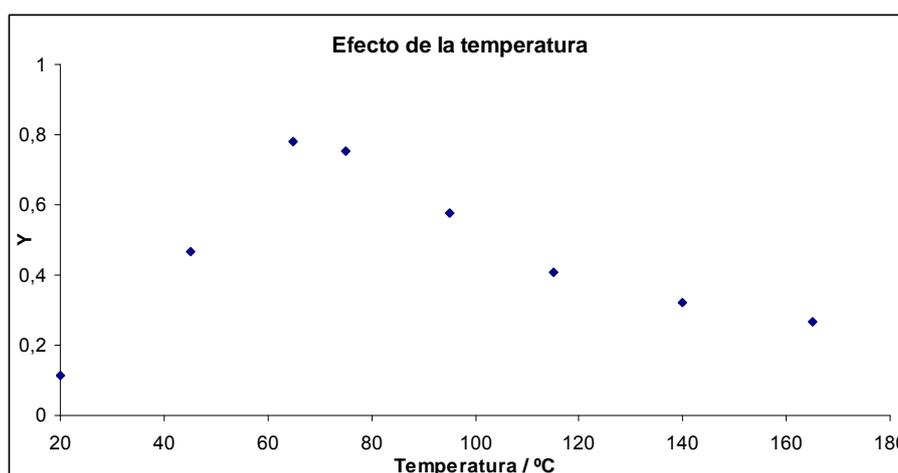
A tal efecto se define la variable  $Y$  como el cociente entre  $X_{exp}$  y el valor máximo que puede alcanzar éste ( $X_{calc}$ , ec. 1.2) y cuyos valores extremos son 0 (no formación de la guanidina) y 1 (consumo total de la amina y obtención de la guanidina). Este cálculo queda sistematizado por la ecuación 1.3.

Por último cabe destacar un detalle sobre la variable Y: puesto que para cuantificar la conversión de la amina modelo únicamente se consideran los crudos de reacción limpios (mínima formación de subproductos) puede asimilarse dicha variable al grado de conversión de la reacción, pero en ningún caso puede extrapolarse al rendimiento.

### 1.3.3. Estudio preliminar de la influencia de la temperatura y la concentración

Para poder acotar el rango de valores que pueden tomar algunos de los factores de reacción y, por tanto, reducir toda la combinatoria de condiciones posibles, se realizan una serie de ensayos previos de temperatura y concentración de reactivos.

El estudio preliminar sobre la influencia de la temperatura consiste en calentar a distintas temperaturas mezclas equimolares de AIMSOA y amina modelo (0,5 mmol de cada sustancia) en 2 mL de metanol durante 15 min mediante irradiación de microondas en viales sellados de capacidad máxima 2,0 mL.



**Figura 1.23:** Evolución de Y en función de la temperatura de reacción.

Los resultados presentados en la anterior figura muestran un comportamiento de máximo en la zona de temperaturas cercana a la del reflujo del disolvente (metanol). Además, a partir de 100 °C se aprecia un incremento significativo de subproductos, no obstante estos crudos se cuantifican para ilustrar el efecto negativo de la temperatura de reacción excesiva.

Estos resultados sugieren que es necesaria una activación térmica de la reacción para compensar la falta de nucleofilia de la amina modelo. Pero un exceso de calefacción maximiza reacciones secundarias -degradación de la guanidina formada, reacción del AIMSOA con el propio disolvente- y, por consiguiente, disminuye la eficacia del proceso.

En conclusión, según estos resultados preliminares el estudio de la influencia de la temperatura de reacción sobre la guanidación debería centrarse en valores cercanos a los 65 °C.

El estudio preliminar de la influencia de la concentración consiste en calentar a 65 °C mezclas equimolares de AIMSOA y amina modelo (0,5 mmol de cada sustancia) en volúmenes variables de metanol durante 15 min mediante irradiación de microondas en viales sellados.

Volumen / mL	$c_{AIMSOA} / \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Y
0,5	1	0,792
1	0,5	0,785
2	0,25	0,781
5	0,1	0,786

**Tabla 1.3:** Evolución de Y en función de la concentración de los reactivos.

Los resultados obtenidos no muestran una tendencia clara de Y frente a la concentración, aunque no se puede descartar una cierta tendencia creciente. En esta misma línea, la pequeña amplitud de los valores de Y obtenidos indican que la influencia de la concentración es mínima.

Por todo ello, se descarta la concentración como factor a tener en cuenta en el diseño de experiencias, aún a riesgo de no estudiar sus interacciones con los otros factores.

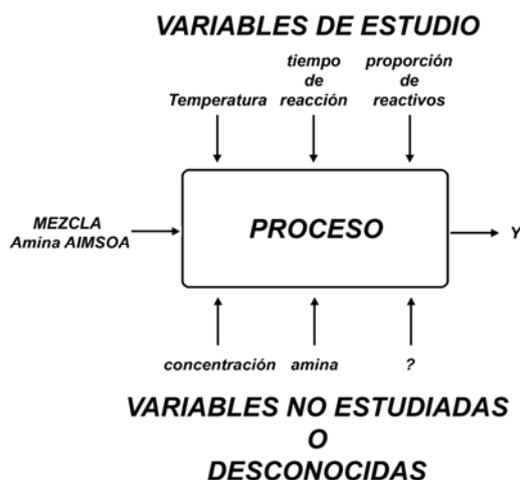
### 1.3.4. Diseño de experiencias factorial

#### 1.3.4.1. Generalidades

El diseño de experiencias o de experimentos consiste en la elaboración de un plan de experimentación para recabar los datos adecuados con el objetivo de realizar conclusiones válidas y objetivas sobre el comportamiento del sistema estudiado empleando el análisis estadístico de los datos experimentales obtenidos (Montgomery, 2003).

Se asume que la variabilidad de las respuestas obtenidas tras someter el sistema Amina/AIMSOA al proceso de guanidación viene determinada por un conjunto de factores o parámetros cuyos valores pueden ser continuos o discretos (niveles). Algunos de estos factores pueden ser controlados, variados y estudiados. Otros factores pueden ser fijados (por conveniencia o por falta de alternativas) o únicamente controlados. Y algunos factores pueden ser, incluso, desconocidos.

Tras realizar los ensayos previstos en el plan de experimentación el análisis estadístico de los resultados permite determinar la influencia de cada factor sobre el resultado final. Además, también valora los efectos causados por las interacciones de estos mismos factores.



**Figura 1.24:** Modelo general de factores de la reacción de guanidación.

Así pues, el estudio de cualquier sistema experimental puede dividirse en dos fases: el diseño y realización del plan de experimentación, y el análisis estadístico de los datos (Wu y Hamada, 2000).

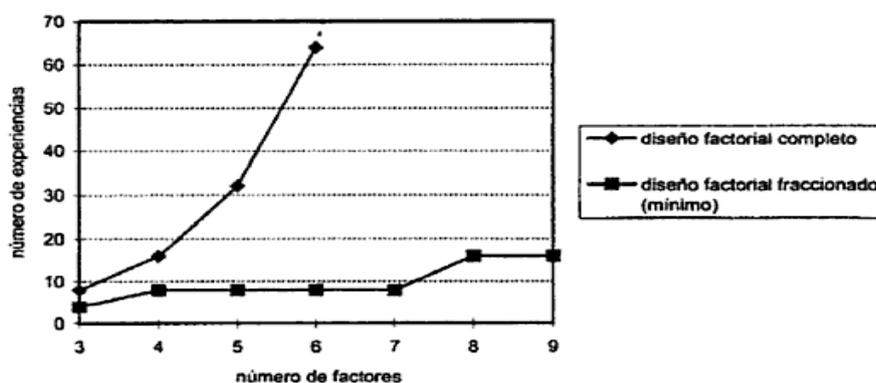
La primera fase del proceso, la del diseño, puede dividirse en las siguientes cuatro etapas:

- identificación y enunciado del problema. Por ejemplo, ¿cuáles son las condiciones óptimas para la conversión de la amina modelo en su correspondiente guanidina?
- elección de los factores o variables que influyen en el resultado del proceso así como el rango de valores que pueden tomar. En el caso de las variables continuas deben fijarse niveles discretos. Típicamente se opta por un valor alto y un valor bajo en los extremos del rango de valores posibles, aunque también es recomendable algún nivel intermedio. En el presente estudio las variables consideradas influyentes y sus respectivos niveles son los siguientes:
  - Temperatura: según el estudio preliminar el óptimo de conversión se halla en el rango de 65 °C a 75 °C, por lo tanto, fija el nivel bajo a 65°C y el nivel alto a 75°C.
  - Tiempo de reacción: nivel bajo 4 min, nivel intermedio 8 min y nivel alto 20 min.
  - Proporción de reactivos (amina respecto AIMSOA): 1,5 nivel alto, 0,667 nivel bajo y 1 nivel 1.
  - Concentración: queda descartada su influencia gracias al estudio preliminar, por ello se fija en 0,25 mol/L. Se asume que sus interacciones con otros factores quedan sin investigar.
  - Amina: parametrizada como p-bromoanilina **60{7}**, a pesar del riesgo de que las condiciones determinadas para esta amina no sean aplicables para otras.
- selección de la variable de respuesta así como su metodología de determinación, en este caso la variable Y definida anteriormente.
- elección del tipo de diseño de experiencias de entre la multitud de tipologías existentes: diseños para determinar qué factores influyen en el comportamiento de un sistema, diseños para estimar la influencia relativa de estos mismos factores, diseños para establecer un modelo matemático de la respuesta y diseños para estimar las condiciones de comportamiento óptimo. Algunos de estos diseños permiten obtener toda esta información, pero otros sólo una parte. Por lo tanto, para hacer la elección del tipo de diseño debe considerarse qué información del sistema se pretende obtener.
- realización de los experimentos según un plan de experimentación detallado y que queda fijado según sea el tipo de diseño escogido. Dicho plan suele expresarse como una matriz en función de los valores de cada factor para cada ensayo a realizar.

La segunda fase del proceso, la del análisis de resultados, puede dividirse en las siguientes dos etapas:

- análisis estadístico de los resultados experimentales ateniéndose al tipo de diseño experimental seleccionado y empleando métodos de análisis de varianza, ajuste de modelos empíricos y análisis de residuales, pruebas de hipótesis y estimación de intervalos de confianza, etc. Los resultados del análisis pueden expresarse en forma de gráficas o factores numéricos. Existen multitud de programas informáticos que permiten realizar de manera simple y bastante automatizada toda la carga de cálculo y representación gráfica: en el presente trabajo se emplea el *software* estadístico *STATGRAPHICS® PLUS 5.1* y *STATGRAPHICS® CENTURION XV*.
- interpretación de parámetros calculados y gráficos elaborados para establecer conclusiones sobre el comportamiento del sistema y decisiones sobre el curso de acción a seguir posteriormente (ampliación del diseño, estudio de nuevos factores, etc.). Suele ser recomendable desarrollar algún ensayo que confirme las conclusiones del estudio, especialmente si una de ellas es un punto de respuesta máxima o mínima. Así pues, en el presente trabajo, tras establecer las condiciones de temperatura, tiempo de reacción y proporción de reactivos más convenientes, es recomendable realizar un ensayo en estas mismas condiciones para corroborar un grado de conversión óptimo (valor máximo de  $Y$ ) de la amina modelo **60{7}** en su correspondiente guanidina.

Respecto al tipo de diseño, cabe comentar que en el presente trabajo se pretende implementar un modelo factorial completo porque con este tipo se obtiene toda la información sobre la influencia de los distintos factores y de sus interacciones, permite ajustar una funcionalidad para describir la respuesta y hace posible determinar de las condiciones óptimas de reacción.



**Figura 1.25:** Cantidad de ensayos en función del número de factores considerados (Tomás y Fernández, 2007).

No obstante, el precio a pagar por esta información tan completa es un mínimo de dos ensayos por factor. Por ello, si debieran estudiarse muchos factores (típicamente más de 4), la cantidad de experimentos prevista sería tan elevada que este diseño sería casi irrealizable. Por

fortuna, la reacción de guanidinación sólo se analiza frente a tres factores: temperatura, tiempo de reacción y proporción de reactivos. Y, por lo tanto, para este caso se puede implementar un diseño factorial completo.

En la construcción de cualquier diseño experimental existen tres principios fundamentales que cabe tener en consideración a la hora de trazar detalladamente el plan de experimentación: replicación, randomización y formación de bloques.

La replicación consiste en la reproducción (preferentemente no consecutiva) de un mismo experimento. Es decir, no se trata de evaluar distintas veces la magnitud de la respuesta del sistema sometido a un único tratamiento experimental, sino de evaluarla tras someter al sistema a tratamientos experimentales análogos. Por ejemplo, si tras realizar un tratamiento concreto (valores de temperatura, tiempo y proporción concretas) a una muestra de amina y AIMSOA se determinara varias veces la variable de respuesta  $Y$  extrayendo alícuotas de esa única muestra, se estarían realizando repeticiones. Éstas únicamente darían información sobre el error de determinación del factor  $Y$  (genéricamente, error de lectura). Por el contrario, analizar la variabilidad de  $Y$  en experimentos análogos (mismas temperatura, tiempo de reacción y proporción de reactivos) permite obtener información sobre el error de lectura, el error experimental y, sobre todo y más importante, el efecto relativo de los distintos factores y sus respectivas interacciones.

La ventaja de realizar replicados es que a mayor número de réplicas menor incertidumbre asociada al valor de la respuesta y con ello se pueden estimar con mayor seguridad los efectos relativos de los distintos factores. Desgraciadamente, cada replicado implica realizar una vez más una misma experiencia. Por ejemplo, si se desarrolla un diseño factorial completo de tres factores y dos niveles por cada factor, el número total de experimentos es de 8; pero si se realiza un replicado del diseño, el número total de experimentos asciende a 16. Por lo tanto, a pesar de que la realización de replicados es aconsejable, lo costoso o lo difícil de hacerlos puede que lo convierta en algo inviable.

La randomización (o aleatorización) consiste en la secuenciación al azar de los distintos experimentos a realizar, incluso, separando entre sí los ensayos que sean réplicas. Es decir, no se realizan ensayos idénticos (misma temperatura, mismo tiempo de reacción y misma proporción de reactivos) de manera consecutiva. Con ello se consigue minimizar la influencia de factores no controlados o desconocidos, se neutralizan errores sistemáticos que el experimentador pudiera estar realizando inadvertidamente y se asegura que la estimación del error experimental y el efecto de los factores (y sus interacciones) es estadísticamente correcta y relevante.

Por último, la formación de bloques es una técnica de diseño que sirve para mejorar las comparaciones que se hacen entre los factores de interés. Consiste en dividir todos los ensayos previstos en el plan de muestreo en grupos (bloques) que mantienen constante alguna

variable que no se está estudiando y que puede ser, incluso, desconocida. Con ello se pretende minimizar la variabilidad transmitida por este factor no estudiado. Por ejemplo, en el presente estudio, se podrían conformar bloques de ensayos según el día en que se realicen los experimentos y así eliminar la variabilidad asociada a la pérdida de reactividad del AIMSOA.

#### 1.3.4.2. Diseño factorial completo y plan de experimentación

Por todo lo expuesto anteriormente y puesto que se pretende obtener el máximo de información posible sobre el comportamiento del sistema amina-AIMSOA, un diseño factorial completo es la opción más recomendable para el presente estudio. El principal inconveniente de este tipo de diseños es que el número de ensayos a realizar puede dispararse si se estudian muchos factores y si se añaden réplicas del diseño -repetición íntegra de los experimentos previstos en el plan de ensayos-.

Por fortuna, en este caso sólo se estudian tres factores y por ello el diseño factorial completo puede ser desarrollado. Concretamente, sin considerar posibles niveles intermedios (ni puntos centrales, ni réplicas del diseño) el número total de experimentos que deben realizarse es de 8, lo que resulta ciertamente asumible dada la relativa simplicidad y rapidez del proceso sintético estudiado. Tal como se ha comentado anteriormente, el presente estudio considera las variables y sus respectivos valores extremos detallados a continuación:

- Temperatura: según el estudio preliminar el óptimo de conversión se halla en el rango de 65 °C a 75 °C, por lo tanto, fija el nivel bajo a 65°C y el nivel alto a 75°C.
- Tiempo de reacción: nivel bajo 4 min, nivel intermedio 8 min y nivel alto 20 min.
- Proporción de reactivos (amina respecto AIMSOA): 1,5 nivel alto, 0,667 nivel bajo y 1 nivel 1.

Se asume que quedan fuera del diseño experimental los factores concentración (fijada a 0,25 mol/L) y amina (parametrizada como p-bromoanilina).

El diseño factorial completo que permite estudiar el comportamiento de un sistema frente a tres variables con dos niveles de respuesta cada uno es conocido genéricamente como *diseño factorial 2<sup>3</sup>*.

Los diseños experimentales de este tipo fueron descritos por primera vez durante la década de los años 1920 por el estadístico y biólogo Ronald A. Fisher (Fisher, 1926), el auténtico padre del diseño experimental. Por esa época, Fisher era el estadístico responsable del análisis de los datos experimentales en la Estación Agrícola Experimental de Rothamsted (cerca de Londres) y solía quejarse de lo difícil que le era extraer conclusiones de los experimentos realizados. Por ello, aprovechando sus conocimientos de estadística, propuso un sistema revolucionario de planificación de experimentos con el correspondiente tratamiento

matemático de sus resultados que permitía obtener conclusiones no sólo de los factores principales sino de los efectos conjuntos de estos (interacciones). Esta nueva propuesta matemático-experimental gozó de amplia y rápida difusión por su innegable superioridad frente al enfoque predominante hasta entonces de variar un factor en cada ensayo.

	A	B	C
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

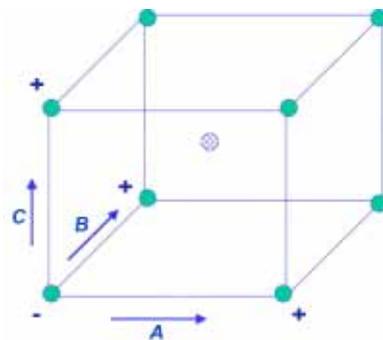
**Tabla 1.4:** Plan experimental no aleatorizado.

El plan de muestreo que plantea un diseño  $2^3$  completo puede expresarse de distintas maneras. Adyacentes, se encuentran dos de las representaciones más habituales: tabla y cubo. La nomenclatura común utilizada en ellas es la siguiente: A, B y C son los tres factores en estudio y sus respectivos niveles alto y bajo se representan como + y -.

En la tabla se aprecia claramente que el número total de experimentos a realizar es de 8 y que se contemplan todas las combinaciones posibles de los niveles de los distintos factores. Cabe comentar, que dicha tabla no representa una secuencia de experimentación aleatorizada, ya que existen patrones de cambio muy claros para cada factor (verticalmente): A con ensayos en niveles alternados, B con dos ensayos en un nivel y dos en el otro, C con cuatro ensayos en un nivel y cuatro en el otro. Este tipo de representación es

especialmente adecuado para el seguimiento de la experimentación y para el registro de la variable de respuesta.

La representación cuboidal del diseño  $2^3$  no es tan útil a la hora de visualizar el plan de experimentación ni el número de experimentos a realizar. Sin embargo permite tener una idea muy clara del espacio muestral explorado y facilita enormemente la elección de posibles niveles intermedios y puntos centrales. Así mismo, resulta también práctica para visualizar el análisis de los datos a la hora de determinar la influencia de cada factor y de las respectivas interacciones.



**Figura 1.26:** Representación cuboidal del diseño  $2^3$ . ([www.labautopedia.org](http://www.labautopedia.org))

Un punto fuerte de este tipo de diseños es que la arquitectura matemática para el análisis de los datos no es demasiado compleja. Para ilustrar cómo se cuantifica el efecto de cada factor, a continuación se explica el procedimiento a seguir para calcular el efecto del factor A.

En primer lugar se realiza el promedio de la respuesta de los experimentos en los que A se mantiene en su nivel bajo. Así mismo, se realiza el promedio de la respuesta de los experimentos en los que A se mantiene en su nivel alto. A partir de aquí, la magnitud de la

influencia del factor A se calcula como la diferencia del promedio del nivel alto respecto del promedio del nivel bajo.

$$A = \bar{Y}_{A^+} - \bar{Y}_{A^-} \quad (4)$$

donde

$\bar{Y}_{A^+}$  es el promedio de los valores de  $\bar{Y}$  en el nivel alto de A

$\bar{Y}_{A^-}$  es el promedio de los valores de  $\bar{Y}$  en el nivel bajo de A

**Ecuación 1.4:** Cuantificación de la influencia del factor A.

De igual modo, para determinar el efecto de la interacción de dos factores (A y B) en primer lugar se calcula el promedio de los valores de la respuesta de la siguiente manera:

$$\bar{Y}_{AB^+} = \frac{\sum Y_{A^+B^+} - \sum Y_{A^-B^+}}{4n} \quad (5)$$

donde

$Y_{A^+B^+}$  son los valores de Y en el nivel alto de A y alto de B

$Y_{A^-B^+}$  son los valores de Y en el nivel bajo de A y alto de B

n es el número de replicados de todo el diseño

**Ecuación 1.5:** Promedio de la interacción AB en el nivel alto de B.

- Para el nivel alto de B: promedio de las respuestas del nivel alto de A y B menos el promedio de las respuestas del nivel bajo de A y alto de B (ecuación 5). Esta magnitud equivale a un promedio de los valores del nivel alto de B en el que se tiene en

cuenta si el nivel de A es + o - a la hora de sumar y restar los distintos valores de respuesta.

$$\bar{Y}_{AB^-} = \frac{\sum Y_{A^+B^-} - \sum Y_{A^-B^-}}{4n} \quad (6)$$

donde

- Para el nivel bajo de B: promedio de las respuestas del nivel alto

de A y bajo de B menos el

promedio de las respuestas del

nivel bajo de A y bajo de B

(ecuación 6). Esta magnitud

equivale a un promedio de los

valores del nivel bajo de B en el que se tiene en cuenta si el nivel de A es + o - a la hora

de sumar y restar los distintos valores de respuesta.

$Y_{A^+B^-}$  son los valores de Y en el nivel alto de A y bajo de B

$Y_{A^-B^-}$  son los valores de Y en el nivel bajo de A y bajo de B

n es el número de replicados de todo el diseño

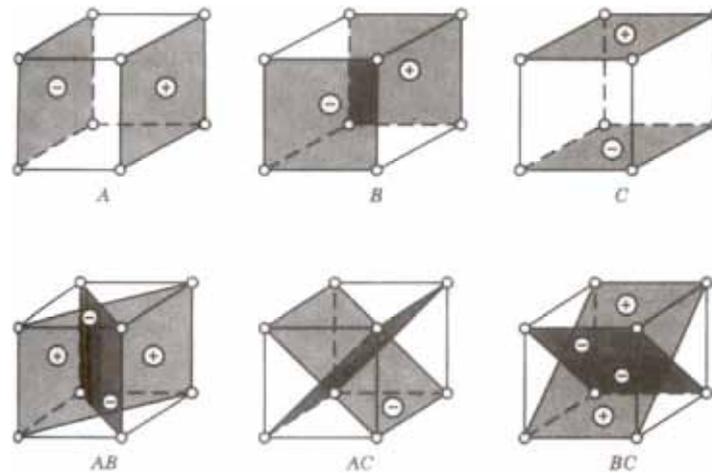
**Ecuación 1.6:** Promedio de la interacción AB en el nivel bajo de B.

- A continuación la magnitud de la influencia de la interacción AB se calcula como la diferencia del promedio del nivel alto respecto del promedio del nivel bajo.

$$AB = \bar{Y}_{AB^+} - \bar{Y}_{AB^-} \quad (7)$$

**Ecuación 1.7:** Cuantificación de la influencia de la interacción AB.

La definición del proceso de cálculo de los efectos de los factores así como de sus interacciones puede ser algo compleja de comprender expresada en forma de ecuaciones. Sin embargo, la visión geométrico-cuboidal facilita enormemente su comprensión.



**Figura 1.27:** Interpretación geométrico-cuboidal del cálculo de la influencia de factores en un diseño factorial completo  $2^3$  (Montgomery, 2003).

Considerando el factor A, por ejemplo. En la figura anterior, las respuestas del sistema en el nivel inferior del factor A se corresponden con la cara oscura señalada con el signo -. Por el contrario, las respuestas asociadas al nivel superior del factor se corresponden con la cara sombreada y señalada con el signo +.

La interpretación geométrico-cuboidal de la influencia del factor A es la siguiente: si A influye, debe existir cierta distancia entre las correspondientes caras del cubo. Es decir, los valores de la respuesta en el nivel alto del factor son distintos de sus equivalentes en el nivel bajo.

Así pues, en una primera aproximación, puede considerarse que el efecto del factor A es la diferencia entre un valor cualquiera del nivel alto y su equivalente en el nivel bajo dividido entre dos (número de valores considerados para el cálculo). Sin embargo, para que la cuantificación sea estadísticamente representativa resulta más conveniente comparar toda una cara del cubo con su opuesta, lo que matemáticamente equivale, o bien a la diferencia entre los valores promedios de cada cara (nivel), o bien a realizar el promedio de las diferencias de todos los pares de datos equivalentes en uno y otro nivel.

La interpretación geométrica de la interacción de los dos factores (AB) es algo más compleja: se trazan las dos diagonales entre las cuatro intersecciones de las caras asociadas a los dos factores (2 caras por cada factor), se le asigna a cada una de ellas un signo (positivo o negativo) y, de manera análoga al efecto de un factor, se determina la influencia de la interacción comparando el valor promedio de cada diagonal con su opuesta o, lo que es lo mismo, se calcula la diferencia entre los valores promedios de cada diagonal.

La diagonal positiva prevé que la interacción sea aditiva y para evidenciar su presencia incluye aquellos experimentos en los que ambos factores van en el mismo sentido (A-B-, o A+B+). Por el contrario, la diagonal negativa prevé que la interacción sea sustractiva y por ello incluye aquellos experimentos en los que ambos factores van en sentidos opuestos: A+B o A-B+.

Todos estos cálculos arrojan como resultado un valor concreto asociado a cada uno de los factores y de sus respectivas interacciones.

Estos valores deben ser interpretados según dos criterios:

- carácter del signo: positivo indica que a medida que aumenta el valor de un factor, el valor de respuesta del sistema tienden también a aumentar; si el signo es negativo, el carácter de la influencia es justo el contrario, es decir, al aumentar el factor disminuye la respuesta.
- valor absoluto: si se ordenan los valores calculados, se puede observar la jerarquía de influencia de factores e interacciones, es decir, se puede establecer cuáles influyen más sobre la respuesta del sistema.

Toda esta información nos permite discriminar claramente cuáles son los factores que más influyen y en qué sentido. No obstante, si algo no resuelve esta arquitectura matemática es la pregunta ¿este factor (o interacción) realmente influye? Es decir, ¿en qué punto se puede fijar la frontera entre los factores que sí determinan significativamente la respuesta del sistema de los que apenas la influyen?

Para resolver esta cuestión, se ha desarrollado otro algoritmo de cálculo basado en el análisis de varianza (ANOVA) de las respuestas del sistema y que aprovecha parte de los cálculos anteriores. Este sistema obtiene los valores estadísticos  $F_0$  y  $p$  (el segundo a partir del primero) asociados a cada factor e interacción. Con ellos es posible dictaminar si existe influencia en cada caso a un nivel de significación estadística dado, que para el presente estudio, es del 5%; lo que significa que se puede establecer con un 95% de certidumbre si los factores o interacciones determinan la respuesta del sistema.

El factor  $F_0$  compara la varianza atribuible a la influencia de un factor o interacción con la varianza asociada al error experimental puro. Es decir, este factor pretende establecer si la variación causada por un efecto o interacción se puede confundir con el error experimental, o lo que es lo mismo, que su efecto es tan pequeño que no se puede asegurar que no es error experimental. A efectos prácticos se trata de comparar cada valor  $F_0$  con el correspondiente valor tabulado de la distribución de Fischer (distribución del cociente de dos poblaciones estadísticas): si el valor calculado es mayor que el tabulado, se puede asegurar que el factor o interacción influyen en la respuesta del sistema a un nivel de significación dado.

El valor  $p$  se calcula a partir del correspondiente valor  $F_0$  y aquél es menor cuanto mayor es éste. Su valor corresponde al mínimo nivel de significación al que se puede rechazar que un factor (o interacción de factores) influye en la respuesta del sistema cuando en realidad sí que lo hace. Es decir, si el valor  $p$  asociado a un factor es mayor que el nivel de significación escogido para el análisis se descarta que influya, pero si es menor se puede afirmar que estadísticamente influye en la respuesta del sistema. En la siguiente tabla se presentan algunos ejemplos de cómo se emplea el valor  $p$ .

Factor	Valor $p$	Significación 0,05 Certidumbre 95%	Significación 0,01 Certidumbre 99%
A	0,02	influye	no influye
B	0,0001	influye	influye
AB	0,86	no influye	no influye

**Tabla 1.5:** Ejemplos del uso del valor  $p$  para discriminar los factores influyentes.

En la anterior tabla pueden observarse dos casos extremos (factor B e interacción AB) para los cuales variar el nivel de significación del análisis de varianza no causa un cambio en las conclusiones sobre si influyen en la respuesta del sistema: B siempre y AB nunca. Según la tabla, B influye a menos que se considere un nivel de significación menor de 0,0001 -lo que equivale a una certidumbre del 99,99%-; es decir, no existe una seguridad absoluta sobre si influye o no, pero a ese nivel de certidumbre debería considerarse la posibilidad de que B no influya. Por el contrario, para que AB estadísticamente influya debería considerarse un nivel de significación mayor de 0,86 -lo que equivale a una certidumbre inferior al 14%-, que es tanto como decir que como no hay seguridad alguna sobre las conclusiones que se extraen del análisis de varianza del sistema y que, por ello, cabe considerar que AB pueda llegar a influir.

En la misma tabla puede observarse como el factor A influye estadísticamente sobre el comportamiento del sistema dependiendo del nivel de significación que se considere. Con un nivel de 0,05 se considera que influye mientras que con un nivel de 0,01 se considera que no influye. Es decir, al aumentar la certidumbre, el factor A no puede ser considerado como uno de los que mayor relevancia tienen para el comportamiento del sistema.

Esta última consideración es de especial relevancia pues todos los cálculos y su interpretación se basa en la significación estadística, no en la significación científica. Es decir, aquellos factores que marginalmente influyen según criterios meramente estadísticos puede que no tengan un efecto relevante (o incluso despreciable) desde el punto de vista científico. Por tanto, se debe ser muy cauteloso a la hora de interpretar los resultados estadísticos y tomar decisiones científicas basadas en estos. Sin embargo, una norma al uso bastante extendida considera que aquellos factores que no influyen para un análisis al 0,01 de significación pero sí al 0,05 (o incluso al 0,1) pueden considerarse factores marginales y su modificación difícilmente implicará cambios drásticos en el comportamiento del sistema.

Por último, cabe destacar que el ANOVA también permite calcular factores estadísticos para cuantificar la bondad con la que los factores influyentes son capaces de describir el comportamiento del sistema estudiado.

El primero de estos factores es el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que compara toda la variabilidad explicada y atribuible a factores e interacciones con la variabilidad total observada. Su valor oscila entre 0 -variabilidad no explicada por los factores- y 1 -variabilidad completamente explicada por los factores-; por ello, son preferibles valores cercanos a 1. El

principal problema de este coeficiente es que no discrimina la variabilidad atribuible a los factores influyentes de la atribuible a los que no lo son. Por consiguiente, suele sobreestimar la bondad del modelo cuando el número de factores no influyentes es alto.

El segundo de estos factores es el coeficiente de determinación corregido ( $\hat{R}^2$ ) que, además de comparar la variabilidad explicada y atribuible a factores e interacciones con la variabilidad total observada, tiene en cuenta el número de factores considerados y las dimensiones del modelo ajustado. De igual modo al coeficiente de determinación, son preferibles valores cercanos a 1. La ventaja de este coeficiente es que tiene en cuenta el número de factores estudiados pero es muy sensible al efecto de los factores que no son significativos, que hacen decrecer su valor.

Resumiendo, los factores estadísticamente no influyentes acarrear errores a la hora de estimar la bondad de los modelos ajustados. Por ello, suele ser recomendable eliminar del análisis aquellos factores (o interacciones) que tras un primer análisis del comportamiento del sistema no han resultado ser estadísticamente influyentes.

Únicamente para aquellos diseños experimentales cuyos factores son variables continuas (como es el caso), además de las opciones de análisis expuestas hasta ahora existe otra herramienta muy poderosa.

A partir de los datos experimentales es posible ajustar un modelo matemático que correlacione los valores de los distintos factores con la respuesta del sistema. Este modelo permite prever la respuesta del sistema estudiado en condiciones no ensayadas. Así mismo, también permite calcular las respuestas extremas (máxima y mínima).

El modelo ajustado consiste en una suma de términos que son el producto del valor de cada factor -o factores, si se trata de una interacción- y una constante (ecuación 1.8). Este modelo se conoce con el nombre de *regresión lineal múltiple* y se considera que es capaz de describir una vastísima variedad de respuestas, fenómenos, comportamientos, etc.

$$Y = \beta_0 + \beta_A A + \beta_B B + \dots + \beta_{AB} AB + \dots + \beta_{ABC} ABC + \varepsilon \quad (8)$$

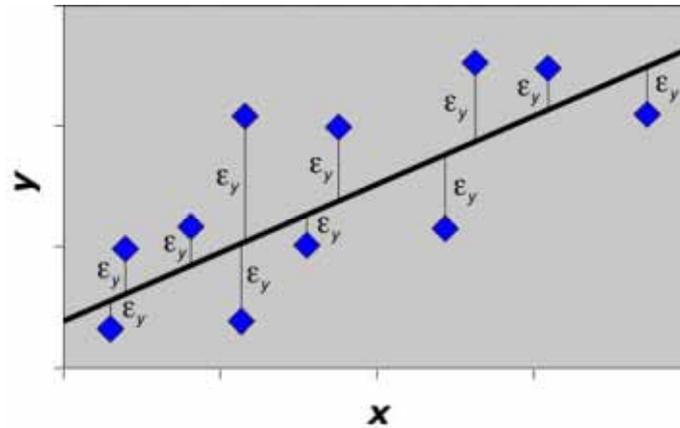
**Ecuación 1.8:** Modelo de regresión lineal múltiple para tres descriptores.

En la anterior ecuación se aprecia un término (el quinto) que corresponde a la interacción de los tres factores del diseño, la máxima que es posible considerar en un sistema descrito por tres variables. Ahora bien, en la mayoría de ocasiones dicha interacción realmente resulta irrelevante para describir el comportamiento del sistema y, por lo tanto, su efecto se une al del último término de la ecuación: el error experimental o la variabilidad no atribuible a ningún factor o interacción.

El ajuste del modelo a los datos experimentales típicamente se realiza por una técnica de optimización conocida por el nombre de *mínimos cuadrados*. Concretamente, este método calcula el valor de los coeficientes de correlación ( $\beta_i$ ) de tal manera que para la ecuación

resultante la suma al cuadrado de las distancias entre el valor de Y calculado y el experimental sea mínima.

Empleando el ejemplo de la figura siguiente, el método de optimización ajustaría los coeficientes necesarios de tal manera que la suma de todos los  $\epsilon_y$  (residuales) al cuadrado sea la menor de todas las posibles.

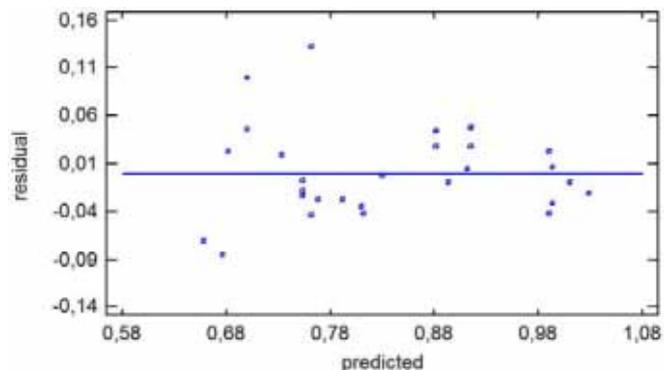


**Figura 1.28:** Ajuste de una recta unidimensional por mínimos cuadrados ordinarios ([www.palass.org](http://www.palass.org), 2011).

Una de las posibilidades para analizar la bondad del ajuste logrado es el análisis de los residuales. La idea sobre la que radica esta herramienta es que un ajuste perfecto conseguiría que respuesta estimada y respuesta experimental fueran idénticas, es decir, que el residual fuera de 0. No obstante, la situación más habitual es que los valores de los residuales se hallen aleatoriamente distribuidos por encima y por debajo de 0.

En el ámbito de los diseños de experiencias, para facilitar este análisis se suelen representar los residuales frente al valor de respuesta predicho por el modelo o bien frente al valor de la respuesta experimental.

Si se observa la figura adyacente se puede constatar que los residuales se distribuyen aleatoriamente alrededor de 0. Sin embargo, si la distribución de valores presentase algún tipo de funcionalidad apreciable, el modelo ajustado debería ser rechazado.

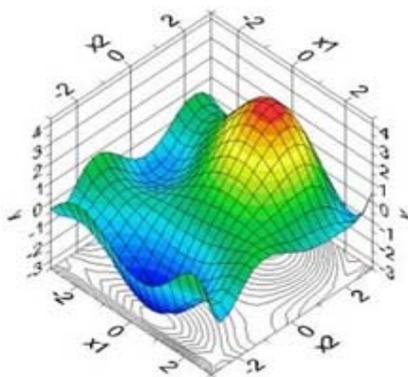


**Figura 1.29:** Análisis de residuales gráficos frente a respuesta estimada.

Pero, ¿para qué sirve un modelo matemático ajustado a partir de los datos experimentales? Pues, principalmente para poder prever la respuesta del sistema según los distintos valores de las variables influyentes aunque no sean los valores experimentales. En otras palabras, el modelo permite calcular la posible respuesta del sistema en condiciones en las que no se ha experimentado. Ahora bien, debe tenerse en cuenta que dicho modelo es más efectivo dentro del espacio muestral delimitado por las coordenadas extremas de cada variable

considerada. Por lo tanto, utilizar dicho modelo lejos de este espacio puede llevar a previsiones erróneas.

Otra utilidad -la que más incube al presente trabajo- consiste en la determinación de aquellas condiciones que provocan puntos de respuesta singular tales como máximos, mínimos, puntos de silla, etc. En otras palabras, el modelo permite determinar las condiciones necesarias para lograr, por ejemplo, una respuesta máxima del sistema.



**Figura 1.30:** Ejemplo de superficie de respuesta tridimensional ([www.sirve.cl](http://www.sirve.cl), 2011).

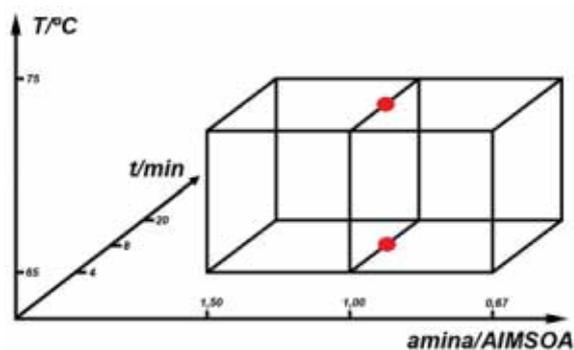
Además de las herramientas expuestas hasta el momento, existen muchas otras (gráficas y de cálculo). Aquellas que se empleen para analizar los resultados obtenidos en el presente estudio se explican en su momento.

Por lo tanto, a modo de resumen, y tal como se ha comentado anteriormente, el presente estudio considera las variables y sus respectivos valores extremos detallados a continuación:

- Temperatura: según el estudio preliminar el óptimo de conversión se halla en el rango de 65 °C a 75 °C, por lo tanto, fija el nivel bajo a 65°C y el nivel alto a 75°C.
- Tiempo de reacción: nivel bajo 4 min, nivel intermedio 8 min y nivel alto 20 min.
- Proporción de reactivos (amina respecto AIMSOA): 1,5 nivel alto, 0,667 nivel bajo y 1 nivel 1.

Ahora bien, para el nivel intermedio de tiempo (8 min) no se han realizado todas las combinaciones posibles, si no únicamente aquellas que corresponden al nivel intermedio de proporción de reactivos. Es decir, estos ensayos son puntos situados en el centro del diseño experimental.

Estos puntos centrados (en este estudio pseudocentrados) y los niveles intermedios suelen ser una buena herramienta para poder determinar mejor las interacciones de los factores pero, sobre todo, para poder estimar curvaturas de la respuesta en función de alguna de las variables.



**Figura 1.31:** Representación geométrico-cuboidal del espacio considerado en el presente estudio con los puntos pseudocentrales representados en rojo.

Teniendo en cuenta todo lo expuesto hasta el momento, a continuación se detalla el plan de muestreo definitivo:

Bloque	Temperatura (°C)	tiempo (min)	Proporción Amina:AIMSOA	Y
1	65	20	0,6667	0,926
1	75	20	1	0,763
1	65	4	1	0,800
1	75	4	0,6667	0,719
1	75	4	1,5	0,949
1	75	20	0,6667	0,885
1	65	4	0,6667	0,588
1	65	4	1,5	1,000
1	75	4	1	0,746
1	65	20	1	0,769
1	65	20	1,5	1,000
1	75	20	1,5	0,962
2	65	20	0,6667	0,909
2	75	4	0,6667	0,895
2	75	20	0,6667	0,917
2	65	4	1	0,704
2	75	4	1	0,730
2	75	20	1	0,775
2	75	4	1,5	1,014
2	75	20	1,5	0,943
2	65	20	1	0,826
2	65	20	1,5	1,007
2	65	4	1,5	0,962
2	65	4	0,6667	0,592
3	65	4	1	0,746
3	65	8	1	0,752
3	75	4	1	0,735
3	75	8	1	0,741

**Tabla 1.6:** Plan de muestreo definitivo y resultados obtenidos.

En dicho plan pueden observarse replicación, randomización, formación de bloques, niveles intermedios, puntos pseudocentros, etc.

Además se incluyen los resultados obtenidos al irradiar con microondas las correspondientes mezclas en las condiciones detalladas. Nótese que se detallan los decimales de los resultados superiores a 1 (valor máximo de Y por definición) por motivos estadísticos.

### 1.3.5. Conclusiones del estudio de optimización

#### 1.3.5.1. Análisis de los resultados

En el presente trabajo, para analizar los resultados se emplean los programas estadísticos STATGRAPHICS® PLUS 5.1 y STATGRAPHICS® CENTURION XV.

Al introducir en dichos programas el conjunto de datos referidos en la tabla anterior y someterlos al correspondiente análisis estadístico se obtiene el siguiente ANOVA:

$R^2 =$	0,856
$\hat{R}^2 =$	0,805
Error estándar de estimación =	0,056

**Tabla 1.7:** Coeficientes de determinación y error estándar de estimación.

Efecto	$F_o$	Valor P
A: Temperatura	0,04	0,8386
B: tiempo	10,48	0,0043
C: Amina:AIMSOA	39,01	0,0000
AB	3,68	0,0704
AC	4,05	0,0587
BC	12,99	0,0019
CC	23,24	0,0001
Bloques	0,37	0,5519

**Tabla 1.8:** Valores estadísticos asociados al ANOVA de factores e interacciones. Factores relevantes ( $p < 0,05$ ) en rojo.

En primer lugar, para considerar la representatividad del ANOVA calculado se consideran los coeficientes de determinación referidos en la tabla de la izquierda.

El primero (el coeficiente de determinación,  $R^2$ ) indica que el 85,6% de la variabilidad total observada se puede explicar mediante los factores e interacciones considerados. Sin embargo, este factor suele sobreestimar la variabilidad explicada porque no discrimina aquella que es atribuible a los factores no influyentes.

Si además se considera el segundo de los coeficientes ( $\hat{R}^2$ , coeficiente de determinación corregido), que sí tiene en cuenta el número de factores considerados y las dimensiones del modelo ajustado, puede constatarse que ambos valores son muy similares.

Esta similitud permite establecer dos conclusiones preliminares:

- Los factores considerados son los adecuados para estudiar el comportamiento de la reacción de guanidinación, es decir, parece que el número de factores e interacciones no influyentes es muy pequeño.
- La variabilidad que puede ser descrita con los factores escogidos y sus interacciones es mayor del 80%, lo que representa un éxito del estudio.

En segundo lugar, para revisar qué factores e interacciones se consideran influyentes con una certidumbre del 95% debe estudiarse la tabla de la derecha. Marcados en rojo se hallan

aquellos factores e interacciones cuyo valor  $p$  asociado es inferior a 0,05 (valor fijado por el nivel de significación considerado) y que, por consiguiente, sí se consideran influyentes.

Así pues, dos de los factores (tiempo y proporción de reactivos) y dos de sus interacciones (proporción de reactivos con el tiempo y efecto cuadrático de proporción de reactivos) son relevantes a la hora de describir el comportamiento del sistema.

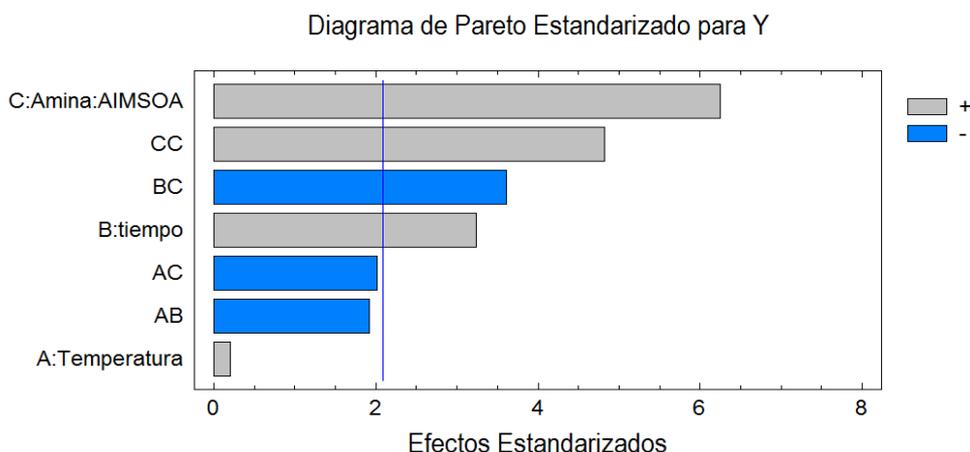
Por el contrario y según este mismo análisis, las interacciones de la temperatura con el tiempo y con la proporción de reactivos no son significativas al nivel de confianza considerado. No obstante, dada la relativa cercanía de sus correspondientes valores  $p$  (0,0704 y 0,0587, respectivamente) al valor límite de 0,05, cabe considerar que la influencia de estas interacciones no sea del todo despreciable.

Por último y siguiendo con estos mismos criterios, se puede considerar que tanto la temperatura como la formación de bloques no son en absoluto influyentes.

Que la temperatura no sea influyente no es sorprendente pues el estudio previo al diseño de experiencias permite casi determinar la más favorable. Por ello, podría no incluirse la temperatura en el diseño de experimentos, pero así no se considerarían las posibles interacciones de ésta con los otros factores. No obstante, estas interacciones tampoco resultan ser especialmente influyentes.

Por otro lado, los bloques ensayados en este estudio se conforman con los experimentos realizados durante un mismo día. Por lo tanto, la variabilidad considerada se asociaría a la posible pérdida de reactividad del AIMSOA a lo largo de los sucesivos días de experimentación y, en general, a factores no controlados (e, incluso, incontrolables). Por fortuna, analizando los resultados referidos en las tablas anteriores se deduce que la variabilidad atribuible a los bloques es mínima y que no es necesario incluirlos en el análisis. Es decir, el proceso no tiene dependencias desconocidas y el agente de guanidación no pierde reactividad a lo largo de los días de experimentación.

A modo de resumen, para visualizar todos estos resultados existe una herramienta gráfica muy útil: el diagrama de Pareto. En dicha representación se puede observar la influencia relativa de cada uno de los factores y de sus respectivas interacciones. Además de esta información, el diagrama de Pareto también muestra si la influencia de cada factor e interacción contribuye a aumentar o disminuir la respuesta del sistema. Además, según sea el nivel de certidumbre fijado para analizar los datos, se traza una línea vertical que representa el nivel mínimo de variabilidad atribuible a cada factor para que sea considerado significativo.



**Figura 1.32:** Diagrama de Pareto resultante del análisis de los datos experimentales con un nivel de confianza del 95%.

En conclusión, según este último diagrama, los factores e interacciones no influyentes son los siguientes:

- Sin lugar a dudas, la temperatura.
- Marginalmente, las interacciones de temperatura con tiempo y proporción de reactivos. Sin embargo, con una disminución de la certidumbre del 95% al 90% habría que considerar que sí influyen.
- La organización de los experimentos en bloques, que revela la ausencia de variables e interacciones no consideradas en el diseño.

Estas consideraciones coinciden plenamente con las observaciones del ANOVA.

Establecidas estas primeras conclusiones, suele ser recomendable eliminar del análisis aquellos factores (o interacciones) que tras el primer análisis no han resultado ser estadísticamente influyentes para maximizar el coeficiente de determinación corregido (medida de la bondad del análisis) y para maximizar la significación de los verdaderamente influyentes.

Por consiguiente, se eliminan del análisis estadístico la temperatura y la formación de bloques. A continuación se comparan los resultados del diseño original y de este nuevo diseño reducido.

Diseño original		Diseño reducido	
$R^2 =$	0,856	$R^2 =$	0,853
$\hat{R}^2 =$	0,805	$\hat{R}^2 =$	0,811
Error estándar de estimación =	0,056	Error estándar de estimación =	0,054

**Tabla 1.9:** Comparación de coeficientes de determinación y errores estándar de estimación.

En la tabla superior se pueden observar los beneficios de suprimir del análisis la temperatura y la formación de bloques. La disminución de apenas el 0,3 % de los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) muestra una pérdida mínima de variabilidad explicada por los factores e

interacciones, que sigue siendo superior al 85%. Además, tras eliminar factores no influyentes el coeficiente de determinación corregido aumenta su valor en un 0,6%, por lo que la variabilidad es más atribuible al nuevo conjunto de variables e interacciones.

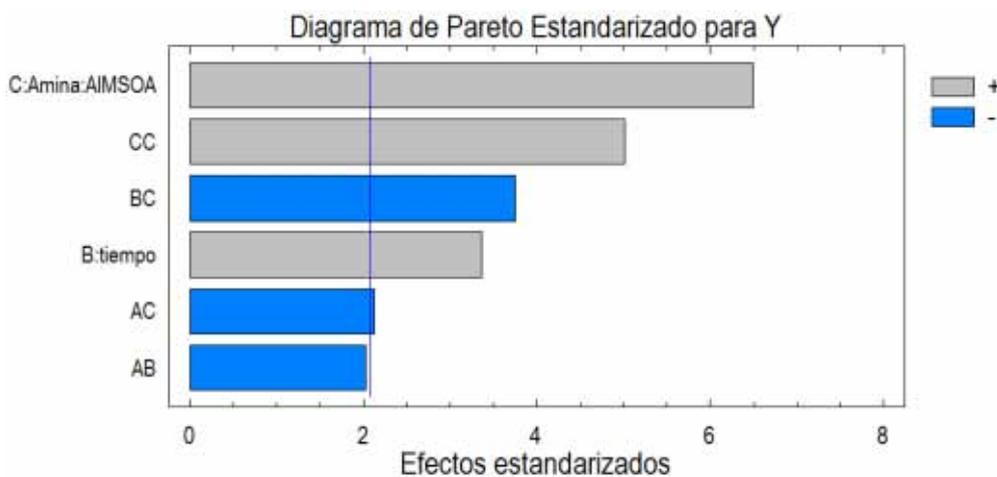
Por lo tanto, la disminución de factores no perjudica el análisis estadístico, si no al contrario. En consecuencia, se puede asegurar que el modelo matemático ajustado puede prever mejor la respuesta del sistema, lo que se manifiesta como una disminución del error estándar de estimación.

Efecto	Diseño original		Diseño reducido	
	F <sub>o</sub>	Valor P	F <sub>o</sub>	Valor P
A:Temperatura	0,04	0,8386	-	-
B:tiempo	10,48	0,0043	11,34	0,0029
C: Amina:AIMSOA	39,01	0,0000	42,20	0,0000
AB	3,68	0,0704	4,12	0,0553
AC	4,05	0,0587	4,53	0,0453
BC	12,99	0,0019	14,06	0,0012
CC	23,24	0,0001	25,15	0,0001
bloques	0,37	0,5519	-	-

**Tabla 1.10:** Comparación de los valores estadísticos asociados al ANOVA según los factores considerados. Factores relevantes ( $p < 0,05$ ) en rojo.

En cuanto a la significación de factores e interacciones se puede observar que la mayor diferencia respecto de los resultados iniciales es que la interacción de la temperatura con la proporción de reactivos influye significativamente en la respuesta del sistema, aunque de manera marginal.

Además, comparando los valores estadísticos asociados a cada factor e interacción, se aprecia como los valores de  $F_o$  han aumentado y los de  $P$  han disminuido. Este comportamiento se explica porque la variabilidad imputable a cada factor representa una parte del total mayor que cuando se consideran todos los factores e interacciones posibles. Por lo tanto, la certeza con la que se puede concluir que influyen en la respuesta también aumenta.



**Figura 1.33:** Diagrama de Pareto con un nivel de confianza del 95%, exclusión de la temperatura y sin formación de bloques.

El anterior diagrama de Pareto muestra estos mismos resultados de manera más intuitiva. En él se aprecia claramente la prioridad de influencias de factores e interacciones. De mayor a menor: proporción de reactivos (C, lineal y CC, cuadrática), interacción entre tiempo de reacción y proporción de reactivos (BC), tiempo de reacción (B) y, por último y marginalmente, la interacción de temperatura y proporción de reactivos (AC).

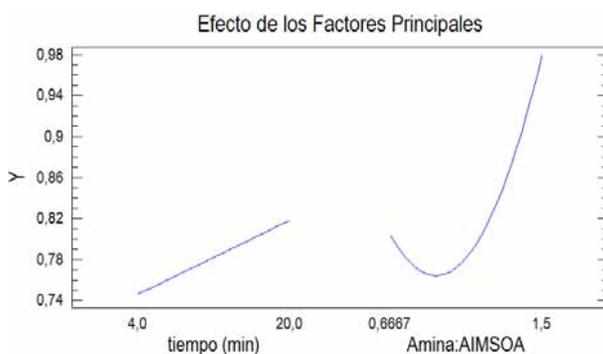
Además, este gráfico también indica aquellas influencias que incrementan la respuesta del sistema: proporción de reactivos (lineal y cuadrática) y tiempo de reacción. También aquellas que la disminuyen: interacción de tiempo de reacción y proporción de reactivos, e interacción de temperatura y proporción de reactivos.

Para visualizar el análisis el sentido de las influencias existen otras representaciones gráficas muy intuitivas: el *Diagrama del efecto de los factores principales* y el *Diagrama del efecto de las interacciones*.

En el primer diagrama se representa la respuesta experimental promedio de cada nivel para cada factor sin considerar el nivel de los otros factores. Por ejemplo, para calcular la respuesta promedio en el nivel alto de tiempo, tendría en cuenta todos aquellos valores de Y correspondientes a experimentos de 20 min independientemente de si corresponden a niveles altos o bajos de las otras variables.

Si el perfil resultante muestra una respuesta que aumenta al pasar del nivel inferior al nivel superior, se puede concluir que la influencia de ese factor es *positiva*. En caso contrario se supone que es una influencia *negativa*, es decir, un aumento en esa variable disminuye la respuesta del sistema. Además, las funcionalidades que muestran dichos perfiles van desde la recta (único perfil posible con variables de dos niveles) hasta polinomios de grado superior (dependiendo del número de niveles de cada factor). Por ello, esta representación permite analizar perfiles de respuesta complejos, información que no es posible obtener con las herramientas consideradas hasta el momento.

Además, también permite detectar los factores con menor significación, pues su representación es prácticamente horizontal.

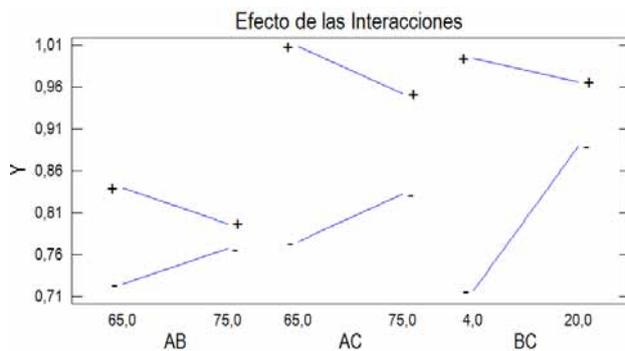


**Figura 1.34:** Efecto de los factores principales.

En el gráfico adyacente se representan los efectos de los factores principales considerados significativos. De él se puede concluir que la influencia del tiempo de reacción es lineal y positiva, y que la influencia de la proporción de reactivos es cuadrática y cóncava, con mayor respuesta a 1,5. Además, comparando el crecimiento de ambos

perfiles también es posible concluir que la proporción de reactivos es un factor de mayor peso sobre la respuesta del sistema. Esta conclusión concuerda plenamente con el análisis del diagrama de Pareto, que muestra como la influencia lineal y cuadrática de este factor son las variables de mayor significación.

El diagrama del efecto de las interacciones se construye de manera análoga pero tomando en consideración los niveles de ambos factores. Por ejemplo, para calcular la respuesta promedio de la temperatura a 65 °C y en el nivel alto de tiempo, tendría en cuenta todos aquellos valores de Y correspondientes a experimentos de 20 min y 65 °C, independientemente de la otra variable (proporción de reactivos).



**Figura 1.35:** Efecto de las interacciones.

En el gráfico adyacente se representan todas las posibles interacciones. La lógica empleada es similar a la del gráfico de efectos principales, pero para poder representar pares de variables en el eje horizontal se detallan los niveles de la primera variable y en el área gráfica se detallan (como curvas independientes) los niveles de la segunda variable.

Si el perfil resultante para el nivel alto del segundo factor (curva marcada como +) muestra una respuesta que aumenta al pasar del nivel inferior del primer factor al nivel superior, se puede concluir que se trata de una influencia *positiva*, que contribuye a aumentar la respuesta. En caso contrario se concluye que es una influencia *negativa*.

Además, esta representación también permite deducir si una interacción determinada influye o no. Concretamente, aquellas interacciones que no son significativas quedan representadas por pares de curvas paralelas: la distancia entre ellas corresponde al efecto de la segunda variable y su tendencia (creciente o decreciente) es atribuible al efecto del factor representado en el eje de abscisas. Por el contrario, cuanto mayor sea la interacción entre factores, mayor tendencia a entrecruzarse muestran las curvas.

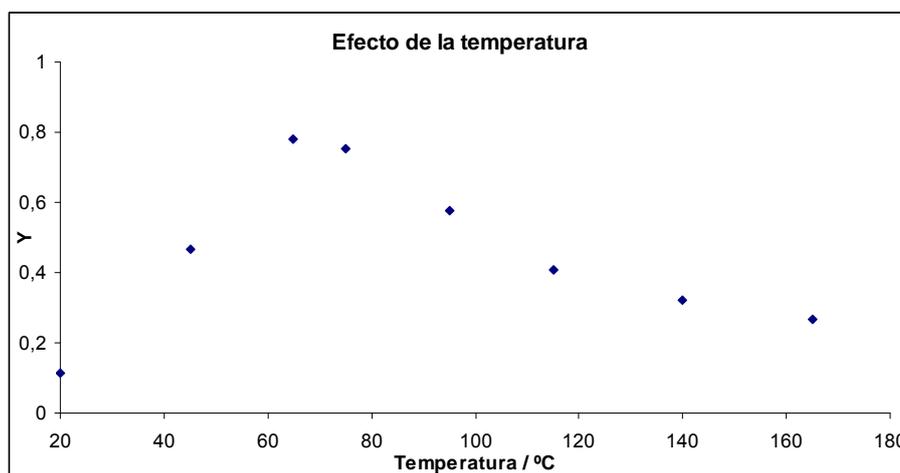
En consecuencia, si se observa el *Diagrama del efecto de las interacciones* del presente estudio se puede concluir que todas las interacciones son negativas pues contribuyen a reducir la respuesta del sistema. También se deduce que las interacciones temperatura / tiempo de reacción (AB) y temperatura / proporción de reactivos (AC) son menos influyentes que la de tiempo de reacción / proporción de reactivos (BC).

Todas estas conclusiones concuerdan plenamente con el análisis del diagrama de Pareto.

Recapitulando, el estudio de los resultados numéricos del ANOVA así como de los gráficos de Pareto, de Factores Principales y de Interacciones permite establecer los factores e interacciones relevantes en el comportamiento del sistema. De mayor a menor influencia son los que siguen:

- proporción de reactivos (C, lineal y CC, cuadrática), efecto positivo
- interacción entre tiempo de reacción y proporción de reactivos (BC), efecto negativo
- tiempo de reacción (B), efecto positivo
- interacción marginal de temperatura y proporción de reactivos (AC), negativa
- interacción marginal de temperatura y tiempo de reacción (AB), negativa.

De estos resultados destaca la no influencia de la temperatura y de sus correspondientes interacciones. No debe extrañar esta conclusión pues, sin lugar a dudas, la exploración previa de este factor delimita el rango de valores adecuado para una respuesta óptima de la reacción de guanidinación.



**Figura 1.36:** Evolución de Y en función de la temperatura de reacción.

Resulta evidente que la proporción de reactivos es el factor más determinante para controlar la reacción de guanidinación. Según el ANOVA su efecto de primer orden es el de más peso, la segunda influencia es su efecto de segundo orden (cuadrática) y el tercer efecto es la interacción de la proporción de reactivos con el tiempo de reacción.

Considerando únicamente el factor proporción de reactivos, el análisis del comportamiento del sistema permite extraer dos primeras conclusiones:

- el comportamiento de tipo parabólico de la variable de evaluación Y sugiere que la reacción de guanidinación se ve claramente favorecida cuando la proporción de AIMSOA y de *p*-bromoanilina **60**{7} no es equimolar
- es preferible trabajar con exceso de amina en lugar de con exceso de **62**{11}.

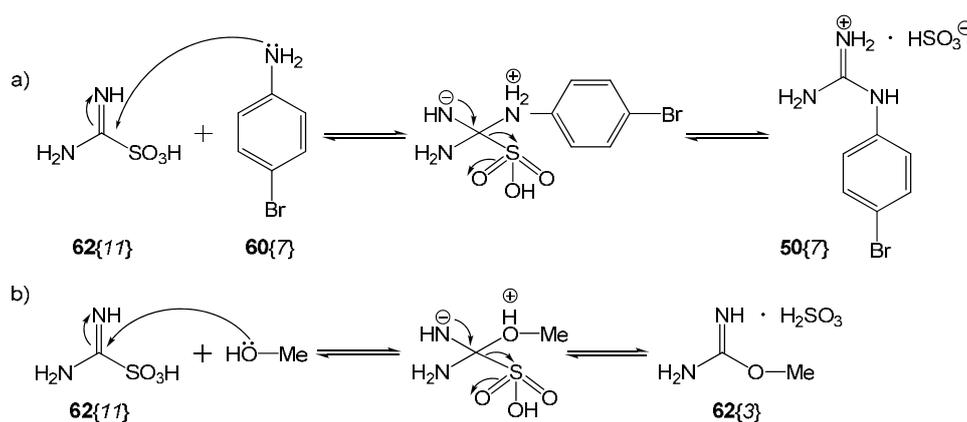
Este comportamiento puede justificarse en base a la baja nucleofilia de la amina empleada para el estudio y a la (relativamente alta) nucleofilia del metanol, el disolvente de reacción.

Por un lado, el reactivo de guanidinación es sensible al medio de reacción y, como éste se halla en tan gran exceso en comparación con la amina, el AIMSOA reacciona significativamente con el metanol. El resultado es la obtención del sulfito de *o*-metilisourea (**62{3}**), lo que supone un callejón sin salida para la guanidinación de la amina: se trata de un agente menos versátil que el AIMSOA y continuamente se regenera por reacción con el MeOH.

Por otro lado, el exceso de AIMSOA o amina favorece el término de guanidinación porque es capaz de minimizar la reacción secundaria con el disolvente. Las justificaciones de estos comportamientos son las que siguen:

- el metanol reacciona aproximadamente con la misma cantidad proporcional de AIMSOA, pero al aumentar la cantidad de éste en el medio de reacción se consigue mayor cantidad absoluta de agente de guanidinación libre para reaccionar con la amina,
- en presencia de exceso de amina se aumenta su competencia frente al disolvente, por lo que es de suponer que proporcionalmente menor cantidad de AIMSOA reacciona con el metanol.

En definitiva, según los resultados obtenidos el segundo efecto es más acusado y, por lo tanto, es preferible trabajar con exceso de amina.

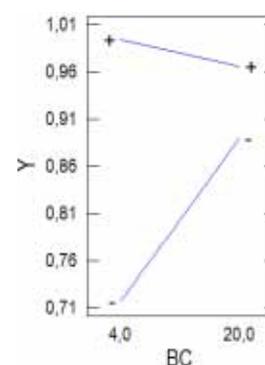


**Figura 1.37:** Reacción de guanidinación de la amina (a) y reacción con el disolvente (b).

El tiempo de reacción influye positivamente en la guanidinación, pero su incidencia es menor que la de la interacción con la proporción de reactivos, que es negativa.

Este no es un comportamiento sorprendente pues en la mayoría de reacciones químicas a mayor tiempo, mayor formación de productos.

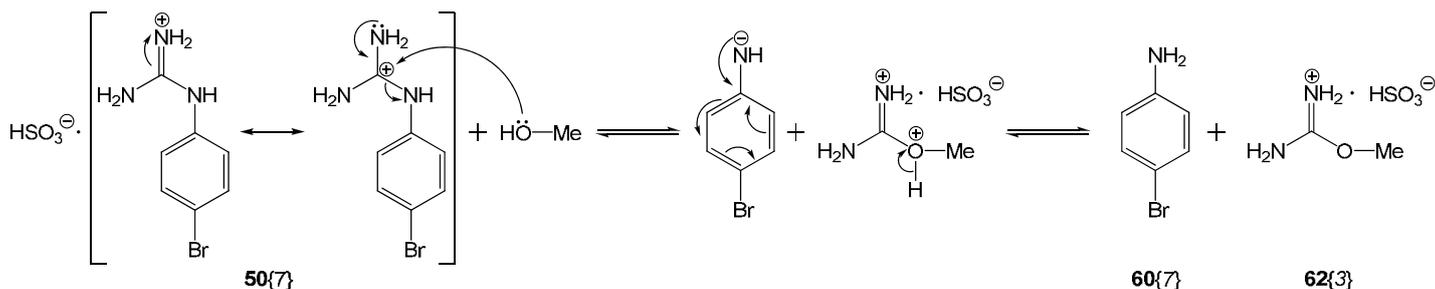
Sin embargo, al considerar el efecto de la interacción antes mencionada (gráfico adyacente), se observa que con exceso de AIMSOA (recta -) el aumento del tiempo de reacción se traduce en un aumento muy acusado de la conversión. Por el contrario, en



**Figura 1.38:** Interacción del tiempo de reacción con la proporción de reactivos.

presencia de un exceso de amina (recta +), el comportamiento es menos acusado y justamente el opuesto: cuando aumenta el tiempo de reacción disminuye el grado de conversión.

Para justificar esta diferencia deben considerarse un par de generalidades sobre la estabilidad de las guanidinas. En primer lugar, la presencia en el medio de oxígeno o de agua favorece la formación de productos de degradación de las guanidinas. Y en segundo lugar, la presencia en el medio de especies nucleófilas (fuertes o en exceso) puede favorecer términos de sustitución nucleófila. También cabe recordar que en el presente estudio se emplea como disolvente metanol ni anhidro ni desoxigenado y tampoco se trabaja bajo atmosfera inerte.



**Figura 1.39:** Reversión de la guanidinación por efecto del metanol empleado como disolvente.

Por lo tanto, los resultados que se muestran en el gráfico de la interacción pueden ser interpretados bajo las siguientes dos premisas:

- en presencia de exceso de amina, los valores de Y indican una rápida conversión del AIMSOA prácticamente completa, pero al aumentar el tiempo se aprecia una mínima degradación de la guanidina
- en presencia de exceso de AIMSOA, cualquier efecto de las degradaciones queda enmascarado por el gran crecimiento de Y.

Todos los resultados expuestos hasta el momento permiten establecer la validez estadística del análisis de los datos experimentales, pero también sugieren ciertas interpretaciones químicas del proceso de guanidinación con AIMSOA. Sin embargo, todas estas consideraciones no permiten realizar predicciones concretas de comportamiento ni determinar aquellas condiciones que pudieran ser las óptimas para el proceso. En este punto es donde el ajuste del modelo matemático gana en importancia.

$$Y = -0,436133 + 0,0211613A + 0,0582083B - 0,0241263C - 0,000533417AB - 0,0136246AC - 0,0151019BC + 0,63229C^2$$

Coeficientes	
Constante	-0,436133
A: Temperatura (°C)	0,0211613
B: tiempo (min)	0,0582083
C: Amina:AIMSOA	-0,0241263
AB (°C · min)	-0,000533417
AC (°C)	-0,0136246
BC (min)	-0,0151019
CC	0,63229

**Ecuación 1.9:** Modelo matemático ajustado.

**Tabla 1.11:** Coeficientes del modelo ajustado.

El modelo ajustado en este estudio corresponde a la ecuación y los coeficientes que se detallan en la ecuación y tabla anteriores. Para analizar la bondad del ajuste logrado, a continuación se refleja el correspondiente análisis de residuales.

Como puede observarse, los residuales se distribuyen alrededor del eje horizontal que representa el 0. Pero no sólo eso, si no que además no se aprecia que los puntos referidos describan funcionalidad de tipo alguno.

Por lo tanto, se puede concluir que el modelo ajustado es el conveniente para describir el comportamiento de la reacción de guanidinación.

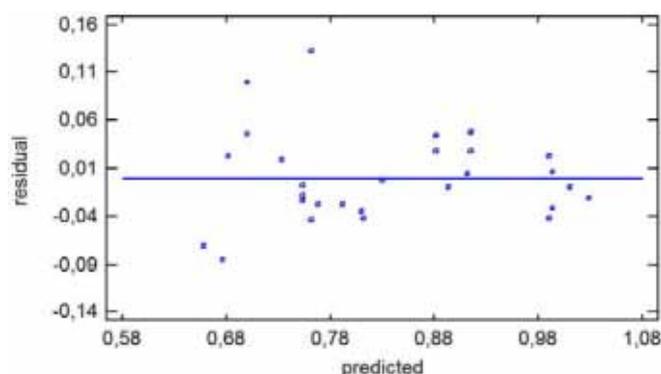


Figura 1.40: Residuales del modelo ajustado.

Al observar la correspondiente superficie estimada de respuesta se observan claramente las tendencias descritas anteriormente.

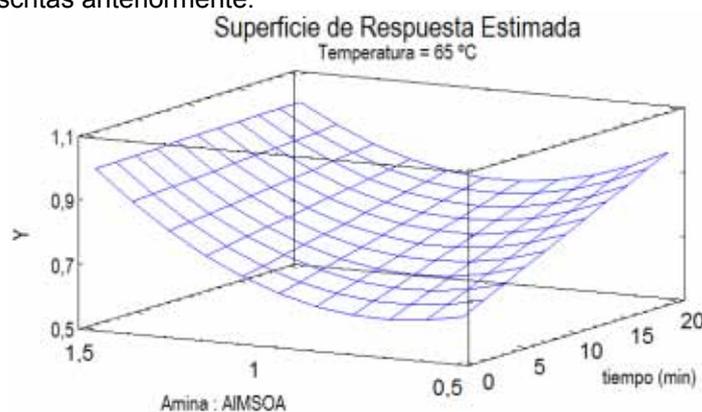


Figura 1.41: Superficie de respuesta del modelo ajustado.

Por ejemplo, se observa el comportamiento cuadrático de la respuesta frente a la proporción de reactivos, el crecimiento acusado de de Y frente al tiempo de reacción en presencia de defecto de amina, etc.

También permite formarse una idea preliminar de las condiciones de reacción óptimas. Concretamente, ateniéndose también a las tendencias observadas, parece evidente que es necesario trabajar con exceso de amina, que la temperatura no es relevante -se puede fijar a 65 °C- y que el tiempo de reacción no es del todo crítico en exceso de amina.

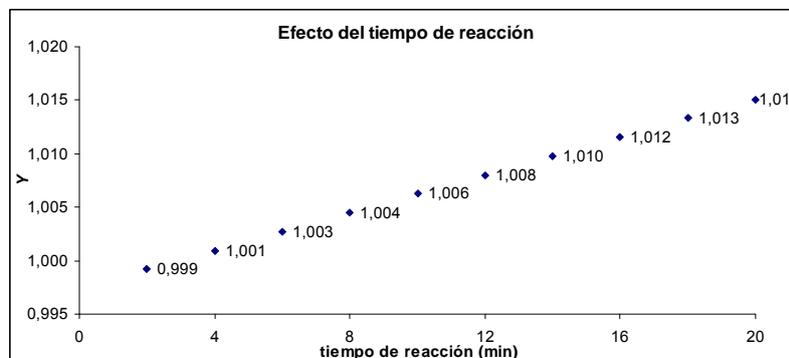
Variable	Valor
Temperatura (°C)	65,0
Tiempo (min)	20,0
Amina:AIMSOA	1,5
Y	1,015

Pero es a partir de la ecuación matemática del modelo que se pueden determinar las condiciones concretas del máximo de Y. De hecho, el propio programa de análisis estadístico empleado en el presente estudio ya realiza los cálculos pertinentes.

Tabla 1.12: Óptimo y condiciones.

Las condiciones óptimas se corresponden totalmente con las tendencias observadas y las consideraciones realizadas hasta el momento, especialmente en cuanto a temperatura y proporción de reactivos se refiere.

No obstante, el tiempo de reacción se merece un análisis más detallado pues un resultado con relevancia estadística no implica necesariamente sentido químico.



**Figura 1.42:** Evolución de Y según el modelo ajustado y en exceso de amina 1,5:1 y 65 °C.

En la anterior figura se observa que el modelo prevé valores de Y linealmente crecientes en presencia de 1,5 equivalentes de amina a 65 °C. Por lo tanto, lo lógico sería fijar el tiempo de reacción en 20 min puesto que rinde el máximo valor de Y.

No obstante, si se estima que el margen de variación no llega ni al 2% (muy poca relevancia real), resulta más apropiado definir un valor de tiempo de reacción menor.

En conclusión, considerando todo lo anterior y revisando los valores experimentales de Y, se asume que el tiempo de reacción debería moverse en la zona central, es decir, en el margen de los 8 a los 12 minutos. De entre ambos valores, como el grado de conversión logrado es prácticamente idéntico, tomar como tiempo definitivo 8 minutos supone una mayor celeridad del proceso sintético, la reducción del tiempo de trabajo y una mínima pérdida -seguramente no cuantificable ni perceptible experimentalmente- en el grado de conversión de la amina. Por lo tanto, se asume que el tiempo de reacción óptimo es de 8 minutos.

Así pues, tras diseñar el plan de muestreo, implementarlo experimentalmente y analizar estadísticamente los resultados experimentales, es posible establecer las condiciones más favorables para la conversión de aminas en sus correspondientes guanidinas empleando AIMSOA como agente de guanidilación y microondas como método de calefacción.

Variable	Valor
Temperatura (°C)	65,0
Tiempo (min)	8,0
Amina:AIMSOA	1,5

**Tabla 1.13:** Condiciones para guanidilar con AIMSOA.

### 1.3.5.2. Comprobación de los resultados del diseño de experiencias

Tal y como se explica anteriormente, en todo este estudio se emplea la variable *Y* para evaluar el comportamiento de la reacción de guanidinación. Dicha variable se asemeja más con el grado de conversión de la amina en su correspondiente guanidina cuanto menos subproductos de reacción se forman.

*Y*, ¿por qué se ha empleado esta variable en lugar del rendimiento de reacción? Pues bien, si se tiene en cuenta el gran volumen de ensayos realizados para el estudio estadístico de la guanidinación, se comprende que determinar el rendimiento de reacción -lo que puede suponer aislar la guanidina formada- resulta menos conveniente, sencillo y (sobre todo) rápido que realizar un espectro de RMN del crudo y calcular el valor de *Y* a partir de las integrales de las señales apropiadas.

Ahora bien, llegados a este punto, parece conveniente poder establecer algún tipo de equivalencia entre la variable *Y* y el rendimiento con el que se obtienen las guanidinas mediante la metodología optimizada en el presente estudio.

Por consiguiente, para determinar el rendimiento de la reacción se intenta aislar la guanidina formada. Para tal fin, es necesario desarrollar algún tipo de metodología capaz de separarla del exceso de amina sin reaccionar, amén de los otros posibles subproductos presentes en el crudo de reacción.

Además, para que los resultados sean comparables, esta metodología debe ser lo más repetible posible y debe minimizar las pérdidas de guanidina en cada etapa de purificación desde el crudo de reacción hasta el producto aislado.

Según los autores en los que se ha basado este estudio de la guanidinación con AIMSQA (Kim et al., 1988) es posible aislar una guanidina de manera muy sencilla: basta con tratar el crudo de reacción con una solución etanólica saturada de ácido pícrico y se obtiene por precipitación el correspondiente picrato de la guanidina.

Así pues, tras realizar la reacción de guanidinación de la *p*-bromoanilina en las condiciones óptimas determinadas anteriormente, se elimina el metanol del crudo de reacción por destilación al vacío, se reconstituye con etanol absoluto y se ensaya la precipitación del picrato de la guanidina por adición de solución etanólica saturada de ácido pícrico. De manera inmediata se forma un precipitado abundante ligeramente amarillento que se aísla por filtración, se lava con etanol, se seca al vacío *overnight* y se analiza por <sup>1</sup>H-RMN disuelto en D<sub>2</sub>O.

Desgraciadamente, el espectro de RMN muestra una mezcla 3:1 de dos productos derivados de la *p*-bromoanilina **60{7}**. Estos productos se identifican como el picrato de la guanidina y de la amina respectivamente, lo que indica que este ácido es suficientemente

fuerte como para reaccionar no únicamente con bases como la guanidina si no también con bases más débiles como la amina.

Por lo tanto, la precipitación con ácido pícrico no es un buen método de separación de la guanidina en presencia de exceso de amina sin reaccionar, aunque sí que lo es cuando se trabaja en proporción equimolar de amina y AIMSOA y la conversión es elevada, tal y como refieren los citados autores.

Se considera el uso de *scavengers* ácidos (por ejemplo, de ácido p-toluensulfónico) que son muy fáciles de emplear y que son capaces de captar las sustancias básicas disueltas en el crudo de reacción. Sin embargo, teniendo en cuenta el resultado obtenido en los ensayos con ácido pícrico, presumiblemente estos *scavengers* capten tanto la amina como, sobre todo, la guanidina. Por lo tanto, se descarta su uso.

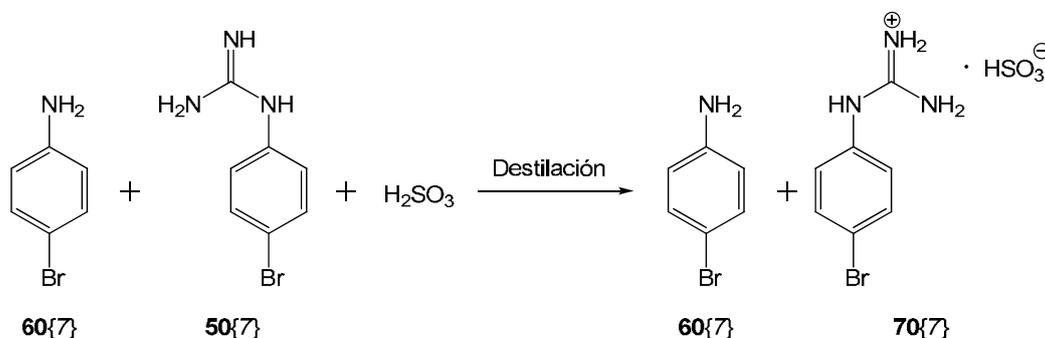
Que la guanidina sea más básica que su correspondiente amina no permite aislar la primera empleando ninguno de los métodos referidos hasta el momento. No obstante, esta diferencia de basicidad puede ser utilizada favorablemente para separarlas.

En el crudo de reacción fundamentalmente hay presentes tres especies:

- la amina de partida, *p*-bromoanilina **60**{7},
- la guanidina formada, *p*-bromofenilguanidina **50**{7} y
- ácido sulfuroso, resultado de la sustitución nucleófila sobre el AIMSOA.

Mientras permanecen en solución, estas tres especies se hallan en equilibrio entre las formas no ionizadas (amina, guanidina, ácido) y sus correspondientes formas iónicas (sales de amina, sales de guanidina, hidrogenosulfito, etc.).

Pero en el momento en que se elimina el disolvente, estos equilibrios se desplazan y el ácido sulfuroso se asocia preferentemente a la base más fuerte, la guanidina. Esta asociación forma una sal (compuesto iónico) cuya polaridad es mucho mayor que la polaridad de la amina.

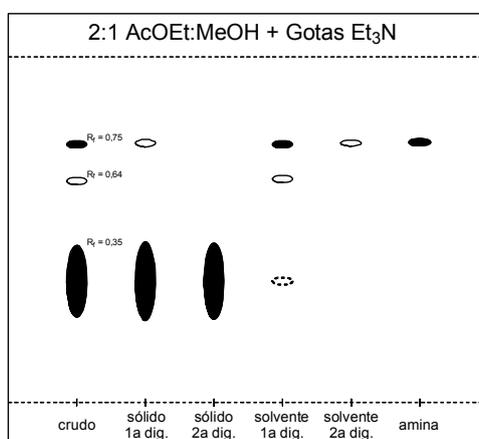


**Figura 1.43:** Formación preferente de la sal de la guanidina por eliminación del disolvente.

Esta diferencia de polaridad puede servir para disolver selectivamente la amina en solventes (o mezcla de solventes) de baja polaridad y así lograr separar la sal de la guanidina por filtración.

Así pues, tras distintos ensayos se establece que el mejor protocolo de purificación de la guanidina es eliminar el disolvente del crudo de reacción (volumen de  $n$  mL), realizar dos digestiones consecutivas (30 min a reflujo, con  $5n$  mL de volumen) en una mezcla 4:1 de THF:CHCl<sub>3</sub>. Tras la primera digestión se suele obtener un aceite blancuzco muy viscoso con ciertas regiones cristalinas incrustadas. Tras sustituir la fase orgánica y volver a realizar la digestión se obtiene un sólido blanco abundante totalmente disgregado que fácilmente es separado por filtración.

Para hacer el seguimiento del proceso de purificación se utiliza la CCF (revelado con luz UV y por reacción con ninhidrina) y la espectroscopía de <sup>1</sup>H-RMN. A continuación se representan y se comentan los resultados obtenidos mediante la CCF.



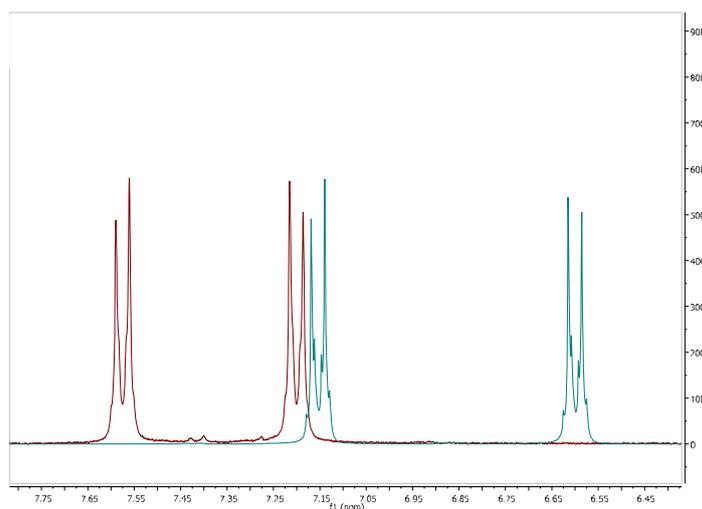
**Figura 1.44:** Evolución de la CCF durante la purificación de la sal de guanidina por digestión.

Como indica la CCF, el aceite que se obtiene tras la reacción de guanidinación contiene dos sustancias mayoritarias (amina y guanidina) y una minoritaria (no identificada).

Tras la primera digestión, el aceite blancuzco que se obtiene contiene muy mayoritariamente la guanidina y algo de la correspondiente amina. Las aguas madres decantadas fundamentalmente contienen amina, la impureza no identificada y trazas de la guanidina. Así pues, la mezcla 4:1 de THF:CHCl<sub>3</sub> disuelve muy selectivamente las impurezas.

Tras la segunda digestión, se obtiene la sal de guanidina en forma de sólido cristalino. Su análisis por CCF indica elevada pureza y el solvente empleado en la digestión fundamentalmente contiene la correspondiente amina.

A continuación se muestra la superposición de los espectros de <sup>1</sup>H-RMN de la amina (azul) y de la guanidina (rojo) disueltas en metanol deuterado. Como se puede observar las señales aromáticas correspondientes a la guanidina se hallan a desplazamientos mayores que los de la amina, tal como es previsible. Además, el espectro de la guanidina (rojo) indica que el sólido obtenido es de alta pureza.



**Figura 1.45:** Comparación de los  $^1\text{H}$ -RMN de la *p*-bromoanilina (azul) y de su guanidina (rojo).

Los resultados de la espectroscopia de  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN y EM se corresponden con los valores descritos anteriormente en bibliografía para la guanidina **50{7}** (Diamond et al., 1976).

Por último, para poder comprobar la versatilidad de la guanidinación y del proceso de purificación también se ensayan sendos protocolos empleando como amina la anilina **60{6}**. Los resultados son totalmente comparables a los obtenidos con la *p*-bromoanilina **60{7}**.

Así pues, establecidas ambas metodologías se estudia la equivalencia de la variable Y con el rendimiento de producto aislado tanto para la amina modelo **60{7}** como para la anilina.

Amina	Y	$\eta\%$
<b>60{6}</b>	0,961	81,2
<b>60{7}</b>	0,918	73,9

**Tabla 1.14:** Equivalencias entre la variable Y y el rendimiento de guanidina aislada.

Como se puede observar ambos factores evolucionan de manera similar: son mayores para la anilina, pues es más nucleófila. No obstante, los rendimientos son proporcionalmente inferiores a los valores de la variable Y, lo que puede ser debido al proceso de purificación.

A pesar de que son unos buenos resultados, teniendo en cuenta que el diseño experimental revela que la proporción de reactivos es el efecto mayoritario e influye positivamente sobre Y, se decide estudiar si incrementando la proporción de amina por encima de 1,5 también aumenta el rendimiento de producto aislado.

Debe hacerse mención al hecho que estos ensayos suponen ultrapasar los límites de proporción de reactivos fijados en el diseño de experiencias.

Factores	Márgenes del diseño	Valores óptimos
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	65 – 75 $^{\circ}\text{C}$	65 $^{\circ}\text{C}$
Tiempo (min)	4 – 20 min	8 min
Amina:AIMSOA	1:1,5 – 1,5:1	1,5:1

**Tabla 1.15:** Parámetros de control de la guanidinación con AIMSOA y sus valores óptimos.

Los resultados que se refieren a continuación corresponden al estudio del rendimiento con la amina modelo (*p*-bromoanilina **60{7}**) y con la anilina **60{6}**.

Proporción	Amina			
	<b>60{6}</b>		<b>60{7}</b>	
	Y	$\eta\%$	Y	$\eta\%$
1,5	0,961	81,2	0,918	73,9
1,75	0,993	83,7	0,942	75,6
2	1,007	85,4	0,998	78,1
2,5	0,999	85,5	1,015	77,4

**Tabla 1.16:** Valores de variable Y y rendimiento según la proporción de reactivos.

En la tabla anterior se sigue observando que la anilina presenta, en general, valores superiores tanto de variable de evaluación Y como de rendimiento de producto aislado. Estas diferencias son atribuibles a la mayor nucleofilia de la anilina.

Además, con ambas aminas se observa un ligero incremento de Y y rendimiento hasta los 2 equivalentes de amina por equivalente de AIMSOA, pero más allá de ese punto la ganancia es prácticamente despreciable (o incluso pérdida).

A efectos sintéticos, estos incrementos no son justificables si el precio a pagar es emplear más amina de partida y, por lo tanto, trabajar con una proporción de 1,5 sería lo más conveniente. No obstante, teniendo en cuenta que las aminas empleadas en el presente estudio son asequibles comercialmente y relativamente baratas, sacrificar 0,5 equivalentes de amina en aras de aumentar el rendimiento un 3 % (aproximadamente) es asumible.

Por último, cabe destacar que el rendimiento de fenilguanidina **50{6}** obtenido en este trabajo (entre el 81 y 85%) es ligeramente superior al obtenido por Kim y colaboradores en sus trabajos con AIMSOA (Kim et al., **1988**) y que es del 73%.

### 1.3.5.3. Conclusiones finales

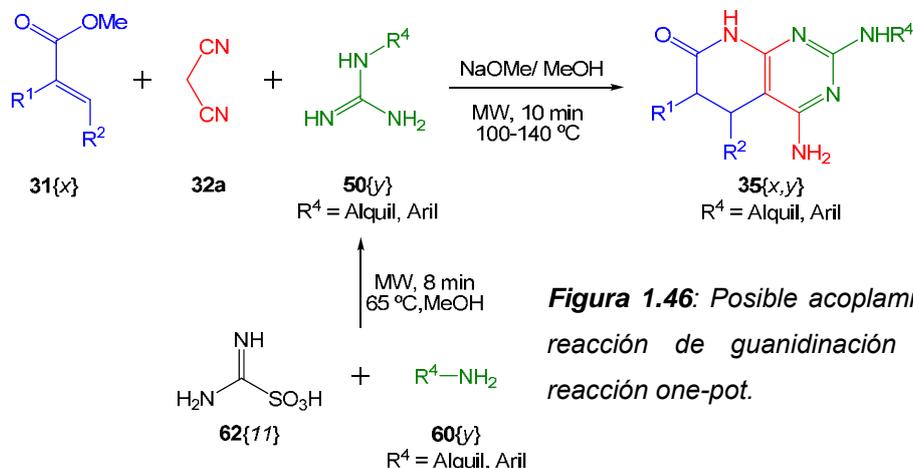
Así pues, tras el exhaustivo estudio de la reacción de guanidinación con AIMSOA y tras realizar comprobaciones experimentales posteriores -corroboración de la variable de evaluación Y y su equivalencia con el rendimiento de sal de guanidina aislada- se establece que las condiciones más favorables para la conversión de aminas en sus correspondientes guanidinas mediante calefacción con microondas en metanol son las siguientes:

Variable	Valor
Temperatura (°C)	65,0
Tiempo (min)	8,0
Amina:AIMSOA	2:1

**Tabla 1.17:** Condiciones para guanidilar con AIMSOA.

#### 1.4. Acoplamiento de la formación de bicilos 35 y la reacción de guanidinación

Aprovechando la amplia experiencia del Laboratorio de Síntesis del IQS en la obtención de sistemas heterocíclicos de estructura genérica **35**, se pretende acoplar la reacción de guanidinación estudiada para la síntesis de pirido[2,3-*d*]pirimidinas con diversidad en C2 ( $R^4$ ).



**Figura 1.46:** Posible acoplamiento de la reacción de guanidinación y de la reacción one-pot.

Dado que los rendimientos de la reacción multicomponente son excelentes, que el rendimiento de la reacción de guanidinación parece ser también elevado y que ambas reacciones se desarrollan en metanol como disolvente de reacción, el acoplamiento de ambas reacciones debería ser relativamente sencillo y permitir la obtención de los sistemas heterocíclicos con rendimientos notables.

Por lo tanto, en caso de ser exitoso, dicho acoplamiento representaría una metodología altamente versátil para la obtención de sistemas piridopirimidínicos y supondría ampliar enormemente el espacio químico accesible hasta el momento.

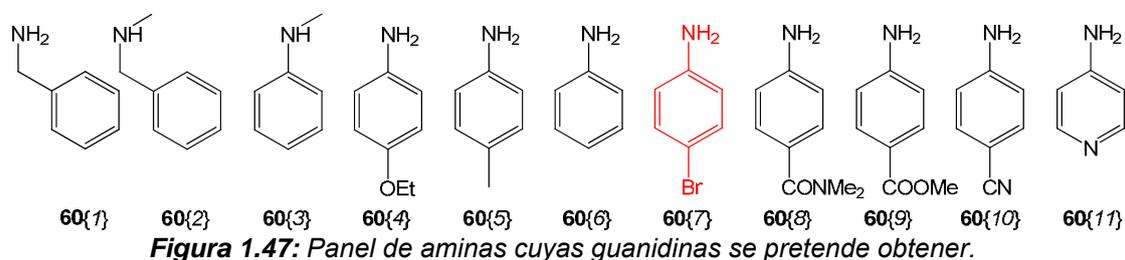
En referencia a la diversidad química que permite la reacción multicomponente de Victory cabe comentar que el Laboratorio de Síntesis del IQS dispone de estudios en profundidad (Mont, **2003** y Mont, **2005**) que establecen los perfiles posibles de sustitución de las posiciones C5 y C6 ( $R^1$  y  $R^2$ ) de las pirido[2,3-*d*]pirimidinas y que dependen del éster  $\alpha,\beta$ -insaturado de partida **31{x}**.

Por el contrario, el perfil de sustitución de la posición C2 ( $\text{NHR}^4$ ) de las pirido[2,3-*d*]pirimidinas que permite esta misma reacción no está tan definido como consecuencia de la escasez de guanidinas **50{y}** comercialmente asequibles. El presente trabajo pretende enmendar esta carencia.

En el presente estudio dichas guanidinas se obtienen mediante un proceso sintético previo y del que únicamente se conoce el comportamiento para la *p*-bromoanilina **60{7}** y para la anilina **60{6}**. En consecuencia, resulta particularmente pertinente estudiar la versatilidad del proceso de guanidinación antes de entrar en detalle en el acoplamiento de ambas reacciones.

### 1.4.1. Versatilidad de la reacción de guanidinación

La optimización de la reacción de guanidinación utiliza la premisa fundamental de que las condiciones de reacción para la amina modelo **60{7}** deberían ser generalizables para cualquiera de las aminas de las que se desea obtener la correspondiente guanidina y que se representan a continuación.



Esta pequeña selección pretende representar un amplio espectro químico, especialmente en cuanto a lo que se refiere a la nucleofilia de la amina.

A priori, las aminas **60{1}**, **60{4}**, **60{5}** y **60{6}** son más nucleófilas que la modelo, no se hallan impedidas estéricamente y, por ello, cabe suponer que las condiciones óptimas de reacción son más que suficientes para lograr un elevado grado de conversión. Por el contrario, para el resto de aminas puede que estas mismas condiciones no sean suficiente para lograr su conversión: para **60{2}** y **60{3}** por impedimento estérico y para **60{8}**, **60{9}**, **60{10}** y **60{11}** por falta de nucleofilia de la amina.

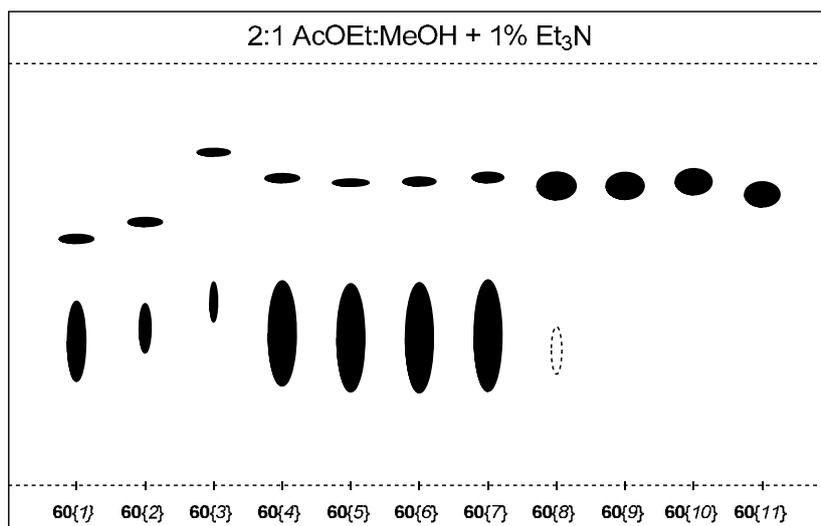
Así pues, para comprobar la versatilidad de la reacción de guanidinación se irradian con microondas mezclas de AIMSOA con cada una de las aminas según los parámetros de reacción óptimos determinados anteriormente:

Variable	Valor
$C_{AIMSOA}$ (mol · L <sup>-1</sup> )	0,65
<b>Amina:AIMSOA</b>	<b>2:1</b>
Volumen MeOH (mL)	1,5
<b>Temperatura (°C)</b>	<b>65,0</b>
<b>Tiempo (min)</b>	<b>8,0</b>

**Tabla 1.18:** Condiciones de guanidilación con AIMSOA. En negrita las condiciones optimizadas.

Para evaluar el grado de conversión de cada una de estas aminas en su correspondiente guanidina se analiza el crudo de reacción a dos niveles:

- cualitativamente: mediante CCF, empleando como eluyente una mezcla 2:1 de AcOEt:MeOH y 1% trietilamina, revelando con luz UV de 254 nm y por reacción con ninhidrina;
- cuantitativamente: mediante <sup>1</sup>H-RMN en metanol deuterado y el consiguiente cálculo de la variable Y tal como se ha descrito anteriormente (ecuaciones 1.1, 1.2 y 1.3).



**Figura 1.48:** CCF del comportamiento de la guanidinación frente al panel de aminas.

El análisis mediante CCF de los crudos de reacción indica que la reacción de guanidinación optimizada en el presente trabajo funciona de manera adecuada en el caso de aminas de considerable basicidad (**60{1}**, **60{4}**, **60{5}**, **60{6}** y **60{7}**) pero no funciona tan bien en caso de que las aminas sean estéricamente impedidas (**60{2}** y **60{3}**).

Para las aminas menos básicas (**60{8}**, **60{9}**, **60{10}** y **60{11}**) la CCF indica que esta reacción de guanidinación no es conveniente para obtener las correspondientes guanidinas. De hecho, únicamente se aprecia una mínima evolución de la reacción para la amina **60{8}**.

Amina	Y	Amina	Y
<b>60{1}</b>	1,021	<b>60{7}</b>	1,014
<b>60{2}</b>	0,543	<b>60{8}</b>	0,055
<b>60{3}</b>	0,187	<b>60{9}</b>	0,000
<b>60{4}</b>	1,007	<b>60{10}</b>	0 <sup>1</sup>
<b>60{5}</b>	0,998	<b>60{11}</b>	0 <sup>1</sup>
<b>60{6}</b>	1,051		

**Tabla 1.19:** Valores de Y para las aminas. <sup>1</sup> valor extrapolado de la CCF por analogía a **60{9}**.

Los resultados referidos en la tabla anterior confirman las apreciaciones generales referidas en el análisis de la CCF.

Concretamente, las aminas arilalquil y aril monosustituidas **60{1}**, **60{4}**, **60{5}**, **60{6}** y **60{7}** presentan valores de Y que indican que la reacción transcurre de manera óptima y que las conversiones y rendimientos logrados deben ser notables.

Por el contrario, las aminas disustituidas **60{2}** y **60{3}** presentan valores de Y bastante inferiores. Es de suponer, pues, que el impedimento estérico dificulta sustantivamente la reacción de guanidinación. Además, se aprecia que la *N*-metilanilina reacciona sensiblemente peor que la *N*-bencil-*N*-metilamina, lo que se debe a su menor nucleofilia resultante de la conjugación con el grupo aromático.

Así mismo, aquellas anilinas cuyos anillos aromáticos presentan sustituyentes aceptores mesómeros claramente no reaccionan por la falta de nucleofilia de sus grupos amina. No

obstante, parece que la *p*-(*N,N*-dimetil)carbamoilánilina reacciona casi imperceptiblemente, debido a que el grupo amida es un aceptor mesómero relativamente más débil que el resto de los considerados en el panel de aminas.

Finalmente, cabe comentar que existe una prueba adicional de la falta de reactividad de alguna de las aminas: a pesar de que todas ellas son totalmente solubles en las condiciones ensayadas, tras el pertinente tiempo de irradiación se observa la presencia de un sólido blanco amorfo en el fondo de los viales de reacción. Este precipitado se identifica inequívocamente (AEO e IR) como AIMSOA, lo que indica que en las condiciones de reacción fijadas el auxiliar de guanidinación no es capaz de reaccionar ni con la amina ni con el propio disolvente, a pesar de su marcado carácter nucleófilo.

Ante la falta de reactividad de algunas de las aminas consideradas en el panel y que representan las tipologías menos favorecidas para la obtención de guanidinas mediante reacciones de sustitución nucleófila, se plantea la posibilidad de ampliar el tiempo de reacción y así lograr aumentar su conversión en guanidinas.

En ningún caso se considera aumentar la temperatura de reacción pues anteriormente se demuestra que resulta perjudicial. Así mismo, por los resultados expuestos en apartados anteriores tampoco se considera incrementar la proporción de amina frente a AIMSOA.

Así pues, tras someter las correspondientes mezclas a irradiación de microondas durante 20 min se obtienen crudos de reacción cuyo análisis rinde los siguientes resultados:

<i>Amina</i>	<i>Y</i>	<i>Amina</i>	<i>Y</i>
<b>60{2}</b>	0,616	<b>60{9}</b>	0,000
<b>60{3}</b>	0,203	<b>60{10}</b>	0 <sup>1</sup>
<b>60{8}</b>	0,061	<b>60{11}</b>	0 <sup>1</sup>

**Tabla 1.20:** Valores de *Y* para las aminas. <sup>1</sup> valor extrapolado de la CCF por analogía a **60{9}**.

Como se puede observar, el grado de conversión para la amina **60{2}** mejora ligeramente (incremento de *Y* de 0,073), para la amina **60{3}** mejora de manera casi imperceptible (incremento de *Y* de 0,016) y para la amina **60{8}** es despreciable (incremento de *Y* de 0,006). Para el resto de aminas sigue sin apreciarse la más mínima conversión en sus correspondientes guanidinas. Es decir, incrementar el tiempo de reacción no mejora sustancialmente la capacidad de guanidinación del AIMSOA.

Por el contrario, sí que se observa la completa desaparición del sólido blanco identificado anteriormente como AISMOA: o bien su cinética de disolución es tan lenta que requería mayor tiempo de solubilización, o bien ha tenido suficiente tiempo para rendir el subproducto derivado de la reacción secundaria con el propio disolvente. En el primer caso, alargar el tiempo de reacción permitiría lograr una mayor conversión de las aminas. Por el contrario, en el segundo caso, alargar el tiempo de reacción rendiría idénticos resultados (sino peores). Para comprobarlo se alarga el tiempo de reacción de los 8 min a las 2 h: los valores de *Y* obtenidos son fundamentalmente los mismos.

Por lo tanto, se puede concluir que la falta de reactividad de las aminas menos favorecidas para el ataque nucleófilo provoca que el AIMSOA reaccione preferentemente con el metanol empleado como disolvente de reacción, tal como se indica anteriormente.

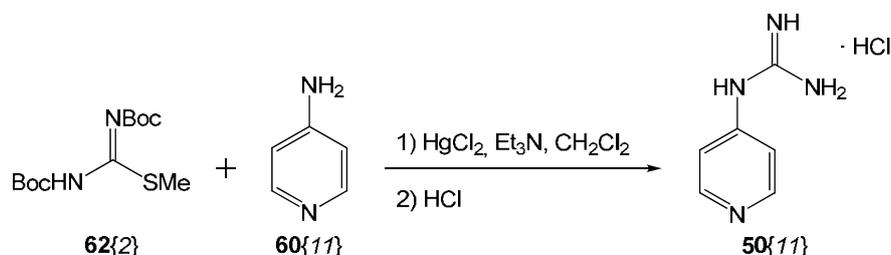
Para circunvalar este contratiempo se ensaya la guanidinación de la *p*-(*N,N*-dimetil)carbamoilánilina **60{8}** con disolventes similares al metanol pero presumiblemente menos nucleófilos: etanol, *n*-propanol, *i*-propanol, *n*-butanol y *tert*-butanol. No obstante, aumentando el tiempo de reacción (de 2 h a 24 h) e incluso la temperatura (de 65 °C a 85 °C y 100 °C) no se observa en ningún caso que la reacción evolucione más allá de lo estimado hasta el momento. Además, en el fondo del vial de reacción suele quedar AIMSOA sin reaccionar (especialmente con *tert*-butanol a 2 h y 85 °C), lo que indica que, a pesar de reducir la competencia del disolvente, la amina es demasiado débil como nucleófilo y, por lo tanto, no rinde la correspondiente guanidina.

Algunos autores (Miller y Bischoff, **1986**) consiguen guanidilar este tipo de anilinas tan poco nucleófilas empleando el mismo agente de guanidinación pero en presencia de catálisis básica (carbonato potásico) en medio acuoso. Estos autores refieren rendimientos superiores al 80% tras 24 h de reacción a temperatura ambiente.

No obstante, al aplicar esta metodología sobre la *p*-metoxicarbonilánilina **60{9}** empleando como disolvente el metanol no se logra la más mínima conversión ni aumentando la temperatura por encima de la de ebullición: calefacciones a 65 °C, 85 °C y 100 °C por irradiación con microondas en vial sellado. Presumiblemente, la falta de reactividad de la *p*-metoxicarbonilánilina sumada a la poca solubilidad en metanol de la base empleada son las causas del comportamiento observado, tan diferente del referido en el trabajo citado.

Para mejorar la solubilidad de las bases se ensayan el carbonato de cesio y la trietilamina que son más solubles en medios orgánicos. Desgraciadamente, los resultados obtenidos son los mismos.

Por último, con la intención de forzar la reacción de estas anilinas tan desactivadas por los efectos mesómeros de sus sustituyentes se decide recurrir a un agente de guanidinación mucho más potente: la *N,N'*-di-*tert*-butoxicarbonil-*S*-metilisotiurea **62{2}**.



**Figura 1.49:** Guanidinación de la 4-aminopiridina mediante un agente más potente.

En la bibliografía (Addicks et al., **2002** y Barber et al., **2002**) dicho agente es empleado para sintetizar la guanidina de la 4-aminopiridina **60{11}** (el caso más desfavorable de los considerados) en presencia de catálisis de cloruro de mercurio (II) y la trietilamina en cloruro de

metileno como disolvente de reacción. Posteriormente, en este mismo medio se adiciona la cantidad de ácido clorhídrico conveniente para eliminar los grupos protectores y obtener la guanidina en forma de clorhidrato.

Si bien es cierto que la reacción transcurre convenientemente tal como está descrita en la bibliografía, al intentar realizarla en metanol -disolvente necesario para el acoplamiento con la reacción multicomponente posterior- el agente de guanidinación reacciona únicamente con el disolvente.

Resumiendo, al considerar los resultados de todos estos ensayos con aminas tan poco nucleófilas, resulta evidente que no es posible obtener sus correspondientes guanidinas en metanol como consecuencia de la nucleofilia del propio disolvente. Es por ello que se descartan como productos de partida para el presente trabajo las aminas **60{8}**, **60{9}**, **60{10}** y **60{11}**, y, en general, todas aquellas anilinas con anillos cargados de aceptores mesómeros.

Sin embargo, para lograr pirido[2,3-*d*]pirimidinas **35{x,y}** derivadas de estas aminas, siempre sería posible sintetizar las guanidinas en un medio no metanólico empleando otros agentes de guanidinación (especialmente la *S*-metilisotiourea **62{2}** o la cianamida) y activarlas para la reacción multicomponente por tratamiento en metóxido sódico en metanol.

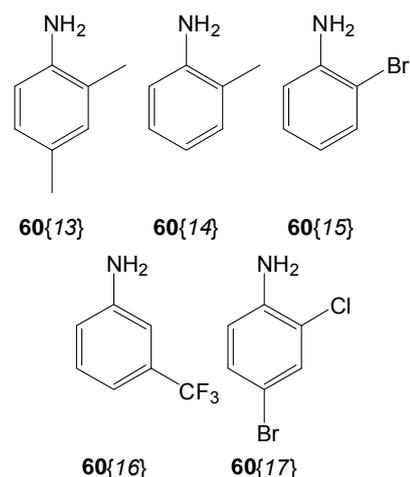
Ahora bien, quedan por resolver dos interrogantes relacionados con el método de obtención de guanidinas optimizado en el presente estudio:

- ¿hasta qué punto el impedimento estérico limita la guanidinación?
- ¿cuántos sustituyentes aceptores inductivos y de qué naturaleza limitan la conversión?

Para responder a estos interrogantes, se intentan obtener las guanidinas de las anilinas referidas en la figura adyacente.

Mediante la comparación de los valores de *Y* obtenidos para las tres primeras anilinas (**60{13}**, **60{14}** y **60{15}**) y para la amina modelo *p*-bromonanilina **60{7}** se puede discriminar el efecto del impedimento estérico del meramente atribuible al efecto inductivo de los sustituyentes.

Por otro lado, comparando los valores de *Y* obtenidos para las dos últimas anilinas (**60{16}** y **60{17}**) y la amina **60{7}** se puede establecer cuál es el efecto de los sustituyentes inductivos sobre el comportamiento de la guanidinación.



**Figura 1.50:** Anilinas para estudiar los efectos estéricos e inductivos en la reacción de guanidinación.

Amina	Y	Amina	Y
<b>60{7}</b>	1,014	<b>60{15}</b>	0,237/0,751 <sup>1</sup>
<b>60{13}</b>	0,924	<b>60{16}</b>	0,171/0,537 <sup>1</sup>
<b>60{14}</b>	0,916	<b>60{17}</b>	0,000/0,038 <sup>1</sup>

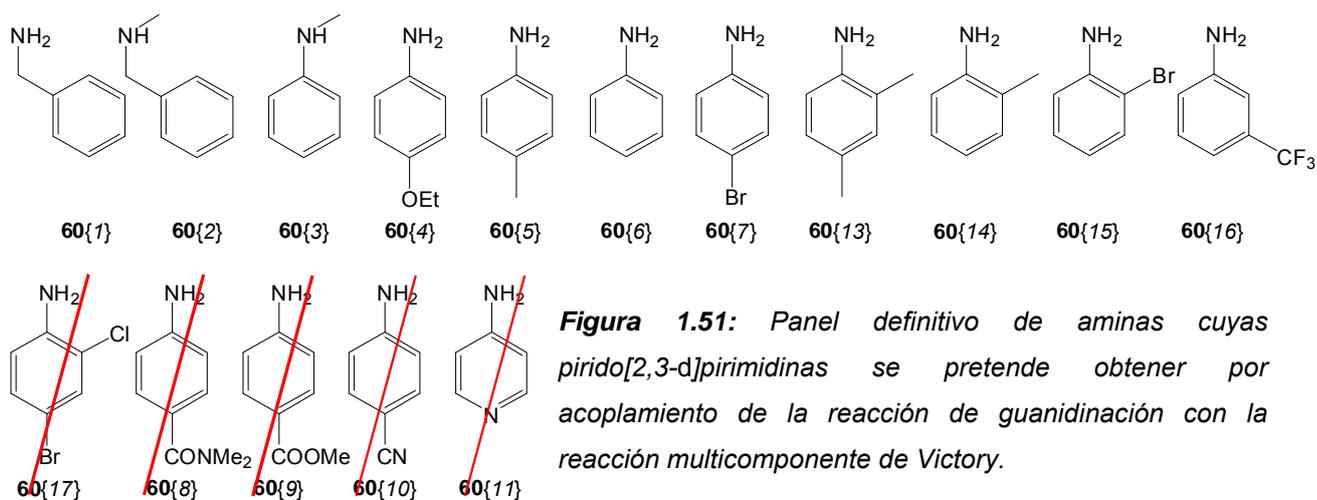
**Tabla 1.21:** Valores de Y para las nuevas aminas. <sup>1</sup> valores para una irradiación de 30 min.

De los valores obtenidos para **60{7}** y **60{15}** se puede deducir que el efecto del impedimento estérico causado por un sustituyente tan voluminoso como el bromo es muy significativo. Por el contrario, el metilo de **60{13}** y **60{14}** apenas afecta, pues es un sustituyente relativamente más pequeño.

Por otro lado, al considerar la diferencia entre los resultados de **60{13}** y **60{14}** se deduce que aumentar la cesión inductiva con un segundo metilo mejora mínimamente la guanidinación. Por el contrario, añadir un segundo aceptor inductivo reduce drásticamente el grado de conversión de la amina, tal como muestran los valores de **60{7}** y **60{17}**. Además, si se analizan los resultados de **60{7}** frente a los de **60{16}** se aprecia que al aumentar el efecto de acepción inductiva el grado de conversión de la amina disminuye muy significativamente.

A pesar de los efectos negativos observados como consecuencia del impedimento estérico y de la pérdida de nucleofilia por la presencia de varios aceptores inductivos, es posible mejorar la conversión de las aminas aumentando el tiempo de reacción de los 8 min a los 30 min tal como se aprecia en la anterior tabla (**60{15}** y **60{16}**).

En conclusión, el sistema de guanidinación con AIMSOA en medio metanólico es deficiente a la hora de obtener las guanidinas de aminas muy impedidas o muy poco nucleófilas. Por lo tanto, este tipo de aminas quedan fuera de las posibilidades del acoplamiento estudiado en el presente trabajo. Es por este motivo que el panel de aminas considerado inicialmente queda modificado tal como se refleja en la siguiente figura.



**Figura 1.51:** Panel definitivo de aminas cuyas pirido[2,3-d]pirimidinas se pretende obtener por acoplamiento de la reacción de guanidinación con la reacción multicomponente de Victory.

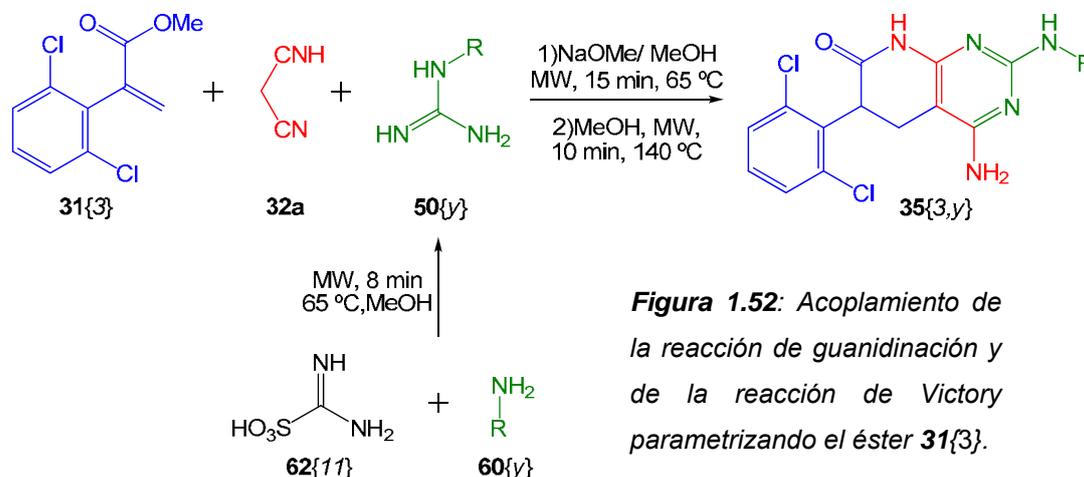
### 1.4.2. Acoplamiento de las reacciones de guanidinación y Victory

En esta parte del estudio se pretende realizar el acoplamiento de la reacción de guanidinación con la reacción de Victory para todas y cada una de las aminas del panel referido en la figura anterior.

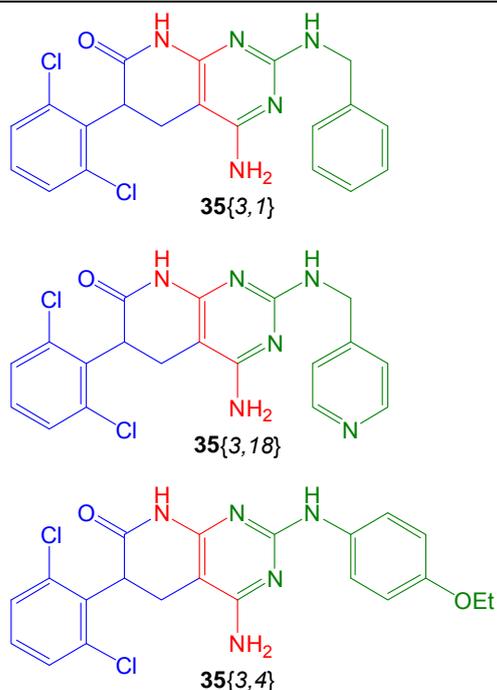
Ahora bien, además de las correspondientes guanidinas **50**{y}, la reacción multicomponente requiere de dos reactivos más para construir la estructura 4-aminopirido-[2,3-d]piridimina **35**{x,y}: el malononitrilo **32a** y un éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31**{x}. Este último reactivo es una de las mayores fuentes de diversidad del biciclo y, por ello, además de influir enormemente en las propiedades de la molécula final, también influye en el proceso sintético multicomponente que rinde el heterociclo. En consecuencia, para analizar la bondad del acoplamiento de ambas reacciones parece conveniente minimizar la variabilidad atribuible al proceso ya conocido (la reacción de Victory) y para ello se pretende emplear un único éster **31**{x} como modelo. De este modo, los rendimientos obtenidos para el acoplamiento de cada una de las aminas frente a este mismo éster deberían arrojar información concreta sobre la reacción de guanidinación y el acoplamiento con la reacción *one-pot* para una determinada.

El éster escogido es el 2-(2,6-diclorofenil)acrilato de metilo **31**{3} porque la presencia del residuo diclorofenil en sistemas heterobíclicos como los que se pretenden obtener resulta ser muy atractiva desde el punto de vista bioquímico (Klutchko et al., **1998**; Thompson et al., **2000**; Schroeder et al., **2001** y Thompson et al., **2005**). Además, puesto su síntesis ha sido descrita anteriormente (Mont, **2005**), su elección simplifica el estudio del acoplamiento.

En resumen, se trata cada amina con defecto de AIMSOA (2:1 amina:AIMSOA) irradiando la solución metanólica con microondas a 65 °C durante 8 min (30 min para **60**{15} y **60**{16}). A continuación, sobre el crudo de reacción se adiciona metóxido sódico (2:1 NaMeO:AIMSOA) y se irradia la solución durante 15 min a 65 °C. Se filtra el sulfito sódico precipitado y se adiciona el éster (3:1 AIMSOA: **31**{3}) y el malononitrilo (3:1,2 AIMSOA:**32a**). Tras irradiar la mezcla 10 min a 140 °C se deberían obtener las pirido[2,3-d]pirimidinas precipitadas en el medio. Tras aislar por filtración, se lavan los sólidos obtenidos con abundante agua, etanol y éter dietílico, se secan a la atmosfera a temperatura ambiente y se caracterizan.



**Figura 1.52:** Acoplamiento de la reacción de guanidinación y de la reacción de Victory parametrizando el éster **31**{3}.



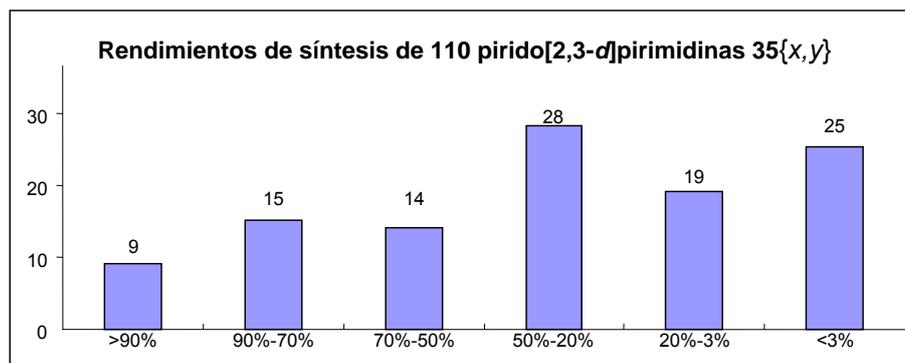
Amina	Biciclo	Rdto (%)
<b>60{1}</b>	<b>35{3,1}</b>	49,8
<b>60{18}</b>	<b>35{3,18}</b>	54,7
<b>60{4}</b>	<b>35{3,4}</b>	13,4

**Tabla 1.22:** Rendimientos de los términos de acoplamiento.

**Figura 1.53:** Términos de acoplamiento obtenidos.

Tras realizar el acoplamiento de ambas reacciones para la bencilamina  $60\{1\}$  se obtiene el correspondiente sistema bicíclico  $35\{3,1\}$  con un rendimiento (49,8 %) sorprendentemente bajo teniendo en cuenta que la  $Y$  correspondiente a la reacción de guanidinación es muy elevada (1,021). Para justificar esta observación se plantean tres posibilidades:

- La reacción de guanidinación no consigue convertir correctamente la amina: cabe recordar que para la anilina  $60\{6\}$  y la *p*-bromoanilina  $60\{7\}$  los valores de  $Y$  son de alrededor de 1 y que se corresponden con rendimientos de guanidina aislada de 85,4 % y 78,1 % respectivamente. Por lo tanto, teniendo en cuenta el valor de  $Y$  correspondiente a la bencilamina  $60\{1\}$ , parece que la guanidinación es casi completa y, en principio, se debe descartar esta opción.
- La reacción de Victory no funciona correctamente para sistemas guanidínicos más complejos que la propia guanidina: los trabajos anteriores del Laboratorio de Síntesis del IQS (Mont, 2005) sobre la reacción multicomponente muestran que el proceso sintético es bastante versátil pero que la mayoría de sus rendimientos son iguales o inferiores al 50 %, es decir, del orden del obtenido para el caso de la amina  $60\{1\}$ . Por lo tanto, parece que esta reacción se comporta de modo habitual.



**Figura 1.54:** Rendimientos para la síntesis de 110 biciclos mediante la reacción de Victory.

- La solubilidad en el crudo de reacción de los productos obtenidos es mayor: la presencia de residuos voluminosos en la estructura heterocíclica puede tener un efecto similar al de la protección del nitrógeno lactámico (Marsellés, 1997). Es decir, se impide la asociación de diversas unidades de piridopirimidina a través de sus grupos capaces de formar puentes de hidrógeno y, por tanto, se favorece su solubilidad. Además, la presencia en el crudo de reacción del exceso de amina y guanidina sin reaccionar -amén de otros subproductos de reacción altamente polares- puede contribuir a codisolver el heterociclo obtenido.

Trabajando en esta última hipótesis se analizan las aguas madres resultantes de la síntesis de la piridopirimidina **35{3,1}** mediante CCF (eluyente 2:1 AcOEt:MeOH, 1% Et<sub>3</sub>N) y mediante <sup>1</sup>H-RMN. Los resultados obtenidos de sendos análisis se comparan con los del propio heterociclo, pero dada la complejidad del crudo de reacción únicamente parece deducirse que no queda piridopirimidina en solución.

Por la evidente similitud de la 4-aminometilpiridina **60{18}** con la bencilamina **60{1}** y considerando su disponibilidad en el laboratorio, se realiza su correspondiente acoplamiento con un rendimiento (54,7 %) similar al del análogo bencílico aunque ligeramente superior. De nuevo, el análisis del crudo de reacción no aclara inequívocamente la presencia o no de piridopirimidina **35{3,18}**, en solución. Por otro lado, el residuo piridínico es a todas luces más polar que el residuo arílico de **35{3,1}** y, por ello, sería esperable que fuera más soluble y, en consecuencia, su rendimiento menor. No obstante, la realidad es justo la opuesta. Probablemente esto es así porque el nitrógeno piridínico es capaz de actuar como dador de puente de hidrógeno y, por ello, favorece la insolubilidad de la piridopirimidina por asociación intermolecular con otras unidades del compuesto.

En resumen, los rendimientos de los acoplamientos de estas dos aminas alifáticas (**60{1}** y **60{18}**) sorprenden por ser relativamente bajos mientras que sus guanidilaciones transcurren convenientemente (Y de 1,021 y de 0,989 respectivamente). No se puede establecer claramente si la causa de estos sorprendentes rendimientos es la solubilidad de los compuestos en el crudo de reacción aunque las CCF y <sup>1</sup>H-RMN realizadas no apuntan en esta dirección. Así pues, la única causa que aún queda por explorar es la propia reacción de Victory.

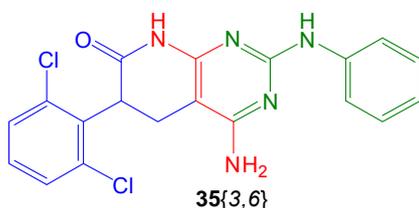
Al realizar el acoplamiento de la guanidinación y la reacción multicomponente para la *p*-etoxianilina **60{4}** se obtiene la piridopirimidina correspondiente con un rendimiento extremadamente bajo (13,4 %) en comparación con productos similares obtenidos en trabajos anteriores (Mont, 2005). De nuevo, el análisis del crudo de reacción parece indicar que no queda heterociclo en solución pero la información sigue sin ser concluyente.

Ante este comportamiento y con el ánimo de poder establecer las causas de los bajos rendimientos se decide realizar el acoplamiento con alguna amina la guanidina de la cual sea comercial y que ya se utilizara en los citados estudios previos.

Tal y como se ha comentado anteriormente no existe una gran variedad de guanidinas asequibles comercialmente. Afortunadamente, la fenilguanidina **50{6}** sí lo es y además ya se empleó en los estudios desarrollados por el Laboratorio de Síntesis. Es por ello que se conocen los rendimientos de obtención de multitud de 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas mediante la reacción multicomponente de Victory empleando esta guanidina como *building block*.

Para más fortuna si cabe, el heterobíciclo **35{3,6}** que se pretende obtener por acoplamiento de ambas reacciones en el presente estudio ya fue obtenido en estos estudios con un rendimiento del 92 % (Mont, **2005**).

En este punto cabe destacar que la fenilguanidina comercial de Sigma-Aldrich empleada en esta parte del estudio es una mezcla de carbonato e hidrogenocarbonato de la guanidina. Su composición y masa molar exacta se determina por AEO:  $C_7H_9N_3 \cdot (CH_2O_3)_{0,7}$ ,  $178,56 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ . Conocer este dato es de suma importancia para adicionar la cantidad de base (metóxido sódico) necesaria para poder activar toda la guanidina.



**Figura 1.55:** Piridopirimidina cuya obtención se emplea para estudiar el acoplamiento de las reacciones.

Fuente Guanidina	Rdto (%)
Comercial	20,5
2:1 Amina:AIMSOA	18,7
1:1,5 Amina:AIMSOA	19,3

**Tabla 1.23:** Rendimientos de **35{3,6}** según la fuente de la fenilguanidina.

Sorprendentemente, empleando la fenilguanidina comercial la reacción multicomponente permite obtener el correspondiente sistema bicíclico con un rendimiento muy inferior al descrito previamente: 20,5 % frente al 92 %. Por otro lado, si se acoplan ambas reacciones y la guanidínación se realiza con una proporción de anilina:AIMSOA de 2:1, el rendimiento es del 18,7 %, muy similar al que se obtiene con fenilguanidina comercial.

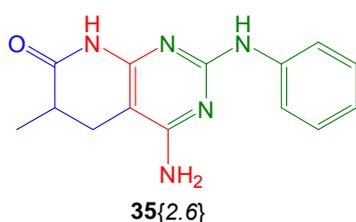
A pesar de que ambos rendimientos son muy similares -apenas divergen un 2 %-, se plantea la posibilidad de que el exceso de amina presente en el medio de reacción durante el proceso multicomponente pueda ser la causa del bajo rendimiento. Es decir, la reacción de guanidínación se desarrolla en unas condiciones tales que -suponiendo conversión completa- tras su conclusión rinde una mezcla equimolar de guanidina y amina. Por lo tanto, durante la reacción de Victory la una y la otra, como sustancias de elevada nucleofilia que son, pueden competir entre sí y, por consiguiente, maximizar la obtención de subproductos solubles en el medio y minimizar la formación de piridopirimidina.

En consecuencia, para comprobar esta posible interferencia de la amina se debe realizar la reacción de guanidínación en defecto de anilina y así minimizar su presencia en el medio a la hora de desarrollar la reacción *one-pot*.

Para determinar unas condiciones adecuadas a tal propósito se recurre al modelo matemático de  $Y$  ajustado durante la optimización de condiciones de la guanidinación. Según este modelo, irradiando una mezcla de 1,5:1 AIMSOA:anilina durante 30 min a 65 °C debería ser suficiente para lograr una conversión casi completa. Al realizar la guanidinación según estas condiciones se determina un valor de  $Y$  de 0,977. Este resultado indica que la guanidinación transcurre de manera conveniente y casi completa.

A continuación, con el acoplamiento de ambos procesos sintéticos se obtiene la piridopirimidina **35**{3,6} con un rendimiento del 19,3%. Este rendimiento es del orden de los obtenidos en los otros dos ensayos. Sin embargo, también es ligeramente inferior al descrito para la fenilguanidina comercial (1,2 %) y superior al correspondiente al ensayo de guanidinación 2:1 anilina:AIMSOA (un despreciable 0,6 %).

Antes de extraer conclusiones de estos resultados se considera conveniente estudiar otra piridopirimidina cuya síntesis ya se haya descrito anteriormente y que pueda sintetizarse a partir de una guanidina comercial y de la obtenida mediante las dos alternativas de la reacción de guanidinación.



**Figura 1.56:** Segunda piridopirimidina cuya obtención se emplea para estudiar el acoplamiento.

Fuente Guanidina	Rdto (%)
Comercial	11,1
2:1 Amina:AIMSOA	8,6
1:1,5 Amina:AIMSOA	9,8

**Tabla 1.24:** Rendimientos de **35**{2,6} según la fuente de la fenilguanidina.

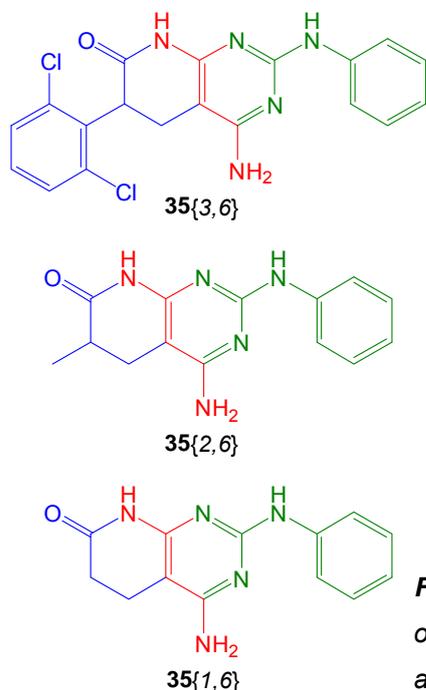
A tal efecto se escoge la 4-amino-6-metil-2-fenilaminopiridopirimidina **35**{2,6} cuyo rendimiento descrito (Mont, **2005**) es superior al 98 %. Afortunadamente, la síntesis de este biciclo permite emplear de nuevo la fenilguanidina.

De nuevo los rendimientos obtenidos son todos ellos, en conjunto, muy inferiores al descrito bibliográficamente. Además, también empleando guanidinas sintetizadas *in situ* se obtienen rendimientos sensiblemente inferiores al obtenido con fenilguanidina comercial. E, incluso, se obtiene un rendimiento ligeramente inferior cuando la guanidina se obtiene mediante la reacción de guanidinación con exceso de amina (2:1 anilina:AIMSOA).

Por último, y a pesar de no tratarse de un producto sintetizado previamente, se decide realizar esta triple comparación de rendimientos con otro ejemplo más. El sistema bicíclico escogido es la 4-amino-2-fenilaminopiridopirimidina **35**{1,6}, cuyo éster de partida es el acrilato

de metilo **31**{1}, con el que no era posible obtener este tipo de sistemas hasta el desarrollo de la metodología multicomponente de Victory (Pinent, **1990** y Mont, **2005**).

Los resultados obtenidos reflejan una situación prácticamente idéntica a la observada en la obtención del heterociclo **35**{2,6}, incluso los rendimientos son comparables.



Fuente Guanidina	<b>35</b> {3,6}	<b>35</b> {2,6}	<b>35</b> {1,6}
Comercial	20,5 %	11,1 %	12,6 %
2:1 Amina:AIMSOA	18,7 %	8,6 %	9,7 %
1:1,5 Amina:AIMSOA	19,3 %	9,8 %	11,0 %
Bibliografía <sup>1</sup>	92 %	> 98 %	-

**Tabla 1.25:** Rendimientos obtenidos con el acoplamiento y con el uso de fenilguanidina comercial. <sup>1</sup> valores referidos por Mont, 2005.

**Figura 1.57:** Sistemas heterocíclicos cuya obtención se emplea para estudiar el acoplamiento de ambas reacciones.

Considerados en su globalidad estos resultados permiten extraer ciertas conclusiones preliminares sumariamente referidas a continuación:

- Por la poca diferencia de rendimiento en la obtención de los correspondientes biciclos acoplando ambas versiones de la reacción de guanidinación, se puede concluir que el grado de conversión de la amina en su correspondiente guanidina es equivalente por ambos casos métodos. Esta conclusión concuerda perfectamente con los valores de Y determinados a partir de los <sup>1</sup>H-RMN de los crudos de la reacción de guanidinación.

Variable	Variante 1	Variante 2
Tiempo (min)	8,0	30,0
Amina:AIMSOA	2:1	1:1,5
Temperatura (°C)	65,0	65,0
Y	1,051	0,977

**Tabla 1.26:** Valores de Y para la fenilguanidina según las condiciones de guanidinación.

- La pequeña diferencia de rendimiento de los términos de acoplamiento para ambas versiones de la reacción de guanidinación, lejos de corresponderse con las diferencias de los valores de Y, debe atribuirse a la reacción de Victory. Se postula que el exceso de amina (resultado de la guanidinación 2:1 amina:AIMSOA) provoca cierta disminución del rendimiento por aumentar la presencia de sustancias nucleófilas en el medio. Así pues, compiten por el éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31**{x}

durante la reacción multicomponente el malononitrilo **32a**, la amina **60{x}** y la guanidina **50{x}**.

- Los rendimientos de obtención de las distintas piridopirimidinas son semejantes independientemente de la fuente de la guanidina. Esta semejanza indica que es posible emplear de manera equivalente la guanidina comercial o la guanidina obtenida *in situ* mediante cualquiera de las versiones de la reacción de guanidinación. Teniendo en cuenta esta observación, se puede concluir que el acoplamiento de la reacción multicomponente de Victory y la reacción de guanidinación con AIMSOA en metanol funciona convenientemente.
- Desgraciadamente, se observa que los rendimientos experimentales son muy similares entre sí pero distan enormemente de los rendimientos descritos anteriormente para sistemas bicíclicos idénticos. Esta constatación indica la necesidad de analizar con mayor detenimiento el comportamiento de la reacción multicomponente cuando se emplean sistemas arilguanidínicos.

En resumen, la reacción de guanidinación transforma las aminas en sus correspondientes guanidinas convenientemente y el acoplamiento no parece suponer grandes problemas a pesar de percibirse una mínima pérdida de rendimiento. Desgraciadamente, los bajos resultados de la reacción multicomponente hacen necesario analizar con mayor detalle la reacción de Victory en el caso de emplear guanidinas de tipo arílico.

#### 1.4.2.1. Comportamiento de la reacción de Victory con fenilguanidinas

En esta parte del presente trabajo se pretende estudiar el comportamiento de la reacción multicomponente frente a factores que presumiblemente influyen en el desarrollo de la misma y, por ende, sobre el rendimiento de 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidina aislada.

Para este estudio se emplea la fenilguanidina **50{6}** comercial como guanidina modelo. Como éster, en lugar de emplear el 2-(2,6-diclorofenil)acrilato de metilo **31{3}** que debe sintetizarse *ex profeso*, se emplea el acrilato de metilo **31{1}** o el metracilato de metilo **31{2}** por la similitud de rendimientos observada, pero con preferencia del primero por ser sus rendimientos ligeramente superiores.

A continuación se analizan uno por uno aquellos aspectos que previsiblemente influyen sobre la reacción de Victory realizando cada experimento por duplicado, para mayor seguridad. Los resultados referidos son, pues, el promedio de la dos repeticiones de cada ensayo. Se pretende que el CV sea igual o menor al 10 % y, por ello, en caso de que algún par de ensayos no cumpla esta condición, se repite el par de ensayos hasta que la cumpla.

El malononitrilo **32a** es un compuesto sólido a temperatura ambiente, relativamente sensible a la luz y a lo largo del tiempo puede formar subproductos, algunos de ellos

coloreados de violeta. Estos compuestos pudieran propiciar reacciones secundarias indeseadas que dificulten la obtención de las piridopirimidinas.

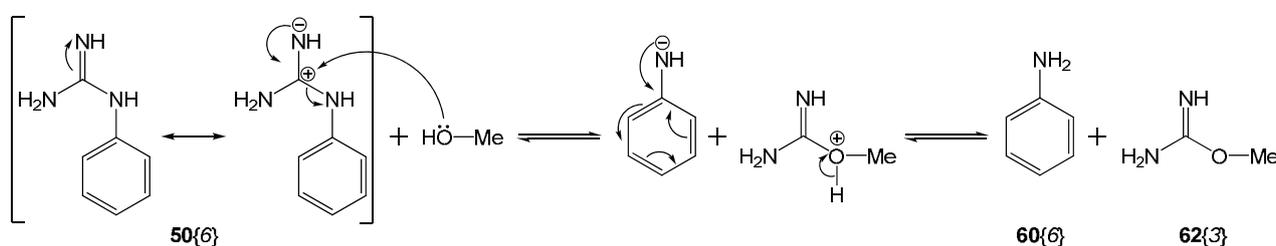
Para comprobar el posible efecto de la presencia de estas impurezas, se sintetiza el sistema bicíclico **35**{2,6} (derivado de metacrilato) con un malononitrilo muy coloreado en cuyo <sup>1</sup>H-RMN la señal atribuible a **32a** representa el 93 % y con un malononitrilo incoloro con un <sup>1</sup>H-RMN que no muestra señales de ninguna otra sustancia.

Malononitrilo	Rdto (%)
Coloreado	11,6
Incoloro	11,1

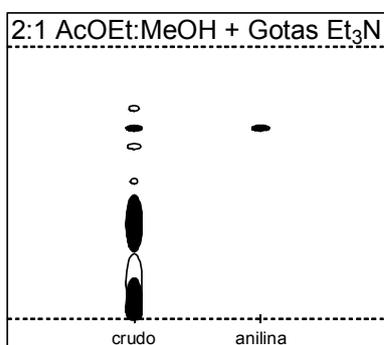
**Tabla 1.27:** Rendimientos de 6-metilpiridopirimidina según el malononitrilo empleado.

Según estos resultados, muy semejantes entre sí, no parece existir interferencia alguna en la reacción de Victory provocada por las impurezas derivadas del malononitrilo.

Tal como se ha expuesto anteriormente, el metanol (disolvente muy polar) puede reaccionar con la fenilguanidina para provocar su degradación a anilina. Esta reacción de reversión es más probable atendiendo al hecho que la anilina correspondiente es un grupo con deslocalización y, por lo tanto, buen grupo saliente. Además, como resultado de esta degradación se formaría la O-metilourea **62**{3} que no es un reactivo capaz de rendir los sistemas heterobíclicos mediante la reacción de Victory.



**Figura 1.58:** Degradación de la fenilguanidina por efecto del metanol.



**Figura 1.59:** CCF del crudo de reacción. En negro el revelado positivo con ninhidrina.

Así como con los crudos de reacción de los acoplamientos de ambas reacciones es difícil establecer la presencia de los heterobíclicos, los crudos de la reacción de Victory son más simples y permiten detectar productos comparativamente menos polares, como la anilina.

En la figura adjunta se puede comprobar que en el crudo de reacción se detecta la presencia de una sustancia con el mismo Rf que la anilina. Pero además, para comprobar su identidad, se revela la CCF con ninhidrina (revelador específico de aminas) y se confirma su presencia. Desgraciadamente, el 1H-RMN es muy complejo y no permite confirmar su presencia.

Así pues, queda confirmada la descomposición de parte de la fenilguanidina por efecto del disolvente. Ahora bien, esta descomposición puede agravarse en presencia de la base empleada, pues el metóxido sódico aumenta la nucleofilia del metanol. Para estudiar esta posibilidad, más adelante se expone una serie de ensayos con resultados muy esclarecedores.

Otro aspecto considerado es la activación de la guanidina. Tradicionalmente (Matallana, 1998), dicha activación se realiza por tratamiento en una solución recién preparada de metóxido sódico (sodio fundido sobre metanol anhidro) con los equivalente necesarios para desprotonar completamente la guanidina. Por ejemplo, para el carbonato de guanidina  $((\text{CH}_5\text{N}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3)$  se necesita 1 equivalente de metóxido sódico por cada equivalente de guanidina y para el carbonato de fenilguanidina  $(\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_3 \cdot (\text{H}_2\text{CO}_3)_{0,7})$  se requieren 1,4 equivalentes de metóxido sódico por cada equivalente de fenilguanidina. El tratamiento se completa calentando a reflujo (65 °C) durante 15 min. A continuación la solución se filtra para eliminar la sal precipitada (carbonato sódico en los ejemplos referidos) y rápidamente se le adicionan tanto el éster **31**{x} como el malonotrilo **32a** para iniciar la reacción multicomponente.

En el presente trabajo esta activación se realiza adicionando el metanol -no anhidro, aspecto que se considera más adelante- sobre una mezcla de sólidos que contiene las cantidades convenientes de sal de guanidina y metóxido sódico -comercial, aspecto que también se considera más adelante- y tratando inmediatamente con microondas 15 min a 65 °C. A partir de aquí se procede como en los anteriores trabajos.

Para comparar ambos procedimientos se sintetiza el sistema bicíclico **35**{1,6} (derivado de acrilato) activando la fenilguanidina según cada método. Los resultados muestran la absoluta igualdad de ambos proceder y, por lo tanto, se continúa empleando el segundo procedimiento por su mayor simplicidad.

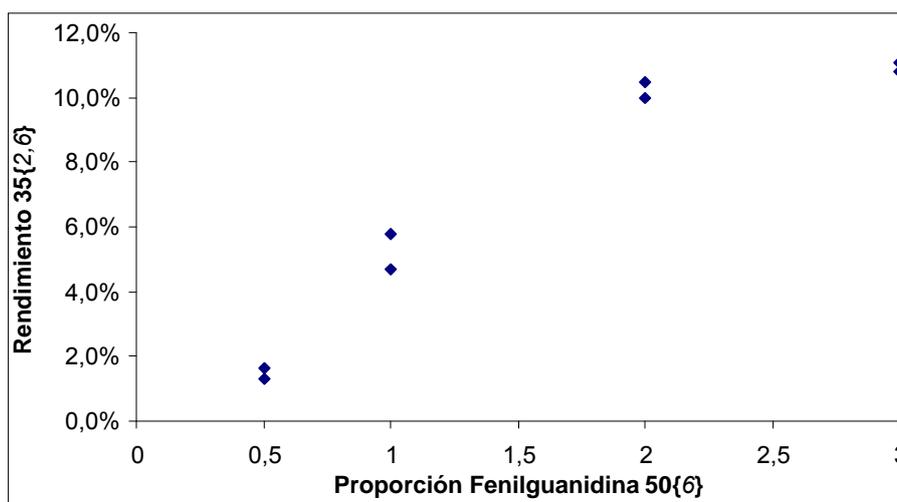
	Rdto (%)
Tradicional	12,7
MW	12,6
Mezcla Avanzada	2,3

**Tabla 1.28:** Rendimientos de piridopirimidina según como se active y trate la guanidina.

Adicionalmente, tras la activación de la guanidina, el filtrado y la adición del éster y el malononitrilo, se agita la mezcla a temperatura ambiente en vial sellado hasta la completa disolución de **32a** (10 min). A continuación se irradia 10 min a 140 °C y se obtiene el correspondiente biciclo con un rendimiento del 2,3 %. Esto demuestra que debe irradiarse la mezcla de los reactivos inmediatamente, incluso aunque no se disuelvan antes.

También debe considerarse la cantidad de guanidina necesaria para la reacción multicomponente. Trabajos anteriores establecen que la proporción conveniente entre reactivos es la siguiente: por cada equivalente de éster **31**{x} son necesarios 1,2 equivalentes de malononitrilo **32a** y 3 equivalentes de guanidina **50**{y} (Mont, 2005). Desgraciadamente el estudio de optimización de condiciones emplea únicamente una guanidina (carbonato de guanidina **50**{12}) y no compara el comportamiento de la reacción con otras guanidinas.

Para corroborar que la proporción de guanidina es la apropiada se sintetiza la piridopirimidina **35**{2,6} (derivada del metacrilato) variando la proporción de fenilguanidina respecto del éster pero manteniendo constante la proporción de malononitrilo.



**Figura 1.60:** Rendimientos de piridopirimidina según la proporción de fenilguanidina:éster.

Según los resultados obtenidos la proporción de 3:1 fenilguanidina:éster es la adecuada para la reacción multicomponente. Ahora bien, ateniendo al comportamiento asintótico también sería posible trabajar con la proporción 2:1 sin que ello suponga una gran pérdida de rendimiento (aproximadamente del 1%).

Considerando el método de calefacción también se plantea la posibilidad que alcanzar altas temperaturas mediante irradiación con microondas puede afectar al rendimiento de la reacción. La hipótesis es la siguiente: puesto que se observa la formación de anilina como producto de degradación de la fenilguanidina y la reacción asistida por MW transcurre a alta temperatura (140 °C vs 65 °C) es posible que en estas condiciones térmicas se favorezca la degradación de la guanidina y con ello se minimice el rendimiento de reacción.

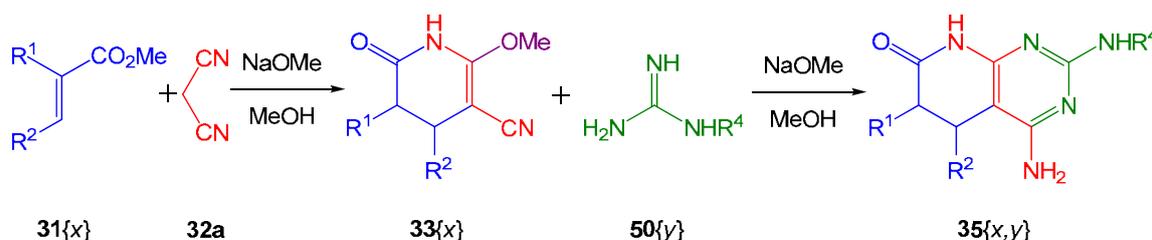
Condiciones	Rdto (%)
65 °C, 48 h	10,2
140 °C, 10 min	11,1

**Tabla 1.29:** Rendimientos de piridopirimidina según el método de calefacción.

Como se puede observar en los resultados reflejados en la tabla anterior, la calefacción a reflujo permite obtener la piridopirimidina con un rendimiento ligeramente menor. Por lo tanto, no parece que la calefacción a 140 °C perjudique el rendimiento de la reacción multicomponente.

En los estudios de la reacción de Victory no se emplea el metanol anhidro como disolvente de reacción (Mont, **2005**). Por el contrario, en estudios anteriores en los que este tipo de sistemas se obtienen en sucesivas etapas sintéticas a través de los intermedios piridónicos **33{x}** sí que se emplea el disolvente anhidro (Victory, **1985** y Matallana, **1998**).

La presencia de agua se prevé perjudicial para las bases utilizadas (todas sensibles a la humedad) y pudiera inactivarlas reaccionando con ellas. Por lo tanto, la activación de malononitrilo y fenilguanidina sería incompleta y faltaría la catálisis básica que trabajos anteriores postulan como necesaria para esta reacción (Matallana, **1998**). Así, pues el uso de un disolvente no anhidro debería repercutir muy negativamente sobre el rendimiento de reacción.



**Figura 1.61:** Obtención de 4-aminopiridopirimidinas mediante intermedio piridónico.

Los rendimientos de obtención la piridopirimidina **35{1,6}** (derivada de acrilato) empleando metanol anhidro y metanol no anhidro no son lo suficientemente diferentes para poder afirmar que es necesario emplear el disolvente seco para esta reacción. Por lo tanto, por ser más barato y más cómodo, se prefiere trabajar con metanol no anhidro.

Metanol	Rdto (%)
Anhidro	13,0
No anhidro	12,6

**Tabla 1.30:** Rendimientos de piridopirimidina según el grado de humedad del metanol.

También debe considerarse la base empleada para desarrollar la reacción multicomponente: puede ser sodio metálico, sodio metálico fundido en tolueno (purificado), metóxido sódico sintetizado a partir de sodio fundido y metanol, o metóxido sódico comercial. De hecho, hasta la fecha toda la química desarrollada por el Laboratorio de Síntesis venía empleando el sodio fundido como base -se disuelve en metanol por reacción generando *in situ* metóxido sódico- o bien el metóxido sódico sintetizado -se elimina el disolvente a presión reducida y el sólido obtenido se conserva convenientemente-.

Este tipo de reactivos son muy sensibles a las condiciones de conservación, es por ello que requieren atmosfera inerte y seca. En caso contrario acaban transformándose en óxidos y carbonatos cuya basicidad es menor y cuya estequiometría puede ser confusa.

Esta degradación no es un problema menor pues puede ser la causa de que no se añadan los equivalentes de base necesarios para activar la guanidina y el malononitrilo, y, en general, para el correcto desarrollo de la reacción multicomponente.

Base	Rdto (%)
Sodio	6,5
Sodio fundido	12,5
NaMeO sintetizado	12,4
NaMeO comercial	12,6

**Tabla 1.31:** Rendimientos de piridopirimidina según la base empleada.

Para estudiar la sensibilidad de la reacción de Victory al tipo de base empleada, se sintetiza la piridopirimidina **35{1,6}** (derivada de acrilato) empleando los equivalentes necesarios para activar la guanidina, es decir, 3:1 base:acrilato de metilo.

Los resultados muestran claramente que no existe una diferencia significativa entre emplear sodio fundido, metóxido sódico sintetizado a partir de sodio fundido y metóxido sódico comercial.

Por el contrario, el sodio no fundido es claramente una base insuficiente para el correcto transcurso de la reacción de Victory. Este metal, si no es tratado a reflujo en tolueno, se halla cubierto de óxidos y carbonatos cuya potencia como bases es claramente inferior a la necesaria. A partir de estos resultados y atendiendo al hecho de que todas las bases referidas son sensibles al aire y su humedad, debe hacerse todo el hincapié posible en la correcta conservación de estos reactivos en atmosfera inerte y bien seca.

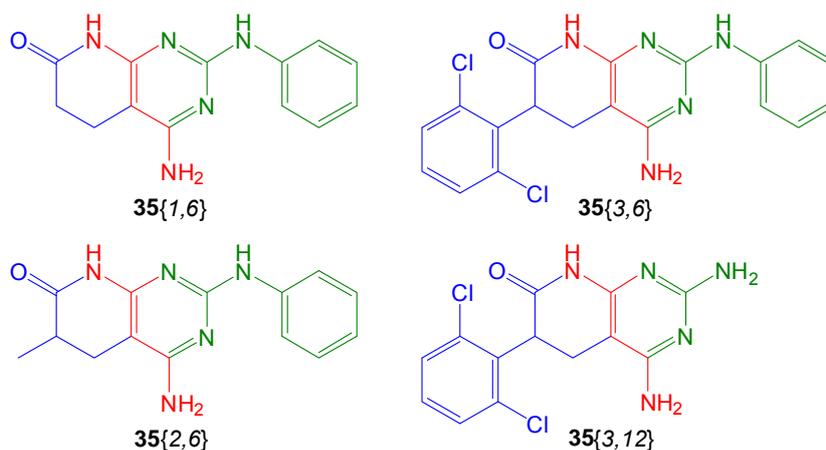
Así pues, por la simplicidad que supone utilizar el metóxido sódico comercial, se opta por él como base para la reacción multicomponente asegurando en todo momento una conservación extremadamente cuidadosa.

En este punto debe hacerse un comentario sobre los ensayos de acoplamiento referidos anteriormente. En aquellos experimentos se emplea el metóxido sódico comercial como base y, puesto que se acaba de comprobar la validez de su uso para la reacción multicomponente, debe asumirse que los resultados obtenidos son del todo representativos y válidos.

Por último, en este mismo apartado se confirma la descomposición de la fenilguanidina por efecto del disolvente, se intuye que un exceso de base puede contribuir a ella y se establece que una base en mal estado o con una estequiometría desconocida puede influir decisivamente en el rendimiento de la reacción multicomponente.

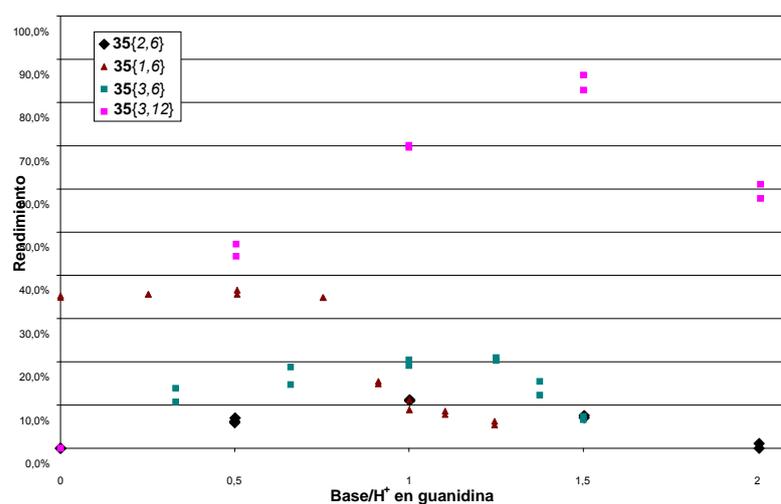
Para estudiar más en profundidad el efecto que puede tener la cantidad de base (como exceso o defecto) sobre el rendimiento de reacción, se realizan diversos ensayos manteniendo constante la proporción de todos los reactivos y variando únicamente la proporción de base.

Además, para ampliar la información obtenida de estos ensayos no se sintetiza únicamente un tipo de heterociclo, si no que se estudia la influencia de la cantidad de base para el conjunto de piridopirimidinas referidas en la siguiente figura.



**Figura 1.62:** Piridopirimidinas sintetizadas para determinar la influencia de la cantidad de base.

Previsiblemente, los comportamientos de los heterociclos derivados de fenilguanidina deberían ser análogos y sufrir una fuerte caída de rendimiento a medida que aumenta la cantidad de base como consecuencia de la degradación de la fenilguanidina inducida por el metóxido sódico. Por el contrario, el comportamiento de **35{3,12}** no debería mostrar esta dependencia respecto a la cantidad de base, pues la degradación causada por el metanol no se halla tan favorecida.



**Figura 1.63:** Curvas de rendimiento de piridopirimidina frente a cantidad de base.

En la figura anterior se ha referido la cantidad de base empleada a los protones presentes en la sal de guanidina, protones que es necesario neutralizar para activar toda la guanidina. Por ejemplo, si se trata 1 mol de carbonato de guanidina  $((\text{CH}_5\text{N}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3)$  con 1 mol de base, debería leerse el rendimiento de reacción a un valor de abscisas de 0,5 porque la sal tiene dos

equivalentes “ácidos” protonando dos unidades de guanidina. Otro ejemplo, si se trata 1 mol de carbonato de fenilguanidina ( $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,7}$ ) con 1,4 moles de metóxido sódico, el valor del rendimiento de reacción hay que buscarlo a un valor de abscisas de 1 porque la sal tiene 1,4 equivalentes “ácidos” protonando una unidad de fenilguanidina.

Una observación rápida del gráfico anterior permite percatarse de la absoluta diferencia de las cuatro curvas. Esto significa que las condiciones de la reacción de Victory no son generalizables si no que existen unas condiciones óptimas para la obtención de cada tipo de piridopirimidina en particular.

En general, todas las curvas menos la correspondiente a **35{1,6}** (derivado de acrilato y fenilguanidina) muestran un óptimo a partir de la total activación de la guanidina: abscisas de 1.

Concretamente, los rendimientos de los derivados de fenilguanidina **35{2,6}** y **35{3,6}** presentan un máximo alrededor de 1 a partir del cual sufren un descenso. Éste es previsible como consecuencia (en parte) de la degradación de fenilguanidina observada. Sorprende, sin embargo, que en el caso de **35{3,6}** el máximo de rendimiento se mantenga más o menos constante más allá de abscisas de 1 y hasta 1,25. Exceptuando esta anomalía su comportamiento es más o menos paralelo al de **35{2,6}**.

La curva del compuesto **35{3,12}** muestra un comportamiento análogo a los dos anteriores pero el máximo se halla desplazado hasta 1,5 de abscisas. Esta observación concuerda con la apreciación de que la fenilguanidina es más sensible que la guanidina al metanol empleado como disolvente de reacción. También viene a confirmar las observaciones realizadas en estudios anteriores en los que únicamente se trabaja con guanidina y según los que un pequeño exceso de base (aproximadamente 1,05 en valor de abscisas) cataliza el proceso (Matallana, 1998).

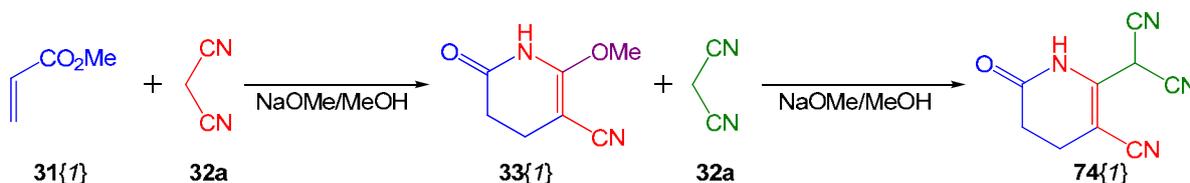
Heterociclo	Base/H <sup>+</sup>	Rdto max
<b>35{2,6}</b>	1	11,1 %
<b>35{3,6}</b>	1 - 1,25	20,5 %
<b>35{3,12}</b>	1,5	86,4 %

**Tabla 1.32:** Proporción de base de rendimiento máximo según la piridopirimidina sintetizada.

Por otro lado, debe destacarse que los rendimientos obtenidos con guanidina son muy superiores a los obtenidos con fenilguanidina. Al contrastar los resultados obtenidos para **35{3,6}** y **35{3,12}** puede apreciarse que la diferencia de comportamiento es claramente atribuible al cambio de guanidina.

A priori, las principales diferencias entre la guanidina y la fenilguanidina son la basicidad y la nucleofilia. Para ilustrarlo basta citar los pKa, que son, respectivamente, 13,71 y 10,88 (Albert et al., 1948).

Los resultados más inesperados son los correspondientes a la piridopirimidina **35{1,6}** (derivada de acrilato y fenilguanidina). El perfil de la curva indica que la reacción de Victory se desarrolla mejor en defecto de metóxido sódico que cuando la fenilguanidina ha sido activada completamente. Pero esta constatación no significa, en absoluto, que la reacción no transcurra en medio básico, sino que transcurre mejor en un medio básico más débil que el metóxido: el carbonato, que es el contra-anión de la sal de guanidina empleada.



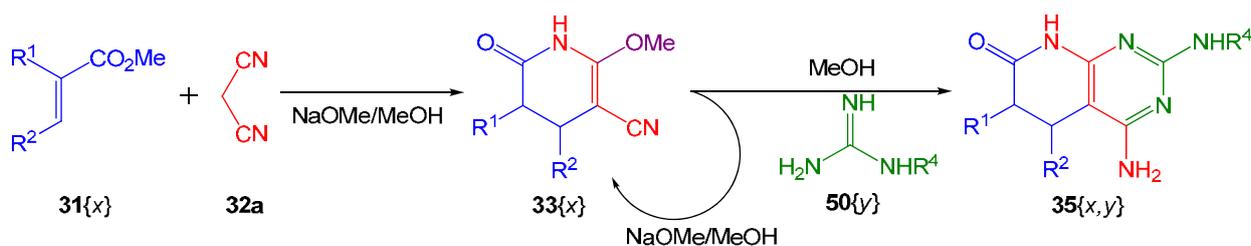
**Figura 1.64:** Sobre-reacción del acrilato en presencia de malononitrilo.

Trabajos anteriores postulan que la reacción de Victory transcurre a través de un intermedio piridónico **33{x}** (Mont, 2005). Pero para el exclusivo caso del acrilato de metilo, otros trabajos (Pinent, 1990) concluyen que no es posible obtener la piridinona **33{1}** pues sigue reaccionando para rendir el precursor de naftiridinas **74{1}**.

Según esto, el acusado descenso de rendimiento observado en la curva de **35{1,6}** puede ser explicado por la presencia de esta reacción en competencia. Ésta se maximiza por el pequeño exceso de malononitrilo (1:1,2) y porque, a medida que aumenta la presencia de base, la proporción de **32a** activado también aumenta. No obstante, tampoco debe descartarse que la degradación de la fenilguanidina y alguna otra reacción secundaria contribuyan a configurar el perfil decreciente de la curva.

Considerando estos resultados globalmente, sorprende que la degradación de la fenilguanidina pueda tener un efecto tan acusado sobre el rendimiento de reacción, especialmente si se recuerda que poca diferencia existe entre realizar la reacción de Victory con excesos de 2:1 o 3:1 de fenilguanidina:éster. Además, al estudiar los crudos de reacción en presencia de exceso de metóxido sódico se detecta anilina, pero no se aprecia un gran incremento respecto a los crudos con defecto de base. Parece, pues, que la degradación de la fenilguanidina no es capaz de justificar exclusivamente los perfiles observados.

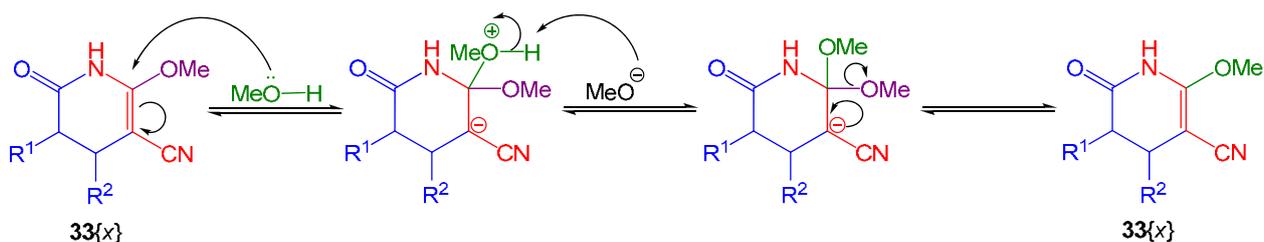
Por lo tanto debe existir alguna otra reacción en competencia que en medio básico más fuerte se ve especialmente favorecida. Es decir, el exceso de metóxido sódico activa un proceso alternativo a la reacción multicomponente. Pero, a parte de la fenilguanidina, ¿existe algún otro reactivo o especie intermedia especialmente susceptible al medio básico de metóxido sódico en metanol?



**Figura 1.65:** Consumo competente del intermedio piridónico.

Si se recupera el mecanismo de reacción postulado para la reacción de Victory, se puede observar la presencia del intermedio **33{x}**, que es un sustrato cuya sustitución etilénica está ampliamente contrastada (Victory, **1981**). Pues bien, para que este intermedio rinda la piridopirimidina correspondiente debe darse el ataque nucleófilo de la fenilguanidina sobre la posición etilénica. Pero en el medio de reacción existe también exceso de metóxido sódico que es una especie más nucleófila (además de básica) y también existe un gran exceso de metanol (disolvente de reacción) que también puede actuar como nucleófilo sobre el sistema piridónico, especialmente en presencia de catálisis básica.

Por lo tanto, los procesos de homosustitución se hallan favorecidos en el medio metóxido sódico/metanol y la baja nucleofilia de la fenilguanidina no supone una gran competencia.



**Figura 1.66:** Mecanismo de homosustitución de las piridonas en medio metóxido/metanol.

Recapitulando, en medio metanólico (especialmente con exceso de metóxido sódico) la fenilguanidina degrada parcialmente y la reacción multicomponente con guanidinas menos nucleófilas (como las fenilguanidinas) sufre la competencia del propio disolvente. Como consecuencia de todo ello, la reacción de Victory sufre una sensible disminución de rendimientos.

Así pues, mientras la guanidina y las alquilguanidinas -incluyendo aquellas obtenidas mediante el método de guanidinación con AIMSQA- reaccionan convenientemente en metanol empleando la metodología de la reacción multicomponente de Victory, es necesario hallar una alternativa a este protocolo para guanidinas menos nucleófilas como, por ejemplo, las aromáticas.

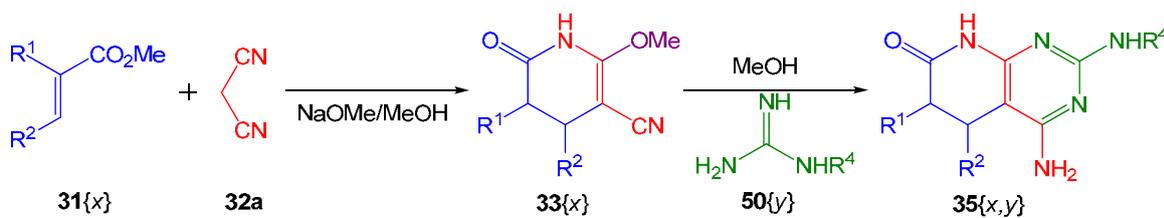
Las 2-arilaminopiridopirimidinas derivadas de acrilato merecen un estudio aparte por el comportamiento tan particular de sus intermedios de reacción y, por tanto, se tratan más en profundidad en el capítulo 2 del presente trabajo.

### 1.5. Obtención de 2-arilamino-4-aminopirido[2,3-d]pirimidinas a partir de 3-ciano-2-metoxipiridonas

El Laboratorio de Síntesis del IQS tiene amplia experiencia en la obtención de sistemas 4-aminopirido[2,3-d]pirimidínicos **35**{x,y}. De hecho, a lo largo de los años se han establecido dos posibles estrategias para su obtención: la estrategia cíclica (Victory et al., **1985**) y la estrategia acíclica (Matallana, **1998**).

Esta parte del presente trabajo se basará fundamentalmente en la estrategia cíclica que se divide en dos etapas bien diferenciadas:

- Formación del anillo piridónico **33**{x} mediante la condensación de ésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados **31**{x} con un exceso de 1,2 equivalentes de malononitrilo en medio metanólico básico (1,44 equivalentes de metóxido sódico).
- Formación del anillo de pirimidina y obtención de la 4-aminopirido[2,3-d]pirimidina **35**{x,y} mediante la condensación directa de las 2-metoxipiridonas **33**{x} con sistemas guanidínicos **50**{x} (previamente activados con metóxido sódico) en medio metanol.



**Figura 1.67:** Obtención de piridopirimidinas a través del intermedio 4-metoxi-3-cianopiridónico.

Todas estas etapas sintéticas se desarrollan en metanol como disolvente de reacción. Pero de los resultados referidos en los apartados anteriores se deduce que implementar la obtención de este tipo de heterociclos empleando arilguanidinas en medio metanol a temperatura elevada (140 °C para la reacción de Victory) no es lo más conveniente.

En primer lugar, las fenilguanidinas son sensibles al medio de reacción y sufren cierto grado de degradación. Concretamente, el metanol empleado como disolvente de reacción induce la liberación de la correspondiente anilina -buen grupo saliente gracias a la deslocalización de sus electrones en el anillo aromático- mediante un mecanismo de sustitución nucleófila.

En segundo lugar, tradicionalmente para la obtención de este tipo de heterociclos se emplea guanidina **50**{12} cuya nucleofilia es mucho más elevada que la de cualquier tipo de arilguanidina y, por ello, los rendimientos de reacción son muy elevados. Por desgracia, el metanol empleado como disolvente de reacción es bastante nucleófilo (y más con catálisis básica) y además se halla en un gran exceso respecto cualquier guanidina, por lo que difícilmente la fenilguanidina puede competir con él.

En tercer y último lugar, precisamente este descenso de la nucleofilia consecuencia de emplear arilguanidinas puede favorecer procesos secundarios que de otro modo se ven prácticamente eliminados y que minimizan el rendimiento de obtención de **35**{x,y}. Por ejemplo,

se sabe que en ciertos casos el metoxilo presente en las piridonas **33{x}** puede ser sustituido por otra unidad de malononitrilo **32a** (Pinent, 1990).

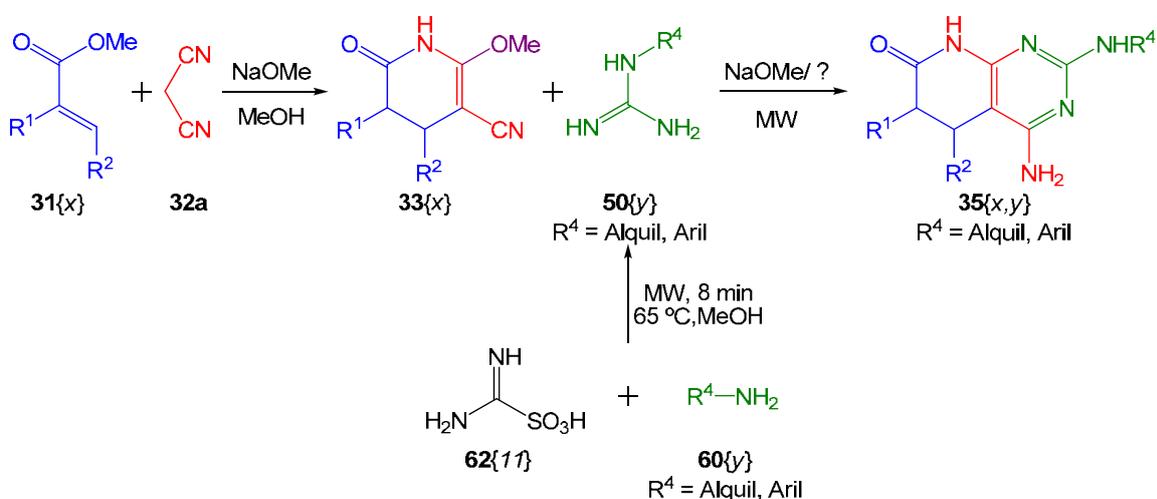
Analizando la metodología sintética para la obtención de las piridopirimidinas a través de los intermedios piridónicos, se observa que en la primera etapa sintética no interviene ningún reactivo tipo guanidínico y, por lo tanto, se puede implementar la metodología ya desarrollada (Victory, 1985).

Ahora bien, considerando la experiencia acumulada recientemente por el GEM en la síntesis asistida por microondas, se plantea realizar un pequeño estudio para su implantación en la obtención de los sistemas piridónicos **33{x}**.

Al considerar la segunda etapa del itinerario sintético resulta evidente que es la etapa en la que la baja nucleofilia de las arilguanidinas es más crítica. Es en esta etapa del proceso en la que debe darse la sustitución nucleófila del metoxilo de la posición C2 de las piridonas **33{x}**.

Puesto que se considera que el metanol no es el disolvente más adecuado para favorecer esta sustitución nucleófila, debe estudiarse su reemplazo por algún otro disolvente que no sea nucleófilo. Con ello se pretende facilitar la adición de las fenilguanidinas sobre los sistemas piridónicos.

Por último, atendiendo a los resultados obtenidos en los anteriores puntos de trabajo, se pretende hallar el modo de obtener los sistemas piridopirimidínicos **35{x,y}** a través de los intermedios piridónicos **33{x}** acoplado el método de guanidinación implementado anteriormente. Esta nueva metodología sintética sería especialmente apropiada para obtener los heterociclos de aminas aromáticas pues la reacción de Victory no es conveniente por sus bajos rendimientos.



**Figura 1.68:** Acoplamiento de la guanidinación y el intermedio piridónico.

### 1.5.1. Obtención de las piridonas 33{x} asistida por microondas

Tradicionalmente la síntesis de los sistemas 3-ciano-2-metoxipiridónicos **33{x}** se ha realizado de la siguiente manera (Victory et al., 1985):

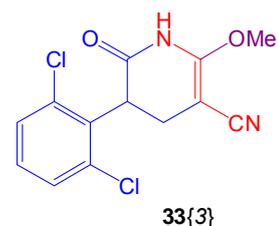
- Disolución en metanol anhidro de 1,44 equivalentes de sodio metálico purificado por fusión en tolueno.
- Tras la completa disolución del metal, adición de 1,2 equivalentes de malononitrilo **32a** y agitación en atmosfera inerte hasta disolución y atemperación térmica al ambiente.
- Adición lenta del correspondiente éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31{x}** y reflujo (65 °C) durante un tiempo entre las 1,5 h y las 5 h.
- Eliminación del disolvente por destilación al vacío, reconstitución con la mínima cantidad de agua que disuelva el residuo y precipitación de la piridona por neutralización a pH 7 con ácido clorhídrico 6 M.
- Lavado del sólido con abundante agua fría (eliminación de restos de ácido y malononitrilo) y secado por disolución en cloruro de metileno y adición de sulfato magnésico anhidro.
- Filtración y eliminación del disolvente al vacío.

La secuencia de preparación de la mezcla de reactivos previa a la calefacción a reflujo es un procedimiento estudiado y optimizado. No obstante, esta secuencia es necesaria porque la base empleada (metóxido sódico) se genera sobre el mismo disolvente de reacción mediante la adición del sodio metálico. Ahora, se pretende modificar esta secuencia gracias al uso del metóxido sódico comercial cuya equivalencia se demuestra en este estudio. Es decir, sería posible cargar el vial de reacción con metóxido y malononitrilo sólidos, después adicionar el éster sólido o disuelto en metanol e iniciar inmediatamente la reacción.

Así mismo, según el procedimiento tradicional, la calefacción de la mezcla de reactivos se realiza a reflujo de metanol (65 °C) durante un tiempo no inferior a la hora y media. En este punto cabe considerar las posibilidades que ofrece la calefacción por microondas: si se calienta la solución de reactivos en un vial sellado se puede trabajar a sobrepresión, es decir a temperaturas superiores al punto de ebullición de los disolventes y con ello acortar los tiempos de reacción. Así pues, se pretende ensayar la obtención de las piridonas a temperaturas mayores de las empleadas hasta el momento.

Por lo que respecta al proceso de aislamiento y purificación, no se prevé ensayar ningún cambio sustancial.

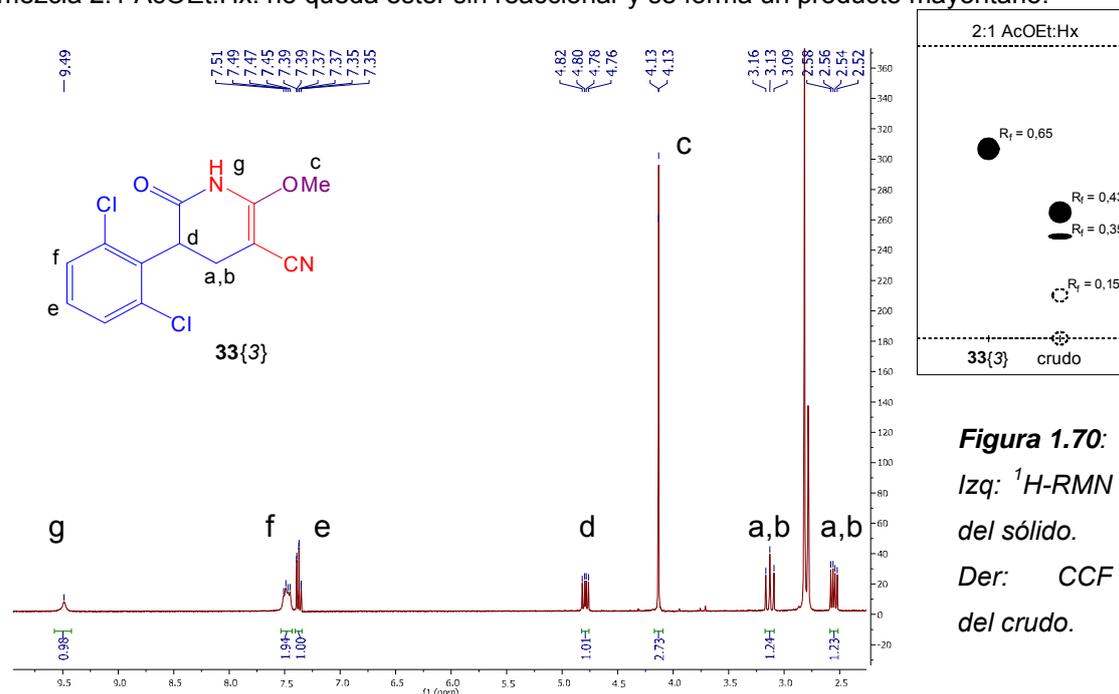
Para estudiar estos cambios en el protocolo, se acomete la síntesis de la 3-ciano-5-(2,6-diclorofenil)-2-metoxipiridinona **33{3}** por la gran relevancia bioquímica del residuo diclorofenil.



**Figura 1.69:**  
*Piridona modelo.*

Según la ley de Arrhenius, muy empleada en el campo de la síntesis asistida por microondas, cada 10 °C que se aumente la temperatura de una reacción se dobla la velocidad con que progresa. Por lo tanto, considerando que la síntesis de análogos 5-fenilpiridónicos **33{x}** requiere 2 h de reacción a reflujo en metanol (Bargalló, **2005**), si se incrementa la temperatura de calefacción de los 65 °C a los 85 °C el tiempo de reacción debería reducirse hasta los 30 min.

Así pues, en un vial de microondas se mezclan tanto el malononitrilo como el metóxido sódico y se adiciona el éster disuelto en la cantidad conveniente de metanol. Sellado el vial, se agita magnéticamente 2 min a temperatura ambiente, se irradia la mezcla con microondas 30 min a 85 °C y se analiza el crudo de reacción mediante CCF empleando como eluyente una mezcla 2:1 AcOEt:Hx: no queda éster sin reaccionar y se forma un producto mayoritario.



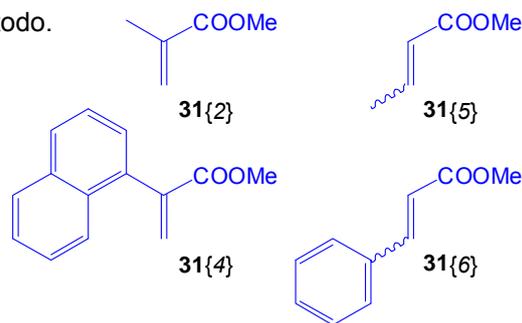
**Figura 1.70:**  
Izq:  $^1\text{H}$ -RMN  
del sólido.  
Der: CCF  
del crudo.

La purificación del sólido se realiza del modo habitual pero tras el lavado con abundante agua fría sigue restando malononitrilo impurificando la piridona (detectado por  $^1\text{H}$ -RMN como singlete alrededor 3,7 ppm). El sólido se disgrega manualmente en agua y se agita magnéticamente durante 2 h y, aunque disminuye la proporción de malononitrilo, sigue quedando una cierta cantidad. Después de repetir el tratamiento con agua *overnight* (15 h) y secar el producto del modo habitual, se consigue un sólido blanco de alta pureza (comprobada por  $^1\text{H}$ -RMN y CCF) que se corresponde con la 3-ciano-5-(2,6-diclorofenil)-2-metoxipiridinona **33{3}**. El rendimiento del proceso es del 88,1 %, muy superior a los rendimientos alrededor del 50 % referidos para la obtención de análogos 5-fenilpiridónicos (Bargalló, **2005**). La repetición de este procedimiento proceso arroja resultados similares (86,8 %).

A tenor de estos resultados parece que la metodología sintética asistida por microondas es, al menos, adecuada para la obtención esta piridona. No obstante, para estudiar si es una metodología generalizable se aplica sobre un panel de ésteres **31{x}** que refleja las distintas

posibilidades de sustitución: restos alquilo y arilo en  $\alpha$  y  $\beta$  de carbonilo. Algunas de las piridonas **33**{*x*} que se pretende obtener ya han sido descritas anteriormente (Victory et al., 1985), y gracias a ello se puede valorar la bondad del método.

Piridona	Rdto %	Rdto biblio <sup>2</sup> %
<b>33</b> {2}	28,5/36,4 <sup>1</sup>	49
<b>33</b> {3}	88,1	-
<b>33</b> {4}	91,4	-
<b>33</b> {5}	12,2/40,3 <sup>1</sup>	50
<b>33</b> {6}	87,5	85



**Figura 1.71:** Ésteres empleados para sintetizar **33**{*x*}.

**Tabla 1.33:** Rendimientos obtenidos.

<sup>1</sup>20 min a 85 °C. <sup>2</sup>Victory et al., 1975.

Los resultados referidos en la tabla anterior indican que la metodología es relativamente versátil pues permite obtener todos los compuestos propuestos con rendimientos desde moderados hasta excelentes.

Concretamente, se aprecia que aquellos ésteres con residuos arilo en  $\alpha$  o  $\beta$  de carbonilo rinden su correspondiente piridona con un rendimiento notablemente superior a aquellos ésteres con residuos alquilo. Trabajos anteriores refieren que los buenos rendimientos asociados a este tipo de sustituyentes se relacionan más con el efecto estérico que con efectos derivados de la conjugación electrónica (Berzosa, 2010). Además, para el sistema derivado del cinamato de metilo **31**{6} el rendimiento bibliográfico es del orden del obtenido (muy ligeramente inferior) de lo que puede deducirse que, al menos para este tipo de ésteres, el procedimiento sintético asistido por microondas es equivalente.

En lo concerniente a los ésteres con residuos alquilo **31**{2} y **31**{5} se observa que el rendimiento obtenido con 30 min de irradiación es significativamente inferior al referido bibliográficamente. Pero este resultado es lógico considerando que el tiempo de calefacción a reflujo (65 °C) debería ser de 90 min, es decir 22,5 min a 85 °C. En consecuencia, se puede afirmar que se está calentando a una temperatura elevada la piridona más allá del tiempo de síntesis considerado como óptimo (Victory y Diago, 1978). No sorprende pues que, al reducir el tiempo de calefacción de 30 min a 20 min, los rendimientos mejoren sustancialmente aunque aún siguen lejos de lo referidos por Victory. No obstante, se acercan bastante a los citados por Matallana: 34 % para **33**{2} y 42 % para **33**{5} (Matallana, 1998).

En conclusión, se adapta la metodología de obtención de las piridonas **33**{*x*} a la tecnología de microondas con rendimientos equiparables (sino superiores) a los referidos para la metodología tradicional. Además, se comprueba la versatilidad de esta nueva metodología frente a un panel representativo de ésteres alifáticos y arílicos.

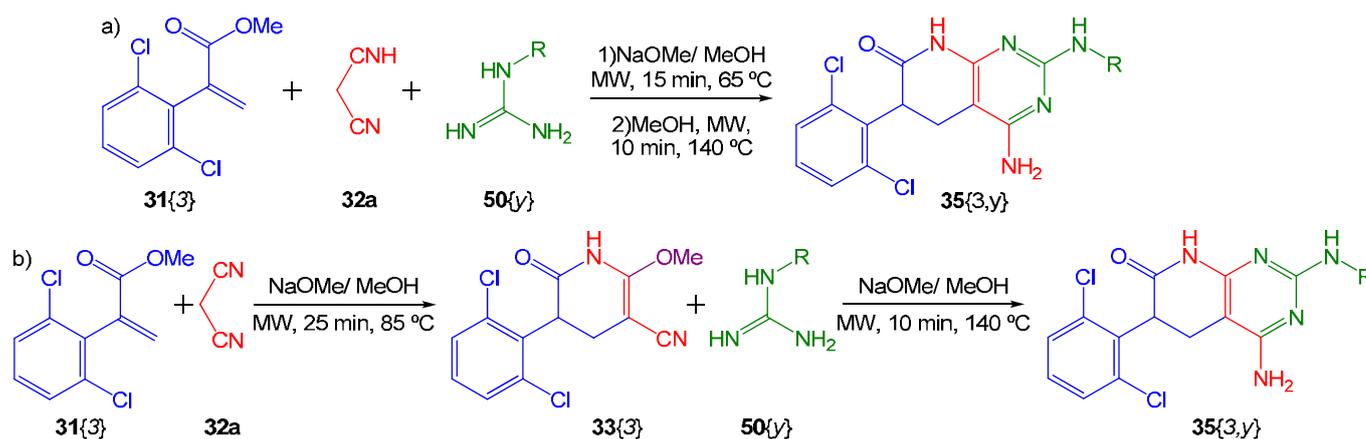
### 1.5.2. Condensación de piridonas 33{x} con arilguanidinas

Tras la obtención de las 3-ciano-2-metoxipiridonas 33{x} se pretende ensayar la sustitución del metoxilo por arilguanidinas 50{y} (con posterior ciclación) en medio no metanólico para facilitar el proceso y obtener las correspondientes 4-aminopirido[2,3-d]pirimidinas 35{x,y} con mejores rendimientos de los obtenidos con la reacción multicomponente de Victory.

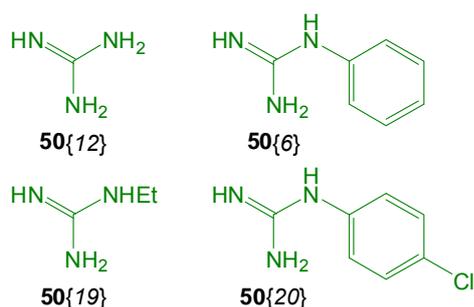
No obstante, para poder valorar la bondad de los resultados obtenidos con las modificaciones implementadas, primero se realizan las correspondientes condensaciones en metanol y las correspondientes reacciones de Victory.

#### 1.5.2.1. Condensación tradicional en metanol y reacción de Victory

Puesto que los estudios de condensación de las guanidinas se realizan con la piridona 33{3}, para poder valorar los cambios metodológicos implementados primero se realizan las síntesis de las correspondientes piridopirimidinas 35{3,y} mediante la reacción de Victory y por condensación directa en metanol de la piridona con cada una de las guanidinas ensayadas.



**Figura 1.72:** a) Reacción de Victory. b) Condensación de la piridona y las guanidinas.



**Figura 1.73:** Guanidinas comerciales empleadas en este estudio.

En la reacción de Victory primero se activa la guanidina con los equivalentes de metóxido sódico necesarios y después se añaden el resto de reactivos.

Para la condensación de la piridona modelo con la guanidina, en la primera etapa se trabaja con exceso de 1,44 equivalentes de base frente al éster; en la segunda etapa se activa previamente la base nitrogenada con los equivalentes de metóxido sódico necesarios y después se añade la piridona.

Los resultados obtenidos muestran claramente que la condensación de la piridona permite obtener los correspondientes heterobiscleros con rendimientos sustancialmente mayores, especialmente, en el caso de emplear la guanidina y la *N*-etilguanidina. Esta tendencia ya se

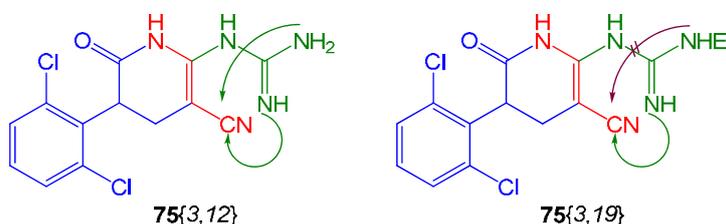
observa en el estudio del acoplamiento de la reacción de guanidinación y la reacción de Victory.

Rdto % Heterociclo	Acoplamiento <b>33{3}</b>		Victory
	Etapa	Global <sup>1</sup>	
<b>35{3,12}</b>	98,7	87,0	69,6
<b>35{3,19}</b>	56,2	49,5	35,4
<b>35{3,6}</b>	30,9	27,2	20,5
<b>35{3,20}</b>	31,2	27,5	19,2

**Tabla 1.34:** Resultados de ambos métodos. <sup>1</sup>considerando 88,1% para la piridona modelo.

Las diferencias de rendimiento entre metodologías son de alrededor del 20 % para la guanidina y del 15 % para la alquilguanidina, e indican claramente que en la reacción de Victory, o bien existen procesos secundarios competentes, o bien la presencia de multitud de sustancias en solución ayudan a codisolver los compuestos heterocíclicos una vez formados.

Además, también se percibe que la presencia del resto alquilo en la guanidina reduce casi a la mitad el rendimiento tanto del acoplamiento de **33{3}** como de la Victory. En este caso no se puede justificar este comportamiento con la diferencia de basicidad, pues sus basicidades son muy similares entre sí.



**Figura 1.74:** Mecanismo de ciclación propuesto. En violeta la unión no productiva.

Tal como muestra la figura, tras la sustitución etilénica del metoxilo de la piridona es necesario un segundo ataque (esta vez sobre el grupo ciano) para formar el anillo pirimidínico. Ahora bien, mientras que en el caso de la guanidina este ataque nucleófilo lo pueden realizar dos nitrógenos equivalentes, en el caso de la *N*-etilguanidina (en general cualquier guanidina *N*-sustituida) únicamente lo puede realizar uno de los nitrógenos libres. En consecuencia, la probabilidad de que esto ocurra es menor y, por lo tanto, se reduce el rendimiento de reacción.

Por otro lado, los rendimientos de los heterobiciclos derivados de arilguanidinas son significativamente menores a los de la guanidina y las alquilguanidinas sea cual sea el método empleado. Estos resultados son el claro reflejo de la competencia del propio medio de reacción con las guanidinas, que con su baja nucleofilia ven muy mermada la probabilidad de realizar el ataque nucleófilo. Esta diferencia de rendimientos también incluye la degradación de las arilguanidinas causada por el disolvente.

Los resultados con las arilguanidinas también muestran que los rendimientos de la condensación con la piridona son ligeramente superiores a los obtenidos con la reacción multicomponente. Además, la diferencia de rendimiento tan pequeña entre los resultados de ambos métodos (sólo del 7 %) significa que la causa principal de los bajos rendimientos es el disolvente y no tanto la metodología de obtención, tal como ya se había deducido. Este es un argumento más para la sustitución del disolvente empleado en la obtención de las 4-amino-2-arilaminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35**<sub>{x,y}</sub>.

En conclusión, de los resultados obtenidos se deduce que para obtener con elevados rendimientos 2,4-diaminopirido[2,3-*d*]pirimidinas y 4-amino-2-alkilaminopirido[2,3-*d*]pirimidinas es preferible emplear la condensación de las correspondientes 3-ciano-2-metoxipiridonas aunque para obtenerlas de manera rápida la reacción de Victory es una atractiva alternativa.

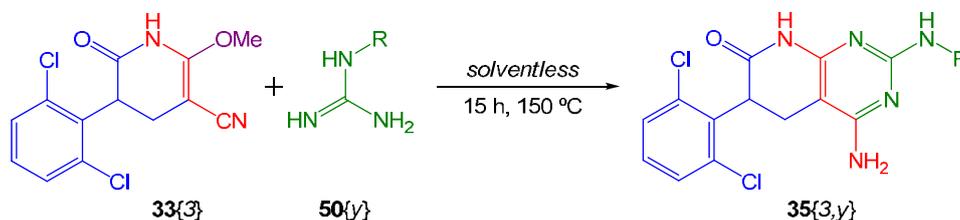
Por el contrario, para obtener 4-amino-2-arilaminopirido[2,3-*d*]pirimidinas ninguno de los dos métodos es apropiado a causa del disolvente que emplean: el metanol.

#### 1.5.2.2. Condensación en ausencia de disolvente

Los apartados anteriores apuntan claramente a la necesidad de reemplazar el metanol como disolvente de reacción para obtener los sistemas heterobíclicos **35**<sub>{x,y}</sub>.

Gracias a trabajos contemporáneos a éste (Berzosa, 2010), se sabe que es posible realizar reacciones de sustitución y ciclación con sistemas análogos a las piridonas **33**<sub>{x}</sub> en ausencia de disolvente empleando como nucleófilo el carbonato de fenilguanidina.

Concretamente, la temperatura de fusión de la sal de fenilguanidina es de 150 °C y, por lo tanto, a esta temperatura puede actuar al mismo tiempo como disolvente y reactivo. De este modo se maximiza la concentración relativa de guanidina, se suprime cualquier competencia posible y se logra una cierta catálisis básica gracias al carbonato.

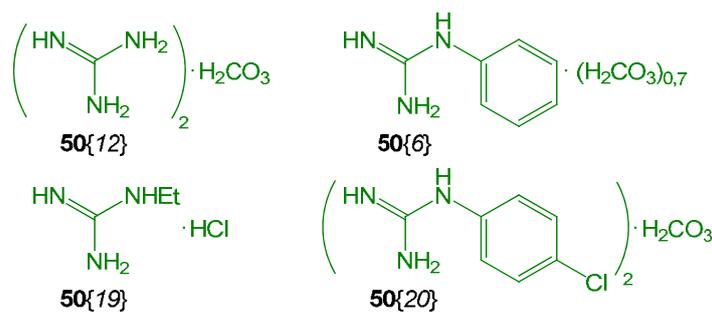


**Figura 1.75:** Condensación de la piridona y las guanidinas en ausencia de disolvente.

Se ensaya esta metodología empleando un exceso de carbonato de fenilguanidina **50**<sub>{6}</sub> de 3:1 respecto **33**<sub>{3}</sub>. En este punto cabe recordar que la sal de la guanidina comercial responde a la estequiometría de  $C_7H_9N_3 \cdot (CH_2O_3)_{0,7}$  y, por lo tanto, por cada equivalente de fenilguanidina empleado se están adicionando 0,7 equivalentes de carbonato contra-anión.

Así pues, se mezclan manualmente los sólidos para asegurar el máximo de homogeneidad y el menor tamaño de partícula posibles, se sustituye la atmósfera por nitrógeno y se calienta

(mediante baño de aceite termostataado a 150 °C) con agitación magnética durante 15 h. De este modo se obtiene una mezcla de sólidos de distintos colores que, tras ser tratada con la mínima cantidad de metanol y ultrasonidos durante 1 h, rinde un precipitado abundante identificado como la piridopirimidina **35**{3,6}. El rendimiento de la reacción es del 69,3 % para la condensación de la piridona y la fenilguanidina y del 61,1 % desde el éster **31**{3}. Al repetir este ensayo los resultados son comparables, lo que indica que esta metodología permite obtener estos heterobisoclos con mejor rendimiento que cualquiera de los métodos que emplean metanol como disolvente.



**Figura 1.76:** Sales de guanidina comerciales.

Teniendo en cuenta los positivos resultados obtenidos con la fenilguanidina, se ensaya la misma metodología con el carbonato de *N*-(*p*-clorofenil)guanidina **50**{20}, cuyo punto de fusión es también de 150 °C. La sal comercial de esta guanidina responde a la estequiometría de  $(\text{C}_7\text{H}_8\text{ClN}_3)_2 \cdot \text{CH}_2\text{O}_3$  y, por lo tanto, por cada equivalente de guanidina empleado se están adicionando 0,5 equivalentes de carbonato, algo menos que en el caso de la fenilguanidina.

El resultado de esta condensación es el producto esperado **35**{3,20} con un rendimiento del 34,2 % para esta etapa y del 30,1 % desde el éster **31**{3}. Estas cifras son bastante inferiores a los valores obtenidos para la fenilguanidina **50**{6}, lo que no deja de ser sorprendente teniendo en cuenta que los rendimientos para las correspondientes reacciones en metanol eran prácticamente idénticos.

¿Esta diferencia de resultados entre guanidinas tan similares en nucleofilia es atribuible a la diferencia de equivalentes de carbonato que tiene cada una de sus sales empleadas?

Para comprobarlo se repite el ensayo con la guanidina **50**{20} añadiendo la cantidad suficiente de carbonato de cesio para compensar la diferencia de equivalentes de base. La elección de este carbonato inorgánico se realiza en base a su conocida solubilidad en medios orgánicos. Desgraciadamente, a pesar de mezclar y disgregar concienzudamente los sólidos, el resultado es prácticamente idéntico: 32,6 % de rendimiento. Esto indica que el número de equivalentes de carbonato de la sal de guanidina es relevante y que añadirlos como otra sal no es una estrategia válida para compensar este defecto.

La *N*-etilguanidina **50{19}** comercial empleada en estos ensayos de acoplamiento es un hidrocloreuro. Por lo tanto, según lo expuesto no es posible emplear la metodología en ausencia de disolvente a pesar de que su temperatura de fusión es relativamente baja (120 °C). No obstante, se realizan sendos ensayos mezclando la piridona **33{3}** y la sal de guanidina con 0,5 y 1 equivalentes de carbonato de cesio. Desgraciadamente, el resultado es el esperado: no se da la condensación.

Se dispone de guanidina **50{12}** comercial en forma de hidrocloreuro y en forma de carbonato (2 equivalentes de guanidina por equivalente de carbonato). Desgraciadamente, la temperatura de fusión del carbonato no se puede determinar pues es superior a los 250 °C y la del hidrocloreuro es de 175 °C.

No supone ninguna sorpresa comprobar que al realizar los ensayos de condensación con el hidrocloreuro no se obtiene el heterociclo correspondiente ni empleando dos equivalentes de carbonato de cesio.

A pesar de la elevada temperatura de fusión del carbonato, muy superior a los 150 °C de la metodología implementada, se realizan un par de ensayos. El primero calentando la mezcla de sólidos el tiempo usual: 15 h. El segundo calentando durante 48 h. En el primer caso no se obtiene el producto deseado y en el segundo se obtiene con un rendimiento menor del 1 %, lo que apenas es significativo.

Heterociclo	Contra-anión	Equivalentes carbonato	Rdto %	Rdto %Global <sup>1</sup>
<b>35{3,12}</b>	Carbonato	0,5	0	0 <sup>2</sup>
<b>35{3,19}</b>	Hidrocloreuro	0	0	0
<b>35{3,6}</b>	Carbonato	0,7	69,6	61,1
<b>35{3,20}</b>	Carbonato	0,5	34,2	30,1

**Tabla 1.35:** Resultados en función del contra-ión y los equivalentes de carbonato de la sal.

<sup>1</sup>considerando 88,1% para la piridona modelo. <sup>2</sup>asimilable a 0.

De todos estos ensayos se pueden extraer varias conclusiones:

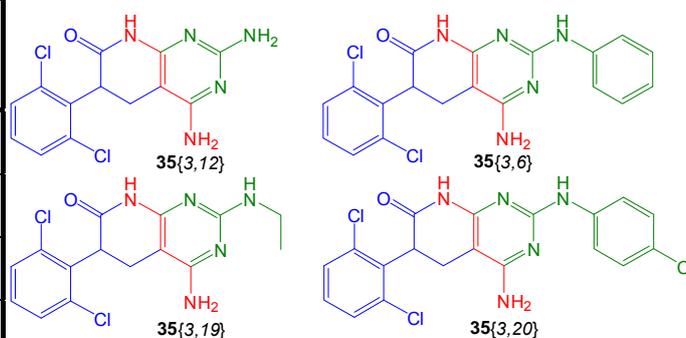
- Las guanidinas deben estar en forma de carbonato para realizar condensaciones en ausencia de disolvente, pues este anión juega un papel relevante en el proceso.
- Los equivalentes de carbonato en la sal de guanidina influyen sobre el rendimiento.
- Las sales de guanidina deben fundir a temperaturas por debajo de la temperatura de reacción (150 °C).
- No se pueden corregir los equivalentes de carbonato que aporta la sal de guanidina, sea ésta un carbonato o cualquier otra sal, añadiendo un carbonato inorgánico.

Al considerar los rendimientos globales de este método en comparación con los de las otras metodologías ensayadas, se observa que a pesar de que los resultados son buenos para la fenilguanidina **50{6}** y que mejoran los ya obtenidos, para la otra arilguanidina considerada no suponen una mejora significativa. Por el contrario, para las guanidinas no aromáticas son unos pésimos resultados.

En la tabla siguiente se muestran los rendimientos globales detallados por metodología.

Rdto % Heterociclo	Via Victory	Via <b>33</b>	Sin solvente
<b>35{3,12}</b>	69,6	87,0	0
<b>35{3,19}</b>	35,4	49,5	0
<b>35{3,6}</b>	20,5	27,2	61,1
<b>35{3,20}</b>	19,2	27,5	30,1

**Tabla 1.36:** Rendimientos globales.



**Figura 1.77** Heterobisiclos considerados.

En conclusión, se constata que únicamente se puede emplear con cierto éxito esta metodología con guanidinas en forma de carbonato con el mayor número posible de equivalentes de base por equivalente de guanidina y si el punto de fusión de estas sales es inferior a la temperatura de calefacción (150 °C). Es por ello que se considera que es una metodología poco versátil y con muchas restricciones.

Además, en el caso de las sales de guanidina fruto de la reacción de guanidinación con AIMSOA no es posible emplear esta metodología pues se obtienen las guanidinas en forma de hidrogenosulfito, que no es un contra-anión compatible con los requerimientos de esta metodología.

### 1.5.2.3. Condensación en dioxano

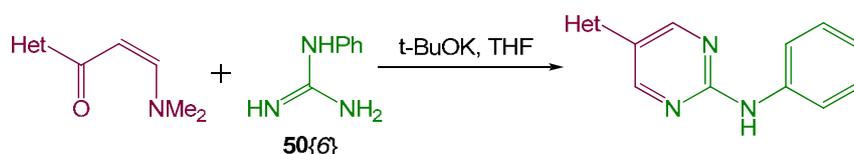
Al buscar en la literatura científica ejemplos de sustitución etilénica con arilguanidinas se hallan pocos ejemplos. Esto confirma la dificultad de llevar a cabo reacciones de sustitución con estos nucleófilos tan débiles.

Los ejemplos hallados refieren, además de la sustitución, también la posterior ciclación. En todos los casos se desarrolla la reacción en presencia de bases fuertes. Y como disolventes de reacción se emplea DMF, metoxietanol y tetrahidrofurano, que son de baja nucleofilia; incluso el metoxietanol, que es mucho menos nucleófilo que el metanol.

Desafortunadamente, ni la DMF ni el metoxietanol son disolventes demasiado apropiados para el estudio que se está realizando. El primero porque los heterobisiclos finales **35{x,y}** son parcialmente solubles en él y, por lo tanto, si se emplea como disolvente se minimiza la

precipitación que es una muy importante fuerza motriz para la reacción. El segundo, el metoxietanol, tampoco es apropiado porque es relativamente nucleófilo y, si bien su nucleofilia es menor que la del metanol, seguramente supondría cierta competencia para las arilguanidinas.

Por lo tanto, los ejemplos más relevantes para el presente trabajo son aquellos que se desarrollan en tetrahidrofurano como disolvente de condensación. Por ejemplo, la siguiente figura muestra como en este disolvente y presencia de *tert*-butóxido potásico es posible sustituir con fenilguanidina **50{6}** un grupo dimetilamina en  $\gamma$  de carbonilo y formar seguidamente un anillo de pirimidina por ulterior ciclación; los rendimientos del proceso son superiores al 50 % (Ha et al., 2008).



**Figura 1.78:** Ejemplo de sustitución etilénica y ciclación con fenilguanidina (Ha et al., 2008).

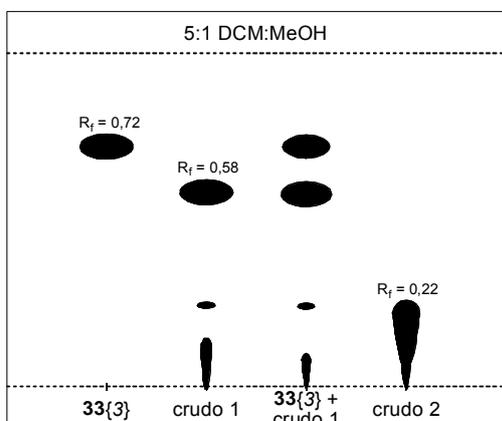
Para adaptar la metodología de este ejemplo, la primera modificación es sustituir el tetrahidrofurano por 1,4-dioxano que es un disolvente similar pero de punto de ebullición más elevado: 66 °C y 102 °C, respectivamente. Este cambio busca ampliar el rango de temperaturas a las que poder calentar el medio de reacción.

El segundo cambio respecto del ejemplo referido es la supresión de cualquier tipo de catálisis básica, especialmente de metóxido, etóxido o similares. Únicamente se emplea el metóxido sódico para activar la fenilguanidina y controlando estrictamente el número equivalentes para evitar que tras la activación pueda quedar la más mínima cantidad de base libre sin reaccionar. Esta modificación pretende asegurar que en el medio de reacción de la condensación únicamente hay presente una especie nucleófila: la fenilguanidina.

Así pues, se activan en 1,4-dioxano tres equivalentes de fenilguanidina **50{6}** con la cantidad exacta de metóxido sódico. Tanto antes del tratamiento térmico de activación (15 min a 65 °C) como tras éste, se observa la presencia de sales no disueltas. Se presume que la poca solubilidad de los sólidos iónicos en este medio puede provocar que no se logre mantener la fenilguanidina disuelta. Para comprobarlo, las sales filtradas tras el tratamiento térmico se disuelven en metanol y se analizan por CCF: no se aprecia señal alguna, lo que indica que no queda fenilguanidina en forma de sal. Por el contrario la CCF del crudo muestra la presencia de la fenilguanidina disuelta.

Cabe destacar que al emplear metóxido sódico como base para la activación de la fenilguanidina y teniendo en cuenta que ésta es una sal de estequiometría  $C_7H_9N_3 \cdot (CH_2O_3)_{0,7}$ , el dioxano contiene 1,4 equivalentes de metanol por cada equivalente de fenilguanidina.

Tras adicionar la cantidad correspondiente de la piridona **33{3}** se irradia la mezcla 30 min a 140 °C. El crudo obtenido presenta una fuerte coloración rojiza y su análisis mediante CCF muestra que se consume totalmente el intermedio piridónico para rendir un producto mayoritario de polaridad mayor, tal como muestra la siguiente figura (crudo 1).



**Figura 1.79:** CCF de los distintos crudos de reacción.

*Crudo 1: fenilguanidina y piridona.*

*Crudo 2: tratamiento con  $Et_3N$ .*

No obstante la mancha de este producto no presenta el típico perfil alargado de las piridopirimidinas **35** ni queda tan retenida. Además, estos heterobisoclos suelen precipitar en el medio de reacción, pero en este caso no se observa ningún precipitado. Esto resulta sorprendente pues el dioxano empleado como disolvente es bastante menos polar que el metanol, el disolvente habitual.

A resultados de este comportamiento, se adiciona una base no nucleófila (la trietilamina) para reproducir unas condiciones similares a las descritas en el ejemplo bibliográfico (Ha et al., 2008).

Tras añadir aproximadamente 10 equivalentes de trietilamina respecto la piridona **33{3}** e irradiar 30 min a 140 °C se observa la aparición de una pequeña cantidad de sólido en el fondo del vial de microondas. Sin embargo, la CCF sigue mostrando la presencia de la sustancia de  $R_f$  0,58. Por lo tanto, se sigue irradiando la mezcla a 140 °C y comprobando la paulatina desaparición de esta sustancia.

Después de 32 h de irradiación a 140 °C dicha sustancia desaparece completamente (crudo 2 en la figura anterior) y sedimenta en el fondo del vial un sólido abundante. Se reemplaza el dioxano por metanol, se trata con ultrasonidos durante 1 h y por filtración se obtiene un sólido blanco que es identificado como la piridopirimidina **35{3,6}** mediante  $^1H$ -RMN. El rendimiento del proceso es del 54,3 % y del 47,8 % desde el éster (88,1 % para la piridona **33{3}**).

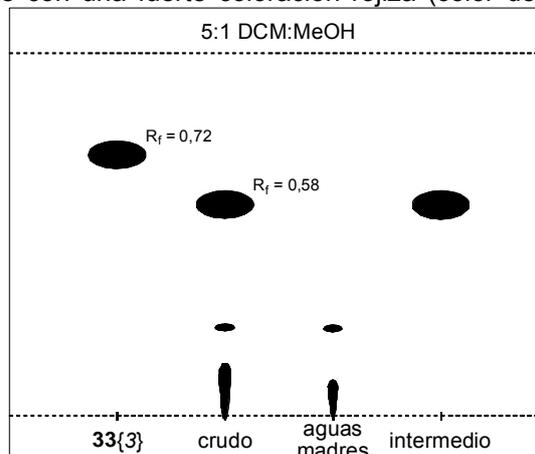
Este rendimiento es ligeramente inferior al descrito para la condensación en ausencia de disolvente pero casi el doble que el referido para los otros métodos. Por lo tanto, esta línea de investigación parece prometedora y se sigue trabajando en ella con vistas a maximizar los rendimientos.

En primer lugar parece lógico intentar aislar e identificar el producto derivado de la piridona **33{3}** y que, por ulterior tratamiento en medio básico, rinde la correspondiente pirido[2,3- $\alpha$ ]pirimidina **35{3,6}**. Pero atención, porque la CCF muestra que este producto no identificado no es ni la piridona ni el heterobisoclo.

Cabe destacar que tras reproducir diversas veces esta reacción en dioxano (sólo piridona y fenilguanidina, sin trietilamina) se observa que el tiempo de reacción más favorable para consumir completamente la piridona son los 30 min a 140 °C.

Para intentar aislar este producto desconocido se elimina el dioxano por destilación al vacío y se obtiene una mezcla de sólido y aceite con una fuerte coloración rojiza (color del crudo de reacción).

Tras realizar diversas pruebas de solubilidad selectiva con distintos disolventes orgánicos se observa que con acetona aparece un abundante precipitado blanco y la fase orgánica queda intensamente coloreada de rojo. Como se puede observar en la figura adyacente, parece que el aislamiento y purificación del producto intermedio son muy buenos.



**Figura 1.80:** CCF de la purificación del intermedio.

*Crudo:* crudo de reacción.

*Aguas madres:* acetona después de filtrar.

*Intermedio:* sólido aislado.

A continuación se separa el sólido por filtración, se lava con abundante acetona y se intenta caracterizar.

Estudiando su solubilidad en distintos disolventes deuterados para realizar la espectroscopía de RMN, se constata que este producto intermedio es soluble en cloroformo, dioxano, THF, acetato de etilo, metanol y DMSO. La solubilidad en este último disolvente no es ninguna sorpresa pues la mayoría de piridopirimidinas **35**{x,y} son solubles en DMSO. Por el contrario, la solubilidad del producto intermedio en cloroformo y metanol no se corresponde para nada con la solubilidad típica de cualquier piridopirimidina, pero es más, no se corresponde con la solubilidad de **35**{3,6}. Esto es una prueba más (la CCF es la primera) de que este producto intermedio no es la correspondiente piridopirimidina **35**{3,6}.

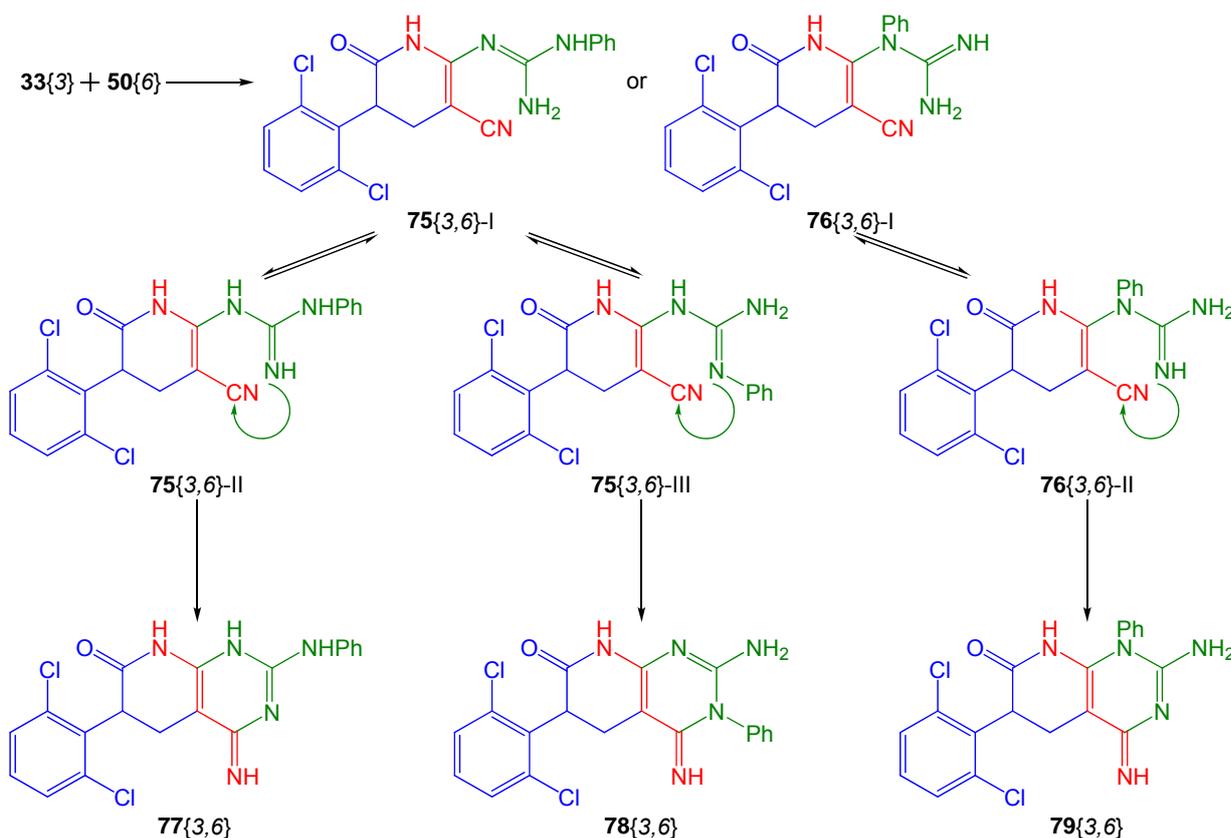
Así pues, tras todas estas pruebas, se puede afirmar que la condensación de la piridona **33**{3} con fenilguanidina **50**{6} en dioxano rinde un nuevo compuesto que no es el heterobicyclo **35**{3,6} y que no ha sido identificado o descrito hasta el momento por el Laboratorio de Síntesis del IQS.

A partir de este punto, se pretende establecer la identidad de esta nueva entidad química. A tal efecto, se plantean diversas propuestas estructurales que pueden dividirse en dos grupos:

- Términos de sustitución etilénica **75**{3,6} y **76**{3,6}: corresponden únicamente a la sustitución del metoxilo de la piridona **33**{3} por parte de la fenilguanidina. De los dos términos planteados, **75**{3,6} es el más probable pues corresponde la sustitución por

parte del nitrógeno guanidínico imínico (más nucleófilo) y no al sustituido con fenilo (menos nucleófilo y más impedido por la presencia de este residuo).

- Términos de sustitución etilénica y ciclación **77{3,6}**, **78{3,6}** y **79{3,6}**: corresponden a los productos de ciclación de **75{3,6}** y **76{3,6}**. El cierre del anillo pirimidínico puede ser resultado del ataque nucleófilo del grupo imínico (**77{3,6}** o **79{3,6}**) o del grupo fenilimínico (**78{3,6}**).



**Figura 1.81:** Estructuras posibles para el intermedio no identificado y su relación entre ellas.

Al considerar únicamente los términos de sustitución y ciclación, se puede observar que **77{3,6}** supone que el nitrógeno fenilsustituido no actúa en ningún caso como nucleófilo y, por lo tanto, el grupo fenilamino resultante es exocíclico. Por el contrario, las otras propuestas de estructura sí suponen que ese nitrógeno actúa como nucleófilo en alguna etapa y, en consecuencia, acaba insertado en la estructura pirimidínica. Concretamente, **79{3,6}** corresponde al término en el que ese nitrógeno realiza la sustitución etilénica y **78{3,6}** al término en el que cierra el ciclo; por lo tanto, estas propuestas presentan el sustituyente fenilo en los nitrógenos pirimidínicos N1 y N3, respectivamente.

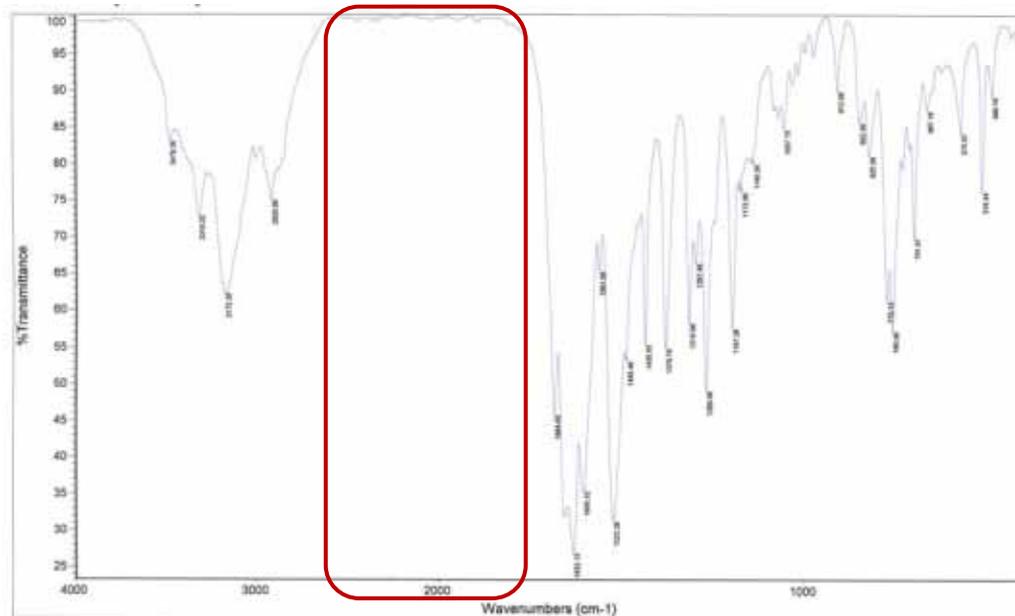
No obstante, teniendo en cuenta que la imina **77{3,6}** es una forma tautomérica de **35{3,6}** sorprende que la reacción no rinda directamente esta piridopirimidina pues, además, el producto final precipita y esto debería favorecer la isomerización. Mas aún, para inducir la conversión de este producto no identificado en su correspondiente piridopirimidina **35{3,6}** es necesario un ulterior tratamiento básico con trietilamina -aunque en el medio hay 2 equivalentes de fenilguanidina, base bastante fuerte con un pKa similar a la trietilamina-. De

ello se puede deducir que el proceso que permite esta conversión no es simplemente una tautomerización, si no un proceso que requiere un medio básico más fuerte, tal como sugiere el ejemplo bibliográfico citado (Ha et al., 2008). A tenor de todos estos argumentos, parece poco probable que la estructura ciclada **77**{3,6} sea la del producto intermedio no identificado.

Por otro lado, las propuestas estructurales que implican que el nitrógeno con fenilo actúa como nucleófilo también deben ponerse en cuarentena, pues la nucleofilia de este átomo es presumiblemente baja como consecuencia del efecto aceptor del anillo aromático y del elevado impedimento estérico del sustituyente. Por consiguiente, las propuestas **76**{3,6}, **78**{3,6} y **79**{3,6} probablemente tampoco describen la estructura del producto intermedio no identificado.

En resumen, considerando todo lo comentado anteriormente, las propuestas de estructura **75**{3,6}, en las que no se ha producido todavía la ciclación del anillo pirimidínico, se apuntan como las más probables.

Para discernir entre las propuestas de ciclo abierto y las propuestas de ciclo cerrado (**75**{3,6}/**76**{3,6} vs **77**{3,6}/**78**{3,6}/**79**{3,6}) es importante hacer notar que las primeras presentan un grupo ciano, ya presente en la piridona **33**{3} empleada como reactivo de partida. En este sentido, la espectroscopía de infrarrojo, muy útil a la hora de determinar la presencia de estos grupos funcionales en forma de bandas extremadamente intensas alrededor de  $2200\text{ cm}^{-1}$ , podría ser una herramienta muy eficaz.

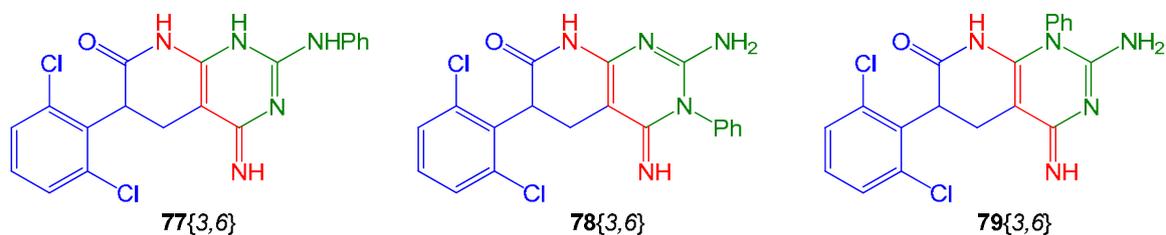


**Figura 1.82:** IR en pastilla de KBr del intermedio.

De hecho, a diferencia de lo que ocurre con la piridona **33**{3}, la figura anterior muestra la ausencia de banda alguna alrededor de los  $2200\text{ cm}^{-1}$  en el caso del intermedio aislado. Por lo tanto, el intermedio no identificado no presenta ningún grupo nitrilo en la estructura y, en consecuencia, las propuestas estructurales no cicladas (**75**{3,6} y **76**{3,6}) no describen este producto, pues deberían presentar dicha banda en el espectro de IR.

Así pues, a tenor de esta espectroscopía únicamente las propuestas cicladas **77**{3,6}, **78**{3,6} y **79**{3,6} podrían explicar la naturaleza del nuevo producto obtenido.

Ahora bien, para intentar establecer inequívocamente cuál de estas tres propuestas es la que realmente describe el producto, deben obtenerse pruebas que permitan refutar o reafirmar alguna de estas posibles estructuras.

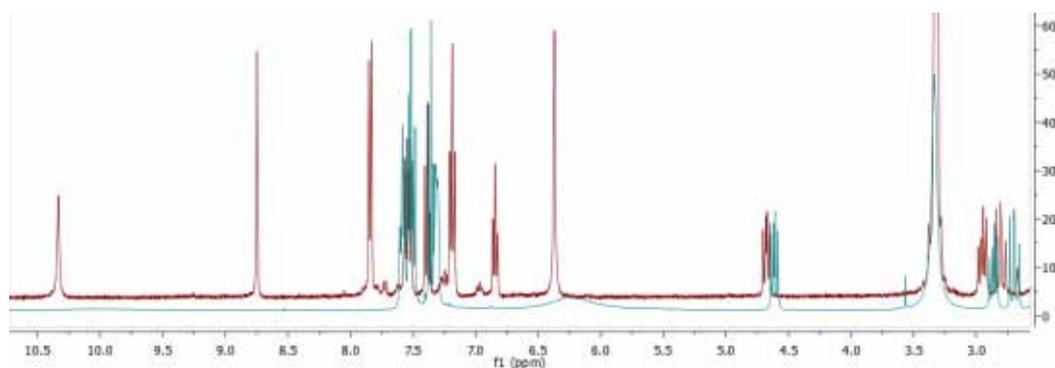


**Figura 1.83:** Propuestas cicladas sin grupo nitrilo libre.

En este sentido, se puede apreciar como **77**{3,6} presenta cuatro tipos distintos de hidrógeno unido a nitrógeno. Por el contrario, las otras dos propuestas presentan únicamente tres tipos de hidrógenos unidos a nitrógeno, uno de los cuales corresponde a un grupo  $\text{NH}_2$ .

No obstante, aunque podría aducirse que para **78**{3,6} y **79**{3,6} existen formas tautómeras para las que también existen cuatro tipos distintos de hidrógenos unido a nitrógeno, no puede considerarse esta misma tautomería para **77**{3,6}, pues sería la piridopirimidina **35**{3,6}.

Es decir, estas diferencias entre estructuras podrían ser empleadas con finalidades identificativas y para ello habría suficiente con registrar un espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de este intermedio. Si fuera posible identificar la presencia de cuatro señales de integral unitaria no sería posible discriminar entre ninguna de las tres propuestas. Pero por el contrario, si este espectro mostrase la presencia de una señal de hidrógeno unido a nitrógeno cuya integral fuera de dos unidades, podría descartarse la propuesta **77**{3,6}.

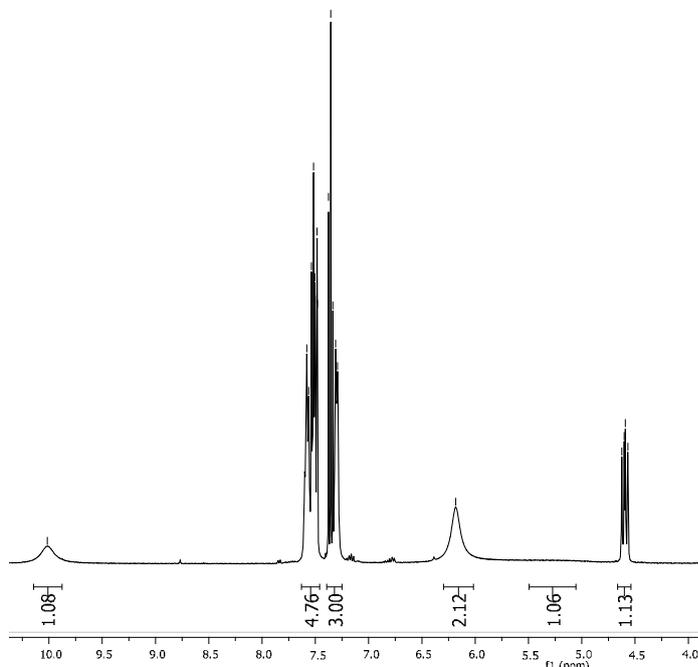


**Figura 1.84** Superposición del  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{DMSO-d}_6$ ) del intermedio (azul) y de **35**{3,6} (rojo).

En primer lugar, la superposición de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{DMSO-d}_6$  de este intermedio y de la piridopirimidina **35**{3,6} claramente no coinciden: se aprecia un ligero desplazamiento de los protones alifáticos, en el espectro del intermedio no se aprecian las señales correspondientes a los protones unidos a nitrógenos observables en **35**{3,6} (6,4 ppm, 8,8 ppm, 10,3 ppm) y, sobre todo, en el espectro del intermedio se observa como se agrupan

todas las señales de protones aromáticos. La diferencia entre los  $^1\text{H}$ -RMN es una prueba más de que el intermedio no es la piridopirimidina **35**{3,6}.

En segundo lugar, el espectro del intermedio no muestra ninguno de los perfiles esperados para los protones unidos a nitrógeno pirimidínico, pues se registran todos conjuntamente con el lactámico como una única señal de integral tres a 6,23 ppm. Este resultado es altamente sorprendente y no concuerda con ninguno de los escenarios previstos.



**Figura 1.85:**  $^1\text{H}$ -RMN del intermedio registrado en  $\text{DMSO-d}_6$  anhidro.

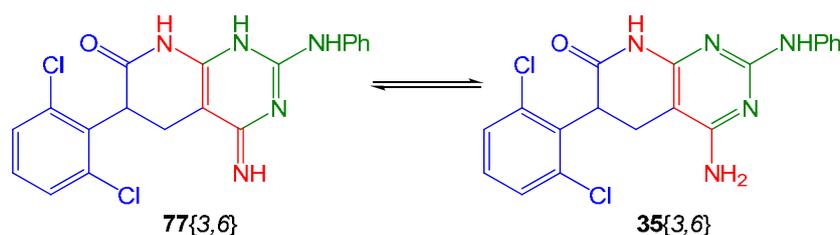
Probablemente, este perfil es consecuencia de las trazas de agua ambiental presentes en el disolvente deuterado y que provocan el intercambio de los protones unidos a nitrógeno.

Por lo tanto, se registra de nuevo este espectro pero empleando  $\text{DMSO-d}_6$  anhidro -secado *overnight* a temperatura en desecador al vacío sobre pentóxido de fósforo-.

Esta vez sí, se observa la presencia de distintas señales de protón atribuibles a estos hidrógenos. Concretamente, a 10,01 ppm se aprecia el singlete ancho atribuible al protón lactámico, pero a 6,18 ppm y 5,25 ppm se registran señales en forma de singlete ancho (muy ancho en el segundo caso) con integrales de dos y uno, respectivamente, que pueden ser atribuidas a los protones pirimidínicos.

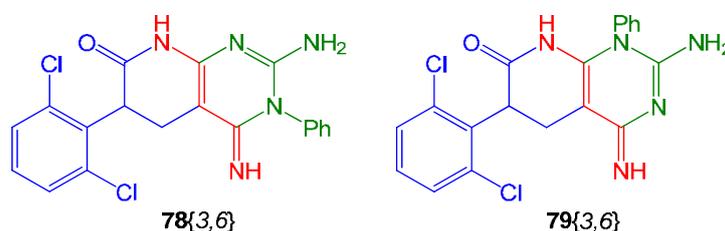
Desgraciadamente, todos los esfuerzos encaminados a la mejora de este espectro, o bien sustituyendo el disolvente por  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ,  $\text{C}_6\text{D}_5\text{NO}_2$ , o bien cambiando la temperatura de registro del espectro (25 - 75 °C), no logran su objetivo.

No obstante, este perfil de señales es un indicio suficiente que apunta hacia las estructuras **78**{3,6} y **79**{3,6}. Además, tal como se ha comentado anteriormente, la obtención de un producto de estructura **77**{3,6} sin que produzca inmediatamente la tautomerización a **35**{3,6} es poco probable.



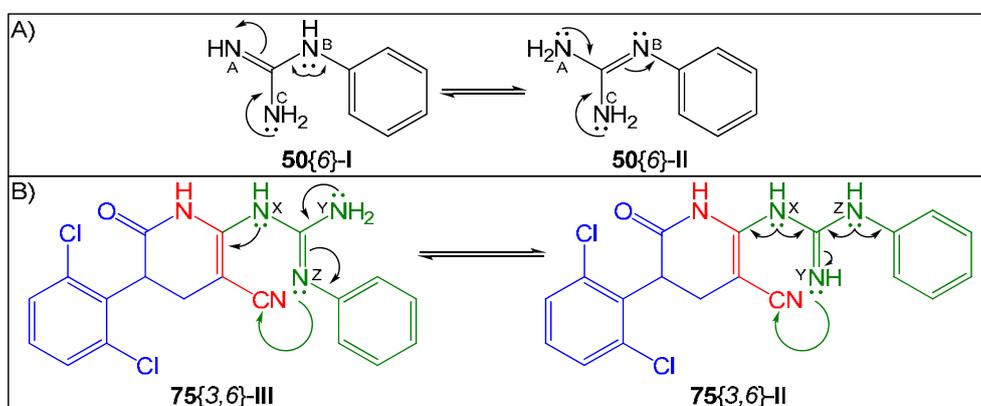
**Figura 1.86:** Tautomería de una de las estructuras propuestas a la 4-aminopiridopirimidina.

Por lo tanto, todos estos resultados y consideraciones apuntan hacia las propuestas estructurales **78**{3,6} y **79**{3,6}. Es decir, que en cualquier caso la fenilguanidina reacciona a través del nitrógeno sustituido con fenilo, o bien durante la sustitución etilénica, o bien durante la ciclación.



**Figura 1.87:** Propuestas de estructura más plausibles para el intermedio obtenido en dioxano.

Este comportamiento resulta altamente sorprendente habida cuenta de la experiencia acumulada por el Laboratorio de Síntesis del IQS y porque, en principio, este nitrógeno es el menos nucleófilo de la fenilguanidina y el más impedido estéricamente.



**Figura 1.88:** Análisis de la capacidad de ataque nucleófilo del nitrógeno fenilsustituido: A) para la formación de la estructura **79**{3,6}, B) para la formación de la estructura **78**{3,6}.

Más allá de los efectos estéricos consecuencia de la presencia del resto fenilo y que evidentemente suponen un lastre a la capacidad nucleófila del nitrógeno que lo sustenta, a continuación se consideran únicamente los efectos electrónicos de los distintos nitrógenos responsables de la obtención de las estructuras más probables **78**{3,6} y **79**{3,6}.

Con respecto a la estructura **79**{3,6}, su obtención requeriría de la formación del intermedio no ciclado **76**{3,6} que, a su vez, implicaría que la fenilguanidina **50**{6} realizara la sustitución etilénica del metoxilo piridónico de **33**{3} mediante el nitrógeno fenilsustituido. Es decir, que la estructura **79**{3,6} permitiera describir el término de condensación en dioxano depende de la nucleofilia relativa de los distintos nitrógenos de la fenilguanidina, o lo que es lo mismo, de que el nitrógeno referido como B en la anterior figura sea más nucleófilo que cualquiera de los otros dos.

Ahora bien, las conjugaciones electrónicas referidas en dicha figura muestran como el nitrógeno A (equivalente a C) recibe la cesión mesómera de los otros dos nitrógenos y con ello su densidad de carga parcial negativa y capacidad nucleófila aumentan. Por el contrario,

equivalentes cesiones sobre el nitrógeno B no pueden transformarse en un aumento de densidad de carga parcial negativa y capacidad nucleófila pues existe la posibilidad de conjugación con el anillo fenilo, que precisamente actúa minimizando el efecto de esas cesiones.

Por lo tanto, de este análisis parece deducirse que la nucleofilia del nitrógeno A (o C) es, en cualquier caso, mayor que la del nitrógeno fenilsustituido B y, en consecuencia, la formación del término N1-fenilsustituido **79**{3,6} parece poco probable.

Con respecto a la estructura **78**{3,6}, su obtención requeriría de la formación del intermedio no ciclado **75**{3,6} mediante el ataque nucleófilo del nitrógeno A (o C) de la fenilguanidina **50**{6} -bastante más nucleófilo, como se acaba de discutir- sobre el metoxilo piridónico de **33**{3}. Pero a continuación, el nitrógeno referido como Z en la anterior figura debería cerrar el ciclo pirimidínico mediante un nuevo ataque nucleófilo. Es decir, para que la estructura **78**{3,6} sea la que permita describir el término de condensación en dioxano debería cumplirse que la nucleofilia del nitrógeno Z fuera mayor que la del nitrógeno Y en su inmediato precursor **75**{3,6}.

Pues bien, al considerar las cesiones mesómeras sobre el nitrógeno Y -referidas en la anterior figura- se puede apreciar como sendos nitrógenos X y Z también pueden ceder sus respectivos pares electrónicos a sistemas de conjugación vecinales: cianoetilénico para X y fenílico para Z; en consecuencia, esta cesión es globalmente muy débil y debería manifestarse en forma de una baja nucleofilia del nitrógeno Y.

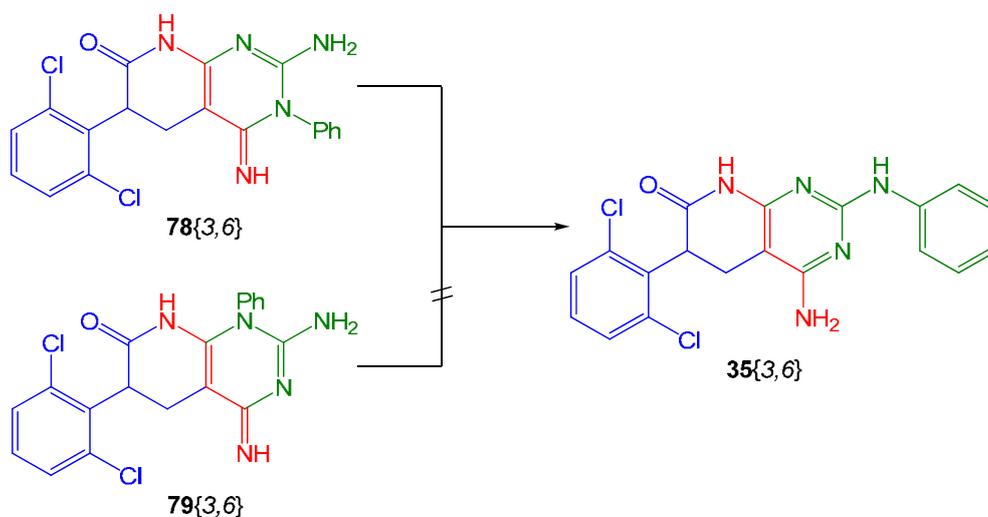
Para el nitrógeno Z la cesión de X sigue siendo débil por su conjugación con el sistema cianoetilénico vecinal, pero la de Y es mucho mayor pues este átomo no presenta otras posibilidades de conjugación. Considerando estas cesiones pudiera parecer que claramente el nitrógeno Z es más nucleófilo que el Y, pero la presencia del anillo fenilo actúa minimizando el efecto de las cesiones y reduciendo la nucleofilia de Z. Sin embargo, en cualquiera caso, en todo momento existe un par electrónico fijo sobre este nitrógeno.

Así pues, al considerar globalmente todas las posibilidades de conjugación de los distintos nitrógenos, parece que efectivamente el fenilimínico Z pudiera ser algo más nucleófilo que el imínico Y, lo que justificaría la formación de **78**{3,6}.

Recapitulando, tras el análisis de la nucleofilia del nitrógeno fenilsustituido en cada una de las estructuras relevantes para la obtención de sendas propuestas **78**{3,6} y **79**{3,6}, parece que la N3-fenilsustituida **78**{3,6} sea algo más verosímil.

En este mismo sentido, para tratar de establecer cuál de las dos propuestas estructurales es más plausible, cabe recordar que tras 32 h de irradiación a 140 °C en dioxano no anhidro y

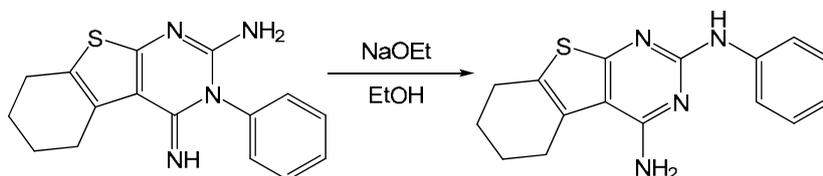
en presencia de 10 equivalentes de trietilamina se logra transformar el intermedio de estructura no identificada en la correspondiente piridopirimidina **35**{3,6}.



**Figura 1.89:** Conversión del intermedio de estructura desconocida en la piridopirimidina.

Pues bien, al realizar una búsqueda bibliográfica de la conversión de estructuras equivalentes a **78**{3,6} y **79**{3,6} en términos 4-aminopirimidínicos no se halla ni un solo ejemplo de este tipo de proceso para la segunda propuesta estructural, la N1-fenilsustituída.

Por el contrario, para sistemas del tipo N3-fenilsustituído equivalentes a **78**{3,6} sí se hallan referencias bibliográficas (El Ashry et al., **1999**). Concretamente, los autores describen la transformación de un sistema 4-imino-3-feniltieno[2,3-*d*]pirimidínico en su equivalente 4-amino-2-fenilaminotieno[2,3-*d*]pirimidínico (análogo a **35**{3,6}) por tratamiento en etóxido sódico en etanol.



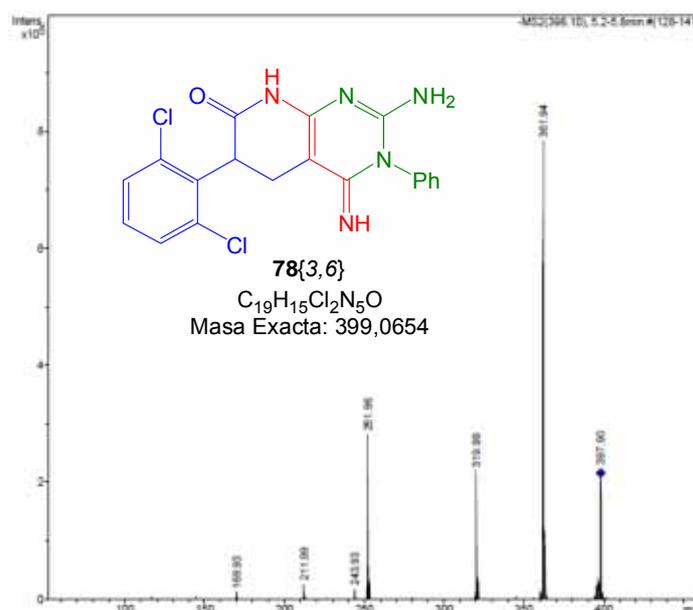
**Figura 1.90:** Transposición de Dimroth equivalente al proceso experimental observado.

Además, según ese mismo trabajo este proceso tiene lugar mediante la transposición de Dimroth, que implica la apertura del anillo pirimidínico en medio básico por efecto del ataque nucleófilo de la base y la posterior ciclación mediante el ataque nucleófilo del grupo amino no sustituido. Más adelante se discute en detalle el mecanismo de este proceso.

Así pues, con toda la información expuesta hasta el momento se dispone de suficientes indicios como para postular con relativa seguridad que el producto de condensación de la piridona **33**{3} con fenilguanidina **50**{6} en dioxano presente una estructura de tipo 2-amino-3-fenil-4-iminopirido[2,3-*d*]pirimidina **78**{3,6}.

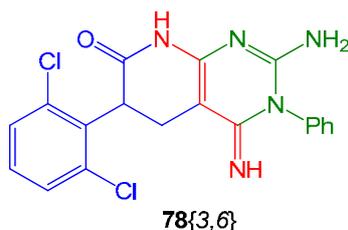
Pero además, es posible lograr mayor grado de seguridad sobre la identidad de este nuevo compuesto gracias a que este tipo de sistemas presentan una característica

fragmentación en espectros de masas de tipo ESI: ( $M^+-77$ ), atribuible a la pérdida del anillo fenilo unido a la pirimidina. De hecho, tal como refieren los citados autores (El Ashry et al., **1999**), el espectro correspondiente al producto obtenido presenta la señal de la pérdida esperada: 397,90  $[M-H]^+$ , 319,99  $[M-Ph-H]^+$ .



**Figura 1.91:** ESI-MS del término de condensación donde se observa la pérdida de fenilo.

En consecuencia, todos los datos espectroscópicos, el análisis pormenorizado de las características de cada propuesta estructural y la literatura hallada sobre este tipo de procesos, apuntan a que la condensación de la piridona **33{3}** con fenilguanidina **50{6}** en dioxano rinde un producto heterocíclico de estructura 2-amino-3-fenil-4-iminopirido[2,3-*d*]pirimidina **78{3,6}** nunca antes descrito u obtenido.



**Figura 1.92:** Estructura propuesta para el intermedio correspondiente a la reacción de la piridona **33{3}** con la fenilguanidina **50{6}** en 1,4-dioxano.

Establecida la entidad del intermedio obtenido en dioxano sorprende que efectivamente esta reacción se comporta de manera muy distinta a la implementada en metanol. En otras palabras, ¿por qué en dioxano se obtiene la 3-fenil-4-iminapiridopirimidina **78** y en metanol se obtiene directamente la 4-amino-2-fenilaminopiridopirimidina **35**? Por consiguiente, para comprender esta divergencia de comportamientos se comparan las polaridades relativas del término 4-imino, del 4-amino, y del disolvente empleado en la reacción.

Del perfil de solubilidad referido en la siguiente tabla se deduce que la 4-imina **78{3,6}** es bastante menos polar que la 4-amina **35{3,6}**. Por lo tanto, se puede considerar que el primer

compuesto se estabiliza en el medio relativamente apolar y aprótico que es el dioxano empleado para esta reacción. Es decir, probablemente la naturaleza de este medio de reacción condiciona decisivamente el curso de la reacción actuando como *driving force* para la obtención de la imina **78**{3,6} e impidiendo, al mismo tiempo, su conversión en **35**{3,6} mediante transposición de Dimroth.

Heterociclo	Solubilidad
<b>78</b> {3,6}	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , CHCl <sub>3</sub> , dioxano, THF, acetato de etilo, metanol y DMSO
<b>35</b> {3,6}	DMSO y TFA

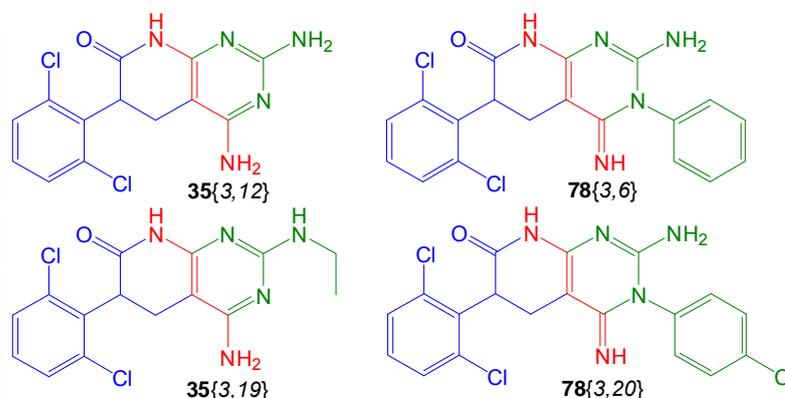
**Tabla 1.38:** Perfil de solubilidad de cada tautómero frente a disolventes orgánicos habituales.

Pero además, del análisis de polaridades también se puede concluir que para inducir la isomerización de los intermedios **78**{x,y} a sus correspondientes heterociclos **35**{x,y} debe sustituirse el disolvente de reacción por un disolvente más polar que el dioxano y que permita el fácil intercambio de protones. Adicionalmente, es posible que deba emplearse una base fuerte para facilitar el proceso, tal como ya apuntan los autores referidos (El Ashry et al., **1999**; Ha et al., **2008**) y como se ha comprobado experimentalmente con la trietilamina.

Antes de continuar con el estudio de la isomerización e intentar hallar unas condiciones convenientes para realizarla, se pretende estudiar la versatilidad de esta condensación frente al panel de guanidinas.

Heterociclo	Rdto %	<sup>1</sup> Rdto Global %
<b>78</b> {3,12}	34,3 <sup>2</sup>	30,2 <sup>2</sup>
<b>78</b> {3,19}	53,1 <sup>2</sup>	46,8 <sup>2</sup>
<b>78</b> {3,6}	94,6	83,3
<b>78</b> {3,20}	97,2	85,6

**Tabla 1.39:** Resultados de los acoplamientos en 1,4-dioxano. <sup>1</sup>rendimientos considerando 88,1% para la piridona modelo. <sup>2</sup>corresponde a isómero **35**.



**Figura 1.93:** Heterociclos de condensación obtenidos en 1,4-dioxano.

Las arilguanidinas rinden términos imínicos.

Las alquilguanidinas y la guanidina términos amínicos.

Los rendimientos para la obtención de los términos derivados de arilguanidina son excelentes. Por el contrario, para la etilguanidina (**35**{3,19}) es casi la mitad y para la guanidina (**35**{3,12}) es muy inferior, casi de un tercio. Esta tendencia es precisamente la opuesta a la observada en las metodologías que emplean el metanol como disolvente.

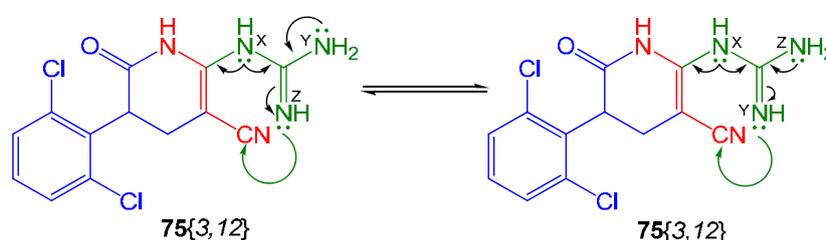
Para comprender esta tendencia, se analizan los crudos de reacción de estas dos guanidinas y se descubre que la piridona **33**{3} no se consume completamente pero que tampoco queda guanidina en el medio.

Por lo tanto, se deduce que estas dos guanidinas no son tan solubles en dioxano como sus análogas arilo. Como consecuencia de ello, la condensación se desarrolla en defecto de guanidina, muy lejos de la proporción 3:1 de guanidina:piridona. Este defecto es más acusado para la guanidina **50**{12} pues es la más polar de todas las consideradas y, por lo tanto, más insoluble.

En conclusión, la solubilidad de las guanidinas en el 1,4-dioxano influye decisivamente en el rendimiento de la condensación y mejora cuando las guanidinas son sustituidas, especialmente arilsustituidas.

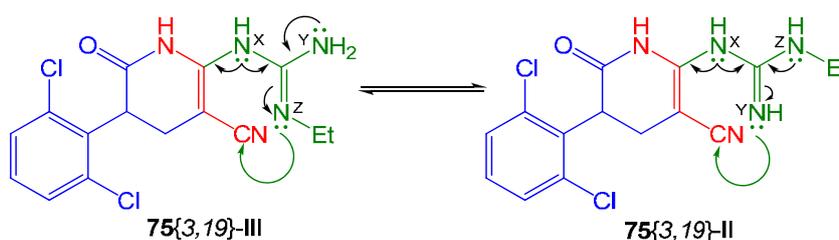
Otro aspecto que llama poderosamente la atención de los resultados obtenidos es que las condensaciones con guanidina y etilguanidina rinden directamente los isómeros **35**{x,y} como sólidos precipitados en el medio de reacción.

Este comportamiento no sorprende para la guanidina **50**{12}, pues sus nitrógenos son equivalentes. Además, incluso cuando uno de ellos ya ha realizado la sustitución etilénica de la piridona **33**{3}, los nitrógenos disponibles para la ciclación del anillo de pirimidina también son equivalentes, tal como muestra la siguiente figura. Así pues, estas equivalencias junto con las correspondientes tautomerías justifican la obtención directa del término **35**{3,12}.



**Figura 1.94:** Equivalencia de los nitrógenos disponibles para la ciclación del anillo de pirimidina cuando se emplea la guanidina **50**{12}.

Por el contrario, este comportamiento sí que resulta sorprendente para la etilguanidina por su evidente analogía estructural con la fenilguanidina. Pero de hecho sugiere que, o bien la isomerización de **78**{3,19} es mucho más fácil y se da en 1,4-dioxano (aún en ausencia de base), o bien la condensación rinde directamente la 4-amino-2-fenilaminopiridopirimidina **35**{3,19}.



**Figura 1.95:** Análisis de la capacidad de ataque nucleófilo del nitrógeno etilsustituido.

En consecuencia, para comprender la diferencia de comportamiento de las condensaciones en dioxano según se empleen arilguanidinas o alquilguanidinas (etil en este caso), se decide estudiar la nucleofilia de cada uno de los nitrógenos del intermedio **75**. El motivo de ello es que este tipo de compuesto monocíclico es el inmediato precursor común de las iminas **78** y de las aminas **35**. Concretamente, según la nomenclatura reflejada en la anterior figura, los compuestos imínicos se forman cuando la ciclación transcurre mediante el ataque nucleófilo del nitrógeno Y y los términos amino cuando este ataque es realizado por el nitrógeno Z.

Pues bien, tal como refleja la anterior figura, además de una muy débil cesión del nitrógeno X -consecuencia de la conjugación de su par electrónico con el sistema cianoetilénico del anillo piridónico-, los nitrógenos Y y Z reciben una fuerte cesión mesómera el uno del otro en sendas estructuras tautómeras. No obstante, la cesión del nitrógeno etilsustituido Z (**75**{3,19}-II) es algo mayor que la equivalente para Y (**75**{3,19}-III) gracias al efecto de cesión inductiva del sustituyente alquilo.

Por consiguiente, el nitrógeno Y debería ser algo más nucleófilo que Z. Pero además, si también se considera el impedimento estérico que supone la presencia del resto alquilo en el nitrógeno Z, se puede concluir con relativa seguridad que el nitrógeno Y probablemente es el responsable de cerrar el ciclo pirimidínico. Por lo tanto, el precursor **75**{3,19} ciclaría a través del nitrógeno Y para rendir directamente el término amino **35**{3,19} sin necesidad de obtener e isomerizar la imina **78**{3,19}.

Por último, cabe comentar que el anterior análisis de efectos electrónicos es justamente el opuesto al realizado en el caso de las arilguanidinas. El motivo de ello es que precisamente este tipo de sustituyentes actúa como aceptor mesómero y desactiva la nucleofilia del nitrógeno Y. En consecuencia, el único nitrógeno disponible para la ciclación del anillo pirimidínico es precisamente el arilsustituido Z.

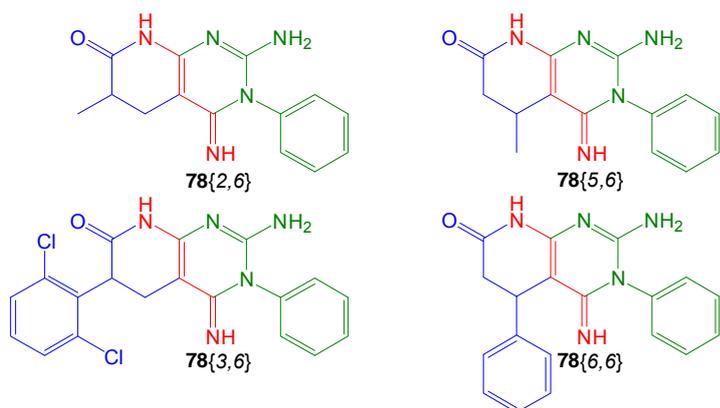
Por lo tanto, los intermedios **75**{x,y} presentan unas diferencias de efectos electrónicos tan acusadas que permiten justificar la formación de términos 2-amino-3-arilo-4-imino **78**{x,y} y 4-amino-2-arilamino **35**{x,y} en función del tipo de guanidina empleada para la condensación con piridonas **33**{x} en dioxano. Afortunadamente, estas previsibles diferencias de nucleofilia coinciden con los resultados experimentales.

Por último, antes de centrarse de nuevo en el estudio de las condiciones óptimas de isomerización, se aplica la metodología de obtención de los sistemas 2-amino-3-aril-4-imínicos **78** sobre el panel de piridonas **33** sintetizado previamente. Con ello se estudia la versatilidad de la reacción frente a la variación de la piridona.

Observando los resultados se aprecia que la condensación de piridonas con sustituyentes en  $\beta$  de carbonilo es significativamente peor que la de las piridonas equivalentes con

sustituyentes en  $\alpha$  de carbonilo. La diferencia es bastante grande: del 35 % al 40 % para las primeras, alrededor del 90 % para las segundas.

Estas diferencias tan acusadas sólo se pueden relacionar con la posición relativa de los sustituyentes del anillo piridónico. De hecho, los sustituyentes en  $\beta$  de carbonilo están más cerca del carbono sobre el que acontece la sustitución nucleófila y, por tanto, deben ejercer cierto impedimento estérico. En este sentido, los estudios previos de obtención de 2,4-diaminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35**{*x,y*} a través de los sistemas piridónicos **33**{*x*} muestran una tendencia análoga. Desgraciadamente, estos estudios emplean guanidina **50**{12}, que es un nucleófilo bastante menos impedido y, por lo tanto, la diferencia de rendimientos entre unos casos y otros es de apenas el 10 % (Victory, **1985**).



**Figura 1.96:** 4-imino análogos **78** derivados del panel de piridonas **33** sintetizado previamente.

Heterociclo	Rdto %	<sup>1</sup> Rdto Global %
<b>78</b> {2,6}	89,2	32,5
<b>78</b> {3,6}	94,6	83,3
<b>78</b> {5,6}	40,5	16,2
<b>78</b> {6,6}	35,0	30,6

**Tabla 1.40:** Rendimientos de sustitución y ciclación de distintas piridonas.

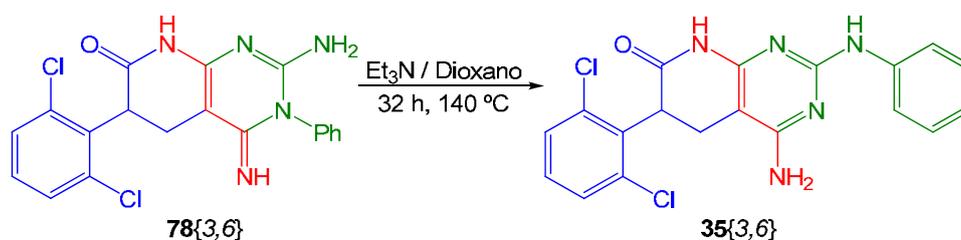
<sup>1</sup>considerando el rendimiento de su correspondiente piridona.

En conclusión, se comprueba que la condensación de las piridonas **33**{*x*} con arilguanidinas en 1,4-dioxano permite obtener los heterobisoclos **78**{*x,y*} con rendimientos muy elevados cuando la piridona está sustituida en  $\alpha$  de carbonilo y rendimientos moderados cuando lo está en  $\beta$  de carbonilo. Por el contrario, cuando se emplean alquilguanidinas o guanidina se obtienen directamente las 4-aminopiridopirimidinas **35**{*x,y*} con rendimientos discretos como consecuencia de la pobre solubilidad de estas bases en dioxano; además, no se obtienen los términos imínicos debido a las diferentes propiedades nucleófilas de estas guanidinas.

Por último, se postula que para favorecer la isomerización de los sistemas **78**{*x,y*} derivados de arilguanidinas a sus correspondientes heterobisoclos **35**{*x,y*} debe sustituirse el disolvente de reacción por uno más polar que el dioxano y que permita el fácil intercambio de protones. Además, seguramente sea necesario emplear una base fuerte para facilitar el proceso, tal como ya apuntan algunos autores (El Ashry et al., **1999**; Ha et al., **2008**) y como se ha comprobado experimentalmente con la trietilamina.

#### 1.5.2.4. Isomerización de los sistemas 78{x,y}

En el apartado anterior se establece que la trietilamina logra isomerizar la imina **78**{3,6} a la correspondiente amina **35**{3,6} tras largo tiempo de reacción a temperatura elevada (32 h a 140 °C) y con un modesto rendimiento del 54,3 %. Pero además, también se observa que en presencia de los dos equivalentes sobrantes de fenilguanidina (base con pKa similar al de la trietilamina) únicamente se logra cierto grado de formación de la 4-aminopiridopirimidina (7,8 %) tras calentar el crudo de la condensación a reflujo (102 °C) durante 7 días.

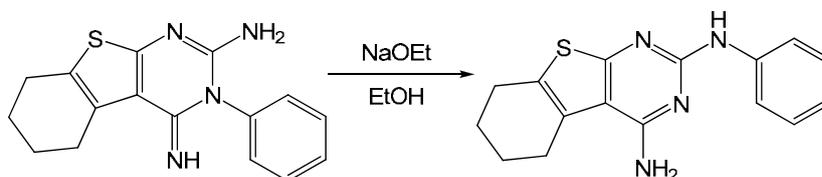


**Figura 1.97:** Conversión del intermedio imínico en la 4-aminopiridopirimidina.

Así mismo, también se apunta a la posibilidad de que esta isomerización transcurra mediante la transposición de Dimroth, que implica la apertura del anillo pirimidínico en medio básico por efecto del ataque nucleófilo de la base y la posterior ciclación mediante el ataque nucleófilo del grupo amino no sustituido.

Pero más allá del posible mecanismo de isomerización, estos resultados experimentales muestran claramente que para lograr la conversión de las iminas **78**{x,y} -obtenidas por condensación de las piridonas **33**{x} y arilguanidinas- en sus correspondientes aminas **35**{x,y} se debe:

- Incorporar una base fuerte probablemente con cierto poder nucleófilo, tal como sugiere el ejemplo referido anteriormente (El Ashry et al., 1999),



**Figura 1.98:** Ejemplo de transposición de Dimroth equivalente al proceso observado.

- Sustituir el dioxano empleado como disolvente de condensación por un disolvente polar prótico que desestabilice el término 3-arilo-4-imina y que facilite la prototropía inherente a la formación del término 4-amino-2-fenilamina.

Puede, incluso, ser necesario implementar ambas modificaciones para lograr la isomerización.

Por otro lado, a la hora de acometer el estudio de esta transformación existen dos posibilidades:

- Tras la condensación de la piridona y la arilguanidina en dioxano se adiciona una base al medio y/o se reemplaza el disolvente por uno más apropiado para la isomerización. Es decir, se trabaja sobre el crudo de condensación, que también contiene 2 equivalentes de guanidina, subproductos, metanol, etc.
- Tras la condensación, se aísla el intermedio **78**, se redisuelve en un disolvente más apropiado para la isomerización y se añade (o no) una base conveniente. Es decir, se trabaja sobre el intermedio aislado.

Al considerar estas dos alternativas se opta por la segunda pues parece más simple. Además, una vez halladas las condiciones de isomerización óptimas para las iminas **78** aisladas, siempre es posible adaptarlas para poder aplicarlas sobre los crudos de condensación.

Así pues, tomando como modelo el compuesto **78**{3,6} aislado y de alta pureza, se ensaya el cambio del disolvente para comprobar si por sí solo es capaz de favorecer el proceso. Desafortunadamente, tras agitar durante 16 h a temperatura ambiente dicho producto disuelto en *tert*-butanol y metanol no se obtiene la 4-aminopiridopirimidina **35**{3,6}.

Estos resultados indican que tratar las iminas **78** derivadas de arilguanidinas con *tert*-butanol y metanol (disolventes polares próticos) no es suficiente para inducir la isomerización a temperatura ambiente. Esto sugiere que quizás sea necesario adicionar alguna base y/o nucleófilo.

Base	pKa
Piridina	5,25
Trietilamina	10,75
DBU	12
Metanol	15,54

**Tabla 1.41:** pKa de las bases estudiadas

Al repetir los tratamientos a temperatura ambiente empleando un equivalente de piridina, trietilamina, DBU o metóxido sódico en ningún caso se obtiene el producto deseado.

Que ni con el medio similar a la reacción de Victory (metanol/metóxido sódico) se obtenga el heterobicyclo **35**, aunque sea el medio más básico, polar y prótico de los ensayados, lleva a plantearse la necesidad de activar la reacción térmicamente.

En primer lugar se repite la reacción empleando DBU y trietilamina como disolventes e irradiando con MW a 140 °C durante 1 h, 6 h y 12 h. En estos casos se obtiene el sistema piridopirimidínico **35**{3,6} con un rendimiento del 11,6 % y 7,2 % respectivamente a las 12 h de reacción. Este resultado indica claramente la necesidad de calentar para activar la reacción, pero también manifiesta la necesidad de emplear disolventes polares próticos.

En consecuencia, para facilitar la isomerización de la imina **78** se decide emplear un disolvente prótico, pero cuidando las condiciones de reacción para que, incluso a elevada

temperatura, sea un medio suave y sin la nucleofilia excesiva del metanol. Así pues, se ensaya este proceso en *tert*-butanol empleando como base un equivalente de DBU e irradiando a 140 °C. Tras 1 h, 3 h y 6 h de reacción no se aprecia la formación de la piridopirimidina.

Al considerar todos estos resultados conjuntamente se puede concluir inequívocamente que es necesario emplear el metanol como medio de isomerización, lo que indica que puede que sea necesaria su capacidad de intercambiar protones con el producto y/o su potencial nucleofilia.

Para ilustrar esta conclusión basta sólo con considerar el resultado del siguiente ensayo: al calentar **78**{3,6} a 140 °C en metanol con un equivalente de DBU durante 1 h se obtiene la 4-aminopiridopirimidina **35**{3,6} con un rendimiento del 50,3 %. Pero además, si se aumenta la temperatura a 160 °C y se reduce el tiempo de reacción a 10 min, se obtiene en un 60,0 %.

Así pues, parece que el metanol es el disolvente más conveniente para la isomerización del intermedio 3-aryl-4-imínico. Además, a pesar de las reservas iniciales, apenas se observa por CCF la formación de anilina ni otros subproductos, especialmente a tiempos cortos. Por el contrario, se aprecia que resta intermedio imínico sin reaccionar.

Teniendo en cuenta los buenos resultados obtenidos con DBU y que el metóxido es una base más potente (además de nucleófila), se aparcan las reservas iniciales sobre el uso de metóxido sódico. Surge, pues, la duda de si este reactivo sería capaz de lograr la isomerización de manera más eficaz y, sobre todo, más rápida: a mayor tiempo en solución metanólica a alta temperatura, aumenta la degradación del intermedio y la cantidad de anilina liberada.

Se calienta, pues, a 140 °C durante 30 min una mezcla 1:10 metóxido:**78**{3,6} en solución metanólica y no se observa apenas evolución. Pero aumentando el tiempo hasta las 3 h se obtiene la piridopirimidina **35**{3,6} con un rendimiento del 4,6 %. Desgraciadamente, también se forma una gran cantidad de anilina.

Este resultado parece indicar que es necesario incrementar la proporción de metóxido sódico para acelerar la reacción convenientemente y evitar así que un largo tiempo de calefacción favorezca la degradación de la imina.

Por consiguiente, se aumenta la proporción de base hasta 1:1 metóxido:**78**{3,6} y se obtiene el correspondiente heterobicyclo **35** con un rendimiento del 57 % en tan solo 10 min y sin apenas formación de anilina. Este resultado es excepcionalmente bueno por su rendimiento, pero sobre todo porque en el crudo (muy limpio) sigue quedando imina sin reaccionar. Es decir, que estas condiciones aún no son las óptimas.

Por lo tanto, con la intención de hallar las condiciones de máxima conversión se realizan diferentes ensayos con esta misma proporción de base. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla.

T / °C	t / min	Rdto %
100	60	20,7
120	60	51,4
140	60	77,9
160	30	78,7

**Tabla 1.42:** Resultados de la isomerización con un equivalente de NaOMe en metanol según el tiempo y temperatura de calefacción.

Estos resultados son buenos, pero con tiempos de reacción tan largos se observa que se forma demasiada anilina. No obstante, en el medio sigue quedando **78{3,6}** sin reaccionar.

Así pues, ya que estos resultados parecen indicar que existe una clara dependencia del rendimiento de isomerización respecto del tiempo y la temperatura de reacción, y que todavía no parece haberse localizado el óptimo de conversión, se decide implementar un pequeño diseño de experiencias.

Las variables consideradas y sus respectivos niveles son los siguientes:

- Temperatura: nivel bajo a 140 °C, nivel alto a 160 °C. No se consideran niveles intermedios.
- Tiempo de reacción: nivel bajo a 10 min, nivel medio a 30 min, nivel alto a 60 min.

Para simplificar al máximo el diseño del plan de ensayos no se considera ni la replicación, ni la formación de bloques, ni puntos centrados.

Respecto a la replicación sí que cabe comentar que, así como al principio del trabajo se realizaban siempre replicados de todos los ensayos, ahora ya se ha comprobado que los resultados, en general, presentan una variabilidad extremadamente baja. Por lo tanto, la realización de replicados no es necesaria.

Por el contrario, el diseño sí que considera la randomización y el uso de niveles intermedios, al menos para el tiempo.

Temperatura (°C)	tiempo (min)	Rdto
140	30	0,751
140	60	0,779
160	60	0,810
140	10	0,573
160	10	0,740
160	30	0,819

**Tabla 1.43:** Plan de muestreo y resultados obtenidos.

Al analizar los rendimientos referidos en la tabla anterior y someterlos al correspondiente análisis estadístico se obtiene el siguiente ANOVA:

$R^2 =$	0,984
$\hat{R}^2 =$	0,919
Error estándar de estimación =	0,026

**Tabla 1.44:** Coeficientes de determinación y error estándar de estimación.

Efecto	F <sub>o</sub>	Valor P
A:Temperatura	16,20	0,1550
B:tiempo	29,10	0,1167
AB	6,56	0,2370
BB	10,80	0,1880

**Tabla 1.45:** Valores estadísticos asociados al ANOVA de factores e interacciones.

Como consecuencia de no replicar ensayos la tabla de ANOVA para factores e interacciones muestra que no existe ningún efecto influyente. Esta es una conclusión estadística que en nada se corresponde con las observaciones experimentales. Por lo tanto, y teniendo en cuenta que más que el análisis de influencias interesa la determinación de la respuesta óptima, los factores estadísticos que realmente cuentan son los coeficientes de determinación.

Estos coeficientes muestran que el modelo matemático ajustado a los datos experimentales es muy significativo: justifica más del 90 % de la variabilidad observada. Tomando en consideración este hecho, se determinan las condiciones de reacción de rendimiento máximo gracias a dicho modelo.

$$Y = -0,760058 + 0,00877105A + 0,0308314B - 0,000130132AB - 0,00012216763229B^2$$

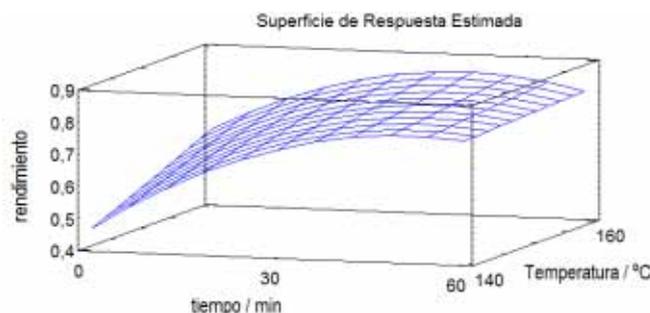
**Ecuación 1.10:** Modelo matemático ajustado.

Variable	Valor
Temperatura/°C	160
Tiempo/min	41
Rdto %	84,8

**Tabla 1.46:** Condiciones óptimas.

Así pues, el modelo ajustado pronostica que el rendimiento máximo es de aproximadamente el 85 % y se obtiene calentando a 160 °C durante 40 min la imina **78**{3,6} con un equivalente de metóxido sódico en metanol.

Un apunte más sobre el modelo ajustado. Si se observa la superficie de respuesta que describe la ecuación, se observa como se curva a tiempos largos. Es decir, se obtienen peores rendimientos de isomerización a mayor tiempo de reacción, lo que coincide plenamente con las observaciones experimentales expuestas anteriormente.



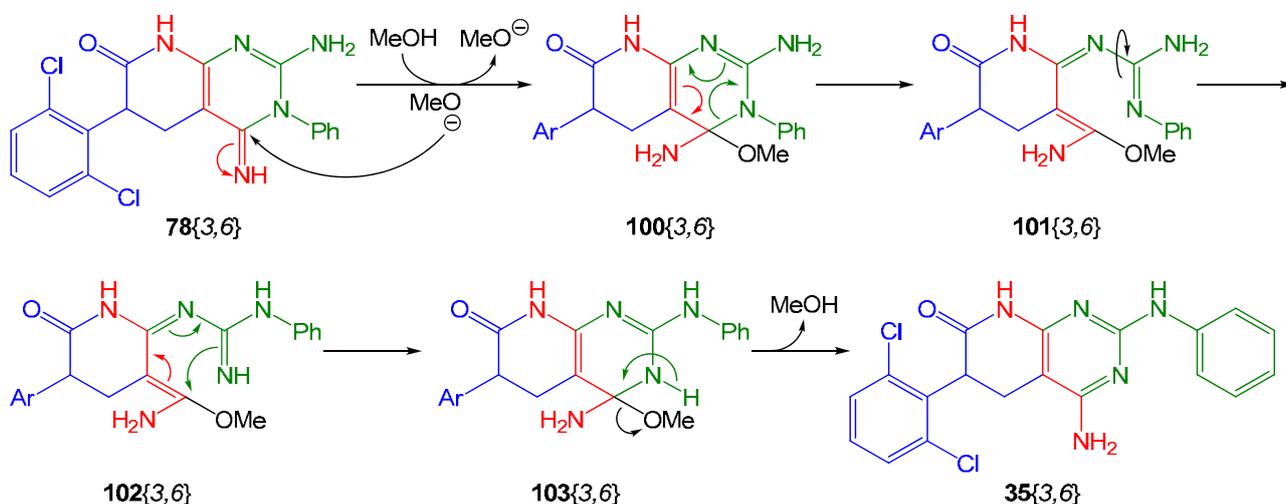
**Figura 1.99:** Superficie de respuesta del modelo ajustado.

Al realizar el experimento de isomerización en las condiciones que el modelo sugiere como óptimas, se obtiene la 4-aminopiridopirimidina **35**{3,6} con un rendimiento del 86,0 %, ligeramente superior al 84,8 % al previsto.

Al considerar las condiciones de isomerización de la 4-imina **78**{3,6} en su correspondiente término 4-amino **35**{3,6} y compararlas con las condiciones de reacción referidas en la bibliografía para la isomerización heterociclos similares (El Ashry et al., **1999**; Filák et al., **2008**; Riedl et al., **2009**), se aprecia que en todos los casos el disolvente es polar prótico (etanol o incluso agua), que la base empleada puede ser aniónica o neutra (metóxido sódico, etóxido sódico, DBU) y que el tiempo y temperatura de reacción varían enormemente.

De hecho, considerando concretamente los ejemplos con sustitución *N*-aril se puede constatar que, tanto por disolvente de reacción como catálisis básica empleada, las condiciones implementadas en el presente estudio son muy similares. No obstante el tiempo y la temperatura de reacción implementados son significativamente superiores a cualquiera de los casos descritos en la bibliografía.

Por otro lado, en todos los ejemplos de este tipo de transformaciones sintéticas se afirma que la conversión de la imina transcurre mediante la transposición de Dimroth. Este proceso implica la apertura del anillo pirimidínico en medio básico por efecto del ataque nucleófilo de la base y la posterior ciclación mediante el ataque nucleófilo del grupo amino no sustituido, tal como muestra la siguiente figura.



**Figura 1.100:** Mecanismo de transposición de **35**{3,6} tipo Dimroth.

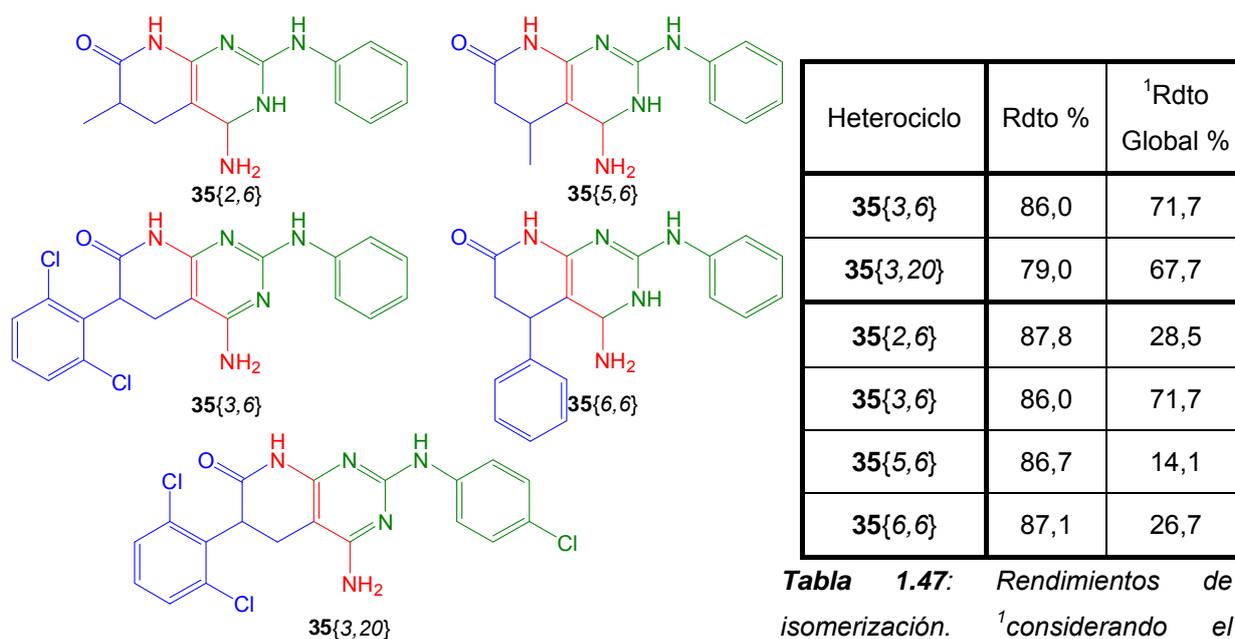
Como se aprecia en esta propuesta de mecanismo, el metóxido actúa de catalizador del proceso, acelerando la apertura del ciclo pirimidínico mediante ataque nucleófilo.

También se puede observar que la reciclación del anillo pirimidínico se da mediante el ataque nucleófilo del nitrógeno imínico (**102**{3,6}) -y no a través del fenilimínico (**101**{3,6})-. Muy probablemente esto se debe a que el primero presenta una mayor densidad de carga negativa merced de la cesión mesómera del grupo amino y metoxi a través del sistema de conjugación.

Por el contrario, el nitrógeno fenilimínico deslocaliza esta misma cesión mesómera sobre el anillo aromático y, por lo tanto, su nucleofilia se ve algo mermada. Pero además de por esta diferencia de nucleofilia, el itinerario de ciclación a través del nitrógeno imínico está favorecido gracias a la aromatización del término final y su precipitación en el medio de reacción, que son las auténticas *driving force* del proceso.

Por último, del mecanismo de reacción propuesto cabe destacar la gran conjugación del intermedio **101**{3,6} que, tal como se acaba de comentar, presenta un sistema  $\pi$  conjugado que se extiende desde los sustituyentes amino y metoxi hasta el anillo aromático. Esta gran conjugación contribuye decisivamente a la evolución de las primeras etapas de la transposición, pero puede llegar a suponer alguna dificultad para la posterior evolución de la isomerización. De hecho la tautomerización a **102**{3,6}, que es un sistema bastante menos conjugado, no está favorecida desde el punto de vista energético y transcurre, precisamente, gracias a las *driving force* globales del proceso antes mencionadas.

Establecida pues la metodología de isomerización capaz de convertir las 3-aryl-4-iminas **78**{x,y} en sus correspondientes 2-aryl-amino-4-aminopiridopirimidinas **35**{x,y}, se decide comprobar su versatilidad ensayándose sobre el resto de sistemas imínicos obtenidos.



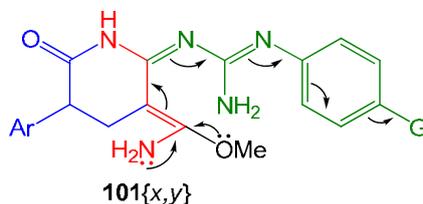
**Figura 1.101:** heterociclos **35** derivados del panel de piridonas **33** sintetizado previamente.

**Tabla 1.47:** Rendimientos de isomerización. <sup>1</sup>considerando el rendimiento de todos los pasos sintéticos desde el éster **31**{x}.

Sorprende gratamente la gran homogeneidad de los resultados obtenidos, prueba de que la isomerización en estas condiciones transcurre de manera prácticamente equivalente en todos los casos.

Únicamente existe un ejemplo en el que el rendimiento obtenido se desvía del conjunto. Este ejemplo corresponde al heterociclo **35**{3,20} obtenido a partir de la *p*-clorofenilguanidina

**50{20}**. Este ligero descenso del rendimiento podría deberse a la presencia del átomo de cloro en la posición *para* del anillo arilguanidínico: puesto que se trata de un aceptor inductivo y contribuye a estabilizar el intermedio **101{3,20}**, la tautomerización necesaria para la reciclación de la unidad de pirimidina puede estar menos favorecida y, en consecuencia, el proceso global algo minimizado.



**Figura 1.102:** El aumento de la conjugación con el anillo aromático puede dificultar la tautomerización necesaria para la reciclación del anillo pirimidínico.

Ahora se pretende lograr la isomerización de las iminas **78{x,y}** sin aislarlas. Es decir, se fuerza la isomerización en el crudo de la condensación de las piridonas **33{x}** con las arilguanidinas **50{y}**, en el que como mínimo hay presente 2 equivalentes de guanidina sin reaccionar.

Puesto que se han hallado unas condiciones óptimas para la conversión de los productos aislados, ¿por qué no aplicarlas también sobre el crudo de la reacción?

Para ello, se toma el crudo de condensación de la piridona modelo **33{3}** y la fenilguanidina **50{6}** en 1,4-dioxano y se sustituye su disolvente por metanol -no se forma precipitado alguno-. Además, se le añade un equivalente de metóxido sódico por equivalente de piridona empleada en la etapa sintética anterior, y se irradia la mezcla 40 min a 160 °C.

Se obtiene con un rendimiento del 69,7 % un sólido abundante identificado como la correspondiente piridopirimidina **35{3,6}**.

Rdto %	Piridona <b>33{3}</b>	4-Imina <b>78{3,6}</b>	4-Amina <b>35{3,6}</b>	Global
Imina aislada	88,1	94,6	86,0	71,7
Imina no aislada	88,1	-	69,7	61,4

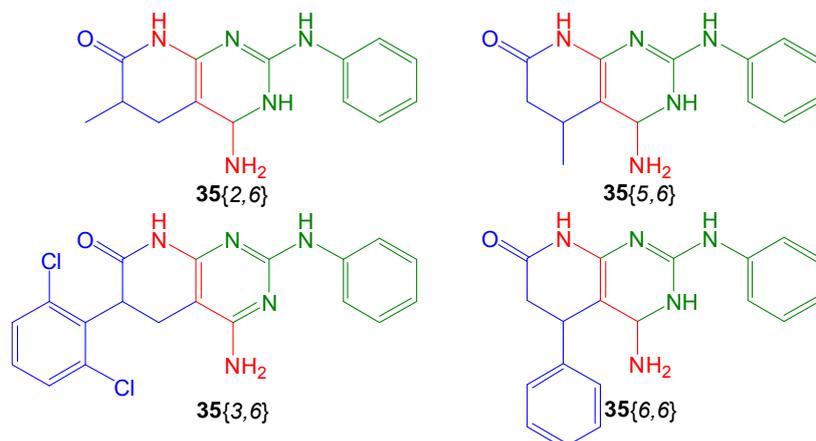
**Tabla 1.48:** Comparación de los rendimientos de **35{3,6}** según se aisle o no la imina **78{3,6}**.

Comparando los rendimientos globales de obtención de la piridopirimidina modelo desde el éster de partida **31{3}**, se aprecia una diferencia del 10 % favorable a la metodología con aislamiento. Por lo tanto, parece que es preferible aislar el intermedio **78{3,6}**.

Presumiblemente, esta estrategia es más adecuada porque el aislamiento del intermedio permite eliminar del medio de ciclación tanto los equivalentes de guanidina excedentes como posibles subproductos que se hayan podido formar. Con ello, el medio de ciclación únicamente contiene la imina y, por lo tanto, la reacción de isomerización no tiene apenas interferencia.

Parece, pues, que las sustancias presentes en el crudo de la condensación pueden inducir procesos químicos secundarios competentes durante la isomerización y con ello minimizar su eficacia.

Para probar la versatilidad de esta metodología sin aislamiento, se acomete la obtención de las piridopirimidinas referidas en la siguiente figura.



**Figura 1.103:** Heterociclos obtenidos por isomerización sin aislamiento de las iminas.

Los resultados muestran que aquellos productos con sustituyentes en  $\alpha$  de carbonilo se obtienen con peores rendimientos si no se aíslan sus intermedios. Por el contrario, aquellos heterobisiclos con sustituyentes en  $\beta$  de carbonilo prácticamente se obtienen con el mismo rendimiento.

Rdto % Heterociclo	Sin aislamiento de <b>78</b>		Global con aislamiento de <b>78</b> <sup>1</sup>
	<b>33</b> → <b>35</b>	Global <sup>1</sup>	
<b>35{2,6}</b>	59,4	21,6	28,5
<b>35{3,6}</b>	69,7	61,4	71,7
<b>35{5,6}</b>	33,2	13,4	14,1
<b>35{6,6}</b>	52,6	27,7	26,7

**Tabla 1.49:** Rendimientos del panel de heterobisiclos según se aisle o no la imina **78**.

<sup>1</sup>considerando el rendimiento de todos los pasos sintéticos desde el éster **31{x}**.

En resumen, considerando estos resultados en su globalidad se puede concluir lo siguiente:

- Para lograr rendimientos mayores, mejor emplear la metodología de condensación en dioxano con posterior aislamiento de la correspondiente imina **78{x,y}** y ulterior isomerización en metóxido/metanol.
- Para lograr productos más rápidamente, mejor emplear la metodología de condensación en dioxano sin aislamiento de la correspondiente imina **78{x,y}** y ulterior isomerización en metóxido/metanol.

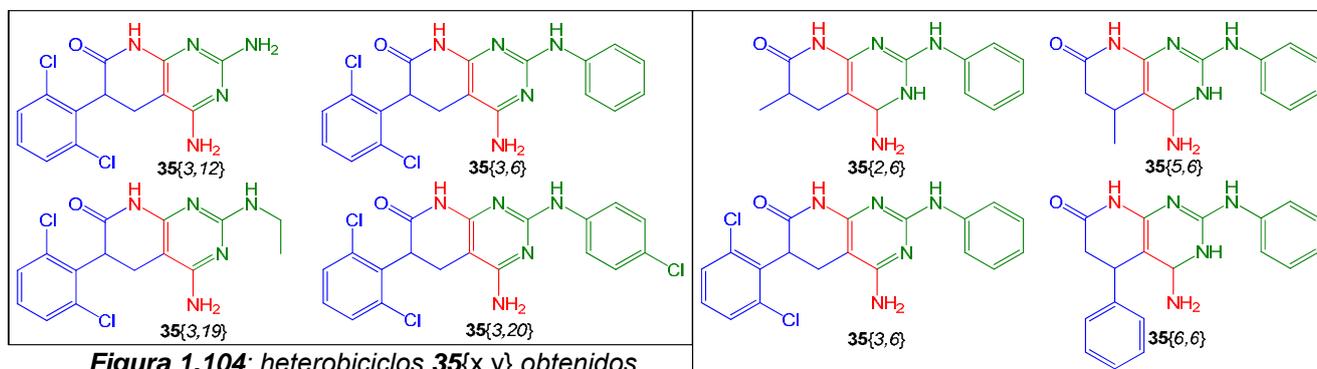
### 1.5.3. Recapitulación, resumen y discusión de resultados

Para finalizar este estudio, cabe comparar el conjunto de los resultados logrados mediante los distintos métodos de obtención. Dichos resultados se refieren en la siguiente tabla.

Rdto % Heterociclo	Victory	Vía 33	Sin solvente	Vía 78 aislado	Vía 78 no aislado
<b>35{3,12}</b>	69,6	<b>87,0</b>	0	34,3 <sup>1</sup>	
<b>35{3,19}</b>	35,4	49,5	0	<b>53,1<sup>1</sup></b>	
<b>35{3,6}</b>	20,5	27,2	61,1	<b>71,7</b>	61,4
<b>35{3,20}</b>	19,2	27,5	30,1	<b>67,7</b>	-
<b>35{2,6}</b>	11,1	20,6	-	<b>28,5</b>	21,6
<b>35{3,6}</b>	20,5	27,2	61,1	<b>71,7</b>	61,4
<b>35{5,6}</b>	<1	7,1	-	<b>14,1</b>	13,4
<b>35{6,6}</b>	<1	13,2	-	<b>27,7</b>	26,7

**Tabla 1.50:** Resultados globales de obtención de **35{x,y}** según el método empleado. En rojo se refieren los rendimientos máximos para cada piridopirimidina.

<sup>1</sup>se obtienen directamente sin aislamiento de las iminas **78{x,y}**.



**Figura 1.104:** heterociclos **35{x,y}** obtenidos.

Estos resultados muestran que para obtener con cierto rendimiento 2-arilamino-4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas **35{x,y}** es preferible acometer su síntesis por condensación de la correspondiente piridona **33{x,y}** y arilguanidina **50{y}** en 1,4-dioxano. El aislar o no el intermedio **78{x,y}** puede no ser significativo, especialmente si el heterociclo presenta sustituyentes en  $\beta$  de carbonilo. Estos resultados demuestran que las reacciones con arilguanidinas necesitan medios de reacción menos competentes y agresivos que el metanol.

Además, según muestran los resultados, la metodología de Victory no ofrece garantías para la obtención de piridopirimidinas con sustituyentes en  $\beta$  de carbonilo, para ello hace falta recurrir a la condensación en metanol o, mejor, en dioxano, se aísle o no el intermedio imínico.

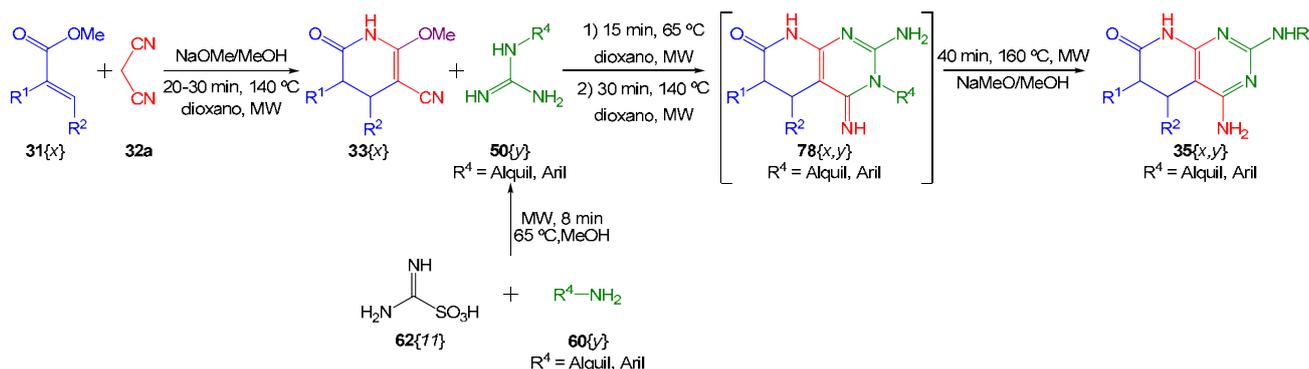
Por otro lado, si lo que se pretende es un método para obtener derivados de guanidina **50**{12}, el mejor método es claramente la condensación de las piridonas **33**{x} en metanol. No obstante, la reacción de Victory supone una alternativa atractiva de síntesis pues permite obtener estos mismos productos de manera mucho más rápida pagando el peaje de un pequeño descenso en el rendimiento.

Para la obtención de piridopirimidinas **35**{x,y} empleando alquilguanidinas es preferible emplear las condensaciones de las correspondientes piridonas **33**{x} en metanol o 1,4-dioxano, pues sus resultados van a la par.

Por último, cabe destacar que los rendimientos de los heterobisoclos derivados del 2-(2,6-diclorofenil)acrilato de metilo **31**{3} son en todos los casos muy superiores al resto. Esta afortunada tendencia ya es ampliamente discutida en trabajos anteriores (Berzosa, **2010**) y es generalizable a multitud de derivados con sustituyentes arilo en  $\alpha$  de carbonilo -tal como muestra la obtención de la piridona **33**{4} con resto naftilo-. Además de por los rendimientos, estos resultados son también afortunados porque estos sistemas son los de mayor atractivo desde el punto de vista bioquímico.

## 1.6. Reacción de las piridonas 33{x} con los crudos de la reacción de guanidinación con AIMSOA

Uno de los objetivos del estudio anterior es hallar una metodología que permita condensar las piridonas 33{x} con los crudos de reacción que rinde el método de guanidinación implementado anteriormente, especialmente para las aminas aromáticas pues su condensación en metanol permite obtener los sistemas bicíclicos con muy bajos rendimientos. Con ello se pretende generalizar la obtención de piridopirimidinas 35{x,y} derivadas de arilguanidinas mediante el acoplamiento en 1,4-dioxano.



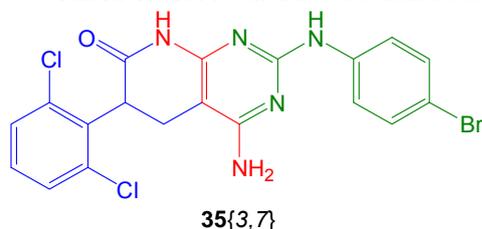
**Figura 1.105:** Ruta sintética general para la obtención de 2-aminopiridopirimidinas.

Tomando como sistema de estudio la amina modelo (*p*-bromoanilina 60{7}) y la piridona modelo (3-ciano-5-(2,6-diclorofenil)-2-metoxipiridinona 33{3}) se ensaya este posible acoplamiento que, en caso de funcionar, debería rendir la piridopirimidina 35{3,7}.

Tras obtener los crudos de guanidinación correspondientes a los excesos 2:1 y 1:1,5 60{7}:62{11}, se combina la piridona modelo 33{3} con cada uno de estos crudos empleando tanto la metodología de condensación en metanol como la que se desarrolla en dioxano.

Proporción 60{7}:62{11}	Acoplamiento MeOH		Acoplamiento Dioxano	
	Etapas	Global <sup>1</sup>	Etapas	Global <sup>1</sup>
2 : 1	22,2 %	19,6 %	< 1 %	< 1 %
1 : 1,5	23,7 %	20,9 %	1,5 %	1,3 %

**Tabla 1.51:** Resultados de ambos métodos. <sup>1</sup>considerando 88,1% para la piridona modelo.



**Figura 1.106:** Sistema obtenido por condensación de la piridona 33{3} con los crudos de guanidinación de *p*-bromoanilina 60{7}.

Las diferencias del rendimiento de obtención de 35{3,7} según el disolvente empleado en la condensación son muy acusadas y sorprendentes. Pero estos resultados reflejan la falta de solubilidad de los crudos de guanidinación en 1,4-dioxano.

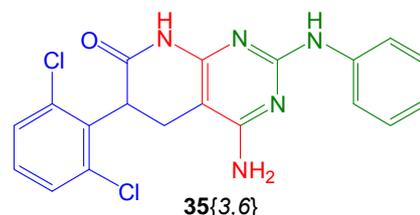
Concretamente, los crudos de guanidinación son totalmente solubles en metanol, pero al reemplazar este disolvente por dioxano se obtienen aceites muy

densos e insolubles. Desafortunadamente, tras el tratamiento para activar la guanidina (15 min a 65 °C con metóxido sódico) la situación no mejora en absoluto, ni aumentando el tiempo hasta los 60 min.

Así mismo, estos resultados reflejan una tendencia ya observada anteriormente: el rendimiento para el acoplamiento con el crudo de guanidinación en defecto de anilina es ligeramente mayor. Esto indica que la presencia de restos de amina en el medio de reacción perjudica la condensación como consecuencia de la competencia nucleofílica que se establece entre anilina y guanidina. No obstante, el efecto no es muy acusado, más bien es una leve tendencia, y esto es así gracias a que, afortunadamente, la guanidina es bastante más nucleófila que su correspondiente anilina.

Por último, estos resultados apuntan a que el acoplamiento de la guanidinación con AIMSOA y la obtención de los heterociclos **35**{x,y} por condensación de las piridonas **33**{x} permite obtener dichos sistemas con rendimientos ligeramente superiores a los anteriormente referidos para el acoplamiento de la reacción de guanidinación mediante la reacción *one-pot* de Victory.

Para contrastar esta última afirmación, basta recordar que la piridopirimidina **35**{3,6} se obtiene con rendimientos alrededor del 19 % cuando se acoplan la reacción de guanidinación y la reacción multicomponente de Victory.

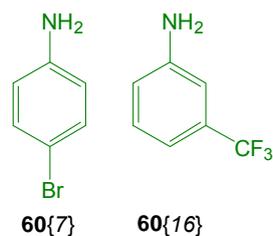


**Figura 1.107:** heterociclo obtenido por condensación de la piridona **33**{3} con los crudos de guanidinación de la *p*-bromonanilina **60**{7}.

A pesar de que la obtención de heterociclos **35**{x,y} es más laboriosa a través de la condensación de las piridonas **33**{x}, y de que la diferencia de rendimientos puede parecer mínima, esta metodología puede resultar muy atractiva en aquellos casos en que el acoplamiento mediante la reacción multicomponente de Victory no permita obtener algún heterociclo concreto.

Por otro lado, para ensayar las correspondientes condensaciones en 1,4-dioxano parece que deben emplearse guanidinas comerciales o sintéticas, siempre y cuando sean lo suficientemente puras. Es decir, sin las sustancias presentes en los crudos de guanidinación que interfieren en la formación de los sistemas bicíclicos.

Por último, ya que en el presente trabajo se ha estudiado un método de guanidinación en concreto, éste se emplea para la obtención y aislamiento de las guanidinas de las anilinas referidas en la siguiente figura. En la tabla adjunta se refieren los rendimientos de producto aislado.



Amina	Y	$\eta\%$
<b>60{7}</b>	0,998	78,1
<b>60{16}</b> <sup>1</sup>	0,537	35,8

**Tabla 1.52:** Conversiones y rendimiento de guanidina **50{y}** aislada según la anilina empleada.

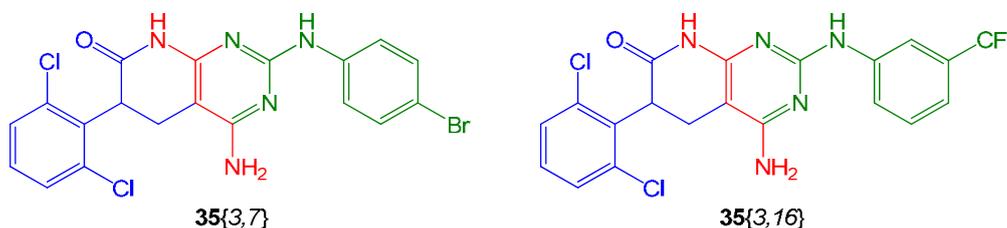
<sup>1</sup>Calefacción 30 min a 65 °C

**Figura 1.108:** Anilinas cuya guanidina **50{y}** se sintetiza con AIMSOA.

Las guanidinas **50{7}** y **50{16}** se emplean en sendas condensaciones con la piridona modelo **33{3}** en metanol y en dioxano, sin aislamiento de los correspondientes intermedios **78**. En la tabla adjunta se refieren los rendimientos globales obtenidos mediante ambas metodologías.

Rdto %	Acoplamiento MeOH		Acoplamiento Dioxano <sup>2</sup>	
	Etapa	Global <sup>1</sup>	Etapa	Global <sup>1</sup>
<b>35{3,7}</b>	29,6 %	26,1 %	67,5 %	59,5 %
<b>35{3,16}</b>	25,4 %	22,4 %	48,1 %	42,4 %

**Tabla 1.53:** Resultados de ambos métodos. <sup>1</sup>considerando 88,1% para la piridona modelo. <sup>2</sup>sin aislar **78{x,y}**.



**Figura 1.109:** Pirido[2,3-d]piridiminas obtenidas mediante condensación de la piridona modelo **33{3}** y las guanidinas sintéticas **50{7}** y **50{16}**.

De nuevo, las diferencias de rendimiento entre metodologías son muy acusadas y claramente favorables a las condensaciones en dioxano. Por otro lado, se aprecia que los rendimientos son menores para la anilina **60{16}**, lo que pone de manifiesto el gran efecto de los sustituyentes aromáticos sobre la nucleofilia de la correspondiente guanidina y, por ende, en el comportamiento de las distintas reacciones referidas.





**CAPÍTULO 2: Propuesta y estudio de una  
nueva estrategia sintética orientada a  
diversidad**

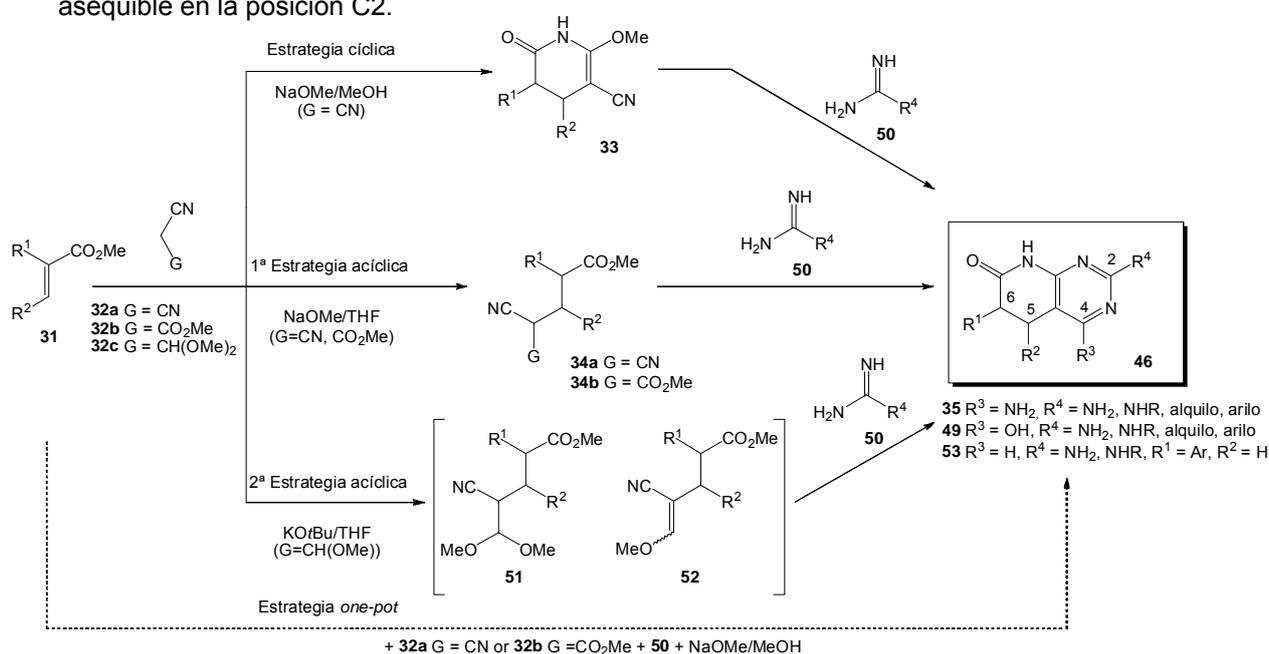


## 2.1. Antecedentes

### 2.1.1. Repensando la estrategia sintética del Laboratorio de Síntesis - GEM

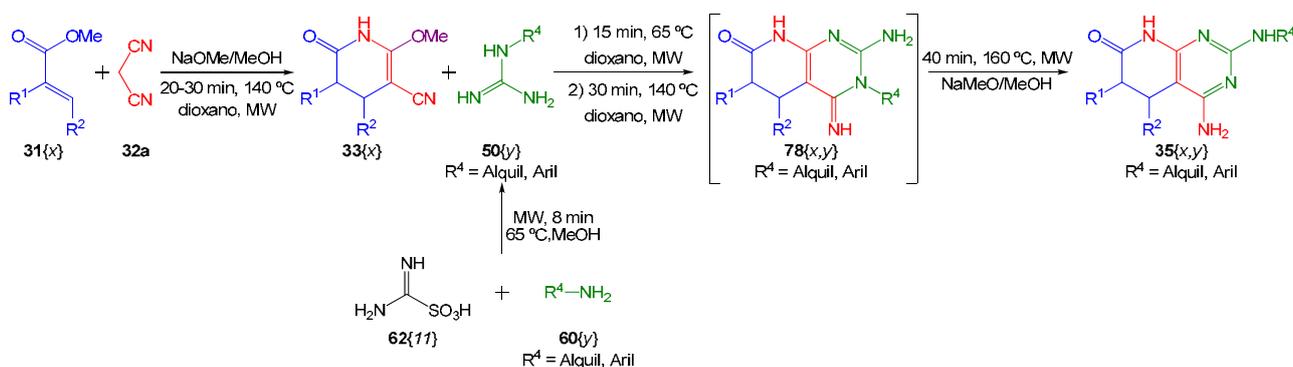
Tradicionalmente, el Laboratorio de Síntesis del IQS ha empleado estrategias de obtención de sistemas pirido[2,3-*d*]pirimidínicos que forman el esqueleto bicíclico con *building blocks* que fijan casi definitivamente el perfil de sustitución del núcleo heterocíclico.

Es decir, el éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31** permite formar el anillo piridónico y sus sustituyentes fijan la diversidad química asequible en las posiciones C5 y C6 del sistema heterobíclico **46**. De manera análoga, los metilenos activos **32** contribuyen a la formación de ambos anillos y controlan la diversidad química de la posición C4. Por último, las bases nitrogenadas **50** son las responsables de la formación del anillo pirimidínico y su diversidad delimita el espacio químico asequible en la posición C2.



**Figura 2.1:** Estrategias del GEM para la obtención piridopirimidinas.

La estrategia desarrollada e implementada en el anterior capítulo es una actualización de la estrategia cíclica y es especialmente indicada cuando se emplean sistemas *N*-arilguanidínicos **50**, pero no supone una diferencia sustancial en el modo de construir el esqueleto heterocíclico: cada *building block* presenta su propio perfil de sustitución que queda incorporado al biciclo final.

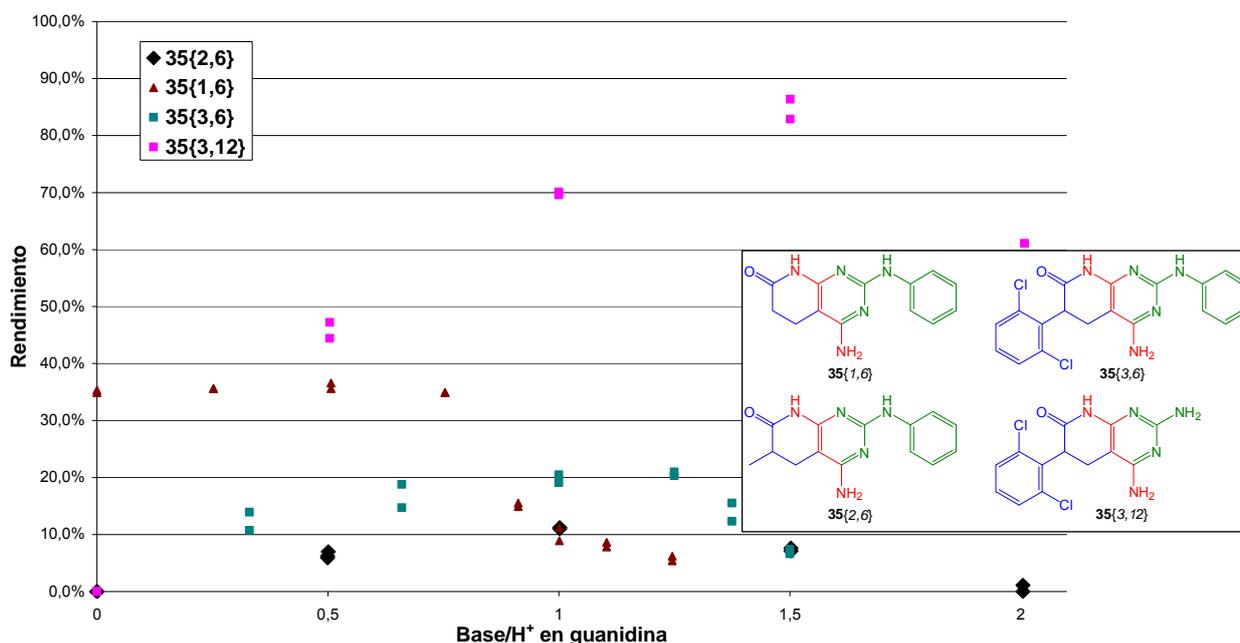


**Figura 2.2:** Metodología de obtención de 2-aminopiridopirimidinas con *N*-arilguanidinas.

Desgraciadamente, los procesos sintéticos de todas estas estrategias son bastante agresivos (temperaturas elevadas, medios fuertemente básicos y nucleófilos, etc.) y, por lo tanto, limitan los perfiles de sustitución asequibles en los sistemas **46** así obtenidos. Por ejemplo, las rutas sintéticas para la obtención de los intermedios **33**, **34a**, **34b**, **51** y **52** limitan el abanico de sustituyentes posibles presentes en los ésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados **31**. Pero los procesos posteriores también limitan los sustituyentes posibles, pues los residuos introducidos en la primera etapa deben permanecer inalterados el resto del itinerario sintético.

La estrategia *one-pot* tampoco da respuesta a estas limitaciones pues es la combinación de las dos etapas de la estrategia cíclica en un único proceso multicomponente y, por lo tanto, evoluciona fundamentalmente a través del intermedio **33** pero en unas condiciones aún más agresivas (Mont, **2005**). De hecho, en el anterior capítulo se ha confirmado que algunos sistemas nitrogenados **50** (*N*-arilguanidinas) no resisten bien este proceso: descomponen por efecto del disolvente y de la base empleada. Pero también se ha observado esta degradación en la segunda etapa sintética de la estrategia cíclica.

Además, se ha demostrado que la reacción multicomponente presenta unas condiciones de reacción óptimas para la obtención de cada piridopirimidina **35**{*x,y*} en particular y que, por lo tanto, no existen unas condiciones óptimas generalizables.



**Figura 2.3:** Curvas de rendimiento de piridopirimidina frente a cantidad de base.

Por ejemplo, en la figura anterior se ha referido el rendimiento de la reacción multicomponente frente a la proporción base empleada vs protones presentes en la sal de guanidina, protones que es necesario neutralizar para activar toda la guanidina. Se observa que, en general, existe un óptimo de rendimiento a partir de la total activación de la guanidina (abscisas de 1) pero que no acaba de ser igual para todos los heterociclos considerados.

Heterociclo	Base/H <sup>+</sup>	Rdto max
<b>35</b> {1,6}	0	35,1 %
<b>35</b> {2,6}	1	11,1 %
<b>35</b> {3,6}	1 - 1,25	20,5 %
<b>35</b> {3,12}	1,5	86,4 %

**Tabla 2.1:** Proporción de base de rendimiento máximo según la piridopirimidina sintetizada.

Así pues, el rendimiento de la reacción multicomponente depende enormemente de la cantidad de base empleada para activar la guanidina y de la combinación concreta de éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31**{x} y guanidina **50**{y} empleada.

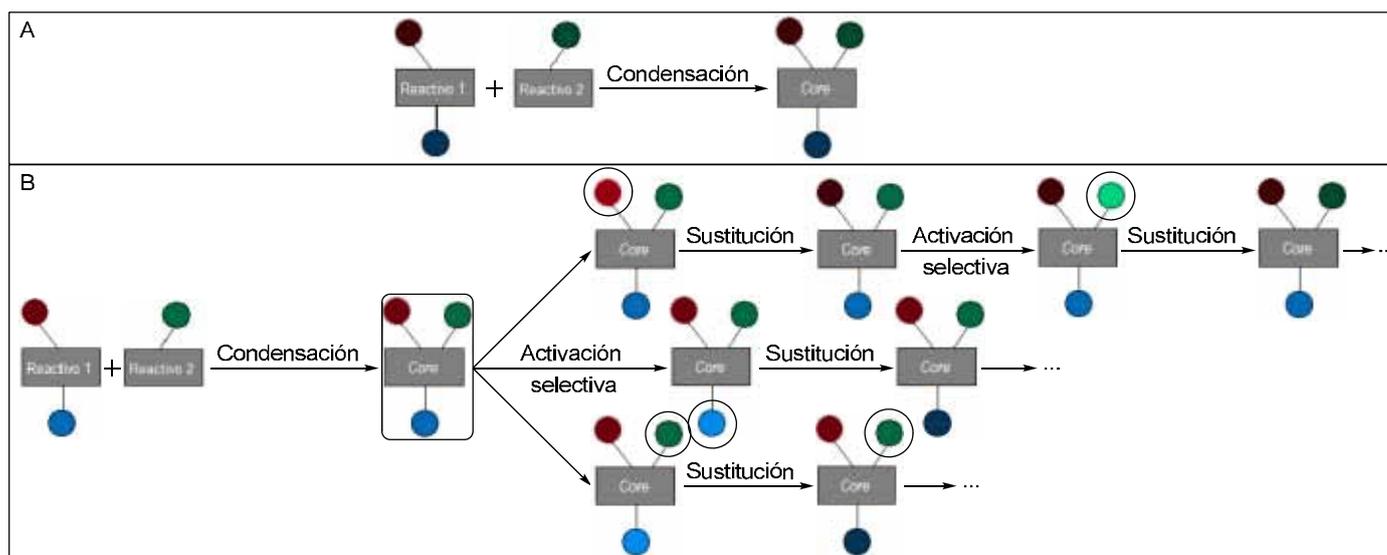
En conclusión, todas estas estrategias que construyen el núcleo pirido[2,3-d]pirimidínico al mismo tiempo que introducen los sustituyentes definitivos limitan el espacio químico asequible porque los procesos sintéticos implicados son incompatibles con algunos tipos de sustituyentes que pudieran presentar los *building blocks*.

Además, puesto que todas las estrategias implican un par de etapas sintéticas, todavía se restringe más el abanico de residuos compatibles: por ejemplo, los sustituyentes de las posiciones C5 y C6, que dependen del éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31**{x} empleado en la primera etapa, deben resistir la última condensación, bastante más agresiva.

Por último, cabe considerar que *building blocks* de naturaleza relativamente distinta requieren condiciones de reacción específicas para configurar el *core* bicíclico. Es decir, que la diversidad química de los reactivos de partida perjudica la versatilidad y robustez de las estrategias consideradas hasta el momento.

La alternativa a este grupo de estrategias de construcción molecular y consecución de diversidad simultáneamente (A en la siguiente figura) es una estrategia consecutiva (B en la siguiente figura). Según ésta, primero debería obtenerse el núcleo molecular y posteriormente derivatizarlo a voluntad con los residuos pertinentes.

Concretamente, para desarrollar la estrategia consecutiva es necesario perentoriamente sintetizar un compuesto que presente la estructura molecular fundamental (*core*) con unas posiciones o grupos funcionales ortogonales, o sea, que puedan ser activados y sustituidos selectivamente sin afectar al resto de posiciones o grupos derivatizables. Esta entidad química altamente versátil es la que se halla recuadrada en la siguiente figura y recibe el nombre de *cabeza de serie*, pues a partir de ella se sintetiza una serie de compuestos o quimioteca.



**Figura 2.4:** Estrategias de obtención de diversidad química con un mismo core.

La principal ventaja que ofrece esta nueva estrategia es que la construcción del core molecular está separada de la búsqueda de la diversidad de sustituyentes, por lo tanto, la obtención del *cabeza de serie* supone la síntesis de un único compuesto con posiciones sustituibles ortogonales. Gracias a ello, pueden invertirse mayores esfuerzos en optimizar la obtención de este único compuesto, es decir, pueden ensayarse las metodologías y determinarse las condiciones de reacción necesarias para maximizar los rendimientos de síntesis de esta entidad química.

Por el contrario, la principal desventaja de esta nueva estrategia es que la obtención de la diversidad química requiere una sucesión lineal de procesos. Este tipo de rutas sintéticas suelen implicar bajos rendimientos globales, especialmente si en alguna de las etapas éste es especialmente bajo. Por lo tanto, resulta imprescindible que la activación de los puntos ortogonales y su sustitución sean lo más efectivas posible.

No obstante, por fortuna, en general no se suele considerar el rendimiento de obtención del *cabeza de serie* a la hora de determinar el rendimiento global para la síntesis de un compuesto concreto. Merced a ello, éste mejora sensiblemente, sobre todo si no es un proceso eficiente o relativamente complejo.

En este sentido, a la hora de diseñar el *cabeza de serie* se suele tomar más en consideración que las posiciones y grupos derivatizables sean realmente ortogonales y no tanto que su obtención sea de gran rendimiento. Esto es así porque una mala selección de funciones ortogonales podría perjudicar la estrategia de derivatización y, por tanto, la diversidad química asequible. Es por ello que estas funciones derivatizables se suelen seleccionar de tal manera que su activación y sustitución sean suaves y altamente versátiles.

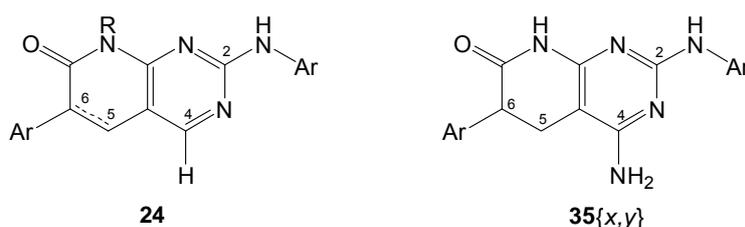
Por otro lado, a la hora de considerar la diversidad química asequible mediante esta estrategia, debe tenerse en cuenta que ciertas limitaciones son inevitables. Por ejemplo, las asociadas al diseño del *cabeza de serie*, a las reacciones químicas empleadas en la fase de derivatización, a las incompatibilidades entre los residuos introducidos, etc.

### 2.1.2. Elección del compuesto *cabeza de serie*

Pero, ¿qué compuesto se debería obtener para ser empleado como origen de la síntesis de pirido[2,3-*d*]pirimidinas orientada a diversidad? ¿Podría ser alguno de los compuestos sintetizados hasta la fecha (en el presente o anteriores trabajos) o debería sintetizarse una entidad química nueva? En esta misma línea, ¿las metodologías ya existentes son convenientes o será necesario desarrollar una metodología *ex profeso*?

Sin embargo, antes de tomar ninguna decisión con respecto a los interrogantes anteriormente expuestos, debe establecerse mínimamente cuál es el espacio químico que se desea explorar. En otras palabras, ¿existen similitudes entre los inhibidores de tirosina quinasas con núcleo pirido[2,3-*d*]pirimidínico descritos anteriormente en la bibliografía?

Tomando como referencia los exitosos trabajos de Parke-Davies (Klutchko et al, **1998**; Boschelli et al., **1998**; Kraker et al., **2000**; Schroeder et al., **2001**; Wissing et al., **2004**; Palmer et al., **2005**) (grupo pionero en el desarrollo de este tipo de inhibidores) y otros desarrollos posteriores (Booth et al., **2001**; Liu et al., **2006**) parece que existe consenso en el hecho que es necesario disponer de un residuo aromático en la posición C6, un hidrógeno en la posición C4 y un residuo arilamino en la posición C2. Además, algunos de estos trabajos sugieren la necesidad de sustituir el N8 con residuos alquilo o arilo. Y otros describen la presencia de un doble enlace entre C5 y C6, que fuerza la planaridad del *core*.



**Figura 2.5:** Estructura general de multitud de exitosos KI **24** y su equivalente estructural **35**.

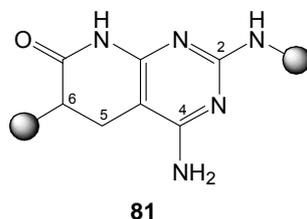
Teniendo en cuenta que el presente trabajo versa sobre la familia de las 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas y considerando las tendencias observadas en la bibliografía en cuanto al perfil de sustitución del *core* heterocíclico (resumidas en la estructura **24**) el equivalente estructural asequible mediante la química desarrollada por el Laboratorio de Síntesis del IQS sería el referido como **35**{*x,y*} en la anterior figura.

En este punto cabe destacar que se están realizando dos importantes asunciones que responden, en parte, los interrogantes anteriormente planteados.

En primer lugar, en la medida de lo posible, se pretende emplear metodologías sintéticas ya desarrolladas anteriormente en el grupo de investigación. Con ello no se descarta, en absoluto, implementar pequeñas modificaciones en estas metodologías, pero sí que se persigue reducir el esfuerzo experimental necesario para optimizar las reacciones de obtención del *cabeza de serie*.

En segundo lugar, se plantea una estructura de *cabeza de serie* con un grupo amino en C4. El motivo es doble: por un lado, por la bondad y simplicidad de las metodologías de obtención de este tipo de compuestos -especialmente mediante la estrategia *one-pot*-, y, por otro lado, porque dicho grupo puede ser sustituible por otras funcionalidades, por ejemplo, mediante reacciones de diazotización -tal como se comenta más adelante-.

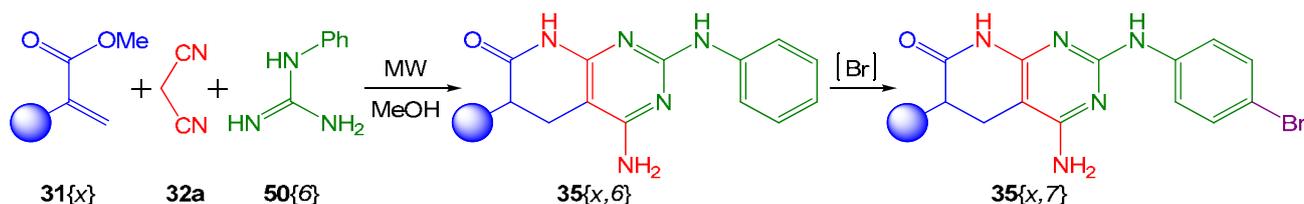
Por lo tanto, a priori, el *cabeza de serie* debería presentar tres puntos de diversidad bien definidos: C2 (sustituyentes arilamino), C4 (H, carbonilo, alquil, aril y amino derivados) y C6 (sustituyentes arilo).



**Figura 2.6:** Estructura preliminar propuesta para el compuesto cabeza de serie.

Desafortunadamente, las estrategias sintéticas que se pretende emplear para la obtención del *cabeza de serie* limitan seriamente las posibilidades de sustitución en la posición C2. Dichas restricciones han sido ampliamente discutidas en el anterior capítulo.

En concreto, no es posible construir el esqueleto piridopirimidínico sin introducir el sustituyente unido al grupo amino de la posición C2. Esto implica ciertas renunciaciones respecto el objetivo inicial de alcanzar la máxima diversidad posible. Ahora bien, una elección acertada puede permitir explorar igualmente un gran espacio químico.



**Figura 2.7:** Itinerario propuesto de obtención del cabeza de serie y su activación parcial.

En este sentido, si el sustituyente en C2 fuera fenilamino -lo que excluye cualquier otro residuo aromático como naftilo o piridilo- y, con posterioridad, pudiera activarse para su derivatización cualquiera (o cualesquiera) de las posiciones del anillo fenilo, la diversidad explorable no sería nada desdeñable.

Una posibilidad muy atractiva sería la bromación en la posición *para* del anillo fenílico aprovechando el carácter cesor del grupo amino unido a la piridopirimidina. Caso de ser factible, el bromo aromático presentaría unas enormes posibilidades de sustitución mediante reacciones relativamente suaves: hidrógeno (Egli, **1968**), hidroxilo (Pickles et al., **1974**), alquilo

(Manolikakes et al., 2008; Wang et al., 2009), alquenilo (Kormos et al., 2008), alquinilo (Singh et al., 1989), arilo (Chanthavong et al., 2006; Leadbeater et al., 2007), heteroarilo (Kim et al., 2010), alquiloxi o ariloxi (Egger et al., 2007), aminoderivados (Ma et al., 2003; Zhu et al., 2007), tioderivados (Migita et al., 1980; Bowman et al., 1984), sistemas (pseudo)metilénicos activos (Uno et al., 1984; Alagille et al., 2005), cianuro (Ushkov et al., 2011), etc.

En lo concerniente a la posición C6, si se analiza su entorno inmediato se observa que se trata de un carbono en  $\alpha$  de carbonilo con, al menos, un hidrógeno. Para la introducción de sustituyentes en este tipo de posiciones existe una gran variedad de reacciones descritas, por lo que, para realizar algún tipo de activación y sustitución sobre ella podría no ser necesario situar ningún tipo de residuo específico.

No obstante, toda esta química se basa en la nucleofilia del carbono en  $\alpha$  de carbonilo. Y ésta se debe a la capacidad de acepción mesómera del carbonilo adyacente y puede ser favorecida, o bien por catálisis (ácida o básica), o bien por ionización con bases fuertes.

Desafortunadamente, en este caso se dan dos circunstancias por las cuales este no es un buen planteamiento:

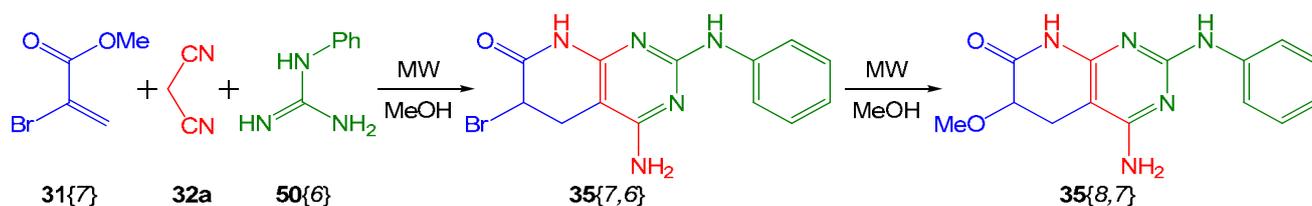
- el carbonilo pertenece a una amida, por lo tanto, el nitrógeno de ésta también tiende a ceder sobre el carbonilo, con ello se disminuye su capacidad de acepción mesómera y, en consecuencia, cualquier tipo de catálisis pierde eficacia y se dificulta enormemente la ionización de la posición  $\alpha$  de carbonilo.
- la ionización de esta posición por abstracción de hidrógeno requeriría una base extremadamente fuerte, pero en la molécula existen otros puntos cuya ionización es mucho más sencilla -por ejemplo el nitrógeno lactámico N8 (Marsellés, 1997)- y cuya reactividad, por lo tanto, podría interferir en la sustitución en  $\alpha$  de carbonilo.

Para subsanar estas previsibles complicaciones sería posible implementar un protocolo de protección y desprotección de aquellas funcionalidades o puntos de la molécula que pudieran interferir. No obstante, en lugar de estudiar ningún desarrollo en este sentido, se prefiere invertir la polaridad del carbono C6, transformando esa posición de nucleófila a electrófila.

Estructuralmente, para lograr que la posición C6 sea electrófila es necesaria la presencia de algún grupo aceptor inductivo o mesómero. Ahora bien, para tener presente este tipo de grupos en esa posición, o bien se introducen antes de la formación del esqueleto heterobicíclico, o bien tras ésta.

Con respecto a la primera posibilidad, cabe recordar que la metodología con la que se pretende obtener el compuesto *cabeza de serie* se desarrolla en un medio extremadamente nucleófilo: metanol y catálisis básica a alta temperatura. Dichas condiciones podrían resultar demasiado agresivas para un reactivo con una posición activada para la sustitución nucleófila, pero es prácticamente seguro que lo son para un hipotético *cabeza de serie* obtenido de esta

manera; así pues, es previsible que cierta sobreacción con el disolvente no permitiera obtener el compuesto deseado.



**Figura 2.8:** Posible problemática de sobreacción en la obtención del cabeza de serie.

Como ejemplo de este problema, en la figura anterior se refiere la obtención del *cabeza de serie* empleando como éster  $\alpha,\beta$ -insaturado de partida el  $\alpha$ -bromoacrilato de metilo **31{7}**, que es comercial aunque bastante caro. En esta figura se puede observar como, tras la obtención del sistema bicíclico, durante la calefacción de la reacción, aquellas moléculas de **35{7,6}** que se hubieran formado sufrirían el efecto nucleófilo del propio disolvente y, por lo tanto, probablemente rendirían un heterobiciclo que no sería útil para los fines perseguidos.

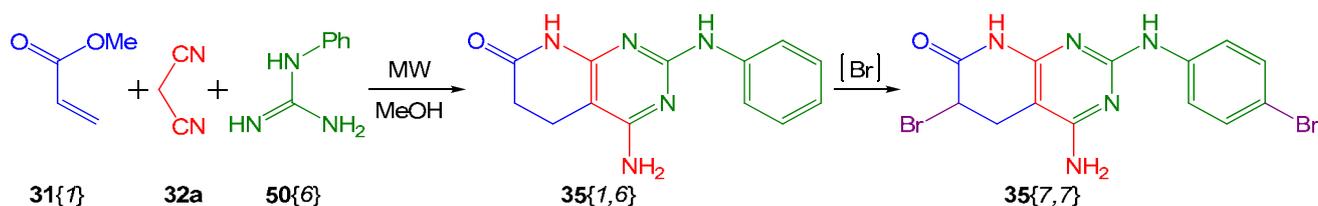
Por consiguiente, esta estrategia no parece ser la más conveniente y, por lo tanto, debería implementarse el siguiente procedimiento: primero construcción del esqueleto piridopirimidínico y después introducción del sustituyente en C6 para invertir la polaridad de ese carbono y facilitar su derivatización.

Las alternativas para activar el *cabeza de serie* mediante la introducción de grupos activantes en la posición C6 son, de nuevo, limitadas. De hecho, los pocos ejemplos hallados en la bibliografía se refieren a la adición de un átomo de bromo, o bien por tratamiento con  $\text{Br}_2$  en ácido acético (Bozhanov et al., **2000**), o bien por reacción con tribromuro de fósforo y bromo (Shinichi et al., **2007**).

Por lo tanto, de nuevo, el grupo empleado para activar una posición (la C6) es un sustituyente bromo que también es introducido posteriormente a la formación del esqueleto piridopirimidínico. Pero, contrariamente al residuo introducido en el sustituyente fenilamino en C2, su sustitución requiere condiciones más agresivas: mayores tiempos de reacción, temperaturas más elevadas y reactivos más agresivos -por ejemplo, catalizadores de *Ni* para realizar acoplamientos tipo Suzuki-. A priori, esta ligera diferencia de reactividad lejos de suponer un problema es precisamente una gran ventaja que, incluso, refuerza más el objetivo de ortogonalidad buscado: a pesar de que ambos grupos derivatizables son bromos, para sustituirlos son necesarias condiciones de reacción significativamente distintas, por lo que, la introducción de residuos diferentes en ambas posiciones es posible y, por lo tanto, ambos bromos pueden ser considerados grupos ortogonales.

No obstante, esta diferencia de reactividad tiene su lado negativo: aunque este bromo en C6 puede ser sustituido por residuos tipo alquilo (Fischer et al., **2005**; Fuchs et al., **2005**), arilo o heteroarilo (Liu et al., **2007**), aciloxi, alquiloxi o ariloxi (Bonini et al., **2003**; Bertounesque et al., **2007**), aminoderivados (Bertounesque et al., **2007**; Reddy et al., **2007**), sistemas metilénicos activos (Krishnan et al., **2007**; Marchetti, **2003**), cianuro (Akhtar et al., **1990**; Khodairy et al.,

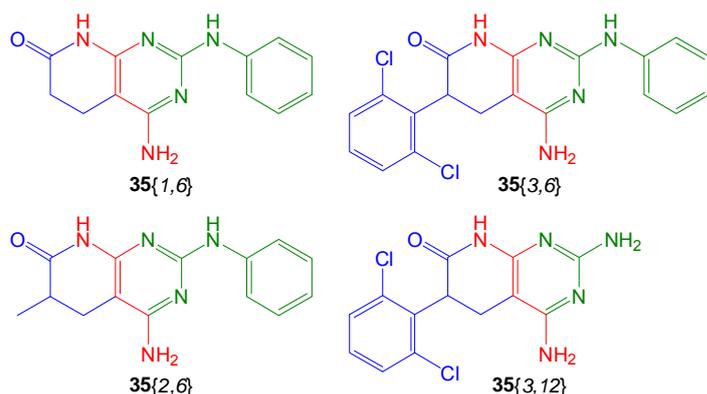
2007), el espacio químico accesible es menor al alcanzable mediante el bromo del residuo fenilamino en C2.



**Figura 2.9:** Obtención del cabeza de serie y activación de sus posiciones C2 y C6.

Recapitulando, atendiendo a las posiciones previsiblemente derivatizables mediante la introducción de bromos tras la formación del esqueleto pirido[2,3-*d*]pirimidínico y a las limitaciones de las metodologías sintéticas que se pretenden emplear para la construcción de éste, el compuesto *cabeza de serie* que debería sintetizarse es **35{1,6}**, derivado de acrilato de metilo **31{1}** y fenilguanidina **50{6}**.

La elección de este compuesto resulta especialmente afortunada pues es el heterociclo **35{x,y}** cuyo rendimiento de obtención mediante la reacción multicomponente *one-pot* de Victory es el mayor de los descritos en el presente trabajo para derivados de fenilguanidina **50{6}**.



**Figura 2.10:** Muestra de los heterociclos obtenidos en el presente estudio mediante la reacción multicomponente.

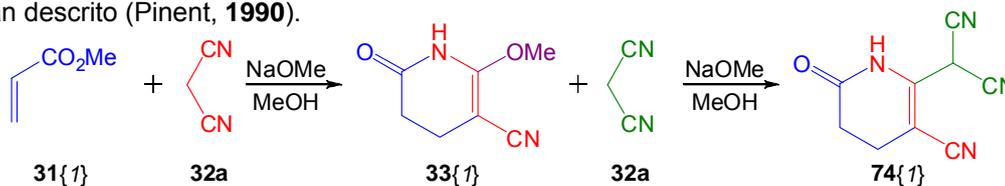
Heterociclo	Base/H <sup>+</sup>	Rdto max
<b>35{1,6}</b>	0	35,1 %
<b>35{2,6}</b>	1	11,1 %
<b>35{3,6}</b>	1 - 1,25	20,5 %
<b>35{3,12}</b>	1,5	86,4 %

**Tabla 2.2:** Rendimientos máximos de obtención de heterociclos según sus sustituyentes y la cantidad de metóxido necesaria.

Ahora bien, en la anterior tabla se puede observar como precisamente la obtención del *cabeza de serie* es la que presenta unas condiciones de reacción más significativamente distintas de las necesarias para la síntesis de sus análogos heterocíclicos.

Concretamente, en dicha tabla la principal diferencia es la cantidad de base (metóxido sódico) necesaria para activar la correspondiente guanidina y/o catalizar el proceso: mientras que para la guanidina **50{12}** se requiere un exceso de base para favorecer la reacción, para la fenilguanidina **50{6}** cualquier exceso de metóxido perjudica el proceso mediante un doble efecto de competencia nucleófila con la guanidina empleada y de degradación de ésta -tal como se ha comentado ampliamente en el anterior capítulo-. Pero, particularmente en el caso de emplear la combinación de acrilato de metilo **31{1}** y fenilguanidina **50{6}**, además de estos dos procesos secundarios en competencia, existe un tercero que perjudica la síntesis de este

biciclo: la sobrereacción del correspondiente intermedio **33{1}** con malononitrilo **32a** en presencia de bases fuertes -como es el caso del metóxido sódico-, tal como trabajos anteriores ya han descrito (Pinent, 1990).



**Figura 2.11:** Sobrereacción del acrilato en presencia de malononitrilo y base fuerte.

Así pues, aunque la metodología de síntesis que se planea emplear transcurre en unas condiciones de reacción bien definidas, en el presente trabajo se ha constatado que éstas pueden no ser las más adecuadas para la obtención del compuesto escogido como *cabeza de serie*. Y, a partir de esta observación, surgen nuevas dudas. Por ejemplo, ¿es necesario modificar la temperatura o el tiempo de reacción? ¿La proporción de reactivos es la adecuada? ¿Qué otros factores no considerados hasta el momento pueden influir sobre el proceso de obtención de **35{1,6}**?

Por consiguiente, es necesario estudiar más en profundidad la síntesis del compuesto **35{1,6}** con vistas a maximizar su rendimiento de obtención y así facilitar su uso como compuesto *cabeza de serie*.

### 2.1.3. Secuencia de activación y derivatización del *cabeza de serie* 35{1,6}

Bibliográficamente existe una documentada y manifiesta diferencia en la reactividad esperable para los bromos en las posiciones 4-fenilamino en C2 y en  $\alpha$  de carbonilo en C6, tal como se ha comentado anteriormente. Es por ello que resulta previsible que su respectiva sustitución pueda ser realmente selectiva. No obstante, hasta el momento no se ha discutido la idoneidad de introducir ambos bromos de manera simultánea o, por el contrario, consecutivamente.

Así mismo, tampoco se ha comentado nada a propósito de las posibilidades de la diazotización del grupo amino en C4 ni en lo que respecta a la variedad de residuos asequibles, ni en qué momento es más apropiado desarrollarla, ni si esta derivatización es ortogonal respecto a los otros residuos sustituibles.

Por lo tanto, en primer lugar cabe detallar que la conversión de aminas aromáticas en su correspondiente sal de diazonio transcurre mediante la acción oxidativa del catión nitrosonio (Belov y Kozlov, 1963). Así pues, todos los agentes de diazotización liberan este catión pero pueden dividirse en dos grandes familias:

- Funcionales en medio acuoso: usualmente nitrito sódico con catálisis ácida -el primer agente descrito en el siglo XIX-, y que suelen requerir baja temperatura como consecuencia de la poca estabilidad de estas sales en un medio tan nucleófilo. Además,

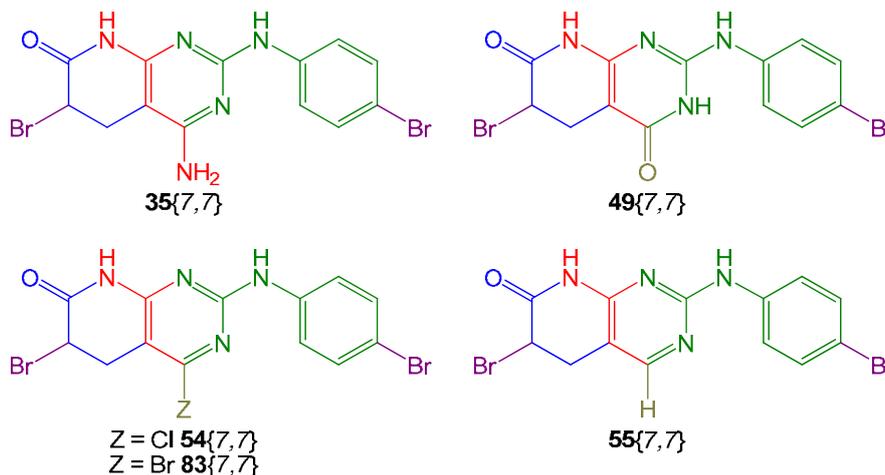
en medio acuoso es posible aislar las sales de diazonio por precipitación en frío, pero únicamente en el caso de emplear ácido tetrafluorobórico.

- Funcionales en disolventes orgánicos: se trata de ésteres alifáticos del ácido nitroso (RO-NO) cuyo residuo hidrocarbonado -que puede ser lineal o ramificado- influye sobre la reactividad de estos agentes. Ejemplos remarcables de este tipo de reactivos son el nitrito de metilo, el nitrito de *iso*-amilo y el nitrito de *t*-butilo (Barral et al., 2007). Su uso no permite aislar en ningún caso la sal y, por lo tanto, suele encadenarse con la consiguiente derivatización.

El aislamiento de la sal de diazonio no resulta una cuestión baladí, pues facilita enormemente la manipulación del producto y permite emplearla en gran variedad de procesos químicos que abren la puerta a alcanzar un alto grado de diversidad.

Desgraciadamente, no se halla en la bibliografía ningún ejemplo de pirimidina o heterobiciclo equivalente cuya sal de diazonio haya podido ser aislada. En otras palabras, este tipo de sales presentan una muy baja estabilidad y, por lo tanto, se puede deducir que es mejor generarlas y hacerlas reaccionar instantáneamente. En consecuencia, podría ser que no todo el espacio químico accesible mediante la multitud de reacciones descritas con sales de diazonio pueda ser explorado en el presente estudio.

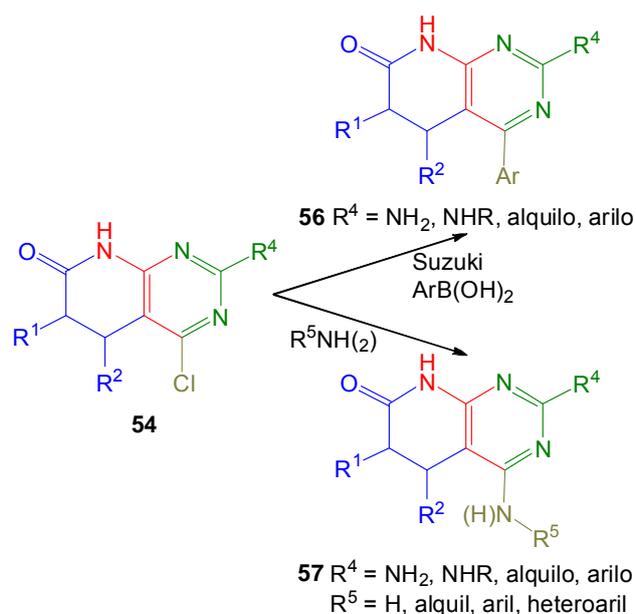
No obstante, afortunadamente, existen ejemplos muy atractivos de derivatización de heterobiciclos similares mediante diazotización e inmediata reacción. Concretamente, el grupo amino de las 4-aminopirimidinas puede ser reemplazado por hidrógeno (Véliz et al., 2003), hidroxilo (en forma de su tautómero carbonilo) (Sekiya et al., 1981) y halógeno (bromo o cloro) (Leonova y Yashunskii, 1983), entre otros.



**Figura 2.12:** El cabeza de serie y sus posibles derivados en la posición C4.

Considerando la diversidad química asequible por diazotización en C4, el *cabeza de serie* 35{7,7} podría ser transformado en sus equivalentes 4-oxo 49{7,7} y 4-hidrógeno 55{7,7}. Esto representaría la gran oportunidad de generar dos compuestos que servirían, a su vez, de *cabezas de serie* de estas dos familias de pirido[2,3-*d*]pirimidinas cuya síntesis directa siempre se ha considerado más compleja o de peores rendimientos que la de sus equivalentes 4-amino.

Además, la posibilidad de introducir un halógeno en la posición C4 abre la posibilidad de obtener los compuestos 4-cloro **54**{7,7} y 4-bromo **83**{7,7}, cuya reactividad debería ser muy similar entre sí. Por lo tanto, teniendo en cuenta las posibilidades de derivatización por sustitución nucleófila de este tipo de productos -ya exploradas en anteriores trabajos (Mont et al., **2004**)-, sería factible obtener nuevos compuestos *cabezas de serie* cuya posición C4 presentaría residuos aminoderivados primarios o secundarios, alquílicos, arílicos o heteroarílicos.



**Figura 2.13:** Sustituciones de halógenos en C4.

Así mismo, tal como el laboratorio de Síntesis del IQS ya ha descrito, estos derivados halógenados también pueden ser sustituidos por residuos hidrocarbonados (alquílicos, arílicos y heteroarílicos) mediante acoplamiento catalizado por paladio como, por ejemplo, la reacción de Suzuki.

En este punto cabe considerar la muy superior reactividad de estos halógenos en C4 frente a cualquiera de los otros dos bromos sustituibles presentes en **54**{7,7} o **83**{7,7}. Esto se justifica porque el halógeno se halla unido a un heterociclo bastante electrófilo y, por lo tanto, el ataque de cualquier nucleófilo está muy favorecido.

Prueba de ello es que se ha descrito que la reacción con aminas transcurre con buenos rendimientos sin necesidad de ningún tipo de catálisis, mientras que en las otras posiciones se requiere el uso de metales de transición como catalizadores. Y precisamente porque la reactividad del halógeno en C4 es superior a la del resto, antes de proceder a la sustitución de cualquiera de los otros dos bromos, es necesario hacer reaccionar este halógeno pirimidínico. Pero, ¿por qué?

Pues, el motivo es que si se acometiera la derivatización en cualquiera de los otros puntos, además de la reactividad deseada, seguramente se obtendrían los términos correspondientes a la sustitución de la posición C4.

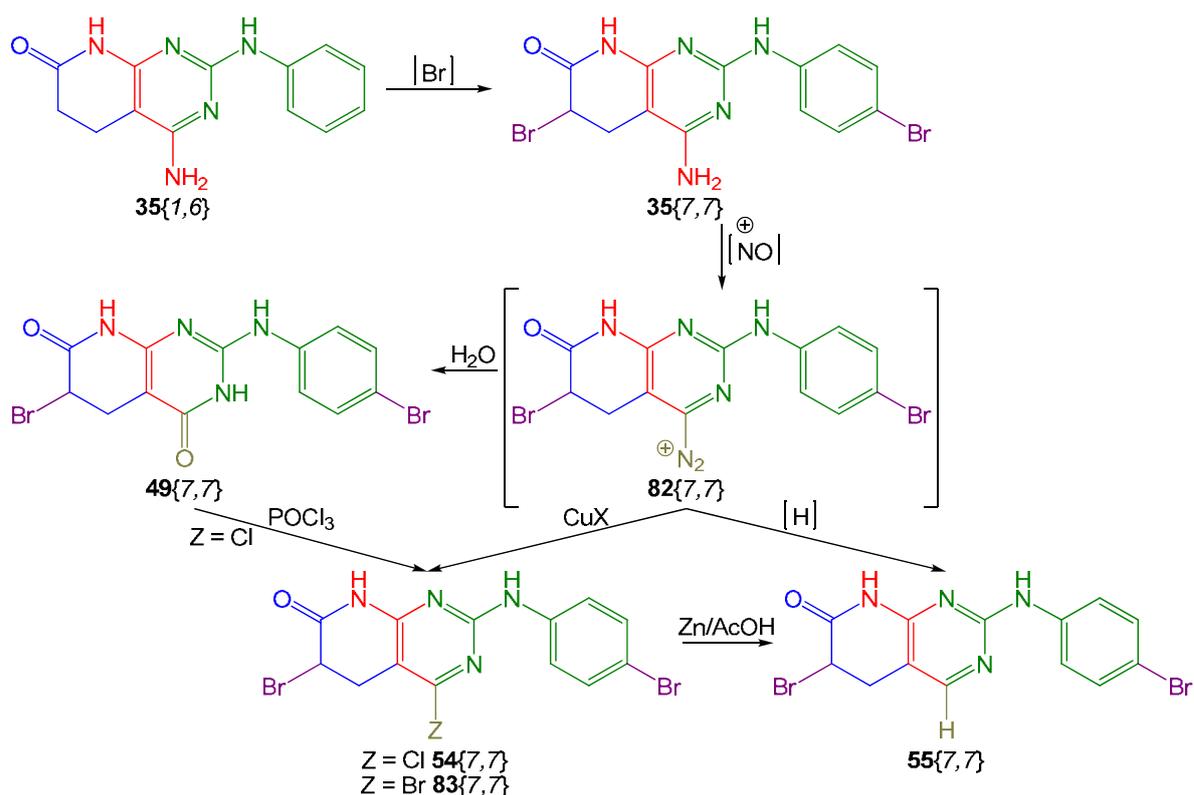
Recapitulando todo lo comentado sobre la diazotización del grupo amino del *cabeza de serie* **54**{7,7}, se prevé que ésta permita obtener cuatro nuevas grandes familias de compuestos: las pirido[2,3-*d*]pirimidinas 4-oxo **49**{7,7}, 4-hidrógeno **55**{7,7}, 4-alquilo o 4-arilo **56**{7,7} y 4-aminoderivado **57**{7,7}.

Desgraciadamente, como la diazotización es un proceso bastante agresivo -especialmente si hubiera residuos amino en otros puntos de la molécula- y como la sustitución debe

desarrollarse inmediatamente tras la activación, es perentorio que esta derivatización sea la primera en realizarse. Además, en el caso de los 4-halógeno derivados, 4-cloro **54**{7,7} y 4-bromo **83**{7,7}, ocurriría algo muy similar.

Por consiguiente, si el primer punto de diversidad debe ser en C4, habrá que considerar la compatibilidad de los residuos introducidos en este punto con la activación del resto de posiciones del *cabeza* (o *cabezas de serie*) mediante bromación. En este sentido, parece pues más lógico diazotar el grupo 4-amino pirimidínico tras haber introducido el resto de residuos derivatizables. Por fortuna, tanto las metodologías de obtención de sales de diazonio como aquellas que las emplean como reactivos de partida no afectan ni a bromos alifáticos ni aromáticos. En consecuencia, debería ser posible derivatizar en C4 el *cabeza de serie* dibromado **35**{7,7} sin causar ninguna interferencia ni sufrir incompatibilidades con los bromos presentes en otros puntos de la misma molécula.

Estas últimas consideraciones llevan, en definitiva, a plantearse la siguiente pregunta: ¿cuál debería ser la secuencia de reacciones a seguir para activar las distintas posiciones y sustituirlas con las menores interferencias posibles?



**Figura 2.14:** Posible secuencia de activación y sustitución del *cabeza de serie* y sus derivados en la posición C4.

Recogiendo todas las consideraciones expuestas anteriormente, en primer lugar debería construirse el esqueleto heterobíciclico mediante la reacción *one-pot* multicomponente, eso sí, optimizándola convenientemente para maximizar el rendimiento de obtención del compuesto **35**{1,6}.

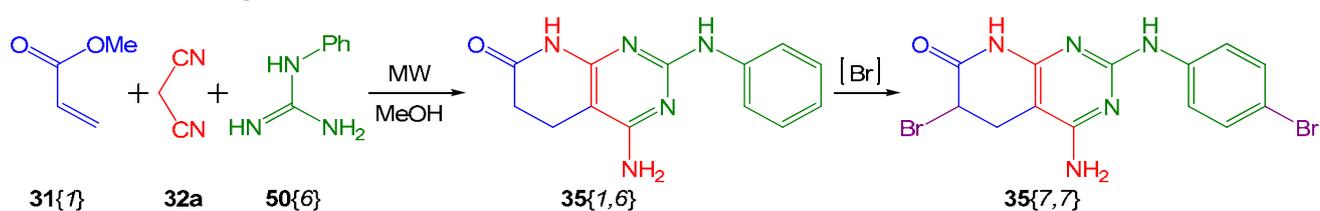
A continuación deberían activarse mediante bromación las posiciones  $\alpha$  de carbonilo en C6 y 4-fenilamino en C2. Introduciendo tan pronto estos residuos, se conseguirían evitar las posibles interferencias antes mencionadas sobre los sustituyentes introducidos en C4 durante la bromación. No obstante, queda aún por discutir si es posible realizar esta activación simultáneamente o si, por el contrario, debería desarrollarse consecutivamente, es decir, bromando una posición tras otra.

Sin tratar las posiciones activadas en la etapa precedente, se procedería a la sustitución del grupo amino en C4. Pero atención, para evitar reacciones cruzadas en las derivatizaciones posteriores, el residuo final en esta posición no puede ser en ningún caso el halógeno presente en **54**{7,7} y **83**{7,7}, si no alguno de los derivados indicados anteriormente.

Por último se procedería a la sustitución de sendos bromos mediante las metodologías convenientes para lograr introducir los distintos residuos asequibles. En este punto, cabe recordar que no se prevén reacciones cruzadas ni sobreacciones durante estas sustituciones en la medida que la reactividad de ambos puntos parece significativamente distinta, tal como se ha referido anteriormente.

Ahora bien, ¿qué protocolo o metodología debe seguirse para introducir estos dos grupos derivatizables? Y, considerando la distinta reactividad de ambos bromos, ¿pueden ser introducidos simultáneamente o únicamente es posible de manera secuencial?

A tenor de lo discutido hasta este momento, ninguno de estos dos enfoques (simultáneo o secuencial) supone ningún contratiempo en la estrategia de derivatización propuesta en la anterior figura. En cualquier caso, tras la obtención de **35**{1,6} mediante reacción multicomponente *one-pot*, debería obtenerse el compuesto dibromado **35**{7,7} mediante una u otra estrategia.

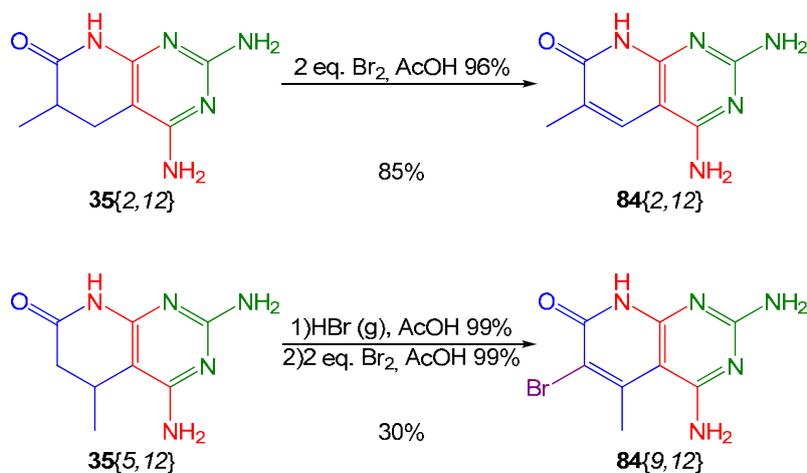


**Figura 2.15:** Dibromación secuencial o simultánea del cabeza de serie con mismo resultado.

Sin exclusión de otros agentes de bromación de uso habitual -como por ejemplo, la *N*-bromosuccinimida-, las metodologías sintéticas para activar la posición C6 en  $\alpha$  de carbonilo emplean bromo como agente de derivatización, como ya se ha comentado en el apartado anterior. Considerando este mismo reactivo, nada hacer prever que no sea adecuado para llevar a cabo lo propio en la posición 4-fenilamino en C2.

En cualquier caso, sea cual sea el agente de bromación empleado, para activar una única posición es necesario emplear un único equivalente de reactivo. Pero para activar ambas posiciones son necesarios dos equivalentes.

Pero atención, pues la experiencia acumulada por el Laboratorio de Síntesis del IQS con el uso de dos (o más) equivalentes de bromo como reactivo frente a estos heterociclos (Victory et al., 1989) alerta de posibles complicaciones si se pretende ensayar la bromación simultánea.



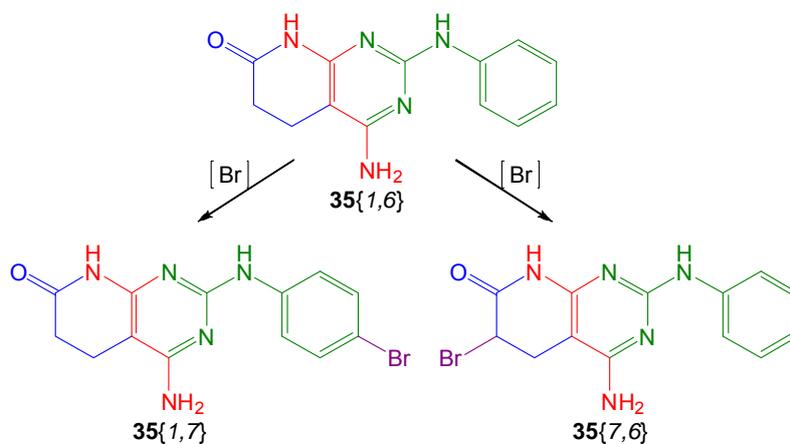
**Figura 2.16:** Algunas de las bromaciones de heterociclos estudiadas anteriormente.

Brevemente, parece ser que al tratar este tipo de sistemas pirido[2,3-*d*]pirimidínicos con más de un equivalente de bromo se induce la formación de un doble enlace en  $\alpha$  de carbonilo mediante un proceso de deshidrobromación favorecido por la posibilidad de conjugación en el sistema resultante  $84\{x,y\}$ .

Por lo tanto, la estrategia de bromación simultánea -que requiere dos equivalentes de agente bromante- debería ser descartada en favor de la secuencial. De este modo, se podría ejercer un mayor control sobre las condiciones de bromación que debería permitir derivatizar las posiciones deseadas evitando la formación de este doble enlace.

No obstante, surge una duda bastante razonable: ¿Qué posición se bromará antes? Es decir, ¿qué término de bromación se obtendrá preferentemente: el  $35\{7,6\}$  o el  $35\{1,7\}$ ?

Más adelante en este mismo capítulo se realiza la pertinente previsión y se estudia experimentalmente la monobromación.



**Figura 2.17:** Los posibles términos de monobromación.

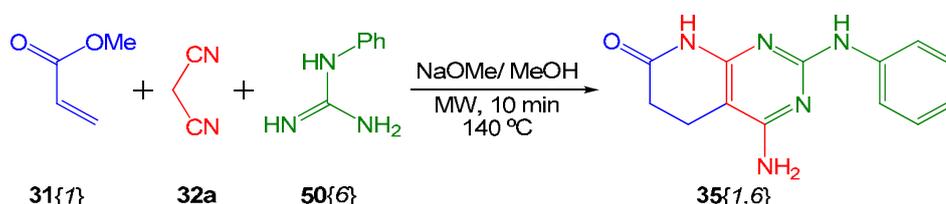
## 2.2. Optimización de la obtención del cabeza de serie 35{1,6}

En esta fase del presente trabajo se pretende optimizar la obtención del compuesto cabeza de serie 35{1,6}.

De hecho, el objetivo último es establecer inequívocamente una metodología sintética capaz de rendir fácilmente y en cantidades elevadas dicho compuesto. Ello facilitaría enormemente el estudio de la estrategia de derivatización expuesta en el apartado anterior -mediante la síntesis de una quimioteca representativa de pirido[2,3-*d*]pirimidinas- y justificaría su uso como punto de partida de todas esas rutas sintéticas.

### 2.2.1. Antecedentes y variables a estudiar

Para la obtención del compuesto cabeza de serie 35{1,6} se pretende emplear la reacción de Victory, una reacción multicomponente *one-pot* capaz de rendir en una única etapa de síntesis este compuesto heterobicclico.

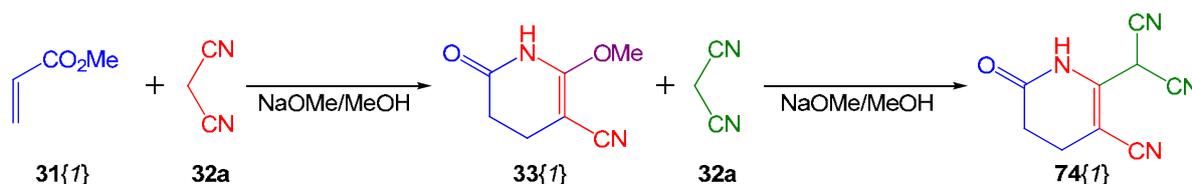


**Figura 2.18:** Obtención del cabeza de serie mediante la reacción *one-pot* multicomponente.

Anteriores trabajos del Laboratorio de Síntesis del IQS (Mont, 2005) han establecido que esta reacción funciona preferentemente en metanol (no necesariamente anhidro) como disolvente de reacción y aplicando calefacción asistida por microondas a 140°C durante 10 minutos.

Así mismo, también se ha estudiado la proporción entre reactivos: exceso de 3 equivalentes de guanidina 50{y} y 1,2 equivalentes de malononitrilo 32a frente al éster  $\alpha,\beta$ -insaturado 31{x}. Pero además, puesto que las guanidinas comerciales suelen ser sales, debe realizarse una etapa previa de activación (neutralización) con metóxido sódico en cantidad equimolar o ligeramente superior (Matallana, 1998; Mont, 2005).

Por otro lado, se ha postulado que la reacción multicomponente transcurre a través del intermedio piridónico 33{x} (Mont, 2005). Por lo tanto, la obtención del compuesto cabeza de serie 35{1,6} transcurre mediante el intermedio 33{1}.

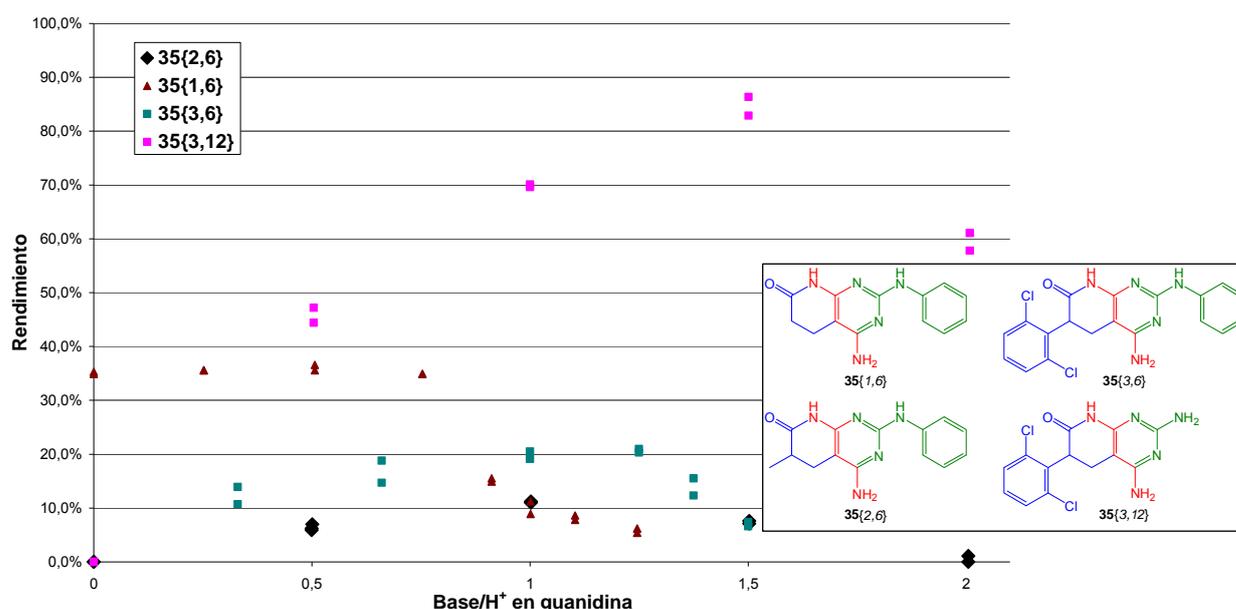


**Figura 2.19:** Sobre-reacción del acrilato en presencia de malononitrilo.

Pero a diferencia del resto de compuestos piridónicos, se ha descrito que 33{1} es capaz de reaccionar con más de un equivalente de malononitrilo para rendir el precursor de

naftiridinas **74**{1} (Pinent, **1990**). Y, precisamente porque este es un proceso en competencia y porque la reacción multicomponente transcurre con un ligero exceso de este metileno activo, las condiciones de reacción estándares para el proceso *one-pot* (temperatura, tiempo, proporción de reactivos, cantidad de base, etc.) puede que no sean las más convenientes para la obtención del compuesto **35**{1,6}.

Ejemplo de ello son los resultados referidos anteriormente en el presente trabajo y resumidos a continuación en el siguiente gráfico. En él se puede apreciar como la obtención del heterobicyclo de interés presenta un comportamiento totalmente diferenciado del resto en lo que se refiere a equivalentes de base empleados durante el proceso.



**Figura 2.20:** Curvas de rendimiento de piridopirimidina frente a cantidad de base.

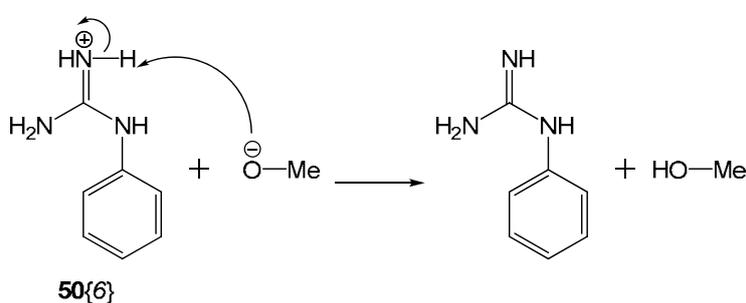
Por lo tanto, como punto de partida para definir un proceso eficaz de obtención de este compuesto *cabeza de serie*, parece conveniente trabajar sobre la reacción multicomponente descrita originalmente por Mont (Mont et al., **2003**) pero estudiando aquellos factores que permitan optimizar su rendimiento. Es por ello, que se considera la necesidad de ponderar la influencia de los tres conjuntos de variables detallados a continuación:

- Cantidad de base: necesaria tanto para activar la guanidina de partida **50**{6} como para activar el malononitrilo **32a**. De los resultados del capítulo anterior referidos en la anterior figura, es previsible un alto grado de influencia sobre el rendimiento de reacción.
- Tiempo y temperatura de reacción: variables ya estudiadas extensamente en anteriores trabajos (Mont, **2005**) pero con combinaciones de reactivos que no contemplan los necesarios para la obtención de **35**{1,6}. No es posible prever su influencia.
- Proporción de reactivos: sabida la influencia del exceso de malononitrilo (Pinent, **1990**), deben explorarse proporciones de reactivos más allá de las contempladas en anteriores trabajos (Matallana, **1998**; Mont, **2005**). Es de esperar una gran influencia.

### 2.2.2. Estudio de la cantidad de base

La base empleada para la reacción *one-pot* multicomponente es metóxido sódico. Fundamentalmente, esta base sirve para activar la fenilguanidina **50{6}** necesaria para la obtención del compuesto *cabeza de serie* **35{1,6}**.

Esta guanidina es comercial y se presenta como una sal mixta de carbonato y bicarbonato cuya estequiometría -determinada mediante AEO- es  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,7}$ . Es decir, antes de implementar la reacción multicomponente, cada equivalente de fenilguanidina necesita 1,4 equivalentes de metóxido sódico para ser activada. Afortunadamente, el carbonato resultante precipita -sin necesidad de enfriar- y puede ser aislado por filtración de manera muy simple. Por otro lado, el metóxido sódico se convierte en metanol, que es el propio disolvente de reacción.



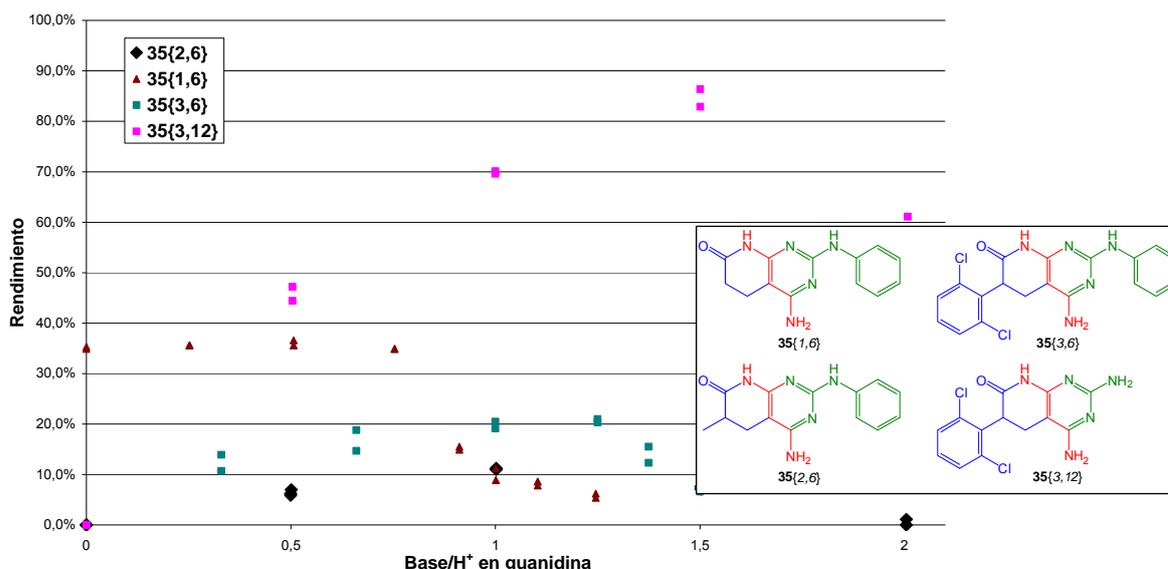
**Figura 2.21:** Activación de la fenilguanidina por neutralización con metóxido.

Pero además de los equivalentes empleados para activar la guanidina, puede que también sea necesaria cierta cantidad de base para activar el malononitrilo **32a**.

En anteriores trabajos se plantea esta cuestión abiertamente (Mont, **2005**) y se demuestra que un pequeño exceso del 5% contribuye a aumentar significativamente el rendimiento de la reacción cuando se trabaja con carbonato de guanidina **50{12}**. No obstante, también se ha descrito que la condensación de esta guanidina con algunas de las piridonas **33{x}** referidas en el capítulo anterior transcurre convenientemente sin necesidad de exceso de metóxido sódico (Matallana, **1998**); para justificarlo, se ha postulado que una vez activada, la propia guanidina (en exceso de 3:1,2) actúa como base capaz de ionizar el malononitrilo.

Por el contrario, en el anterior capítulo se ha demostrado experimentalmente que el exceso de metóxido sódico resulta perjudicial en las reacciones de Victory que emplean la *N*-fenilguanidina **50{6}**. Pero además, en el caso de la obtención de la piridopirimidina **35{1,6}**, el máximo rendimiento de reacción no se obtiene cuando se emplean los equivalentes justos para activar la fenilguanidina, si no cuando no se emplea cantidad alguna de metóxido sódico.

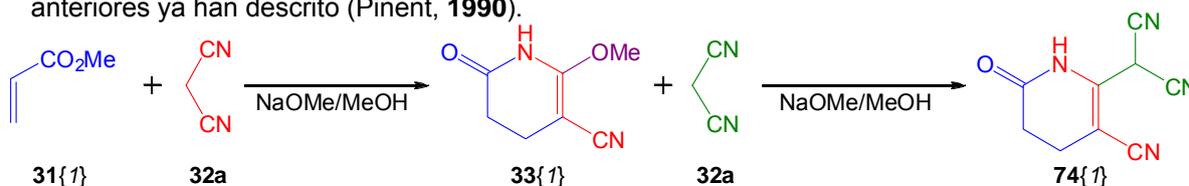
Estos resultados se refieren en la siguiente figura, donde el eje horizontal representa la proporción entre los moles de metóxido empleados para neutralizar y los moles de protones de la sal de fenilguanidina. Por ejemplo, si se trata 1 mol de carbonato de fenilguanidina ( $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,7}$ ) con 1,4 mol de base, debería leerse el rendimiento de reacción a un valor de abscisas de 1 porque la sal tiene 1,4 protones por cada unidad de base nitrogenada.



**Figura 2.22:** Curvas de rendimiento de piridopirimidina frente a cantidad de base.

Así pues, el exceso de metóxido sódico perjudica los procesos con fenilguanidina **50{6}** mediante un doble efecto de competencia nucleófila con la guanidina y de degradación de ésta, tal como se ha comentado ampliamente en el anterior capítulo.

Ahora bien, estos efectos no significan, en absoluto, que la reacción no transcurra en medio básico, si no que transcurre mejor si el medio básico es más débil que el creado con metóxido sódico. Concretamente, parece ser que se logra un medio básico más conveniente con el propio carbonato contra-anión de la sal de guanidina **50{6}**. Y esto es así porque en el caso particular de la combinación de acrilato de metilo **31{1}** y fenilguanidina también existe una tercera reacción en competencia: la sobrerreacción del intermedio **33{1}** con malononitrilo **32a** en presencia de bases fuertes -como es el caso del metóxido sódico-, tal como trabajos anteriores ya han descrito (Pinent, 1990).



**Figura 2.23:** Sobrerreacción del acrilato en presencia de malononitrilo y base fuerte.

Concretamente, sólo empleando el carbonato contra-anión de la sal de **50{6}** (0,7 equivalentes de base por equivalente de fenilguanidina) se logra un rendimiento del 36 %. No obstante, lo sorprendente es que este resultado no varía significativamente al sustituir la mitad del carbonato por metóxido sódico.

Además, el perfil resultante es claramente de tipo sigmoideo. Esto sugiere que la sobrerreacción en competencia -indicada en la anterior figura- sólo ocurre cuando el medio

Base/H <sup>+</sup>	Rendimiento
0,00	36,1 %
0,25	35,6 %
0,51	35,1 %
0,75	34,9 %
0,91	15,2 %
1,00	10,1 %
1,10	8,2 %
1,25	5,8 %

**Tabla 2.3:** Obtención del cabeza de serie según la cantidad de metóxido de sodio.

llega a ser lo suficientemente básico como para mantener el malononitrilo activado y dispuesto a la doble condensación.

Por último cabe considerar la cantidad de base en forma de carbonato (o bicarbonato) que se halla presente en el medio de reacción como consecuencia de la propia estequiometría del carbonato de fenilguanidina **50{6}** comercial. Es decir, ¿cómo afecta al rendimiento de reacción el cambio de la proporción entre carbonato y fenilguanidina? O lo que es lo mismo: ¿qué ocurre si la sal cambia de composición y varían el número de equivalentes de carbonato por equivalente de fenilguanidina?

La sal comercial de **50{6}** empleada en el presente estudio se adquiere de Sigma-Aldrich. Según la información que suministra esta casa comercial, la composición del sólido es  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_x$ . No obstante, para todos los lotes recibidos excepto uno se determina mediante AEO que la  $x$  es de 0,69. En el caso del lote discrepante el valor de  $x$  determinado mediante el mismo ensayo es de 0,57.

Sin emplear metóxido sódico como base adicional ( $Base/H^+ = 0$ ), mientras que para los primeros lotes el rendimiento de obtención del compuesto *cabeza de serie* es de aproximadamente el 36 %, para el lote con menor  $x$  el rendimiento es del 29 % (dos repeticiones realizadas). Es decir, el proceso transcurre sensiblemente peor cuando en el medio de reacción la cantidad de carbonato es menor, hecho que sugiere la necesidad de cierta cantidad precisa de esta base.

En resumen, parece que el carbonato contra-anión ejerce una acción catalítica necesaria para el correcto desarrollo de la reacción. Pero concretamente, ¿cómo influye la proporción entre carbonato y fenilguanidina sobre el proceso? ¿Existe algún valor óptimo? Y más aún, considerando que los equivalentes de carbonato presente en el medio de reacción dependen de la estequiometría de la sal de fenilguanidina comercial ¿es posible corregir esta proporción aumentándola con una sal de carbonato externa o disminuyéndola mediante el uso de una resina de intercambio iónico? Y, si esto es posible, ¿modificarla de este modo repercute efectivamente sobre el rendimiento de reacción? En consecuencia, se considera necesario estudiar la influencia sobre el rendimiento de reacción de la proporción de carbonato frente a la cantidad de fenilguanidina.

No obstante, para poder estudiar la influencia de esta proporción, primero resulta conveniente estudiar la efectividad de modificar la proporción de base en el medio más allá de lo que permite la estequiometría de la sal comercial de fenilguanidina. Así pues, para comprobar este aspecto en particular, se decide comparar los rendimientos de los procesos multicomponentes detallados a continuación:

- con sal de fenilguanidina  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,69}$
- con sal de fenilguanidina  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,57}$  y carbonato de cesio hasta lograr una proporción carbonato / fenilguanidina de 0,69.

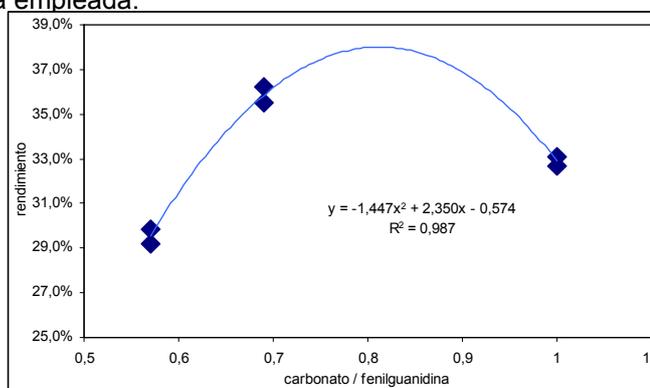
sal empleada, $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_x$	Rendimiento
0,57	36,4 %
	35,7 %
0,69	36,2 %
	35,5 %

**Tabla 2.4:** Rendimientos del cabeza de serie con misma proporción de carbonato y distinta sal empleada.

Afortunadamente, en ambos casos los rendimientos obtenidos son valores muy cercanos entre sí y todos ellos centrados en el 36 %. Por lo tanto, parece que es posible modificar efectivamente la proporción de la base frente a la guanidina. Además, esto significa, sin lugar a dudas, que en el disolvente de reacción a 140 °C la sal de **50{6}** se disocia -al menos en el mismo grado en que el carbonato de cesio lo hace- y, por consiguiente, el origen de la base carbonato no tiene la menor relevancia.

A partir de este punto se estudia la influencia de la proporción del carbonato sobre el rendimiento de reacción empleando como fuente primaria la sal comercial de  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,57}$  y ajustando cada valor de proporción con carbonato de cesio. Es decir que, de momento, únicamente se consideran proporciones mayores o iguales a las que fija la estequiometría de la sal de fenilguanidina empleada.

La figura adjunta muestra un comportamiento de tipo convexo para el rendimiento de este proceso, es decir, que existe una proporción óptima para la que el compuesto **35{1,6}** es obtenido con un rendimiento máximo. No obstante, dicha proporción no debe hallarse muy lejos de 0,70, que es la proporción que se logra con la sal de fenilguanidina empleada principalmente en el presente estudio.



**Figura 2.24:** Rendimientos para el cabeza de serie según las proporciones de carbonato empleada.

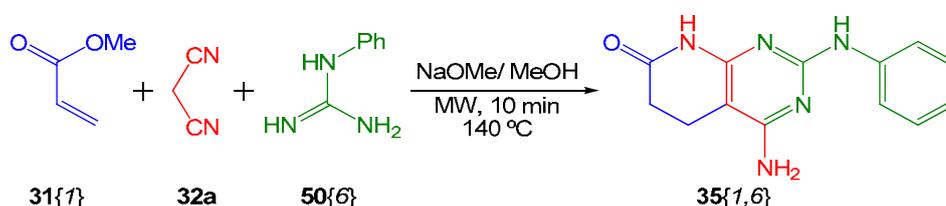
Aún y con todo, para explorar las condiciones de este máximo de rendimiento, se ajusta satisfactoriamente ( $R^2 = 0,987$ ) un polinomio de segundo grado a los datos experimentales y se determina que debería lograrse un rendimiento del 38,3 % a una proporción de 0,81. Y, concretamente, al implementar el proceso multicomponente con dicha proporción se logra un rendimiento del 37,6 %. Ahora bien, si bien es cierto que este es el mayor rendimiento observado experimentalmente, no dista mucho del 36 % que se logra empleando únicamente la sal  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,69}$ . En conclusión, el aumentar la proporción de carbonato frente a fenilguanidina empleando el carbonato de cesio no permite lograr unas mejoras sustanciales en el rendimiento de reacción y, por lo tanto, no parece necesario modificar las condiciones de reacción logradas con la sal comercial  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,69}$ .

En resumen, en lo concerniente a la base, su naturaleza y su proporción, se puede concluir que no debe emplearse metóxido sódico para activar la fenilguanidina, si no que el propio carbonato contra-anión de su sal comercial ejerce la conveniente catálisis básica.

Además, se determina que en el medio de reacción es necesaria una proporción de carbonato:fenilguanidina de 0,81:1 que permite alcanzar un rendimiento máximo del 37,6 %, si bien, únicamente con la sal comercial  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,69}$  es posible lograr un rendimiento muy cercano (36 %). Por lo tanto, resulta más práctico y ágil trabajar en estas últimas condiciones de catálisis básica.

### 2.2.3. Estudio de temperatura y tiempo de reacción

Anteriores trabajos del Laboratorio de Síntesis del IQS (Mont, **2005**) han establecido que la reacción multicomponente *one-pot* funciona preferentemente en metanol (no necesariamente anhidro) como disolvente de reacción y aplicando calefacción asistida por microondas a 140°C durante 10 minutos.



**Figura 2.25:** Obtención del cabeza de serie mediante la reacción *one-pot* multicomponente.

No obstante, considerando las peculiaridades observadas en el comportamiento de este proceso en lo que atañe a la basicidad del medio y la proporción de base, se considera pertinente estudiar si esas condiciones generales de tiempo y temperatura son las más convenientes también para la particular combinación de reactivos que permiten obtener **35{1,6}**. Para proceder a este estudio y hallar unas condiciones de reacción óptimas se decide implementar un pequeño diseño de experiencias cuyas variables y sus respectivos niveles son los siguientes:

- Temperatura: nivel bajo a 100 °C, nivel medio a 140 °C y nivel alto a 160 °C. No es posible explorar más allá de este último valor pues implicaría trabajar con presiones superiores a 20 bares, límite superior del equipo de microondas empleado.
- Tiempo de reacción: nivel bajo a 5 min, niveles medios a 10 min y 20 min, nivel alto a 60 min.

En este caso no se planifica la realización de puntos centrados pues se consideran niveles intermedios para ambas variables.

En lo concerniente a la realización de replicados, a pesar de que durante el presente estudio ya se ha comprobado que los resultados presentan una variabilidad extremadamente baja, sí que se contemplan dos replicados por ensayo. El objetivo de ello es aumentar la confianza de los resultados y favorecer que el análisis estadístico permita discriminar diferencias de rendimiento pequeñas con mayor seguridad.

Además, se distribuyen los experimentos en dos bloques aleatorizados distintos que se realizan en días consecutivos. En cada bloque se desarrolla una de las replicas de cada ensayo propuesto.

Por último, dadas las conclusiones del anterior apartado, para esta parte del estudio no se adicionará metóxido sódico como base auxiliar del proceso, si no que se empleará únicamente la catálisis básica de la propia fenilguanidina comercial  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0,69}$ .

En consecuencia, el plan de experimentación definitivo es el que se muestra a continuación conjuntamente con los resultados obtenidos.

T / °C	t / min	Rdto
160	60	0,415
140	20	0,308
100	60	0,267
140	60	0,352
140	5	0,335
160	20	0,378
100	10	0,159
140	10	0,352
160	5	0,389
100	20	0,231
160	10	0,387
100	5	0,105
140	20	0,340
100	20	0,227
160	5	0,385
140	10	0,352
100	60	0,263
160	60	0,354
160	10	0,387
100	10	0,156
140	5	0,335
160	20	0,368
140	60	0,368
100	5	0,105

**Tabla 2.5:** Plan de muestreo según los bloques formados y resultados obtenidos.

Al analizar los rendimientos descritos en la tabla adyacente y someterlos al correspondiente análisis se obtienen los parámetros estadísticos referidos en la siguiente tabla.

$R^2 =$		0,939
$\hat{R}^2 =$		0,926
Error estándar de estimación	=	0,026

**Tabla 2.6:** Coeficientes de determinación y error estándar de estimación.

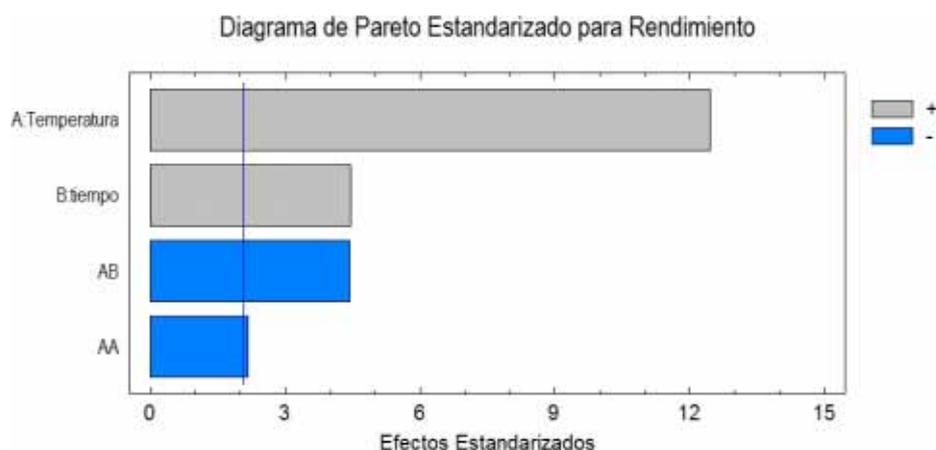
Tal como se comenta extensamente en el capítulo anterior, los resultados tabulados indican que este análisis estadístico permite discernir correctamente las magnitudes de las influencias de cada variable sobre el rendimiento de reacción.

Así mismo, estos parámetros estadísticos también implican que el modelo matemático ajustado a los datos experimentales es capaz de preveer adecuadamente el rendimiento de reacción en función de unas condiciones dadas de temperatura y tiempo de reacción. Concretamente, cualquier rendimiento calculado mediante dicho modelo presenta un error estándar de estimación de 0,026, es decir, teniendo en cuenta que los rendimientos obtenidos se hallan alrededor del 35 %, este error supone algo menos del 10 % del valor calculado.

Antes de proceder a analizar más en profundidad este modelo ajustado, se considera el análisis de varianza de los datos experimentales. En la tabla adyacente se reflejan los parámetros estadísticos resultantes más relevantes de aquellos factores o interacciones cuya influencia es significativa. Estos resultados también se representan en forma de diagrama de Pareto para visualizar el sentido de la influencia de cada parámetro e interacción sobre el rendimiento de reacción.

Efecto	F <sub>o</sub>	Valor P
A:Temperatura	155,05	0,0000
B:tiempo	19,93	0,0003
AA	4,71	0,0428
AB	19,77	0,0003

**Tabla 2.7:** Valores estadísticos asociados al ANOVA.



**Figura 2.26:** Diagrama de Pareto de los resultados del ANOVA.

La tabla de análisis ANOVA y el diagrama de Pareto muestran una gran dependencia del proceso con respecto a la temperatura, influencia positiva que contribuye favorablemente a incrementar el rendimiento de reacción. Las siguientes influencias son de una incidencia mucho menor, casi equivalente entre ellas y corresponden al tiempo de reacción (favorable) y a la interacción de ambas variables (desfavorable). Por último, y de modo casi marginal, existe un efecto cuadrático adverso de la temperatura sobre el rendimiento del proceso.

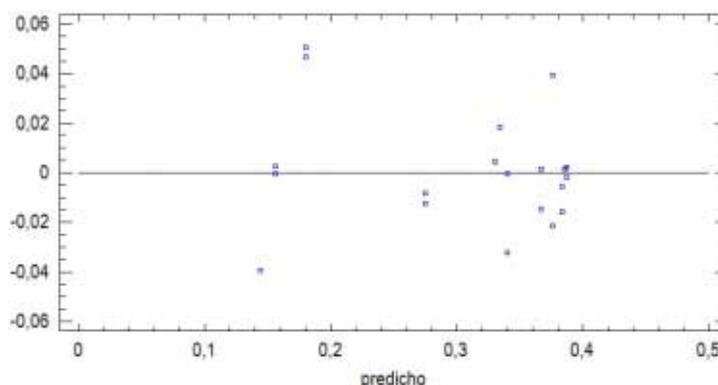
Estas tendencias son recogidas de manera numérica en el modelo matemático ajustado a los datos experimentales. La ecuación concreta de este modelo se presenta a continuación, así como su análisis de residuales: una distribución aleatoria alrededor de cero que es una prueba más de la bondad del ajuste.

$$Y = -0,781558 + 0,0121996 A + 0,00667788 B - 0,0000430088 AB - 0,0000305729 A^2$$

**Ecuación 2.1:** Modelo ajustado.

A = Temperatura (°C)

B = tiempo (min)

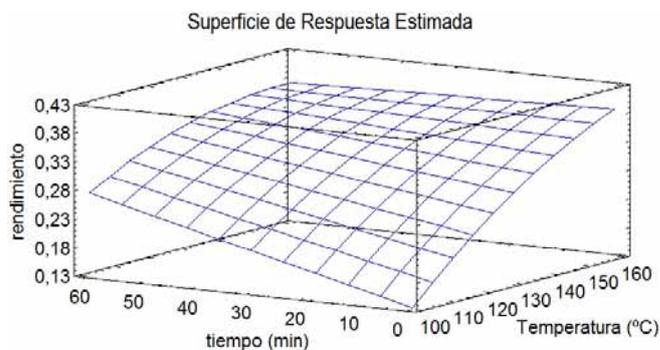


**Figura 2.27:** Residuales del modelo ajustado.

Gracias a esta ecuación es posible trazar una superficie de respuesta para el rendimiento en función de ambas variables de estudio.

Si se observa el aspecto de esta superficie en la siguiente figura se puede observar que a temperaturas bajas el rendimiento depende enormemente del tiempo de reacción. Pero además, los rendimientos observados dentro de los márgenes temporales fijados son los más bajos de entre los obtenidos.

Por el contrario, a alta temperatura el rendimiento se maximiza y prácticamente no depende del tiempo de reacción. Sin embargo, sí se aprecia que a tiempos largos disminuye mínimamente el rendimiento, seguramente por algún tipo de degradación del producto formado, constatación que coincide con la observación de que los sólidos obtenidos a 160 °C y tiempos superiores a 20 min presentan cierta coloración parda.



Variable	Valor
Temperatura/°C	160
Tiempo/min	5
Rdto %	38,7

**Tabla 2.8:** Condiciones óptimas.

**Figura 2.28:** Superficie de respuesta del modelo ajustado.

Por último, para determinar exactamente el rendimiento máximo que es posible obtener y las condiciones de reacción que permiten su obtención, se emplea la ecuación del modelo. Según ésta, a 160 °C y 5 min se puede obtener el compuesto *cabeza de serie 35*{1,6} con un rendimiento del 38,7 %.

Afortunadamente, esta previsión coincide completamente con los valores experimentales descritos previamente. Concretamente, los rendimientos referidos en las dos repeticiones realizadas son del 38,5 % y 38,9 %.

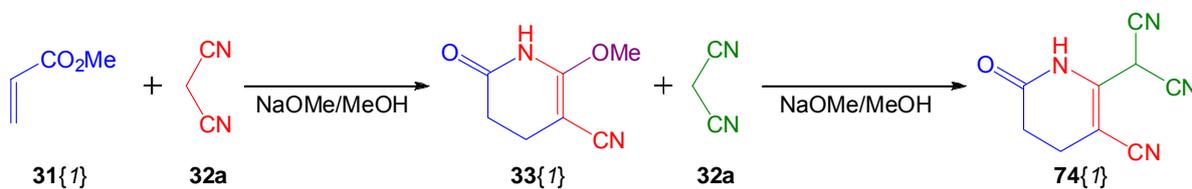
En resumen, si en lugar de implementar el protocolo general de la reacción multicomponente *one-pot*, se aumenta la temperatura de reacción de 140 °C a 160 °C y se acorta el tiempo de calefacción por irradiación de microondas de 10 min a 5 min, se logra mejorar el rendimiento de obtención del compuesto *cabeza de serie 35*{1,6} de alrededor del 36 % a aproximadamente el 39 %.

Si bien esta mejora de rendimiento no parece muy grande, implementarla es extremadamente simple. Además, a diferencia de la mejora de rendimiento por adición de carbonato de cesio, no implica emplear ningún recurso extra ni modificar sustancialmente la metodología de trabajo. De hecho, al reducir el tiempo de irradiación a la mitad, se facilita la obtención de grandes cantidades de este producto en poco tiempo.

Por lo tanto, en lo sucesivo esta modificación de la metodología habitual de la reacción de Victory sí se implementará para la síntesis masiva del compuesto *cabeza de serie 35*{1,6}.

### 2.2.4. Estudio de la proporción de reactivos

Tal como ya se ha comentado anteriormente, la reacción multicomponente *one-pot* para la obtención del *cabeza de serie* **35**{1,6} transcurre a través del compuesto piridónico **33**{1}. Para este heterociclo se ha descrito una reacción secundaria en competencia que consiste en la condensación con dos equivalentes de malononitrilo para rendir el precursor de naftiridinas **74**{1} (Pinent, 1990).



**Figura 2.29:** Sobre-reacción del acrilato en presencia de malononitrilo y base fuerte.

En principio, esta reacción en competencia se ve favorecida por la presencia de exceso de malononitrilo **32a** y de bases fuertes capaces de activarlo. Y precisamente, éstas son las condiciones generales de la reacción de Victory: por cada equivalente de éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **31**{x}, se emplean 1,2 equivalentes de malononitrilo **32a** y 3 equivalentes de guanidina (o sistemas equivalentes) activados con metóxido sódico en cantidad equimolar o ligeramente superior, y la mezcla disuelta en metanol se calienta con microondas 10 min a 140 °C.

Por el contrario, en los dos anteriores apartados se exponen las modificaciones necesarias de esta metodología general para aumentar el rendimiento de obtención del heterociclo **35**{1,6}: sal de fenilguanidina comercial sin activar, es decir, en forma de carbonato (0,69, proporción de contra-anión) y calefacción asistida por microondas 5 min a 160 °C.

La primera modificación va claramente en la línea de disminuir la fuerza de la catálisis básica en el medio de reacción. De hecho, las nuevas condiciones de basicidad deben mantener una proporción menor de malononitrilo activado y con ello disminuir la competencia del proceso secundario.

Sin embargo, puesto que la reacción principal transcurre convenientemente y que para ello debe activarse el primer equivalente del metileno activo, nada hace suponer que no pueda activarse también el segundo equivalente y, por consiguiente, condense con el intermedio piridónico según se expone en la anterior figura.

De hecho, según la metodología adaptada para la obtención del compuesto *cabeza de serie*, la base es el propio carbonato, contra-anión de la sal comercial de fenilguanidina empleada en el presente estudio. Por lo tanto, para disminuir la presencia de base en el medio de reacción existen dos alternativas: o bien disminuir la proporción de carbonato mediante algún agente externo -por precipitación o por intercambio iónico-, o bien emplear menor cantidad de sal de fenilguanidina.

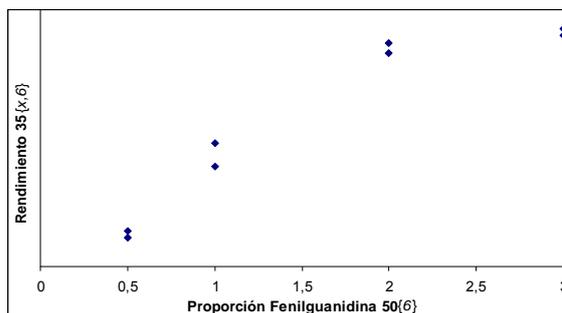
Para no intentar emplear reactivos adicionales o complicar la metodología experimental, en primera instancia se decide explorar el efecto de la segunda opción.

Exp	50{6}	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	32a	31{1}	rend
A	3	2	1,2	1	38,7%
B	2	1,4	1,2	1	41,5%
C	1	0,7	1,2	1	36,6%
D	0,5	0,35	1,2	1	45,9%

**Tabla 2.9:** Rendimientos de 35{1,6} según las proporciones de carbonato y fenilguanidina.

Los resultados pueden parecer un poco dispersos ya que no muestran una tendencia bien definida. Pero en realidad son perfectamente coherentes si se considera que son la superposición de los siguientes dos fenómenos:

- El descenso de la proporción de base frente al éster  $\alpha,\beta$ -insaturado y al malononitrilo.
- El comportamiento asintótico de los rendimientos de las reacciones de Victory frente a la proporción de guanidinas, es decir, que a partir de cierta proporción no se logra mejorar el rendimiento sustancialmente, pero si se baja de esa proporción el rendimiento decrece muy rápidamente o, incluso, es nulo.



**Figura 2.30:** Comportamiento asintótico del rendimiento de la reacción de Victory.

Concretamente, comparando las experiencias A y B las proporciones de fenilguanidina se hallan en la zona plana del comportamiento asintótico, por lo tanto, no debería apreciarse una pérdida de rendimiento neta por esta causa. Por el contrario, el ligero incremento observado en el rendimiento debe estar asociado al descenso de la cantidad de base.

Al comparar estos dos experimentos con el C, se observa que la pérdida de rendimiento es mucho menor de lo que debería esperarse considerando el comportamiento de esta reacción cuando se desarrolla con menor proporción de fenilguanidina. Por lo tanto, el efecto del descenso de la proporción de base sobre el rendimiento de reacción es tan acusado que prácticamente compensa el primero.

Prueba de la magnitud de este efecto es el resultado de la experiencia D: incluso en unas condiciones de defecto de fenilguanidina que harían esperar un rendimiento muy bajo -tal como muestra la anterior figura-, el resultado es el mejor de los obtenidos. Así pues, es de suponer que la presencia de una menor cantidad de base en el medio de reacción comporta un nivel de activación del malononitrilo suficiente para permitir la formación del intermedio piridónico 33{1}, pero no tan elevado como para que la formación de 74{1} sea una competencia real frente a la gran *driving force* que supone la precipitación del heterobicyclo 35{1,6}.

Pero atención porque esta última reflexión lleva a considerar la influencia de la proporción de malononitrilo sobre el rendimiento de obtención del compuesto *cabeza de serie*. De hecho,

si bien es lógico que el disminuir la basicidad del medio contribuye muy favorablemente al rendimiento de la reacción gracias a una menor activación de **32a**, también lo debe ser que la propia proporción de malononitrilo tiene una influencia no menor. Es decir, puesto que la reacción en competencia es una sobrerreacción del intermedio piridónico **33{1}** con malononitrilo, reducir esta proporción también debería repercutir favorablemente sobre el rendimiento del proceso que se pretende maximizar.

Al considerar la proporción del malononitrilo en todas las experiencias realizadas hasta este punto se observa que siempre se ha trabajado con un ligero exceso de 1,2 equivalentes de **32a** con respecto a cualquiera de los ésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados empleados. El implementar la reacción multicomponente con este ligero exceso de malononitrilo implica necesariamente que por lo menos existen 0,2 equivalentes de este metileno activo dispuestos para reaccionar con el intermedio piridónico. A priori, esta reacción secundaria no supone ningún problema excepto para el caso del acrilato de metilo **31{1}**, para el que este proceso en competencia sí que transcurre con facilidad. Por lo tanto, para este caso concreto el exceso de malononitrilo debería ser reducido o eliminado.

Resumiendo, se decide explorar la influencia de la proporción de malononitrilo sobre el rendimiento de obtención del compuesto heterobíclico **35{1,6}**. Ahora bien, en cuanto a la proporción de base empleada en los correspondientes experimentos únicamente se consideran los dos valores menores (0,7 y 0,35) pues sus rendimientos muestran un mayor beneficio por la reducción de carbonato en el medio de reacción.

Exp	<b>50{6}</b>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	<b>32a</b>	<b>31{1}</b>	rend
C	1	0,7	1,2	1	36,6%
C'	1	0,7	1	1	39,3%
D	0,5	0,35	1,2	1	45,9%
E	0,5	0,35	1	1	49,7%
F	0,5	0,35	0,5	1	50,7%

**Tabla 2.10:** Rendimientos de **35{1,6}** según proporciones de carbonato y malononitrilo.

Los resultados de los pares de experiencias C-C' y D-E claramente muestran el efecto beneficioso de reducir la proporción de malononitrilo. Si además la reducción de esta proporción se combina con la reducción de la proporción de base (C *versus* E) la mejora de rendimiento es muy importante (casi del 13 %). Por último, reducir tanto la cantidad de fenilguanidina como de malononitrilo por debajo de 1 equivalente frente al acrilato de metilo, supone una pequeña ganancia extra de rendimiento (1 %).

En conclusión, reducir tanto la proporción de malononitrilo como de carbonato (contra-anión de la sal comercial de fenilguanidina) respecto a la cantidad de acrilato de metilo **31{1}** contribuye a minimizar la reacción en competencia y a maximizar el rendimiento de obtención del compuesto *cabeza de serie* **35{1,6}**. Concretamente, con proporciones de 0,5 y 0,35 respectivamente se logra alcanzar un rendimiento ligeramente superior al 50 %. Un

beneficio adicional de la reducción de la proporción de carbonato es que permite emplear menor cantidad de sal de fenilguanidina, que es con diferencia el reactivo más costoso de los necesarios para la obtención del heterobicyclo de interés.

### 2.2.5. Escalado y conclusiones sobre la obtención de 35{1,6}

Tras considerar en profundidad distintos aspectos de la reacción multicomponente *one-pot* para la obtención masiva de grandes cantidades de 4-amino-2-fenilamino-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona **35{1,6}**, las modificaciones de la metodología general que deben implementarse para maximizar el rendimiento son las que siguen:

- La fenilguanidina no debe ser activada mediante tratamiento previo con metóxido sódico.
- La base del proceso debe ser carbonato, cuya fuente puede ser o bien sales inorgánicas, o bien sales de fenilguanidina, o bien una mezcla de ambas.
- La proporción de carbonato respecto la cantidad de fenilguanidina debería ser de 0,81, pero en el presente estudio se emplea la proporción de 0,69 -correspondiente a la estequiometría de la sal de fenilguanidina comercial empleada- pues la diferencia de rendimiento es menor del 2 %.
- La reacción transcurre preferentemente a 160 °C por irradiación de microondas en vial sellado durante 5 min. Esta modificación, muy fácil de implementar, supone un incremento de rendimiento de alrededor del 3 %.
- La proporción de reactivos durante el proceso debe ser de 2:1:1 acrilato de metilo:malononitrilo:fenilguanidina, lo que implica una proporción de carbonato:éster de 0,35:1, según la estequiometría del carbonato de fenilguanidina comercial empleado. Con esta modificación es posible mejorar el rendimiento de la reacción más del 10 %.

Por último, en pos de obtener mayor cantidad de *cabeza de serie* en cada repetición de este proceso se decide aumentar la escala del proceso de los 1,66 mmol de acrilato en 5 mL de metanol (0,332 mol·L<sup>-1</sup>) empleados durante todo el estudio de condiciones hasta los 10,18 mmol de acrilato en 15 mL de metanol (0,678 mol·L<sup>-1</sup>), es decir, doblar la concentración y más que sextuplicar la cantidad de reactivos.

Por desgracia, en estas condiciones el rendimiento de reacción desciende hasta el 40,1 %, lo que supone una pérdida de rendimiento de alrededor del 10 %. De ello se puede deducir que el aumento de concentración de los respectivos reactivos perjudica el proceso principal pues debe favorecer procesos secundarios como el comentado en el anterior apartado.

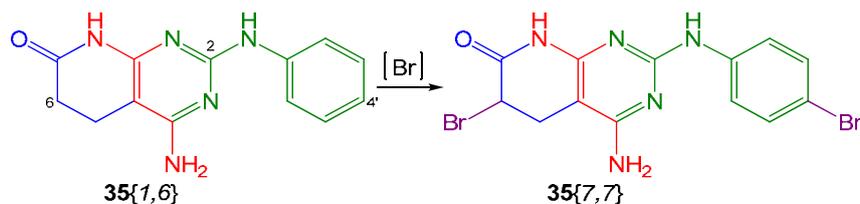
Aún y con todo, este escalado permite pasar de la obtención de aproximadamente 100 mg de **35{1,6}** hasta los 500 mg, lo que ciertamente supone una auténtica reducción de carga sintética.

## 2.3. Monobromación del compuesto cabeza de serie 35{1,6}

### 2.3.1. Antecedentes

A tenor de la estrategia de derivatización ampliamente discutida en la introducción del presente capítulo, el compuesto cabeza de serie **35{1,6}** debe activarse para su sustitución mediante la introducción de dos residuos de bromo situados en las posiciones:

- $\alpha$  de carbonilo en el carbono C6
- *para* en el residuo fenilamino en el carbono C2



**Figura 2.31:** Dibromación secuencial o simultánea del cabeza de serie con mismo resultado.

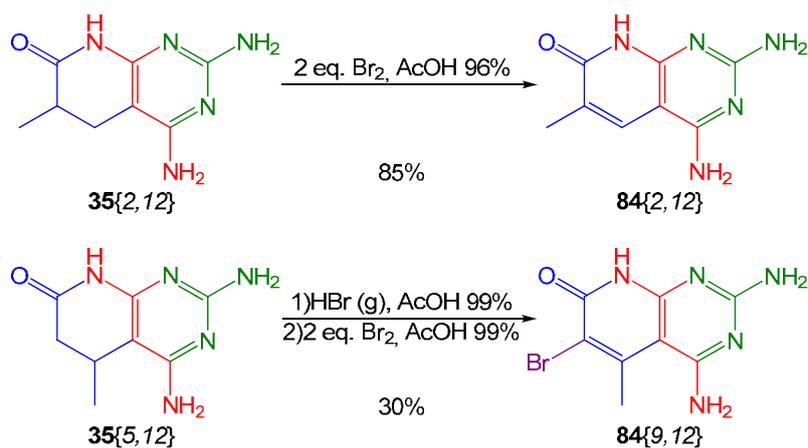
Para esta estrategia de derivatización no es relevante si los residuos son introducidos simultáneamente o de manera secuencial. No obstante, para la derivatización en sí, el realizarla de un modo o de otro puede resultar de una importancia crucial.

Concretamente, considerando la distinta reactividad de ambos bromos debería existir alguna metodología capaz de introducir selectivamente uno de ellos y, por lo tanto, que fuera posible la obtención de **35{7,7}** de manera secuencial. Pero, ¿podrían ser también introducidos simultáneamente? Y, ¿mediante qué metodología?

Con respecto a la activación selectiva en C6, sin exclusión de otros agentes de bromación de uso habitual -como por ejemplo, la *N*-bromosuccinimida-, las metodologías sintéticas para derivatizar esta posición emplean bromo como agente. Pero, atención, porque empleando este mismo reactivo nada hacer prever que no se brome también la posición 4'-fenilamino en C2. Por lo tanto, el uso de este tipo de reactivos no hace previsible que la bromación pueda ser selectiva.

De hecho, la experiencia acumulada por el Laboratorio de Síntesis del IQS con el uso de uno, dos o más equivalentes de bromo como reactivo frente a este tipo de heterociclos (Victory et al., **1989**) alerta de posibles complicaciones si se pretende ensayar la bromación simultánea de **35{1,6}**.

Brevemente, al tratar sistemas 2-aminopirido[2,3-*d*]pirimidínicos con más de un equivalente de bromo se induce la formación de un doble enlace en  $\alpha$  de carbonilo mediante un proceso de deshidrobromación favorecido por la posibilidad de conjugación en el sistema resultante **84{x,y}**.



**Figura 2.32:** Algunas de las bromaciones de heterobiciclos estudiadas anteriormente.

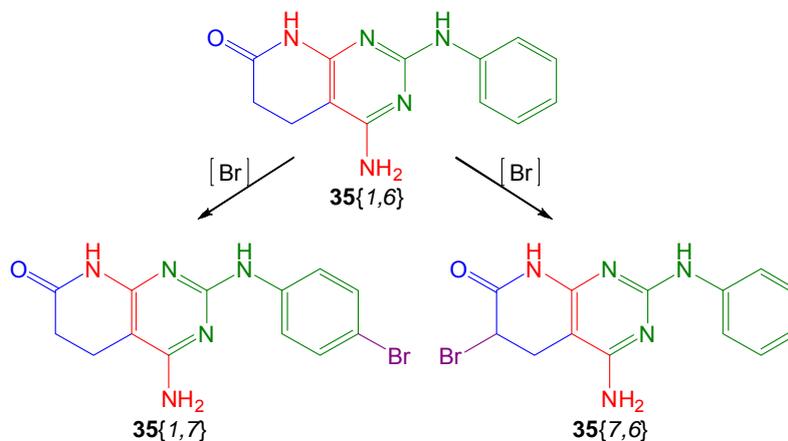
No obstante, sí que cabe destacar que existen diferencias muy significativas tanto en las condiciones de reacción como en los rendimientos de bromación según la presencia de sustituyentes en  $\alpha$  o  $\beta$  de carbonilo del anillo piridónico, siendo más desfavorable este último caso. Los autores refieren como causa más probable de estas diferencias la posición relativa de los respectivos sustituyentes pero no llegan a detallar el mecanismo de esta influencia.

Estas divergencias de comportamiento resultan especialmente relevantes para el presente estudio, pues en el caso del heterobiciclo **35{1,6}** no existe ningún sustituyente en cualesquiera de los dos posiciones. Por lo tanto, no son previsible ni las condiciones de reacción ni el curso que tomaría la bromación del compuesto *cabeza de serie* en presencia de dos o más equivalentes de bromo. Contrariamente, sí que es previsible que ocurra esta deshidrobromación -pues se da en ambos casos- o, incluso, que se obtenga una mezcla de productos en estas mismas condiciones.

Es por ello, que en aras de mantener cierto control sobre estas reacciones de derivatización de **35{1,6}** -sea cual sea el agente de bromación empleado pero especialmente si es bromo- se pretende emplear un único equivalente de reactivo para intentar bromar una única posición. Cierto es que este planteamiento supone que una única posición reaccionará con un solo equivalente de agente bromante, lo que no tiene porque ser necesariamente cierto tal como la experiencia previa con este tipo de heterobiciclos demuestra. No obstante, es un punto de partida para buscar la monobromación del compuesto *cabeza de serie*.

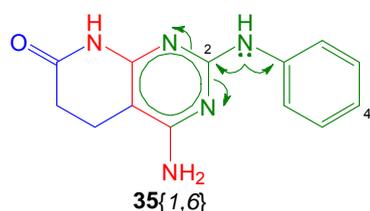
En resumen, por lo expuesto hasta el momento, parece recomendable descartar la estrategia de bromación simultánea -que requiere dos o más equivalentes de agente bromante- en favor de la secuencial y emplear (al menos en la primera etapa) un único equivalente de dicho agente. De este modo, se prevé controlar mejor el proceso de monobromación y evitar la formación de un doble enlace en  $\alpha$  de carbonilo del anillo piridónico.

No obstante, en este punto surge una duda bastante razonable: ¿Qué posición se bromará más fácilmente: la alifática o la aromática? Es decir, ¿qué término de monobromación se obtendrá preferentemente: el **35{7,6}** o el **35{1,7}**?



**Figura 2.33:** Los posibles términos de monobromación.

Para intentar prever mínimamente el resultado de la monobromación se analizan los efectos de cesión mesómera del grupo amino en C2. Dicho grupo puede ceder el par electrónico libre hacia el anillo fenílico y contribuir con ello a su activación para la sustitución electrófila aromática en las posiciones 2' y 4'. Sin embargo, se observa que este mismo par electrónico también puede deslocalizarse en el anillo pirimidínico, especialmente porque se halla en orto de los dos nitrógenos heterocíclicos, átomos de elevada electrofilia (Gilchrist, **1995**). Además, el efecto cesor mesómero del grupo amino en C2 interfiere más bien poco sobre esa cesión pues la posición relativa entre ambos sustituyentes es 1,3.



**Figura 2.34:** Deslocalización del par electrónico de la amina en C2 en ambos anillos.

Así pues, considerando las posibilidades de cesión mesómera del grupo amino en C2 y la gran electrofilia del anillo pirimidínico, es previsible que la densidad de carga negativa sobre el anillo fenílico sea bastante baja. Por lo tanto, reacciones de sustitución electrófila aromática -como en el presente estudio, la bromación en la posición 4'- no deberían estar especialmente favorecidas.

Ahora bien, ¿esta baja densidad de carga negativa es suficiente para asegurar que la reacción debería transcurrir preferentemente en la posición  $\alpha$  de carbonilo del anillo piridónico? Pues bien, ante esta disyuntiva y considerando la relativa facilidad con la que esta posición es no solamente bromada, si no dibromada (Victory et al., **1989**), se considera que dicha posición alifática debería reaccionar preferentemente a la aromática. No obstante, resta por establecer experimentalmente si es posible la monobromación o si, por el contrario, se obtienen mezclas de términos bromados.

### 2.3.2. Ensayos de la monobromación del compuesto 35{1,6}

En primer lugar se plantea la cuestión de qué agentes bromantes emplear para esta reacción. De hecho, los pocos ejemplos de monobromación en  $\alpha$  de carbonilo de una piridona hallados en la bibliografía emplean un tratamiento con, o bien  $\text{Br}_2$  en ácido acético (Bozhanov et al., 2000), o bien con tribromuro de fósforo y bromo (Shinichi et al., 2007).

Puesto que ambos ejemplos emplean bromo y que el Laboratorio de Síntesis tiene cierta experiencia en el uso de este agente, se plantea realizar un primer grupo de experiencias con este reactivo auxiliar.

No obstante, considerando que la *N*-bromosuccinimida (NBS) es equivalente como agente de bromación, también se decide realizar alguna experiencia con este reactivo. De todas maneras, puesto que se trata de un agente algo más suave y puesto que no existen referencias bibliográficas de su uso para la bromación en  $\alpha$  de carbonilo de piridonas, no se confía en obtener resultados muy positivos.

Con respecto al disolvente de reacción, tanto parte de la bibliografía existente (Bozhanov et al., 2000) como la experiencia previa del grupo apuntan hacia el ácido acético como buen disolvente en este tipo de tratamientos. Por lo tanto, se decide emplearlo en estos ensayos.

Sin embargo, capítulo a parte merece la pureza de este disolvente. La experiencia previa del grupo no fija claramente un criterio general sobre el uso de ácido acético al 96 % o ácido acético glacial -secado o no sobre pentóxido de difósforo- y dependiendo del sustrato a tratar es preferible uno u otro. Además, la bibliografía sólo refiere el uso de ácido acético glacial como disolvente sin detallar si ha sido o no secado.

Por lo tanto, en los primeros ensayos parece pertinente emplear ácido acético glacial pues es el disolvente más común de los empleados en todos los casos referidos. Ahora bien, dependiendo de los resultados que se obtengan se sustituirá, o bien por ácido acético de menor riqueza (96 %, por ejemplo), o bien por ácido acético anhidro.

Por último, cabe considerar la temperatura a la que deben implementarse estos primeros ensayos de bromación. Victory y colaboradores refieren que las reacciones de bromación en  $\alpha$  de carbonilo transcurren a reflujo por calefacción tradicional en ácido acético (119 °C) en tiempos que van desde los 30 min hasta las 2 h. En estas condiciones térmicas describen tanto la  $\alpha$ -dibromación como la deshidrobromación, reacciones que se pretenden evitar.

En consecuencia, parece recomendable que al menos los primeros ensayos se hagan a temperaturas menores. En este sentido, las primeras pruebas se decide realizarlas a temperatura ambiente y, en función de los resultados, ya se modificarían las condiciones térmicas. En cuanto al tiempo de reacción, no se toma una decisión al respecto, si no que se

opta por realizar el seguimiento de los procesos mediante cromatografía de capa fina hasta observar una conversión significativa o, preferentemente, completa.

Por consiguiente, se aborda el estudio de la monobromación del compuesto *cabeza de serie 35{1,6}* con sendos ensayos: el primero con un equivalente de NBS, y el segundo con un equivalente de bromo. Ambos experimentos se desarrollan en ácido acético glacial (no secado) como disolvente, a temperatura ambiente y realizando seguimiento de la conversión mediante CCF.

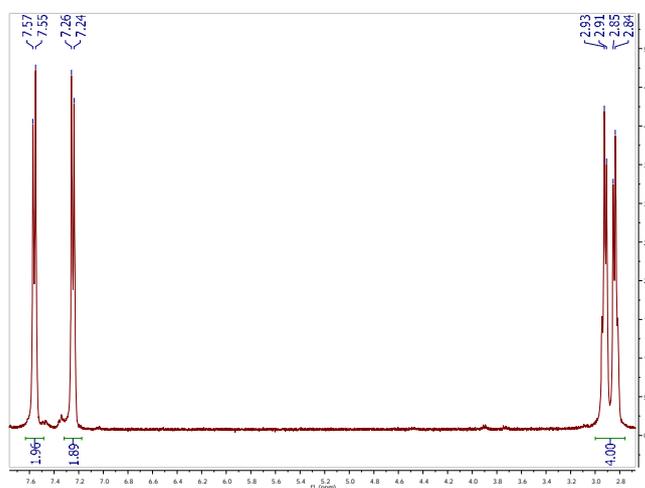
Al implementar los correspondientes ensayos no se observa evolución alguna mediante CCF. No obstante, sí que se aprecia un cambio muy importante en la coloración de los medios de reacción transcurrida aproximadamente media hora: desde el intenso color rojo anaranjado -propio de las especies activas de bromo- se observa la progresiva decoloración hasta un blanco muy limpio, que es el color del heterobicyclo inicial. Además, también se observa que la dispersión de sólido pulverulento de *35{1,6}* se va transformando paulatinamente en un sólido floculado en la prueba con NBS y en un sólido extremadamente fino en la prueba con bromo.

Tras la decoloración total del medio de reacción (30 minutos aproximadamente), se dejan evolucionar ambos ensayos hasta que transcurrida una hora no se aprecia ninguna evolución ulterior ni mediante CCF ni visualmente.

En ambos casos se filtra al vacío directamente el sólido en suspensión, se lava con abundante agua, etanol y éter dietílico y se deja secar sobre el embudo de filtrado durante unos minutos. En ambos casos tanto la filtración como los respectivos lavados son extremadamente lentos y complejos. Además, también en ambos casos se forma abundante precipitado en las aguas madres que es recuperado por filtración. En la tabla anexa se refieren los respectivos rendimientos.

Agente	1ª cosecha	2ª cosecha	Total
Bromo	64,0 %	25,4 %	89,4 %
NBS	41,9 %	40,2 %	82,1 %

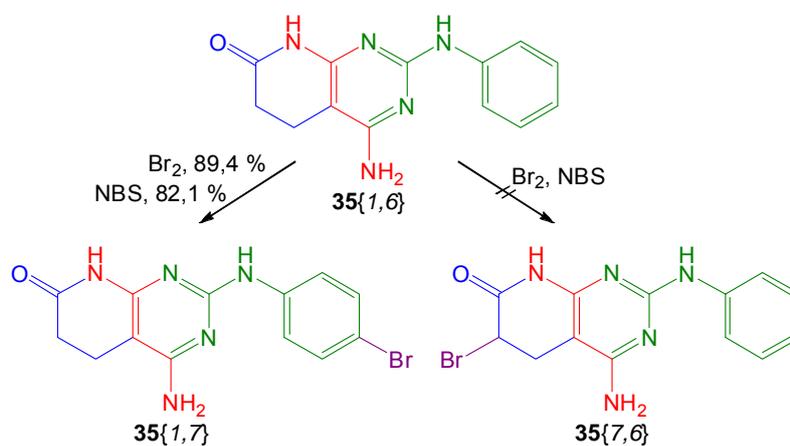
**Tabla 2.11:** Rendimiento de cada cosecha y rendimiento global de la monobromación.



**Figura 2.35:** <sup>1</sup>H-RMN(d-TFA) tipo de los sólidos obtenidos con ambos agentes.

De las dos pruebas se obtienen sendos sólidos blancos cuyo espectro de protón muestra la zona alifática inalterada, pero en cambio muestra como las señales de la zona aromática se han modificado para tomar el típico aspecto de los fenilos 1,4-disustituídos.

Por lo tanto, parece más que probado que la bromación transcurre preferentemente sobre la posición aromática. Es decir, que de los dos productos de monobromación posibles, únicamente se forma el **35**{1,7}.



**Figura 2.36:** Evolución de la monobromación del cabeza de serie con ambos agentes.

Además, estos resultados prueban que en las condiciones ensayadas (1 equivalente de agente bromante, temperatura ambiente, ácido acético glacial no anhidro como disolvente y tiempo entre 30 y 60 min) no se producen ni la  $\alpha$ -dibromación ni la deshidrobromación referidas por Victory y colaboradores (Victory et al., **1989**).

Antes de proceder a la discusión de este inesperado resultado, cabe comentar que el rendimiento obtenido empleando uno u otro agente bromante es prácticamente el mismo, aunque parece que en el caso del bromo es ligeramente superior. Pero además, el *work-up* en el caso de usar este agente es mucho más simple que cuando se emplea NBS como agente de bromación. Por consiguiente, considerando globalmente ambos aspectos, parece más recomendable seguir trabajando únicamente con el primer agente. Así pues, a partir de este punto todas las reacciones de bromación emplean bromo en acético como reactivo de derivatización.

También resta por simplificar el *work-up* de la reacción, que aunque es mucho más sencillo cuando se emplea bromo, sigue resultando terriblemente tedioso. Los principales puntos a solucionar son la dificultad de filtración del crudo de reacción y la precipitación de una segunda cosecha de producto bromado en las aguas madres.

La primera modificación del protocolo consiste en diluir el medio de reacción 100 veces con agua desionizada y posteriormente neutralizar con carbonato sódico. Pues bien, aunque esta estrategia elimina totalmente la necesidad de filtrar una segunda cosecha, durante la

neutralización hay que proceder con extremada cautela pues el burbujeo de dióxido de carbono puede descontrolarse y provocar la pérdida de parte del producto. Aún y con todo, de este modo se logra un rendimiento del 87,9 %.

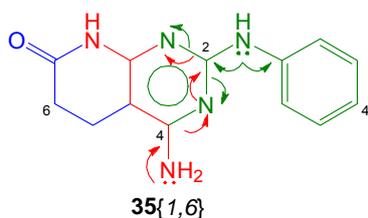
La segunda y definitiva modificación del protocolo del *work-up* consiste en diluir de 100 o 200 veces el crudo de reacción con dioxano y eliminar el disolvente a presión reducida mediante destilación azeotrópica (118 °C, composición 84 % en acético) hasta sequedad. A continuación se reconstituye con 50 mL de dioxano y se repite el proceso también hasta total sequedad. De este modo es posible eliminar totalmente el ácido disminuyendo enormemente su concentración relativa y evitando así calentar el producto monobromado en medio ácido y, posiblemente, en presencia de restos de agente bromante. A continuación se añade agua, se disgrega el sólido mecánicamente y con ayuda de ultrasonidos, se procede a su filtrado al vacío y a los correspondientes lavados. Con este protocolo se eliminan todas las complejidades observadas con las otras metodologías y se evita la necesidad de realizar una segunda cosecha. El rendimiento de obtención de **35**{1,7} mediante esta estrategia es del 97,2 % y la pureza analítica.

Ahora sí, a continuación se procede a analizar por qué el término de monobromación obtenido no es el previsto.

Tanto en la introducción como en el anterior apartado se comenta que no existen muchas referencias bibliográficas de bromaciones en  $\alpha$  de carbonilo en anillos 2-piridónicos. Esto es una prueba de la dificultad de ese tipo de reacciones sobre estos sustratos. Establecida esta dificultad, el análisis se centra en determinar si es más o menos posible la otra bromación, la de la posición 4' del residuo 2-fenilamino. Es decir, ¿existe mayor o menor probabilidad de derivatización en esa posición?

Pues bien, en el anterior apartado se establece que las posibilidades de bromación de dicha posición dependen de las cesiones mesómeras del grupo amino en C2. Dichas cesiones se resumen en dos:

- sobre el anillo pirimidínico, de muy elevada electrofilia, y por tanto muy desactivante
- sobre el anillo fenílico y por tanto activante, en las posiciones 2' y 4'.



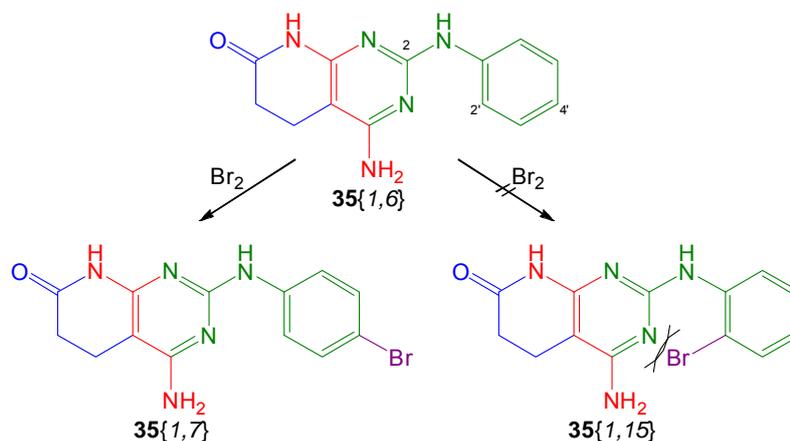
**Figura 2.37:** Conjugaciones de las aminas del anillo pirimidínico.

La errónea ponderación de estos efectos lleva a la conclusión de que, por baja que sea la posibilidad de bromación en  $\alpha$  de carbonilo, siempre debería ser mayor que la de cualquiera de las posiciones aromáticas del residuo en C2. Sin embargo, por electrófilo que pueda ser el

anillo pirimidínico, resulta evidente que no es tan desactivante como se suponía y, por lo tanto, la densidad de carga negativa sobre el anillo fenílico es suficiente para activar su bromación.

Sin duda el grupo amino presente en C4 contribuye a mitigar parte de este efecto desactivante mediante la cesión de su par electrónico, que es capaz de compensar la electrofilia de los nitrógenos heterocíclicos situados en *orto* y *para* de este cesor mesómero (figura anterior). Así pues, aunque ambos grupos amino se hallen situados en posición 1,3 entre sí, no queda la menor duda de que la presencia del amino en C4 disminuye el efecto desactivante de este heterociclo y, por lo tanto, contribuye a hacer posible la bromación del residuo fenilamino en C2.

Otro aspecto digno de consideración es que, efectivamente, no se observa la formación en ninguna proporción del término de bromación en la posición 2' del anillo aminofenílico en C2. Es decir, de las tres posiciones susceptibles de reaccionar con el bromo -dos posiciones 2' y una posición 4'- únicamente se da la derivatización en la posición 4'.



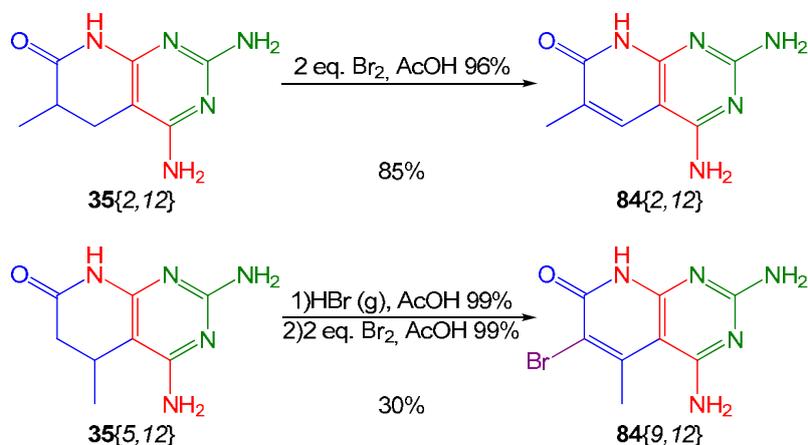
**Figura 2.38:** Monobromación selectiva del cabeza de serie con ambos agentes.

Esta inesperada (aunque deseable) selectividad se atribuye al potencial impedimento estérico que experimentaría un residuo tan grande como el bromo en la posición 2'. Concretamente, la proximidad con el anillo piridónico restringe el espacio disponible para la inserción de residuos en esta posición.

Pero además, considerando que todo el residuo fenílico rota sobre el eje del enlace N-C1', la bromación en dicha posición impediría esta rotación y limitaría enormemente las posibles conformaciones espaciales de esta región del heterociclo. Es comprensible, pues, que un proceso que implica una reducción entrópica tan significativa no esté favorecido.

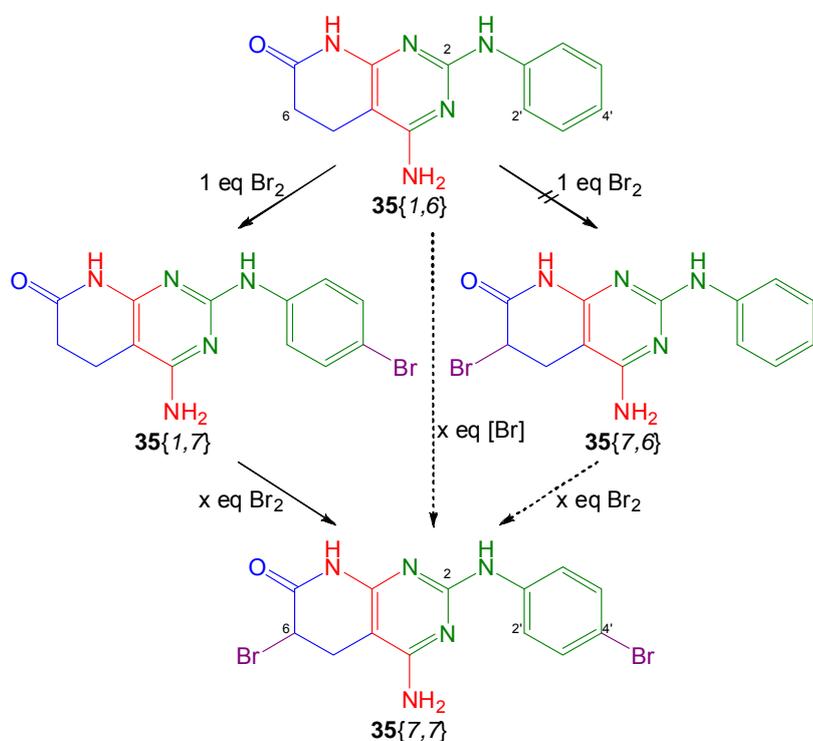
Por otro lado, la obtención preferente de este compuesto monobromado puede tener repercusiones sobre la obtención del compuesto dibromado 35{7,7}. Concretamente, para evitar la posibilidad de  $\alpha$ -dibromación y deshidrobromación referidas por Victory y colaboradores (Victory et al., 1989) las condiciones de reacción empleadas en los ensayos de

monobromación son bastante más suaves: 1 equivalente de agente bromante y temperatura ambiente, frente a excesos de 2 o más equivalentes de bromo y calefacción a reflujo en acético (118 °C).



**Figura 2.38:** Resultados de las bromaciones más agresivas.

Puesto que la posición alifática en  $\alpha$  de carbonilo (C6) erróneamente se consideraba más reactiva, se suponía que estas condiciones de reacción más suaves serían suficientes para lograr que la monobromación del compuesto *cabeza de serie* 35{1,6} se diera sobre la posición C6. Derivatizado este carbono, deberían haberse hallado unas condiciones de reacción también suaves para lograr la bromación del residuo aromático sin provocar las reacciones secundarias de  $\alpha$ -dibromación y deshidrobromación en C6, lo que no debiera haber supuesto ningún problema habida cuenta de la multitud de metodologías selectivas de bromación aromática referidas en la bibliografía (McKillop et al., 1972; Paul et al., 1994).



Pero, desgraciadamente, en realidad se broma la posición aromática (4').

Por lo tanto, para obtener el compuesto dibromado 35{7,7}, la bromación de la posición alifática C6 debería realizarse de manera secuencial a partir del producto intermedio monobromado 35{1,7}.

En este punto, cabe recordar que la estrategia de dibromación ya se ha descartado anteriormente a resultas de la reactividad descrita anteriormente por el Laboratorio de Síntesis (Victory et al., 1989).

**Figura 2.39:** Replanteamiento de la estrategia de dibromación.

Por todo ello, no cabe duda de que para ensayar la monobromación del compuesto monobromado  $35\{1,7\}$  deberían tomarse todas las precauciones posibles para, de nuevo, evitar la  $\alpha$ -dibromación y deshidrobromación en C6 o, en caso contrario, no será posible obtener el compuesto dibromado deseado  $35\{7,7\}$  si no algún compuesto (o mezcla de ellos) derivado de estas reacciones secundarias.

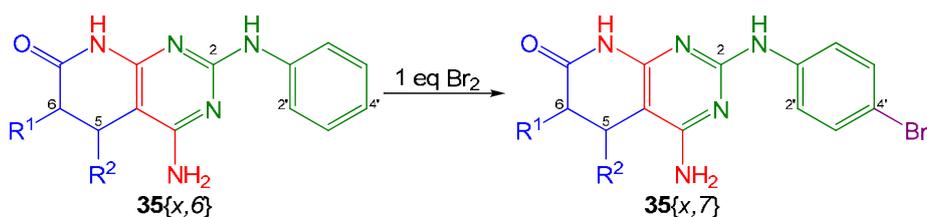
Brevemente, las precauciones deberían ser las mismas que las empleadas en el presente apartado: un único equivalente de agente bromante -incluso cabe considerar el uso de  $PBr_3$  como catalizador (Shinichi et al., **2007**)- y unas condiciones de temperatura muy suaves que favorezcan una estequiometría equimolar de reacción.

Así pues, a la luz de los resultados obtenidos en el ensayo de la monobromación, los problemas asociados a la monobromación de la posición alifática C6 del compuesto *cabeza de serie*  $35\{1,6\}$  siguen pendientes de resolución.

No obstante, la bromación selectiva del residuo aromático ofrece una excelente oportunidad de estudiar las posibilidades de sustitución de esa posición -enunciadas en anteriores apartados- con la gran ventaja que supone la no activación del segundo punto de diversidad y, por ello, sin tener que considerar la selectividad de las reacciones consideradas.

### 2.3.3. Extensión de los resultados

A la vista de los excelentes resultados de la monobromación aromática del compuesto *cabeza de serie*  $35\{7,7\}$  expuestos en el apartado anterior, se plantea la posibilidad de realizar dicha reacción sobre otros sustratos 2-arylaminopirido[2,3-*d*]pirimidínicos  $35\{x,6\}$ .



**Figura 2.40:** Bromación de otros heterobisíclicos.

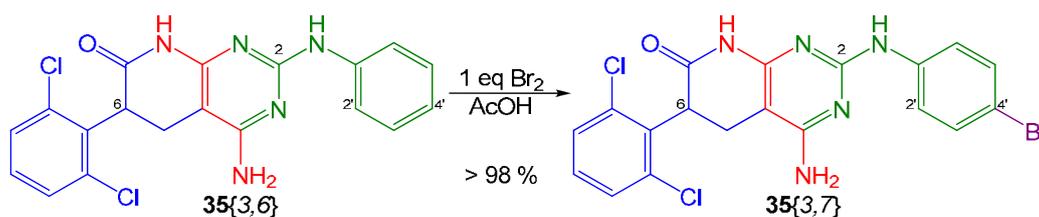
Suponiendo que los residuos en C5 y/o C6 no presenten posiciones bromables, el tratamiento de estos heterobisíclicos con un equivalente de bromo debería rendir selectivamente sus correspondientes bromoderivados  $35\{x,7\}$ . A partir de estos nuevos compuestos debería ser accesible un gran espacio químico mediante las sustituciones del residuo en C4' expuestas en anteriores apartados.

Esta estrategia de derivatización supone un atajo al planteamiento general que se está estudiando en el presente capítulo. No obstante, supone recuperar toda la casuística relacionada con la variabilidad de comportamientos de las reacciones que permiten obtener los heterobisíclicos  $35\{x,6\}$ .

Además, presenta limitaciones en cuanto a la naturaleza de los sustituyentes presentes en el anillo piridónico. Concretamente, todos aquellos heterobiciclos cuyos residuos en C5 y/o C6 sean bromables, presenten reactividad en las condiciones de bromación o consten de un bromo con reactividad similar al que se pretende introducir, no pueden ser derivatizados mediante esta estrategia. Así pues, de manera general, estos sustituyentes deben ser alifáticos o aromáticos con sustituyentes desactivantes capaces de evitar la bromación del anillo mediante sustitución electrófila aromática.

En consecuencia, para explorar mínimamente las posibilidades de sustitución en esas posiciones parece pertinente considerar un caso a priori desfavorable y resolver si la bromación de su correspondiente heterobiciclo **35**{x,6} es selectiva o, como mínimo, preferente sobre la posición aromática 4'.

Considerando las opciones de sustitución más conflictivas parece recomendable ensayar la monobromación con un heterobiciclo como la 4-amino-6-(2,6-diclorofenil)-2-(fenilamino)-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona **35**{3,6} pues su residuo diclorofenil es de gran relevancia bioquímica -tal como ya se ha comentado extensamente en capítulos anteriores- y porque los sustituyentes presentes en su residuo aromático (aceptores inductivos) no permiten descartar inequívocamente que este anillo fenílico pueda ser bromado.



**Figura 2.41:** Bromación selectiva del modelo con sustituyentes en el anillo piridónico.

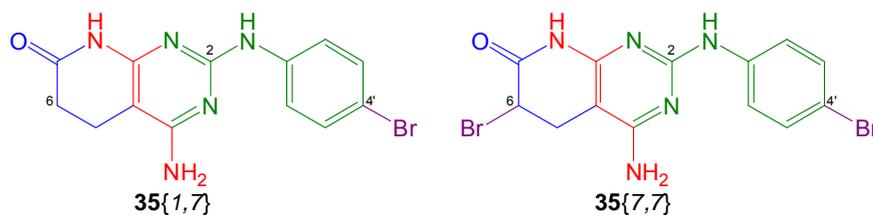
Afortunadamente el proceso transcurre de manera análoga a la monobromación del *cabeza de serie*, es decir, selectivamente y con un gran rendimiento de reacción. De hecho, siguiendo el protocolo establecido en el apartado anterior se obtiene una primera cosecha de **35**{3,7} con pureza analítica y rendimiento del 85,5 %. Además, de las aguas madres es posible recuperar una segunda cosecha de pureza algo menor pero suficiente para abordar procesos posteriores y que representa un rendimiento de reacción adicional del 13,1 %. Por lo tanto, el rendimiento global de obtención del producto se puede considerar cuantitativo (superior al 98 %). Esto implica que los dos cloros presentes en el residuo en C6 ejercen un efecto desactivante suficiente para que la bromación transcurra exclusivamente sobre el residuo aminofenílico en C2.

En conclusión, es posible realizar este tipo de bromación sobre heterobiciclos **35**{x,6} siempre y cuando los sustituyentes en C5 y/o C6 sean compatibles, es decir, alifáticos o aromáticos con sustituyentes que no favorezcan su bromación. Además, este proceso puede ser una alternativa rápida y sencilla para la obtención de heterobiciclos **35**{x,7} sin necesidad de sintetizar la correspondiente guanidina **50**{7} ni de implementar su condensación, procesos que entrañan cierta dificultad, tal como se ha discutido ampliamente en el anterior capítulo.

### 2.3.4. Derivatización del compuesto monobromado 35{1,7}

Tal como se comenta en la introducción del presente capítulo un bromo aromático presenta enormes posibilidades de sustitución mediante reacciones relativamente suaves. De hecho, el residuo de bromo puede ser reemplazado por hidrógeno (Egli, **1968**), hidroxilo (Pickles et al., **1974**), alquilo (Manolikakes et al., **2008**; Wang et al., **2009**), alqueno (Kormos et al., **2008**), alquino (Singh et al., **1989**), arilo (Chanthavong et al., **2006**; Leadbeater et al., **2007**), heteroarilo (Kim et al., **2010**), alquiloxi o ariloxi (Egger et al., **2007**), aminoderivados (Ma et al., **2003**; Zhu et al., **2007**), tioderivados (Migita et al., **1980**; Bowman et al., **1984**), sistemas (pseudo)metilénicos activos (Uno et al., **1984**; Alagille et al., **2005**), cianuro (Ushkov et al., **2011**), etc.

En consecuencia, considerando que la monobromación del compuesto cabeza de serie 35{1,6} es selectiva y que permite obtener el compuesto 4-amino-2-(4-bromofenilamino)-5,6-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona 35{1,7} con muy buen rendimiento, se plantea la posibilidad de estudiar la sustitución del bromo de la posición 4'.



**Figura 2.42:** Heterobiciclos monobromado y dibromado.

La gran ventaja de explorar estas reacciones sobre el producto monobromado es la ausencia del segundo punto de derivatización. Es decir, a pesar de la diferencia de reactividad de ambos residuos, la presencia de solo uno permite centrar la atención en las reacciones de sustitución en sí, sin tener que considerar su potencial selectividad respecto a cada una de las posiciones bromadas.

No obstante, no se pretende ensayar exhaustivamente toda la casuística de reacciones y derivados asequibles si no una pequeña selección más o menos representativa.

Concretamente, para comprobar que es posible emplear satisfactoriamente catalizadores de Pd(0), se estudian un par de ejemplos de reacción de Suzuki. Un resultado positivo demostraría que es implementable sobre la posición 4' toda una pléyade de reacciones que, mediante el uso de estos catalizadores (o equivalentes), permiten introducir sobre dicho punto sustituyentes de muy diversa índole.

Para acabar de completar esta somera exploración de las metodologías aplicables, también se pretende estudiar el comportamiento de reacciones tipo Ullmann -catalizadas por cobre o sales de cobre-, capaces de sustituir el bromo con aminas (primarias o secundarias), alcoholes e, incluso, tioles.

#### 2.3.4.1. Acoplamiento de Suzuki sobre el compuesto monobromado 35{1,7}

Revisando la literatura sobre acoplamiento de Suzuki no se halla ningún ejemplo descrito de sustitución del bromo presente en 4' de estructuras tipo *N*-(4-bromofenil)pirimidin-2-amina. No obstante, al buscar procesos que empleen sustratos de tipo *p*-bromoanilínicos se hallan los trabajos de Leadbeater.

Este autor realiza gran variedad de acoplamiento de Suzuki sobre este tipo de sustratos y además estudia la bondad de implementarlos mediante calefacción asistida por microondas (Leadbeater y Marco, **2003**; Chanthavong y Leadbeater, **2006**; Leadbeater y Schmink, **2007**). Concretamente, el protocolo habitual consiste en calentar a 150 °C durante 5-10 minutos una solución de sustrato bromado disuelto en una mezcla 1:1 de agua y etanol desoxigenada -mediante corriente de nitrógeno- (o sólo agua) en presencia de acetato de paladio (II) (0,1 a 0,4 % molar), una base (3 equivalentes de carbonato sódico o 1 de DBU) y el correspondiente ácido arilborónico (1 ó 1,1 equivalentes). Habitualmente los resultados referidos no son inferiores al 65 % y, por lo tanto, se considera que emplear una metodología similar debería ser un buen punto de partida para ensayar reacciones de este tipo.

Así pues, en base a estas generalidades se ensaya la obtención del bifénilo por reacción de la *p*-bromoanilina con un exceso de 1,5 equivalentes de ácido fenilborónico en presencia de 2,5 equivalentes de carbonato sódico, 0,1 equivalentes de acetato de paladio (II) y calefacción por microondas durante 10 min a 150 °C. Se obtiene el producto deseado con un rendimiento cuantitativo y una pureza analítica.

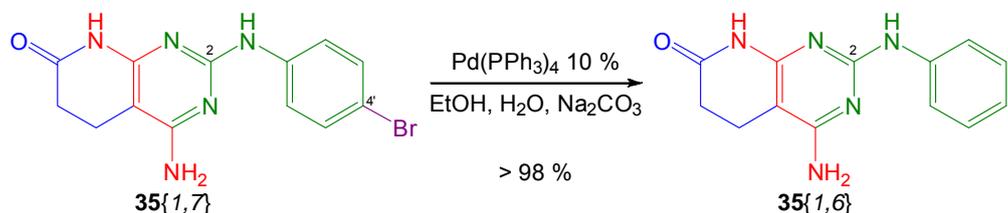
No obstante, al aplicar esta misma metodología sobre el producto monobromado 35{1,7} no se obtiene el correspondiente término de sustitución ni ampliando el tiempo de calefacción ni aumentando la temperatura hasta los 175 °C.

Por consiguiente, se decide sustituir la sal de acetato de paladio (II) empleada como catalizador por tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0). Este cambio se plantea porque la segunda especie de paladio es un catalizador más potente a resultas de su estado de oxidación más favorable a la adición oxidativa necesaria para la evolución de la reacción de acoplamiento de Suzuki que se pretende implantar.

Sin embargo, al repetir la reacción en las mismas condiciones pero con este nuevo catalizador, se obtiene con un rendimiento cuantitativo en tan solo 15 minutos de reacción a 150 °C el producto 35{1,6} extremadamente puro.

Este resultado indica claramente que en estas condiciones de reacción el proceso favorable es la deshalogenación reductiva catalizada por el complejo de paladio(0). Dicho proceso no es para nada novedoso pues existen multitud de ejemplos de esta reducción (Akita et al., **1986**), pero en este caso no es evidente cuál es la fuente de hidrógeno necesaria para la

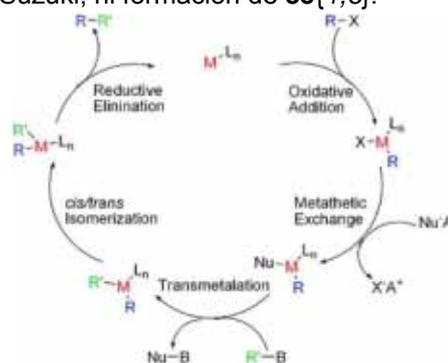
reducción. Pues bien, tras considerar todas las especies químicas presentes en el medio de reacción, la única sustancia capaz de actuar formalmente como dador de hidruro es el etanol empleado como codisolvente de reacción y que, por efecto de la catálisis de paladio, es capaz de oxidarse a acetaldehído y facilitar la deshalogenación de **35**{1,7}. De nuevo, este tipo de procesos ya se hallan descritos en la bibliografía (Chen et al., **2007**) pero en ningún caso se refieren para sustratos similares a este tipo heterobisoclos ni tampoco para *p*-bromoanilinas.



**Figura 2.43:** Deshalogenación catalizada por paladio en solución de etanol y agua.

En consecuencia debe sustituirse la mezcla 1:1 de agua y etanol como disolvente de reacción para minimizar o, en el mejor de los casos, evitar la deshalogenación. A tal efecto se desarrolla la misma metodología empleando 1,4-dioxano desoxigenado sin observarse ninguna evolución: ni formación del término de acoplamiento de Suzuki, ni formación de **35**{1,6}.

Muy probablemente, la falta de reactividad se debe a la pobre solubilidad de la base empleada (carbonato sódico) en el medio de reacción (dioxano). De hecho, se sabe que la evolución del ciclo catalítico de los complejos de Pd(0) requiere de la acción de una base. Concretamente, este tipo de reactivos facilitan el ataque nucleófilo durante el intercambio metatético -incluso pueden ser el propio nucleófilo (ej. NaOMe)-, que es la etapa previa a la transmetalación, proceso clave de la acción catalítica del Pd(0).



**Figura 2.44:** Ciclo catalítico de las reacciones con complejos de Pd(0).

(<http://www.organic-chemistry.org>)

Ante esta falta de reactividad asociada a la combinación de la base y del disolvente se plantean tres alternativas:

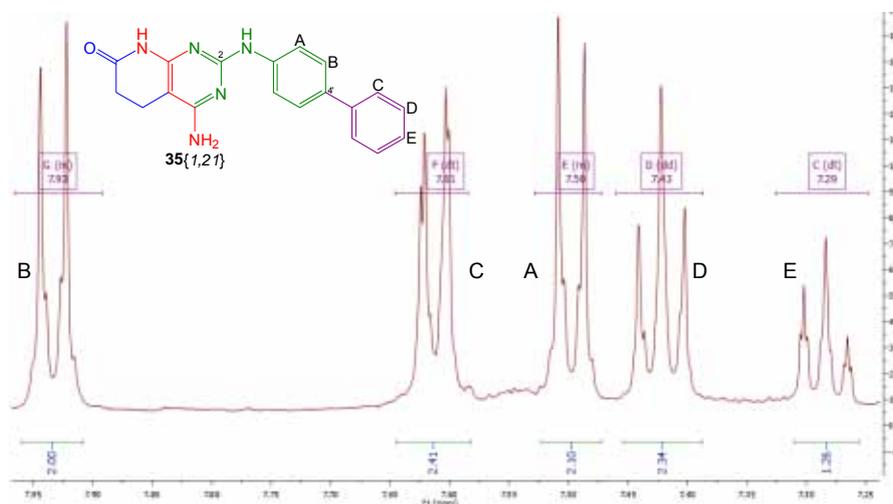
- sustituir el carbonato sódico por una base más soluble en medios orgánicos como, por ejemplo, carbonato de cesio o, incluso, metóxido o etóxido sódico
- sustituir el disolvente de reacción por algún otro en el que la base empleada (e incluso el heterobisoclo **35**{1,7}) sea soluble, por ejemplo, DMF
- añadir agua al dioxano para aumentar la solubilidad del carbonato sódico.

Tomando en consideración estas alternativas, se decide ensayar el acoplamiento de Suzuki de **35**{1,7} cambiando la base por carbonato de cesio y facilitando su solubilidad mediante el uso de una mezcla de dioxano con cierta cantidad de agua.

Así pues, se implementa el siguiente protocolo:

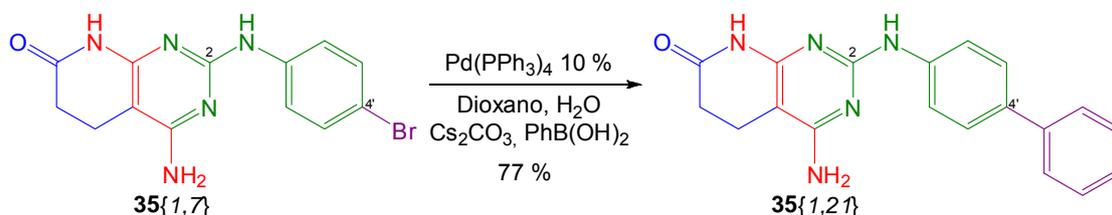
- calefacción a 150 °C durante 15 minutos mediante irradiación de microondas
- catálisis del 10 % molar de tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)
- 2,5 equivalentes de carbonato césico
- 1,4 equivalentes de ácido fenilborónico
- mezcla desoxigenada de dioxano y agua 5:1 como disolvente de reacción.

En estas condiciones se logra obtener un nuevo heterobicyclo que no se corresponde con el producto de partida monobromado **35**{1,7}, ni con el término de deshalogenación **35**{1,6}. Por el contrario, el espectro de <sup>1</sup>H-RMN de este nuevo producto muestra señales atribuibles a protones aromáticos que indican la presencia un anillo aromático *p*-sustituido y un anillo aromático monosustituido.



**Figura 2.45:** Señales de los protones aromáticos del <sup>1</sup>H-RMN de la bifenilaminopiridopirimidina.

Este perfil de señales indica la presencia de un sustituyente de tipo bifenílico atribuible, sin duda, al heterobicyclo **35**{1,21} y que corresponde al término de acoplamiento de Suzuki del producto monobromado **35**{1,7} con ácido fenilborónico. Por lo tanto, se puede afirmar que la metodología referida permite la obtención de la 2-bifenilaminopiridopirimidina **35**{1,21} -producto altamente fluorescente- con un rendimiento del 76,7 %.



**Figura 2.46:** Conversión del derivado monobromado en la 2-bifenilaminopiridopirimidina.

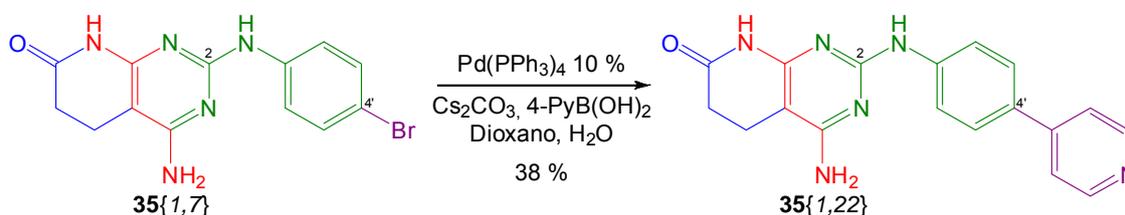
No obstante, por CCF -eluída con AcOEt- también se aprecia la formación de gran cantidad de bifenilo (Rf de 0,68). Esta observación indica cierta tendencia al homoacoplamiento del ácido fenilborónico en las condiciones de reacción ensayadas y, por lo tanto, hace suponer que la competencia por ese reactivo pueda entrañar cierta disminución del rendimiento de

reacción para el heteroacoplamiento que sí rinde el producto de interés **35**{1,21}. Posibles causas de este proceso secundario no deseado son el exceso de 1,4 equivalentes de ácido borónico, la presencia de oxígeno en el medio de reacción y, también, una calefacción demasiado agresiva.

Así pues, para minimizar este proceso competente se reducen los equivalentes de ácido fenilborónico a 1,1, se reduce también la temperatura de reacción a 140 °C y se desoxigena el disolvente de reacción (mezcla 5:1 de dioxano agua) mediante corriente de nitrógeno y ciclos de congelación y vacío. Sin embargo, la mejora de rendimiento del producto bifenílico **35**{1,21} es apenas perceptible (77,6 %) aunque no se detecte prácticamente la formación de bifenilo.

Por último, para comprobar que el acoplamiento de Suzuki del derivado monobromado del compuesto *cabeza de serie* **35**{1,7} es mínimamente generalizable y que también lo es la metodología empleada, se implementa la correspondiente reacción empleando ácido piridin-4-ilborónico:

- calefacción a 140 °C durante 15 minutos mediante calefacción de microondas
- catálisis del 10 % molar de tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)
- 2,5 equivalentes de carbonato césico
- 1,1 equivalentes de ácido arilborónico
- mezcla desoxigenada de dioxano y agua 5:1 como disolvente de reacción.



**Figura 2.47:** Comprobación de la posibilidad de acoplamientos de Suzuki con otro ejemplo.

Afortunadamente, se verifica que, a pesar de un rendimiento de reacción significativamente menor (38,1 %), es posible realizar el acoplamiento de Suzuki con otros derivados de ácido borónico.

En conclusión, se verifica que los acoplamientos de tipo Suzuki sobre la posición 4' del derivado monobromado **35**{1,7} son generalizables.

Por consiguiente, puede asumirse que todas aquellas reacciones con catalizadores de Pd(0) que sean implementables sobre el bromo aromático en 4' pueden ser afrontadas con probabilidades de éxito elevadas. En consecuencia, el uso de estos catalizadores (o equivalentes), debería permitir sustituir este bromo por sustituyentes de muy diversa índole.

### 2.3.4.2. Acoplamiento de Ullmann sobre el compuesto monobromado 35{1,7}

Revisando la literatura sobre la sustitución del bromo presente en 4' de estructuras tipo *N*-(4-bromofenil)pirimidin-2-amina por sustituyentes de tipo amina, alcohol o tiol no se halla ningún ejemplo descrito de acoplamiento de Ullmann -catalizados por sales de cobre- pero sí de Buchwald-Hartwig -catalizados por complejos de Pd(0)-.

Por el contrario, la literatura referente a la sustitución de sustratos de tipo *p*-bromoanilínicos es mucho más abundante e incluye diversos trabajos que emplean tanto catálisis de sales de cobre como de complejos de Pd(0). No obstante, desgraciadamente son más abundantes las referencias que emplean esta última catálisis y pocos ejemplos existen de sustituciones que empleen la primera, a excepción de aquellos trabajos en los que las aminas empleadas son imidazoles, benzimidazoles, pirroles, pirazoles, indoles, triazoles, etc. (Zhu et al., 2007).

Aún y con todo, se halla el trabajo de Ma y colaboradores (Ma et al., 2003) en el que se describe la sustitución de tipo Ullmann de sustratos *p*-bromoanilínicos y *p*-iodoanilínicos en presencia de ioduro de cobre (I) y *L*-prolina como ligante, temperaturas de reacción entre 40 °C y 90 °C, tiempos de reacción entre las 10 h y las 36 h con rendimientos habituales mayores del 60 %.

Así pues, tomando en consideración los resultados e indicaciones del trabajo de Ma y colaboradores, se decide ensayar la sustitución del bromo presente en 4' del heterociclo monobromado 35{1,7} adaptando las proporciones de reactivos referidas por sus autores para maximizar el proceso que se pretende lograr. En la siguiente tabla se refieren las proporciones propuestas por dichos autores y las primeras ensayadas en el presente trabajo, todas ellas referidas a la cantidad de sustrato bromado.

	Ma et al., 2003	Condiciones ensayadas
Equivalentes amina	1,5	2
Equivalentes base	2, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	2, Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Equivalentes CuI	0,05	0,5
Equivalentes <i>L</i> -prolina	0,1	1

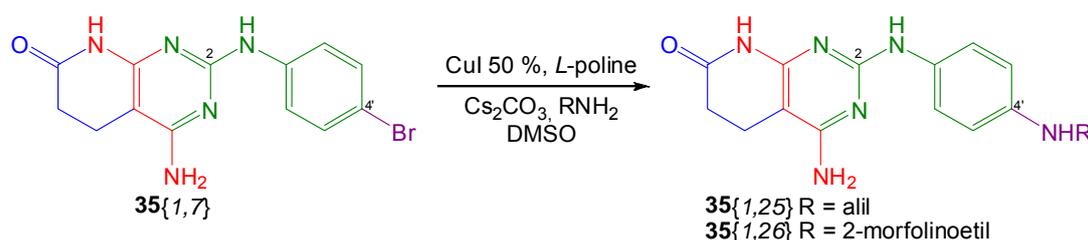
**Tabla 2.12:** Comparación entre las proporciones de reactivos bibliográficas y ensayadas.

Fundamentalmente, los cambios implementados son los siguientes:

- se aumenta diez veces la cantidad de cobre para maximizar su efecto catalítico y, en consecuencia, también se aumenta diez veces la proporción de *L*-prolina para mantener constante la proporción entre ambos
- se aumentan los equivalentes de amina de 1,5 a 2 para facilitar su ataque nucleófilo
- se mantiene la proporción de base pero se sustituye por carbonato de cesio, lo que al fin y al cabo, considerando que éste es más soluble en medios orgánicos, resulta equivalente a aumentar su proporción.

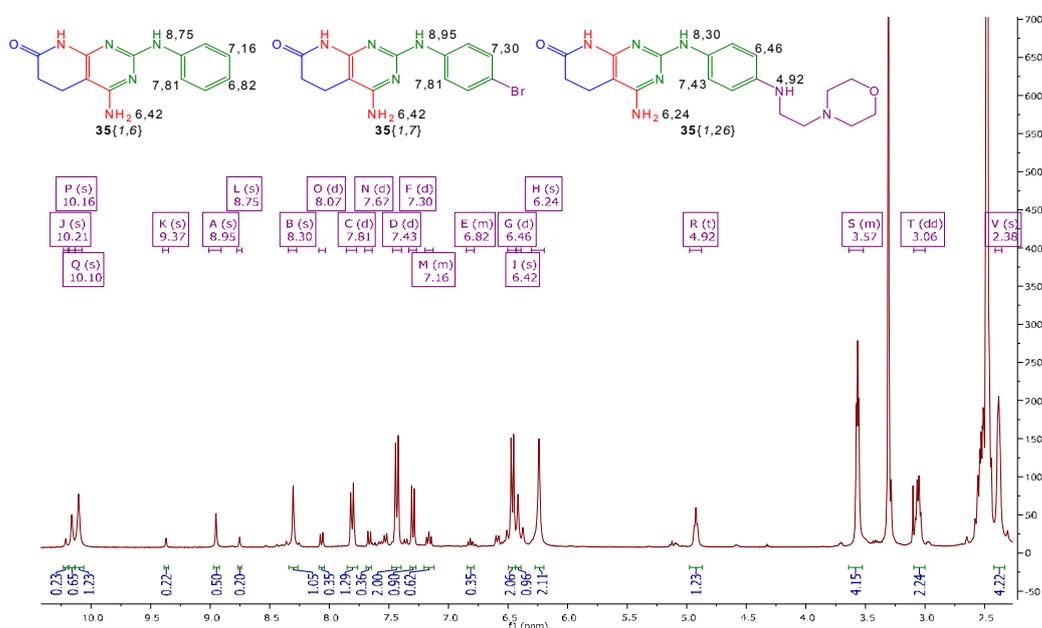
En cuanto a la temperatura y tiempo de reacción, cabe comentar que -considerando el rango de temperaturas referido por los autores (40 °C hasta 90 °C)- se decide trabajar en un valor intermedio 70 °C. Por el contrario, para asegurar que la reacción pueda evolucionar significativamente -a pesar de transcurrir en unas condiciones térmicas suaves- el tiempo de reacción se extiende más allá del valor máximo citado por los autores: de las 36 h (1,5 días) hasta los 3,5 días (84 h).

Por último, aunque los autores citados afirman que la reacción evoluciona favorablemente con aminas tanto alifáticas como aromáticas -ya sean primarias o secundarias-, se decide ensayar este acoplamiento únicamente con las más favorecidas, es decir, con aminas alifáticas primarias. En este sentido, se toman como modelo la alilamina y la 2-morfolinoetanamina para obtener los correspondientes heterobisoclos aminados  $35\{1,y\}$ .



**Figura 2.48:** Acoplamientos de Ullmann ensayados.

Para ambas aminas, en las citadas condiciones se obtiene una mezcla de productos heterocíclicos  $35\{1,y\}$  en la que se identifica mediante  $^1\text{H-RMN}$  la presencia del término de condensación de Ullmann como producto mayoritario. No obstante, también se aprecia la presencia de otros productos resultantes de procesos secundarios que cabe comentar.



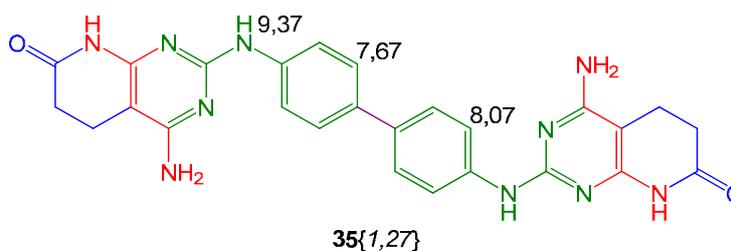
**Figura 2.49:**  $^1\text{H-RMN}$  correspondiente al primer ensayo de acoplamiento de Ullmann.

Para ilustrar estas reacciones no deseadas, en la anterior figura se muestra el  $^1\text{H-RMN}$  correspondiente a la mezcla de productos obtenida al ensayar la sustitución del átomo de

bromo por 2-morfolinoetanamina. Así mismo, también se muestran las previsiones de  $^1\text{H-RMN}$  de los principales heterobisoclos hallados en dicha mezcla.

Concretamente, en el espectro se pueden identificar claramente tres especies piridopirimidínicas mediante algunas señales específicas: el término de acoplamiento de Ullmann **35**{1,26} -tripleto a 4,92 ppm correspondiente al NH aromático en 4' y señales aromáticas típicas de anillos *p*-disustituídos a 6,46 y 7,43 ppm-, el heterobisoclo monobromado **35**{1,7} -perfil de señales aromáticas típico de anillos *p*-disustituídos a 7,30 y 7,81 ppm- y el término de desbromación **35**{1,6} -perfil de señales aromáticas típico de anillos monosustituídos a 6,82, 7,16 y 7,81 ppm-. La proporción de las dos últimas especies respecto al término aminosustituído es de 1:2 para **35**{1,7} y 1:3,5 para **35**{1,6}.

Pero además de estas especies, las señales aromáticas a 7,67 y 8,07 ppm y la señal del protón NH en C2 a 9,37 ppm sugieren la presencia de otro producto de alta conjugación con el anillo aromático *p*-disustituído y en una proporción alrededor del 1:5 respecto el término aminado **35**{1,26}. Este producto podría ser identificado como el término bifenílico **35**{1,27} resultante del homoacoplamiento de Ullmann.



**Figura 2.50:** Piridopirimidina resultante del homoacoplamiento de Ullmann.

Resumiendo, de este primer ensayo se puede deducir que en estas condiciones la reacción de heteroacoplamiento con la amina es el proceso mayoritario pero que no es del todo completo -pues resta reactivo monobromado **35**{1,7} sin reaccionar-, ni selectivo -pues se dan procesos secundarios de deshalogenación y de homoacoplamiento-.

En consecuencia, para favorecer la formación del término de heteroacoplamiento parece pertinente aumentar la cantidad de amina e incrementar con ello la probabilidad de que actúe como nucleófilo. De este modo debería minimizarse el proceso homoacoplamiento y observarse una drástica reducción de la cantidad de **35**{1,7} sin reaccionar.

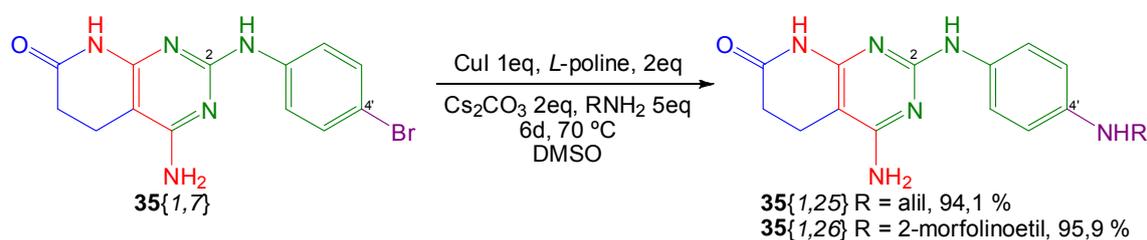
Respecto al proceso de deshalogenación, aumentar la probabilidad del heteroacoplamiento debería minimizar la primera reacción mediante un mecanismo de competencia por el heterobisoclo monobromado. No obstante, no es posible asegurar que esta competencia sea capaz de erradicar la sustitución del bromo por hidrógeno pues este proceso está favorecido por el exceso de *L*-prolina, que puede actuar como agente reductor en presencia de especies de cobre (III) como las que se forman durante el ciclo catalítico del metal (Hiremath et al., 2004). Por lo tanto, otras alternativas que pudieran ensayarse para minimizar esta deshalogenación serían la reducción de los equivalentes de *L*-prolina por equivalente de

sal de cobre (I) o, incluso, la sustitución del ligando por algún otro no susceptible de ser oxidado.

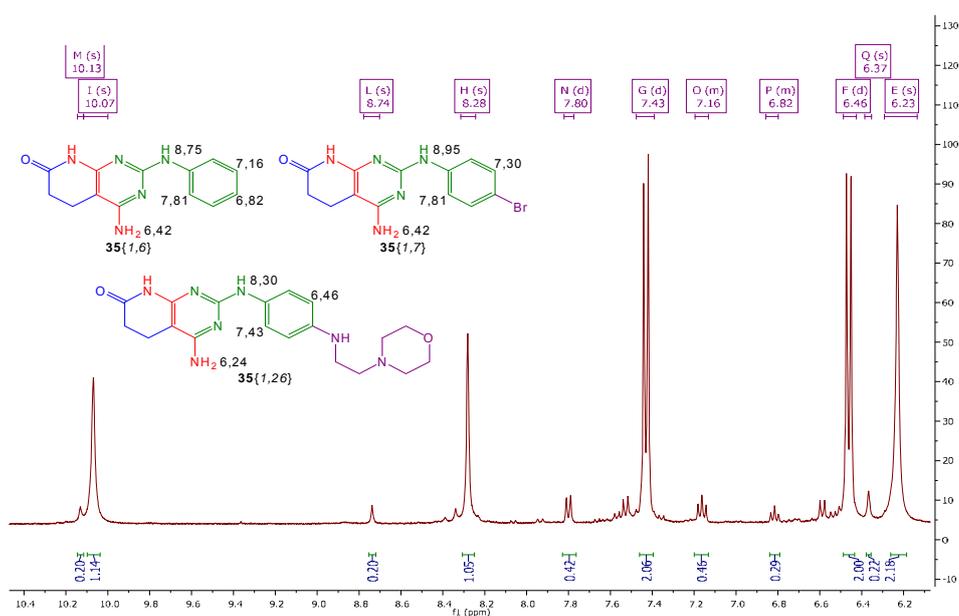
A la luz de estas consideraciones se decide ensayar de nuevo la sustitución del bromo por sendas aminas empleando 5 equivalentes de cada nucleófilo por equivalente del derivado monobromado **35**{1,7}. Adicionalmente, se aumenta el tiempo de reacción hasta los seis días -manteniendo la temperatura del proceso a 70 °C- para asegurar el total consumo de este heterobiciclo.

En este mismo sentido, se duplica la cantidad de ioduro de cobre (I) hasta 1 equivalente por cada equivalente del derivado monobromado **35**{1,7} y, en consecuencia, se emplean 2 equivalentes de *L*-prolina como ligando del metal aún a riesgo de favorecer el proceso de desbromación.

Afortunadamente, en estas condiciones de reacción se obtienen mucho más selectivamente los términos de heteroacoplamiento de Ullmann. Estos productos se obtienen en forma de sólidos oscuros, color que indica la presencia de impurezas de óxidos de cobre. En consecuencia, los heterobiciclos 4'-aminados pueden ser purificados mediante uno o varios ciclos de disgregación mecánica y tratamiento con ultrasonidos en dispersión de amoníaco acuoso concentrado. Así pues, tras lograr solubilizar los restos del catalizador de cobre, se obtienen los productos **35**{1,25} y **35**{1,26} en forma de sólidos blancuzcos o ligeramente marrones con un rendimiento del 94,1 % y del 95,9 %, respectivamente.



**Figura 2.51:** Acoplamientos de Ullmann logrados.



**Figura 2.52:** Fragmento del <sup>1</sup>H-RMN de **35**{1,26} sintetizado en las nuevas condiciones.

En la figura anterior se muestra la región aromática del espectro de  $^1\text{H-RMN}$  del producto **35**{1,26} obtenido en las nuevas condiciones de reacción para dar cierta idea sobre la mejora de selectividad.

Por un lado, se puede apreciar la total ausencia de señales atribuibles al producto de partida monobromado **35**{1,7}, más significativamente los dobletes a 7,30 ppm y 7,81 ppm. De este hecho se puede deducir que tanto el aumento del tiempo de reacción como el exceso de amina contribuyen decididamente a favorecer la sustitución del bromo aromático por la correspondiente amina.

Por otro lado, la práctica ausencia de las señales a 7,67 ppm y 8,07 ppm indica que la formación del término de homoacoplamiento no se halla nada favorecida a consecuencia del exceso de amina 5:1 empleado en este ensayo.

Por último, se puede observar todavía la formación del término de desbromación **35**{1,6} gracias a sus señales características: multipletes a 6,82 ppm y 7,16 ppm, y doblete a 7,81 ppm. No obstante, la proporción de este producto respecto del término aminado **35**{1,26} ha disminuido perceptiblemente -de 1:3,5 a 1:5, aproximadamente-, lo que indica que favorecer la sustitución nucleófila permite limitar efectivamente la reacción de deshalogenación gracias a la competencia por el heterobiciclo de partida **35**{1,7}.

A tenor de los resultados obtenidos en estos dos ensayos de acoplamiento de Ullmann parece que aún resta por minimizar la formación del término de desbromación. En este sentido, la estrategia de aumentar el exceso de amina -muy adecuada para favorecer el heteroacoplamiento y para maximizar la conversión del derivado monobromado **35**{1,7} en sus correspondientes aminoderivados- permite reducir la formación del heterobiciclo deshalogenado pero de manera poco efectiva. De hecho, el principal contratiempo de esta estrategia es el sobrecoste que supone emplear un exceso ingente de amina, lo que puede ser inviable si ésta no es comercial o de difícil obtención.

Por lo tanto, con vistas a reducir a la mínima expresión la formación del término de desbromación no parece conveniente trabajar sobre el exceso de amina sino modificar otras condiciones de reacción como, por ejemplo, la temperatura del proceso, el tiempo de reacción, la cantidad de catalizador y de *L*-prolina, el disolvente, etc.

En primer lugar, se considera la reducción del tiempo de reacción. Así pues, con el objetivo de lograr un mismo grado de conversión con menos de seis días de calefacción a 70 °C, se mantienen las proporciones de reactivos y se aumenta la temperatura de reacción.

En consecuencia, se realizan sendas pruebas de calefacción asistida por microondas a 140 °C en vial sellado durante 10 minutos y 30 minutos. En ambos casos también se obtienen mezclas del término de desbromación y de aminosustitución (proporciones entre 1:2 y 1:3),

pero la mayor proporción del primer producto parece sugerir que un nivel térmico demasiado elevado favorece la sustitución del bromo por hidrógeno.

Al disminuir el nivel térmico hasta los 80 °C (por calefacción tradicional o microondas), a las 24 h se aprecia la formación de menor proporción (1:4) del producto desbromado **35{1,6}** pero aún resta por reaccionar aproximadamente un 35 % de **35{1,7}**. Si se alarga el tiempo de reacción hasta las 48 h, también se aprecia la formación de 1:4 del término de desbromación, pero la cantidad del producto de partida sin reaccionar disminuye hasta más o menos el 15 %.

Considerando globalmente los anteriores resultados, parece que el nivel térmico en el que se desarrolla la reacción determina decisivamente el grado de desbromación del sustrato, siempre y cuando se mantengan constantes los excesos de amina (5 equivalentes), de catalizador de cobre (1 equivalente) y de ligando (2 equivalentes). Por lo tanto, se decide ensayar este mismo proceso pero explorando temperaturas inferiores a los 70 °C.

Concretamente, a 50 °C tras 10 días de reacción no se observa la formación del término de desbromación **35{1,6}**, pero resta por reaccionar aproximadamente el 27 % del sustrato **35{1,7}**. Así mismo, a 60 °C tras 10 días de reacción se forma mínimamente **35{1,6}** (1:8), pero resta aún el 13 % del sustrato monobromado sin reaccionar.

Al analizar globalmente los resultados de todos estos experimentos parece que la temperatura original de 70 °C no es una mala opción, pues en el tiempo de reacción ensayado (6 días) se logra una conversión completa del heterobiciclo de partida **35{1,7}** y una formación del término de desbromación relativamente baja (1:5 de **35{1,25}** y **35{1,26}** frente **35{1,6}**). No obstante, restaría por averiguar si es posible reducir el tiempo de calefacción manteniendo idénticos resultados.

Por otro lado, tal como se ha comentado anteriormente, se sabe que la *L*-prolina es capaz de actuar como reductor en las condiciones de reacción implementadas (Hiremath et al., 2004). Por consiguiente, la presencia en el medio de reacción de un exceso de dos equivalentes de *L*-prolina como ligando del cobre puede que sea determinante a la hora de justificar la prevalencia de la desbromación cualesquiera que sean las condiciones de reacción implementadas.

Para averiguar la influencia de la proporción de este aminoácido sobre la formación del subproducto **35{1,6}**, se implementa de nuevo el acoplamiento de Ullmann empleando 5 equivalentes de amina pero reduciendo la cantidad de ioduro de cobre (I) a 0,6 equivalentes y, en consecuencia, la de *L*-prolina a 1,2 equivalentes. Desgraciadamente, tras 48 h de reacción a 70 °C se observa que la proporción de **35{1,6}** es de alrededor del 1:4,5 respecto el término aminado, lo que supone un incremento apenas perceptible respecto a la proporción 1:5 observada en 6 días a 70 °C con 1 equivalente de ioduro de cobre (I). Por el contrario, la buena noticia es que en estas condiciones se observa que el heterobiciclo monobromado **35{1,7}** de partida se consume totalmente.

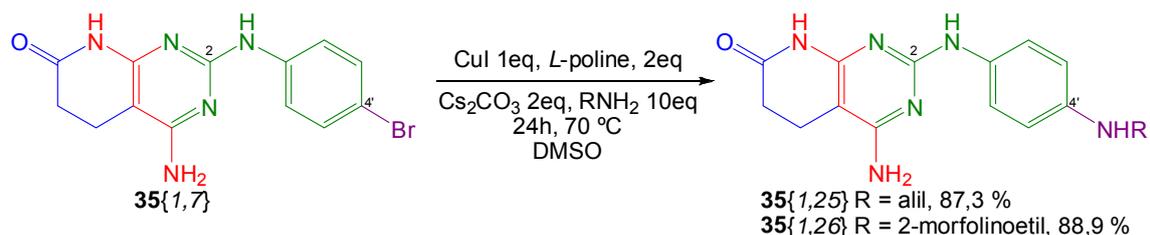
Las conclusiones que se pueden extraer de los resultados obtenidos en el anterior ensayo son las siguientes:

- la variación implementada en la proporción de *L*-prolina apenas tiene efecto sobre la proporción del término de desbromación que se obtiene
- la reducción del tiempo de reacción desde los seis días hasta las 48 h -manteniendo la temperatura de reacción en 70 °C- no repercute negativamente sobre el grado de conversión, que sigue siendo completa a pesar de haber reducido también los equivalentes de catalizador

Según estos resultados parece conveniente explorar tiempos de reacción menores a las 48 h, pero para asegurar una conversión adecuada se mantiene la cantidad de catalizador en un equivalente de ioduro de cobre (I) y dos equivalentes de *L*-prolina. Además, puesto que cualquier otra estrategia resulta absolutamente irrelevante, también se incrementan los equivalentes de las respectivas aminas por cada equivalente de heterobisoclo monobromado hasta diez.

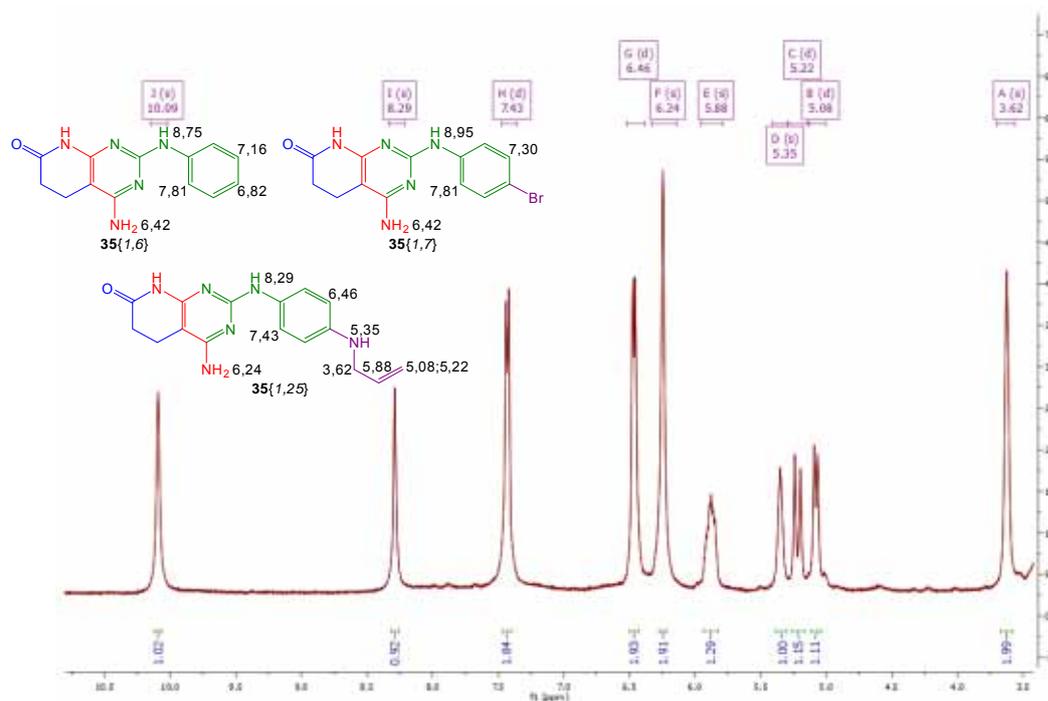
Así pues, se ensaya el acoplamiento de Ullmann con estos excesos de reactivos durante 24 horas a 70 °C y, afortunadamente, se aprecia la completa transformación del producto **35**{1,7} en los correspondientes términos aminados **35**{1,25} y **35**{1,26} con gran selectividad.

Además tras lavar ambos sólidos mediante uno o varios ciclos de disgregación mecánica y tratamiento con ultrasonidos en dispersión de amoníaco acuoso concentrado se solubilizan los restos del catalizador de cobre y se obtienen los productos **35**{1,25} y **35**{1,26} -en forma de sólidos blancuzcos o ligeramente marrones de elevada pureza- con un rendimiento del 87,3 % y del 88,9 %, respectivamente.



**Figura 2.53:** Acoplamientos de Ullmann logrados.

Para ilustrar esta mejora de la conversión, la siguiente figura muestra el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del producto **35**{1,25} (2-(4-(alilamino)fenilamino)-pirido[2,3-*d*]pirimidina) obtenido en las condiciones referidas. Concretamente, si se observa más detenidamente la región aromática de este espectro, claramente se puede percibir la ausencia de señales atribuibles tanto al producto de partida monobromado **35**{1,7}, como al término de desbromación **35**{1,6}.



**Figura 2.54:** Fragmento del  $^1\text{H-RMN}$  de  $35\{1,25\}$  sintetizado en las condiciones definitivas.

A tenor de estos resultados, se puede afirmar que aumentar los equivalentes de amina es la única estrategia válida para suprimir los procesos secundarios de heteroacoplamiento y de desbromación, al mismo tiempo que se logran buenas conversiones en tiempos de reacción razonables.

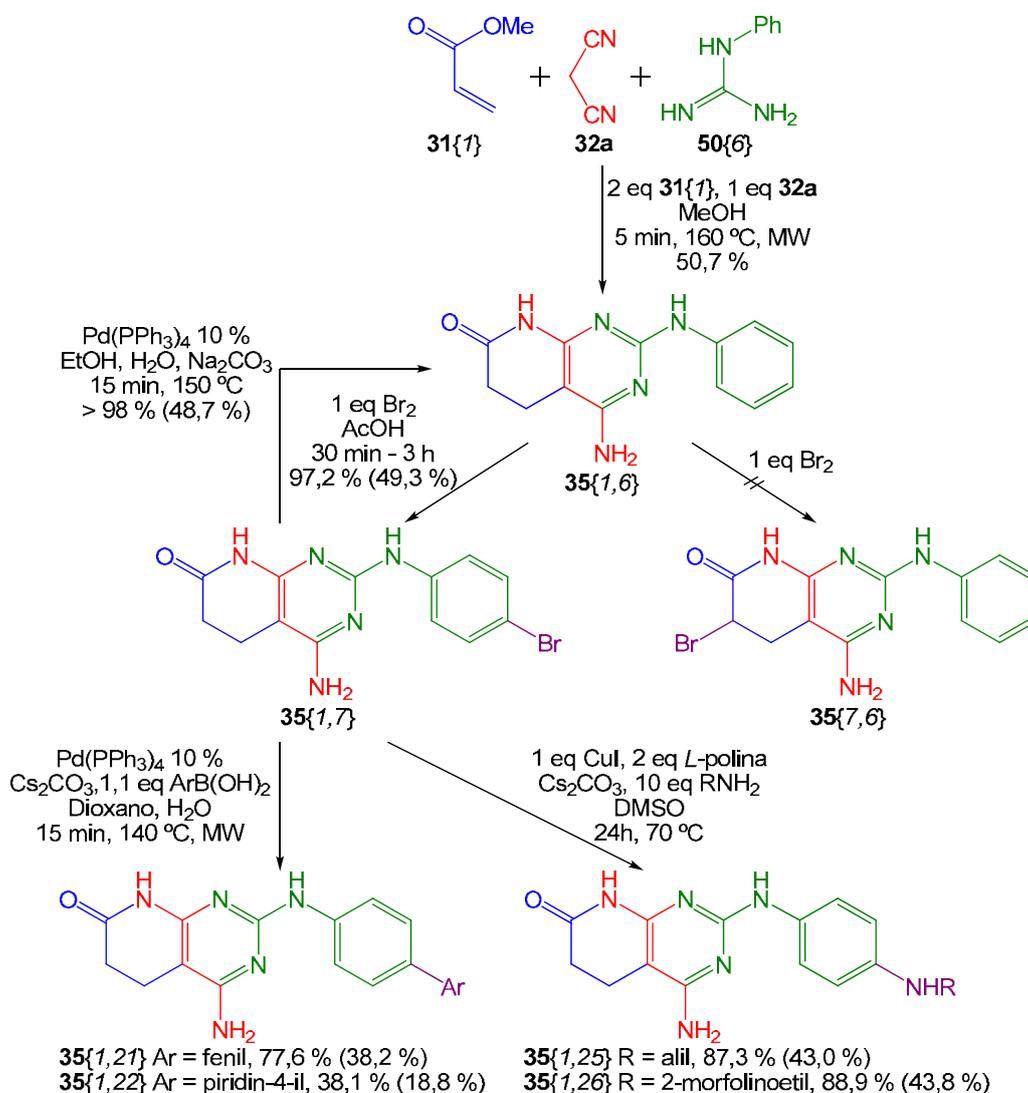
No obstante, cabe realizar la siguiente reflexión: esta estrategia se puede implementar sin más cuando se utilicen aminas comerciales relativamente económicas -como las empleadas en el presente trabajo- o con aminas de obtención sencilla. Pero en caso de que no sea así, puede que no sea asumible el sobrecoste de emplear diez equivalentes de amina.

En conclusión, se verifica que es posible realizar de manera general acoplamientos de tipo Ullmann sobre la posición 4' del derivado monobromado  $35\{1,7\}$ .

Por consiguiente, puede asumirse que todas aquellas reacciones con catalizadores de cobre que sean implementables sobre el bromo aromático en 4' pueden ser afrontadas con probabilidades de éxito elevadas. En consecuencia, el uso de estos catalizadores (o equivalentes), debería permitir sustituir este bromo por aminas (primarias o secundarias), alcoholes o, incluso, tioles.

### 2.3.5. La monobromación del cabeza de serie y sus sustituciones

A continuación se resume de manera gráfica la reactividad ensayada en este apartado. Así mismo, también se muestran los rendimientos de cada uno de los procesos implementados y los rendimientos globales acumulados desde la etapa de construcción del esqueleto heterocíclico.



**Figura 2.55:** Monobromación del cabeza de serie y sus sustituciones ensayadas. Entre paréntesis se indican los rendimientos globales.

Aunque el objetivo del proceso de monobromación del compuesto **35{1,6}** era el término de halogenación en  $\alpha$  de carbonilo **35{7,6}**, las previsiones realizadas en este sentido han sido refutadas por la evidencia experimental de que el punto más reactivo es el anillo aromático. En este sentido, se ha comprobado que la obtención del compuesto **35{1,7}** transcurre de manera muy favorable y totalmente selectiva en presencia de un equivalente de bromo en solución de ácido acético.

Tal como se ha comentado en la introducción del presente capítulo, este bromo aromático presenta enormes posibilidades de sustitución mediante reacciones relativamente suaves. Por

el contrario, el bromo del compuesto **35**{7,6} debería presentar menor versatilidad y unas condiciones de reactividad sensiblemente más duras. Por lo tanto, previsiblemente se espera cierta selectividad de las sustituciones de ambos bromos, siendo más sencilla la del bromo aromático.

De hecho, según la bibliografía, los residuos de bromo aromáticos pueden ser reemplazados por hidrógeno (Egli, **1968**), hidroxilo (Pickles et al., **1974**), alquilo (Manolikakes et al., **2008**; Wang et al., **2009**), alquenilo (Kormos et al., **2008**), alquinilo (Singh et al., **1989**), arilo (Chanthavong et al., **2006**; Leadbeater et al., **2007**), heteroarilo (Kim et al., **2010**), alquiloxi o ariloxi (Egger et al., **2007**), aminoderivados (Ma et al., **2003**; Zhu et al., **2007**), tioderivados (Migita et al., **1980**; Bowman et al., **1984**), sistemas (pseudo)metilénicos activos (Uno et al., **1984**; Alagille et al., **2005**), cianuro (Ushkov et al., **2011**), etc.

Ahora bien, no se han explorado exhaustivamente todas estas posibilidades si no que se ha realizado una pequeña selección significativa: sólo se han ensayado reacciones catalizadas por paladio(0) y por cobre(I), que permiten acceder a buena parte del espacio químico considerado.

Concretamente, mediante acoplamientos de Suzuki se ha logrado reemplazar con éxito el bromo por sustituyentes aromáticos. Si bien los dos ejemplos implementados muestran rendimientos ciertamente dispares, que sin duda son atribuibles a la muy distinta naturaleza química de ambos sustituyentes introducidos, los resultados hacen plausible afrontar con garantías de éxito acoplamientos organometálicos similares.

Además, ensayando esta última sustitución se ha hallado una metodología capaz de deshalogenar el producto **35**{1,7} y revertir el compuesto cabeza de serie **35**{1,6} mediante el uso de un catalizador de paladio(0) y etanol como agente reductor. Si bien en este punto no es una reacción nada útil, suponiendo que sea lo suficientemente selectiva, pudiera ser interesante emplearla sobre el término de dibromación o alguno de sus derivados.

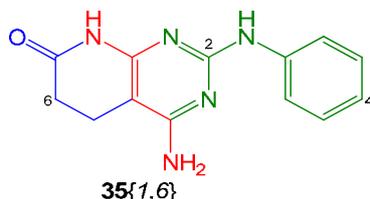
Por último, se ha reemplazado el bromo aromático por sendas aminas alifáticas primarias mediante un heteroacoplamiento de Ullmann asistido por yoduro de cobre(I). Los rendimientos referidos para este proceso resultan muy prometedores y, a pesar de que no se ha ensayado este proceso con aminas más impedidas o menos nucleófilas, parece razonable suponer que esta metodología sería también válida para afrontar estas sustituciones o, incluso, aquellas que emplearan alcoholes y tioles como nucleófilos.

En conclusión, se ha estudiado la monobromación del *cabeza de serie* y, a pesar de no obtenerse el compuesto esperado, esto ha hecho posible explorar cualitativamente las posibilidades de sustitución de la posición aromática. Las reacciones ensayadas deberían ser selectivas de la posición aromática pues la alifática es bastante menos reactiva.

## 2.4. Dibromación del compuesto cabeza de serie 35{1,6}

### 2.4.1. Antecedentes

A tenor de la estrategia de derivatización ampliamente discutida anteriormente en el presente capítulo, el compuesto *cabeza de serie* 35{1,6} debe activarse para su sustitución mediante la introducción de dos átomos de bromo en las posiciones:  $\alpha$  de carbonilo en el carbono C6 y 4' en el residuo fenilamino del carbono C2.

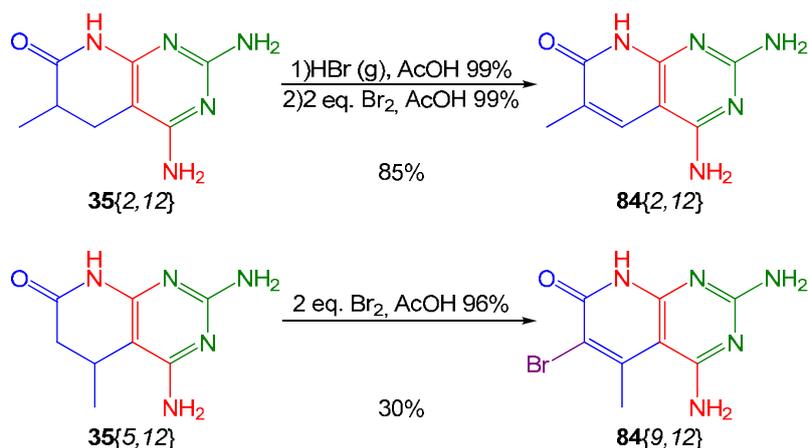


**Figura 2.56:** Posiciones del cabeza de serie cuya bromación se pretende lograr.

La introducción de ambos átomos de bromo puede plantearse mediante una estrategia simultánea o secuencial.

De hecho, la estrategia simultánea implicaría que el sistema heterobiccíclico 35{1,6} debería ser tratado con dos o más equivalentes de bromo como agente bromante. Desgraciadamente, la experiencia acumulada por el Laboratorio de Síntesis del IQS desaconseja ensayar la bromación simultánea.

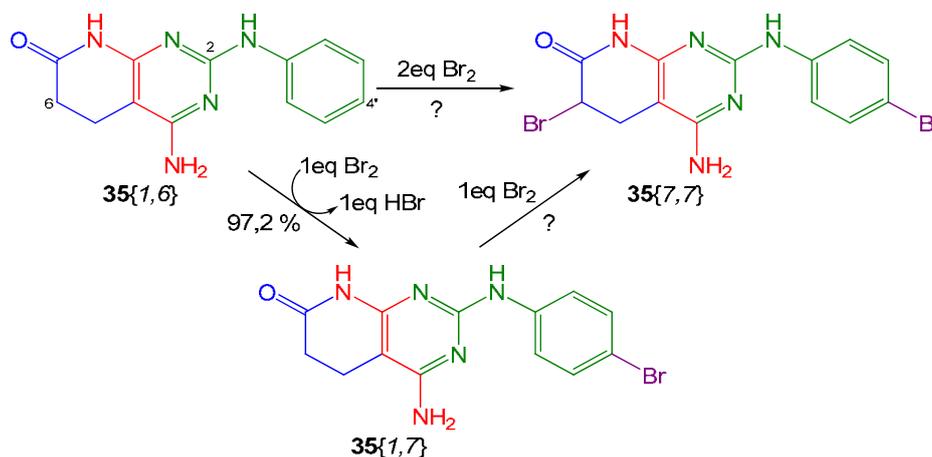
Brevemente, al tratar sistemas 2-aminopirido[2,3-*d*]pirimidínicos con más de un equivalente de bromo se induce la formación de un doble enlace en  $\alpha$  de carbonilo mediante un proceso de deshidrobromación favorecido por la posibilidad de conjugación en el sistema resultante 84{x,y} (Victory et al., 1989).



**Figura 2.57:** Algunas de las bromaciones de heterobicciclos estudiadas anteriormente.

No obstante, sí que cabe destacar que existen diferencias muy significativas tanto en las condiciones de reacción como en los rendimientos de bromación según la presencia de sustituyentes en  $\alpha$  o  $\beta$  de carbonilo del anillo piridónico, siendo más desfavorable este último caso. Los autores refieren como causa más probable de estas diferencias la posición relativa de los respectivos sustituyentes pero no llegan a detallar el mecanismo de esta influencia.

Estas divergencias de comportamiento resultan especialmente relevantes para el presente estudio, pues en el caso del heterobiciclo **35**{1,6} no existe ningún sustituyente en cualesquiera de las dos posiciones. Por lo tanto, no son previsible ni las condiciones de reacción ni el curso que tomaría la bromación del compuesto *cabeza de serie* en presencia de dos o más equivalentes de bromo. Contrariamente, sí que es previsible que ocurra esta deshidrobromación -pues ocurre en ambos casos- o, incluso, que se obtenga una mezcla de productos en estas mismas condiciones.



**Figura 2.58:** Dibromación secuencial o simultánea del *cabeza de serie*.

En consecuencia, la estrategia más recomendable parece que debiera ser la secuencial. En este sentido, la obtención del producto dibromado **35**{7,7} lógicamente debería transcurrir a través del término de monobromación **35**{1,7} -cuya síntesis ha sido ampliamente descrita en el anterior apartado- puesto que es el producto que se obtiene cuando se trata el *cabeza de serie* con un equivalente de bromo.

Ahora bien, la dibromación secuencial puede afrontarse de dos maneras distintas según se aísle o no el término de monobromación:

- obtención de **35**{1,7} según las condiciones anteriormente descritas empleando un equivalente de bromo y, a continuación, adición de un nuevo equivalente de este mismo reactivo. Esta opción parece simple y rápida de implementar, pero deben considerarse potenciales efectos sobre el segundo proceso que pudiera ejercer el equivalente de ácido bromhídrico formado. Además también existe la posibilidad de que el ácido acético no sea un disolvente adecuado para esta nueva etapa sintética.
- obtención y aislamiento de **35**{1,7} según se ha descrito, e implementación de un protocolo específico para la segunda bromación. Esta opción supone algo más de manipulación pero permite trabajar sin el equivalente de ácido bromhídrico formado en la primera etapa; además, también permite cambiar de disolvente.

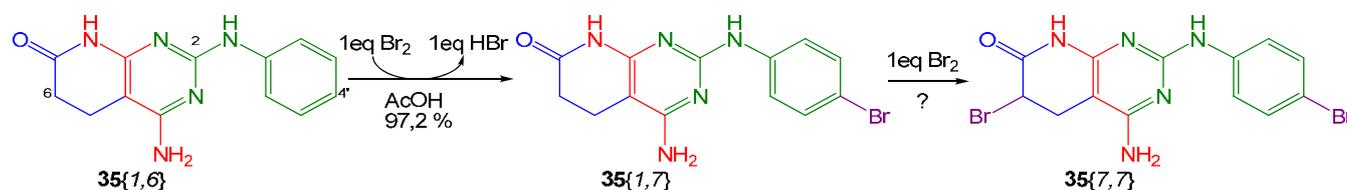
En el siguiente apartado se estudia experimentalmente cada una de estas posibilidades y se analizan en detalle los resultados obtenidos.

## 2.4.2. Ensayos de la dibromación del compuesto 35{1,6}

### 2.4.2.1. Ensayos de bromación secuencial

En lo fundamental, la bromación secuencial del *cabeza de serie* 35{1,6} consiste en generar el correspondiente término de monobromación 35{1,7} según el protocolo ampliamente discutido en apartados anteriores y hacerlo reaccionar con un equivalente de bromo -o cualquier otro agente bromante que pudiera ser más conveniente- para generar el término de dibromación 35{7,7}.

En consecuencia la cuestión se reduce a aclarar si es necesario o no aislar 35{1,7} y a establecer las condiciones de reacción convenientes para tratar este producto con el nuevo equivalente de agente bromante.



**Figura 2.59:** Dibromación secuencial del cabeza de serie.

Ahora bien, parece más oportuno acometer la bromación de 35{1,7} aislado que tratar de implementar un proceso *one-pot two-processes* sobre el crudo de reacción de la primera etapa sintética. Los motivos son los siguientes:

- posibilidad de ensayar disolventes de reacción más allá del ácido acético empleado en la primera etapa
- ausencia del equivalente de ácido bromhídrico formado durante la primera bromación y cuyo efecto sobre la siguiente etapa sintética debería considerarse
- oportunidad de estudiar detalladamente el acoplamiento de ambos procesos y trazar un único protocolo secuencial.

Por consiguiente, en primer lugar se decide ensayar la bromación de 35{1,7} para su conversión en 35{7,7} empleando el término monobromado obtenido y aislado según la metódica ya referida.

Desgraciadamente, tal como se ha expuesto anteriormente, existen pocos ejemplos en la bibliografía de monobromación en  $\alpha$  de carbonilo de una piridona sin protección del nitrógeno lactámico. Prácticamente todos los trabajos hallados emplean, o bien un tratamiento con Br<sub>2</sub> en ácido acético (Bozhanov et al., 2000), o bien un tratamiento con tribromuro de fósforo y bromo (Shinichi et al., 2007).

Así pues, considerando que no existen muchas alternativas descritas en la literatura, se decide comenzar ensayando el Br<sub>2</sub> en ácido acético. Además, la posibilidad de que la evolución de un proceso tal fuera apropiada y que, en consecuencia, fuera posible establecer un

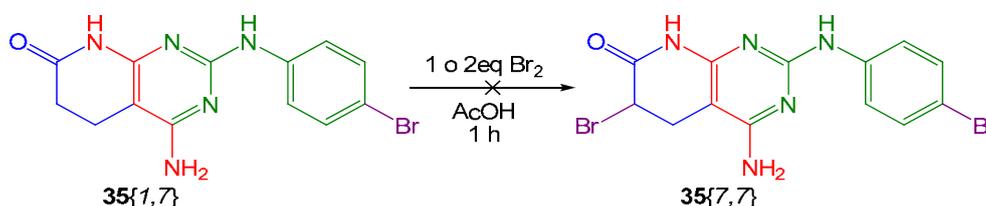
protocolo secuencial relativamente sencillo y poco laborioso son otros argumentos a favor de iniciar por aquí el estudio de la obtención de **35**{7,7}.

Consecuentemente, y por analogía con la obtención del término de monobromación, se ensaya el tratamiento de **35**{1,7} en ácido acético a temperatura ambiente con la adición de un equivalente de bromo en solución acética -2 mmol/mL-.

Tras 50 - 60 minutos se observa que la suspensión de sólido blanco se transforma en una pasta rojo-anaranjada muy viscosa que apenas sedimenta al dejar reposar el matraz de reacción durante al menos 18 h. Así mismo, su aislamiento por filtración es muy difícil, ya sea directamente, o previa dilución con agua o dioxano, o previa neutralización con carbonato o solución acuosa de amoníaco. En cualquier caso, en los varios intentos realizados únicamente se obtienen unos pocos miligramos cuyo  $^1\text{H-RMN}$  es demasiado complejo para interpretarlo (señales anchas, muchos grupos de señales, etc.).

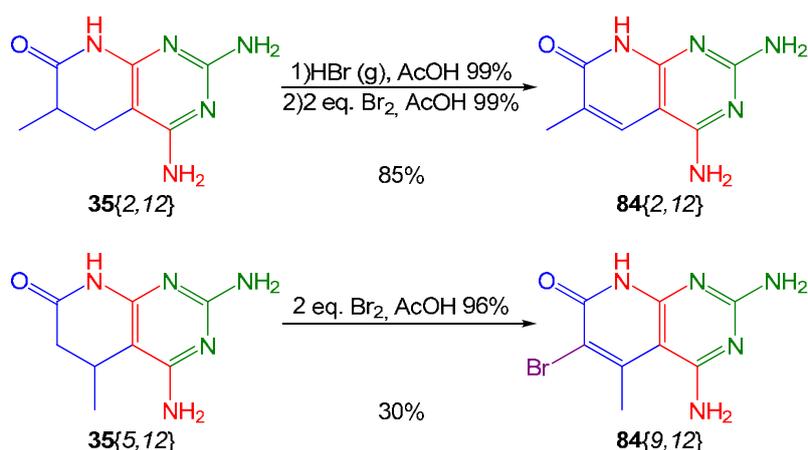
Además, si se intenta eliminar el disolvente por destilación a presión reducida -incluso si se añade dioxano para diluir y formar el azeótropo con acético- no se logra sin calentar el matraz, y cuando se incrementa la temperatura se observa que el color del sólido evoluciona paulatinamente desde el rojo-anaranjado inicial hasta marrón-parduzco. Con este *work-up* se logra una cosecha mayor pero también lo es la complejidad del  $^1\text{H-RMN}$ . Es más, aunque se intente purificar este sólido mediante la secuencia de procesos implementada para **35**{1,7} -dispersión en agua, disgregación mecánica y con ultrasonidos, filtrado al vacío y lavado con abundante agua, etanol y éter dietílico- no se simplifica en absoluto el espectro aunque el sólido obtenido cambie su color de marrón-parduzco a blanco manchado.

Por lo tanto, si se consideran globalmente los resultados de estos experimentos todo parece indicar que en estas condiciones de reacción se obtiene un producto (o mezcla de ellos) que no es estable y que no se corresponde en absoluto con el término dibromado **35**{7,7}.



**Figura 2.60:** Metodología no válida para la obtención del término dibromado.

Desafortunadamente, al emplear 2 equivalentes de bromo se observa igual comportamiento. No obstante, sí cabe comentar como algo positivo que en estas condiciones no se obtiene como producto mayoritario ningún término de deshidrohalogenación en  $\alpha$  de carbonilo como los referidos por Victory y colaboradores (Victory et al., 1989). Ahora bien, puesto que los sólidos así obtenidos son de una elevada complejidad, en ningún caso se puede descartar que se dé este proceso de deshidrohalogenación, solamente se puede afirmar que no se trata de un proceso preferente.



**Figura 2.61:** Algunas de las bromaciones de heterociclos estudiadas anteriormente.

A resultas de la incapacidad de bromar el compuesto *cabeza de serie* **35{1,7}** empleando ya sea uno o dos equivalentes de bromo en ácido acético, se deben plantear alternativas sintéticas en forma de otros agentes bromantes, de otros disolventes de reacción, de distintos niveles de calefacción o del uso de reactivos auxiliares.

En este sentido, si se analiza la experiencia acumulada por el Laboratorio de Síntesis del IQS en la bromación de este tipo de heterociclos (Victory et al., **1989**), se observa que:

- los sistemas heterocíclicos **35{x,y}** con sustituyentes en  $\alpha$  de carbonilo necesitan la formación previa del hidrobromuro de la pirido[2,3-*d*]pirimidina para poder ser bromados y rendir estructuras con halógeno en  $\alpha$  de carbonilo y doble enlace
- los sistemas heterocíclicos **35{x,y}** con sustituyentes en  $\beta$  de carbonilo pueden ser directamente derivatizados con bromo para rendir el correspondiente término de deshidrobromación.

A tenor de estos resultados y considerando los obtenidos en el presente trabajo, es posible pensar que **35{1,7}** presenta una reactividad similar a aquellos sistemas heterocíclicos con sustituyentes en  $\alpha$  de carbonilo, es decir, que para poder ser bromado -aunque sólo sea con un equivalente de bromo- debe estar en forma de hidrobromuro.

Esta afirmación permitiría justificar que en las condiciones ensayadas hasta el momento no se obtenga el producto deseado **35{7,7}**. También serviría para explicar porque tampoco se forma inequívocamente un único término de bromación, tal como los citados autores refieren para la halogenación de **35{5,12}** con dos equivalentes de bromo en acético sin la obtención previa del hidrobromuro de la piridopirimidina.

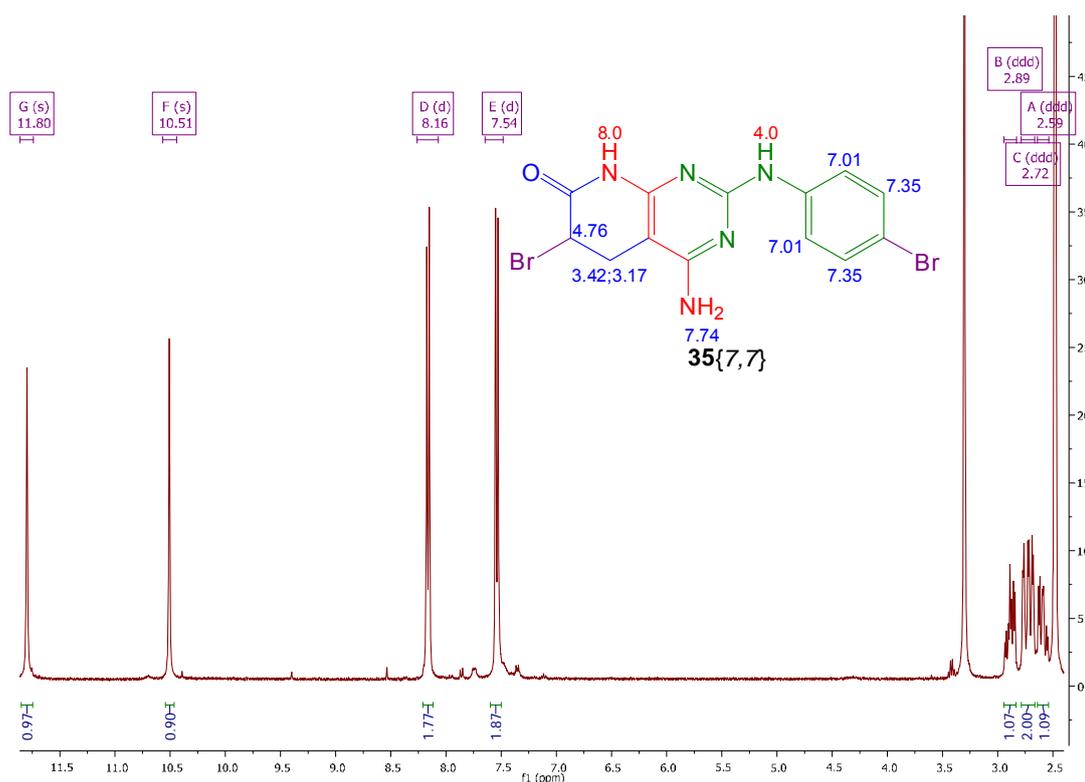
Por todo ello, si se continua por esta línea de razonamiento, el siguiente paso lógico sería desarrollar ensayos equivalentes a los ya realizados pero intentando obtener previamente el hidrobromuro de la piridopirimidina **35{1,7}**.

En el citado estudio, los autores obtienen estas sales mediante el burbujeo durante 10 minutos de bromuro de hidrógeno a través de la solución acética del heterobisociclo.

Contrariamente, en este caso se procede adicionando 5 equivalentes de ácido bromhídrico (en forma de solución acuosa al 48 %) a la solución acética (ácido acético glacial no secado) de la piridopirimidina monobromada **35**{1,7}. El motivo para este cambio metodológico es que se supone que la adición de aproximadamente 5 equivalentes de agua a un medio de ácido acético glacial no secado no implica un incremento sustancial del contenido de agua del medio.

Así pues, tras la adición del ácido bromhídrico acuoso y tras agitar unos minutos a temperatura ambiente, se adiciona un equivalente de bromo en solución acética -2 M-. De nuevo, a partir de 60 minutos a temperatura ambiente y agitación constante, la suspensión de sólido blanco se transforma en una pasta rojo-anaranjada. Y tras 2 h, se obtiene una pasta tan viscosa que apenas sedimenta al dejar reposar el matraz de reacción durante al menos 18 h.

Afortunadamente y contrariamente a las experiencias anteriores, el aislamiento del sólido así obtenido es mucho más simple: basta con diluir el medio de reacción con 1:10 de agua desionizada, filtrar al vacío y lavar sucesivamente con abundante agua, etanol y éter dietílico para obtener un sólido amorfo de intenso color amarillo canario ligeramente anaranjado.



**Figura 2.62:**  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{DMSO-d}_6$ ) del sólido amarillo-anaranjado obtenido y la previsión para el término de dibromación esperado.

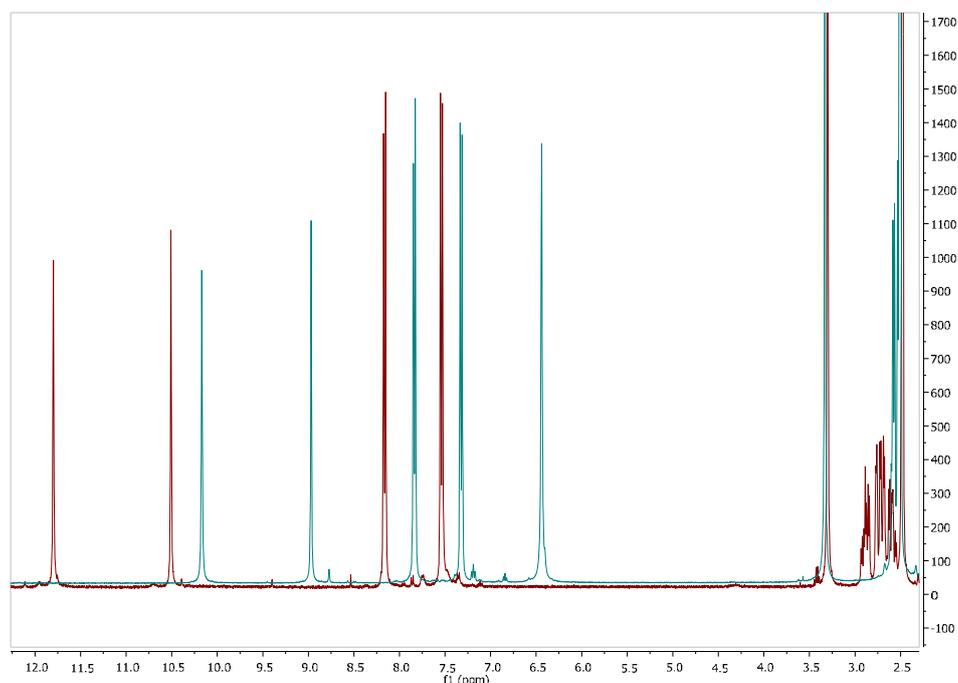
En el correspondiente  $^1\text{H}$ -RMN se puede observar la presencia de un único par de dobletes característicos de sistemas aromáticos *p*-sustituidos y similar al del producto de partida **35**{1,7}. Además, el resto del espectro presenta un perfil muy limpio y con señales bien delimitadas, como por ejemplo los singuletes por encima de la zona aromática y que,

típicamente en este tipo de heterobisíclicos, pueden ser atribuidos a los hidrógenos unidos a los nitrógenos lactámicos y aminoarílicos.

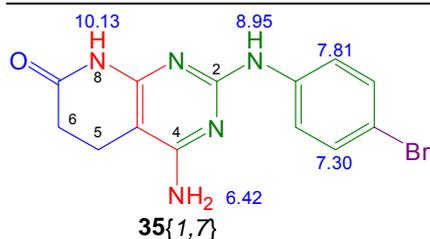
Pero esta nueva especie no puede ser identificada como el término de dibromación esperado **35**{7,7} por distintos motivos. A continuación se refieren todos ellos, de menos a más significativos:

- los dobletes aromáticos de integral 2 presentan desplazamientos muy altos respecto a los que cabría esperar: 7,54 y 8,16 ppm frente a la previsión de 7,01 y 7,35 ppm
- la ausencia total de señal de integral 2 atribuible al grupo 4-aminopirimidínico, que típicamente se observa como un sigulete relativamente ancho a campo más bajo que las señales de los grupos aromáticos y que suele apreciarse sin ninguna dificultad en este tipo de sistemas heterobisíclicos
- las señales alifáticas presentan un perfil típico de sistemas con protones diastereotópicos, pero su complejidad ha aumentado con respecto al producto de partida -lo que cuadraría con el producto esperado-; no obstante, el desplazamiento de estas señales es bastante menor al previsto y muy similar al del producto de partida -2,20 ppm y 2,50 ppm-; pero lo más sorprendente de todo es que estas señales presentan una integral global de 4, que en ningún caso puede coincidir con la presencia de un bromo alifático.

Pero además, tal como se puede observar en la siguiente figura, esta nueva especie tampoco puede ser identificada como el término de monobromación **35**{1,7} empleado como producto de partida.



**Figura 2.63:**  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) del término monobromado (azul) y del nuevo producto (rojo).



**Figura 2.64:** Asignación de  $^1\text{H-RMN}$  del término de monobromación.

Concretamente, se aprecian las siguientes diferencias, referidas de menos a más significativas:

- el nuevo producto presenta una ligera disminución del blindaje de las señales aromáticas, si bien el perfil es idéntico, lo que indica que la nueva entidad no presenta una sustitución del anillo aromático distinta del término de monobromación  $35\{1,7\}$
- las señales atribuibles a los hidrógenos unidos a los nitrógenos lactámico N8 y aril sustituido en C2 aumentan muy significativamente su desplazamiento desde 10,13 ppm y 8,95 ppm hasta 10,51 ppm y 11,80 ppm, respectivamente
- la ausencia total de señal de integral 2 atribuible al grupo 4-aminopirimidínico, que típicamente se observa como un sigulete relativamente ancho a campo más bajo que las señales de los grupos aromáticos y que suele apreciarse sin ninguna dificultad en este tipo de sistemas heterobíclicos; como por ejemplo en el caso del término de monobromación, para el que se observa a 6,42 ppm
- las señales alifáticas presentan un desplazamiento muy similar al del producto de partida -2,59 ppm, 2,72 ppm y 2,89 ppm *versus* 2,20 ppm y 2,50 ppm-, adicionalmente su perfil -aunque sigue siendo típico de sistemas protones diastereotópicos- ha aumentado de complejidad con respecto al producto de partida; no obstante, la integral global de estas señales sigue correspondiendo a 4 protones, hecho que indica la ausencia de un bromo alifático.

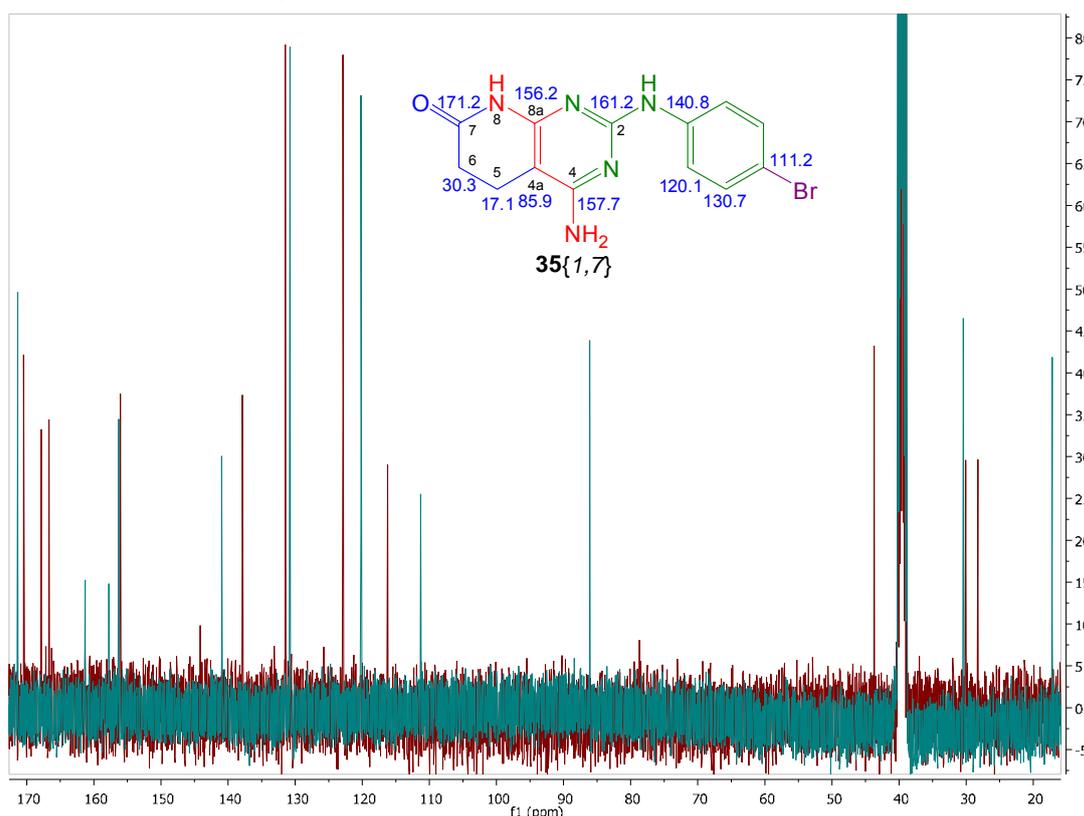
Considerando globalmente toda la información referida anteriormente, se pueden realizar ciertas deducciones a propósito de la estructura molecular de la nueva especie obtenida en solución de ácido acético no anhidro por tratamiento del término de monobromación  $35\{1,7\}$  con un equivalente de bromo en solución acética (2 mmol/mL) y presencia de 5 equivalentes de ácido bromhídrico (en forma de solución acuosa al 48 %) tras 60 min - 2 h de agitación a temperatura ambiente.

En primer lugar, el perfil de las señales aromáticas y la presencia del singulete a 10,51 ppm sugieren la presencia de un sustituyente *p*-fenilsustituido y un grupo amina aromática secundaria que deben corresponderse con el grupo *p*-bromofenilamino en C2 del término de monobromación empleado como producto de partida.

En segundo lugar, la presencia de la señal del hidrógeno lactámico y de las señales alifáticas -aunque de perfil más complejo- sugieren que el anillo piridónico puede que siga existiendo. No obstante, cabe considerar la posibilidad que la estructura del puente bíclico hubiera cambiado significativamente sin modificarse sustancialmente el aspecto del espectro de resonancia magnética de protón.

Por último, la ausencia de señal de protón atribuible al grupo 4-aminopirimidínico en combinación con la falta de señales específicas del anillo pirimidínico en este tipo de heterociclos pudiera indicar la rotura del segundo anillo, aunque sin pérdida del sustituyente *p*-bromofenilamino tal como se ha establecido anteriormente.

Según los últimos dos argumentos, parece preceptivo complementar la información disponible sobre la integridad de la estructura bicíclica mediante el correspondiente  $^{13}\text{C}$ -RMN.



**Figura 2.65:**  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{DMSO-}d_6$ ) del término monobromado (azul) y del nuevo producto (rojo).

Este espectro confirma definitivamente que la nueva especie obtenida no es el producto de partida monobromado  $\mathbf{35}\{1,7\}$ . A continuación se refieren las diferencias observadas -de menos a más significativas- entre este espectro y el correspondiente al término de monobromación:

- las señales correspondientes a los carbonos aromáticos del sustituyente *p*-bromofenilamino modifican ligeramente sus desplazamientos pero el aspecto global muestra una elevada similitud entre ambas especies que reitera la hipótesis de que este residuo sigue estando presente en la nueva entidad
- la señal correspondiente al carbonilo C7 prácticamente no se modifica, hecho que indica que el grupo lactámico tampoco ha sido alterado
- las señales correspondientes a los carbonos alifáticos C5 y C6 presentan un comportamiento claramente diferenciado; es decir, mientras que el carbono en  $\alpha$  de carbonilo -aproximadamente a 30 ppm- no varía su apantallamiento, la señal de C5

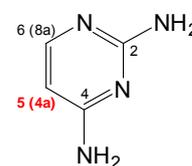
aumenta su desplazamiento en 12 ppm aproximadamente e indica que el carbono bicíclico C4a ha variado significativamente sus propiedades magnéticas

- la señal del carbono bicíclico C8a no parece sufrir una gran modificación, por lo tanto, parece ser que al menos este átomo sigue estando unido a dos nitrógenos -y probablemente a un carbono- y formando parte de un sistema de conjugación, es decir, que es probable que siga siendo cabeza de puente de un sistema pirido[2,3-*d*]pirimidínico
- las señales de los carbonos pirimidínicos C2 y C4, por el contrario, se desapantallan significativamente en la nueva especie e indican alguna alteración importante en el anillo pirimidínico
- la señal atribuida al carbono bicíclico C4a es la que mayor variación sufre; de hecho la reducción del desplazamiento desde 85,9 ppm en **35**{1,7} hasta 44,2 ppm en la nueva especie podría indicar la presencia de un átomo de bromo unido a carbono terciario -es decir al átomo bicíclico- pues este tipo de sustituyentes suele aumentar el apantallamiento de los carbonos (Pretsch et al., **2001**)

Al analizar en su conjunto toda la información extraída tanto del  $^1\text{H}$ -RMN como del  $^{13}\text{C}$ -RMN y teniendo en cuenta la presencia en el medio de reacción de un equivalente de bromo, se plantea la posibilidad que lejos de bromarse alguna de las posiciones alifáticas o, incluso, el anillo aromático ya monobromado, se haya obtenido algún término de bromación del anillo de pirimidina. Así pues, se postula la reacción entre el anillo de pirimidina y el equivalente de bromo mediante un mecanismo de tipo sustitución electrófila aromática (SEAr).

En este caso una búsqueda bibliográfica revela que no existe ni un solo caso descrito de bromación del anillo pirimidínico en sistemas 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidínicos. Por el contrario, sí que existen descritas bromaciones de 4-hidrogenopirido[2,3-*d*]pirimidinas, pero proceden en el anillo piridónico.

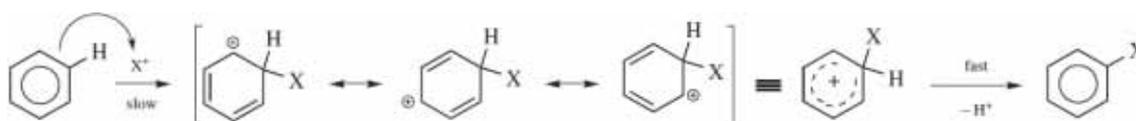
No obstante, la literatura sobre SEAr realizadas en anillos pirimidínicos (Wang, **1959**; Gilchrist, **1995**) describe que este tipo de reacciones transcurren moderadamente bien sobre la posición C5 del anillo -C4a en los sistemas **35**{*x,y*}- por ser la posición menos desactivada al hallarse en meta de ambos nitrógenos heterocíclicos. Además, la presencia de grupos activantes en las posiciones C2 y C4 favorece especialmente este tipo de reacciones por hallarse en las posiciones *orto* y *para* de la posición C5 (C4a). Concretamente, los citados autores refieren que los grupos amino son los sustituyentes activantes más adecuados, tanto es así que uno solo es suficiente para permitir la bromación de la pirimidina.



**Figura 2.66:**  
Estructura y numeración de la 2,4-diaminopirimidina

En consecuencia, según estos autores y tomando en consideración que los datos espectroscópicos del nuevo compuesto muestran que no se ha bromado ni el anillo lactámico ni el anillo del residuo del 4-bromofenilamino, debe concluirse que la bromación transcurre sobre la posición 4a, es decir, sobre un carbono bicíclico.

Antes de continuar, cabe considerar mínimamente la naturaleza de la SEAr y de su mecanismo de reacción para poder comprender el proceso acaecido sobre el término de monobromación y que rinde el nuevo compuesto aislado.

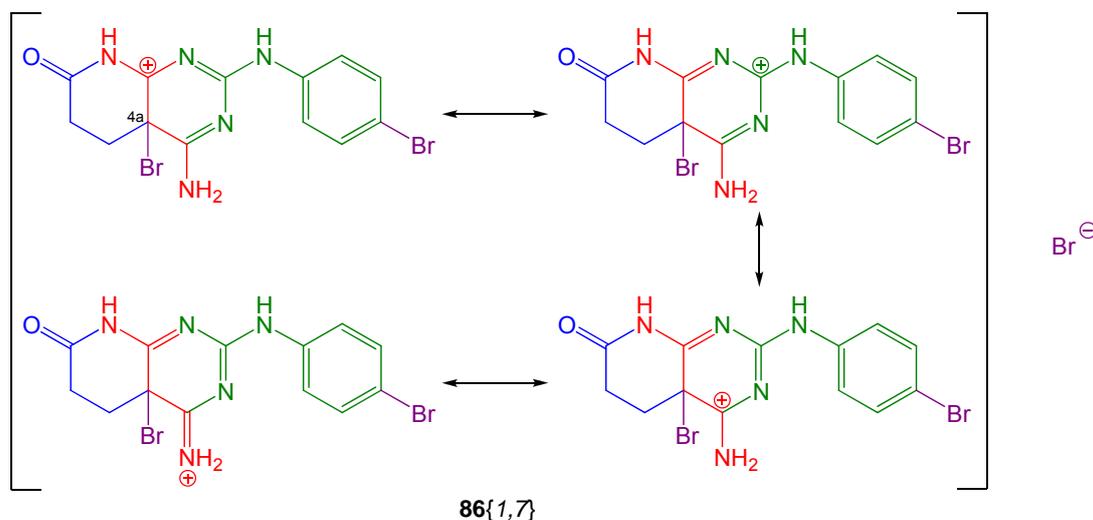


**Figura 2.67:** Mecanismo de la SEAr (Smith y March, 2007).

En la anterior figura se muestra el intermedio de reacción -intermedio sigma o de Wheland- del que cabe destacar dos aspectos:

- el carbono sobre el que tiene lugar la adición electrófila mantiene su enlace covalente con el hidrógeno saliente y, por lo tanto, su hibridación cambia de  $sp^2$  a  $sp^3$
- como consecuencia de la adición electrófila uno de los pares electrónicos del sistema aromático es retirado del sistema de conjugación y, en consecuencia, se forma una especie catiónica cuya conjugación únicamente implica cinco de los seis eslabones del ciclo que deslocalizan la carga positiva

Así pues, ateniendo a la naturaleza de este tipo de reacción, a la naturaleza del carbono 4a y a la ausencia de ningún hidrógeno u otro grupo saliente, la estructura propuesta para el nuevo producto obtenido es la referida en la siguiente figura y que claramente coincide con el antes citado intermedio de Wheland.



86{1,7}

**Figura 2.68:** Propuesta de estructura para el nuevo producto obtenido mediante bromación del término de monobromación 35{1,7}.



introducido ningún bromo. Además, la complicación del perfil de las señales de esos protones diastereotópicos sugiere que en la vecindad de alguno de los eslabones se ha situado algún grupo voluminoso que fija más la geometría molecular. Por último, el desplazamiento de la señal de carbono correspondiente al carbono C5 - $\beta$  de carbonilo- alrededor de 10 ppm sugiere que en la vecindad de ese carbono se ha modificado el perfil magnético, lo que claramente apunta al carbono bicíclico C4a. Todas estas afirmaciones son perfectamente compatibles con la estructura postulada.

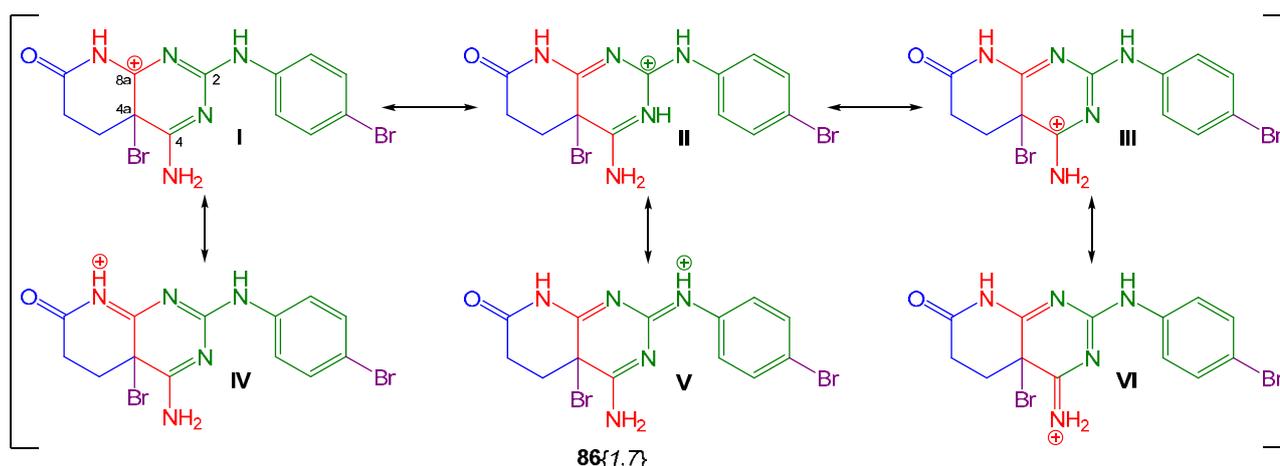
Se observa en el  $^1\text{H-RMN}$  que la señal de protón correspondiente al grupo amina en C4 desaparece completamente. Atendiendo a la propuesta de estructura para el nuevo compuesto, este grupo pasaría a formar parte del sistema  $\pi$  de conjugación de la carga positiva y, por lo tanto, su desplazamiento debería aumentar sustantivamente como consecuencia del desapantallamiento del nitrógeno amínico. Es decir, la desaparición de la señal referida del espectro de protón correspondería a su desplazamiento más allá de la ventana de registro.

En referencia a las señales de los carbonos correspondientes al anillo pirimidínico -sin considerar por ahora el C4a- se constata un aumento significativo del desplazamiento para dos de las señales, pero la tercera prácticamente no varía.

35{1,7} / ppm	Asignación	86{1,7} / ppm	Posible asignación
156,2	8a	156,5	8a
157,7	4	167,1	2*
161,2	2	168,3	4*

**Tabla 2.13:** Desplazamiento de los carbonos pirimidínicos en los espectros de  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) de **86{1,7}** y de **35{1,7}**. \* falta por confirmar mediante HMBC.

Tomando en consideración los datos referidos en la tabla anterior, la estructura propuesta **86{1,7}** puede demostrar su validez si contribuye a explicar por qué unas señales se desplazan más que otras.



**Figura 2.71:** Estructuras canónicas resonantes más significativas de la estructura catiónica de **86{1,7}**.

Por un lado, cada una de las estructuras canónicas resonantes (ECR) I, II y III presenta la carga positiva del intermedio de Wheland sobre uno de los tres distintos carbonos considerados: 2, 4 y 8a. Por otro lado, la presencia de la carga positiva sobre un determinado

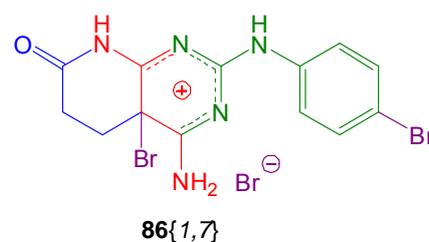
carbono es indicativa de un fuerte desblindaje del núcleo que se traduce en un elevado desplazamiento en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN. Además, cada uno de estos carbonos se halla adyacente -al menos- a un nitrógeno pirimidínico y a un nitrógeno externo al ciclo que tiene una capacidad muy diferente de estabilizar la carga positiva del intermedio en cada una de las posiciones consideradas. Es decir, si un determinado nitrógeno exocíclico estabiliza preferentemente la carga positiva en una de las tres posiciones estudiadas, la ECR correspondiente es más representativa de la estructura real y, por lo tanto, el desplazamiento químico de ese carbono debería ser mayor pues su densidad de carga positiva es mayor. En resumen, se trata de ordenar los nitrógenos exocíclicos de mayor a menor capacidad cesora para ordenar cada uno de los carbonos pirimidínicos de menos a más blindado.

Concretamente, el nitrógeno lactámico es el menos cesor de estos grupos externos al anillo pirimidínico porque se halla unido a un grupo tan aceptor como el carbonilo piridónico. El siguiente peor cesor es el sustituyente 4-bromofenilamino, pues la posibilidad de cesión sobre el anillo aromático limita su capacidad de cesión sobre el carbocatión en C2. Por último, el más cesor de los nitrógenos considerados es el grupo amino en C4, pues el correspondiente para electrónico únicamente puede ser deslocalizado en el anillo piridónico.

Así pues, en función de esta ordenación, la ECR menos representativa de todas -según parece, con gran diferencia- es la I y es por ello que el desplazamiento químico del carbono 8a prácticamente no varía entre el producto monobromado y **86**{1,7}. A bastante distancia de la anterior, la siguiente ECR más representativa es la II y el efecto de la carga positiva sobre el desplazamiento del carbono C2 se traduce en un incremento de aproximadamente 7 ppm. Por último, la ECR más representativa es la III y el incremento del desplazamiento químico de la señal del carbono C4 es de alrededor de 10 ppm.

A modo de resumen, es posible concluir que la propuesta de estructura **86**{1,7} permite justificar los desplazamientos químicos de los carbonos pirimidínicos 2, 4 y 8a observados en los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN e incluso su variación respecto el producto de partida **35**{1,7}. No obstante, para acabar de validar esta justificación debería realizarse algún tipo de espectroscopía adicional que permitiera establecer inequívocamente esta asignación de señales. Por ejemplo, un HMBC (espectro bidimensional de correlación entre protones y carbonos a distancia de 2, 3 y 4 enlaces), sin duda, ayudaría. De hecho, más adelante se presentan los resultados de esta espectroscopía.

Por último cabe considerar el desplazamiento químico del carbono C4a en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN y su variación de un producto a otro: de 85,9 ppm en **35**{1,7} hasta 44,2 ppm en la nueva especie. De hecho, la previsión de desplazamiento químico de este carbono para cada una de las ECR consideradas (I, II, III) contempla valores entre 51 ppm y 56 ppm. Por consiguiente el valor experimental observado es perfectamente compatible con la estructura **86**{1,7} propuesta.

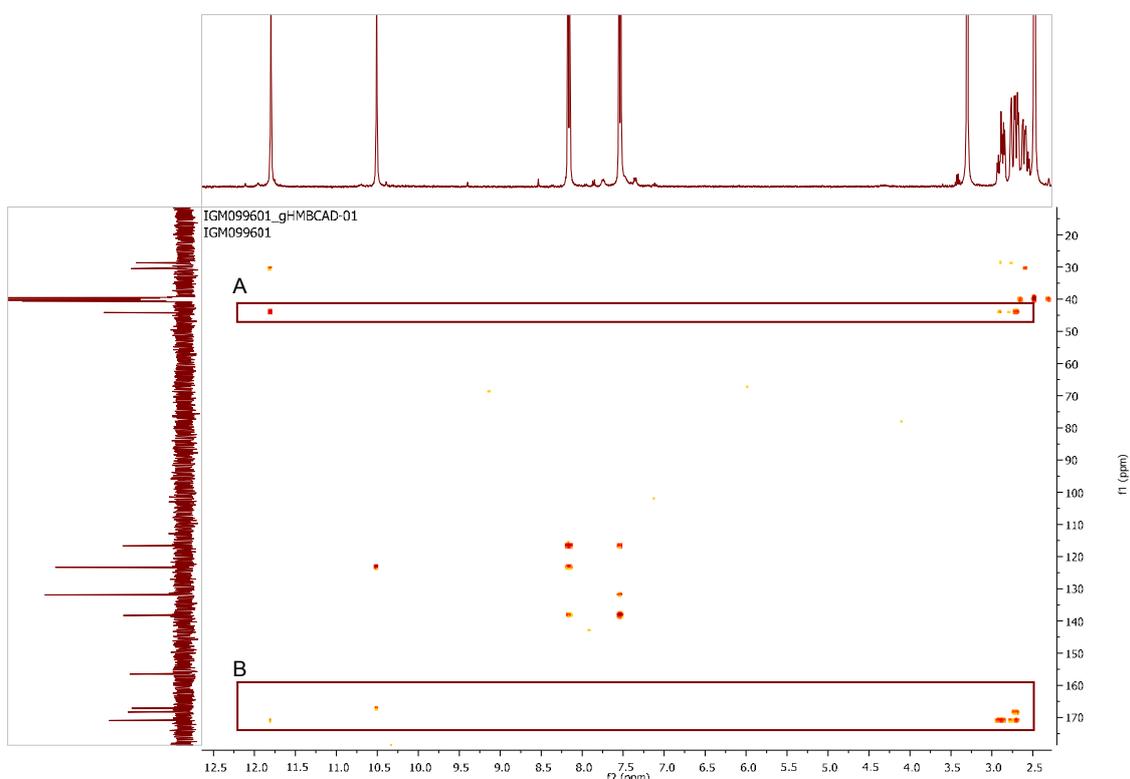


**Figura 2.72:** Propuesta de estructura para el término de dibromación.

Así pues, para acabar de establecer inequívocamente esta asignación parece conveniente registrar un HMBC pues si es correcta la propuesta estructural del intermedio, este espectro debería mostrar acoplamientos entre la señal de carbono a 44,2 ppm y los protones alifáticos o, incluso, el protón lactámico.

De hecho, considerando globalmente el análisis de la espectroscopía realizada hasta este momento, no existe ningún motivo por el cual la estructura postulada para el nuevo producto - **86**{1,7}- no pueda ser considerada correcta. Sin embargo, sería necesario disponer de más datos para poder identificar definitivamente el sólido rojo-anaranjado con la estructura tipo intermedio de Wheland.

Por lo tanto, se registra el correspondiente espectro de resonancia HMBC para este producto. A continuación se muestran y analizan detalladamente sus resultados.



**Figura 2.73:** Espectro HMBC del producto rojo-anaranjado obtenido. Se enmarcan las dos zonas de mayor interés.

En el primer fragmento del HMBC se estudian los acoplamientos de la señal a 44,2 ppm, presumiblemente atribuible al carbono C4a de la estructura **86**{1,7}. En el espectro se aprecia que esa señal de carbono se acopla con varios protones alifáticos y con el protón lactámico. Considerando que típicamente se observan en este tipo de espectros los acoplamientos a 2 y 3 enlaces de distancia, estos resultados establecen sin lugar a dudas que esta señal de carbono debería pertenecer a uno de los dos carbonos bicíclicos. En consecuencia y como resultado de todo lo discutido hasta el momento, se puede asegurar que esta señal a 44,2 ppm corresponde al carbono bicíclico C4a y que este ha sido bromado. Es decir, quedan pocas dudas de que el producto rojo anaranjado obtenido corresponde a un intermedio de Wheland de la bromación

del anillo piridónico atrapado gracias a la ausencia de grupos salientes. Además este producto es extraordinariamente estable y nunca antes había sido descrito, ni siquiera alguno similar. Por lo tanto, es el primer ejemplo de intermedio de Wheland de una pirimidina o bencilo relacionado descrito jamás.

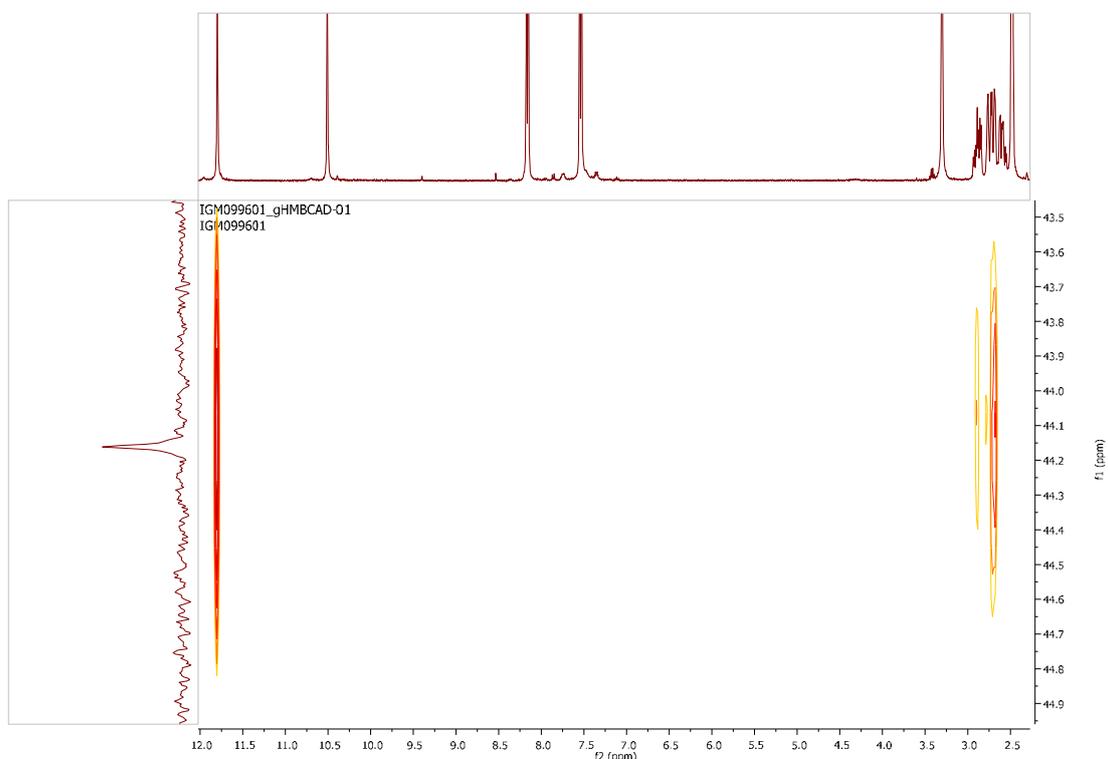


Figura 2.74: Zona A del espectro HMBC.

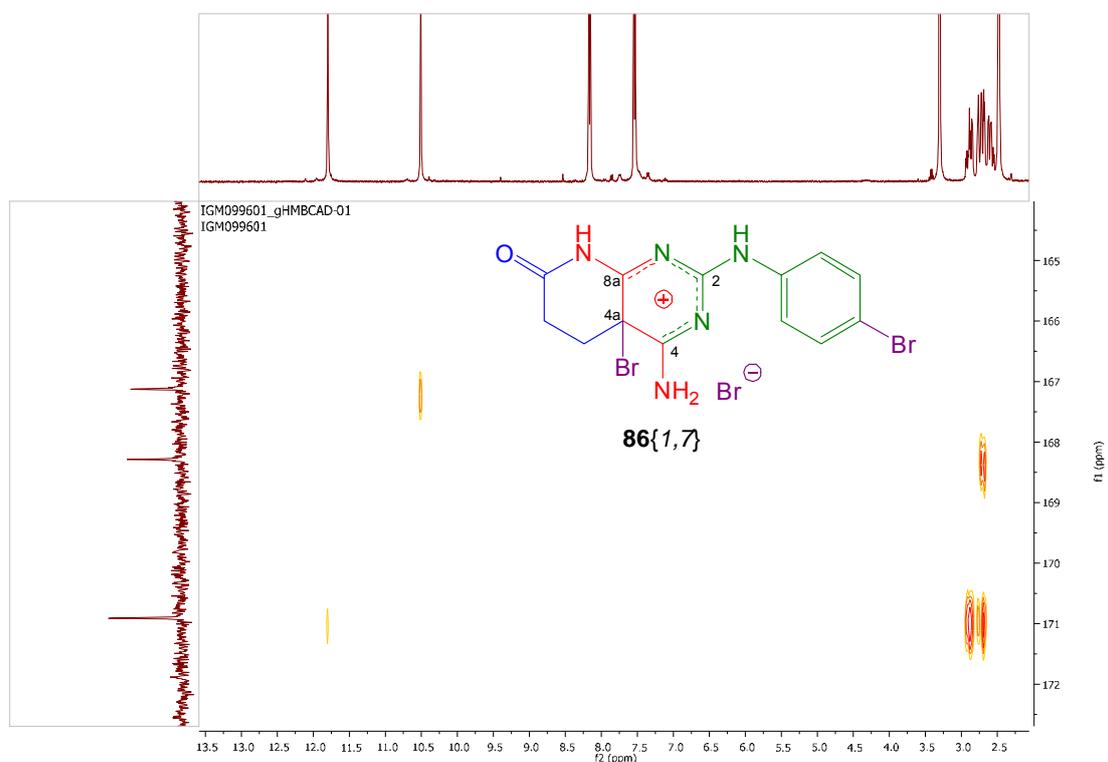


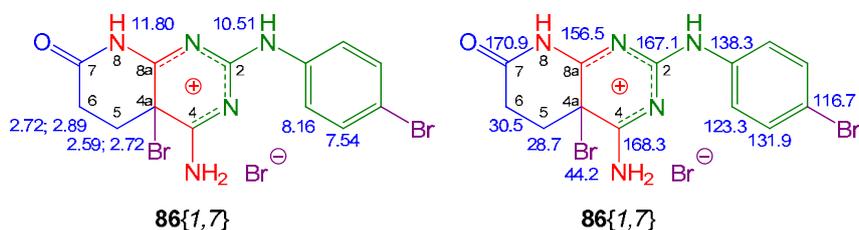
Figura 2.75: Zona B del espectro HMBC.

El segundo fragmento del espectro HMBC permite asignar definitivamente las señales de  $^{13}\text{C}$ -RMN con cada uno de los carbonos pirimidínicos que anteriormente no habían podido ser atribuidos inequívocamente. Concretamente, faltaban por establecer las relaciones entre las señales a 167,1 ppm y 168,3 ppm con los carbonos 2 y 4 de la estructura **86**{1,7}.

En el espectro se aprecia como la señal de carbono a 167,1 ppm se acopla con el protón del sustituyente 4-bromofenil a 10,51 ppm. Por lo tanto, puesto que la distancia entre ese hidrógeno y el C2 es de 2 enlaces covalentes y 4 para C4, lo más probable es que esta señal de carbono corresponda a C2.

En consecuencia, por eliminación, la señal a 168,3 ppm debería corresponder al carbono C4. Pero además, el fragmento B del espectro de HMBC confirma esta asignación pues muestra que esa señal de  $^{13}\text{C}$ -RMN se acopla con las señales de los protones alifáticos a 2,72 ppm. En este sentido, no existe duda sobre esta asignación porque la distancia entre los protones en C5 y el carbono C2 es de 5 enlaces covalentes, es decir, que ambos núcleos son demasiado lejanos para poder observar tan sencillamente su acoplamiento.

Si se recapitula toda la información obtenida mediante RMN y ampliamente discutida en las anteriores páginas, es posible realizar la asignación de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN descrita en la siguiente figura.



**Figura 2.76:** Asignaciones de RMN del intermedio de Wheland obtenido.

Adicionalmente es posible -e, incluso necesario- recabar más datos experimentales que permitan asegurar sin ningún género de dudas la identidad del producto obtenido.

En este sentido, tal como muestra la siguiente tabla, el análisis elemental orgánico muestra una composición centesimal del producto que concuerda perfectamente con el cálculo en base a la estructura **86**{1,7} propuesta.

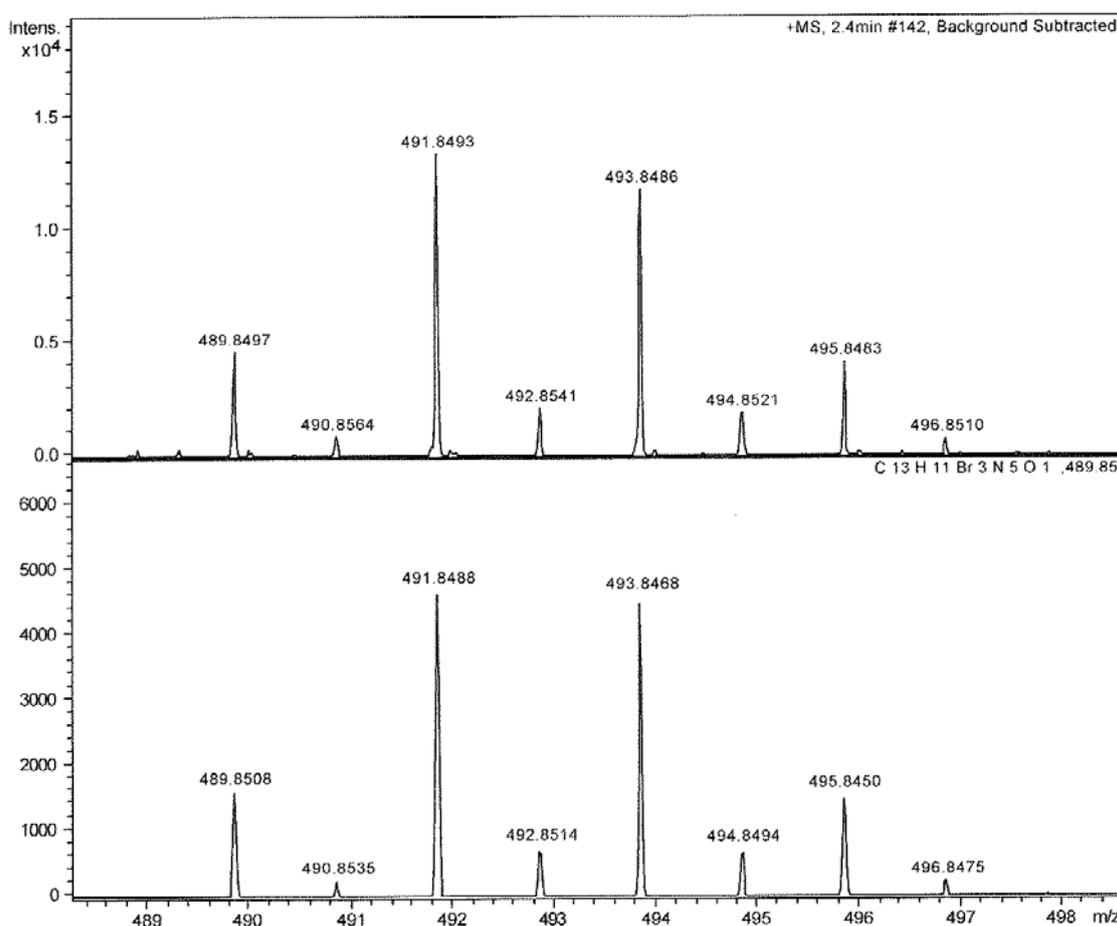
	C	H	N
% calculado	31,61	2,45	14,18
% experimental	31,86	2,07	14,10
Fórmula empírica	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{Br}_3\text{N}_5\text{O}$		

**Tabla 2.14:** Análisis elemental orgánico del nuevo producto y su correspondencia con el cálculo en base a la estructura propuesta.

Por consiguiente, este dato de composición confirma la hipótesis de que el producto obtenido presenta la estructura **86**{1,7} correspondiente al intermedio de Wheland de bromación del anillo pirimidínico mediante un mecanismo tipo SEAr.

Pero además, como última prueba de verificación de esta estructura y aprovechando la presencia de tres bromos en el compuesto, se decide realizar un espectro de masas de alta resolución ESI-TOF con un doble motivo:

- comprobar que la masa correspondiente al pico del ión molecular concuerda con la masa exacta de la estructura propuesta que es de 490,8592 u o algún valor relacionado
- contrastar que el perfil del pico del ión molecular presenta su característico aspecto -similar a un cuádruplete de RMN- como consecuencia de todas las combinaciones isotópicas posibles de los tres bromos

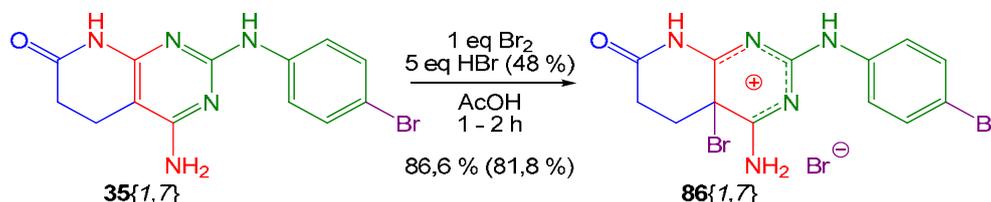


**Figura 2.77:** EMAR-ESI-TOF del intermedio de Wheland.

Al observar el espectro referido en la figura anterior, se puede observar que se satisfacen cada una de las expectativas sobre los resultados  $-[M+H]^+$  y perfil isotópico- previstas en base a la estructura propuesta para el nuevo producto.

En conclusión, todos los análisis realizados mediante espectroscopía de RMN, espectrometría de masas y análisis elemental confirman la obtención del intermedio de Wheland **86**{1,7}.

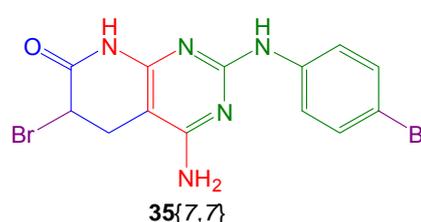
Así pues, una vez establecida la naturaleza del compuesto obtenido en solución de ácido acético no anhidro por tratamiento del término de monobromación **35**{1,7} con un equivalente de bromo en solución acética -2 mmol/mL- y presencia de 5 equivalentes de ácido bromhídrico -en forma de solución acuosa al 48 %- tras 60 min - 2 h de agitación a temperatura ambiente, se puede calcular el rendimiento de dicho proceso.



**Figura 2.78:** Obtención de un intermedio de Wheland a partir del término de monobromación.

Entre paréntesis el rendimiento global desde el compuesto cabeza de serie.

Desgraciadamente, aunque la obtención de este intermedio de Wheland resulta harto interesante, no se parece ni mucho menos al producto dibromado **35**{7,7} que se pretende obtener. De hecho, la formación de ese nuevo producto **86**{1,7} mediante la bromación del tipo SEAr del anillo pirimidínico es un proceso claramente competente de la bromación en  $\alpha$  de carbonilo que se pretendía realizar.



**Figura 2.79:** Término dibromado esperado.

Y, precisamente porque se supone que ambos procesos son competentes entre sí, emplear un único equivalente de bromo no parece muy conveniente si se persigue derivatizar en las posiciones alifáticas.

Por lo tanto, se decide ensayar exactamente el mismo proceso pero empleando dos equivalentes de halógeno para forzar la bromación alifática. Ciertamente es que anteriormente se han establecido todas las prevenciones posibles contra el uso de más de un equivalente de agente bromante frente a este tipo de heterociclos; pero es de suponer que, si no se calienta el medio de reacción, las deshidrobromaciones referidas anteriormente por Victory (Victory et al., 1989) no serán procesos favorecidos. No obstante, sí que existe el riesgo de que se obtenga un término de tribromación con átomos de este halógeno en el residuo aromático de C2, en el puente bicíclico C4a y en  $\alpha$  de carbonilo.

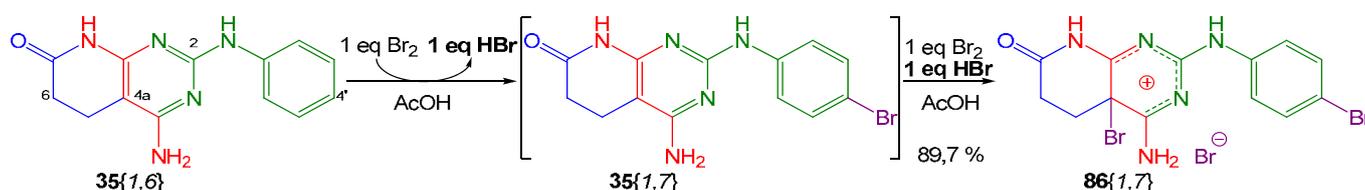
Sorprendentemente, este proceso con dos equivalentes de bromo también rinde el intermedio de Wheland rojo-anaranjado **86**{1,7} con un rendimiento (84,7 %) similar al descrito cuando se emplea un solo equivalente de agente bromante (86,6 %). Es decir, que el exceso de agente bromante no modifica en absoluto el proceso ni favorece ningún otro.

En conclusión, aunque no se puede establecer *a priori* si otros agentes bromantes, disolventes o condiciones de reacción podrían hacer transcurrir la halogenación en  $\alpha$  de carbonilo del compuesto **35**{1,7}, sí que parece que no es posible realizar dicho proceso con el protocolo implementado en el presente trabajo.

Pero, ¿qué implicaciones tiene esta constatación? Pues bien, si no es posible la halogenación del término de monobromación **35**{1,7} en ácido acético con bromo para rendir el término dibromado esperado **35**{7,7}, ningún proceso secuencial -con o sin aislamiento de **35**{1,7}- que emplee estas condiciones de reacción permitirá la obtención de ese producto a partir del compuesto *cabeza de serie* **35**{1,6}.

En este punto cabe destacar que la obtención del intermedio de Wheland se realiza en unas condiciones de reacción muy similares a las empleadas para la síntesis del término de monobromación **35**{1,7}. De hecho, ambos procesos emplean bromo como agente halogenante y ácido acético como disolvente.

La principal diferencia entre ambas metodologías es la presencia de ácido bromhídrico empleado en la obtención de **86**{1,7}. No obstante, tal y como se ha apuntado anteriormente, este ácido es un producto de reacción del primer proceso de halogenación. Por lo tanto, si no se aísla el producto monobromado **35**{1,7} de su medio de obtención, debería ser posible obtener el intermedio de Wheland adicionando el equivalente de bromo necesario para ello. Esto significa que debería ser posible sintetizar el producto **86**{1,7} a partir del compuesto *cabeza de serie* **35**{1,6} con un protocolo *one-pot two-processes* añadiendo secuencialmente al medio dos equivalentes de bromo.



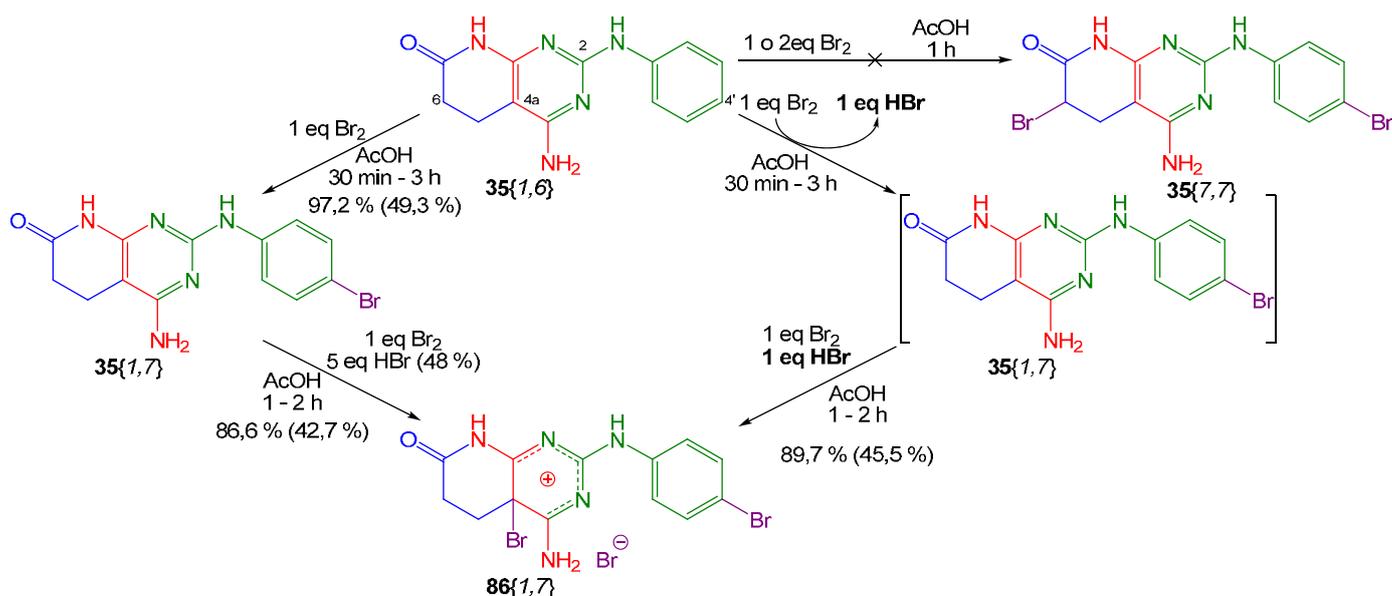
**Figura 2.80:** Dibromación secuencial del *cabeza de serie* sin aislamiento del término monobromado. En **negrita** el equivalente de ácido bromhídrico generado en la primera etapa y reutilizado en la segunda etapa.

Afortunadamente las previsiones se cumplen y este proceso secuencial permite obtener el intermedio de Wheland con un rendimiento algo mayor del referido para el proceso equivalente con aislamiento del término de monobromación **35**{1,7}. Muy probablemente, la mejora del rendimiento se debe a que no se realiza el aislamiento del término intermedio: la manipulación de ambos productos y la respectiva solubilidad en los distintos medios de reacción no repercuten en una significativa merma de la cantidad de producto final.

Rdtos % desde	<b>31</b> {1}	<b>35</b> {1,6}
Aislando <b>35</b> {1,7}	42,7	81,8
Sin aislar <b>35</b> {1,7}	45,5	89,7

**Tabla 2.15:** Comparación de rendimientos globales de obtención del intermedio de Wheland.

Concluyendo, desgraciadamente y a pesar de los buenos rendimientos referidos, los procesos secuenciales descritos en este apartado -resumidos en la siguiente figura- no son válidos para desarrollar la estrategia sintética estudiada en el presente capítulo.

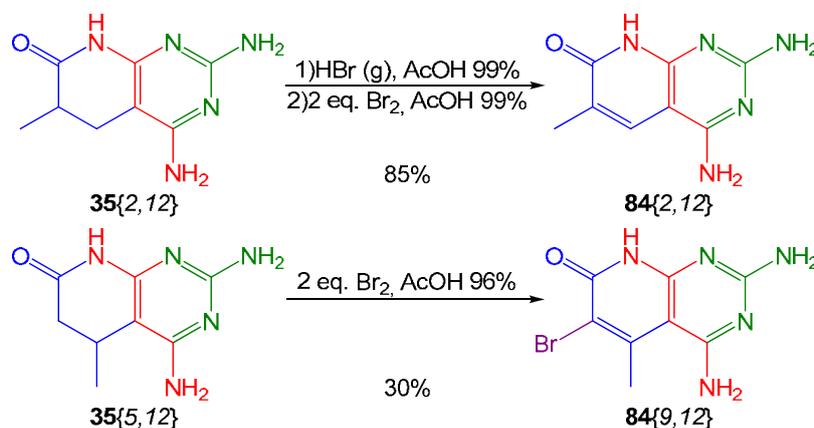


**Figura 2.81:** Resumen de los intentos de dibromación secuencial del cabeza de serie. Entre paréntesis el rendimiento global desde el compuesto cabeza de serie. En negrita el equivalente de ácido bromhídrico generado en la primera etapa y reutilizado en la segunda etapa.

En consecuencia, es necesario estudiar la obtención del término dibromado **35{7,7}** mediante una estrategia de tratamiento simultáneo con dos (o más) equivalentes de agente bromante, a pesar de no ser la opción predilecta por los presumibles problemas de deshidrobromación discutidos anteriormente.

#### 2.4.2.2. Ensayos de bromación simultánea

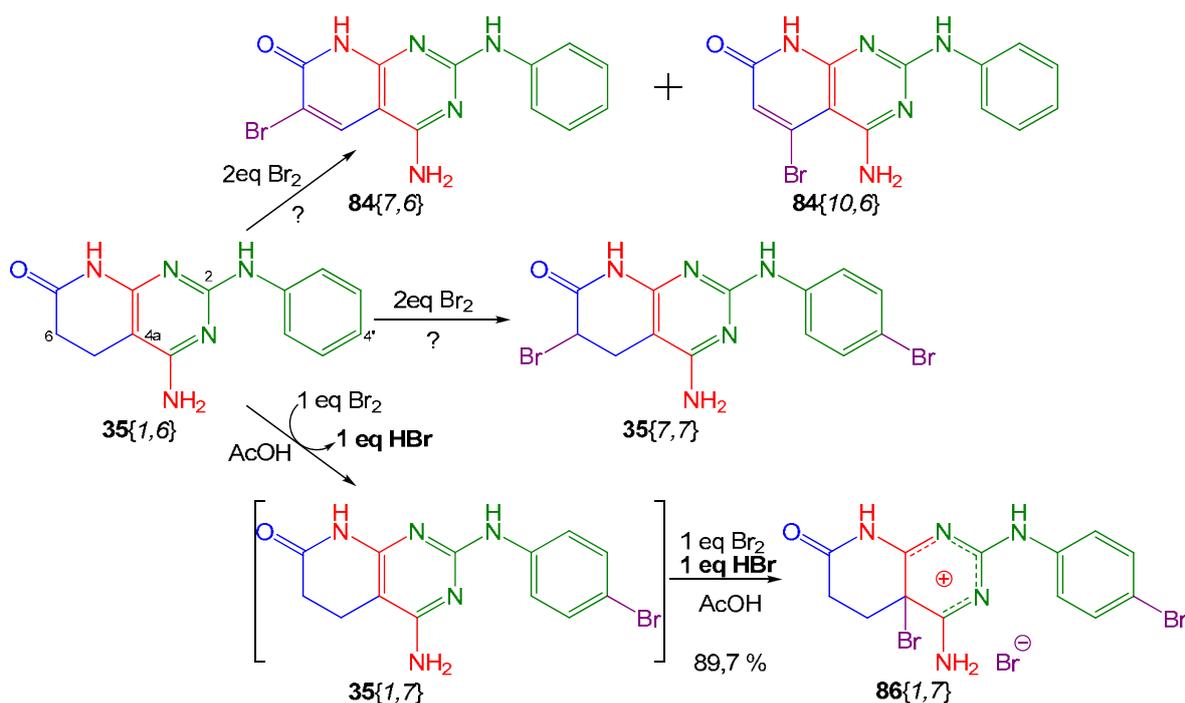
Hasta este momento se ha intentado evitar a toda costa la estrategia simultánea, pues implicaría tratar el sistema heterocíclico **35{1,6}** con dos o más equivalentes de bromo. De hecho, la experiencia acumulada por el Laboratorio de Síntesis del IQS desaconseja ensayar esta bromación porque al tratar sistemas 2-aminopirido[2,3-*d*]pirimidínicos con más de un equivalente de bromo se induce la formación de un doble enlace en  $\alpha$  de carbonilo mediante un proceso de deshidrobromación favorecido por la posibilidad de conjugación en el sistema resultante **84{x,y}** (Victory et al., 1989).



**Figura 2.82:** Algunas de las bromaciones de heterociclos estudiadas anteriormente.

Según el citado trabajo, en función de la presencia de sustituyentes en  $\alpha$  o  $\beta$  de carbonilo del anillo piridónico existen diferencias muy significativas tanto en las condiciones de reacción como en los rendimientos de bromación. Desgraciadamente, el heterobicyclo **35**{1,6} no presenta ningún sustituyente en esas posiciones y, por lo tanto, no son previsible ni las condiciones de reacción ni el curso que tomaría la bromación del compuesto *cabeza de serie* en presencia de dos o más equivalentes de bromo.

No obstante, tomando como punto de partida la experiencia acumulada en la bromación secuencial de dicho compuesto, es posible trazar someramente un esbozo general de los posibles productos de reacción.



**Figura 2.83:** Posibles términos de dibromación simultánea del *cabeza de serie*. En negrita el equivalente de ácido bromhídrico generado durante el primer proceso.

Las dos primeras propuestas corresponden a los términos de bromación que, o bien conjuntamente, o bien mezclados, se podrían obtener si la reactividad de **35**{1,6} frente a más de un equivalente de bromo es similar a los ejemplos publicados anteriormente por el Laboratorio de Síntesis (Victory et al., 1989). De todas maneras, según los resultados referidos en ese trabajo, el término más probable debería ser **84**{7,6}, que corresponde a la dibromación en  $\alpha$  de carbonilo con posterior deshidrohalogenación.

La segunda propuesta considera que la bromación más favorecida del *cabeza de serie* es la correspondiente a la posición aromática 4', pero asume que es posible encontrar algunas condiciones de reacción adecuadas para evitar la segunda halogenación más favorecida -la formación del intermedio de Wheland **86**{1,7}- y que favorezcan la derivatización en  $\alpha$  de carbonilo.

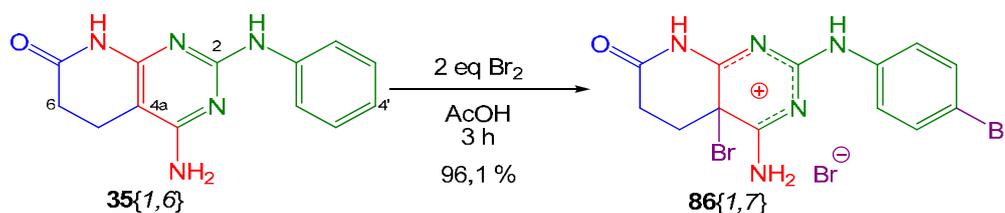
La última propuesta considera la experiencia del presente trabajo en el tratamiento del término de monobromación **35**{1,7} con más de un equivalente de bromo y en la reacción del

*cabeza de serie* con dos equivalentes de agente bromante adicionados secuencialmente mediante un proceso *one-pot two-processes*. De hecho, de todas las opciones consideradas, ésta la que se presume como más plausible.

Para aprovechar esta misma experiencia desarrollada en los apartados anteriores, los intentos de dibromación simultánea se inician ensayando el tratamiento del heterobiciclo **35**{1,6} con dos equivalentes de bromo en acético a temperatura ambiente durante 3 h.

Sin prácticamente sorpresa alguna, en seguida se observa la formación de la masa viscosa rojo-anaranjada anteriormente identificada como el intermedio de Wheland **86**{1,7}. Este producto es aislado del medio de reacción diluyéndolo con 1:10 de agua desionizada, filtrando al vacío y lavando el sólido resultante sucesivamente con abundante agua, etanol y éter dietílico.

La espectroscopía del sólido amarillo canario ligeramente anaranjado confirma sin ningún tipo de dudas que el producto obtenido es el compuesto dibromado **86**{1,7}. El rendimiento del proceso es del 96,1 %, superior al 89,7 % del proceso de dibromación secuencial sin aislamiento del término de monobromación, lo que indica una cierta sinergia entre la bromación del anillo fenílico y del anillo pirimidínico.



**Figura 2.84:** Dibromación simultánea del *cabeza de serie*.

A pesar de que este es un resultado excelente para la obtención de este peculiar producto, no deja de ser una pésima noticia que estas condiciones de reacción no permitan obtener el producto dibromado deseado **35**{7,7}, pues ponen en riesgo la estrategia sintética global que se pretende implementar en el presente capítulo.

Como primera alternativa, se decide ensayar de nuevo el proceso pero en esta ocasión empleando tres equivalentes de agente bromante para forzar que ocurra la bromación en  $\alpha$  de carbonilo.

Desgraciadamente, en sendas experiencias únicamente se obtiene el intermedio de Wheland bicíclico con un rendimiento casi cuantitativo (rendimientos entre el 96 % y 98 %). De todas maneras, este resultado no es para nada inesperado pues la experiencia de intentar halogenar el término de monobromación **35**{1,7} con dos equivalentes de bromo rendía idéntico resultado, tal como se ha expuesto en el anterior apartado.

A tenor de los resultados obtenidos en acético y empleando bromo como agente de halogenación, se deciden ensayar procesos equivalentes empleando como disolvente DMSO, agua desionizada, DMF, ácido bromhídrico acuoso al 48 % y ácido acético, como agentes bromantes NBS, pentabromuro de fósforo y bromo -no disuelto en acético-, y contemplando tiempos de reacción desde los 30 minutos hasta las 18 h (*overnight*). Pero para reducir el número de variables consideradas se emplean en todos los casos 2 equivalentes de agentes de halogenación y se implementan las reacciones a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

Desafortunadamente este estudio no resulta para nada exitoso. Por ejemplo, las reacciones implementadas en DMSO y DMF rinden en todos los casos crudos de reacción extremadamente complejos -especialmente a tiempos largos- en los que parece intuirse la presencia del intermedio de Wheland bicíclico.

Por otro lado, en agua desionizada y ácido bromhídrico acuoso al 48 % los distintos agentes de bromación muestran todos peor comportamiento que el bromo y permiten obtener el producto **86**{1,7} con rendimientos desde el 37 % hasta el 71 % en tiempos de hasta 3 h. A partir de este punto, los crudos de reacción empiezan a ser extremadamente complejos de interpretar, incluso cuando se emplea el bromo como agente de halogenación.

Por último, destacar de esta batería de ensayos que las reacciones con bromo en agua desionizada y ácido bromhídrico acuoso al 48 % rinden en 3 h el intermedio de Wheland bicíclico con rendimientos del 76,9 % y 74,3 %, respectivamente.

Las conclusiones de estos ensayos se pueden esquematizar en dos grupos:

- La obtención del compuesto dibromado **86**{1,7} transcurre óptimamente en ácido acético con 2 equivalentes de bromo -a pesar de que 3 equivalentes pueden suponer un incremento de entre 1 o 2 % de rendimiento que no justifica su uso- tras tres horas de reacción a temperatura ambiente
- Ni exceso de bromo, ni mayor tiempo de reacción, ni otras combinaciones de disolventes de reacción y agentes de bromación son capaces de inducir la halogenación en  $\alpha$  de carbonilo.

Si se considera más detenidamente el grupo de ensayos que se acaba de desarrollar, se puede percibir que existe aún un parámetro que no se ha tocado en ningún momento: la temperatura. En consecuencia, parecería lógico comenzar a explorar la influencia de este parámetro sobre el comportamiento de la reacción de bromación.

Y este es el peor escenario posible, pues los productos de deshidrobromación descritos por Victory (Victory et al., **1989**) precisamente se obtienen al tratar sistemas heterobíclicos **35**{x,y} a reflujo en ácido acético en presencia de 2 o más equivalentes de bromo.

No obstante y como última alternativa, se decide ensayar la bromación del compuesto *cabeza de serie* **35**{1,6} en ácido acético a reflujo -120 °C, por irradiación con microondas- en presencia de 3 equivalentes del agente de halogenación.

Tras 1 h de tratamiento térmico -tiempo empleado por los autores del citado estudio- a esta temperatura se obtiene un sólido amarillo bastante complejo en el que como mínimo se identifican claramente tres productos mediante espectroscopía de RMN. A continuación se refieren los correspondientes espectros y se discuten brevemente.

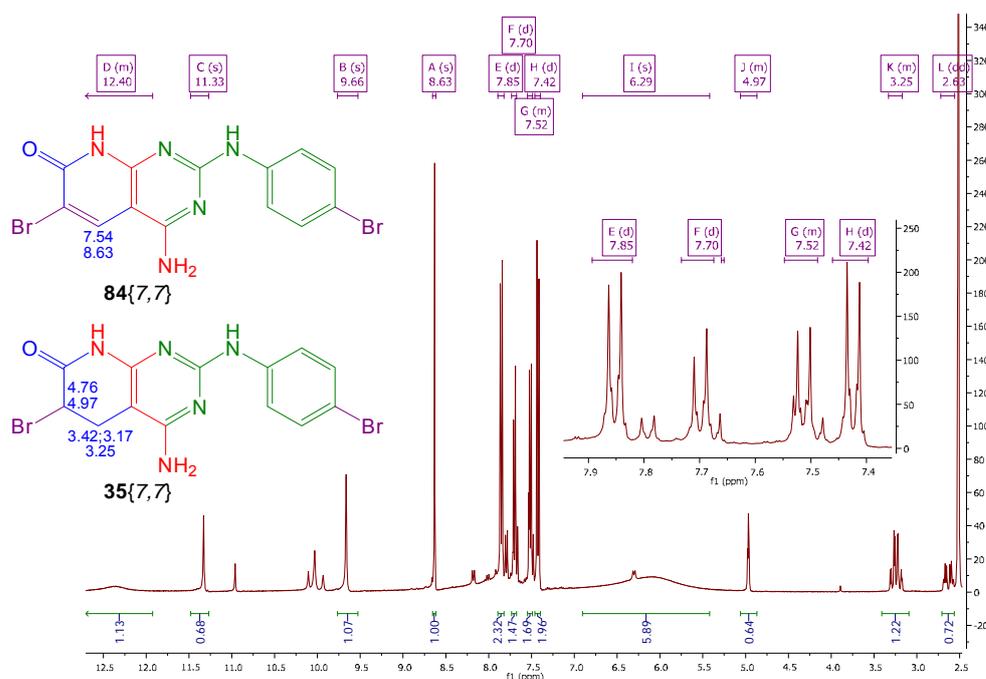


Figura 2.85: <sup>1</sup>H-RMN de la mezcla de productos de bromación.

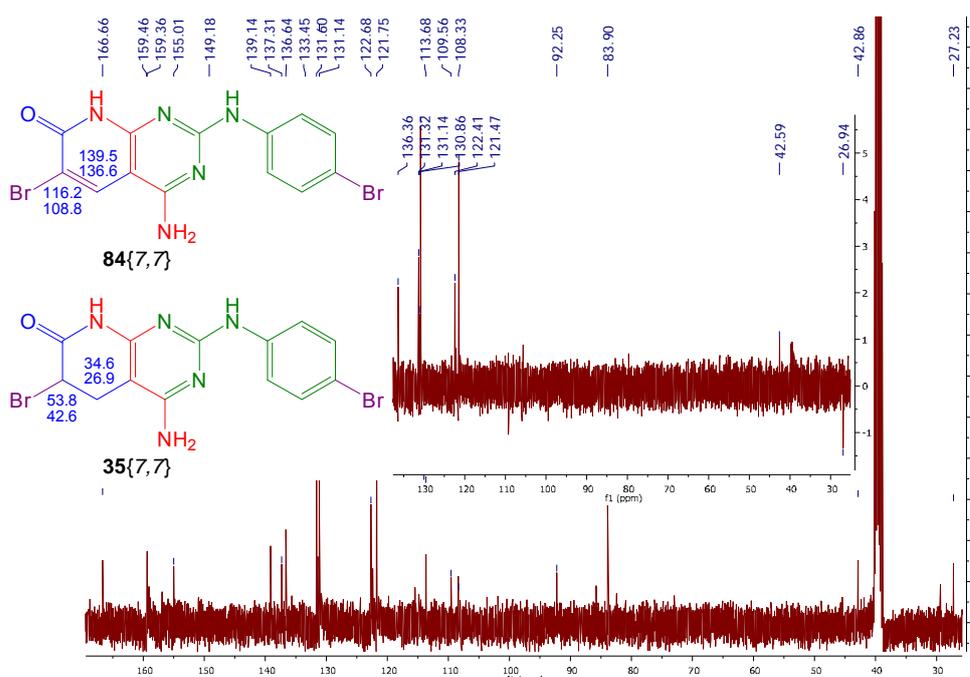


Figura 2.86: <sup>13</sup>C-RMN y DEPT 135 -ventana interior- de la mezcla de productos de bromación.

Del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN sorprende la completa desaparición de las señales de los protones alifáticos del cabeza de serie hacia 2,5 - 2,6 ppm. Esta observación permite deducir que las condiciones de reacción son suficientes para consumir completamente el heterociclo **35**{1,6}. Por otro lado, la zona de las señales aromáticas -ampliada en la correspondiente figura- indica la presencia de dos productos mayoritarios en los que se ha bromado en la posición 4' el anillo aminofenílico.

En referencia al principal de estos productos mayoritarios, cabe destacar que la aparición de un intenso singulete a 8,63 ppm de integral correspondiente a 1 protón, juntamente con la presencia de singuletes -uno de ellos ensanchado- a 9,66 ppm y 12,40 ppm e integral también correspondiente a 1 protón, y la ausencia de señales alifáticas que sean múltiple de esta integral, sugieren que la primera señal debe corresponder a un protón de tipo aromático o enlazado a un carbono con doble enlace. De hecho el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN -en concreto el DEPT 135- muestra un carbono con número impar de protones (eslabón CH o  $\text{CH}_3$ ) a 136,6 ppm -un desplazamiento demasiado elevado para ser del anillo aromático del sustituyente p-bromofenilamino-, y que concuerda bastante bien con la previsión del carbono en  $\beta$  de carbonilo (139,5 ppm) de la estructura deshidrobromada **84**{7,7}.

En referencia al segundo de estos productos mayoritarios, la correspondencia de las integrales de los protones aromáticos de 7,70 ppm y 7,52 ppm y de los protones alifáticos a 4,97 ppm y 3,25 ppm -con integral de dos protones- sugieren que todas estas señales pertenecen a una única especie química. Además, el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN y el DEPT 135 muestran unas señales de carbono alifático a 27,2 ppm (eslabón  $\text{CH}_2$ ) y a 42,9 ppm (eslabón CH o  $\text{CH}_3$ ) que cuadrarían con las deducciones del  $^1\text{H}$ -RMN. Así pues, considerando globalmente toda esta información y comparándola con las correspondientes previsiones, parece ser que esta especie química podría corresponder a la estructura bromada en  $\alpha$  de carbonilo deseada **35**{7,7}.

Por último, la presencia de otras señales de protones aromáticos y las señales de protones alifáticos a 2,63 ppm indican la presencia de, como mínimo, alguna otra especie bromada.

A la vista de estos resultados, parece que es posible obtener el término dibromado deseado **35**{7,7}, aunque en la mezcla de sólidos está en una proporción prácticamente equimolar con el término dibromado **84**{7,7} (1:1,2).

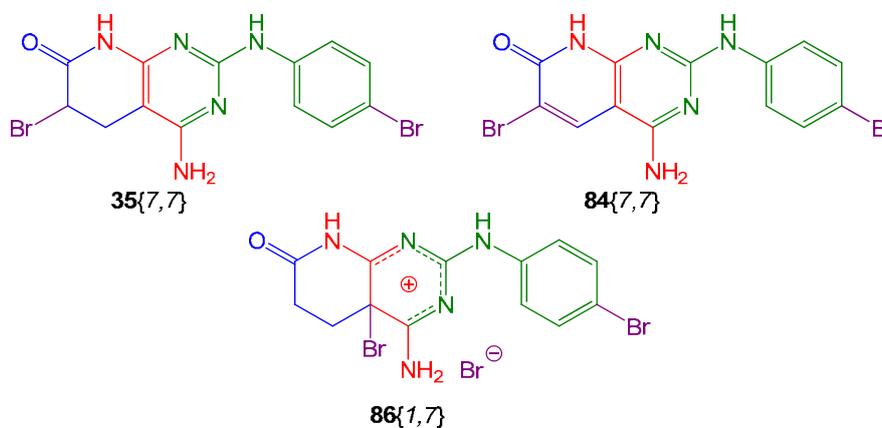
Considerando las condiciones de reacción, parecería como si la formación preferente del término dibromado **84**{7,7} fuera consecuencia de un exceso de calefacción, de tiempo de reacción o, incluso, de exceso de bromo. Hasta podría ser que se favoreciera la formación de este término por alguna combinación de estas causas.

Desgraciadamente la exploración combinada de menores tiempos de reacción (hasta 1 minuto), menores temperaturas de calefacción (hasta 50 °C) y menos equivalentes de bromo (hasta 2) no surte el efecto esperado: con mayor o menor variación en todos los casos se

observa la formación preferente del término dibromado **84**{7,7} y, además, incluso se aprecia que restan por reaccionar cantidades apreciables del heterobiciclo de partida **35**{1,6}.

Llegados a este punto del presente estudio parece que no es posible hallar una metodología sintética que permita obtener el compuesto central de toda la estrategia sintética que se pretende implementar.

En efecto, ninguna de las estrategias de dibromación ensayadas hasta este momento permite obtener el compuesto **35**{7,7}. Por el contrario, parece que las dibromaciones a temperatura ambiente sorprendentemente rinden el intermedio de Wheland bicíclico **86**{1,7} y aquellas desarrolladas con calefacción tienen tendencia a rendir el término dibromado **84**{7,7}.

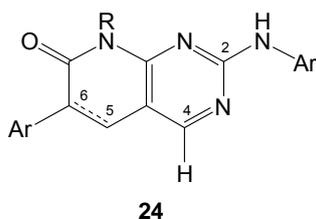


**Figura 2.87:** Términos dibromados del compuesto cabeza de serie.

Entonces, es lógico el plantearse si la estrategia sintética prevista es demasiado ambiciosa o simplemente irrealizable. Es decir, ¿se debe reenfocar el presente estudio a explorar exhaustivamente las derivatizaciones del anillo aromático 4-bromosustituido? O, por el contrario, ¿es posible emplear alguno de los términos dibromados obtenidos como sustituto del compuesto *cabeza de serie* original? Resulta evidente que una respuesta negativa a la segunda pregunta implica necesariamente una respuesta positiva a la primera.

En consecuencia, al considerar si alguno de los dos términos dibromados obtenidos podría ocupar el puesto central de toda la estrategia sintética del presente estudio, parecen claras las limitaciones del intermedio de Wheland **86**{1,7}:

- Posible falta de estabilidad: este producto podría no soportar las pertinentes transformaciones sintéticas y sus derivados -si fuera posible obtenerlos- podrían adolecer del mismo problema
- Ubicación de ambos bromos: el halógeno aromático no presenta ningún problema en este sentido, pero las evidentes restricciones estéricas de la posición bicíclica podría representar un grave problema y restringir severamente el espacio químico accesible

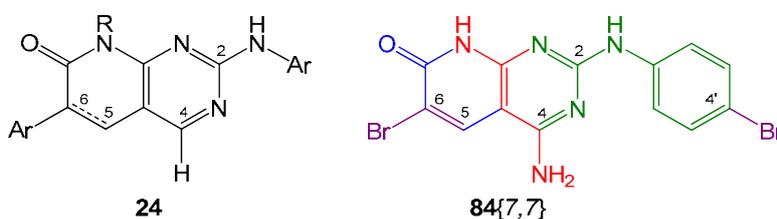


24

**Figura 2.88:** Estructura general de multitud de exitosos KI.

- Diferencias importantes respecto la estructura general de KI que se pretende mimetizar: la ausencia de puntos de derivatización en el anillo lactámico no permitiría introducir sustituyentes arílicos en C6, ni tan siquiera en C5.

Por el contrario, al considerar el compuesto dibromado **84**{7,7} y compararlo con la estructura general de inhibidores de quinasa **24** se aprecian las evidentes similitudes.



24

84{7,7}

**Figura 2.89:** Comparación entre la estructura general de multitud de exitosos KI y **84**{7,7}.

Ahora bien, aceptar que el término dibromado **84**{7,7} puede ser empleado como cabeza de serie activado y listo para ser derivatizado en las posiciones 4', 4 y 6 implica que se renuncia a explorar todo el espacio químico cuyo núcleo molecular piridopirimidínico no presenta un doble enlace en el anillo piridónico.

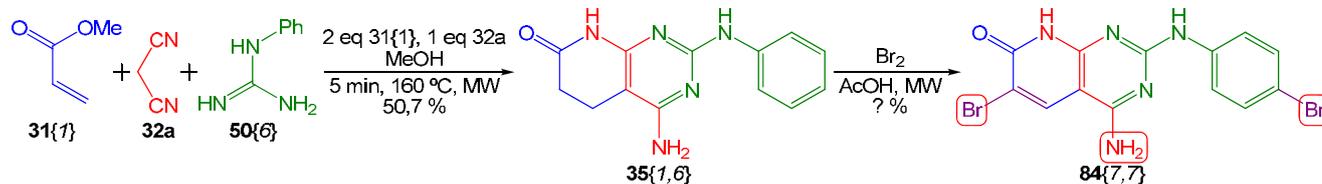
A priori, esto no debería representar ningún inconveniente para aceptar el cambio de núcleo molecular, pues la mayoría de KI exitosos son 5,6-insaturados. Pero precisamente por este motivo, se puede afirmar que ese es un espacio químico más explorado que el 5,6-saturado, en el que no existen tantos KI descritos.

No obstante, la obtención de este tipo de inhibidores suele realizarse a partir de un precursor común heterobicclico construido secuencialmente tras varias etapas sintéticas que van introduciendo diversos de los sustituyentes. Así pues, el esqueleto bicíclico final sólo suele presentar uno (a lo sumo dos) puntos de derivatización bastante limitados en cuanto a diversidad química asequible. Por el contrario, la propuesta sintética del presente capítulo -considerando ahora ya el compuesto **84**{7,7}- ofrece una variante bastante más atractiva de obtención de este tipo de KI por dos motivos principales:

- menor número de etapas de construcción y activación del núcleo molecular
- acceso a la diversidad química en las últimas etapas sintéticas.

Por ejemplo, el anteriormente citado grupo de Parke-Davis (actualmente Pfizer) construye y activa un esqueleto molecular 5,6-insaturado **24** en 6 etapas sintéticas de rendimiento global alrededor del 25 % (Klutcho et al., 1998; Boschelli et al., 1998; Palmer et al., 2005) y al final únicamente dispone de un punto de derivatización reactivo frente a aminos, alcoholes o tioles. Por el contrario, la estrategia que se está estudiando en el presente capítulo debería permitir

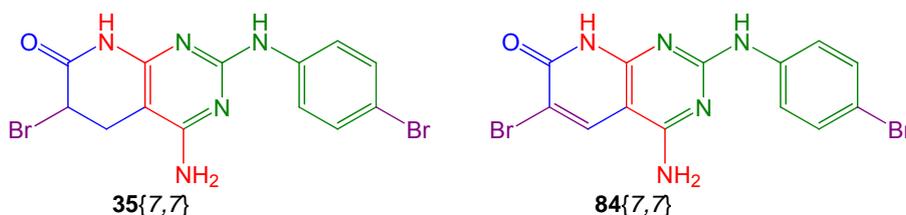
construir el núcleo molecular en un máximo de 2 etapas y dejaría 3 puntos con un alto potencial de derivatización. Ciertamente es que, por el momento, debe objetarse que no se conoce el rendimiento global de obtención del compuesto **84**{7,7}.



**Figura 2.90:** Propuesta de construcción del núcleo molecular. En rojo se enmarcan los puntos de derivatización.

Pero atención, la presencia del doble enlace en el anillo piridónico puede que confiera a este ciclo cierto carácter aromático y esto puede tener serias repercusiones sobre las posibilidades de derivatización. Es decir, mientras que la muy distinta naturaleza de ambos bromos en el compuesto **35**{7,7} permitía suponer una cierta ortogonalidad en sus sustituciones, su relativa similitud en **84**{7,7} puede que haga que sus reacciones de sustitución no sean tan selectivas.

Concretamente, en la introducción del presente capítulo se establece que un bromo aromático es fácilmente sustituible en condiciones relativamente suaves y selectivas, y por lo tanto permite enormes posibilidades: hidrógeno (Egli, **1968**), hidroxilo (Pickles et al., **1974**), alquilo (Manolikakes et al., **2008**; Wang et al., **2009**), alqueno (Kormos et al., **2008**), alquilo (Singh et al., **1989**), arilo (Chanthavong et al., **2006**; Leadbeater et al., **2007**), heteroarilo (Kim et al., **2010**), alquilo o arilo (Egger et al., **2007**), aminoderivados (Ma et al., **2003**; Zhu et al., **2007**), tioderivados (Migita et al., **1980**; Bowman et al., **1984**), sistemas (pseudo)metilénicos activos (Uno et al., **1984**; Alagille et al., **2005**), cianuro (Ushkov et al., **2011**), etc. Mientras que un bromo en  $\alpha$  de carbonilo requiere condiciones más agresivas para su sustitución: mayores tiempos de reacción, temperaturas más elevadas y reactivos más agresivos -por ejemplo, catalizadores de *Ni* para realizar acoplamiento tipo Suzuki-; por ello, el espacio químico accesible es menor. No obstante, puede ser sustituido por residuos tipo alquilo (Fischer et al., **2005**; Fuchs et al., **2005**), arilo o heteroarilo (Liu et al., **2007**), aciloxi, alquilo o arilo (Bonini et al., **2003**; Bertounesque et al., **2007**), aminoderivados (Bertounesque et al., **2007**; Reddy et al., **2007**), sistemas metilénicos activos (Krishnan et al., **2007**; Marchetti, **2003**), cianuro (Akhtar et al., **1990**; Khodairy et al., **2007**).



**Figura 2.91:** El anterior y el nuevo cabeza de serie, ambos activados para su derivatización.

Por el contrario, los bromos del sistema **84**{7,7} presentan cierta similitud estructural y, por lo tanto, sus respectivas sustituciones puede que no difieran demasiado ni en reactivos ni en

condiciones de reacción. Por ejemplo, algunos autores refieren la sustitución del bromo en  $\alpha$  de carbonilo en lactamas  $\alpha,\beta$ -insaturadas de sistemas heterobíclicos mediante un acoplamiento de Suzuki en el que se utiliza la trifenilsarina como ligando del catalizador de paladio (Palmer et al., 2005). Desgraciadamente, un proceso de este estilo también sería capaz de sustituir el bromo aromático. Pero, de todas maneras faltaría por establecer si un acoplamiento de Suzuki en condiciones suaves y con reactivos específicos podría conseguir la sustitución selectiva de uno de los bromos dejando inalterado el otro.

En consecuencia, la previsible similitud entre ambos puntos de diversidad podría comprometer seriamente las posibilidades de introducir sustituyentes distintos en estas posiciones. Pero aún y con todo, deberían estudiarse las posibilidades de sustitución selectiva de alguno de los dos bromos.

Y, por último, considerando todos los argumentos expuestos a favor y en contra del cambio del núcleo molecular, falta por decidir si se continúa el desarrollo de la estrategia sintética del presente capítulo empleando el heterobíclico **84**{7,7} como fuente de diversidad. Pues bien, en este sentido, y a pesar de ser un núcleo molecular algo más explotado que el  $\alpha,\beta$ -saturado, la mejora metodológica que puede suponer la presente propuesta justifica su desarrollo experimental. Además, la previsible similitud de reactividad de ambos bromos tampoco es irresoluble, pues muy probablemente es posible hallar condiciones lo suficientemente sensibles como para lograr su sustitución selectiva o, cuando menos, parece conveniente estudiar esta posibilidad.

En consecuencia, se decide continuar este trabajo experimental tomando como compuesto *cabeza de serie* activado el heterobíclico **84**{7,7}.

A partir de este punto, se retoma el estudio experimental de la bromación simultánea del *cabeza de serie* no bromado **35**{1,6} con bromo en ácido acético y calefacción asistida por microondas. Retomando los primeros resultados expuestos anteriormente, se recuerda que tras 1 h de calefacción a 120 °C en presencia de 3 equivalentes de bromo se obtiene una mezcla de sólidos cuyos productos mayoritarios son el término dibromado  $\alpha,\beta$ -saturado **35**{7,7} y el término dibromado **84**{7,7} en una proporción entre sí de 1:1,2.

Anteriormente en el presente apartado, se ha establecido que la conversión de **35**{1,6} y la selectividad del proceso dependen del nivel de calefacción, del tiempo de reacción, del exceso de bromo e, incluso, una combinación de estos parámetros.

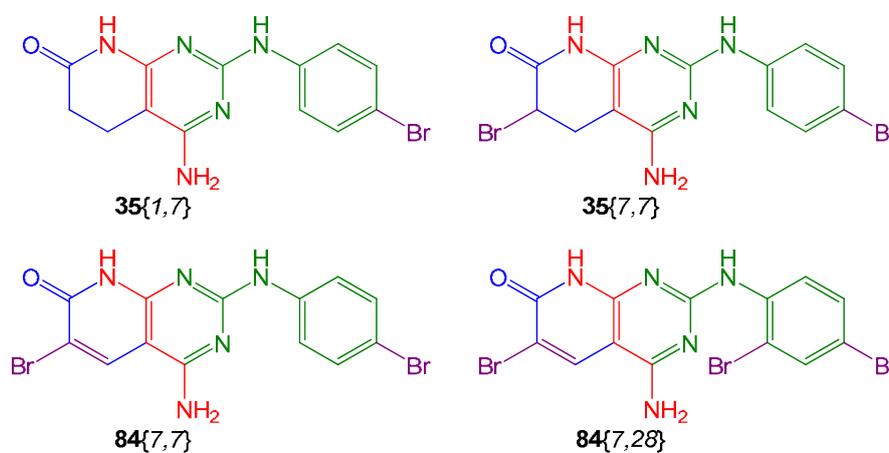
En consecuencia se decide estudiar la obtención del término dibromado **84**{7,7} variando cada uno de estos factores tal como se detalla a continuación:

- temperatura de calefacción -asistida por microondas-: entre 120 °C y 220 °C -temperatura máxima permitida por el aumento de presión dentro del vial sellado-
- tiempo de reacción: entre 1 min y 60 min

- equivalentes de bromo: entre 2 -mínimo para lograr la dibromación- y 15

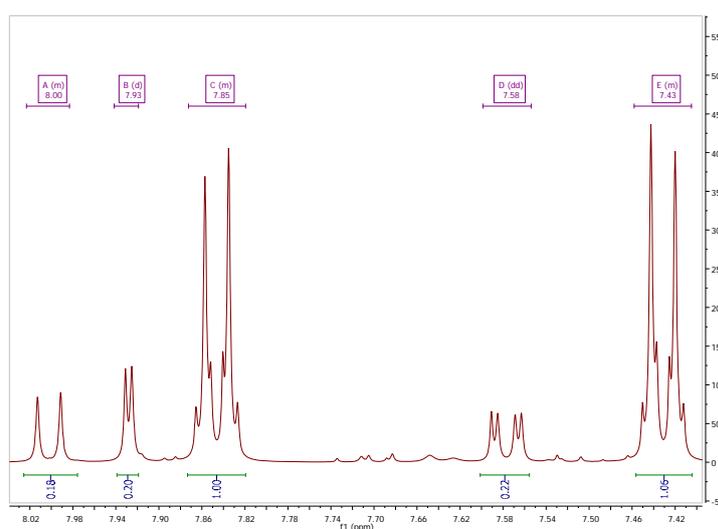
Cabe destacar que la exploración de este espacio muestral no se ha realizado de manera exhaustiva, ni siquiera planificada mediante diseño experimental alguno. El motivo de ello es que los sólidos obtenidos de cada ensayo son mezclas complejas de cómo mínimo 2 productos y, en estas circunstancias, resulta más complicado establecer una variable de respuesta clara. Es decir, ¿qué se pretende optimizar exactamente: la selectividad del proceso o el grado de conversión?

Para dar una idea de la complejidad del sistema estudiado, en la siguiente figura se refiere un conjunto de los sistemas heterobíclicos que en algunas de las combinaciones de condiciones de reacción se obtienen como productos mayoritarios.



**Figura 2.92:** Términos de bromación claramente detectados durante la optimización de la obtención de **84{7,7}**.

De todos estos términos, **84{7,28}** es el que mayor grado de bromación alcanza. De hecho, se detecta en los sólidos obtenidos de procesos con grandes excesos de bromo y alta temperatura de reacción.



**Figura 2.93:** Ampliación de  $^1\text{H}$ -RMN donde se aprecia la presencia del término tribromado.

Como ejemplo de ello, en la anterior figura se muestra la región aromática del  $^1\text{H}$ -RMN de la mezcla de sólidos obtenida tras 1 minuto de calefacción a 200 °C en presencia de 15

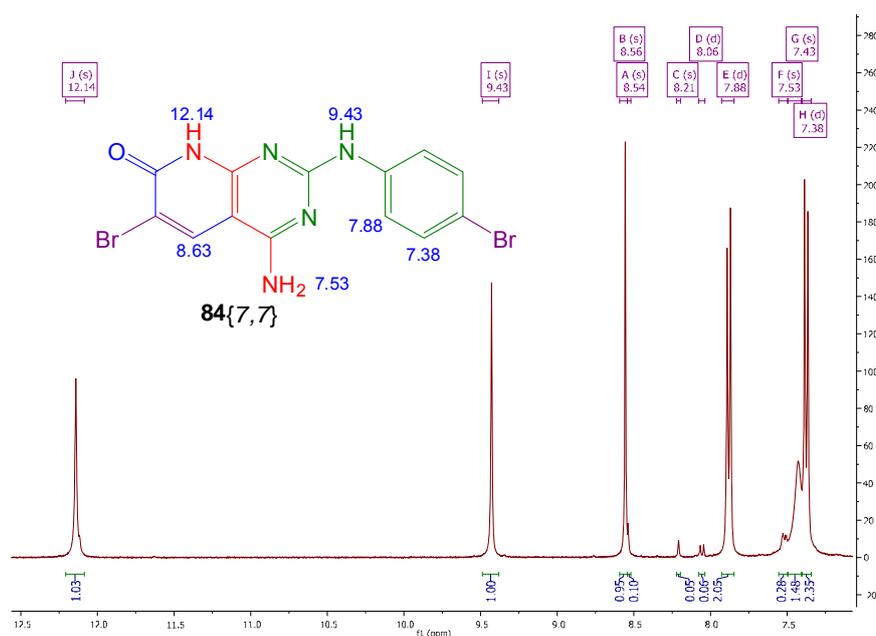
equivalentes de bromo en la que este término de tribromación representa aproximadamente el 30 % del producto obtenido. Concretamente, las señales de integral correspondiente a 1 protón presentes a 7,58 ppm, 7,93 ppm y 8,00 ppm muestran la multiplicidad de un producto aromático 1,2,4-trisustituido que indica la presencia de **84**{7,28}.

Tras realizar multitud de ensayos dentro del espacio muestral anteriormente delimitado, se logra determinar que las condiciones en las que el rendimiento en el producto deseado **84**{7,7} y su pureza son máximas son:

- exceso de bromo de 10 equivalentes
- 3 minutos de calefacción
- 200 °C

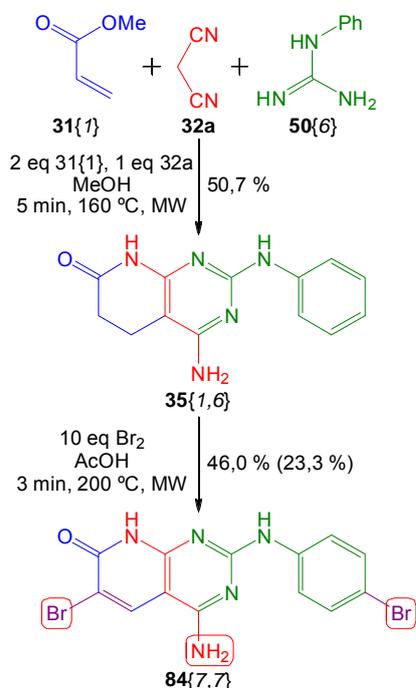
En estas condiciones se obtiene una mezcla de sólidos con una pureza del 73 % en **84**{7,7}, y la presencia de **84**{7,28} en un 20 % y **35**{7,7} al 7 %. Lo cierto es que el grado de pureza del producto no es especialmente elevado e, incluso, puede suponer un problema cuando se intenten implementar las distintas derivatizaciones. Por consiguiente, se decide estudiar la purificación del producto mediante recristalización, que es el único método que previsiblemente puede funcionar con una mezcla de productos tan insolubles -en frío sólo se disuelven en DMSO y TFA-.

Así pues, tras ensayar este proceso empleando ácido acético, etanol y metanol, se determina que este último es el disolvente más conveniente. De hecho, tras una primera etapa de purificación de la mezcla de sólidos obtenida, se logra una recuperación de producto del 67 %, la completa eliminación de la impureza de **35**{7,7} y la reducción de la proporción de **84**{7,28} hasta el 14 %. Es decir, se mejora la pureza del 73 % al 86 %.



**Figura 2.94:**  $^1\text{H}$ -RMN del término dibromado tras dos recristalizaciones en MeOH.

Al repetir el proceso de recristalización se logra obtener **84**{7,7} con una pureza superior al 95 % -tal como muestra la anterior figura- y un rendimiento de obtención global del 46,0 %. Es de suponer que con este grado de pureza es posible proceder al estudio de la sustitución de los bromos.



**Figura 2.95:** Estrategia de construcción del núcleo molecular. En rojo se enmarcan los puntos de derivatización.

Recuperando la reflexión sobre las ventajas estratégicas de esta ruta de síntesis del esqueleto heterocíclico en comparación a la ruta propuesta por el grupo de Parke-Davis (actualmente Pfizer), quedaba claro que la reducción de etapas validaba la propuesta del presente trabajo.

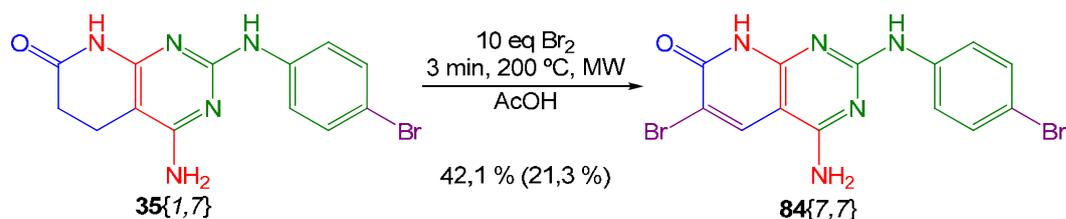
Restaba por establecer si el rendimiento global de ambas rutas también era favorable pero faltaban datos de rendimiento de obtención de **84**{7,7}. Ahora pues, conocido el rendimiento de la última etapa sintética, es posible calcular el rendimiento global, que es del 23,3 %.

Este rendimiento es claramente equiparable al 25 % referido por el grupo de Parke-Davis (actualmente Pfizer). Por consiguiente, la estrategia desarrollada en el presente trabajo no supone una gran mejora en este sentido.

No obstante, tanto como por el número de etapas sintéticas como por el punto en el que se introducen los sustituyentes responsables de la diversidad, parece que esta estrategia puede ser bastante atractiva.

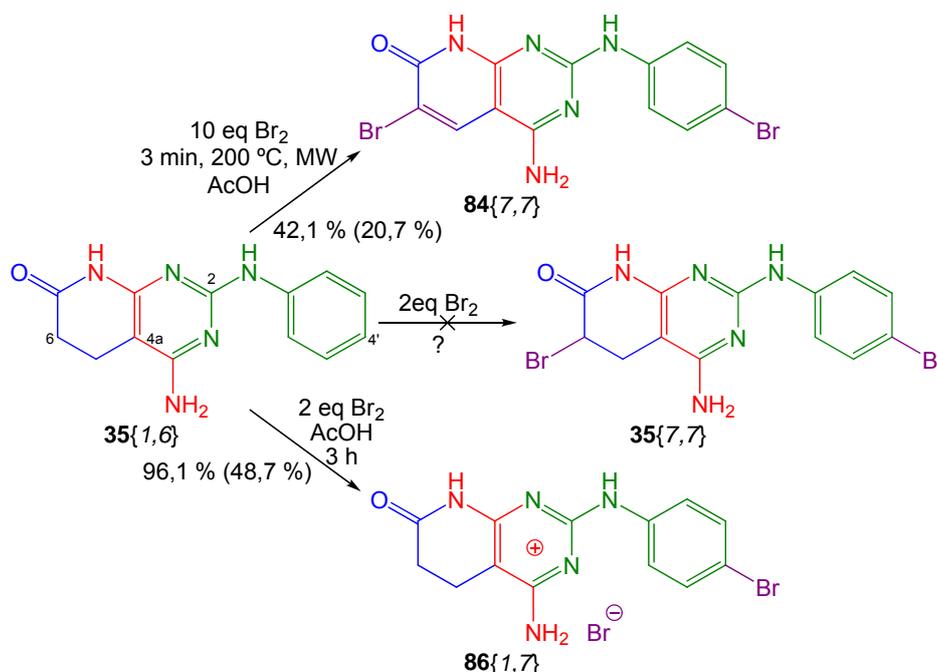
Por último, lograda la conversión del heterocíclico no bromado **35**{1,6} en el producto dibromado **84**{7,7}, se decide ensayar el mismo proceso para transformar el término monobromado **35**{1,7} en este producto dibromado.

Afortunadamente, la metodología implementada es lo suficientemente robusta para rendir el producto deseado con una pureza también superior al 95 % -tras sendas etapas de recristalización en metanol- y con un rendimiento del 42,1 %.



**Figura 2.96:** Conversión del término monobromado en el dibromado.

Recapitulando, los resultados de los ensayos de dibromación simultánea del compuesto cabeza de serie **35**{1,6} muestran que el proceso a temperatura ambiente se comporta de manera equivalente a la dibromación secuencial estudiada en el anterior apartado, pero permite obtener el intermedio de Wheland **86**{1,7} con mejores rendimientos de reacción. Por el contrario, al implementar el proceso con calefacción se forma preferentemente el término de deshidrobromación **84**{7,7}, tal como la experiencia previa del Laboratorio de Síntesis apuntaba.



**Figura 2.97:** Resumen de los intentos de dibromación simultánea del cabeza de serie. Entre paréntesis el rendimiento global desde el compuesto cabeza de serie.

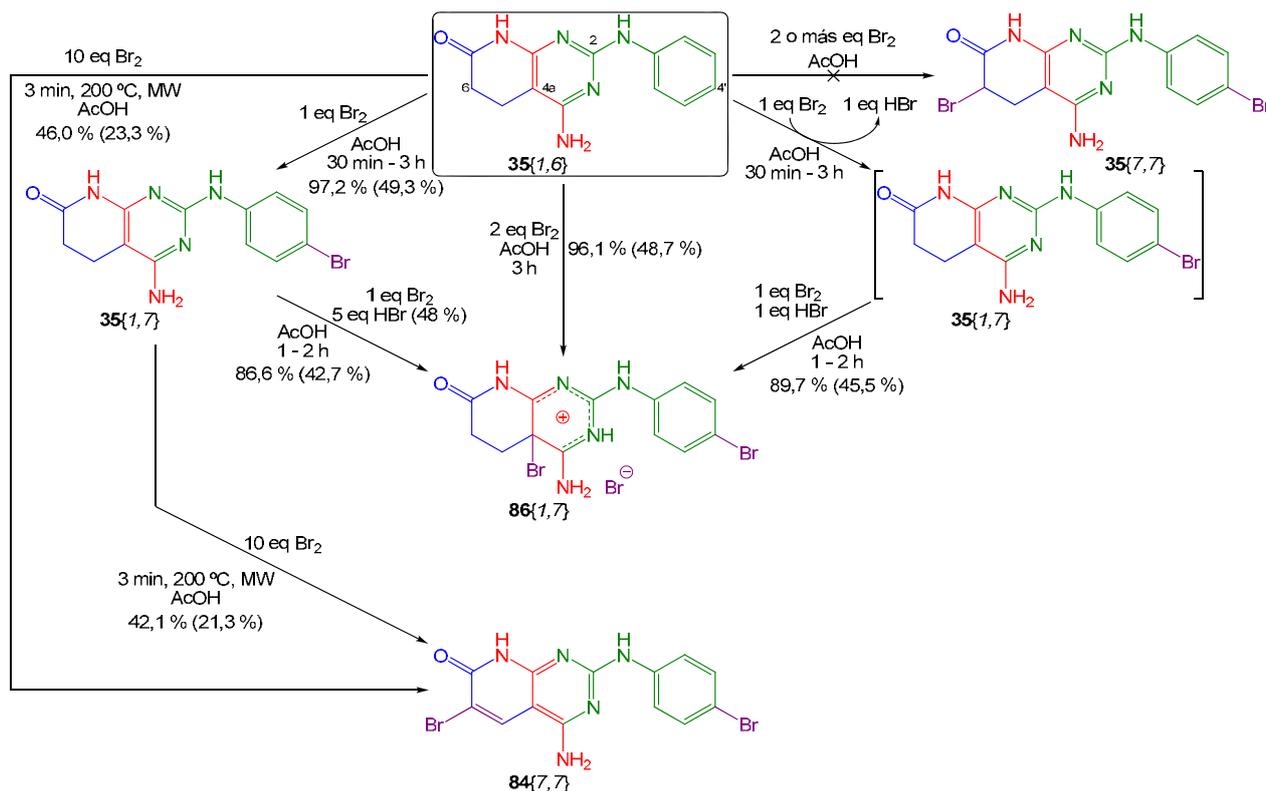
#### 2.4.2.3. Resumen de los ensayos de dibromación del cabeza de serie

Al considerar globalmente todos los resultados experimentales correspondientes a la dibromación del compuesto **35**{1,6} y resumidos gráficamente en la siguiente figura, se observan fundamentalmente los siguientes aspectos:

- a temperatura ambiente y en presencia de dos o más equivalentes de bromo -independientemente de si se adicionan de una sola vez o secuencialmente-, se obtiene en cualquier caso -y muy sorprendentemente- un intermedio de Wheland correspondiente a la bromación del anillo pirimidínico mediante un mecanismo tipo SEAr y del que no se ha hallado ningún precedente en la bibliografía
- con calefacción y en presencia de dos o más equivalentes de bromo se obtiene preferentemente el término dibromado **84**{7,7}, eso sí, impurificado con el heterociclo **35**{7,7}, que en ningún caso llega a ser el producto mayoritario
- la síntesis del intermedio de Wheland **86**{1,7} presenta rendimientos globales -desde el cabeza de serie **35**{1,6}- en todos los casos superiores al 80 % y, en el caso de la

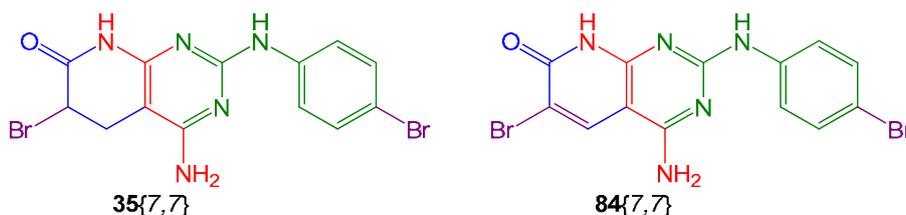
bromación en un sola etapa, prácticamente cuantitativo, hecho que sugiere cierta sinergia entre ambos procesos de bromación implicados

- para la obtención de este producto tan peculiar es necesaria la presencia de, al menos, un equivalente de ácido bromhídrico, ya que su contra-anión estabiliza la estructura bicíclica con carga positiva
- el bromo en ácido acético es la mejor combinación de agente de bromación y disolvente de todas las ensayadas, además con las otras combinaciones no se aprecia cambio alguno en la reactividad descrita



**Figura 2.98:** Resumen de los intentos de dibromación del cabeza de serie. Entre paréntesis se indica el rendimiento global.

Por último, como resultado de la reactividad observada, en lugar de emplear el término dibromado **35{7,7}** como núcleo molecular a partir del que generar toda la diversidad química prevista, se decide continuar el presente estudio en base al término dibromado **84{7,7}**, aún a riesgo de que la previsible poca diferencia de reactividad entre ambos bromos no permita la ortogonalidad deseada en sus sustituciones.

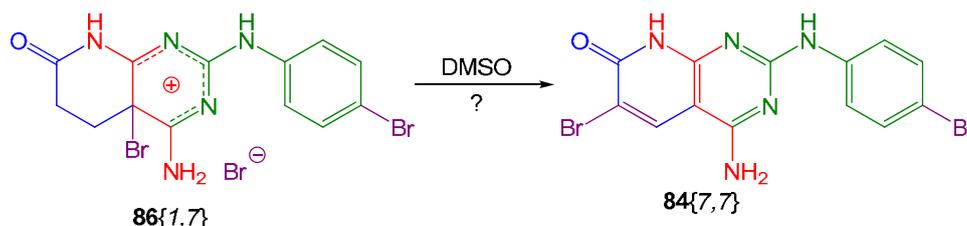


**Figura 2.99:** El anterior y el nuevo cabeza de serie, ambos activados para su derivatización.

### 2.4.3. Evolución del compuesto **86{1,7}** al término dibromado **84{7,7}**

Durante el estudio de la síntesis del intermedio de Wheland bicíclico **86{1,7}** se analizan varias muestras de este producto mediante espectroscopía de RMN. A tal efecto, se disuelve dicho producto en DMSO- $d_6$  y se registran los correspondientes espectros sin mayor novedad.

Pues bien, muy sorprendentemente, al volver a registrar los espectros de estas muestras -disueltas durante 72 h-, en lugar de obtener el resultado esperado y correspondiente a **86{1,7}**, se observan el perfil de señales de **84{7,7}**. Y, además los  $^1\text{H}$ -RMN muestran que la conversión es completa y el producto de muy elevada pureza.

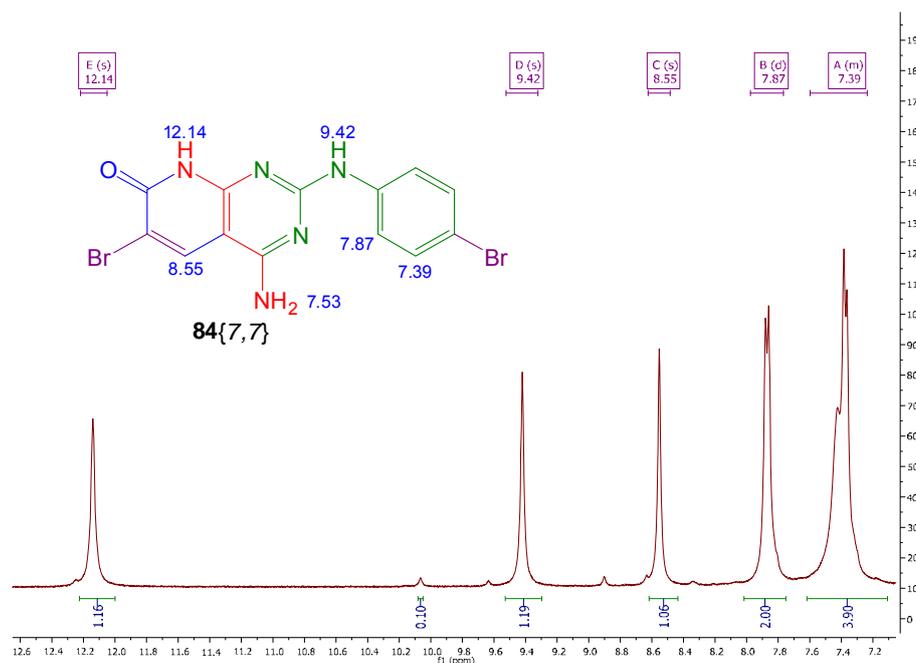


**Figura 2.100:** Posible conversión del intermedio de Wheland bicíclico.

La perspectiva de que este proceso fuera posible resulta extremadamente atractiva principalmente por dos motivos:

- recuperación de todas las rutas sintéticas de dibromación que parecían llevar al callejón sin salida de **86{1,7}**
- los rendimientos de dichas rutas son casi el doble que el rendimiento del proceso de dibromación que rinde **84{7,7}** y, en algún caso, casi son cuantitativos

Pero antes de estudiar el proceso e intentarlo optimizar, parece perentorio probar si este resultado es reproducible.



**Figura 2.101:**  $^1\text{H}$ -RMN resultado de la conversión del intermedio de Wheland en DMSO.

Pues bien, al someter a agitación magnética una solución de 5 mL de DMSO (no anhidro) con 44 mg (89  $\mu\text{mol}$ ) de **86**{1,7} durante 20 h, se logra reproducir su conversión en **84**{7,7} con un rendimiento de producto aislado del 57,4 % -por precipitación con agua y exhaustivo lavado con agua, etanol y éter- y una pureza alrededor del 95 %. En la anterior figura se muestra el  $^1\text{H}$ -RMN del sólido obtenido en esta experiencia.

A partir de estos resultados se decide trabajar en la optimización del proceso. Con este propósito se estudia su rendimiento de manera no exhaustiva ni planificada dentro del espacio muestral definido por las siguientes condiciones de reacción:

- temperatura de calefacción -asistida por microondas en vial cerrado-: entre 40 °C y 120 °C
- tiempo de reacción: entre 10 min y 60 min

En todos los casos se obtienen sólidos que son combinación únicamente del término dibromado **84**{7,7} -mayoritario, en una proporción mínima de 2:1- y del término monobromado **35**{1,7} -minoritario-, pero a temperaturas superiores a 100 °C y tiempos de reacción de 60 min se obtienen mezclas mucho más complejas.

Además, tras los procesos de irradiación con microondas y al abrir sus respectivos sellos de cierre, se aprecia un fuerte olor a sulfuros o tioéteres. De esta constatación, se puede deducir que este proceso implica la evolución de sustancias volátiles y, también, que tiene lugar algún proceso químico que genera este tipo de sustancias a partir del DMSO.

Considerando que esta evolución de sustancias volátiles puede tener alguna relación con el proceso de conversión de **86**{1,7} en **84**{7,7}, se decide estudiar la reacción sin sellar el recipiente de reacción o, incluso, favoreciendo la extracción de esas sustancias mediante la aplicación de vacío.

En este sentido, se trata una solución del intermedio de Wheland heterobíciclico **86**{1,7} en DMSO a 80 °C durante 17 h (*overnight*) en un balón de reacción con agitación magnética y abierto a la atmósfera. De este modo se obtiene el término dibromado en forma de sólido blanco algo manchado con un rendimiento de reacción del 87,3 %.

Por otro lado, se ensaya este mismo proceso sometiendo una solución del intermedio de Wheland heterobíciclico **86**{1,7} en DMSO a 80 °C y vacío de 50 mbar durante 3 h. De este modo se obtiene el término dibromado en forma de sólido blanco algo manchado con un rendimiento de reacción del 78,6 %.

Por último, afortunadamente, la repetición de ambas experiencias permite obtener el producto **84**{7,7} con rendimientos completamente equivalentes: 85,4 % y 80,1 %, respectivamente.

Estos excelentes resultados demuestran que efectivamente el proceso de conversión del intermedio de Wheland está asociado a la formación de algún tipo de producto volátil que, considerando su mal olor, debe ser una especie con azufre. En consecuencia, el disolvente de reacción (DMSO) participa de algún modo en el proceso. Más adelante se retoma esta discusión.

Además, estos rendimientos de reacción demuestran que el proceso de conversión del intermedio de Wheland bicíclico en el término de deshidrobromación es posible y extremadamente efectivo.

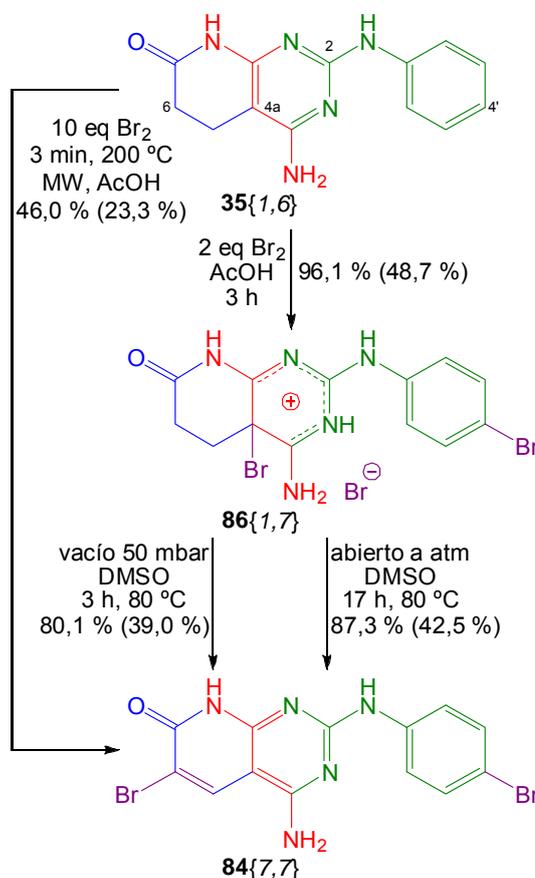
Y por si fuera poco, puesto que esta conversión funciona convenientemente, todas las rutas de obtención de **86**{1,7} cobran de nuevo interés, especialmente porque sus rendimientos de reacción son también excelentes -sobre todo la dibromación simultánea-.

Así pues, al considerar en conjunto estas dos observaciones, se puede concluir que es posible obtener el *cabeza de serie* activado **84**{7,7} en tres etapas desde los reactivos comerciales con un rendimiento global de alrededor del 40 %.

Al comparar este rendimiento global y el número de etapas de esta ruta sintética con su equivalente de Parke-Davis (actualmente Pfizer) se aprecia que esta última es claramente menos efectiva, pues su rendimiento global es del 25 % y son necesarias 6 etapas de síntesis para llegar hasta el heterobisíclo derivatizable. En consecuencia, la estrategia desarrollada en el presente trabajo puede representar una herramienta muy versátil para la síntesis de quimiotecas de compuestos con potencial actividad KI.

Aunque establecer el mecanismo de esta conversión va más allá del alcance del presente estudio, parece pertinente plantear alguna propuesta que, incluso, pueda justificar la formación de (como mínimo) una especie volátil cuya estructura probablemente contiene azufre.

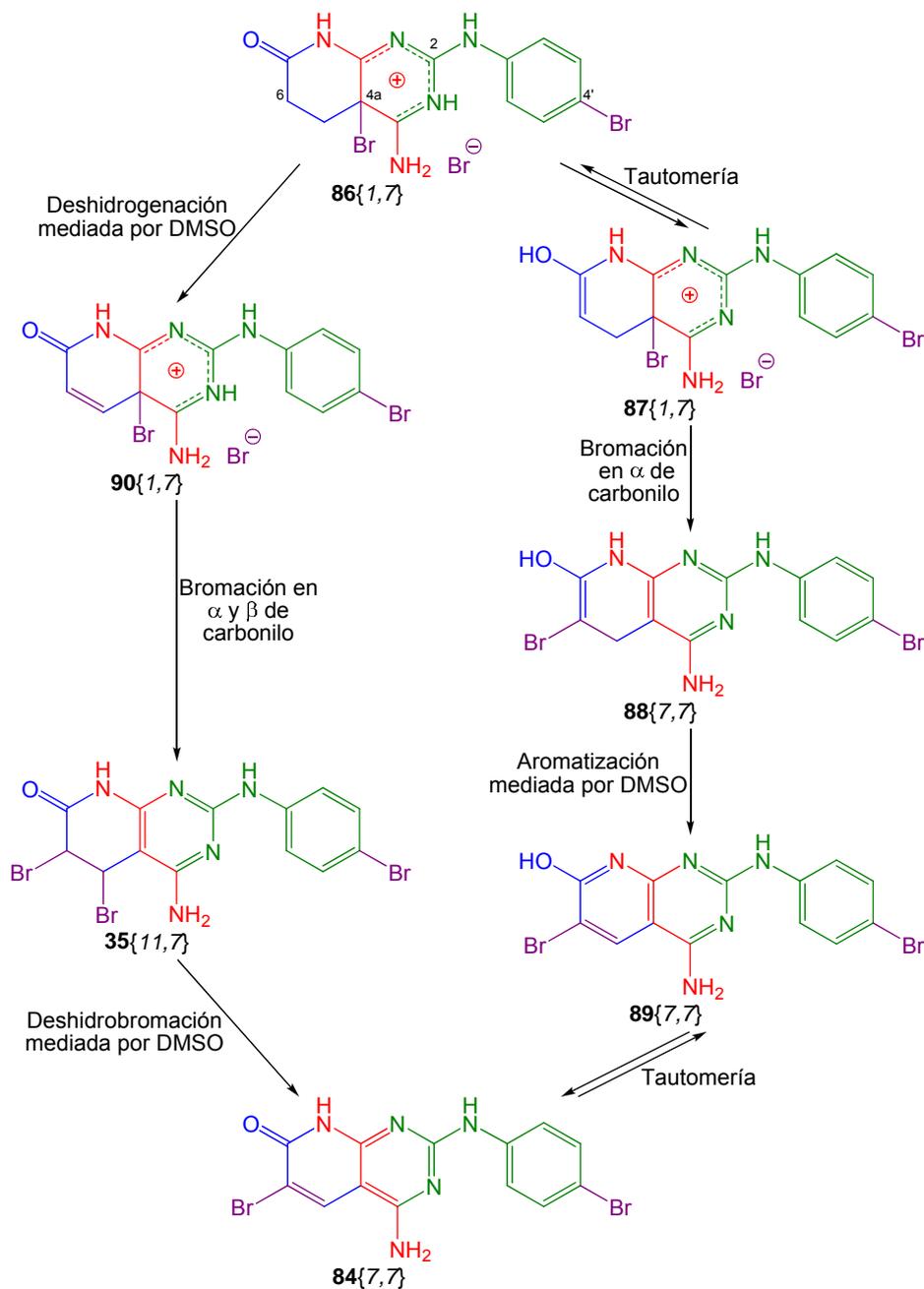
No obstante, antes de formular ninguna propuesta, hay que referir una información experimental que puede tener su importancia. Al tratar cierta cantidad de intermedio de Wheland heterobisíclico de elevada pureza -cumple el AEO- con una solución saturada en sulfito sódico a temperatura ambiente, se observa la completa decoloración del sólido en suspensión tras 10 minutos. Al aislar el sólido se obtiene con rendimiento cuantitativo el



**Figura 2.102:** Estrategias de obtención del término dibromado.

término de monobromación **35**{1,7}. Por equivalencia con el comportamiento de la *N*-bromosuccinimida, esta experiencia puede indicar que **86**{1,7} también es capaz de generar bromonio, es decir, que puede actuar como agente de bromación en las condiciones más convenientes. La justificación de ello podría ser que, a falta de posibilidad de completar la SEAR mediante la liberación de un protón -o algún otro grupo saliente-, revertir el bromonio permite que se obtenga un producto más estable: **35**{1,7}.

A partir de esta última información, se plantean dos propuestas mecanísticas que podrían justificar la formación del término dibromado **84**{7,7} a partir del intermedio de Wheland **86**{1,7}.



**Figura 2.103:** Propuestas de mecanismo de conversión del intermedio de Wheland.

Ambas propuestas implican una etapa de bromación del anillo lactámico y además, recogiendo los indicios sobre el probable papel del DMSO en la conversión, también incorporan etapas de reacción en las que este disolvente actúa como agente redox.

La propuesta planteada a la derecha de la anterior figura supone que sería posible la bromación en  $\alpha$  de carbonilo del anillo piridónico mediante el tautómero enólico de **86**{1,7}. Probablemente la presencia de trazas de ácido bromhídrico o bromo en el sólido del intermedio de Wheland podría facilitar el proceso. Además, existen precedentes bibliográficos de transformaciones de este estilo: Sreedhar describe como bromar posiciones  $\alpha$  de carbonilo de lactamas con NBS en DMSO (Sreedhar et al., **2007**).

La siguiente etapa sintética planteada supondría la aromatización del anillo piridónico mediante la acción oxidante del DMSO. De hecho, en la figura anterior se muestra el tautómero enólico **88**{7,7} del término dibromado **35**{7,7} para evidenciar que se trata de una estructura proaromática. Este tipo aromatización sería bastante semejante a la que se ha descrito anteriormente para los términos proaromáticos resultantes de reacciones tipo Diels-Alder (Joo et al., **1998**) y para la obtención de imidazoles a partir de sus precursores 3,4-saturados (Anastassiadou et al., **2000**). Los dos tipos de sistemas recogidos en la bibliografía comparten una característica común: la presencia de sustituyentes aceptores mesómeros que permiten la conjugación electrónica del nuevo anillo aromático. De hecho, al analizar el sistema heterobicclico **84**{7,7}, se podría considerar que el anillo pirimidínico vecinal (muy electrófilo) juega el mismo papel que los aceptores de los citados trabajos. Además, estos mismos autores también describen la formación de especies reducidas de DMSO (como, por ejemplo, el sulfuro de dimetilo) que serían las culpables del fuerte olor percibido.

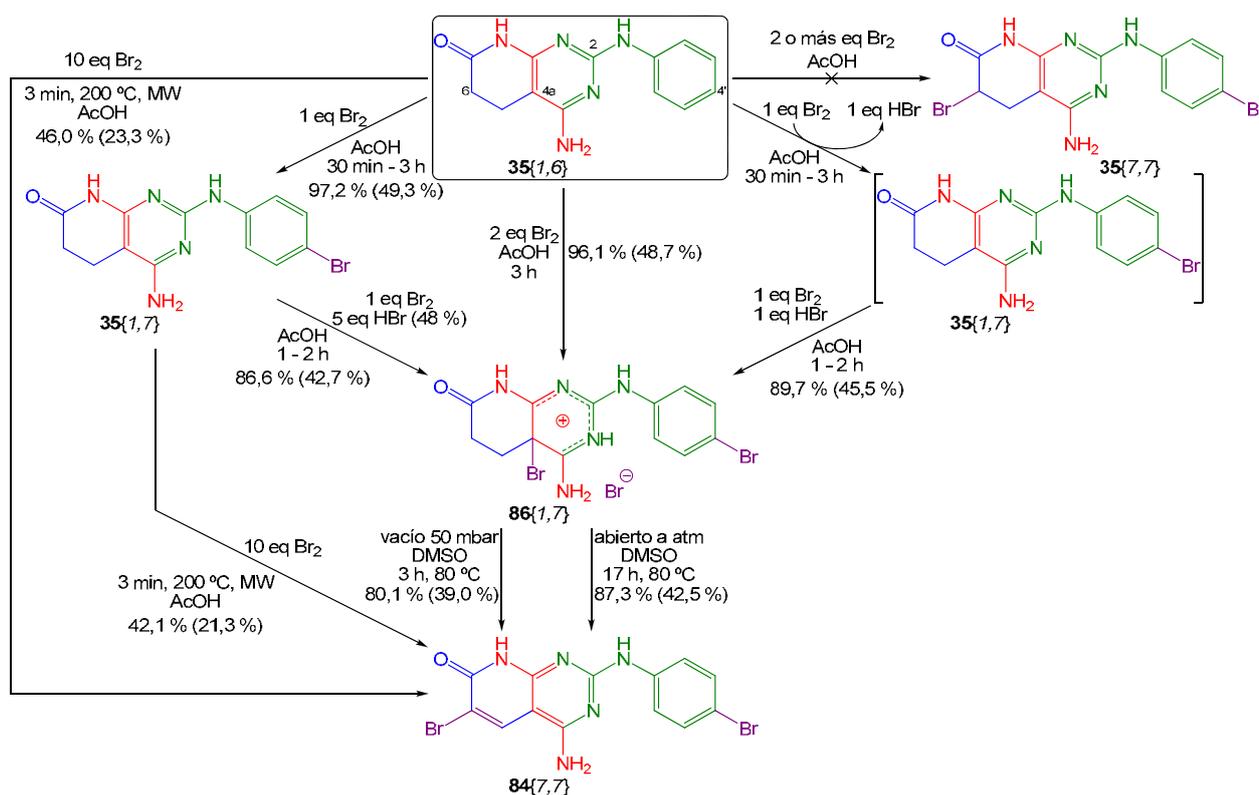
La propuesta planteada a la izquierda de la anterior figura supone que la primera etapa de reacción podría ser la deshidrogenación del anillo piridónico de manera análoga a como se acaba de describir. Ciertamente este proceso no está previsiblemente nada favorecido puesto que en este caso no se genera un sistema aromático. No obstante, si las siguientes etapas de reacción estuvieran lo suficientemente favorecidas, sería posible que lograsen forzar este proceso.

La próxima etapa propuesta podría corresponder a una bromación en  $\alpha$  y  $\beta$  de carbonilo mediante la adición al doble enlace piridónico del bromonio del puente bicíclico y el correspondiente bromuro. Este tipo de adiciones a doble enlace conjugado con amida están ampliamente descritas en la bibliografía.

Para acabar, debería darse una deshidrobromación con el halógeno en  $\beta$  de carbonilo. De hecho, existe una única referencia bibliográfica en la que los autores describen esta eliminación gracias a que el DMSO favorece la tautomería enólica del producto y actúa sucesivamente como nucleófilo y como grupo saliente (Li et al., **2007**). Además, de igual modo que se ha

comentado anteriormente, la posible presencia de trazas de ácido bromhídrico en el sólido inicial podría favorecer este mismo proceso, tal como refieren estos mismos autores. Desgraciadamente, esta reactividad se ha descrito para aldehidos, cetonas, ácidos y ésteres pero no para amidas, contratiempo que podría ser compensado por la posibilidad de conjugación con el anillo pirimidínico.

Por último, al considerar globalmente ambas propuestas, parecería más verosímil aceptar que la conversión del intermedio de Wheland en el término dibromado **84**{7,7} transcurre mediante el itinerario basado en la aromatización del anillo protoaromático piridónico gracias a la acción redox del DMSO empleado como disolvente. En este sentido, la propuesta basada en la deshidrobromación mediada por DMSO supondría aceptar que el primer proceso de deshidrogenación puede darse a pesar de ser previsiblemente muy desfavorable. Sin embargo, no hay que dejar de considerar que la aromatización que se logra en el producto final **84**{7,7} podría suponer una *driving force* tan poderosa como para desencadenar este u otros procesos que pudieran ser considerados a priori como poco probables.



**Figura 2.104:** Resumen de los intentos de dibromación del cabeza de serie. Entre paréntesis se indica el rendimiento global.

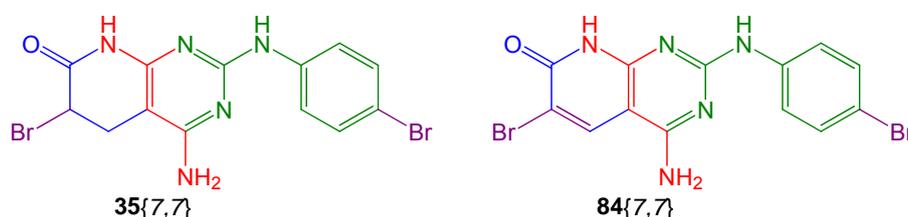
Resumiendo, como se puede apreciar en la anterior figura, hasta el momento se ha podido desarrollar todo un conjunto de transformaciones sintéticas que convergen con mayor o menor efectividad en el compuesto *cabeza de serie* dibromado **84**{7,7}. De todas estas posibilidades, la mejor es la que transcurre a través de la bromación simultánea del cabeza de serie **35**{1,6} y de la conversión en DMSO del intermedio de Wheland heterobíciclico.

#### 2.4.4. Derivatización del término dibromado 84{7,7}

El desarrollo de la estrategia sintética que se pretende implementar en el presente trabajo pasa por lograr sustituir selectivamente los bromos presentes en la estructura heterocíclica del *cabeza de serie* activado.

Esta selectividad depende fundamentalmente de la reacción de sustitución (reactivos y condiciones) que se emplee en cada caso y de la diferencia de reactividad de cada uno de los bromos que deben ser reemplazados.

Desafortunadamente, en los anteriores apartados se ha establecido que no es posible obtener el término dibromado 5,6-saturado 35{7,7} y que únicamente es posible la síntesis (muy favorable) del término dibromado 84{7,7}. Este producto, se ha considerado lo suficientemente atractivo como para continuar con el desarrollo experimental, pero entre los interrogantes sobre su utilidad como sustrato a partir del cual generar diversidad, precisamente el más serio es la similitud estructural de ambos bromos.

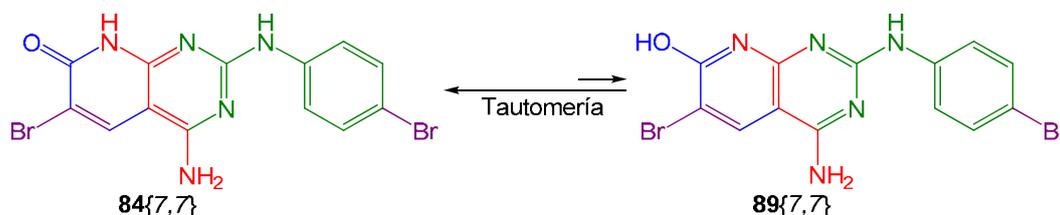


**Figura 2.105:** El anterior y el nuevo cabeza de serie, ambos activados para su derivatización.

Concretamente, la estructura objetivo original 35{7,7} presentaba un bromo aromático y un bromo alifático en  $\alpha$  de carbonilo. Y, si bien la presencia de este grupo tan electrófilo facilitaría las reacciones de sustitución, en ningún caso la reactividad de este halógeno puede considerarse equivalente a la del bromo aromático, que es mucho más fácilmente sustituible.

En este sentido, tal como se comenta en la introducción del presente capítulo, un bromo aromático se puede reemplazar fácilmente en condiciones relativamente suaves y selectivas, y por lo tanto permite enormes posibilidades: hidrógeno (Egli, 1968), hidroxilo (Pickles et al., 1974), alquilo (Manolikakes et al., 2008; Wang et al., 2009), alqueno (Kormos et al., 2008), alquilo (Singh et al., 1989), arilo (Chanthavong et al., 2006; Leadbeater et al., 2007), heteroarilo (Kim et al., 2010), alquilo o arilo (Egger et al., 2007), aminoderivados (Ma et al., 2003; Zhu et al., 2007), tioderivados (Migita et al., 1980; Bowman et al., 1984), sistemas (pseudo)metilénicos activos (Uno et al., 1984; Alagille et al., 2005), cianuro (Ushkov et al., 2011), etc. Por el contrario, un bromo en  $\alpha$  de carbonilo requiere condiciones más agresivas para su sustitución: mayores tiempos de reacción, temperaturas más elevadas y reactivos más agresivos -por ejemplo, catalizadores de Ni para realizar acoplamiento tipo Suzuki-. No obstante, puede ser sustituido por residuos tipo alquilo (Fischer et al., 2005; Fuchs et al., 2005), arilo o heteroarilo (Liu et al., 2007), aciloxi, alquilo o arilo (Bonini et al., 2003; Bertounesque et al., 2007), aminoderivados (Bertounesque et al., 2007; Reddy et al., 2007), sistemas metilénicos activos (Krishnan et al., 2007; Marchetti, 2003), cianuro (Akhtar et al., 1990; Khodairy et al., 2007).

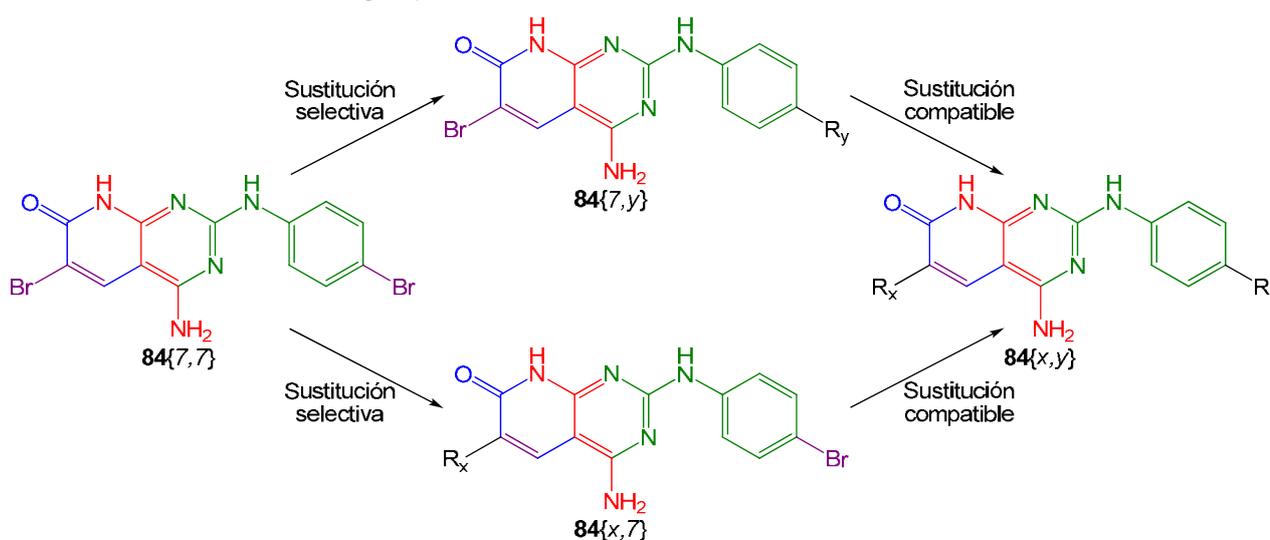
La nueva estructura dibromada **84**{7,7} presenta un bromo aromático y un bromo en  $\alpha$  de carbonilo de un sistema piridónico que en realidad es aromático. De hecho, tal como muestra la siguiente figura, existe un equilibrio tautomérico entre la forma aromática **89**{7,7} y la forma piridónica, aunque éste se halla tan desplazado hacia esta última forma que en la práctica es la que se observa mediante espectroscopía (Gilchrist, 1995). En consecuencia, se puede prever que esta similitud estructural puede hacer que sus respectivas sustituciones no difieran demasiado entre sí en cuanto a reactivos y a condiciones de reacción.



**Figura 2.106:** Equilibrio tautomérico fuertemente desplazado a la forma piridónica.

Como ejemplo de esta posible similitud de reactividad entre ambos bromos basta con decir que algunos autores refieren la sustitución del halogeno en  $\alpha$  de carbonilo en lactamas  $\alpha,\beta$ -insaturadas de sistemas heterobíclicos mediante un acoplamiento de Suzuki en el que se utiliza la trifenilarisina como ligando del catalizador de paladio (Palmer et al., 2005), un proceso que también sería capaz de sustituir el bromo aromático. Pero además, por desgracia, también existen trabajos en los que las metodologías son idénticas a las empleadas para la sustitución de un bromo aromático (Tremblay et al., 2007; Wang et al., 2007).

A causa de esta nueva situación, provocada por el cambio de la estructura 5,6-saturada **35**{7,7} por la del término dibromado **84**{7,7}, es necesario estudiar si las sustituciones en alguno de los dos bromos son selectivas, pues en caso contrario la diversidad asequible mediante esta estrategia quedaría seriamente limitada.



**Figura 2.107:** Estrategia de sustitución del término dibromado.

De hecho, debería ser posible reemplazar selectivamente uno de los dos bromos para, posteriormente, introducir un nuevo sustituyente sobre el que aún quedaría en la estructura. En este sentido, como no se puede establecer inequívocamente cual de ellos es más reactivo, no se puede prever qué punto será el primero en ser sustituido. Incluso pudiera ser que el primer halógeno en ser sustituido dependiera de cada reacción en particular o de las condiciones empleadas en ésta.

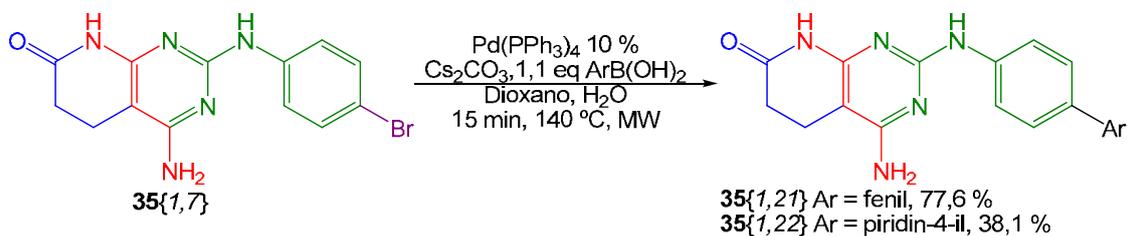
Tras obtener el término monosustituido -sea cual fuere-, la segunda reacción de sustitución debería ser lo suficientemente suave y generalizable como para no suponer limitaciones a los residuos introducidos en la primera etapa.

Para estudiar la validez de la estrategia propuesta, no se pretende ensayar exhaustivamente toda la casuística de reacciones y derivados asequibles, si no una pequeña selección más o menos representativa que permita establecer si es posible la selectividad de la sustitución.

En este sentido, considerando los satisfactorios resultados obtenidos en apartados anteriores con la reacción de Suzuki sobre el término de monobromación **35{1,7}**, se toma este proceso como ejemplo para estudiar estas posibilidades de selectividad. Un resultado favorable supondría que es posible emplear satisfactoriamente catalizadores de Pd(0) (o equivalentes) y, con ello, introducir sustituyentes distintos (o incluso iguales) y de muy diversa índole en cada uno de los puntos.

#### 2.4.4.1. Acoplamientos de Suzuki sobre el compuesto dibromado **84{7,7}**

La experiencia acumulada con esta reacción en el presente trabajo se centra en la sustitución del bromo aromático del término monobromado **35{1,7}** por sendos residuos de fenilo y piridinilo.



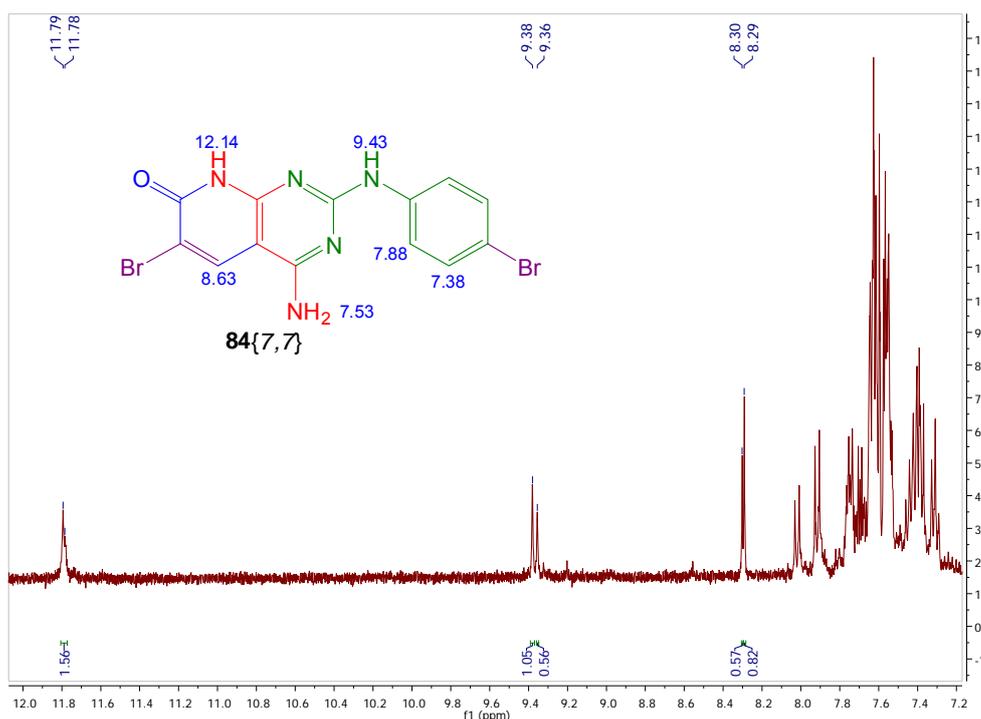
**Figura 2.108:** Monobromación del cabeza de serie y sus sustituciones ensayadas.

La gran ventaja de explorar estas reacciones sobre el producto monobromado residía en la ausencia del segundo punto de derivatización y, por lo tanto, las condiciones de reacción implementadas no tenían porque ser necesariamente suaves ni selectivas.

Concretamente, las condiciones bajo las que se pueden lograr las sustituciones referidas en la anterior figura son las siguientes:

- calefacción a 140 °C durante 15 minutos mediante irradiación con microondas
- catálisis del 10 % molar de tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)
- 2,5 equivalentes de carbonato césico
- 1,1 equivalentes de ácido arilborónico
- mezcla desoxigenada de dioxano y agua 5:1 como disolvente de reacción.

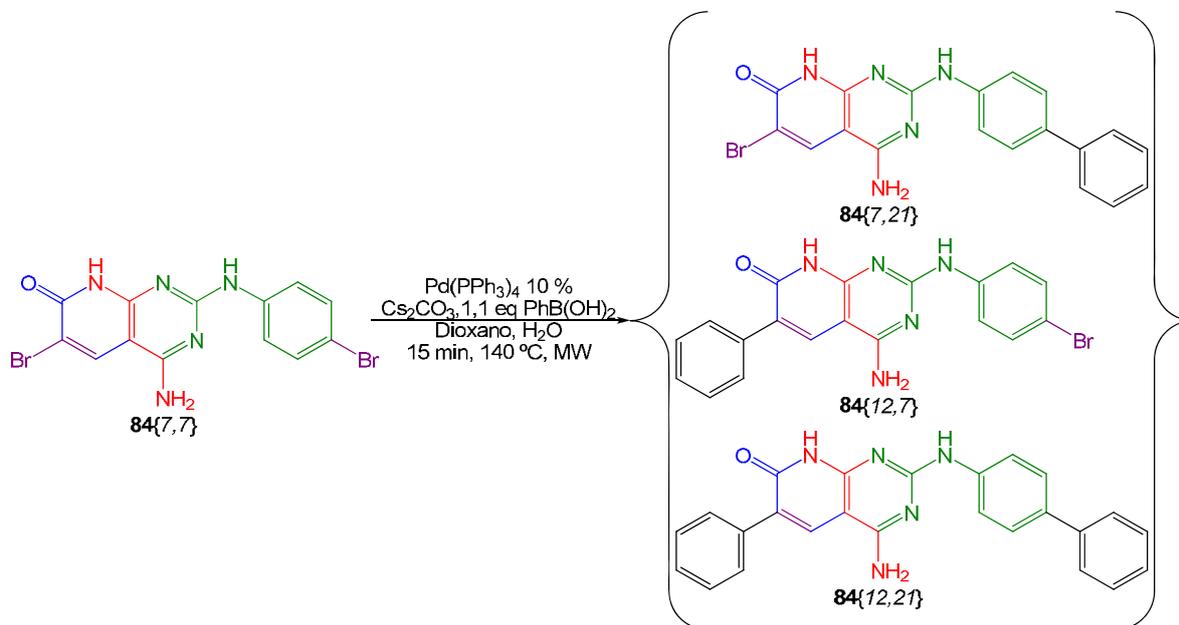
Pues bien, al someter el término de dibromación **84**{7,7} a este mismo proceso, la CCF eluida con AcOEt:ciclohexano 1:1 muestra que no se forman subproductos de bifenilo y, más importante aún, que se consume todo el producto heterocíclico de partida -observación que se confirma mediante CCF con AcOEt-. Tras el *work-up* se obtiene un sólido amarillo con mucha fluorescencia y cuyo <sup>1</sup>H-RMN muestra una mezcla de productos en la que se confirma la ausencia de **84**{7,7}.



**Figura 2.109:** <sup>1</sup>H-RMN de la mezcla de productos obtenidos tras el primer intento de Suzuki.

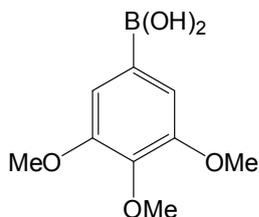
Concretamente, gracias a las señales desdobladas correspondientes a los hidrógenos lactámicos, los hidrógenos del residuo fenilamino e hidrógenos en β de carbonilo se aprecia la presencia de prácticamente dos únicos productos de reacción en una proporción entre sí de 2 a 1. También se observa la complejidad del perfil de las señales aromáticas, resultante tanto de esta mezcla de productos como del residuo fenilo introducido.

La obtención de esta mezcla de sustancias es una mala noticia con respecto a la selectividad en la sustitución de ambos bromos. Y puesto que es muy difícil escudriñar las señales aromáticas para determinar la identidad de cada una de ellas, únicamente es posible establecer los términos de reacción que se pueden haber formado y que se refieren en la siguiente figura.



**Figura 2.110:** Resultado del intento de monosustitución de Suzuki sobre el término dibromado.

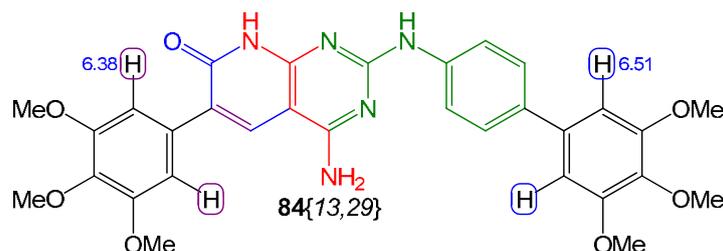
Pero antes de establecer ningún juicio sobre las posibilidades de monosustitución del compuesto heterocíclico **84{7,7}**, parece pertinente estudiar un sistema cuya espectroscopía sea más fácil de interpretar.



**Figura 2.111:** Ácido arilborónico con un espectro de  $^1\text{H-RMN}$  simplificado.

En este sentido, sería interesante cambiar el ácido fenilborónico empleado en el anterior ensayo por el ácido 3,4,5-trimetoxifenilborónico, cuyas señales aromáticas se reducen a un simple singulete. De este modo, la simplificación del perfil de señales aromáticas permitiría establecer con mayor precisión la composición de los sólidos obtenidos y, con ello, sería más sencillo determinar las posibilidades reales de selectividad.

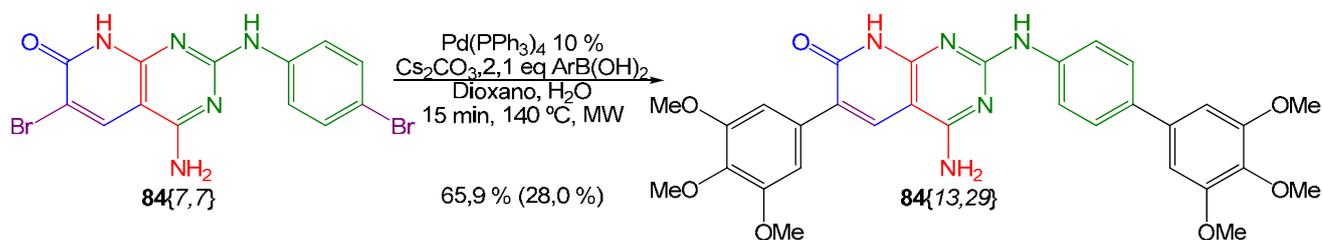
No obstante, antes de realizar ningún ensayo de monosustitución, parecería conveniente obtener el término totalmente sustituido **84{13,29}**.



**Figura 2.112:** Término de disustitución con su previsión de  $^1\text{H-RMN}$ .

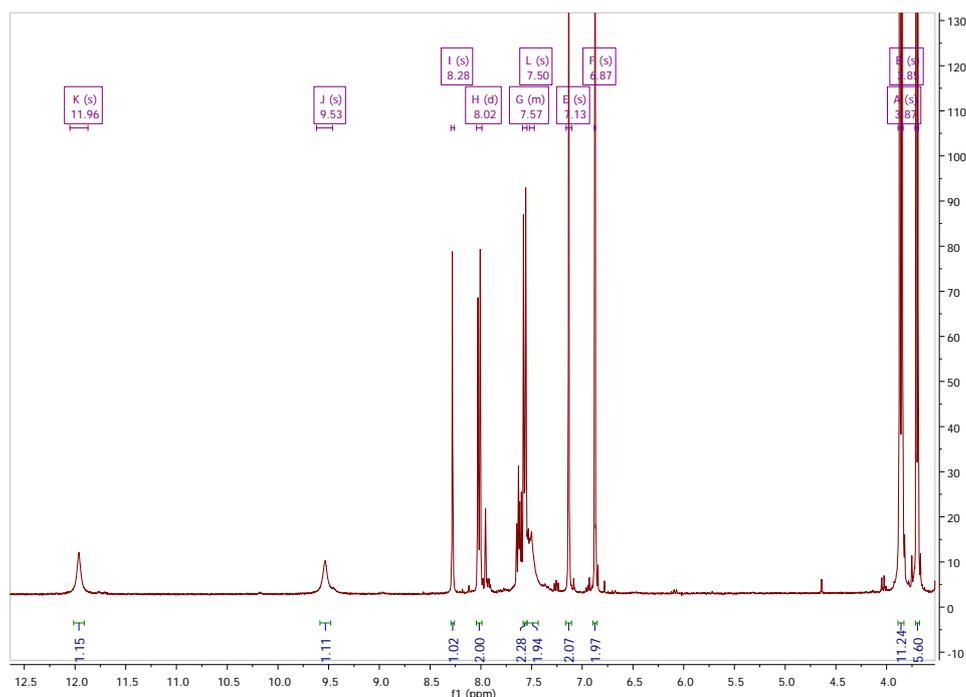
De este modo se podría establecer inequívocamente la asignación de los protones aromáticos correspondientes a los sustituyentes introducidos. Conocidos los respectivos desplazamientos, debería ser más sencillo poder determinar en qué posición se ha introducido el residuo aromático y, con esta herramienta, estudiar las posibilidades reales de sustitución selectiva.

A tal efecto, como primer ensayo de obtención de este término de disustitución, se implementa el mismo protocolo de reacción referido más arriba, pero empleando 2,1 equivalentes del nuevo ácido arilborónico para forzar la reacción en los dos puntos derivatizables.



**Figura 2.113:** Disustitución mediante acoplamiento de Suzuki. Entre paréntesis el rendimiento global de obtención.

Afortunadamente, al primer intento se obtiene el producto deseado con un rendimiento del 65,9 % en forma de un sólido amarillo pálido que presenta intensa fluorescencia y elevada solubilidad en disolventes orgánicos convencionales como AcOEt y EtOH. Precisamente, gracias a esta solubilidad es posible purificar este producto mediante cromatografía para obtener una muestra de pureza analítica.



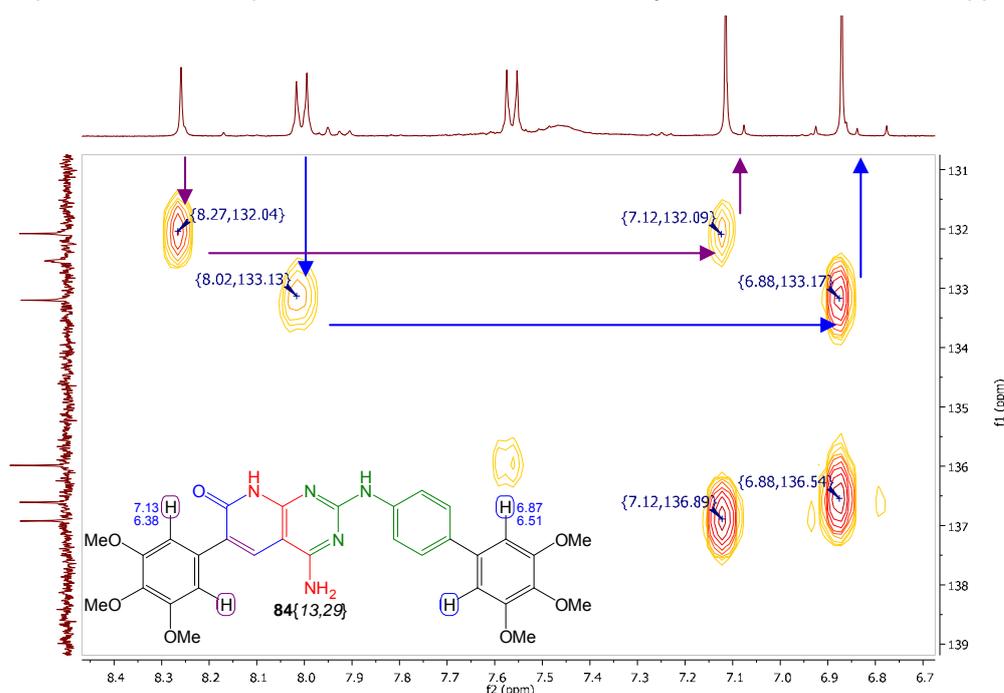
**Figura 2.114:** <sup>1</sup>H-RMN del producto de disustitución obtenido mediante reacción de Suzuki.

En la figura anterior se muestra el  $^1\text{H}$ -RMN del producto obtenido sin purificar, pero cuya pureza es bastante elevada. En dicho espectro se puede apreciar la presencia de un único producto -señales no desdobladas del protón en  $\beta$  de carbonilo a 8,28 ppm- y de dos intensos singuletes a 6,87 ppm y 7,13 ppm correspondientes a los protones aromáticos de los sustituyentes introducidos.

A partir de este punto, para intentar establecer la correspondencia entre protones y carbonos se procede a registrar un HMBC que permita correlacionar entre sí las señales de ambos tipos de átomos.

De hecho, en la siguiente figura se aprecia como el protón en  $\beta$  de carbonilo a 8,28 ppm presenta un acoplamiento con un carbono a 132,0 ppm, que a su turno, se acopla con los protones aromáticos de un sustituyente trimetoxifenil a 7,13 ppm.

Por otro lado, la señal de protones aromáticos correspondientes al anillo fenilamino en C2 y que aparece a 8,02 ppm correlaciona con un carbono que, a su vez, presenta un acoplamiento con los protones aromáticos de un sustituyente trimetoxifenil a 6,88 ppm.



**Figura 2.115:** Fragmento del HMBC que permite observar la correspondencia entre cada tipo de protón aromático y su sustituyente trimetoxifenilo. En la parte inferior se muestra la asignación y su previsión.

En consecuencia, para determinar la composición de las mezclas sólidas que se obtengan en los ensayos de monosustitución se puede recurrir al estudio del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN. Concretamente, la presencia de un singulete a 6,87 ppm debería asociarse a la sustitución del bromo aromático y la aparición de otro singulete a 7,13 ppm con la sustitución del bromo lactámico. Además, es de suponer que en los términos de monosustitución estos desplazamientos varíen mínimamente pues los centros reactivos son muy lejanos entre sí.

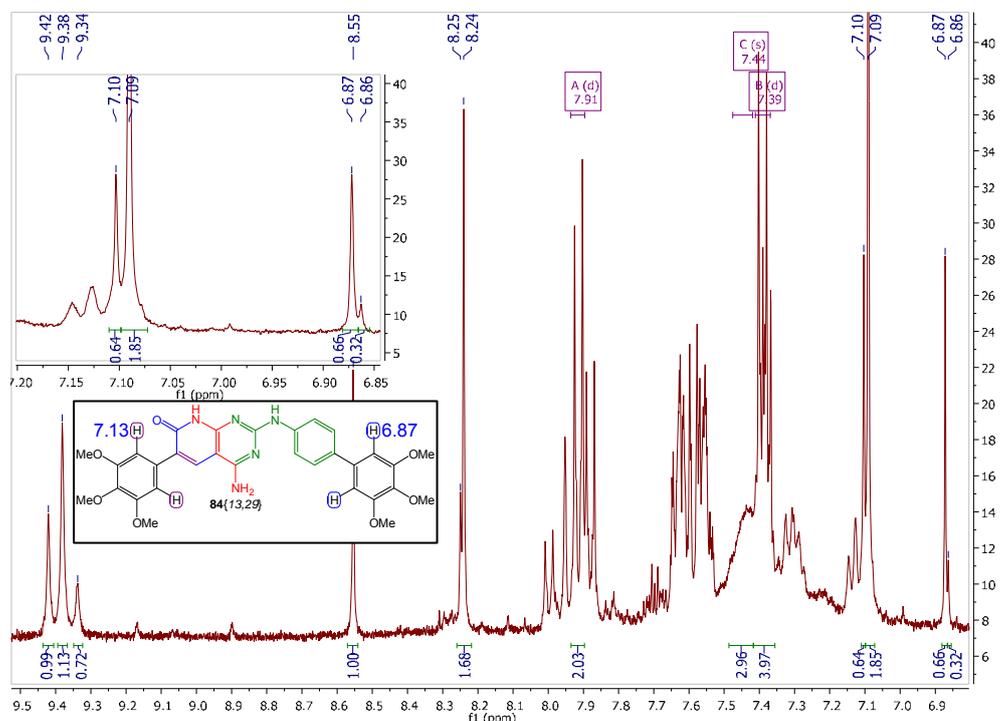
Para la primera prueba de monosustitución con el ácido 3,4,5-trimetoxifenilborónico, se podrían tomar de nuevo las condiciones ensayadas con el término de monobromación **35**{1,7} pero, en este caso, deberían emplearse únicamente 1,1 equivalentes de este ácido con el objetivo de forzar la formación de términos de monosustitución.

Pero atención, pues la prueba equivalente realizada con el ácido fenilborónico muestra la formación de una mezcla de productos de sustitución. Por consiguiente, no parece muy recomendable reproducir el proceso mediante calefacción con microondas durante 15 min a 140 °C.

En este sentido, parece más pertinente buscar en la bibliografía las condiciones que otros autores emplean para reacciones similares. Por ejemplo, Tremblay describe en su trabajo (Tremblay et al., **2007**) que es posible sustituir un bromo en  $\alpha$  de carbonilo del anillo lactámico de sistemas tipo 7-aminoquinolin-2(1*H*)-ona mediante calefacción 1 h a 100 °C en presencia de 10 mol % de PdCl<sub>2</sub>(dppf) y 1,3 equivalentes de ácido arilborónico.

Así pues, considerando esta información, se somete el término dibromado **84**{7,7} a calefacción asistida por microondas de 30 min a 100 °C en presencia de 1,1 equivalentes de ácido 3,4,5-trimetoxifenilborónico, 2,5 equivalentes de carbonato de cesio y 10 mol % de tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0).

Pues bien, la CCF con AcOEt muestra que no se consume totalmente el producto de partida bicíclico y la CCF con AcOEt:ciclohexano 1:1 evidencia que tampoco se forma ninguna especie bifénilica correspondiente al término de homoacoplamiento.



**Figura 2.116:** Fragmento aromático del 1*H*-RMN. Esquina superior izquierda: ampliación de la zona de interés. Esquina inferior izquierda: asignación de los protones aromáticos relevantes.

El  $^1\text{H}$ -RMN confirma que la mezcla de sólidos obtenida contiene fundamentalmente los cuatro productos posibles: el producto de partida, y los tres términos de sustitución. En primer lugar, la señal a 8,55 ppm -correspondiente al protón en  $\beta$  de carbonilo- permite confirmar que la mezcla contiene el producto **84**{7,7} y que representa aproximadamente el 40 %. Por otro lado, empleando la asignación de los protones aromáticos de los sustituyentes introducidos, es posible determinar que se obtienen aproximadamente 1 equivalente del término sustituido en  $\alpha$  de carbonilo **84**{13,7} (señal a 7,09 ppm), 0,30 equivalentes del término disustituido **84**{13,29} (señales a 6,87 ppm y 7,10 ppm) y, por último, 0,15 equivalentes de aromático sustituido **84**{7,29} (señal a 6,86 ppm).

Es decir, en estas condiciones la conversión del término dibromado **84**{7,7} no supera el 60 %, y la proporción de los términos sustituidos es de 70 % del término **84**{13,7}, 20 % de **84**{13,29} y 10 % de **84**{7,29}. O en otras palabras, la reacción no es completa y la sustitución mediante la reacción de Suzuki en estas condiciones transcurre preferentemente sobre la posición lactámica en una proporción de 7:1 sobre la aromática. Además, no es posible evitar que también se forme el término disustituido.

Según estos resultados, parece que disminuir el nivel de calefacción contribuye a la disminución de la formación del término de sustitución aromática e, incluso, del término de disustitución. Por lo tanto, sería conveniente disminuir el nivel de calefacción en aras de favorecer la sustitución en  $\alpha$  de carbonilo.

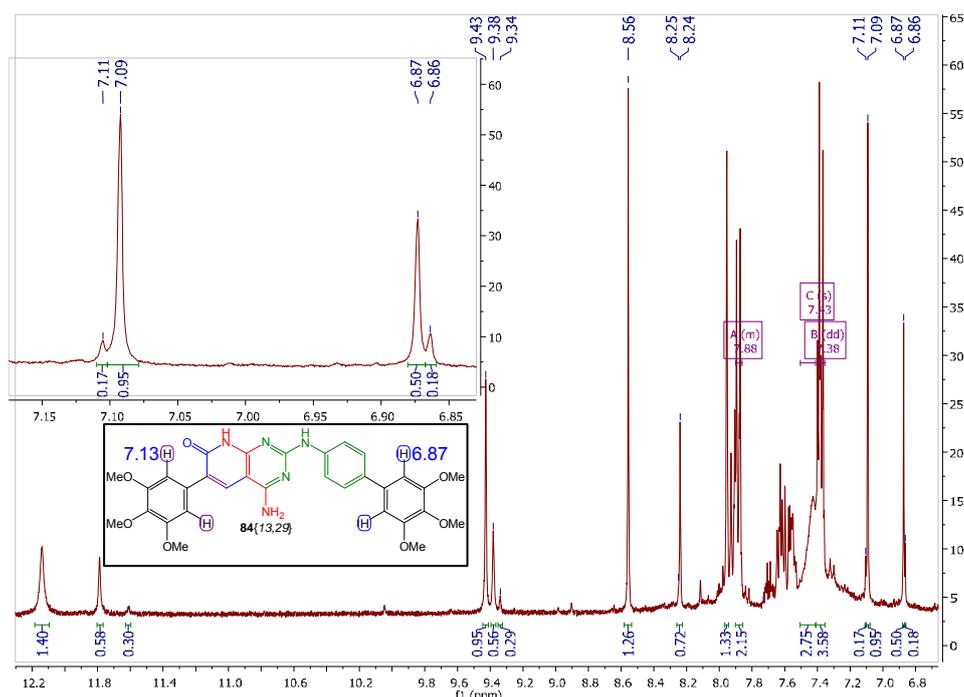
A tal efecto, se decide reproducir el mismo protocolo pero, en esta ocasión, manteniendo una calefacción asistida por microondas de 60 °C durante 2 h. Desgraciadamente, en estas condiciones no se aprecia evolución alguna del sistema pues se recupera el término dibromado **84**{7,7} inalterado.

Y, aunque no es descartable que a tiempos más largos se lograra el resultado deseado, se decide aumentar el nivel térmico de calefacción -asistida por microondas- a 80 °C. Además, se realizan sendas pruebas pero a tiempos de reacción distintos: 2 h y 12 h.

Al analizar los correspondientes  $^1\text{H}$ -RMN a los distintos tiempos de reacción, se observa como claramente el grado de conversión de la piridopirimidina **84**{7,7} aumenta: del 8 % a las 2 h, al 45 % a las 12 h.

Sin embargo, aunque es difícil determinar exactamente las proporciones de términos de sustitución en el espectro a las 2 h, parece que estas no varían significativamente al aumentar el tiempo de reacción. Concretamente, se aprecia que en la mezcla de sólidos a las 12 h de reacción contiene una proporción de 0,50 equivalentes de **84**{13,7} (señal a 7,09 ppm) sustituido en el anillo lactámico, 0,25 equivalentes de **84**{7,29} (señal a 6,87 ppm) aromático

sustituido y 0,08 equivalentes del término disustituido **84**{13,29} (señales a 6,86 ppm y 7,11 ppm).



**Figura 2.117:** Fragmento aromático del 1H-RMN a las 12 h.

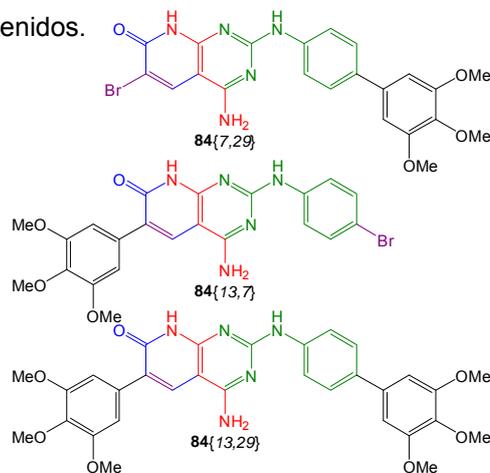
Es decir, en estas condiciones la conversión del término dibromado **84**{7,7} no supera el 45 %, y la proporción de los términos sustituidos es de 60 % del término **84**{13,7}, 30 % de **84**{7,29} y 10 % de **84**{13,29}. O en otras palabras, la reacción tampoco es completa y la sustitución mediante la reacción de Suzuki en estas condiciones transcurre preferentemente sobre la posición lactámica en una proporción de 2:1 sobre la aromática, que es claramente más desfavorable que la 7:1 obtenida a 100 °C. Además, no es posible evitar que también se forme el término disustituido, aunque éste se forma en una proporción mucho menor: desde 3,5:1 a 100 °C a 6:1 a 80 °C.

A continuación se resumen todos estos resultados obtenidos.

Condiciones de reacción		% conversión	% del total de términos sustituidos		
T / °C	t / h		<b>84</b> {13,7}	<b>84</b> {7,29}	<b>84</b> {13,29}
100	0,5	60	70	10	20
80	12	45	60	30	10
80	2	8	60	30	10
60	2	n. c.	n. c.	n. c.	n. c.

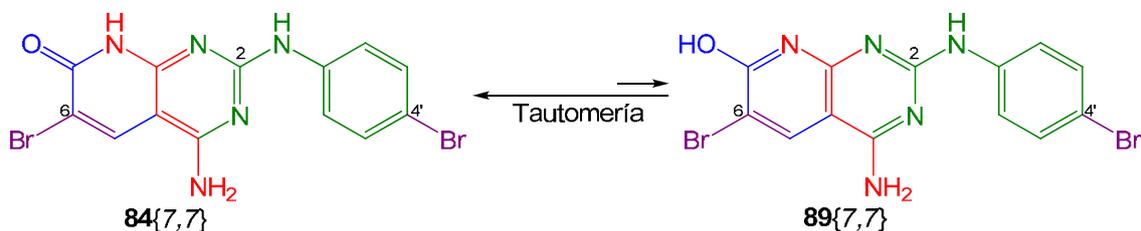
**Tabla 2.16:** Resumen de los intentos de monosustitución.

n.c. = no cuantificable



**Tabla 2.118:** Distintos términos de sustitución.

Estos resultados muestran lo difícil que es hallar unas condiciones que logren una sustitución completamente selectiva de alguno de los bromos del compuesto **84**{7,7}. No obstante, es evidente que en todos los ensayos se observa la sustitución preferente del bromo lactámico, lo que indica que se trata del más reactivo de los dos. Pero, desgraciadamente, parece que al disminuir la temperatura de reacción se pierde parte de esta selectividad.



**Figura 2.119:** Tautomería del término dibromado.

Probablemente, la mayor reactividad del bromo en C6 se justifica, por un lado, por el carácter pseudoaromático del anillo lactámico le confiere una cierta similitud al bromo aromático en C4'. Pero por otro lado, sobre todo se debe a que los distintos efectos electrónicos sobre el carbono que sustenta cada uno de estos halógenos favorecen una densidad de carga positiva mayor en la posición lactámica.

En efecto, el C6 corresponde a un sistema bicíclico resultado de fusión de un anillo de piridona y de pirimidina, que es un heterociclo con una elevada electrofilia. Por el contrario, el carbono C4' está en posición *para* de un anillo aromático con un grupo amina que, si bien también cede hacia el anillo pirimidínico, contribuye a disminuir la electrofilia en la posición de interés. En conclusión, parece que la densidad de carga positiva de la posición lactámica es algo mayor.

Por lo tanto, considerando que la reacción de Suzuki transcurre convenientemente precisamente en este tipo de posiciones, es lógico que la sustitución del halógeno se dé preferentemente en la posición C6.

Recogiendo todo lo expuesto hasta el momento, parecería que no es posible lograr esta selectividad en la sustitución de los dos bromos presentes en **84**{7,7}. Pero por el contrario, existen diversos autores que refieren que es posible lograr este tipo de reactividad en bromos de naturaleza similar:

- sobre sistemas 2,3-dibromo-1H-inden-1-onas (Hussain et al., **2011**)
- sobre sistemas percloropirimidina (Hussain et al., **2010**)
- sobre sistemas heterocíclicos de tipo tiofeno (Toguem et al., **2010**; Proutiere et al., **2012**)
- sobre 1,4-dibromo-3-sustituidobenzenos (Ullah et al., **2011**)
- sobre sistemas 3-bromoquinolínicos (Wang et al., **2007**)

El conjunto de los trabajos referidos son un recopilatorio no exhaustivo de las posibilidades para lograr la selectividad en la sustitución de bromos comparables a los del compuesto *cabeza de serie* dibromado **84**{7,7}.

Los autores citados detallan las estrategias empleadas para la optimización de la selectividad con más o menos lujo de detalles. Fundamentalmente, los aspectos a considerar son los siguientes:

- condiciones térmicas
- tiempos de reacción
- equivalentes de catalizador de Pd
- equivalentes de los correspondientes ácidos arilborónicos
- tipos de catalizadores o sistema de catálisis
- tipos de ligandos

Probablemente, considerando la diferencia de reactividad observada entre ambos bromos y la infinitud de posibilidades de variación de condiciones de reacción en base a los factores que se acaban de enumerar, sería posible hallar una combinación en la que la obtención de uno de los términos de monosustitución fuera prácticamente cuantitativa, es decir, de muy elevada selectividad.

Pero, ¿es necesario llegar a tan alto grado de selectividad? Pues efectivamente, lo es porque la separación cromatográfica de los distintos términos de homosustitución -los dos monosustituidos y el disustituido- es prácticamente imposible. De hecho, ya es una sorpresa que sea posible separar de estas mezclas el término dibromado, pero la diferencia de solubilidad observada es un claro indicativo del cambio de propiedades macromoleculares de estos términos sustituidos respecto de las pirido[2,3-*d*]pirimidinas con sustituyentes más pequeños.

En resumen, con las condiciones de reacción y proporción de reactivos ensayadas en el presente trabajo no es posible lograr un proceso selectivo de sustitución de los bromos del compuesto *cabeza de serie* dibromado **84**{7,7}. Sin embargo, sí que se establece que el halógeno en  $\alpha$  de carbonilo del anillo lactámico es más reactivo.

En consecuencia, lejos de quedar desvirtuada la estrategia sintética enfocada a diversidad que se pretende implementar en este capítulo, se logran asentar las bases sobre la que futuros desarrollos deberían establecer el pertinente protocolo que permita maximizar la selectividad observada.

### 2.4.5. La dibromación del *cabeza de serie* y sus sustituciones

Al considerar globalmente todos los resultados experimentales correspondientes a la dibromación del compuesto **35**{1,6} y sus intentos de derivatización resumidos gráficamente en la siguiente figura, se observan fundamentalmente los siguientes aspectos:

- a temperatura ambiente y en presencia de dos o más equivalentes de bromo -independientemente de si se adicionan de una sola vez o secuencialmente-, se obtiene en cualquier caso -y muy sorprendentemente- un intermedio de Wheland correspondiente a la bromación del anillo pirimidínico mediante un mecanismo tipo SEAr y del que no se ha hallado ningún precedente en la bibliografía
- con calefacción y en presencia de dos o más equivalentes de bromo se obtiene preferentemente el término dibromado **84**{7,7}, eso sí, impurificado con el heterobicyclo **35**{7,7}, que en ningún caso llega a ser el producto mayoritario
- la síntesis del intermedio de Wheland **86**{1,7} presenta rendimientos globales -desde el *cabeza de serie* **35**{1,6}- en todos los casos superiores al 80 % y, en el caso de la bromación en un sola etapa, prácticamente cuantitativo, hecho que sugiere cierta sinergia entre ambos procesos de bromación implicados
- para la obtención de este producto tan peculiar es necesaria la presencia de, al menos, un equivalente de ácido bromhídrico, ya que su contra-anión estabiliza la estructura bicíclica con carga positiva
- el bromo en ácido acético es la mejor combinación de agente de bromación y disolvente de todas las ensayadas; además con las otras combinaciones no se aprecia cambio alguno en la reactividad descrita
- el intermedio de Wheland **86**{1,7}, muy sorprendentemente, puede ser convertido en el producto dibromado **84**{7,7} por calefacción en DMSO con excelentes rendimientos, en consecuencia, todas las posibilidades de síntesis de este intermedio **86**{1,7} permiten la obtención del término dibromado **84**{7,7}
- se establece la imposibilidad de la obtención del término de monobromación **35**{7,7}, por lo tanto no se puede estudiar su posterior derivatización, pero dado que sí es posible la síntesis de **84**{7,7}, se decide emplearlo en lugar del primer compuesto como esqueleto de la estrategia enfocada a diversidad
- la mejor ruta de obtención del heterobicyclo dibromado **84**{7,7} es la que transcurre a través de la bromación simultánea del *cabeza de serie* **35**{1,6} y la posterior transformación en DMSO del intermedio de Wheland
- al estudiar la ortogonalidad de las sustituciones de los bromos de **84**{7,7} se observa que el halógeno en  $\alpha$  del carbonilo piridónico es más reactivo que el aromático, pero no



## 2.5. Sustituciones del grupo 4-amino mediante diazotización

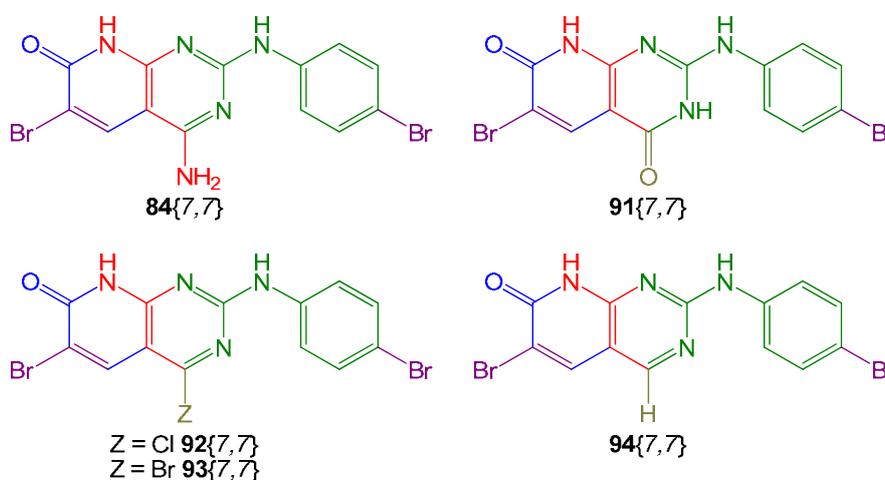
### 2.5.1. Antecedentes

La conversión de aminas aromáticas en su correspondiente sal de diazonio transcurre mediante la acción oxidativa del catión nitrosonio (Belov y Kozlov, **1963**). Así pues, todos los agentes de diazotización liberan este catión pero pueden dividirse en dos grandes familias:

- Funcionales en medio acuoso: usualmente nitrito sódico con catálisis ácida -el primer agente descrito en el siglo XIX-, y que suelen requerir baja temperatura como consecuencia de la poca estabilidad de estas sales en un medio tan nucleófilo. Además, en medio acuoso es posible aislar las sales de diazonio por precipitación en frío, pero únicamente en el caso de emplear ácido tetrafluorobórico.
- Funcionales en disolventes orgánicos: se trata de ésteres alifáticos del ácido nitroso (RO-NO) cuyo residuo hidrocarbonado -que puede ser lineal o ramificado- influye sobre la reactividad de estos agentes. Ejemplos remarcables de este tipo de reactivos son el nitrito de metilo, el nitrito de *iso*-amilo y el nitrito de *t*-butilo (Barral et al., **2007**). Su empleo no permite aislar en ningún caso la sal y, por lo tanto, suele encadenarse con la consiguiente derivatización.

El aislamiento de la sal de diazonio no resulta una cuestión baladí, pues facilita enormemente la manipulación del producto y permite emplearla en gran variedad de procesos químicos que abren la puerta a alcanzar un alto grado de diversidad.

Desgraciadamente, no se halla en la bibliografía ningún ejemplo de pirimidina o heterobiciclo equivalente cuya sal de diazonio haya podido ser aislada. En otras palabras, este tipo de sales presentan una muy baja estabilidad y, por lo tanto, se puede deducir que es mejor generarlas y hacerlas reaccionar instantáneamente. En consecuencia, podría ser que no todo el espacio químico accesible mediante la multitud de reacciones descritas con sales de diazonio pueda ser explorado en el presente estudio.

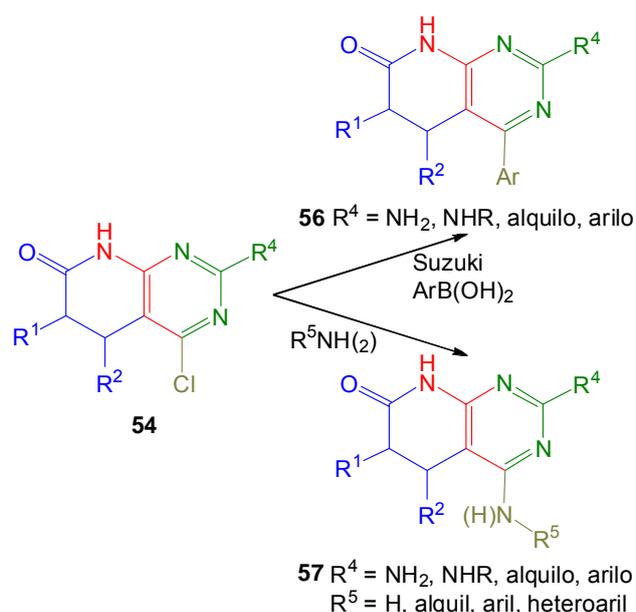


**Figura 2.120:** El cabeza de serie dibromado y sus derivados en la posición C4.

No obstante, afortunadamente, existen ejemplos muy atractivos de derivatización de heterobisoclos similares mediante diazotización e inmediata reacción. Concretamente, el grupo amino de las 4-aminopirimidinas puede ser reemplazado por hidrógeno (Véliz et al., **2003**), hidroxilo (en forma de su tautómero carbonilo) (Sekiya et al., **1981**) y halógeno (bromo o cloro) (Leonova y Yashunskii, **1983**), entre otros.

Así pues, el *cabeza de serie* **84**{7,7} podría ser transformado en sus equivalentes 4-oxo **91**{7,7} y 4-hidrógeno **94**{7,7}. Esto representaría la gran oportunidad de generar dos compuestos que servirían, a su vez, de *cabezas de serie* de estas dos familias de pirido[2,3-*d*]pirimidinas cuyas síntesis directas siempre se han considerado más complejas o de peores rendimientos que la de sus equivalentes 4-amino.

Además, la posibilidad de introducir un halógeno en la posición C4 abre la posibilidad de obtener los compuestos 4-cloro **92**{7,7} y 4-bromo **93**{7,7} cuya reactividad debería ser muy similar entre sí. Por lo tanto, teniendo en cuenta las posibilidades de derivatización por sustitución nucleófila de este tipo de productos -ya exploradas en anteriores trabajos (Mont et al., **2004**)-, sería factible obtener nuevos compuestos *cabezas de serie* cuya posición C4 presentaría residuos aminoderivados primarios o secundarios con restos alquílicos, arílicos, heteroarílicos.



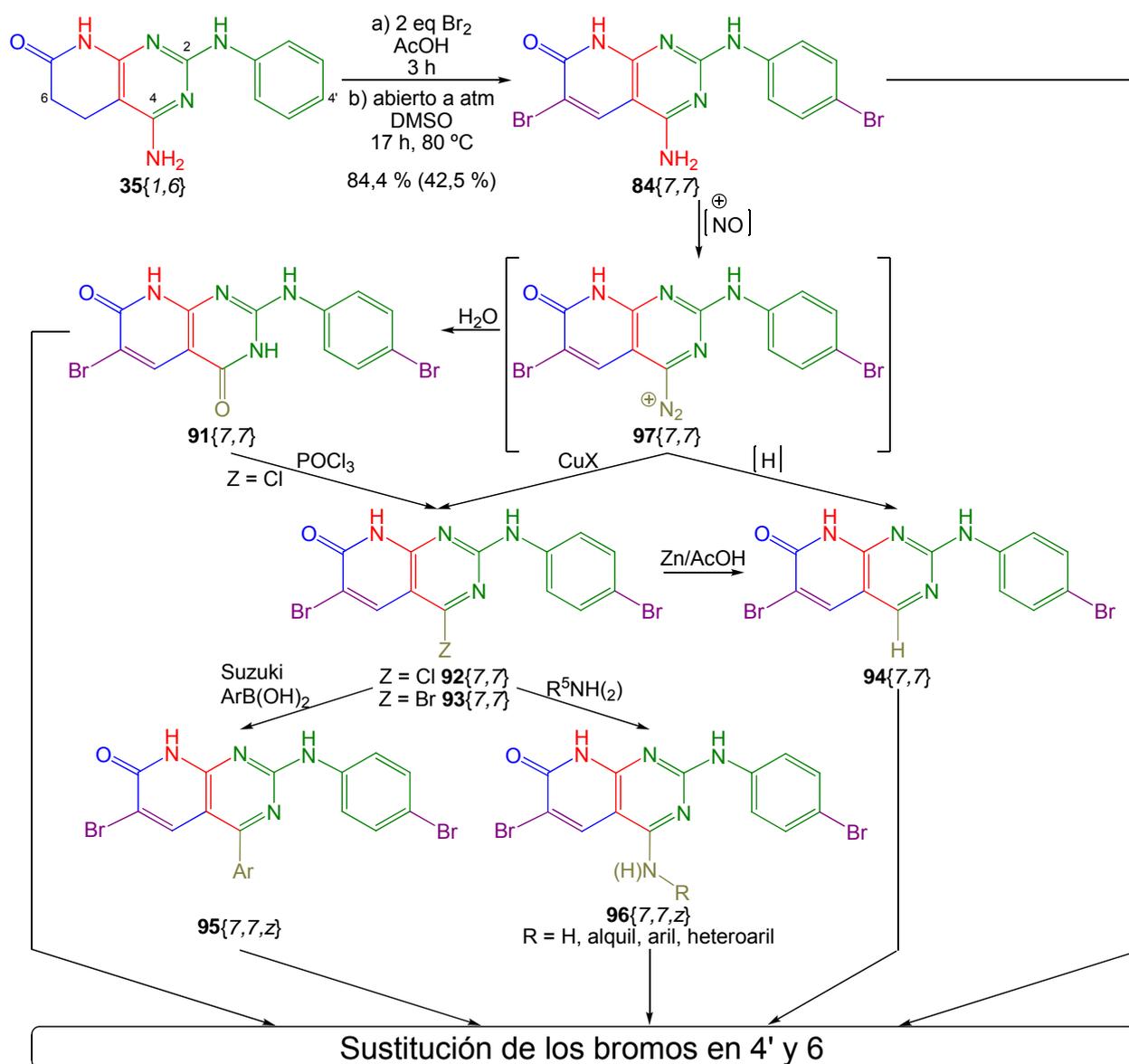
**Figura 2.121:** Sustituciones de halógenos en C4 descritas.

Así mismo, tal como el laboratorio de Síntesis del IQS ya ha descrito, estos derivados halógenos también pueden ser sustituidos por residuos hidrocarbonados (alquílicos, arílicos y heteroarílicos) mediante acoplamiento catalizado por paladio como, por ejemplo, la reacción de Suzuki.

En este punto cabe considerar que la muy superior reactividad de los halógenos en C4 frente a cualquiera de los otros dos bromos sustituibles presentes en **93**{7,7} -por efecto del anillo heterociclo muy electrófilo al que halla unido- haría que su sustitución debería ser la primera en implementarse o, en caso contrario, seguramente se obtendrían términos de polisustitución.

En resumen, gracias a la diazotización del grupo amino del *cabeza de serie* dibromado **84**{7,7} debería ser posible obtener cuatro nuevas grandes familias de compuestos: las pirido[2,3-*d*]pirimidinas 4-oxo **91**{7,7}, 4-hidrógeno **94**{7,7}, 4-alquilo o 4-arilo **95**{7,7} y 4-amino derivadas **96**{7,7}.

Tal como se comenta en la introducción, la diazotización es un proceso bastante agresivo y como la sustitución debe desarrollarse inmediatamente tras la activación, es perentorio que esta derivatización sea la primera en realizarse. Por consiguiente, es más lógico diazotizar el grupo 4-amino pirimidínico del compuesto **84**{7,7} antes de sustituir ninguno de sus bromos y, por fortuna, las reacciones a tal efecto no afectarían (previsiblemente) a estos átomos de halógeno. A partir de este punto, se podrían implementar las sustituciones estudiadas en apartados anteriores. En consecuencia, la estrategia sintética global debería ser la que se refiere en la siguiente figura.

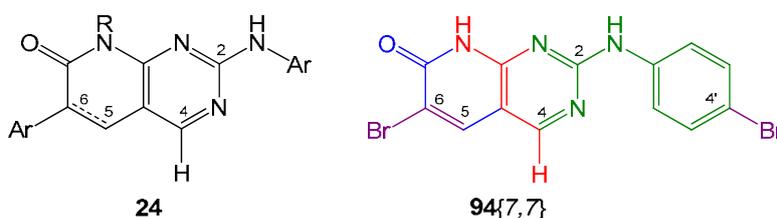


**Figura 2.122:** Activación y sustitución del cabeza de serie y sus derivados en la posición C4.

Según este esquema sintético, es de suma importancia obtener los sistemas heterocíclicos 4-halógeno **92**{7,7} o **93**{7,7} pues son los que permiten una mayor diversidad de sustituciones, entre las que cabe destacar la posibilidad de sintetizar la piridopirimidina **94**{7,7}, a partir de la que generar toda la familia de las 4-hidrogenopirido[2,3-*d*]pirimidinas.

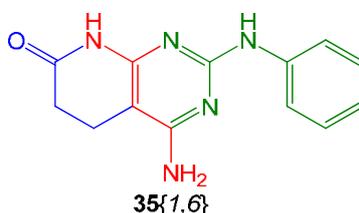
Ahora bien, aunque en el anterior esquema sintético se muestran algunas de las posibilidades de conversión entre varios sistemas heterobíclicos 4-derivado, en el presente estudio únicamente se acometen las obtenciones directas, es decir, no se estudian estos procesos de interconversión.

Pero además, cabe destacar que la pirido[2,3-*d*]pirimidina **94**{7,7} es la que más concuerda con la estructura general de multitud de KI. En consecuencia, establecer los protocolos convenientes para obtener este núcleo heterobíclico también es del mayor interés, especialmente si se tiene en cuenta que coincide totalmente con el *core* de los KI desarrollados por Parke-Davis (ahora Pfizer), uno de los grupos más activos en este campo de investigación.



**Figura 2.123:** Comparación entre la estructura general de multitud de exitosos KI y **94**{7,7}.

Por último, para estudiar y optimizar todas estas transformaciones mediante diazotización, en lugar de emplear el término dibromado **84**{7,7} se usa el cabeza de serie **35**{1,6} como modelo de ensayo.



**Figura 2.124:** Heterobíclico modelo de estudio para las reacciones de diazotización.

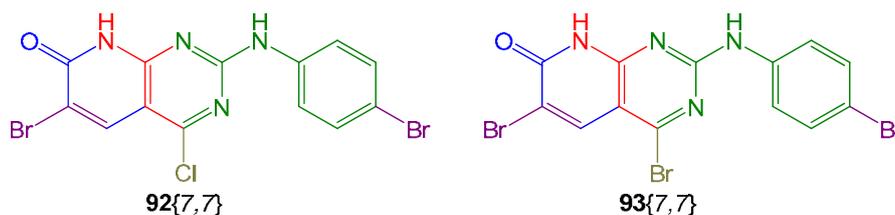
Existen dos motivos para emplear esta piridopirimidina como modelo de estudio en lugar del producto **84**{7,7}, que es el que en realidad interesa transformar:

- la obtención de **35**{1,6} implica una única etapa de síntesis que puede ser implementada de manera masiva sin mucha manipulación humana, por el contrario, la síntesis de **84**{7,7} supone 3 etapas de síntesis que suponen mayor carga de trabajo
- no se presume que la reactividad de los grupos 4-amino de ambos sistemas heterobíclicos presenten diferencia de reactividad alguna, en consecuencia, los métodos sintéticos desarrollados para la transformación del primero, deberían servir para el segundo

### 2.5.2. Obtención del término tribromado 93{7,7}

Antes de proceder a referir los ensayos realizados y comentar sus resultados, debe hacerse una puntualización. Puesto que los grupos derivatizables presentes en el núcleo piridopirimidínico obtenido en el presente trabajo son dos bromos, parece más interesante intentar obtener el término tribromado **93{7,7}**, pues de este modo sería posible estudiar los problemas de selectividad.

Pero además, puesto que el bromo es mejor grupo saliente que el cloro -gracias a su menor densidad de carga-, la reactividad de esta piridopirimidina se presume mayor, hecho que lo hace un compuesto más interesante para la estrategia sintética general del presente trabajo.



**Figura 2.125:** Heterobiciclos 4-halógeno posiblemente asequibles por diazotización.

En general, toda la literatura sobre bromaciones de 4-aminopirimidinas mediante diazotización emplea un agente que genera formalmente catión nitrosonio y un sistema bromo/bromuro capaz de favorecer el reemplazo del catión diazonio mediante desplazamiento de nitrógeno.

La mayor parte de protocolos sintéticos de este tipo de procesos se desarrolla en medio acuoso, pero considerando la pobre solubilidad en agua de la piridopirimidina *cabeza de serie* **35{1,6}**, deberían emplearse disolventes de reacción como ácido acético, ácido trifluoroacético, DMSO o DMF.

Precisamente en estos medios, el nitrito sódico -agente de diazotización tradicional y de uso más extendido- no es especialmente soluble. Por lo tanto, se decide recurrir a alguno de los agentes de nitrosación solubles en medios orgánicos como el nitrito de metilo, el nitrito de *iso*-amilo o el nitrito de *t*-butilo (Barral et al., **2007**).

Así pues, al buscar en la bibliografía procesos de bromación de 4-aminopirimidinas mediante diazotización en medio no acuoso, se hallan los trabajos de Francom y Haudenschild. En ellos se describe este tipo de sustitución en la base nitrogenada de distintos tipos de glicósidos empleando el nitrito de *t*-butilo y el (bromometil)trimetilsilano en acetonitrilo a 0 °C con rendimientos superiores al 80 % (Francom et al., **2003**; Haudenschild et al., **2004**).

Trasladando directamente el procedimiento descrito por los citados autores, se trata la piridopirimidina **35{1,6}** en ácido acético con 10 equivalentes de nitrito de *t*-butilo y 2,4 equivalentes de (bromometil)trimetilsilano. Pero, puesto que el disolvente de reacción es sólido

a 0 °C, la temperatura del proceso se mantiene constante a temperatura ambiental (18 °C) mediante un baño de agua.

Durante el ensayo, se observa que al adicionar ambos reactivos al medio, éste se vuelve intensamente rojo -podría indicar la formación de bromo por efecto del nitrito-. Tras 1 h, se recupera el sólido en suspensión por dilución con agua del medio de reacción y filtrado al vacío. El producto obtenido es de un blanco muy limpio y sus espectros de RMN se muestran a continuación.

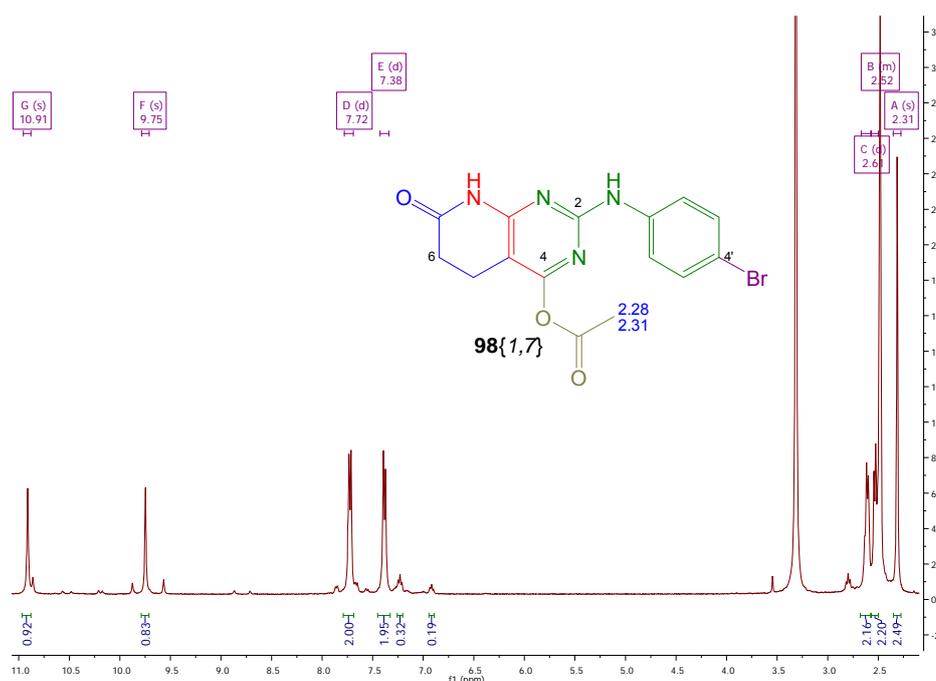


Figura 2.126: <sup>1</sup>H-RMN del producto obtenido.

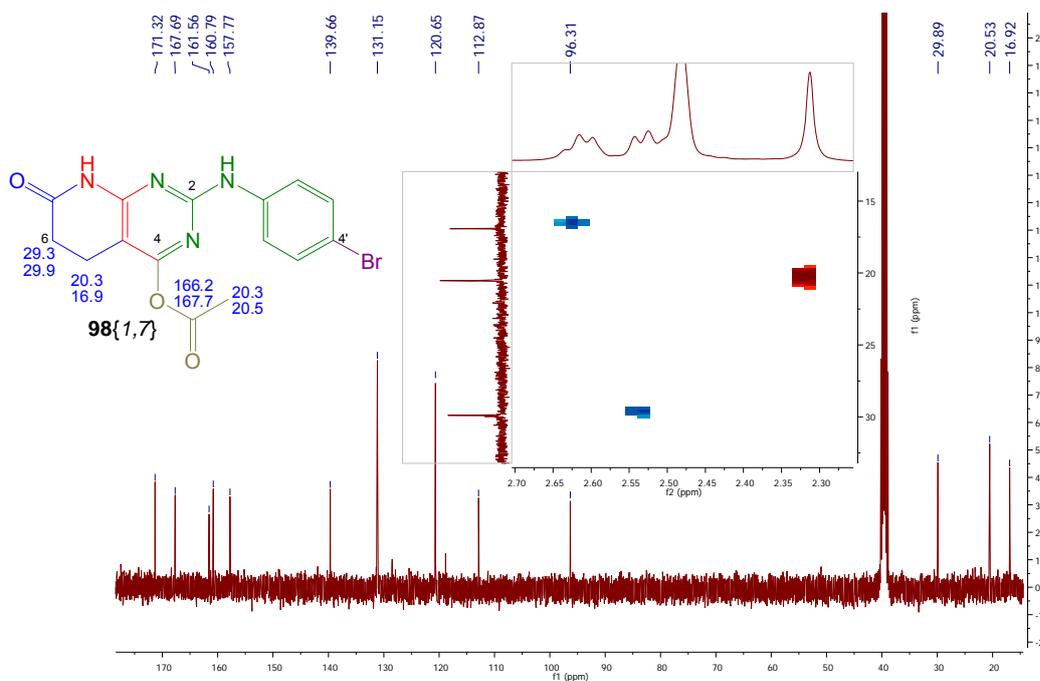


Figura 2.127: <sup>13</sup>C-RMN y fragmento del HSQC (interior) del producto obtenido.

El  $^1\text{H}$ -RMN es bastante limpio y muestra que el perfil de las señales aromáticas pertenece a un sistema 1,4-disustituido, lo que con toda probabilidad indica que el residuo fenilo de **35**{1,6} también se broma durante el proceso, confirmando que el color rojo observado se debe a la oxidación de la fuente de bromuro para rendir bromo. Por otro lado, resulta esperanzadora la total desaparición de la señal ancha a 6,40 ppm correspondiente al grupo amino en C4, cosa que casaría con la obtención del término 4-bromosustituido. Sin embargo, aparece una señal alifática a 2,31 ppm cuya integral podría sugerir la presencia de un grupo metilo o metileno que podría pertenecer al mismo producto o a una impureza.

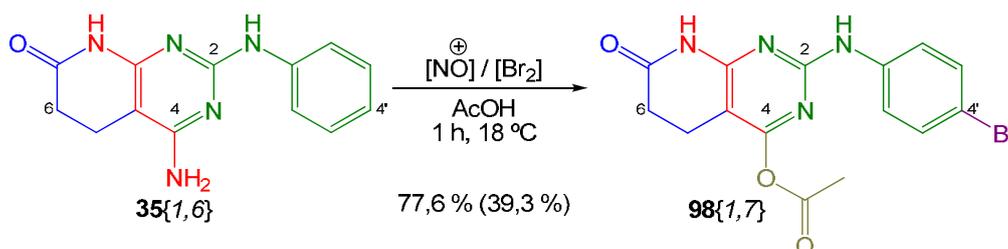
Pero desgraciadamente, en el  $^{13}\text{C}$ -RMN aparecen dos nuevas señales que no se podrían justificar si se hubiera obtenido el producto deseado: la primera a 20,5 ppm y perteneciente a un carbono alifático, y una segunda señal a 167,7 ppm que, probablemente corresponde a un carbonilo.

Para complementar esta información, se registra un espectro HSQC que correlaciona cada señal de protón con la señal de su correspondiente carbono e indica si se trata de un metilo, metileno o eslabón CH. Este espectro muestra que la nueva señal alifática pertenece a un eslabón metilo ya que su integral en el  $^1\text{H}$ -RMN es demasiado alta para que fuera un eslabón CH.

Recapitulando toda la información de estos tres espectros, se puede prácticamente asegurar que este proceso sintético permite bromar el anillo aromático del sustituyente en C2 por la formación *in-situ* de bromo mediante la oxidación de la fuente de bromuro.

Pero la aparición de la señal alifática correspondiente, muy probablemente, a un grupo metilo y la presencia de una señal de carbono que, no pudiendo pertenecer a ningún eslabón heterocíclico, únicamente se puede asignar a un carbonilo, indican que el producto obtenido incorpora un grupo acetato.

En consecuencia, y considerando que la señal de protón perteneciente al grupo amino en C4 desaparece, es muy probable que el producto obtenido se trate de una piridopirimidina que ha incorporado un sustituyente acetoxi en la posición 4. De hecho, tanto el AEO como la espectrometría de masas -referidas en la parte experimental- confirman esta deducción. Por lo tanto, el proceso implementado no es útil para sintetizar el término 4-bromo, pero en cambio permite obtener este pintoresco producto con un rendimiento excelente: 77,6 %.

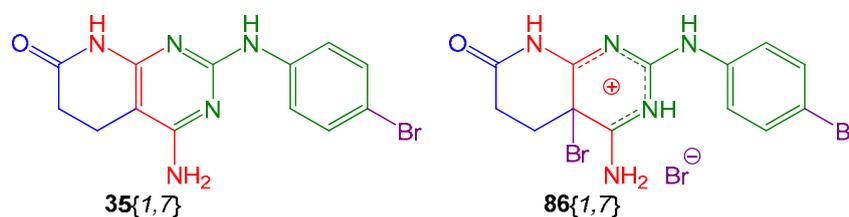


**Figura 2.128:** Bromación y acetoxilación del cabeza de serie en presencia de bromo y nitrosonio.

A pesar de que no es el comportamiento deseado, la obtención de este producto es bastante alentadora para la síntesis de heterobisoclos 4-oxo **91**{7,7}, pues muy probablemente la hidrólisis en medio acuoso de estos términos 4-acetoxi rendirían ese tipo de productos.

De la obtención de este producto se pueden sacar varias conclusiones:

- la presencia de bromo, generado incluso por reacción redox entre bromuro -aunque sea de una fuente formal- y el catión nitrosonio, indefectiblemente da lugar a la bromación del anillo aromático en la posición 4', y en caso de exceso, incluso pudiera darse la formación del intermedio de Wheland **86**{1,7}; en este último caso, sería imposible la formación de la sal de diazonio, pues el anillo piridónico habría perdido su carácter aromático



**Figura 2.129:** Términos de bromación del cabeza de serie.

- la sustitución del grupo amino en C4 por un residuo acetoxi implica necesariamente que, en cualquier caso, se forma la sal de diazonio; pero también es posible que se forme en primer lugar dicha sal, a continuación el derivado bromado y que, por último, se dé la sustitución del halógeno por parte del acético empleado como disolvente
- el disolvente empleado en esta reacción no es para nada adecuado, pues a pesar de que logra una suficiente solubilidad del heterobisoclo de partida como para que reaccione, su carácter nucleófilo impide la obtención del producto bromado o, incluso, la sal de diazonio

Así pues, según estas reflexiones, convendría ensayar de nuevo la reacción en otros disolventes orgánicos no nucleófilos que, a poder ser, también permitieran rebajar la temperatura de reacción por debajo de los 18 °C empleados en el experimento anterior.

Según esta última propuesta, se ensaya de nuevo este proceso en DMSO, DMF y ácido trifluoroacético, rebajando la temperatura cuando es posible, simultaneando o haciendo secuencial la adición del nitrito de *t*-butilo y (bromometil)trimetilsilano, y variando en ambos sentidos los equivalentes de cada uno de los reactivos. Desgraciadamente, en prácticamente en todos los casos se obtienen mezclas complejas de productos en las que incluso se aprecia -tal como se acaba de prever- la presencia del intermedio de Wheland heterobisoclico. De hecho, el proceso implementado en DMF a 0 °C rinde únicamente este producto.

A la vista de estos malos resultados, se decide optar, como última opción, por implementar protocolos en medio acuoso, a pesar de que la solubilidad del *cabeza de serie* es extremadamente baja. En este sentido, existen autores que refieren la obtención de 4-bromopirimidinas a partir de 4-aminopirimidinas en ácido bromhídrico acuoso concentrado (48 %) en presencia de 2 equivalentes de bromo y 4 equivalentes de nitrito sódico tras 2 o más horas de reacción a 0 °C (Leonova et al., **1982**). Así mismo, también existen autores que describen un protocolo similar para la 2-aminopiridina pero además, empleando como catalizador el bromuro de cobre (I) (2,5 equivalentes) (Allen et al., **1946**).

Desgraciadamente, de nuevo al combinar bromuro -proveniente del ácido bromhídrico acuoso- con una fuente de nitrosonio (nitrito sódico) aún en medio acuoso rinde, o bien el término de monobromación **35**{1,7}, o bien el intermedio de Wheland **86**{1,7}, independientemente de la temperatura del proceso (ensayos de 0 °C a 100 °C), tiempos de reacción, secuenciación de la adición de los reactivos, presencia de bromuro de cobre (I), etc.

Incluso se reemplaza el ácido bromhídrico por un ácido que no pueda rendir bromo: ácido sulfúrico diluido. Pero al ensayar el proceso en frío, intentando generar *in-situ* la sal de diazonio, con la idea de adicionar posteriormente el sistema bromo/bromuro, se recupera el producto de partida inalterado independientemente del tiempo de reacción.

Sorprende esta disparidad de comportamiento entre los dos últimos grupos de experimentos en medio acuoso. Pues si bien es fácil de comprender que estas últimas experiencias no sean satisfactorias por la falta de solubilidad del *cabeza de serie* **35**{1,6}, resulta más complicado explicar como es posible su bromación en medio acuoso.

Probablemente, servirá mejor para justificar este comportamiento el saber que la nucleofilia del grupo amino del C4 de estos sistemas pirimidínicos es extremadamente baja y, por lo tanto, la formación de la sal de diazonio es un proceso muy desfavorecido. Por el contrario la bromación -especialmente en la posición aromática C4'- está muy favorecida.

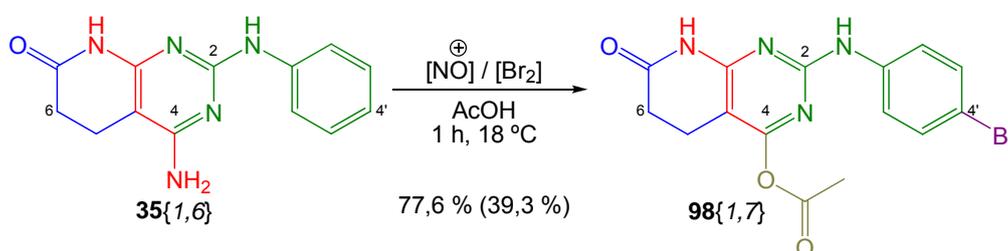
Por lo tanto, si a la falta de solubilidad se le suma la facilidad de cada uno de los procesos puede ocurrir, es posible justificar este comportamiento aparentemente contradictorio. Es decir, si el proceso a realizar es favorable, la baja solubilidad es suficiente para permitir que la reacción avance pues el producto formado precipita de nuevo en el medio y ello contribuye a mantener el proceso en funcionamiento.

Probablemente, esta misma *driving force* del proceso y el gran exceso de nucleófilo, justifican por qué se obtienen los términos 4-acetoxi en ácido acético, en el que la solubilidad tampoco es muy elevada, como demuestra que todas las reacciones en este disolvente funcionan por agitación del sólido en suspensión.

En conclusión, no es posible remplazar el grupo 4-amino de **35**{1,6} por un bromo como consecuencia de la falta de reactividad de ese grupo. Por el contrario, la combinación de agentes de nitrosación con fuentes de bromuro -o incluso bromo- provocan la monobromación del producto o incluso la obtención del intermedio de Wheland bicíclico como consecuencia de la formación de bromo *in-situ*.

No se ensaya ninguno de estos procesos sobre el término dibromado de interés **84**{7,7} por los motivos anteriormente expuestos. Pero todo hace suponer que el comportamiento que se observaría sería equivalente, no en cuanto a la bromación pues ya es un producto bromado, si no a la falta de reactividad del grupo 4-amino. Es más, probablemente, al tratarse de un sistema heterocíclico más conjugado la probabilidad de la reacción sería incluso menor que para **35**{1,6}.

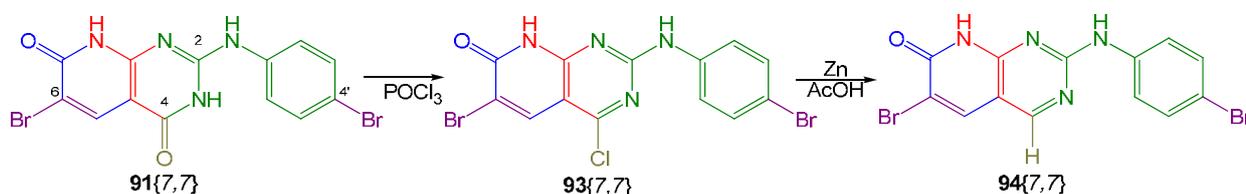
Por último cabe destacar la obtención del término 4-acetoxi **98**{1,7} pues indica que es posible implementar alguna sustitución sobre esa posición mediante reacción de diazotización.



**Figura 2.130:** Bromación y acetoxilación del cabeza de serie en presencia de bromo y nitrosonio.

Además, la obtención de este producto es bastante alentadora para la síntesis de heterobiciclos 4-oxo, pues muy probablemente la hidrólisis en medio acuoso de estos términos 4-acetoxi rendirían ese tipo de productos.

Y la obtención de los sistemas 4-oxo, mediante las estrategias ya estudiadas por el Laboratorio de Síntesis del IQS (Mont, **2005**), podrían permitir la obtención de los sistemas 4-halógeno y, a través de estos, los 4-hidrógeno.



**Figura 2.131:** Alternativa sintética para la obtención de sistemas 4-halógeno y 4-hidrógeno.

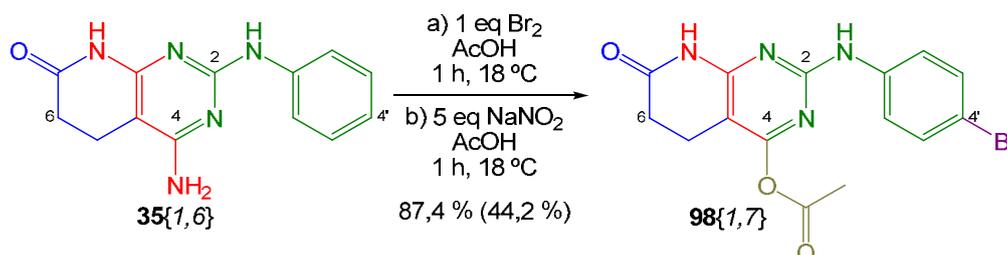
Esta estrategia, como ya se ha comentado anteriormente, desgraciadamente queda fuera del alcance del presente trabajo, que únicamente se centra en las obtenciones directas a partir de la diazotización del residuo 4-amino.

### 2.5.3. Obtención del término dibromado 4-oxosustituido 91{7,7}

#### 2.5.3.1. Mediante la obtención de 4-acetoxipirido[2,3-d]pirimidinas

En el apartado anterior se establece que el *cabeza de serie* en solución de ácido acético, presencia de 10 equivalentes de nitrito de *t*-butilo y 2,4 equivalentes de (bromometil)trimetilsilano rinde el producto 4-acetoxisustituido y 4'-bromoderivado **98{1,7}** con buen rendimiento tras 1 h de agitación a temperatura ambiente (18 °C a 20 °C).

Este es un producto interesante puesto que, como también se refiere en el anterior apartado, probablemente este tipo de productos 4-acetoxi podrían rendir los heterobiciclos 4-oxo por hidrólisis.



**Figura 2.132:** Bromación y acetoxilación secuenciales del *cabeza de serie* en presencia de bromo y nitrito sódico. Entre paréntesis el rendimiento global.

En consecuencia, puesto que puede ser empleado como modelo para estudiar la probable hidrólisis al término 4-oxo en medio acuoso, se decide optimizar su obtención.

Tras diversas pruebas, se determinan unas condiciones muy similares a las empleadas en el ejemplo referido en el apartado anterior. No obstante, cabe destacar que el protocolo implementado procura desarrollar un proceso *one-pot two-processes* que en la primera etapa bromo la posición 4', y en la segunda reemplaza el grupo 4-amino por sustitución nucleófila de la sal de diazonio, formada mediante reacción con nitrito sódico, del que son necesarios únicamente 5 equivalentes -con menos no evoluciona significativamente-.

También es importante reseñar, que el *work-up* de la reacción debe evitar en todo momento cualquier tipo de calefacción, por lo tanto, es preferible precipitar el producto formado mediante dilución 1:10 con agua, filtrarlo y lavarlo con abundante agua, etanol y éter. En caso contrario, se obtienen mezclas complejas de productos, alguno de los cuales puede ser identificado como el término 4-oxo.

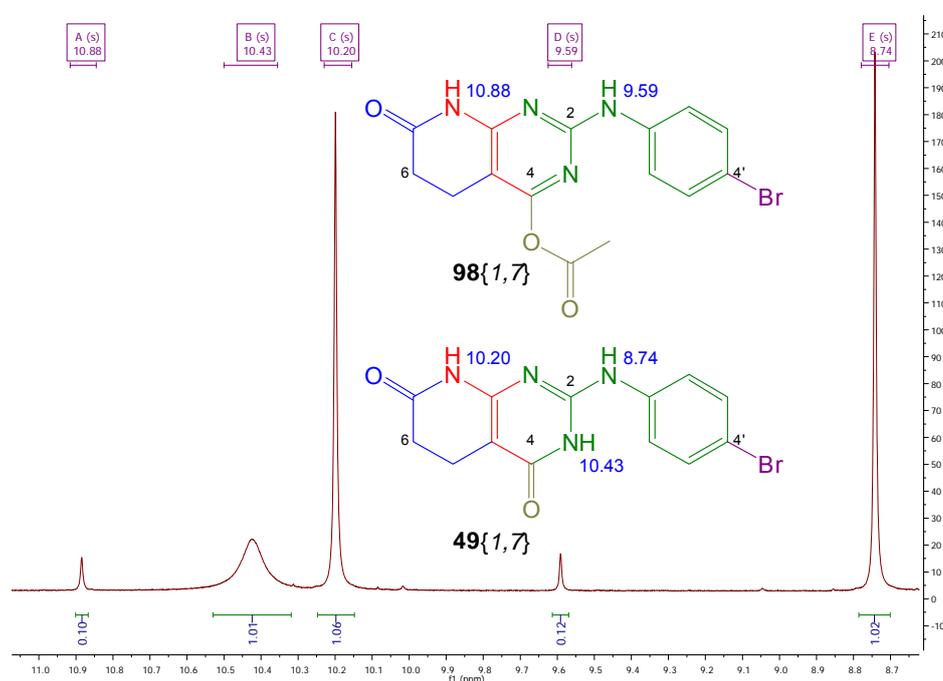
A partir de este punto, se deciden estudiar las condiciones de reacción más convenientes para lograr la hidrólisis de **98{1,7}** a su correspondiente término 4-oxo.

Ya que los compuestos 4-acetoxi no se hallan propiamente descritos en la bibliografía, tampoco no está referida su hidrólisis. Por lo tanto, no es posible ensayar este proceso por analogía con ningún otro. En consecuencia, se decide probar de calentar el producto modelo en ácido clorhídrico 1 M durante 30 minutos a 80 °C.

Tras este tiempo, el sólido dispersado en el matraz de reacción sigue teniendo prácticamente el mismo aspecto o, como mucho, ha ganado cierta coloración amarilla muy tenue. Se aísla el producto diluyendo el medio de reacción 1:10 con agua, se filtra y se lava con abundante agua, etanol y éter.

El análisis mediante espectroscopía de  $^1\text{H}$ -RMN revela el desplazamiento de las señales típicas del protón unido a nitrógeno lactámico y a nitrógeno del sustituyente 4-bromofenilamino. Además, aparece un singlete muy ancho a 10,43 ppm. Estas señales son muy coherentes con las descripciones de productos 4-oxo de anteriores trabajos (Matallana, 1998; Mont, 2005).

Por consiguiente, parece que es posible la desacetoxilación del 4-acetoxiheterobiciclo. Pero, en este ensayo se obtiene como producto mayoritario en una mezcla con el producto de partida en una proporción de 10 a 1, aproximadamente.



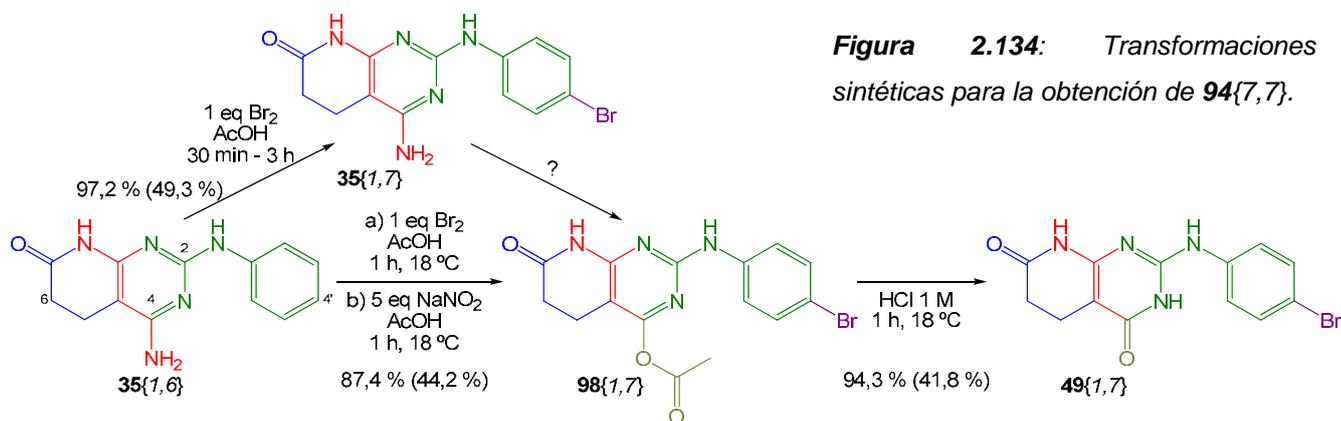
**Figura 2.133:** Fragmento del  $^1\text{H}$ -RMN del primer ensayo de hidrólisis. En las estructuras se muestran las asignaciones más relevantes.

Desgraciadamente, al aumentar el tiempo de calefacción a 1 h no se logra mejorar mucho más esta conversión. Probablemente esto se debe al hecho de que el producto acetoxilado no es muy soluble en el medio acuoso y, durante el transcurso de la reacción, no se logra una correcta dispersión del producto, con lo que la hidrólisis es más difícil.

Con el objetivo claro de mejorar la conversión del proceso logrando una mayor dispersión de 98{1,7}, se disgrega el producto 1 h mediante ultrasonidos antes de proceder a la calefacción durante 1 h a 80 °C con agitación magnética.

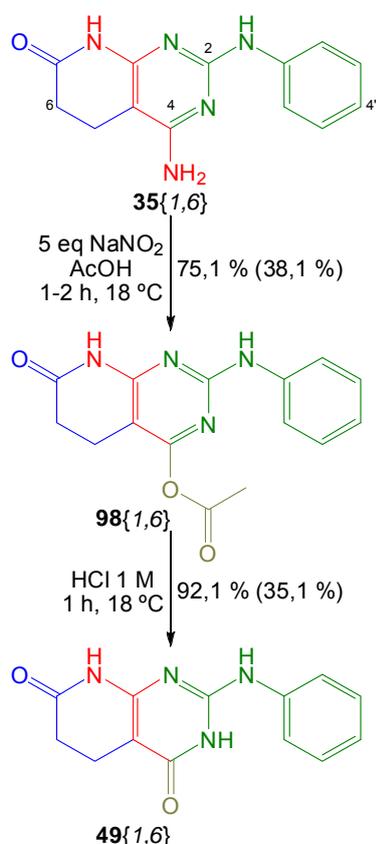
Afortunadamente, la hidrólisis implementada de este modo rinde el producto 49{1,7} con una elevadísima pureza -cumple AEO- y un rendimiento excelente: 94,3 %.

Al considerar globalmente las transformaciones sintéticas asociadas al producto 4-oxo **49**{1,7}, se aprecia que, si bien su correspondiente término acetoxi se puede obtener fácilmente mediante un proceso de tipo *one-pot two-processes* a partir del *cabeza de serie* **35**{1,6}, sigue faltando por desarrollar una metodología que permita la conversión de **35**{1,7} en **98**{1,7}. Es decir, es necesario todavía hallar un proceso capaz de sustituir los grupos 4-amino por 4-acetoxi, sin que sea necesario bromar al mismo tiempo.



**Figura 2.134:** Transformaciones sintéticas para la obtención de **94**{7,7}.

Si se analiza en detalle el proceso que permite obtener la piridopirimidina **98**{1,7}, se puede apreciar que la primera etapa de reacción claramente corresponde al proceso de bromación del anillo aromático. Pero el segundo proceso provoca, precisamente, la sustitución que se pretende lograr.



Así pues, se ensaya el tratamiento de **35**{1,6} con 5 equivalentes de nitrito sódico en ácido acético durante 1 h de agitación magnética a temperatura ambiente ( $18^\circ\text{C}$  a  $20^\circ\text{C}$ ). Se determina, que la adición del agente de nitrosación es mucho mejor realizarla en forma de sólido y de una sola vez. Las adiciones sucesivas del total de nitrito sódico necesario no son tan efectivas y las adiciones en forma de solución o suspensión aún lo son menos.

De nuevo, el *work-up* de la reacción debe evitar en todo momento cualquier tipo de calefacción, por lo tanto, es preferible precipitar el producto formado mediante dilución 1:10 con agua, filtrarlo y lavarlo con abundante agua, etanol y éter. En caso contrario, se obtienen mezclas complejas de productos, alguno de los cuales puede ser identificado como el término 4-oxo.

De este modo es posible obtener la piridopirimidina **98**{1,6} con un rendimiento de reacción del 75,1 % y una pureza muy elevada.

**Figura 2.135:** Obtención del término 4-oxo del *cabeza de serie*.

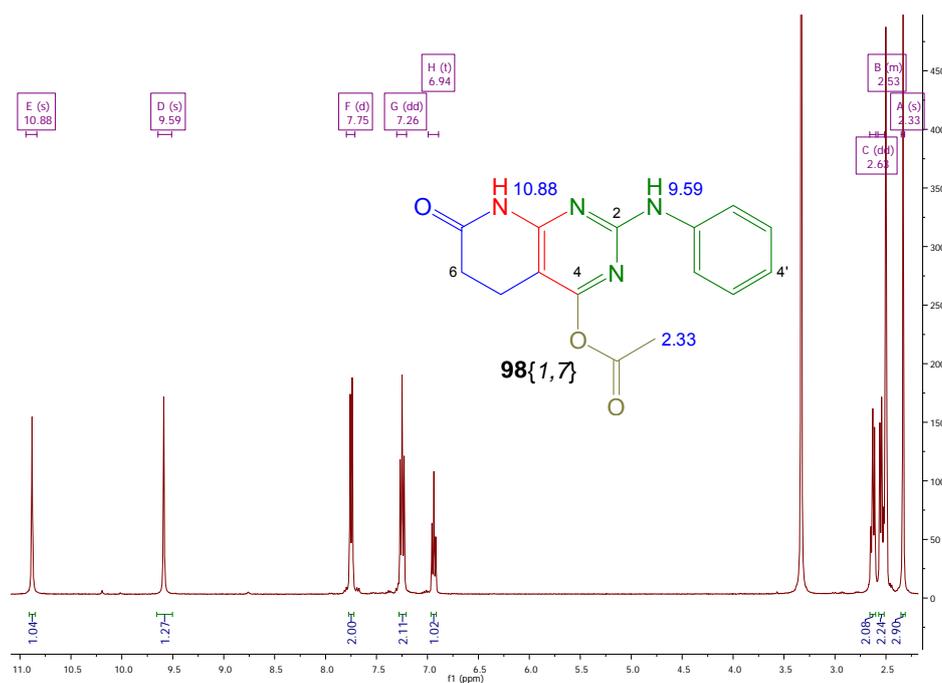


Figura 2.136:  $^1\text{H}$ -RMN del derivado 4-acetoxi del cabeza de serie.

Sintetizado este término 4-acetoxi, se ensaya su hidrólisis tal como se refiere anteriormente y se obtiene la 4-oxopiridopirimidina **49**{1,6} con un excelente rendimiento, prácticamente cuantitativo.

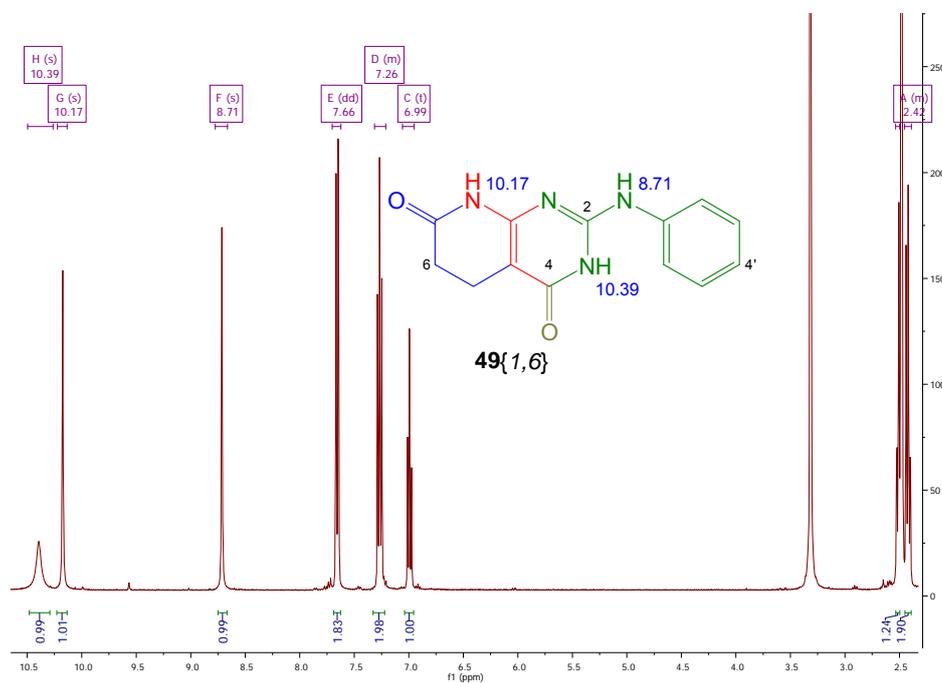
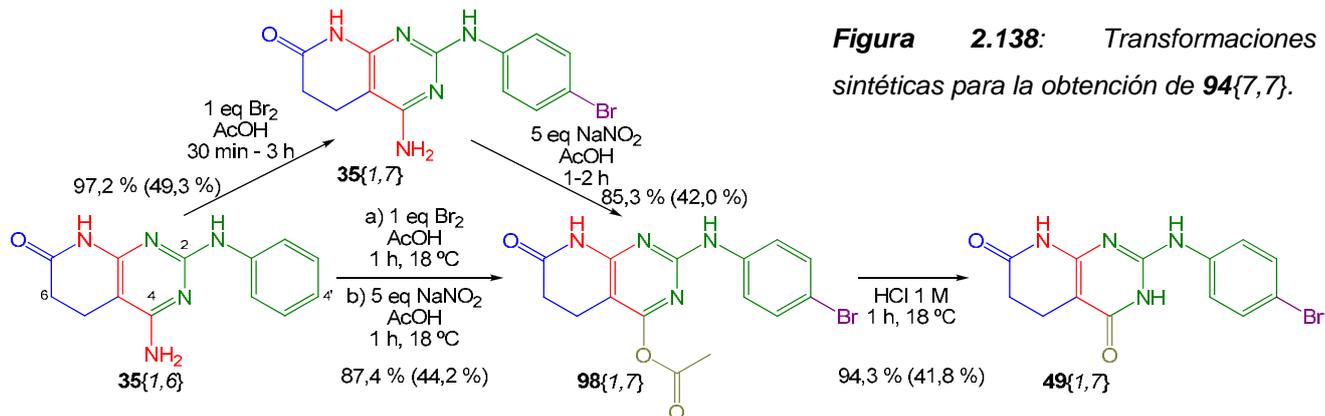


Figura 2.137:  $^1\text{H}$ -RMN del derivado 4-oxo del cabeza de serie.

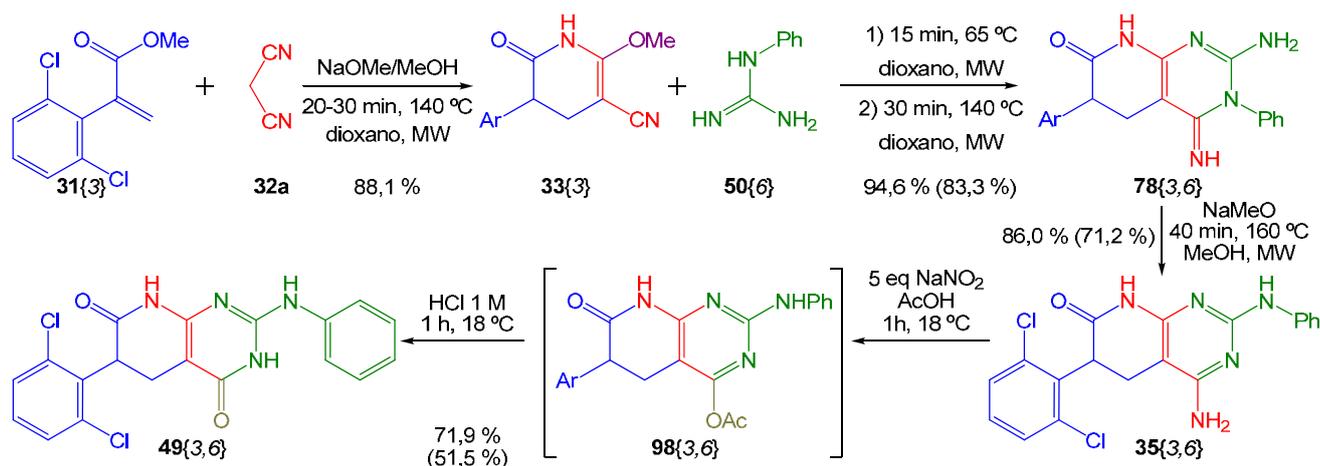
En vistas de estos resultados, se procede a generalizar el método de obtención de 4-acetoxipiridopirimidinas y su posterior hidrólisis a 4-oxopiridopirimidinas.

En primer lugar se ensaya sobre el término de monobromación **35**{1,7}, ya que es el proceso que faltaba para completar el cuadro sintético referido en la siguiente figura. Afortunadamente, la reacción procede acorde con lo esperado y rinde el término 4-acetoxi **98**{1,7} con un 85,3 %. Por lo tanto, según los rendimientos globales (44,2 % mediante el proceso *one-pot two-processes*, 42,0 % mediante el proceso en dos etapas) el proceso sin aislamiento es algo mejor, probablemente por la reducción de las mermas en ambas etapas, y no se aprecia la existencia de sinergia alguna entre la bromación y la nitrosación/sustitución.



Como último ejemplo de la versatilidad de esta ruta sintética para la obtención de 4-oxipiridopirimidinas, se decide ensayar un compuesto que presente un sustituyente en la posición C6. En este sentido, el compuesto **35**{3,6} representa un candidato excelente, habida cuenta de lo significativo de sus sustituyentes.

Así pues, al ensayar la diazotización en acético de este compuesto se obtiene una mezcla sólida del término 4-acetoxi i 4-oxo (aproximadamente 1:1) que es insoluble en agua pero, sorprendentemente soluble en etanol, acetato de etilo e, incluso, éter dietílico.



En consecuencia, el compuesto intermedio 4-acetoxi únicamente se precipita diluyendo diez veces el medio de reacción con agua, filtrando y lavando con abundante agua para eliminar el exceso de nitrito sódico. Este sólido no caracterizado, se recoge con etanol -se

solubiliza-, se elimina el disolvente mediante destilación al vacío e inmediatamente se trata según el protocolo de hidrólisis en HCl 1 M.

De este modo es posible obtener el compuesto **49**{3,6} con un rendimiento del 71,9 %. La verdad es que este rendimiento es bueno, pero lo que es realmente relevante es que significa que esta ruta de obtención de 4-oxopiridopirimidinas en cinco etapas sintéticas es versátil y puede ser empleada para la síntesis de este tipo de heterobiciclos, cuyas metodologías de obtención siempre presentan rendimientos muy inferiores a sus equivalentes 4-amino.

En este punto se plantea la siguiente cuestión. ¿Es una novedad esta estrategia de obtención de compuestos bicíclicos en los que uno de sus anillos se transforma de pirimidina 4-aminosustituida a 4-oxosustituida mediante la obtención de los correspondientes términos 4-acetoxi?

Pues si bien es cierto que no existe ni una sola referencia en la bibliografía de este tipo de compuestos obtenidos por diazotización -sí por acilación-, sí que se halla un único trabajo en el que se mencionan sistemas heterocíclicos cuyo anillo de 4-aminopirimidina se transforma en 4-oxopirimidina de manera análoga a la desarrollada en el presente trabajo. De hecho, los autores refieren que al tratar el sistema heterobicíclico con 1,2 equivalentes de nitrito sódico en solución acuosa de ácido acético al 20 % durante 1 h y, posteriormente, mantener la mezcla a reflujo durante 2 h, obtienen los correspondientes términos 4-oxo con rendimientos máximos del 40 % (Sekiya et al., **1981**).

Los autores de este trabajo tampoco refieren la obtención de estos sistemas 4-acetoxi, aunque es probable que su protocolo rindiera este tipo de productos como términos minoritarios mezclados con los 4-oxo pues su medio de reacción es fundamentalmente acuoso.

Sin embargo, del citado trabajo llama la atención la posibilidad de realizar todo el proceso de transformación de 4-aminopiridopirimidinas en 4-oxopiridopirimidinas mediante un proceso *one-pot two-processes*. ¿Se podría realizar la transformación de los sistemas **35**{x,y} mediante un proceso de este estilo para rendir **49**{x,y}?

Pues bien, al someter el *cabeza de serie* **35**{1,6} a este proceso, desgraciadamente no se obtiene **49**{1,6}. Probablemente, el motivo es que este protocolo emplea únicamente 1,2 equivalentes de nitrito sódico mientras que, como ya se ha comentado anteriormente al inicio de este apartado, para hacer reaccionar las 4-aminopiridopirimidinas **35**{x,y} son necesarios 5 equivalentes. Sin duda, esto significa que este tipo de sistemas es menos reactivo que el estudiado por los citados autores y, muy probablemente, esto es así por la muy menor nucleofilia del grupo amino y su consiguiente dificultad de diazotizar.

A partir de este punto existen tres estrategias a seguir -no excluyentes entre sí-: cambiar la composición del disolvente, aumentar la cantidad de agente de nitrosación y aumentar la temperatura del proceso.

Se ensayan mezclas de ácido acético y agua desde equimolar hasta 10 a 1, y cantidades de nitrito sódico desde 2 a 10 equivalentes, pero únicamente se observa algo de reacción cuando se emplean 5 o más equivalentes de nitrito sódico. De hecho, el mejor resultado es la obtención de una mezcla del término 4-acetoxi **98**{1,6} y del 4-oxo **49**{1,6} en proporción 2:1 cuando se trata el *cabeza de serie* durante 30 minutos a 50 °C en presencia de 5 equivalentes de nitrito y en dispersión de ácido acético y agua 10:1.

Así pues, parece ser que aumentar la proporción de agua disminuye la solubilidad de la piridopirimidina y, en consecuencia, la reacción avanza mucho más lentamente. Por otro lado, aumentar el tiempo de reacción cambia muy mínimamente la evolución de la reacción. Además, aumentar los equivalentes de nitrito favorece la nitrosación en C4' del anillo aromático (Smith et al., **2007**), especialmente si se combina con aumento de temperatura de reacción, y de nada sirve emplear el término de monobromación **35**{1,7}, que ni siquiera reacciona. Así mismo, aumentar la temperatura de reacción favorece este mismo proceso de nitrosación aromática, especialmente cuanto mayor es la cantidad de nitrito sódico.

Por último, se ensaya lo que hubiera parecido más evidente: el crudo de obtención de las 4-acetoxipiridopirimidinas en ácido acético -metodología desarrollada en el presente estudio-, se diluye con ácido clorhídrico 1 M y se calienta a 80 °C durante 30 o 60 minutos. Desgraciadamente, el resultado es el mismo: la nitrosación del anillo aromático. Ello indica de manera definitiva que el exceso de nitrito sódico no puede estar presente en el medio cuando se pretenden hidrolizar los ésteres pirimidínicos.

Por lo tanto, la única posibilidad de implementar un protocolo de este estilo es proceder como se refiere para la obtención de la 4-oxopiridopirimidina **49**{3,6}: hacer reaccionar en ácido acético a temperatura ambiente durante una o dos horas la 4-aminopiridopirimidina con 5 equivalentes de nitrito sódico, precipitar el término acetoxi -aunque sea mezclado con el oxo- por adición de agua al acético hasta diluir diez veces, filtrar, lavar con abundante agua -para eliminar cualquier resto de nitrito de sodio-, recuperar el producto por solubilización en etanol, eliminar del disolvente por destilación al vacío e hidrolizar posteriormente por calefacción a 80 °C en ácido clorhídrico 1 M durante 30 minutos o una hora.

De hecho, no haría falta realizar ningún ejemplo pues ya se refiere el de **35**{3,6}. No obstante, se aplica el protocolo acabado de describir al *cabeza de serie* **35**{1,6} y se obtiene el correspondiente 4-oxoheterobiciclo **49**{1,6} con un rendimiento del 70,1 % (35,5 % global), prácticamente equivalente al del proceso en dos etapas, lo que no debería sorprender habida cuenta que son fundamentalmente el mismo protocolo.

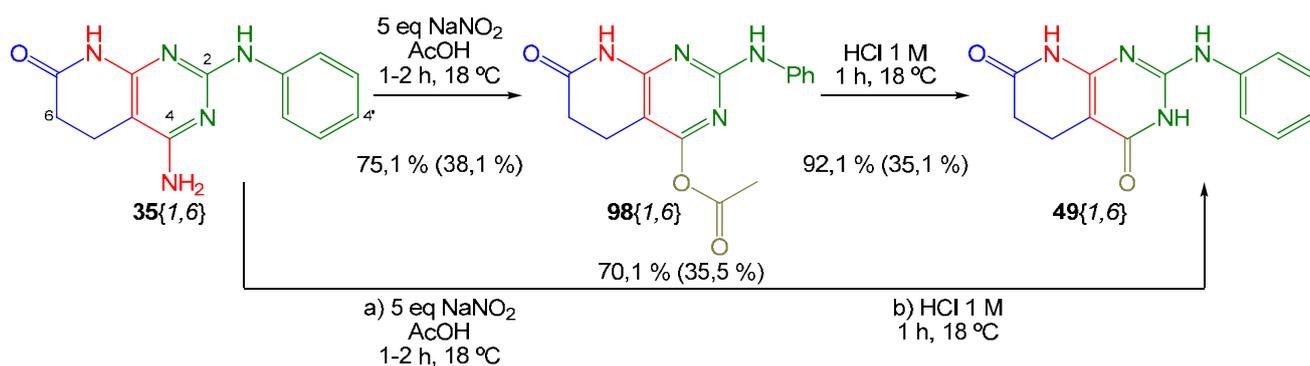


Figura 2.140: Obtención del término 4-oxo del cabeza de serie mediante las dos estrategias.

A partir de este punto, con las metodologías de conversión de las 4-aminopirido[2,3-*d*]pirimidinas  $35\{x,y\}$  en sus equivalentes 4-oxo  $49\{x,y\}$  puestas a punto, se decide ensayar la obtención de la 6-bromo-2-(4-bromofenilamino)pirido[2,3-*d*]pirimidina-4,7(3*H*,8*H*)-diona  $91\{7,7\}$ .

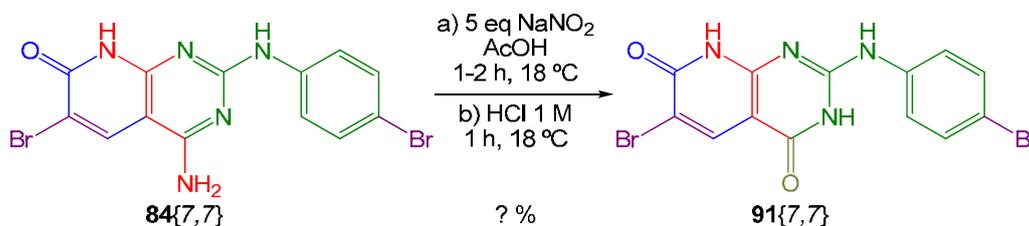


Figura 2.141: Obtención del término 4-oxo del cabeza de serie dibromado.

Así pues, al someter el término dibromado  $84\{7,7\}$  al tratamiento con 5 equivalentes de nitrito sódico en ácido acético a temperatura ambiente durante 1 h no se observa la más mínima evolución. Pero si se deja evolucionar la reacción hasta las 34 h, se obtiene una mezcla de  $91\{7,7\}$  y  $84\{7,7\}$  en una proporción de 5 a 3 (aproximadamente) tal como se puede observar en el siguiente <sup>1</sup>H-RMN.

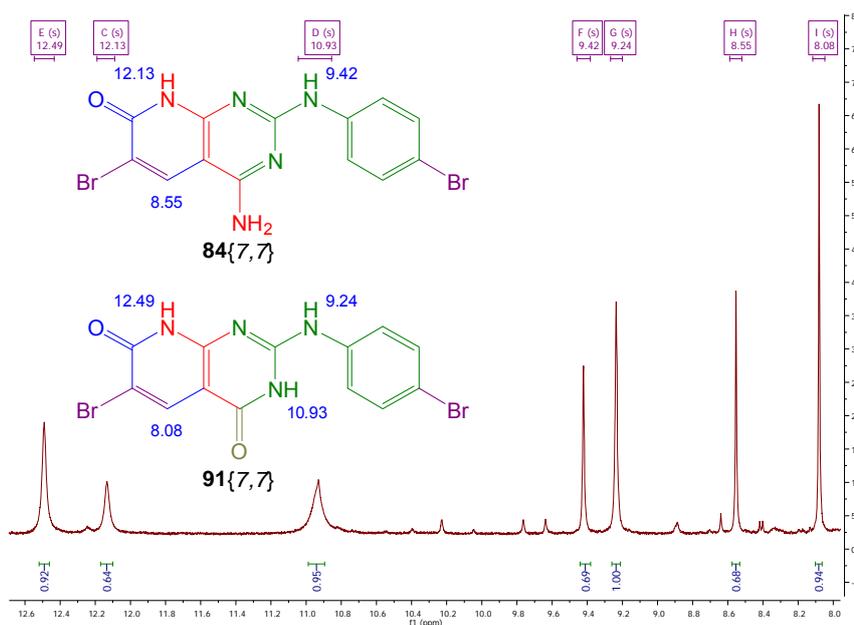


Figura 2.142: <sup>1</sup>H-RMN de diazotización en acético del cabeza de serie dibromado.

Desgraciadamente no es posible lograr mayor evolución de esta mezcla de productos a mayor tiempo de reacción.

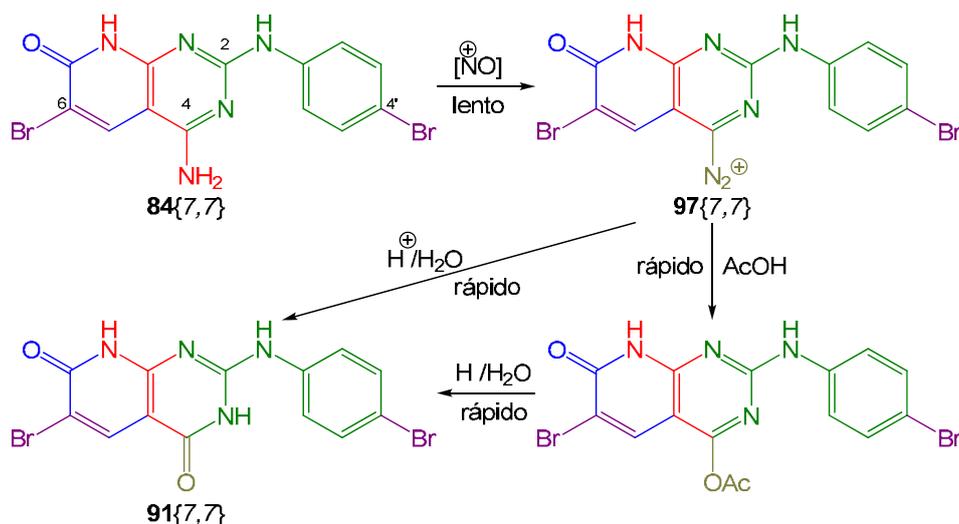
En consecuencia, parecería que la alternativa lógica es aumentar el número de equivalentes de nitrito sódico con los que se realiza el proceso. No obstante, al hacerlo se observa que se inducen fenómenos de nitrosación que rinden mezclas complejas de productos. En este sentido, por lo tanto, el último ensayo posible es tratar inicialmente **84**{7,7} con los 5 equivalentes de nitrito sódico necesarios, y pasadas 24 h adicionar una cantidad limitada (3 equivalentes o 5 equivalentes) de este agente para ayudar a completar el proceso durante 24 h más de agitación a temperatura ambiente. De este modo, se logra aumentar la conversión y se logra una mezcla de 5 a 2 de **91**{7,7} y **84**{7,7}. Pero si se intenta repetir la estrategia con una segunda adición de nitrito sódico a las 48 h, indefectiblemente se obtienen mezclas complejas, probablemente como resultado de reacciones de nitrosación.

Por último, se decide probar el efecto de la calefacción, aún a riesgo de inducir también estos procesos de nitrosación, tal como se comenta más arriba. De hecho, tras la adición de los 5 equivalentes de nitrito sódico pertinentes a la solución acética de **84**{7,7} y calentar a 50 °C, la CCF con AcOEt muestra el progresivo consumo del heterobicyclo hasta llegar a las 4 h, momento a partir del cual ya no se observa evolución alguna. El análisis mediante RMN del sólido obtenido en este ensayo revela que se mejora la conversión a 3:1 de **91**{7,7} respecto de **84**{7,7}. Al repetir este mismo ensayo pero adicionando 5 equivalentes más de nitrito sódico a las 4 h, el medio cambia repentinamente de color y se obtienen mezclas extremadamente complejas.

Aún y con todo, se repite de nuevo el proceso sin segunda adición de nitrito sódico para confirmar la mejora de la conversión. Sin embargo, en esta ocasión, la conversión baja hasta 3:2 de **91**{7,7} respecto de **84**{7,7}. Probablemente, este resultado adverso es consecuencia del menor contenido en agua del ácido acético empleado como disolvente en esta reacción, pues se desprecinta su envase para este ensayo. Efectivamente, la valoración mediante el ensayo de Karl-Fischer de ambos ácidos revela que el primero presenta un contenido en agua del 2,6 % y del 0,8 % para el segundo.

Recapitulando, de todos los resultados referidos hasta este momento se pueden extraer tres conclusiones relevantes:

- no es posible obtener el término 4-acetoxi del producto dibromado **84**{7,7} ya que evoluciona directamente al 4-oxo **91**{7,7}; probablemente esto es resultado de la baja nucleofilia del grupo 4-amino, con lo que la obtención de la correspondiente sal de diazonio (proceso lento) es difícil, pero una vez sintetizada -como la posición 4' es extremadamente nucleófila- rápidamente es sustituida, o bien por agua -presente en el disolvente-, o bien por ácido acético, cuyo término de condensación puede ser hidrolizado muy fácilmente a **91**{7,7} (especialmente a temperatura o tiempos largos)



**Figura 2.143:** Velocidad de los procesos de obtención del cabeza de serie 4-oxodibromado.

- no se puede forzar la conversión de las reacciones que permiten obtener **91{7,7}**; esto indica la falta de reactividad del grupo 4-amino de **84{7,7}**, hecho que refuerza la previsión de que no es posible obtener su término 4-bromo, tal como se apunta en el apartado anterior
- es muy importante la presencia de una pequeña cantidad de agua en el disolvente de reacción para facilitar la sustitución -e incluso la posible hidrólisis del término 4-acetoxi- de la sal de diazonio para rendir el producto **91{7,7}**, observación que va en la misma línea que el citado trabajo de Sekiya (Sekiya et al., 1981)

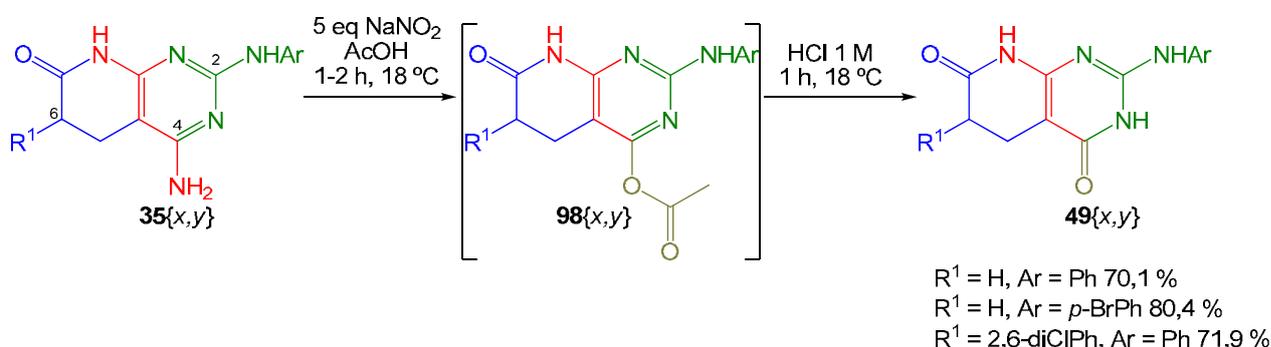
Según esta última observación, a partir de este punto todos los ensayos realizados con **84{7,7}** emplean una mezcla de ácido acético y agua al 3 %. Esta cantidad de agua debería facilitar el proceso por desplazamiento de la sal de diazonio.

En este sentido, se experimenta el efecto que podría tener un incremento sustancial de la solubilidad del producto de partida sobre la conversión lograda con el protocolo implementado hasta este momento.

Por consiguiente se ensaya de nuevo la diazotización de **84{7,7}** en mezclas de ácido acético (3 % de agua) y DMF desde 5:1 a 1:2, 1, 2, 5 y 10 equivalentes de nitrito sódico -que se disuelve más bien poco-, tiempos de reacción desde 1 h hasta 48 h, y temperaturas de reacción de 20 °C hasta 50 °C. Desgraciadamente, en ningún caso se logra mejorar la conversión más allá de la proporción 3:1 **91{7,7}**:**84{7,7}** ya lograda y, en todos los casos en los que el disolvente es más rico en DMF, se obtiene mezclas extremadamente complejas.

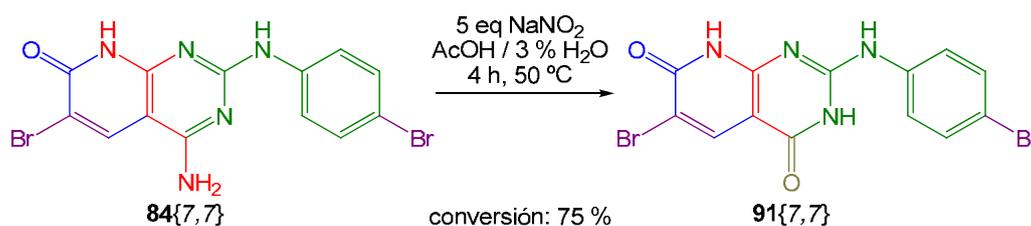
Desgraciadamente, ensayos análogos empleando mezclas de DMSO y ácido acético rinden resultados equivalentes.

En conclusión, las reacciones de diazotización en ácido acético de 4-aminopiridopirimidinas **35**{x,y} permiten obtener los términos 4-acetoxi y 4-oxo con excelentes rendimientos, suficientemente buenos como para que esta metodología sea generalizable.



**Figura 2.144:** Conversión de las 4-aminopiridopirimidinas en sus análogos 4-oxo.

Por el contrario, esta metodología no permite obtener claramente el término 4-oxo dibromado **91**{7,7}, si no que se obtiene una mezcla de este compuesto con el producto de partida. No obstante, este resultado podría darse por bueno habida cuenta que podría ser posible su purificación cromatográfica gracias a la muy diferente retención de ambos productos, observada mediante CCF eluida con AcOEt.



**Figura 2.145:** Obtención del término 4-oxo del cabeza de serie dibromado.

Por último, la diferencia de reactividad observada entre ambos tipos de piridopirimidinas presumiblemente se debe a la menor nucleofilia del grupo 4-amino de **84**{7,7}.

### 2.5.3.2. Mediante la obtención de la sal de diazonio de pirido[2,3-d]pirimidinas

Tal como se ha apuntado anteriormente, no hay en la bibliografía ningún ejemplo de pirimidina o heterobicyclo equivalente cuya sal de diazonio haya podido ser aislada. Es decir, este tipo de sales presentan una muy baja estabilidad y, por lo tanto, es mejor generarlas y hacerlas reaccionar instantáneamente.

En este sentido, sería interesante poder generar las sales de diazonio de las piridopirimidinas en medio acuoso y, si realmente no es posible aislarlas, hacerlas reaccionar inmediatamente con el propio disolvente -de lo que sí existen numerosos ejemplos- para rendir el correspondiente término 4-oxo.

Por lo tanto, en un primer momento se intenta sintetizar y aislar la sal de diazonio de la piridopirimidina modelo **35**{1,6} porque, si ello fuera posible, se abrirían todo el conjunto de posibilidades de sustitución comentadas anteriormente y muchísimas más.

Para sintetizar la sal de diazonio de este heterobicyclo se emplean protocolos relativamente habituales para la obtención de este tipo de sales (Rutherford et al., **1963**; Redmond et al., **1973**), la mayoría de los cuales trabajan a 0 °C (o temperaturas cercanas) en un medio acuoso con ácido tetrafluorobórico al 48 % porque su contra-anión estabiliza este tipo de compuestos en fase sólida.

Pues bien, ensayando esta reacción:

- empleando entre 1,1 y 5,6 equivalentes de nitrito sódico,
- adicionado el nitrito sódico en forma de sólido de una vez, en pequeñas adiciones sucesivas de sólido, en forma de solución a temperatura ambiente o 0 °C durante unos minutos u horas,
- agitando desde 1 h hasta 14 h,

se observa en todos los casos que el sólido en suspensión cambia su color a violeta intenso pero gradualmente (a tiempos largos) se recupera un producto de coloración amarilla. Tanto el producto lila -aislado a tiempos cortos- como el producto amarillo -aislado a tiempos largos- no revelan la presencia del correspondiente término 4-oxopiridopirimidínico mediante espectroscopia de RMN en ningún caso.

Además, se observa que el producto lila parece corresponder a algún tipo de producto *para* sustituido en el anillo aromático (probablemente el término de nitrosación), aunque no se investiga su naturaleza pues no coincide con el producto deseado. Por el contrario, el producto amarillo corresponde a una mezcla de productos en el que el término mayoritario es el producto de partida.

En general este comportamiento apunta a que la falta de solubilidad del producto conjuntamente con la baja reactividad de su grupo 4-amino determina la imposibilidad de generar la sal de diazonio en estas condiciones y, por consiguiente, ocurren procesos ni deseados ni esperados.

A tenor de estos resultados, se decide forzar la reacción de diazotización aumentando el nivel térmico del proceso. Desgraciadamente, al aumentar la temperatura -explorando desde temperatura ambiente hasta 50 °C- no varía significativamente el comportamiento observado ni a tiempos cortos (10 minutos) ni a tiempos largos (15 h).

En consecuencia, puesto que no es posible generar ni aislar la sal de diazonio del sistema piridopirimidínico modelo **35**{1,6}, ni siquiera se intenta para el término dibromado **84**{7,7} puesto que ya se sabe que su reactividad es menor.

No obstante, resta por ensayar si es posible generar esta misma sal en medio acuoso y hacerla reaccionar *in-situ* con el propio disolvente gracias a la *driving force* que supone la sustitución nucleófila con agua y posterior precipitación.

De hecho, se sabe que es posible generar sales de diazonio en ácido clorhídrico concentrado a 0 °C, conservarlas en solución corto tiempo y hacerlas reaccionar posteriormente por la adición de un sistema que rinda un nucleófilo formal (Kaslow et al., **1953**; Jolad et al., **1966**; Hoffman, **1981**).

En este sentido, se reproducen el marco de condiciones ensayadas anteriormente en ácido tetrafluorobórico aunque empleando ácido clorhídrico concentrado como medio de reacción. Pero además, a continuación se somete el crudo de la primera etapa a calefacciones de 10 minutos hasta 2 h a temperaturas desde 45 °C hasta 100 °C sin lograr observar en ningún caso la formación de la 4-oxopiridopirimidina **49**{1,6}.

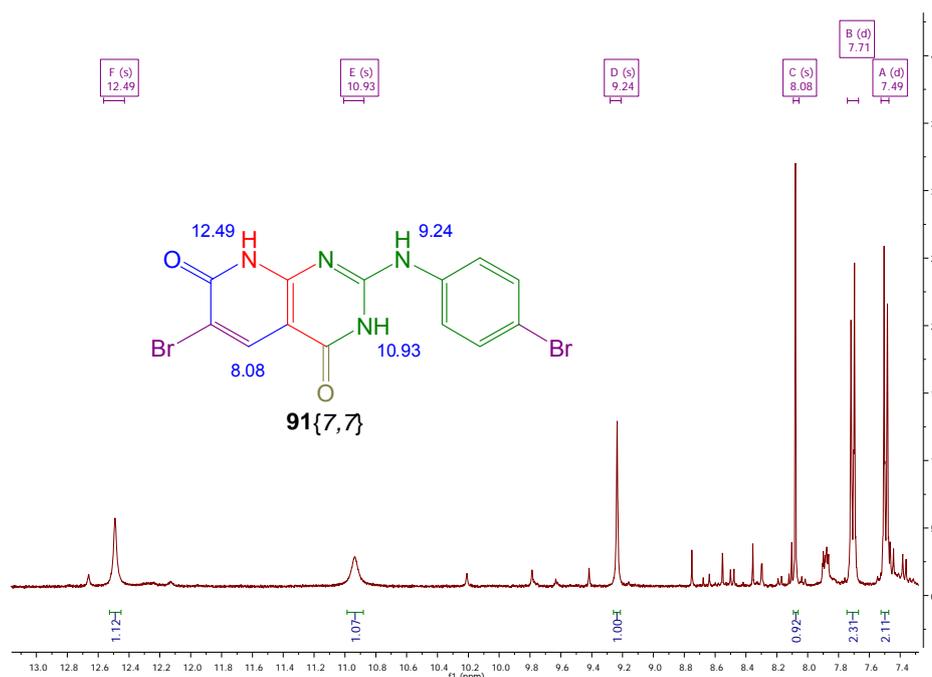
En conclusión, no es posible obtener ni aislar la sal de diazonio de los sistemas 4-aminopiridopirimidínicos **35**{x,y} en medio acuoso. En consecuencia, tampoco es posible obtener los correspondientes términos 4-oxopiridopirimidínicos por hidrólisis del grupo diazonio en este disolvente. Se apunta tanto a la muy baja solubilidad como a la baja reactividad del grupo 4-amino como causas más probables.

Así pues, según estos resultados, y en vista de la menor reactividad de la 4-amino-6-bromo-2-(4-bromofenilamino)pirido[2,3-*d*]pirimidina **84**{7,7}, no se ensayan dichos procesos sobre este producto.

#### 2.5.3.3. Mediante reacción de la sal de diazonio con agua en medio no acuoso

Tal como se comenta más adelante, durante el estudio de la obtención del término 4-hidrógeno de **84**{7,7} mediante diazotización con dos equivalentes de nitrito de *t*-butilo en DMF anhidra (Trattner et al., **1964**; Véliz et al, **2003**) durante 2 h a 65 °C, sorprendentemente, se observa la obtención de la 4-oxopiridopirimidina **91**{7,7} como producto mayoritario.

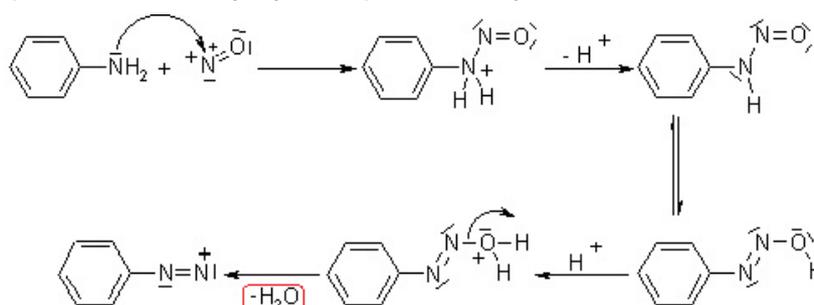
El comportamiento de este proceso indica que la sal de diazonio sí que se forma, però que inmediatamente reacciona con agua presente en el medio para rendir el término 4-oxo.



**Figura 2.146:**  $^1\text{H}$ -RMN de diazotización en DMF anhidro.

Así pues, en un primer momento se plantea la posibilidad de que el disolvente no es lo suficientemente anhidro y, por lo tanto, el alto contenido en agua justifica el resultado observado. Sin embargo, habida cuenta de que la humedad del disolvente de reacción -determinada mediante la metodología de Karl-Fischer- es bastante baja (0,078 %), parece que ésta no pueda ser la causa. Para poner cifras que ilustren esta conclusión, basta con decir que el mililitro de disolvente empleado como medio de reacción contiene 0,041 mmoles de agua, claramente inferiores a los 0,135 mmoles de **84**{7,7}.

Pero entonces, ¿cómo es posible que una cantidad insuficiente de agua pueda justificar la obtención del producto 4-oxo **91**{7,7} como producto mayoritario?



**Figura 2.147:** Mecanismo de la reacción de diazotización.

Pues bien, al considerar el mecanismo de la reacción de diazotización (Belov y Kozlov, 1963) -referido en la anterior figura- se puede apreciar que en la última etapa se genera una molécula de agua.

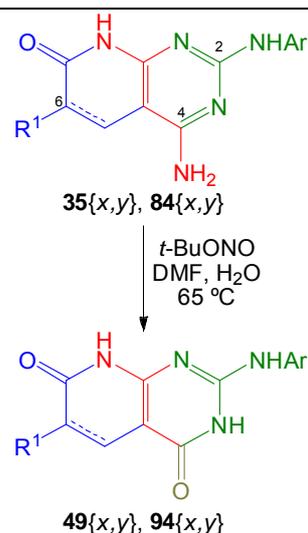
Así pues, además de la cantidad de agua presente en el propio disolvente, según este mecanismo durante la reacción se genera un equivalente de este nucleófilo. Por lo tanto, la suma del agua generada más el agua del disolvente supone un ligero exceso que sí justificaría plenamente la obtención del término 4-oxo por sustitución nucleófila de la sal de diazonio.

Ante este sorprendente y afortunado resultado, se plantea la posibilidad de implementar un nuevo protocolo basado en esta reacción para la obtención de sistemas 4-oxopiridopirimidínicos a partir de sistemas saturados **35**{x,y} e insaturados **84**{x,y}. De este modo, la transformación de los sistemas 4-amino en sus correspondientes análogos 4-oxo podría realizarse mediante un único paso de síntesis y no a través de la obtención de los sistemas 4-acetoxiheterobíclicos anteriormente estudiados.

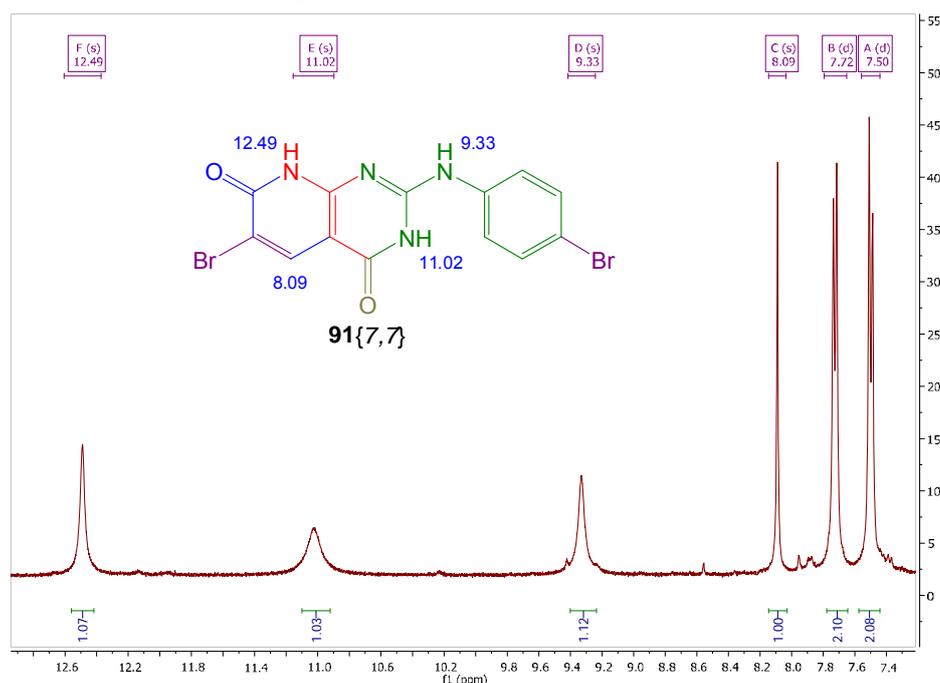
A tal efecto se estudia este proceso de diazotización trabajando dentro del espacio muestral definido por:

- disolvente de reacción: DMSO y DMF
- proporción de disolvente orgánico vs agua: 1:1 a 10:1
- agente de nitrosación y sus equivalentes: nitrito de *t*-butilo y nitrito de *iso*amilo, de 1 a 20 equivalentes
- temperatura de reacción: 65 °C
- tiempo de calefacción con microondas: de 1 min hasta 2 h.

Afortunadamente, de todos los experimentos realizados bajo estas premisas es posible determinar que, en una mezcla de DMF y agua 5:1, el tratamiento de **84**{7,7} con 5 equivalentes de nitrito de *t*-butilo durante 2 h a 65 °C (por irradiación de microondas) permite la obtención del término 4-oxo **91**{7,7} con un rendimiento excelente (81,7 %) y una pureza muy elevada, tal como muestra el siguiente espectro de <sup>1</sup>H-RMN.

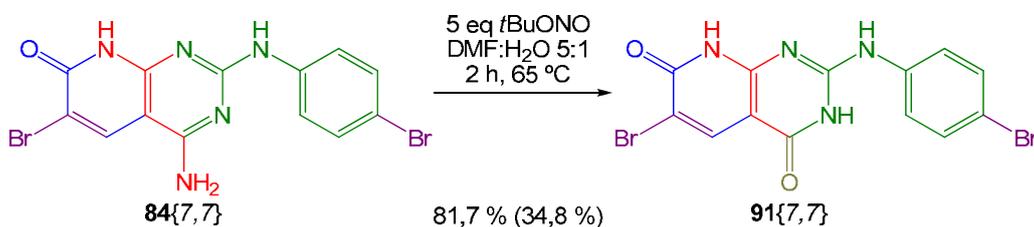


**Figura 2.148:** Posible transformación en un solo paso sintético.



**Figura 2.149:** <sup>1</sup>H-RMN de **91**{7,7} obtenido por diazotización en DMF y agua 5 a 1.

De la condiciones de reacción que permiten esta conversión se puede deducir que, efectivamente, la combinación de un tan gran exceso de agua -más de 70 equivalentes- y el mayor exceso de agente de nitrosación favorecen el proceso porque la poca sal de diazonio formada rápidamente es convertida en el término 4-oxo, lo que supone una gran *driving force*.

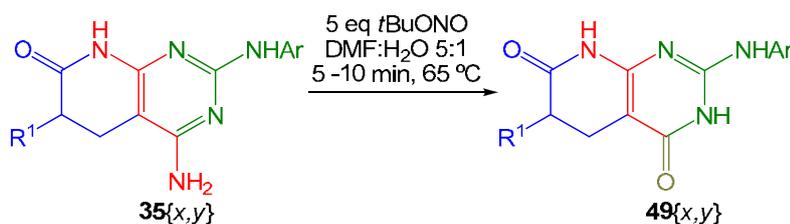


**Figura 2.150:** Obtención del término 4-oxo del cabeza de serie dibromado.

Así mismo, el disolvente de reacción mayoritariamente orgánico, más concretamente DMF, también juega un papel relevante. De hecho, al tratarse de uno de los pocos disolventes en los que los sistemas 4-aminopirido[2,3-d]pirimidínicos son solubles, facilita -o como mínimo no perjudica- el proceso de diazotización, de por sí ya poco favorecido por la baja reactividad del grupo 4-amino, especialmente en **84{7,7}**.

Al considerar estos buenos resultados precisamente sobre el compuesto cuyo grupo diazotizable es menos reactivo, se plantea la posibilidad de que este mismo proceso (o alguna adaptación) podría permitir también la conversión de los sistemas saturados **35{x,y}**, cuyo grupo 4-amino es bastante más reactivo.

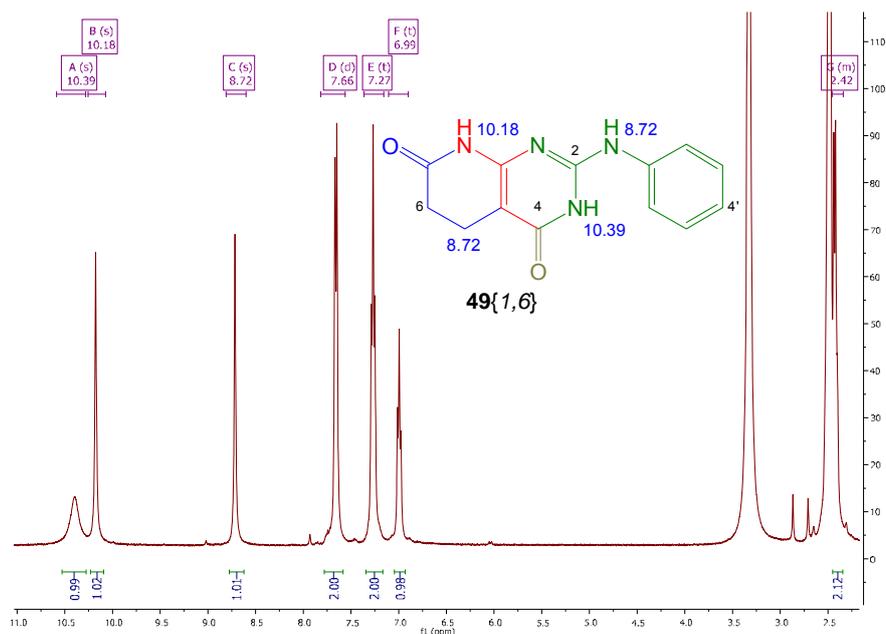
Y correspondiéndose con esta mayor reactividad, el estudio de las condiciones de reacción para este tipo de heterobiciclos revela que su conversión puede realizarse en tiempos más cortos, aunque dependen mínimamente de la piridopirimidina a convertir. Por ejemplo, para **35{1,6}** se requieren 5 minutos de calefacción por microondas a 65 °C, pero para **35{3,6}** son necesarios 7 minutos.



$\text{R}^1 = \text{H, Ar} = \text{Ph } 78,8 \text{ } \% (40,0 \text{ } \%)$   
 $\text{R}^1 = \text{H, Ar} = p\text{-BrPh } 86,4 \text{ } \% (42,6 \text{ } \%)$   
 $\text{R}^1 = 2,6\text{-diClPh, Ar} = \text{Ph } 64,3 \text{ } \% (46,1 \text{ } \%)$

**Figura 2.151:** Conversión de las 4-aminopiridopirimidinas en sus análogos 4-oxo. Entre paréntesis los rendimientos globales desde reactivos comerciales.

Además, tal como muestra el siguiente espectro, los productos son obtenidos con una pureza equiparable a la que rinde el itinerario a través de los derivados 4-acetoxi.



**Figura 2.152:**  $^1\text{H}$ -RMN de  $49\{1,6\}$  obtenido por diazotización en DMF y agua 5 a 1.

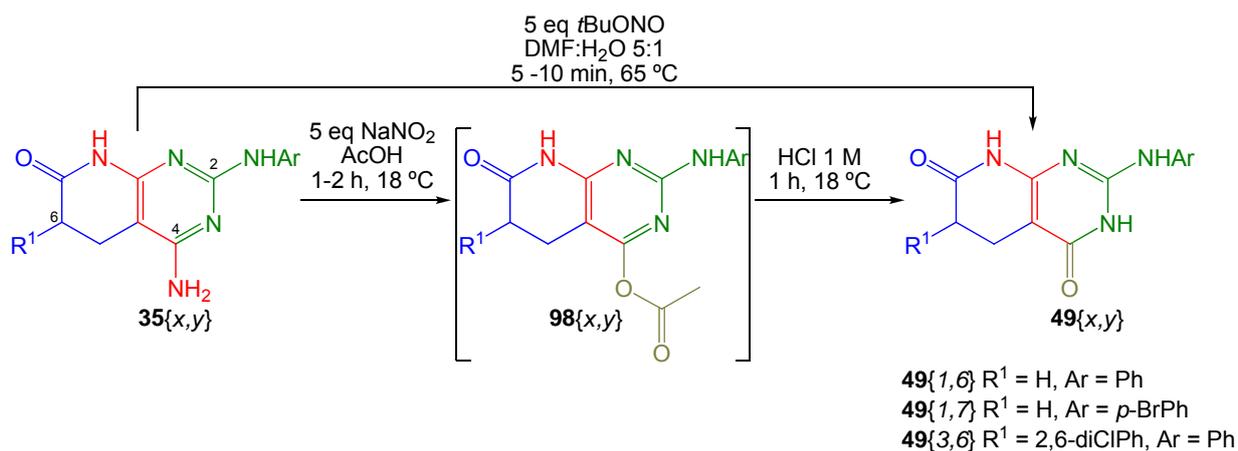
En resumen, afortunadamente, la diazotización en DMF en presencia de un gran exceso de agua permite la conversión del *cabeza de serie* dibromado  $84\{7,7\}$  en su equivalente 4-oxo con excelente rendimiento.

Así mismo, los 4-aminoheterobiciclos  $35\{x,y\}$  también pueden ser convertidos mediante un proceso equivalente pero con menores tiempos de reacción, lo que supone una muy interesante estrategia para obtener sistemas 4-oxo  $49\{x,y\}$  en una sola etapa y sin necesidad de sintetizar los términos 4-acetoxi anteriormente referidos.

#### 2.5.3.4. Comparación de los métodos de obtención de 4-oxopiridopirimidinas

En cuanto a los sistemas 4-amino-5,6-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina  $35\{x,y\}$  se establece que es posible la transformación en sus equivalentes 4-oxo  $49\{x,y\}$  mediante sendos procesos basados en la diazotización del grupo 4-amino en medios de reacción claramente diferenciados:

- en acético glacial (no anhidro) con 5 equivalentes de nitrito sódico para rendir los correspondientes términos 4-acetoxiderivados  $98\{x,y\}$  que tras lavado intenso con agua pueden ser hidrolizados en medio acuoso para generar sus equivalentes 4-oxo
- en DMF y agua (5:1) con 5 equivalentes de nitrito de *terc*butilo para rendir directamente los correspondientes términos 4-oxo



**Figura 2.153:** Conversión de las 4-aminopiridopirimidinas en sus análogos 4-oxo.

Los rendimientos de ambas estrategias son buenos y relativamente similares, aunque ligeramente superiores para la conversión en una sola etapa. Probablemente esta pequeña diferencia se deba a la menor manipulación que implica un proceso en una sola etapa sintética respecto a un proceso en dos etapas (dos preparaciones, dos *work-up*, etc.).

	Rdtos de obtención de <b>49</b> { <i>x,y</i> } / %	
	Via acetoxi <b>98</b> { <i>x,y</i> }	Directa
<b>35</b> {1,6}	70,1 (35,5)	78,8 (40,0)
<b>35</b> {1,7}	80,4 (39,6)	86,4 (42,6)
<b>35</b> {3,6}	71,9 (51,6)	64,3 (46,1)

**Tabla 2.17:** Rendimientos de conversión de las 4-aminopiridopirimidinas según la estrategia.

Entre paréntesis los rendimientos globales desde reactivos comerciales.

No obstante, aunque el itinerario en una sola etapa supone una metodología experimental más atractiva, debe considerarse el menor rendimiento observado en el único caso ensayado en el que el anillo piridónico está sustituido.

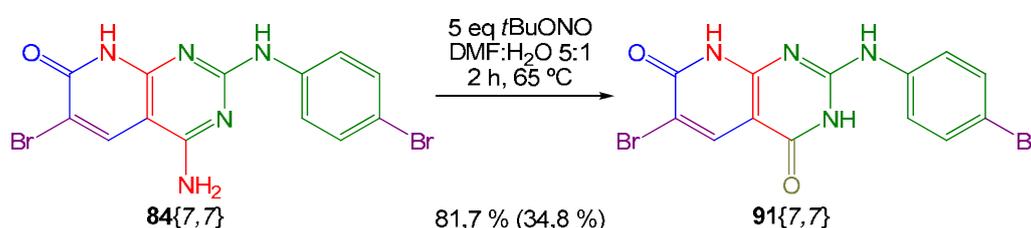
Pues bien, para **35**{3,6} (así como cualquier otro sistema 6-sustituido) la distancia existente entre el sustituyente en C6 y el grupo amino en C4 no hace previsible ninguna interferencia en la reacción de diazotización y posterior sustitución nucleófila de la sal de diazonio como consecuencia de efectos estéricos, aunque lo cierto es que el sustituyente 2,6-diclorofenil es muy voluminoso y presenta rotación restringida. Probablemente, la presencia de un sustituyente en la posición C5 tendría un efecto bastante más significativo sobre ambas reacciones.

Pero más allá del efecto de los sustituyentes en las reacciones consideradas, la experiencia acumulada por el Laboratorio de Síntesis del IQS en este tipo de productos 4-oxopirimidínicos apunta a que su solubilidad en disolventes orgánicos (e incluso agua) es bastante mayor que la de sus equivalentes 4-amino (Matallana, 1998; Berzosa, 2010), especialmente si los heterociclos presentan sustituyentes voluminosos. En este sentido, considerando los sustituyentes de **35**{3,6} y que el protocolo en una sola etapa sintética se desarrolla en DMF, es bastante probable que la diferencia de rendimiento sea una merma

consecuencia de que el *work-up* no es capaz de recuperar todo el producto que queda disuelto en el crudo de reacción.

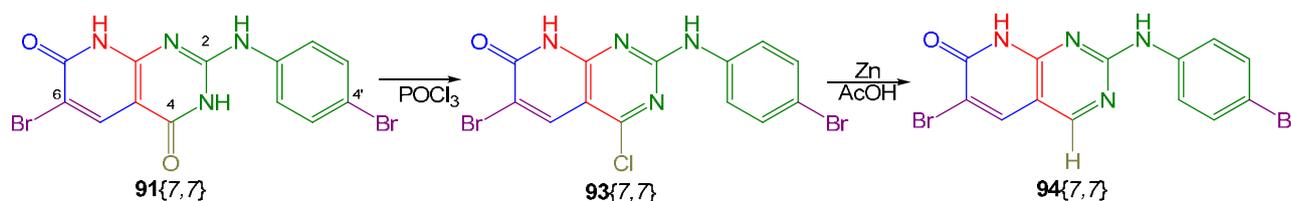
Pero aún y con todo, los rendimientos de obtención de las 4-oxopiridopirimidinas de cualquiera de los ejemplos estudiados mediante cualquiera de las dos estrategias propuestas suponen una mejora metodológica sustancial respecto a las herramientas sintéticas disponibles hasta el momento en el Laboratorio de Síntesis del IQS.

Ahora bien, por lo que respecta a los objetivos concretos del presente estudio, se determina que es posible la conversión del *cabeza de serie* dibromado **84**{7,7} en su equivalente 4-oxo con excelente rendimiento mediante la segunda de las estrategias propuestas.



**Figura 2.154:** Obtención del término 4-oxo del cabeza de serie dibromado.

Pero además, las posibilidades de sustitución de los dos bromos presentes en la molécula, hacen que la obtención de este producto sea muy importante porque podría permitir la obtención de su equivalente 4-halógeno y, a través de éste, el 4-hidrógeno, mediante las estrategias ya estudiadas por el Laboratorio de Síntesis del IQS (Mont, 2005).



**Figura 2.155:** Alternativa sintética para la obtención de sistemas 4-halógeno y 4-hidrógeno.

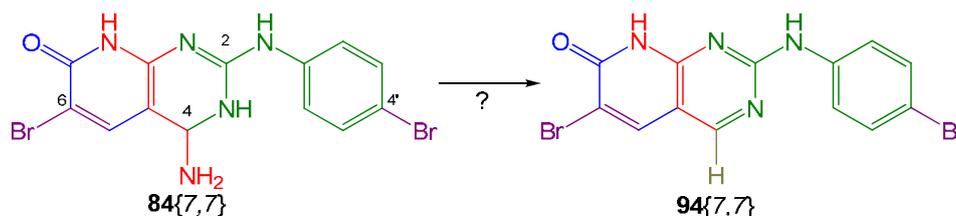
Evidentemente, estas posibles conversiones podrían suponer una estrategia alternativa a la propuesta del presente trabajo, que pretende establecer metodologías de obtención directa de estos compuestos a partir de la diazotización del residuo 4-amino.

No obstante, lo cierto es que la síntesis directa de los derivados 4-halógeno por diazotización no es posible en las condiciones ensayadas en el presente trabajo. Por lo tanto, al menos para este tipo de compuestos debería estudiarse la obtención a partir de los términos 4-oxo.

Desgraciadamente, tal como ya se ha comentado anteriormente, el estudio de esta estrategia alternativa a partir de **91**{7,7} queda fuera del alcance del presente trabajo.

#### 2.5.4. Obtención del término dibromado 4-hidrógenosustituido 94{7,7}

A diferencia de los apartados anteriores, en éste se ensaya directamente la transformación del cabeza de serie dibromado **84{7,7}**. El motivo es simple: la baja reactividad del grupo 4-amino de este compuesto hace que sus sustituciones sean mucho más difíciles y en condiciones más agresivas que las equivalentes transformaciones de 5,6-dihidropiridopirimidinas **35{x,y}**. En consecuencia, si se logra establecer una metodología capaz de lograr la obtención de **94{7,7}**, debería también ser posible hacer lo propio para estos sistemas cuyo grupo 4-amino es mucho más fácilmente diazotizable.



**Figura 2.156:** Posible obtención del término 4-hidrógeno del cabeza de serie dibromado.

En primer lugar, se ensayan procesos de obtención del término 4-hidrógeno que pasan por la obtención de la sal de diazonio en medio acuoso a 0 °C para posteriormente tratarla -sin aislamiento- con reductores como por ejemplo ácido metafosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_2$ ) (Kornblum e Iffland, **1949**; Kornblum et al., **1952**), formiato amónico (Ram y Ehrenkauffer, **1988**) o incluso etanol (Belov y Kozlov, **1963**).

Ninguno de los ensayos realizados variando tiempos de reacción, temperatura de calefacción, equivalentes de agente de nitrosación, o equivalentes y tipo de reductor, permiten obtener ni remotamente el producto deseado. De hecho, en algunos casos cuesta incluso detectar la presencia del término 4-oxo.

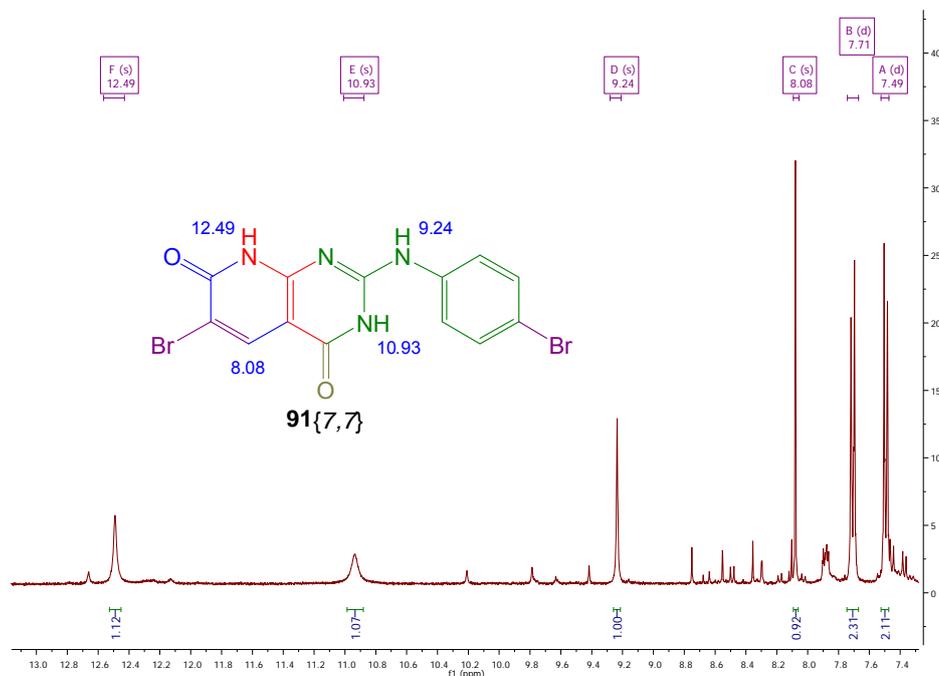
No obstante, lo positivo de estos desafortunados resultados es que son perfectamente congruentes con los expuestos anteriormente durante el estudio de la obtención de la sal de diazonio para su posterior hidrólisis a 4-oxopiridopirimidinas. Así mismo, tal como ya se ha apuntado, la combinación de una muy baja nucleofilia del grupo 4-amino con una pésima solubilidad en agua justifica totalmente la falta de evolución observada.

Por otro lado, existen multitud de trabajos relacionados con la desaminación de nucleósidos (o bases nitrogenadas relacionadas) a través de un proceso de diazotización en DMF empleando agentes de nitrosación solubles en solventes orgánicos tales como el nitrito de *terc*butilo o nitrito de *iso*amilo (Trattner et al., **1964**; Doyle et al., **1977**; Véliz et al, **2003**).

De hecho, algunos de estos autores (Doyle et al., **1977**) proponen -aunque no demuestran- que el agente de reducción es el propio disolvente. Concretamente, para el caso de la DMF se postula que la transferencia de hidruro desde el grupo *N*-metil -para rendir una

especie conjugada de carga positiva- convierte a este disolvente en el más conveniente para realizar este tipo de desaminación.

Sin embargo, tras tratar **84**{7,7} con dos equivalentes de nitrato de *t*-butilo en DMF anhidra durante 2 h a 65 °C (Trattner et al., **1964**; Véliz et al, **2003**), sorprendentemente se observa la obtención de la 4-oxopiridopirimidina **91**{7,7} como producto mayoritario, tal como indica el siguiente espectro de <sup>1</sup>H-RMN.



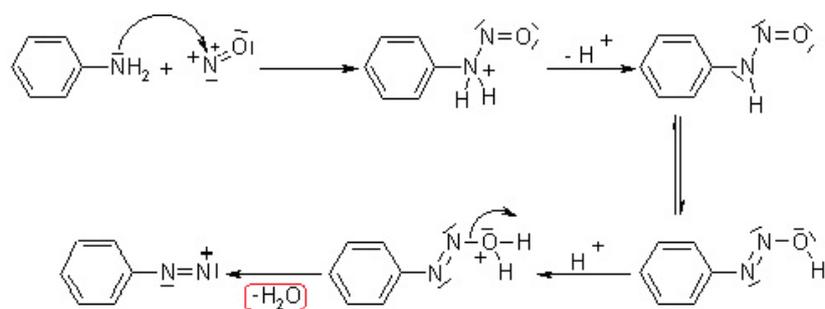
**Figura 2.157:** <sup>1</sup>H-RMN de diazotización en DMF anhidro.

El comportamiento de este proceso indica que la sal de diazonio sí que se forma, pero que inmediatamente reacciona con agua presente en el medio para rendir el término 4-oxo.

Así pues, en un primer momento se plantea la posibilidad de que el disolvente no es lo suficientemente anhidro y, por lo tanto, el alto contenido en agua justifica el resultado observado. Sin embargo, habida cuenta de que la humedad del disolvente de reacción -determinada mediante la metodología de Karl-Fischer- es bastante baja (0,078 %), parece que ésta no pueda ser la causa. Para poner cifras que ilustren esta conclusión, basta con decir que el mililitro de disolvente empleado como medio de reacción contiene 0,041 mmoles de agua, claramente inferiores a los 0,135 mmoles de **84**{7,7}.

Pero entonces, ¿cómo es posible que una cantidad insuficiente de agua pueda justificar la obtención del producto 4-oxo **91**{7,7} como producto mayoritario? Pues bien, al considerar el mecanismo de la reacción de diazotización (Belov y Kozlov, **1963**) -referido en la siguiente figura- se puede apreciar que en la última etapa se genera una molécula de agua.

Así pues, además de la cantidad de agua presente en el propio disolvente, según este mecanismo durante la reacción se genera un equivalente de este nucleófilo. Por lo tanto, la suma del agua generada más el agua del disolvente supone un ligero exceso que sí justificaría plenamente la obtención del término 4-oxo por sustitución nucleófila de la sal de diazonio.



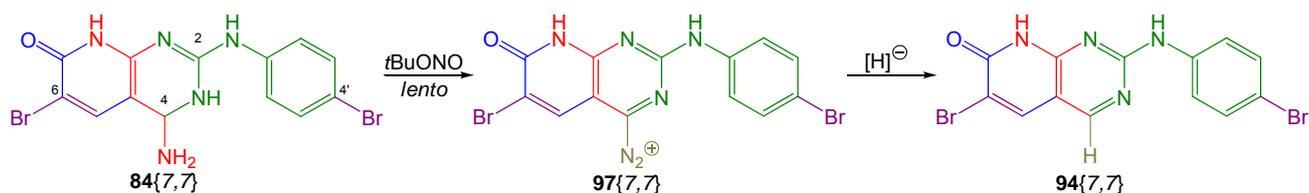
**Figura 2.158:** Mecanismo de la reacción de diazotización.

En consecuencia, el agua presente en el medio actúa competitivamente con el disolvente, lo que acaba resultando en que se da preferentemente la reacción de sustitución nucleófila de la sal de diazonio con agua más que la reacción de sustitución con hidruro generado a partir de la DMF.

Según esta interpretación, si fuera posible eliminar el agua del medio de reacción, debería minimizarse -idealmente eliminar- este proceso de sustitución no deseado que rinde el término 4-oxo y, en consecuencia, debería ser apreciable la formación del término 4-hidrógeno por reacción con el disolvente de reacción. Por lo tanto, la presencia de un agente desecante en el medio durante el proceso debería contribuir a maximizar la obtención de **94**{7,7}.

Desgraciadamente, al repetir el ensayo anterior pero en presencia de un gran exceso de sulfato magnésico anhidro o tamices moleculares activados, no se observa ningún tipo de evolución de la reacción y, prácticamente, puede recuperarse la totalidad del producto **84**{7,7} tratado. Además, alargar el tiempo de reacción hasta las 30 h a 65 °C tampoco cambia en absoluto este resultado. Pero es que añadir mayor exceso de agente de nitrosación o aumentar la temperatura del proceso, rinde crudos muy complejos en los que no se puede identificar claramente ningún término concreto: ni el 4-amino, ni el 4-oxo, ni el 4-hidro.

La falta de evolución de estos procesos indica que la capacidad de reacción de la DMF como fuente formal de hidruro no es suficientemente elevada como para desplazar la reacción hacia la formación de **94**{7,7}. Esto significa que, habida cuenta de la baja reactividad del grupo 4-amino ampliamente observada y discutida en apartados anteriores, la obtención del término 4-hidrógeno requeriría que la sustitución nucleófila de la sal de diazonio estuviera muy favorecida.



**Figura 2.159:** Posible obtención del término 4-hidrógeno del cabeza de serie dibromado.

Estas últimas reflexiones llevan claramente a considerar que la DMF no es el agente dador de hidruro más conveniente para este proceso. Por consiguiente, se plantea la posibilidad de

emplear para este papel el hidruro de sodio con la esperanza de que su capacidad para inducir la sustitución nucleófila de la sal de diazonio sea mucho más elevada.

A tal efecto, se dispersa en 20 mL de DMF anhidra a temperatura ambiente una mezcla de sólidos compuesta por el término dibromado **84**{7,7}, 5 equivalentes de hidruro sódico en dispersión de aceite al 60 % y gran exceso de sulfato magnésico anhidro. Tras lograr una suspensión fina de los sólidos, se adicionan lentamente 5 equivalentes de nitrito de *terc*butilo y se mantiene en agitación la mezcla durante 70 h a temperatura ambiente.

Desgraciadamente, de este modo tampoco se observa evolución alguna de la reacción. Probablemente, el nivel térmico es insuficiente para lograr una mínima activación de la diazotización y, por ello, ni tan siquiera puede darse la reacción de sustitución.

En consecuencia se ensaya un proceso similar al anterior pero calentando el matraz de reacción a 65 °C. Concretamente, se dispersa en 10 mL de DMF anhidra una mezcla del término dibromado **84**{7,7} y gran exceso de sulfato magnésico anhidro mediante agitación magnética y calefacción durante 30 minutos. A continuación se adicionan lentamente 5 equivalentes de nitrito de *terc*butilo y se mantiene la mezcla a 65 °C durante 90 minutos. Tras este tiempo, se adicionan 5 equivalentes de hidruro sódico en dispersión de aceite al 60 % -sin abrir el matraz de reacción a la atmósfera- observándose repentinamente una fuerte evolución de gas y una rápida coloración rojiza del medio de reacción. Por fin, tras mantener la calefacción 30 minutos más, se recuperan del medio de reacción los sistemas heterocíclicos precipitándolos con agua.

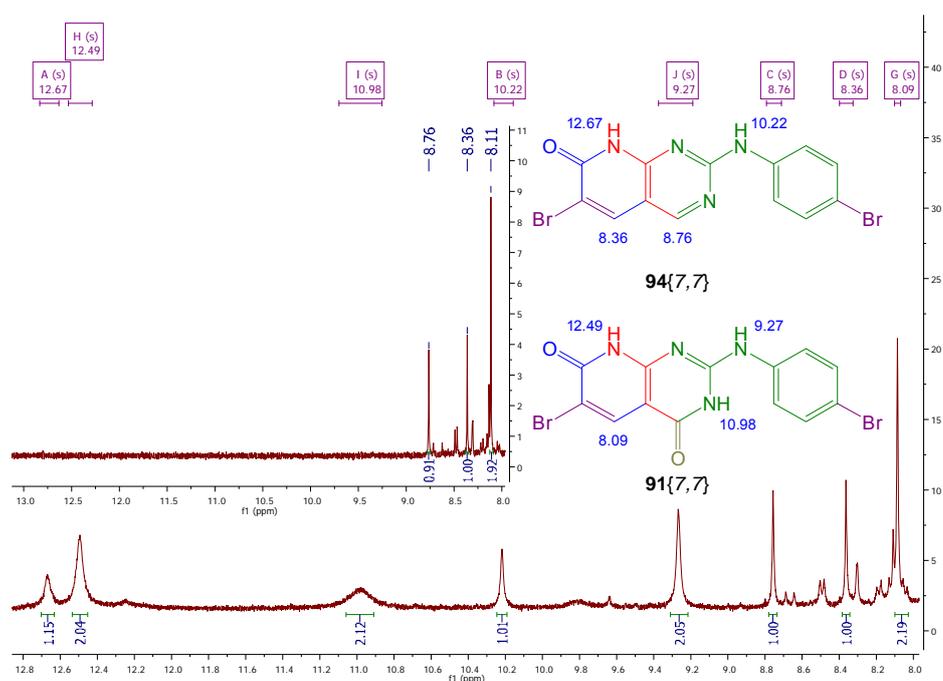
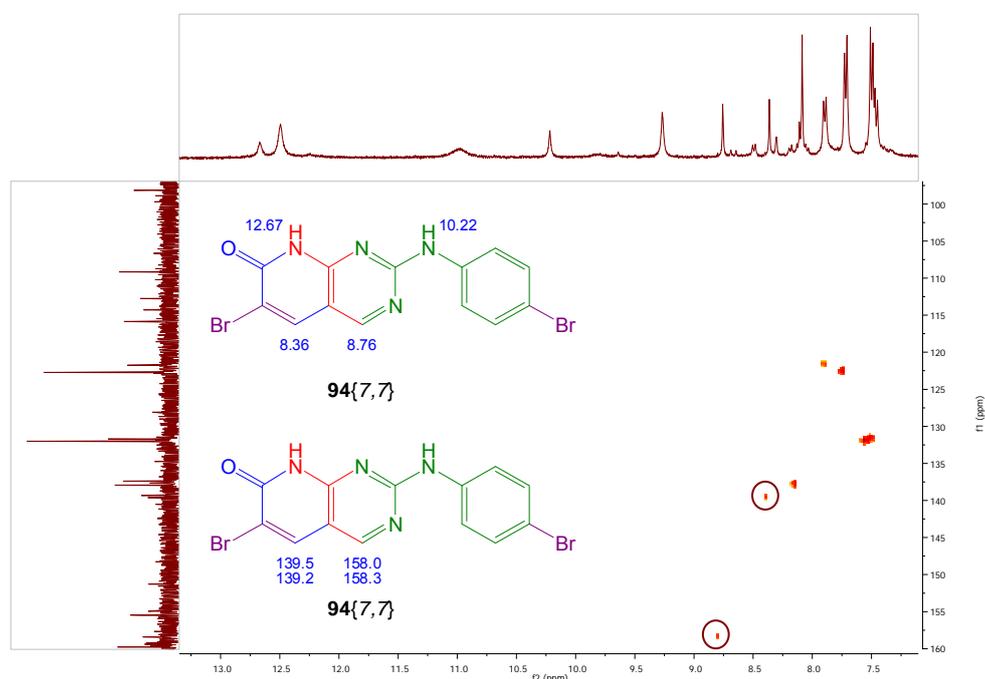


Figura 2.160:  $^1\text{H}$ -RMN del sólido obtenido. En el recuadro el espectro con  $\text{D}_2\text{O}$  adicionada.

El análisis del sólido mediante espectroscopía de RMN revela la presencia de dos productos muy mayoritarios en una proporción 2:1 entre sí. De hecho, el  $^1\text{H}$ -RMN indica que el producto más abundante puede ser identificado como el término 4-oxo **91**{7,7} gracias a las señales a 12,49 ppm, 10,98 ppm, 9,27 ppm y 8,09 ppm, cuya asignación también se muestra en la anterior figura.

Pero, el segundo producto mayoritario presenta dos singuletes de igual integral entre sí (8,76 ppm y 8,36 ppm) que no desaparecen por adición de agua deuterada y dos singuletes más (12,67 ppm y 10,22 ppm) que sí desaparecen y que, por lo tanto, deben ser atribuidos a grupos deuterables. Estas dos últimas señales podrían corresponder a los protones unidos al nitrógeno del sustituyente *p*-bromofenilamino en C2 y al nitrógeno lactámico. Y si esto es así, las otras dos señales serían atribuidas a hidrógenos unidos a carbono de los que uno debería ser el piridónico y el otro, por eliminación, el pirimidínico.



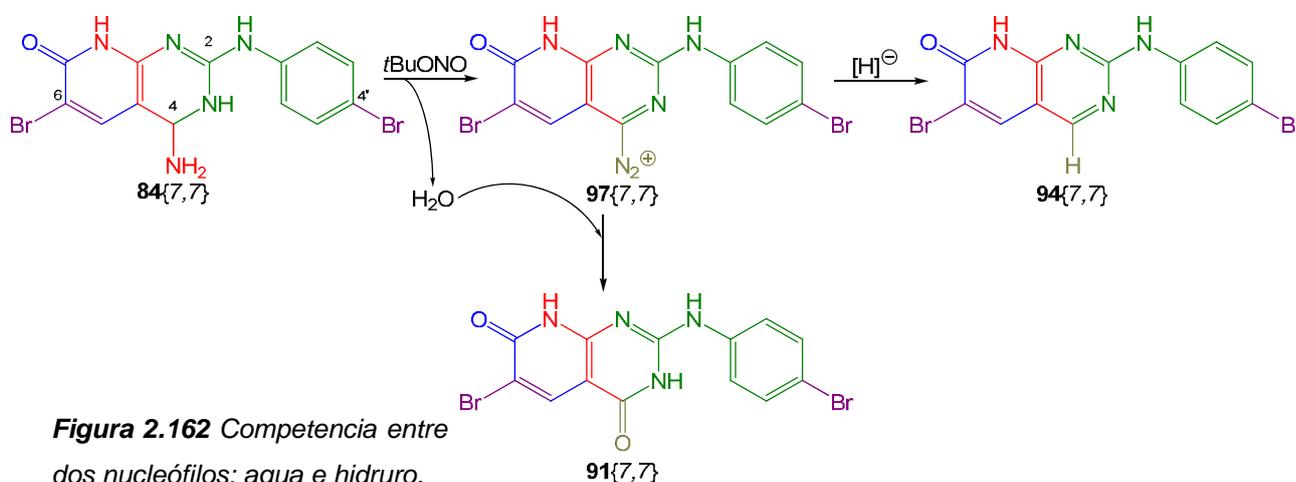
**Figura 2.161:** HSQC del sólido obtenido con las señales más significativas resaltadas. En la estructura química inferior se refiere la previsión de algunos carbonos y su valor observado.

En este sentido, con vistas a confirmar que una de estas señales de protón no deuterable corresponde al hidrógeno en C4, se registra el espectro bidimensional HSQC, reflejado en la anterior figura. Afortunadamente, existe una correlación entre estos protones con señales de carbono cuyas previsiones (valor superior) se ajustan extremadamente bien con los valores observados en el espectro (valor inferior). En concreto, para el protón a 8,76 ppm se aprecia una correlación con el carbono a 158,3 ppm cuya previsión proponía un desplazamiento de 158,0 ppm para la estructura **94**{7,7}.

Por lo tanto, parece que es posible obtener el término 4-hidrógeno de **84**{7,7} mediante diazotización y posterior sustitución nucleófila con hidruro sódico. No obstante, lo cierto es que

se obtiene en forma de mezcla 2:1 de **91**{7,7}:**94**{7,7}, es decir, que a pesar de la presencia de un agente desecante en el medio de reacción sigue formándose el término de sustitución con agua. Esto no deja de resultar sorprendente, sobre todo considerando que el sulfato magnésico ya ha demostrado su eficacia a la hora de evitar la formación de este producto en ensayos expuestos en este mismo apartado.

Por lo tanto, el agua que da lugar a este término 4-oxo debe proceder de la diazotización de **84**{7,7} inducida por la propia adición del exceso de hidruro. Es decir, la propia generación del término 4-hidrógeno implica necesariamente la aparición de agua en el medio de reacción. Además, esta agua debería ser capturada por el agente desecante empleado, pero por el contrario, parece que una vez liberada induce la diazotización del producto de partida por desplazamiento de la reacción para rendir el término 4-oxo y este proceso se convierte en el mayoritario.



**Figura 2.162** Competencia entre dos nucleófilos: agua e hidruro.

En resumen, la propia formación del término 4-hidrógeno **94**{7,7} implica que en el medio de reacción se establece una competencia entre los dos nucleófilos presentes: el hidruro y el agua formada por diazotización.

Así pues, a partir de estas reflexiones las líneas de actuación para mejorar la conversión en **94**{7,7} deberían centrarse en dos aspectos:

- mejorar la adsorción del agua generada empleando mayores excesos de sulfato magnésico o empleando agentes desecadores más efectivos
- aumentar la nucleofilia del hidruro aumentando la solubilidad del hidruro sódico en el medio de reacción, empleando mayor exceso o cambiando la especie que genera este anión

En un primer momento se realizan distintos ensayos empleando excesos de sulfato magnésico hasta cinco veces mayores y sustituyéndolo por sulfato sódico y varios tipos de tamices moleculares comerciales. Sin embargo, los resultados no difieren demasiado de esta proporción 2:1 **91**{7,7}:**94**{7,7} aunque sí son algo inferiores.

En vista del fracaso en la exploración de adsorbentes, se decide intentar facilitar la captación del agua generada durante el proceso de algún otro modo. En concreto, podría ser posible que la adición muy lenta del hidruro sódico (o incluso de la combinación de nitrito de *terc*butilo e hidruro sódico) hiciera evolucionar muy lentamente la reacción y, así, la pequeña cantidad de agua liberada al medio podría ser capturada más fácilmente.

Desgraciadamente, al ensayar ambas posibilidades se obtiene justamente el efecto contrario. Es decir, se maximiza la conversión de **84**{7,7} en el término 4-oxo **91**{7,7} y apenas se aprecia la formación de la 4-hidrógenopiridopirimidina **94**{7,7}. Este comportamiento resulta sorprendente, pero en realidad lo que indica es que efectivamente el agua generada tras la primera diazotización desequilibra el proceso hacia la formación de **91**{7,7}, y automáticamente se establece una reacción de tipo *runaway* que, en defecto de hidruro, tiende a maximizar la obtención del término de sustitución con agua.

Si se considera detenidamente esta última observación, se aprecia que, probablemente, es más decisiva la competencia entre nucleófilos que la capacidad de captar el agua generada por la diazotización. Por lo tanto, previsiblemente cualquier acción encaminada a aumentar la nucleofilia del hidruro -o, cuando menos, su presencia en el medio- debería permitir maximizar la obtención del término 4-hidrógeno **94**{7,7}.

Desafortunadamente, aumentar los equivalentes de hidruro sódico empleados para la reacción no soluciona el problema. De hecho, a partir de la adición de 10 equivalentes de esta sal sobre DMF caliente se observa una fuerte evolución de gases que probablemente corresponden a algún tipo de reactividad con el disolvente porque se recupera inalterado el 4-aminoheterobicyclo **84**{7,7}.

En consecuencia, y también para mejorar la solubilidad del hidruro sódico, se decide realizar ensayos equivalentes a los anteriores pero empleando DMSO como disolvente de reacción. Pues bien, empleando cantidades de hidruro desde equimolar hasta exceso de 50 equivalentes tampoco se observa ningún tipo de evolución de la reacción, muy probablemente porque ese reactivo actúa como base para generar el anión *dimsil*.

En resumen, como resultado de la baja nucleofilia del grupo 4-amino de **84**{7,7} no es posible obtener fácilmente su sal de diazonio. Únicamente puede lograrse cierta evolución de la reacción en presencia de nucleófilos de cierta potencia y que puedan sustituir esta sal fácilmente.

En este sentido, los ensayos de obtención del término 4-hidrógeno **94**{7,7} en DMF empleando como fuente formal de hidruro el propio disolvente de reacción no son capaces de rendir este producto. Se apunta a la combinación de la baja reactividad del grupo 4-amino y la poca tendencia de la DMF a actuar como dadora de hidruro como causas más probables de este resultado.

Por otro lado, en presencia de 5 equivalentes de hidruro sódico sí que se logra sintetizar la 4-hidrógenopiridopirimidina **94**{7,7}. Sin embargo, este protocolo de reacción no es satisfactorio pues se obtiene una mezcla 2:1 del término 4-oxo y el producto deseado que no puede ser separado por cromatografía a causa de la similitud de polaridad de ambos compuestos.

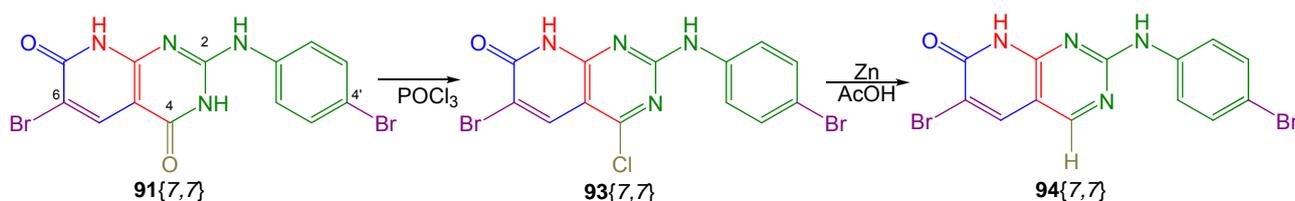


**Figura 2.163:** Obtención del término 4-hidrógeno mezclado con el término 4-oxo.

Además, se determina que cualquier intento de obtención de **94**{7,7} por diazotización y sustitución con hidruro rinde mezclas de ambos compuestos por la aparición en el medio de agua generada por la primera reacción. Ni la presencia de agentes desecantes en el matraz de reacción ni distintas estrategias de adición de reactivos logran minimizar su acción nucleófila y la competencia con el hidruro.

Por lo tanto, no es posible la obtención directa de la 6-bromo-2-(4-bromofenilamino)piridopirimidina **94**{7,7} mediante diazotización de la 4-aminopiridopirimidina **84**{7,7}.

En consecuencia, para la síntesis de ese término 4-hidrógeno debería ensayarse la estrategia de síntesis indirecta a través de su equivalente 4-halógeno mediante los protocolos ya desarrollados por el Laboratorio de Síntesis del IQS (Mont, **2005**).



**Figura 2.164:** Alternativa sintética para la obtención de sistemas 4-halógeno y 4-hidrógeno.

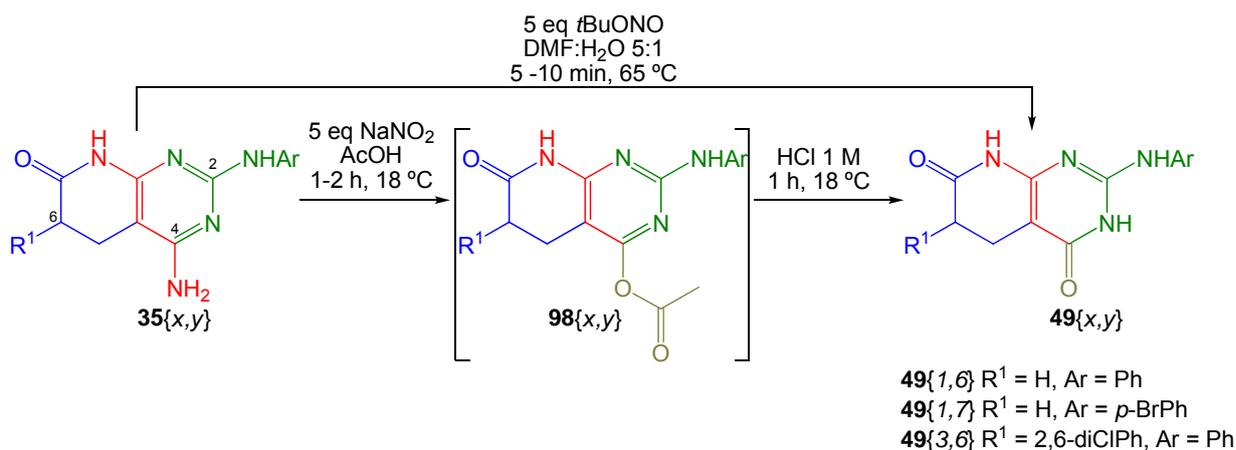
Evidentemente, este itinerario sintético representa una estrategia secuencial de obtención de estos tipos de compuestos, mientras que el presente trabajo únicamente considera el estudio de metodologías de obtención directa por diazotización y sustitución. Es por ello que, desgraciadamente, el estudio de esta estrategia alternativa a partir de **91**{7,7} queda fuera del alcance del presente trabajo.



En consecuencia, la obtención de los productos **92**{7,7}, **93**{7,7} y **94**{7,7} y sus respectivos derivados debería ser acometido empleando una estrategia alternativa a la estudiada en el presente estudio. De hecho, la secuencia de síntesis resaltada en la figura anterior mediante líneas de reacción lilas es una propuesta que se fundamenta en la experiencia previa del Laboratorio de Síntesis del IQS (Mont, **2005**), por lo tanto, debería ser posible implementarla.

Por otro lado, cabe comentar que no se han ensayado las sustituciones de los bromos aromático y piridónico del término 4-oxo **91**{7,7} pues se supone que su comportamiento ante las distintas reacciones al uso es completamente equivalente al observado para el término 4-amino **84**{7,7}.

Por último, fruto del estudio de estas transformaciones en la posición C4 de los sistemas 4-aminopiridopirimidínicos, se han podido establecer sendos protocolos generalizables para la transformación de los sistemas **35**{x,y} en sus equivalentes 4-oxo **49**{x,y}, con posible obtención de términos 4-acetoxi **98**{x,y} intermedios.



**Figura 2.166:** Conversión de las 4-aminopiridopirimidinas en sus análogos 4-oxo.

Los rendimientos de ambas estrategias son buenos y relativamente similares, por lo tanto, cualquiera de las dos opciones propuestas supone una mejora metodológica sustancial respecto de las herramientas sintéticas disponibles hasta el momento en el Laboratorio de Síntesis del IQS para la obtención de este tipo de piridopirimidinas.

	Rdtos de obtención de <b>49</b> {x,y} / %	
	Via acetoxi <b>98</b> {x,y}	Directa
<b>35</b> {1,6}	70,1 (35,5)	78,8 (40,0)
<b>35</b> {1,7}	80,4 (39,6)	86,4 (42,6)
<b>35</b> {3,6}	71,9 (51,6)	64,3 (46,1)

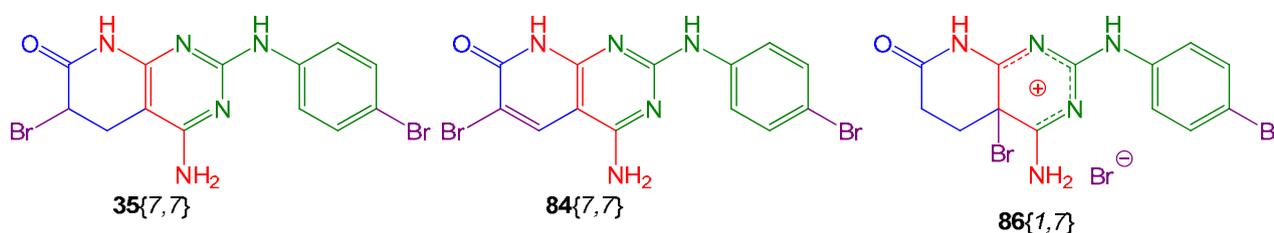
**Tabla 2.18:** Rendimientos de conversión de las 4-aminopiridopirimidinas según la estrategia.

Entre paréntesis los rendimientos globales desde reactivos comerciales.

## 2.6. Consideraciones alrededor de la estrategia sintética global

Los ensayos realizados en el presente capítulo han buscado establecer una estrategia sintética generalizable encaminada a la obtención masiva de una amplia quimioteca de pirido[2,3-*d*]pirimidinas. De hecho, se pretendía desarrollar un conjunto de herramientas sintéticas capaces de obtener un único compuesto con el núcleo heterobíciclico (*core*) construido para, posteriormente, derivatizarlo a voluntad con los residuos pertinentes gracias a la presencia de posiciones o grupos funcionales ortogonales.

Tras diversas consideraciones, el compuesto escogido a tal efecto es el heterobíciclo dibromado **35**{7,7} pues se presume que la reactividad de ambos bromos es lo suficientemente distinta como para que sus sustituciones sean selectivas. Desgraciadamente, no se han podido establecer las condiciones de síntesis de este compuesto, si no que se ha obtenido su equivalente insaturado **84**{7,7} con excelente rendimiento a través del intermedio de Wheland piridopirimidínico **86**{1,7}, nunca antes descrito en la bibliografía.



**Figura 2.167:** Términos dibromados del compuesto cabeza de serie.

También se han estudiado las posibilidades de derivatización del tercer punto de diversidad: el grupo 4-amino del anillo pirimidínico. En este sentido se han podido establecer metodologías sintéticas generalizables para la conversión de los heterobíciclos **35**{*x*,*y*} en sus equivalentes 4-oxo con excelentes rendimientos, pero también para la obtención de **91**{7,7}. Pero, desgraciadamente, no se ha podido hacer lo propio para el término 4-hidrógeno **94**{7,7} -aunque sí que ha se ha detectado su formación- y para el término tribromado **93**{7,7}.

Por lo tanto, los compuestos de las familias 4-amino y 4-oxo sí que podrían ser sintetizados mediante esta estrategia global. No obstante, posteriores trabajos deberían establecer si es posible generar los términos **93**{7,7} y **94**{7,7} a través de un itinerario alternativo -marcado en lila en la siguiente figura- a partir del término 4-oxo **91**{7,7}.

Por último, se han ensayado satisfactoriamente sustituciones del bromo aromático en C4 del término monobromado **35**{1,7}, pero al implementarlas sobre el término dibromado **84**{7,7} se ha observado una reactividad preferente pero no selectiva del bromo lactámico. Este comportamiento es previsible que ocurra también para los distintos términos dibromados independientemente de su sustitución en C4. Por lo tanto, queda por establecer de qué modo es posible la sustitución selectiva de los distintos bromos presente en todos estos compuestos pirido[2,3-*d*]pirimidínicos.





## **EXPERIMENTAL SECTION**



---

0.	Instrumental, materials and software.....	323
0.1.	Product characterization.....	323
0.2.	Microwave assisted synthesis.....	323
0.3.	Materials.....	324
0.4.	Statistic software.....	324
0.5.	Chromatography.....	324
1.	Synthesis of 2-amino-4-arylamino-pyrido[2,3-d]pyrimidines.....	325
1.1.	Starting materials.....	325
1.1.1.	Aminoiminomethanesulfonic acid 62{11}.....	325
1.1.2.	General procedure for the synthesis for methyl 2-arylacrylates 31{x}.....	326
1.1.3.	General procedure for the synthesis of 2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitriles 33{x}.....	327
1.2.	Amine guanidination with AIMSOA.....	330
1.2.2.	General procedure for the synthesis of guanidines using AIMSOA without product isolation	332
1.3.	Victory <i>one-pot</i> reaction for the synthesis of pyrido[2,3-d]pyrimidines.....	333
1.3.1.	Using commercial guanidines.....	333
1.3.2.	Coupling of the victory <i>one-pot</i> reaction and AIMSOA guanidination.....	339
1.4.	Condensation of 2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyrido-3-carbonitriles 33{x} with guanidines 50{y}.....	343
1.4.1.	Condensation of 33{x} with commercial guanidines and methanol as reaction solvent.....	343
1.4.2.	Condensation of carbonitriles 33{x} with synthetic guanidines in methanol as reaction solvent.....	349
1.4.3.	Condensation of carbonitriles 33{x} with AIMSOA guanidination crudes in methanol as reaction solvent.....	351
1.4.4.	Solventless condensation of carbonitriles 33{x} and commercial guanidines.....	353
1.4.5.	Synthesis of imines 78{x,y} by condensation of carbonitriles 33{x} with commercial guanidines in 1,4-dioxane as reaction solvent.....	355
1.5.	Dimroth rearrangement of imine 78{x,y} to pyrido[2,3-d]pyrimidine 35{x,y}.....	360
1.6.	Carbonitrile 33{x} condensation and Dimroth rearrangement of imine 78{x,y} without isolation.....	363

---

1.6.1.	With commercial <i>N</i> -phenylguanidine carbonate 50{6}.....	363
1.6.2.	With synthetic guanidine sulphites 50{x} .....	366
2.	Development of a new synthetic strategy diversity oriented .....	368
2.1.	Starting materials .....	368
2.1.1.	4-amino-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin-7(8 <i>H</i> )-one 35{1,6}.....	368
2.2.	Bromination of 4-amino-2-(phenylamino)-pyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinones 35{x,6}.....	369
2.2.1.	General procedure for 2-(4'-bromoaryl-amino)-pyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinones 35{x,7} ..	369
2.2.2.	Wheland intermediate 86{1,7}.....	371
2.2.3.	Synthesis of 4-amino-6-bromo-2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin-7(8 <i>H</i> )-one 84{7,7} .....	374
2.3.	Synthesis of 4-oxopyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidines by diazotization of 4-amino analogues....	377
2.3.1.	Synthesis of 4-oxopyridopyrimidines through 4-acetoxy derivatives .....	377
2.3.2.	Direct synthesis of 4-oxopyridopyrimidines from 4-amino analogues .....	383
2.4.	Pd(0) catalyzed aryl debromination of 35{1,7} .....	386
2.4.1.	4-amino-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin-7(8 <i>H</i> )-one 35{1,6} by debromination of 35{1,7} .....	386
2.5.	Bromine substitutions using Pd (0) catalyzed Suzuki heterocouplings.....	387
2.5.1.	Aryl substitutions of 2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine 35{1,7} .....	387
2.5.2.	6-bromo-2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine Suzuki disubstitution ....	389
2.6.	Ullmann heterocouplings catalyzed by copper (I) .....	390
2.6.1.	Amine substitutions of 2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine 35{1,7} ....	390

## 0. Instrumental, materials and software

### 0.1. Product characterization

**Melting points** (mp) were determined on a Büchi-Tottoli 530 instrument and are uncorrected.

**Infrared spectra** (IR) were recorded in a Nicolet Magna 560 FTIR spectrophotometer, at the Organic Chemistry Department at IQS, by Ms. M. Carmen Meca and Ms. Núria Ruiz, supervised by Dr. X. Batllori. Wave numbers ( $\nu$ ) are expressed in  $\text{cm}^{-1}$ . The used notation is: KBr (potassium bromide pellet), film (evaporated film in  $\text{CHCl}_3$ ).

**NMR spectra** were recorded in a *Varian Gemini 300HC* ( $^1\text{H}$  at 300 MHz y  $^{13}\text{C}$  at 75.5 MHz) or in a *Varian Gemini 400-MR* ( $^1\text{H}$  at 400 MHz and  $^{13}\text{C}$  at 100.6 MHz) spectrometers at the Organic Chemistry Department at IQS by Dr. X. Batllori, Ms. Núria Ruiz or I. Galve, supervised by Dr. X. Batllori. Chemical shifts are reported in parts per million (ppm,  $\delta$ ) and are referenced to internal standards tetramethylsilane (TMS) or sodium 2,2,3,3-tetradeutero-3-(trimethylsilyl)propionate (TSPNa) in the case of  $^1\text{H}$ -NMR. Chemical shifts are referenced to residual solvent peak in the case of  $^{13}\text{C}$ -NMR. Spectral splitting patterns are designated as s: singlet, d: doublet, dd: doublet of doublets, t: triplet, dt: doublet of triplets, q: quartet, qn (quintet), m: complex multiplet (chemically non-equivalent H's), brs: broad signal. Interchangeable signals are marked with an asterisk (\*).

**Mass spectra** (MS) were recorded at the Organic Chemistry Department at IQS by Ms. M. Carmen Meca and Ms. Núria Ruiz, supervised by Dr. X. Batllori, using an *Agilent Technologies 5975* spectrometer or registered at the Unidade de Espectrometria de Masas (Universidade de Santiago de Compostela) using a Micromass Autospec spectrometer supervised by Dr. E. Gutiérrez.

**Organic elemental analyses** (OEA) were obtained in a *Carlo-Erba CHNS-O/EA 1108* elemental analyzer, at the Organic Chemistry Department at IQS, by Ms. Núria Ruiz, supervised by Dr. X. Batllori.

### 0.2. Microwave assisted synthesis

All microwave irradiation experiments were carried out in a dedicated *Biotage-Initiator* microwave apparatus, operating at a frequency of 2.45 GHz with continuous irradiation power from 0 to 400 W with utilization of the standard absorbance level of 400 W maximum power. Reactions were carried out in glass tubes, sealed with aluminium/Teflon crimp tops, which can be exposed up to 250°C and 20 bar internal pressure. Temperature was measured with an IR sensor on the outer surface of the process vial. After the irradiation period, the reaction vessel was cooled rapidly (60–120 s) to ambient temperature by air jet cooling.

### 0.3. Materials

Solvents and general reagents for organic synthesis were reagent-grade and were used without further purification (Aldrich).

Arilacetates **80**{3-4}, esters **31**{1,2,5,6}, formamidinesulfinic acid, peracetic acid, amines **60**{6,7,16,21,23,24}, guanidines **50**{6,12,19,20}, malononitrile, sodium methoxide, bromine, sodium nitrite, *t*-butyl nitrite, tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0), arylboronic acids, *L*-proline, copper (I) iodide, cesium carbonate and sodium carbonate are commercially available (Acros, Aldrich, Alfa-Aesar, Sigma, Panreac).

### 0.4. Statistic software

All statistic calculations and analysis were performed with *STATGRAPHICS*<sup>®</sup> *PLUS 5.1* y *STATGRAPHICS*<sup>®</sup> *CENTURION XV*.

All the statistic analyses are based on a significance level equals to 0.05, otherwise the value is referred.

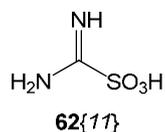
### 0.5. Chromatography

All chromatographic purifications are carried out with automatic equipment *CombiFlash*<sup>®</sup>*Rf* and silica gel column packs using programmed gradients of cyclohexane and ethyl acetate.

## 1. Synthesis of 2-amino-4-arylamino-pyrido[2,3-d]pyrimidines

### 1.1. Starting materials

#### 1.1.1. Aminoiminomethanesulfonic acid 62{11}



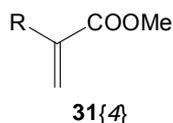
39 % peracetic acid solution (Aldrich, 20 mL, 120.0 mmol) was added dropwise to a stirred suspension of formamidinesulfinic acid (Aldrich, 9.71 g, 89.8 mmol) in 30 mL of acetic acid at room temperature (water bath) at such rate that the temperature is maintained below 20 °C. After addition is complete, the mixture is stirred at room temperature for 5 h.

The white solid is removed by filtration and washed with cold ethanol. A second crop is obtained by addition of diethyl ether to mother liquor.

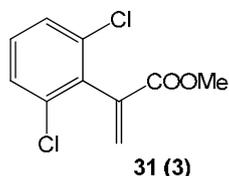
The two crops are combined, recrystallized from acetic acid, filtrated and washed with cold ethanol and diethyl ether to yield **62{11}** (10.623 g, 85.59 mmol, 95.3 %). The purity of this product is effectively determined by OEA.

**mp:** 115 °C, but it can range from 130 - 132 °C to 108 °C, as it is stated by Kim et al., **1988**.

**OEA** calculated for CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>: C 9.68 %, H 3.25 %, N 22.57 %, S 25.83 %; found C 9.73 %, H 3.17 %, N 22.50 %, S 25.90 %.

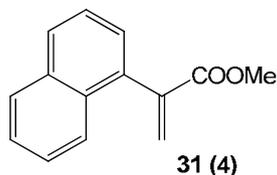
**1.1.2. General procedure for the synthesis for methyl 2-arylacrylates **31**{*x*}**

The corresponding methyl arylacetate **80**{*x*} (65 mmol) is dissolved in DMF (50 mL) and paraformaldehyde **29** (4.11 g, 130 mmol), potassium carbonate (8.98 g, 65 mmol) and calcium oxide (3.65 g, 65 mmol) were added at once. The reaction temperature is kept at 40 °C during 16 h. The reaction mixture is quenched with water and extracted with dichloromethane. The solvent is dried (MgSO<sub>4</sub>) and removed under reduced pressure to afford the corresponding methyl 2-arylacrylate **31**{*x*} (Mont, **2005**).

**1.1.2.1. Methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31**{*3*}**

As above using methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acetate **80**{*3*}. 93.7 % yield, white solid.

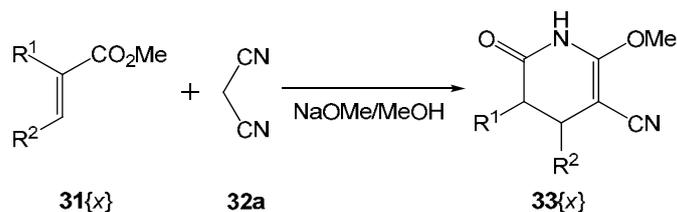
Spectroscopic data are consistent with previously described (Berzosa, **2010**).

**1.1.2.2. Methyl 2-(naphthalen-4-yl)acrylate **31**{*4*}**

As above using methyl 2-(naphthalen-4-yl)acetate **80**{*4*}. 83.6 % yield, white solid.

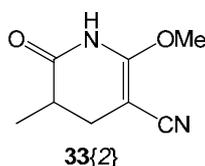
Spectroscopic data are consistent with previously described (Berzosa, **2010**).

### 1.1.3. General procedure for the synthesis of 2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitriles **33**{x}



A solution of the corresponding  $\alpha,\beta$ -unsaturated ester **31**{x} (5.21 mmol) in methanol (20 mL) is added to a mixture of malononitrile **32a** (418 mg, 6.33 mmol) and sodium methoxide (406 mg, 7.52 mmol) in a microwave vial. As quick as possible, the vial is sealed and heated with microwave irradiation at 85 °C. At the end of the referred time, the solvent is distilled *in vacuo* and the oily residue is dissolved in the minimum quantity of water. The solution is kept cold with ice bath and carefully adjusted to pH 7 with aqueous 6 M HCl to allow the precipitation of the desired product as a solid, which can be isolated by filtration. The resulting solid is washed with water carefully and exhaustively (even overnight) to remove any residue of malononitrile. Then the solid is dissolved in dichloromethane, dried (MgSO<sub>4</sub>), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the corresponding 2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitril **33**{x}.

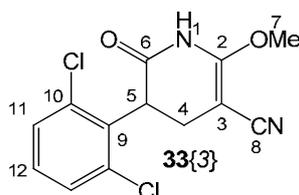
#### 1.1.3.1. 2-methoxy-5-methyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{2}



As above using methyl methacrylate **31**{2}. Irradiation time, 20 min. Neutralization with ice bath is mandatory. Water washing has to be extremely careful. 36.4 % yield, yellow solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Victory, **1985**).

#### 1.1.3.2. 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3}



As above using methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31**{3}. The resulting solid is washed with water, manual disaggregation and magnetic stirring at room temperature overnight. 88.1 % yield, white solid.

**mp:** 148 °C - 150 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3230, 3186, 2198, 1713, 1645, 1489, 1433, 1258, 1237, 778.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, acetone)  $\delta$  (ppm): 9.49 (br s, 1H, H-N1), 7.48 (dd,  $J$  = 15.4, 8.0 Hz, 2H, H-C11), 7.37 (dt,  $J$  = 8.0, 0.7 Hz, 1H, H-C12), 4.79 (dd,  $J$  = 14.0, 8.3 Hz, 1H, H-C5), 4.13 (s, 3H, H-C7), 3.13 (dd,  $J$  = 15.3, 14.0 Hz, 1H, H-C4), 2.55 (dd,  $J$  = 15.3, 8.3 Hz, 1H, H-C4).

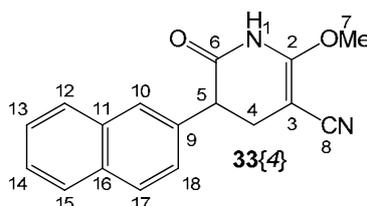
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 168.83 (C6), 157.67 (C2), 132.94 (C9), 130.20 (C10), 129.80 (C11), 128.58 (C12), 118.14 (C8), 61.67 (C3), 59.59 (C7), 43.40 (C5), 26.69 (C4).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 296.0 (25) [M]<sup>+</sup>, 261.1 (5) [M-HCl]<sup>+</sup>, 186.0 (100).

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: C 52.55 %, H 3.39 %, N 9.43 %; found C 52.69 %, H 3.35 %, N 9.45 %.

### 1.1.3.3. 2-methoxy-5-(naphthalen-2-yl)-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile

#### 33{4}



As above using methyl 2-(naphthalen-4-yl)acrylate **31{4}**. The solid is washed with water, manual disaggregation and magnetic stirring at room temperature overnight. 91.4 % yield, white/pale yellow solid.

**mp:** 143 °C - 145 °C.

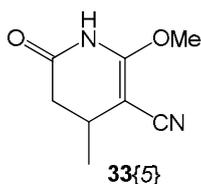
**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3227, 2923, 2852, 2200, 1703, 1645, 1477, 1249, 1202, 779.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7.91 – 7.85 (m, 2H, H-C10, H-C12), 7.84 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H, H-C17), 7.68 (br s, 1H, H-N1), 7.55 – 7.50 (m, 2H, H-C13, H-C14), 7.48 – 7.44 (m, 1H, H-C15), 7.34 (dd,  $J$  = 7.2, 0.9 Hz, 1H, H-C18), 4.50 (dd,  $J$  = 10.9, 7.1 Hz, 1H, H-C5), 4.19 (s, 3H, H-C7), 3.00 (dd,  $J$  = 15.6, 10.9 Hz, 1H, H-C4), 2.88 (dd,  $J$  = 15.6, 7.1 Hz, 1H, H-C4).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.08 (C6), 158.00 (C2), 134.33 (C11), 132.56 (C9), 131.18 (C16), 129.48 (C12), 128.97 (C17), 126.72 (C13), 126.01 (C14), 125.90 (C18), 125.54 (C15), 123.04 (C10), 118.24 (C8), 62.24 (C3), 59.51 (C7), 43.24 (C5), 29.91 (C3).

**HRMS** (ESI-TOF)  $m/z$  calcd for C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup>: 279.1134. Found: 279.1128.

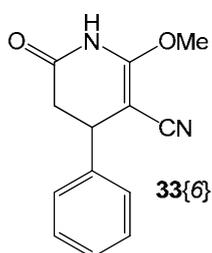
1.1.3.4. 2-methoxy-4-methyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{5}**



As above using methyl crotonate **31{5}**. Irradiation time, 20 min. Neutralization with ice bath is mandatory. Water washing has to be extremely careful. 40.3 % yield, yellow solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Victory, **1985**).

1.1.3.5. 2-methoxy-4-phenyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{6}**

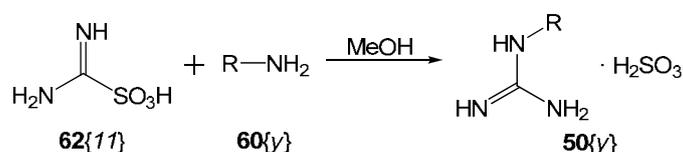


As above using methyl cinnamate **31{6}**. Neutralization with ice bath is mandatory. At the end of the referred procedure, an intensive wash with cyclohexane is necessary in order to purify the product from methyl cinnamate residues. 87.5 % yield, yellow solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Victory, **1985**).

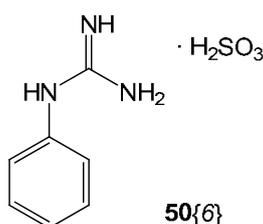
## 1.2. Amine guanidination with AIMSOA

### 1.2.1. General procedure with product isolation



In a 5 mL microwave vial, a mixture of AIMSOA **62{11}** (124 mg, 0.99 mmol), amine **60{y}** (2 mmol) and methanol (5 mL) is sealed and heated to 65 °C under microwave irradiation during 8 min. A clear solution is obtained and transferred to a round-bottom flask in order to distil the methanol in vacuo. The viscous oil obtained is heated at reflux with magnetic stirring during 30 min in 25 mL of a 4:1 THF:CHCl<sub>3</sub> mixture. The organic layer is discarded by decantation and the digestion is repeated with other 25 mL of a 4:1 THF:CHCl<sub>3</sub> mixture. Then, the guanidine is obtained as a white solid which can be filtered off. The product is pure enough to be used in subsequent reactions.

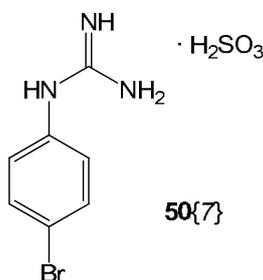
#### 1.2.1.1. *N*-phenylguanidine sulphite **50{6}**



As above using aniline **60{6}**. 85.4 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Scott et al., **1953**).

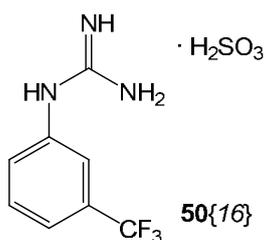
#### 1.2.1.2. *N*-(*p*-bromophenyl)guanidine sulphite **50{7}**



As above using *p*-bromoaniline **60{7}**. 78.1 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Diamond et al., **1976**).

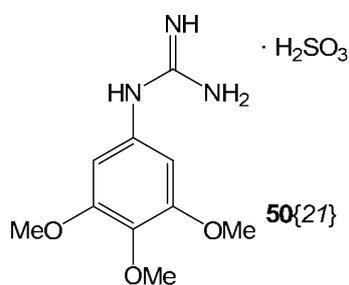
1.2.1.3. *N*-(*m*-perfluoromethylphenyl)guanidine sulphite 50{16}



As above using *m*-perfluoromethylaniline **60{16}**, but irradiation time is 30 min. 35.8 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Diamond et al., **1976**).

1.2.1.4. *N*-(3,4,5-trimethoxyphenyl)guanidine sulphite 50{21}

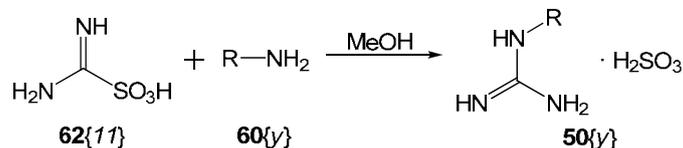


As above using 3,4,5-trimethoxyaniline **60{21}**. 82.9 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Diamond et al., **1976**).

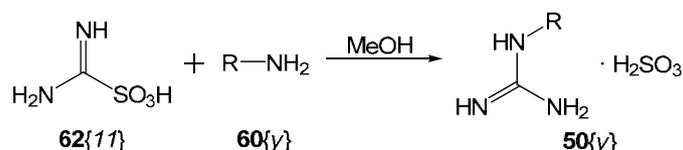
## 1.2.2. General procedure for the synthesis of guanidines using AIMSOA without product isolation

### 1.2.2.1. With AIMSOA excess



In a 5 mL microwave vial, a mixture of AIMSOA **62{11}** (186 mg, 1.49 mmol), amine **60{y}** (1 mmol) and methanol (5 mL) is sealed and heated at 65 °C under microwave irradiation for 8 min. A clear solution is obtained which can be used directly in any of the coupling procedures described hereinafter.

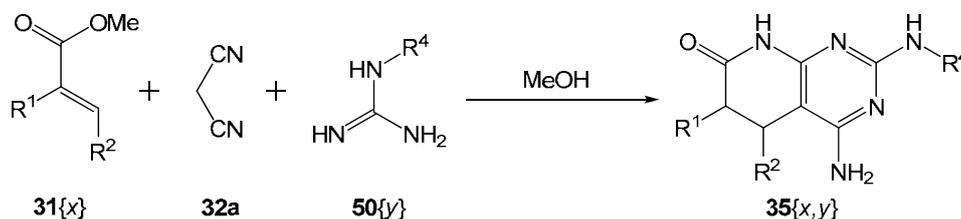
### 1.2.2.2. With amine excess



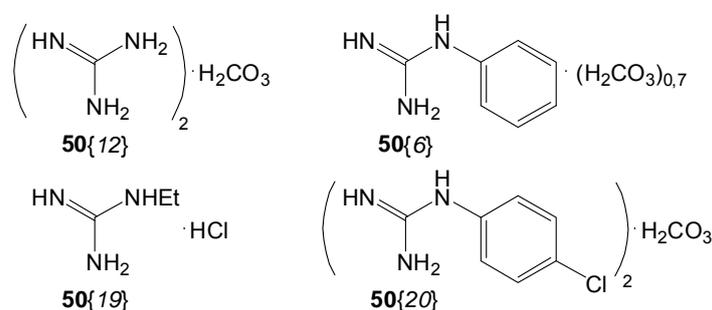
In a 5 mL microwave vial, a mixture of AIMSOA **62{11}** (124 mg, 0.99 mmol), amine **60{y}** (2 mmol) and methanol (5 mL) is sealed and heated at 65 °C under microwave irradiation for 30 min. A clear solution is obtained which can be used directly in any of coupling procedures described hereinafter.

### 1.3. Victory one-pot reaction for the synthesis of pyrido[2,3-d]pyrimidines.

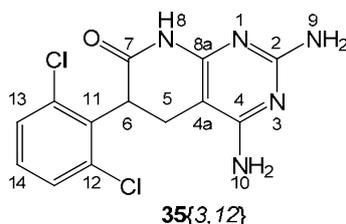
#### 1.3.1. Using commercial guanidines



In order to use the exact amount of base to activate guanidines, molecular formula determination by AEO is recommended. Herein are referred stoichiometries of commercial guanidines used.



#### 1.3.1.1. 2,4-diamino-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35** $\{3,12\}$



A mixture of guanidine carbonate **50** $\{12\}$  (having a  $\text{C}_2\text{H}_{10}\text{N}_6 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$  stoichiometry) (1082 mg, 12.01 mmol of guanidine), sodium methoxide (650 mg, 12.03 mmol) and methanol (15 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with a mixture of methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31** $\{3\}$  (920 mg, 3.98 mmol) and malononitrile **32a** (316 mg, 4.78 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35** $\{3,12\}$  is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 898 mg (2.77 mmol, 69.6 %) of spectroscopically pure **35** $\{3,12\}$ .

mp: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3471, 3367, 3209, 1672, 1627, 1564, 1453, 1383, 771.

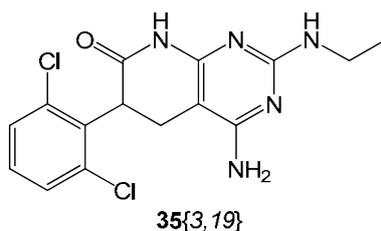
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.42 (s, 1H, H-N8), 7.53 (dd,  $J$  = 14.6, 8.1 Hz, 2H, H-C13), 7.37 (t,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, H-C14), 6.19 (s, 2H, H-N10), 5.90 (s, 2H, H-N9), 4.62 (dd,  $J$  = 13.1, 8.9 Hz, 1H, H-C6), 2.87 (dd,  $J$  = 15.6, 8.9 Hz, 1H, H-C5), 2.74 (dd,  $J$  = 15.5, 13.2 Hz, 1H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 169.77 (C7), 161.86 (C4), 161.82 (C2), 155.93 (C8a), 135.62 (C12), 135.19 (C12), 134.83 (C11), 129.75 (C13), 129.71 (C13), 128.29 (C14), 82.40 (C4a), 43.35 (C5), 23.29 (C6).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 323.0 (40) [M]<sup>+</sup>, 288.1 (100) [M-HCl]<sup>+</sup>.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>OCl<sub>2</sub>: C 48.17 %, H 3.42 %, N 21.60 %; found C 48.22 %, H 3.55 %, N 21.85 %.

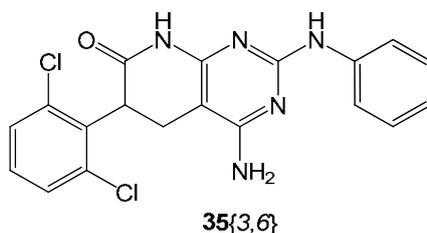
1.3.1.2. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(ethylamino)-5,6-dihydropyridof[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,19}



A mixture of *N*-ethylguanidine hydrochloride **50**{19} (having a C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>·HCl stoichiometry) (1146 mg, 11.99 mmol of *N*-ethylguanidine), sodium methoxide (647 mg, 11.98 mmol) and methanol (15 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with a mixture of methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31**{3} (920 mg, 3.98 mmol) and malononitrile **32a** (314 mg, 4.75 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation during 10 min. Compound **35**{3,19} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 457 mg (1.41 mmol, 35.4 %) of spectroscopically pure **35**{3,19}.

Spectroscopic data are consistent with before described (Mont, **2005**).

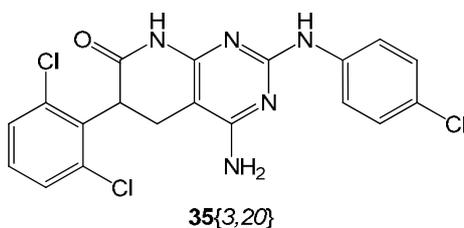
1.3.1.3. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35{3,6}**



A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50{6}** (having a C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>·(H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)<sub>0.7</sub> stoichiometry) (2146 mg, 12.02 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (909 mg, 16.83 mmol) and methanol (15 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with a mixture of methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31{3}** (920 mg, 3.98 mmol) and malononitrile **32a** (316 mg, 4.78 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35{3,6}** is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 327 mg (0.81 mmol, 20.5 %) of spectroscopically pure **35{3,6}**.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

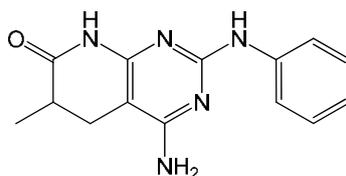
1.3.1.4. 4-amino-2-(4-chlorophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35{3,20}**



A mixture of *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine carbonate **50{20}** (having a C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>·H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> stoichiometry) (2412 mg, 12.02 mmol of *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine), sodium methoxide (644 mg, 16.83 mmol) and methanol (15 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with a mixture of methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31{3}** (920 mg, 3.98 mmol) and malononitrile **32a** (318 mg, 4.81 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35{3,20}** is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 332 mg (0.76 mmol, 19.2 %) of spectroscopically pure **35{3,20}**.

Spectroscopic data are consistent with before described (Mont, **2005**).

1.3.1.5. 4-amino-6-methyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{2,6}

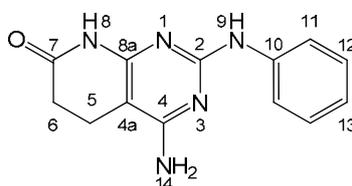


**35**{2,6}

A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50**{6} (having a  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0.7}$  stoichiometry) (2146 mg, 12.02 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (909 mg, 16.83 mmol) and methanol (15 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with a mixture of methyl methacrylate **31**{2} (400 mg, 3.99 mmol) and malononitrile **32a** (316 mg, 4.78 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{1,6} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 119 mg (0.44 mmol, 11.1 %) of spectroscopically pure **35**{3,6}.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

1.3.1.6. 4-amino-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{1,6}



**35**{1,6}

A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50**{6} (having a  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0.7}$  stoichiometry) (2146 mg, 12.02 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (909 mg, 16.83 mmol) and methanol (15 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with a mixture of methyl methacrylate **31**{1} (344 mg, 3.99 mmol) and malononitrile **32a** (316 mg, 4.78 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{1,6} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 112 mg (0.44 mmol, 11.0 %) of spectroscopically pure **35**{1,6}.

mp: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3467, 3198, 1679, 1641, 1593, 1575, 1543, 1438, 1375, 1226, 781, 750, 701.

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 10.18 (s, 1H, H-N8), 8.78 (s, 1H, H-N9), 7.83 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H, H-C11), 7.19 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H-C12), 6.84 (t,  $J = 7.1$  Hz, 1H, H-C13), 6.40 (s, 2H, H-N14), 2.64 – 2.44 (m, 4H, H-C5, H-C6).

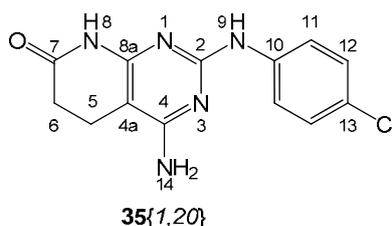
**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 171.66 (C7), 161.37 (C4), 158.08 (C2), 156.30 (C8a), 141.47 (C10), 128.21 (C12), 120.17 (C13), 118.33 (C11), 85.77 (C4a), 30.45 (C6), 17.17 (C5).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 254.1 (100)  $[\text{M-H}]^+$ .

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$  ( $\text{M}$ ) $^+$ : 255.1120. Found: 255.1123.

**OEA** calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$ : C 61.17 %, H 5.13 %, N 27.43 %; found C 61.22 %, H 5.42 %, N 27.65 %.

1.3.1.7. 4-amino-2-(4-chlorophenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one  
35{1,20}



A mixture of *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine carbonate **50{20}** (having a  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_6 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$  stoichiometry) (2412 mg, 12.02 mmol of *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine), sodium methoxide (644 mg, 16.83 mmol) and methanol (15 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with a mixture of methyl acrylate **31{1}** (344 mg, 3.99 mmol) and malononitrile **32a** (318 mg, 4.81 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35{3,20}** is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 118 mg (0.41 mmol, 10.2 %) of spectroscopically pure **35{1,20}**.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3509, 3400, 3202, 1676, 1638, 1613, 1593, 1575, 1545, 1494, 1433, 1375, 1243, 824.

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 10.18 (s, 1H, H-N8), 8.96 8.78 (s, 1H, H-N9), 7.90 – 7.84 (m, 1H, H-C11), 7.24 – 7.16 (m, 1H, H-C12), 6.43 (s, 2H, H-N14), 2.61 – 2.48 (m, 4H, H-C5, H-C6).

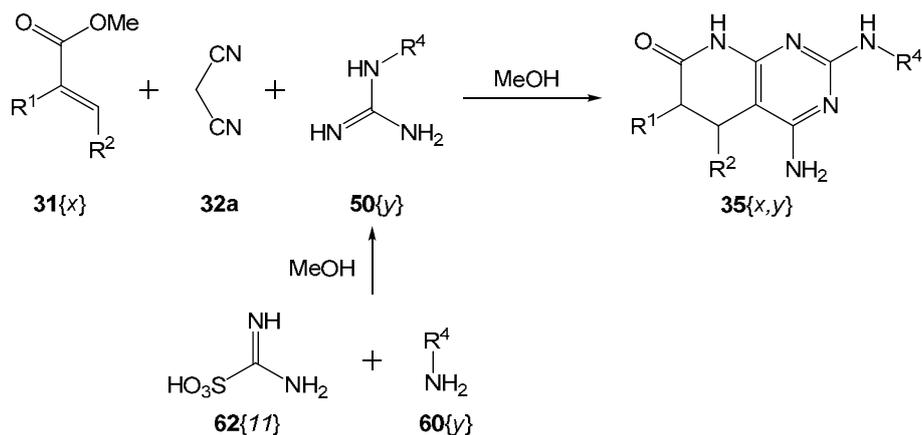
---

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 171.57 (C7), 161.36 (C4), 157.82 (C2), 156.28 (C8a), 140.52 (C10), 127.93 (C12), 123.49 (C13), 119.70 (C11), 86.05 (C4a), 30.40 (C6), 17.16 (C5).

**MS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* (%): 290.0 (25) [M+H]<sup>+</sup>, 231.0 (70), 154.0 (100), 137 (92).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* calcd for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 290.0809. Found: 290.0816.

### 1.3.2. Coupling of the victory *one-pot* reaction and AIMSOA guanidination

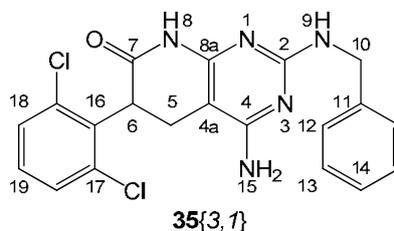


Herein is only referred the methodology when the guanidination is carried out with AIMSOA excess because the coupling yields are slightly higher.

Nevertheless, to assay the coupling when the guanidination is carried out with amine excess, the guanidine activation is also carried out with two methoxide equivalents per mol of AIMSOA mol before the *one-pot* reaction.

A mixture of AIMSOA **62{11}** (744 mg, 5.99 mmol), amine **60{y}** (4 mmol) and methanol (20 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation during 8 min. Sodium methoxide (648 mg, 11.99 mmol) is added to the clear solution obtained and the resulting suspension is heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. The precipitate is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with a mixture of acrylate **31{x}** (1.33 mmol) and malononitrile **32a** (106 mg, 1.60 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. The corresponding compound **35{x,y}** is obtained as solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford of spectroscopically pure product.

#### 1.3.2.1. 4-amino-2-(benzylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35{3,1}**



As above using benzylamine **60{1}** and methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31{3}**. 49.8 % yield, white solid.

mp: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3343, 3244, 3121, 1684, 1637, 1591, 1518, 1436, 1322, 1278, 782, 768, 725.

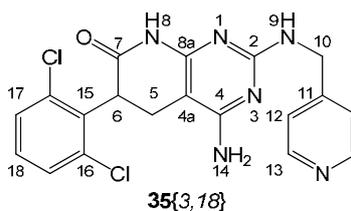
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, TFA-d)  $\delta$  (ppm): 7.49 – 7.34 (m, 5H, H-C12, H-C13, H-C14), 7.28 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 1H, H-C19), 7.22 – 7.15 (m, 2H, H-C18), 5.41 (s, 2H, H-C10), 5.16 (dd,  $J$  = 12.6, 9.4 Hz, 1H, H-C6), 3.47 – 2.94 (m, 2H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (75.5 MHz, TFA-d)  $\delta$  (ppm): 176.18 (C7), 157.00 (C4), 156.51 (C2), 156.25 (C8a), 138.01 (C11), 136.55 (C16), 133.20 (C17), 132.41 (C14), 131.81 (C13), 131.75 (C18), 131.43 (C18), 130.42 (C19), 129.84 (C17), 126.55 (C12), 88.48 (C4a), 52.36 (C10), 44.01 (C6), 24.56 (C5).

**MS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  (%): 414.0 (94) [M+H]<sup>+</sup>, 309.0 (17), 278.1 (25), 231.0 (71).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  calcd for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 414.0888. Found: 414.0888.

1.3.2.2. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(pyridin-4-ylmethylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,18}



As above using 4-aminomethylpyridine **60**{18} and methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31**{3}. 54.7 % yield, white solid.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3342, 3219, 3124, 1682, 1637, 1594, 1519, 1435, 1324, 1277, 781, 768.

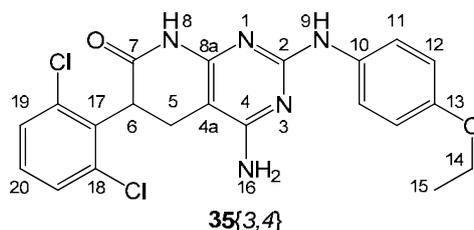
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, TFA-d)  $\delta$  (ppm): 8.87 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 2H, H-C13), 8.06 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 2H, H-C12), 7.48 – 7.34 (m, 2H, H-C17), 7.28 (t,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, H-C18), 5.89 (s, 2H, H-C10), 5.28 – 5.05 (m, 1H, H-C6), 3.73 – 2.44 (m, 2H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (75.5 MHz, TFA-d)  $\delta$  (ppm): 176.47 (C7), 158.19 (C4), 156.38 (C2), 156.21 (C8a), 155.49 (C11), 143.89 (C13), 138.07 (C16), 136.54 (C15), 133.19 (C16), 132.46 (C17), 131.44 (C17), 130.47 (C18), 126.98 (C12), 88.48 (C4a), 50.73 (C10), 44.04 (C6), 24.72 (C5).

**MS** (ESI-TOF)  $m/z$  (%): 415.1 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 324.0 (17), 288.1 (25).

**HRMS** (ESI-TOF)  $m/z$  calcd for C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 415.0835. Found: 415.0838.

1.3.2.3. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(4-ethoxyphenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35{3,4}**



As above using 4-ethoxyaniline **60{4}** and methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31{3}**. 13.4 % yield, white solid.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3345, 3149, 1688, 1632, 1604, 1526, 1508, 1435, 1254, 776.

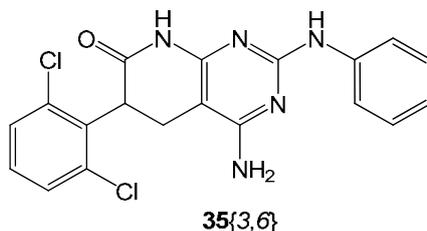
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, TFA-d)  $\delta$  (ppm): 7.45 – 7.35 (m, 4H, H-C11, H-C19), 7.34 – 7.23 (m, 3H, H-C12, H-C20), 5.17 (dd,  $J = 12.8, 9.4$  Hz, 1H, H-C6), 4.18 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H, H-C14), 3.33 – 3.04 (m, 2H, H-C5), 1.47 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, H-C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (75.5 MHz, TFA-d)  $\delta$  (ppm): 176.11 (C7), 157.18 (C4), 156.27 (C2), 156.01 (C8a), 138.03 (C13), 136.56 (C17), 133.17 (C18), 132.42 (C19), 131.44 (C19), 130.57 (C11), 130.44 (C20), 122.79 (C10), 120.40 (C12), 87.47 (C4a), 67.07 (C14), 44.08 (C6), 24.47 (C5) 14.74 (C15).

**MS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  (%): 444.1 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 231.0 (12).

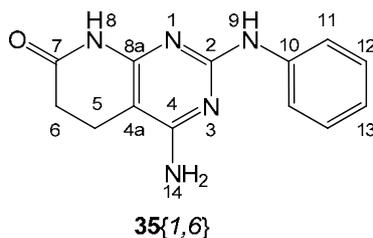
**HRMS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  calcd for C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup>: 444.0994. Found: 444.0979.

1.3.2.4. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35{3,6}**



As above using aniline **60{6}** and methyl 2-(2,6-dichlorophenyl)acrylate **31{3}**. 19.3 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

1.3.2.5. 4-amino-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{1,6}

As above using aniline **60**{6} and methyl acrylate **31**{1}. 11.3 % yield, white solid.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3467, 3198, 1679, 1641, 1593, 1575, 1543, 1438, 1375, 1226, 781, 750, 701.

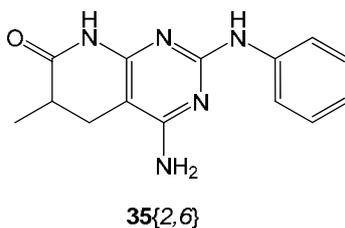
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.18 (s, 1H, H-N8), 8.78 (s, 1H, H-N9), 7.83 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 2H, H-C11), 7.19 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C12), 6.84 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 1H, H-C13), 6.40 (s, 2H, H-N14), 2.64 – 2.44 (m, 4H, H-C5, H-C6).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.66 (C7), 161.37 (C4), 158.08 (C2), 156.30 (C8a), 141.47 (C10), 128.21 (C12), 120.17 (C13), 118.33 (C11), 85.77 (C4a), 30.45 (C6), 17.17 (C5).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 254.1 (100) [M-H]<sup>+</sup>.

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O (M)<sup>+</sup>: 255.1120. Found: 255.1123.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O: C 61.17 %, H 5.13 %, N 27.43 %; found C 61.22 %, H 5.42 %, N 27.65 %.

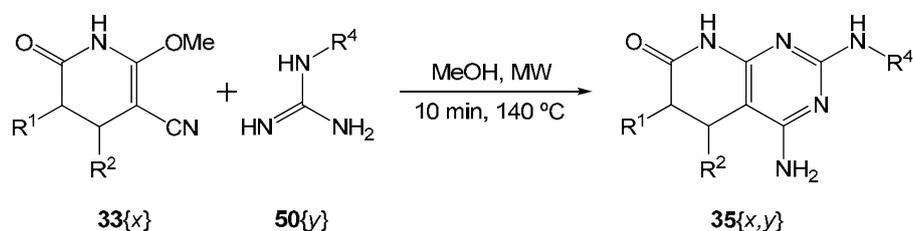
1.3.2.6. 4-amino-6-methyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{2,6}

As above using aniline **60**{6} and methyl methacrylate **31**{2}. 9.8 % yield, white solid.

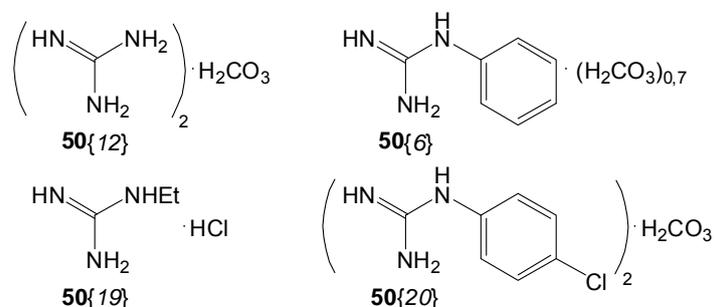
Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

## 1.4. Condensation of 2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyrido-3-carbonitriles 33{x} with guanidines 50{y}

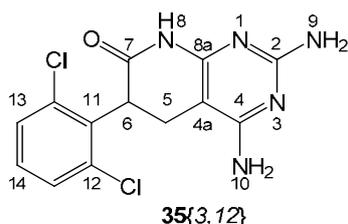
### 1.4.1. Condensation of 33{x} with commercial guanidines and methanol as reaction solvent



In order to use the exact amount of base to activate guanidines, molecular formula determination by AEO is recommended. Herein are referred stoichiometries of commercial guanidines used.



#### 1.4.1.1. 2,4-diamino-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one 35{3,12}



A mixture of guanidine carbonate **50{12}** (having a  $\text{C}_2\text{H}_{10}\text{N}_6 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$  stoichiometry) (541 mg, 6.01 mmol of guanidine), sodium methoxide (324 mg, 5.99 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 10 mL microwave vial with 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{3}** (594 mg, 1.99 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35{3,12}** is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 639 mg (1.97 mmol, 98.7 %) of spectroscopically pure **35{3,12}**.

mp: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3471, 3367, 3209, 1672, 1627, 1564, 1453, 1383, 771.

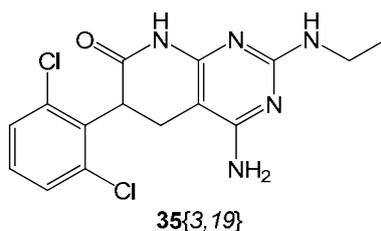
**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 10.42 (s, 1H, H-N8), 7.53 (dd,  $J = 14.6, 8.1$  Hz, 2H, H-C13), 7.37 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H-C14), 6.19 (s, 2H, H-N10), 5.90 (s, 2H, H-N9), 4.62 (dd,  $J = 13.1, 8.9$  Hz, 1H, H-C6), 2.87 (dd,  $J = 15.6, 8.9$  Hz, 1H, H-C5), 2.74 (dd,  $J = 15.5, 13.2$  Hz, 1H, H-C5).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 169.77 (C7), 161.86 (C4), 161.82 (C2), 155.93 (C8a), 135.62 (C12), 135.19 (C12), 134.83 (C11), 129.75 (C13), 129.71 (C13), 128.29 (C14), 82.40 (C4a), 43.35 (C5), 23.29 (C6).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 323.0 (40)  $[\text{M}]^+$ , 288.1 (100)  $[\text{M-HCl}]^+$ .

**OEA** calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{OCl}_2$ : C 48.17 %, H 3.42 %, N 21.60 %; found C 48.22 %, H 3.55 %, N 21.85 %.

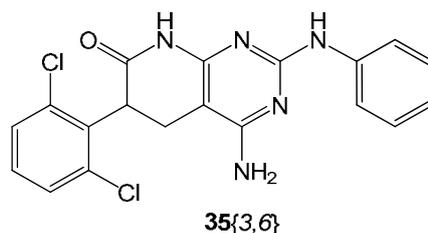
1.4.1.2. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(ethylamino)-5,6-dihydropyridof[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,19}



A mixture of *N*-ethylguanidine hydrochloride **50**{19} (having a  $\text{C}_3\text{H}_9\text{N}_3\cdot\text{HCl}$  stoichiometry) (741 mg, 5.99 mmol of *N*-ethylguanidine), sodium methoxide (324 mg, 5.99 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3} (594 mg, 1.99 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{3,19} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 396 mg (1.12 mmol, 56.2 %) of spectroscopically pure **35**{3,19}.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

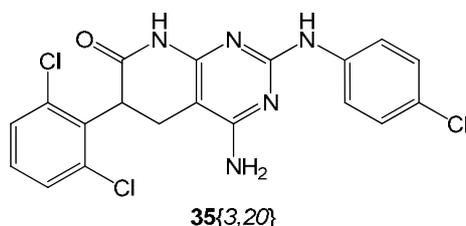
1.4.1.3. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,6}



A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50**{6} (having a C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>·(H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)<sub>0.7</sub> stoichiometry) (1072 mg, 6.00 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (454 mg, 8.40 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3} (594 mg, 1.99 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{3,6} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford product 247 mg (0.62 mmol, 30.9 %) of spectroscopically pure **35**{3,6}.

Spectroscopic data are consistent with before described (Mont, **2005**).

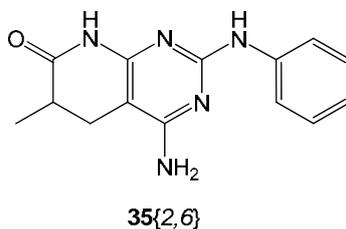
1.4.1.4. 4-amino-2-(4-chlorophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,20}



A mixture of *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine carbonate **50**{20} (having a C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>·H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> stoichiometry) (1204 mg, 6.00 mmol of *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine), sodium methoxide (324 mg, 5.99 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3} (594 mg, 1.99 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{3,20} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 271 mg (0.62 mmol, 31.2 %) of spectroscopically pure **35**{3,20}.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

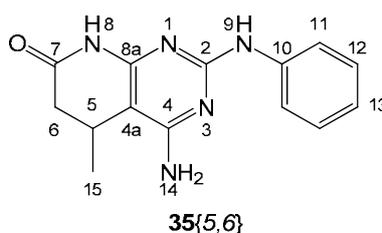
1.4.1.5. 4-amino-6-methyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{2,6}



A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50**{6} (having a  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0.7}$  stoichiometry) (1072 mg, 6.00 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (454 mg, 8.40 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 5-methyl-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{2} (330 mg, 1.99 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{2,6} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford product 303 mg (1.13 mmol, 56.6 %) of spectroscopically pure **35**{2,6}.

Spectroscopic data are consistent with before described (Mont, 2005).

1.4.1.6. 4-amino-5-methyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{5,6}



A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50**{6} (having a  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0.7}$  stoichiometry) (1072 mg, 6.00 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (454 mg, 8.40 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 2-methoxy-4-methyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{5} (330 mg, 1.99 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{5,6} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford product 94 mg (0.35 mmol, 17.6 %) of spectroscopically pure **35**{5,6}.

mp: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3470, 3197, 2955, 2920, 1684, 1638, 1593, 1575, 1543, 1438, 1376, 1305, 1214, 793, 758, 699.

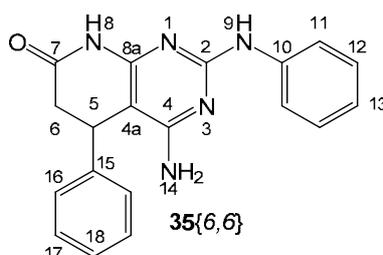
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.14 (s, 1H, H-N8), 8.73 (s, 1H, H-N9), 7.82 (m, 2H, H-C11), 7.18 (m, 2H, H-C12), 6.83 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H, H-C13), 6.42 (s, 2H, H-N14), 3.11 – 3.00 (m, 1H, H-C5), 2.74 (dd,  $J$  = 16.0, 6.9 Hz, 1H, H-C6), 2.26 (d,  $J$  = 16.0 Hz, 1H, H-C6), 0.99 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H, H-C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.97 (C7), 160.88 (C4), 158.10 (C2), 155.26 (C8a), 141.47 (C10), 128.19 (C12), 120.17 (C13), 118.36 (C11), 91.22 (C4a), 38.33 (C6), 23.29 (C5), 18.71 (C15).

**MS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  (%): 270.1 (90) [M+H]<sup>+</sup>, 231.0 (57).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 270.1355. Found: 270.1351.

1.4.1.7. 4-amino-5-phenyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{6,6}



A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50**{6} (having a C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>·(H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)<sub>0.7</sub> stoichiometry) (1072 mg, 6.00 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (454 mg, 8.40 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 2-methoxy-4-phenyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{6} (459 mg, 2.01 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{6,6} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford product 101 mg (0.30 mmol, 15.1 %) of spectroscopically pure **35**{6,6}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3468, 3201, 3071, 2928, 1685, 1639, 1595, 1575, 1545, 1440, 1374, 800, 748, 701.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.19 (s, 1H, H-N8), 8.79 (s, 1H, H-N9), 7.84 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H, H-C11), 7.28 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H, H-C17), 7.23 – 7.13 (m, 5H, H-C12, H-C16, H-C18), 6.85 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H, H-C13), 6.33 (s, 2H, H-N14), 4.27 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-C5), 3.07 (dd,  $J$  = 16.2, 7.5 Hz, 1H, H-C6), 2.51 (dd,  $J$  = 16.2, 7.5 Hz, 1H, H-C6).

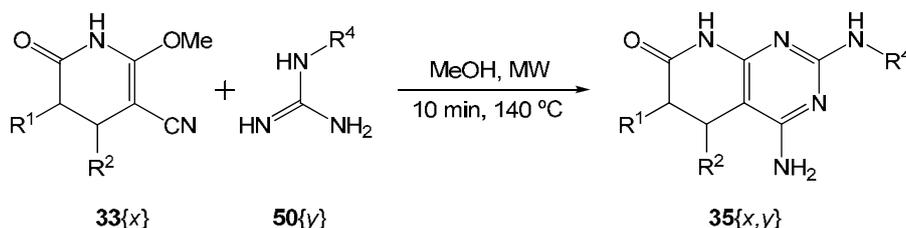
---

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 170.27 (C7), 161.39 (C4), 158.57 (C2), 156.70 (C8a), 142.52 (C15), 141.39 (C10), 128.46 (C17), 128.19 (C12), 126.79 (C17), 126.63 (C18), 120.30 (C13), 118.51 (C11), 88.74 (C4a), 39.30 (C6), 33.32 (C5).

**MS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* (%): 332.0 (92) [M+H]<sup>+</sup>, 230.9 (69).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* calcd for C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 332.1511. Found: 332.1520.

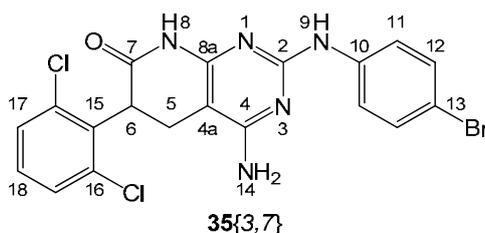
### 1.4.2. Condensation of carbonitriles **33**{*x*} with synthetic guanidines in methanol as reaction solvent



Synthetic guanidines are obtained as sulphite salt (1:1 guanidine:sulphite) with AIMSOA as described in 1.2.1.

A mixture of corresponding guanidine sulphite **50**{*y*} (having a 1:1 guanidine:sulphite stoichiometry) (3.00 mmol of guanidine), sodium methoxide (324 mg, 5.99 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{*x*} (2.00 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35**{*x,y*} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford spectroscopically pure product.

#### 1.4.2.1. 4-amino-2-(4-bromophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,7}



As above using guanidine **50**{7} and 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3}. 29.6 % yield, white solid.

mp: >250 °C.

IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3313, 3191, 1709, 1627, 1584, 1561, 1489, 1435, 1378, 1335, 1278, 1243, 831, 777, 762.

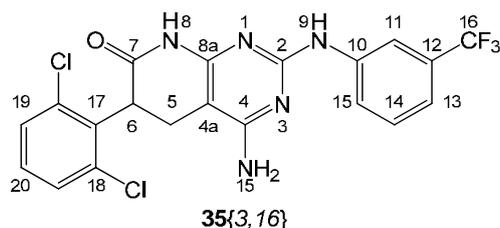
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.70 (s, 1H, H-N8), 9.32 (s, 1H, H-N9), 7.78 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H-C11), 7.54 (dd, *J* = 12.3, 8.1 Hz, 2H, H-C17), 7.45 – 7.33 (m, 3H, H-C12, H-C18), 6.95 (br s, 2H, H-N14), 4.73 (dd, *J* = 13.2, 9.0 Hz, 1H, H-C6), 2.98 (dd, *J* = 15.9, 9.0 Hz, 1H, H-C5), 2.79 (dd, *J* = 15.9, 13.2 Hz, 1H, H-C5).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 169.37 (C7), 160.23 (C4), 156.09 (C2), 152.14 (C8a), 138.08 (C10), 135.24 (C16), 134.92 (C15), 134.69 (C16), 131.45 (C12), 130.11 (C18), 129.83 (C17), 128.44 (C17), 122.09 (C11), 114.59 (C13), 84.58 (C4a), 42.47 (C6), 22.83 (C5).

**MS** (FAB $^+$ )  $m/z$  (%): 479.8 (43) [M+H] $^+$ , 307.0 (32), 289.0 (17).

**HRMS** (FAB $^+$ )  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{OCl}_2\text{Br}$  (M+H) $^+$ : 479.9817. Found: 479.9827.

1.4.2.2. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(3-(trifluoromethyl)phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,16}



As above using guanidine **50**{16} and 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3}. 25.4 % yield, white solid.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3407, 1679, 1637, 1606, 1583, 1560, 1449, 1437, 1383, 1335, 1319, 1117, 780.

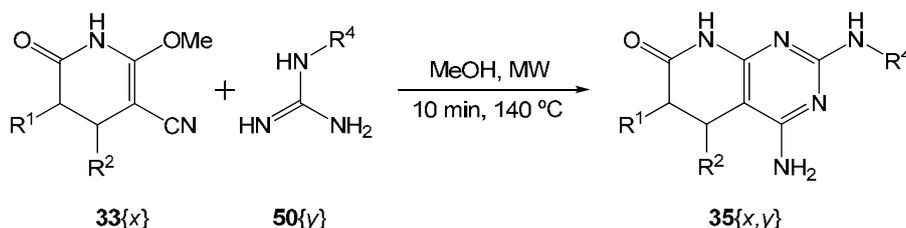
**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 10.49 (s, 1H, H-N8), 9.16 (s, 1H, H-N9), 8.29 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, H-C15), 8.06 (s, 1H, H-C11), 7.55 (m, 2H, H-C19), 7.44 – 7.36 (m, 2H, H-C14, H-C20), 7.15 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H, H-C13), 6.46 (s, 2H, H-N15), 4.70 (dd,  $J$  = 13.1, 8.9 Hz, 1H, H-C6), 2.97 (dd,  $J$  = 15.9, 8.9 Hz, 1H, H-C5), 2.81 (dd,  $J$  = 15.9, 13.1 Hz, 1H, H-C5).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 169.42 (C7), 161.42 (C4), 158.00 (C2), 155.68 (C8a), 142.23 (C10), 135.61 (C17), 135.22 (C18), 134.84 (C18), 129.77 (C19), 129.28 (C20, C14), 129.12 (q,  $J$  = 43.3 Hz, C12), 128.31 (C19), 125.49 (q,  $J$  = 106.2 Hz, C16), 121.71 (C15), 116.19 (q,  $J$  = 4.0 Hz, C13), 114.24 (q,  $J$  = 4.0 Hz, C11), 85.00 (C4a), 43.15 (C6), 23.42 (C5).

**MS** (FAB $^+$ )  $m/z$  (%): 468.0 (100) [M+H] $^+$ , 231.0 (30).

**HRMS** (FAB $^+$ )  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{OF}_3\text{Cl}_2$  (M+H) $^+$ : 468.0606. Found: 468.0596.

### 1.4.3. Condensation of carbonitriles 33{x} with AIMSOA guanidination crudes in methanol as reaction solvent

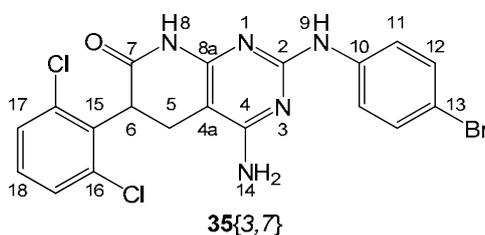


Herein is only referred the methodology when the guanidination is carried out with AIMSOA excess because the condensation yields are slightly higher.

Nevertheless, to assay the coupling when the guanidination is carried out with amine excess, the guanidine activation is made also with two methoxide equivalents per AIMSOA mol before the *one-pot* reaction.

A mixture of AIMSOA **62{11}** (559 mg, 4.50 mmol), amine **60{y}** (3 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 8 min. To the clear solution obtained, sodium methoxide (487 mg, 9.01 mmol) is added and the resulting suspension is heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{x}** (1.00 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 10 min. Compound **35{x,y}** is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford spectroscopically pure product.

#### 1.4.3.1. 4-amino-2-(4-bromophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one 35{3,7}



As above using aniline **60{7}** and 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{3}**. 23.7 % yield, white solid.

mp: >250 °C.

IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3313, 3191, 1709, 1627, 1584, 1561, 1489, 1435, 1378, 1335, 1278, 1243, 831, 777, 762.

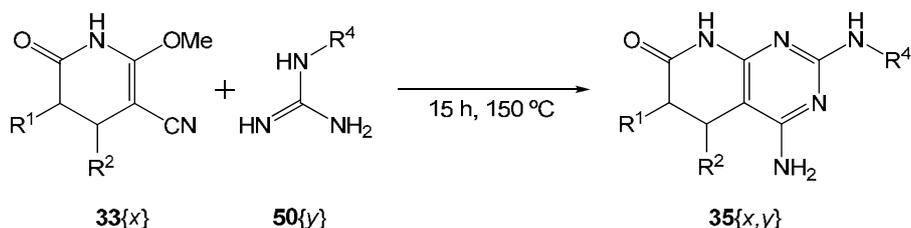
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 10.70 (s, 1H, H-N8), 9.32 (s, 1H, H-N9), 7.78 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H-C11), 7.54 (dd, *J* = 12.3, 8.1 Hz, 2H, H-C17), 7.45 – 7.33 (m, 3H, H-C12, H-C18), 6.95 (br s, 2H, H-N14), 4.73 (dd, *J* = 13.2, 9.0 Hz, 1H, H-C6), 2.98 (dd, *J* = 15.9, 9.0 Hz, 1H, H-C5), 2.79 (dd, *J* = 15.9, 13.2 Hz, 1H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 169.37 (C7), 160.23 (C4), 156.09 (C2), 152.14 (C8a), 138.08 (C10), 135.24 (C16), 134.92 (C15), 134.69 (C16), 131.45 (C12), 130.11 (C18), 129.83 (C17), 128.44 (C17), 122.09 (C11), 114.59 (C13), 84.58 (C4a), 42.47 (C6), 22.83 (C5).

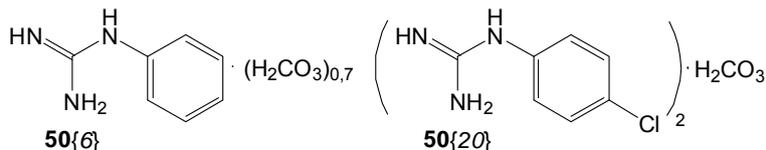
**MS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* (%): 479.8 (43) [M+H]<sup>+</sup>, 307.0 (32), 289.0 (17).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* calcd for C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>OCl<sub>2</sub>Br (M+H)<sup>+</sup>: 479.9817. Found: 479.9827.

#### 1.4.4. Solventless condensation of carbonitriles **33**{*x*} and commercial guanidines

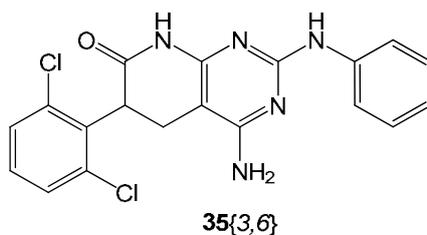


Herein are referred commercial guanidines used and their carbonate content.



**33**{*x*} (0.40 mmol) and **50**{*y*} (1,2 mmol) are mechanically mixed in a 5 mL microwave vial, which is immediately sealed under nitrogen atmosphere. After 15 h of heating with magnetic stirring in a oil bath at 150 °C, the vial is unsealed and methanol (5 mL) is added. Then the mixture is sonicated 1 h at room temperature. Compound **35**{*x,y*} is obtained as a white precipitate that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford spectroscopically pure product.

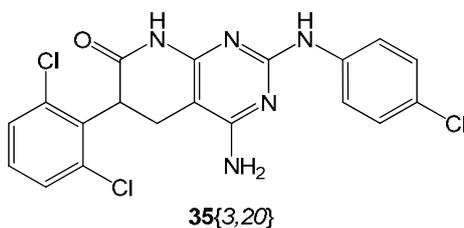
##### 1.4.4.1. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-one **35**{3,6}



As above using *N*-phenylguanidine carbonate **50**{6} and 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3}. 69.6 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

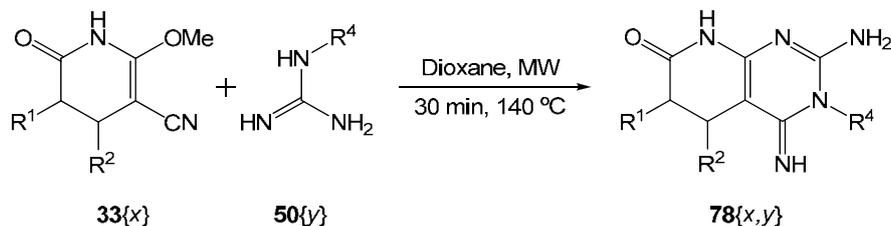
1.4.4.2. 4-amino-2-(4-chlorophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,20}



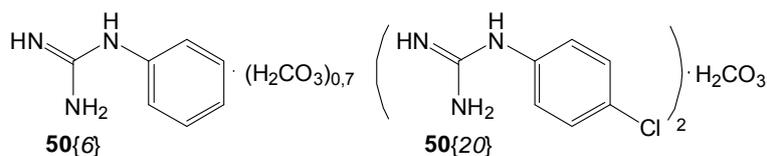
As above using *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine carbonate **50**{20} and 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3}. 34.2 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

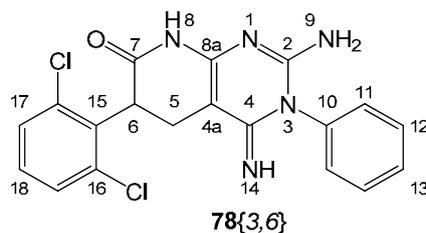
### 1.4.5. Synthesis of imines 78{x,y} by condensation of carbonitriles 33{x} with commercial guanidines in 1,4-dioxane as reaction solvent



In order to use the exact amount of base to activate guanidines, molecular formula determination by AEO is recommended. Herein are referred stoichiometries of commercial guanidines used.



#### 1.4.5.1. 2-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-4-imino-3-phenyl-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one 78{3,6}



A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50{6}** (having a  $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_3 \cdot (\text{H}_2\text{CO}_3)_{0,7}$  stoichiometry) (365 mg, 2.04 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (155 mg, 2.87 mmol) and 1,4-dioxane (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{3}** (202 mg, 0.68 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 30 min. The solvent of the red solution obtained is removed *in vacuo*, and the resulting red oil is treated with acetone (10 mL) and sonicated for 10 min while a white precipitate is formed. The solid is filtered, washed with acetone to afford 257 mg (0.64 mmol, 94.6 %) of spectroscopically pure **78{3,6}**.

mp: >250 °C.

IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3478, 3319, 3173, 2920, 1685, 1632, 1605, 1523, 1436, 1379, 1316, 1269, 1197, 775, 760, 702, 516.

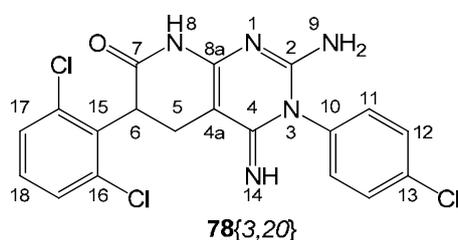
**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 10.01 (br s, 1H, H-N8), 7.59 (t,  $J = 8.1$  Hz, 2H, H-C12), 7.55 – 7.47 (m, 3H, H-C11, H-C17), 7.35 (m, 1H, H-C18), 7.33 – 7.27 (m, 2H, H-C13), 6.23 (br s, 3H, H-N9, H-N14), 4.61 (dd,  $J = 13.4, 9.2$  Hz, 1H, H-C6), 2.86 (dd,  $J = 15.9, 9.2$  Hz, 1H, H-C5), 2.75 – 2.64 (dd,  $J = 15.9, 13.4$  Hz, 1H, H-C5).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 169.75 (C7), 156.36 (C4), 153.86 (C2), 149.15 (C8a), 135.65 (C16), 135.28 (C10), 135.19 (C16), 134.76 (C15), 130.51 (C12), 129.71 (C17), 129.64 (C17), 129.39 (C18), 129.09 (C13), 128.25 (C11), 85.05 (C4a), 43.25 (C6), 24.19 (C5).

**MS** (FAB $^+$ )  $m/z$  (%): 399.8 (100) [M+H] $^+$ .

**HRMS** (FAB $^+$ )  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{OCl}_2$  (M+H) $^+$ : 400.0732. Found: 400.0730.

1.4.5.2. 2-amino-3-(4-chlorophenyl)-6-(2,6-dichlorophenyl)-4-imino-3,4,5,6-tetrahydropyridido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **78**{3,20}



As above but using *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine carbonate **50**{20} (having a  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_6\cdot\text{H}_2\text{CO}_3$  stoichiometry) (406 mg, 1.01 mmol of compound, 2.02 mmol of *N*-(*p*-chlorophenyl)guanidine), sodium methoxide (110 mg, 2.04 mmol) 1,4-dioxane (10 mL) 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3} (202 mg, 0.68 mmol) to afford 287 mg (0.66 mmol, 97.2 %) of spectroscopically pure **78**{3,6}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3245, 1683, 1634, 1595, 1513, 1281, 785, 765, 711.

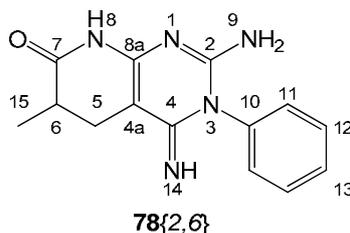
**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 11.24 (br s, 1H, H-N8), 7.57 (m, 2H, H-C11), 7.33 (dd,  $J = 14.7, 8.1$  Hz, 2H, H-C17), 7.28 (m, 2H, H-C12), 7.17 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H-C18), 6.00 (br s, 3H, H-N9, H-N14), 4.83 (t,  $J = 11.5$  Hz, 1H, H-C6), 2.98 (d,  $J = 11.5$  Hz, 2H, H-C5).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 169.53 (C7), 156.87 (C4), 153.81 (C2), 149.17 (C8a), 135.64 (C16), 135.21 (C16), 134.77 (C15), 133.77 (C10), 131.46 (C13), 131.15 (C11), 130.40 (C12), 129.72 (C17), 129.65 (C18), 128.25 (C17), 84.67 (C4a), 43.26 (C6), 24.12 (C5).

**MS** (FAB $^+$ )  $m/z$  (%): 434.0 (100) [M+H] $^+$ , 307.1 (10).

**HRMS** (FAB $^+$ )  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{OCl}_3$  (M+H) $^+$ : 434.0342. Found: 434.0348.

1.4.5.3. 2-amino-4-imino-6-methyl-3-phenyl-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **78{2,6}**



As above but using *N*-phenylguanidine carbonate **50{6}** (having a  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0.7}$  stoichiometry) (365 mg, 2.04 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (155 mg, 2.87 mmol) 1,4-dioxane (10 mL) 5-methyl-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{2}** (113 mg, 0.68 mmol) to afford 163 mg (0.61 mmol, 89.2 %) of spectroscopically pure **78{2,6}**.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3488, 3138, 1687, 1633, 1527, 1275, 814, 765, 711, 699.

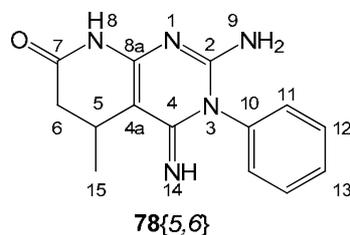
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 9.69 (br s, 1H, H-N8), 7.61 – 7.55 (m, 2H, H-C12), 7.55 – 7.45 (m, 1H, H-C13), 7.36 – 7.18 (m, 2H, H-C11), 6.10 (br s, 3H, H-N9, H-N14), 2.72 (dd,  $J = 15.7, 6.9$  Hz, 1H, H-C6), 2.53 (dd,  $J = 15.7, 11.7$  Hz, 1H, H-C5), 2.12 (dd,  $J = 15.7, 11.7$  Hz, 1H, H-C5), 1.14 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, H-C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 174.13 (C7), 156.71 (C4), 153.59 (C2), 149.78 (C8a), 135.43 (C10), 130.52 (C12), 129.41 (C13), 129.08 (C11), 86.27 (C4a), 34.46 (C6), 26.16 (C5), 15.56 (C15).

**MS** (ESI-TOF)  $m/z$  (%): 270.1 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 214.1 (8).

**HRMS** (ESI-TOF)  $m/z$  calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 270.1355. Found: 270.1349.

1.4.5.4. 2-amino-4-imino-5-methyl-3-phenyl-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **78{5,6}**



As above but using *N*-phenylguanidine carbonate **50{6}** (having a  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0.7}$  stoichiometry) (365 mg, 2.04 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (155 mg, 2.87 mmol) 1,4-dioxane (10 mL) 2-methoxy-4-methyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{5}** (108 mg, 0.65 mmol) to afford 71 mg (0.26 mmol, 40.5 %) of spectroscopically pure **78{5,6}**.

mp: >250 °C.

IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3398, 3156, 1682, 1629, 1516, 1365, 1305, 1269, 1215, 764, 700.

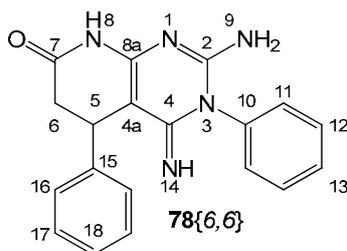
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 11.39 (br s, 1H, H-N8), 7.67 – 7.61 (m, 2H, H-C12), 7.60 – 7.54 (m, 1H, H-C13), 7.38 – 7.30 (m, 2H, H-C11), 3.15 – 3.06 (m, 1H, H-C5), 2.77 (dd,  $J$  = 16.4, 7.0 Hz, 1H, H-C6), 2.38 (dd,  $J$  = 16.4, 1.4 Hz, 1H, H-C6), 1.15 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 3H, H-C15).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 174.20 (C7), 159.24 (C4), 154.50 (C2), 147.81 (C8a), 135.05 (C10), 131.27 (C12), 130.52 (C13), 129.27 (C11), 93.85 (C4a), 38.33 (C6), 24.98 (C5), 18.41 (C15).

MS (ESI-TOF)  $m/z$  (%): 270.1 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 228.1 (8).

HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 270.1355. Found: 270.1349.

1.4.5.5. 2-amino-4-imino-3,5-diphenyl-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one 78{6,6}



As above but using *N*-phenylguanidine carbonate **50{6}** (having a C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>·(H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)<sub>0.7</sub> stoichiometry) (365 mg, 2.04 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (155 mg, 2.87 mmol) 1,4-dioxane (10 mL) 2-methoxy-4-phenyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{6}** (146 mg, 0.64 mmol) to afford 74 mg (0.22 mmol, 35.0 %) of spectroscopically pure **78{5,6}**.

mp: >250 °C.

IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3318, 3147, 1685, 1622, 1527, 1307, 759, 700.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 9.84 (br s, 1H, H-N8), 7.62 – 7.45 (m, 3H, H-C13, H-C12), 7.28 – 7.20 (m, 7H, H-C11, H-C16, H-C17, H-C18), 6.27 (br s, 3H, H-N9, H-N14), 3.15 – 3.06 (m, 1H, H-C5), 2.77 (dd,  $J$  = 16.4, 7.0 Hz, 1H, H-C6), 2.38 (dd,  $J$  = 16.4, 1.4 Hz, 1H, H-C6), 1.15 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 3H, H-C15). 9.84 (br s, 1H, H-N8), 7.62 – 7.45 (m, 3H, H-C12, H-C13), 7.24 (m, 7H, H-C11, H-C16, H-C17, H-C18), 6.27 (br s, 3H, H-N3, H-N9, H-N14), 4.17 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H, H-C5), 3.02 (dd,  $J$  = 16.1, 7.4 Hz, 1H, H-C6), 2.46 (dd,  $J$  = 16.1, 7.4 Hz, 1H, H-C6).

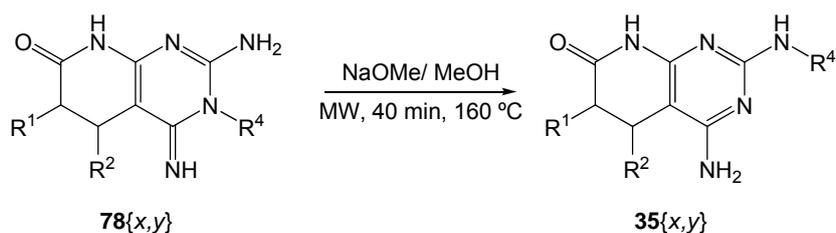
<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.45 (C7), 157.28 (C4), 153.99 (C2), 142.96 (C8a), 135.05 (C10), 134.29 (C15), 130.63 (C13), 129.64 (C11), 129.36 (C12), 128.48 (C17), 126.80 (C16), 126.55 (C18), 89.23 (C4a), 40.12 (C6), 34.35 (C5).

---

**MS** (ESI-TOF)  $m/z$  (%): 332.1 (100)  $[M+H]^+$ .

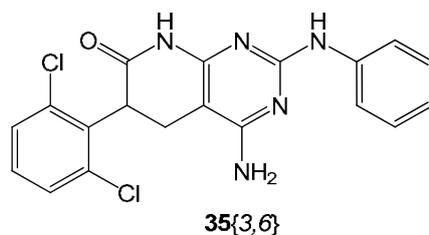
**HRMS** (ESI-TOF)  $m/z$  calcd for  $C_{19}H_{18}N_5O$   $(M+H)^+$ : 332.1511. Found: 332.1506.

### 1.5. Dimroth rearrangement of imine **78**{*x,y*} to pyrido[2,3-*d*]pyrimidine **35**{*x,y*}



A mixture of imine **78**{*x,y*} (0.25 mmol), sodium methoxide (14 mg, 0.26 mmol) and methanol (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 160 °C under microwave irradiation during 40 min. Compound **35**{*x,y*} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to spectroscopically pure product.

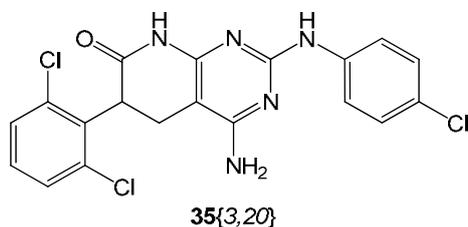
#### 1.5.1.1. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-one **35**{3,6}



As above 6-(2,6-dichlorophenyl)-4-imino-2-(phenylamino)-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-one **78**{3,6}. 86.0 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

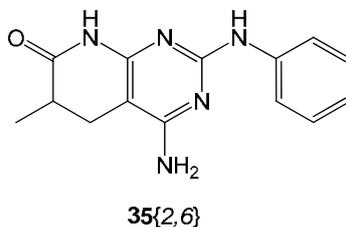
#### 1.5.1.2. 4-amino-2-(4-chlorophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-one **35**{3,20}



As above using 2-(4-chlorophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-4-imino-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-one **78**{3,20}. 79.0 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

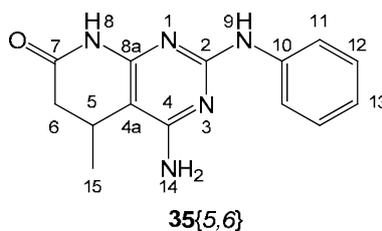
1.5.1.3. 4-amino-6-methyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{2,6}



As above using 4-imino-6-methyl-2-(phenylamino)-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **78**{2,6}. 87.8 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

1.5.1.4. 4-amino-5-methyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{5,6}



As above using 4-imino-5-methyl-2-(phenylamino)-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **78**{5,6}. 86.7 % yield, white solid.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3470, 3197, 2955, 2920, 1684, 1638, 1593, 1575, 1543, 1438, 1376, 1305, 1214, 793, 758, 699.

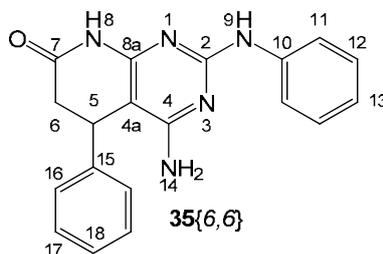
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.14 (s, 1H, H-N8), 8.73 (s, 1H, H-N9), 7.82 (m, 2H, H-C11), 7.18 (m, 2H, H-C12), 6.83 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H, H-C13), 6.42 (s, 2H, H-N14), 3.11 – 3.00 (m, 1H, H-C5), 2.74 (dd,  $J = 16.0, 6.9$  Hz, 1H, H-C6), 2.26 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H, H-C6), 0.99 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H, H-C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.97 (C7), 160.88 (C4), 158.10 (C2), 155.26 (C8a), 141.47 (C10), 128.19 (C12), 120.17 (C13), 118.36 (C11), 91.22 (C4a), 38.33 (C6), 23.29 (C5), 18.71 (C15).

**MS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  (%): 270.1 (90) [M+H]<sup>+</sup>, 231.0 (57).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 270.1355. Found: 270.1351.

1.5.1.5. 4-amino-5-phenyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{6,6}



As above using 4-imino-5-phenyl-2-(phenylamino)-3,4,5,6-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **78**{5,6}. 87.1 % yield, white solid.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3468, 3201, 3071, 2928, 1685, 1639, 1595, 1575, 1545, 1440, 1374, 800, 748, 701.

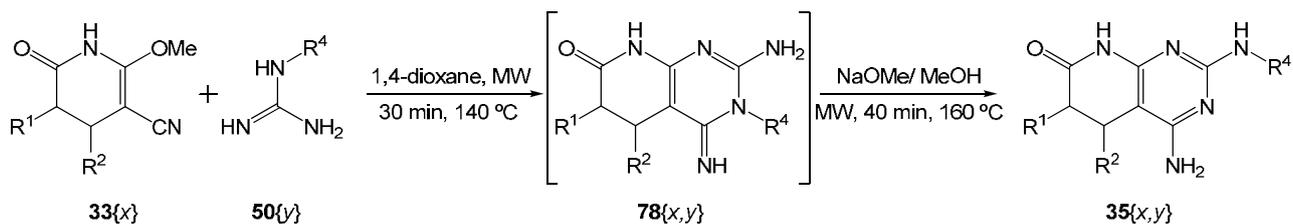
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.19 (s, 1H, H-N8), 8.79 (s, 1H, H-N9), 7.84 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H, H-C11), 7.28 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H, H-C17), 7.23 – 7.13 (m, 5H, H-C12, H-C16, H-C18), 6.85 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H, H-C13), 6.33 (s, 2H, H-N14), 4.27 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-C5), 3.07 (dd,  $J$  = 16.2, 7.5 Hz, 1H, H-C6), 2.51 (dd,  $J$  = 16.2, 7.5 Hz, 1H, H-C6).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.27 (C7), 161.39 (C4), 158.57 (C2), 156.70 (C8a), 142.52 (C15), 141.39 (C10), 128.46 (C17), 128.19 (C12), 126.79 (C17), 126.63 (C18), 120.30 (C13), 118.51 (C11), 88.74 (C4a), 39.30 (C6), 33.32 (C5).

**MS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  (%): 332.0 (92) [M+H]<sup>+</sup>, 230.9 (69).

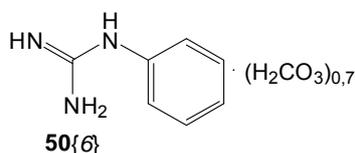
**HRMS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  calcd for C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 332.1511. Found: 332.1520.

## 1.6. Carbonitrile **33**{*x*} condensation and Dimroth rearrangement of imine **78**{*x,y*} without isolation



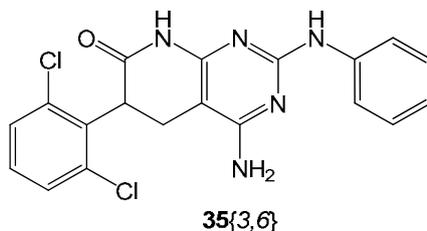
### 1.6.1. With commercial *N*-phenylguanidine carbonate **50**{**6**}

In order to use the exact amount of base to activate guanidine, molecular formula determination by AEO is recommended. Herein is referred the stoichiometry of commercial *N*-phenylguanidine used.



A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50**{**6**} (having a C<sub>2</sub>H<sub>10</sub>N<sub>6</sub>·H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> stoichiometry) (365 mg, 2.04 mmol of *N*-phenylguanidine), sodium methoxide (155 mg, 2.87 mmol) and 1,4-dioxane (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with **33**{*x*} (0.66 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 30 min. Then, dioxane is removed by vacuum distillation. The resulting oil is recovered with methanol (2 x 5 mL) and transferred to a 20 mL microwave vial with sodium methoxide (36 mg, 0.67 mmol). Vial is sealed and heated at 160 °C under microwave irradiation for 40 min. Compound **35**{*x,y*} is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford spectroscopically pure product.

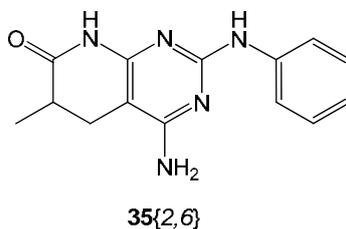
#### 1.6.1.1. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-one **35**{**3,6**}



As above using 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{**3**}. 69.7 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

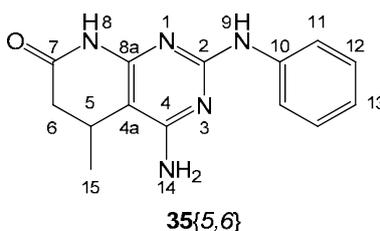
1.6.1.2. 4-amino-6-methyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{2,6}



As above using 2-methoxy-5-methyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{2}.  
59.4 % yield, white solid.

Spectroscopic data are consistent with previously described (Mont, **2005**).

1.6.1.3. 4-amino-5-methyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{5,6}



As above using 2-methoxy-4-methyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{5}.  
33.2 % yield, white solid.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3470, 3197, 2955, 2920, 1684, 1638, 1593, 1575, 1543, 1438, 1376, 1305, 1214, 793, 758, 699.

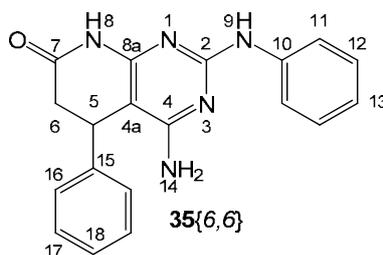
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.14 (s, 1H, H-N8), 8.73 (s, 1H, H-N9), 7.82 (m, 2H, H-C11), 7.18 (m, 2H, H-C12), 6.83 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H, H-C13), 6.42 (s, 2H, H-N14), 3.11 – 3.00 (m, 1H, H-C5), 2.74 (dd,  $J = 16.0, 6.9$  Hz, 1H, H-C6), 2.26 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H, H-C6), 0.99 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H, H-C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.97 (C7), 160.88 (C4), 158.10 (C2), 155.26 (C8a), 141.47 (C10), 128.19 (C12), 120.17 (C13), 118.36 (C11), 91.22 (C4a), 38.33 (C6), 23.29 (C5), 18.71 (C15).

**MS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  (%): 270.1 (90) [M+H]<sup>+</sup>, 231.0 (57).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 270.1355. Found: 270.1351.

1.6.1.4. 4-amino-5-phenyl-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{6,6}



As above using 2-methoxy-4-phenyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{6}.  
52.6 % yield, white solid.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3468, 3201, 3071, 2928, 1685, 1639, 1595, 1575, 1545, 1440, 1374, 800, 748, 701.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.19 (s, 1H, H-N8), 8.79 (s, 1H, H-N9), 7.84 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H, H-C11), 7.28 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H, H-C17), 7.23 – 7.13 (m, 5H, H-C12, H-C16, H-C18), 6.85 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H, H-C13), 6.33 (s, 2H, H-N14), 4.27 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-C5), 3.07 (dd,  $J$  = 16.2, 7.5 Hz, 1H, H-C6), 2.51 (dd,  $J$  = 16.2, 7.5 Hz, 1H, H-C6).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.27 (C7), 161.39 (C4), 158.57 (C2), 156.70 (C8a), 142.52 (C15), 141.39 (C10), 128.46 (C17), 128.19 (C12), 126.79 (C17), 126.63 (C18), 120.30 (C13), 118.51 (C11), 88.74 (C4a), 39.30 (C6), 33.32 (C5).

**MS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  (%): 332.0 (92) [M+H]<sup>+</sup>, 230.9 (69).

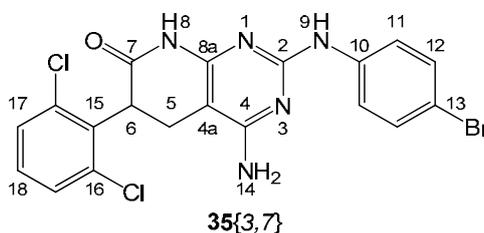
**HRMS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  calcd for C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 332.1511. Found: 332.1520.

### 1.6.2. With synthetic guanidine sulphites 50{x}

Synthetic guanidines are obtained as sulphite salt (1:1 guanidine:sulphite) with AIMSOA as described in 1.2.1.

A mixture of guanidine sulphite **50{y}** (having a 1:1 guanidine:sulphite stoichiometry) (2.00 mmol of *N*-arylguanidine), sodium methoxide (216 mg, 3.99 mmol) and 1,4-dioxane (10 mL) is sealed in a 20 mL microwave vial and heated at 65 °C under microwave irradiation for 15 min. A clear solution with a white precipitate is obtained. The solid is removed by filtration and the mother liquor is transferred to a 20 mL microwave vial with **33{x}** (0.66 mmol). The vial is sealed and heated at 140 °C under microwave irradiation for 30 min. Then, dioxane is removed by vacuum distillation. The resulting oil is recovered with methanol (2 x 5 mL) and transferred to a 20 mL microwave vial with sodium methoxide (36 mg, 0.67 mmol). Vial is sealed and heated at 160 °C under microwave irradiation for 40 min. Compound **35{x,y}** is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford spectroscopically pure product.

#### 1.6.2.1. 4-amino-2-(4-bromophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one 35{3,7}



As above using *N*-(*p*-bromophenyl)guanidine sulphite **50{7}** and 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33{3}**. 67.5 % yield, white solid.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3313, 3191, 1709, 1627, 1584, 1561, 1489, 1435, 1378, 1335, 1278, 1243, 831, 777, 762.

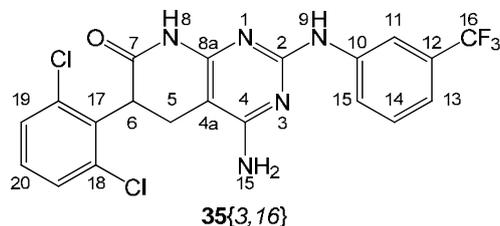
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.70 (s, 1H, H-N8), 9.32 (s, 1H, H-N9), 7.78 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H-C11), 7.54 (dd, *J* = 12.3, 8.1 Hz, 2H, H-C17), 7.45 – 7.33 (m, 3H, H-C12, H-C18), 6.95 (br s, 2H, H-N14), 4.73 (dd, *J* = 13.2, 9.0 Hz, 1H, H-C6), 2.98 (dd, *J* = 15.9, 9.0 Hz, 1H, H-C5), 2.79 (dd, *J* = 15.9, 13.2 Hz, 1H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 169.37 (C7), 160.23 (C4), 156.09 (C2), 152.14 (C8a), 138.08 (C10), 135.24 (C16), 134.92 (C15), 134.69 (C16), 131.45 (C12), 130.11 (C18), 129.83 (C17), 128.44 (C17), 122.09 (C11), 114.59 (C13), 84.58 (C4a), 42.47 (C6), 22.83 (C5).

**MS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* (%): 479.8 (43) [M+H]<sup>+</sup>, 307.0 (32), 289.0 (17).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* calcd for C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>OCl<sub>2</sub>Br (M+H)<sup>+</sup>: 479.9817. Found: 479.9827.

1.6.2.2. 4-amino-6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(3-(trifluoromethyl)phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,16}



As above using *N*-(*m*-perfluoromethylphenyl)guanidine sulphite **50**{16} and 5-(2,6-dichlorophenyl)-2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitrile **33**{3}. 48.1 % yield, white solid.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3407, 1679, 1637, 1606, 1583, 1560, 1449, 1437, 1383, 1335, 1319, 1117, 780.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.49 (s, 1H, H-N8), 9.16 (s, 1H, H-N9), 8.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H-C15), 8.06 (s, 1H, H-C11), 7.55 (m, 2H, H-C19), 7.44 – 7.36 (m, 2H, H-C14, H-C20), 7.15 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-C13), 6.46 (s, 2H, H-N15), 4.70 (dd, *J* = 13.1, 8.9 Hz, 1H, H-C6), 2.97 (dd, *J* = 15.9, 8.9 Hz, 1H, H-C5), 2.81 (dd, *J* = 15.9, 13.1 Hz, 1H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 169.42 (C7), 161.42 (C4), 158.00 (C2), 155.68 (C8a), 142.23 (C10), 135.61 (C17), 135.22 (C18), 134.84 (C18), 129.77 (C19), 129.28 (C20, C14), 129.12 (q, *J* = 43.3 Hz, C12), 128.31 (C19), 125.49 (q, *J* = 106.2 Hz, C16), 121.71 (C15), 116.19 (q, *J* = 4.0 Hz, C13), 114.24 (q, *J* = 4.0 Hz, C11), 85.00 (C4a), 43.15 (C6), 23.42 (C5).

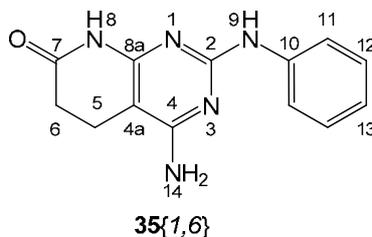
**MS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* (%): 468.0 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 231.0 (30).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>) *m/z* calcd for C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>F<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>(M+H)<sup>+</sup>: 468.0606. Found: 468.0596.

## 2. Development of a new synthetic strategy diversity oriented

### 2.1. Starting materials

#### 2.1.1. 4-amino-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-one 35{1,6}



A mixture of *N*-phenylguanidine carbonate **50{6}** (having a  $C_7H_9N_3 \cdot (H_2CO_3)_{0.69}$  stoichiometry) (148 mg, guanidine 0.83 mmol, carbonate 0.57 mmol), malononitrile **32a** (55 mg, 0.83 mmol), methyl acrylate **31{1}** (143 mg, 1.66 mmol) and methanol (5 mL) is sealed in a 5 mL microwave vial and heated at 160 °C under microwave irradiation for 5 min. Compound **35{1,6}** is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 107 mg (50.7 %) of spectroscopically pure **35{1,6}**.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3467, 3198, 1679, 1641, 1593, 1575, 1543, 1438, 1375, 1226, 781, 750, 701.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.18 (s, 1H, H-N8), 8.78 (s, 1H, H-N9), 7.83 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H-C11), 7.19 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-C12), 6.84 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-C13), 6.40 (s, 2H, H-N14), 2.64 – 2.44 (m, 4H, H-C5, H-C6).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.66 (C7), 161.37 (C4), 158.08 (C2), 156.30 (C8a), 141.47 (C10), 128.21 (C12), 120.17 (C13), 118.33 (C11), 85.77 (C4a), 30.45 (C6), 17.17 (C5).

**MS** (EI) *m/z* (%): 254.1 (100) [M-H]<sup>+</sup>.

**HRMS** (EI) *m/z* calcd for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O (M)<sup>+</sup>: 255.1120. Found: 255.1123.

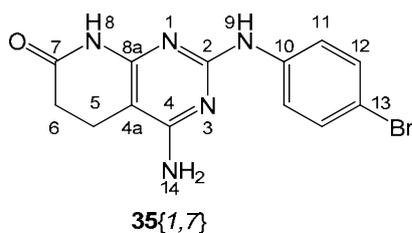
**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O: C 61.17 %, H 5.13 %, N 27.43 %; found C 61.22 %, H 5.42 %, N 27.65 %.

## 2.2. Bromination of 4-amino-2-(phenylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidinones **35{x,6}**

### 2.2.1. General procedure for 2-(4'-bromoaryl-amino)-pyrido[2,3-d]pyrimidinones **35{x,7}**

A dispersion of **35{x,6}** (2.55 mmol) in acetic acid (35 mL) is treated with bromine 2 M Br<sub>2</sub> in acetic acid solution (1.3 mL, 2.6 mmol) for 3 hours at room temperature. Then the resulting solution is diluted with 1,4-dioxane (300 mL) and the solvent is removed by vacuum azeotropic distillation (118 °C). A second 1,4-dioxane addition (50 mL) and vacuum distillation yields a white solid that is dispersed in water with ultrasounds and mechanical stirring. Compound **35{x,7}** is obtained as a white solid that can be isolated by filtration, washed with water, ethanol and diethyl ether to afford spectroscopically pure **35{x,7}**.

#### 2.2.1.1. 4-amino-2-(4-bromophenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35{1,7}**



As above using **35{1,6}** (651 mg, 2.55 mmol). 97.2 % yield.

mp: >250 °C.

IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3503, 3393, 3200, 3136, 1672, 1636, 1613, 1574, 1544, 1491, 1433, 1377, 1243, 823, 745.

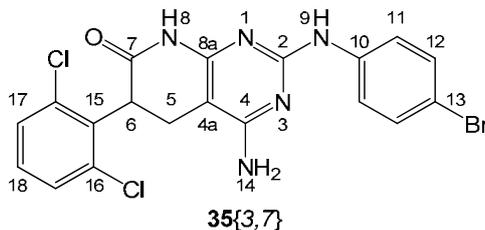
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.06 (s, 1H, H-N8), 8.91 (s, 1H, H-N9), 7.87 – 7.79 (m, 2H, H-C11), 7.35 – 7.27 (m, 2H, H-C12), 6.41 (s, 2H, H-N14), 2.61 – 2.47 (m, 4H, H-C5, H-C6).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.22 (C7), 161.19 (C4), 157.66 (C2), 156.20 (C8a), 140.84 (C10), 130.67 (C12), 120.08 (C11), 111.18 (C13), 85.98 (C4a), 30.32 (C6), 17.06.

MS (EI)  $m/z$  (%): 332.95 (100) [M]<sup>+</sup>, 253.90 (35) [M-HBr]<sup>+</sup>.

OEA calculated for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>BrN<sub>5</sub>O: C 46.72 %, H 3.62 %, N 20.96 %; found C 46.67 %, H 3.62 %, N 20.58 %.

2.2.1.2. 4-amino-2-(4-bromophenylamino)-6-(2,6-dichlorophenyl)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{3,7}



As above but using **35**{3,6} (201 mg, 0.502 mmol). A first crop of spectroscopically pure **35**{3,7} (206 mg, 0.430 mmol, yield 85.5 %) is obtained. From the mother liquor a second crop of **35**{3,7} (32 mg, 0.067 mmol, yield 13.1 %) can be isolated by filtration. Overall yield 98,6 %, white solid.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3313, 3191, 1709, 1627, 1584, 1561, 1489, 1435, 1378, 1335, 1278, 1243, 831, 777, 762.

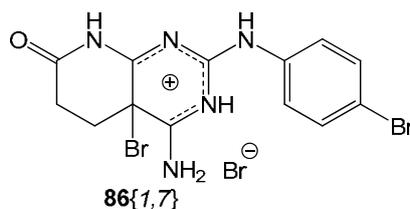
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.70 (s, 1H, H-N8), 9.32 (s, 1H, H-N9), 7.78 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 2H, H-C11), 7.54 (dd,  $J$  = 12.3, 8.1 Hz, 2H, H-C17), 7.45 – 7.33 (m, 3H, H-C12, H-C18), 6.95 (br s, 2H, H-N14), 4.73 (dd,  $J$  = 13.2, 9.0 Hz, 1H, H-C6), 2.98 (dd,  $J$  = 15.9, 9.0 Hz, 1H, H-C5), 2.79 (dd,  $J$  = 15.9, 13.2 Hz, 1H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 169.37 (C7), 160.23 (C4), 156.09 (C2), 152.14 (C8a), 138.08 (C10), 135.24 (C16), 134.92 (C15), 134.69 (C16), 131.45 (C12), 130.11 (C18), 129.83 (C17), 128.44 (C17), 122.09 (C11), 114.59 (C13), 84.58 (C4a), 42.47 (C6), 22.83 (C5).

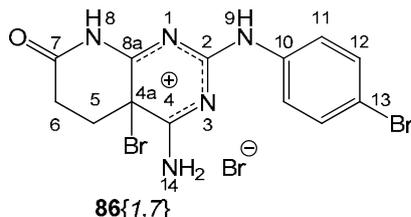
**MS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  (%): 479.8 (43) [M+H]<sup>+</sup>, 307.0 (32), 289.0 (17).

**HRMS** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  calcd for C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>OCl<sub>2</sub>Br (M+H)<sup>+</sup>: 479.9817. Found: 479.9827.

## 2.2.2. Wheland intermediate 86{1,7}



### 2.2.2.1. One-pot one-process procedure from pyrido[2,3-d]pyrimidine 35{1,6}



A dispersion of **35{1,6}** (199 mg, 0.779 mmol) in acetic acid (10 mL) is treated with 2 M bromine in acetic acid solution (0.8 mL, 1.600 mmol) for 3 hours at room temperature. The orange cake obtained is diluted with water (90 mL), filtered and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 371 mg (0.749 mmol, yield 96.1 %) of spectroscopically pure **86{1,7}**.

**mp:** 166 °C (*d*).

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3399, 3119, 2914, 1710, 1654, 1608, 1544, 1519, 1489, 1209, 1078, 1006, 832, 510.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 11.80 (s, 1H, H-N8), 10.51 (s, 1H, H-N9), 8.16 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C11), 7.54 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C12), 2.89 (m, 1H, H-C6), 2.72 (m, 2H, H-C5, H-C6), 2.59 (m, 1H, H-C5).

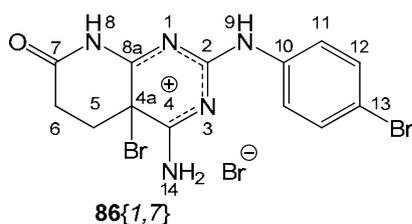
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.9 (C7), 168.3 (C4), 167.1 (C2), 156.5 (C8a), 138.3 (C10), 131.9 (C12), 123.3 (C11), 116.7 (C13), 44.2 (C4a), 30.5 (C6), 28.7 (C5).

**MS** (ESI) *m/z* (%): 491.8493 [M+1]<sup>+</sup>, 413.9358 [M-Br+1]<sup>+</sup>, 334.0305 [M-2Br+1]<sup>+</sup> (17).

**HRMS** (ESI-TOF) *m/z* calcd for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O (M+1)<sup>+</sup>: 491.8508. Found: 491.8493.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O: C 31.61 %, H 2.45 %, N 14.18 %; found C 31.86 %, H 2.07 %, N 14.10 %.

2.2.2.2. One-pot two-process procedure from pyrido[2,3-d]pyrimidine **35**{1,6}



A dispersion of **35**{1,6} (202 mg, 0.791 mmol) in acetic acid (10 mL) is treated with 2 M bromine in acetic acid solution (0.40 mL, 0.80 mmol) for 3 hours at room temperature. Then, a second addition of 2 M bromine in acetic acid solution (0.40 mL, 0.80 mmol) is carried out and after 2 h of magnetic stirring at room temperature an orange cake is obtained. The crude dispersion is diluted with water (90 mL) and filtered, and the yellow solid is washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 351 mg (0.711 mmol, yield 89.7 %) of spectroscopically pure **86**{1,7}.

**mp**: 166 °C (*d*).

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3399, 3119, 2914, 1710, 1654, 1608, 1544, 1519, 1489, 1209, 1078, 1006, 832, 510.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 11.80 (s, 1H, H-N8), 10.51 (s, 1H, H-N9), 8.16 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C11), 7.54 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C12), 2.89 (m, 1H, H-C6), 2.72 (m, 2H, H-C5, H-C6), 2.59 (m, 1H, H-C5).

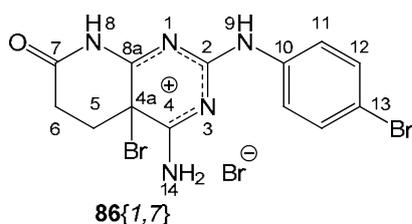
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.9 (C7), 168.3 (C4), 167.1 (C2), 156.5 (C8a), 138.3 (C10), 131.9 (C12), 123.3 (C11), 116.7 (C13), 44.2 (C4a), 30.5 (C6), 28.7 (C5).

**MS** (ESI) *m/z* (%): 491.8493 [M+1]<sup>+</sup>, 413.9358 [M-Br+1]<sup>+</sup>, 334.0305 413.9358 (100) [M-2Br+1]<sup>+</sup> (17).

**HRMS** (ESI-TOF) *m/z* calcd for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O (M+1)<sup>+</sup>: 491.8508. Found: 491.8493.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O: C 31.61 %, H 2.45 %, N 14.18 %; found C 31.86 %, H 2.07 %, N 14.10 %.

2.2.2.3. From 4-amino-2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine **35**{1,7}



A dispersion of **35**{1,7} (200 mg, 0.598 mmol) in acetic acid (10 mL) is sequentially treated with hydrobromic acid (0.45 mL 48 % aqueous solution, 3.98 mmol) and 2 M bromine in acetic acid solution (0.3 mL, 0.600 mmol) for 2 hours at room temperature. The orange cake obtained

is diluted with water (90 mL), filtered and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 256 mg (0.518 mmol, yield 86.6 %) of spectroscopically pure **86**{1,7}.

**mp**: 166 °C (*d*).

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3399, 3119, 2914, 1710, 1654, 1608, 1544, 1519, 1489, 1209, 1078, 1006, 832, 510.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 11.80 (s, 1H, H-N8), 10.51 (s, 1H, H-N9), 8.16 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H, H-C11), 7.54 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H, H-C12), 2.89 (m, 1H, H-C6), 2.72 (m, 2H, H-C5, H-C6), 2.59 (m, 1H, H-C5).

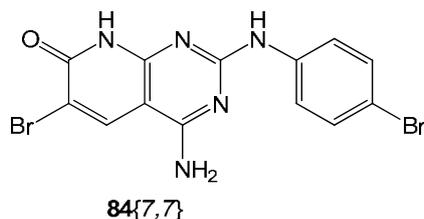
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 170.9 (C7), 168.3 (C4), 167.1 (C2), 156.5 (C8a), 138.3 (C10), 131.9 (C12), 123.3 (C11), 116.7 (C13), 44.2 (C4a), 30.5 (C6), 28.7 (C5).

**MS** (ESI) *m/z* (%): 491.8493 [M+1]<sup>+</sup>, 413.9358 [M-Br+1]<sup>+</sup>, 334.0305 413.9358 (100) [M-2Br+1]<sup>+</sup> (17).

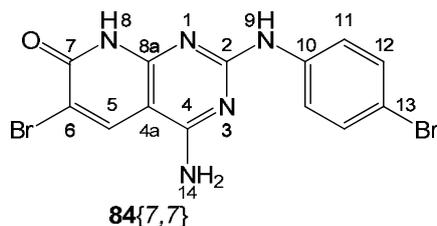
**HRMS** (ESI-TOF) *m/z* calcd for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O (M+1)<sup>+</sup>: 491.8508. Found: 491.8493.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O: C 31.61 %, H 2.45 %, N 14.18 %; found C 31.86 %, H 2.07 %, N 14.10 %.

### 2.2.3. Synthesis of 4-amino-6-bromo-2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **84**{7,7}



#### 2.2.3.1. From 4-amino-2-(phenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine **35**{1,6}



A dispersion of **35**{1,6} (400 mg, 1.567 mmol) in acetic acid (12 mL) with 2 M bromine in acetic acid solution (8 mL, 16.00 mmol) is heated for 3 minutes at 200 °C under microwave irradiation. The resulting white or slightly pale yellow solid is isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 297 mg (0.722 mmol, yield 46.0 %) of **84**{7,7}.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3456, 3330, 1633, 1603, 1555, 1508, 1438, 1310, 1290, 1268, 1072, 1039, 1008, 808, 792, 608.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 12.14 (s, 1H, H-N8), 9.43 (s, 1H, H-N9), 8.56 (s, 1H, H-C5), 7.88 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C11), 7.43 (br s, 2H, H-N14), 7.38 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C12).

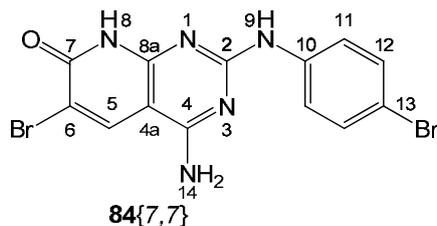
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 160.3 (C8a), 159.3 (C7), 159.1 (C2), 155.4 (C4), 139.9 (C10), 136.7 (C5), 130.9 (C12), 121.3 (C11), 112.8 (C13), 107.8 (C6), 92.3 (C4a).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 409.9 (1.24) [M+1]<sup>+</sup>, 307.1 (37.7).

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 492.9252. Found: 409.9264.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O: C 37.99 %, H 2.21 %, N 17.04 %; found C 37.96 %, H 2.26 %, N 16.81 %.

2.2.3.2. From 4-amino-2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine **35**{1,7}



A dispersion of **35**{1,7} (102 mg, 0.305 mmol) in acetic acid (3.5 mL) with bromine 2 mmol/mL acetic solution (1.5 mL, 3.00 mmol) is heated for 3 minutes at 200 °C under microwave irradiation. The resulting white or slightly pale yellow solid is isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 53 mg (0.129 mmol, yield 42.1 %) of **84**{7,7}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3456, 3330, 1633, 1603, 1555, 1508, 1438, 1310, 1290, 1268, 1072, 1039, 1008, 808, 792, 608.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 12.14 (s, 1H, H-N8), 9.43 (s, 1H, H-N9), 8.56 (s, 1H, H-C5), 7.88 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C11), 7.43 (br s, 2H, H-N14), 7.38 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C12).

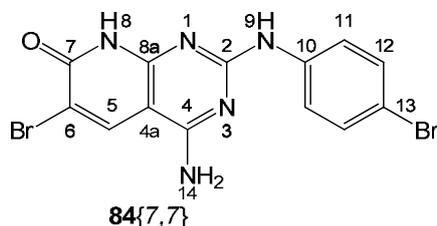
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 160.3 (C8a), 159.3 (C7), 159.1 (C2), 155.4 (C4), 139.9 (C10), 136.7 (C5), 130.9 (C12), 121.3 (C11), 112.8 (C13), 107.8 (C6), 92.3 (C4a).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 409.9 (1.24) [M+1]<sup>+</sup>, 307.1 (37.7).

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 492.9252. Found: 409.9264.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O: C 37.99 %, H 2.21 %, N 17.04 %; found C 37.96 %, H 2.26 %, N 16.81 %.

2.2.3.3. From Wheland salt intermediate **86**{1,7} not under vacuum conditions



A solution of **86**{1,7} (101 mg, 0.204 mmol) in DMSO (10 mL) is heated for 17 hours to 80 °C in a round-bottomed flask opened to air with magnetic stirring. The resulting white or slightly pale yellow solid is isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 73 mg (0.178 mmol, yield 87.3 %) of spectroscopically pure **84**{7,7}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3456, 3330, 1633, 1603, 1555, 1508, 1438, 1310, 1290, 1268, 1072, 1039, 1008, 808, 792, 608.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 12.14 (s, 1H, H-N8), 9.43 (s, 1H, H-N9), 8.56 (s, 1H, H-C5), 7.88 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C11), 7.43 (br s, 2H, H-N14), 7.38 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C12).

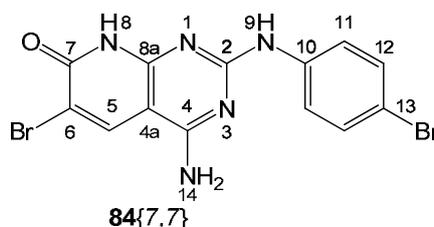
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 160.3 (C8a), 159.3 (C7), 159.1 (C2), 155.4 (C4), 139.9 (C10), 136.7 (C5), 130.9 (C12), 121.3 (C11), 112.8 (C13), 107.8 (C6), 92.3 (C4a).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 409.9 (1.24) [M+1]<sup>+</sup>, 307.1 (37.7).

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 492.9252. Found: 409.9264.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O: C 37.99 %, H 2.21 %, N 17.04 %; found C 37.96 %, H 2.26 %, N 16.81 %.

#### 2.2.3.4. From Wheland salt intermediate **86**{1,7} under vacuum conditions



A solution of **86**{1,7} (102 mg, 0.206 mmol) in DMSO (5 mL) is heated at 80 °C for 3 hours in a conventional vacuum distillation system (50 mbar). The resulting white or slightly pale yellow solid is isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 68 mg (0.165 mmol, yield 80.1 %) of spectroscopically pure **84**{7,7}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3456, 3330, 1633, 1603, 1555, 1508, 1438, 1310, 1290, 1268, 1072, 1039, 1008, 808, 792, 608.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 12.14 (s, 1H, H-N8), 9.43 (s, 1H, H-N9), 8.56 (s, 1H, H-C5), 7.88 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C11), 7.43 (br s, 2H, H-N14), 7.38 (d, J = 8,9 Hz, 2H, H-C12).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 160.3 (C8a), 159.3 (C7), 159.1 (C2), 155.4 (C4), 139.9 (C10), 136.7 (C5), 130.9 (C12), 121.3 (C11), 112.8 (C13), 107.8 (C6), 92.3 (C4a).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 409.9 (1.24) [M+1]<sup>+</sup>, 307.1 (37.7).

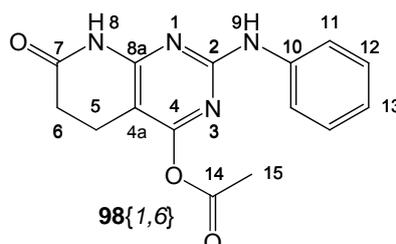
**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 492.9252. Found: 409.9264.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O: C 37.99 %, H 2.21 %, N 17.04 %; found C 37.96 %, H 2.26 %, N 16.81 %.

## 2.3. Synthesis of 4-oxopyrido[2,3-d]pyrimidines by diazotization of 4-amino analogues

### 2.3.1. Synthesis of 4-oxopyridopyrimidines through 4-acetoxy derivatives

#### 2.3.1.1. 7-oxo-2-(phenylamino)-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl acetate **98**{1,6} from 4-amino-2-(phenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine **35**{1,6}



A dispersion of **35**{1,6} (302 mg, 1.183 mmol) in acetic acid (20 mL) is treated with sodium nitrite (408 mg, 5.913 mmol) for 2 hours at room temperature. The resulting dispersion is diluted with water (100 mL) and the white or pale yellow solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 265 mg (0.888 mmol, yield 75.1 %) of spectroscopically pure **98**{1,6}.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3287, 3208, 3150, 2979, 1776, 1687, 1622, 1582, 1555, 1502, 1448, 1367, 1346, 1304, 1263, 1236, 1217, 1171, 1098, 891, 812, 758.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.88 (s, 1H, H-N8), 9.59 (s, 1H, H-N9), 7.75 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C11), 7.23 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C12), 6.94 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-C13), 2.66 – 2.59 (m, 2H, H-C6), 2.58 – 2.51 (m, 2H, H-C5), 2.33 (s, 3H, H-C15).

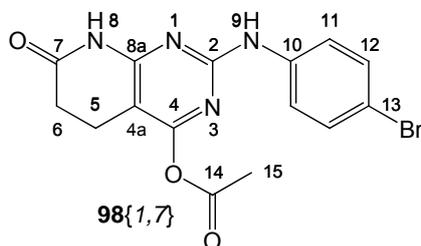
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.3 (C7), 167.7 (C14), 161.6 (C4), 160.8 (C8a), 158.1 (C2), 140.2 (C10), 128.5 (C12), 121.5 (C13), 118.8 (C11), 95.9 (C4a), 30.0 (C6), 20.5 (C5), 16.9 (C15).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 298.1 (27.0) [M]<sup>+</sup>, 256.1 (100) [M-CH<sub>3</sub>CO+H]<sup>+</sup>, 227,1 (16).

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> (M)<sup>+</sup>: 298.1066. Found: 298.1070.

**OEA** calculated for C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: C 60.40 %, H 4.73 %, N 18.78 %; found C 60.02 %, H 4.97 %, N 18.45 %.

2.3.1.2. 7-oxo-2-(4-bromophenylamino)-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl acetate **98**{1,7} from 4-amino-2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine **35**{1,7}



A dispersion of **35**{1,7} (105 mg, 0.299 mmol) in acetic acid (10 mL) is treated with sodium nitrite (106 mg, 1.536 mmol) for 2 hours at room temperature. The resulting dispersion is diluted with water (100 mL) and the white or pale yellow solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 96 mg (0.255 mmol, yield 85.3 %) of spectroscopically pure **98**{1,7}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3430, 3288, 3205, 3144, 2963, 1782, 1691, 1621, 1578, 1547, 1492, 1447, 1363, 1346, 1169, 1080, 825, 743.

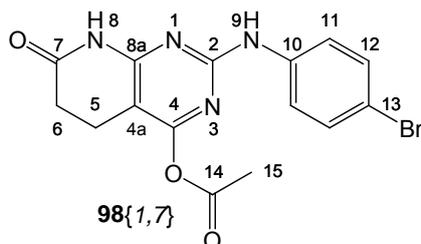
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.91 (s, 1H, H-N8), 9.75 (s, 1H, H-N9), 7.72 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, H-C11), 7.38 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, H-C12), 2.64 – 2.58 (m, 2H, H-C6), 2.55 – 2.48 (m, 2H, H-C5), 2.31 (s, 3H, H-C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.3 (C7), 167.7 (C14), 161.6 (C4), 160.8 (C8a), 157.8 (C2), 139.7 (C10), 131.2 (C12), 120.6 (C13), 112.9 (C11), 96.3 (C4a), 29.9 (C6), 20.5 (C5), 16.9 (C15).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 376.0 (17.0) [M]<sup>+</sup>, 333.9 (75.0) [M-CH<sub>3</sub>CO+H]<sup>+</sup>, 255.0 (46.0).

**OEA** calculated for C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: C 47.76 %, H 3.47 %, N 14.85 %; found C 48.02 %, H 3.43 %, N 14.86 %.

2.3.1.3. 7-oxo-2-(4-bromophenylamino)-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl acetate **98**{1,7} from 4-amino-2-(phenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine **35**{1,6}



A dispersion of **35**{1,6} (99 mg, 0.388 mmol) in acetic acid (5 mL) is treated with 2 M bromine in acetic acid solution (0.2 mL, 0.4 mmol) for 1 hour at room temperature. Then, the

dispersion is treated with sodium nitrite (134 mg, 1.942 mmol) for 1 hour at room temperature. The resulting dispersion is diluted with water (100 mL) and the white or pale yellow solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 128 mg (0.339 mmol, yield 87.4 %) of spectroscopically pure **98**{1,7}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3430, 3288, 3205, 3144, 2963, 1782, 1691, 1621, 1578, 1547, 1492, 1447, 1363, 1346, 1169, 1080, 825, 743.

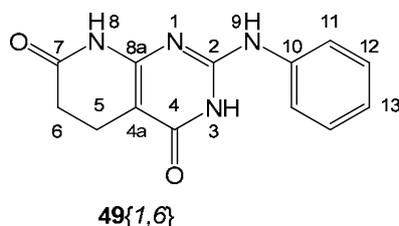
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.91 (s, 1H, H-N8), 9.75 (s, 1H, H-N9), 7.72 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, H-C11), 7.38 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, H-C12), 2.64 – 2.58 (m, 2H, H-C6), 2.55 – 2.48 (m, 2H, H-C5), 2.31 (s, 3H, H-C15).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.3 (C7), 167.7 (C14), 161.6 (C4), 160.8 (C8a), 157.8 (C2), 139.7 (C10), 131.2 (C12), 120.6 (C13), 112.9 (C11), 96.3 (C4a), 29.9 (C6), 20.5 (C5), 16.9 (C15).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 376.0 (17.0) [M]<sup>+</sup>, 333.9 (75.0) [M-CH<sub>3</sub>CO+H]<sup>+</sup>, 255.0 (46.0).

**OEA** calculated for C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: C 47.76 %, H 3.47 %, N 14.85 %; found C 48.02 %, H 3.43 %, N 14.86 %.

2.3.1.4. 2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione **49**{1,6}  
from 7-oxo-2-(phenylamino)-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl  
acetate **98**{1,6}



Product **98**{1,6} (101 mg, 0.339 mmol) is dispersed in 1 M aqueous hydrochloric acid (5 mL) by ultrasounds and mechanical stirring for 1 hour at room temperature. Then, the mixture is heated to 80 °C for 1 hour. The resulting dispersion is diluted with water (100 mL) and the white or pale yellow solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 80 mg (0.312 mmol, yield 92.1 %) of spectroscopically pure **49**{1,6}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3402, 2824, 1665, 1615, 1558, 1509, 1470, 1437, 1378, 1335, 1319, 1209, 869, 759, 514.

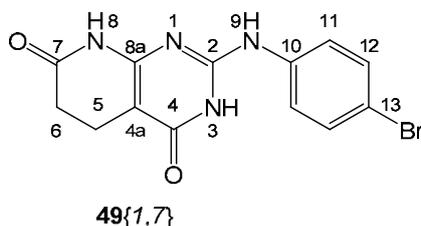
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.39 (br s, H-N3), 10.18 (s, 1H, H-N8), 8.72 (s, 1H, H-N9), 7.66 (dd,  $J$  = 8.5, 0.9 Hz, 2H, H-C11), 7.27 (dd,  $J$  = 8.5, 7.5 Hz, 2H, H-C12), 6.99 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-C13), 2.53 – 2.50 (m, 2H, H-C6), 2.45 – 2.39 (m, 2H, H-C5).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 171.5 (C7), 161.4 (C4), 155.7 (C8a), 150.8 (C2), 138.7 (C10), 128.8 (C12), 122.5 (C13), 119.3 (C11), 90.57 (C4a), 30.3 (C6), 16.4 (C5).

MS (EI)  $m/z$  (%): 256.1 (100)  $[\text{M}]^+$ , 227.1 (19), 213.1 (11)  $[\text{M}-\text{NHCO}]^+$ .

OEA calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$ : C 60.93 %, H 4.72 %, N 21.86 %; found C 60.64 %, H 4.84 %, N 21.57 %.

2.3.1.5. 2-(4-bromophenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione  
49{1,7} from 7-oxo-2-(4-bromophenylamino)-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-  
d]pyrimidin-4-yl acetate 98{1,7}



Product **98{1,7}** (80 mg, 0.212 mmol) is dispersed in 1M aqueous hydrochloric acid (5 mL) by ultrasounds and mechanical stirring for 1 hour at room temperature. Then, the mixture is heated to 80 °C for 1 hour. The resulting dispersion is diluted with water (100 mL) and the white or pale yellow solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 67 mg (0.200 mmol, yield 94.3 %) of spectroscopically pure **49{1,7}**.

mp: >250 °C.

IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3393, 3140, 2930, 1686, 1618, 1510, 1489, 1458, 1368, 1316, 1241, 1209, 834, 501.

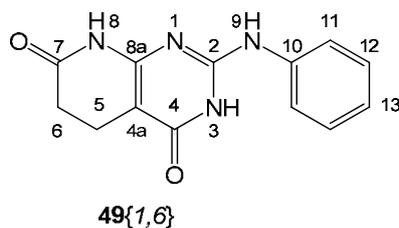
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 10.53 (br s, H-N3), 10.23 (s, 1H, H-N8), 8.89 (s, 1H, H-N9), 7.69 (dd,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, H-C11), 7.43 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, H-C12), 2.57 – 2.52 (m, 2H, H-C6), 2.48 – 2.43 (m, 2H, H-C5).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 171.5 (C7), 161.6 (C4), 155.7 (C8a), 150.9 (C2), 138.3 (C10), 131.4 (C12), 121.3 (C11), 113.9 (C13), 90.8 (C4a), 30.3 (C6), 16.4 (C5).

MS (EI)  $m/z$  (%): 334.0 (100)  $[\text{M}]^+$ .

OEA calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrN}_4\text{O}_2$ : C 46.59 %, H 3.31 %, N 16.72 %; found C 46.50 %, H 3.41 %, N 16.38 %.

2.3.1.6. 2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione **49**{1,6} through 4-acetoxy derivative



A dispersion of **35**{1,6} (300 mg, 1.175 mmol) in acetic acid (20 mL) is treated with sodium nitrite (407 mg, 5.899 mmol) for 2 hours at room temperature. Then, the mixture is diluted with water (100 mL), filtered and the resulting cake intensively washed with water. This cake is recovered by solubilisation with ethanol, which can be removed by vacuum distillation. The resulting slurry is dispersed in 1 M aqueous hydrochloric acid (30 mL) by ultrasounds and mechanical stirring for 1 hour at room temperature and then heated at 80 °C for 1 hour. The resulting dispersion is diluted with water (300 mL) and the white or pale yellow solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 211 mg (0.823 mmol, yield 70.1 %) of spectroscopically pure **49**{1,6}.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3402, 2824, 1665, 1615, 1558, 1509, 1470, 1437, 1378, 1335, 1319, 1209, 869, 759, 514.

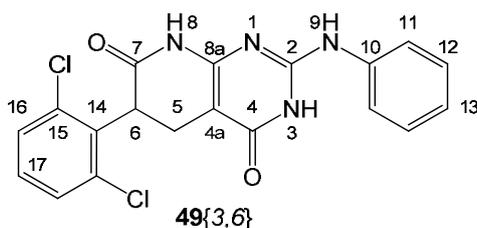
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.39 (br s, H-N3), 10.18 (s, 1H, H-N8), 8.72 (s, 1H, H-N9), 7.66 (dd,  $J = 8.5, 0.9$  Hz, 2H, H-C11), 7.27 (dd,  $J = 8.5, 7.5$  Hz, 2H, H-C12), 6.99 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H, H-C13), 2.53 – 2.50 (m, 2H, H-C6), 2.45 – 2.39 (m, 2H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.5 (C7), 161.4 (C4), 155.7 (C8a), 150.8 (C2), 138.7 (C10), 128.8 (C12), 122.5 (C13), 119.3 (C11), 90.57 (C4a), 30.3 (C6), 16.4 (C5).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 256.1 (100) [M]<sup>+</sup>, 227.1 (19), 213,1 (11) [M-NHCO]<sup>+</sup>.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: C 60.93 %, H 4.72 %, N 21.86 %; found C 60.64 %, H 4.84 %, N 21.57 %.

2.3.1.7. 6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione **49**{3,6} through 4-acetoxy derivative



A dispersion of **35**{3,6} (200 mg, 0.499 mmol) in acetic acid (10 mL) is treated with sodium nitrite (173 mg, 2.507 mmol) for 2 hours at room temperature. Then, the mixture is diluted with water (100 mL), filtered and the resulting cake intensively washed with water. This cake is recovered by solubilisation with ethanol, which can be removed by vacuum distillation. The resulting slurry is dispersed in 1M aqueous hydrochloric acid 1 M (30 mL) by ultrasounds and mechanical stirring for 1 hour at room temperature and then heated at 80 °C for 1 hour. The resulting dispersion is diluted with water (300 mL) and the white or pale yellow solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 144 mg (0.359 mmol, yield 71.9 %) of spectroscopically pure **49**{3,6}.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3393, 3152, 2911, 1695, 1620, 1563, 1496, 1462, 1436, 1369, 1338, 1316, 1276, 1246, 1199, 776, 548.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.56 (s, 2H, H-N3, H-N8), 8.87 (s, 1H, H-N9), 7.72 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C11), 7.52 (dd,  $J$  = 14.5, 8.0 Hz, 2H, H-C16), 7.41 – 7.34 (m, 1H, H-C17), 7.31 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C12), 7.03 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-C13), 4.68 – 4.56 (m, 1H, H-C6), 2.88 (dd,  $J$  = 16.0, 9.0 Hz, 1H, H-C5), 2.81 – 2.69 (m, 1H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 169.6 (C7), 161.2 (C4), 155.1 (C8a), 150.9 (C2), 138.6 (C10), 135.4 (C15), 135.2 (C14), 134.7 (C15), 129.7 (C17), 128.8 (C12), 128.3 (C17, C16), 122.6 (C13), 119.3 (C11), 89.1 (C4a), 43.1 (C6), 22.5 (C5).

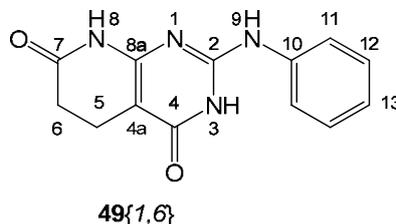
**MS** (EI)  $m/z$  (%): 400.9 (28.7) [M]<sup>+</sup>, 307.0 (34.8) [M-NHPh], 289.0 (16.7).

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup>: 401.0572. Found: 401.0565.

**OEA** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: C 56.87 %, H 3.52 %, N 13.96 %; found C 56.66 %, H 3.39 %, N 13.99 %.

### 2.3.2. Direct synthesis of 4-oxopyridopyrimidines from 4-amino analogues

#### 2.3.2.1. 2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione **49{1,6}**



A solution of **35{1,6}** (101 mg, 0.396 mmol), water (0.5 mL) and *t*-butyl nitrite (223 mg, 1.95 mmol) in DMF (2 mL) is heated at 65 °C for 5 minutes under microwave irradiation. The resulting slurry is diluted with water (100 mL) and the white solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 88 mg (0.312 mmol, yield 78.8 %) of spectroscopically pure **49{1,6}**.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3402, 2824, 1665, 1615, 1558, 1509, 1470, 1437, 1378, 1335, 1319, 1209, 869, 759, 514.

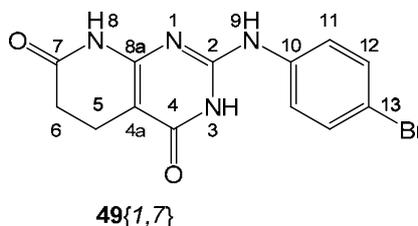
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.39 (br s, H-N3), 10.18 (s, 1H, H-N8), 8.72 (s, 1H, H-N9), 7.66 (dd, *J* = 8.5, 0.9 Hz, 2H, H-C11), 7.27 (dd, *J* = 8.5, 7.5 Hz, 2H, H-C12), 6.99 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H-C13), 2.53 – 2.50 (m, 2H, H-C6), 2.45 – 2.39 (m, 2H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.5 (C7), 161.4 (C4), 155.7 (C8a), 150.8 (C2), 138.7 (C10), 128.8 (C12), 122.5 (C13), 119.3 (C11), 90.57 (C4a), 30.3 (C6), 16.4 (C5).

**MS** (EI) *m/z* (%): 256.1 (100) [M]<sup>+</sup>, 227.1 (19), 213.1 (11) [M-NHCO]<sup>+</sup>.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: C 60.93 %, H 4.72 %, N 21.86 %; found C 60.64 %, H 4.84 %, N 21.57 %.

#### 2.3.2.2. 2-(4-bromophenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione **49{1,7}**



A solution of **35{1,7}** (134 mg, 0.401 mmol), water (0.5 mL) and *t*-butyl nitrite (225 mg, 1.96 mmol) in DMF (2 mL) is heated at 65 °C for 5 minutes under microwave irradiation. The resulting slurry is diluted with water (100 mL) and the white solid can be isolated by filtration and

washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 116 mg (0.346 mmol, yield 86.4 %) of spectroscopically pure **49**{1,7}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3393, 3140, 2930, 1686, 1618, 1510, 1489, 1458, 1368, 1316, 1241, 1209, 834, 501.

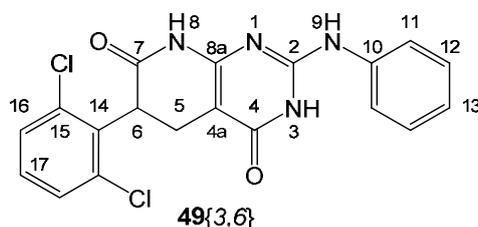
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.53 (br s, H-N3), 10.23 (s, 1H, H-N8), 8.89 (s, 1H, H-N9), 7.69 (dd,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, H-C11), 7.43 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H, H-C12), 2.57 – 2.52 (m, 2H, H-C6), 2.48 – 2.43 (m, 2H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.5 (C7), 161.6 (C4), 155.7 (C8a), 150.9 (C2), 138.3 (C10), 131.4 (C12), 121.3 (C11), 113.9 (C13), 90.8 (C4a), 30.3 (C6), 16.4 (C5).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 334.0 (100) [M]<sup>+</sup>.

**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: C 46.59 %, H 3.31 %, N 16.72 %; found C 46.50 %, H 3.41 %, N 16.38 %.

#### 2.3.2.3. 6-(2,6-dichlorophenyl)-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione **49**{3,6}



A solution of **35**{3,6} (160 mg, 0.399 mmol), water (0.5 mL) and *n*-butyl nitrite (228 mg, 1.989 mmol) in DMF (2 mL) is heated at 65 °C for 7 minutes under microwave irradiation. The resulting slurry is diluted with water (100 mL) and the white solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 103 mg (0.257 mmol, yield 64.3 %) of spectroscopically pure **49**{3,6}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3393, 3152, 2911, 1695, 1620, 1563, 1496, 1462, 1436, 1369, 1338, 1316, 1276, 1246, 1199, 776, 548.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.56 (s, 2H, H-N3, H-N8), 8.87 (s, 1H, H-N9), 7.72 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C11), 7.52 (dd,  $J$  = 14.5, 8.0 Hz, 2H, H-C16), 7.41 – 7.34 (m, 1H, H-C17), 7.31 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C12), 7.03 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-C13), 4.68 – 4.56 (m, 1H, H-C6), 2.88 (dd,  $J$  = 16.0, 9.0 Hz, 1H, H-C5), 2.81 – 2.69 (m, 1H, H-C5).

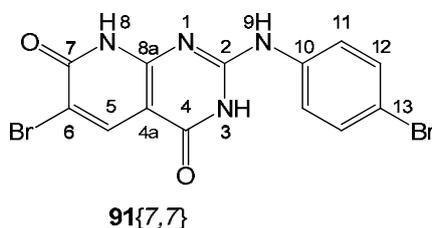
**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 169.6 (C7), 161.2 (C4), 155.1 (C8a), 150.9 (C2), 138.6 (C10), 135.4 (C15), 135.2 (C14), 134.7 (C15), 129.7 (C17), 128.8 (C12), 128.3 (C17, C16), 122.6 (C13), 119.3 (C11), 89.1 (C4a), 43.1 (C6), 22.5 (C5).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 400.9 (28.7)  $[\text{M}]^+$ , 307.0 (34.8)  $[\text{M}-\text{NHPh}]$ , 289.0 (16.7).

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$  (M+H) $^+$ : 401.0572. Found: 401.0565.

**OEA** calculated for  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ : C 56.87 %, H 3.52 %, N 13.96 %; found C 56.66 %, H 3.39 %, N 13.99 %.

2.3.2.4. 6-bromo-2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione  
91{7,7}



A solution of **84{7,7}** (164 mg, 0.399 mmol), water (0.5 mL) and *t*-butyl nitrite (229 mg, 1.999 mmol) in DMF (2 mL) is heated at 65 °C for 2 hours under microwave irradiation. The resulting slurry is diluted with water (100 mL) and the white pale yellow solid can be isolated by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 130 mg (0.316 mmol, yield 81.7 %) of spectroscopically pure **91{7,7}**.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3420, 3070, 1605, 1571, 1489, 1401, 1326, 1261, 1002, 820, 784, 560.

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 12.49 (br s, 1H, H-N8), 11.02 (brs, 1H, H-N3), 9.33 (s, 1H, H-N9), 8.09 (s, 1H, H-C5), 7.72 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, H-C11), 7.50 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, H-C12).

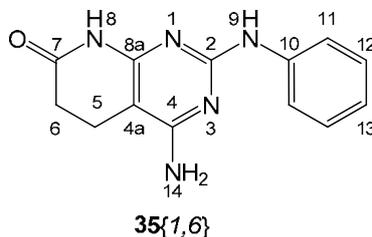
**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 159.3 (C4), 159.1 (C8a), 155.2 (C7), 151.2 (C2), 137.4 (C5), 137.3 (C10), 131.5 (C12), 122.3 (C11), 115.3 (C13), 108.7 (C6), 97.7 (C4a).

**MS** (ESI-TOF)  $m/z$  (%): 412.9  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**OEA** calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_2$ : C 37.89 %, H 1.96 %, N 13.60 %; found C 37.81 %, H 2.24 %, N 13.62 %.

## 2.4. Pd(0) catalyzed aryl debromination of 35{1,7}

### 2.4.1. 4-amino-2-(phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one 35{1,6} by debromination of 35{1,7}



A dispersion of **35{1,7}** (100 mg, 0.299 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (35 mg, 0.030 mmol) and sodium carbonate (79 mg, 0.745 mmol) in a deoxygenated 1:1 mixture of water and ethanol (5 mL) is sealed in a 7 mL microwave vial and heated at 150 °C under microwave irradiation for 15 min. Then, water is added (50 mL) and a black precipitate can be isolated by filtration. This black cake is washed with water and treated with the minimum amount of DMF (1-2 mL) to be filtered again to yield a yellow solution. After addition of water (20 mL), the solid appeared can be recovered by vacuum filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 75 mg (0.294 mmol, yield > 98 %) of spectroscopically pure **35{1,6}**.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3467, 3198, 1679, 1641, 1593, 1575, 1543, 1438, 1375, 1226, 781, 750, 701.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.18 (s, 1H, H-N8), 8.78 (s, 1H, H-N9), 7.83 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 2H, H-C11), 7.19 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C12), 6.84 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 1H, H-C13), 6.40 (s, 2H, H-N14), 2.64 – 2.44 (m, 4H, H-C5, H-C6).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.7 (C7), 161.4 (C4), 158.1 (C2), 156.3 (C8a), 141.5 (C10), 128.2 (C12), 120.2 (C13), 118.3 (C11), 85.8 (C4a), 30.5 (C6), 17.2 (C5).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 254.1 (100) [M-H]<sup>+</sup>.

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O (M)<sup>+</sup>: 255.1120. Found: 255.1123.

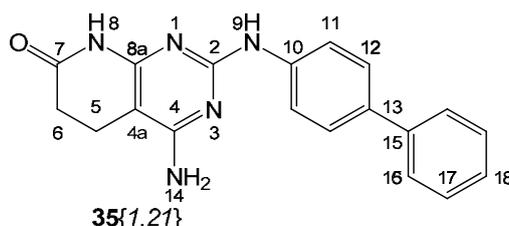
**OEA** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O: C 61.17 %, H 5.13 %, N 27.43 %; found C 61.22 %, H 5.42 %, N 27.65 %.

## 2.5. Bromine substitutions using Pd (0) catalyzed Suzuki heterocouplings

### 2.5.1. Aryl substitutions of 2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine 35{1,7}

A dispersion of **35{1,7}** (100 mg, 0.299 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (35 mg, 0.030 mmol), arylboronic acid (0.330 mmol) and cesium carbonate (249 mg, 0.764 mmol) in a deoxygenated 5:1 mixture of dioxane and water (5 mL) is sealed in a 7 mL microwave vial and heated at 140 °C under microwave irradiation for 15 min. Then, water is added (50 mL) and a black precipitate can be isolated by filtration. This black cake is washed with water and treated with the minimum amount of DMF (1-2 mL) to be filtered again to yield a yellow solution. After addition of water (20 mL), the solid appeared can be recovered by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford the heterocoupling product.

#### 2.5.1.1. 4-amino-2-(biphenyl-4-ylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one 35{1,21}



As above but using phenylboronic acid to afford 77 mg (0.232 mmol, yield 77.6 %) of **35{1,21}**.

mp: >250 °C.

IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3467, 3402, 3196, 2926, 1687, 1637, 1594, 1579, 1542, 1487, 1436, 1373, 1227, 839, 762, 697.

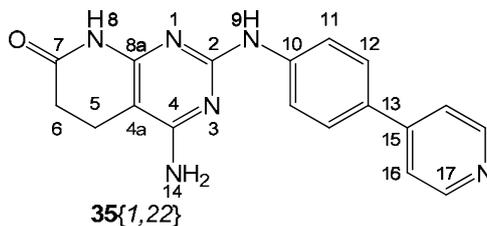
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.06 (s, 1H, H-N8), 8.86 (s, 1H, H-N9), 7.93 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H, H-C11), 7.61 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C16), 7.50 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H, H-C12), 7.42 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C17), 7.28 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H-C18), 6.39 (s, 2H, H-N14), 2.66 – 2.55 (m, 2H, H-C6), 2.53 – 2.46 (m, 2H, H-C5).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.8 (C7), 161.8 (C4), 158.5 (C2), 156.8 (C8a), 141.6 (C10), 140.7 (C15), 132.2 (C13), 129.3 (C12), 126.8 (C17), 126.4 (C16), 119.1 (C11), 86.4 (C4a), 30.9 (C6), 17.7 (C5).

MS (EI)  $m/z$  (%): 331.0 (48) [M]<sup>+</sup>, 261.9 (94.0) [M-NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>+2H]<sup>+</sup>, 254.0 (23.0) [M-Ph]<sup>+</sup>, 182.9 (99.0), 153.9 (100).

HRMS (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O (M)<sup>+</sup>: 331.1433. Found: 331.1438.

2.5.1.2. 4-amino-2-(4-(pyridin-4-yl)phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{1,22}



As above but using 4-pyridinylboronic acid to afford 38 mg (0.114 mmol, yield 38.1 %) of **35**{1,22}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3401, 3287, 3194, 1680, 1637, 1595, 1572, 1435, 1374, 1224, 814, 696, 547.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.07 (s, 1H, H-N8), 9.00 (s, 1H, H-N9), 8.56 (m, 2H, H-C17), 8.00 (m, 2H, H-C11), 7.66 (m, 4H, H-C11, H-C16), 6.42 (s, 2H, H-N14), 2.62 – 2.56 (m, 2H, H-C6), 2.53 – 2.49 (m, 2H, H-C5).

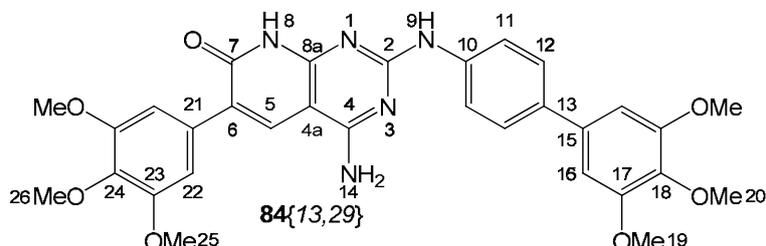
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.1 (C7), 161.2 (C4), 157.7 (C2), 156.2 (C8a), 149.8 (C17), 146.6 (C15), 142.7 (C10), 127.9 (C13), 126.4 (C12), 120.0 (C16), 118.3 (C11), 86.0 (C4a), 30.2 (C6), 17.0 (C5).

**MS** (EI)  $m/z$  (%): 333.1 (32.7) [M+H]<sup>+</sup>, 256.1 (12.6) [M-Py+H]<sup>+</sup>, 154.0 (100).

**HRMS** (EI)  $m/z$  calcd for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>6</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 333.1464. Found: 333.1471.

## 2.5.2. 6-bromo-2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine Suzuki disubstitution

### 2.5.2.1. 4-amino-2-(3',4',5'-trimethoxybiphenyl-4-ylamino)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **84**{13,29}



A dispersion of **84**{7,7} (50 mg, 0.122 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (14 mg, 0.012 mmol), 3,4,5-trimethoxyphenylboronic acid (0.255 mmol) and cesium carbonate (99 mg, 0.304 mmol) in a deoxygenated 5:1 mixture of dioxane and water (5 mL) is sealed in a 7 mL microwave vial and heated at 140 °C under microwave irradiation for 15 min. Then, water is added (50 mL) and a black precipitate can be isolated by filtration. This black cake is washed with water and treated with minimum amount of DMF (1-2 mL) to be filtered again to yield a yellow solution. After addition of water (20 mL), the solid appeared can be recovered by filtration and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford 47 mg (0.080 mmol, yield 65.9 %) of **84**{13,29}. An analytically pure sample can be obtained by chromatographic purification using gradient mixtures of ethyl acetate and cyclohexane.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3350, 2933, 1632, 1604, 1555, 1532, 1500, 1468, 1442, 1336, 1242, 1124, 1008, 818.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 11.91 (s, 1H, H-N8), 9.48 (s, 1H, H-N9), 8.32 (s, 1H, H-C5), 8.07 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H-C11), 7.62 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H-C12), 7.53 (br s, 2H, H-N14), 7.18 (s, 2H, H-C22), 6.93 (s, 2H, H-C16), 3.93 (s, 6H, H-C19), 3.90 (s, 6H, H-C25), 3.76 (s, 3H, H-C26), 3.75 (s, 3H, H-C20).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 162.6 (C8a), 161.1 (C7), 159.1 (C2), 155.1 (C4), 153.2 (C17), 152.3 (C23), 140.1 (C10), 136.9 (C24), 136.6 (C18), 136.0 (C13), 133.2 (C15), 132.5 (C5), 132.1 (C21), 126.6 (C12), 123.8 (C6), 119.6 (C11), 106.0 (C22), 103.6 (C16), 92.0 (C4a), 60.1 (C20, C26), 60.0 (C20, C26), 56.0 (C19, C25), 55.9 (C19, C25).

**MS** (ESI-TOF)  $m/z$  (%): 586.2291 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 523.2223 (32.3) [M-2OMe+H]<sup>+</sup>, 441.2988 (39.7).

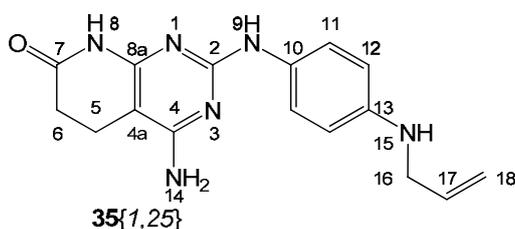
**HRMS** (ESI-TOF)  $m/z$  calcd for C<sub>31</sub>H<sub>32</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> (M+H)<sup>+</sup>: 586.2296. Found: 586.2291.

## 2.6. Ullmann heterocouplings catalyzed by copper (I)

### 2.6.1. Amine substitutions of 2-(4-bromophenylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidine 35{1,7}

A dispersion of **35{1,7}** (100 mg, 0.299 mmol), copper (I) iodide (57 mg, 0.299 mmol), cesium carbonate (195 mg, 0.598 mmol), *L*-proline (69 mg, 0.599 mmol), amine (3.00 mmol) in deoxygenated DMSO (2 mL) is heated at 70 °C for 24 hours under nitrogen atmosphere. Then, the reaction crude is diluted with concentrated aqueous ammonia solution (50 mL) and stirred (even with ultrasounds) at room temperature for 1 hour. A black or grey precipitate is obtained which is isolated by filtration. This cake is treated again with concentrated aqueous ammonia solution (50 mL) for 1 h. The white solid obtained can be filtered and washed with water, ethanol and diethyl ether to afford the heterocoupling product. An analytically pure sample can be obtained by treatment with concentrated aqueous ammonia solution (50 mL) followed by treatment with glacial acetic acid (50 mL).

#### 2.6.1.1. 2-(4-(allylamino)phenylamino)-4-amino-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one 35{1,25}



As above but using allylamine to afford 81 mg (0.261 mmol, yield 87.3 %) of **35{1,25}**.

**mp:** >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3462, 3269, 2924, 1684, 1637, 1574, 1542, 1518, 1436, 1375, 1324, 1253, 1226, 831, 779.

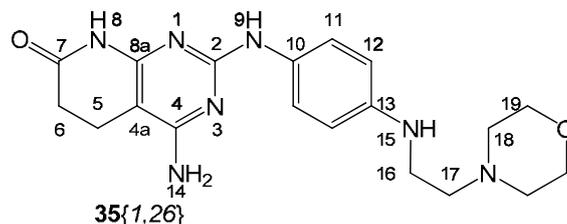
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.10 (s, 1H, H-N8), 8.30 (s, 1H, H-N9), 7.44 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H-C11), 6.47 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H-C12), 6.25 (s, 2H, H-N14), 5.89 (m, 1H, H-C17), 5.36 (s, 1H, H-N15), 5.23 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H, H-C18), 5.09 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, H-C18), 3.63 (m, 2H, H-C16), 2.58 – 2.50 (m, 2H, H-C6), 2.53 – 2.45 (m, 2H, H-C5).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 171.7 (C7), 161.4 (C4), 158.5 (C2), 156.3 (C8a), 143.4 (C13), 136.7 (C17), 130.9 (C10), 120.7 (C11), 115.1 (C18), 112.3 (C12), 84.7 (C4a), 46.0 (C16), 30.6 (C6), 17.2 (C5).

**MS** (FAB) *m/z* (%): 311.2 (37.8) [M+H]<sup>+</sup>, 278.2 (24.7), 231.0 (66.8), 154.0 (95.8), 137.0 (100).

**HRMS** (FAB) *m/z* calcd for C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 311.1620. Found: 311.1610.

2.6.1.2. 4-amino-2-(4-(2-morpholinoethylamino)phenylamino)-5,6-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one **35**{1,26}



As above but using 2-morpholinoethanamine to afford 102 mg (0.266 mmol, yield 88.9 %) of **35**{1,26}.

**mp**: >250 °C.

**IR** (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3464, 3271, 2921, 1680, 1636, 1571, 1544, 1519, 1432, 1376, 1323, 1251, 1221, 711.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 10.07 (s, 1H, H-N8), 8.28 (s, 1H, H-N9), 7.43 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H, H-C11), 6.46 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H, H-C12), 6.23 (s, 2H, H-N14), 4.92 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H, H-N15), 3.61 – 3.54 (m, 4H, H-C19), 3.45 – 3.38 (m, 2H, H-C16), 3.10 – 3.03 (m, 2H, H-C17), 2.57 – 2.49 (m, 2H, H-C6), 2.47 – 2.42 (m, 2H, H-C5), 2.38 (m, 4H, H-C18).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 172.1 (C7), 161.8 (C4), 158.9 (C2), 156.8 (C8a), 143.9 (C13), 131.4 (C10), 121.2 (C11), 112.6 (C12), 85.2 (C4a), 66.6 (C19), 56.5 (C16), 53.9 (C18), 41.1 (C17), 31.0 (C6), 17.6 (C5).

**MS** (FAB)  $m/z$  (%): 384.2 (5.3) [M+H]<sup>+</sup>, 309.0 (14.8), 278.1 (21.5), 231.0 (65.7), 154.0 (96.6), 137.0 (100).

**HRMS** (FAB)  $m/z$  calcd for C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup>: 384.2148. Found: 384.2150.

