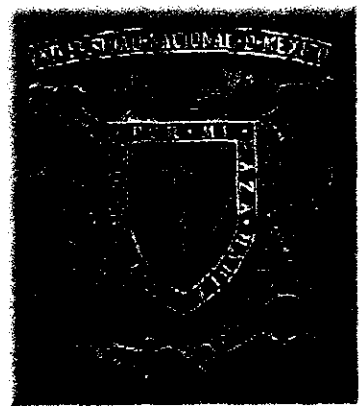


Lej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



“Síntesis y espectroscopía de derivados de la
2-[(o-; p-R₂)-aminofenil]-3H-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-
1,4-benzodiazepina”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A:
RAUL SALAZAR FRANCO

MEXICO, D.F.



1999

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

796/10



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dr. Eduardo Cortés Cortés
Vocal: M. en C. José Manuel Méndez Stivalet
Secretario: Q. Fernando León Cedeño
1er Suplente: M. en C. Blas Flores Pérez
2do Suplente: Dra. Araceli Patricia Peña Alvarez

Sitio donde se desarrollo el tema:

Instituto de Química, UNAM

Asesor del tema:


Dr. Eduardo Cortés Cortés

Sustentante:


Raúl Salazar Franco

La presente tesis se realizó en el área de investigación de Síntesis Orgánica Heterocíclica y Espectrometría de Masas del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. en Química Orgánica Eduardo Cortés Cortés, con el apoyo del Programa de Becas para Tesis de Licenciatura en Proyectos de Investigación (PROBETEL).

A los mejores maestros y
amigos que he tenido:

Raúl y Velia

A los niños que me gustaría ser:

Arian y Christian

AGRADECIMIENTOS

A Fernando, Gabriel, Iram, Manuel y Ramón: "mis amigos con los que jugué..." Por todo lo que me han enseñado a través de los años ya que su ejemplo me ha hecho una persona mucho más digna, mucho más humana. Quiero agradecerles muy sinceramente el ser siempre una gran motivación, el ponerle "color y sabor" a todo momento y, sobre todo, su inmensurable amistad, la cual espero conservar por siempre.

A Andrés por soportar todas mis "calamidades" y brindarme su apoyo incondicional bajo cualquier circunstancia. Gracias por ser siempre una alternativa para todo.

A Dulce, Estela y Rafael no solo por formar un gran equipo de trabajo, ni tampoco por estar a mi lado en algunos de los momentos más gratos de mi vida; sino por todo el respaldo y cariño que me han brindado a lo largo de cinco años de amistad. La conclusión de este trabajo se debe en gran parte a ustedes, así que es suyo también.

Al Dr. Eduardo Cortés por darme, más que la asesoría y apoyo para la realización de esta tesis, su amistad y confianza.

A mis compañeros del Laboratorio 1-2 del Instituto de Química: Ana Ma., Conchita, la Dra. Oli, Hugo, Isidro, Joel, Ma. Paz, Omar y Yazmín quienes se convirtieron en mi segunda familia durante el último año.

A Ana Lilia, Anel, Greys, Kenia, Marina, Max y Víctor por todos los buenos ratos, su singular amistad y la ayuda brindada durante el tiempo que compartimos juntos en la escuela.

A Liliana por la incontable cantidad de "daños irreversibles" que me han causado sus "terapias".

A los maestros José Manuel Méndez Stivalet y Fernando León Cedeño por sus acertadas observaciones para mejorar la calidad de este trabajo.

A los profesores Jesús Guadarrama y Guillermo Barraza (dondequiera que se encuentren) por mostrarme el maravilloso camino que me ha traído hasta aquí.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Reseña histórica sobre las benzodiazepinas	4
2.2 Nuevos horizontes en el campo de las benzodiazepinas	12
3. METODOS ESPECTROSCOPICOS	14
3.1 Generalidades	15
3.2 Espectroscopia de Infrarrojo	17
3.3 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	18
3.4 RMN 2D	20
3.5 Espectrometría de masas	23
4. OBJETIVOS	26
5. PARTE EXPERIMENTAL	28
5.1 Ruta de Síntesis	29
5.2 Metodología experimental	32
6. RESULTADOS	38
6.1 Rendimientos y características físicas	39
6.2 Espectroscopia de IR	40
6.3 RMN ^1H y ^{13}C	41
6.4 Espectrometría de masas	49
6.5 Rayos X	66
7. CONCLUSIONES	68
8. APENDICE (Sección de espectros)	72
9. REFERENCIAS	103

INTRODUCCION

Actualmente, uno de los principales problemas de las grandes ciudades es la tensión a la que están sometidos todos sus habitantes. El continuo vaivén a través de las calles congestionadas, el tráfico excesivo, así como las presiones económicas y familiares han favorecido el incremento de padecimientos tales como la depresión, manía y ansiedad.

Las benzodiazepinas son los medicamentos que más se prescriben en estos tiempos para el tratamiento de las enfermedades antes mencionadas, y sus nombres comerciales seguramente son familiares a una gran parte de la población: Librium® (clorodiazepóxido), Valium® (diazepam) y Mogadón® (nitrazepam), entre otros. Estas sustancias producen una gran variedad de efectos, que incluyen la sedación, el sueño, disminución de la ansiedad, relajación muscular y actividad anticonvulsiva. A pesar de que todas las benzodiazepinas tienen acciones similares, existen diferencias en la selectividad con la que cada una de ellas produce alguno de los efectos anteriores. Por lo mismo su uso clínico varía.

Uno de los inconvenientes que presentan este tipo de medicamentos es que solo pueden ser utilizados por periodos cortos, pues el uso prolongado de las benzodiazepinas induce tolerancia. Por otra parte, al suspender el fármaco, el paciente es víctima de los denominados "fenómenos de rebote". Estos consisten en insomnio, inquietud, mareo, náusea, dolor abdominal, sudoración, hipersensibilidad a la luz y al sonido, dolor de cabeza y contracciones musculares involuntarias.

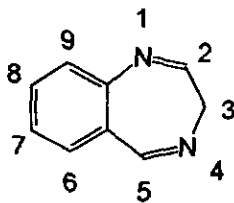
Tomando en cuenta la gran importancia que tienen este tipo de fármacos a nivel clínico, resulta de gran interés el desarrollo de nuevos compuestos con actividad farmacológica y que presenten menores efectos adversos. Por lo anterior, en el presente trabajo de tesis se presenta una nueva ruta de síntesis para la obtención de derivados de la 2-[(o-; p-R₂)-aminofenil]-3H-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, no descritos en la literatura, con posible actividad sobre el sistema nervioso central; así como su caracterización por Espectrometría de Masas, RMN e IR.

ANTECEDENTES

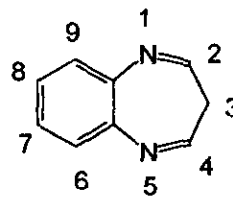
2.1 RESEÑA HISTORICA DE LAS BENZODIAZEPINAS

Las benzodiazepinas son el ingrediente activo de una gran serie de fármacos que tienen actividad sobre el Sistema Nervioso Central (SNC). Son compuestos heterocíclicos que están constituidos por un anillo bencénico fusionado con una diazepina (anillo de siete miembros que contiene dos nitrógenos).

La posición relativa de los átomos de nitrógeno en el anillo diazepínico da la posibilidad de formar diferentes series de compuestos. De estas, las más importantes son las 1,4-benzodiazepinas (1) y las 1,5-benzodiazepinas (2), siendo las primeras las que han dominado el mercado debido a su gran actividad farmacológica.¹



(1)

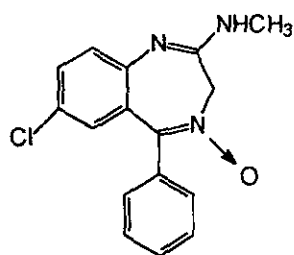


(2)

La historia de las benzodiazepinas se remonta a mediados de la década de 1950 cuando los tranquilizantes, una nueva clase de agentes terapéuticos, empezó a tener un considerable valor clínico. Entonces, los laboratorios Hoffman-La Roche, con Leo H. Sternbach a la cabeza, decidieron emprender un programa para llevar a cabo la síntesis de este tipo de productos.

Luego de varios de años de intenso trabajo (y un poco de suerte) el grupo de investigación vio coronado su esfuerzo. En 1957 recibieron la noticia de que uno de los compuestos que habían enviado a evaluación farmacológica tenía propiedades muy superiores a los tranquilizantes conocidos hasta entonces.

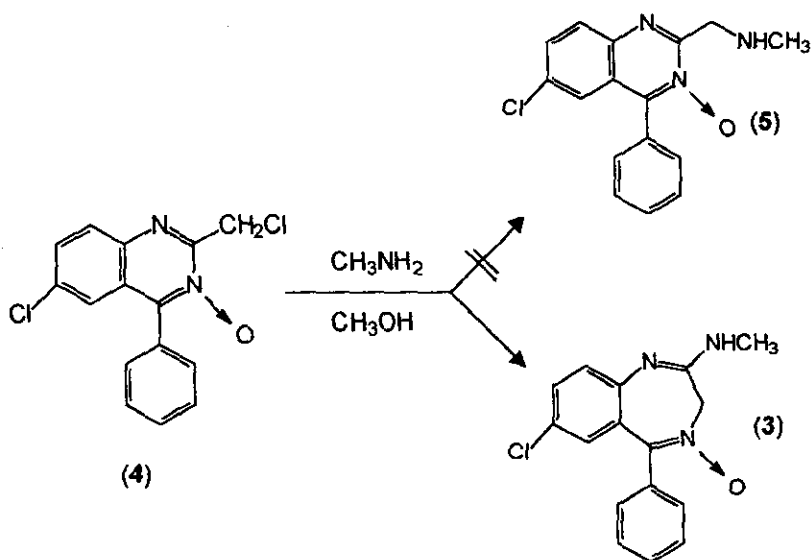
Este nuevo compuesto, de nombre genérico clordiazepóxido, es el ingrediente activo del "Librium"⁽³⁾, el cual salió al mercado en 1960 y es utilizado por miles de pacientes.²



(3)

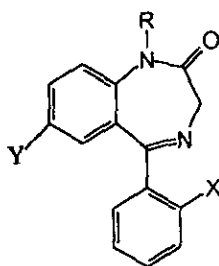
"Librium"
(clordiazepóxido)

La síntesis del clordiazepóxido se llevó a cabo por casualidad a través de la transformación de un quinazolin-3-óxido (4) en un benzodiazepin-3-óxido (3), siendo que el compuesto esperado era un quinazolin-3-óxido (5).



La nueva clase de compuestos era fácil de sintetizar, permitía llevar a cabo un gran número de variaciones y transformaciones en su estructura básica, tenía perspectivas farmacológicas y era un área relativamente poco explorada.

Tan pronto como apareció la patente del "Librium", otros centros de investigación comenzaron la síntesis de derivados benzodiazepínicos. La gran cantidad de productos obtenidos³⁻⁸ permitió hacer estudios serios para establecer relación estructura-actividad. Con base en estas investigaciones se logró establecer que compuestos con estructuras semejantes al compuesto benzodiazepínico (6) presentaban un alto grado de actividad farmacológica: grupos electroattractores en la posición 7; un grupo metilo en la posición 1 y grupos fenilo orto-sustituidos con halógenos incrementan la actividad; mientras que cualquier otro sustituyente en alguna posición diferente a las mencionadas disminuía la actividad



X= halógeno

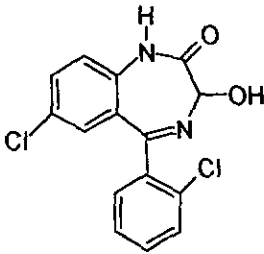
Y= grupo electrotractor

R= -CH₃

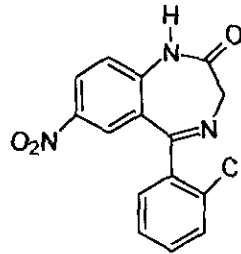
(6)

Estas "reglas" fueron guías esenciales para el curso de estudios posteriores.

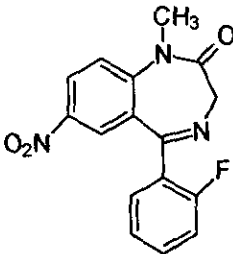
Algunos ejemplos de benzodiazepinas que actualmente son utilizadas en los Estados Unidos y México⁹ y que presentan este tipo de estructura son el Lorazepam (7), Clonazepam (8), Flunitrazepam (9) y Diazepam (10). Este último es conocido también con el nombre de Valium y resultó ser de 3 a 10 veces más potente que el clordiazepóxido, reconociéndosele una toxicidad relativamente baja, además de poseer actividad terapéutica anticonvulsiva.



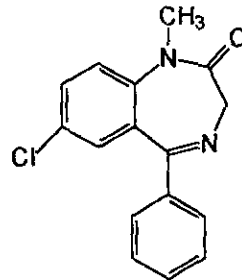
Lorazepam
anticonvulsivo
(7)



Clonazepam
hipnótico
(8)

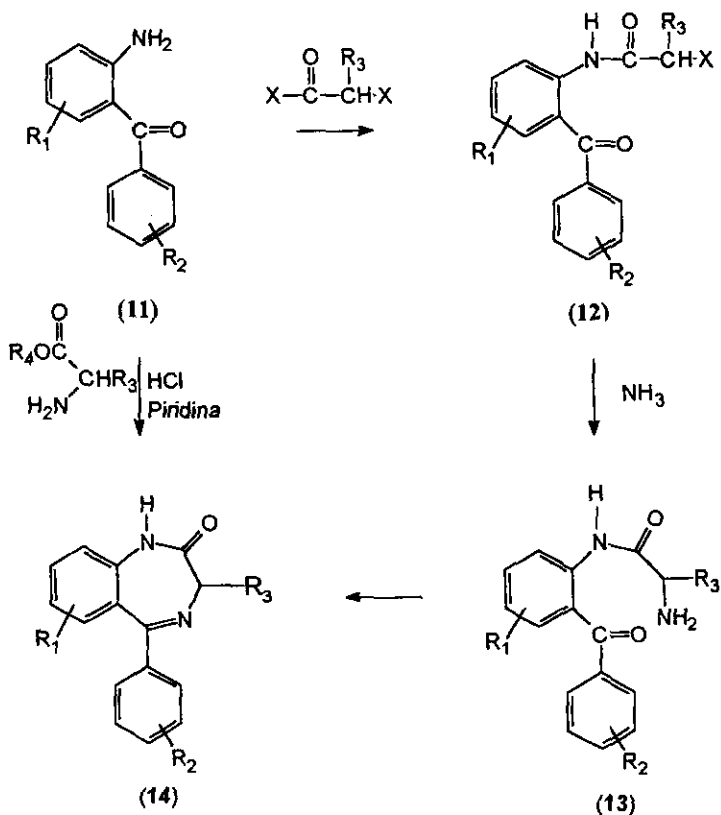


Flunitrazepam
hipnótico
(9)

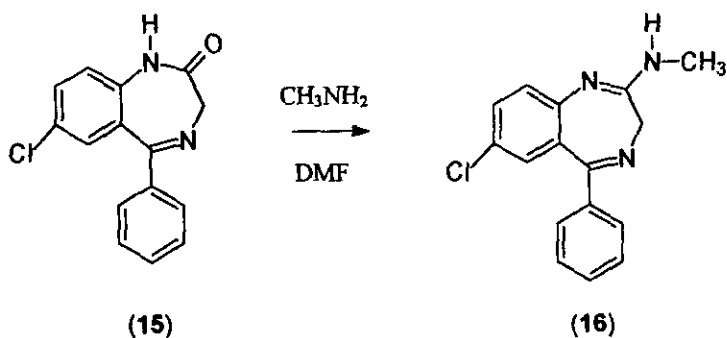


Diazepam
ansiolítico, hipnótico
relajante muscular y
sedante
(10)

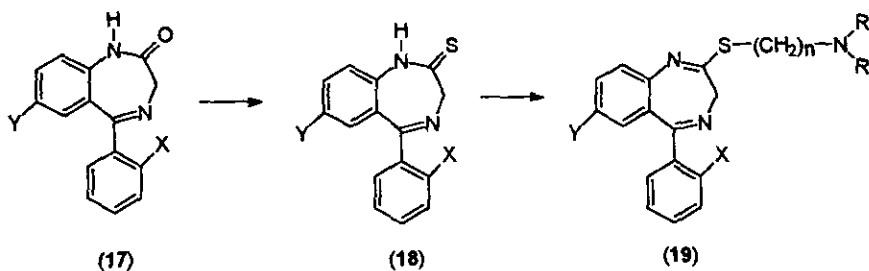
Estas 1,4-benzodiazepin-2-onas fueron sintetizadas principalmente por dos métodos⁶, usando en ambos casos o-aminobenzofenonas como materias primas. El tratamiento de una aminobenzofenona sustituida (11), con un halogenuro de α -haloacilo formó el compuesto (12) que al reaccionar con amoníaco dio origen a la benzodiazepina (14) via el aminoderivado (13). El otro método involucró el tratamiento de una aminobenzofenona (11) con el clorhidrato de éster de un α -aminoácido en piridina para formar directamente el derivado (14). El método multietapas dio mejores rendimientos, pero el segundo método fue ideal para preparar benzodiazepinas con sustituyentes en la posición 3, dado que estaban comercialmente disponibles muchos α -aminoácidos con gran variedad de sustituyentes en el carbono α .



Síntesis posteriores se orientaron a variar los sustituyentes del anillo diazepínico. Fryer¹⁰ a partir de la 7-cloro-1,3-dihidro-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona (15) en dimetilformamida con una amina primaria obtuvo la 7-cloro-2-metilamina-5-fenil-1,4-benzodiazepina (16).

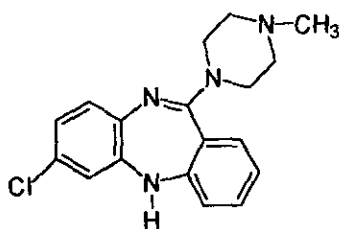


Matsuo¹¹ a partir de una 1,4-benzodiazepin-2-ona (17), sintetizó 2-(tiometilaminoetil)-1,4-benzodiazepinas (19) via benzodiazepin-2-tionas (18).



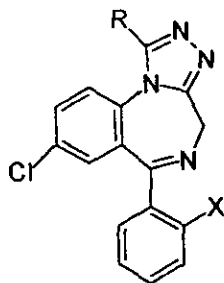
Si bien las 1,4-benzodiazepinas eran potentes agentes sobre el sistema nervioso central, tenían el inconveniente de no poder ser suministradas por tiempos prolongados ya que producían efectos secundarios en los pacientes que las consumían.

Para superar este problema, una de las muchas modificaciones estructurales que se llevaron a cabo sobre las 1,4-benzodiazepinas fue el cambio de posición de uno de los átomos de nitrógeno del anillo diazepínico a un carbono adyacente al anillo bencénico para formar las 1,5-benzodiazepinas. Los nuevos compuestos presentaron menos efectos colaterales, pero se necesitaba una dosis mucho mayor a la de las 1,4-benzodiazepinas para producir el efecto deseado. El fármaco más representativo de esta serie es la Clozapina (20).

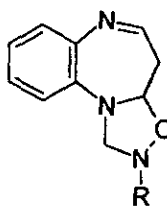


(20)

Investigaciones ulteriores, se dirigieron a la síntesis de 1,4 y 1,5-benzodiazepinas con anillos heterocíclicos fusionados a diferentes caras del sistema heptatómico.¹²⁻¹⁴ De este tipo de sistemas, los más interesantes resultaron ser las triazolobenzodiazepinas¹⁵ (21), las cuales fueron generalmente más potentes que las correspondientes 1-metilbenzodiazepinonas, y las oxadiazolo-1,5-benzodiazepinas¹⁶ (22), que presentaron actividades similares a las benzodiazepinas de las cuales provienen.



(21)



(22)

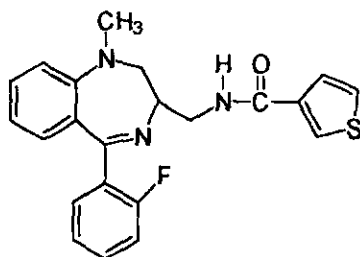
En años recientes, E. Cortés ha reportado nuevas series de compuestos benzodiazepínicos con posible actividad farmacológica sobre el sistema nervioso central.¹⁷⁻²³ Entre ellas destacan benzodiazepinas con anillos fusionados a diferentes caras del anillo diazepínico, el uso de una gran variedad de sustituyentes así como la combinación de estructuras con diferentes actividades farmacológicas.

Cabe señalar que este grupo de investigación no solo ha puesto sus esfuerzos en la síntesis de numerosos derivados, sino también en la caracterización de los mismos, especialmente en el área de Espectrometría de Masas y RMN.

2.2 Nuevos horizontes en el campo de las benzodiazepinas.

A pesar de que hoy en día el mayor número de publicaciones sobre benzodiazepinas todavía están relacionadas con su actividad sobre el sistema nervioso central,²⁴⁻³⁵ el campo de aplicación de estos fármacos se ha extendido más allá de sus propiedades tradicionales como ansiolíticos, anticonvulsivos, relajantes musculares y sedantes.

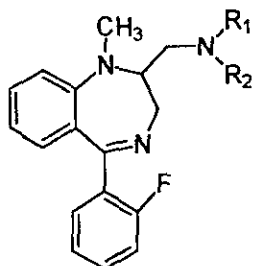
Actualmente se sabe que los ligantes de los receptores endógenos de las benzodiazepinas son de carácter peptídico y se ha descubierto que ciertas modificaciones en la estructura base producen ligantes específicos para otros receptores peptídicos. Por ejemplo, la benzodiazepina 2-sustituida Tifluadom (23), es un potente agonista del κ -opioato y un antagonista de muy baja afinidad de la colecistoquinina (CCK), hormonas peptídicas estructuralmente relacionadas que intervienen en procesos del tracto gastrointestinal y el sistema nervioso central.³⁶



(23)

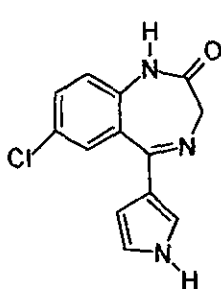
Debido a que este tipo de compuestos tiene una potencial aplicación en el tratamiento de pancreatitis, enfermedades ocasionadas por úlceras, desórdenes gástricos y regulación del dolor producido por ciertos tumores, se ha puesto especial atención en ellos.

Al respecto, Bock³⁷ ha reportado la síntesis y evaluación de 2-aminometil-1,4-benzodiazepinas (24), las cuales resultaron ser buenas para la inhibición de la CCK.

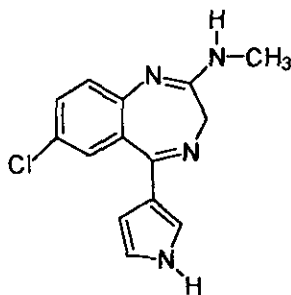


(24)

Otras benzodiazepinas que últimamente han recibido especial interés, son aquellas con estructuras semejantes a los compuestos (25) y (26). Estos últimos son antagonistas de la VIH-tat y actualmente están siendo evaluadas en terapias para el tratamiento del SIDA.³⁸⁻⁴¹



(25)



(26)

**METODOS
ESPECTROSCOPICOS**

3.1 Generalidades

La espectroscopia es la medición e interpretación de la radiación electromagnética absorbida o emitida cuando las moléculas, átomos o iones de una muestra se desplazan de un estado energético permisible a otro.⁴²

La radiación electromagnética es una forma de energía que se mueve a través del vacío a una velocidad de 3×10^8 m/s. De acuerdo con la teoría ondulatoria, la radiación electromagnética es una onda electromagnética, es decir, un campo eléctrico y magnético oscilante que puede ser descrita por su longitud de onda (λ), su frecuencia (ν) y su número de onda ($\bar{\nu}$).

Las ondas electromagnéticas cubren un intervalo enorme de longitudes de onda y frecuencia. Las hay desde aquellas con λ de varios kilómetros hasta aquellas con λ del orden de picómetros (10^{-12} m). Debido a este amplio espectro de radiaciones y a las diferentes aplicaciones de acuerdo con sus frecuencias, se acostumbra clasificar a las ondas electromagnéticas en varios grupos. La división entre cada grupo no es del todo precisa y cambia ligeramente de texto a texto. A continuación se presenta una clasificación de las más usuales:

- a) **Ondas de radiofrecuencia:** Tienen longitudes de onda desde varios kilómetros hasta 0.3m. Sus frecuencias van desde unos cuantos kHz hasta 10^9 Hz. Estas ondas son generadas electrónicamente mediante circuitos donde oscila una corriente.

- b) **Microondas:** Tienen un intervalo de λ entre 0.3m - 10^{-3} m y una frecuencia que va de 10^9 Hz a 3×10^{11} Hz. Se emplean en radares y otras formas de telecomunicaciones. Permiten el estudio de movimiento rotacional de moléculas.

- c) **Infrarrojo:** Estas ondas son producidas por cuerpos calientes. Permiten el estudio de los movimientos vibracionales de las moléculas. Su intervalo de λ es de 10^{-3}m a $7.8 \times 10^{-7}\text{m}$ y su frecuencia de 3×10^{11} a $4 \times 10^{14}\text{Hz}$.

- d) **Visible:** Lo constituye la radiación dentro de un pequeño intervalo de longitudes de onda ($7.8 \times 10^{-7}\text{m}$ a $3.8 \times 10^{-7}\text{m}$), las que pueden ser detectadas por la retina humana.

- e) **Ultravioleta:** Las descargas eléctricas producidas sobre átomos o moléculas son una fuente de esta radiación. Permite el estudio de las transiciones electrónicas de energía media en sistemas atómicos o moleculares. Su intervalo de λ es de 3.8×10^{-7} a alrededor de 10^{-9}m y su intervalo de frecuencia va de $8 \times 10^{14}\text{Hz}$ a $3 \times 10^{17}\text{Hz}$.

- f) **Rayos X:** El intervalo de λ de esta radiación es desde aproximadamente 10^{-9}m hasta alrededor de $6 \times 10^{-12}\text{m}$ y su frecuencia se encuentra comprendida entre $3 \times 10^{17}\text{Hz}$ y $5 \times 10^{19}\text{Hz}$. Se emplea para obtener distancias interatómicas en sólidos.

- g) **Rayos γ :** En general, se acostumbra definir a esta radiación en un intervalo que se sobrepone al citado para los rayos X. Son producto de procesos nucleares. La absorción de rayos γ produce excitación y transformaciones en los núcleos.

Por la información que proporcionan para la elucidación de estructuras moleculares, las radiaciones de radiofrecuencia, infrarroja, ultravioleta y los rayos X son las mas comúnmente empleadas.

Los análisis espectroscópicos que de ellas se derivan tienen la ventaja de requerir muy poca cantidad de muestra y, en la mayoría de los casos, si se desea puede recuperarse el compuesto pues son técnicas no destructivas.

3.2 Espectroscopia de Infrarrojo (IR)

Esta técnica se basa en la absorción de energía por los enlaces de las moléculas, pasando de un estado vibracional basal a un estado vibracional excitado, con un cambio neto en el momento dipolar.⁴³

La radiación infrarroja entre $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ es absorbida y convertida por las moléculas orgánicas en vibraciones moleculares. La frecuencia o longitud de onda de una absorción de este tipo depende de la masa relativa de los átomos involucrados, la constante de fuerza y la geometría de los mismos.

Existen dos tipos de vibraciones moleculares: de estiramiento y de flexión. La vibración de estiramiento es un movimiento rítmico a lo largo del eje de enlace, tal que la distancia interatómica aumenta o disminuye. Por otra parte, una vibración de flexión consiste en un cambio del ángulo de enlace entre enlaces que tienen un átomo común o el movimiento de un grupo de átomos con respecto al resto de la molécula sin el movimiento de los átomos presentes en dicho grupo.

Solo aquellas vibraciones que producen un cambio en el momento dipolar de la molécula pueden ser observadas en el infrarrojo. El campo eléctrico alternante, producido por el cambio en la distribución de carga que acompaña a la vibración, acopla la vibración de la molécula con el campo eléctrico oscilante de la radiación electromagnética.

La interacción de la radiación infrarroja con un compuesto se puede expresar en términos de transmitancia (T, relación de radiación transmitida y radiación incidente sobre una muestra) y graficarla en función del número de onda (ν). De esta forma tenemos un espectro de IR que no es más que una gráfica de transmitancia en función del número de onda donde se presentan las bandas de absorción características del compuesto en estudio.

La información que nos proporciona el infrarrojo nos permite saber que grupos funcionales se encuentran dentro de la molécula.

3.3 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La RMN es una técnica espectroscópica que se basa en el cambio de orientación del momento magnético nuclear.

El núcleo de ciertos isótopos naturales de la mayoría de los elementos posee un momento angular intrínseco o spin (I). Este tiene un valor numérico que puede ser entero o fraccional, dependiendo del isótopo. Ya que I está cuantizado, solo algunos valores discretos del mismo podrán ser observables y sus magnitudes están dadas por $\hbar m$, donde el número cuántico m puede tomar valores $I, I-1, I-2, \dots, -I$. De esta manera, tenemos que hay $2I + 1$ estados de spin igualmente espaciados para un núcleo con número cuántico de momento angular I .⁴⁴

Un núcleo con spin también tiene un momento magnético asociado (μ). Para cualquier isótopo, la relación entre el momento angular y el momento magnético tiene un valor constante que es llamado relación giromagnética (γ): $\gamma = \mu / \hbar$.

En ausencia de un campo magnético externo todos los estados de spin tienen la misma energía potencial, pero cuando un campo magnético externo es aplicado toman valores diferentes.

El origen de la técnica de RMN radica en esta diferencia de energía.

Si colocamos un núcleo dentro de un campo magnético B_0 , este puede tomar $2I + 1$ orientaciones, cada una con diferente energía potencial y diferente ángulo θ con respecto a la dirección del campo magnético aplicado.

Aplicando todo lo anterior al análisis de núcleos con $I = 1/2$, tales como ^1H , ^{13}C y ^{19}F , se pueden definir dos estados energéticos diferentes asociados a la probabilidad de orientación dentro del campo magnético. La diferencia de energía entre los dos niveles es constante e igual a $\mu B_0 / I$.

La energía de un núcleo de momento magnético μ dentro del campo magnético B_0 , es $\mu_z B_0$ donde μ_z es la componente de μ en la dirección del campo.

La presencia de esta serie de estados de diferente energía en el sistema atómico da origen a una situación en la cual la interacción del sistema con radiación electromagnética de la frecuencia correcta puede causar una transición entre los diferentes estados de energía.

La frecuencia se puede calcular a partir de la relación de Bohr:

$$h\nu = \Delta E; \text{ donde } \Delta E \text{ es la energía de separación}$$

$$\text{Para RMN } h\nu = \mu B_0 / I$$

La expresión anterior es normalmente escrita en términos de la relación giromagnética, quedando:

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi$$

Un núcleo presenta resonancia cuando interactúa con radiación electromagnética cuya frecuencia es igual a la diferencia de energía entre los diferentes estados de spin.

De acuerdo con la última ecuación, es posible observar que la frecuencia a la cual se presentará la transición entre niveles energéticos depende del campo magnético aplicado y de la naturaleza del núcleo.

La población de núcleos en cada nivel de energía puede ser calculada a partir de la ecuación de Boltzmann:

$$N_u/N_l = 1 - 2\mu B_0 / kT; \text{ donde } k \text{ es la constante de Boltzmann}$$

y T la temperatura absoluta

Ya que existe un ligero exceso de núcleos alineados con el campo B_0 , el sistema puede absorber energía, igualando la población en ambos estados y, posteriormente, regresar a la condición inicial disipando la energía absorbida, a través de un mecanismo conocido como relajación.

Como resultado del proceso anteriormente descrito, el registrador del espectrómetro imprime una gráfica de absorción en función de la frecuencia, denominada espectro de RMN.

El diferente entorno electrónico de los núcleos provoca que no todos presenten resonancia a la misma frecuencia. Este hecho permite que la técnica de RMN sea útil para diferenciar los núcleos que están presentes dentro de una molécula determinada.

Bajo un campo magnético aplicado, los electrones circulan girando una corriente diamagnética, la cual genera un campo magnético que se opone al campo magnético aplicado. El campo inducido por el flujo de electrones disminuye el campo magnético neto que experimenta el núcleo. Por lo anterior, un núcleo rodeado de alta densidad electrónica experimenta un campo magnético neto menor y absorbe radiación de menor frecuencia.

3.4 RMN 2D

La espectroscopia de RMN bidimensional (RMN 2-D) es actualmente una de las herramientas más importantes para la elucidación estructural de moléculas complejas. Gracias al notable desarrollo en los magnetos utilizados para los dispositivos de RMN (arriba de 600MHz), electrónica y programas de cómputo, son posibles varios experimentos y nuevas variantes se desarrollan continuamente.

La designación bidimensional en RMN no se refiere a coordenadas cartesianas, sino al número de ejes de frecuencia presentes en el espectro final. Este tipo de espectros se presentan como una especie de mapas de relieve de contorno. La gráfica puede contener o no los datos presentes en la representación unidimensional pero tendrá, adicionalmente, correlaciones entre varias partes del sistema de spin examinado tales como acoplamiento spin-spin o proximidad espacial, lo cual permitirá establecer conectividades entre diferentes núcleos.⁴³

Para el esclarecimiento estructural de la mayoría de los compuestos orgánicos, las conectividades más importantes de establecer son los acoplamientos ^1H - ^1H , ^1H - ^{13}C y proximidad espacial ^1H - ^1H .

Algunos de los experimentos utilizados para establecer las relaciones anteriores son el **COSY** (Correlated Spectroscopy), **APT** (Attached Proton Test), **DEPT** (Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer), **HETCOR** (Heteronuclear Correlation), **NOESY** (Nuclear Overhauser and Exchange Spectroscopy) y **HMBC** (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation).

COSY

El experimento COSY básico da como resultado un espectro bidimensional a partir del cual casi todas las conectividades ^1H - ^1H pueden ser determinadas. El espectro de ^1H aparece a lo largo de una diagonal que va generalmente de la parte inferior izquierda al extremo superior derecho y está representado por contornos de relieve. Los contornos que se encuentran fuera de la diagonal son denominados contornos de intersección. Una línea horizontal dibujada desde un contorno de intersección intercepta un contorno sobre la diagonal y, una línea vertical desde el mismo, interceptará otro contorno con el cual el primero está correlacionado, esto es, acoplado.

Por supuesto, los protones no se encuentran unidos tal como lo están los átomos de carbono, sin embargo el acoplamiento ^1H - ^1H es útil para visualizar la relación de los átomos de carbono a los cuales los átomos de hidrógeno están unidos.

APT y DEPT

Los espectros de APT y DEPT (unidimensionales) nos proporcionan información, en un espectro de ^{13}C , del número de átomos de hidrógeno unidos a cada átomo de carbono, sin sobreposición o problemas de distorsión.

El APT es menos sensible que el DEPT pues no puede distinguir entre CH_3 - y CH o $-\text{CH}_2$ - y carbonos cuaternarios, sin embargo, en ocasiones, esta información es suficiente. Por otra parte, los carbonos cuaternarios no dan señal cuando se utiliza la

técnica DEPT, no obstante, estos son obvios una vez que se han identificado los carbonos primarios, secundarios y terciarios en el espectro normal de ^{13}C .

HETCOR

Este experimento va más allá del APT y el DEPT ya que permite correlacionar las señales del espectro de ^1H con las del espectro de ^{13}C , haciendo posible la determinación de los átomos de hidrógeno específicos que se encuentran unidos a cada átomo de carbono. El espectro de ^1H se presenta normalmente sobre un eje vertical mientras que el espectro de ^{13}C sobre el eje horizontal. La correlación ^1H - ^{13}C se muestra en la gráfica como una señal de contornos en la cual se interceptan una línea que se traza desde la señal de un protón o multiplete con una línea vertical dibujada desde un pico de ^{13}C .

NOESY

Es posible observar en un espectro llamado NOESY todas las relaciones espaciales ^1H - ^1H dentro de una molécula. Este espectro, al igual que el COSY, está representado por contornos sobre una diagonal y fuera de ella, donde los contornos que se encuentran fuera de la diagonal representan interacciones ^1H - ^1H de núcleos cercanos en el espacio. Esta es una poderosa herramienta para resolver problemas de configuraciones y conformaciones en moléculas complejas. El experimento NOESY es sensible para átomos separados alrededor de 4Å.

HMBC

La técnica HMBC es un método sensible para la determinación de conectividad ^1H -heteroátomo a larga distancia (3 enlaces o más). El espectro que se obtiene y la interpretación del mismo es análoga al HETCOR.

Cuando se utiliza el HMBC para el estudio de la relación ^1H - ^{13}C en moléculas grandes que poseen varios carbonos cuaternarios, con esta técnica es posible, por ejemplo, hacer la distinción entre ellos, los cuales mediante otras técnicas son indistinguibles.

Si la molécula en estudio es complicada será necesario llevar a cabo más de uno de los experimentos bidimensionales antes mencionados para poder establecer todas las correlaciones necesarias y, de esta forma, proponer una estructura inequívoca.

3.5 Espectrometría de Masas

La Espectrometría de Masas es una técnica microanalítica que requiere de muy poca cantidad de muestra (del orden de pmol , 10^{-9} mol) para obtener información característica relacionada con el peso molecular y la estructura del compuesto analizado.

Esta técnica se basa en la ionización y fragmentación de una sustancia por medio del bombardeo de electrones de alta energía (70eV) y su posterior separación y registro en función de su relación masa/carga (m/z).

La energía cinética transferida por el haz de electrones a las moléculas del analito puede, en principio, producir un ion molecular (ion formado por la pérdida de un electrón), el cual a su vez puede descomponerse en una variedad de fragmentos cargados positivamente como radicales iónicos ($\bullet+$) y cationes (+).⁴⁶

El patrón de fragmentación resultante junto con el ion molecular constituyen el espectro de masas, el cual es una gráfica de barras donde se presentan valores de abundancia relativa contra valores de m/z (relación masa/carga).

Algunos de los parámetros, en un espectro de masas, que nos proporcionan mayor información para caracterizar un compuesto son los siguientes:

- 1) **Ion molecular:** El ion molecular resulta de la pérdida de un electrón en la molécula. Este ion es el último precursor de todos los fragmentos que componen el espectro de

masas. El pico del ion molecular aparece a un valor m/z numéricamente igual al peso molecular nominal del compuesto.

- 2) **Relación masa/carga:** Esta expresión, generalmente abreviada m/z , es la relación del número de masa (m) de una partícula dada con el número (z) de unidades de carga electrostática (e) portadas por la partícula. Así, m/z es una relación *adimensional*.

- 3) **Pico base:** Se le llama pico base al ion cuya abundancia relativa en el espectro es la mayor, es decir, es el pico más alto en el espectro de masas y arbitrariamente se le da el valor de 100% y la abundancia relativa de todos los demás fragmentos es calculada con respecto a este pico.

- 4) **Abundancia relativa:** Por convención, la abundancia o intensidad relativa de cualquier pico en el espectro de masas es indicado por la ordenada que se encuentra en el lado izquierdo de la gráfica de barras. Por definición la abundancia relativa del pico base es de 100%.

- 5) **Contribución isotópica:** Todos los elementos que presentan formas isotópicas naturales proporcionan contribuciones a los pesos moleculares obteniéndose pequeños picos después del ion molecular en el espectro. Se representan como $M+1$ cuando la contribución es de una unidad de masa, ($M+2$) cuando la contribución es de dos unidades de masa, etc. La abundancia relativa de los isótopos en una molécula o en un fragmento depende de su distribución estadística. Por ejemplo, el átomo de cloro presenta dos formas isotópicas naturales ^{35}Cl y ^{37}Cl , con abundancias de 75.77% y 24.23% respectivamente. De acuerdo con la probabilidad estadística de encontrar un átomo de cloro en la naturaleza, un compuesto que contenga un átomo de cloro presentará un ion isotópico ($M+2$) con una intensidad relativa de 32%.

6) **Patrón de fragmentación:** El patrón de fragmentación de un compuesto es la presentación de todos los fragmentos y sus posibles rutas de fragmentación, por medio del cual se podrá hacer la interpretación de un compuesto semejante o igual.

Además del análisis convencional donde se obtiene el peso molecular nominal de un compuesto, pueden hacerse otro tipo de experimentos que permiten obtener datos adicionales para establecer la estructura de una molécula.

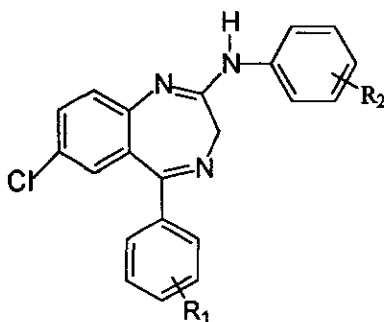
La alta resolución permite, en principio, la determinación de la composición elemental. Una vez que el espectrómetro de masas ha obtenido el peso exacto del compuesto, la computadora asociada a este instrumento busca en su base de datos que combinación de elementos puede producir el peso encontrado. Actualmente la sensibilidad de estos aparatos es del orden de 10^{-4} unidades de masa, por lo que el resultado obtenido por este tipo de análisis es muy confiable.⁴⁷

Por otra parte, se han desarrollado métodos para establecer los patrones de fragmentación. Uno de los más utilizados es el CID (Collision Induced Dissociation) el cual permite conocer el precursor de cada fragmento en el espectro de masas.

Este tipo de análisis se basa en la selección de un ion particular (ion padre, obtenido por el método convencional de impacto electrónico) para posteriormente introducirlo en una segunda celda de ionización y obtener un registro de los fragmentos a los cuales da origen (iones hijo). Si se hace esto repetidamente con los demás fragmentos del espectro de masas puede saberse el precursor de cada fragmento y, si se cuenta con los datos de alta resolución de cada fragmento, puede proponerse un mecanismo de fragmentación inequívoco del compuesto.

OBJETIVOS

1. Desarrollar una ruta de síntesis para la obtención de nuevos derivados de la 2-[(o-; p-R₂)-aminofenil]-3H-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, compuestos con posible actividad farmacológica.



2. Llevar a cabo el estudio completo por espectrometría de masas de alta resolución y Collision Induced Dissociation (CID) para determinar sus patrones y mecanismos de fragmentación para identificar los productos intermedarios y las 1,4-benzodiazepinas finales.
3. Llevar a cabo un estudio completo por Resonancia Magnética Nuclear ¹H y ¹³C bidimensional para la identificación de los productos 1,4-benzodiazepínicos finales.

PARTE

EXPERIMENTAL

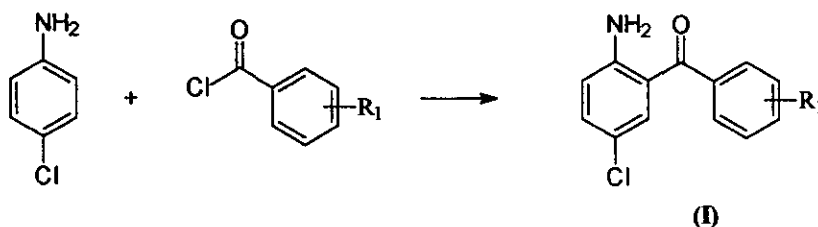
5.1 RUTA DE SÍNTESIS

La síntesis de los derivados de la 2-[(o-, p-R₂)-aminofenil] 3H-5-[(o-, p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina se llevó a cabo por una ruta sintética de seis pasos, utilizando como materias primas para el último paso la 2-tiometil-5-[(o-, p-R₁)-fenil]-7-cloro-3H-1,4-benzodiazepina y las (o-, p-R₂)-anilinas correspondientes.

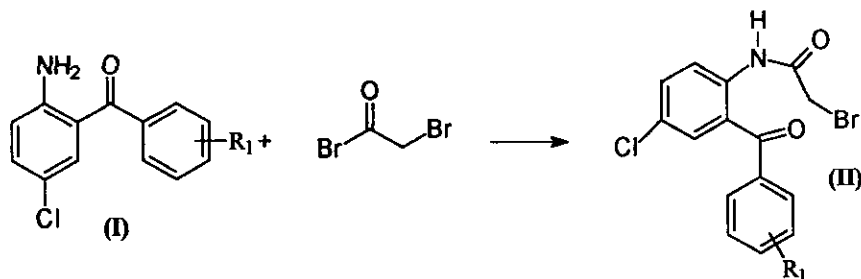
A continuación se describe el método general de síntesis para la obtención de los intermediarios y derivados de la 2-[(o-, p-R₂)-aminofenil]-3H-5-[(o-, p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina.

RUTA GENERAL DE SÍNTESIS

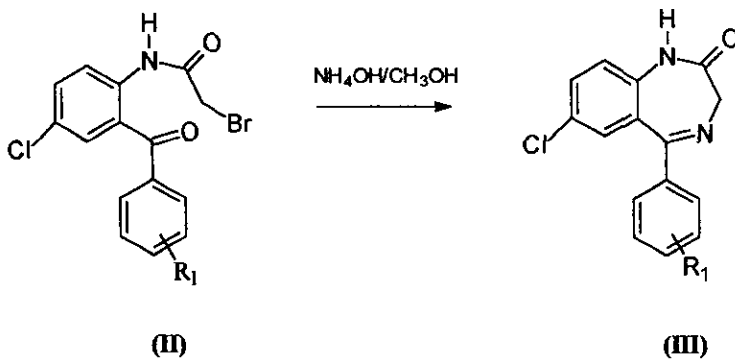
Primer paso:



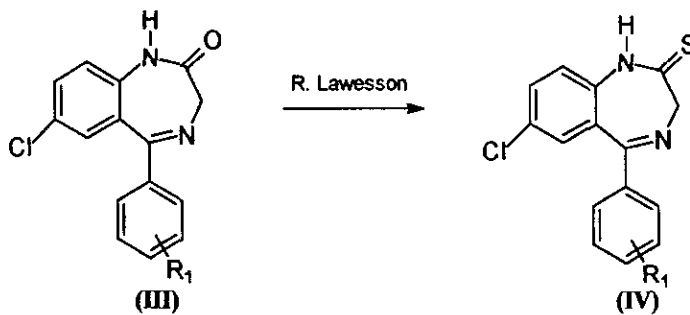
Segundo paso:



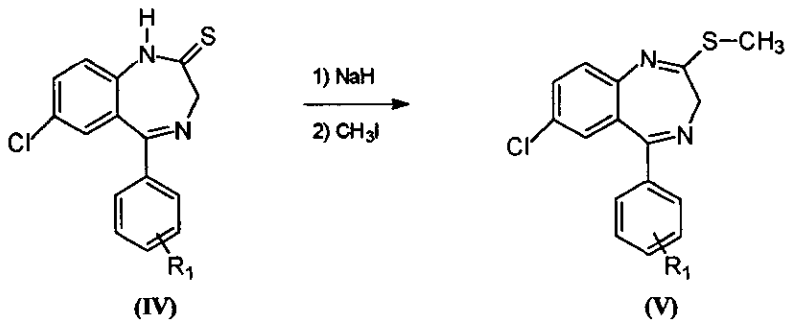
Tercer paso:



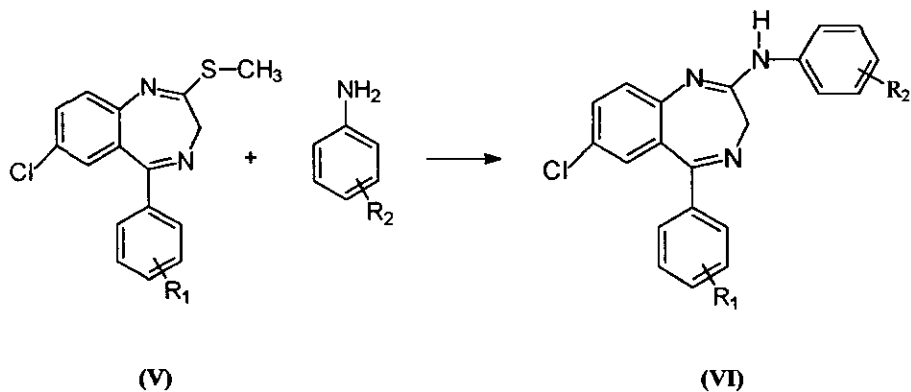
Cuarto paso:



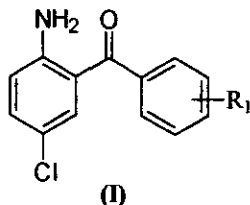
Quinto paso:



Sexto paso:

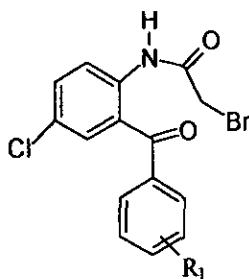


La metodología experimental seguida para la obtención de cada uno de los intermediarios y los productos finales se presenta en la siguiente sección.

Obtención de los derivados de la 2-amino-5-cloro-(o-; p-R₁)-benzofenona

(R₁ = o-Cl, p-Cl, o-F y p-F)

En un matraz de dos bocas provisto de un refrigerante en posición de reflujo, agitación magnética y calentamiento, se colocan 21 mmol del cloruro de R₁-benzoilo. Se calienta hasta 120°C y se adicionan lentamente 4.2 mmol de p-cloroanilina. Una vez disuelta la p-cloroanilina se agregan 4.2 mmol de ZnCl₂ como catalizador y se aumenta la temperatura gradualmente hasta 220-230°C. Se mantiene el calentamiento durante 3hrs. La mezcla de reacción se enfría a 120°C y se lava con agua, se decanta la fase acuosa. El residuo resultante se disuelve en una mezcla de H₂SO₄, CH₃COOH y H₂O, se calienta a reflujo de 17-24h. Al término de la reacción, la mezcla se vierte sobre un recipiente que contiene una mezcla hielo-agua. El producto crudo se aísla por extracción líquido-líquido con diclorometano, se lava con H₂O y NH₄OH al 5% hasta pH neutro, se seca a vacío y finalmente el sólido obtenido se purifica por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de hexano - acetato de etilo (98:2) obteniéndose así un sólido de color amarillo intenso. Los puntos de fusión van de 83°C a 112°C para los diferentes derivados obtenidos. El rendimiento es de 40-44%.

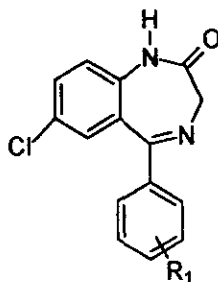
Obtención de los derivados de la 2-bromoacetamido-5-cloro-(o-; p-R₁)-benzofenona

(II)

(R₁ = o-Cl, p-Cl, o-F y p-F)

En un matraz de dos bocas de 100 mL se disuelven, con 30 mL de éter anhidro, 15 mmol de 2-amino-5-cloro-(o-; p-R₁)-benzofenona y por medio de un baño exterior de hielo-agua se estabiliza la temperatura a 10°C. Posteriormente, se adicionan 37.5 mmol de bromuro de bromoacetilo y se mantiene con agitación a 10°C durante 2h. Al cabo del tiempo indicado, se separa la fase orgánica y se lava con NH₄OH al 5%, se seca con Na₂SO₄ anhidro y se elimina el disolvente a vacío. Se obtienen sólidos incoloros con puntos de fusión que van de 90°C a 133°C para los distintos derivados obtenidos, con rendimientos del 94-98%.

Obtención de derivados de la 7-cloro-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-3H-1,4-benzodiazepin-2-ona

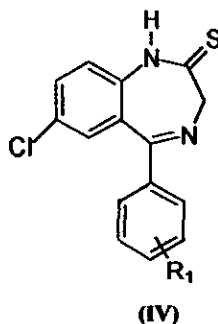


(III)

(R₁ = o-Cl, p-Cl, o-F y p-F)

En un matraz de dos bocas de 500 mL equipado con un refrigerante de hielo seco, una válvula de alivio y agitación magnética, se disuelven 16 mmol de 2-bromoacetamido-5-cloro-(o-; p-R₁)-benzofenona con 100 mL de éter. Posteriormente, se adicionan 180 mL de una mezcla de hidróxido de amonio/metanol al 15% y se mantiene con agitación, a temperatura ambiente, durante alrededor de 46h. Una vez que por cromatografía en capa fina se observa transformación total de la materia prima, se suspende la agitación y a la mezcla de reacción se le añade una mezcla éter/agua se separa la fase orgánica y se seca a vacío. El sólido resultante se purifica por cromatografía en columna de sílice, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30). Se obtienen sólidos blancos con puntos de fusión que van de 199°C a 248°C para los diferentes derivados obtenidos, con rendimientos del 60-80%.

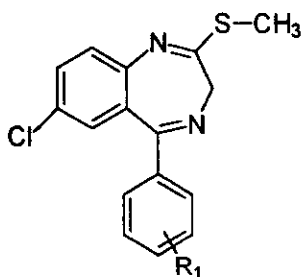
Obtención de derivados de la 7-cloro-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-3H-1,4-benzodiazepin-2-tiona⁴⁸⁻⁵⁰



(R₁ = o-Cl, p-Cl, o-F y p-F)

En un matraz de dos bocas de 250 mL se disuelven, con 25 mL de tolueno anhidro, 9 mmol de la 7-cloro-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-3H-1,4-benzodiazepin-2-ona junto con 4.5 mmol de Reactivo de Lawesson y, la disolución resultante, se calienta a temperatura de reflujo bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción se monitorea por cromatografía en capa fina (CCF) y se detiene hasta observar la transformación total de la materia prima. El tiempo de reacción es de aproximadamente 1.5h. El producto no se aísla. La disolución de la tiona en tolueno se utiliza tal cual para la obtención del siguiente intermediario.

Obtención de los derivados de la 2-tiometil-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-3H-1,4-benzodiazepina

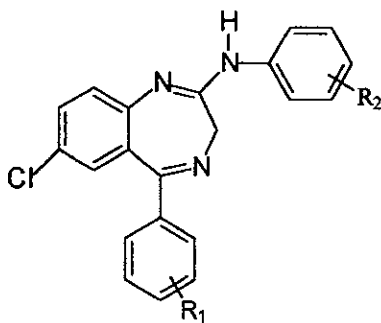


(V)

(R₁ = o-Cl, p-Cl, o-F y p-F)

A la disolución de la 7-cloro-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-3H-1,4-benzodiazepin-2-tiona se adicionan 27 mmol de NaH y se calienta a temperatura de reflujo por 1hr. Posteriormente, se introducen lentamente 27 mmol de yoduro de metilo (CH₃I) y se mantiene la reacción a reflujo durante 1hr más. Se enfría, se filtra y el disolvente del filtrado se elimina por destilación al alto vacío. El aceite obtenido se purifica por cromatografía en columna de sílice utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (95:5) obteniéndose así la 2-tiometil-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-3H-1,4-benzodiazepina correspondiente. Se obtienen productos semisólidos de color anaranjado. El rendimiento global de las reacciones llevadas a cabo en las reacciones cuatro y cinco es de 60%.

Obtención de los derivados de la 2-[(o-; p-R₂)-aminofenil] 3H-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina



(VI)

(R₁= o-Cl, p-Cl, o-F y p-F)

(R₂= o-Cl, p-Cl, o-OCH₃ y p-OCH₃)

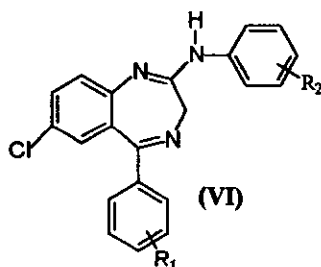
En un matraz de dos bocas de 100 mL se colocan 0.66 mmol de 2-tiometil-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-3H-1,4-benzodiazepina disueltas en tolueno anhidro y unas gotas de ácido acético. La disolución anterior se calienta a reflujo durante 1hr bajo atmósfera de nitrógeno. Transcurrido este tiempo se agregan 1.33 mmol de la (o-; p-R₂)-anilina correspondiente. Después de 24-48 hrs la reacción se completa. Se enfría y se lava con agua (3x15mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se elimina a vacío. El sólido obtenido se purifica por recristalización de diclorometano-hexano. Los puntos de fusión y rendimientos de todos los compuestos finales se presentan en la sección de resultados.

RESULTADOS

6.1 Rendimientos y características físicas de los compuestos finales

La obtención de los compuestos finales (VI) se llevó a cabo por medio de una sustitución del grupo tio-metil de los compuestos (V) por medio de la anilina sustituida correspondiente. Se obtuvieron un total de 12 nuevos compuestos no descritos en la literatura, cuyos puntos de fusión y rendimientos se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1. Rendimientos y puntos de fusión de los compuestos finales



R ₁	R ₂	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)
p-Cl	p-Cl	33	197-199
p-Cl	o-Cl	57	148-149
o-Cl	p-Cl	80	240-241
o-Cl	o-Cl	76	204-206
o-Cl	p-OCH ₃	73	172-174
o-Cl	o-OCH ₃	70	178-180
p-F	p-Cl	66	130-132
p-F	o-Cl	64	153-154
o-F	p-Cl	82	220-222
o-F	o-Cl	80	155-156
o-F	p-OCH ₃	84	179-181
o-F	o-OCH ₃	73	183-185

6.2 Espectroscopía de Infrarrojo

Todos los espectros de IR fueron realizados en disolución de CHCl_3 y presentaron una señal entre $3217\text{-}3441\text{ cm}^{-1}$ la cual es generada por las vibraciones de tensión N-H, una banda muy intensa entre $1612\text{-}1636\text{ cm}^{-1}$ producida por las vibraciones de tensión del enlace C=N así como las bandas de absorción características de vibraciones de tensión de los enlaces C=C, C-N, C-O y sistemas aromáticos presentes. En la tabla 2 se presenta una descripción detallada de las absorciones de IR de cada uno de los compuestos finales.

Tabla 2. Bandas de absorción (IR) de los derivados de la 2-[(o-, p-R₂)-aminofenil]-3H-5-[(o-, p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

$\nu\text{ (cm}^{-1}\text{)}$								
R ₁	R ₂	N - H	C - H _{arom}	C - H	C = N	C = C	C - N	C - O
p-Cl	p-Cl	3439	3035	2962	1630	1593 1527	1348 1304	—
p-Cl	o-Cl	3417	3050	2960	1634	1591 1533	1348 1306	—
o-Cl	p-Cl	3286	3031	2960	1630	1610 1549	1360 1312	—
o-Cl	o-Cl	3419	3058	2964	1636	1595 1533	1346 1308	—
o-Cl	p-OCH ₃	3441	3053	2960	1626	1590 1510	1346 1298	1245 1036
o-Cl	o-OCH ₃	3423	3059	2966	1630	1601 1541	1356 1292	1247 1030
p-F	p-Cl	3439	3045	2959	1630	1589 1530	1348 1304	—
p-F	o-Cl	3417	3042	2959	1634	1591 1533	1344 1306	—
o-F	p-Cl	3286	3030	2954	1612	1595 1551	1360 1306	—
o-F	o-Cl	3422	3054	2961	1636	1592 1533	1356 1306	—
o-F	p-OCH ₃	3441	3051	2959	1626	1610 1533	1348 1302	1248 1036
o-F	o-OCH ₃	3423	3059	2966	1636	1601 1539	1356 1310	1246 1037

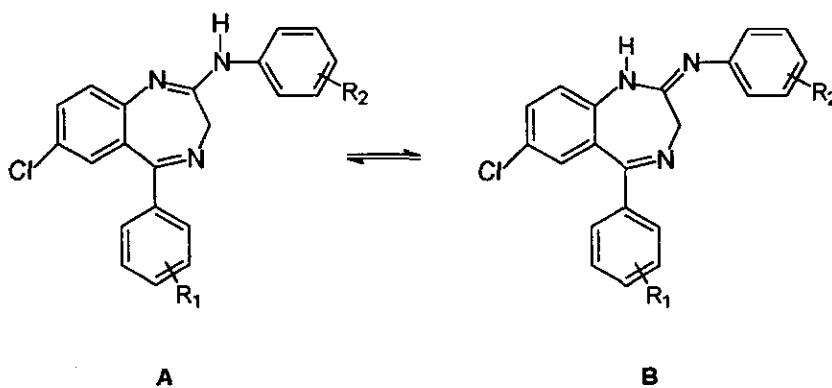
6.3 Resonancia Magnética Nuclear ^1H y ^{13}C

Para determinar los espectros de RMN se utilizó CDCl_3 como disolvente, salvo en dos espectros en los cuales se utilizó una mezcla de CDCl_3 y DMSO-d_6 . La asignación de las diferentes señales de RMN ^1H se corroboró con ayuda de las técnicas bidimensionales COSY y NOESY. Por otra parte, las señales de ^{13}C se asignaron inequívocamente auxiliados de los experimentos HETCOR y HMBC.

En las tablas 3 y 4 se presentan los desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C , respectivamente, para todos los compuestos finales obtenidos.

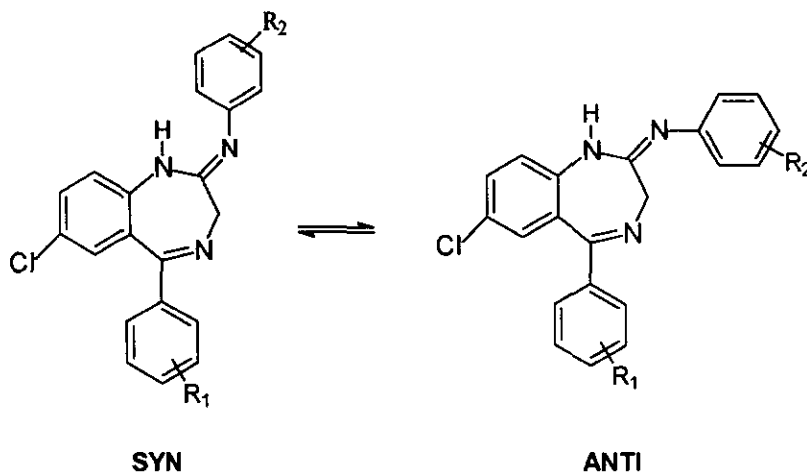
En general, los espectros de RMN ^1H presentan las siguientes características:

- ☛ Señales entre 3.6-4.9 ppm originadas por los hidrógenos del grupo metileno del anillo diazepínico.
- ☛ En general, las señales de protones aromáticos aparecen entre 6.7 y 7.8 ppm.
- ☛ El desplazamiento químico de los protones 2'' y 6'' a campo más bajo (7.3-7.8) del esperado (6.5-7.0 ppm, para protones en posición "orto" a un NH), sugiere el siguiente equilibrio en solución:



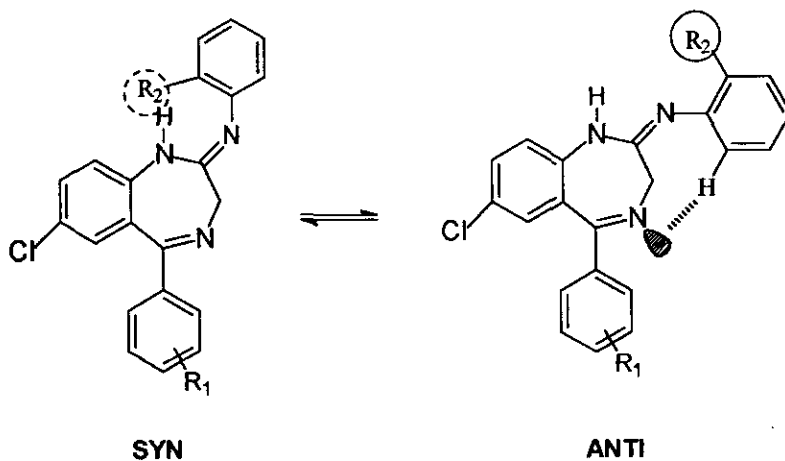
favoreciéndose el tautómero B en solución.

- El protón $6''$ ($H_{6''}$) aparece desplazado a campo mucho más bajo (8.6-8.7ppm) del esperado (7.0-8.0 ppm para un hidrógeno de tipo aromático) cuando el sustituyente R_2 se encuentra en posición "orto", mientras que, cuando R_2 se encuentra en posición "para" el desplazamiento de este protón es el esperado. Lo anterior nos sugiere la presencia de dos isómeros conformacionales SYN y ANTI producidos por la inversión del nitrógeno del grupo aminofenil:



En este equilibrio se favorece aquél conformero con menor impedimento estérico.

Cuando el sustituyente R_2 se encuentra en posición "orto" la molécula adopta preferentemente la conformación ANTI debido a que esta presenta menor impedimento estérico. Esta conformación favorece la interacción del par electrónico libre del N_4 con el $H_{6''}$ ocasionando una desprotección de este último núcleo y el desplazamiento químico a campo más bajo observado.



Por otra parte, cuando los dos sustituyentes “orto” del anillo del grupo aminofenil son hidrógenos (R_2 en posición “para”) la molécula presenta un desplazamiento químico de H_α normal. Lo anterior nos indica que en este caso la conformación que se adopta es aquella en la que no se presenta interacción tipo puente de hidrógeno, esto es, la conformación SYN.

☛ Los compuestos que contienen flúor presentan las constantes de acoplamiento J_{H-F} correspondientes.⁵¹

En los espectros de RMN ^{13}C puede observarse lo siguiente:

- ☛ Una señal entre 53-55 ppm que corresponde al carbono del metileno del anillo diazepínico.
- ☛ Una señal correspondiente al carbono del grupo metoxilo entre 55-56 ppm cuando el grupo aminofenil tiene un sustituyente $\text{R}_2 = -\text{OCH}_3$.
- ☛ Las señales de carbonos aromáticos aparecen en el intervalo 109-156 ppm.
- ☛ Las señales de los carbonos imínicos aparecen entre 150 y 170 ppm.
- ☛ Las constantes de acoplamiento C-F ($J_{\text{C-F}}$) correspondientes cuando la molécula contiene flúor en su estructura.⁵²

A continuación se presentan las tablas 3 y 4, las cuales contienen los desplazamientos químicos (en ppm) de RMN ^1H y ^{13}C . Entre paréntesis, al lado del desplazamiento, se muestra la multiplicidad con la siguiente nomenclatura:

(d) = doblete

(t) = triplete

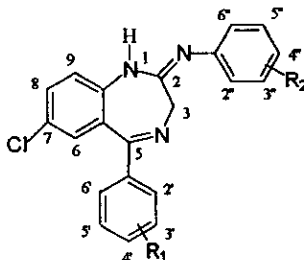
(dd) = doble de dobles

(dt) = triple de dobles

(m) = multiplete

Los espectros fueron llevados a cabo en un espectrómetro Varian VXR-300s operando a 300MHz, utilizando tetrametilsilano como referencia interna.

TABLE 3. Desplazamientos químicos (en ppm) de RMN ^1H de los derivados de la 2-[(*o*-, *p*- R_2 -aminofenil]-3H-5-[(*o*-, *p*- R_1 -fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina^a

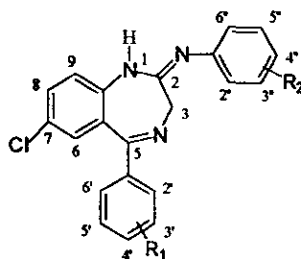


δ (ppm)						
R_1	<i>p</i> -Cl	<i>p</i> -Cl	<i>o</i> -Cl	<i>o</i> -Cl	<i>o</i> -Cl	<i>o</i> -Cl
R_2	<i>p</i> -Cl	<i>o</i> -Cl	<i>p</i> -Cl	<i>o</i> -Cl	<i>p</i> -OCH ₃	<i>o</i> -OCH ₃
Disolvente	CDCl_3	CDCl_3	$\text{CDCl}_3+\text{DMSO}$	CDCl_3	CDCl_3	CDCl_3
H_3	4.8; 3.6	4.74; 3.65	4.26	4.24	4.19	4.23
H_6 (d)	7.24 J= 2.7 ^b	7.25 J= 2.1	6.93 J= 2.7	7.04 J= 2.4	7.00 J= 2.1	7.02 J= 2.7
H_8 (dd)	7.43 J= 2.4, 8.7	7.43 J= 2.4, 8.7	7.35 J= 2.4, 8.7	7.38 J= 2.4, 8.7	7.33 J= 2.4, 8.7	7.38 J= 2.4, 8.7
H_9 (d)	7.27 J= 8.7	7.28 J= 8.7	7.19 J= 8.7	7.26 J= 8.7	7.20 J= 8.7	7.29 J= 8.7
H_2	7.5 AA'BB' J= 8.7	7.5 AA'BB' J= 8.7	—	—	—	—
H_3	7.37AA'BB' J= 8.7	7.37AA'BB' J= 8.7	7.38 (dd) J= 2.0, 7.5	7.36 (dd) J= 2.0, 7.5	7.34 (dd) J= 2.0, 7.2	7.34 (dd) J= 2.0, 7.2
H_4	—	—	7.39 (dt) J= 2.0, 7.5	7.37 (dt) J= 2.0, 7.5	7.35 (dt) J= 2.0, 7.2	7.35 (dt) J= 2.0, 7.2
H_5	7.37 AA'BB' J= 8.7	7.37 AA'BB' J= 8.7	7.37 (dt) J= 2.0, 7.5	7.34 (dt) J= 2.0, 7.5	7.31 (dt) J= 2.0, 7.5	7.31 (dt) J= 2.0, 7.5
H_6	7.5 AA'BB' J= 8.7	7.5 AA'BB' J= 8.7	7.49 (dd) J= 3.0, 7.5	7.46 (dd) J= 3.0, 7.5	7.43 (dd) J= 3.0, 7.5	7.43 (dd) J= 3.0, 7.5
H_2	7.41 AA'BB' J= 8.4	—	7.83 AA'BB' J= 8.7	—	7.32 AA'BB' J= 8.7	—
H_3	7.17 AA'BB' J= 9.0	7.35 (dd) J= 1.5, 7.8	7.23 AA'BB' J= 9.0	7.35 (dd) J= 1.2, 7.8	6.77 AA'BB' J= 9.0	6.86 (dd) J= 2.4, 7.8
H_4	—	7.00 (dt) J= 1.5, 7.8	—	7.00 (dt) J= 1.5, 7.5	—	6.99 (dt) J= 2.4, 7.5
H_5	7.17 AA'BB' J= 9.0	7.25 (dt) J= 1.5, 7.5	7.23 AA'BB' J= 9.0	7.27 (dt) J= 1.5, 8.1	6.77 AA'BB' J= 9.0	6.96 (dt) J= 2.4, 7.8
H_6	7.41 AA'BB' J= 8.4	8.1 (d) J= 8.1	7.83 AA'BB' J= 8.7	8.67 (dd) J= 1.2, 8.1	7.32 AA'BB' J= 8.7	8.71 (dd) J= 1.5, 7.8

^aEspectro a 300MHz

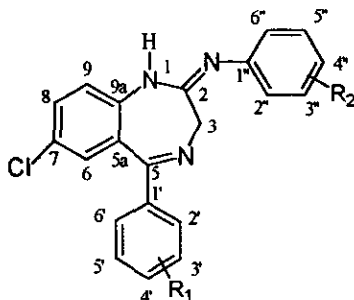
^bLos valores de las constantes de acoplamiento, J, están dados en Hz.

TABLA 3. (continuación) Desplazamientos químicos (en ppm) de RMN ¹H de los derivados de la 2-[(o-; p-R₂)-aminofenil]-3H-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina



R ₁	δ (ppm)					
	p-F	p-F	o-F	o-F	o-F	o-F
R ₂	p-Cl	o-Cl	p-Cl	o-Cl	p-OCH ₃	o-OCH ₃
Disolvente	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃ +DMSO	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃
H ₃	4.86, 3.61	4.72, 3.66	4.25	4.24	4.42	4.38
H ₆ (d)	7.27 J= 2.7	7.27 J= 2.4	7.12 J= 2.1	7.25 J= 3.0	7.14 J= 3.0	7.16 J= 2.1
H ₈ (dd)	7.43 J= 2.4, 8.7	7.44 J= 2.4, 8.7	7.37 J= 2.4, 8.7	7.42 J= 2.4, 8.7	7.36 J= 2.4, 8.7	7.40 J= 2.4, 8.7
H ₉ (d)	7.27 J= 8.7	7.29 J= 9.0	7.25 J= 8.7	7.29 J= 9.0	7.23 J= 8.7	7.31 J= 8.7
H ₂	7.57 AA'BB' J _{H-H} = 9.0 J _{H-F} = 5.4	7.56 AA'BB' J _{H-H} = 8.7 J _{H-F} = 5.4	—	—	—	—
H ₃	7.08 AA'BB' J= 9.0	7.09 AA'BB' J= 9.0	7.07 (dd) J= 1.2, 8.4	7.08 (dd) J= 1.2, 8.4	7.06 (dd) J= 1.2, 8.4	7.08 (dd) J= 1.2, 8.4
H ₄	—	—	7.44 (dt) J= 2.0, 7.5	7.45 (dt) J= 2.0, 7.5	7.41 (dt) J= 2.0, 7.5	7.43 (dt) J= 2.0, 7.5
H ₅	7.08 AA'BB' J= 9.0	7.09 AA'BB' J= 9.0	7.21 (dt) J= 1.2, 7.8	7.22 (dt) J= 1.2, 7.8	7.17 (dt) J= 1.2, 7.5	7.19 (dt) J= 1.2, 7.5
H ₆	7.57 AA'BB' J _{H-H} = 9.0 J _{H-F} = 5.4	7.56 AA'BB' J _{H-H} = 8.7 J _{H-F} = 5.4	7.52 (dd) J= 1.8, 7.5	7.52 (dd) J= 1.8, 7.5	7.46 (dd) J= 1.8, 7.5	7.49 (dd) J= 1.8, 7.5
H ₂ '	7.29 AA'BB' J= 8.7	—	7.76 AA'BB' J= 8.7	—	7.36 AA'BB' J= 9.0	—
H ₃ '	7.1 AA'BB' J= 9, 3	7.36 (dd) J= 1.8, 7.8	7.24 AA'BB' J= 8.7	7.36 (dd) J= 1.5, 8.1	6.77 AA'BB' J= 9.0	6.86 (dd) J= 1.8, 7.8
H ₄ '	—	7.01 (dt) J= 1.8, 7.8	—	7.01 (td) J= 1.5, 7.8	—	7.00 (dt) J= 1.8, 7.5
H ₅ '	7.1 AA'BB' J= 9, 3	7.26 (dt) J= 1.8, 7.8	7.24 AA'BB' J= 8.7	7.27 (td) J= 1.5, 7.8	6.77 AA'BB' J= 9.0	6.97 (dt) J= 1.8, 7.5
H ₆ '	7.29 AA'BB' J= 8.7	8.69 (d) J= 6.6	7.76 AA'BB' J= 8.7	8.7 (d) J= 6.6	7.36 AA'BB' J= 9.0	8.69 (d) J= 6.6

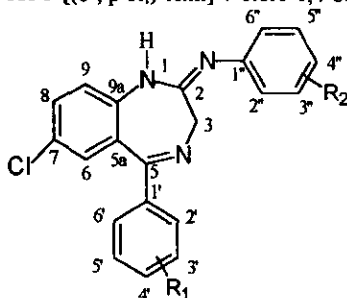
Tabla 4. Desplazamientos químicos (en ppm) de RMN ^{13}C de los derivados de la 2-[(o-; p-R₂)-aminofenil]-3H-5-[o-; p-R₁-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina.^c



δ (ppm)						
R ₁	p-Cl	p-Cl	o-Cl	o-Cl	o-Cl	o-Cl
R ₂	p-Cl	o-Cl	p-Cl	o-Cl	o-OCH ₃	p-OCH ₃
Disolvente	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃ + DMSO	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃
C ₂	152.2	152.2	151.4	150.9	150.7	152.0
C ₃	54.6	55.2	53.4	55.1	55.5	54.0
C ₅	169.8	169.3	168.2	169.7	169.4	170.1
C _{5a}	126.3	126.6	124.8	126.7	126.1	125.8
C ₆	129.9	129.9	127.8	128.7	128.7	128.7
C ₇	127.9	128.2	128.6	129.2	128.9	128.9
C ₈	131.4	131.3	130.1	130.6	130.5	130.6
C ₉	128.3	128.3	128.0	128.3	128.6	128.4
C _{9a}	148.8	148.5	147.7	147.4	147.7	148.4
C _{1'}	137.4	137.5	138.2	138.5	138.7	138.7
C _{2'}	131.2	131.2	132.3	133.4	133.4	133.4
C _{3'}	128.7	128.6	129.3	130.1	130.1	130.1
C _{4'}	136.8	136.6	130.0	131.1	131.0	131.1
C _{5'}	128.6	128.6	126.4	126.8	126.7	126.7
C _{6'}	131.2	131.2	130.8	131.1	131.1	131.1
C _{1''}	137.5	135.8	138.6	136.0	129.0	132.1
C _{2''}	121.2	122.6	120.2	122.6	148.3	131.1
C _{3''}	128.8	129.0	127.9	129.0	109.7	114.0
C _{4''}	128.9	124.0	126.5	124.0	123.1	156.3
C _{5''}	128.8	127.5	127.9	127.6	120.9	114.0
C _{6''}	121.2	121.0	120.2	121.0	119.3	131.1

^cEspectros a 75MHz

Tabla 4. (continuación) Desplazamientos químicos de RMN ^{13}C de los derivados de la 2-[(*o*-; *p*- R_2)-aminofenil]-3H-5-[(*o*-; *p*- R_1)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina



δ (ppm)						
R_1	<i>p</i> -F	<i>p</i> -F	<i>o</i> -F	<i>o</i> -F	<i>o</i> -F	<i>o</i> -F
R_2	<i>p</i> -Cl	<i>o</i> -Cl	<i>p</i> -Cl	<i>o</i> -Cl	<i>o</i> -OCH ₃	<i>p</i> -OCH ₃
Disolv.	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃ +DMSO	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃
C_2	152.5	152.5	151.8	151.4	151.2	152.2
C_3	54.4	54.9	53.5	55.1	55.4	54.3
C_5	170.0	169.3	165.9	167.0	166.8	167.3
C_{5a}	126.3	126.6	125.3	127.0	126.3	125.9
C_6	130.0	130.0	128.2	129.0	129.0	129.0
C_7	128.1	128.1	128.7	129.3	129.2	129.1
C_8	131.4	131.3	130.3	131.2	131.0	131.1
C_9	128.3	128.3	127.1	128.2	128.5	128.4
C_{9a}	148.9	148.2	147.1	147.0	147.9	148.3
$C_{1'}$	135.2 (d) $^4J_{C-F} = 3.2^d$	135.2 (d) $^4J_{C-F} = 3.3$	127.0 (d) $^2J_{C-F} = 13.2$	127.3 (d) $^2J_{C-F} = 12.1$	127.5 (d) $^2J_{C-F} = 12.1$	127.5 (d) $^2J_{C-F} = 13.2$
$C_{2'}$	131.9 (d) $^3J_{C-F} = 7.7$	131.9 (d) $^3J_{C-F} = 8.7$	159.8 (d) $^1J_{C-F} = 251$	160.5 (d) $^1J_{C-F} = 252.5$	160.5 (d) $^1J_{C-F} = 252.5$	160.5 (d) $^1J_{C-F} = 252.5$
$C_{3'}$	115.5 (d) $^2J_{C-F} = 20.8$	115.4 (d) $^2J_{C-F} = 22$	115.5 (d) $^2J_{C-F} = 21.9$	116.4 (d) $^2J_{C-F} = 22$	116.2 (d) $^2J_{C-F} = 20.9$	116.3 (d) $^2J_{C-F} = 21.9$
$C_{4'}$	164.3 (d) $^1J_{C-F} = 250$	164.2 (d) $^1J_{C-F} = 250$	131.1 (d) $^3J_{C-F} = 7.7$	131.9 (d) $^3J_{C-F} = 8.8$	131.8 (d) $^3J_{C-F} = 7.7$	131.9 (d) $^3J_{C-F} = 8.8$
$C_{5'}$	115.5 (d) $^2J_{C-F} = 20.8$	115.4 (d) $^2J_{C-F} = 22$	123.6 (d) $^4J_{C-F} = 4.4$	124.2 (d) $^4J_{C-F} = 4.4$	124.1 (d) $^4J_{C-F} = 3.2$	124.1 (d) $^4J_{C-F} = 4.4$
$C_{6'}$	131.9 (d) $^3J_{C-F} = 7.7$	131.9 (d) $^3J_{C-F} = 8.7$	131.1 (d) $^3J_{C-F} = 7.7$	131.6 $^3J_{C-F} = 8.7$	131.8 $^3J_{C-F} = 7.7$	131.9 $^3J_{C-F} = 8.7$
$C_{1''}$	137.6	135.7	138.1	135.7	128.7	132.1
$C_{2''}$	121.2	122.7	120.4	122.8	147.9	131.7
$C_{3''}$	128.7	129.0	127.9	129.0	109.8	114.0
$C_{4''}$	128.8	124.1	128.7	124.1	123.2	156.3
$C_{5''}$	128.7	127.5	127.9	127.6	120.9	114.0
$C_{6''}$	121.2	121.1	120.4	121.1	119.5	131.7

^d Los valores de J están dados en Hz

6.4 Espectrometría de masas

Todos los compuestos sintetizados fueron caracterizados mediante Espectrometría de Masas. Este análisis reveló que todos los derivados presentan el mismo patrón de fragmentación. El ion molecular es el pico base cuando el sustituyente R_2 se encuentra en posición "para"; mientras que el fragmento $[M-R_2]^+$ es el pico base si R_2 está en posición "orto".

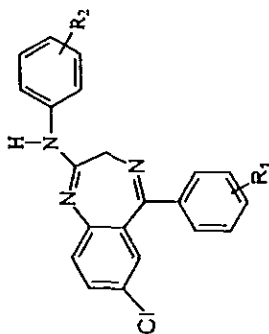
En la Tabla 5 se presenta una descripción detallada de los fragmentos más significativos en los espectros de masas de los derivados de la 2-[(o-; p- R_2)-aminofenil]-3H-5-[(o-; p- R_1)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina.

Como puede observarse en la tabla 5, los iones más importantes son: M^+ , $[M-1]^+$, $[M-R_1]^+$, $[M-R_2]^+$, $[M-63]^+$, $[M-(63+HR_2)]^+$, $[M-(76+R_2)]^+$, $[240+R_1]^+$, $[213+R_1]^+$, $[204+R_1]^+$, m/z 163 y $[90+R_2]^+$.

En el apéndice se presentan los Espectros de Masas de los doce compuestos sintetizados.

Por otra parte, mediante el análisis de Espectrometría de masas de alta resolución y Disociación Inducida por Colisión (CID), fue posible establecer la procedencia y estructura de los fragmentos más importantes y, consecuentemente, proponer los mecanismos de fragmentación para la nueva familia de derivados 1,4-benzodiazepínicos. Algunos espectros obtenidos por CID se muestran en la sección de espectros (apéndice).

Tabla 5. Abundancia relativa de los fragmentos más importantes en los espectros de masas de los derivados de la 2-[(o-, p-R₂-aminofenil]-3H-5-[(o-, p-R₁-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

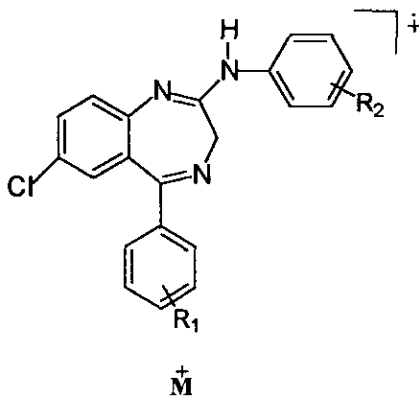


		m/z											
R ₁	R ₂	[M] ⁺	[M-1] ⁺	[M-R ₁] ⁺	[M-R ₁] ⁺	[M-63] ⁺	[M-(G3+HR ₁)] ⁺	[M-(76+R ₂)] ⁺	[240+R ₁] ⁺	[213+R ₁] ⁺	[204+R ₁] ⁺	m/z 163	[90+R ₁] ⁺
p-Cl	p-Cl	90	85	8	8	50	5	8	30	6	22	24	52
p-Cl	o-Cl	45	34	~2	100	7	3	2	9	1	5	4	7
o-Cl	p-Cl	100	15	60	~5	6	3	4	16	5	12	8	16
o-Cl	o-Cl	32	---	~8	100	3	1	1	6	2	5	3	6
o-Cl	p-OCH ₃	100	---	12	1	4	1	1	8	2	2	2	40
o-Cl	o-OCH ₃	45	---	3	100	1	1	1	7	1	2	3	5
p-F	p-Cl	100	90	1	6	12	5	3	15	5	7	5	7
p-F	o-Cl	57	43	1	100	11	3	1	10	3	5	7	4
o-F	p-Cl	100	---	30	5	8	2	1	13	3	4	4	5
o-F	o-Cl	36	---	10	100	1	1	1	8	3	3	4	2
o-F	p-OCH ₃	100	---	6	11	6	1	1	9	3	2	1	28
o-F	o-OCH ₃	25	---	3	100	1	1	1	6	1	1	2	2

A continuación se exponen los mecanismos de reacción a través de los cuales se explica la formación de los fragmentos más importantes. Posteriormente, se presenta el patrón general de fragmentación y, al final de esta sección, se anexa el estudio de alta resolución de uno de los derivados.

1) Ion molecular

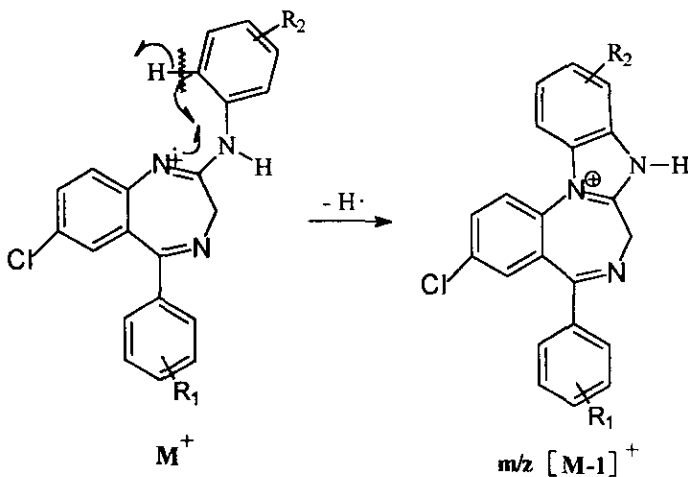
En todos los compuestos estudiados el ion molecular presenta una alta abundancia relativa, lo que pone de manifiesto su estabilidad, la cual esta determinada por su estructura heterocíclica. Cuando el sustituyente R_2 se encuentra en posición "para" el ion molecular resulta ser el pico base (Esquema 1).



Esquema 1

2) Formación del ion de $m/z [M-1]^+$

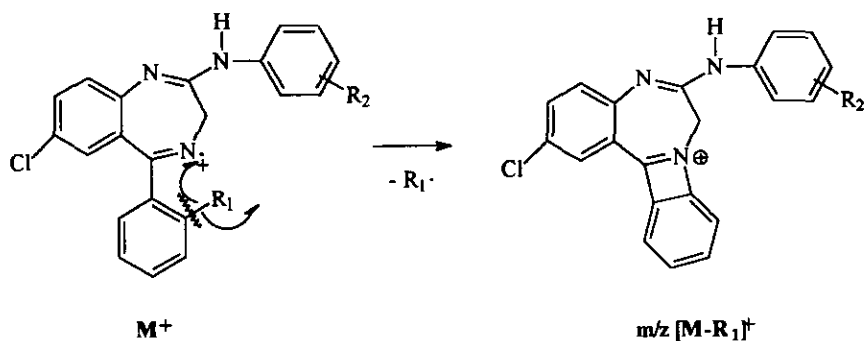
A partir del ion molecular se lleva a cabo la pérdida de un hidrógeno por “efecto orto”. Este efecto consiste en la ruptura del enlace C-H de la posición orto del anillo aromático del grupo aminofenil e inmediata ciclización con el átomo de N_1 , para formar un catión de tipo imidazol. Cuando R_2 se encuentra ubicado en la posición “orto” la abundancia del ion $m/z [M-1]^+$ disminuye debido a que es más importante la eliminación de R_2 . El mecanismo de fragmentación propuesto se ilustra en el Esquema 2.



Esquema 2

3) Formación del ion de m/z $[M-R_1]^+$

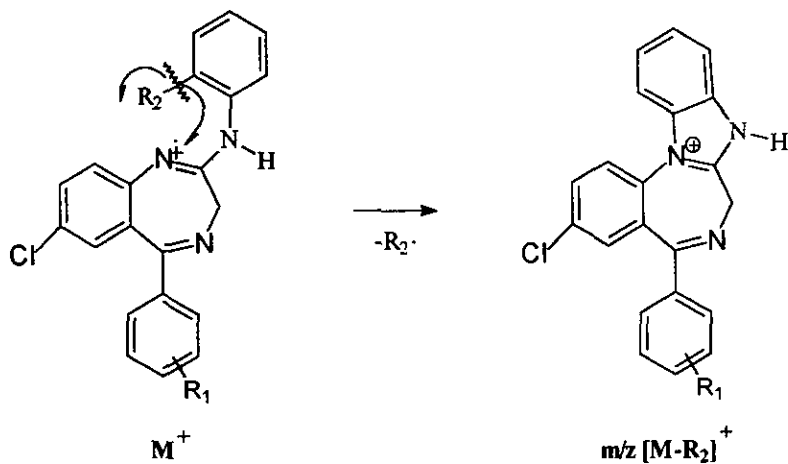
A partir del ion molecular se lleva a cabo la ruptura homolítica del enlace C-R₁ generándose un ciclo de cuatro miembros entre el N₄ y el anillo aromático de la posición 5 cuando R₁ se encuentra en la posición "orto". En el Esquema 3 se ilustra el mecanismo de fragmentación propuesto, el cual explica la formación de este fragmento.



Esquema 3

4) Formación del ion de m/z $[M-R_2]^+$

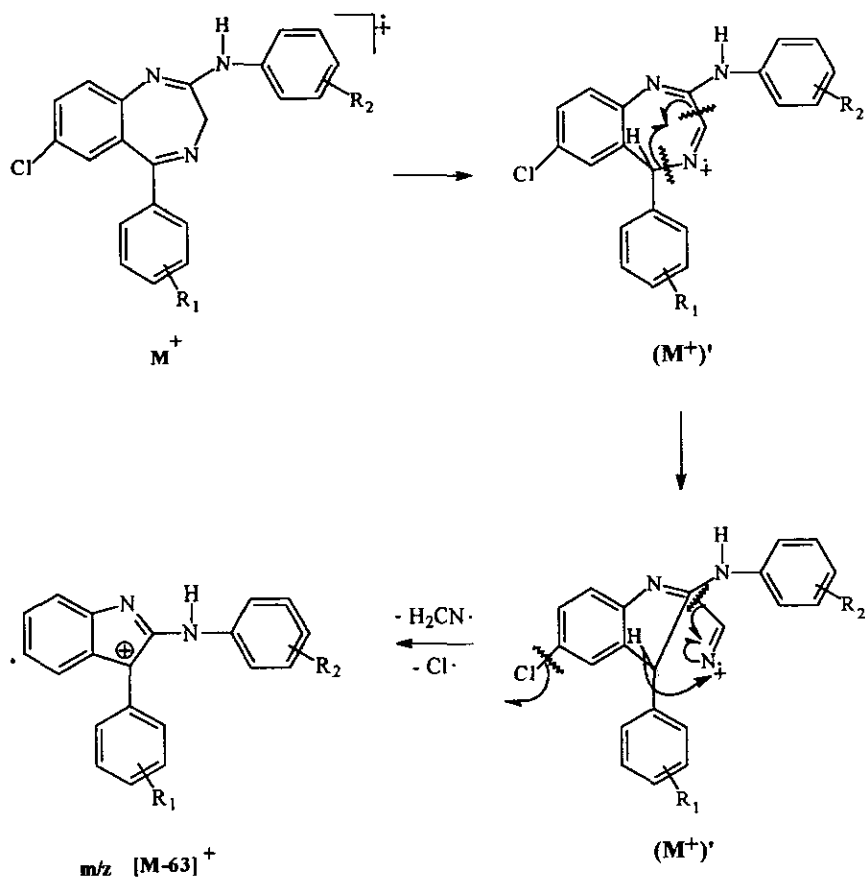
Este fragmento se origina por el llamado "efecto orto" que consiste en la pérdida del sustituyente R_2 y la inmediata ciclización con el átomo de N_1 para formar un catión de tipo imidazol. El ion $m/z [M-R_2]^+$ es el pico base cuando el sustituyente R_2 se encuentra en la posición "orto", mientras que, cuando se encuentra en posición "para" solo se obtiene en muy poca abundancia. Este último hecho nos permite diferenciar de que isómero se trata. En el Esquema 4 se ilustra el mecanismo de fragmentación propuesto.



Esquema 4

5) Formación del ion de $m/z [M-63]^+$

A partir del ion molecular, $[M]^+$, se lleva a cabo un rearrreglo para dar el ion isomérico (M^+). Posteriormente se verifica una ruptura entre las ligaduras de C_7-C_3 y C_5-N_4 llevándose a cabo la eliminación de H_2CN , con la ciclización del anillo diazepínico y eliminación del cloro de la posición C_7 dando origen al radical ionico de $m/z [M-63]^+$. El mecanismo de fragmentación se propone en el Esquema 5.

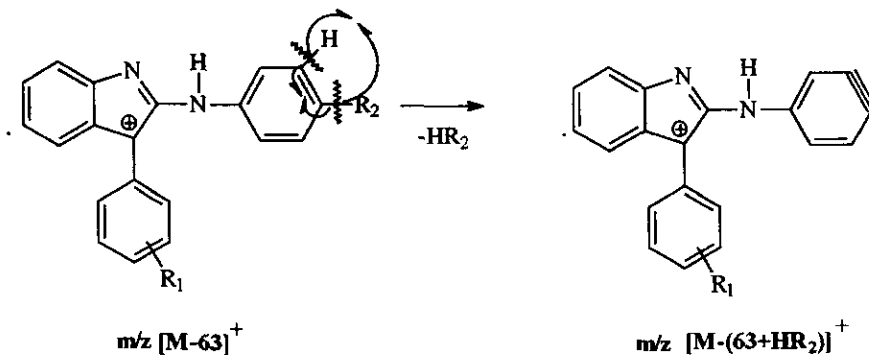


Esquema 5^a

* Por claridad, el mecanismo de fragmentación propuesto en el Esquema 5 se presenta por partes; sin embargo, la formación del fragmento de $m/z [M-63]^+$ ocurre en una sola etapa.

6) Formación del ion de $m/z [M-(63+HR_2)]^+$

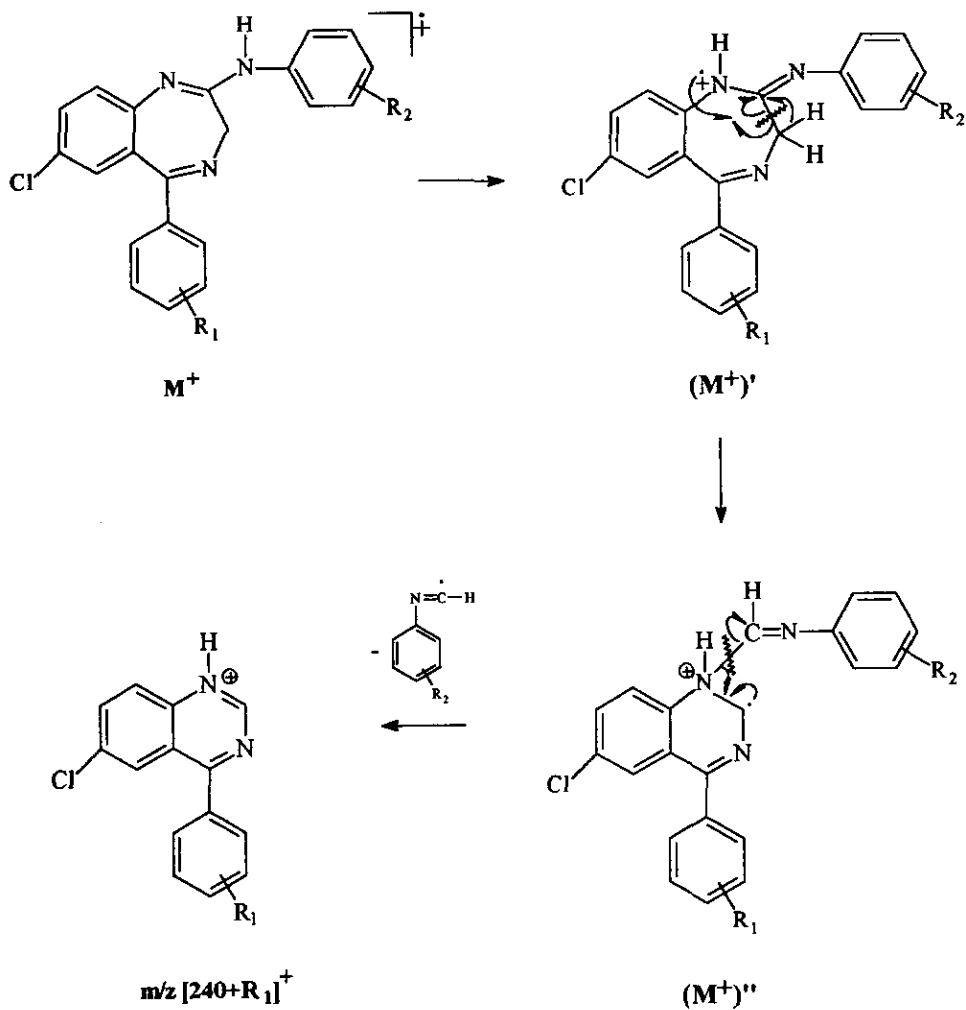
El fragmento de $m/z [M-(63+HR_2)]^+$ se origina a partir del ion de $m/z [M-63]^+$, verificándose el mecanismo de fragmentación propuesto en el Esquema 6.



Esquema 6

7) Formación del ion de $m/z [240+R_1]^+$

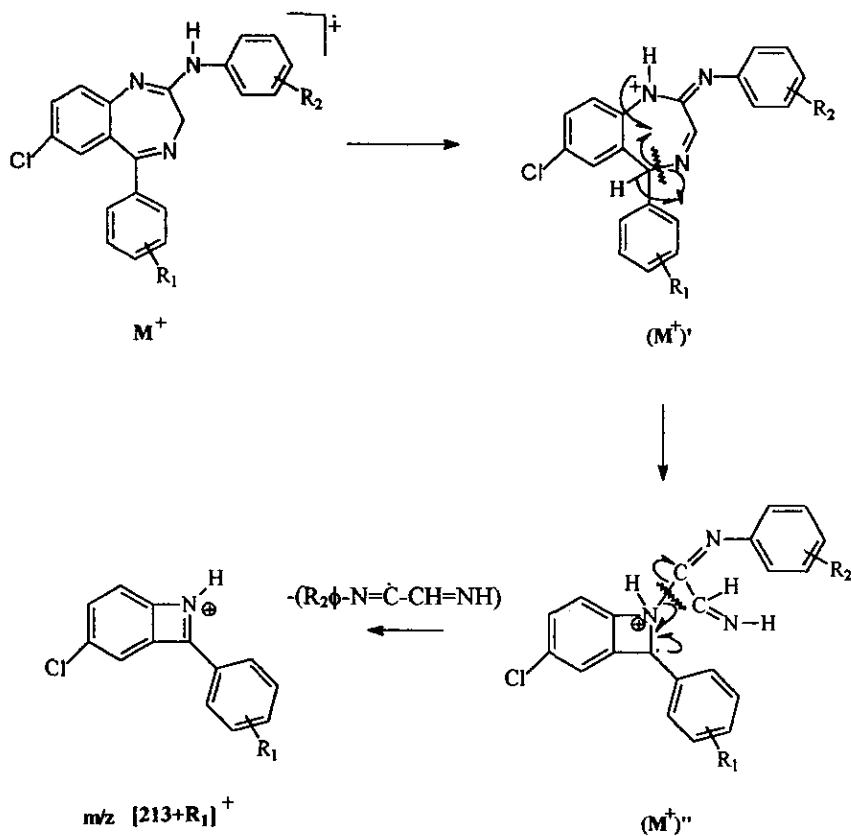
A partir del ion molecular, $[M]^+$, se lleva a cabo un rearrreglo para dar el ion isomérico $(M^+)^*$. Posteriormente, se verifica la ruptura de los enlaces C_2-C_3 y N_1-C_2 $(M^+)^*$ con la ciclización del anillo diazepínico. En el Esquema 7 se presenta el mecanismo de fragmentación propuesto para la formación del ion de $m/z [240+R_1]^+$. Es de hacerse notar que todas las fragmentaciones ocurren juntas; sin embargo, para hacer más claro el Esquema, el mecanismo se presenta por partes.



Esquema 7

8) Formación del ion de $m/z [213+R_1]^+$

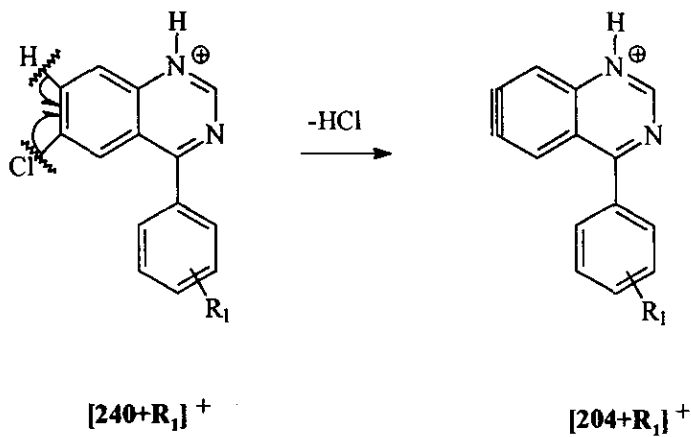
A partir del ion molecular, $[M]^+$, se lleva a cabo un rearrreglo para dar el ion molecular isomérico $(M^*)^+$. Posteriormente, se verifica una ruptura entre C_5-N_4 y N_1-C_2 con la ciclización del anillo diazepínico para dar lugar al fragmento $[213+R_1]^+$. El mecanismo de fragmentación propuesto se presenta en el Esquema 8.

Esquema 8^b

^b Aunque el mecanismo propuesto en el Esquema 8 se presenta por pasos, en realidad todas las fragmentaciones ocurren en una sola etapa.

9) Formación del ion de $m/z [204+R_1]^+$

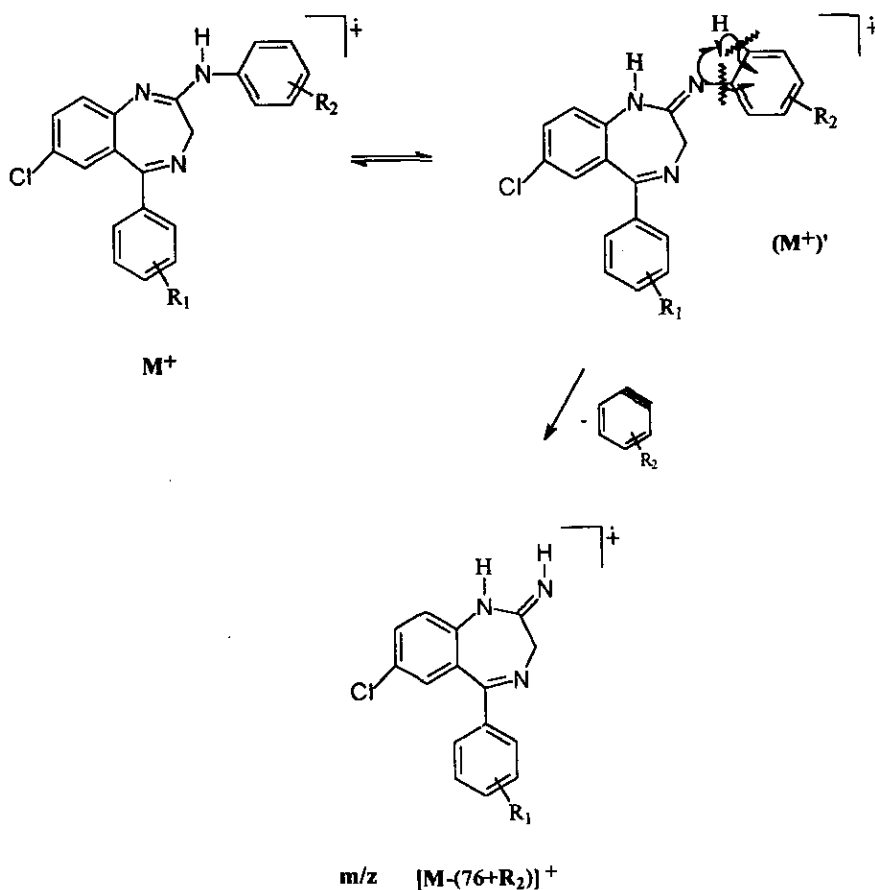
Partiendo del ion de $m/z [240+R_1]^+$ se lleva a cabo la pérdida de HCl para dar una triple ligadura en el anillo bencénico originándose así el ion de $m/z [204+R_1]^+$, cuyo mecanismo de fragmentación se propone en el Esquema 9.



Esquema 9

10) Formación del ion de $m/z [M-(76+R_2)]^+$

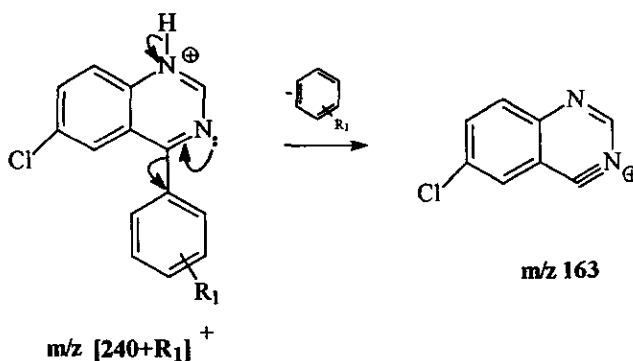
A partir del ion molecular se verifica un rearrreglo para formar el ion molecular isomérico (M^+), el cual mediante la ruptura de los enlaces N_2-C_1 y $C-H$, con transposición de un hidrógeno al nitrógeno unido al C_2 del anillo benzodiazepínico, da lugar al fragmento $[M-(76+R_2)]^+$. El mecanismo para la formación de este fragmento se propone en el Esquema 10.



Esquema 10

11) Formación del ion de m/z 163

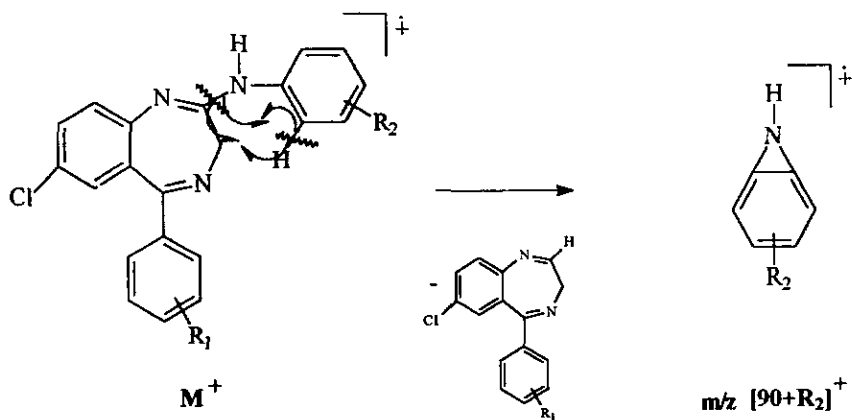
Sobre el ion de m/z $[240+R_1]^+$ se verifica la ruptura de los enlaces N_1-H_1 y C_5-C_1 , llevándose a cabo la pérdida de $\phi-R_1$ y un hidrógeno, dando como resultado la formación del ion de m/z 163, al verificarse el mecanismo de fragmentación propuesto en el Esquema 11.



Esquema 11

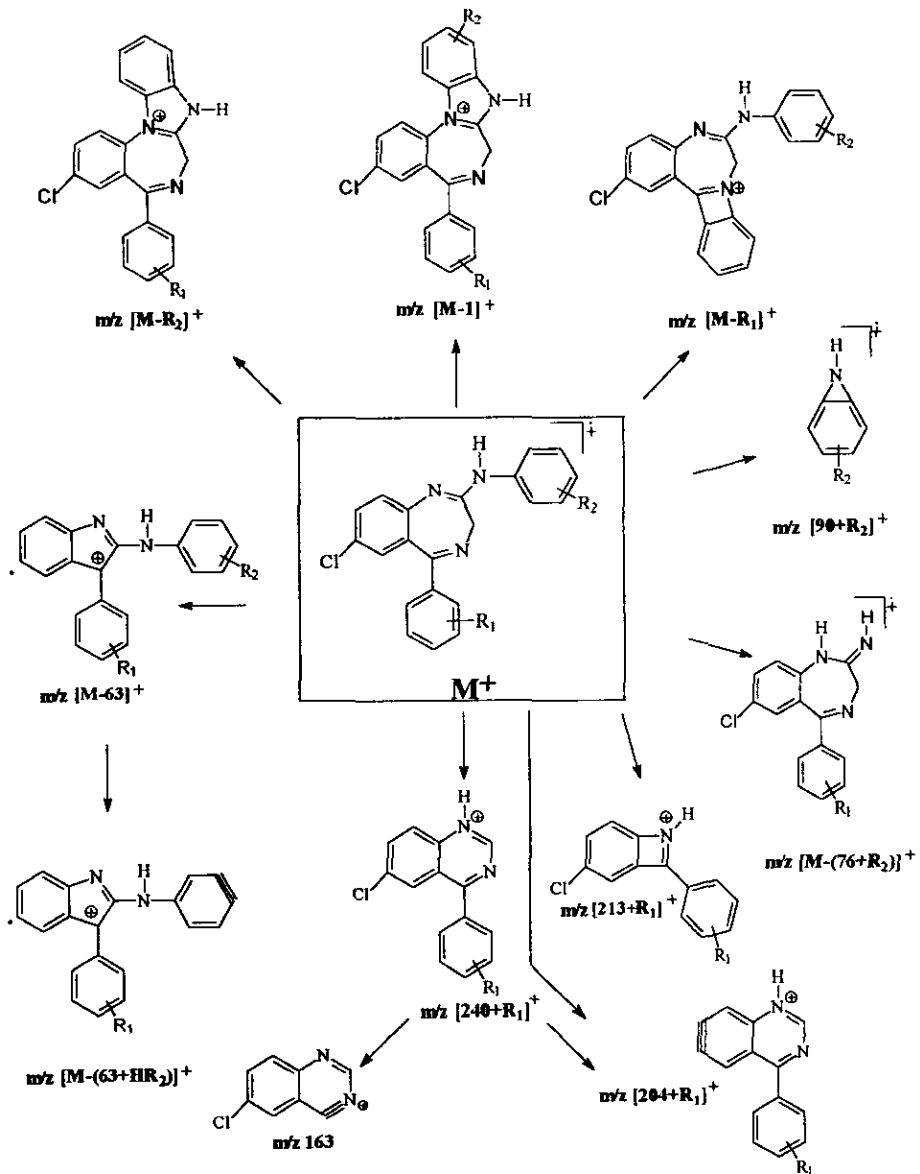
12) Formación del ion de m/z $[90+R_2]^+$

A partir del ion molecular se lleva a cabo la ruptura del enlace C_2-N , así como la pérdida de un hidrógeno "orto" del grupo fenilamina para dar origen a un radical iónico de tipo aziridina. Cuando $R_2 = p-OCH_3$ este fragmento es muy abundante debido a la contribución del grupo metoxilo para estabilizar la carga y al menor impedimento estérico que presenta con respecto al sustituyente R_2 en posición "orto". El mecanismo para la formación de este fragmento se propone en el Esquema 12.



Esquema 12

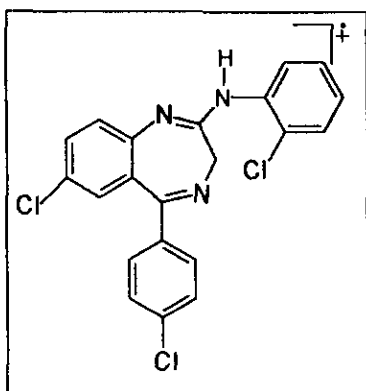
Una vez conocida la procedencia y composición de los fragmentos fue posible establecer el patrón general de fragmentación de la nueva familia de derivados de la 2-[(o-; p- R_2)-aminofenil]-3H-5-[(o-; p- R_1)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina (Esquema 13).



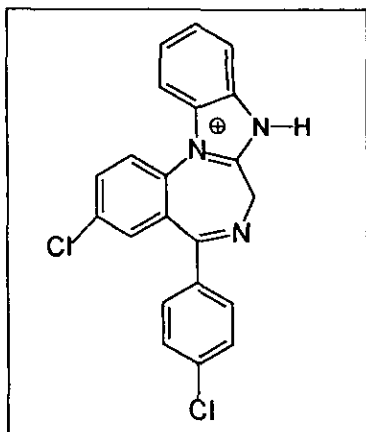
Esquema 13. Patrón general de fragmentación

ESTUDIO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE ALTA RESOLUCIÓN

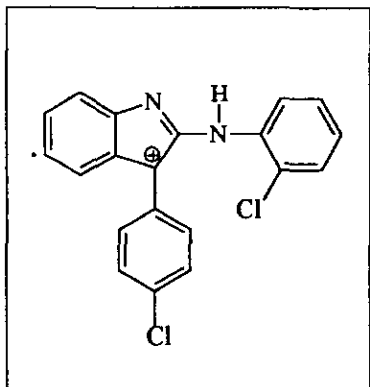
A continuación se presenta el análisis elemental de los fragmentos más importantes del espectro de masas de la 2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina.

ION MOLECULAR $[M]^+$

Fórmula molecular	$C_{21}H_{14}N_3Cl_3$
m/z observada	413.0231
m/z estimada	413.0253
Error estimado	-5.3

Ion de m/z $[M-R_2]^+$

Fórmula molecular	$C_{21}H_{14}N_3Cl_2$
m/z observada	378.0547
m/z estimada	378.0565
Error estimado	-4.6



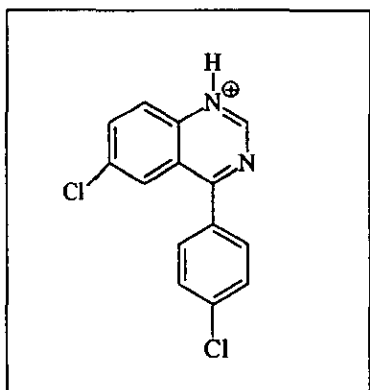
Ion de m/z $[M-63]^+$

Fórmula molecular $C_{20}H_{12}N_2Cl_2$

m/z observada 350.0365

m/z estimada 350.0378

Error estimado -6.4



Ion de m/z $[240+R_1]^+$

Fórmula molecular $C_{14}H_9N_2Cl_2$

m/z observada 275.0126

m/z estimada 275.0143

Error estimado -6.2

6.5 Análisis de Rayos X

Fue posible cristalizar el compuesto 2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-fluorofenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, obteniéndose cristales de tamaño adecuado para ser analizados por difracción de Rayos X de monocristal.

El análisis reveló una fórmula empírica $C_{21}H_{14}Cl_2FN_3$ y un peso molecular de 397.24 unidades los cuales concuerdan con los parámetros esperados para este compuesto. El sistema cristalino al que pertenece es el monoclinico con los siguientes parámetros de celda: $a= 17.020\text{Å}$, $b= 8.135\text{Å}$, $c= 27.579\text{Å}$, $\alpha= 90^\circ$, $\beta= 101.29^\circ$ y $\gamma= 90^\circ$.

La estructura obtenida por difracción de Rayos X (Figura 1) nos muestra que el enlace C_2-N_3 es sencillo y no doble como habíamos inferido mediante los análisis de RMN 1H . En la Tabla 6 se presentan algunas distancias de enlace seleccionadas, donde podemos corroborar que el enlace C_2-N_3 (1.363Å) es más largo que el N_1-C_2 (1.284Å), lo que nos sugiere que el doble enlace que habíamos planteado se encontraba fuera del anillo en realidad es endocíclico y se encuentra formado por el N_1 y el C_2 .

Tabla 6. Distancias de enlace seleccionadas del compuesto 2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-fluorofenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

Enlace	Distancia (Å)	Enlace	Distancia (Å)
C (2) – N (3)	1.363	C (18) – C (19)	1.394
C (2) – N (1)	1.284	C (19) – C (20)	1.376
C (5) – N (4)	1.291	C (20) – C (21)	1.370
C (3) – N (4)	1.470	C (21) – C (22)	1.387
C (10) – N (1)	1.399	C (22) – C (23)	1.373
C (18) – N (3)	1.412	C (23) – C (18)	1.389
C (3) – C (2)	1.516	Cl (7) – C (7)	1.751
C (5) – C (11)	1.484	F (1) – C (13)	1.272

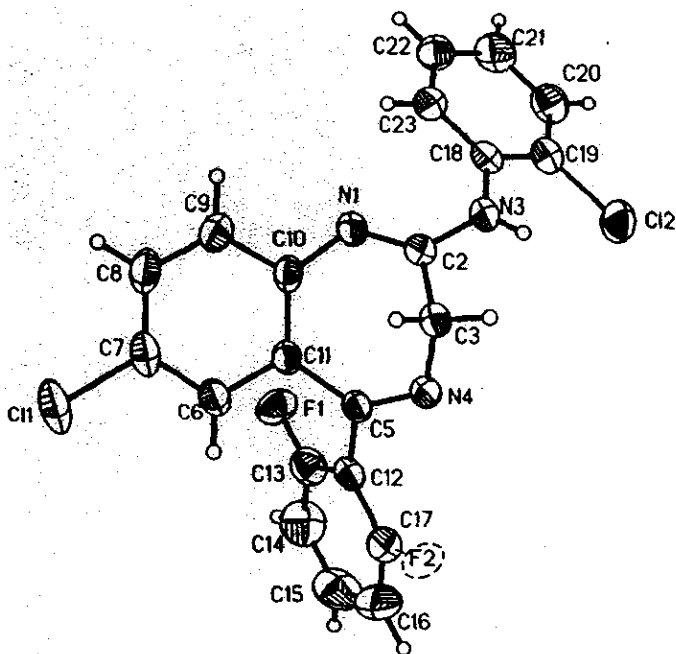


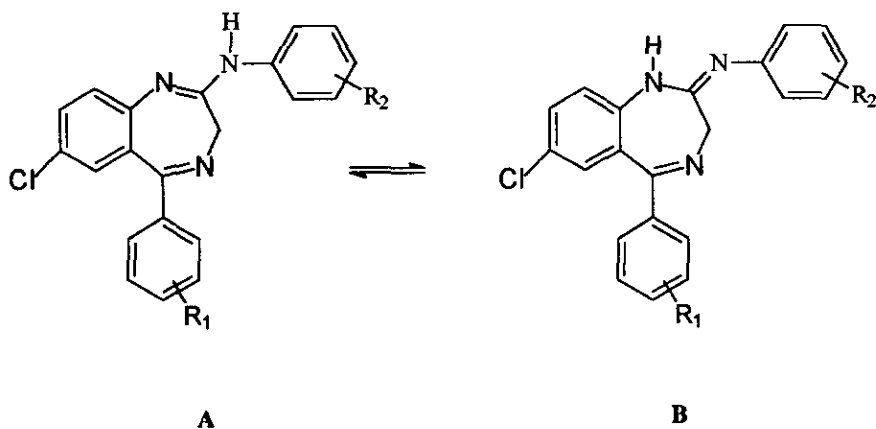
FIGURA 1. Rayos X de la 2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-fluorofenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

Con respecto a la estructura tridimensional, tenemos que la molécula no es plana.⁵³ El anillo diazepínico de siete miembros presenta una conformación de bote mientras que los sustituyentes de las posiciones 2 y 5 se encuentran fuera del plano con respecto al núcleo benzodiazepínico (Figura 1).

CONCLUSIONES

1. Se sintetizaron doce nuevos derivados de la 2-[(o-; p-R₂)-aminofenil]-3H-5-[(o-; p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, compuestos con posible actividad farmacológica, mediante una ruta sintética de seis pasos la cual incluye la sustitución de un grupo tio-metil por un grupo R₂-aminofenil, en el último paso, con un rendimiento del 60-80%.
2. Se estableció el patrón general y los mecanismos de fragmentación, en Espectrometría de Masas, de los nuevos compuestos sintetizados con respaldo de experimentos de Alta Resolución y Disociación Inducida por Colisión (CID).
3. Con relación al patrón de fragmentación se concluye lo siguiente:
 - a) Todos los compuestos sintetizados presentan el mismo patrón de fragmentación.
 - b) El ion molecular es el pico base cuando el sustituyente R₂ se encuentra en posición "para". Su abundancia relativa disminuye cuando R₂ esta en posición "orto".
 - c) Si R₂ se encuentra en posición "orto" el pico base del espectro de masas es el fragmento [M-R₂]⁺, debido al llamado "efecto orto".
 - d) La comparación de la abundancia relativa del ion molecular, M⁺, y del fragmento [M-R₂]⁺ nos permite establecer si el sustituyente del grupo aminofenil se encuentra en posición "orto" o "para".
 - e) La presencia del ion de m/z [M-R₁]⁺ es mucho más abundante cuando el sustituyente R₁ se encuentra en posición "orto" que cuando se encuentra en posición "para".

- f) Los iones más importantes en los espectros de masas de los doce nuevos derivados son: M^+ , $[M-R_1]^+$, $[M-R_2]^+$, $[M-1]^+$, $[M-63]^+$, $[M-(63+HR_2)]^+$, $[M-(76+R_2)]^+$, $[240+R_1]^+$, $[213+R_1]^+$, $[204+R_1]^+$, m/z 163 y $[90+R_2]^+$.
4. Fue posible llevar a cabo un estudio completo de RMN 1H y ^{13}C , así como el análisis de Rayos X de dos de los compuestos obtenidos. Con respecto a ellos se puede concluir lo siguiente:
- a) Los desplazamientos químicos observados en RMN 1H para los hidrógenos $H_{2''}$ y $H_{6''}$ sugieren que, en solución, los nuevos compuestos adoptan preferentemente la estructura del isómero B del siguiente equilibrio:



- b) Del tautómero B del inciso anterior se proponen dos isómeros conformacionales, SYN y ANTI, para explicar el comportamiento de $H_{6''}$. El isómero ANTI favorece la interacción de $H_{6''}$ con el par de electrones libres del N_4 lo que ocasiona una desprotección del núcleo y, consecuentemente, un desplazamiento en el espectro de RMN 1H a campo más bajo del esperado.

- c) Por difracción de Rayos X de monocristal se determinó la estructura tridimensional del compuesto 2-[(o-;p-R₂)aminofenil]-3H-5-[(o-;p-R₁)-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, la cual resultó no ser plana. El anillo diazepínico de siete miembros tiene conformación de bote y los sustituyentes aromáticos de las posiciones 2 y 5 se encuentran perpendiculares con respecto a este. En su forma cristalina, el compuesto analizado adopta la estructura A del equilibrio mostrado en el inciso a de este apartado.

APENDICE

IR

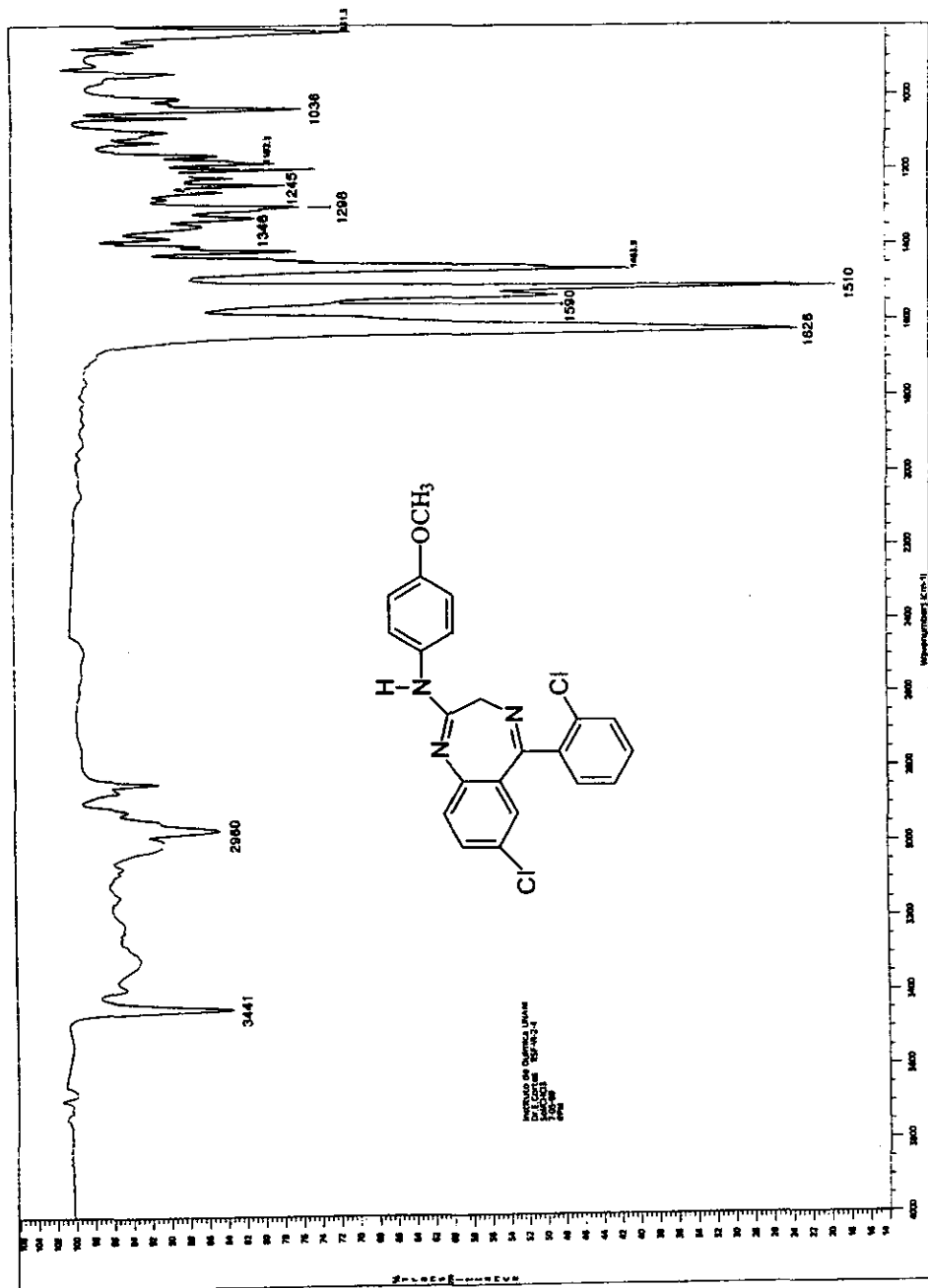
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	74
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	75

RMN

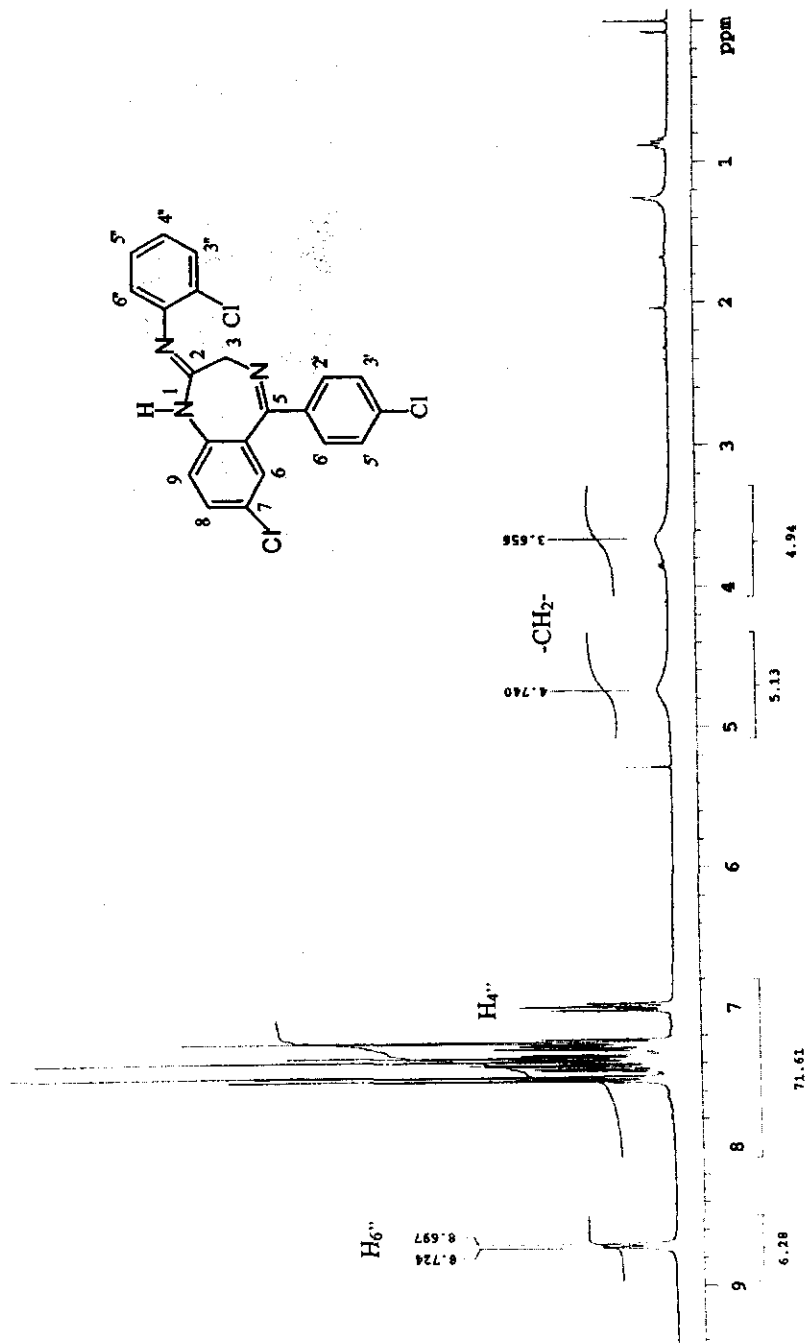
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹ H	76
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹ H	77
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, COSY	78
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹³ C	79
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, HETCOR	80
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, FLOCK	81
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹ H	82
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹³ C	83
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, APT	84
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹ H	85
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹³ C	86
2-[o-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹ H	87
2-[o-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, ¹³ C	88

EM

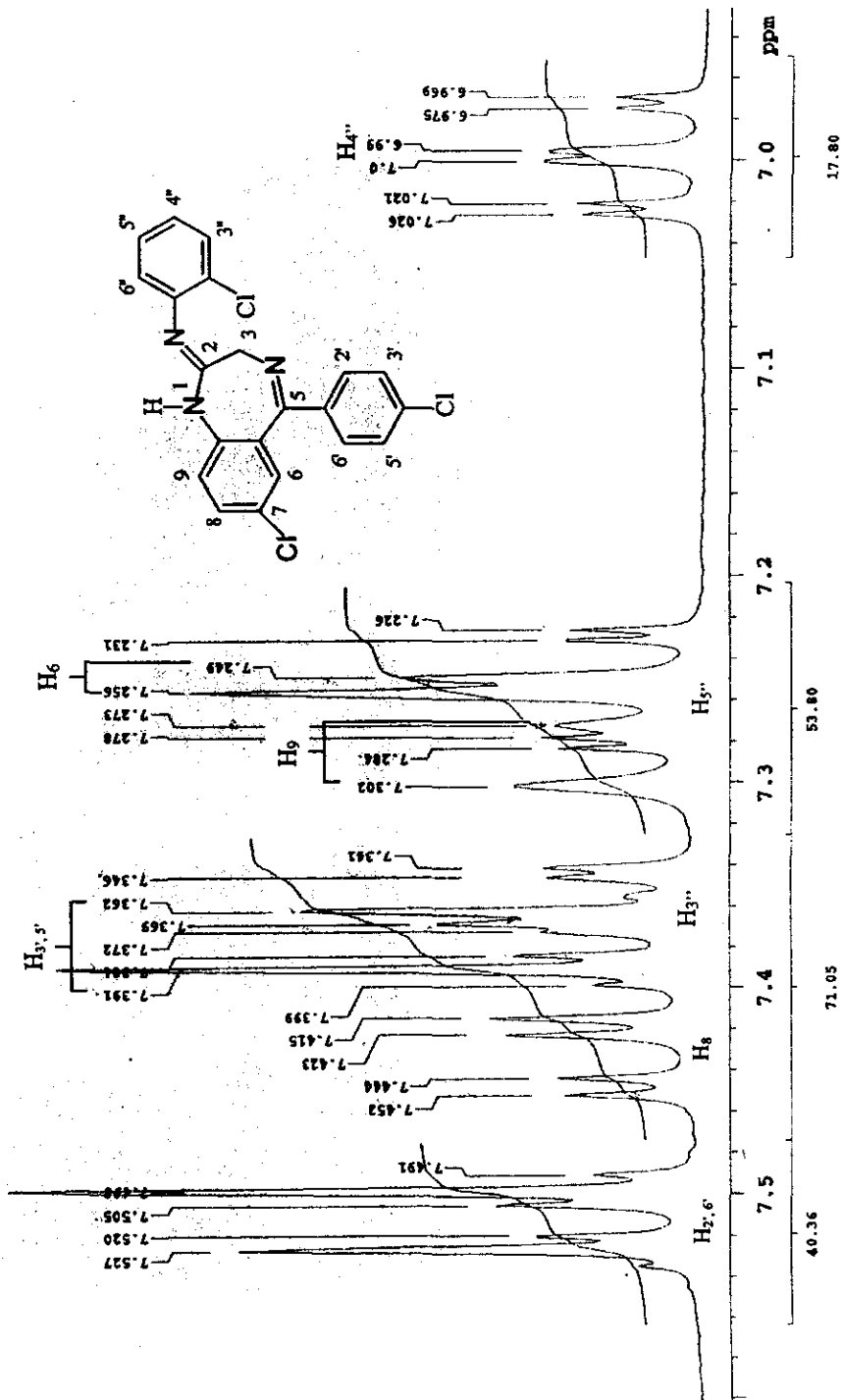
2-[p-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	89
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, EM y CID	90
2-[p-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	93
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	94
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	95
2-[o-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	96
2-[p-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	97
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[p-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	98
2-[p-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	99
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	100
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	101
2-[o-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina	102



2-[p-metoxi-aminofeni]-3H-5-[o-cloro-feni]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, IR

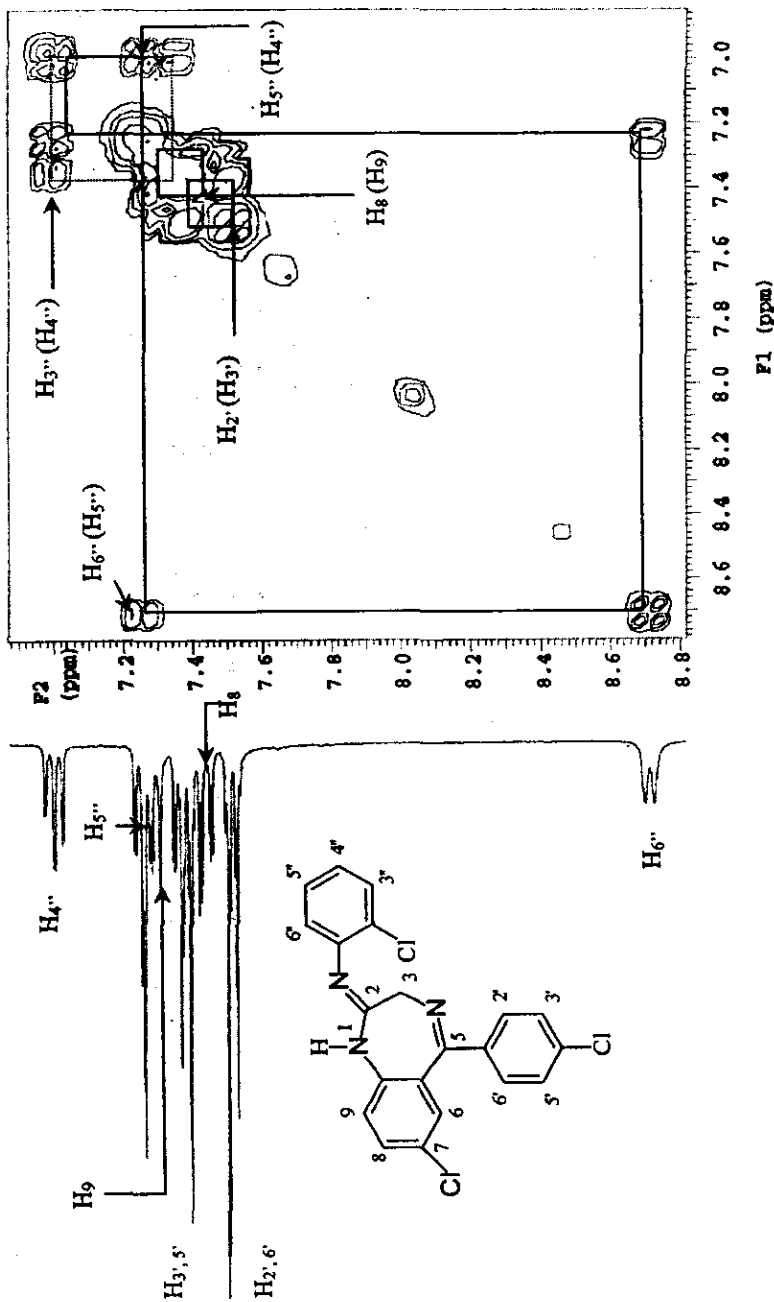


2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹H 300MHz



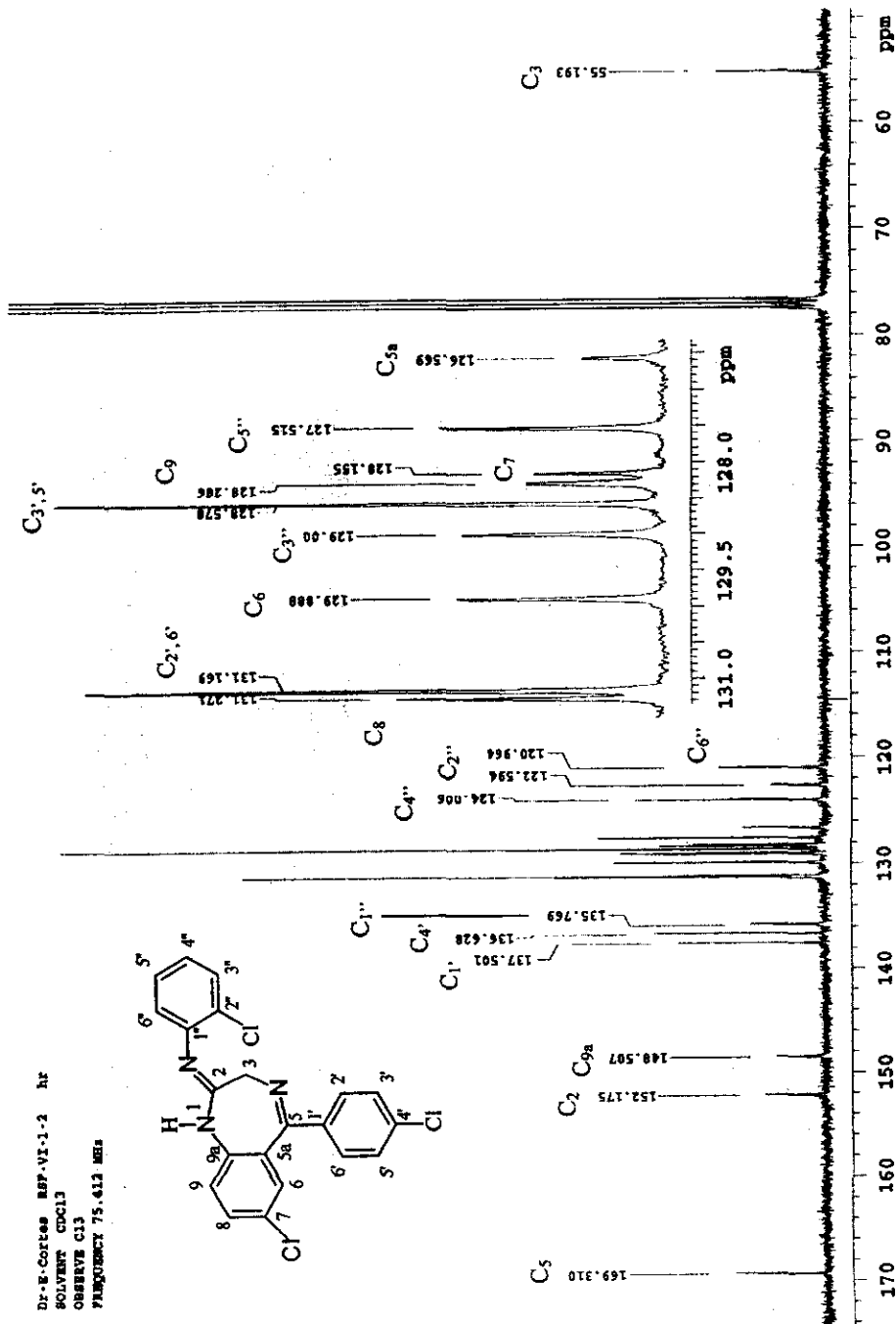
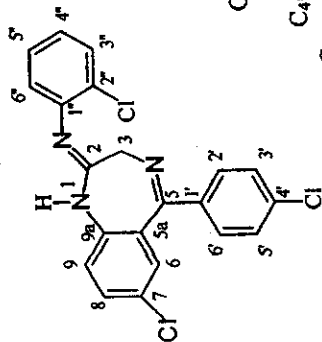
2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹H 300MHz

Dr. E. Cortes REF-VI-1-2 hr
 Experimento: COSY
 SOLVENT: CDCl₃
 PULSE SEQUENCE relayh
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 299.877 MHz



2-[o-chloro-amino-fenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, COSY

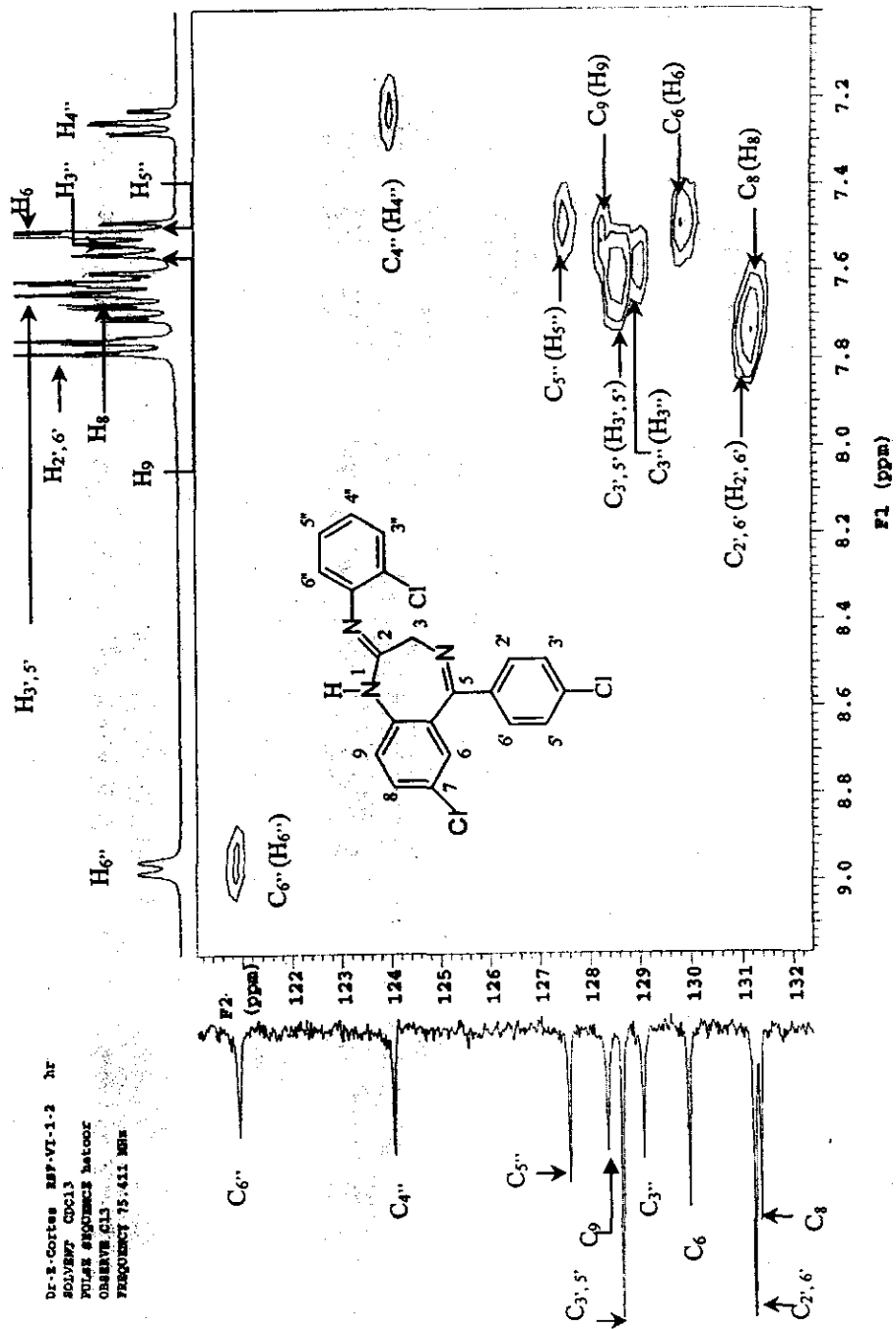
Dr. E. Cortés BPP-VI-1-2 Rf
 SOLVENT: CCl₄
 OBSERVE: C13
 PULSOMETRY 75.412 MHz



2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹³C

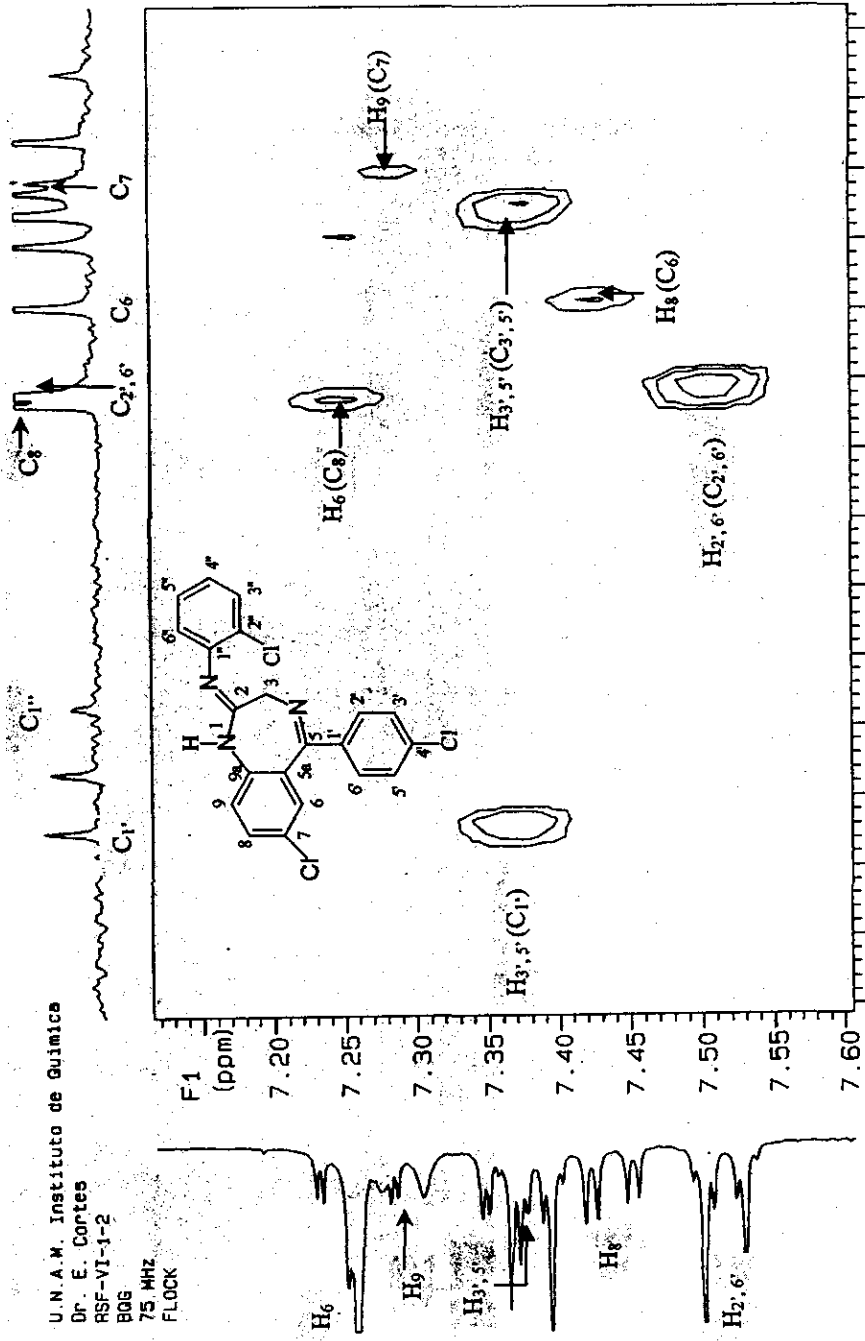
**ESTA TESIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Dr. S. Cortes REP-VI-1-2 2F
 SOLVENT: CDCl₃
 PULS SEQUENCE: MANGO
 OBSERVE: CL3
 FREQUENCY: 15.411 MHz



2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, HETCOR

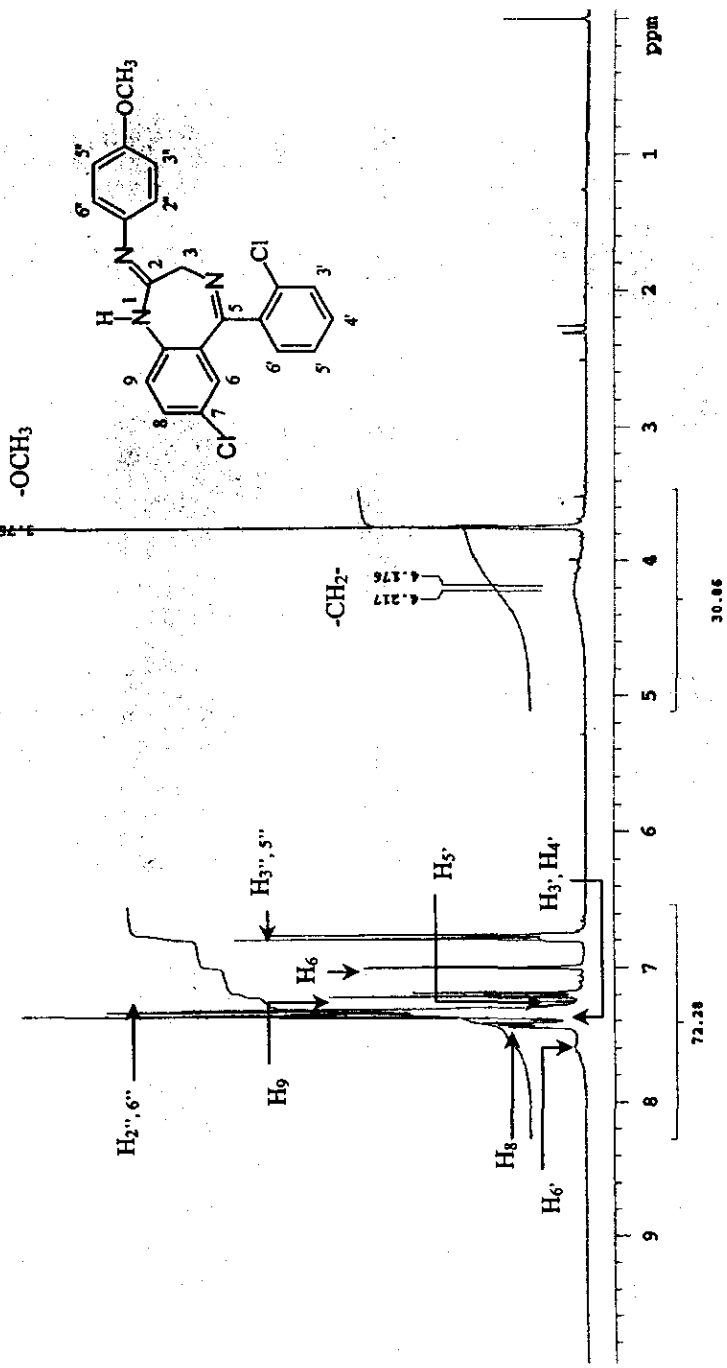
U. N. A. M. Instituto de Guimica
 Dr. E. Cortes
 RSF-VI-1-2
 BOG
 75. MHz
 FLOCK



F2 (ppm)

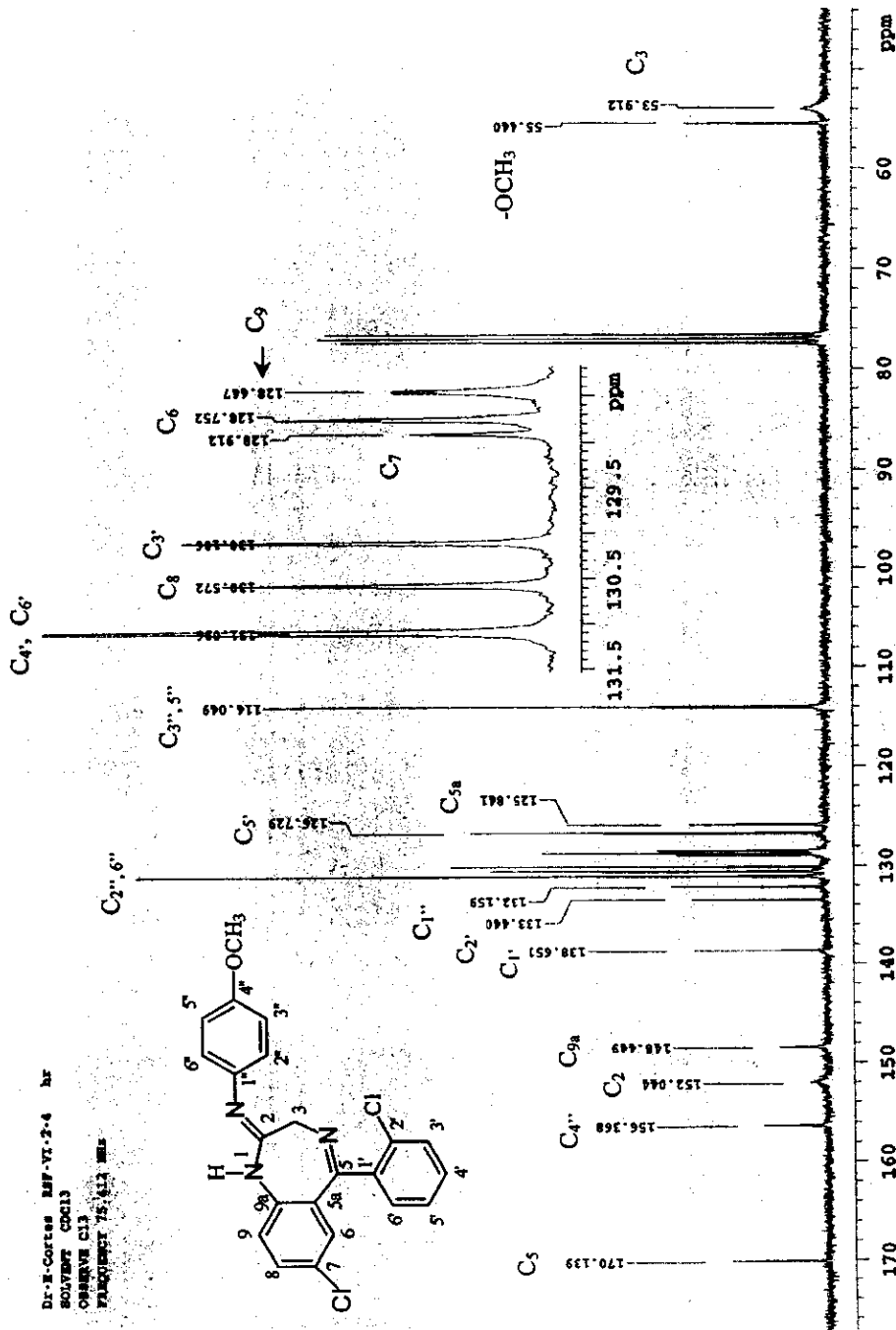
2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, FLOCK (HMBC)

Dr. E. Cortes MSP-VI-3-4 NR
 SOLVENT CDCl₃
 OBSERVE H₁
 FREQUENCY 299.877 MHz



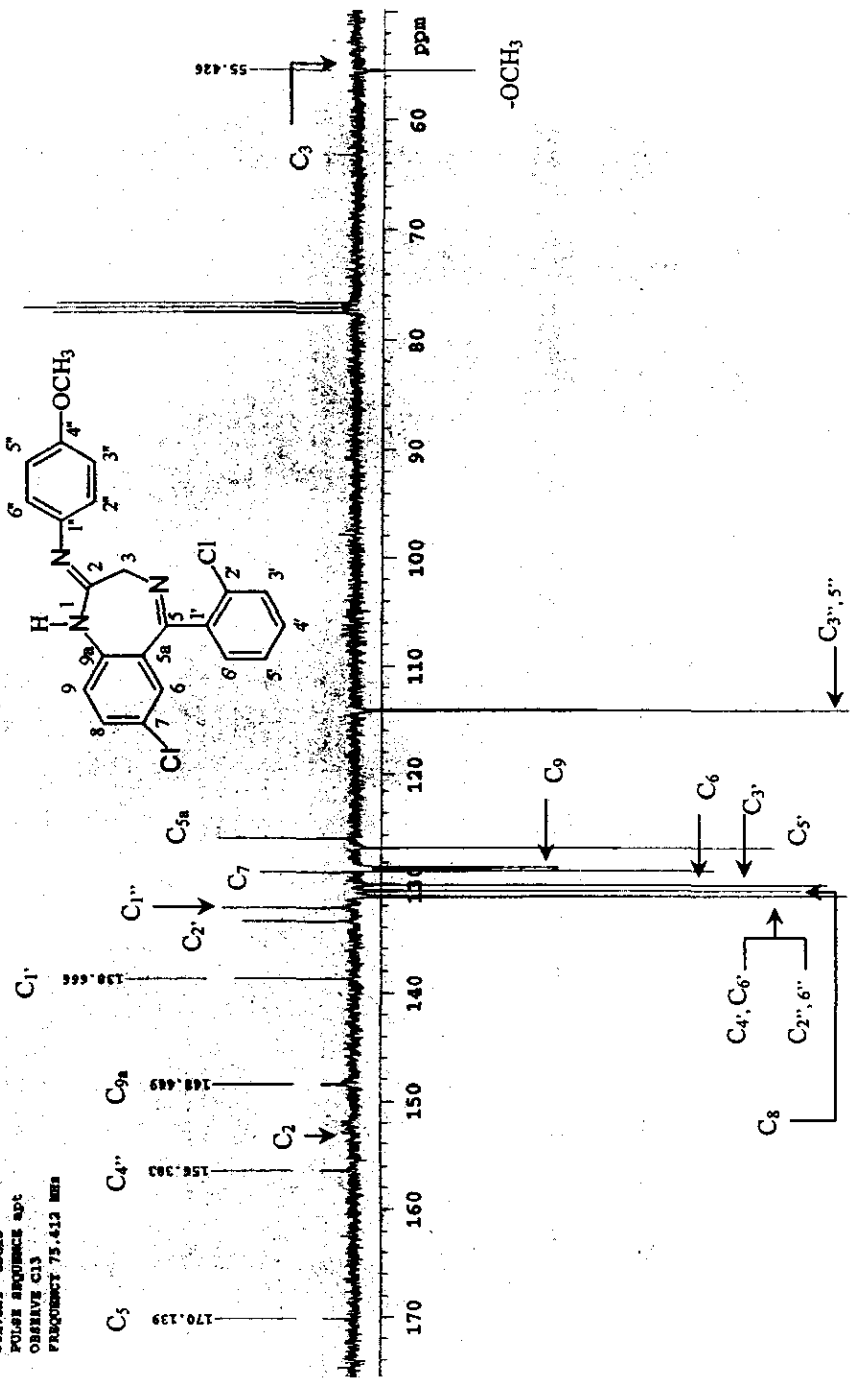
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹H 300MHz

Dr. E. Cortés REF. VI. 2-4 hr
 SOLVENT CDCl₃
 OBSERVE C13
 PULSOMET 75, 4.3 ms



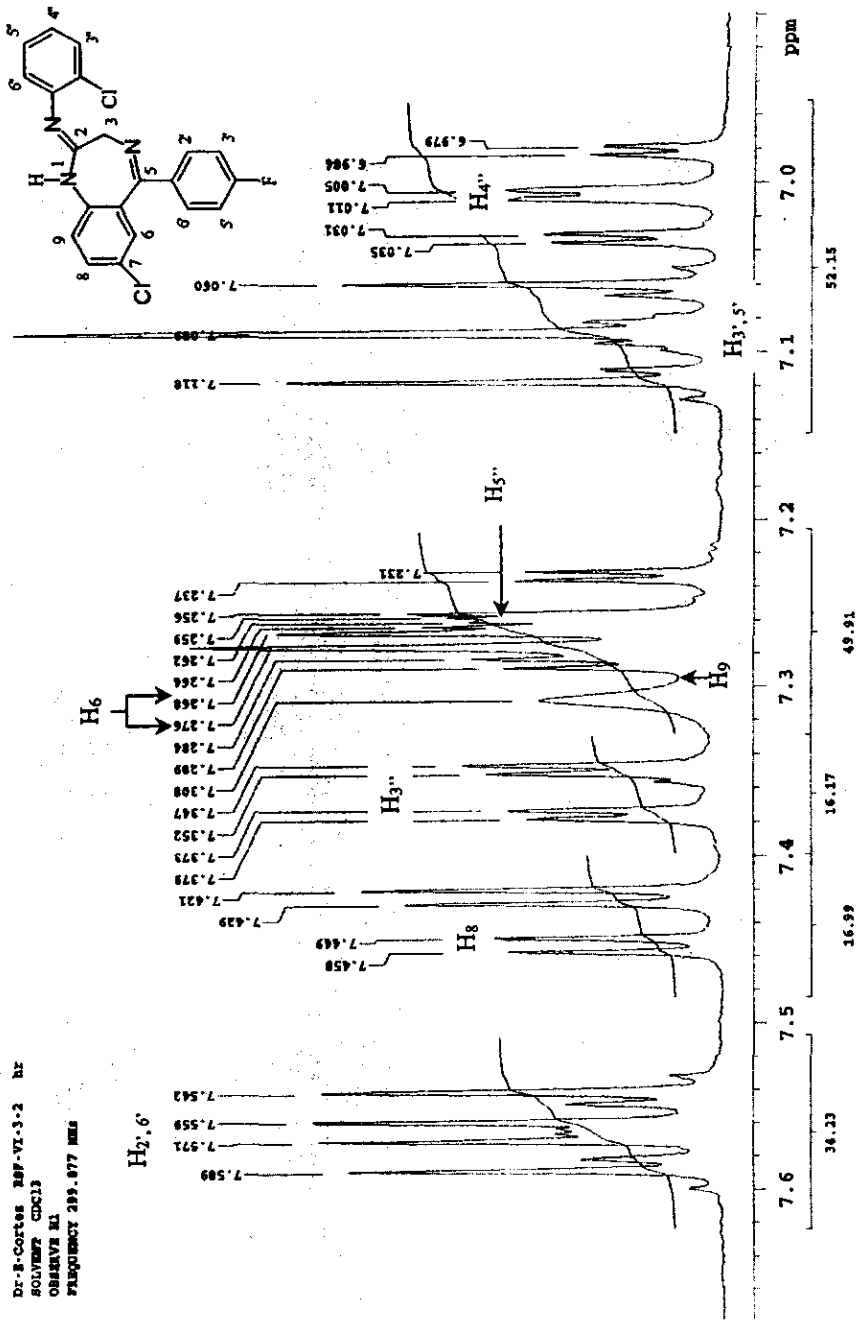
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹³C

Dr. R. Cortes ESP-VI-3-4 hr
 SOLVENT: CCl₄
 PULSE SEQUENCE: apt
 OBSERVE: C13
 FREQUENCY: 75.412 MHz



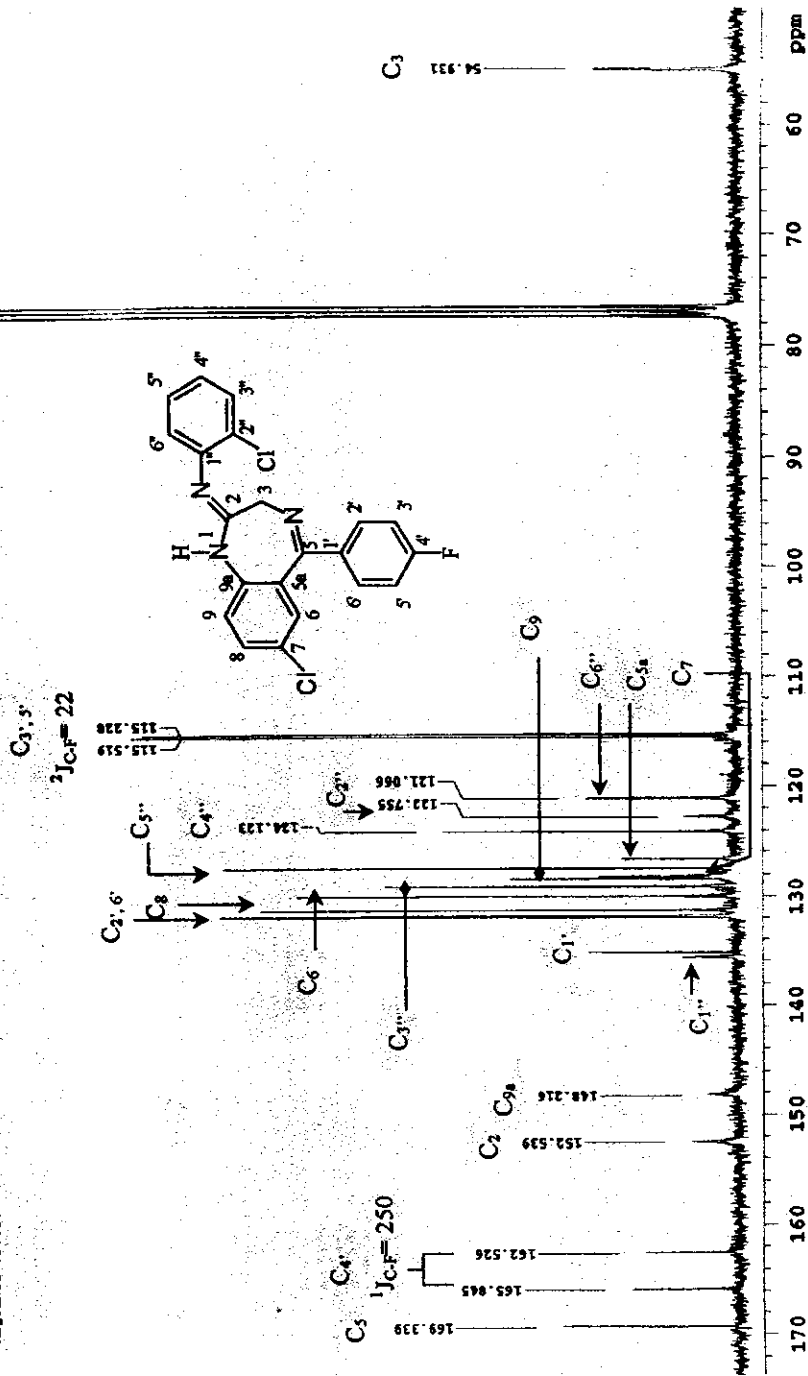
2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-clo-ro-fenil]-7-clo-ro-1,4-benzodiazepina, APT

Dr. B. Cortes 88F-VI-3-2 NF
 SOLVENT CDC13
 OBSERVE 61
 FREQUENCY 299.877 MHz

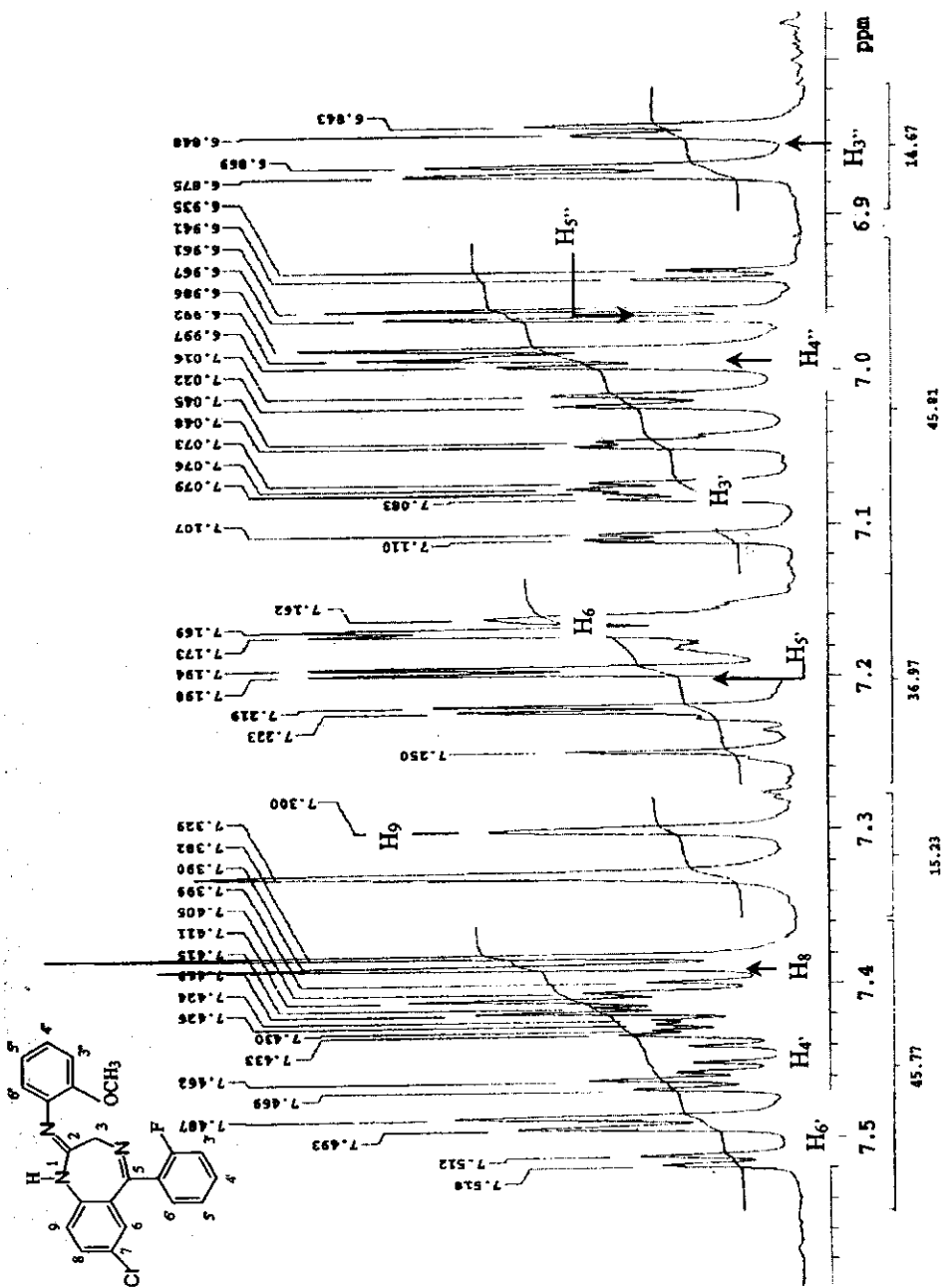


2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹H 300 MHz

Dr. S. Cortes MSF-VI.3-2 hr
 SOLVENT CDCl₃
 OBSERVE C13
 PULPROGNET 75.413 MHz

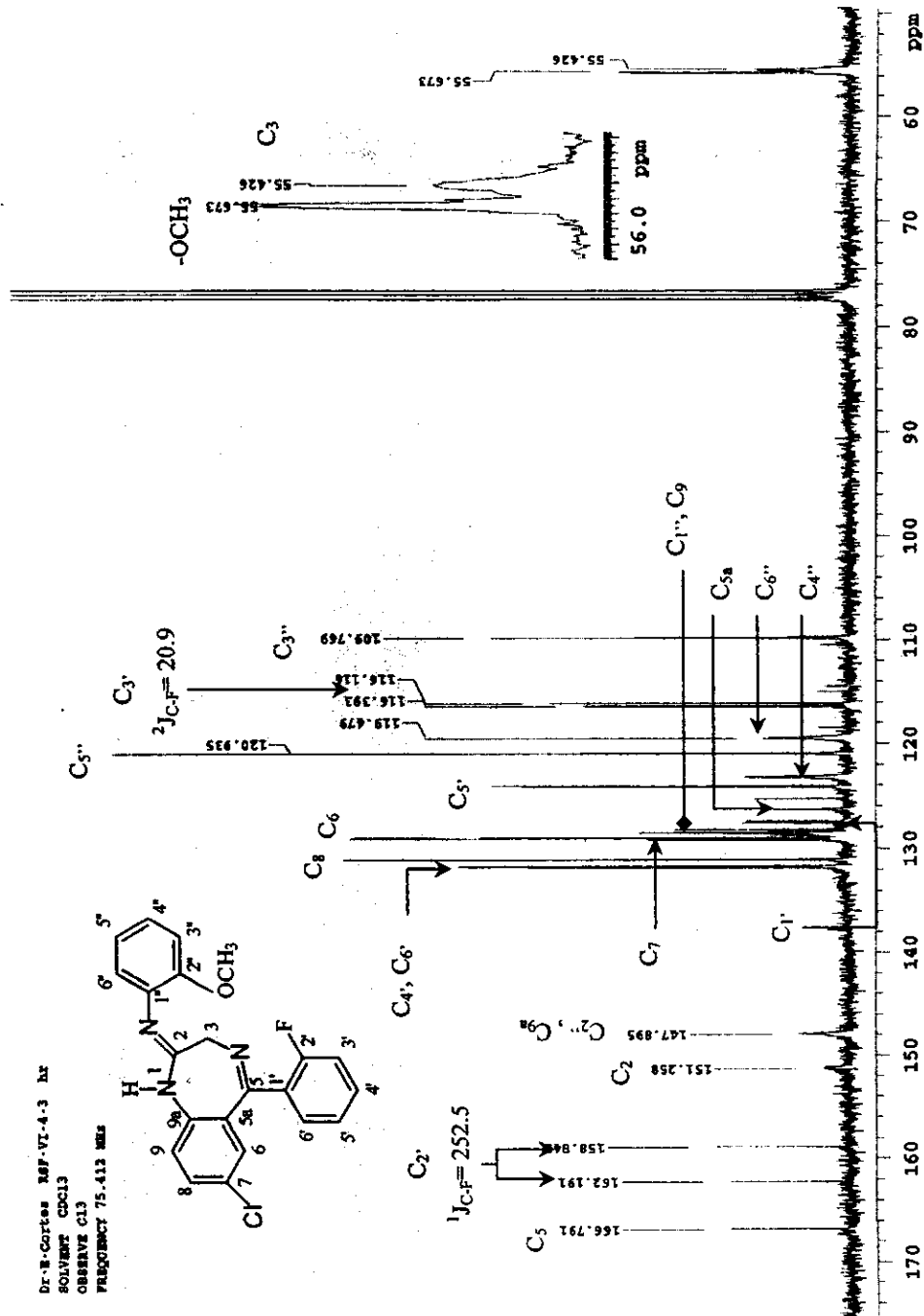
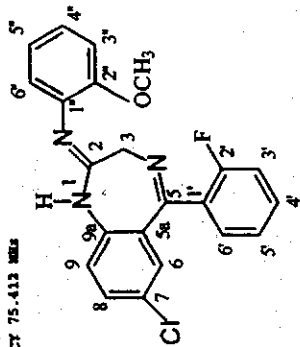


2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹³C



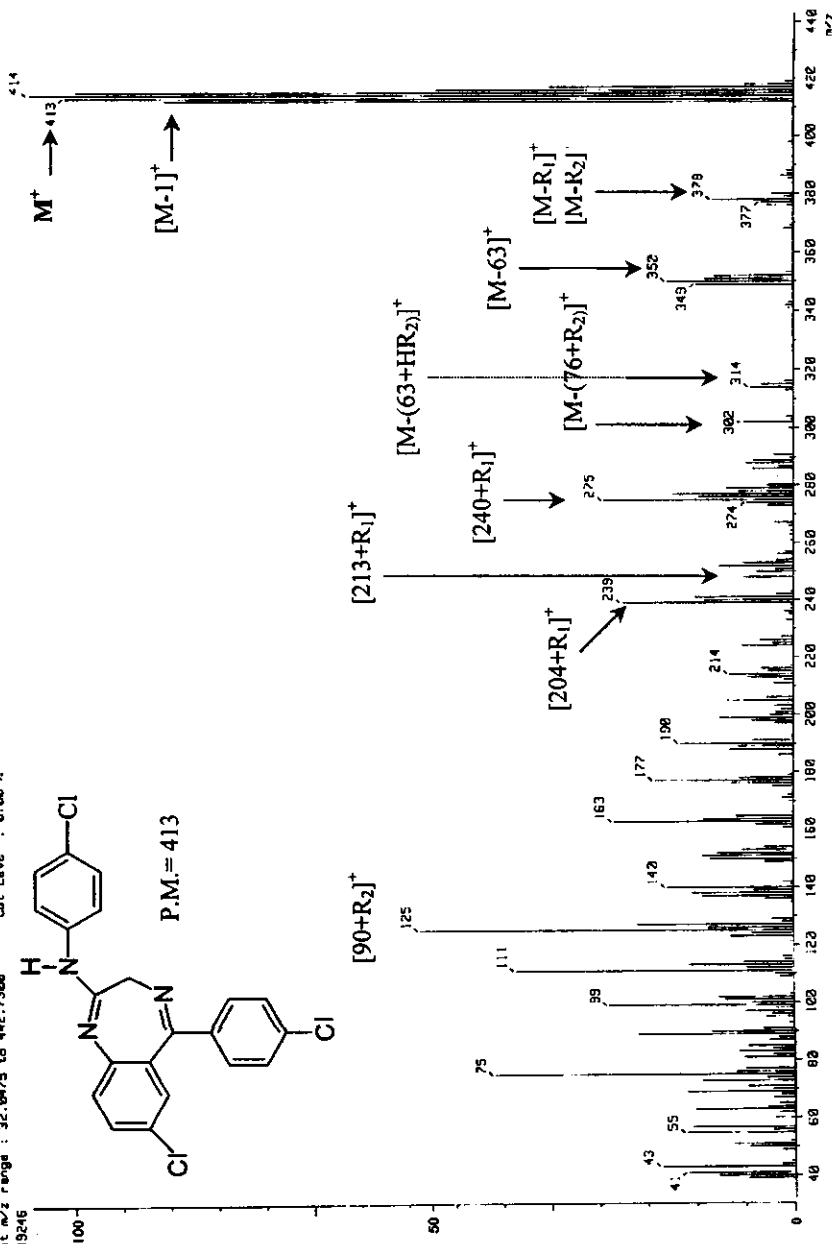
2-[o-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹H 300 MHz

Dr. B. Cortes 10F-VI-4-3 hr
 SOLVENT CDCl₃
 OBSERVE CL3
 FREQUENCY 75.412 MHz



2-[o-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, RMN ¹³C

: Mass Spectrum]
 Data : Br-Cortés-Eduardo-858
 Sample: RSF-VI-1-1
 Note : -
 Inlet : Direct
 Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion (MF-Linear)
 RT : 1.66 min. Scan# : (35.77)
 BP : 1/2 28.80000 Int. : 268.53
 Output m/z range : 32.9475 to 442.7300
 349246



2-[p-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

(Mass Spectrum)
 Data : Dr-Contar-Eduardo-882
 Sample : RSF-VI-12

Notes : Direct Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion (W-L,Linear)

RT : 1.66 min

BP : m/z 378.8888

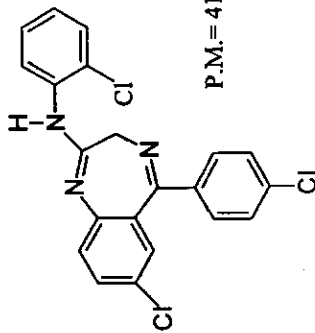
Output m/z range : 7.1217 to 462.9888

4964518

Temp : 174.1 deg.C

Int. : 472.88

Cut Level : 0.00 X



2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

Sample: RZF-VI-1-2a

Note: -

Ion Mode: E1+

Inlet: Direct

Spectrum Type: Product (m/z 412.00, 1st FFR, FC: 0.00kV)

RT: 1.45 min

Scan: 15.161

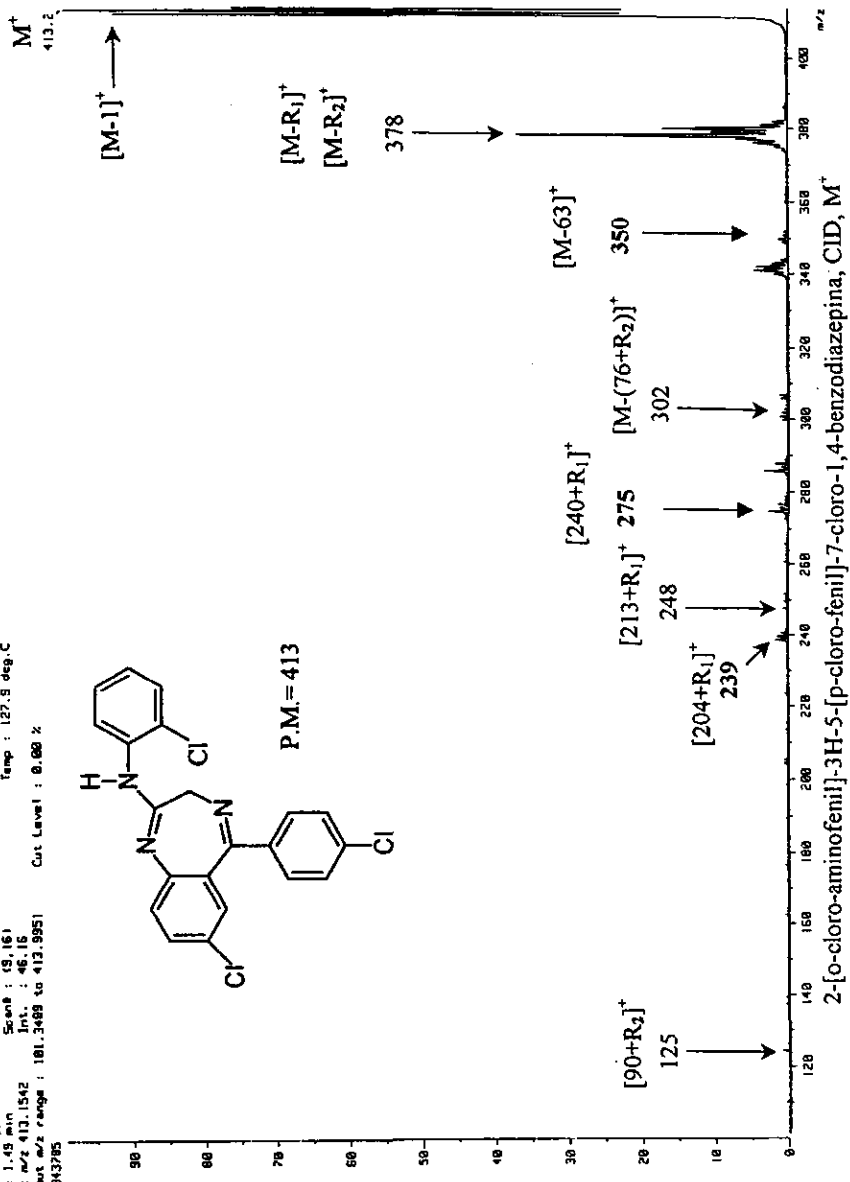
BP: m/z 412.1542

Int.: 46.16

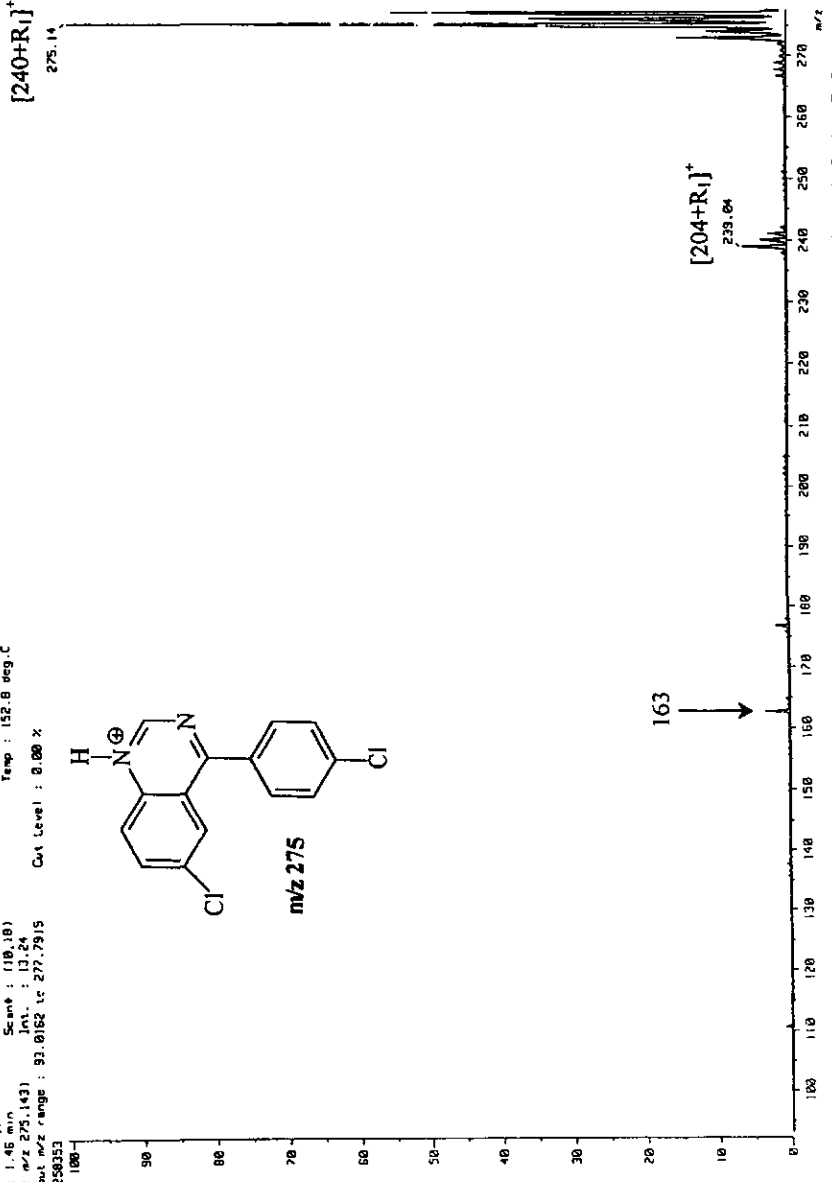
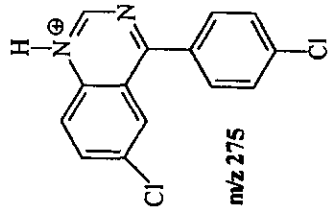
Output: m/z range: 101.3489 to 412.9951

Cut Level: 0.00 %

3843785



Date : 24-Aug-98 12:34
 Sample: RSF-VI-1-24
 Note : -
 Inlet : Direct
 Ion Mode : EIT
 Spectrum Type : Product (m/z 275.06, 1st EFR, FC: 0.00kV)
 RT : 1.46 min Scan# : (10,10)
 BP : m/z 275.143 Int. : 13.24 Temp : 152.0 deg.C
 Output m/z range : 93.0162 to 277.7915
 Cutoff Level : 0.00 x
 1258353



2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina, CID, m/z 275 (m/z [240+R₁])

Sample: RSP-VI-2-1

Note: [Ion Mode: EI+]

Inlet: Direct

Spectrum Type: Normal Ion (W-Linear)

RT: 2.11 min Scan: (59.92)-(59.61)

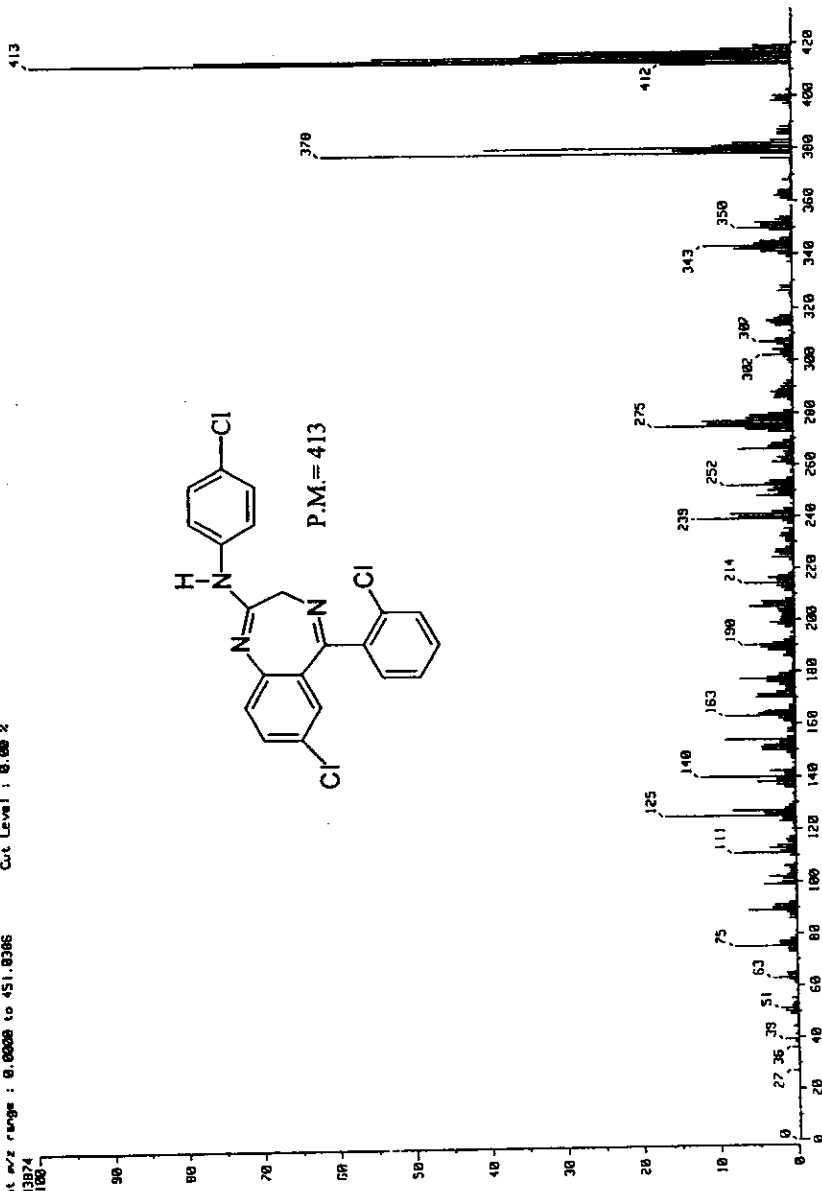
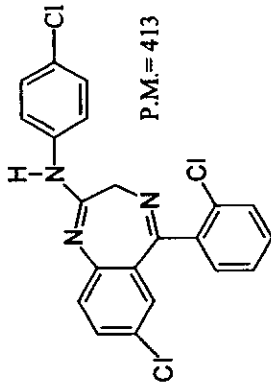
BP: m/z 413.0000 Int.: 217.81

Output m/z range: 8.0000 to 451.0366

2263974

Cut Level: 0.00 %

Temp: 243.8 deg.C



2-[p-chloro-aminofenil]-3H-5-[o-chloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

Sample: R5F-VI-2-2

Note: -
Inlet: Direct
Ion Mode: EI+

Spectrum Type: Normal Ion [F-L,linear]

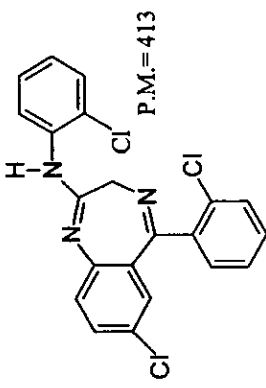
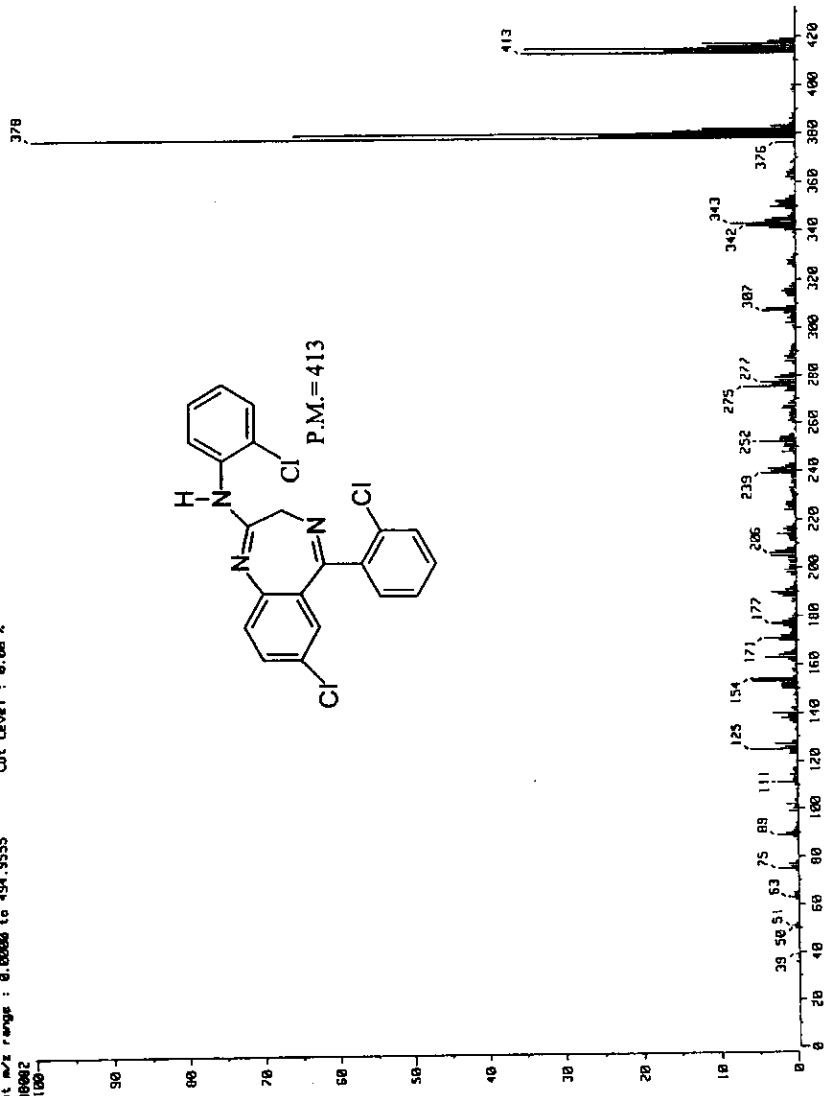
RT: 1.53 min Scan#: (41,63)-(41,47)

Temp: 130.2 deg.C

BP: m/z 378.06680 Int.: 502.86

Output m/z Range: 8.0000 to 494.9555

5280982



2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[o-chloro-fenil]-7-chloro-1,4-benzodiazepina

Sample: BCF-V(2-4

Note: -

Inlet: Direct

Ion Mode: E(+

Spectrum Type: Normal Ion

Scan# : 176

Temp : 297.2 deg.C

RT : 2.66 min

Scan# : 176

Temp : 297.2 deg.C

AP : 402.0000

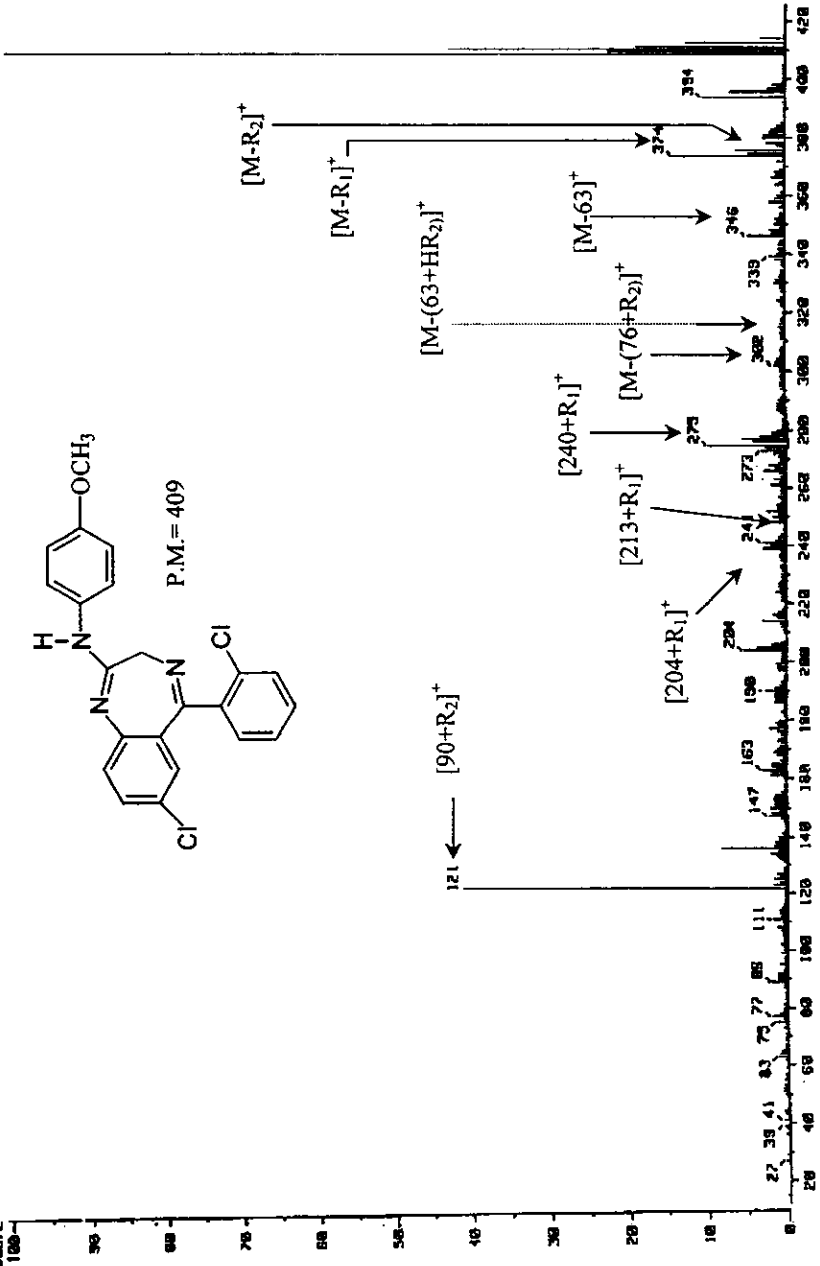
Int. : 297.00

Temp : 297.2 deg.C

Output file range : 11.0004 to 400.0077

Cut Level : 0.00 K

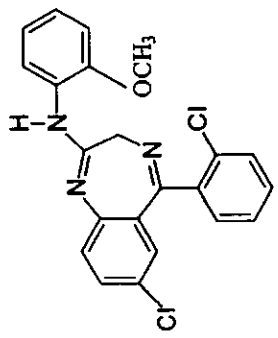
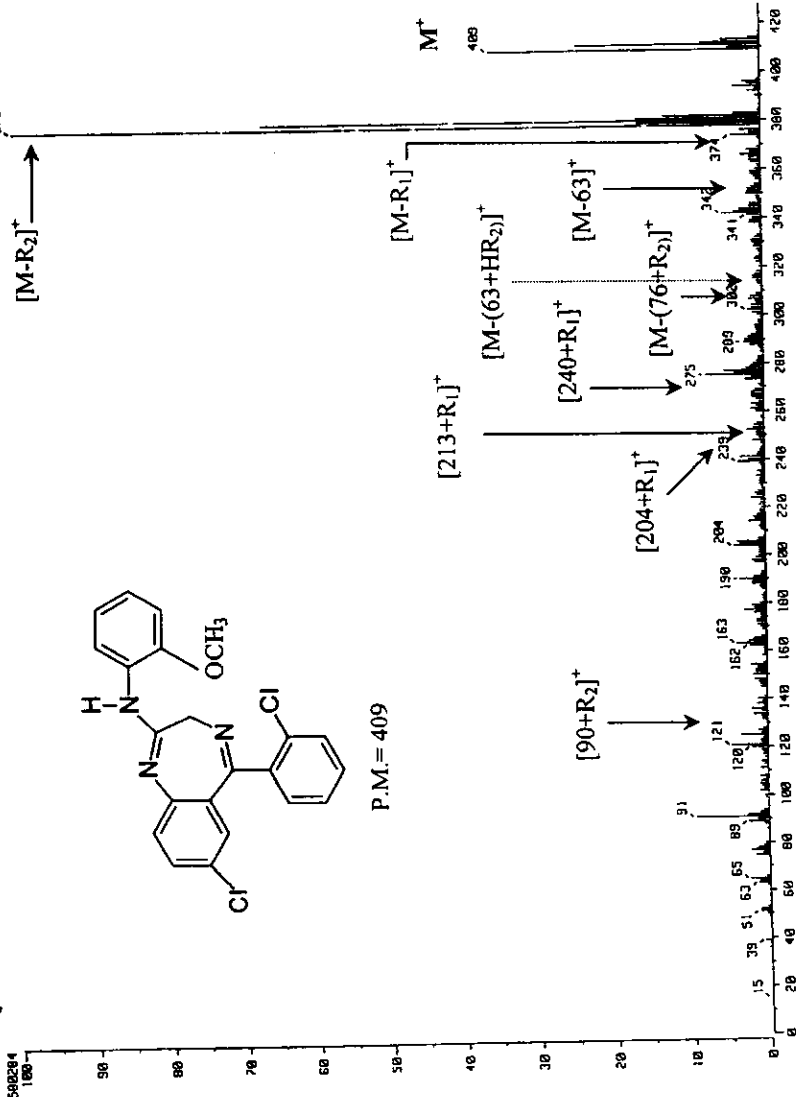
18003372



2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

Sample: R57-VI-2-3

Notes :
Inlet : Direct
Spectrum Type : Normal Ion (M⁺-Linear)
Temp : 223.7 deg.C
RT : 2.23 min
Scan# : (57,93)-(56,63)
BP : m/z 376.8686
Int# : 435,55
Output w/z range : 0.0000 to 484.2730
Cut Level : 0.000 X
4560284



P.M.= 409

2-[o-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-cloro-fenil]-7-c-loro-1,4-benzodiazepina

Sample: R5F-VI-3-f

Note: -

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion (M-L, Inset)

Scans : (26,48)-(26,28)

Temp : 119.6 deg.C

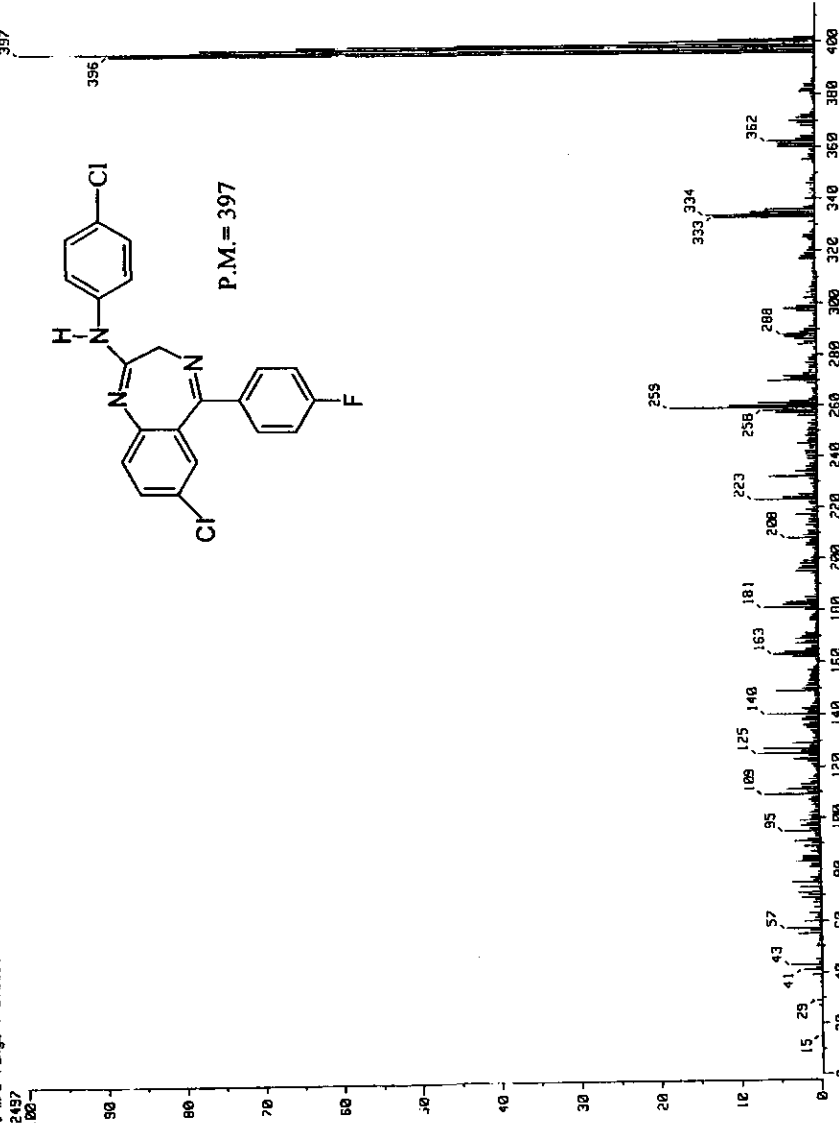
RT : 1.06 min

BP : m/z 397.0200

Int. : 293.12

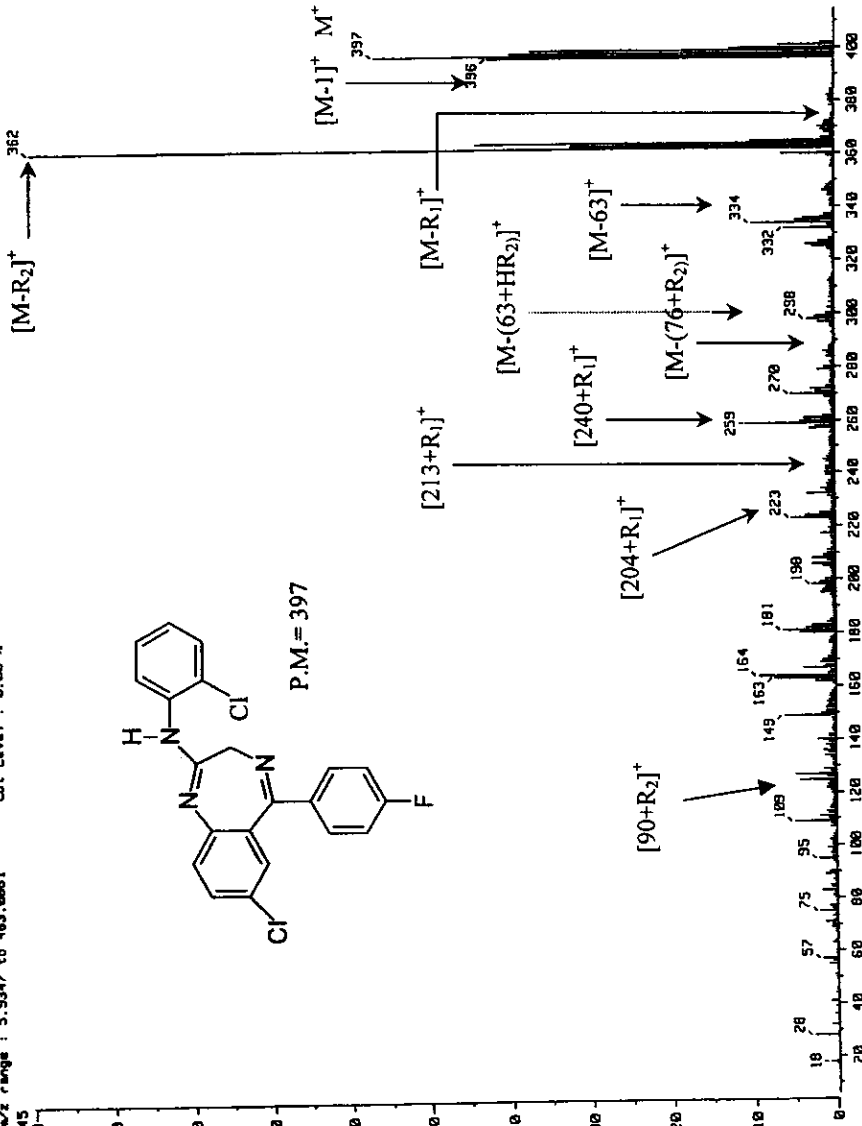
Output m/z range : 0.0000 to 478.3363

Cut Level : 0.00 x



Sample: RSF-VI-3-2

Note: -
Inlet: Direct Ion Mode: E1+
Spectrum Type: Normal Ion (HF-Linear)
RT: 1.165 min Scan#: (33,79)-(33,54)
Temp: 35.8 deg.C
BP: m/z 362.8688 Int.: 623.67
Output m/z range: 5.9347 to 483.8861
Cut Level: 0.00 %
6558545



2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[p-fluoro-fenil]-7-chloro-1,4-benzodiazepina

Sample: 25-VI-4-1

Note: -

Inlet: Direct

Spectrum Type: Normal Ion [M-Linear]

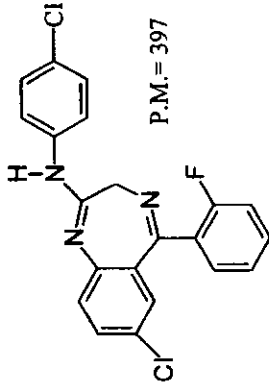
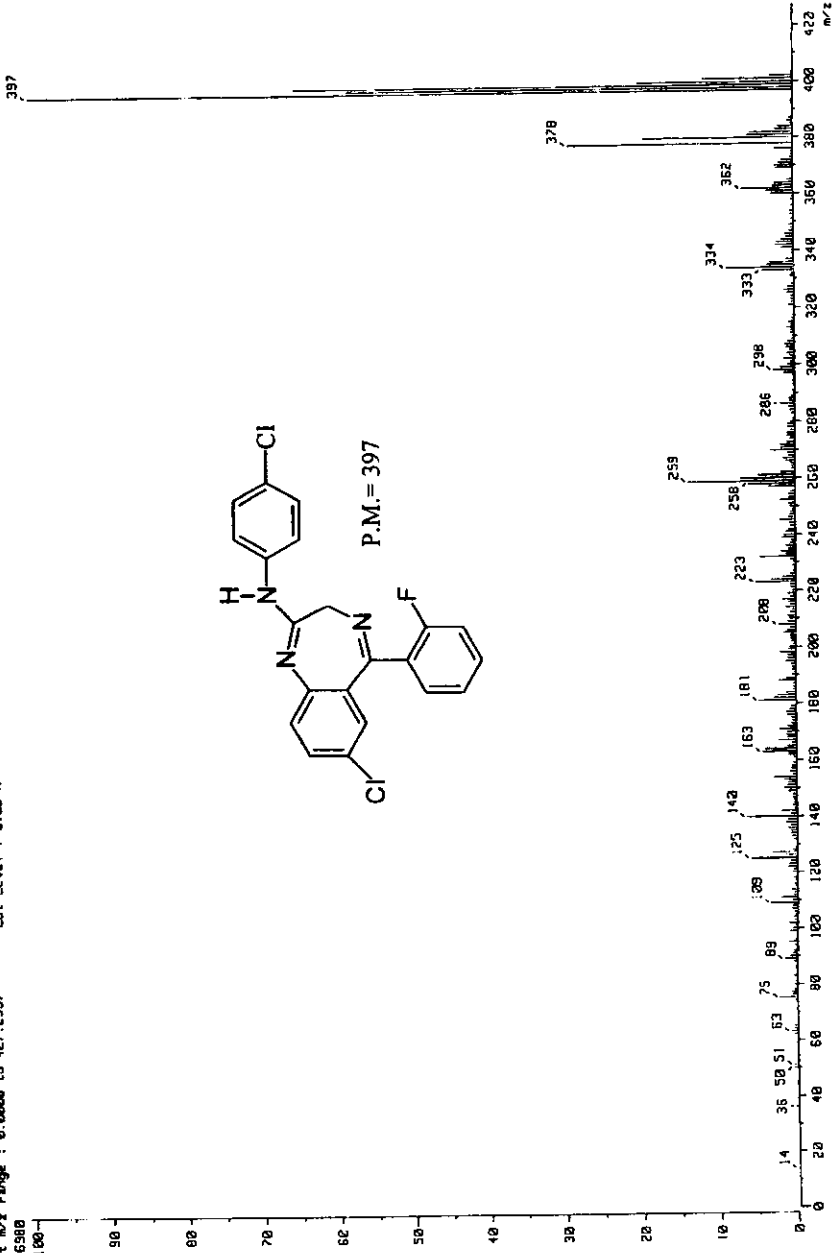
RT: 1.69 min Scan# : (48,67)-(47,56)

BP: m/z 397.0000 Int.: 341.96

Output m/z range: 0.0000 to 427.2597

Cut Level: 0.00 %

3516580



2-[p-cloro-aminofeni]-3H-5-[o-fluoro-feni]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

Sample: RSF-VI-4-2

Note: Direct Ion Mode: EI+

Inlet: Direct Ion (F1-Linear)

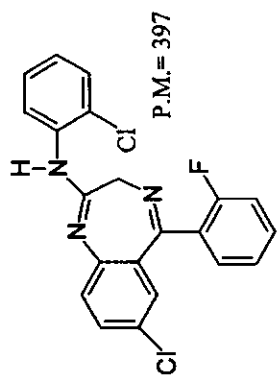
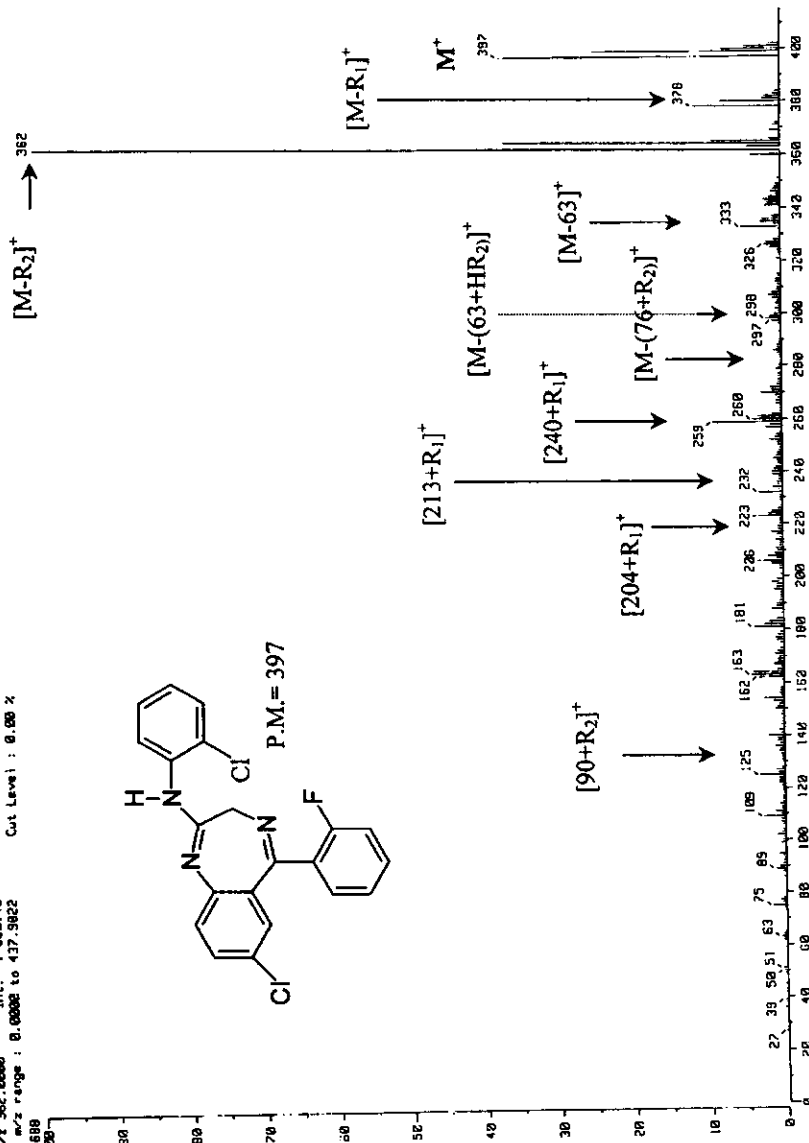
Spectrum Type: Normal Scan: (25.44)-(25.31)

RT: 1.00 min. Scan: 558.49

Temp: 84.6 deg.C

Output max range: 8.0000 to 437.9922

Cut Level: 0.00 %



2-[o-chloro-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

Sample: RSF-VI-4-4

Note: -

Inlet: Direct

Ion Mode: EIC+

Spectrum Type: Normal Ion [F-Linear]

Scan #: (42.64)-(42.53)

Temp: 130.5 deg.C

RT: 1.37 min

Scan #: (42.64)-(42.53)

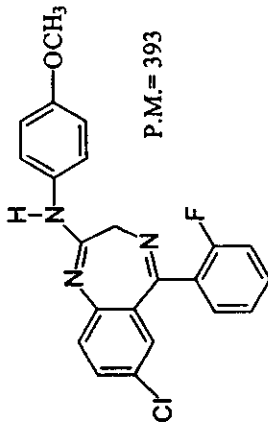
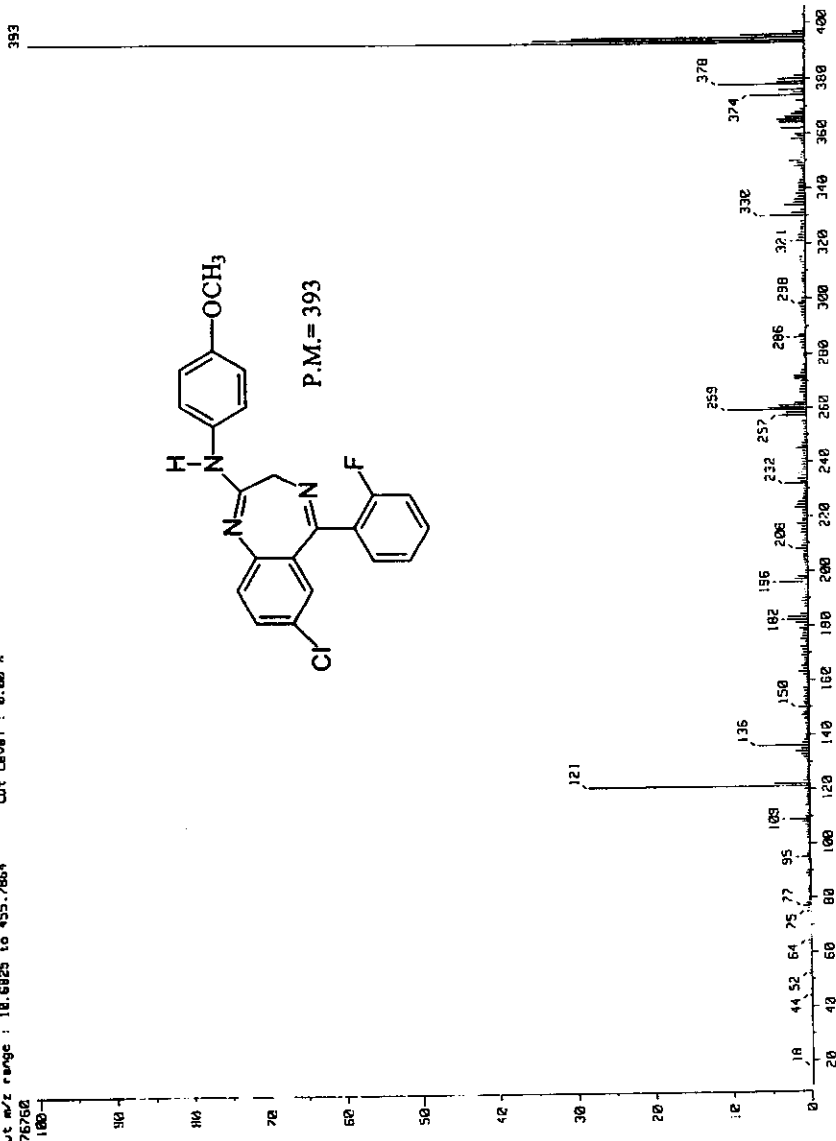
BP: m/z 393.0000

Int.: 367.59

Output m/z range: 18.6825 to 455.7864

Cut Level: 0.00 X

3076760



2-[p-metoxi-aminofenil]-3H-5-[o-fluoro-fenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

Sample: RSF-VI-4-3

Note: -

Ion Mode: E1+

Inlet: Direct

Spectrum Type: Normal Ion (F-LInstar)

Temp: 134.9 deg.C

Scan# : (38,52)-(38,45)

RI : 1.33 min

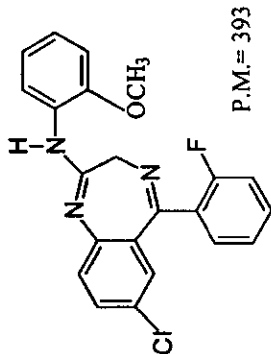
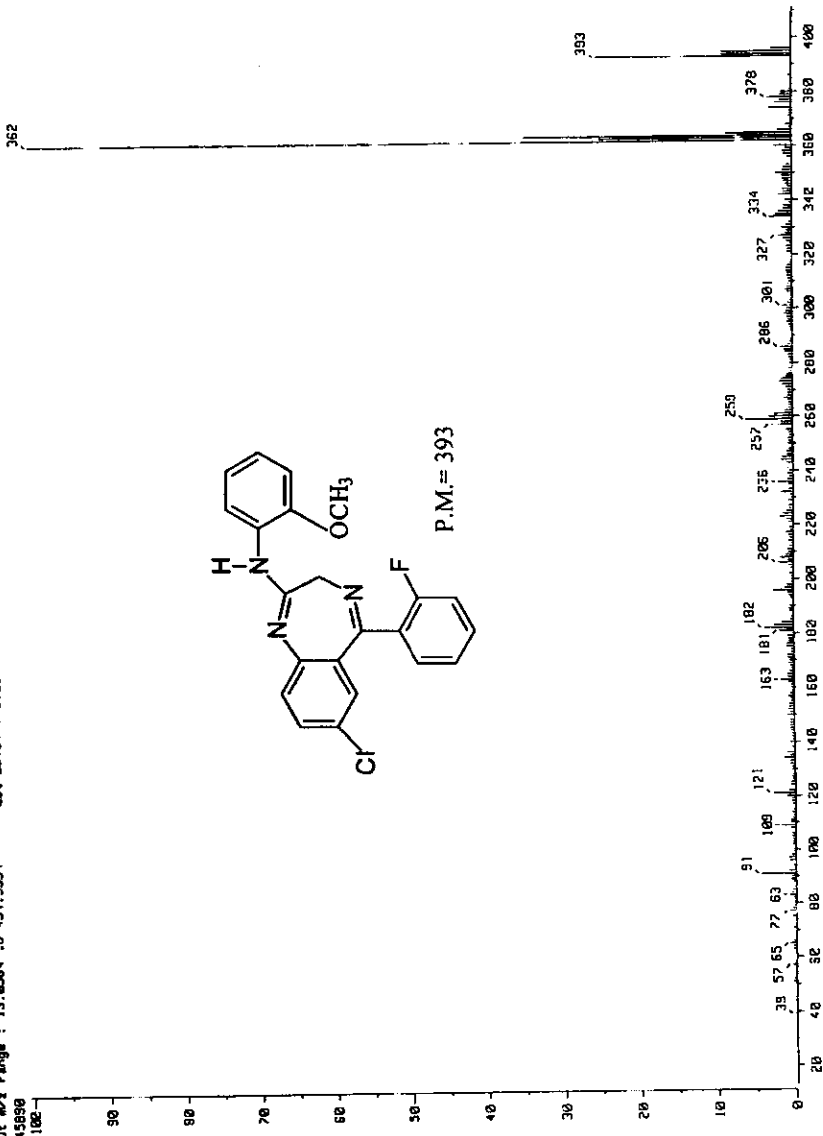
Int. : 387.77

BP : 472.362.00008

Output mix range : 13.6564 to 454.5994

Cut Level : 0.00 X

3245998



REFERENCIAS

1. Roth, H.J. *Pharmaceutical Chemistry*. Vol.2. Ellis Horwood. Great Britain, 1991.
2. Sternbach, L.H. *J.Med.Chem.* 1979, 22, 1.
3. Sternbach, L.H. *J.Org.Chem.* 1961, 26, 4488.
4. Sternbach, L.H. *J.Org.Chem.* 1961, 26, 4936.
5. Sternbach, L.H. *J.Org.Chem.* 1962, 27, 3781.
6. Sternbach, L.H. *J.Org.Chem.* 1962, 27, 3788.
7. Sternbach, L.H. *J.Org.Chem.* 1963, 28, 3013.
8. Sternbach, L.H. *J.Org.Chem.* 1964, 29, 231.
9. *Consumer Reports Books*. Complete Drug Reference, Edition United States Pharmacopeia, 1995.
10. Fryer, R.I. *J.Org.Chem.* 1969, 34, 1143.
11. Matsuo, M., Taniguchi, K. and Ueda, I. *Chem.Pharm.Bull.* 1982, 30, 1141.
12. Meguro, K. and Kuwada, Y. *Tetrahedron Lett.* 1970, 4039.
13. Herter, J.B. *J.Med.Chem.* 1971, 14, 1071.
14. Gilman, N.W. And Fryer, R.J. *J. Heterocyclic Chem.* 1977, 14 1171.
15. Capazzi, G. Chimirri, A. *Heterocycles*, 1985, 23, 2051.
16. Ellefson, C.R. *J.Med. Chem.* 1978, 21, 952.
17. Maza, M.; Galindez, M.; Martinez, R.; Cortés, E. *J.Heterocyclic Chem.* 1982, 19, 107
18. Cortés, E.; Martínez, R.; *J.Heterocyclic Chem.* 1983, 20, 161.
19. Cortés, E.; Martínez, R.; Zarza, A. *J.Heterocyclic Chem.* 1983, 20, 1615.
20. Cortés, E.; Martínez, R.; Ceballos, I. *J.Heterocyclic Chem.* 1989, 26, 119.
21. Cortés, E.; Martínez, R.; Ugalde, M. *J.Heterocyclic Chem.* 1991, 28, 365.
22. Cortés, E.; Mendoza, A.M. *J.Heterocyclic Chem.* 1996, 33, 1159.
23. Cortés, E.; Araluce, L.A. *J.Heterocyclic Chem.* 1997, 34, 745.
24. Ashton, H. *Drugs.* 1994, 48, 25.
25. Baker, R.H. *Brit. Med. J.*, 1994, 309, 412.
26. King, M.B. *Brit.Med.J.*, 1994, 309, 743.
27. Hotujac, L.; Sagud, M. *Pharmaca.* 1995, 33, 47.
28. Petty, F. *Biol. Psychiatry.* 1995, 38, 578.

29. Uhlenhuth, E.H. *Psychopharmacol.Bull.* **1995**, 31, 289.
30. Escande, M. *Recherche.* **1995**, 280, 90.
31. Robertson, J.R.; Treasure, W. *Drugs.* **1996**, 5, 137.
32. Tanaka, M. *Rinsho to Yakabutsu Chiryō.* **1997**, 16, 1140.
33. Kumar, R. *Hum.Psichopharmacol.* **1997**, 12, 526.
34. Nowakowska, E.; Chodera, A.; Kus, K. *Pol. J. Pharmacol.* **1997**, 49, 89.
35. Makovec, F.; D'Amato, M. *Drug Discovery Today.* **1997**, 2, 283.
36. Bock, M.G.; DiPardo, R.M.; Evans, B.E. *J.Med.Chem.* **1989**, 32, 16.
37. Bock, M.G.; DiPardo, R.M.; Evans, B.E. *J.Med.Chem.* **1990**, 33, 450.
38. Zniher, R. *Science*, **1991**, 1799.
39. Coffey, S. *Science.* **1990**, 1411.
40. Biswas, D.; Pardee, A.B. PCT Int Appl. WO 97. 32, 587 Sep. 1997.
41. Pardee, A.B.; Biswas, D.; Bruce, J. US US 5641,773 (Cl. 514-221; A61K 31/55), 24 Jun 1997, Appl 159, 509.
42. Cruz, D., Chamizo, J.A., Garritz, A. *Estructura atómica: un enfoque químico.* Addison Wesley Iberoamericana. USA, **1991**.
43. Silverstein, R.M. *Spectrometric Identification of Organic Compounds.* John Wiley & Sons. USA, **1991**.
44. Akitt, J.W. *An introduction to modern NMR spectroscopy.* Chapman & Hall. 3ed. Great Britain, **1992**.
45. Homans, S.W. *A dictionary of concepts in NMR.* Clarendon Press. USA, **1993**.
46. Watson, J.T. *Introduction to mass spectrometry.* 3ed. Lippincott-Raven. USA, **1997**.
47. Hoffman, E., Charette, J. *Mass Spectrometry Principles and Applications.* John Wiley & Sons. Paris, **1996**.
48. Cava, M.P., Levinson, M.I. *Tetrahedron*, **1985**, 41, 5061.
49. El-Barbary, A.A., Carlsson, S., Lawesson, S.O. *Tetrahedron.* **1982**, 38, 405.
50. Shridar, D.R. *Organic Preparations and Procedures.* **1980**, 12, 203.
51. Patra, A. *Org.Magn.Res.* **1981**, 15, 99.
52. Rackham, D., Morgan, S. *Org.Magn.Res.* **1982**, 18, 243.
53. Keenan, R.M. et.al. *J.Med.Chem.* **1999**, 42, 545.