



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**“DISEÑO, SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIVIRAL DE DERIVADOS DE
2-PIRIDINONAS”**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

JUANA CECILIA JUÁREZ GORDIANO



TUTOR: RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA
AÑO: 2008

Miembros del Jurado asignado

Presidente	Dr. Eugene Bratoeff Titeff
Primer vocal	Dr. Benjamín Ortiz Mendoza
Segundo vocal	Dr. Luis Gerardo Zepeda Vallejo
Tercer Vocal	Dra. Lilián Yépez Mulia
Secretario	Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda
Primer suplente	Dr. Rubén Sánchez Obregón
Segundo suplente	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano

Sitio donde se desarrolló el trabajo de investigación:

El presente trabajo de investigación se llevo a cabo en el laboratorio 122 del departamento de Farmacia, Conjunto E, de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Rafael Castillo Bocanegra.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael Castillo por la dirección, asesoría y apoyo durante la realización del trabajo experimental, así como a sus valiosas observaciones y comentarios durante la escritura del mismo.

A la M. en C. Alicia Hernández Campos por su apoyo y comentarios que enriquecieron el desarrollo de este trabajo, y que sin ellos no hubiera sido posible la realización de esta investigación.

Al Dr. José Luis Medina Franco por su colaboración en la síntesis de los compuestos, además de sus valiosos comentarios y sugerencias en los resultados de la actividad anti-TR del VIH-1

Al Dr. Ricardo Reyes-Chilpa y la Dra. Maira Huerta del Instituto de Química por su valiosa ayuda en la determinación de la actividad anti-TR del VIH-1.

A todos mis profesores del Posgrado de la Facultad de Química con una profunda admiración y respeto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante mis estudios de Posgrado.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	i
ABSTRACT	iii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 El virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)	3
2.2 El ciclo replicativo del VIH	5
2.3 La enzima Transcriptasa Reversa (TR)	6
2.4 Fármacos antivirales	7
2.4.1 Inhibidores nucleosídicos de la TR	8
2.4.2 Inhibidores no nucleosídicos de la TR	9
2.5 Derivados de 2-piridinona	11
2.6 Síntesis de derivados de 2-piridinonas	13
2.7 Cuantificación de la actividad TR	15
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
4. HIPÓTESIS	18
5. OBJETIVOS	19
5.1 Objetivo general	19
5.2 Objetivos específicos	20
6. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO	21
7. METODOLOGÍA	22
7.1 PARTE QUÍMICA	22
7.1.1 Síntesis de 3-aminopiridinonas (18a-18c)	22
7.1.2 Síntesis de 3-aminoquinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (24)	23
7.1.3 Síntesis de derivados mono y disustituidos del 2-clorometilbenzoxazol	24
7.1.3.1 Síntesis de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (28)	24
7.1.3.2 Síntesis de 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (35)	25
7.1.3.3 Síntesis de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40)	27
7.1.4 Síntesis de los compuestos de sustitución nucleofílica (1-9)	28
7.2 PARTE BIOLÓGICA	29
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
8.1 Síntesis de 3-aminopiridinonas (18a-18c)	30
8.2 Síntesis de 3-aminoquinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (24)	31
8.2.1 Reacción de condensación	31
8.2.2. Reacción de reducción	34
8.2.3. Reacción de isomerización	38
8.2.4. Reacción de hidrólisis	40
8.3 Síntesis de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol	42
8.3.1 Formación de la amida 2-Cloro- <i>N</i> -(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (27)	42
8.3.2. Formación del anillo de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (28)	43
8.4 Síntesis de 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol	44
8.4.1 Síntesis de 3,6-dicloro-2-nitrofenol (32)	45
8.4.2 Síntesis de 2-amino-3,6-diclorofenol (33)	47
8.4.3 Formación del anillo de 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (35)	48
8.5 Síntesis de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol	50
8.5.1 Síntesis de 4,5-dicloro-2-nitrofenol (37)	50

8.5.2 Síntesis de 2-amino-4,5-diclorofenol (38)	51
8.5.3 Síntesis de 2-cloro- <i>N</i> -(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (39)	52
8.5.4 Formación del anillo de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40)	53
8.6 Síntesis de los derivados de 2-piridinonas (1-9)	53
8.6.1 Síntesis de los compuestos 10-12	59
8.7 Actividad biológica de los derivados de 2-piridinonas	61
9. CONCLUSIONES	64
10. PARTE EXPERIMENTAL	66
10.1 Instrumentación	66
10.2 Cromatografía	66
10.3 Preparación de compuestos	66
10.4 Evaluación de la actividad antiviral	76
11. REFERENCIAS	77
ANEXO	
Publicaciones	

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	El VIH y su organización molecular	3
Figura 2	Genes representativos del VIH-1	4
Figura 3	El ciclo replicativo del VIH	6
Figura 4	Estructura de la TR del VIH-1	7
Figura 5	Inhibidores nucleosídicos de la TR aprobados para uso clínico	8
Figura 6	Fosforilación de análogos nucleosídicos	9
Figura 7	Inhibidores no nucleosídicos de la TR	10
Figura 8	Inhibidores no nucleosídicos aprobados por la FDA para el tratamiento del SIDA	11
Figura 9	Producto 22a obtenido bajo condiciones catalíticas	36

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1	Síntesis convergente para la preparación de los derivados de la 2-piridinona	14
Esquema 2	Procedimientos reportados para la síntesis de las 3-aminopiridinonas	23
Esquema 3	Procedimiento para sintetizar la 3-aminoquinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (24)	24
Esquema 4	Secuencia sintética para preparar el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (28)	25
Esquema 5	Reacciones realizadas para preparar el 3,6-dicloro-2-nitrofenol (32)	26
Esquema 6	Primera ruta estudiada para preparar el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (35)	27
Esquema 7	Segunda ruta estudiada para preparar el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (35)	27
Esquema 8	Reacciones realizadas para preparar el 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40)	28
Esquema 9	Reacción de condensación para obtener los derivados de la 2-piridinona (1-9)	29
Esquema 10	Ruta propuesta para la síntesis de 3-aminoquinolin-2(1 <i>H</i>)-ona	31
Esquema 11	Productos obtenidos en la reacción de condensación utilizando ácido acético	32
Esquema 12	Reacción de condensación de 2-nitrobenzaldehído y ácido hipúrico	33
Esquema 13	Fragmentos principales en EM por IE de 2-fenil-4-(2-nitrobenziliden)-1,3-oxazol-5(4 <i>H</i>)-ona (21)	34
Esquema 14	Fragmentos más importantes en EM por IE para el producto obtenido a partir de 21 bajo reducción catalítica con Pd/C	35
Esquema 15	Productos obtenidos de la reducción con H ₂ , Pd/C a diferentes tiempos de reacción	37
Esquema 16	Formación del doble enlace de 22a con DDQ	38
Esquema 17	Fragmentos observados en EM por IE para el producto de la reacción de isomerización	40
Esquema 18	Patrón de fragmentación en EM por IE del compuesto 24	41
Esquema 19	Síntesis de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (28)	42
Esquema 20	Ión molecular y pico base observados en EM por IE para el compuesto 27	43
Esquema 21	Eliminación del Cl alquílico de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol	

	en EM por IE	44
Esquema 22	Productos obtenidos del primer estudio de nitración	45
Esquema 23	Patrón de fragmentación en EM por IE del 3,6-dicloro-2,4-dinitrofenol	46
Esquema 24	Ruta sintética para obtener 35	49
Esquema 25	Síntesis del derivado de la 2-piridinona de acuerdo a la literatura	54
Esquema 26	Patrón de fragmentación para el compuesto 3	56
Esquema 27	Fragmentos observados en EM por IE para los derivados diclorados de la piridinona	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Inhibición de la TR del VIH-1 por los derivados de la 2-piridinona	12
Tabla 2	Inhibición de la TR del VIH-1 por los derivados de la 2-piridinona con sustituyentes en el anillo de benzoxazol	12
Tabla 3	Compuestos diseñados, análogos de 2-piridinonas	19
Tabla 4	Rendimiento y pf de los derivados sustituidos de la 3-aminopiridinona	30
Tabla 5	Rendimiento y pf de los intermediarios del anillo de 3-aminoquinolin-2(1 <i>H</i>)-ona	31
Tabla 6	Características espectroscópicas y espectrométricas de los productos de condensación del <i>o</i> -nitrobenzaldehído y ácido acetúrico	32
Tabla 7	Características espectroscópicas y espectrométricas de 21	34
Tabla 8	Características espectroscópicas y espectrométricas de 22 y 22a	37
Tabla 9	Disolventes utilizados para la obtención de 23	39
Tabla 10	Análisis espectroscópico y espectrométrico de 23	39
Tabla 11	Características espectroscópicas y espectrométricas para el compuesto 24 obtenido por hidrólisis básica	42
Tabla 12	Caracterización espectroscópica y espectrométrica de 27 y 28	44
Tabla 13	Rendimiento, pf y características espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos 30 , 30a y 32	47
Tabla 14	Caracterización espectroscópica y espectrométrica de 33	48
Tabla 15	Rendimiento, pf y características espectroscópicas y espectrométricas del compuesto 35	49
Tabla 16	Rendimiento, punto de fusión y características espectroscópicas y espectrométricas de 4,5-dicloro-2-nitrofenol (37)	51
Tabla 17	Rendimiento, punto de fusión y características espectroscópicas y espectrométricas de 2-amino-4,5-diclorofenol (38)	52
Tabla 18	Rendimiento, punto de fusión y características espectroscópicas y espectrométricas de 2-cloro- <i>N</i> -(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (39)	52
Tabla 19	Rendimiento, punto de fusión y características espectroscópicas y espectrométricas de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40)	53
Tabla 20	Rendimiento y punto de fusión de los derivados de la 2-piridinona (1-9)	55
Tabla 21	Características espectroscópicas y espectrométricas de los derivados sintetizados de la 2-piridinona	57
Tabla 22	Condiciones de reacción para la síntesis del compuesto 10	59
Tabla 23	Porcentaje de inhibición de la actividad TR del VIH-1 por los derivados de 2-piridinona 1-9	61

RESUMEN

En este trabajo se describe el estudio realizado sobre la síntesis de 12 derivados de la 2-piridinona (**1-12**), así como el ensayo para determinar la actividad inhibitoria de estos compuestos sobre la enzima Transcriptasa Reversa (TR) del Virus de la Inmunodeficiencia Humana de tipo 1 (VIH-1). El estudio comprendió la síntesis, por vía convergente, a partir de derivados de la 3-aminopiridinona y de derivados del 2-clorometilbenzoxazol. Los primeros se sustituyeron en las posiciones 5 y 6 por etilo y metilo, por anillos saturados de 5 y 6 miembros o por un anillo aromático. Los segundos se sustituyeron con cloro en las posiciones 5, 5 y 6, y 4 y 7.

La preparación de los derivados de la 3-aminopiridinona se inició con la formilación de la 2-pentanona (**13a**), ciclopentanona (**13b**) o ciclohexanona (**13c**) para dar los enolatos correspondientes (**14a-14c**). La condensación de éstos con 2-cianoacetamida dio los nitrilos (**15a-15c**), los que se hidrolizaron y descarboxilaron para dar origen a las piridinonas (**16a-16c**). Éstas, mediante una nitración, dieron los derivados correspondientes de la 3-nitropiridinona (**17a-17c**). La posterior reducción del grupo nitro llevó a los intermediarios derivados de la 3-aminopiridinona (**18a-18c**). La síntesis del otro intermediario, la 3-aminoquinolin-2(1*H*)-ona (**24**), inició con la condensación del *o*-nitrobenzaldehido (**19**) y el ácido hipúrico (**20**) en presencia de anhídrido acético y piridina. Se obtuvo el (4*E*)-2-fenil-4-(2-nitrobenciliden)-1,3-oxazol-5(4*H*)-ona (**21**), que por reducción catalítica dio la (4*E*)-4-(2-aminobenciliden)-2-fenil-1,3-oxazol-5(4*H*)-ona (**22**). Este producto se fotoisomerizó y cicló intramolecularmente para dar la *N*-(3-oxo-3,4-dihidroquinolin-3-il)benzamida (**23**). Finalmente, **23** se hidrolizó al compuesto **24**.

Por otro lado, la síntesis de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol se inició con la acilación del 2-amino-4-clorofenol (**25**) con cloruro de cloroacetilo (**26**) para dar la 2-cloro-*N*-(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (**27**), la que se deshidrató con P₂O₅ para obtener el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**28**). Los otros anillos de 2-clorometilbenzoxazol disustituidos se prepararon básicamente de acuerdo al método anterior; sin embargo, fue

necesario nitrar el diclorofenol correspondiente antes de obtener el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**35**) y el 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**40**).

Una vez obtenidos los derivados de la 3-aminopiridinona y del 2-(clorometil)benzoxazol se llevó a cabo la reacción de sustitución nucleofílica entre ambos, para obtener los 12 análogos propuestos (Tabla 3). Sin embargo, sólo se pudieron obtener los derivados **1-9**.

La actividad anti-TR del VIH-1 de **1-9** se realizó con el ensayo Lenti-RT (Cavidi Tech), encontrándose que el compuesto líder (**1**), así como los derivados de 2-piridinona con anillos saturados de 5 y 6 miembros (en el anillo de 3-aminopiridinona) y sustituidos en 4' y 7' (en el anillo de 2-(clorometil)benzoxazol) mostraron la mejor actividad anti-TR de VIH-1.

ABSTRACT

In this thesis, the synthesis of twelve 2-pyridinone derivatives (**1-12**) and their inhibitory effect on the enzyme reverse transcriptase (RT) activity of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) are described. The synthesis of compounds **1-12**, was carried out through convergent strategy by condensation of 3-aminopyridinone with a substituted 2-chloromethylbenzoxazole. The first group of intermediates consisted of 3-aminopyridinone substituted at positions 5 and 6 with ethyl and methyl groups, respectively; fused to a saturated 5 or 6 member ring, and a benzene ring. The second group of intermediates was 2-chloromethylbenzoxazole derivatives with chlorine at positions 5; 5 and 6, and 4 and 7.

The preparation of 3-aminopyridinone intermediates was initiated with the formylation of 2-pentanone (**13a**), cyclopentanone (**13b**) or cyclohexanone (**13c**) to give the corresponding enolate (**14a-14c**). Condensation of these enolates with 2-cyanoacetamide led to nitriles (**15a-15c**), which were hydrolysed and decarboxylated to afford the pyridinones (**16a-16c**). These were treated with HNO₃ to give the corresponding 3-nitropyridinones (**17a-17c**). Subsequent reduction of the nitro group provided the 3-aminopyridinone (**18a-18c**). The synthesis of the other intermediate, 3-aminoquinolin-2(1*H*)-one (**24**), started with the condensation of *o*-nitrobenzaldehyde (**19**) and hyppuric acid (**20**) in acetic anhydride and pyridine. The obtained product, (4*E*)-2-phenyl-4-(2-nitrobenzylidene)-1,3-oxazol-5(4*H*)-one (**21**), was subjected to catalytic reduction with H₂ and Pd/C to give (4*E*)-4-(2-aminobenzylidene)-2-phenyl-1,3-oxazol-5(4*H*)-one (**22**). This product was isomerized and cyclized upon irradiation with a 250 Watts sunlamp to *N*-(3-oxo-3,4-dihydroquinolin-3-yl)benzamide (**23**). Finally, **23** was hydrolyzed to the corresponding compound **24**.

On the other hand, the synthesis of 5-chloro-2-(chloromethyl)-1,3-benzoxazole started with the acylation of 2-amino-4-chlorophenol (**25**) with chloroacetyl chloride (**26**) to obtain 2-chloro-*N*-(5-chloro-2-hydroxyphenyl)acetamide (**27**), that was dehydrated with P₂O₅ to obtain 5-chloro-2-(chloromethyl)-1,3-benzoxazole (**28**). The other rings, disubstituted 2-chloromethylbenzoxazoles, were prepared by previous nitration of the corresponding dichlorophenol, followed by the same sequence as before to obtain 4,7-dichloro-2-

(chloromethyl)-1,3-benzoxazole (**35**) and 5,6-dichloro-2-(chloromethyl)-1,3-benzoxazole (**40**).

Finally, reaction of 3-aminopyridinone intermediates with 2-(chloromethyl)-1,3-benzoxazole derivatives afforded the proposed compounds **1-9**. Similar condensations to obtain **10-12** were unsuccessful.

The antiviral RT HIV-1 activity of **1-9** was carried out with the assay Lenti-RT (Cavidi Tech). It was found that the leader compound (**1**), as well as 2-pyridinone derivatives **4** and **7** showed the best anti-RT HIV-1 activity.

1. INTRODUCCIÓN

La propagación mundial del SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) ha motivado a los investigadores a desarrollar potentes fármacos antivirales, para reducir el número de muertes causadas por el VIH (Virus de la Inmunodeficiencia Humana), el agente causal del SIDA.

El diseño de fármacos anti-VIH se ha orientado principalmente a la inhibición de procesos importantes y decisivos en el ciclo de replicación del virus, como la interacción virus-célula (Hussey, et al., 1988), la inhibición de la enzima Transcriptasa Reversa (TR) (Connoly y Hammer, 1992) y la enzima proteasa, esencial para la maduración viral (Vacca y Condra, 1997).

La inhibición de la Transcripción en Reversa ha representado una estrategia muy atractiva desde que se descubrió que el VIH es un retrovirus (Gallo et al., 1984). Los retrovirus poseen una actividad enzimática capaz de convertir la información contenida en el ARN genómico en una doble hebra de ADN por medio de la enzima TR, proceso exclusivo de los retrovirus, por lo que éste ha sido el foco de atención para el diseño de fármacos (De Clercq, 2004).

Actualmente, los compuestos que inhiben la TR se han dividido en dos grupos, dependiendo de su naturaleza química y de su interacción con la enzima TR. El primer grupo pertenece a los análogos de nucleósidos (Collier et al., 1990) como el AZT (3'-azido-3'-didesoxitimidina), ddC (2',3'-didesoxicidina) y ddi (2',3'-didesoxiinosina), así como a sus formas fosforiladas y alquiladas (Richman et al., 1987). La utilidad de éstos es limitada, debido a la alta toxicidad y al surgimiento de cepas virales resistentes que se generan durante el tratamiento clínico (Morhí et al., 1993).

El segundo grupo de inhibidores de la TR son los derivados no nucleosídicos, los cuales tienen estructuras químicas diferentes, interaccionan directamente con la enzima TR y, comparados con los anteriores, presentan bajos niveles de toxicidad (De Clercq, 2002).

Los derivados de la 2-piridinona pertenecen al segundo grupo y son inhibidores específicos de la TR del VIH-1. Los estudios de relación estructura-actividad reportados, muestran que en este tipo de compuestos son necesarias las entidades de benzoxazol (sustituidas en posición 4', 7' por Cl o por CH₃) y de 2-piridinona (sustituida en posición 5 y 6 por grupos alquilo), unidas a través de un enlace amino metileno (Saari et al., 1991).

A pesar de los extensos estudios de relación estructura-actividad, poco se ha investigado sobre la sustitución en las posiciones 5 y 6 del anillo de 2-piridinona.

Con la finalidad de conocer cuál es la influencia que podría tener en la actividad antiviral la modificación estructural en las posiciones 5 y 6 en el anillo de piridinona; así como en la entidad del benzoxazol, se sintetizaron 12 análogos de 2-piridinona. Éstos se diseñaron de manera que se fijaran y crecieran las cadenas alquílicas (Et- y Me-) hasta un anillo de seis miembros con posterior insaturación del mismo. La actividad anti-TR de los compuestos sintetizados se evaluó mediante el ensayo *in vitro* Lenti-RT (Cavidi Tech).

2. ANTECEDENTES

2.1 El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)

Para desarrollar fármacos contra el VIH-1 es necesario conocer, a nivel molecular, la estructura del virus, así como cada uno de los pasos de su ciclo de replicación con el fin de poder determinar los blancos específicos para la intervención terapéutica.

El VIH es un retrovirus de aproximadamente 110 nm (Figura 1), que contiene como material genético dos moléculas idénticas de ARN, que se caracterizan por su capacidad de transcribir en reversa, es decir, de sintetizar moléculas de ADN a partir de ARN viral (Gallo, 1984).

La partícula viral contiene un "núcleo" interno en forma de cono, en donde se encuentra el material genético (ARN), las enzimas TR, integrasa (**p12**) y proteasa (**p15**). Éstas están rodeadas por proteínas de la cápside **p17**, las cuales proporcionan la matriz para la estructura viral y son esenciales para la integración del virus a la célula huésped.

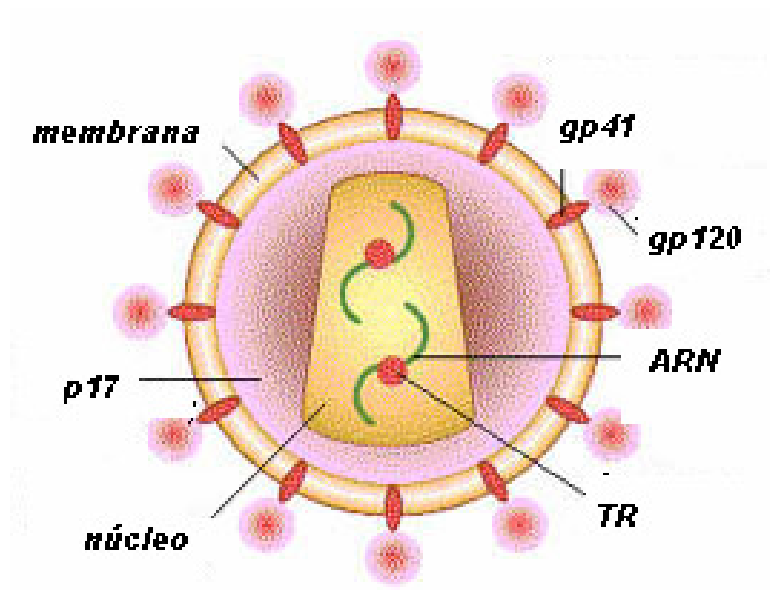


Figura 1. El VIH y su organización molecular.

La superficie viral está constituida por múltiples protuberancias que contienen trímeros, o tetrámeros de glicoproteínas. Éstas se derivan de un precursor proteico **gp160**, el cual es procesado dentro de la célula huésped en dos glicoproteínas, la externa **gp120** y la transmembranal **gp41** (Wyatt y Sodrosky, 1998).

La secuenciación de genes del VIH ha revelado que su estructura genómica es más compleja que la de otros retrovirus (Haseltine y Wong-Staal, 1988). Las proteínas virales requeridas para el ciclo replicativo en los retrovirus son codificadas por tres genes: el **gag**, el cual codifica proteínas estructurales **p17** y **p24** que constituyen el virión; el **pol**, que codifica las enzimas TR, proteasa e integrasa; el **env**, codifica la glicoproteína **gp120**, necesaria para los procesos de unión y fusión con la célula huésped.

El VIH codifica por lo menos ocho genes más: tres que corresponden a los genes regulatorios (**tat**, **ref** y **nef**), y cinco genes accesorios (**vif**, **vpr**, **vpu**, **vpt**, **tev/tnv**). Éstos juegan un papel decisivo en la regulación de la expresión genética, en la morfogénesis y liberación de las partículas virales (Vaishnav y Wong-Staal, 1991). Los genes están limitados en sus extremos por secuencias llamadas **LTR** (long terminal repeats), necesarias para la iniciación de la expresión viral (Figura 2).

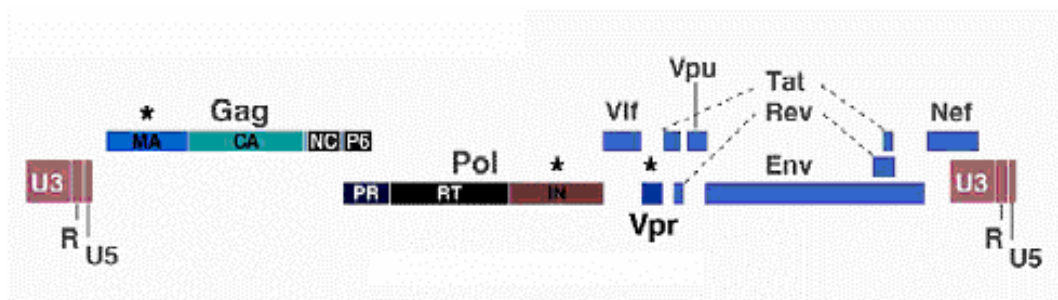


Figura 2. Genes representativos del VIH-1.

Se han identificado dos subtipos genéticamente distintos del virus causante del SIDA. El VIH-1 y el VIH-2. El primero es el prototipo que prevalece en Estados Unidos, África Central, Europa y casi todo el mundo. El segundo se encuentra confinado a la región del

Oeste de África y al parecer es menos virulento y su período de incubación es mayor que el del VIH-1 (Clavel et al., 1986).

La organización molecular del VIH-1 y VIH-2 es similar, aunque difieren en un gene regulador, **vpu** para el caso del VIH-1 y **vpx** para el VIH-2 (Guyader et al., 1987).

2.2 El ciclo de replicación del VIH

El primer paso en la iniciación de la infección, una vez que el VIH ha entrado a su huésped, es la unión del virus a través de la glicoproteína de envoltura **gp120** y el receptor específico **CD4⁺** de los linfocitos T (Schnitman y Fauci, 1994). Actualmente se sabe que para que exista una entrada eficiente del virus se requiere de co-receptores en los linfocitos T y macrófagos como el CCR-4 o el CCR-5 (Levy, 1996). Después de la unión, la envoltura del virus se funde con la membrana celular y se libera el ARN y la TR en el citoplasma del huésped.

La TR dirige la síntesis de una doble hebra de ADN proviral tomando como plantilla al ARN viral. Éste es transportado al núcleo, donde bajo la acción de la enzima integrasa, se incorpora en el genoma de la célula huésped y permanece en ella hasta que las células T infectadas se activan por antígenos o mitógenos. Esta estimulación permite la expresión de los genes virales, y la producción de ARN genómico y ARN mensajero, seguida por la síntesis de proteínas virales que migran a la membrana celular, donde sufren procesamientos proteolíticos mediante la enzima proteasa y son empaquetados para salir de la célula infectada en forma de un nuevo virión.

El ciclo replicativo del virus se lleva a cabo en aproximadamente 1.2 días *in vivo*, y la producción de partículas virales es de aproximadamente mil diez viriones al día (De Clercq, 1998).

Como es evidente, el virus presenta sitios claves y específicos en su ciclo de vida que pueden ser blancos potenciales para la intervención terapéutica (Figura 3).

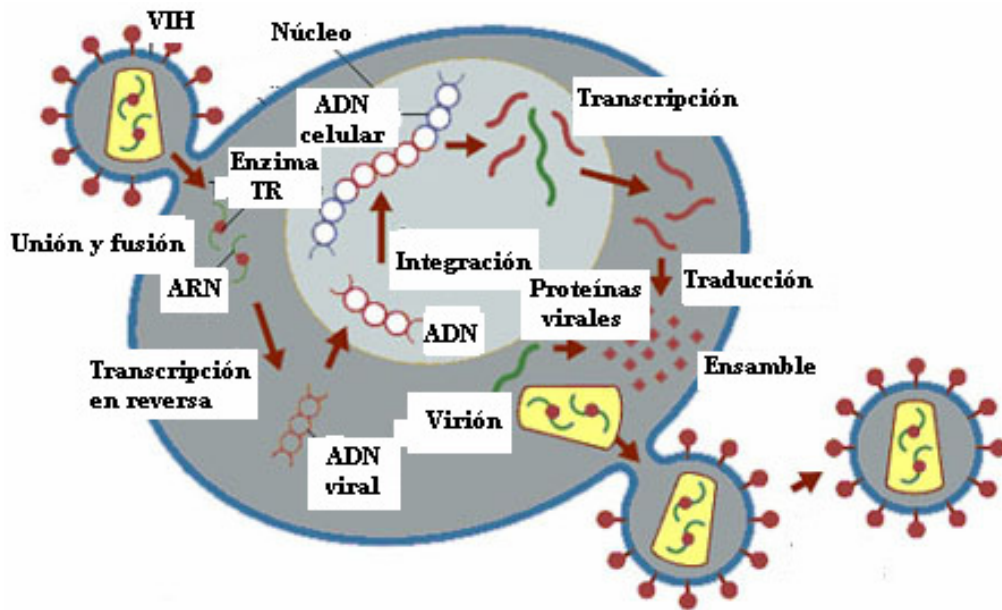


Figura 3. El ciclo replicativo del VIH.

2.3 La enzima Transcriptasa Reversa (TR)

Los retrovirus poseen una actividad enzimática capaz de sintetizar una cadena doble de ADN a partir de la información contenida en el ARN viral. Este proceso se conoce como transcripción en reversa y la enzima que lo cataliza se denomina Transcriptasa Reversa (TR), (Kedar et al., 1990).

La TR es un heterodímero constituido por dos polipéptidos de masa molecular de 66 y 51 kDa (**p66** y **p51**). Ésta presenta tres actividades enzimáticas distintas: una actividad de ADN polimerasa dependiente de ARN (cataliza la síntesis de una hebra de ADN utilizando como molde una hebra de ARN viral); una actividad de RNasa H (degrada al molde de ARN viral) y una actividad de ADN polimerasa dependiente de ADN (cataliza la síntesis de la segunda hebra de ADN utilizando como molde la primera hebra ya sintetizada), (Tarrago-Litvak et al., 1994).

Los estudios cristalográficos han mostrado importantes características en la estructura de la enzima TR. Las dos subunidades de la TR son asimétricas y de diferente longitud, con una estructura tridimensional semejante a una “mano derecha” en donde el sitio activo se localiza en la hendidura de la “palma” entre los “dedos” y el “pulgar”. El sitio de unión al nucleótido es parte del sitio activo de la polimerasa y contiene tres residuos de aminoácidos (ácido aspártico 110, 185 y 186) altamente conservados, que están involucrados en la reacción de síntesis del ADN viral (Rodgers et al., 1995).

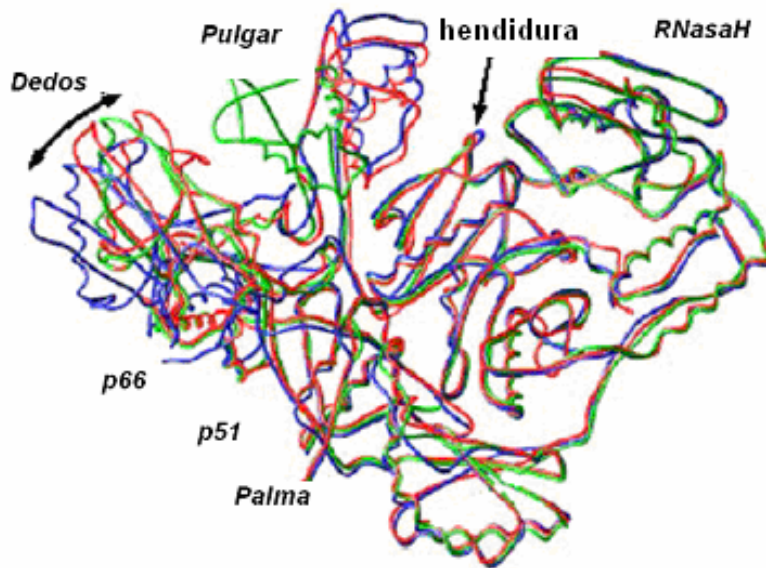


Figura 4. Estructura de la TR del VIH-1.

2.4 Fármacos antivirales

En las últimas décadas se ha tratado de diseñar inhibidores que se unan o interfieran con la función de una de las tres enzimas claves del VIH: la proteasa, la integrasa y la TR (De Clercq, 2002).

La TR es un excelente blanco para el diseño de fármacos debido a que es esencial para la replicación viral, pero no para la replicación de la célula huésped. A la fecha se han identificado dos tipos de inhibidores de la TR: los inhibidores nucleosídicos, que se unen en

el sitio activo de la TR; y los inhibidores no nucleosídicos, que se unen a un sitio alostérico de la enzima (Balzarini, 2004).

2.4.1 Inhibidores nucleosídicos de la TR

Desde 1985 se demostró que los derivados de 2',3'-didesoxinucleósidos actuaban como inhibidores de la TR y por tanto podrían inhibir la replicación del VIH (Mitsuya et al., 1985). El primero de esta familia fue el 3'-azido-2',3'-didesoxitimidina (AZT) y desde entonces se han aprobado por lo menos seis análogos del AZT como la didesoxicitidina (ddC), la didesoxiinosina (ddI), la didehidrodidesoxitimidina (d4T), y la tiodidesoxicitidina, entre otros (Figura 5).

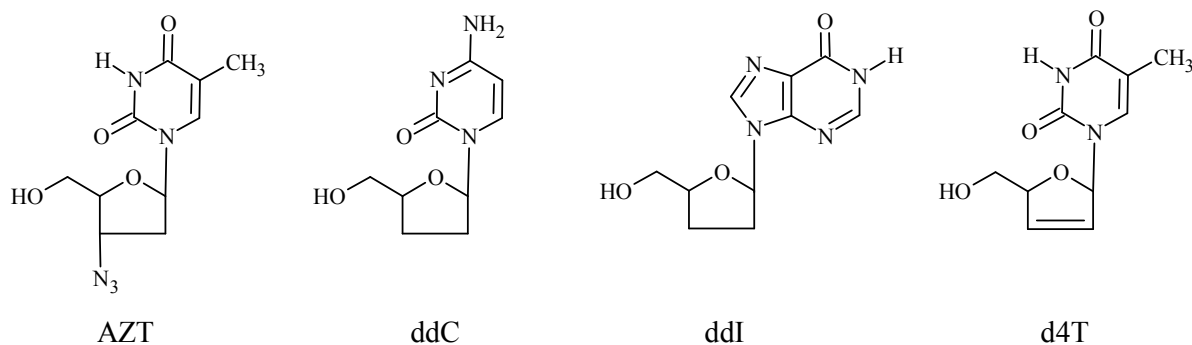


Figura 5. Inhibidores nucleosídicos de la TR aprobados para uso clínico.

El mecanismo de inhibición viral es semejante para todos los análogos de nucleósidos. Éstos necesitan ser fosforilados sucesivamente por enzimas celulares (quinasas) de la forma 5'-monofosfato al correspondiente 5'-trifosfato. Entonces, mediante la acción de la TR son incorporados a la cadena de ADN que se está sintetizando, originando una terminación de la cadena creciente, debido a que el grupo -OH en la posición C3', requerido para la elongación, no está presente en el derivado nucleosídico (Figura 6). Por lo que se consideran inhibidores competitivos o sustratos alternos, parando la síntesis de la nueva cadena de ADN viral.

La primera fosforilación es uno de los pasos cruciales en el metabolismo intracelular de los análogos nucleosídicos, porque si están parcialmente fosforilados no ejercen su acción. Por lo que se han diseñado nucleósidos de fosfonatos, que se consideran como análogos de nucleósidos monofosfatados, en donde el primer grupo fosfato se ha sintetizado en forma de

fosfonato, para atravesar fácilmente la membrana celular y ser fosforilados por la AMP cinasa (Siddiqui et al., 1999).

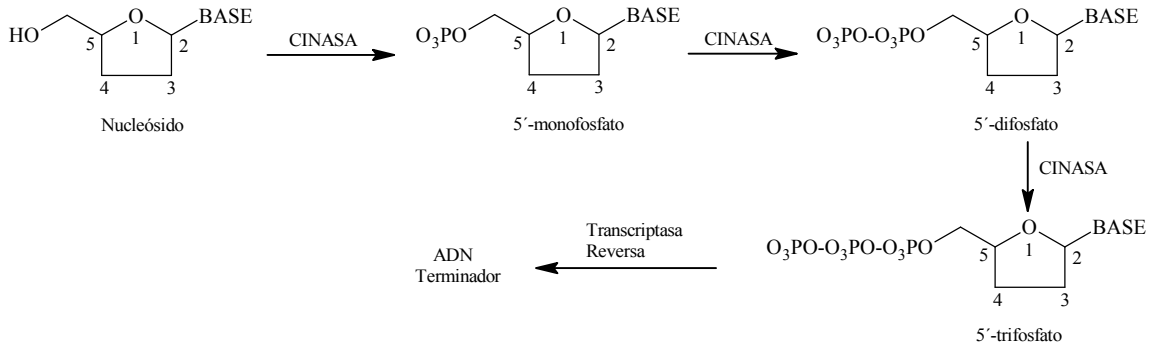


Figura 6. Fosforilación de análogos nucleosídicos.

A pesar de que han mostrado eficacia en el tratamiento del SIDA, la administración a largo plazo produce severa toxicidad, principalmente supresión de médula ósea (anemia, leucopenia), probablemente porque inhiben también las polimerasas celulares.

2.4.2 Inhibidores no nucleosídicos de la TR

Los inhibidores no nucleosídicos son compuestos estructuralmente diferentes (Figura 7); sin embargo, presentan varias características en común: inhiben únicamente a la TR del VIH-1, y no a la TR del VIH-2 u otros retrovirus; no necesitan ser metabolizados por enzimas celulares para llevar a cabo su función; inhiben la replicación del VIH-1 a una concentración de cinco órdenes de magnitud menor a su umbral de toxicidad; presentan sinergismo cuando son administrados con análogos nucleosídicos y son efectivos con cepas resistentes al AZT (De Clercq, 1995; Pedersen, 1999; Balzarini, 2004).

A pesar de que los inhibidores no nucleosídicos son estructuralmente diferentes, su mecanismo de acción es relativamente similar. Se unen a un sitio hidrófobo cercano al sitio activo de la polimerasa (sitio alostérico) e inhiben la actividad enzimática mediante cambios conformacionales en la TR (Smerdon, 1994).

La especificidad de los derivados no nucleosídicos se debe a que únicamente en la TR del VIH-1 se encuentra una cavidad hidrófoba y flexible, en la cual se puede acomodar en

forma conveniente un compuesto diferente al sustrato de la enzima, adoptando una conformación de “tipo mariposa” (Garg et al., 1999).

La unión de los inhibidores no nucleosídicos a la parte hidrófoba de la TR no interfiere con la unión de los nucleótidos, pero disminuye la velocidad de incorporación de éstos en la cadena de ADN (Ren et al., 1995). De hecho, estos inhibidores tienen una afinidad mayor por el complejo enzima-sustrato que por la enzima libre (De Clerq, 1995).

El primer compuesto identificado perteneciente a este grupo fue el 1-[(2-hidroxi)etoxi]metil]-6-(feniltio)timina (HEPT), (Miyasaka et al., 1989). Simultáneamente, se descubrieron los derivados de tetrahidroimidazobenzodiazepinonas (TIBO), compuestos que fueron los primeros en mostrar especificidad contra la TR del VIH-1 (Pauwels et al., 1990). Poco después varios laboratorios identificaron nuevos agentes, como la nevirapina (Merluzzi et al., 1990), las piridinonas (Saari et al., 1991; Goldman et al., 1991), las bis(heteroaril)piperazinas (BHAP), (Romero et al., 1991) y derivados de 2',5'-bis-O-(*terc*-butildimetilsilil)-3'-spiro-5''-(4''-amino-1'',2''-oxatol)-2'',2''dioxido (TSAO), (Balzarini, 1992).

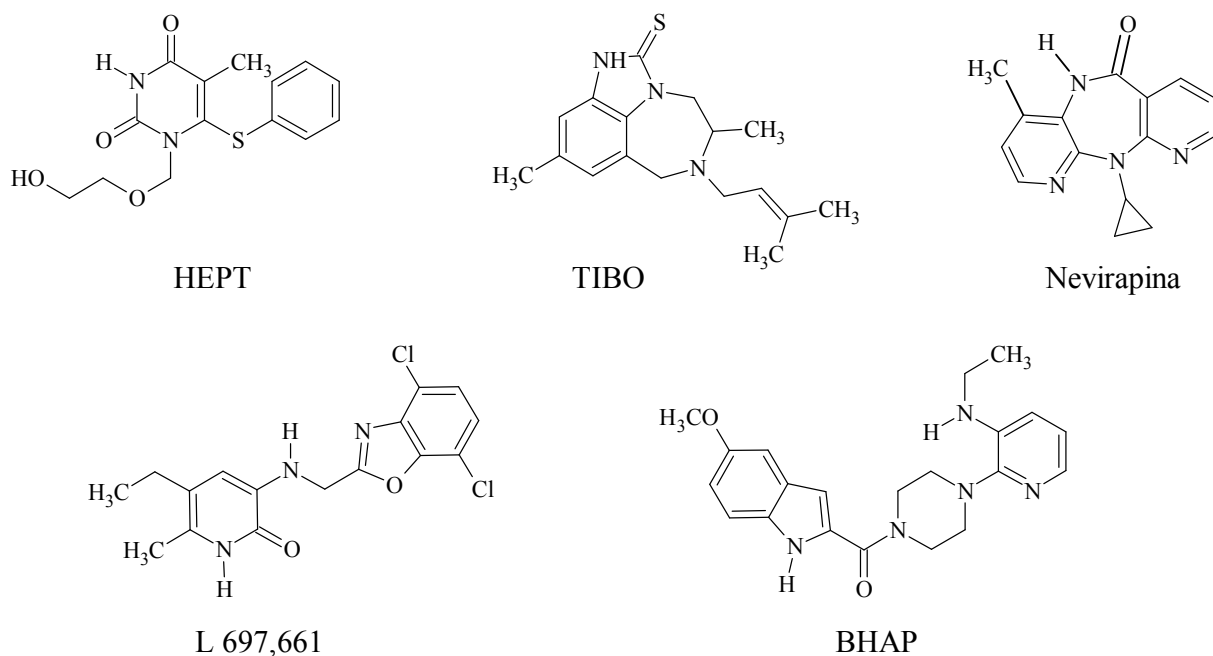


Figura 7. Inhibidores no nucleosídicos de la TR.

Actualmente, se conocen aproximadamente 50 compuestos diferentes, de los cuales, sólo dipirododiazepinona (nevirapina), un bis(heteroaril)piperazina (delavirdina) y benzoxazinona (efavirenz) se han aprobado para uso clínico (Figura 8), (Balzarini, 2004).

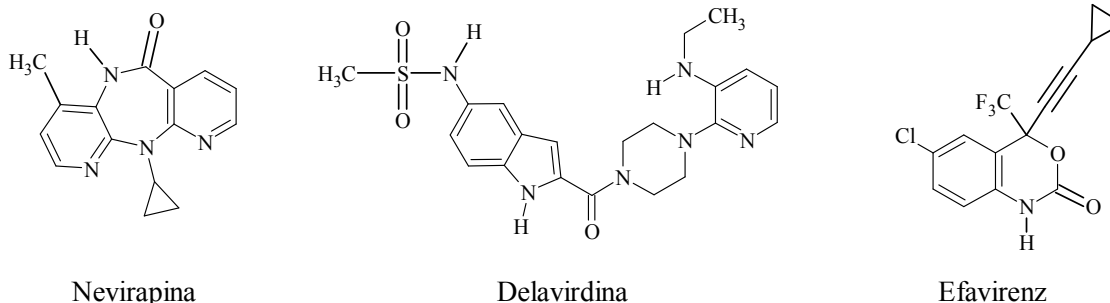


Figura 8. Inhibidores no nucleosídicos aprobados por la FDA para el tratamiento del SIDA.

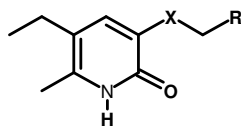
2.5 Derivados de 2-piridinona

Los derivados de 2-piridinona se han desarrollado como una alternativa para la terapia antiviral, son inhibidores no nucleosídicos y específicos para la TR del VIH-1 (Saari et al., 1991; Goldman et al., 1991).

Los estudios de relación estructura-actividad reportados, han permitido seleccionar varios candidatos para la evaluación clínica. El primero fue un derivado de ftalimida con unión aminometileno a la unidad de piridinona, desafortunadamente fue inestable bajo condiciones fisiológicas *in vitro* (Goldman et al., 1991). Con el fin de mejorar su estabilidad se modificó la unión aminometileno por etileno, aunque éste es estable hidrolíticamente, tiene una actividad inhibitoria menor.

Una alternativa a los problemas de estabilidad y potencia fue la de reemplazar la entidad ftalimida por grupos aromáticos y heterocíclicos, manteniendo la unión aminometileno o etileno. Los compuestos que tienen el anillo de benzoxazol unidos a la entidad de piridinona por un enlace aminometileno presentaron alta potencia como inhibidores de la TR (Tabla 1), (Saari et al., 1991; Saari et al., 1992).

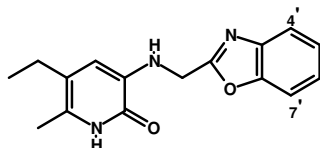
Tabla 1. Inhibición de la TR del VIH-1 por derivados de la 2-piridinona



X	R	IC ₅₀ nM	X	R	IC ₅₀ nM
NH		30	NH		210
CH ₂		3700	CH ₂		22
NH		6400	NH		235
NH		350	CH ₂		77
CH ₂		370	NH		440

La sustitución en el núcleo de benzoxazol también se investigó con la introducción de grupos CH₃ (L-697,639) o Cl (L-697,661) en posición 4' y 7'. Siendo mayor la potencia con Cl en ambas posiciones (Tabla 2), (Hoffman et al., 1993).

Tabla 2. Inhibición de la TR del VIH-1 por derivados de la 2-piridinona con sustituyentes en el anillo de benzoxazol



Compuesto	Sustituyente	IC ₅₀ nM
L-697,639	4',7' -CH ₃	20
L-697,661	4',7' -Cl	19

El derivado de 2-piridinona con unión aminometileno a un anillo de benzoxazol substituido en posición 4' y 7' con grupos Cl (L-697,661) fue elegido para pruebas clínicas, inhibe por lo menos 95% de la infección por VIH-1 en cultivos celulares a una concentración de 0.012 a 0.20 μM ; inhibe también la actividad ADN polimerasa dependiente de ARN, así como a la actividad ADN polimerasa dependiente de ADN, siendo reversible y no competitiva con respecto al sustrato. Estudios clínicos y farmacocinéticos han demostrado que tienen una biodisponibilidad oral aceptable, con niveles en suero de más de 1 mmol/L después de una sola dosis oral de 500 mg (Goldman et al., 1993).

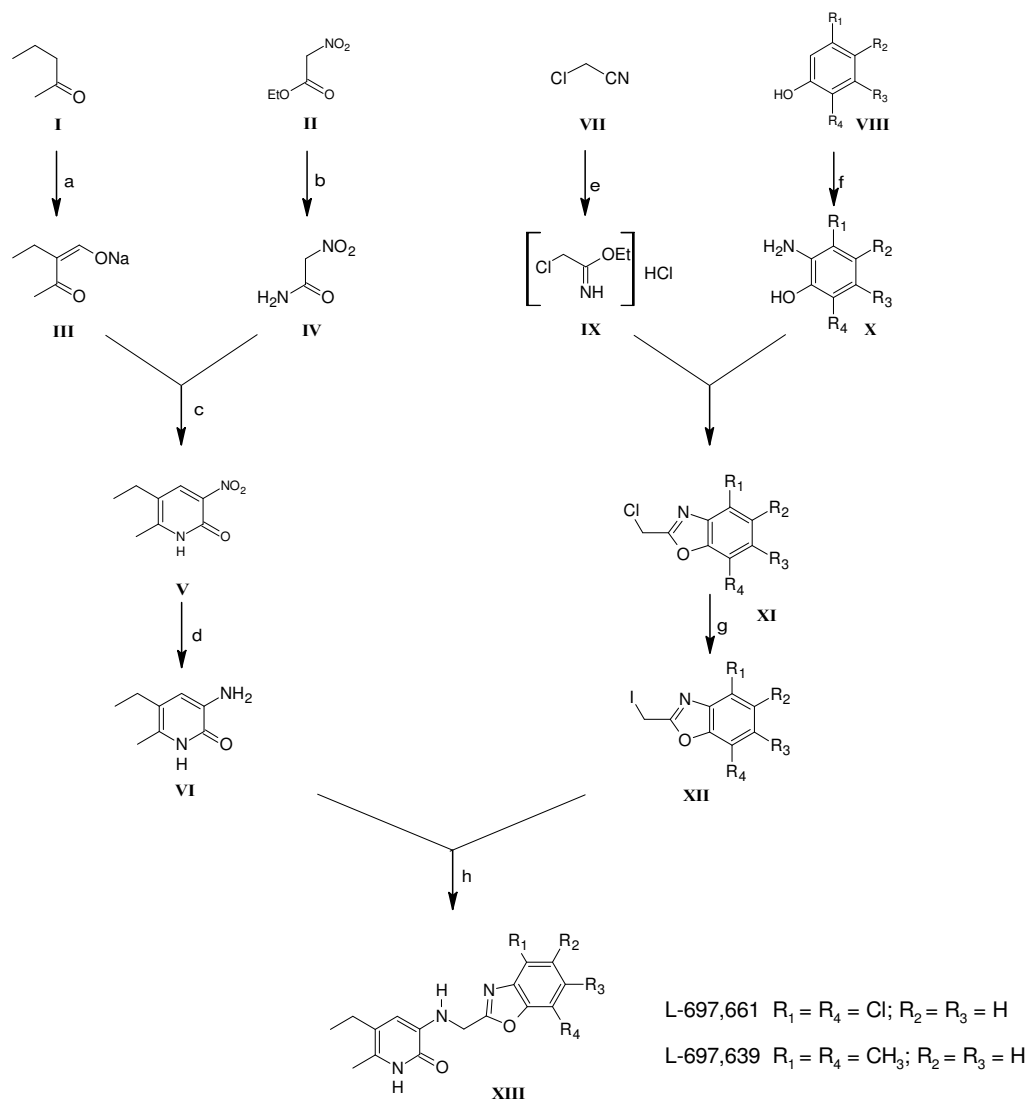
Los derivados de 2-piridinona presentan algunas desventajas ya que son rápidamente metabolizados y originan cepas resistentes (Nunberg et al., 1991). Esto hace que no puedan ser usados como agentes antivirales por sí mismos. Sin embargo, al utilizarse en combinación con AZT o derivados nucleosídicos, actúan de forma sinérgica, retardando la aparición de cepas resistentes y disminuyendo la toxicidad de los fármacos nucleosídicos (Perrin et al., 1996).

Los estudios cuantitativos de relación estructura-actividad (QSAR) de los derivados de 2-piridinonas, han propuesto que se llevan a cabo interacciones hidrófobas entre los grupos Cl o CH_3 en el anillo de benzoxazol y el receptor (la enzima TR), y que éstos juegan un papel muy importante en la actividad anti-VIH (Garg et al., 1999).

Los métodos computacionales han determinado que la conformación preferida de los derivados de 2-piridinonas al unirse a la TR en la cavidad hidrófoba es de “tipo mariposa” al igual que la mayoría de los inhibidores no nucleosídicos. Los enlaces por puente de hidrógeno e interacciones aromáticas π contribuyen a la estabilidad de esta conformación (Parreira et al., 2001).

2.6 Síntesis de derivados de 2-piridinonas

Los derivados de 2-piridinona se han sintetizado a través de rutas convergentes (Saari et al., 1991), en donde se obtiene por separado la entidad 3-amino-2-piridinona y el anillo de 2-clorometilbenzoxazol, que mediante una reacción de sustitución nucleofílica dan lugar al compuesto correspondiente (Esquema 1).



(a) HCO_2Et , MeONa ; (b) NH_3 ; (c) 1) HCl ; 2) Acetato de piperidinio; (d) H_2 , Pd/C ; (e) HCl , EtOH ; (f) 1) HNO_3 ; 2) H_2 , Pd/C ; (g) NaI ; (h) $i\text{Pr}_2\text{NEt}$

Esquema 1. Síntesis convergente para la preparación de los derivados de la 2-piridinona

La síntesis de los derivados de 2-piridinonas se inicia con la preparación de la 3-amino-5-etil-6-metil-1*H*-piridin-2-ona (VI). La formilación de la 2-pentanona (I), en presencia de formiato de etilo y metóxido de sodio produce el enolato sódico (III), que se hace reaccionar con la nitroacetamida (IV) en medio ácido, seguida de acetato de piperidinio, para dar la 5-etil-6-metil-3-nitropiridin-2-ona (V). Éste compuesto, bajo condiciones de reducción catalítica con Pd/C origina al compuesto (VI).

Por otro lado, se sintetiza el benzoxazol sustituido a partir del cloroacetnitrilo (VII), el cual se trata con etanol absoluto saturado con HCl gas, para dar el imidato correspondiente (IX). La nitración del 2,5-diclorofenol (VIII) se lleva a cabo con HNO₃ y H₂SO₄ fumante (Grotta et al., 1967; Hodgson y Kershaw, 1929). La reducción catalítica del grupo nitro genera el 2-amino-3,6-diclorofenol (X). El acoplamiento de los compuestos X con IX produce el 2-clorometilbenzoxazol (XI), el cual se activa al derivado yodometil correspondiente (XII).

La condensación de 3-amino-5-etil-6-metil-1*H*-piridin-2-ona (VI) con 2-yodometilbenzoxazol (XII) en presencia de diisopropiletilamina da el derivado de 2-piridinona deseado (Wai y Goldman, 1992).

2.7 Cuantificación de la actividad TR

La determinación de la actividad TR es una herramienta vital para demostrar la presencia de retrovirus en biopsias y cultivos celulares de pacientes infectados con el VIH, así como para determinar el efecto inhibitorio de fármacos contra la TR del virus.

La TR es una enzima multifuncional, tiene la capacidad de sintetizar la primera hebra de ADN a partir del ARN genómico (ARN templado), e inmediatamente sintetizar la segunda hebra de ADN a partir de la primera ya formada; además, la TR también hidroliza la molécula de RNA inicial. Por lo que la actividad TR puede ser cuantificada en función de sus diferentes reacciones enzimáticas (Goff, 1990).

La primera generación de ensayos para medir la actividad TR se basan en la incorporación de un nucleótido marcado con un átomo radiactivo, generalmente ³H o ³²P. Se utiliza ARN genómico (ARN templado) acoplado a ADN (ADN primer). El material utilizado en este ensayo es ARN viral endógeno o ARN sintético, generalmente se usa poli(A) o poli(C) como sustratos. Tradicionalmente el ensayo TR se lleva a cabo mezclando la muestra a ser analizada con uno de los dos homopolímeros mencionados (poliA o poliC) marcado con ³H radiactivo, en presencia de un ión metálico apropiado (Hoffman et al., 1985). La reacción se lleva a cabo a 37 °C por 3 horas y finaliza con la precipitación del producto mediante la

adición de ácido tricloroacético. El producto se filtra y se transfiere a un papel filtro, donde se lava repetidamente para eliminar el exceso de material sin reaccionar. El producto se suspende en líquido de centelleo para determinar la cantidad de producto radiactivo en un contador de radioactividad (Lee et al., 1987).

El ensayo Lenti RT (Cavidi Tech) es una técnica colorimétrica no radiactiva. Se basa en el uso de microplacas de 96 pozos en donde se encuentra unido covalentemente un homopolímero de riboadenosina (poliA) que sirve como molde para la síntesis de ADN. Se usa un oligo-dT como iniciador y se incorpora 5-bromodeoxiuridina 5´trifosfato (BrUTP) como sustrato modificado, utilizado por la enzima TR para construir la nueva cadena de ADN. La polimerización de ADN producido por la TR procede a 33 °C durante 3 horas y se cuantifica inmunológicamente por el reconocimiento de la BrUTP, mediante un anticuerpo anti-BrdU conjugado a fosfatasa alcalina. La adición del reactivo paranitrofenilfosfato (pNFF) a la mezcla de reacción, ocasiona que la fosfatasa alcalina hidrolice el grupo fosfato del pNFF y genere el compuesto paranitrofenol. Esta reacción es colorida y se cuantifica en un lector de ELISA a 405 nm (Ekstrand et al., 1996).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años el número de personas infectadas con el VIH a nivel mundial se ha incrementado. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó para el año 1999 que 34 millones de personas se infectaron con el virus y para el 2006 se reportaron 40 millones de casos.

La administración de una mezcla de fármacos que incluyen inhibidores de la TR nucleosídicos y no nucleosídicos, así como de inhibidores de la proteasa, ha aumentado el tiempo de sobrevivencia y la calidad de vida de los pacientes infectados con el VIH.

Sin embargo, el costo, la toxicidad y la generación de cepas resistentes a estos compuestos hacen que se continúe investigando, a nivel molecular, las interacciones que se llevan a cabo entre los inhibidores no nucleosídicos de la TR y su sitio receptor, con la finalidad de lograr un mejor tratamiento para esta enfermedad.

A pesar de que se han hecho estudios de Relación Estructura-Actividad (SAR) en los derivados de 2-piridinona, poco se sabe sobre la influencia que podría tener sobre la actividad biológica la introducción de un anillo de 5 ó 6 átomos de carbono o un anillo aromático en las posiciones 5 y 6 de la piridinona. Tampoco, se tiene información sobre la sustitución de las posiciones 5, 5 y 6 en el anillo de benzoxazol. Por lo anterior, se diseñaron 12 análogos de la 2-piridinona (**1**) con el objeto de tener una mayor información sobre los requerimientos estructurales para la actividad anti-TR del VIH de estos inhibidores.

4. HIPÓTESIS

Los factores estéricos y electrónicos introducidos en la molécula líder (**1**) tendrán una gran influencia en la actividad inhibitoria del VIH-1.

La sustitución de los grupos etilo y metilo en las posiciones 5 y 6 del anillo de piridinona por anillos fusionados alifáticos o aromáticos; así como la variación en la posición de los sustituyentes en el anillo de benzoxazol, se verá reflejada en las propiedades estéricas y electrónicas de las nuevas moléculas y por tanto en su capacidad de inhibir a la enzima TR del VIH-1.

Los compuestos con cloro en las posiciones 4' y 7' de la parte benzoxazólica serán más activos que sus análogos 5', 5' y 6' sustituidos.

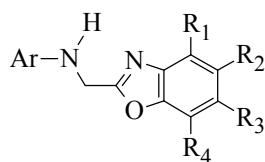
Con respecto a la parte sintética, los 12 análogos diseñados se podrán sintetizar por los métodos convencionales de síntesis y se podrán caracterizar por los métodos espectroscópicos y espectrométricos ya conocidos.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Conocer la influencia estérica y electrónica que tienen algunas modificaciones estructurales en el anillo de 2-piridinona, así como en el anillo de benzoxazol del compuesto líder (**1**), sobre la actividad de la transcriptasa reversa del VIH-1. Los compuestos diseñados para este estudio se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Compuestos diseñados, análogos de 2-piridinonas



Compuesto	Ar	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1		Cl	H	H	Cl
2	“	H	Cl	Cl	H
3	“	H	Cl	H	H
4		Cl	H	H	Cl
5	“	H	Cl	Cl	H
6	“	H	Cl	H	H
7		Cl	H	H	Cl
8	“	H	Cl	Cl	H
9	“	H	Cl	H	Cl
10		Cl	H	H	Cl
11	“	H	Cl	Cl	H
12	“	Cl	Cl	H	H

5.2 Objetivos específicos

- Sintetizar los análogos de 2-piridinona (**1-12**), así como cada uno de sus precursores.
- Caracterizar los compuestos finales (**1-12**), así como sus precursores novedosos mediante sus datos espectroscópicos (IR, RMN) y espectrométricos (EM).
- Someter los compuestos sintetizados a la prueba de actividad inhibitoria de la TR del VIH-1.

6. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO

Con el objeto de tener mayor información sobre los requerimientos estructurales para la actividad anti-TR del VIH-1, de nuevos derivados de la 2-piridinona (**1**), se diseñaron 12 análogos de ésta.

La primera serie (**1-3**) incluye al compuesto líder **1**, así como a sus análogos sustituidos con cloro en las posiciones 5 y 5,6 del anillo de benzoxazol. En la segunda serie (**4-6**) se fijaron los grupos etilo y metilo de las posiciones 5 y 6 de la piridinona por medio de un anillo de 5 miembros, esperando con esto una mejor interacción con su receptor. En la tercera serie (**7-9**) se consideró además de fijar las posiciones 5 y 6 de la piridinona, incrementar el número de carbonos, para generar un anillo saturado de seis miembros, lo que proporcionará información sobre las limitaciones estéricas. En la cuarta serie (**10-12**) se consideró un anillo aromático fusionado en las posiciones 5 y 6 del anillo de piridinona, con el propósito de aumentar la planaridad del compuesto, así como la densidad electrónica, originando un probable sitio haptofórico, de manera que se aumente la interacción entre el fármaco y su receptor.

Se espera que estos cambios sutiles en la estructura básica del compuesto guía, puedan brindar más información sobre la Relación Estructura-Actividad inhibitoria de los derivados de la 2-piridinona (**1**).

7. METODOLOGÍA

Para una mejor comprensión, el trabajo experimental de esta investigación se divide en dos partes: la química, que comprende los estudios realizados para preparar los compuestos diseñados; y la biológica, en la cual se determinó la actividad anti-RT del VIH-1 de los compuestos sintetizados.

7.1 PARTE QUÍMICA

La parte química, a su vez, se llevó a cabo en cuatro etapas. En la primera se sintetizaron, en el mismo grupo de investigación (Medina, 2002), los derivados de 3-aminopiridinonas con sustituyentes etilo y metilo en posición 5 y 6, respectivamente, así como con anillos saturados de 5 y 6 miembros.

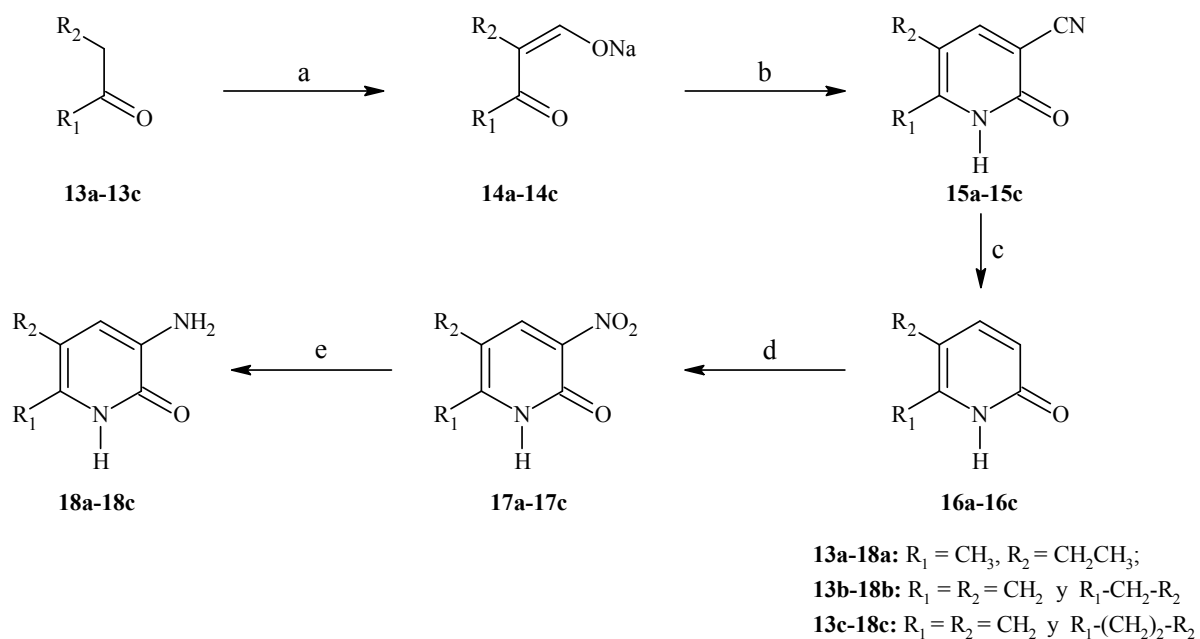
En las siguientes etapas, como parte de esta tesis, se sintetizaron: la 3-aminopiridinona modificada en posición 5 y 6 por un anillo aromático (Juárez-Gordiano et al., 2002); en la tercera, los anillos de 2-clorometilbenzoxazol mono y disustituidos con grupos Cl; y en la cuarta, se hicieron reaccionar los derivados de la 3-aminopiridinona con los anillos de 2-clorometilbenzoxazol.

7.1.1 Síntesis de 3-aminopiridinonas (18a-18c)

Los anillos de piridinona modificados en posición 5 y 6 con anillos saturados de 5 y 6 miembros, así como el que presenta el grupo etilo y metilo en estas posiciones, se sintetizaron de acuerdo al Esquema 2 (Dollé, 1997; Paine, 1987; Medina, 2002).

La síntesis se inició con la formilación de la cetona correspondiente: 2-pentanona (**13a**), ciclopentanona (**13b**) o ciclohexanona (**13c**) en presencia de formiato de etilo y etóxido de sodio, para dar los enolatos correspondientes (**14a**, **14b**, **14c**). La condensación de cada uno de ellos con 2-cianoacetamida dio la 3-cianopiridinona (**15a**, **15b**, **15c**). La hidrólisis y la descarboxilación de éstas con HCl, originaron las piridinonas **16a**, **16b** y **16c**, las que

mediante una nitración con mezcla sulfonítrica a 0 °C llevaron a las 3-nitropiridinonas **17a**, **17b** y **17c**. Finalmente, la reducción catalítica con H₂, Pd/C al 5 % permitió la obtención de las 3-aminopiridinonas correspondientes **18a**, **18b** y **18c**.



(a) HCO₂Et, EtONa, EtOH; (b) NCCH₂CONH₂; (c) HCl, calor; (d) HNO₃, H₂SO₄; (e) H₂, Pd/C, 5%.

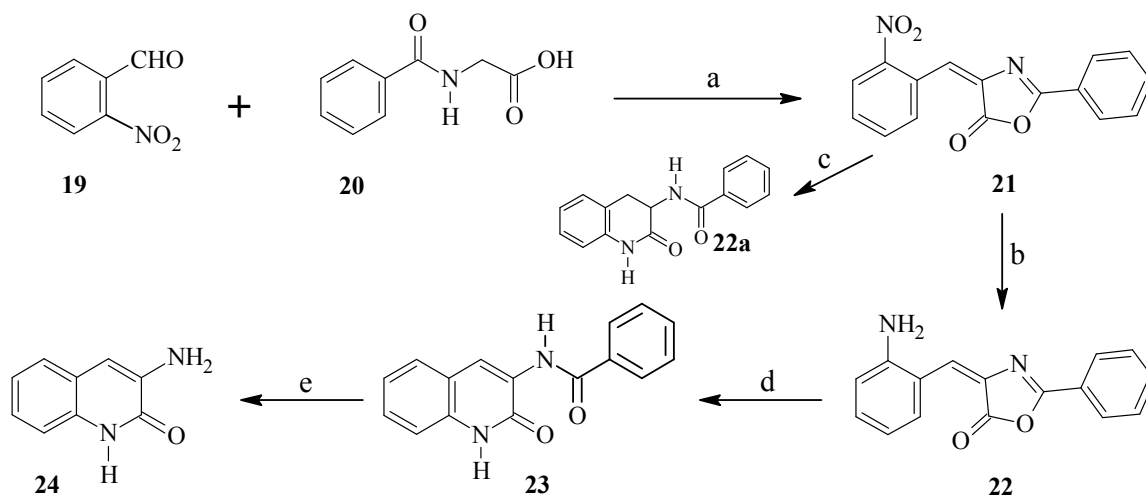
Esquema 2. Procedimientos reportados para la síntesis de las 3-aminopiridinonas.

7.1.2 Síntesis de 3-aminoquinolin-2(1H)-ona (**24**)

Para obtener el análogo de la piridinona con un anillo bencenoide fusionado en las posiciones 5, 6, esto es la 3-aminoquinolin-2(1H)-ona (**24**), se realizó un estudio extenso que se presenta a manera de resumen en el Esquema 3 (Juárez-Gordiano et al., 2002).

La síntesis se inició con la reacción del *o*-nitrobenzaldehído (**19**) y el ácido hipúrico (**20**) que en presencia de anhídrido acético y piridina a 75 °C produce la (4*E*)-2-fenil-4-(2-nitrobenziliden)-1,3-oxazol-5(4*H*)-ona (**21**). La reducción catalítica de ésta con H₂, Pd/C al 5% por 15 minutos, dio un sólido rojo cristalino identificado como la (4*E*)-4-(2-aminobenciliden)-2-fenil-1,3-oxazol-5(4*H*)-ona (**22**). Cuando el tiempo de reducción se incrementó a 30 min, o más, la hidrogenación de **21**, bajo las mismas condiciones, llevó a

un compuesto identificado como la *N*-(2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-il)benzamida (**22a**). Para obtener el compuesto **23**, se preparó una solución del compuesto **22** en acetona y se irradió con una lámpara de 250 Watts. Después de un tiempo de reacción, la *N*-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)benzamida (**23**) precipitó en forma de cristales, los cuales se separaron y después se hidrolizaron con NaOH en EtOH/H₂O por calentamiento prolongado y se obtuvo la 3-aminoquinolin-2(1*H*)-ona (**24**).



(a) Ac₂O, piridina, 75 °C; (b) H₂, Pd/C 5%, EtOH, 15 min.; (c) H₂, Pd/C 5%, EtOH, 30 o más min.; (d) Luz de 250 W, acetona; (e) NaOH, H₂O, EtOH, 80 °C.

Esquema 3. Procedimiento para sintetizar la 3-aminoquinolin-2(1*H*)-ona (**24**).

7.1.3 Síntesis de derivados mono y disustituídos del 2-clorometilbenzoxazol

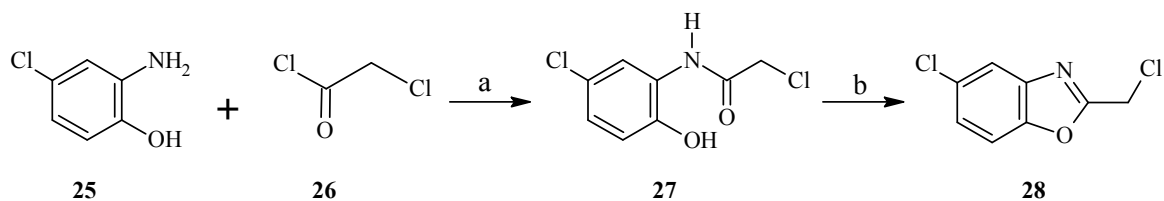
La síntesis de cada uno de los anillos de 2-clorometilbenzoxazol se llevó a cabo de manera diferente, puesto que se requería obtener el 2-clorometilbenzoxazol monoclorado en posición 5 y diclorado en las posiciones 4,7 y 5,6. Como se explica a continuación.

7.1.3.1 Síntesis de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**28**)

El 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol se sintetizó de acuerdo a la serie de reacciones que se muestran en el Esquema 4. El primer intento para obtener el compuesto **28** consistió en hacer reaccionar al 2-amino-4-clorofenol (**25**) con el cloruro de cloroacetilo (**26**), a

reflujo en tolueno, para obtener el compuesto ciclado. Después de 2 horas de reacción se obtuvo un sólido, el cual se separó por filtración y se lavó con tolueno frío. En el espectro de RMN ^1H del sólido obtenido se observó una señal amplia que integró para un protón, indicando que solo se trataba de la amida correspondiente (**27**) y no del compuesto ciclado como se esperaba. La reacción se repitió nuevamente, pero ahora aumentando el tiempo de reacción. Sin embargo, después de 48 horas se obtuvieron los mismos resultados, el compuesto **27**.

Considerando que el intermediario **27** se obtuvo con buen rendimiento en un tiempo de reacción corto (2 horas), éste se deshidrató con P_2O_5 al mismo tiempo que se destiló de bulbo a bulbo a una temperatura de $198\text{ }^\circ\text{C}$. Este proceso permitió obtener el compuesto deseado, 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**28**).



(a) Tolueno, $100\text{ }^\circ\text{C}$; (b) P_2O_5 , destilación de bulbo a bulbo.

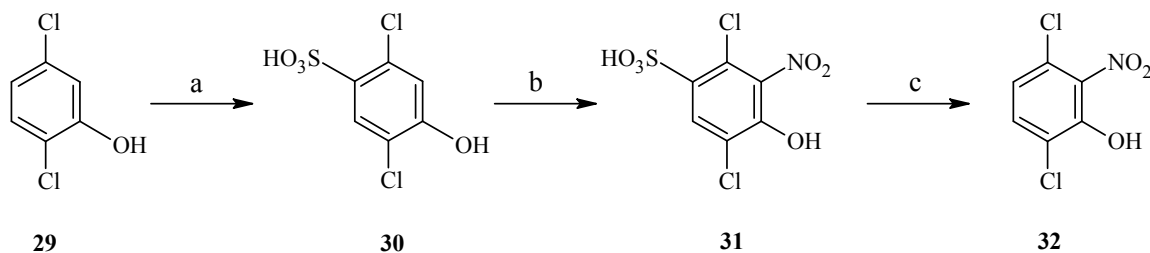
Esquema 4. Secuencia sintética para preparar el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**28**).

7.1.3.2 Síntesis de 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**35**)

El anillo de 2-clorometil-1,3-benzoxazol, disustituido en posición 4,7, se sintetizó en varios pasos (Esquema 5) y con serias dificultades. La primera fue nitrar selectivamente la materia prima, el 2,5-diclorofenol (**29**), puesto que este compuesto se puede nitrar en las posiciones *orto*- o *para*- al OH. La literatura menciona que es necesario utilizar “oleum” y H_2SO_4 concentrado a $80\text{ }^\circ\text{C}$ para bloquear la posición *para*- al OH (Grotta et al., 1967; Hodgson y Kershaw, 1929); sin embargo, cuando se siguieron estas condiciones, el rendimiento del producto nitrado en posición *orto*- al fenol fue pobre.

Se consideró que, probablemente, en nuestro experimento no se conseguía sulfonar la posición *para*- al OH y se decidió modificar la temperatura de sulfonación de 80 °C a 90-100 °C. Los mejores resultados se obtuvieron a una temperatura de reacción de 100 °C, obteniéndose por primera vez el ácido 2,5-dicloro-4-hidroxibencensulfónico (**30**).

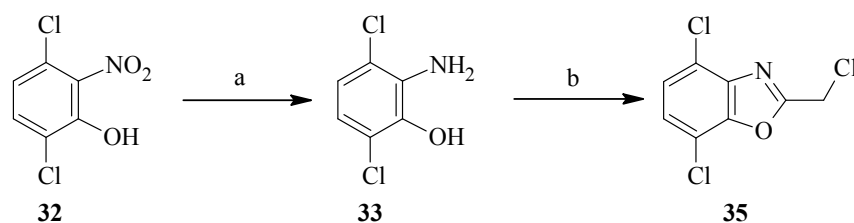
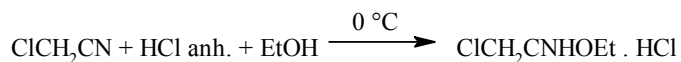
Una vez obtenido el compuesto protegido en posición *para* al -OH se trató con HNO₃ fumante (d = 1.5) a 0 °C, según indicaciones de la literatura (Grotta et al., 1967, Hodgson y Kershaw, 1929); sin embargo, a esta temperatura la mezcla de reacción se solidificó y no hubo reacción. Se aumentó entonces la temperatura a 10-15 °C y se adicionó el ácido nítrico. Después, se procedió a la desprotección con H₂SO₄ concentrado y calor (150-155 °C), el producto se aisló con una destilación por arrastre de vapor. El producto precipitó en el destilado como un sólido amarillo, el cual se separó y purificó por cristalización de éter de petróleo para dar el 3,6-dicloro-2-nitrofenol (**32**).



(a) H₂SO₄ óleum, 100 °C; (b) HNO₃ fum., 10-15 °C; (c) Destilación por arrastre de vapor en medio ácido.

Esquema 5. Reacciones realizadas para preparar el 3,6-dicloro-2-nitrofenol (**32**).

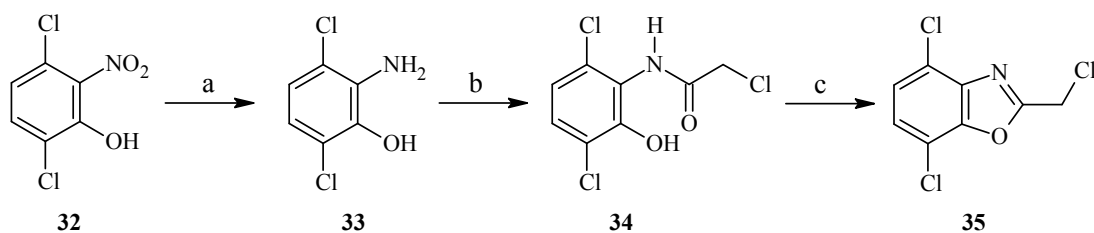
Una vez obtenido (**32**), éste se redujo con H₂, Pd/C al 5% en EtOH y unas gotas de AcOH, el polvo café del 2-amino-3,6-diclorofenol obtenido (**33**) se hizo reaccionar con el clorhidrato del cloroiminoacetato de etilo recién preparado y se obtuvo el compuesto **35** (Esquema 6), sin embargo, esta ruta se abandonó porque el rendimiento fue muy bajo.



(a) H_2 , Pd/C 5%, EtOH, AcOH; (b) $\text{ClCH}_2\text{CNHOEt} \cdot \text{HCl}$, CH_2Cl_2 .

Esquema 6. Primera ruta estudiada para preparar el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**35**).

En la segunda alternativa se hicieron las reacciones que se muestran en el Esquema 7. Consistió en condensar la amina (**33**) con cloruro de cloroacetilo en tolueno a reflujo, para dar la 2-cloro-*N*-(3,6-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (**34**). Ésta se deshidrató con P_2O_5 y se destiló de bulbo a bulbo para obtener el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**35**).



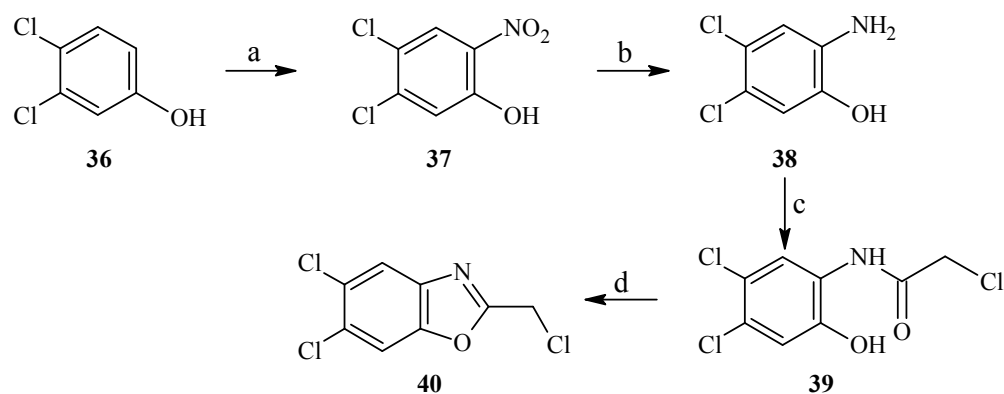
(a) H_2 , Pd/C 5%, EtOH, AcOH; (b) ClCOCH_2Cl , tolueno a reflujo; (c) P_2O_5 , destilación de bulbo a bulbo.

Esquema 7. Segunda ruta estudiada para preparar el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**35**).

7.1.3.3 Síntesis de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**40**)

La preparación del 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (Esquema 8) fue más sencilla, pues no involucró la protección de algunas posiciones como en el caso anterior. Se inició con la nitración del 3,4-diclorofenol (**36**) con ácido nítrico en ácido acético y a $0\text{ }^\circ\text{C}$. Los compuestos nitrados precipitaron como un sólido oleoso una vez que se adicionó agua

fría. El producto principal se separó por cromatografía en columna con Gel de Sílice, para obtener el derivado **37**. Éste se sometió a una reducción catalítica con H₂, Pd/C al 5 % en etanol/ácido acético para obtener el compuesto **38**. Una vez obtenida la amina, se condensó con cloruro de cloroacetilo a reflujo en tolueno para dar la amida **39**, la cuál se deshidrató con P₂O₅ y se destiló de bulbo a bulbo para obtener el benzoxazol correspondiente (**40**).



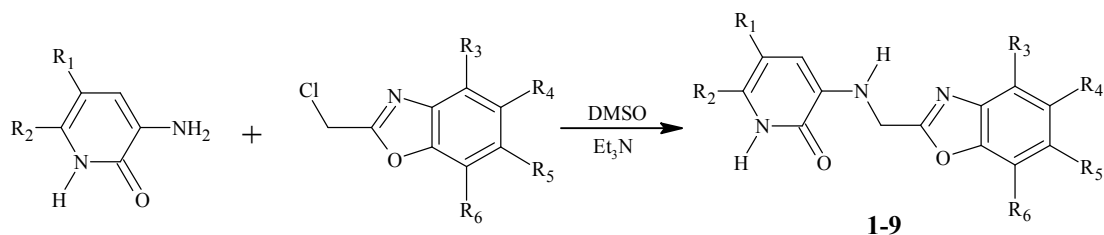
(a) HNO₃, AcOH, 0 °C; (b) H₂, Pd/C 5%; (c) ClCH₂COCl, tolueno a reflujo; (d) P₂O₅, destilación de bulbo a bulbo.

Esquema 8. Reacciones realizadas para preparar el 5,6-dicloro-2-clorometil-1,3-benzoxazol (**40**).

7.1.4 Síntesis de los compuestos de sustitución nucleofílica (1-9)

Una vez obtenidos los anillos de 2-clorometilbenzoxazol y de 3-aminopiridinona, se llevó a cabo la reacción de sustitución nucleofílica entre ambos para obtener los compuestos deseados **1-9** (Esquema 9). La reacción se realizó bajo las mismas condiciones; en atmósfera de nitrógeno, DMSO como disolvente y agitación a temperatura ambiente por 5 días, protegiendo la reacción de la luz. Los productos precipitaron en la mezcla de reacción como sólidos oleosos y el producto principal en cada una de las reacciones se separó por cromatografía en columna.

La reacción de sustitución nucleofílica entre el anillo de 3-aminoquinolin-2(1*H*)-ona y los derivados de 2-clorometilbenzoxazol, para dar **10**, **11** y **12**, no procedió bajo estas condiciones, aún cuando se utilizó acetonitrilo o acetona como disolvente, o cuando se aumentó la concentración del nucleófilo.



- 1:** R₁ = CH₂CH₃, R₂ = CH₃, R₃ = Cl, R₄ = H, R₅ = H, R₆ = Cl
2: R₁ = CH₂CH₃, R₂ = CH₃, R₃ = H, R₄ = Cl, R₅ = Cl, R₆ = H
3: R₁ = CH₂CH₃, R₂ = CH₃, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H
4: R₁ = R₂ = CH₂, y R₁-CH₂-R₂; R₃ = Cl, R₄ = H, R₅ = H, R₆ = Cl
5: R₁ = R₂ = CH₂, y R₁-CH₂-R₂; R₃ = H, R₄ = Cl, R₅ = Cl, R₆ = H
6: R₁ = R₂ = CH₂, y R₁-CH₂-R₂; R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H
7: R₁ = R₂ = CH₂, y R₁-(CH₂)₂-R₂; R₃ = Cl, R₄ = H, R₅ = H, R₆ = Cl
8: R₁ = R₂ = CH₂, y R₁-(CH₂)₂-R₂; R₃ = H, R₄ = Cl, R₅ = Cl, R₆ = H
9: R₁ = R₂ = CH₂, y R₁-(CH₂)₂-R₂; R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H

Esquema 9. Reacción de condensación para obtener los derivados de la 2-piridinona (**1-9**).

7.2 PARTE BIOLÓGICA

La determinación de la actividad anti-RT del VIH-1 se llevó a cabo empleando el método colorimétrico Lenti-RT (Cavidi Tech) específico para la TR del VIH-1 descrito por Reyes-Chilpa et al., (2004) y Huerta et al., (2004). Éste consiste en determinar la incorporación de bromodesoxiuridina (BrdUTP) a poliadenina (poli-A), inmovilizado en microplacas de 96 pozos. Una vez incorporado a la cadena sintetizada por medio de la TR el BrdUTP, es reconocido por un anticuerpo conjugado a fosfatasa alcalina. La adición de *p*-nitrofenilfosfato al sistema, conduce a la hidrólisis de éste al *p*-nitrofenol por medio de la fosfatasa alcalina, generando una reacción colorida que se puede leer a una longitud de onda de 405 nm (Ekstrand et al., 1996; Shao et al., 1997).

Para la evaluación de la actividad inhibitoria sobre la TR del VIH-1, los compuestos se evaluaron por triplicado a una concentración de 1mM. Como disolvente se usó DMSO a una concentración del 10 % v/v. Como control positivo, bajo las mismas condiciones de concentración, se empleó nevirapina, un derivado no nucleosídico anti-RT del VIH-1. La temperatura utilizada fue de 33 °C.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La síntesis de los compuestos **1-9** se realizó por una vía convergente, esto es, se obtuvo por separado cada uno de los intermediarios y luego se unieron para dar los productos finales. La ruta sintética que se planteó al inicio de esta investigación fue modificada para el caso de algunos intermediarios debido a que el rendimiento obtenido para los productos esperados fue pobre o el proceso difícil de realizar.

8.1. Síntesis de 3-aminopiridinonas (**18a-18c**)

En la ruta original propuesta por Saari en 1991, se plantea la formación de 3-aminopiridinonas a partir de nitroacetamida, la que a su vez se obtiene de nitroacetato de etilo. Sin embargo, para nuestro caso, el rendimiento de ambos intermediarios (nitroacetato de etilo y nitroacetamida) fue muy bajo o se obtenían compuestos que no correspondían a los deseados. Por lo que se decidió partir de otro sintón, en este caso, la cianoacetamida (ver Esquema 2), hecho que nos permitió obtener los intermediarios con rendimientos aceptables (Tabla 4).

Tabla 4. Rendimiento y pf de los derivados sustituidos de la 3-aminopiridinona (Medina, 2002)

Compuesto	Rendimiento (%)	pf (°C)
14a	52.32	238
14b	41.17	197
14c	56.01	224-227
15a	88.39	246-248
15b	39.10	244-245
15c	76.01	243-246
16a	94.59	158-159
16b	69.85	183-185
16c	54.45	207-208
17a	68.95	244-246
17b	55.17	160
17c	72.56	224-226
18a	91.99	184-186
18b	99.21	190
18c	98.48	209-212

8.2. Síntesis de 3-aminoquinolin-2(1H)-ona (**24**)

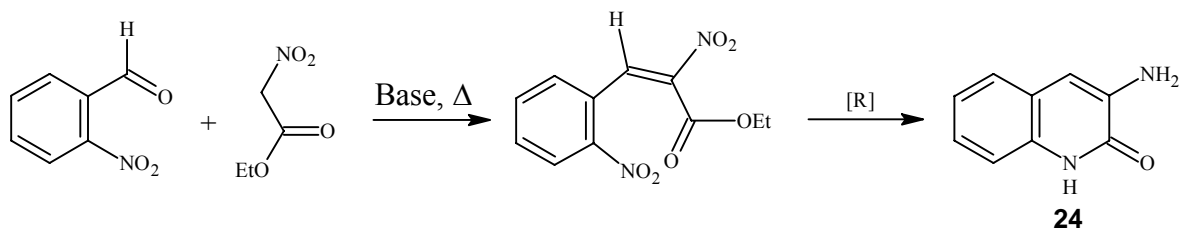
Después de un amplio estudio, la síntesis del anillo de 3-aminoquinolin-2(1H)-ona (**24**) se llevó a cabo en cuatro pasos sucesivos: condensación, reducción, isomerización e hidrólisis. El estudio de la síntesis de **24** permitió obtener buenos rendimientos para cada uno de los intermediarios (Juárez-Gordiano et al., 2002), (Tabla 5).

Tabla 5. Rendimiento y pf de los intermediarios del anillo de 3-aminoquinolin-2(1H)-ona

Compuesto	Rendimiento (%)	pf (°C)
21	91.05	162-164
22	93.53	172-173
22a	79.41	166-167
23	80.16	271-273
24	92.40	208-209

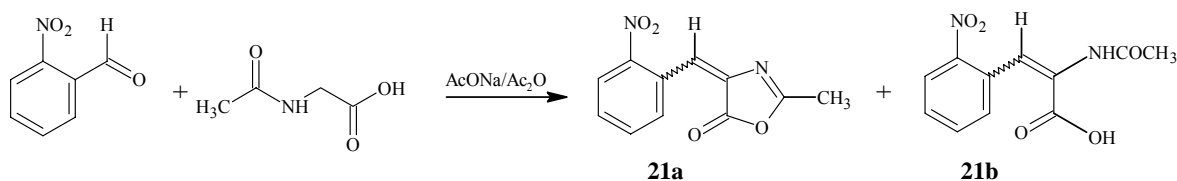
8.2.1. Reacción de condensación

Para la reacción de condensación, inicialmente se partió del 2-nitrobenzaldehído y del 2-nitroacetato de etilo con el propósito de obtener el producto de condensación según un procedimiento reportado en la literatura (Mathews y Kubler, 1960; Wai, 1992); sin embargo, el bajo rendimiento en la obtención del nitroacetato de etilo como materia prima durante la ruta sintética hizo que se abandonara esta ruta (Esquema 10).



Esquema 10. Ruta propuesta para la síntesis de 3-aminoquinolin-2(1H)-ona.

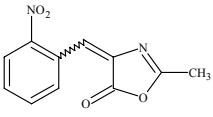
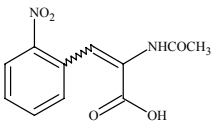
Una segunda alternativa para la reacción de condensación fue utilizar materias primas más accesibles. El 2-nitrobenzaldehído se trató ahora con ácido acético en presencia de acetato de sodio como base, en anhídrido acético a ebullición (Mazurov, 1985); bajo estas condiciones se obtuvo una mezcla de dos compuestos de condensación (Esquema 11).



Esquema 11. Productos obtenidos en la reacción de condensación utilizando ácido acetúrico.

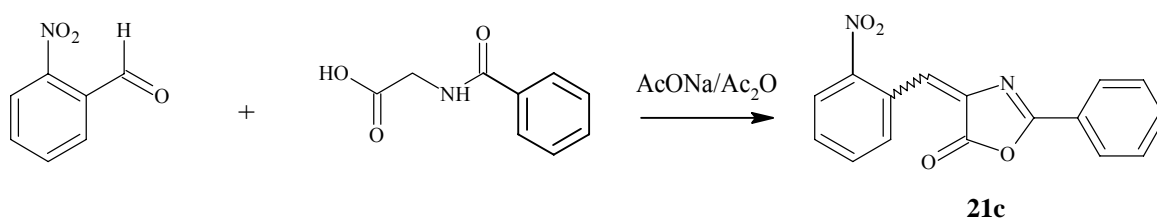
Uno de ellos fue identificado como 2-metil-4-(2-nitrobenzylidene)-1,3-oxazol-5(4H)-ona (**21a**), por las señales en RMN ¹H: a 2.27 ppm, que corresponde a los protones metílicos, además de las señales múltiples que integran para 5H en la región de 7.42-8.28 ppm. En el espectro de IR se observó la banda del carbonilo de la oxazolona a 1814 cm⁻¹ y en espectrometría de masas se presentó un fragmento de m/z 232 que corresponde al peso molecular del compuesto esperado. El otro compuesto, por sus características espectroscópicas, es un ácido carboxílico α,β-insaturado, el ácido 2-acetamido-3-(2-nitrofenil)acrílico (**21b**). En RMN ¹H presentó señales a 8.60 y 6.50 ppm que corresponden la primera, al -OH del grupo carboxilo y la segunda al H de la amida. En IR se observaron bandas a 3032 cm⁻¹ para el -OH y 1720 cm⁻¹ para el C=O, correspondientes al grupo carboxilo y una banda de amida a 3320 cm⁻¹ (Tabla 6).

Tabla 6. Características espectroscópicas y espectrométricas de los productos de condensación del *o*-nitrobenzaldehído y ácido acetúrico

Compuesto	pf °C	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
 21a	112-114	RMN ¹H (CDCl ₃) δ 8.28 (dd, J=9.3 y 1.5 Hz, 1H, H-3'), 7.91 (dd, 9.6 y 1.5 Hz, 1H, H-6'), 7.58 (t, J=1.5 y 0.9 Hz, 1H, H-5'), 7.47-7.42 (m, 2H, H-4' y H-bencílico), 2.27 (s, 3H, metílicos) IR (KBr) 1814 (C=O), 1788 (C=N), 1524 y 1352 (NO ₂) cm ⁻¹ EM (IE) m/z 232 (M ⁺ 10%) 43 (100%)	1.1 1.2 1.3
 21b	203-205	RMN ¹H (CDCl ₃) δ 8.60 (sa 1H, -OH carboxilo), 7.99 (dd, J=1.5 y 0.9 Hz, 1H, H-3'), 7.53 (s, 1H, bencílico), 7.50-7.45 (m, 1H, H-4'), 7.39-7.37 (m, 2H, H-5', 6'), 6.50 (sa, 1H, NH), 1.82 (s, 1H) IR (KBr) 3320 (NH), 3032 ancha (-OH carboxilo), 1720 (C=O carboxilo), 1654 (C=O amida), 1524 y 1344 (NO ₂) cm ⁻¹	2.1 2.2

A pesar de que el compuesto **21a** se obtuvo con rendimiento aceptable (45%), fue muy inestable a las reacciones de reducción posteriores, por lo que se buscó otra ruta alterna.

Con la finalidad de obtener un compuesto más estable, en la tercera alternativa se usó ácido hipúrico en lugar de ácido acetúrico como materia prima (Esquema 12). Las condiciones de reacción fueron semejantes, con anhídrido acético y acetato de sodio a ebullición durante 3 horas. Se aisló un compuesto con un pf de 164-165 °C y un rendimiento de 42%, probablemente el resto del producto se perdió durante las extracciones sucesivas. El producto obtenido se identificó como 2-fenil-4-(2-nitrobenziliden)-1,3-oxazol-5(4*H*)-ona (**21c**).



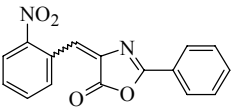
Esquema 12. Reacción de condensación de 2-nitrobenzaldehído y ácido hipúrico.

El espectro de RMN ¹H mostró 9 protones en la región aromática y a 7.61 ppm el protón bencílico. La espectroscopia IR mostró dos bandas: a 1850 y 1796 cm⁻¹; la primera correspondió a vibraciones de C=O y la segunda a vibraciones de C=N en el anillo de oxazolona. El espectro de masas por impacto electrónico (IE) mostró un fragmento de m/z 294, correspondiente al ión molecular, el cual coincidió con el peso molecular esperado.

El tiempo de reacción de tres horas y el rendimiento similar al estudio anterior (42%), nos llevó a modificar las condiciones para optimizar la reacción de condensación. En vez de usar acetato de sodio como base se utilizó piridina; y a los 15 minutos de iniciada la reacción se formó un sólido amarillo que se separó por filtración y se lavó con etanol frío. En este ensayo el rendimiento del producto de condensación aumentó a 91%. Este producto (**21**) se identificó como el producto anterior, es decir como el 2-fenil-4-(2-nitrobenziliden)-

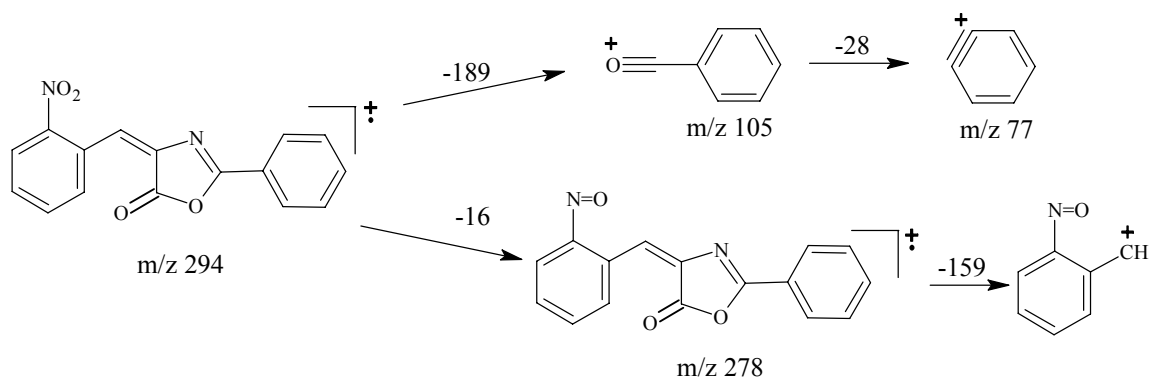
1,3-oxazol-5(4*H*)-ona (**21c**) por sus características espectroscópicas y espectrométricas (Tabla 7).

Tabla 7. Características espectroscópicas y espectrométricas de **21***

Compuesto	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
 <p>21</p>	RMN ¹H (CDCl ₃): δ 8.68 (dd, J=7.80 y 1.20 Hz, 1H, H-6'), 8.18-8.10 (m, 2H, H-4', 5'), 8.06 (dd, J=8.40 y 1.20 Hz, 1H, H-3'), 7.81 (td, J=7.65 y 1.50 Hz, 1H, H-4''), 7.61 (s, 1H, H-bencílico), 7.71-7.56 (4H, m, H-2'', 3'', 5'', 6'').	3.1
	IR (KBr): 1850 (C=O), 1798 (C=N) 1514 y 1334 (NO ₂) cm ⁻¹ .	3.2
	EM (IE) m/z 294 (M ⁺ , 17%), 105 (100%), 77 (75%).	3.3

*Las características espectroscópicas y espectrométricas coinciden entre **21c** y **21** por lo que sólo se muestran los espectros de éste último.

Por espectrometría de masas (EM) se observó un ión molecular con m/z de 294 correspondiente al peso molecular de la 2-fenil-4-(2-nitrobenzylidene)-1,3-oxazol-5(4*H*)-ona (**21**). En el Esquema 13 se muestran los fragmentos principales obtenidos bajo impacto electrónico para el compuesto **21**.



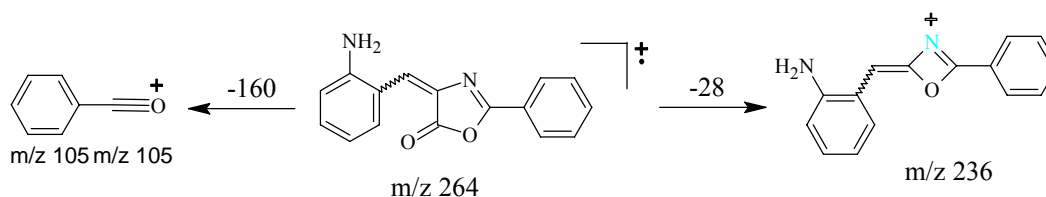
Esquema 13. Fragmentos principales en EM por IE de 2-fenil-4-(2-nitrobenzylidene)-1,3-oxazol-5(4*H*)-ona (**21**).

8.2.2. Reacción de reducción

Para la reacción de reducción del compuesto **21** se hicieron varios experimentos, iniciando con agentes reductores como el SnCl₂ o NaBH₄, en ambas condiciones se obtuvieron

mezclas complejas de productos que no se aislaron. Se hicieron también reducciones catalíticas con Níquel Raney o Pd/C.

La reducción catalítica con Níquel Raney al 5% se realizó a temperatura ambiente durante 4 horas, se usó como disolvente AcOEt en EtOH. En este experimento se aisló un compuesto mayoritario de color anaranjado con un pf de 166-169 °C y un rendimiento de 30%. Al analizarlo por RMN ^1H se observó una señal ancha a 6.2 ppm que desapareció con D_2O y que integró para 2 protones. En el IR se observaron dos bandas a 3406 y 3314 cm^{-1} correspondientes al grupo NH_2 . Con estos datos se consideró que bajo estas condiciones sólo se redujo el grupo nitro y no se llevó a cabo una reacción intramolecular para obtener el compuesto ciclado, a semejanza del derivado del ácido acetúrico como reporta la literatura (Mazurov, 1985). El espectro de masas mostró un ión molecular de m/z 264, además, se apreció la pérdida de $-\text{C}=\text{O}$ de m/z 236 característico de las oxazolonas, así como el fragmento de benzoílo a una m/z de 105. En el Esquema 14 se muestran los fragmentos principales para la estructura sugerida por el análisis espectrométrico.



Esquema 14. Fragmentos más importantes en EM por IE para el producto obtenido a partir de **21** bajo reducción catalítica con Pd/C.

En otro experimento se utilizó Pd/C al 5% como catalizador, bajo las mismas condiciones de reacción anteriores, 4 horas de reacción y AcOEt/EtOH como disolvente. Se obtuvo un polvo blanco con un pf de 198-199 °C y un rendimiento de 68%. El espectro de RMN ^1H mostró señales en la región de los metinos y metilenos que integraron para 2H y 1H respectivamente. En EM se observó un ión molecular de m/z 267, con dos unidades más que el esperado. Éste correspondió al peso molecular de una estructura cíclica pero deshidrogenada en la posición 3 y 4 (Figura 9).

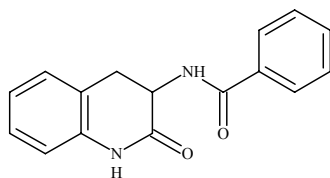


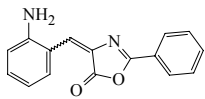
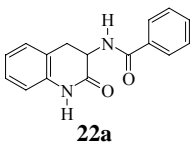
Figura 9. Producto **22a** obtenido bajo condiciones catalíticas

Durante la reacción catalítica con Pd/C se observó un cambio en la coloración de la mezcla de reacción a medida que se consumía el H₂, por lo que se decidió aislar los productos en cada uno de estos cambios. Entre los 10 y 15 minutos la mezcla de reacción pasaba de una solución amarilla a anaranjada, y aproximadamente a los 30 minutos, de anaranjada a amarillo pálido.

A los 15 minutos de hidrogenación se obtuvo un sólido anaranjado, cuyas características espectroscópicas coinciden con el obtenido cuando se usó Níquel Raney como catalizador. El espectro de RMN ¹H mostró una señal ancha a 6.23 ppm que desapareció con D₂O; en IR se observó la banda correspondiente al carbonilo de la oxazolona a 1770 cm⁻¹ y la banda del NH₂ a 3406 cm⁻¹, es decir a tiempos cortos de reacción sólo se reduce el grupo NO₂ y no ocurre una reacción intramolecular que daría lugar al compuesto ciclado.

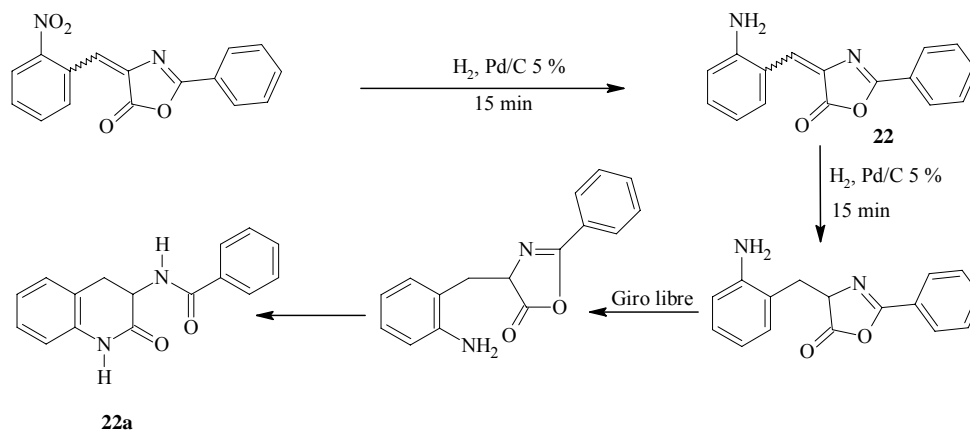
A los 30 minutos de reacción ya no se observó consumo de hidrógeno y el compuesto aislado fue un sólido blanco. El espectro de IR mostró dos bandas de carbonilo a 1692 y a 1632 cm⁻¹, la primera corresponde al carbonilo del anillo de dihidroquinolinona y la segunda al carbonilo de la benzamida. En RMN ¹H se observaron señales para los metinos en 4.82 ppm y metilenos en 3.35 ppm; y en EM se encontró un ión molecular que correspondió a una estructura con 2 unidades más de peso molecular. Por lo que el compuesto obtenido bajo estas condiciones fue semejante al obtenido con Pd/C al 5% durante 4 horas de reacción. En la Tabla 8 se dan las características espectroscópicas y espectrométricas de los productos obtenidos en este experimento.

Tabla 8. Características espectroscópicas y espectrométricas de **22*** y **22a****

Compuesto	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
 <p>22</p>	RMN ¹H (CDCl ₃): δ 8.18 (dd, J=8.10 y 1.50 Hz, 1H, H-6'), 8.08 (dd, J=7.70 y 1.50 Hz, 2H, H-2'', 6''), 7.75-7.51 (m, 3H, H-3'', 4'', 5''), 7.47 (s, 1H, H-bencilico), 7.16 (td, J=7.72 y 1.50 Hz, 1H, H-5'), 6.75 (dd, J=7.90 y 1.20 Hz, 1H, H-3'), 6.65 (td, J=7.80 y 1.20 Hz, 1H, H-4'), 6.23 (s, 2H, NH ₂).	4.1
	IR (KBr): 3402 y 3334 (NH ₂), 1770 (C=O), 1646 (C=N) cm ⁻¹ .	4.2
	EM (IE) m/z 264 (M ⁺ , 100%), 236 (8%), 105 (5%).	4.3
 <p>22a</p>	RMN ¹H (CDCl ₃): δ 10.20 (s, 1H, NH quinolona), 8.07 (d, J=6.60 Hz, 1H, NH benzamida), 7.91 (dd, J=6.60 y 1.50 Hz, 2H, H-5, 8), 7.57-7.41 (m, 3H, H-3', 4', 5'), 7.22-7.12 (m, 2H, 2', 6'), 7.01-6.91 (m, 2H, H-6, 7), 4.83-4.71 (m, 1H, H-3), 3.39-3.28 (m, 2H, CH ₂).	5.1
	IR (KBr): 3300 (NH), 1692 (C=O) cm ⁻¹ .	5.2
	EM (IE) m/z 266 (M ⁺ , 1%), 145 (100%).	5.3

*compuesto aislado de la reacción a los 15 minutos. **compuesto aislado a los 30 minutos.

Los resultados de estos experimentos mostraron que el compuesto de condensación **21** corresponde al isómero geométrico *E*, lo que no permitía la ciclación intramolecular una vez reducido el grupo nitro. Cuando se prolongó el tiempo de reacción se redujo, además del grupo nitro, el doble enlace exocíclico del grupo bencilideno, lo que permitió el giro libre del enlace σ y el ataque nucleofílico del NH₂ al carbonilo de la oxazolona para permitir la ciclación intramolecular que llevó a la formación de *N*-(2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-il)benzamida (**22a**), como se muestra en el Esquema 15.



Esquema 15. Productos obtenidos de la reducción con H₂, Pd/C a diferentes tiempos de reacción.

Como no se logró obtener el compuesto *N*-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)benzamida (**23**) bajo estas condiciones, se planteó otra alternativa, regenerar el doble enlace en la posición 3 y 4 de **22a** con un agente oxidante como 2,3-diciano-5,6-diclorobenzoquinona (DDQ). La reacción se llevó a reflujo durante una semana en condiciones anhidras y atmósfera de nitrógeno (Trost, 1967). Bajo estas condiciones se obtuvo el compuesto **23** con un rendimiento del 64% como un sólido amarillo con un pf de 271-273 °C (Esquema 16).

En el espectro de RMN ¹H se observó una señal a 8.8 ppm que integró para un protón y correspondió al protón 4 de la estructura **23**; dos señales anchas, una a 12.27 y otra a 9.35 ppm que integran para un protón cada una, la primera pertenece al protón del NH de la quinolona y la segunda al H del NH de la benzamida. En EM se encontró un ión molecular de m/z 264 que corresponde al peso molecular del compuesto **23**.



Esquema 16. Formación del doble enlace de **22a** con DDQ.

A pesar de que **23** se obtuvo con un rendimiento adecuado, el tiempo de reacción prolongado y las condiciones anhidras requeridas durante el proceso nos llevaron a desarrollar una ruta sintética alterna para obtener **23**.

8.2.3. Reacción de isomerización

Se decidió isomerizar el compuesto **22** para obtener *N*-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)benzamida (**23**), puesto que el primero se obtuvo con un rendimiento alto (93%) por una reducción catalítica en tiempo de reacción corto. Se llevaron a cabo varios experimentos de isomerización en donde el factor principal para la formación de **23** fue el disolvente utilizado en cada reacción (Tabla 9).

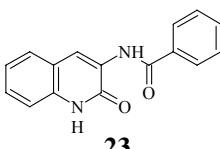
Tabla 9. Disolventes utilizados para la obtención de **23**

Disolvente	Tiempo de reacción (Horas)	Rendimiento %
Metanol	24	65.0
Etanol	24	0*
Acetonitrilo	24	39.0
Tolueno	24	36.3
Acetona	24	82.0

*se obtuvo una mezcla compleja de productos, por lo que fue difícil aislar e identificar los productos obtenidos.

La metodología para obtener **23** fue sencilla, se suspendió el compuesto en el disolvente correspondiente y se suministró luz por medio de un foco de 250 Watts, lográndose una temperatura de 60 °C. La mezcla permaneció en agitación hasta que se observó la formación de un precipitado. Durante este tiempo el compuesto **22** se isomerizó y el producto ciclado **23** precipitó en el medio de reacción, por lo que fue relativamente sencillo su aislamiento. En la reacción efectuada con acetona como disolvente se obtuvo el mejor rendimiento del producto (82%), éste disminuyó conforme aumentó el punto de ebullición del disolvente. El compuesto aislado en cada una de las diferentes reacciones se identificó como *N*-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)benzamida (**23**), (Tabla 10).

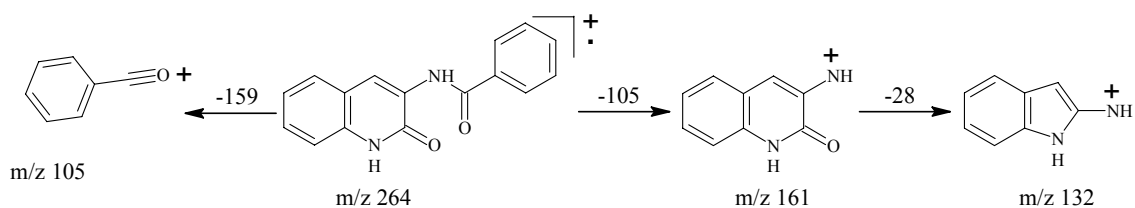
Tabla 10. Análisis espectroscópico y espectrométrico de **23***

Compuesto	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
 <p>23</p>	RMN ¹H (CDCl ₃ -DMSO-d ₆): δ 12.36 (s, 1H, NH, benzamida), 9.36 (s, 1H, NH quinolona), 8.72 (s, 1H, H-4), 7.91 (dd, J=7.50 y 1.80 Hz, 2H, H-2', 6'), 7.64-7.48 (m, 4H, H-5, H-3', 4', 5'), 7.40-7.31 (m, 2H, H-6, 7), 7.16-7.27 (m, 1H, H-8).	6.1
	IR (KBr): 3370 (NH), 1682 (C=O, quinolona), 1644 (C=O, benzamida) cm ⁻¹ .	6.2
	EM (IE) m/z 264 (M ⁺ , 65%), 78 (100%).	6.3

*Compuesto obtenido de la reacción efectuada con acetona como disolvente.

En el espectro de RMN ¹H se observó una señal a 8.72 ppm para el protón 4 de la quinolona, y dos señales anchas que desaparecieron con D₂O; una a 12.36 ppm que corresponde al protón del NH de la benzamida, y la otra a 9.36 ppm para el NH de la quinolona. En IR se observaron las bandas para carbonilo a 1682 y 1644 cm⁻¹, la primera

para la quinolona y la segunda para la benzamida. En EM se presentó un ión molecular de m/z 264 que corresponde con el peso molecular esperado, además se observaron los fragmentos de la ruptura de la benzamida a una m/z de 105 (benzoílo) y a una m/z de 161 (aminoquinolinona) este último fragmento pierde una masa de -28 ($C=O$) para dar el fragmento de m/z 132 (Esquema 17).



Esquema 17. Fragmentos observados en EM por IE para el producto de la reacción de isomerización.

Las características espectroscópicas y espectrométricas, así como el pf del compuesto aislado en cada una de las reacciones de isomerización, son iguales con las del producto obtenido con DDQ.

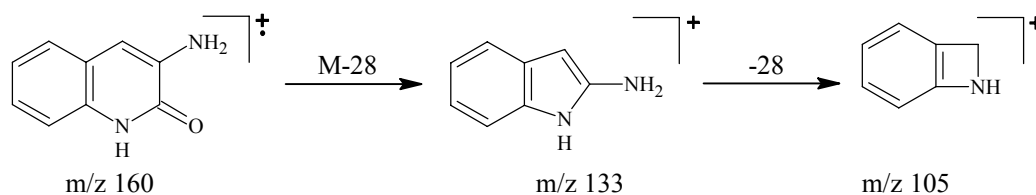
Para comprobar si la reacción de isomerización se debía sólo a la temperatura proporcionada por la lámpara, se substituyó ésta con una canasta de calentamiento utilizando los mismos disolventes. Los resultados fueron negativos, aún después de varias horas de reacción.

8.2.4. Reacción de hidrólisis

La hidrólisis de la benzamida **23** para obtener la 3-aminoquinolin-2(1*H*)-ona (**24**) se llevó a cabo en medio ácido y en medio básico. Los mejores resultados se obtuvieron en medio básico.

Se realizaron varios estudios en medio ácido para obtener **24**, desde condiciones suaves con ácido acético glacial, HCl al 10%, o H_2SO_4 al 20% a ebullición. En ninguna de estas condiciones se logró hidrolizar el compuesto **23**.

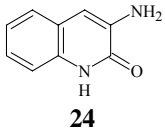
Cuando la amida **23** se suspendió en H₂SO₄ concentrado y se calentó esta mezcla a 80 °C por 5 minutos en agitación constante, se formó un sólido café claro con un rendimiento de 66% y un pf de 208-210 °C, semejante al reportado en la literatura (Mazurov, 1985). El análisis espectroscópico y espectrométrico confirmaron la hidrólisis de la amida. En RMN ¹H se observaron dos señales amplias que desaparecieron con D₂O a 11.79 ppm y a 5.44 ppm, la primera para el protón 1 de la quinolona y la segunda para los dos protones de la amina en posición 3 de la quinolona; en 6.72 ppm se encontró el protón en posición 4, además de las señales en la región aromática que integraron para 4 protones. En IR se observaron las bandas características para el NH₂ en 3440 y 3334 cm⁻¹. El EM mostró el fragmento de m/z 160 que correspondió al ión molecular y coincidió con el peso molecular esperado, además del fragmento a 133 m/z que se debe a la pérdida de M-28 (Esquema 18).



Esquema 18. Patrón de fragmentación en EM por IE del compuesto **24**.

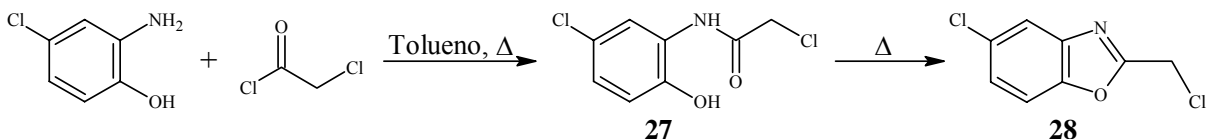
En medio básico se hicieron experimentos con 1 ó 2 equivalentes de NaOH o KOH en soluciones de etanol/agua a ebullición, con tiempo de reacción de 2 hasta 72 horas. Bajo estas condiciones se formó el compuesto **24** con rendimiento por abajo del 5%. Cuando se aumentó la concentración de la base (NaOH) a 11 equivalentes y se mantuvo la temperatura de reacción a 80 °C bajo atmósfera de nitrógeno, la hidrólisis del compuesto **23** se realizó en 24 horas para dar un sólido amarillo claro con un rendimiento del 92% y un pf de 210-211 °C. Las características espectroscópicas de este producto fueron semejantes a las observadas para el compuesto obtenido por hidrólisis ácida (Tabla 11).

Tabla 11. Características espectroscópicas y espectrométricas para el compuesto **24** obtenido por hidrólisis básica

Compuesto	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
 <p>24</p>	RMN ¹H (CDCl ₃ -DMSO): δ 11.79 (s, 1H, NH), 7.32 (d, J=7.50, 1H, H-5), 7.19 (d, J=7.80, 1H, H-8), 7.11 (t, J=7.50 y 1.50 Hz, 1H, H-7), 7.02 (t, J=7.20 y 1.50 Hz, 1H, H-6), 6.72 (s, 1H, H-4), 5.44 (s, 2H, NH ₂).	7.1
	IR (KBr): 3440 y 3334 (NH ₂), 1668 (C=O) cm ⁻¹ .	7.2
	EM (IE) m/z 160 (M ⁺ , 100%), 133 (64%), 105 (41%).	7.3

8.3 Síntesis de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol

La síntesis del anillo de 2-clorometilbenzoxazol monoclorado en la posición 5 (**28**) se llevó a cabo en dos pasos: primero la formación de la amida correspondiente y después la ciclación intramolecular de ésta (Esquema 19).

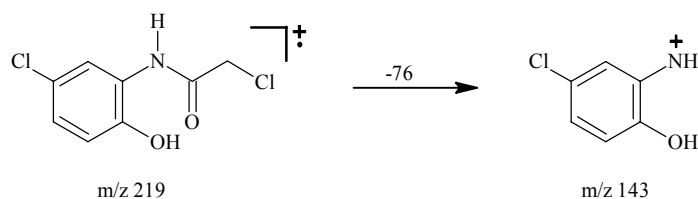


Esquema 19. Síntesis de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**28**).

8.3.1 Formación de la amida 2-cloro-N-(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (**27**)

Para la formación de la amida se partió de 2-amino-4-clorofenol y cloruro de cloroacetilo. La reacción se llevó a cabo a reflujo en tolueno por 4 horas, se dejó enfriar y precipitó un sólido que aislado por filtración y lavado con tolueno frío dio 88% de un compuesto con un *pf* de 189-190 °C. Al analizarlo por RMN ¹H se observaron dos señales simples que desaparecieron con D₂O, una a 9.55 ppm que correspondió al H de la amida, y otra, a 10.36 ppm asignada al protón del OH. Además, a 4.39 ppm se apreció la señal para los protones metilénicos; y los protones aromáticos en posición 3, 4 y 6 a 6.81, 7.00 y 8.02 ppm respectivamente. En IR se observó claramente las bandas de la amida a 3357 cm⁻¹, para el NH, y del carbonilo a 1656 cm⁻¹. Por espectrometría de masas se encontró un ión molecular

de m/z 219 que correspondió al peso molecular de 2-cloro-*N*-(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (**27**), además de un pico base de m/z 143 originado por la fragmentación de la amida (Esquema 20).

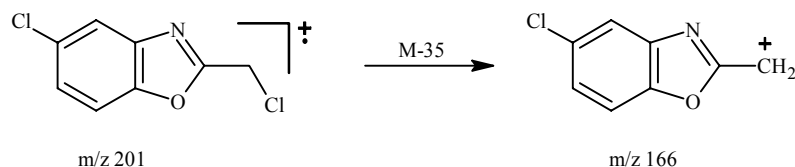


Esquema 20. Ión molecular y pico base observados en EM por IE para el compuesto **27**.

8.3.2. Formación del anillo de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**28**)

Una vez que se obtuvo e identificó **27**, se procedió a la ciclación intramolecular de éste para obtener **28**. Se hizo un primer experimento en donde el compuesto **27** se suspendió en tolueno y sobre esta mezcla se agregó ácido cloracético y se calentó a reflujo. Sin embargo, después de 24 horas de reacción no se logró obtener el benzoxazol.

El siguiente experimento para obtener la ciclación intramolecular se hizo en un fase sólida. Se mezcló la amida (**27**) con pentóxido de fósforo y se destiló de bulbo a bulbo entre 120-130 °C. Se obtuvo un sólido blanco con un *pf* de 51-52 °C y un rendimiento de 81%. Al analizarse por RMN ^1H se observó un singulete a 4.75 ppm para los protones metilénicos, y en la región aromática, a 7.72 ppm, apareció el protón de la posición 4, en 7.45 ppm el protón 7 y en 7.37 ppm el protón en 6 del benzoxazol sustituido. En IR se observaron las bandas para las vibraciones de los enlaces C=N a 1606 cm^{-1} y C-O-C a 962 cm^{-1} , ambas bandas indican la formación del anillo de benzoxazol, además la banda para el enlace C-Cl alquílico a 809 cm^{-1} . En espectrometría de masas se apreció el ión molecular a una m/z 201 que corresponde al peso molecular de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**28**), y el pico base de m/z 166 que corresponde a la eliminación del Cl alquílico (Esquema 21).



Esquema 21. Eliminación del Cl alquílico de 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol en EM por IE.

La síntesis de **28** también se llevó a cabo de acuerdo a la literatura (Wai y Goldman, 1992). Se partió del clorhidrato del cloroiminoacetato de etilo y el 2-amino-4-clorofenol, pero el rendimiento del benzoxazol fue bajo. En cambio, siguiendo la primera ruta mencionada anteriormente se obtuvo un rendimiento por arriba del 80% para ambos compuestos **27** y **28**. Las características espectroscópicas y espectrométricas se dan en la Tabla 12.

Tabla 12. Caracterización espectroscópica y espectrométrica de **27** y **28**

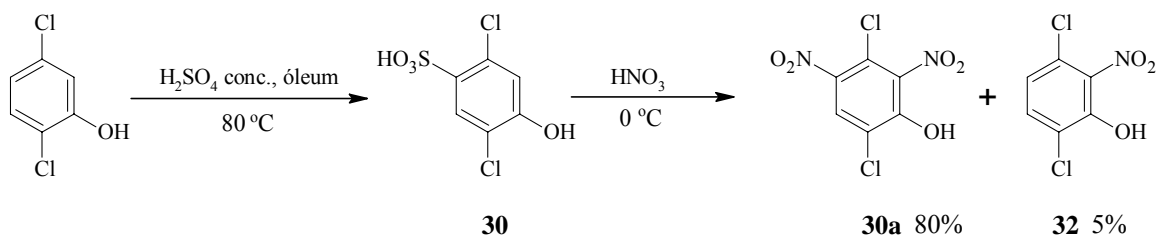
Compuesto	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
<p style="text-align: center;">27</p>	<p>RMN ¹H (DMSO): δ 10.36 (s, 1H, OH), 9.55 (s, 1H, NH), 8.02 (d, J=2.4 Hz, 1H, H-6), 7.00 (dd, J=11.4 y 2.7 Hz, 1H, H-4), 6.81 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-3), 4.39 (s, 2H).</p> <p>IR (KBr): 3357 (NH), 3117 (OH), 1656 (C=O) cm^{-1}.</p> <p>EM (IE) m/z 219 (M^+ 45%), 143 (100%).</p>	<p>8.1</p> <p>8.2</p> <p>8.3</p>
<p style="text-align: center;">28</p>	<p>RMN ¹H (CDCl_3): δ 7.72 ((dd, J=2.9 y 0.6 Hz, 1H, H-4), 7.45 (dd, J=9.3 y 0.6 Hz, 1H, H-7), 7.37 (dd, J=10.5 y 2.1 Hz, 1H, H-6), 4.75 (s, 2H).</p> <p>IR (KBr): 3071 (C-H aromático), 1606 ((C=N), 1566 (C-C) 1455 (-CH₂-), 962 (C-O-C), 809 (C-Cl) cm^{-1}.</p> <p>EM (IE) m/z 201 (M^+ 58%), 166 (100%).</p>	<p>9.1</p> <p>9.2</p> <p>9.3</p>

8.4 Síntesis de 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol

La síntesis del anillo de benzoxazol disustituido por Cl en las posiciones 4 y 7 se llevó a cabo en tres pasos: nitración del 2,5-diclorofenol, reducción del compuesto nitrado y formación del anillo de benzoxazol; cada uno de éstos con modificaciones a los métodos reportados en la literatura (Wai y Goldman, 1992).

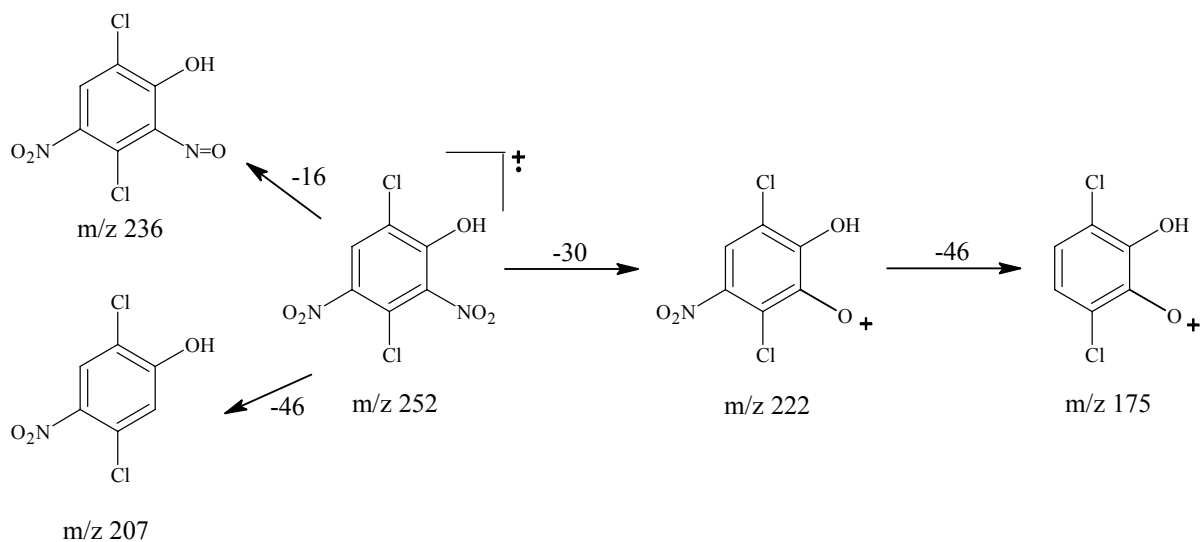
8.4.1 Síntesis de 3,6-dicloro-2-nitrofenol (**32**)

El primer estudio para la síntesis de 3,6-dicloro-2-nitrofenol (**32**) se realizó de acuerdo a la literatura (Grotta et al., 1967). La reacción se realizó sin aislar ninguno de los intermediarios. Se partió de 2,5-diclorofenol, el cual se sometió a una reacción de sulfonación, con H₂SO₄ concentrado y “oleum” a 80 °C, con el objeto de proteger la posición 4 del fenol. Posteriormente, en el mismo recipiente, se nitró a 0 °C con HNO₃ fumante. El producto formado se destiló por arrastre de vapor (Esquema 22). Sin embargo, bajo estas condiciones se obtuvo como producto mayoritario un sólido amarillo con un *pf* de 158-162 °C, que se identificó como el 3,6-dicloro-2,4-dinitrofenol (**30a**), (Tabla 13).



Esquema 22. Productos obtenidos del primer estudio de nitración.

En RMN ¹H se observó una señal para el protón en posición 5 a 8.16 ppm y una señal ancha que desaparece con D₂O a 5.59 ppm para el –OH. Por EM se apreció el ión molecular a 252 m/z que corresponde al peso molecular del compuesto dinitrado. Además, se observaron las rupturas clásicas para grupos nitro: la pérdida de –N=O (222 m/z); de oxígeno (236 m/z) y de –NO₂ (207 m/z), (Esquema 23).



Esquema 23. Patrón de fragmentación en EM por IE del 3,6-dicloro-2,4-dinitrofenol.

Al parecer, los resultados indicaron que bajo estas condiciones de reacción la sulfonación no procedió porque las posiciones *orto* y *para* al fenol se sustituyeron con el grupo nitro. Por lo que se decidió realizar la reacción de sulfonación en el 2,5-diclorofenol y aislar el ácido 2,5-dicloro-4-hidroxibencensulfónico (**30**). Se hicieron varios ensayos siguiendo la metodología anterior y sólo se modificó la temperatura de la reacción a 80, 90 y 100 °C. Los mejores resultados se lograron a una temperatura de 100 °C, obteniéndose por primera vez el ácido 2,5-dicloro-4-hidroxibencensulfónico (**30**). El compuesto se analizó únicamente por RMN ^1H , en donde se observaron tres señales: una señal ancha que desaparece con D_2O a 10.20 ppm y corresponde al protón del OH, una señal simple a 7.9 ppm para el protón 2, y una señal simple a 7.00 ppm para el protón 5 (Tabla 13).

Una vez que se confirmó la formación del ácido 2,5-dicloro-4-hidroxibencensulfónico, se procedió a la nitración de éste. La reacción se hizo de acuerdo a la literatura, el HNO_3 fumante se adicionó poco a poco a una temperatura de 0 °C, pero bajo estas condiciones la mezcla de reacción se solidificó, por lo que fue difícil lograr una mezcla de reacción homogénea y por tanto la nitración del compuesto. Cuando se aisló el producto formado el rendimiento del compuesto **32** fue bajo y principalmente se recuperó materia prima.

Por lo que se decidió hacer la reacción de nitración aumentando la temperatura de adición del ácido nítrico sobre la mezcla sulfonada entre 10-15 °C y no a 0 °C como se recomienda en la literatura. Bajo estas condiciones se logró obtener un compuesto amarillo con un pf de 66-68 °C y un rendimiento de 15% que por caracterización espectroscópica RMN ¹H y espectrométrica EM correspondió al 3,6-dicloro-2-nitrofenol (Tabla 13). Una vez obtenidas las mejores condiciones de reacción se llevó a cabo la síntesis de 3,6-dicloro-2-nitrofenol.

Tabla 13. Rendimiento, pf y características espectroscópicas y espectrométricas de los compuestos **30**, **30a** y **32**

Compuesto	Rendimiento %	pf °C	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
30	20	300	RMN ¹H (CDCl ₃ /DMSO) δ 10.20 (sa 1H, OH), 7.9 (s, 1H, H-2), 7.00 (s, 1H, H-5).	10.1
30a	80	158-162	RMN ¹H (CDCl ₃) δ 8.16 (s, 1H, H-5), 5.59 (sa, 1H, OH). EM (IE) m/z 252 (M ⁺ 100%), 225 (39 %), 175 (51 %).	11.1 11.2
32	14.9	66-68	RMN ¹H (CDCl ₃) δ 11.76 (sa, 1H, OH), 7.64 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-5), 7.20 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-4). IR (KBr) 3117 (OH), 1550 y 1361 (NO ₂) cm ⁻¹ . EM (IE) m/z 207 (M ⁺ 100%).	12.1 12.2 12.3

8.4.2 Síntesis de 2-amino-3,6-diclorofenol (**33**)

La síntesis de 2-amino-3,6-diclorofenol (**33**) se realizó por reducción catalítica de **32** con H₂, Pd/C en etanol y ácido acético como disolventes durante 15 minutos. Se obtuvo un sólido café con un rendimiento de 92% y con un pf de 135.9-137.2 °C. El espectro de RMN ¹H mostró las siguientes señales: a 5.04 ppm una señal ancha para los protones de NH₂ que desaparece con D₂O; en la región aromática dobletes a 6.56 y 6.76 ppm que integran para un protón aromático cada uno; y una señal ancha a 9.33 ppm para el -OH. En el espectro de IR se observaron las bandas características del grupo NH₂ en 3396 y 3309 cm⁻¹; el espectro

de Masas mostró un ión molecular de m/z 177 que corresponde al peso molecular. Estas características indican que el compuesto obtenido es el 2-amino-3,6-diclorofenol (**33**).

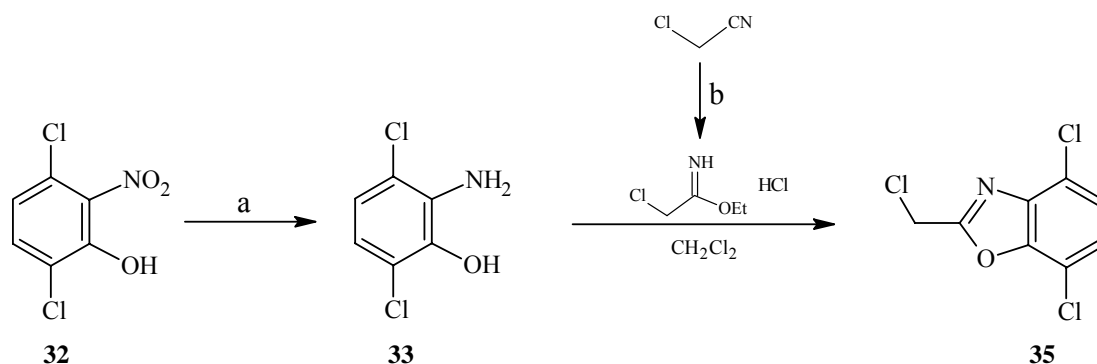
Tabla 14. Caracterización espectroscópicas y espectrométrica de **33**

Compuesto	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
33	RMN ^1H (DMSO): δ 9.33 (sa. 1H, OH), 6.76 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, H-5), 6.56 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, H-4), 5.04 (sa. 2H, NH_2).	13.1
	IR (KBr) 3396 y 3309 (NH_2), 3006 (OH) cm^{-1} .	13.2
	EM (IE) m/z 177 (M^+ 100%), 113 (50%), 78 (62%)	13.3

8.4.3 Formación del anillo de 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**35**)

Para la síntesis de 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**35**) se siguieron dos rutas. La primera fue a través del uso del clorhidrato de cloroiminoacetato de etilo que se preparó en nuestro laboratorio de acuerdo a la literatura (Saari et al., 1991).

Se partió de cloroacetonitrilo, el cual se hizo reaccionar burbujeando HCl anhidro, el que a su vez se generó goteando HCl concentrado sobre H_2SO_4 concentrado, para dar el clorhidrato de cloroiminoacetato de etilo. El producto precipitó en el medio de reacción como un sólido blanco y no fue analizado. Éste se hizo reaccionar con 2-amino-3,6-diclorofenol (**33**) en CH_2Cl_2 a temperatura ambiente durante tres días para obtener un sólido blanco con un pf de 98.1-98.7 °C. Debido al bajo rendimiento del compuesto principal, sólo se analizó por RMN ^1H , en donde se observaron dos señales, una a 4.81 ppm que integra para dos protones metilénicos; y otra en la región aromática a 7.34 ppm que integra para dos protones aromáticos.



Esquema 24. Ruta sintética para obtener **35**, (a) H₂, Pd/C; (b) HCl anhidro.

Sin embargo, esta ruta se abandonó porque el rendimiento del producto principal fue bajo, el tiempo de reacción largo, y el aislamiento del compuesto difícil de realizar, por lo que fue necesario implementar una nueva ruta sintética.

La segunda ruta que se planteó fue semejante a la que se usó para el compuesto **28**. Se sintetizó la amida correspondiente, 2-cloro-*N*-(3,6-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (**34**), a partir de cloruro de cloroacetilo y 2-amino-3,6-diclorofenol. Ésta no se aisló, sino que inmediatamente se deshidrató con ayuda de P₂O₅ y se obtuvo **35**, con características espectroscópicas y espectrométricas iguales a las que se observaron para el benzoxazol sintetizado de acuerdo a la literatura (Tabla 15).

Tabla 15. Rendimiento, pf y características espectroscópicas y espectrométricas del compuesto **35**

Compuesto	Rendimiento %	pf °C	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
35	47	98.1-99.0	RMN ¹H (CDCl ₃): δ 7.34 (s, 2H, H-5 y H-6), 4.8 (s, 2H metilénicos). IR (KBr): 3023 (C-H aromático), 2966 (C-H), 1606 (C=N), 1572 (C-C aromático), 1480 (-CH ₂ -), 954 (C-O-C), 808 (C-Cl) cm ⁻¹ . EM (IE) m/z 235 (M ⁺ 90 %), 200 (100 %), 97 (47 %).	14.1 14.2 14.3

En RMN ^1H se presentó una señal simple a 7.34 ppm que integra para los protón 5 y 6. En 4.80 ppm aparece una señal simple que integra para los dos protones metilénicos. En IR se observaron las bandas a 3023 cm^{-1} para las vibraciones de C-H del anillo bencenoide, a 1606 cm^{-1} las vibraciones para C=N del oxazol, y a 808 cm^{-1} las vibraciones para el enlace C-Cl cm^{-1} para el clorometilo. Por espectrometría de masas se encontró el ión molecular de m/z 235, y el fragmento a una m/z 200, que corresponde a la ruptura del enlace de C-Cl alquílico.

8.5 Síntesis de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol

La síntesis de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**40**) se realizó en cuatro pasos sucesivos: nitración del 3,4-diclorofenol, reducción del compuesto nitrado, formación de la amida correspondiente y ciclación de esta para obtener **40**. En todos los pasos se realizaron varios experimentos con la finalidad de optimizar el proceso de síntesis.

8.5.1 Síntesis de 4,5-dicloro-2-nitrofenol (37)

En el primer ensayo se disolvió el 3,4-diclorofenol en H_2SO_4 y sobre la mezcla fría se agregó ácido nítrico ($d = 1.4$) a una temperatura entre -5 a $0\text{ }^\circ\text{C}$. Por cromatografía en capa fina se observó la presencia de dos compuestos; uno de ellos, el menos polar, se aisló e identificó. En RMN ^1H se observaron tres señales simples: a 10.47 ppm se observa una señal para el protón del $-\text{OH}$ y dos señales que corresponden a los protones aromáticos: a 8.23 ppm para el protón 6 y a 7.33 ppm el protón 3. En IR se observaron las bandas características para las vibraciones del grupo NO_2 : a 1565 y 1310 cm^{-1} . Por EM se observan las fragmentaciones clásicas para el grupo nitro: M-16 (190 m/z), M-30 (177 m/z) y M-46 (161 m/z), por lo que el compuesto obtenido se identificó como 4,5-dicloro-2-nitrofenol. A pesar de que se logró obtener el producto nitrado, el rendimiento fue bajo en estas condiciones.

En el segundo ensayo se modificó el medio de reacción. Se utilizó AcOH para disolver la materia prima y sobre esta mezcla se agregó HNO_3 a $0\text{ }^\circ\text{C}$; una vez terminada la adición se

dejó en agitación constante por 30 minutos a 0 °C y 15 minutos más a temperatura ambiente. El sólido oleoso obtenido se disolvió con AcOEt y se separó por cromatografía en columna. Se obtuvo 17 g (66.6%) de un sólido amarillo con características espectroscópicas y espectrométricas idénticas a las del producto obtenido en el ensayo anterior (Tabla 16).

Tabla 16. Rendimiento, punto de fusión y características espectroscópicas y espectrométricas de 4,5-dicloro-2-nitrofenol (**37**)

Compuesto	Rendimiento %	pf °C	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
37	66.6	63.0-64.0	RMN ¹H (CDCl ₃): δ 10.47 (s, 1H, OH), 8.23 (s, 1H, H-6), 7.33 (s, 1H, H-3).	15.1
			IR (KBr): 3275 (OH), 1565 y 1310 (NO ₂) cm ⁻¹ .	15.2
			EM (IE) m/z 207 (M ⁺ 100%), 177 (45%), 149 (48%).	15.3

8.5.2 Síntesis de 2-Amino-4,5-diclorofenol (**38**)

La reducción de **37** se llevó a cabo con Pd/C al 5% en etanol y ácido acético glacial como disolventes. Se obtuvo un sólido café con un p.f. de 129.9-131.2 °C y un rendimiento de 99.4%. El sólido se analizó por RMN ¹H y mostró una señal ancha para el grupo amino a 4.94 ppm; así como también se observaron las señales para los protones del anillo aromático a 6.73 y 6.70 ppm para el protón 6 y 3 respectivamente. En IR se apreciaron las bandas a 3407 y 3327 cm⁻¹ para el grupo amino. En EM se encontró el ión molecular de m/z 177 que corresponde al peso molecular del compuesto 2-amino-4,5-diclorofenol (**38**), estos datos junto con los de RMN ¹H, demuestran que el compuesto no perdió los halógenos bajo estas condiciones de reducción (Tabla 17).

Tabla 17. Rendimiento, punto de fusión y características espectroscópicas y espectrométricas de 2-amino-4,5-diclorofenol (**38**)

Compuesto	Rendimiento %	pf ° C	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
38	99.4	129.9-131.2	RMN ¹H (DMSO): δ 9.74 (sa. 1H, OH), 6.73 (s, 1H, H-6), 6.70 (s, 1H, H-3), 4.94 (sa. 2H, NH ₂).	16.1
			IR (KBr): 3407 y 3327 (NH ₂), 3051 (OH) cm ⁻¹ .	16.2
			EM (IE) m/z 177 (M ⁺ 100%), 148 (15%), 114 (25%).	16.3

8.5.3 Síntesis de 2-cloro-*N*-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (**39**)

La formación de la amida, la 2-cloro-*N*-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (**39**), fue a través del cloruro de cloroacetilo. Éste se hizo reaccionar con 2-amino-4,5-diclorofenol (**38**) durante 3 horas para dar un sólido gris con un p.f de 176.0-178.0 °C. El sólido se analizó por RMN ¹H en donde se observó la señal correspondiente al grupo NH a 9.66 ppm como un singulete, lo que nos indicó la formación de la amida. En IR, la banda para este grupo se observó a 3356 cm⁻¹ para las vibraciones del enlace NH y a 1658 cm⁻¹ para el grupo carbonilo. En EM el ión molecular de m/z 253 correspondió al peso molecular del compuesto esperado **39** (Tabla 18).

Tabla 18. Rendimiento, punto de fusión y características espectroscópicas y espectrométricas de 2-cloro-*N*-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (**39**)

Compuesto	Rendimiento %	pf ° C	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
39	68.7	176.0-178.0	RMN ¹H (DMSO): δ 10.86 (s, 1H, OH), 9.66 (s, 1H, NH), 8.20 (s, 1H, H-6), 7.04 (s, 1H, H-3), 4.39 (s, 2H metilénicos).	17.1
			IR (KBr): 3356 (NH), 3115 (OH), 1656 (C=O) cm ⁻¹ .	17.2
			EM (IE) m/z 253 (M ⁺ 100%), 143 (100%).	17.3

8.5.4 Formación del anillo de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40)

Una vez obtenida la 2-cloro-*N*-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (**39**), se mezcló con ácido fosfórico y se le suministró calor para facilitar la deshidratación y la ciclación con la finalidad de obtener el 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**40**). El compuesto destilado se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento de 83.66% y un p.f. de 92.0-94.0 °C. El sólido se analizó por RMN ¹H en donde se observaron las señales para los protones aromáticos a 7.84 y 7.69 ppm en posición 7 y 4 respectivamente, además del singulete a 4.73 ppm para los protones metilénicos. En IR se apreciaron las bandas que confirmaron la formación del ciclo a 1603 cm⁻¹ para las vibraciones del enlace C=N, y a 976 cm⁻¹ para los enlaces C-O-C. Por EM se presentó el ión molecular de m/z 235 que correspondió al peso molecular del 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**40**), (Tabla 19).

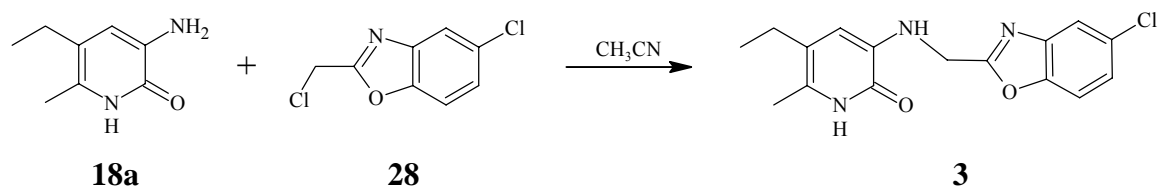
Tabla 19. Rendimiento, punto de fusión y características espectroscópicas y espectrométricas de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**40**)

Compuesto	Rendimiento %	pf ° C	Caracterización espectroscópica y espectrométrica	Espectro
40	83.6	92.0-94.0	RMN ¹H (CDCl ₃): δ 7.84 (s, 1H, H-7), 7.69 (s, 1H, H-4), 4.73 (s, 2H, metilénicos).	18.1
			IR (KBr): 3019 (C-H aromático), 2965 (C-H), 1606 (C=N), 1566 (C-C aromático), 1437 (-CH ₂ -), 976 (C-O-C) cm ⁻¹ .	18.2
			EM (IE) m/z 235 (M ⁺ 38%), 200 (100%).	18.3

8.6 Síntesis de los derivados de 2-piridinonas (1-9)

La preparación de los compuestos **1-9** se intentó realizar de acuerdo a procedimientos descritos en la literatura (Saari et al., 1992). A manera exploratoria, se inició con la 3-amino-5-etil-6-metilpiridin-2(1*H*)-ona (**18a**) y el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (**28**), para obtener el compuesto **3**. Se utilizó acetonitrilo como disolvente y bajo

condiciones de reflujo. Sin embargo, después de 24 horas la mezcla de reacción mostró varios compuestos por cromatografía en capa fina. Éstos se separaron por cromatografía en columna utilizando $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ como fase móvil. Uno de ellos fue el compuesto **3** (Esquema 25).



Esquema 25. Síntesis del derivado de la 2-piridinona de acuerdo a la literatura (Saari et al., 1992)

El compuesto **3** se identificó por las señales en RMN ^1H ; a 4.60 ppm, una señal simple que integra para los dos protones metilénicos; y a 12.07 ppm, una señal para el protón del NH. Además, el ión molecular presente en el espectro de masas a una m/z 317 confirmó el peso molecular del compuesto esperado 3-[[5-cloro-1,3-benzoxazol-2-il]metil]amino-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (Tabla 21).

A pesar de que se obtuvo el compuesto bajo estas condiciones, el rendimiento fue bajo, por lo que se decidió hacer varios experimentos en donde se modificaron algunas veces el disolvente y otras la temperatura de reacción. El experimento que nos permitió un mayor rendimiento fue cuando se utilizó DMSO como disolvente, temperatura ambiente y un tiempo de reacción de una semana.

Aplicando este procedimiento se pudieron sintetizar los compuestos **1-9**. Se usó DMSO como disolvente y la reacción se llevó a cabo durante 5 días bajo atmósfera de nitrógeno, el rendimiento y el punto de fusión obtenido se reportan en la Tabla 20 y la caracterización espectroscópica y espectrométrica en la Tabla 21.

Tabla 20. Rendimiento y punto de fusión para los derivados de la 2-piridinona (**1-9**)

Compuesto	Rendimiento %	pf ° C
1	29.5	193.6-194.7
2	13.0	214.3-215.3
3	44.3	165.0-166.2
4	24.0	221.0-222.1
5	6.75	208.7-209.5
6	51.2	227.8-228.2
7	26.5	220.2-221.5
8	49.2	237.7-238.1
9	41.0	213.5-214.0

El rendimiento del compuesto líder (**1**) fue semejante al reportado en la literatura, se obtuvo un 29.5% contra un 31%; el punto de fusión también fue similar (Saari et al., 1992). En las piridinonas de la serie que presentan Cl en posiciones 4' y 7' del anillo del benzoxazol (**1**, **4** y **7**) se aprecia un rendimiento similar a pesar de que los sustituyentes alquilo son diferentes.

El rendimiento más bajo se presentó en la serie en donde el anillo de benzoxazol está sustituido con Cl en las posiciones 5' y 6' para los compuestos **2** y **5**, independientemente de la sustitución en el anillo de piridinona. Probablemente debido al efecto inductivo que ejercen los halógenos en posición *orto*- en el anillo aromático.

La serie de las piridinonas con anillo de benzoxazol monoclorado en posición 5' (**3**, **6**, y **9**) presentó el rendimiento más alto de las tres series, debido a que el efecto inductivo es más pobre para el grupo aromático del benzoxazol.

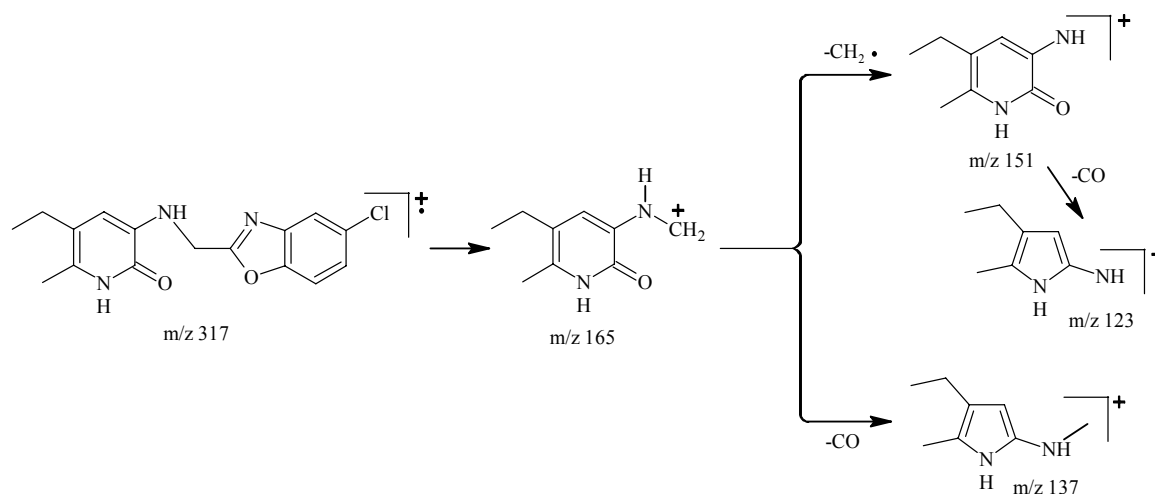
En las tres series sintetizadas no se observó una relación entre el tipo de sustitución en el anillo de piridinona en posición 5 y 6 con el rendimiento del compuesto.

Los compuestos sintetizados (**1** a **9**) se analizaron por técnicas espectroscópicas y espectrométricas, las que confirmaron la formación del enlace aminometileno. Por RMN ¹H se observó una señal ancha para el protón del NH a 5.44 ppm y a 4.67 ppm dos protones

metilénicos para el compuesto **1**. En los compuestos **2** y **3** se apreció un ligero desplazamiento a 5.41 ppm para el protón del NH y a 4.60 y 4.61 para los protones metilénicos. Los compuestos **4-9** mostraron una interacción entre el protón del NH y los protones del CH₂ manifestado por el desdoblamiento de las señales (debido a que se disolvieron en DMSO para su análisis); un triplete a ~ 5.90 ppm para el protón del NH y un doblete a ~ 4.60 ppm para los dos protones metilénicos. En ambas señales se advirtió un ligero desplazamiento a campo alto conforme se incrementa el número de átomos de carbono en las posiciones 5 y 6 en el anillo de piridinona y disminuye el número de sustituyentes Cl en el anillo de benzoxazol.

En IR se apreció una banda débil para las vibraciones del NH de la unión aminometileno en la zona de 3300 cm⁻¹ para las piridinonas sintetizadas (**1-9**).

Por EM los derivados de piridinonas sintetizados (**1-9**) presentaron una fragmentación dirigida por el anillo de piridinona, además, los fragmentos principales presentaron pérdida de monóxido de carbono, como se muestra para el compuesto **3** (Esquema 26).

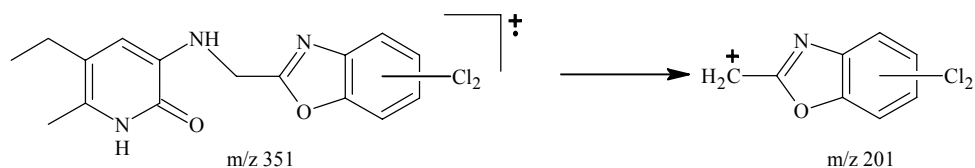


Esquema 26. Patrón de fragmentación en EM por IE para el compuesto **3**.

Los fragmentos principales de los derivados monoclorados de piridinonas mostraron un patrón similar, independientemente de la sustitución en 5 y 6 del anillo de piridinona. El ión molecular para los compuestos **3**, **6** y **9** fue el pico base. La primera fragmentación ocurre

entre el CH₂ de la unión aminometileno y el benzoxazol. Sólo se observaron los fragmentos subsecuentes al anillo de piridinona, ya que los cuatro fragmentos principales que se generan después del ión molecular no presentan el ión isotópico para el Cl (M +1, M +2).

Para el caso de los derivados diclorados de piridinonas (sin importar la posición del halógeno en el anillo de benzoxazol) se observó un fragmento de m/z 201 con una abundancia de aproximadamente 12%, que corresponde a la ruptura del enlace aminometileno (Esquema 27). No se observó ningún otro fragmento del benzoxazol, pero de nuevo los 4 fragmentos más abundantes provenientes del anillo de piridinona.



Esquema 27. Fragmentos observados en EM por IE para los derivados diclorados de la 2-piridinona.

Tabla 21. Características espectroscópicas y espectrométricas de los derivados sintetizados de 2-piridinona

Compuesto	Datos espectroscópicos y espectrométricos	Espectro
1	<p>RMN ¹H: (CDCl₃) δ ppm 12.18 (sa, 1H, NH-1), 7.27 (s, 1H, H-5'), 7.26 (s, 1H, H-6'), 6.52 (s, 1H, H-4), 5.44 (sa, 1H, NH), 4.67 (s, 2H, metilénicos), 2.35 (c, J=5.7 Hz, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.08 (t, J=5.7 Hz, 3H).</p> <p>IR (KBr): 3399 (NH, alquílico), 2951 (NH, aromático), 1651 (C=O), 1585 (C=N) cm⁻¹.</p> <p>EM (IE) m/z 351 (M⁺ 100%), 165 (47%), 137 (60%).</p>	19.1 19.2 19.3
2	<p>RMN ¹H: (CDCl₃) δ ppm 12.14 (sa, 1H, NH-1), 7.78 (s, 1H, H-7'), 7.59 (s, 1H, H-4'), 6.38 (s, 1H, H-4), 5.41 (sa, 1H, NH), 4.61 (s, 2H, metilénicos), 2.33 (c, J=5.7 Hz, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.05 (t, J=5.7 Hz, 3H).</p> <p>IR (KBr): 3376 (NH, alquílico), 2963 (NH, aromático), 1649 (C=O), 1582 (C=N) cm⁻¹.</p> <p>EM (IE) m/z 351 (M⁺ 100%), 200 (10%), 165 (45%).</p>	20.1 20.2 20.3

Tabla 21. Continuación

3	<p>RMN ¹H: (CDCl₃) δ ppm 12.07 (sa, 1H, NH-1), 7.67 (d, J=1.5 Hz, 1H, H-4'), 7.40 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-7'), 7.28 (dd J=8.1 y</p>
----------	--

	1.5 Hz, 1H, H-6'), 6.38 (s, 1H, H-4), 5.41 (sa, 1H, NH), 4.60 (s, 2H, metilénicos), 2.32 (c, J=5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.05 (t, J=5.7 Hz, 3H).	21.1
	IR (KBr): 3394 (NH, alquílico), 2872 (NH, aromático), 1645 (C=O), 1571 (C=N) cm^{-1} .	21.2
	EM (IE) m/z 317 (M^+ 100%), 165 (55%), 137 (64%).	21.3
4	RMN ^1H : DMSO δ ppm 11.65 (sa, 1H, NH-1), 7.52 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-5'), 7.48 (d, J=6.3 Hz, 1H, H-6'), 6.34 (s, 1H, H-4), 5.95 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.64 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.60 (t, J=5.4 Hz, 2H, H-7), 2.52 (t, J=5.1 Hz, 2H, H-5), 1.93 (q, J=5.7 Hz, 2H, H-6).	22.1
	IR (KBr): 3406 (NH, alquílico), 2859 (NH, aromático), 1646 (C=O), 1579 (C=N) cm^{-1} .	22.2
	EM (IE) m/z 349 (M^+ 100%), 201 (10%), 163 (29%), 135 (153%).	22.3
5	RMN ^1H : DMSO δ ppm 11.65 (sa, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, H-7'), 8.07 (s, 1H, H-4'), 6.29 (s, 1H, H-4), 5.91 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.60 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.60 (t, J=5.4 Hz, 2H, H-7), 2.50 (m, 2H, H-5), 1.92 (q, J=5.4 Hz, H-6).	23.1
	IR (KBr): 3393 (NH, alquílico), 2851 (NH, aromático), 1646 (C=O), 1574 (C=N) cm^{-1} .	23.2
	EM (IE) m/z 349 (M^+ 100%), 201 (10%), 149 (66%), 135 (50%).	23.3
6	RMN ^1H : DMSO δ ppm 11.62 (sa, 1H, NH), 7.83 (d, J=1.5 Hz, 1H, H-4'), 7.73 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-7'), 7.40 (dd, J=8.1 y 1.5 Hz, 1H, H-6'), 6.29 (s, 1H, H-4), 5.90 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.59 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.60 (t, J=5.7 Hz, 2H, H-7), 2.50 (m, 2H, H-5), 1.95 (q, J=5.7 Hz, 2H, H-6).	24.1
	IR (KBr): 3384 (NH, alquílico), 2903 (NH, aromático), 1645 (C=O), 1571 (C=N) cm^{-1} .	24.2
	EM (IE) m/z 315 (M^+ 100%), 163 (39%), 149 (39%), 135 (42%).	24.3
7	RMN ^1H : DMSO δ ppm 11.23 (sa, 1H, NH), 7.53 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-5'), 7.50 (d, J=6.3 Hz, 1H, H-6'), 6.15 (s, 1H, H-4), 5.94 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.65 (d, J=4.5 Hz, 2H, metilénicos), 2.35 (t, J=4.5 Hz, 2H, H-8), 2.31 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-5), 1.61 (m, 4H, H-6,7).	25.1
	IR (KBr): 3402 (NH, alquílico), 2932 (NH, aromático), 1644 (C=O), 1582 (C=N) cm^{-1} .	25.2
	EM (IE) m/z 363 (M^+ 100%), 201 (7%), 177 (48%), 149 (77%).	25.3

8	RMN ¹H: DMSO δ ppm 11.21 (sa, 1H, NH), 8.16 (s, 1H, H-7'), 8.06 (s, 1H, H-4'), 6.08 (s, 1H, H-4), 5.90 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.60 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.35 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-8), 2.27 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-5), 1.60 (m, 4H, H-6,7).	26.1
	IR (KBr): 3315 (NH, alquílico), 2829 (NH, aromático), 1648 (C=O), 1580 (C=N) cm ⁻¹ .	26.2
	EM (IE) m/z 363 (M ⁺ 100%), 200 (7%), 163 (42%); 149 (42%).	26.3
9	RMN ¹H: DMSO δ ppm 11.18 (sa, 1H, NH), 7.81 (d, J=1.5 Hz, 1H, H-4'), 7.73 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-7'), 7.40 (dd, J=8.1 y 1.5 Hz, 1H, H-6'), 6.07 (s, 1H, H-4), 5.86 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.58 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.33 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-8), 2.25 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-5), 1.58 (m, 4H, H-6,7).	27.1
	IR (KBr): 3356 (NH, alquílico), 2928 (NH, aromático), 1649 (C=O), 1568 (C=N) cm ⁻¹ .	27.2
	EM (IE) m/z 329 (M ⁺ 100%), 177 (53%), 149 (62%).	27.3

8.6.1 Síntesis de los compuestos 10-12

Para obtener el análogo **10** se realizaron varios experimentos empleando las materias primas **24** y **27**. El primero se hizo bajo las mismas condiciones que se utilizaron para los compuestos **1-9**; sin embargo, no se logró obtener el producto deseado. Por lo que se modificó la ruta sintética, cambiando el disolvente o la temperatura de reacción (Tabla 22).

Tabla 22. Condiciones de reacción para la síntesis del compuesto **10**

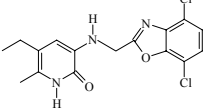
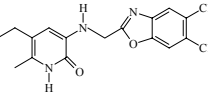
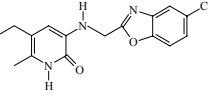
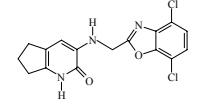
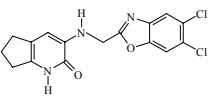
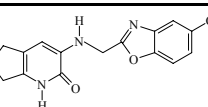
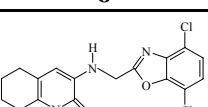
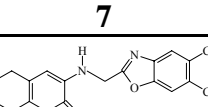
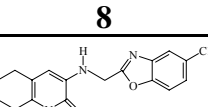
Disolvente	Temperatura ° C	Tiempo de reacción h	Productos aislados
DMSO	25	72	24, 27
DMF	25	72	24, 27
CH ₃ CN	25, 60, 74	72	24, 27

En todos los casos se aislaron principalmente dos compuestos: la materia prima 3-amino-1*H*-quinolin-2-ona (**24**); y la 2-cloro-*N*-(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (**27**), compuesto que se formó por la ruptura del anillo de benzoxazol previamente sintetizado. Una

explicación a los resultados obtenidos podría ser la baja nucleofilia del nitrógeno en la posición 3 de la quinolinona, debido a la extensión de la conjugación, la cual no permitió el ataque al metileno del benzoxazol, lo que dio tiempo a que éste se descompusiera y diera la materia prima **27**.

8.7 Actividad biológica de los derivados de 2-Piridinonas

Tabla 23. Porcentaje de inhibición de la actividad TR del VIH-1 por los derivados de 2-piridinona **1-9**

COMPUESTO	PESO MOLECULAR	% DE INHIBICIÓN*
 <p>1</p>	352.21	81.29
 <p>2</p>	352.21	40.25
 <p>3</p>	317.7	49.22
 <p>4</p>	350.19	73.69
 <p>5</p>	350.19	18.22
 <p>6</p>	315.75	21.11
 <p>7</p>	364.22	62.67
 <p>8</p>	364.22	17.91
 <p>9</p>	329.78	25.24
Control Positivo Nevirapina	266.30	82.60

Las pruebas biológicas preliminares de los análogos de 2-piridinonas frente a la TR del VIH-1 demostraron que en los compuestos diseñados, las sustituciones en el anillo de benzoxazol por grupos Cl presentaron mayor influencia que las modificaciones en el anillo de piridinona. Estos resultados se muestran en la Tabla 23.

Al comparar el compuesto líder (**1**) con los análogos de la 2-piridinona diseñados, se apreció que los compuestos **4** y **7**, que tiene grupos Cl en posición 4' y 7' en el anillo de benzoxazol, presentaron mayor porcentaje de inhibición de la actividad de la TR del VIH-1 (73.65 % y 62.67% respectivamente), la actividad de estos análogos puede asociarse a que las densidades de carga negativas en estas posiciones podría aumentar la afinidad del inhibidor a la enzima TR. Al parecer, para los compuestos **4** y **7** las sustituciones en las posiciones 5 y 6 en el anillo de la piridinona no influyen significativamente, aunque la menor actividad del compuesto **7** se puede atribuir al efecto estérico que se genera al aumentar el tamaño del inhibidor con un átomo de carbono más en las posiciones 5 y 6 del anillo de la piridinona.

Las sustituciones por grupos Cl en posición 5', o bien en 6' y 5' en el anillo de benzoxazol en los compuestos **2** y **3** disminuyeron la actividad de estos análogos aproximadamente a la mitad (40.25 % y 49.22 % respectivamente) en comparación con el compuesto líder (**1**). En este caso el factor que influye sobre la actividad antiviral no es sólo un efecto estérico sino también un factor electrónico. Estudios de cálculos de Docking coinciden con estos resultados (Medina-Franco et al., 2004) en donde se propone que es más favorable para la actividad anti-TR del VIH-1 la presencia de sustituyentes en posición 4' y 7', mientras que en posiciones 5' y 5',6' los grupos Cl chocan con el aminoácido triptofano (Trp229) de la TR del VIH-1 y por tanto disminuyen la actividad de los derivados de la 2-piridinona.

En los compuestos **5**, **6**, **8** y **9** que carecen de las sustituciones semejantes a las del compuesto líder (**1**), es decir, Cl en 4' y 7' en el anillo de benzoxazol y Et, Met en 5 y 6 del anillo de la piridinona, presentaron una actividad muy baja (alrededor de un 25 % de inhibición). Debido probablemente a un efecto estérico de los sustituyentes Cl en posición 5', y 5' y 6' en el anillo de benzoxazol del inhibidor sobre la TR.

Los ensayos de actividad anti-TR del VIH-1 de los derivados de 2-piridinona sintetizados han mostrado que:

1.- Los compuestos **4** y **7** que tiene grupos Cl en posición 4' y 7' presentaron mayor actividad, independientemente de la sustitución en el anillo de la piridinona.

2.- Los compuestos **2** y **3**, que aun conservan Et y Me en las posiciones 5 y 6 del anillo de piridinona, tienen una actividad intermedia, independientemente de la sustitución en el anillo del benzoxazol.

3.- Si las moléculas carecen de ambas características (Cl en 4' y 7' en el anillo de benzoxazol y Et, Met en 5 y 6 del anillo de la piridinona) tienen una actividad baja.

4.- En los análogos de 2-piridinona el tipo de sustitución en el anillo de benzoxazol tiene mayor influencia sobre la actividad anti-TR del VIH-1 que el tipo de sustitución en el anillo de piridinona.

9. CONCLUSIONES

Los derivados de 2-piridinonas se sintetizaron a través de una ruta convergente, preparando por separado los anillos de 3-aminopiridinonas y los anillos de 2-clorometilbenzoxazol, así como las materias primas de cada uno de ellos.

Se sintetizaron los anillos de 3-aminopiridinona sustituidos con etilo y metilo en posición 5 y 6 respectivamente; con un anillo de 5 carbonos o con un anillo de 6 carbonos en las mismas posiciones. Para la formación de estos compuestos se utilizó 2-cianoacetamida en lugar de nitroacetato de etilo, como se menciona en la literatura (Wai y Goldman 1992).

La síntesis de 3-amino-1*H*-quinolin-2-ona se obtuvo a través de cuatro pasos sucesivos, utilizando como materia prima ácido hipúrico en lugar de nitroacetato de etilo o ácido acetúrico, como se reporta en la literatura (Mazurov et al, 1985). Este hecho nos permitió obtener sólo el isómero *trans* en la reacción de condensación, que posteriormente se isomerizó para obtener el compuesto ciclado.

Los anillos de 2-clorometilbenzoxazol sustituidos se sintetizaron por rutas semejantes, y la preparación de cada una de las materias primas se realizó con metodologías diferentes.

La síntesis más sencilla fue para el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3- benzoxazol, puesto que se partió de 2-amino-4-clorofenol comercial, con posterior formación de la amida correspondiente y ciclación con pentóxido de fósforo. La síntesis de 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3- benzoxazol, fue más compleja debido a que se utilizó como materia prima 3,4-diclorofenol, que fue necesario nitrar, reducir, generar la amida correspondiente y finalmente ciclar. La síntesis del 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3- benzoxazol, fue la más difícil de realizar, porque involucró la nitración selectiva del 2,5-diclorofenol en posición *orto* al fenol. Este proceso sólo se logró bajo condiciones severas, obteniéndose el 3,6-dicloro-2-nitrofenol, que se utilizó como materia prima. La formación del anillo se logró sólo después de intentar dos rutas sintéticas. La primera se llevó a cabo de acuerdo a la literatura, utilizando la sal del cloroiminoacetato de etilo en donde el rendimiento del

producto fue bajo. Sin embargo, la formación del anillo vía la amida correspondiente (como en los otros dos casos) mejoró el rendimiento del 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol.

El rendimiento de los productos con anillo de 2-clorometilbenzoxazol decrece de acuerdo a la dificultad de la ruta sintética, obteniéndose con mayor rendimiento el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol y con menor rendimiento el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol.

Se sintetizaron 9 análogos de la 2-piridinona de los 12 propuestos. La síntesis se llevó a cabo siguiendo los lineamientos reportados en la literatura para este tipo de compuestos; en la práctica, se hicieron modificaciones para obtener los compuestos deseados. Se modificó la temperatura de la reacción a temperatura ambiente, debido a que a ebullición se obtenían mezclas complejas, reduciendo por lo tanto el rendimiento del producto principal. Los compuestos **10**, **11**, y **12**, no se lograron sintetizar, a pesar de que se modificaron las condiciones de reacción.

La actividad antiviral de los análogos de 2-piridinona se realizó con el ensayo Lenti-RT (Cavidi Tech), encontrándose que el compuesto líder, así como los compuestos **4** y **7** sintetizados con anillos saturados de 5 y 6 miembros en el anillo de piridinona y sustituidos en 4' y 7' (en el anillo de 2-clorometilbenzoxazol) mostraron la mejor actividad anti-TR del VIH-1. Estos resultados fueron importantes por que demostraron que las sustituciones sobre el anillo de benzoxazol tienen mayor influencia que las sustituciones en el anillo de piridinona.

10. PARTE EXPERIMENTAL

10.1 Instrumentación

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Buchi 540 y no están corregidos. Los espectros de IR se obtuvieron usando un espectrofotómetro Perkin Elmer 337 (pastilla de KBr). Los espectros de RMN ^1H se corrieron a 300 MHz en un espectrómetro Varian VXR-300; los desplazamientos químicos (δ) se dan en ppm con referencia interna de TMS. Los espectros de masas se determinaron por Impacto Electrónico a 70 eV en un aparato Hewlett Packard 5988.

Las reducciones catalíticas se realizaron en un hidrogenador Parr modelo 3916 EG a una presión máxima de 60 psi, adaptado a un tanque de hidrógeno de la casa INFRA. Se empleó un rotaevaporador Buchi RC-114 con baño y condensador de dedo frío, acoplado a una bomba de vacío marca Vacuubrand PC610.

10.2 Cromatografía

Las reacciones y la pureza de los compuestos se analizaron por cromatografía en capa fina (ccf), utilizando placas de vidrio cubiertas con gel de sílice 60, GF254 (Merck). Las cromatoplasmas se visualizaron con una lámpara de luz UV (UVP Inc. Modelo UVGL-25) o por exposición a vapores de yodo.

Para la purificación de los compuestos por cromatografía en columna se utilizó gel de sílice G60 (0.2-0.5 mm) Merck, y cloroformo, metanol o hexano de la marca J. T. Baker.

10.3 Preparación de los compuestos

Los compuestos **14a,b,c-18a,b,c** se sintetizaron previamente en nuestro grupo de investigación (Medina-Franco, J. L., 2002). A continuación se describen los métodos sintéticos generales y particulares realizados en esta tesis

A. Procedimiento general de hidrogenación catalítica. Una mezcla del compuesto por hidrogenar, disolvente y el catalizador se sometieron a hidrogenación a una presión máxima de 60 psi a temperatura ambiente. La reacción se prolongó hasta que ya no se consumió más hidrógeno durante 1h. Terminada la reacción se separó el catalizador por filtración al vacío y el filtrado se evaporó a sequedad en el rotaevaporador. El producto crudo se purificó y se le determinaron sus constantes físicas y espectroscópicas. Siguiendo este procedimiento se prepararon los compuestos **22**, **22a**, **33** y **38**.

B. Procedimiento general de síntesis de 2-Cloro-*N*-fenilacetamidas. Una mezcla del 2-aminofenol, tolueno y cloruro de cloroacetilo se calentó a reflujo hasta que por ccf se observó el consumo total de la materia prima. Se dejó enfriar y el sólido formado se separó por filtración con vacío, se lavó con tolueno frío y se le determinaron sus constantes físicas y espectroscópicas. Siguiendo este procedimiento se prepararon los compuestos **27**, **34** y **39**.

C. Procedimiento general de síntesis de 2-Clorometil-1,3-benzoxazoles. Una mezcla íntima de la 2-cloro-*N*-fenilacetamida y P₂O₅ en polvo, contenida en un matraz de bola, se colocó en un horno Kugelrohr y se destiló a presión reducida de 8 mm de Hg. Al producto obtenido se le determinaron sus constantes físicas y espectroscópicas. Siguiendo este procedimiento se prepararon los compuestos **28**, **35** y **40**.

D. Procedimiento general de síntesis de los derivados de la 2-piridinona (1-9). A una solución del 2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (1 g) en DMSO (10 mL) se agregó el derivado de la piridin-2(1*H*)-ona y trietilamina. La mezcla resultante se agitó durante una semana a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Se formó un sólido café, que se separó por filtración al vacío y se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria Gel de Sílice y como fase móvil cloroformo-metanol 95:5 para los compuestos **1**, **2**, y **3**; para los productos **4-9** se usó cloroformo-metanol 98:2. Al producto obtenido se le determinaron sus constantes físicas y espectroscópicas.

(4E)-2-Fenil-4-(2-nitrobenciliden)-1,3-oxazol-5(4H)-ona (21). Una mezcla de *o*-nitrobenzaldehído (25.00 g, 0.1654 mol), ácido hipúrico (36.00 g, 0.2009 mol), anhídrido acético (31.61 mL) y piridina (13.54 mL) se agitó por 15 min a 75 °C. Enseguida se formó un sólido amarillo. La mezcla se filtró a temperatura ambiente y el residuo se lavó con etanol. El producto crudo se purificó por recristalización de tolueno. Se obtuvieron 44.33 g (0.1506 mol, 91.05%) de cristales amarillos, pf 162-164 °C. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8.68 (dd, J=7.80 y 1.20 Hz, 1H, H-6'), 8.18-8.10 (m, 2H, H-4', 5'), 8.06 (dd, J=8.40 y 1.20 Hz, 1H, H-3'), 7.81 (td, J=7.65 y 1.50 Hz, 1H, H-4''), 7.61 (s, 1H, H-bencilico), 7.71-7.56 (4H, m, H-2'', 3'', 5'', 6''). IR (KBr): 1850 (C=O), 1798 (C=N) 1514 y 1334 (NO₂) cm⁻¹. EM: m/z 294 (M⁺, 17%), 105 (100%); Anal. Calc: C, 65.31; H, 3.43; N, 9.52. Encontrado: C, 65.27; H, 3.18; N, 9.49.

2-Metil-4-(2-nitrobenciliden)-1,3-oxazol-5-ona (21a). Una mezcla de *o*-nitrobenzaldehído (20.00 g, 0.132 mol), ácido acetúrico (15.44 g, 0.132 mol), acetato de sodio anhidro (10.8 g, 0.132 mol) y anhídrido acético (160 mL) se agitó por 2 horas a ebullición. Después, se enfrió y se trató con 500 mL de una mezcla de hielo-agua en agitación constante por 30 minutos. Se formó un precipitado que se separó por filtración al vacío y se lavó con agua fría. Se obtuvieron 14 g (0.060 mol, 45.60%) de un sólido amarillo con pf de 112-114 °C. RMN ¹H (CDCl₃) δ 8.28 (dd, J=9.3 y 1.5 Hz, 1H), 7.91 (dd, 9.6 y 1.5 Hz, 1H), 7.58 (ddd, 1H), 7.47-7.42 (m, 2H), 2.27 (s, 3H, metílicos). IR (KBr) 1814 (C=O), 1788 (C=N), 1524 y 1352 (NO₂) cm⁻¹. EM (m/z) 232 (M⁺ 10%) 43 (100%).

(4E)-4-(2-Aminobenciliden)-2-fenil-1,3-oxazol-5(4H)-ona (22). Siguiendo el procedimiento general **A**, se partió de **21** (15.00 g, 0.0510 mol), acetato de etilo (200 ml) y Pd/C al 5% (1.50 g). La mezcla se hidrogenó a 60 psi por 15 min. El residuo se recristalizó de tolueno y dio 12.61 g (0.0477 mol, 93.53%) de cristales rojos con pf 172-173 °C. RMN ¹H (CDCl₃): δ 8.18 (dd, J=8.10 y 1.50 Hz, 1H, H-6'), 8.08 (dd, J=7.70 y 1.50 Hz, 2H, H-2'', 6''), 7.75-7.51 (m, 3H, H-3'', 4'', 5''), 7.47 (s, 1H, H-bencilico), 7.16 (td, J=7.72 y 1.50 Hz, 1H, H-5'), 6.75 (dd, J=7.90 y 1.20 Hz, 1H, H-3'), 6.65 (td, J=7.80 y 1.20 Hz, 1H, H-4'), 6.23 (s, 2H, NH₂). IR (KBr): 3402 y 3334 (NH₂), 1770 (C=O), 1646 (C=N) cm⁻¹.

EM: m/z 264 (M^+ , 100%), 105 (5%). Anal. Calc: C, 72.72; H, 4.58; N, 10.60. Encontrado: C, 72.76; H, 4.11; N, 10.18.

***N*-(2-Oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)benzamida (23)**. El compuesto **22** (10.00 g, 0.0378 mol) se suspendió en acetona (200 mL) y se irradió con un foco GE de 250-Watts durante tres días con agitación. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con acetona fría y se recristalizó de etanol para dar 8.00 g (0.0303 mol, 80.16%) de un polvo amarillo claro con un pf 271-273 °C. RMN ^1H : (CDCl_3 -DMSO- d_6): δ 12.36 (s, 1H, NH, benzamido), 9.36 (s, 1H, NH quinolona), 8.72 (s, 1H, H-4), 7.91 (dd, $J=7.50$ y 1.80 Hz, 2H, H-2', 6'), 7.64-7.48 (m, 4H, H-5, H-3', 4', 5'), 7.40-7.31 (m, 2H, H-6, 7), 7.16-7.27 (m, 1H, H-8). IR (KBr): 3370 (NH), 1682 (C=O), 1644 (C=O) cm^{-1} . EM: m/z 264 (M^+ , 65%), 78 (100%). Anal. Calc: C, 72.72; H, 4.58; N, 10.60. Encontrado: C, 72.28; H, 4.44; N, 10.49.

3-Aminoquinolin-2(1H)-ona (24). A una solución de NaOH (11.00 g, 0.275 mol) en agua (59 mL) y etanol (35 mL) se adicionó lentamente a **23** (6.60 g, 0.0250 mol) y la mezcla resultante se agitó a 80 °C por 48 horas. Después de enfriar se adicionaron 100 mL de H_2O fría y el producto se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad para dar 3.70 g, (0.0231 mol, 92.40%) de un sólido amarillo claro con pf 208-209 °C (210-211 °C, Mazurov, A. 1985). RMN ^1H (CDCl_3 -DMSO- d_6): δ 11.79 (s, 1H, NH), 7.32 (d, $J=7.50$, 1H, H-5), 7.19 (d, $J=7.80$, 1H, H-8), 7.11 (t, $J=7.50$ y 1.50 Hz, 1H, H-7), 7.02 (t, $J=7.20$ y 1.50 Hz, 1H, H-6), 6.72 (s, 1H, H-4), 5.44 (s, 2H, NH_2). IR (KBr): 3440 y 3334 (NH_2), 1668 (C=O) cm^{-1} . EM: m/z 160 (M^+ , 100%), 133 (64%), 105 (41%). Anal. Calc: C, 67.49; H, 5.03; N, 17.49. Encontrado: C, 67.11; H, 5.00; N, 17.22.

***N*-(2-Oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-il)benzamida (22a)**. Siguiendo el procedimiento general **A**, se partió de **21** (16.00 g, 0.0544 mol), acetato de etilo (200 mL) y Pd/C al 5% (1.50 g). La mezcla se hidrogenó a 60 psi por 30 min. El producto de reducción cristalizó espontáneamente en el filtrado para dar 11.50 g, (0.0432 mol, 79.41%) de un polvo blanco con un pf 166-167 °C. RMN ^1H (CDCl_3): δ 10.2 (s, 1H, NH quinolona), 8.07 (d, $J=6.60$ Hz,

1H, NH benzamido), 7.91 (dd, J=6.60 y 1.50 Hz, 2H, H-5, 8), 7.57 -7.41 (m, 3H, H-3', 4', 5'), 7.22-7.12 (m, 2H, 2', 6'), 7.01-6.91 (m, 2H, H-6, 7), 4.83-4.71 (m, 1H, H-3), 3.39-3.28 (m, 2H, CH₂). IR (KBr): 3300 (NH), 1692 (C=O) cm⁻¹. EM: m/z 266 (M⁺, 1 %), 145 (100 %). Anal. Calcd: C, 72.16; H, 5.30; N, 10.52. Encontrado: C, 71.88; H, 5.14; N, 10.40.

2-Cloro-N-(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (27). Siguiendo el procedimiento general **B**, se partió de 2-amino-4-clorofenol (10 g 0.0696 mol), 70 mL de tolueno y 7.2 mL (0.090 mol) de cloruro de cloroacetilo. La mezcla se calentó a reflujo 4 h dando 13.5 g (0.0613 mol, 88 %) de un sólido rosa con un pf de 189-190 °C. RMN ¹H (DMSO): δ 10.36 (s, 1H, OH), 9.55 (s, 1H, NH), 8.02 (d, J=2.4 Hz, 1H, H-6), 7.00 (dd, J= 11.4 y 2.7 Hz, 1H, H-4), 6.81 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-3), 4.39 (s, 2H). IR (KBr): 3357 (NH), 3117 (OH), 1656 (C=O) cm⁻¹. EM m/z 219 (M⁺ 45%), 143 (100%).

5-Cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (28). Siguiendo el procedimiento general **C**, se partió de **27** (6.0 g, 0.0272 mol) y P₂O₅ (5.4 g, 0.038 mol). El producto destiló a 120-130 °C. Se obtuvieron 4.5 g (0.0222, 81.6 %) de un sólido blanco con un pf de 51-52 °C. RMN ¹H (CDCl₃): δ 7.72 ((dd, J=2.9 y 0.6 Hz, 1H, H-4), 7.45 (dd, J=9.3 y 0.6 Hz, 1H, H-7), 7.37 (dd, J=10.5 y 2.1 Hz, 1H, H-6), 4.75 (s, 2H). IR (KBr): 3091 (Ar. C-H), 1606 (C=N), 1566 (C-C Ar.), 1455 (-CH₂-), 962 (C-O-C), 809 (C-Cl) cm⁻¹. EM: m/z 201 (M⁺ 58%), 166 (100%).

3,6-Dicloro-2-nitrofenol (32). El 2,5-diclorofenol (20 g, 0.122 mol) se adicionó lentamente a una mezcla de óleum (17 mL) y H₂SO₄ concentrado (15 mL) en un baño de hielo y con agitación constante. La mezcla se calentó a 100 °C por 1 hora, luego se enfrió a 20 °C, se diluyó con H₂SO₄ concentrado (10 mL) y se enfrió de nuevo hasta 10 °C para agregar, gota a gota, 5.7 mL de HNO₃ fumante (d=1.5) en un periodo de 1 hora. Una vez terminada la adición se dejó por 30 min en el baño de hielo y toda la noche a temperatura ambiente. Finalmente, a la mezcla se le agregó agua (10 mL) y se destiló el producto por arrastre de vapor entre 150-160 °C. El producto que destiló se extrajo con acetato de etilo y se recristalizó de éter de petróleo (peb 50-110 °C). Se obtuvieron 3.8 g (0.0182, 14.9%) de un sólido amarillo con un pf de 66-68 °C (70 °C, Grotta, H. et al, 1967). RMN ¹H (CDCl₃)

δ 11.76 (sa, 1H, OH), 7.64 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-5). 7.20 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-4). IR (KBr): 3117 (OH), 1550 y 1361 (NO₂) cm⁻¹. EM: m/z 207 (M⁺ 100%).

2-Amino-3,6-diclorofenol (33). Siguiendo el procedimiento general **A**, se partió de **32** (3.8 g, 0.0182 mol), 50 mL de etanol, 0.5 mL de ácido acético y 0.2 g de Pd/C al 5%. La mezcla se hidrogenó a 50 psi por 15 minutos. El producto se recristalizó de benceno y se obtuvieron 3.0 g (0.0168 mol, 92%) de un sólido café con un pf 135.9-137.2 °C. RMN ¹H (DMSO): δ 9.33 (sa. 1H, OH), 6.76 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-5), 6.56 (d, J=8.7 Hz, 1H, H-4), 5.04 (sa. 2H, NH₂). IR (KBr): 3396 y 3309 (NH₂), 3006 (OH) cm⁻¹. EM: m/z 177 (M⁺ 100%).

2-Cloro-N-(3,6-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (34). Siguiendo el procedimiento general **B**, se partió de 2-amino-3,6-diclorofenol (3.5 g, 0.0196 mol), 50mL de tolueno y 2.5 mL (0.0311 mol) de cloruro de cloroacetilo. Se calentó a reflujo por 4 horas y se obtuvieron 1.23 g (0.0483 mol, 24.65%) de un sólido rosa claro, el cual se utilizó inmediatamente en la siguiente reacción.

4,7-Dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (35). Siguiendo el procedimiento general **C**, se partió de **34** (5.5 g 0.0216 mol) y P₂O₅ (4.5 g, 0.0324 mol). El producto se destiló entre 160-180 °C. Se obtuvieron 2.4 g (0.0101 mol, 47%) de un sólido blanco con un pf de 98.1-99.0 °C. RMN ¹H (CDCl₃): δ 7.34 (s, 2H, H-5 y 6), 4.80 (s, 2H, metilénicos). IR (KBr): 3023 (Ar. C-H), 2966 (C-H), 1606 (C=N), 1572 (C-C Ar.), 1480 (-CH₂-), 954 (C-O-C) 808 (C-Cl) cm⁻¹. EM: m/z 235 (M⁺ 90%), 200 (100%).

4,5-Dicloro-2-nitrofenol (37). Una solución de 20 g (0.122 mol) de 3,4-diclorofenol en 30 mL de AcOH se llevó a 0°C. A esta solución se le adicionó, poco a poco, 7.5 mL de HNO₃ (d=1.4) en un período de 1 hora. Al término de la adición se agitó por 30 minutos a 0 °C. A la mezcla resultante se le agregó hielo y se agitó por 15 minutos. Se formó un precipitado oleoso. La mezcla se dejó asentar y se decantó. Esta operación se repitió 3 veces, obteniéndose un líquido viscoso que se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua salada. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad. La

purificación del producto crudo se llevó a cabo por cromatografía en columna utilizando Gel de Sílice y hexano como fase móvil. Se obtuvieron 17 g (0.0817 mol, 66.6%) de un sólido amarillo con un pf de 63-64 °C. RMN ¹H (CDCl₃): δ 10.47 (s, 1H, OH), 8.23 (s, 1H, H-6), 7.33 (s, 1H, H-3). IR (KBr): 3275 (OH), 1565 y 1310 (NO₂) cm⁻¹. EM: m/z 207 (M⁺ 100%), 177 (45%), 149 (48%).

2-Amino-4,5-diclorofenol (38). Siguiendo el procedimiento general **A**, se partió de **37** (10 g, 0.0480 mol), 140 mL de etanol, 1.2 mL de AcOH glacial y 0.5 g de Pd/C al 5%. La mezcla se hidrogenó a 60 psi durante 1 h. Se obtuvieron 8.5 g (0.0477 mol, 99.4%) de un sólido café con un pf de 129.9-131.2 °C. RMN ¹H (DMSO): δ 9.74 (sa. 1H, OH), 6.73 (s, 1H, H-6), 6.70 (s, 1H, H-3), 4.94 (sa. 2H, NH₂). IR (KBr): 3407 y 3327 (NH₂), 3051 (OH) cm⁻¹. EM: m/z 177 (M⁺ 100%).

2-Cloro-N-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (39). Siguiendo el procedimiento general **B**, se partió de 2-amino-4,5-diclorofenol (10 g, 0.0561 mol), 140 mL de tolueno y 6.39 mL (0.0791 mol) de cloruro de cloroacetilo. Se calentó durante 3 h y se obtuvieron 9.8 g (0.0385 mol, 68.7%) de un sólido gris con un pf de 176.0-178.0 °C. RMN ¹H (DMSO): δ 10.86 (s, 1H, OH), 9.66 (s, 1H, NH), 8.20 (s, 1H, H-6), 7.04 (s, 1H, H-3), 4.39 (s, 2H, metilénicos). IR (KBr): 3356 (NH), 3115 (OH), 1656 (C=O) cm⁻¹. EM: m/z 253 (M⁺ 10%), 143 (100%).

5,6-Dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40). Siguiendo el procedimiento general **C**, se partió de 8.0 g (0.0314 mol) de 2-cloro-N-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida y P₂O₅ (6.68 g, 0.0471 mol). El producto se destiló entre 160-180 °C. Se obtuvieron 6.2 g (0.0262 mol, 83.6 %) de un sólido blanco con un pf de 92.0-94.0 °C. RMN ¹H (CDCl₃): δ 7.84 (s, 1H, H-7), 7.69 (s, 1H, H-4), 4.73 (s, 2H metilénicos). IR (KBr): 3019 (Ar. C-H), 2965 (C-H), 1603 (C=N), 1566 (C-C Ar.), 1437 (-CH₂-), 976 (C-O-C) cm⁻¹. EM: m/z 235 (M⁺ 38%), 200 (100%).

3-[(4,7-Dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (1). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-

benzoxazol (0.00422 mol) en DMSO, se agregaron 0.642 g (0.00422 mol) de 3-amino-5-etil-6-metilpiridin-2(1*H*)-ona y 0.7 mL (0.00494 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.440 g (0,00125 mol, 29.5%) de un sólido amarillo con un pf de 193.6-194.7 °C. RMN ¹H: (CDCl₃) δ 12.18 (sa, 1H, NH), 7.27 (s, 1H, H-5'), 7.26 (s, 1H, H-6'), 6.52 (s, 1H, H-4), 5.44 (sa, 1H, NH), 4.67 (s, 2H, metilénicos), 2.35 (c, J=5.7 Hz, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.08 (t, J=5.7 Hz, 3H). IR (KBr): 3399 (NH, alquílico), 2951 (NH, aromático), 1651 (C=O), 1585 (C=N) cm⁻¹. EM m/z 351 (M⁺ 100%), 165 (47%), 137 (60%).

3-[(5,6-Dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1*H*)-ona (2). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (0.00422 mol) en DMSO, se agregaron 0.642 g (0.00422 mol) de 3-amino-5-etil-6-metilpiridin-2(1*H*)-ona y 0.4 mL (0.00422 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.193 g (0.00055 mol, 13.0 %) de un sólido amarillo claro con un pf de 214.3-215.3 °C. RMN ¹H: (CDCl₃) δ 12.14 (sa, 1H, NH), 7.78 (s, 1H, H-7'), 7.59 (s, 1H, H-4'), 6.38 (s, 1H, H-4), 5.41 (sa, 1H, NH), 4.61 (s, 2H, metilénicos), 2.33 (c, J=5.7 Hz, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.05 (t, J=5.7 HZ, 3H). IR (KBr): 3376 (NH, alquílico), 2963 (NH, aromático), 1649 (C=O), 1582 (C=N) cm⁻¹. EM m/z 351 (M⁺ 100%), 200 (10%), 165 (45%).

3-[(5-Cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1*H*)-ona (3). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (0.00494 mol) en DMSO, se agregaron 0.753 g (0.00494 mol) de 3-amino-5-etil-6-metilpiridin-2(1*H*)-ona y 0.7 mL (0.00494 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.696 g (0.00219 mol, 44.3%) de un sólido café claro con un pf de 165.0-166.2 °C. RMN ¹H: (CDCl₃) δ 12.07 (sa, 1H, NH), 7.67 (d, J=1.5 Hz, 1H, H-4'), 7.40 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-7'), 7.28 (dd J=8.1 y 1.5 Hz, 1H, H-6'), 6.38 (s, 1H, H-4), 5.41 (sa, 1H, NH), 4.60 (s, 2H, metilénicos), 2.32 (c, J=5.7 Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.05 (t, J=5.7 Hz, 3H). IR (KBr): 3394 (NH, alquílico), 2872 (NH, aromático), 1645 (C=O), 1571 (C=N) cm⁻¹. EM m/z 317 (M⁺ 100%), 165 (55%), 137 (64%).

3-[(4,7-Dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2*H*-ciclopenta[*b*]piridin-2-ona (4). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 4,7-dicloro-2-

(clorometil)-1,3-benzoxazol (0.00422 mol) en DMSO, se agregaron 0.635 g (0.00422 mol) de 3-amino-6,7-dihidro-5*H*-ciclopenta[b]piridin-2(1*H*)-ona y 0.59 mL (0.00422 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.355 g (0.0101 mol, 24.0%) de un sólido café claro con un pf de 221.0-222.1 °C. RMN ¹H (DMSO): δ 11.65 (sa, 1H, NH), 7.52 (d, J= 6.6 Hz, 1H, H-5'), 7.48 (d, J=6.3 Hz, 1H, H-6'), 6.34 (s, 1H, H-4 piridinona), 5.95 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.64 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.60 (t, J=5.4 Hz, 2H, H-7), 2.52 (t, J=5.1 Hz, 2H, H-5), 1.93 (q, J=5.7 Hz, 2H, H-6). IR (KBr): 3406 (NH, alquílico), 2859 (NH, aromático), 1646 (C=O), 1579 (C=N) cm⁻¹. EM m/z 349 (M⁺ 100%), 201 (10%), 163 (29%), 135 (153%).

3-[(5,6-Dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2*H*-ciclopenta[b]piridin-2-ona (5). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (0.00422 mol) en DMSO, se agregaron 0.634 g (0.00422 mol) de 3-amino-6,7-dihidro-5*H*-ciclopenta[b]piridin-2(1*H*)-ona y 0.59 mL (0.00422 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.100 g (0.000285 mol, 6.75%) de un sólido amarillo claro con un pf de 208.7-209.5 °C. RMN ¹H: DMSO δ 11.65 (sa, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, H-7'), 8.07 (s, 1H, H-4'), 6.29 (s, 1H, H-4), 5.91 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.60 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.60 (t, J=5.4 Hz, 2H, H-7), 2.50 (m, 2H, H-5), 1.92 (q, J=5.4 Hz, H-6). IR (KBr): 3393 (NH, alquílico), 2851 (NH, aromático), 1646 (C=O), 1574 (C=N) cm⁻¹. EM m/z 349 (M⁺ 100%), 201 (10%), 149 (66%), 135 (50%).

3-[(5-Cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2*H*-ciclopenta[b]piridin-2-ona (6). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (0.00494 mol) en DMSO, se agregaron 0.742 g (0.00494 mol) de 3-amino-6,7-dihidro-5*H*-ciclopenta[b]piridin-2(1*H*)-ona y 0.7 mL (0.00494 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.8 g (0.00253 mol, 51.2%) de un sólido café claro con un pf de 227.8-228.2 °C. RMN ¹H: DMSO δ 11.62 (sa, 1H, NH), 7.83 (d, J=1.5 Hz, 1H, H-4'), 7.73 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-7'), 7.40 (dd, J=8.1 y 1.5 Hz, 1H, H-6'), 6.29 (s, 1H, H-4), 5.90 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.59 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.60 (t, J=5.7 Hz, 2H, H-7), 2.50 (m, 2H, H-5), 1.95 (q, J=5.7 Hz, 2H, H-6). IR (KBr): 3384 (NH, alquílico), 2903 (NH, aromático), 1645 (C=O), 1571 (C=N) cm⁻¹. EM m/z 315 (M⁺ 100%), 163 (39%), 149 (39%), 135 (42%).

3-[(4,7-Dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (7). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 4,7-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (0.00422 mol) en DMSO, se agregaron 0.693 g (0.00422 mol) de 3-amino-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona y 0.59 mL (0.00422 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.410 g (0.00112 mol, 26.5%) de un sólido café claro con un pf de 220.2-221.5 °C. RMN ¹H: DMSO δ 11.23 (sa, 1H, NH), 7.53 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-5'), 7.50 (d, J=6.3 Hz, 1H, H-6'), 6.15 (s, 1H, H-4), 5.94 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.65 (d, J=4.5 Hz, 2H, metilénicos), 2.35 (t, J=4.5 Hz, 2H, H-8), 2.31 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-5), 1.61 (m, 4H, H-6,7). IR (KBr): 3402 (NH, alquílico), 2932 (NH, aromático), 1644 (C=O), 1582 (C=N) cm⁻¹. EM m/z 363 (M⁺ 100%), 201 (7%), 177 (48%), 149 (77%).

3-[(5,6-Dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (8). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 5,6-dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (0.00422 mol) en DMSO, se agregaron 0.694 g (0.00422 mol) de 3-amino-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona y 0.59 mL (0.00422 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.758 g (0.00208 mol, 49.2%) de un sólido café claro con un p.f de 237.7-238.1 °C. RMN ¹H: DMSO δ 11.21 (sa, 1H, NH), 8.16 (s, 1H, H-7'), 8.06 (s, 1H, H-4'), 6.08 (s, 1H, H-4), 5.90 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.60 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.35 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-8), 2.27 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-5), 1.60 (m, 4H, H-6,7). IR (KBr): 3315 (NH, alquílico), 2829 (NH, aromático), 1648 (C=O), 1580 (C=N) cm⁻¹. EM m/z 363 (M⁺ 100%), 200 (7%), 163 (42%); 149 (42%).

3-[(5-Cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (9). Siguiendo el procedimiento general **D**, se disolvió el 5-cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (0.00494 mol) en DMSO, se agregaron 0.811 g (0.00494 mol) de 3-amino-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona y 0.7 mL (0.00494 mol) de trietilamina. Se obtuvieron 0.670 g (0.00204 mol, 41%) de un sólido amarillo claro con un pf de 213.5-214.0 °C. RMN ¹H: DMSO δ 11.18 (sa, 1H, NH), 7.81 (d, J=1.5 Hz, 1H, H-4'), 7.73 (d, J=6.6 Hz, 1H, H-7'), 7.40 (dd, J=8.1 y 1.5 Hz, 1H, H-6'), 6.07 (s, 1H, H-4), 5.86 (t, J=4.8 Hz, 1H, NH), 4.58 (d, J=4.8 Hz, 2H, metilénicos), 2.33 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-8), 2.25 (t, J=4.2 Hz, 2H, H-5),

1.58 (m, 4H, H-6,7). IR (KBr): 3356 (NH, alquílico), 2928 (NH, aromático), 1649 (C=O), 1568 (C=N) cm^{-1} . EM m/z 329 (M^+ 100%), 177 (53%), 149 (62%).

Evaluación de la actividad antiviral. La actividad inhibitoria anti-VIH se realizó sobre la enzima TR del VIH-1 por medio del ensayo Lenti-RT (Cavidi Tech) en microplacas de 96 pozos que tienen unido covalentemente un homopolímero de riboadenosina (poliA). Se usó un oligo-dT como iniciador y se incorporó 5-bromodeoxiuridina 5´trifosfato (BrUTP) como sustrato modificado, el que es utilizado por la enzima TR para construir la nueva cadena de ADN. La reacción procedió a 33 °C durante 3 horas y se cuantificó inmunológicamente por el reconocimiento de la BrUTP, mediante un anticuerpo anti-BrdU conjugado a fosfatasa alcalina. La adición del reactivo paranitrofenilfosfato (pNFF) a la mezcla de reacción, ocasiono que la fosfatasa alcalina hidrolice el grupo fosfato del pNFF y genere el compuesto paranitrofenol. Esta reacción es colorida y se cuantificó en un lector de ELISA a 405 nm.

Los 9 análogos de la 2-piridinona se probaron a una concentración de 1 mM. Cada sustancia se evaluó por triplicado utilizando como disolvente DMSO a una concentración máxima del 10 % v/v. Como control positivo se utilizó nevirapina (inhibidor no nucleosídico de la TR del VIH-1) bajo las mismas condiciones de molaridad.

11. REFERENCIAS

Baba, M., Debyser, Z., Shigeta, S., De Clercq, E. Highly potent selective inhibition of human immunodeficiency virus type 1 by the HIV-1 specific reverse transcriptase inhibitors. *Drugs Fut.* **1992**, *17*, 891-897.

Balzarini, J., Pérez-Pérez, M. J., San-Félix, A., Velázquez, S., Camarasa, M. J., De Clercq, E. 2',5'-Bis-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)]-3'-spiro-5''-(4''-amino-1'',2''-oxathiole-2'',2''-dioxide) (TSAO) derivatives of purine and pyrimidinenucleosides as potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **1992**, *36*, 1073-1076.

Balzarini, J. Current status of the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus type 1. *Curr. Topics Med. Chem.* **2004**, *4*, 921-944.

Clavel, F., Guétard, D., Vézinet-Brun, F., Chamaret, S., Rey, M., Santos-Ferreira, M., Laurent, A., Dauguet, C., Katlama, C., Rouzioux, C., Klatzman, D., Champalimaud, J., Montagnier, L. Isolation of a new Human Retrovirus from West African Patients with AIDS. *Science* **1986**, *233*, 343-346.

Connolly, K. J., Hammer, S. N. Antiretroviral therapy: Reverse transcriptase inhibition. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **1992**, *36*, 245-254.

Collier, A. C., Bozzette, S., Coombs, R. W., Causey, D. M., Schoenfeld, D. A., Spector, S. A., Pettinelli, C. B., Davies, G., Richman, D. D., Leedon, J. L., Kidd, P., Corey, L. A. A pilot study of low-dose zidovudine in human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* **1990**, *323*, 1015-1021.

De Clercq E. Toward improved anti-HIV-1 chemotherapy: Therapeutic strategies for intervention with HIV-1 infections. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2491-2517.

De Clercq, E. The role of non-nucleoside Reverse Transcriptase inhibitors (NNRTIs) in the therapy of HIV-1 infection. *Antiviral Research* **1998**, *38*, 153-179.

De Clercq, E. Strategies in the design of antiviral drugs. *Nature Rev.* **2002**, *1*, 13-25.

Dollé, V., Nguyen, C. H., Bisagni, E. Studies towards 4-C-alkylation of pyridin-2(1*H*)-one derivatives. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12505-12524.

Ekstrand, D., Awad, R. J., Kallander, C. F., Gronowitz J. S. A sensitive assay for the quantification of reverse transcriptase activity based on the use of carrier-bond template and non-radioactive-product detection with special reference to human-immunodeficiency virus isolation. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **1996**, *23*, 95-105.

Gallo, R. C., Salahuddin, S. Z., Popovic, M. G., Shearer, M., Kaplan, M., Haynes, B. F., Palker, T. J., Redfield, R., Oleske, J., Saafai, B., White, B., Foster G., Markham, P. D.

Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **1984**, 224, 500-502.

Garg, R., Gupta, S. P., Gao, H., Babu, M. S., Debnath, A. K., Hansch, C. Comparative Quantitative Structure-Activity Relationship studies on anti-HIV drugs. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 3525-3601.

Goff, S. P. Retroviral reverse transcriptase: synthesis, structure and function. *J. Acquired Immune Defic. Syndr.* **1990**, 3, 817-831.

Goldman, M. E., Nunberg, J. H., O'Brien, J. A., Quintero, J. C., Schleif, W. A., Freund, K. F., Gaul, S. L., Saari, W. S., Wai, J. S., Hoffman, J. M., Anderson, P. S., Hupe, D. J., Emini, E. A., Stern, A. M. Pyridinone derivatives: Specific human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase inhibitors with antiviral activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1991**, 88, 6863-6867.

Goldman, M. E., O'Brien, J. A., Ruffin, T. L., Nunberg, J. H., Schleif, W. A., Quintero, J. C., Siegl, P. K., Hoffman, J. M., Smith, A. M., Emini, E. L-696,229 specifically inhibits human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase and possesses antiviral activity in vitro. *Antimicrob. Agent. Chemother.* **1992**, 36, 1019-1023.

Guyader, M., Emerman, M., Sonigo, P., Clavel, F., Montagnier, L., Alison, M. Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. *Nature* **1987**, 326, 662-669.

Grotta, H. M., Page, T. F., Riggle, C. J., Manian, A. Some hydroxylated derivatives of chlorpromazine. *J. Heterocycl. Chem.* **1967**, 4, 611-618.

Haseltine, W. A., Wong-Staal, F. The molecular biology of the AIDS virus. *Sci. Am.* **1988**, 259, 52-60.

Hoffman, A. D., Banopour, B., Levy, J. A. Characterization of the AIDS associated retrovirus reverse transcriptase and optimal condition for its detection in virions. *Virology* **1985**, 147, 326-335.

Hoffman, J. M., Wai, J. S., Thomas, C. M., Levin, R. B., O'Brien, J. A., Goldman, M. E. Synthesis and evaluation of 2-pyridinone derivatives as HIV-1 specific reverse transcriptase inhibitors. 1. Phthalimidoalkyl and -alkylamino analogs. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 3784-3791.

Hoffman, J. M., Smith, A. M., Rooney, C. S., Fischer, T. E., Wai, J. S., Thomas, C. M., Banberger, D. L., Barnes, J. L., Williamns, T. M., Jones, J. H., Olson, B. D., O'Brien, J. A., Goldman, M. E., Nunberg, J. H., Quintero, J. C., Schielf, W. A., Emini, E. A., Anderson, P. S. Synthesis and evaluation of 2-pyridinone derivatives as HIV-1-specific reverse transcriptase inhibitors. 4. 3-[2-(Benzoxazol-2-yl)ethyl]-5-ethyl-6-methylpyridin-2(1H)-one and analogs. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 953-966.

- Huerta, M., Basualdo, M. C., Lozada, L., Jiménez-Estrada, M., Soler, C., R. Reyes-Chilpa. HIV-1 Inhibition by crude extracts of Clusiaceae species from Mexico. *Biological and Pharmaceutical Bul.* **2004**, 27, 916-920.
- Hudgson, H. H., Kershaw, A. Halogenation of anisole derivatives. *J. Chem. Soc.* **1929**, 2917-2923.
- Hussey, R. E., Richardson, N. E., Kowalski, M., Brown, N. R., Chang, H. C., Siliciano R. F., Dorfman, T., Walker, B., Sodroskil, J., Reinherz, E. L. A soluble CD4 protein selectively inhibits HIV replication and syncytium formation. *Nature* **1988**, 331, 78-81.
- Juárez-Gordiano, C., Hernández-Campos, A., Castillo, R. An improved method for the synthesis of 3-amino-1*H*-quinolin-2-one. *Synthetic. Comm.* **2002**, 32, 2959-2963.
- Kedar, P. S., Abbots, J., Kovacs, T., Lesiac, K., Torrense, P., Wilson, S. H. Mechanism of HIV Reverse Transcriptase. *Biochem.* **1990**, 29, 3903-3911.
- Lee, M. H., Sano, K., Morales, F. E., Imagawa, D. Sensitive reverse transcriptase assay to detect and quantitate human immunodeficiency virus. *J. Clin. Microbiol.* **1987**, 25, 1717-1721.
- Levy, J. A. Infection by human immunodeficiency virus-CD4 is not enough. *N. Engl. J. Med.* **1996**, 335, 1528-1530.
- Mathews, V. E., Kubler, D. G. Improved synthesis of salts and esters of nitroacetic acid. *J. Org. Chem.* **1960**, 25, 266-268.
- Mazurov, A., Androneti, S., Antonenko, V. 2-Methyl-4-(*o*-nitrobenzylidene)oxazol-5-ones. *Khim. Geterots. Soed.* **1985**, 5, 615-617.
- Medina Franco, J. L. Síntesis de 3-aminopiridin-2(1*H*)-onas 5,6-disustituidas precursoras de compuestos con potencial actividad inhibitoria de la transcriptasa reversa del VIH-1. Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM, **2002**.
- Medina Franco, J. L., Rodríguez-Morales, S., Juárez-Gordiano, C., Hernández-Campos, A., Castillo, R. Docking-based CoMFA and CoMSIA studies of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of the pyridinone derivative type. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2004**, 18, 345-360.
- Merluzzi, V. J., Hargrave, K. D., Labadia, M., Grosinger, K., Skoog, M., Wu, J. C., Shih, W. C., Eckner, K., Hattox, S., Adams, J., Rosenthal, A. S., Faanes, R., Eckner, J. R., Koup, A., Sullivan, J. L. Inhibition of HIV-1 replication by nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor. *Science* **1990**, 250, 1411-1413.
- Mohri, H., Singh, M., Ching, K., Hoo, D. Quantitation of zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1 in the blood of treated and untreated patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 25-29.

- Mitsuya, H., Weinhold, P. A., Furman, N. H., Clair, S., Lehrman, S. N., Gallo, R. C., Bolognesi, D., Barry, D., Broder, S. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BWA509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1985**, *82*, 7096-7100.
- Miyasaka, T., Tanaka, H., Baba, M., Hayakawa, H., Walter, R., Balzarini, J., De Clercq, E. Novel lead for specific anti HIV-1 agents: 1-(2-Hydroxyethoxymethyl)-6-(phenylthio)-thymine. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 2507-2509.
- Nunberg, J. H., Schleif, A., Boots, E., O'Brien, J. A., Quintero, J. C., Hoffman, J. M., Emimi, E., Goldman, M. E. Viral Resistance to Human Immunodeficiency Virus Type 1-Specific Pyridinone Reverse Transcriptase Inhibitors. *J. Virol.* **1991**, *65*, 4887-4892.
- Paine, J. B. III A convenient synthesis of nicotinate esters from 3-cyanopyridones. *J. Heterocyclic Chem.* **1987**, *24*, 351-355.
- Parreira, R., Abrahao, O., Gallembeck, S. E. Conformational preferences of non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3243-3253.
- Pauwels, R., Andries, K., Desmiter, J., Schols, D., Kukla, M. J., Breslin, H. J., De Clercq, E. Potent and selective inhibition of HIV-1 replication in vitro by a novel series by TIBO derivatives. *Nature*. **1990**, *343*, 470-474.
- Pedersen, O., Pedersen, E. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: The NNRTI boom. *Antiviral Chem. Chemother.* **1999**, *10*, 285-314.
- Perrin, L., Rakik, A., Baumberg, C., Kinloch, L. S., Pechere, M., Hirschel, B. Combined therapy with zidovudine and L-697,661 in primary HIV infection. *AIDS* **1996**, *10*, 1233-1237.
- Ren, J., Esnouf, R., Garman, E., Somers, D., Ross, C., Kirby, I., Keeling, J., Darby, G., Jones, Y., Stuart D., Stammers, D. High resolution structures of HIV-1 RT from four RT inhibitor complexes *Nat. Struct. Biol.* **1995**, *2*, 923-932.
- Reyes-Chilpa, R., Estrada-Muñiz, E., Ramírez, T., Amekraz, B., Aumelas, A., Jankowski, C. K. and Vazquez-Torres, M. Cytotoxic effects of mammea type coumarins from *Calophyllum brasiliense*. *Life Sciences* **2004**, *75*, 1635-1647.
- Richman, D. E., Fischl, M. A., Grieco, M. H., Gottlieb, M. S., Volberding, P. A., Laskin, O. L., Leedon, J. M., Groopman, J., Mildvan, D., Hirsch, M. S., Jackson, G. C., Durack, D., Andrews, J. C., Nusinoff-Lehman, S. The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS related complex. A double blind placebo-controlled trial. *N. Engl. J. Med.* **1987**, *317*, 192-197.

- Rodgers, D. W., Gamblin, S. J., Harris, B. A., Ray, S., Culp, J. The structure of unliganded reverse transcriptase from the human immunodeficiency virus type 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1995**, *92*, 1222-1226.
- Romero, D. L., Busso, M., Tan, C., Reusser, F., Palmer, J., Poppe, S. M., Aristoff, P. A. Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors that potently and specifically block human immunodeficiency virus type 1 replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1991**, *88*, 8806-8810.
- Saari, W. S., Hoffman, J. M., Wai, J. S., Fischer, T. E., Rooney, C. S., Smith, A. M., Thomas, C. M., Goldman, M. E., O'Brien, J. A., Nunberg, J. H., Quintero, J. C., Schleif, W. A., Emini, E., Stern, A. M., Anderson, P. S. 2-Pyridinone derivatives: A new class of nonnucleoside, HIV-1-specific reverse transcriptase inhibitors. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2922-2925.
- Saari, W. S., Wai, J. S., Fischer, T. E., Thomas, C. M., Hoffman, J. M., Rooney, C. S., Smith, A. M., Jones, J. H., Bamberger, D. L., Goldman, M. E., O'Brien, J. A., Nunberg, J. H., Quintero, J. C., Schleif, W. A., Emini, E., Anderson, P. S. Synthesis and evaluation of 2-Pyridinone derivatives as HIV-1-specific reverse transcriptase inhibitors 2 analogues of 3-aminopyridin-2(1H)-one. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3792-3802.
- Schnittman, A. M., Fauci, A. S. Human immunodeficiency virus and acquired immunodeficiency syndrome. *Adv. Intern. Med.* **1994**, *39*, 305-354.
- Shao, X., Ekstrand, D., Bhikhabhai, R., Kallander, C. F., Gronowitz, J. S. A non-radioactive microtiter plate reverse transcriptase (RT) assay based on immobilized template, for screening of RT activity inhibitors and evaluation of their mode of action. *Antivir. Chem. Chemother.* **1997**, *8*, 149-159.
- Siddiqui, A. Q., McGuigan, C., Ballatore, C., Zuccotto, F., Gilbert, I., De Clercq, E., Balzarini, J. Design and synthesis of lipophilic phosphoramidate d4T-MP prodrugs expressing high potency against HIV in cell culture: structural determinants for in vitro activity and QSAR. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4122-4128.
- Smerdon, S., Jager, J., Wang, J., Kohlstaedt, L., Chirino, A., Friedman, J., Rice, P., Steitz, T. Structure of the binding site for nonnucleoside inhibitors of the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, *91*, 3911-3915.
- Tarrago-Litvak, L., Andreola, M., Nevinsky, G. A., Sarih-Cottin, L., Litvak, S. The reverse transcriptase of HIV-1: from enzymology to therapeutic intervention. *FASEB J.* **1994**, *8*, 497-503.
- Trost, B. M. Dehydrogenation mechanisms. On the mechanisms of dehydrogenation of acenaphthene by quinines. *J. Amer. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 1847-1855.
- Vacca, J. P., Condra, J. H. Clinically effective HIV-1 protease inhibitors. *DDT* **1997**, *2*, 487-498.

Vaishnav, Y. N., Wong-Staal, F. The Biochemistry of the AIDS. *Annu. Rev. Biochem.* **1991**, *60*, 577-630.

Wai, J. S., Goldman, M. E. L-697-661 Antiviral HIV-1 reverse transcriptase inhibitor. *Drugs Fut.* **1992**, *17*, 283-285.

Wyatt, R. and Sodrosky, J. The human immunodeficiency virus (HIV-1) envelope glycoproteins: fusogens, antigens and immunogens. *Science* **1988**, *280*, 1884-1888.

This article was downloaded by:[UNAM Direccion General de Bibliotecas]
On: 6 February 2008
Access Details: [subscription number 768417916]
Publisher: Taylor & Francis
Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954
Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK

Synthetic Communications

An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry

Publication details, including instructions for authors and subscription information:
<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713597304>

AN IMPROVED METHOD FOR THE SYNTHESIS OF 3-AMINO-1H-QUINOLIN-2-ONE

Cecilia Juárez-Gordiano ^a; Alicia Hernández-Campos ^a; Rafael Castillo ^a

^a Departamento de Farmacia, Facultad de Química UNAM, México, México

Online Publication Date: 24 September 2002

To cite this Article: Juárez-Gordiano, Cecilia, Hernández-Campos, Alicia and Castillo, Rafael (2002) 'AN IMPROVED METHOD FOR THE SYNTHESIS OF 3-AMINO-1H-QUINOLIN-2-ONE', Synthetic Communications, 32:19, 2959 - 2963

To link to this article: DOI: 10.1081/SCC-120012984

URL: <http://dx.doi.org/10.1081/SCC-120012984>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article maybe used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.



SYNTHETIC COMMUNICATIONS

Vol. 32, No. 19, pp. 2959–2963, 2002

AN IMPROVED METHOD FOR THE SYNTHESIS OF 3-AMINO-1*H*-QUINOLIN-2-ONE

Cecilia Juárez-Gordiano, Alicia Hernández-Campos,
and Rafael Castillo*

Departamento de Farmacia, Facultad de Química
UNAM, CU. México DF 04510, México

ABSTRACT

An efficient method for the synthesis of 3-amino-1*H*-quinolin-2-one is described. Condensation of *o*-nitrobenzaldehyde with hippuric acid gave 4-(2-nitrobenzylidene)-2-phenyloxazol-5-one. This compound was reduced to give 4-(2-aminobenzylidene)-2-phenyloxazol-5-one, which upon isomerization with light, cyclization and hydrolysis afforded the desired product.

Key Words: 3-Amino-1*H*-quinolines; Synthesis; Photochemical isomerization

The considerable biological importance of quinolone derivatives, such as antibacterial activity^[1] and, more recently, antiviral activity^[2] has stimulated work on these heterocycles. This is the case of 3-amino-1*H*-quinolin-2-one (**6**). As part of our studies to prepare new agents with potential antiviral activity we were in need of **6**; however, there are no general methods available for its preparation in good yields.

*Corresponding author. Fax: +(525)6225329; E-mail: rafaelc@servidor.unam.mx

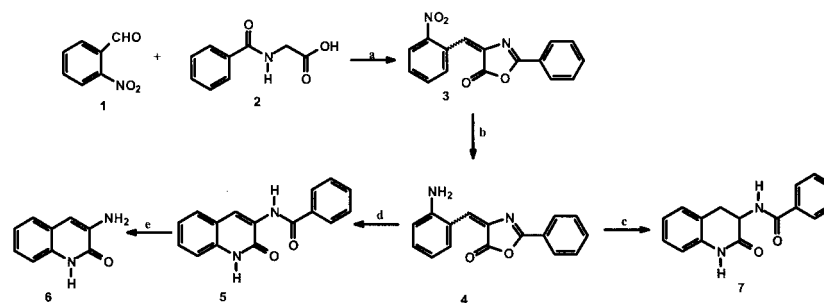


2960 JUÁREZ-GORDIANO, HERNÁNDEZ-CAMPOS, AND CASTILLO

One approach reported is based on the condensation of 2-amino-benzaldehyde with α -nitromethylenecarbonyl compounds with a subsequent cyclization and reduction of the nitro group to give **6**. However, this method gives very poor yields.^[3] In another approach, the condensation of 2-nitrobenzaldehyde with acetic acid gave a mixture of *cis* and *trans* 2-methyl-4-(2-nitrobenzylidene)oxazol-2-one, which upon separation, reduction of the *cis* isomer, cyclization, and hydrolysis gave **6** in low yield.^[4] The synthesis of **6** has also been achieved via a Curtius rearrangement; nevertheless, this method involves a multistep process giving low yields of **6**.^[5] And finally, **6** was obtained by the reduction of methyl anthranilate, followed by oxidation of the corresponding alcohol. Condensation of this with ethyl nitroacetate gave 3-nitroquinolone, which upon hydrogenation afforded the product.^[6]

In this paper we describe a short and efficient synthesis of 3-amino-1*H*-quinolin-2-one according to reaction Sch. 1.

The condensation of *o*-nitrobenzaldehyde (**1**) and hippuric acid (**2**) in acetic anhydride containing pyridine as a base at 75°C gave a 91% yield of 4-(2-nitrobenzylidene)-2-phenyloxazol-5-one (**3**). Catalytic reduction of **3** with H₂, Pd/C 5% for 15 min afforded a 93% yield of a red crystalline material identified as 4-(2-aminobenzylidene)-2-phenyloxazol-5-one (**4**). Its ¹H NMR spectrum showed a broad signal at 6.23 ppm because of the NH₂ group. When the hydrogenation time increased to 30 min, 3-benzamido-3,4-dihydro-1*H*-quinolin-2-one (**7**) was obtained. These results support the idea that the geometry of **4** and **3** is *trans* in such a way that the reacting carbonyl and amino groups are on opposite sides of the double bond; for this reason **5** was not obtained directly under these conditions. Later on, **4** was isomerized and cyclized upon irradiation with a 250-Watt G.E. sunlamp in acetone as a solvent. In this reaction, the product was



Scheme 1. (a) Ac₂O, pyridine, 75°C; (b) H₂, Pd/C 5%, ethanol, 15 min; (c) H₂, Pd/C 5%, ethanol, 30 min; (d) Light, acetone; (e) NaOH-H₂O/EtOH, 80°C.

**3-AMINO-1*H*-QUINOLIN-2-ONE****2961**

3-benzamido-1*H*-quinolin-2-one (**5**), which precipitated as soon as it was formed in 80% yield. Finally, **5** was hydrolyzed in EtOH/H₂O with NaOH at 80°C for 48 h to afford **6** in 92% yield. All compounds obtained had IR, ¹H NMR, MS spectra and elemental analysis, which are consistent with the expected structures.

In conclusion, in this communication an efficient method is described for the synthesis of **6** in only four steps, each of which with good yields. The important feature of this work is the high selectivity in the condensation reaction where only one isomer is formed, and not a mixture of isomeric oxazolones, as described in the case of aceturic acid.^[4] The catalytic hydrogenation of **3** was also selective, since only the nitro group was reduced in preference to the exocyclic double bond. Each reaction step in the synthesis is simple to carry out, affording good product yields, which are higher than those previously reported in the literature.

EXPERIMENTAL

Melting points were determined with a Buchi 530 model apparatus and are uncorrected. IR spectra were taken on a Perkin Elmer spectrometer. ¹H NMR spectra were recorded on a Varian VXR-300 spectrometer, using TMS as internal standard. Mass spectra (MS) were performed by EI, 70 eV, using a Hewlett Packard apparatus, model 5988.

4-(2-Nitrobenzylidene)-2-phenyloxazol-5-one (3): A mixture of **1** (25.00 g, 0.1654 mol), **2** (36.00 g, 0.2009 mol), acetic anhydride (31.61 mL) and pyridine (13.54 mL) was stirred for 15 min at 75°C and a dark brown solid was formed. The mixture was filtered, and the residue was washed with ethanol. The crude product was purified by recrystallization from toluene to give 44.33 g (0.1506 mol, 91.05%) of yellow crystals, m.p. 162–164°C. ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.68 (dd, *J* = 7.80 and 1.20 Hz, 1H, H-6'), 8.18–8.10 (m, 2H, H-4', 5'), 8.06 (dd, *J* = 8.40 and 1.20 Hz, 1H, H-3'), 7.81 (td, *J* = 7.65 and 1.50 Hz, 1H, H-4''), 7.61 (s, 1H, H-benzylic), 7.71–7.56 (4H, m, H-2'', 3'', 5'', 6''); IR (KBr): 1850 (C=O), 1798 (C=N) 1514 and 1334 (NO₂) cm⁻¹; MS: *m/z* 294 (M⁺, 17%), 105 (100%); Anal. Calcd: C, 65.31; H, 3.43; N, 9.52. Found: C, 65.27; H, 3.18; N, 9.49.

4-(2-Aminobenzylidene)-2-phenyloxazol-5-one (4): A mixture of **3** (15.00 g, 0.0510 mol), ethyl acetate (200 mL) and 5% Pd/C (1.50 g) was hydrogenated (60 psi) in a Parr hydrogenation apparatus for 15 min at room temperature. The resulting solution was filtered and the solvent, evaporated. The residue was recrystallized from toluene to give 12.60 g (0.0477 mol, 93.53%) of red crystals, m.p. 172–173°C. ¹H NMR (CDCl₃):



2962 JUÁREZ-GORDIANO, HERNÁNDEZ-CAMPOS, AND CASTILLO

δ 8.18 (dd, $J=8.10$ and 1.50 Hz, 1H, H-6'), 8.08 (dd, $J=7.70$ and 1.50 Hz, 2H, H-2'', 6''), 7.75–7.51 (m, 3H, H-3'', 4'', 5''), 7.47 (s, 1H, H-benzylic), 7.16 (td, $J=7.72$ and 1.50 Hz, 1H, H-5'), 6.75 (dd, $J=7.90$ and 1.20 Hz, 1H, H-3'), 6.65 (td, $J=7.80$ and 1.20 Hz, 1H, H-4'), 6.23 (s, 2H, NH₂); IR (KBr): 3402 and 3334 (NH₂), 1770 (C=O), 1646 (C=N) cm⁻¹; MS: m/z 264 (M⁺, 100%), 105 (5%); Anal. Calcd: C, 72.72; H, 4.58; N, 10.60. Found: C, 72.76; H, 4.11; N, 10.18.

3-Benzamido-1H-quinolin-2-one (5): Compound **4** (10.00 g, 0.0378 mol) was suspended in acetone (200 mL) and the mixture was stirred and irradiated with a 250-Watt G.E. sunlamp for 3 days. During this time red crystals were formed. The mixture was filtered and the residue was washed with acetone and recrystallized from ethanol to give 8.00 g (0.0303 mol, 80.16%) of **5**, m.p. 271–273°C. ¹H NMR: (CDCl₃–DMSO-d₆): δ 12.36 (s, 1H, NH, benzamide), 9.36 (s, 1H, NH quinolone), 8.72 (s, 1H, H-4), 7.91 (dd, $J=7.50$ and 1.80 Hz, 2H, H-2', 6'), 7.64–7.48 (m, 4H, H-5, H-3', 4', 5'), 7.40–7.31 (m, 2H, H-6, 7), 7.16–7.27 (m, 1H, H-8); IR (KBr): 3370 (NH), 1682 (C=O), 1644 (C=O) cm⁻¹; MS: m/z 264 (M⁺, 65%), 78 (100%); Anal. Calcd: C, 72.72; H, 4.58; N, 10.60. Found: C, 72.28; H, 4.44; N, 10.49.

3-Amino-1H-quinolin-2-one (6): To a solution of NaOH (11.00 g, 0.275 mol) in water (59 mL) and ethanol (35 mL) was slowly added **5** (6.60 g, 0.0250 mol) and the resulting mixture was stirred at 80°C for 48 h. After cooling, water (100 mL) was added and the mixture was extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over anhydrous sodium sulfate. Evaporation of the solvent under vacuum gave 3.70 g, (0.0231 mol, 92.40%) of a light yellow solid, m.p. 208–209°C, [lit.^[4,5] 210–211°C]. ¹H NMR (CDCl₃–DMSO-d₆): δ 11.79 (s, 1H, NH), 7.32 (d, $J=7.50$, 1H, H-5), 7.19 (d, $J=7.80$, 1H, H-8), 7.11 (t, $J=7.50$ and 1.50 Hz, 1H, H-7), 7.02 (t, $J=7.20$ and 1.50 Hz, 1H, H-6), 6.72 (s, 1H, H-4), 5.44 (s, 2H, NH₂); IR (KBr): 3440 and 3334 (NH₂), 1668 (C=O) cm⁻¹; MS: m/z 160 (M⁺, 100%), 133 (64%), 105 (41%); Anal. Calcd: C, 67.49; H, 5.03; N, 17.49. Found: C, 67.11; H, 5.00; N, 17.22.

3-Benzamido-3,4-dihydro-1H-quinolin-2-one (7): A mixture of **3** (16.00 g, 0.0544 mol), ethyl acetate (200 mL) and 5% Pd/C (1.50 g) was shaken under hydrogen (60 psi) in a Parr hydrogenation apparatus for 30 min at room temperature. The catalyst was removed by filtration and the product crystallized spontaneously in the filtrate to give 11.50 g, (0.0432 mol, 79.41%) of **7**, m.p. 166–167°C. ¹H NMR (CDCl₃): δ 10.2 (s, 1H, NH quinolone), 8.07 (d, $J=6.60$ Hz, 1H, NH benzamide), 7.91 (dd, $J=6.60$ and 1.50 Hz, 2H, H-5, 8), 7.57–7.41 (m, 3H, H-3', 4', 5'), 7.22–7.12 (m, 2H, 2', 6'), 7.01–6.91 (m, 2H, H-6, 7), 4.83–4.71 (m, 1H, H-3), 3.39–3.28 (m, 2H, CH₂); IR (KBr): 3300 (NH), 1692 (C=O) cm⁻¹; MS:

**3-AMINO-1*H*-QUINOLIN-2-ONE****2963**

m/z 266 (M^+ , 1%), 145 (100%); Anal. Calcd: C, 72.16; H, 5.30; N, 10.52.
Found: C, 71.88; H, 5.14; N, 10.40.

ACKNOWLEDGMENTS

We are very grateful to Dr. Joseph Muchowski for critical review of the manuscript. We thank Georgina Duarte, Margarita Guzman, Graciela Chávez, Maricela Gutiérrez, Federico García and Rosa I. Del Villar for recording MS, IR, and ^1H NMR spectra. This work was supported in part by CONACyT and DGAPA IN204998.

REFERENCES

1. Coutts, R.T.; Hindmarsh, K.W.; Myers, G.E. Quinoline *N*-oxides and Hydroxamic Acids with Antibacterial Properties. *Can. J. Chem.* **1970**, *48*, 2393–2396.
2. Streckowski, L.; Mokrosz, J.; Honkan, V.A.; Agnieszka, C.; Cegla, T.; Widra, R.; Patterson, S.; Schinazi, F. Synthesis and Structure–Activity Relationship Analysis of 2-(Aryl or heteroaryl)quinolin-4-amines, A new Class of Anti-HIV-1 Agents. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1739–1746.
3. Saari, W.S.; Wai, J.S.; Fisher, T.E.; Thomas, C.M.; Hoffman, J.; Rooney, C.S.; Smith, A.M.; Jones, J.S.; Branberg, D.L.; Goldman, M.E.; O'Brien, J.; Nunberg, J.; Quintero, J.C.; Schleif, W.A.; Emini, E.; Stern, A.M.; Anderson, P. Synthesis and Evaluation of 2-Pyridinone Derivatives as HIV-1 Specific Reverse Transcriptase Inhibitors. 2. Analogues of 3-Aminopyridin-2(1*H*)-one. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3792–3802.
4. Mazurov, A.; Androneti, S.; Antonenko, V. 2-Methyl-4-(*o*-nitrobenzylidene)oxazol-5-ones. *Khim. Geterots. Soed.* **1985**, *5*, 615–617.
5. Hashimoto, T.; Nagase, S. Studies on the Curtius Reaction of Carboxycarbostyryl and Carboxyisocarbostyryl. *J. Pharm. Soc. Jpn.* **1960**, *80*, 1806–1808.
6. Anderson, W.K.; Dalvie, D.K. Synthesis of 4-(2-Chloroethyl)-2,3-dihydro[1,4]oxazino[2,3-*b*]quinoline and 4-(2-chloroethyl)-2,3-dihydroprido[2,3-*b*][1,4]oxazine. *J. Heterocyclic Chem.* **1993**, *30*, 1533–1536.

Received in the USA October 4, 2001



MARCEL DEKKER, INC. • 270 MADISON AVENUE • NEW YORK, NY 10016

©2002 Marcel Dekker, Inc. All rights reserved. This material may not be used or reproduced in any form without the express written permission of Marcel Dekker, Inc.

RCM

Letter to the Editor

To the Editor-in-Chief

Sir,

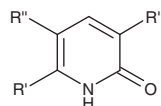
New fragmentation processes of pyridin-2(1H)-ones upon electron impact ionization

It is well known that the electron ionization (EI) mass spectra of unsubstituted pyridin-2(1H)-one exhibit preferential elimination of carbon monoxide.^{1,2} The fragmentation processes of pyridinones with different substituents at the heterocyclic ring have also been studied.^{3,4} However, little is known about the effect on the EI mass spectra of an alkyl substituent at position 5. In the present work, the EI fragmentations of twelve 5,6-dialkylpyridin-2(1H)-ones were studied. Nine of these compounds were also substituted at position 3 (Table 1). The pyridine-2(1H)-one derivatives were synthesized as part of a project aimed towards the design and synthesis of compounds with potential antiviral activity.^{5,6}

Despite the fact that the lactam form is the preferred tautomeric form of pyridin-2(1H)-one in both the solid state and polar solvents,^{7–9} it has been proposed that the gas-phase molecular ions generated on electron impact are in the lactim form.¹⁰ For this reason the structures of the pyridin-2(1H)-ones are more conveniently depicted in the hydroxypyridine form when fragmentation patterns are proposed.

Low-resolution EI mass spectra and accurate masses of compounds 1–12 were recorded using a JEOL SX-102 mass spectrometer with nominal electron energy of 70 eV, with gas chromatographic introduction via an HP-5890 Series II gas chromatography (GC) system and a direct insertion probe, respectively. An HP-5MS fused-silica capillary column (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm; Agilent Technologies) and a temperature program 100–300°C (10°C/min) were used for

Table 1. Pyridin-2(1H)-ones studied



No.	R'	R''	R'''
1	CH ₃	CH ₃ -CH ₂	CN
2	CH ₃	CH ₃ -CH ₂	H
3	CH ₃	CH ₃ -CH ₂	NO ₂
4	CH ₃	CH ₃ -CH ₂	NH ₂
5	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		CN
6	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		H
7	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		NO ₂
8	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		NH ₂
9	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		CN
10	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		H
11	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		NO ₂
12	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		NH ₂

the GC/MS work. Accurate masses were determined at a resolution of 10 000 (10% valley definition) using perfluorokerosene (PFK) as the reference compound. Masses were determined with an accuracy and precision of better than 1.5 u. Compounds 1–12 were synthesized⁵ following a general procedure previously described.¹¹ All structures were fully characterized with ¹H NMR.⁵

The low-resolution mass spectra are listed in Table 2. The high-resolution accurate mass data obtained for peaks discussed below are listed in Table 3.

For most compounds the molecular ion was the base peak, although the [M-CH₃]⁺ ion was the base peak of the EI spectrum of four 5-ethyl-6-methylpyridin-2(1H)-ones (1–4) and

the [M-H]⁺ ion was the base peak of 9 (the molecular ion was the second most abundant ion for all these compounds). The large abundance of the molecular ion is similar to those observed in the spectra reported for the parent pyridin-2(1H)-one,¹² as well as for 6-methylpyridin-2(1H)-one, 3-cyano-6-methylpyridin-2(1H)-one and 3-cyano-4,6-dimethylpyridin-2(1H)-one.⁴

In the spectra of 3-cyano-6,7-dihydro-5H-cyclopenta[b]pyridin-2(1H)-one (9) and 3-cyano-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-2(1H)-one (5), the observed fragments and their relative intensities were very similar to those already published.¹¹ However, for 5 the ion at *m/z* 146 was reported as the base peak and the molecular ion constituted 77% of the base peak, while in the present

Table 2. EI mass spectra of pyridin-2(1H)-ones 1–12. Peaks of >5% relative abundance are shown

No.	<i>m/z</i> (% Relative abundance)
1	162 (35), 148 (10), 147 (100), 119 (9), 42 (5)
2	137 (43), 123 (6), 122 (100), 94 (13), 42 (6)
3	183 (8), 182 (79), 168 (9), 167 (100), 124 (8), 120 (5), 93 (23), 81 (6), 79 (5), 65 (5), 53 (6), 42 (5), 39 (4)
4	153 (9), 152 (93), 151 (7), 138 (9), 137 (100), 123 (9), 109 (25), 108 (6)
5	175 (11), 174 (100), 173 (31), 147 (9), 146 (80), 145 (6), 119 (6), 118 (12), 104 (6), 91 (7)
6	150 (13), 149 (100), 148 (33), 122 (7), 121 (68), 120 (9), 94 (5), 93 (31), 77 (5)
7	195 (11), 194 (100), 193 (5), 166 (18), 164 (14), 160 (7), 148 (13), 136 (37), 120 (9), 119 (11), 118 (8), 108 (7), 93 (7), 91 (14), 79 (9), 77 (11), 65 (9), 53 (7), 51 (7)
8	165 (11), 164 (100), 163 (17), 137 (5), 136 (54), 135 (8), 108 (15)
9	161 (10), 160 (92), 159 (100), 132 (9), 131 (14), 104 (10), 77 (6)
10	136 (10), 135 (100), 134 (88), 116 (11), 107 (36), 106 (54), 80 (10), 79 (13), 78 (6), 77 (9), 65 (5), 53 (6), 52 (10), 51 (9), 39 (6)
11	181 (10), 180 (100), 179 (9), 134 (11), 123 (5), 122 (60), 106 (14), 105 (9), 104 (9), 79 (18), 78 (13), 77 (20), 67 (6), 65 (9), 63 (5), 53 (8), 52 (5), 51 (9), 38 (5)
12	151 (9), 150 (100), 149 (60), 122 (9), 121 (31), 94 (7)

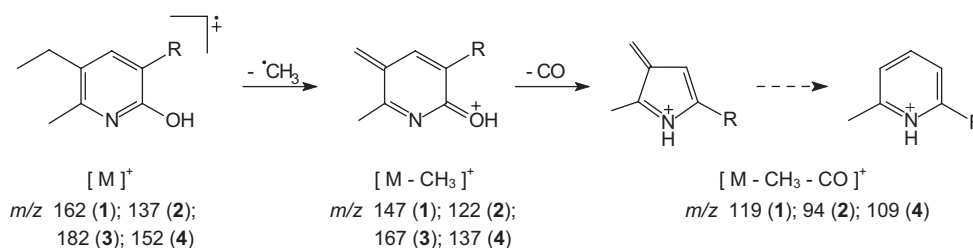
Table 3. High-resolution mass measurements of selected peaks of the mass spectra of pyridin-2(1*H*)-ones 1–12

No.	<i>m/z</i> Observed	<i>m/z</i> Calculated	Composition
1	162.0805	162.0793	C ₉ H ₁₀ N ₂ O
1	147.0565	147.0558	C ₈ H ₇ N ₂ O
1	119.0601	119.0609	C ₇ H ₇ N ₂
2	137.0830	137.0840	C ₈ H ₁₁ NO
2	122.0597	122.0606	C ₇ H ₈ NO
2	94.0652	94.0657	C ₆ H ₈ N
3	182.0700	182.0691	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₃
3	167.0465	167.0457	C ₇ H ₇ N ₂ O ₃
3	93.0581	93.0578	C ₆ H ₇ N
4	152.0936	152.0949	C ₈ H ₁₂ N ₂ O
4	137.0704	137.0715	C ₇ H ₉ N ₂ O
4	109.0759	109.0766	C ₆ H ₉ N ₂
5	174.0804	174.0793	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O
5	173.0707	173.0715	C ₁₀ H ₉ N ₂ O
5	146.0490	146.0480	C ₈ H ₆ N ₂ O
5	118.0526	118.0531	C ₇ H ₆ N ₂
6	149.0843	149.0840	C ₉ H ₁₁ NO
6	148.0775	148.0762	C ₉ H ₁₀ NO
6	121.0522	121.0528	C ₇ H ₇ NO
6	93.0581	93.0578	C ₆ H ₇ N
7	194.0692	194.0691	C ₉ H ₁₀ N ₂ O ₃
7	166.0376	166.0378	C ₇ H ₆ N ₂ O ₃
7	148.0774	148.0762	C ₉ H ₁₀ NO
7	136.0757	136.0762	C ₈ H ₁₀ NO
8	164.0948	164.0949	C ₉ H ₁₂ N ₂ O
8	163.0860	163.0871	C ₉ H ₁₁ N ₂ O
8	136.0648	136.0636	C ₇ H ₈ N ₂ O
8	108.0687	108.0687	C ₆ H ₈ N ₂
9	160.0640	160.0636	C ₉ H ₈ N ₂ O
9	159.0561	159.0558	C ₉ H ₇ N ₂ O
9	131.0614	131.0609	C ₈ H ₇ N ₂
10	135.0693	135.0684	C ₈ H ₉ NO
10	134.0611	134.0606	C ₈ H ₈ NO
10	106.0657	106.0657	C ₇ H ₈ N
11	180.0523	180.0535	C ₈ H ₈ N ₂ O ₃
11	179.0467	179.0457	C ₈ H ₇ N ₂ O ₃
11	134.0611	134.0606	C ₈ H ₈ NO
11	122.0609	122.0606	C ₇ H ₈ NO
12	150.0779	150.0793	C ₈ H ₁₀ N ₂ O
12	149.0721	149.0715	C ₈ H ₉ N ₂ O
12	121.0765	121.0766	C ₇ H ₉ N ₂

study the molecular ion was the base peak.

In the 5-ethyl-6-methyl-disubstituted compounds 1–4, the major fragmentation of the [M]⁺ ions was the loss of a methyl radical attributable to allylic cleavage. The loss of a methyl radical followed by the loss of carbon monoxide was also observed, but at

much lower abundance (in the case of the nitro derivative 3, this latter ion was not observed at all, Scheme 1). The [M-CH₃-CO]⁺ cation resembles the [M-CO-H]⁺ ion proposed in the literature⁷ for some pyridinones, and may undergo rearrangements to afford a structure related to the pyridine cation.^{1,13}

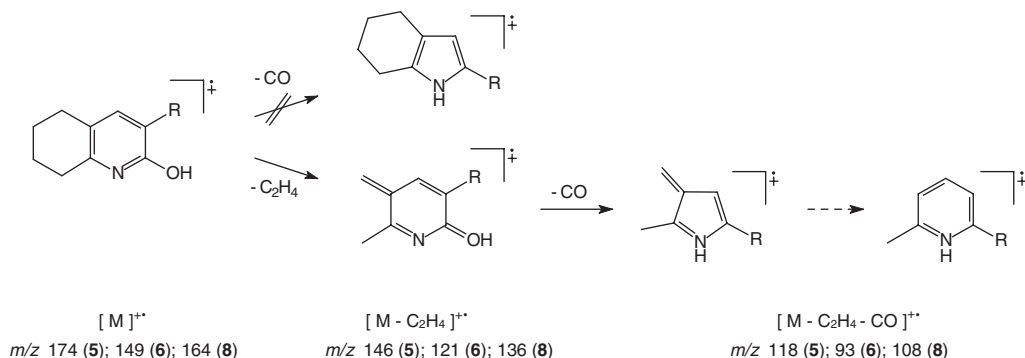
**Scheme 1.** Major fragmentations of 5-ethyl-6-methylpyridin-2(1*H*)-ones 1–4.

The EI spectra of three compounds with a six-membered ring attached to the pyridin-2(1*H*)-one ring at positions 5 and 6 (5, 6, 8) exhibited a very abundant neutral loss of 28 u leading to fragments at *m/z* 146, 121 and 136, respectively. In all three cases, this ion was the second most abundant in the spectra and could correspond to either the [M-C₂H₄]⁺ or [M-CO]⁺ ions (Scheme 2). The ethylene molecule could be afforded by a retro-Diels-Alder process (Scheme 3); the loss of carbon monoxide induced by EI, on the other hand, is well known for pyridinones.^{1,2} The elemental compositions of the ions at *m/z* 146, 121 and 136, confirmed by high-resolution measurements (Table 3), revealed that the actual lost neutral was ethylene in all three cases.

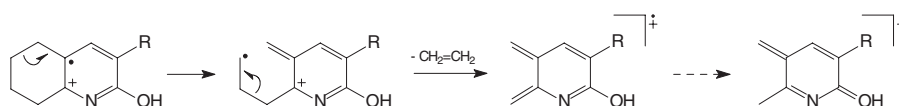
The EI spectra of 5, 6 and 8 also contained ions at *m/z* 118, 93 and 108, respectively, attributed to loss of ethylene followed by loss of carbon monoxide (Scheme 2). Other common fragmentations of the [M]⁺ ions of these compounds involved loss of an allylic hydrogen relative to carbon-5 of the pyridinone ring, leading to the [M-H]⁺ ions (Scheme 4), similar to the formation of [M-CH₃]⁺ ions in the case of 5-ethyl-6-methyl-disubstituted compounds (cf. Scheme 1).

Comparison of the fragmentation pattern of 5-ethyl-6-methylpyridin-2(1*H*)-ones 1–4 with those of the three compounds discussed above with a six-membered ring attached to the pyridin-2(1*H*)-one ring at positions 5 and 6 (5, 6, 8) (Schemes 1 and 2) shows that very similar ions were afforded in both cases. The only major difference was that in one case the fragments were cations and in the other were radical cations (Scheme 5).

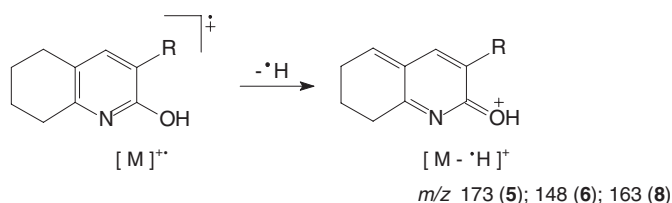
In the case of compounds with a five-membered ring attached to the pyridin-2(1*H*)-one ring at positions 5



Scheme 2. Major fragmentations of compounds with a six-membered ring attached to the pyridin-2(1*H*)-one ring at positions 5 and 6 (**5**, **6**, **8**).



Scheme 3. Retro-Diels-Alder process in **5**, **6** and **8**.



Scheme 4. Proposed structure of $[M-H]^+$ ions of **5**, **6** and **8**.

and **6**, the major fragmentation reaction of the three compounds **9**, **10**, **12** was the loss of a hydrogen atom. In fact, the $[M-H]^+$ ion was the base peak of 3-cyano-6,7-dihydro-5*H*-cyclopenta[*b*]pyridin-2(1*H*)-one (**9**). The second major cleavage led to the formation of the $[M-H-CO]^+$ ion (Scheme 6).

The $[M-H]^+$ ion in Scheme 6 is similar to the $[M-CH_3]^+$ cation of Scheme 1 and $[M-H]^+$ of Scheme 4. The $[M-H]^+$ ion has also been observed in the spectra of 3-cyano-6-methylpyridin-2(1*H*)-one and 3-cyano-4,6-dimethylpyridin-2(1*H*)-one, but with much lower relative abundance (9.5 and 2.3%, respectively).⁴ This cleavage has been tentatively assigned

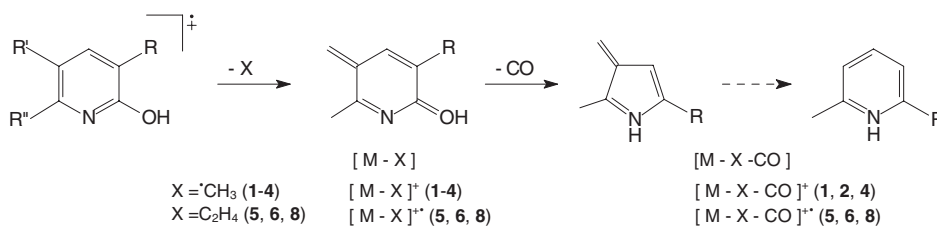
to the loss of the hydrogen atom attached to the nitrogen of the pyridinone ring; however, it was not considered in this earlier publication⁴ that the lactim form is the tautomeric form preferred in the gas phase. On the other hand, the $[M-H-CO]^+$ ion in Scheme 6 is similar to the $[M-CH_3-CO]^+$ ion of **1**, **2** and **4**, and also similar to the $[M-C_2H_4-CO]^+$ ion of **5**, **6** and **8** (cf. Scheme 5). However, the $[M-H-CO]^+$ ion cannot undergo rearrangements because of the hydrocarbon ring.

For the two nitropyridin-2(1*H*)-ones, **7** and **11**, the major fragmentation led to the formation of the ions at m/z 136 and 122, respectively. The loss of a NO_2 molecule (a stable radical) was also

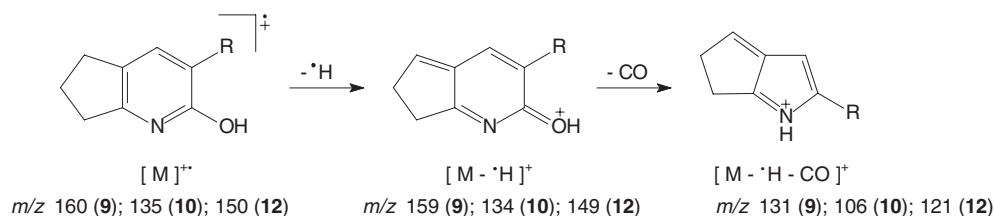
observed but with much lower abundance. A mechanistic pathway for these fragmentations is proposed in Scheme 7, based on the well-known mechanism for the cleavage of aromatic nitro compounds in EI.¹⁴

In the spectra of 3-nitro-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-2(1*H*)-one (**7**) the $[M-C_2H_4]^+$ ion was also observed in accord with its substitution pattern at carbons 5 and 6. However, the relative abundance of this ion was much less than those observed for its structurally related compounds **5**, **6** and **8**.

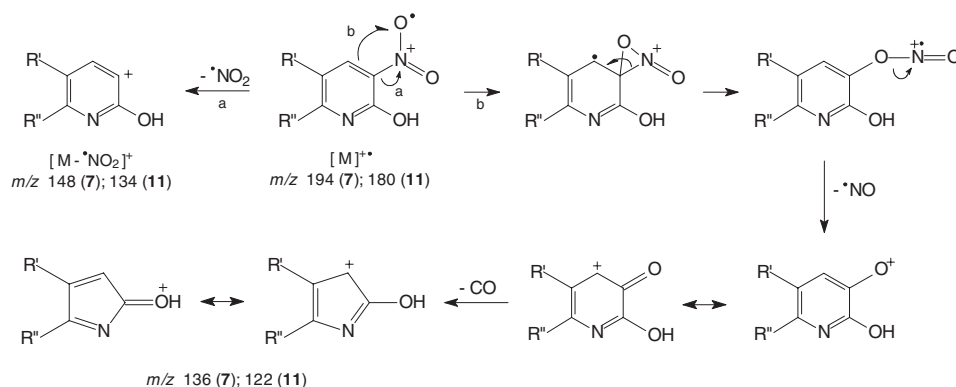
The nitro group in the spectra of 5-ethyl-6-methyl-3-nitropyridin-2(1*H*)-one (**3**) was difficult to detect, most probably because of the large abundance of the $[M-CH_3]^+$ ion (Scheme 1). The second most important cleavage for **3** afforded a cation at m/z 93; a hypothesis that explains this fragment formation is depicted in Scheme 8 and involves the loss of a radical from an even-electron cation. Although such processes are not common, similar fragmentations have been observed.¹⁵



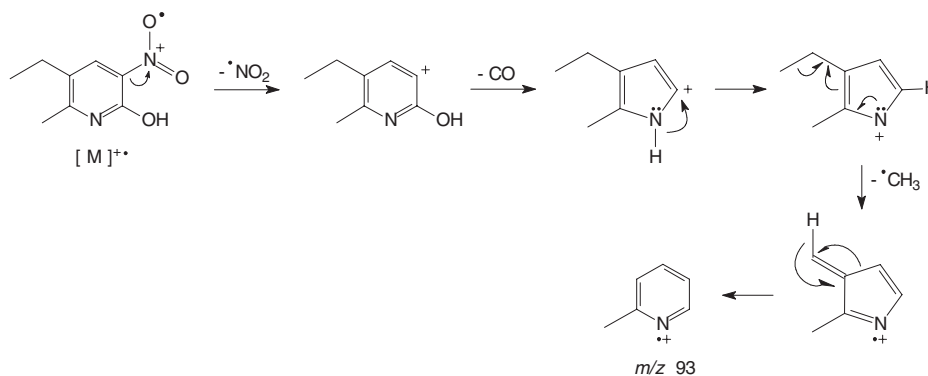
Scheme 5. Proposed structures of similar fragments afforded in the cleavage of 5-ethyl-6-methylpyridin-2(1*H*)-ones (**1**, **2**, **4**) and of three compounds with a six-membered ring attached to the pyridin-2(1*H*)-one ring at positions 5 and 6 (**5**, **6**, **8**).



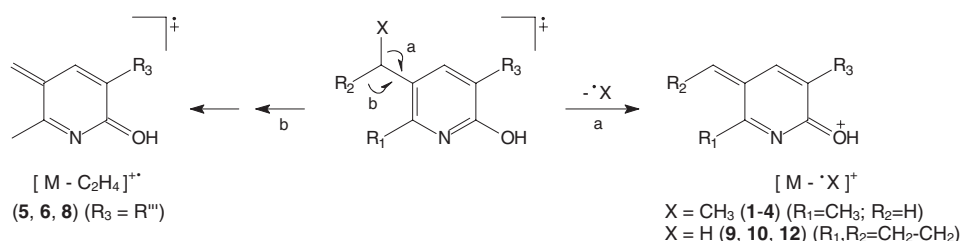
Scheme 6. Major fragmentations of compounds with a five-membered ring attached to the pyridin-2(1*H*)-one ring at positions 5 and 6 (9, 10, 12).



Scheme 7. Mechanistic pathway proposed for the major fragmentations of 3-nitro-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-2(1*H*)-one (7) and 3-nitro-6,7-dihydro-5*H*-cyclopenta[*b*]pyridin-2(1*H*)-one (11).



Scheme 8. Mechanistic pathway proposed for the ion formation at m/z 93 for 5-ethyl-6-mehtyl-3-nitropyridin-2(1*H*)-one (3).



Scheme 9. Mechanistic pathway proposed for the major fragmentation of most 5,6-dialkylpyridin-2(1*H*)-ones studied. The fragment $M-X$ with $X = H$ was also observed in the spectra of 5, 6 and 8. However, it was not so relevant in the three cases because of the large abundance of the $[M - C_2H_4]^{\bullet+}$ ion.

In fact, it is known¹ that the cation analogous to the proposed $[M - NO_2 - CO]^{\bullet+}$ fragment ion of Scheme 8 is not stable. This could promote an immediate cleavage of a methyl radical

to afford a more stable radical cation equivalent to the radical cation of the 2-methylpyridine.

In conclusion, the major fragmentation reaction proposed for most 5,6-

dialkylpyridin-2(1*H*)-ones studied was the homolytic cleavage of an allylic atom to carbon 5 of the heterocycle ring (Scheme 9). This cleavage (a) afforded the $[M - CH_3]^{\bullet+}$ ion, which was the most

abundant in the EI spectra of 5-ethyl-6-methyl-disubstituted compounds; (b) played a decisive role in the $[M-C_2H_4]^+$ ion formation that was, following the molecular ion, the most abundant peak in the EI spectra of three out of the four analogous compounds with a six-membered ring attached to the heterocycle; and (c) afforded the $[M-H]^+$ ion that is a very abundant peak in the EI spectra of three of the four analogous compounds with a five-membered ring attached to the pyridinone.

In most cases, the substituent at position 3 did not modify the general fragmentation pattern. In just two 5,6-dialkyl-3-nitropyridin-2(1H)-ones (7, 11) the most important cleavage was directed by the nitro group. The suggested mechanisms proposed above can be conveniently confirmed by MSⁿ studies, but unfortunately we did not have access to suitable instrumentation.

Acknowledgements

This work was taken in part from the M.Sc. thesis of Jose Luis Medina-Franco, whose studies were supported by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología and the

Dirección General de Estudios de Posgrado, UNAM. The authors are very grateful to Dr. Rene Miranda for his comments.

José Luis Medina-Franco¹, Cecilia Juárez-Gordiano¹, Alicia Hernández-Campos¹, Georgina Duarte-Lisci², Margarita Guzmán² and Rafael Castillo^{1*}

¹Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, C. U. México D. F. 04510

²Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, C. U. México D. F. 04510

*Correspondence to: R. Castillo, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, C. U. México D. F. 04510.

E-mail: rafaelc@servidor.unam.mx

REFERENCES

- Budzikiewicz H, Djerassi C, Williams DH. *Mass Spectrometry of Organic Compounds*. Holden-Day: San Francisco, 1967; 359, 597.
- Porter QN. *Mass Spectrometry of Heterocyclic Compounds*. John Wiley: New York, 1985; 603.
- Duffield AM, Djerassi C. *Acta Chem. Scand.* 1966; **20**: 361.
- Kaiser EM. *J. Heterocycl. Chem.* 1968; **5**: 571.
- Medina-Franco JL. MSc thesis dissertation. Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 2002.
- Juárez-Gordiano C. MSc thesis dissertation. Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 1997.
- Boulton AJ, Mc Killop A. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, vol. 2, Boulton AJ, Mc Killop A (eds). Pergamon Press: Oxford, 1984; 23.
- Penfold BR. *Acta Crystallogr.* 1953; **6**: 591.
- Wang J, Gilson DFR. *J. Mol. Struct.* 1994; **324**: 83.
- Grønneberg T, Undheim K. *Org. Mass Spectrom.* 1972; **6**: 823.
- Paine JB. *J. Heterocycl. Chem.* 1987; **24**: 351.
- Lawrence R, Waight ES. *J. Chem. Soc. B* 1968; 1.
- Wulfson NS, Zaikin VG, Ziyavidinova ZS, Burikov VM, Mukerjee SK. *Org. Mass Spectrom.* 1971; **5**: 743.
- Beynon JH, Saunders RA, Williams AE. *The Mass Spectra of Organic Molecules*. Elsevier: Amsterdam, 1968; 322.
- Karni M, Mandelbaum A. *Org. Mass Spectrom.* 1980; **15**: 53.

Received 30 March 2005

Revised 17 June 2005

Accepted 17 June 2005

DOI: 10.1002/cmdc.200700054

Pyridin-2(1*H*)-ones: A Promising Class of HIV-1 Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors

José Luis Medina-Franco,^{*,[a]} Karina Martínez-Mayorga,^[c] Cecilia Juárez-Gordiano,^[b] and Rafael Castillo^{*,[b]}

Introduction

The acquired immune deficiency syndrome (AIDS) continues to be a major health problem worldwide with approximately 40 million people infected with the human immunodeficiency virus (HIV).^[1] A vast amount of research has led to the identification of several molecular targets for the treatment of HIV infections.^[2] Current approved drugs are targeted to the retroviral enzymes reverse transcriptase (RT) and protease, and there is one fusion inhibitor.^[3] Treatment of AIDS involves a combination of three or more drugs in a regimen called highly active antiretroviral treatment (HAART), typically including RT and protease inhibitors. Despite the fact that HAART has significantly improved the levels of patient mortality, there are several problems to solve, with the emergence of clinical resistance a major challenge.^[3]

The enzyme RT is responsible for the conversion of single-stranded RNA viral genome into a double-stranded DNA copy. RT inhibitors are classified as nucleoside and non-nucleoside, depending on their mechanism of action. Nucleoside inhibitors bind and inhibit the active site through chain termination of DNA synthesis whereas the non-nucleoside binds to a hydrophobic nonactive site pocket, about 10 Å away from the catalytic site (Figure 1). Non-nucleoside RT inhibitors (NNRTIs) are very attractive as anti-HIV agents because of their high selectivity, relatively low toxicity, and activity in the nanomolar range.^[3] Three NNRTIs have been approved for clinical use namely, nevirapine (VIRAMUNE), delavirdine (RESCRIPTOR), and efavirenz (SUSTIVA, STOCRIN) approved in 1996, 1997, and 1998, respectively (Figure 2).^[2,3] However, all these induce drug resistant variants of HIV-1. Examples of common mutations in the binding site of NNRTIs that confer resistance are Y181C, Y188C, K103N, and L100 A. Significant progress has been made in the search for the next generation of NNRTIs able to overcome resistance mutations, which are a major challenge in the design of new NNRTIs. Examples of such efforts is the development of TMC-125 (etravirine) (Figure 2) and the structurally related TMC-278 (rilpivirine) that are currently in phase III and phase II clinical trials, respectively.^[4,5] A second example is the potent RT inhibitor UC781 (Figure 2) active against several mutant strains. This molecule is being developed as a microbicide to prevent HIV-1 transmission.^[4] In addition to approved drugs and compounds in clinical studies, there are several other molecules, covering more than 50 different structural classes, that have been identified as NNRTIs.^[6] The reader is re-

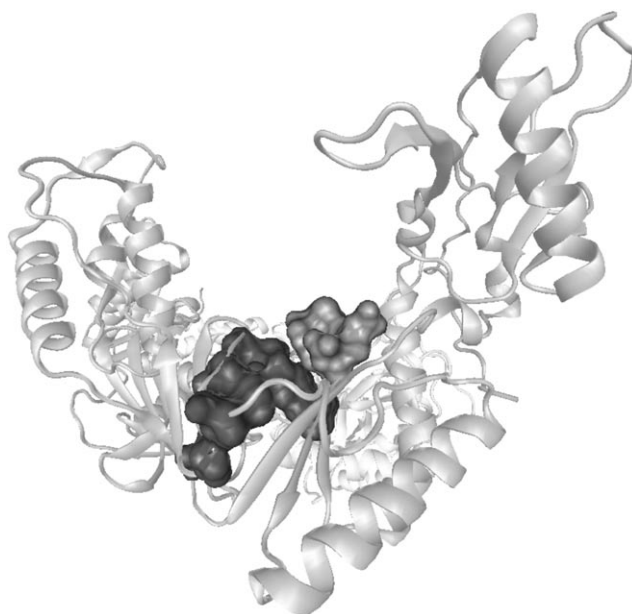


Figure 1. Structure of HIV-1 reverse transcriptase. Residues of the active site are represented as a light gray surface and residues of the NNRTIs binding site as a dark gray surface.

ferred to recent excellent reviews regarding NNRTIs in Ref. [4–7] and references therein.

Pyridin-2(1*H*)-ones, a class of NNRTIs, were discovered in a screening program at Merck and the first potent analogues advanced into clinical trials. Despite the development of Merck pyridinones being suspended because of the emergence of resistance, the pyridin-2(1*H*)-one ring remained a promising core

[a] Dr. J. L. Medina-Franco
 BIOS Institute
 University of Arizona, Tucson, AZ 85721 (USA)
 Fax: (+1) 520-626-2466
 E-mail: medina@pharmacy.arizona.edu

[b] C. Juárez-Gordiano, Prof. R. Castillo
 Department of Pharmacy
 Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510 (Mexico)
 Fax: (+52) 55-56-22-5287
 E-mail: rafaalc@servidor.unam.mx

[c] Dr. K. Martínez-Mayorga
 Department of Chemistry
 University of Arizona, Tucson, AZ 85721 (USA)

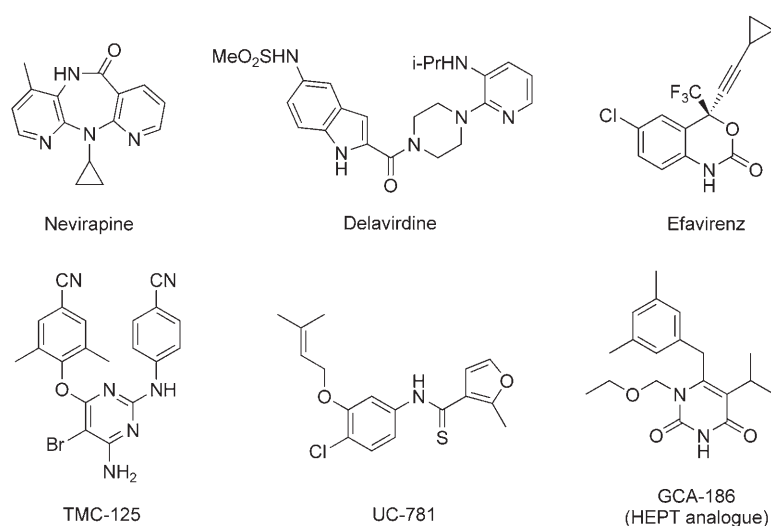


Figure 2. Approved and other potent NNRTIs.

for further synthetic programs that have culminated in the development of potent inhibitors against resistant strains. Computational structure-based design has also played an important role in the optimization of these analogues. This review focuses on the progress in the research of pyridin-2(1*H*)-ones as NNRTIs. The first part describes the discovery and subsequent synthetic efforts to overcome resistance of Merck pyridinones. Table 1 summarizes representative pyridin-2(1*H*)-ones dis-

cussed throughout the paper. The second section presents the studies directed to elucidate the binding mode with RT. The third section shows the structure-based design of pyridinone analogues based on docking results and other computational studies.

Discovery and Development

Dawn of pyridin-2(1*H*)-ones as NNRTIs: Merck pyridinones

Pyridin-2(1*H*)-one derivatives were identified as NNRTIs in an enzyme-based screening program conducted by Merck. In 1991 compound L-345,516 (**1**) was the first potent and selective HIV-1 RT inhibitor described of this class. However, this molecule was hydrolytically unstable.^[8] Subsequent synthetic efforts focused on the development of more stable analogues and the phthalimide ring of L-345,516 was replaced by several other heterocyclic groups.^[9,10] In

general, these molecules were obtained by the condensation of the appropriate pyridin-2(1*H*)-one ring with the corresponding heterocycle. The nature and size of the linker between the pyridinone ring and the second heterocyclic moiety were also modified. A significant amount of structure-activity relationship (SAR) studies^[10-12] lead to the development of L-697,661 (**2**), L-697,639 (**3**), and L-696,229 (**4**). Noteworthy, the three molecules have a benzoxazole group attached by a two atom

Table 1. Representative non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of the pyridin-2(1*H*)-one class.

Type (subtype)	Chemical Structure	Ref.
Merck pyridinone (phthalidimide)	 1 L-345,516	[8]
Merck pyridinone (benzoxazole)	 2 L-697,661 3 L-697,639 4 L-696,229	[8, 9]
Pyridinone-efavirenz hybrid	 5	[19]
Pyridinone-HEPT hybrid (4-arylthiopyridin-2(1 <i>H</i>)-one)	 6 7	[20]

Type (subtype)	Chemical Structure	Ref.
Pyridinone-HEPT hybrid (4-benzylpyridin-2(1H)-one)	<p>8 9 10 R157208</p>	[22–24]
Pyridinone-HEPT hybrid (4-benzoylpyridin-2(1H)-one)	<p>11 12 13</p>	[22–24]
Pyridinone-HEPT hybrid (4-aryloxyphenylpyridin-2(1H)-one)	<p>14 R165481 15 R221239</p>	[25, 26]
Pyridinone-UC781 hybrid ^[a]	<p>16</p>	[32]

[a] Type derived from docking studies with promising inhibitory activity against mutant strains. An example molecule is shown (see text for details).

linker to the pyridin-2(1H)-one ring at position 3 and are potent at nanomolar concentrations.^[8,11] SAR studies emphasized the importance of the linker size and the 5-ethyl, 6-methyl substituents on the pyridin-2(1H)-one ring.^[11,12] Also, the dichloro or dimethyl substitution of the benzoxazole ring of L-697,661 and L-697,639 plays a critical role in the activity of these analogues.^[10,11]

L-697,661 was a subject of clinical studies showing good activity in patients. However, rapid resistant strains of the virus emerged.^[13,14] The main mutations identified as responsible for the emergence of resistance were the residues at positions 103 and 181 not only for L-697,661 but also for other pyridinones such as L-697,639 and L-696,229.^[13,15–18] From kinetic studies and analysis of resistance mutations it was concluded that this type of inhibitor should bind in the same pocket as other NNRTIs.^[8,15,17]

Pyridinone-efavirenz hybrids

To optimize Merck pyridinones against resistant strains, a series of 3-alkoxymethyl and 3-aryloxymethyl-2-pyridin-2(1H)-ones

were synthesized.^[19] Prepared molecules incorporate structural features such as a trifluoromethyl and cyclopropyl alkynyl groups that improved the resistance profiles of efavirenz (Figure 2) and other related analogues. In this series of pyridinone-efavirenz hybrids, compound 5 showed an interesting inhibitory profile against mutant strains including the increased activity over the Merck pyridinone L-697,661 against the mutant K103N. However, 5 and other 3-alkoxymethyl and 3-aryloxymethyl-2-pyridin-2(1H)-ones did not outperform the inhibitory profile of efavirenz.^[19]

Pyridinone-HEPT hybrids

Considering the partial structure similarity of Merck pyridinones and 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) derivatives such as GCA-186 (Figure 2), a very extensive synthetic program was initiated leading to the development of a series of potent pyridinone-HEPT hybrids. Subtypes of these hybrids include 4-arylthiopyridin-2(1H)-ones,^[20,21] 4-benzylpyridin-2(1H)-ones,^[22–24] 4-aryloxyphenylpyridin-2(1H)-ones,^[25,26] and 4-benzoylpyridin-2(1H)-ones.^[23,24] 4-Benzylpyridin-2(1H)-ones

were further coupled with the nucleoside RT inhibitor azidothymidine (AZT) to test a hypothesis of "mixture site" inhibitors. However, the pyridinone–AZT conjugates were inactive.^[27] A common structural feature of the pyridinone–HEPT hybrids is the substitution at position 4 of the pyridinone ring by a one-atom linker to a phenyl ring. Several potent pyridinone–HEPT molecules contain a dimethylamine or iodo group at position 3 of the pyridin-2(1*H*)-one ring. During the development of these analogues, the presence of the dimethylamine group was inspired by the structural similarity to the isopropyl group at the corresponding position of GCA-186.^[24,28] Interestingly, during the optimization steps of several molecules in this series it was observed that the 3',5'-dimethyl groups at the phenyl ring (for example, **6**, **7**, **8**, **13**, **15**) led to an enhanced inhibitory activity such is the case for the same substitution pattern at the phenyl ring of GCA-186 (Figure 2).^[24,28] Similar to the Merck pyridinones, several leads in the pyridinone–HEPT hybrids series contain the 5-ethyl, 6-methyl substituents on the pyridin-2(1*H*)-one ring that seem to be the optimum in several pyridinone derivatives. Notable exceptions are R221239 (**15**), that has a furfuryl methyl thioether group at position 5, and **13** that has a hydroxymethyl group at position 6.

Biological studies revealed that the pyridinone–HEPT hybrids are NNRTIs.^[20,22] The crystal structures for HIV-1 RT in complex with R157208, R165481, and R221239 have been published recently showing that these molecules actually bind into the NNRTIs binding site (vide infra).^[26]

A very attractive feature of the pyridinone–HEPT hybrids is that recently developed 4-benzoylpyridin-2(1*H*)-ones such as **11**, **12**, and **13** show activity against a large panel of clinically relevant HIV-1 mutant strains and seem to display a more attractive inhibitory profile than efavirenz.^[23,24] Furthermore, the 4-aryloxy pyridin-2(1*H*)-ones R165481 (**14**) and R221239 (**15**) show activity against mutant strains K103N and Y181C and the double mutant K103N + Y181C at nanomolar concentrations.^[26]

Binding Mode into the NNRTIs Binding Pocket

Automated docking and 3D-QSAR of Merck pyridinones

As mentioned earlier, biological experiments showed that L-697,661, L-697,639, L-696,229, and other related Merck pyridinones should bind in the NNRTIs pocket. Several two-dimensional quantitative structure–activity relationship analyses (2D-QSAR) have been performed for this subtype of pyridinone analogue,^[9,11,12,29] suggesting a hydrophobic character of their binding site.^[30,31] However, no crystal structures of HIV-1 RT in complex with Merck pyridinones are available.

Before the crystal structures of HIV-1 RT in complex with pyridinone–HEPT hybrids were published (vide infra) an automated docking study of potent Merck pyridinones including L-697,661, L-697,639, and L-696,229 with the NNRTIs binding site was conducted.^[32] Docking results showed a good agreement with previous 2D-QSAR studies. According to the binding model, pyridinone analogues adopt a butterfly-like conformation in the binding pocket, a common feature of several

NNRTIs,^[6] and have a similar binding mode to other NNRTIs such as nevirapine (Figure 3).^[32] The docking model suggested a key interaction that helps the stabilization of the pyridin-

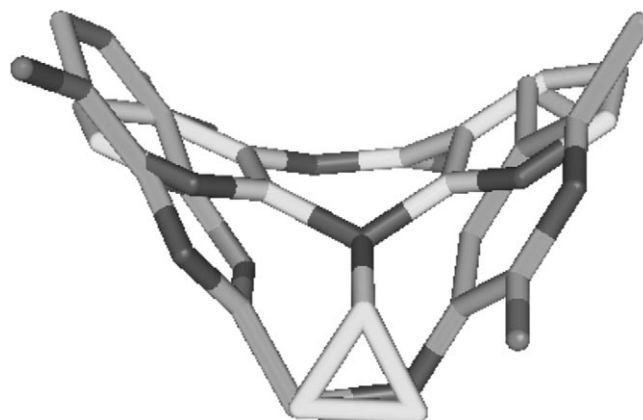


Figure 3. Binding mode model of L-697,661 (carbons in dark gray) compared to the binding mode of nevirapine (carbons in light gray) found in the crystal structure. Figure created with the program Pymol.^[33a]

2(1*H*)-one ring into the NNRTI pocket, namely hydrogen bonding of the nitrogen at the pyridinone ring with the main chain oxygen of K101. From the binding model it was also concluded that hydrophobic contacts between the aromatic ring of Y181 and the benzoxazole ring of the potent Merck pyridinones may stabilize the complex and also be responsible for the decrease in activity upon mutation of this residue.^[32]

Automated docking studies were extended to a series of 40 Merck pyridinones. Docked conformations were the starting point of three-dimensional quantitative structure–activity relationship analyses (3D-QSAR).^[34] Docking results further support the binding model developed for L-697,661 and other potent inhibitors including the calculated hydrogen bonding of the nitrogen at the pyridinone ring with the main chain oxygen of K101. 3D-QSAR models also suggested that the proposed interaction between Y181 and the benzoxazole ring of the potent pyridinone derivatives may stabilize the complex.

Pyridinone–efavirenz and –HEPT hybrids: modelling studies and crystal structures

To aid in the understanding at the molecular level of the biological activity of pyridinone–efavirenz and pyridinone–HEPT hybrids, molecules **5** and **8** were docked into the NNRTIs binding pocket using an automated procedure with the program AutoDock 3.0.^[32] Noteworthy, the binding model for **8** was proposed before the crystal structures of HIV-1 RT in complex with other pyridinone–HEPT hybrids were published (vide infra). Docking results showed that both hybrids adopt a butterfly-like conformation into the binding pocket. It was concluded that the cyclopropylpropynyl group of **5** and the benzyl group of **8** occupy the arene pocket formed by Y181, Y188, W229, and F227 making contacts with the conserved residue W229 (Figure 4). It was also predicted that the *N*-dimethyl substituent of **8** occupies the same binding pocket as the linker of Merck pyridinones.^[32]

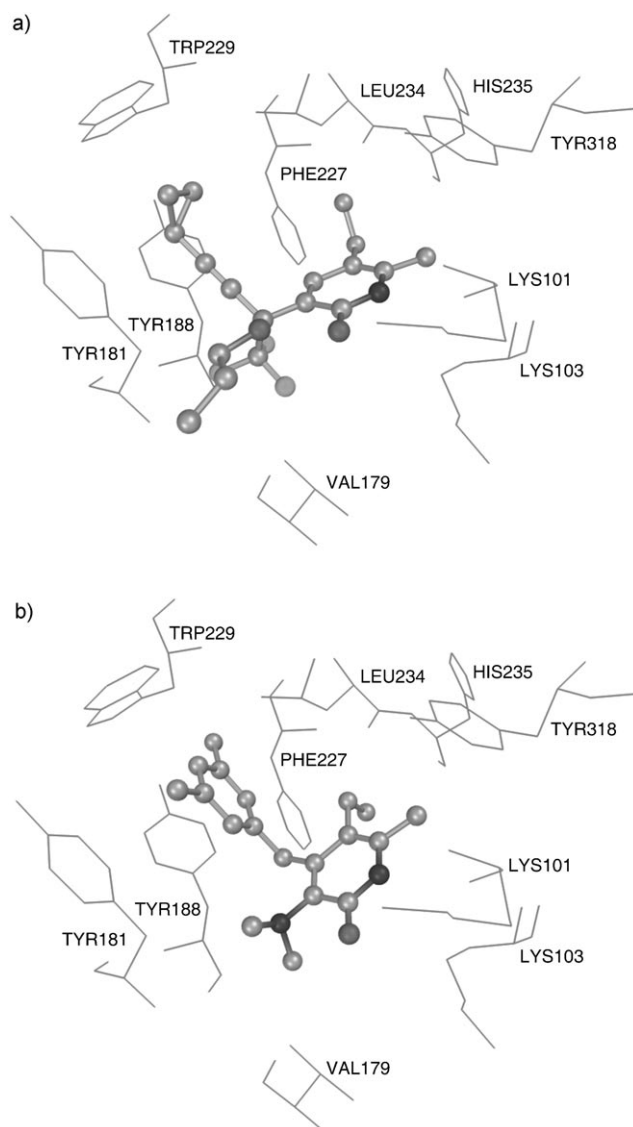


Figure 4. Binding mode proposed for a) pyridinone-efavirenz hybrid **5** and b) pyridinone-HEPT hybrid **8** into the NNRTIs binding pocket.^[32] Figure created with the program AutoDockTools.^[33b]

In a recent work, compounds **8** and R157208 (**10**) were manually docked into the NNRTIs binding pocket and the derived models were geometrically optimized.^[24] Results suggested that both molecules bind in the same general orientation as that previously calculated for **8**.^[32] Notably, the benzyl group occupies the pocket formed by Y181, Y188, W229, and F227, and the NH-group of the pyridinone ring forms a hydrogen bond with the carbonyl oxygen of K101.^[26] Analysis of the X-ray crystal structure of the R157208-RT complex confirmed the proposed binding orientation.^[26] Further computational studies involved the modelling of **13** into the NNRTIs binding site helping to explain, at the molecular level, the activity of this molecule against different mutant strains, in particular the K103N mutant. Key molecular interactions, in addition to the hydrogen bonding between the pyridinone ring and K101, are the hydrogen bond between the hydroxyl group of **13** with the backbone carbonyl of P236 and the hydrophobic interac-

tions made by the dimethylphenyl group with residues Y181 and W229.^[24]

Three crystal structures of HIV-1 RT in complex with pyridin-2(1*H*)-one analogues are currently available (Table 2). The three ligands are pyridinone-HEPT hybrids namely R157208,

Table 2. Crystal structures of pyridin-2(1*H*)-one analogues in complex with HIV-1 RT.^[26]

Pyridinone	PDB Code	Resolution Å
R157208	2BAV	2.95
R165481	2B5J	2.90
R221239	2BE2	2.43

R165481, and R221239. The structures show that these molecules adopt a butterfly-like conformation into the binding pocket and the NH-group of the pyridinone ring forms a hydrogen bond with the carbonyl oxygen of K101. As mentioned above, the binding orientation observed in the crystal structures is the same proposed previously in the docking study of the pyridinone-HEPT hybrid **8**^[32] (Figure 5). A distinctive fea-

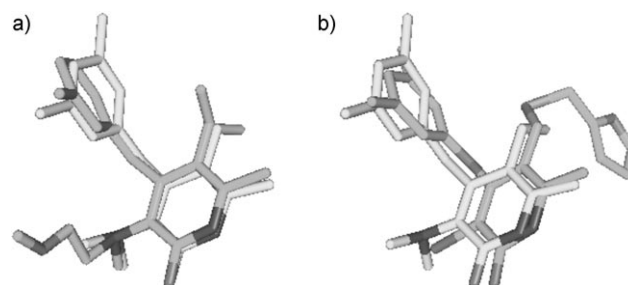


Figure 5. Binding conformation of **8** (carbons in light gray) calculated by automated docking compared to the binding conformation of a) R157208 and b) R221239 found in the crystal structures. Figure created with the program Pymol.^[33a]

ture of R165481-RT and R221239-RT complexes is that Y181 does not make significant contacts with these molecules, helping to explain the activity against the Y181C mutation at nanomolar concentrations. In addition, favourable interactions between the iodine atom at position 3 of the pyridin-2(1*H*)-one ring and RT seem to be critical to the activity of these molecules against the native form and several mutant strains.^[26] Moreover, the crystal structures reveal the importance of the furfuryl methyl thioether group of R221239 that makes interactions with K103, V106, F227, L234, and P236; and the acrylonitrile substitution of R165481 that makes extensive contacts with V108, Y188, F227, L228, and W229.^[26]

Computer-aided Design of NNRTIs Based on Pyridin-2(1*H*)-one Analogues

QSAR-based database mining

A 2D-QSAR study using the *k* nearest neighbour QSAR approach was conducted for more than 40 Merck pyridinones.^[35]

Best QSAR models were used to search the National Cancer Institute database^[36] for novel putative NNRTIs leads. Predicted promising leads include pyrazolo[3,4-d]pyrimidines.^[37] Docking analysis of the predicted molecules into the NNRTIs binding pocket further support the hypothesis that these types of molecules could be attractive NNRTIs.^[35] Additional QSAR models have been reported recently to predict successfully the activity of Merck pyridinones.^[38]

Structure-based design of novel pyridin-2(1H)-ones

Docking and 3D-QSAR studies of L-697,661 and related Merck pyridinones served as the basis to perform a structure-based design of novel pyridin-2(1H)-ones as promising NNRTIs active against mutant strains.^[32] An example of a designed molecule is the pyridinone–UC781 hybrid **16** (Figure 6) where the ben-

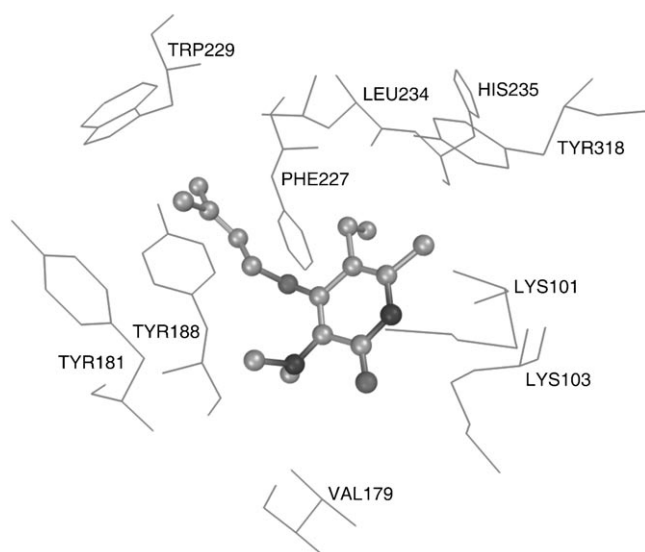


Figure 6. Binding mode calculated for **16** into the NNRTI binding pocket. Figure created with the program AutoDockTools.^[33b]

zoxazol ring of the potent Merck pyridinones is replaced by a nonaromatic moiety, such as a (3-methylbut-2-enyl)oxy group, that does not make strong interactions with Y181. The reduction of binding dependence on interactions with Y181 has been shown to favour activity against the mutant Y181C.^[39,40] Automated docking of **16** and other molecules with the structure of RT shows that the pyridinone–UC781 hybrids adopt the expected binding mode within the NNRTIs including a butterfly-like conformation and the hydrogen-bond formation between the nitrogen at the pyridinone ring with the oxygen of K101. In addition, the (3-methylbut-2-enyl)oxy group could make hydrophobic contacts with the conserved residue W229. Noteworthy, the design principles of the pyridinone–UC781 hybrids are in agreement with the general design considerations of NNRTIs pointed out recently, namely placement of an unsaturated group in the arene pocket formed by Y181, Y188, W229, and F227; a hydrogen bond interaction with the main chain oxygen of K101; small size of the inhibitor; and some

degree of flexibility to allow the inhibitor to adjust to the mutations.^[41] In fact, the molecular flexibility of TMC-125 (Figure 2) is considered to play an important role in the activity of this molecule against mutant strains.^[40] Experimental development of pyridin–UC781 hybrids is in progress.

Conclusions

Since the first pyridinones were reported by Merck as potent NNRTIs, the pyridin-2(1H)-one ring has been of interest for the development of NNRTIs. Early pyridin-2(1H)-one analogues containing a benzoxazole ring advanced into clinical studies. Despite their discontinued development because of the generation of resistance, extensive SAR data collected through enormous synthetic efforts lead to the development of pyridione–efavirenz and pyridinone–HEPT hybrids with promising activity profiles against resistant mutant strains. A notable example is compound R221239 that shows activity against mutant strains at nanomolar concentrations. Pyridin-2(1H)-one analogues have been the subject of intensive computational studies in our group including automated docking, QSAR studies, and database mining. In silico approaches have led to the design of potentially active molecules such as the pyridinone–UC781 hybrids. Docking models of several pyridinones including L-697,661, **5**, and **8**, and three currently available crystal structures of pyridinone–HEPT hybrids within the NNRTIs binding site, reveal the formation of a hydrogen bonding of the nitrogen at the pyridinone ring with the main chain oxygen of K101. The crystal structures of pyridinone–HEPT hybrids are in agreement with the previous insights of the binding mode proposed for **8** and provide valuable avenues for the future development of novel pyridin-2(1H)-ones as promising candidates for the treatment of AIDS.

Acknowledgements

The authors are grateful to Fabian López for his support and the reviewers for their valuable comments. The authors also wish to thank CONACyT for financing project G-34851.

Keywords: AIDS · biologically active compounds · computer-aided drug design · docking · structure–activity relationships

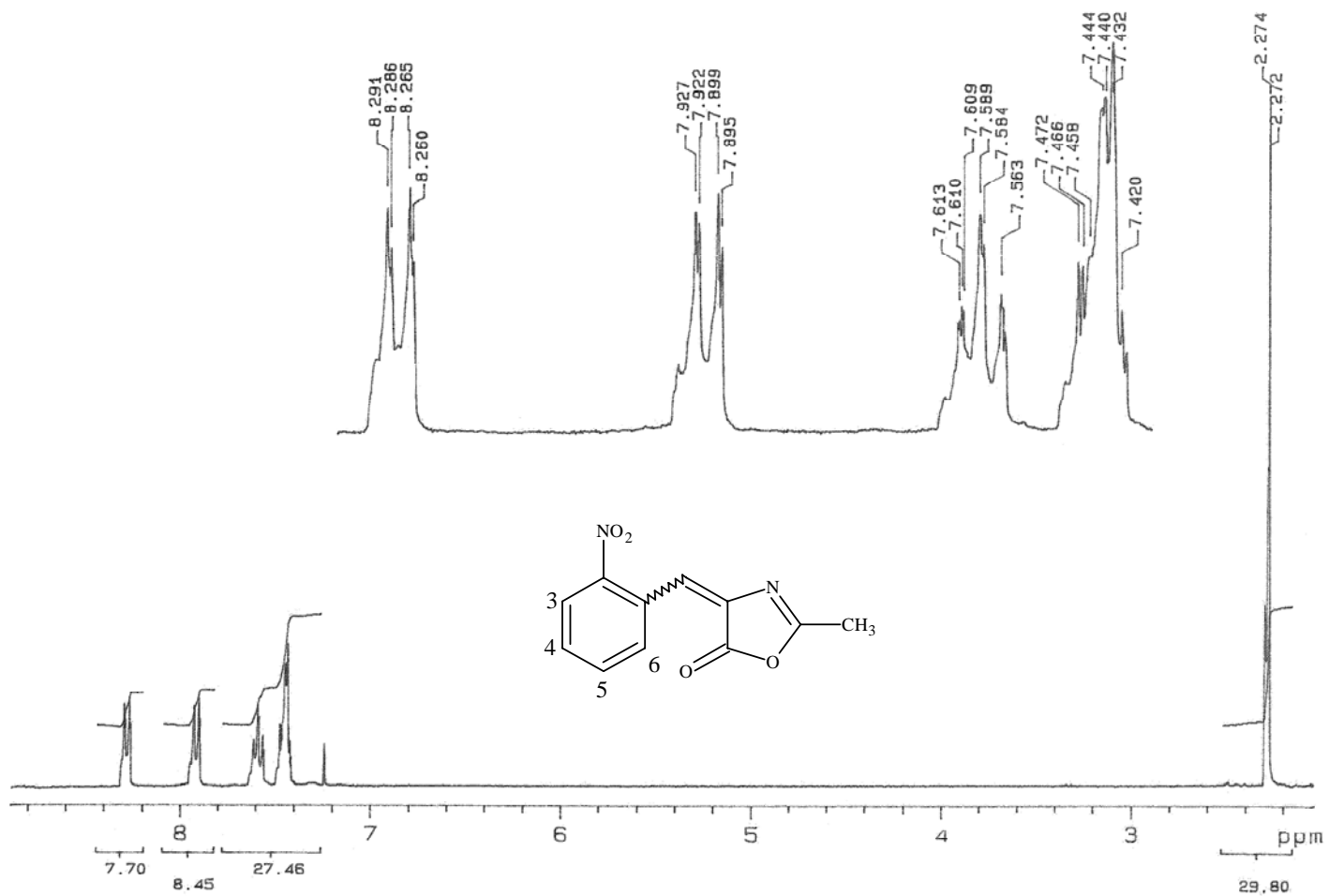
- [1] AIDS Epidemic Update: December 2005. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS and World Health Organization 2005.
- [2] E. De Clercq, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1297–1313.
- [3] D. C. Meadows, J. Gervay-Hague, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 16–29.
- [4] A. Basavapathruni, K. S. Anderson, *Curr. Pharm. Des.* **2006**, *12*, 1857–1865, and references therein.
- [5] L. R. Boone, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2006**, *7*, 128–135, and references therein.
- [6] J. Balzarini, *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4*, 921–944.
- [7] R. Pauwels, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2004**, *4*, 437–446.
- [8] M. E. Goldman, J. H. Nunberg, J. A. O'Brien, J. C. Quintero, W. A. Schleif, K. F. Freund, S. L. Gaul, W. S. Saari, J. S. Wai, J. M. Hoffman, P. S. Anderson, D. J. Hupe, E. A. Emini, A. M. Stern, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 6863–6867.
- [9] W. S. Saari, J. M. Hoffman, J. S. Wai, T. E. Fisher, C. S. Rooney, A. M. Smith, C. M. Thomas, M. E. Goldman, J. A. O'Brien, J. H. Nunberg, J. C. Quintero,

- W. A. Schleif, E. A. Emini, A. M. Stern, P. S. Anderson, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2922–2925.
- [10] W. S. Saari, J. S. Wai, T. E. Fisher, C. M. Thomas, J. M. Hoffman, C. S. Rooney, A. M. Smith, J. H. Jones, D. L. Bamberger, M. E. Goldman, J. A. O'Brien, J. H. Nunberg, J. C. Quintero, W. A. Schleif, E. A. Emini, P. S. Anderson, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3792–3802.
- [11] J. M. Hoffman, A. M. Smith, C. S. Rooney, T. E. Fisher, J. S. Wai, C. M. Thomas, D. L. Bamberger, J. L. Barnes, T. M. Williams, J. H. Jones, B. D. Olson, J. A. O'Brien, M. E. Goldman, J. H. Nunberg, J. C. Quintero, W. A. Schleif, E. A. Emini, P. S. Anderson, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 953–966.
- [12] J. M. Hoffman, J. S. Wai, C. M. Thomas, R. B. Levin, J. A. O'Brien, M. E. Goldman, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3784–3791.
- [13] R. T. Davey, Jr, R. L. Dewar, G. F. Reed, M. B. Vasudevachari, M. A. Polis, J. A. Kovacs, J. Falloon, R. E. Walker, H. Masur, S. E. Haneiwich, D. G. O'Neill, M. R. Decker, J. A. Metcalf, M. A. Deloria, O. L. Laskin, N. Salzman, H. C. Lane, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 5608–5612.
- [14] M. S. Saag, E. A. Emini, O. L. Laskin, J. Douglas, W. I. Lapidus, W. A. Schleif, R. J. Whitley, C. Hildebrand, V. W. Byrnes, J. C. Kappes, K. W. Anderson, F. E. Massari, G. M. Shaw, *N. Engl. J. Med.* **1993**, *329*, 1065–1072.
- [15] J. H. Nunberg, W. A. Schleif, E. J. Boots, J. A. O'Brien, J. C. Quintero, J. M. Hoffman, E. A. Emini, M. E. Goldman, *J. Virol.* **1991**, *65*, 4887–4892.
- [16] V. V. Sardana, E. A. Emini, L. Gotlib, D. J. Graham, D. W. Lineberger, W. J. Long, A. J. Schlabach, J. A. Wolfgang, J. H. Condra, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 17526–17530.
- [17] J. H. Condra, E. A. Emini, L. Gotlib, D. J. Graham, A. J. Schlabach, J. A. Wolfgang, R. J. Colonno, V. V. Sardana, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 1441–1446.
- [18] V. W. Byrnes, V. V. Sardana, W. A. Schleif, J. H. Condra, J. A. Waterbury, J. A. Wolfgang, W. J. Long, C. L. Schneider, A. J. Schlabach, B. S. Wolanski, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 1576–1579.
- [19] J. W. Corbett, K. J. Kresge, S. Pan, B. C. Cordova, R. M. Klabe, J. D. Rodgers, S. K. Erickson-Viitanen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 309–312.
- [20] V. Dolle, E. Fan, C. H. Nguyen, A.-M. Aubertin, A. Kirn, M. L. Andreola, G. Jamieson, L. Tarrago-Litvak, E. Bisagni, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4679–4686.
- [21] V. Dolle, A.-M. Aubertin, O. Ludwig, C. H. Nguyen, E. Bisagni, M. Legraverend, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 173–178.
- [22] V. Dolle, C. H. Nguyen, M. Legraverend, A.-M. Aubertin, A. Kirn, M. L. Andreola, M. Ventura, L. Tarrago-Litvak, E. Bisagni, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3949–3962.
- [23] A. Benjahad, K. Courte, J. Guillemont, D. Mabire, S. Coupa, A. Poncelet, I. Csoka, K. Andries, R. Pauwels, M.-P. de Bethune, C. Monneret, E. Bisagni, C. H. Nguyen, D. S. Grierson, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5501–5514.
- [24] A. Benjahad, M. Croisy, C. Monneret, E. Bisagni, D. Mabire, S. Coupa, A. Poncelet, I. Csoka, J. Guillemont, C. Meyer, K. Andries, R. Pauwels, M.-P. de Bethune, D. M. Himmel, K. Das, E. Arnold, C. H. Nguyen, D. S. Grierson, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1948–1964.
- [25] A. Benjahad, J. Guillemont, K. Andries, C. H. Nguyen, D. S. Grierson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 4309–4312.
- [26] D. M. Himmel, K. Das, A. D. Clark, Jr., S. H. Hughes, A. Benjahad, S. Oumouch, J. Guillemont, S. Coupa, A. Poncelet, I. Csoka, C. Meyer, K. Andries, C. H. Nguyen, D. S. Grierson, E. Arnold, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7582–7591.
- [27] R. Pontikis, V. Dolle, J. Guillaumel, E. Dechaux, R. Note, C. H. Nguyen, M. Legraverend, E. Bisagni, A.-M. Aubertin, D. S. Grierson, C. Monneret, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1927–1939.
- [28] A. L. Hopkins, J. Ren, H. Tanaka, M. Baba, M. Okamoto, D. I. Stuart, D. K. Stammers, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4500–4505.
- [29] J. S. Wai, T. M. Williams, D. L. Bamberger, T. E. Fisher, J. M. Hoffman, R. J. Hudcosky, S. C. MacTough, C. S. Rooney, W. S. Saari, C. M. Thomas, M. E. Goldman, J. A. O'Brien, E. A. Emini, J. H. Nunberg, J. C. Quintero, W. A. Schleif, P. S. Anderson, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 249–255.
- [30] R. Garg, S. P. Gupta, H. Gao, M. S. Babu, A. K. Debnath, C. Hansch, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 3525–3601.
- [31] S. P. Gupta in *Progress in Drug Research, Vol. 58* (Ed.: E. Jucker), Birkhäuser Verlag, Basel, **2002**, pp. 252–253.
- [32] J. L. Medina-Franco, S. Rodríguez-Morales, C. Juárez-Gordiano, A. Hernández-Campos, J. Jiménez-Barbero, R. Castillo, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 6085–6095.
- [33] a) DeLano, W. L. The PyMOL Molecular Graphics System (2002) DeLano Scientific, Palo Alto, CA, USA. <http://www.pymol.org>; b) M. F. Sanner, *J. Mol. Graphics Modell.* **1999**, *17*, 57–61.
- [34] J. L. Medina-Franco, S. Rodríguez-Morales, C. Juárez-Gordiano, A. Hernández-Campos, R. Castillo, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2004**, *18*, 345–360.
- [35] J. L. Medina-Franco, A. Golbraikh, S. Oloff, R. Castillo, A. Tropsha, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2005**, *19*, 229–242.
- [36] NCI/NIH Developmental Therapeutics Program. <http://dtp.nci.nih.gov/>.
- [37] C. C. Cheng, R. K. Robins, *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 1240–1256.
- [38] S. Bajaj, S. S. Sambhi, S. Gupta, A. K. Madan, *QSAR Comb. Sci.* **2006**, *25*, 813–823.
- [39] J. Ren, R. M. Esnouf, A. L. Hopkins, J. Warren, J. Balzarini, D. I. Stuart, D. K. Stammers, *Biochemistry* **1998**, *37*, 14394–14403.
- [40] P. A. J. Janssen, P. J. Lewi, E. Arnold, F. Daeyaert, M. de Jonge, J. Heeres, L. Koymans, M. Vinkers, J. Guillemont, E. Pasquier, M. Kukla, D. Ludovici, K. Andries, M.-P. de Bethune, R. Pauwels, K. Das, A. D. Clark, Jr., Y. V. Frenkel, S. H. Hughes, B. Medaer, F. De Knaep, H. Bohets, F. De Clerck, A. Lampo, P. Williams, P. Stoffels, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1901–1909.
- [41] W. L. Jorgensen, J. Ruiz-Caro, J. Tirado-Rives, A. Basavapathruni, K. S. Anderson, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 663–667.

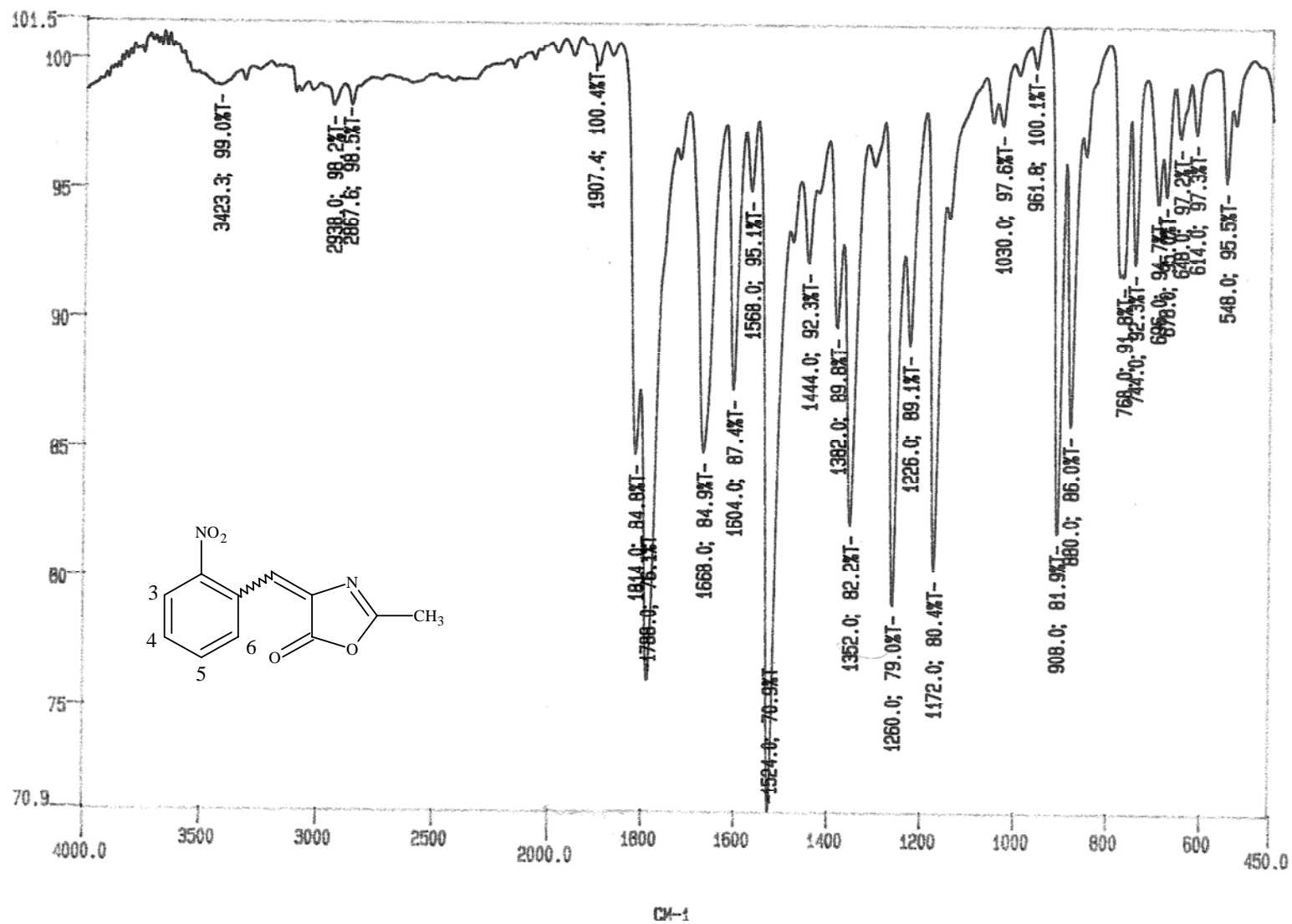
Received: March 14, 2007

Revised: April 2, 2007

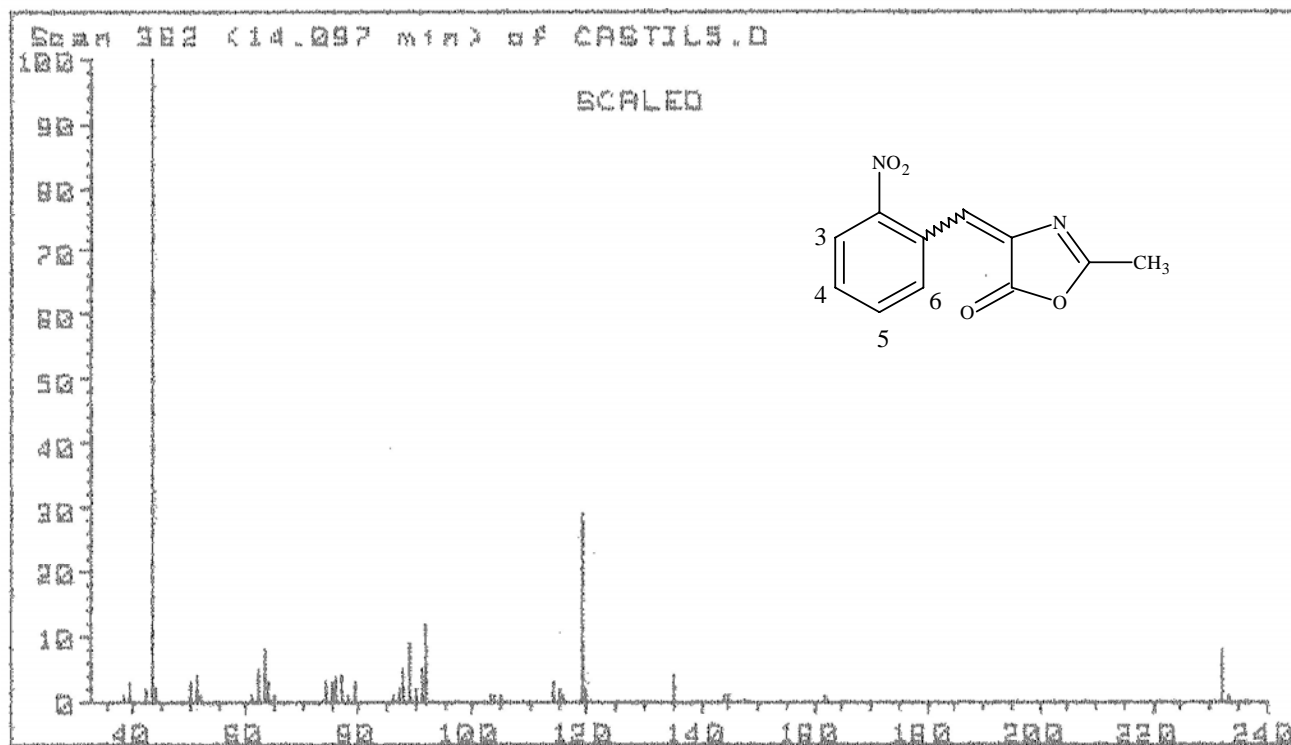
Published online on May 3, 2007



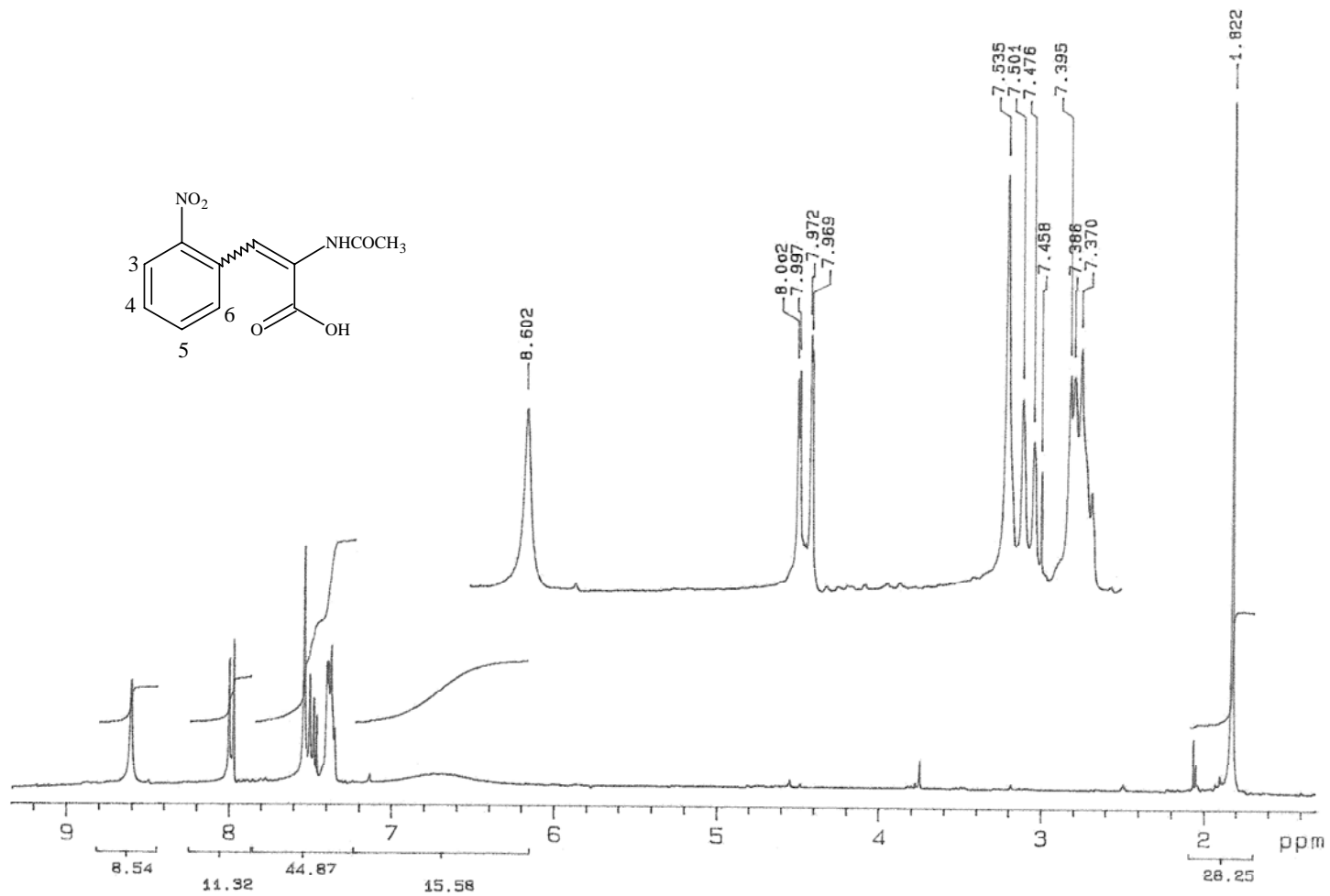
Espectro 1.1. Espectro de RMN ^1H de **(4E)-2-metil-4-(2-nitrobenziliden)-1,3-oxazol-5(4H)-ona (21a)**



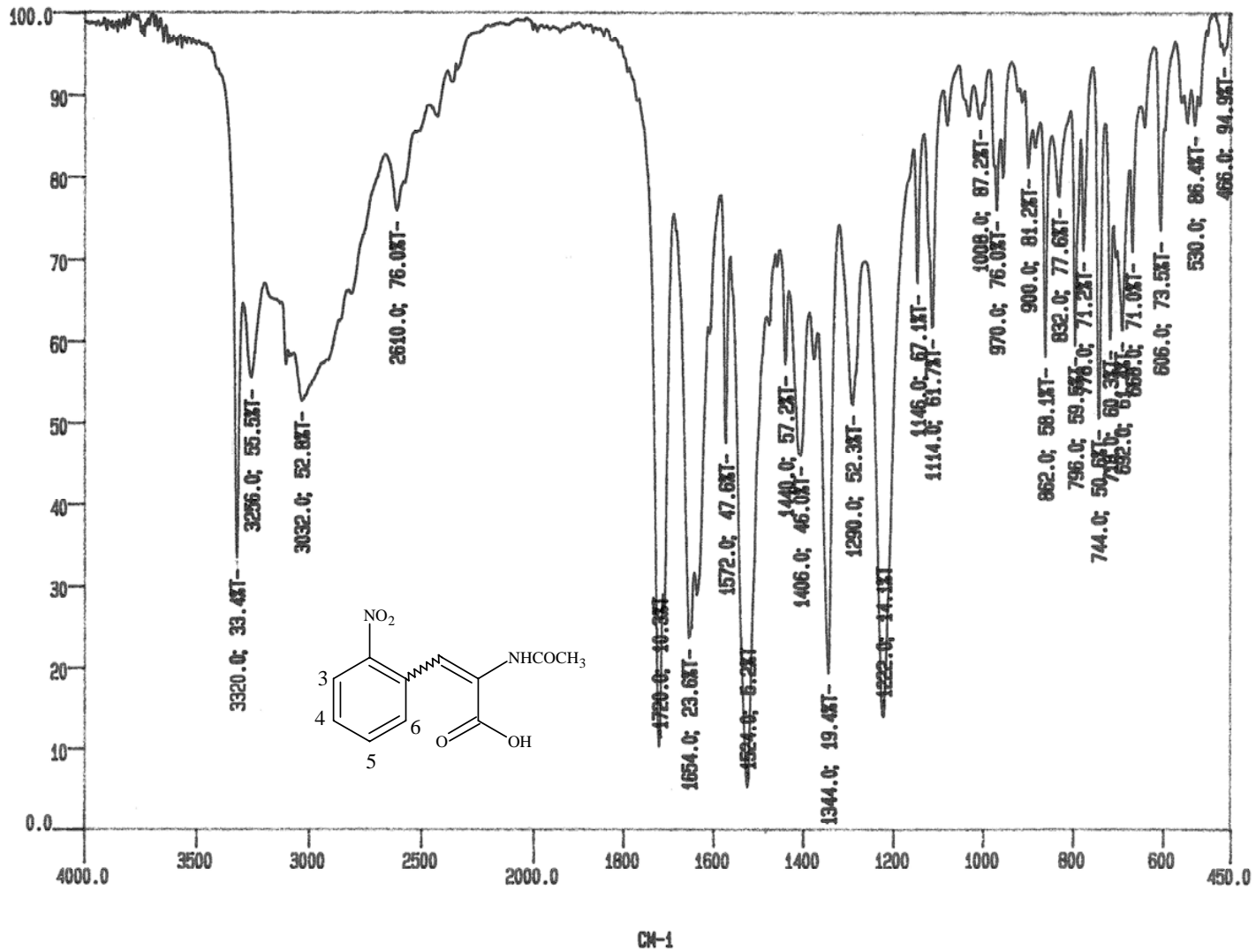
Espectro 1.2. Espectro de IR de (4E)-2-metil-4-4(2-nitrobenziliden)-1,3-oxazol-5(4H)-ona (21a)



Espectro 1.3. Espectro de EM de (4E)-2-metil-4-(2-nitrobenzyliden)-1,3-oxazol-5(4H)-ona (21a)

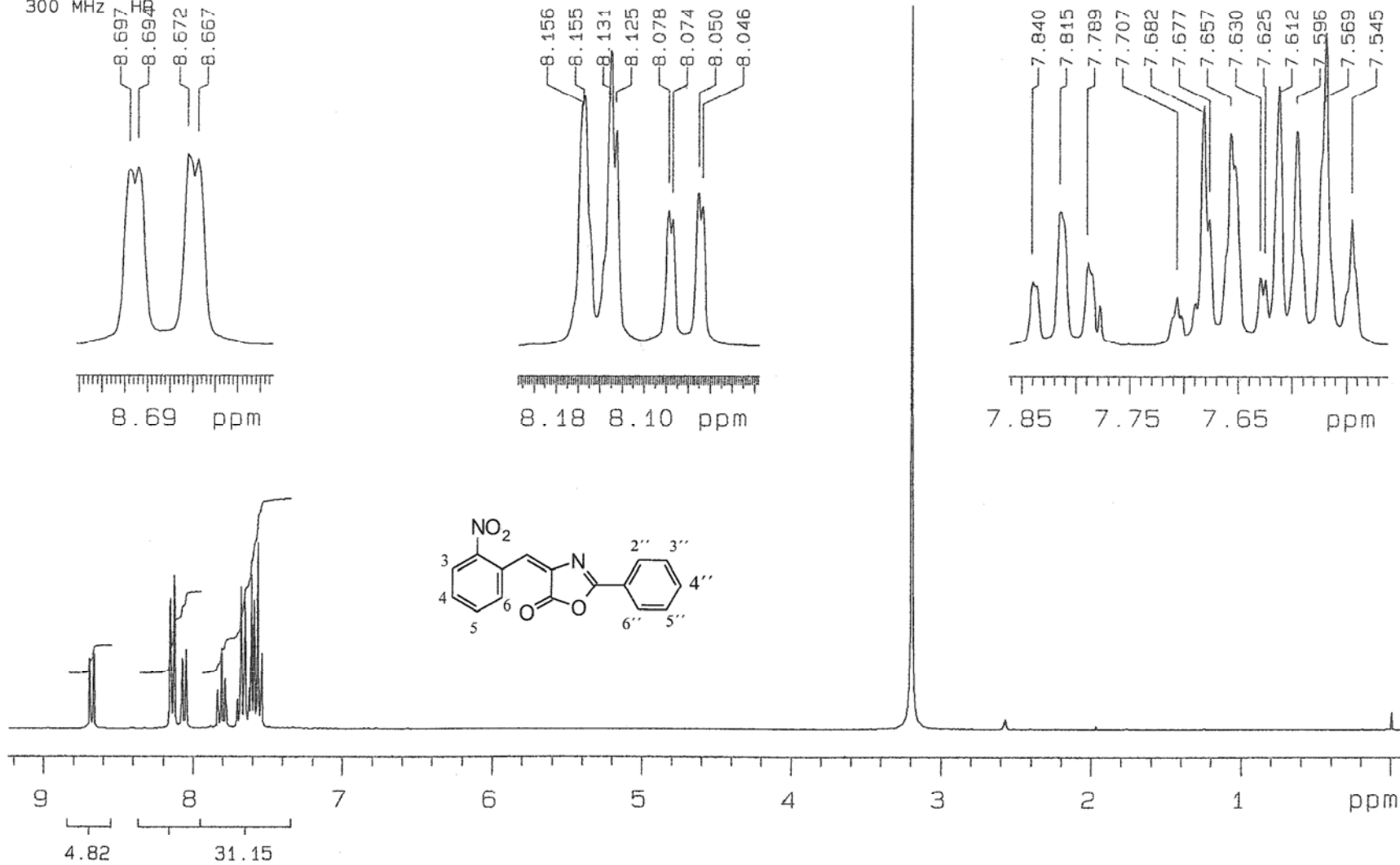


Espectro 2.1. Espectro de RMN ¹H del ácido (2E)-2-acetamido-3-(2-nitrofenil)acrílico (21b)

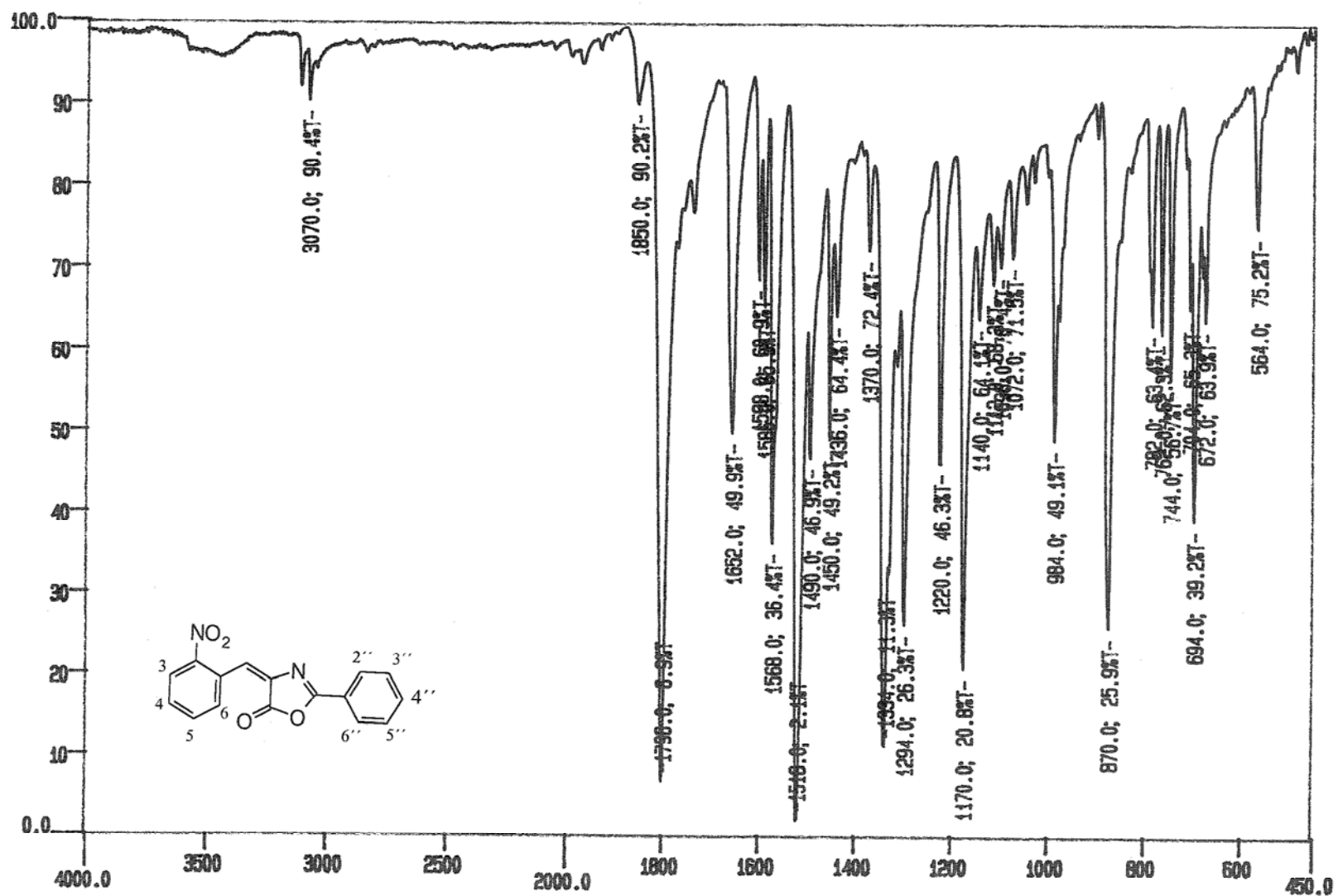


Espectro 2.2. Espectro de IR del ácido (2E)-2-acetamido-3-(2-nitrofenil)acrílico (21b)

Dr Rafael Castillo CJ-4
Disolvente: CDCl₃-DMSO
300 MHz

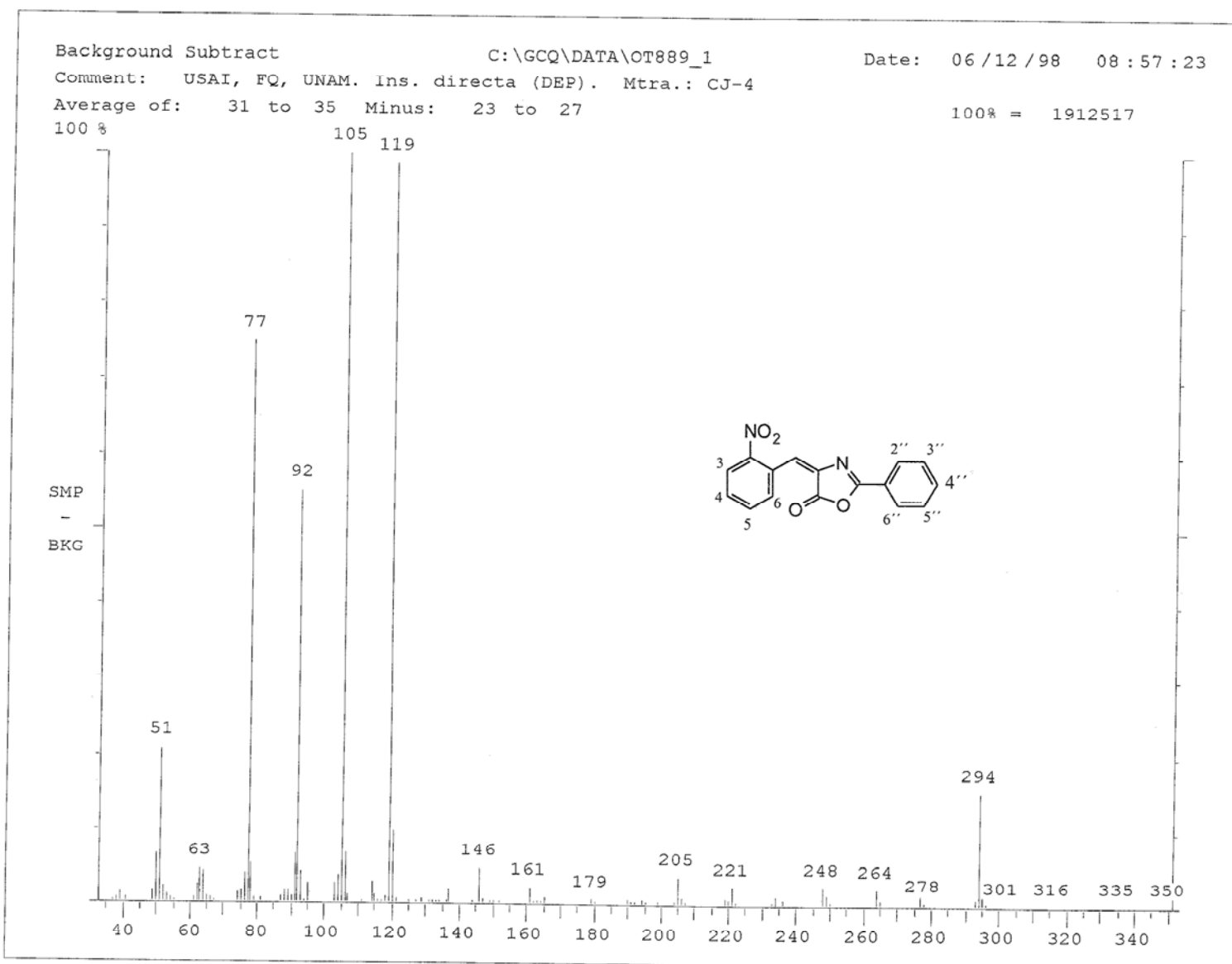


Espectro 3.1. Espectro de RMN ¹H de (4E)-2-fenil-4-(2-nitrobenzylideno)-1,3-oxazol-5(4H)-ona (21).

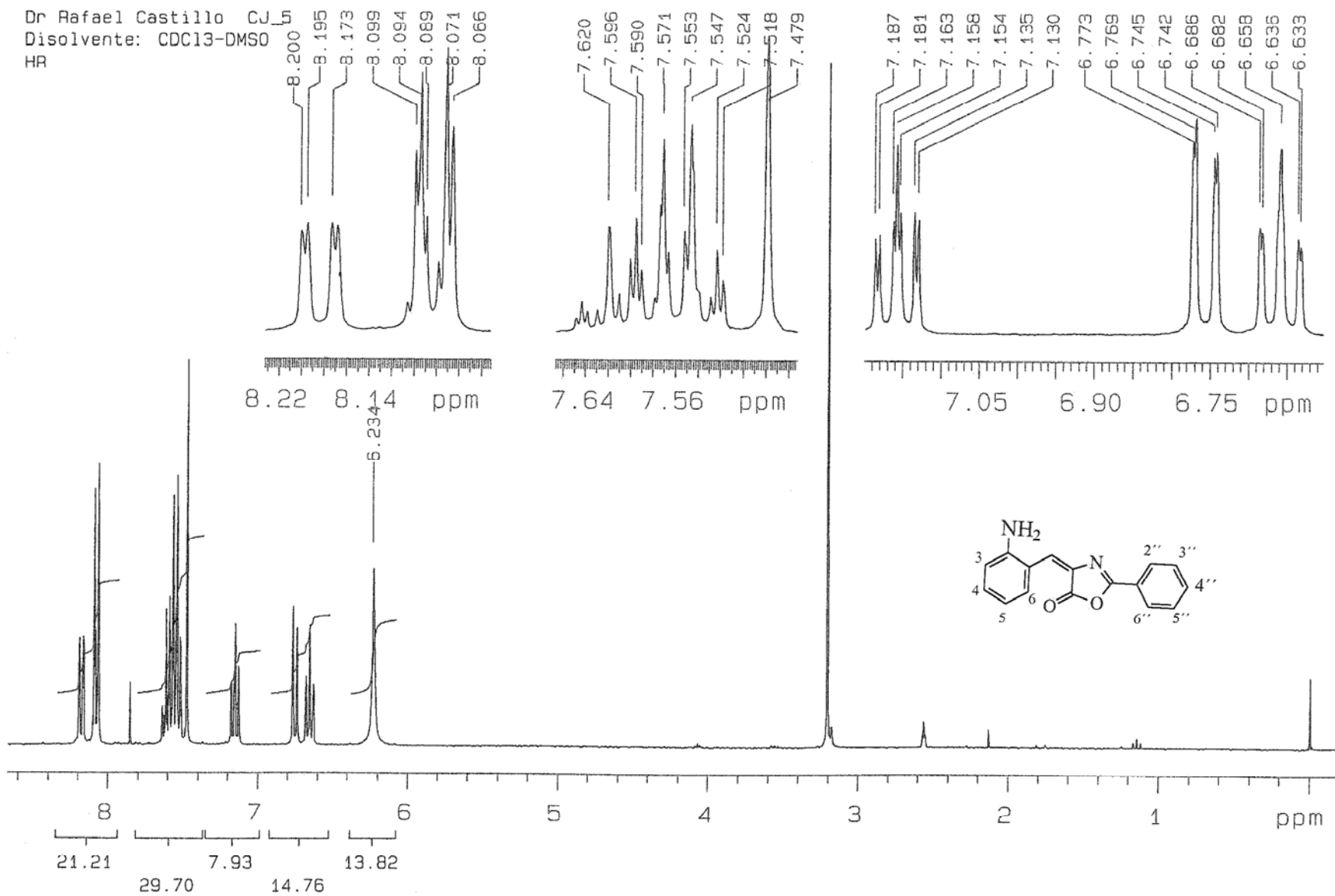


CH-1

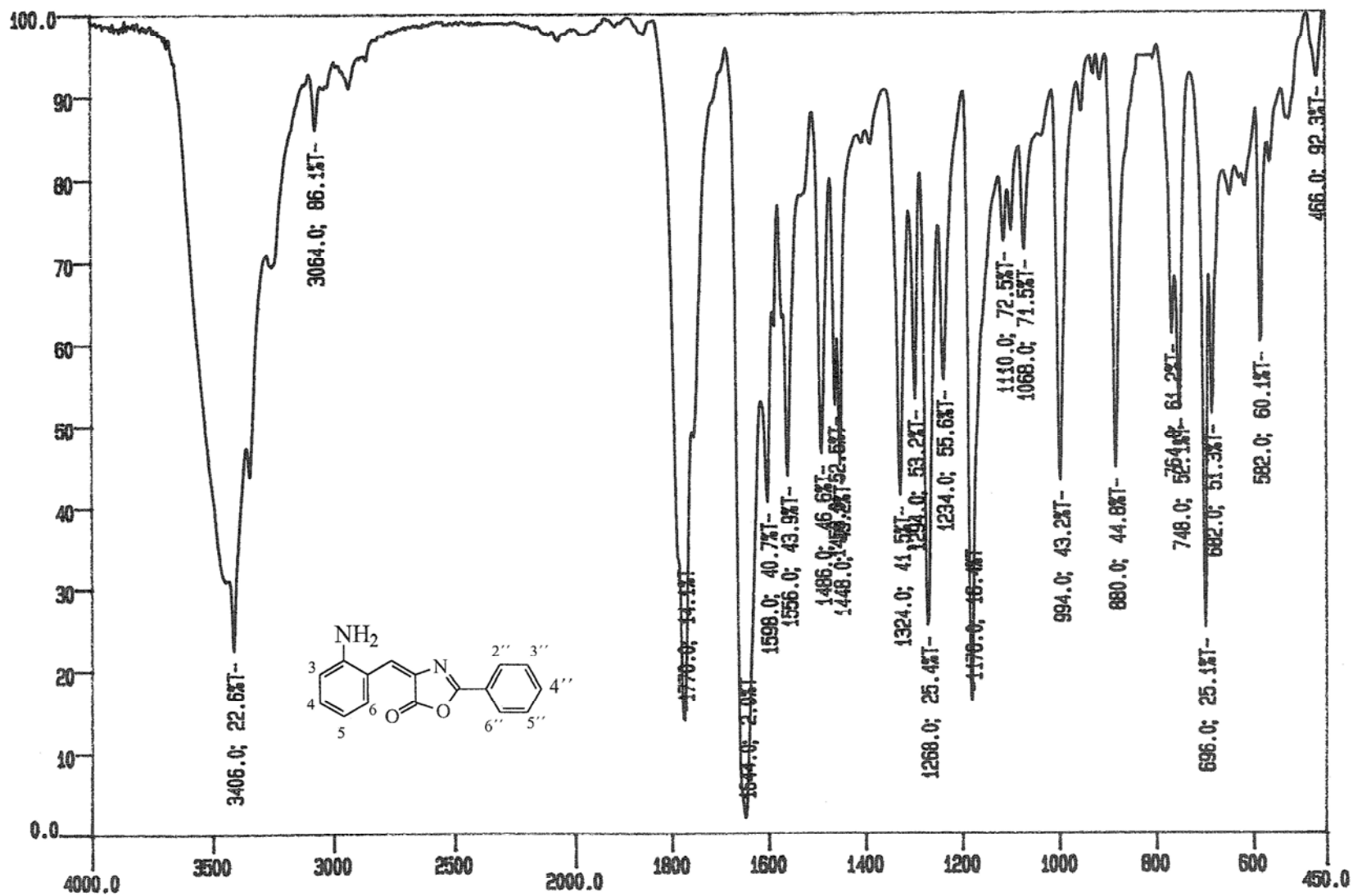
Espectro 3.2. Espectro de IR de (4E)-2-fenil-4-(2-nitrobenziliden)-1,3-oxazol-5(4H)-ona (21).



Espectro 3.3. Espectro de EM de (4E)-2-fenil-4-(2-nitrobenziliden)-1,3-oxazol-5(4H)-ona (21).



Espectro 4.1. Espectro de RMN ¹H de **(4E)-4-(2-aminobenciliden)-2-fenil-1,3-oxazol-5(4H)-ona (22)**.



CH-1

Espectro 4.2. Espectro de IR de (4E)-4-(2-aminobenciliden)-2-fenil-1,3-oxazol-5(4H)-ona (22).

Background Subtract

C:\GCQ\DATA\OT888_1

Date: 06/12/98 08:48:15

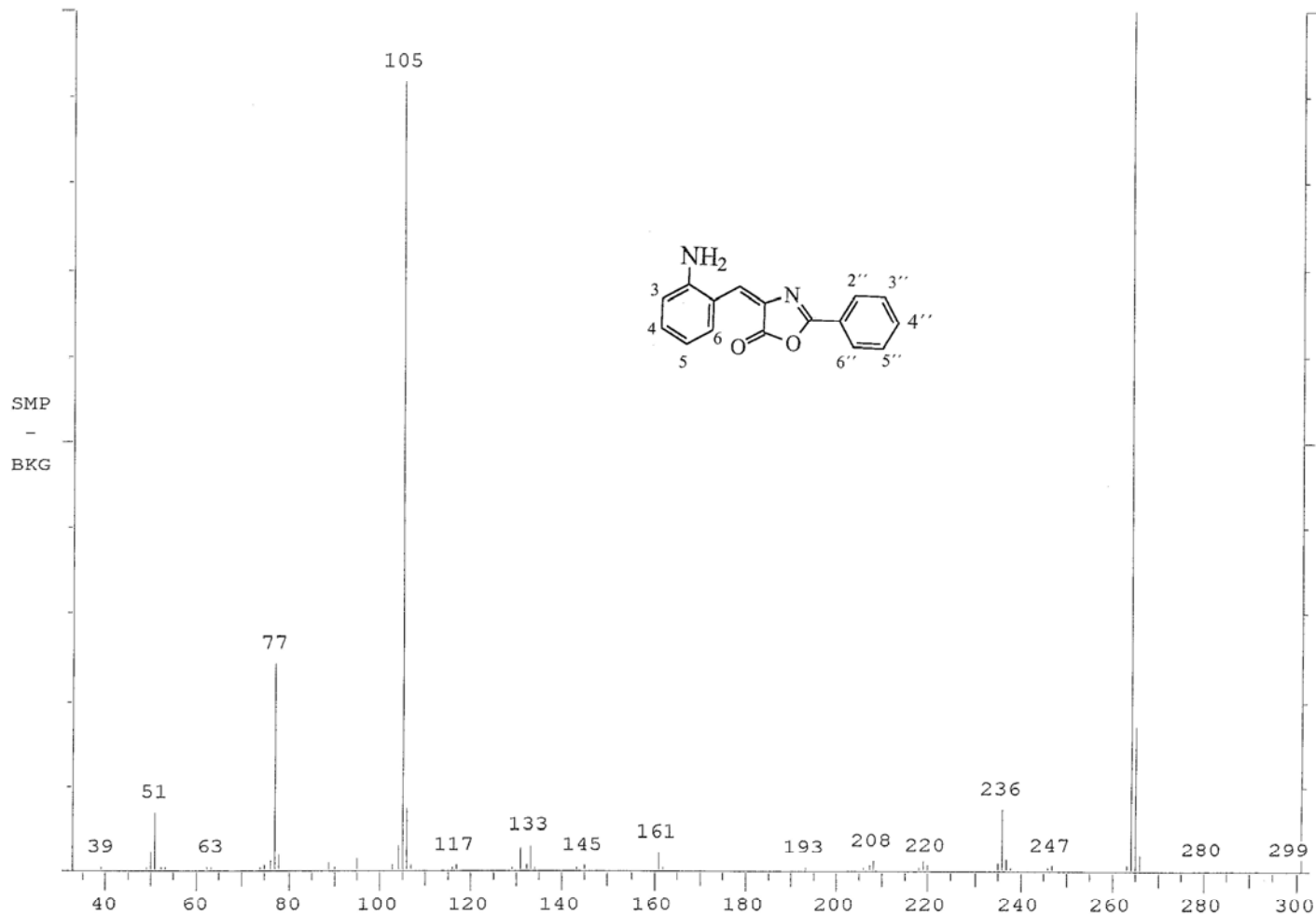
Comment: USAI, FQ, UNAM. Ins. directa (DEP). Mtra.: CJ-5

Average of: 32 to 36 Minus: 4 to 8

100% = 5309180

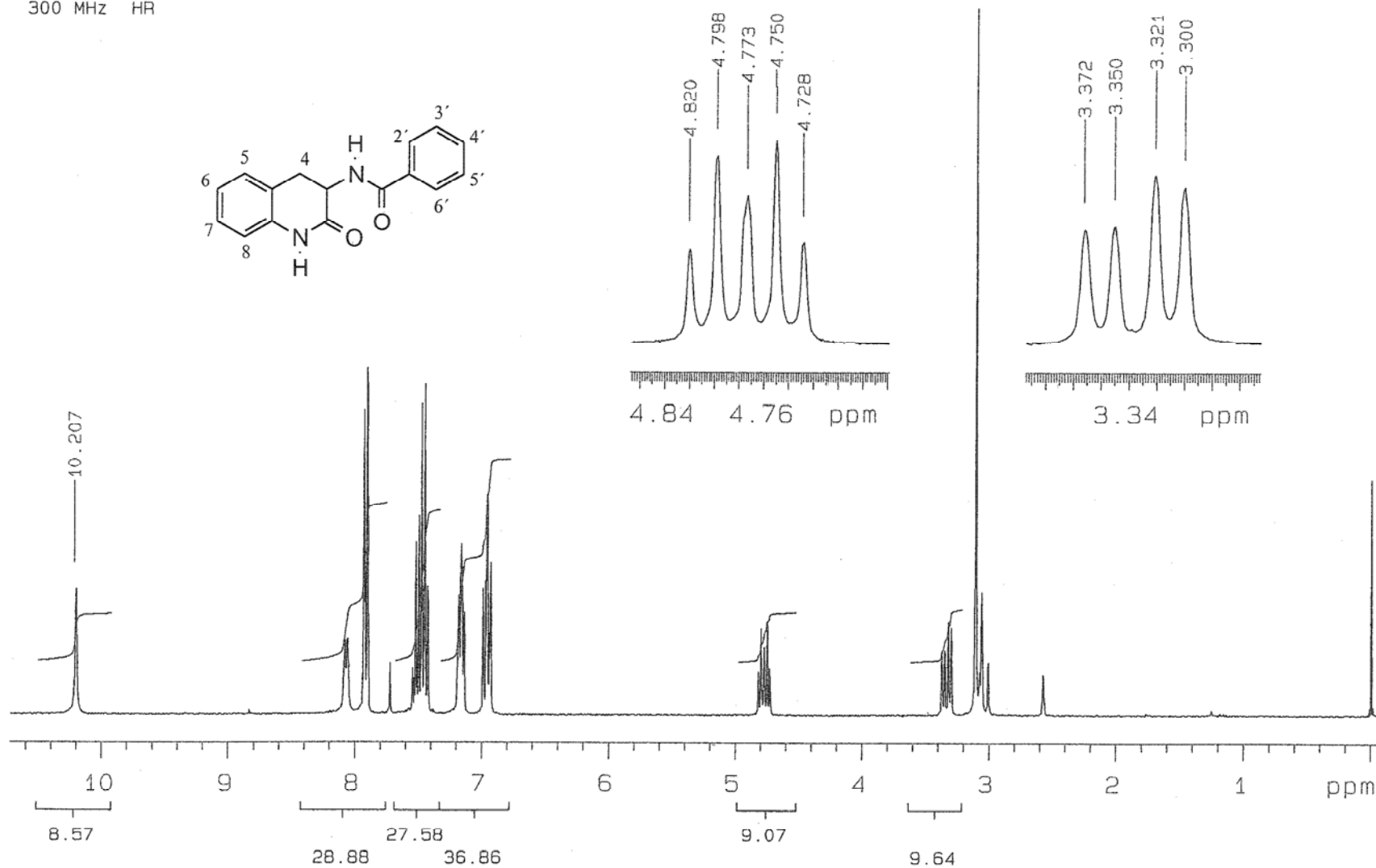
100 %

264

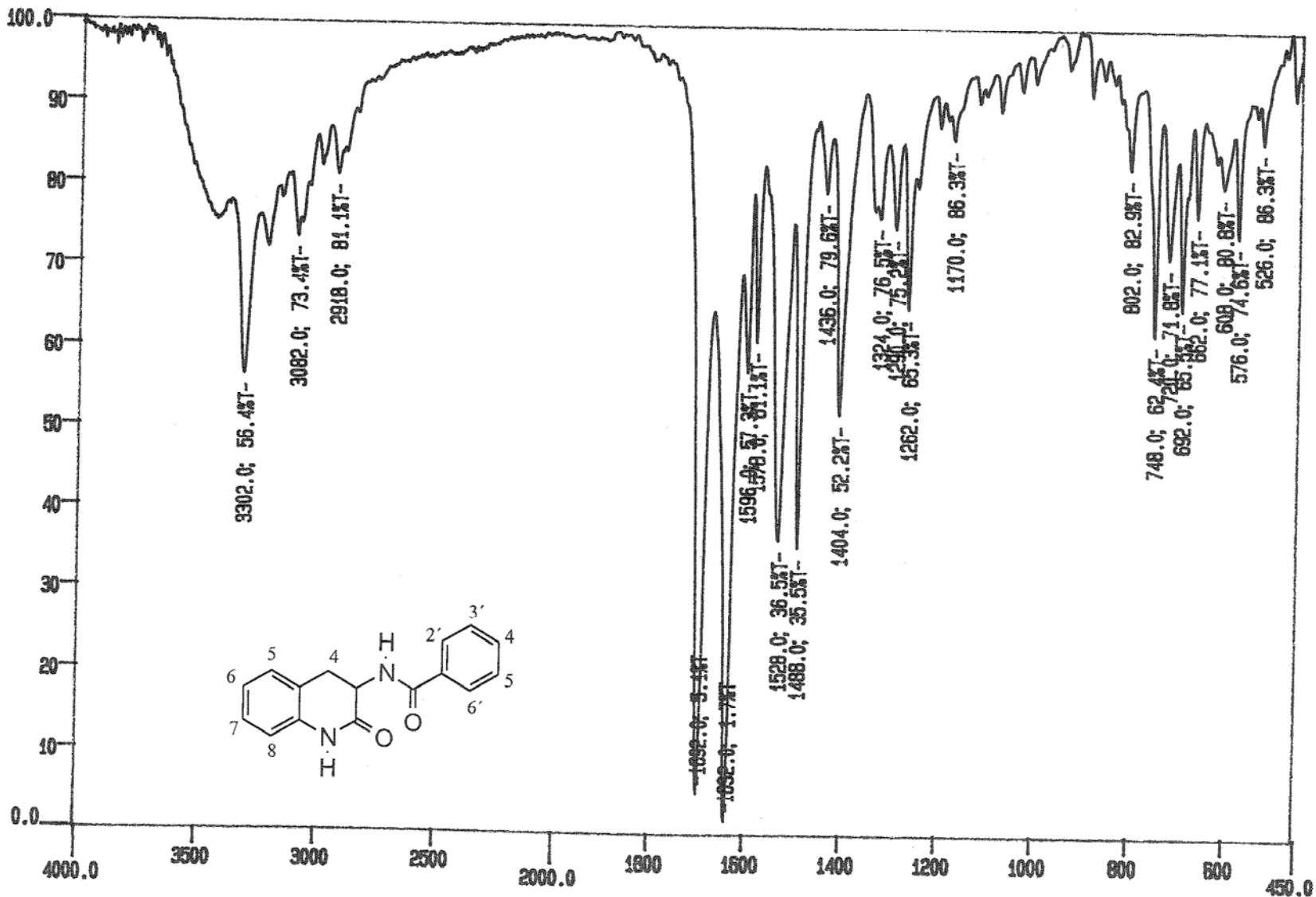


Espectro 4.3. Espectro de EM de (4E)-4-(2-aminobenciliden)-2-fenil-1,3-oxazol-5(4H)-ona (22).

Dr Rafael castillo CJ-6
Disolvente: CDCL3-DMSO
300 MHz HR



Espectro 5.1. Espectro de RMN ¹H de *N*-(2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-il)benzamida (22a).



CH-1

Espectro 5.2. Espectro de IR de *N*-(2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-il)benzamida (22a).

[Mass Spectrum]

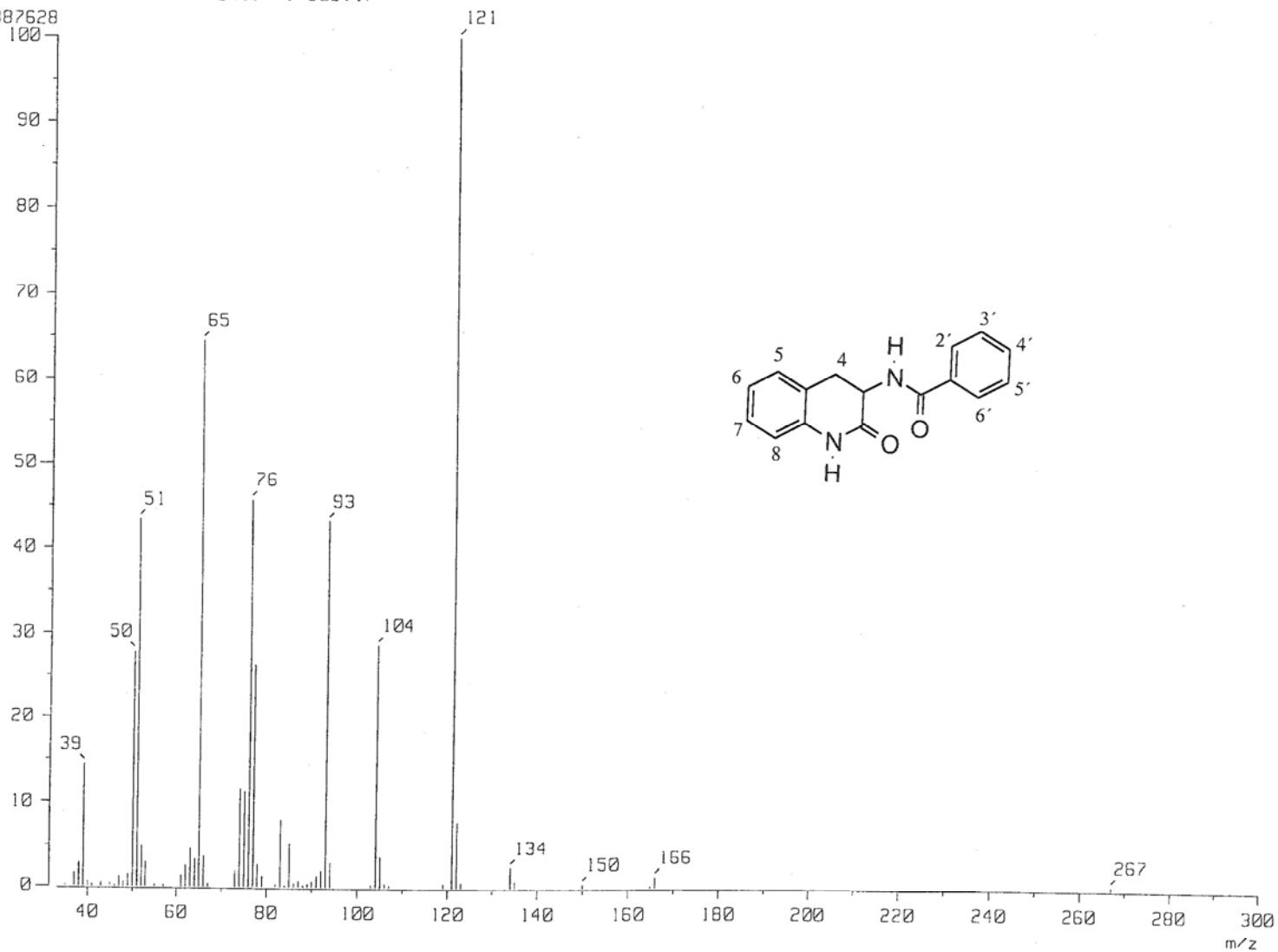
RT : 0.00 min

Scan# : (1,2)-k((83,184))[k=1.0]

Ion Mode : EI+

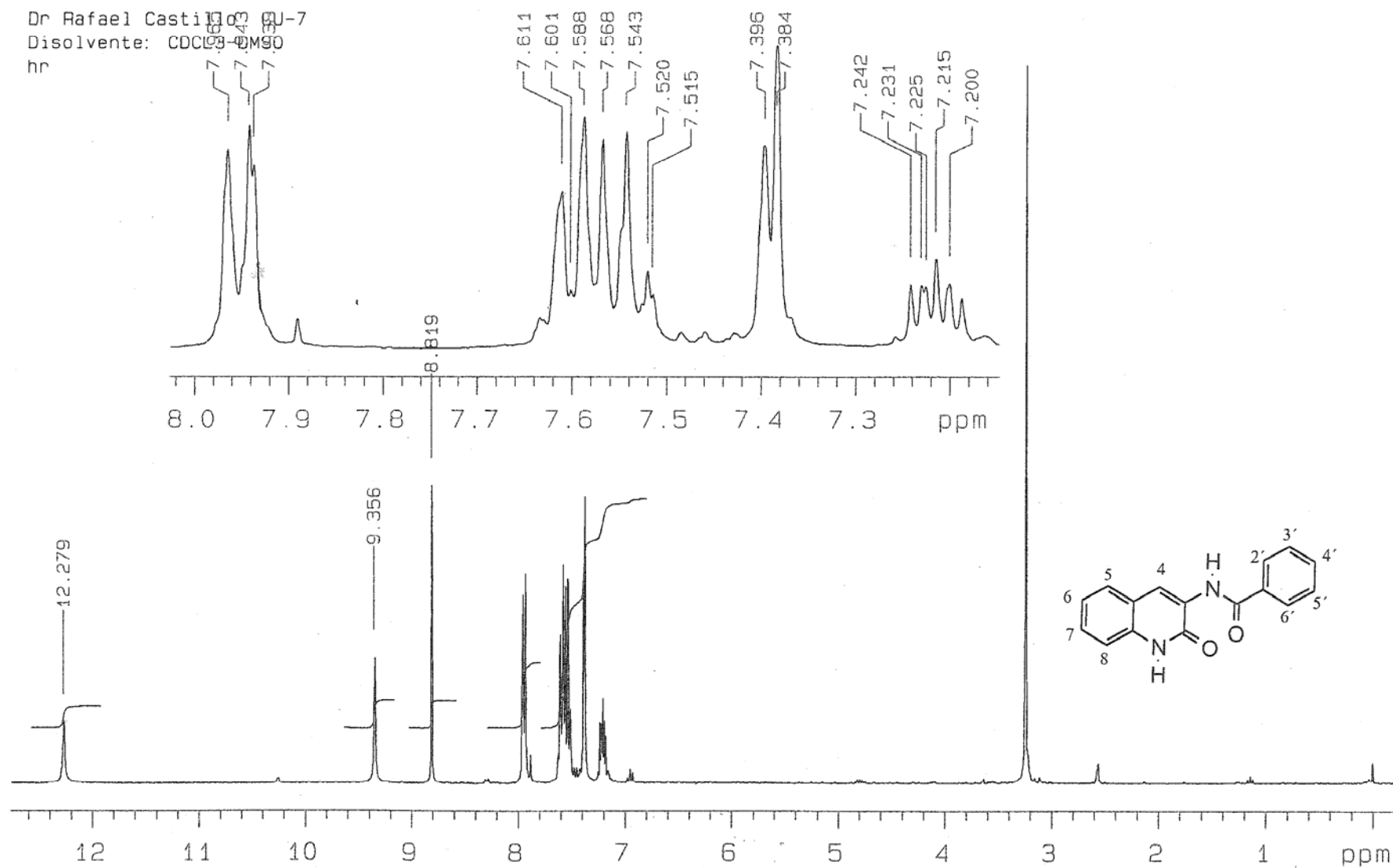
Int. : 609.17

6387628

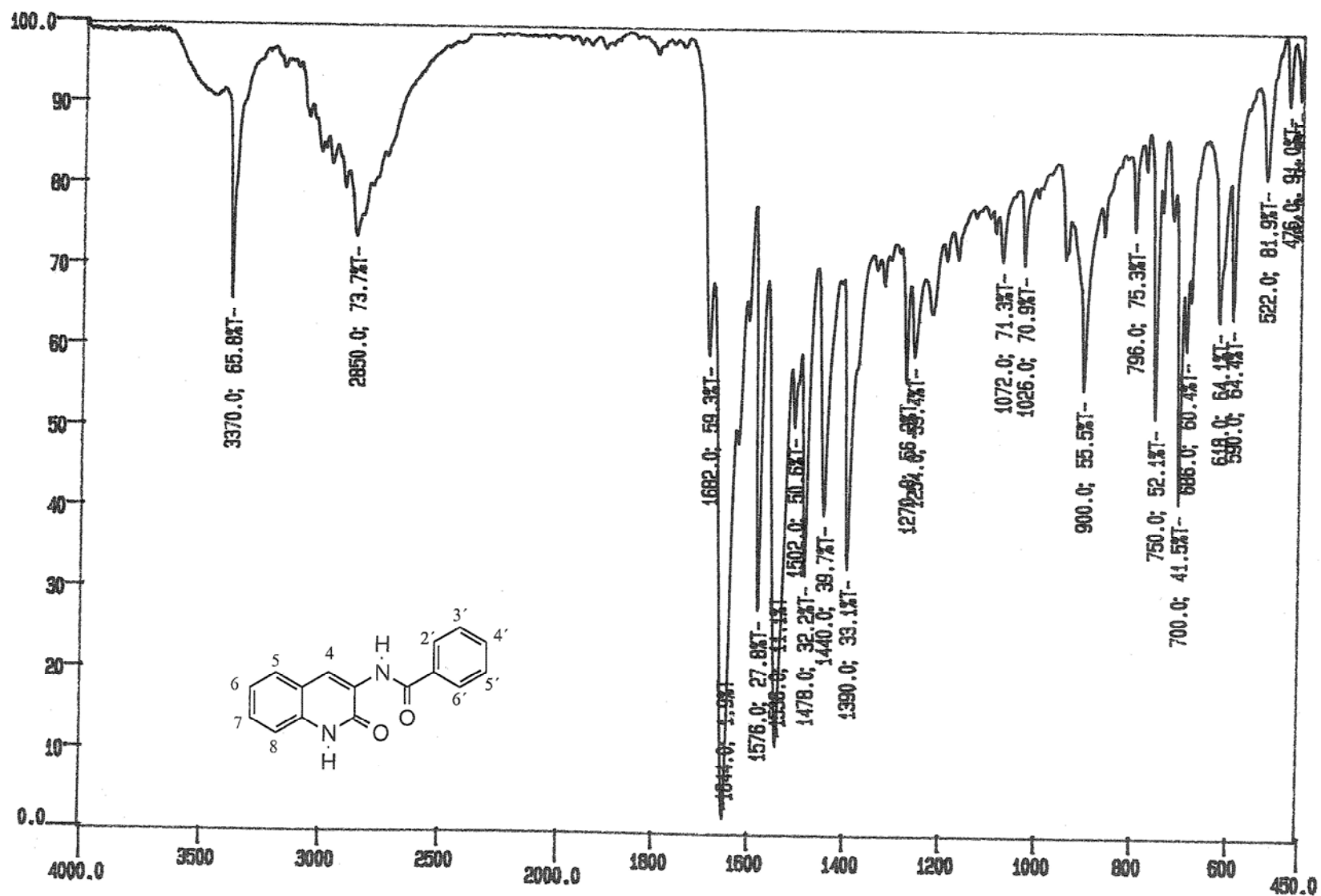


Espectro 5.3. Espectro de EM de *N*-(2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-il)benzamida (22a).

Dr Rafael Castillo
Disolvente: CDCl₃-DMSO
hr

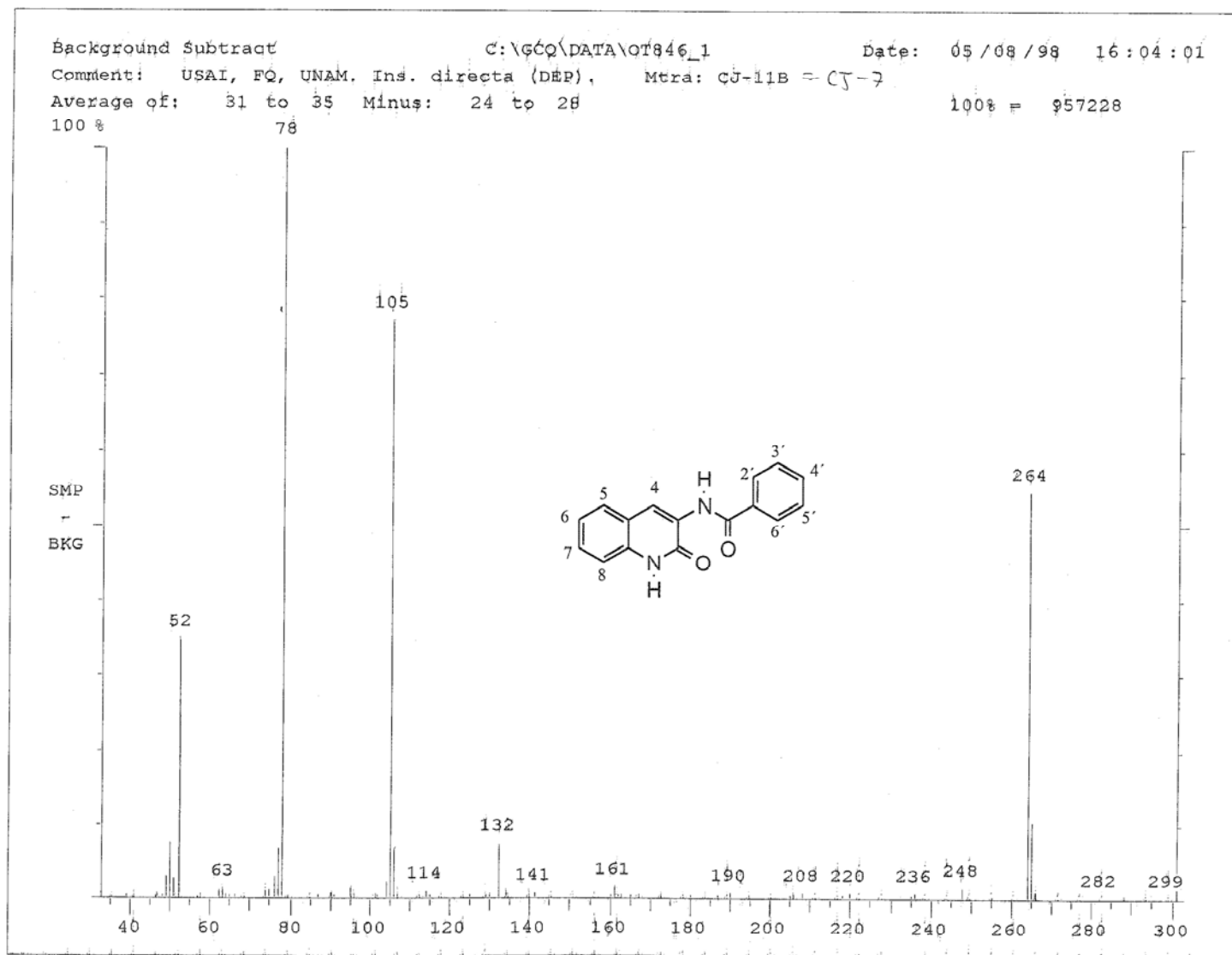


Espectro 6.1. Espectro de RMN ¹H *N*-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)benzamida (23).

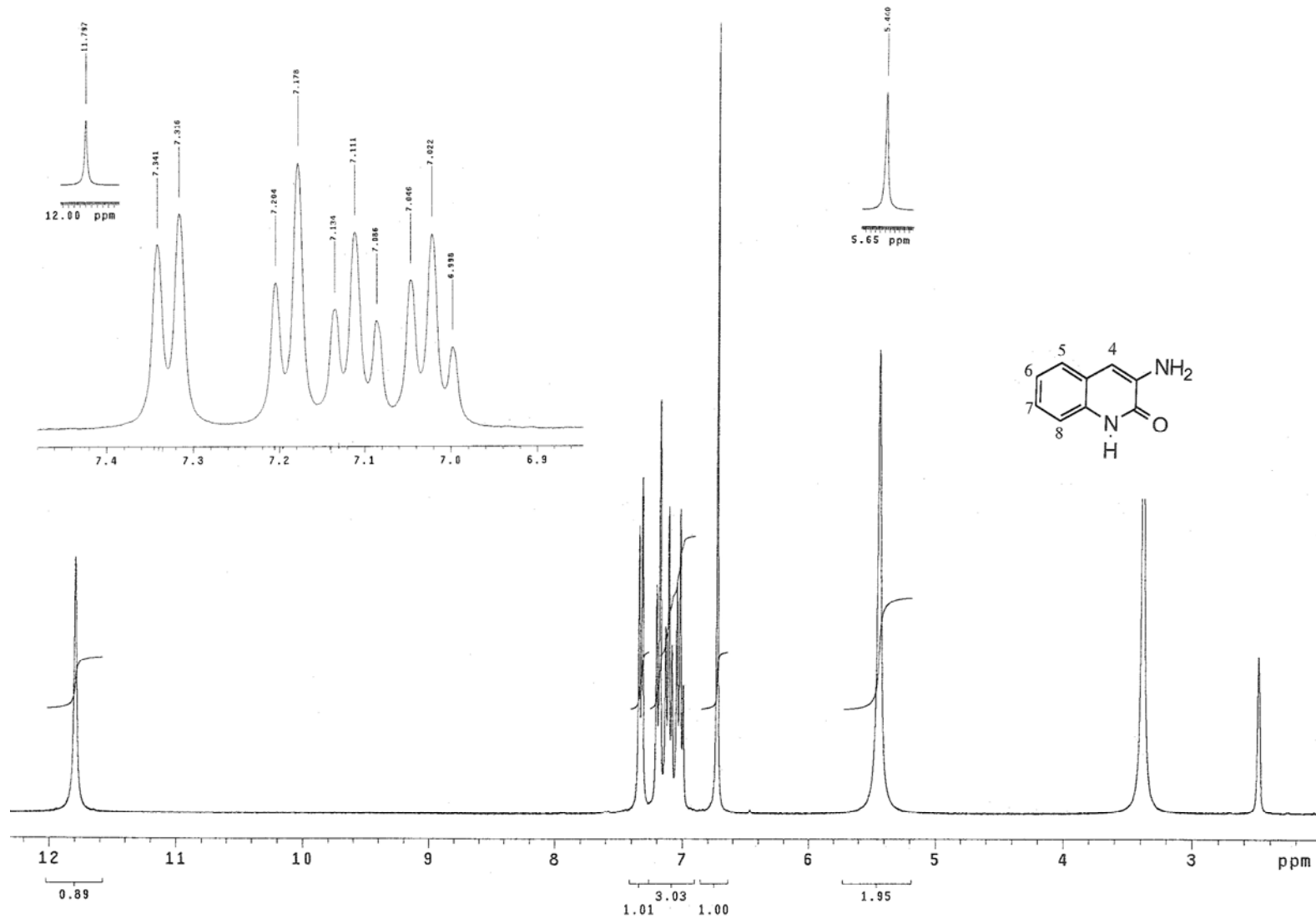


CH-1

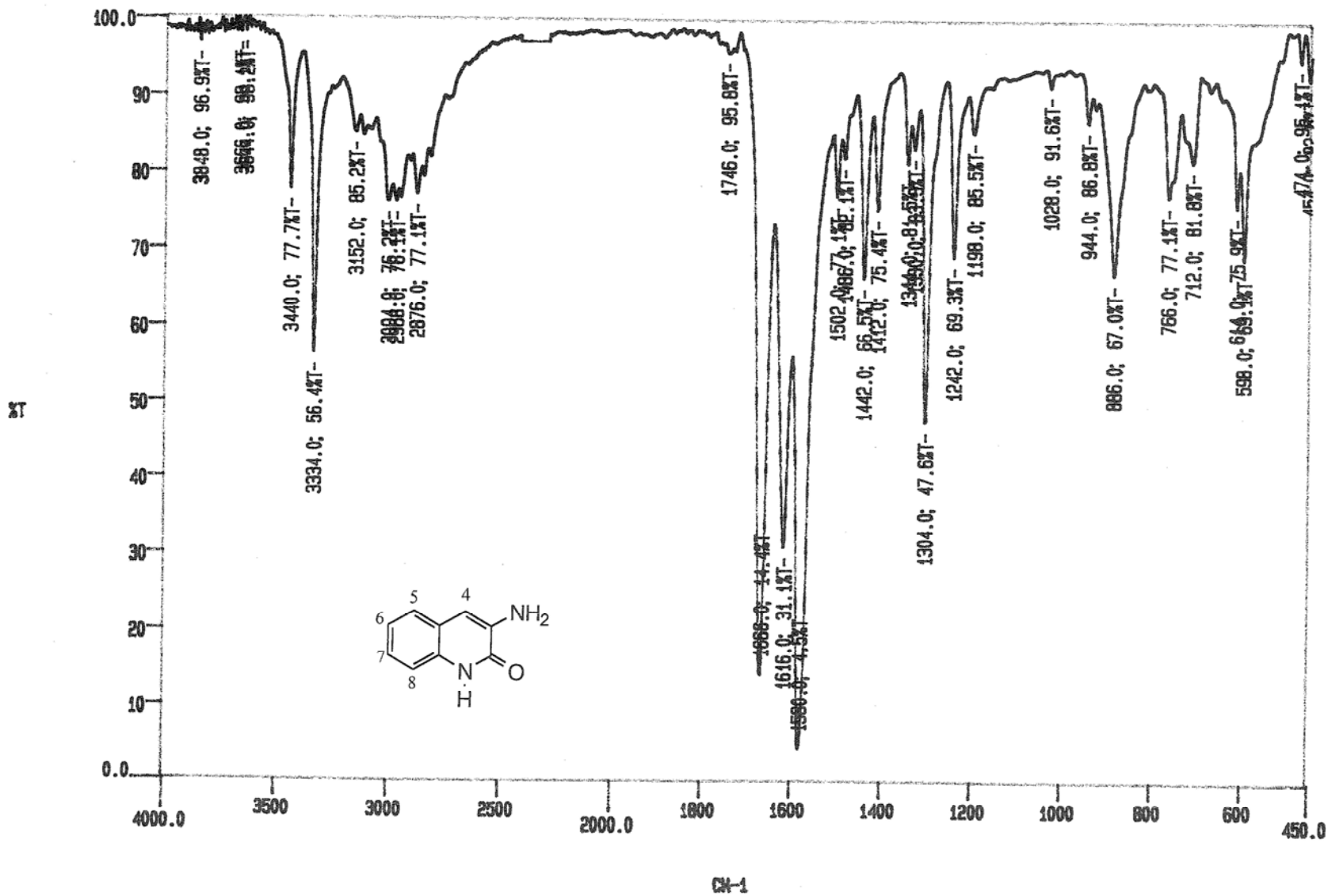
Espectro 6.2. Espectro de IR de *N*-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)benzamida (23).



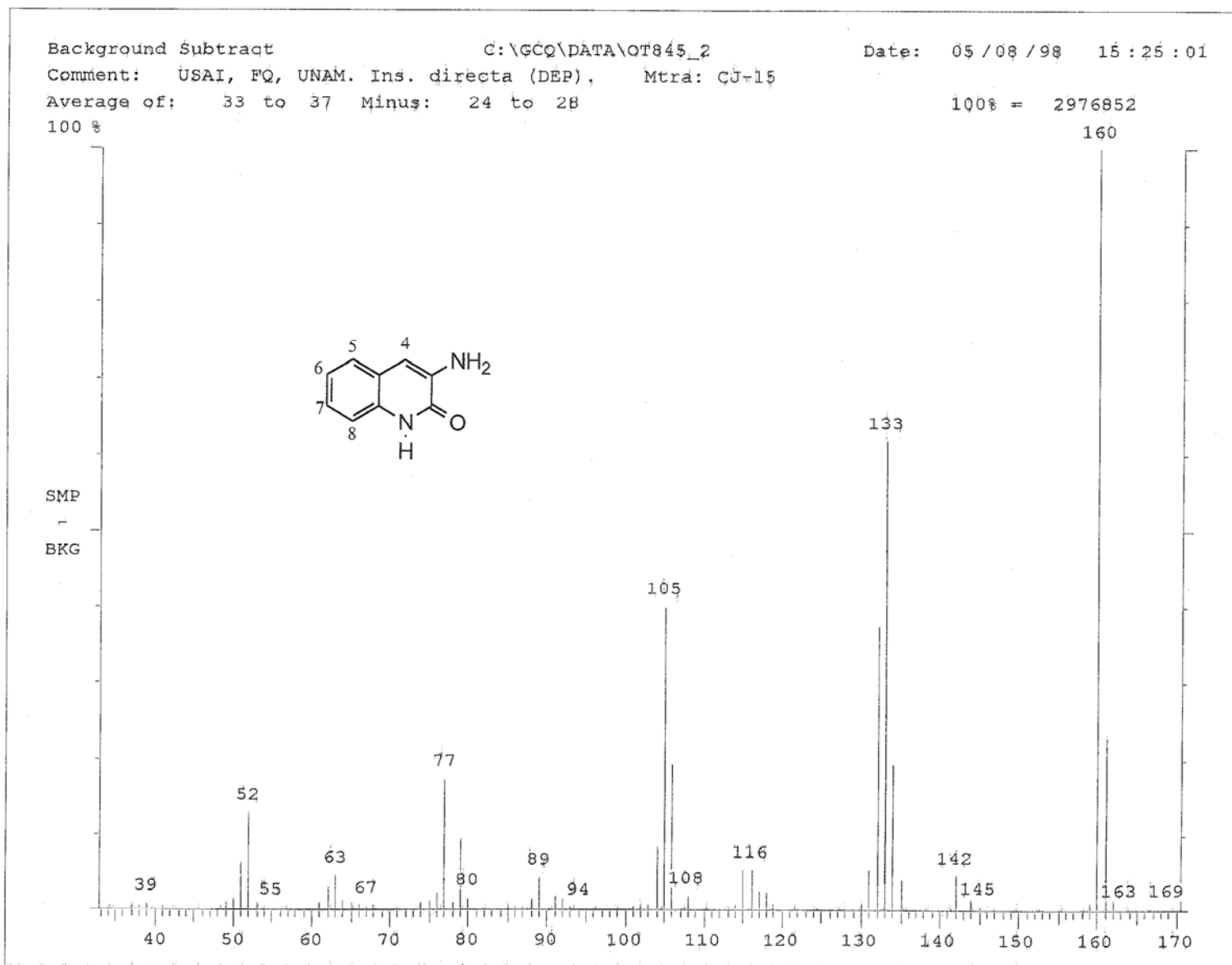
Espectro 6.3. Espectro de EM de *N*-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)benzamida (23).



Espectro 7.1. Espectro de RMN ^1H de 3-Aminoquinolin-2(1H)-ona (24).

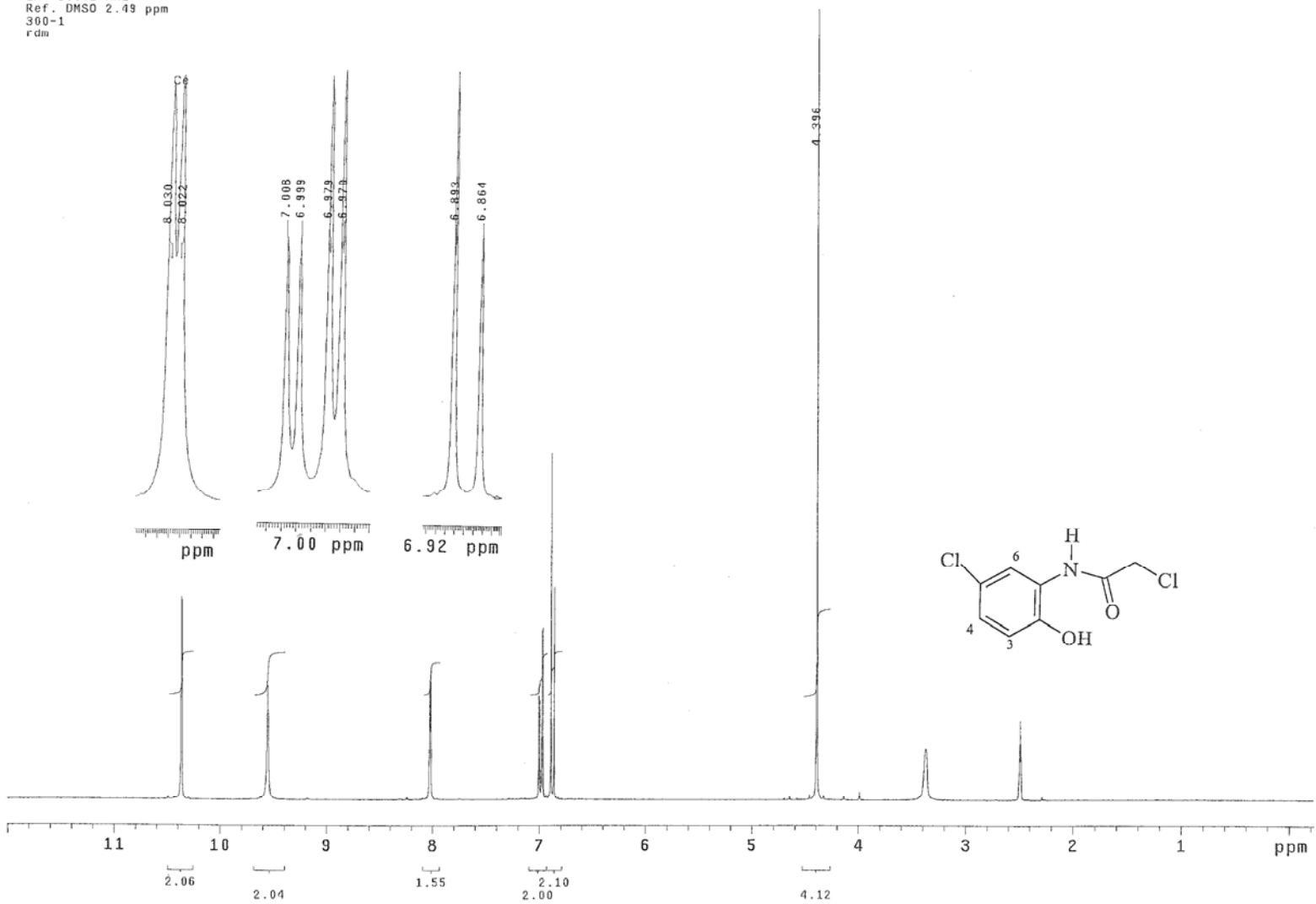


Espectro 7.2. Espectro de IR de 3-Aminoquinolin-2(1H)-ona (24).

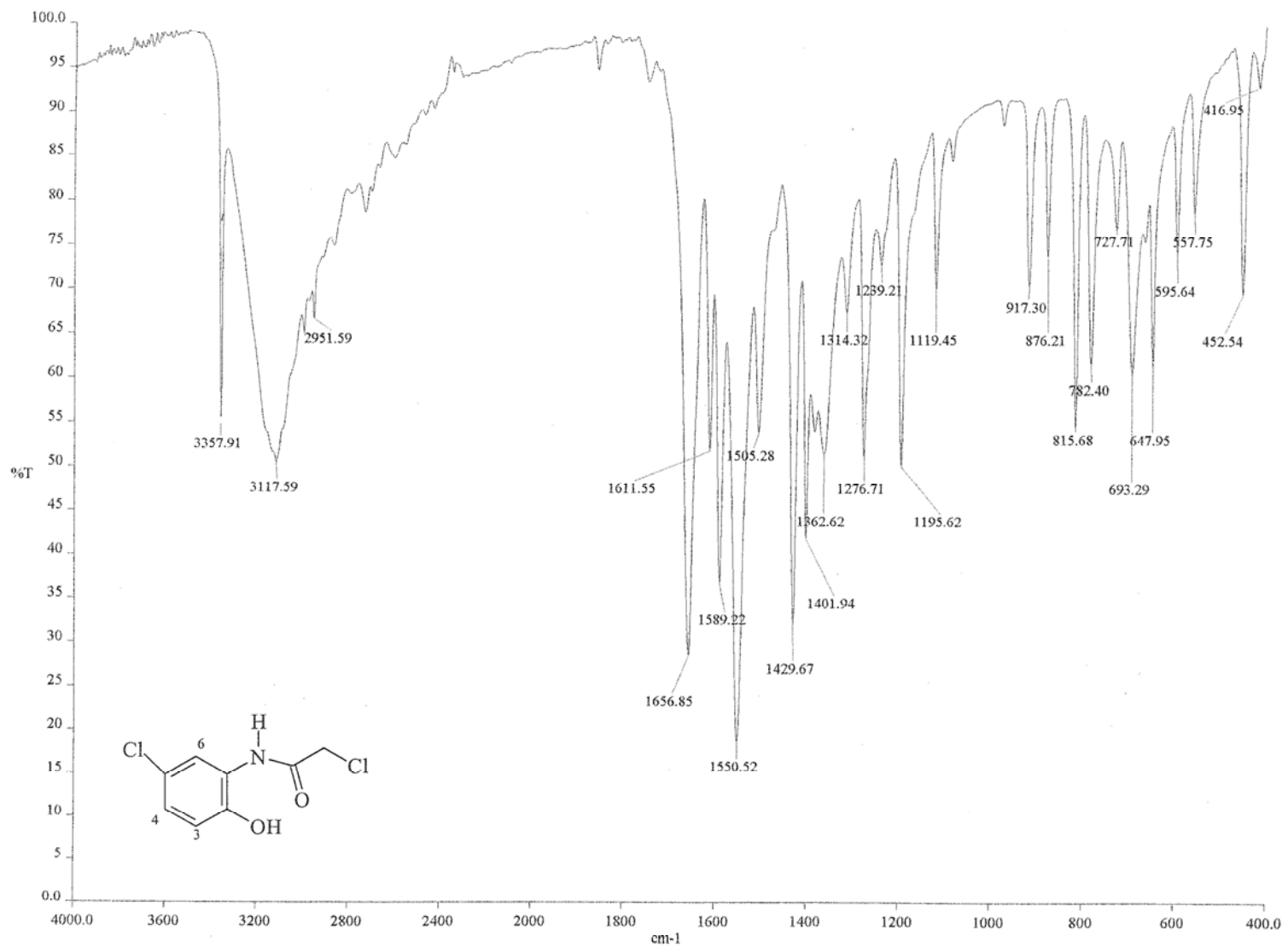


Espectro 7.3. Espectro de EM de 3-Aminoquinolin-2(1H)-ona (24).

USAI
10/DICIEMBRE/2001
Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
CJ-33/DMSO
1H 300.2 MHz
Ref. DMSO 2.49 ppm
300-1
rdm



Espectro 8.1. Espectro de RMN ^1H de 2-Cloro-N-(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (27).

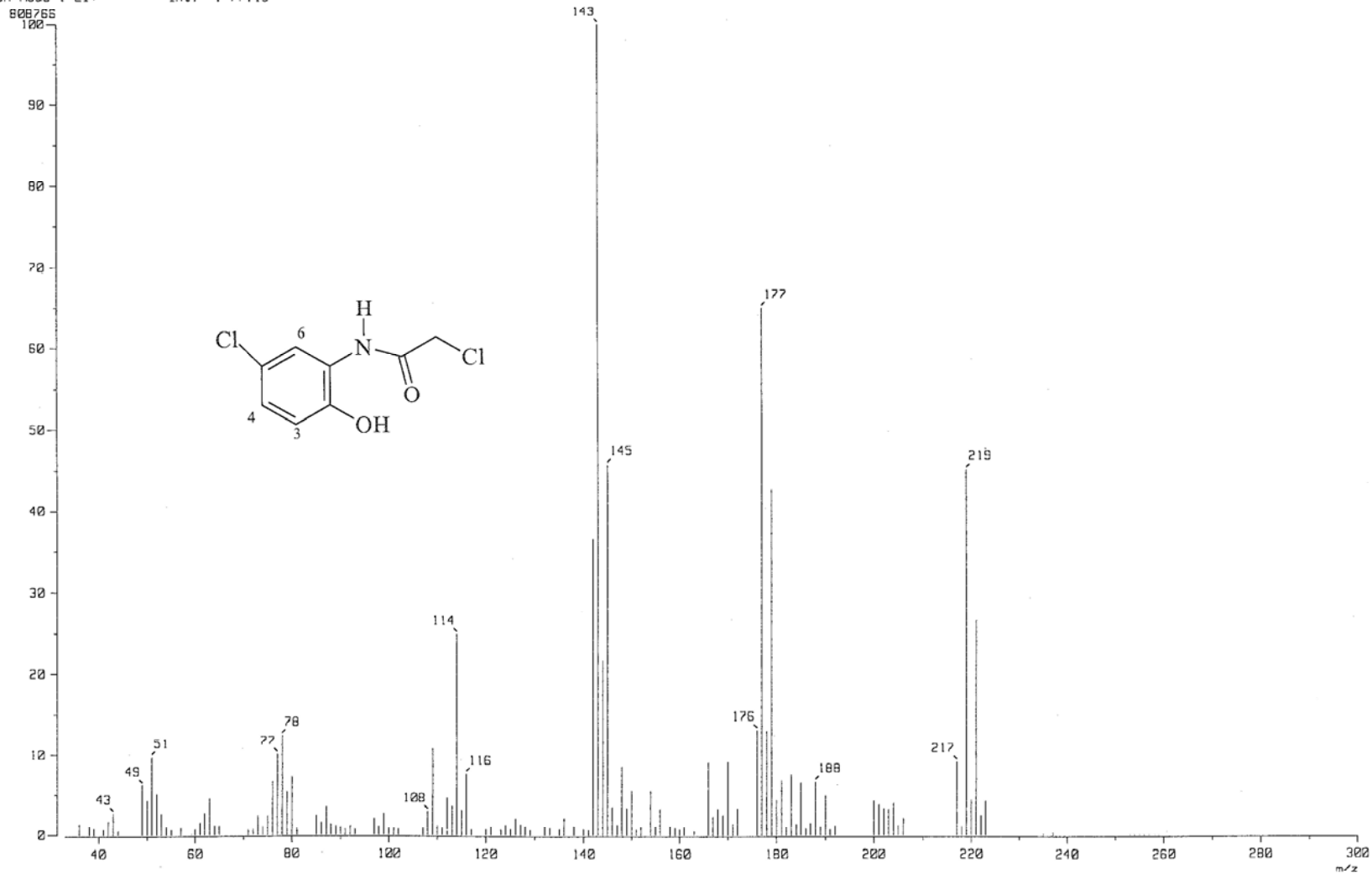


Espectro 8.2. Espectro de IR de 2-Cloro-N-(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (27).

[Mass Spectrum]
RT : 0.31 min
Ion Mode : EI+

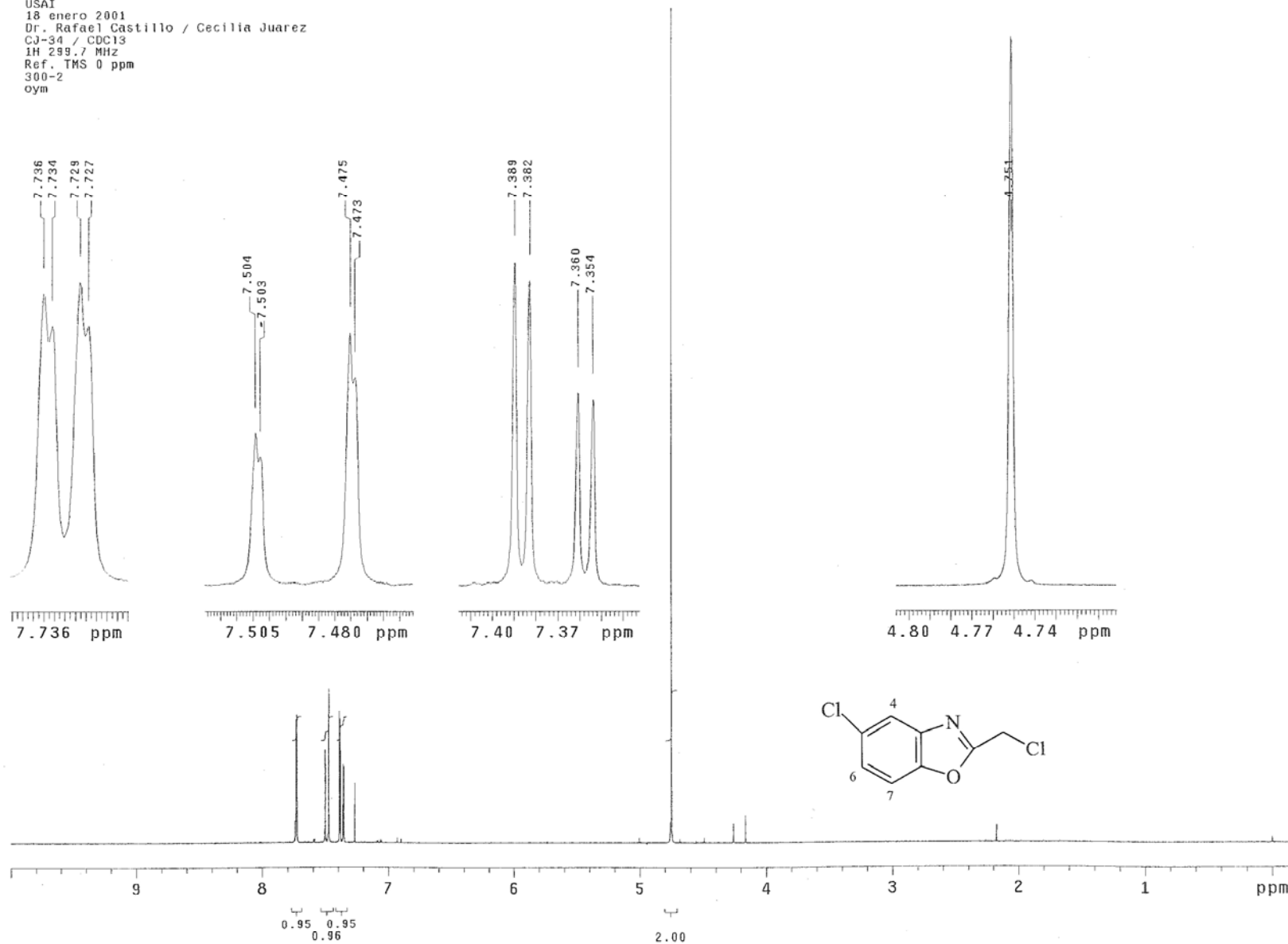
Scan# : (11,13)-(28,50)
Int. : 77.13

Temp : 21.9 deg.C

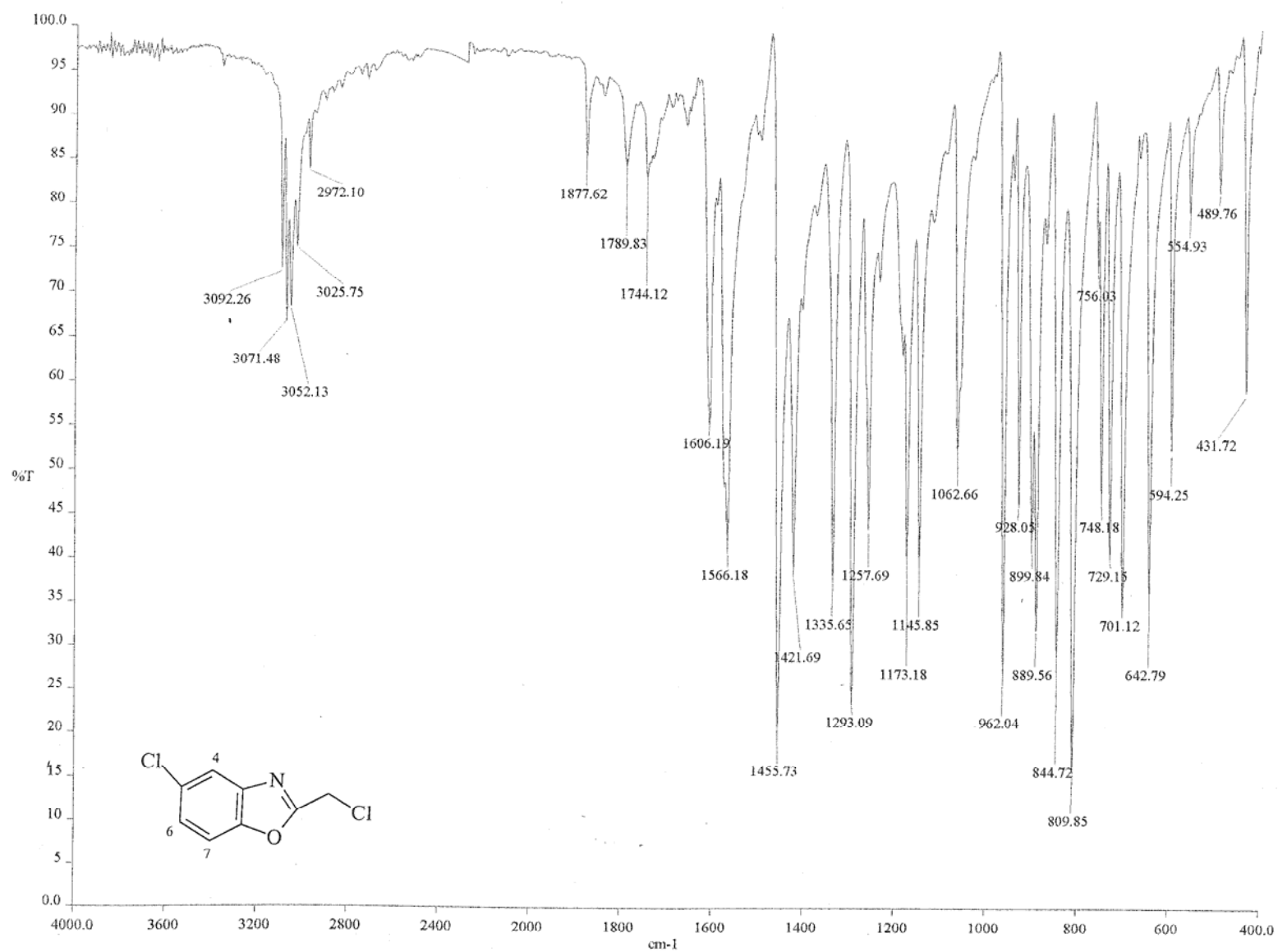


Espectro 8.3. Espectro de EM de 2-Cloro *N*-(5-cloro-2-hidroxifenil)acetamida (27).

USAI
18 enero 2001
Dr. Rafael Castillo / Cecilia Juarez
CJ-34 / CDC13
1H 299.7 MHz
Ref. TMS 0 ppm
300-2
oym



Espectro 9.1. Espectro de RMN ^1H de 5-Cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (28).



Espectro 9.2. Espectro de IR de 5-Cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (28).

[Mass Spectrum]

RT : 0.03 min

Scan# : (2,3)

Temp : 10.1 deg.C

Ion Mode : EI+

Int. : 82.64

866496

100

90

80

70

60

50

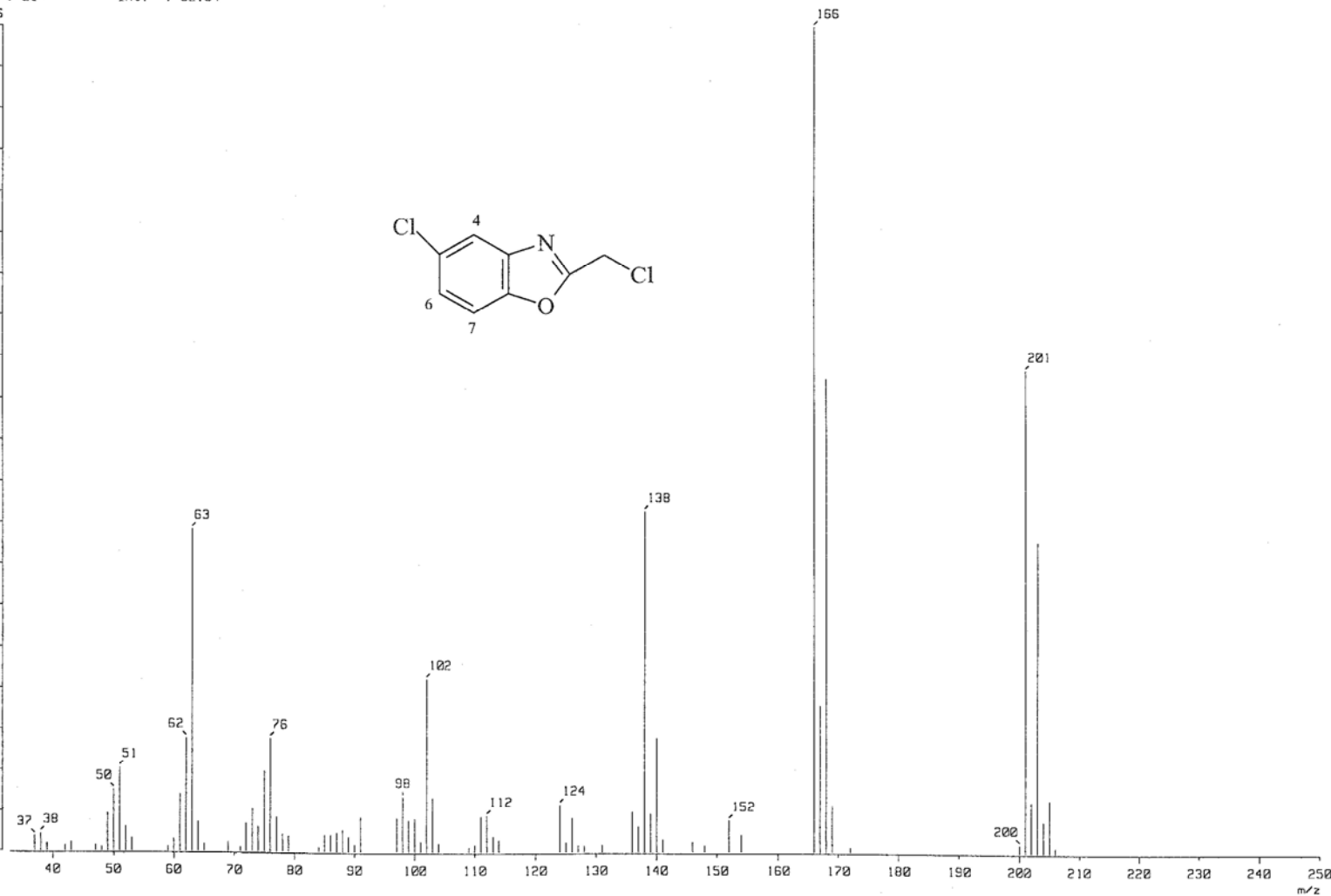
40

30

20

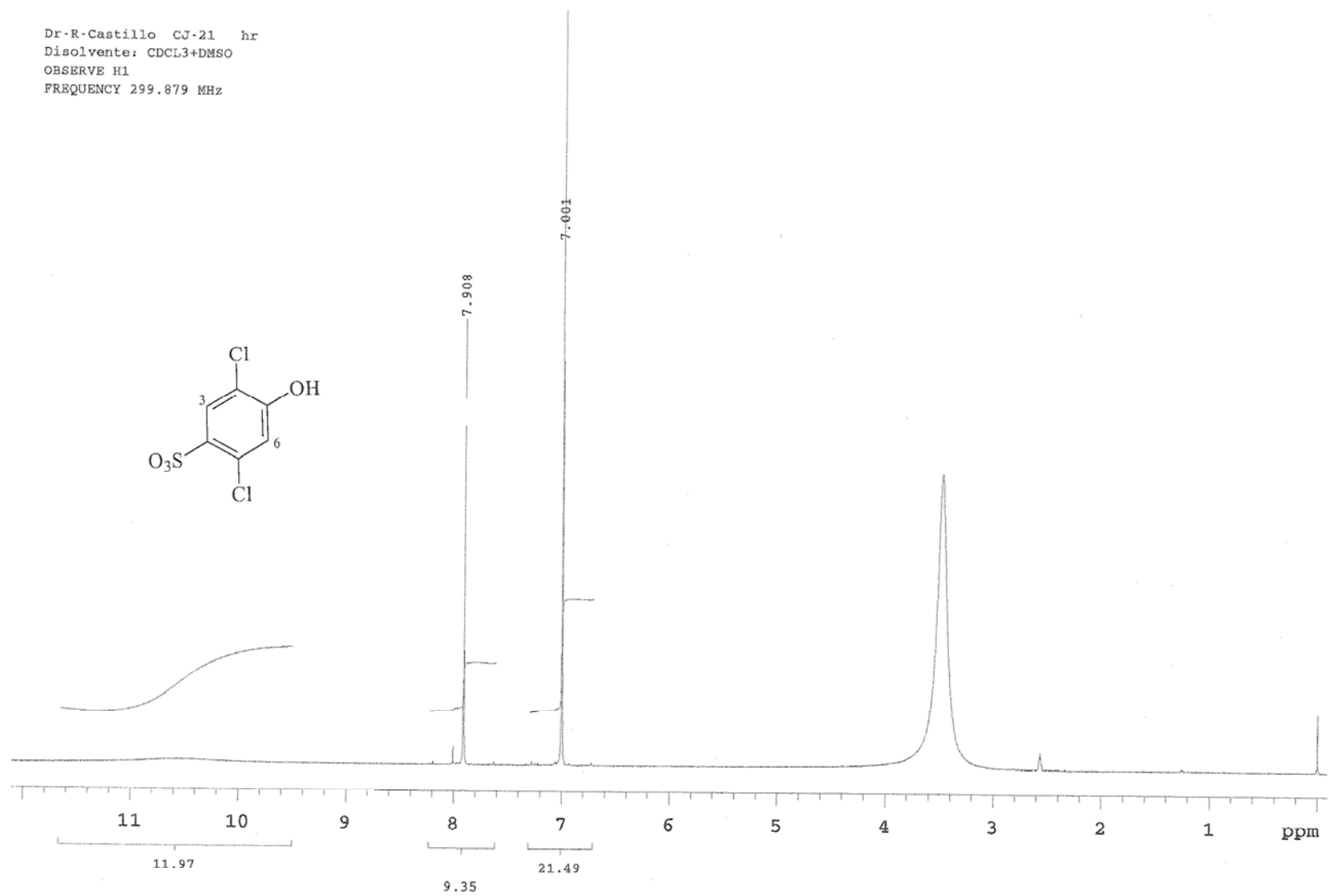
10

0

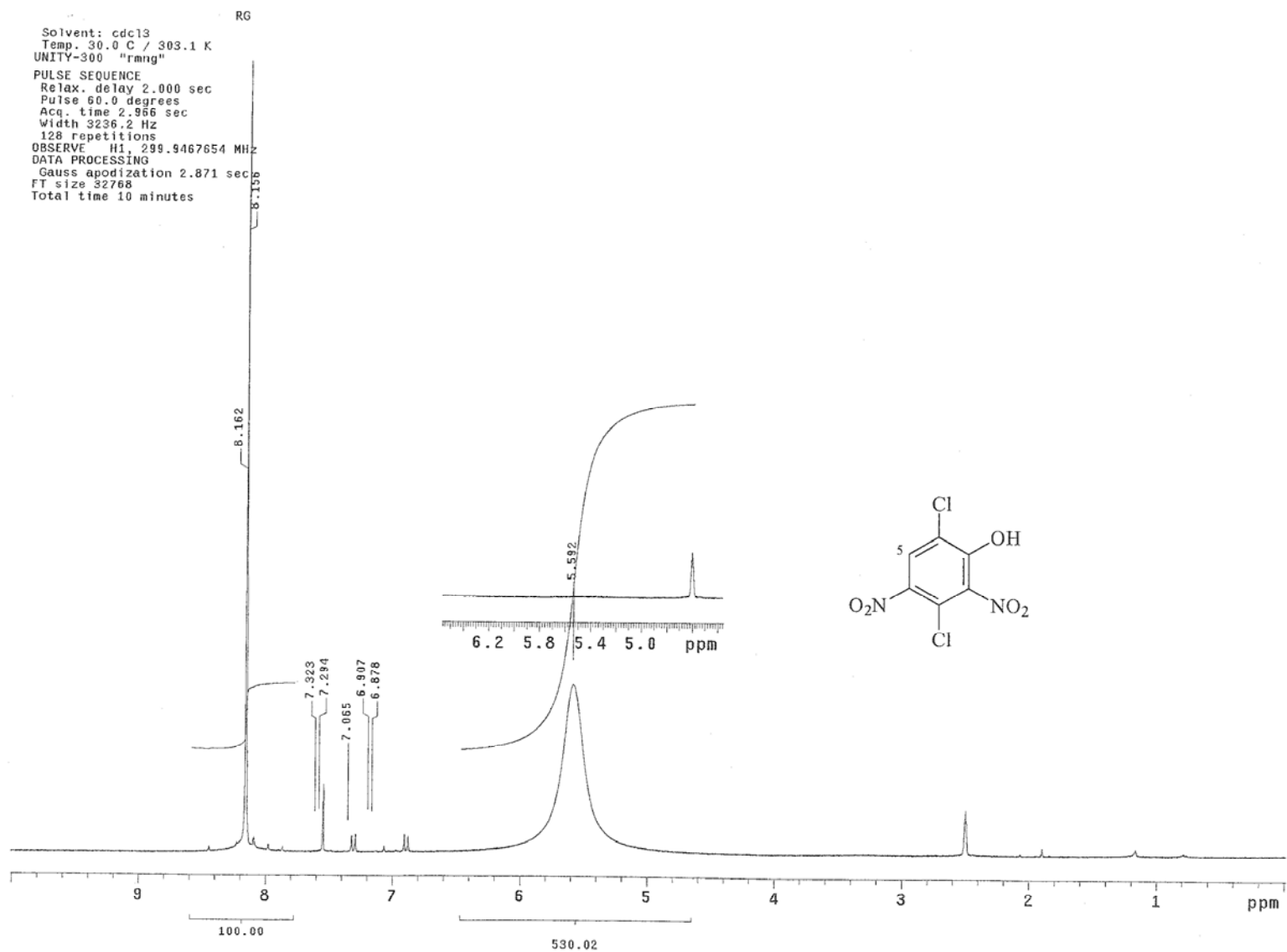


Espectro 9.3. Espectro de IR de 5-Cloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (28).

Dr-R-Castillo CJ-21 hr
Disolvente: CDCL3+DMSO
OBSERVE H1
FREQUENCY 299.879 MHz

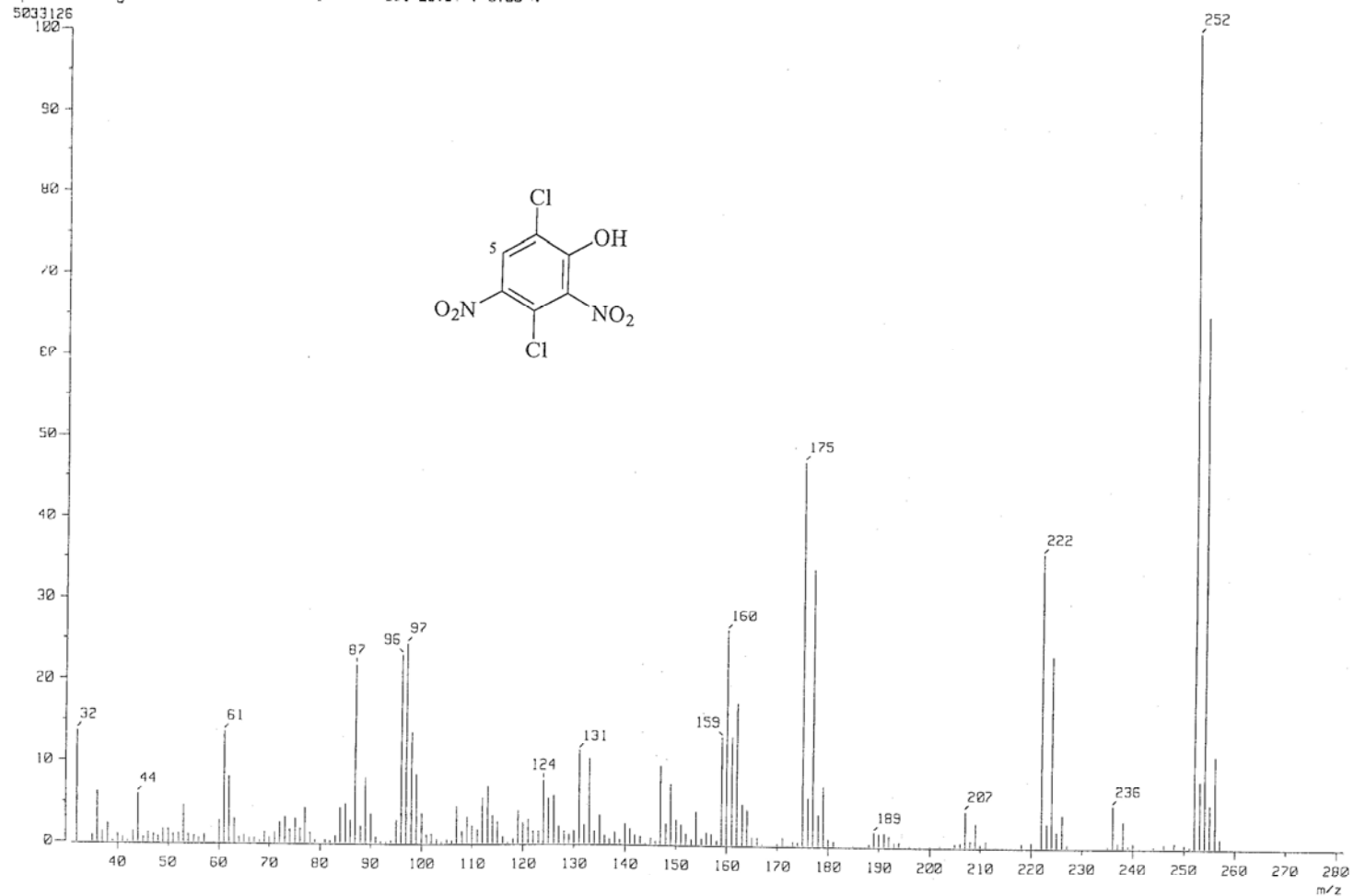


Espectro 10.1. Espectro RMN 1H del ácido 2,5-Dicloro-4-hidroxibencensulfónico (30).



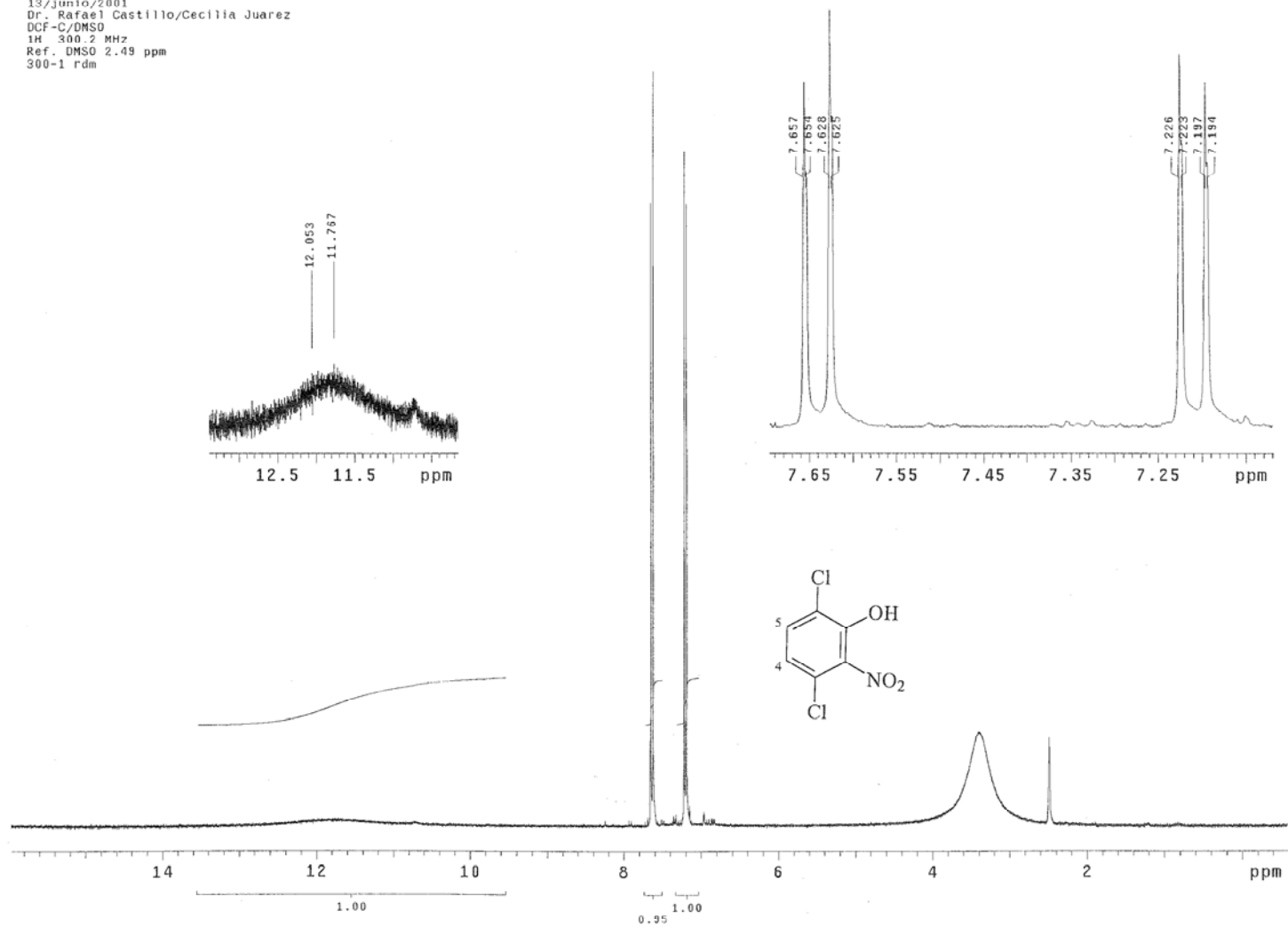
Espectro 11.1. Espectro de RMN de ^1H de 3,6-Dicloro-2,4-dinitrofenol (30a).

[Mass Spectrum]
Data : Dr-Castillo-Rafael-052 Date : 06-Sep-98 12:08
Sample: CJ-23
Note : -
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.49 min Scan# : (13,22) Temp : 268.9 deg.C
BP : m/z 252.0000 Int. : 480.00
Output m/z range : 30.8605 to 281.3056 Cut Level : 0.00 %



Espectro 11.2. Espectro de EM de 3,6-Dicloro-2,4-dinitrofenol (30a).

USAI
13/Junio/2001
Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
DCF-C/DMSO
1H 300.2 MHz
Ref. DMSO 2.49 ppm
300-1 rdm



Espectro 12.1. Espectro de RMN ^1H de 3,6-Dicloro-2-nitrofenol (32).

[Mass Spectrum]

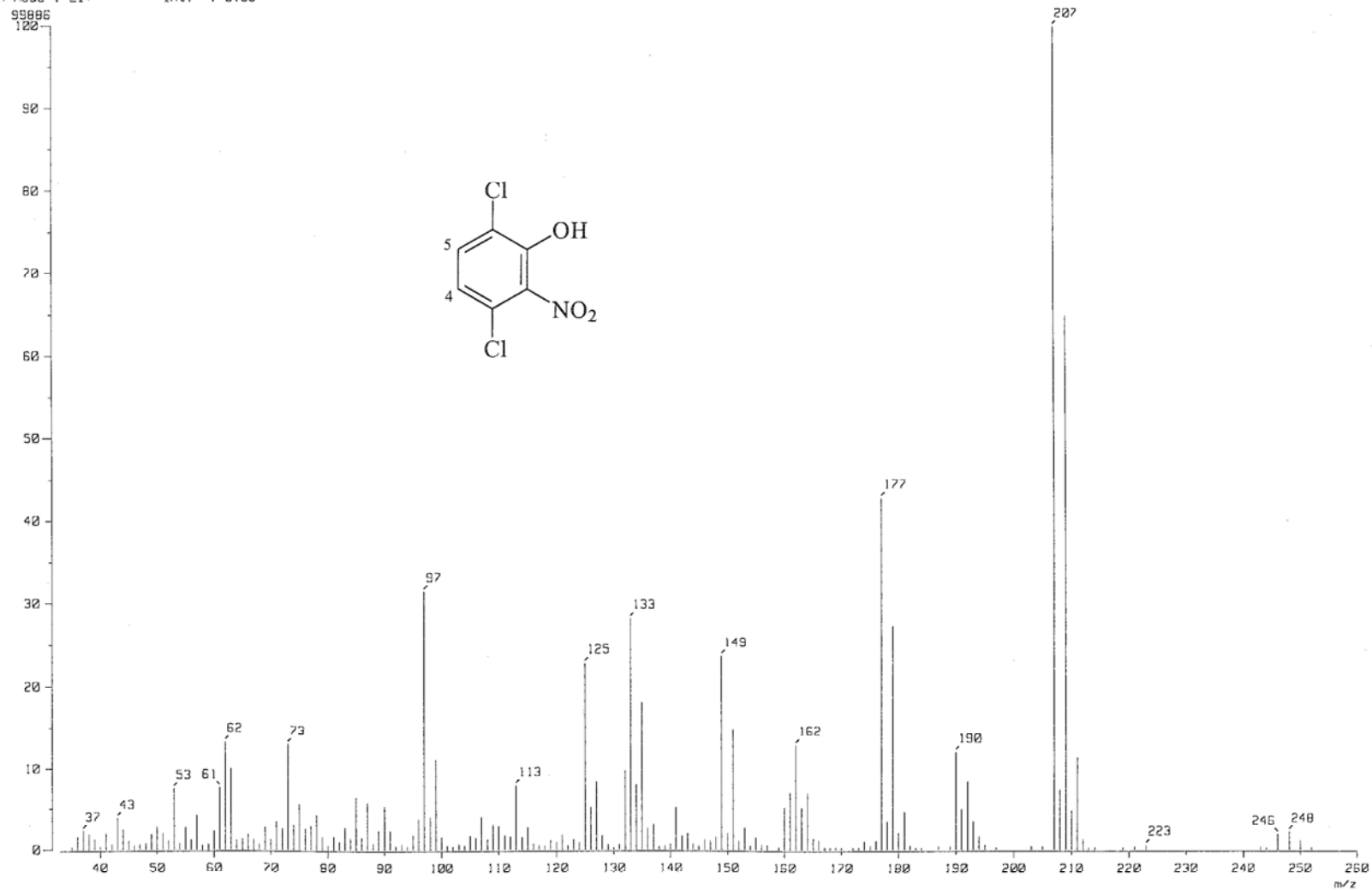
RT : 0.00 min

Scan# : (1,2)

Temp : 21.4 deg.C

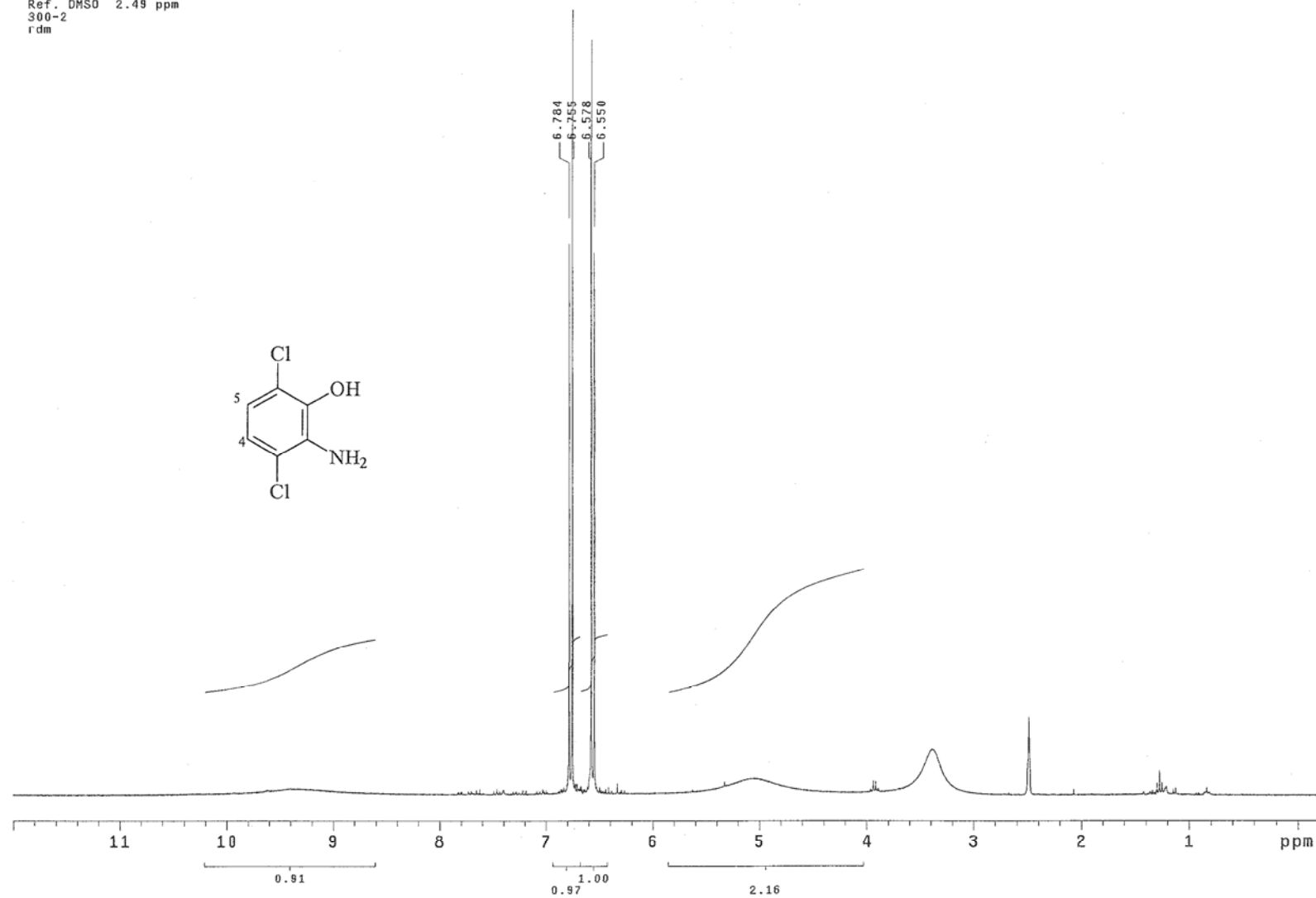
Ion Mode : EI+

Int. : 9.53

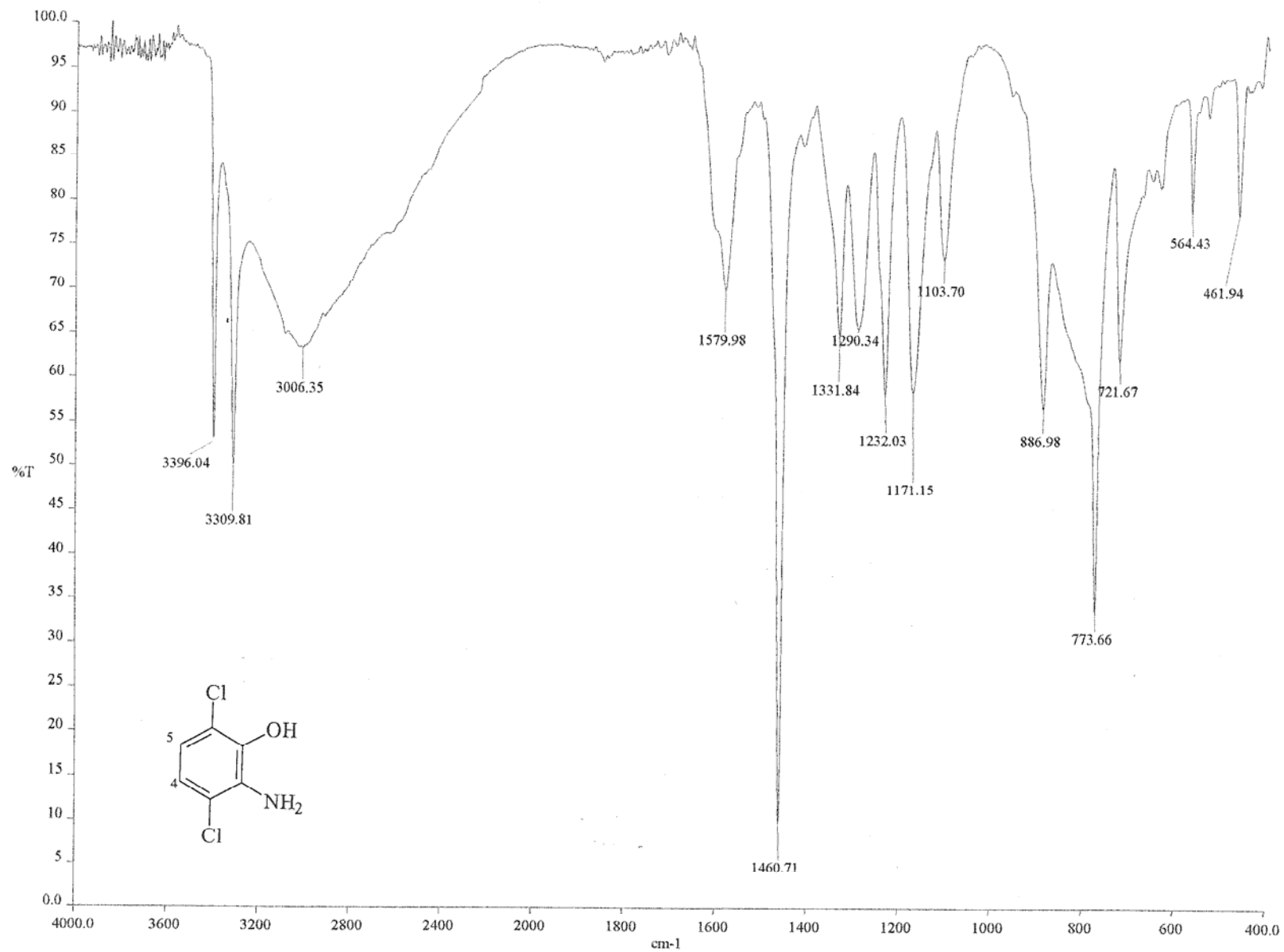


Espectro 12.3. Espectro de EM de **3,6-Dicloro-2-nitrofenol (32)**.

USAI
11/DICIEMBRE/2000
Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarex
BZ-1/DMSO
1H 299.7 MHz
Ref. DMSO 2.49 ppm
300-2
rdm



Espectro 13.1. Espectro de RMN ^1H de 2-Amino-3,6-diclorofenol (33).

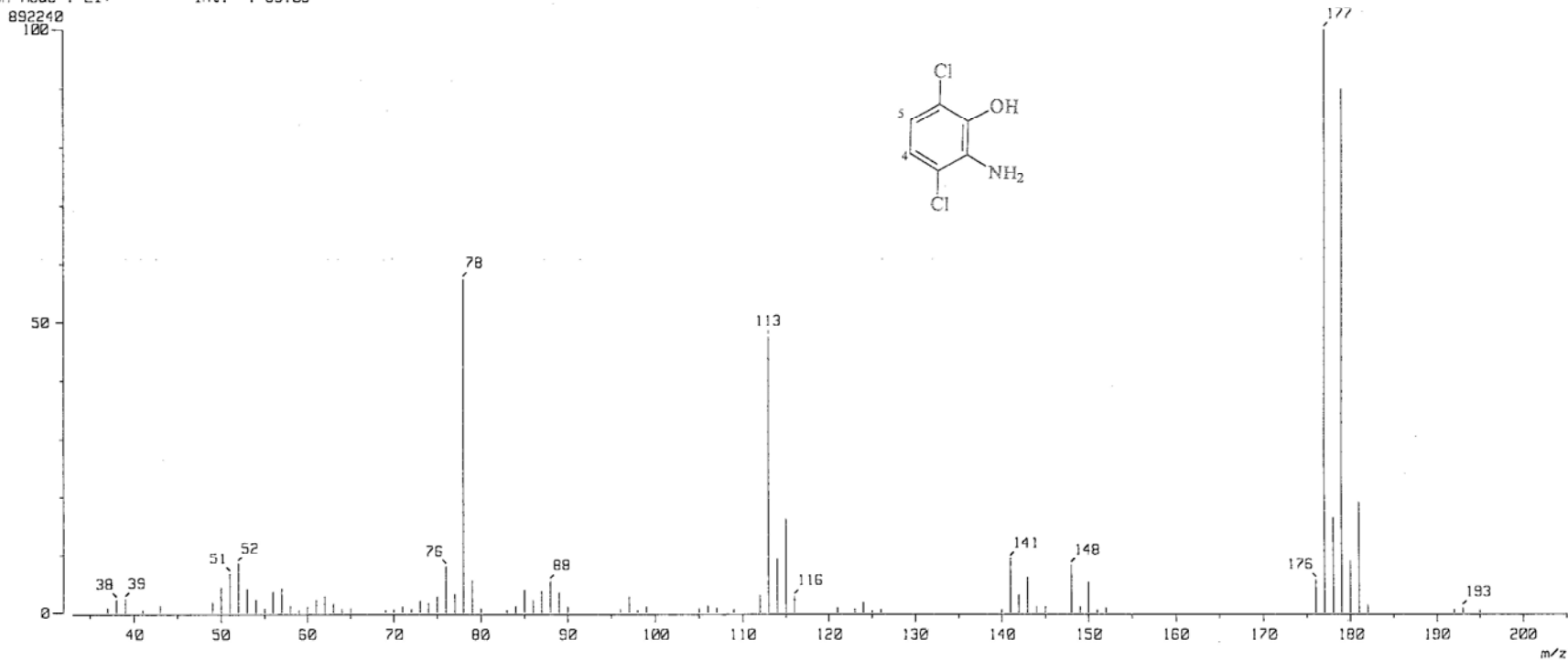


Espectro 13.2. Espectro de IR de **2-Amino-3,6-diclorofenol (33)**.

[Mass Spectrum]
RT : 0.20 min
Ion Mode : EI+

Scan# : (1,2)
Int. : 85.09

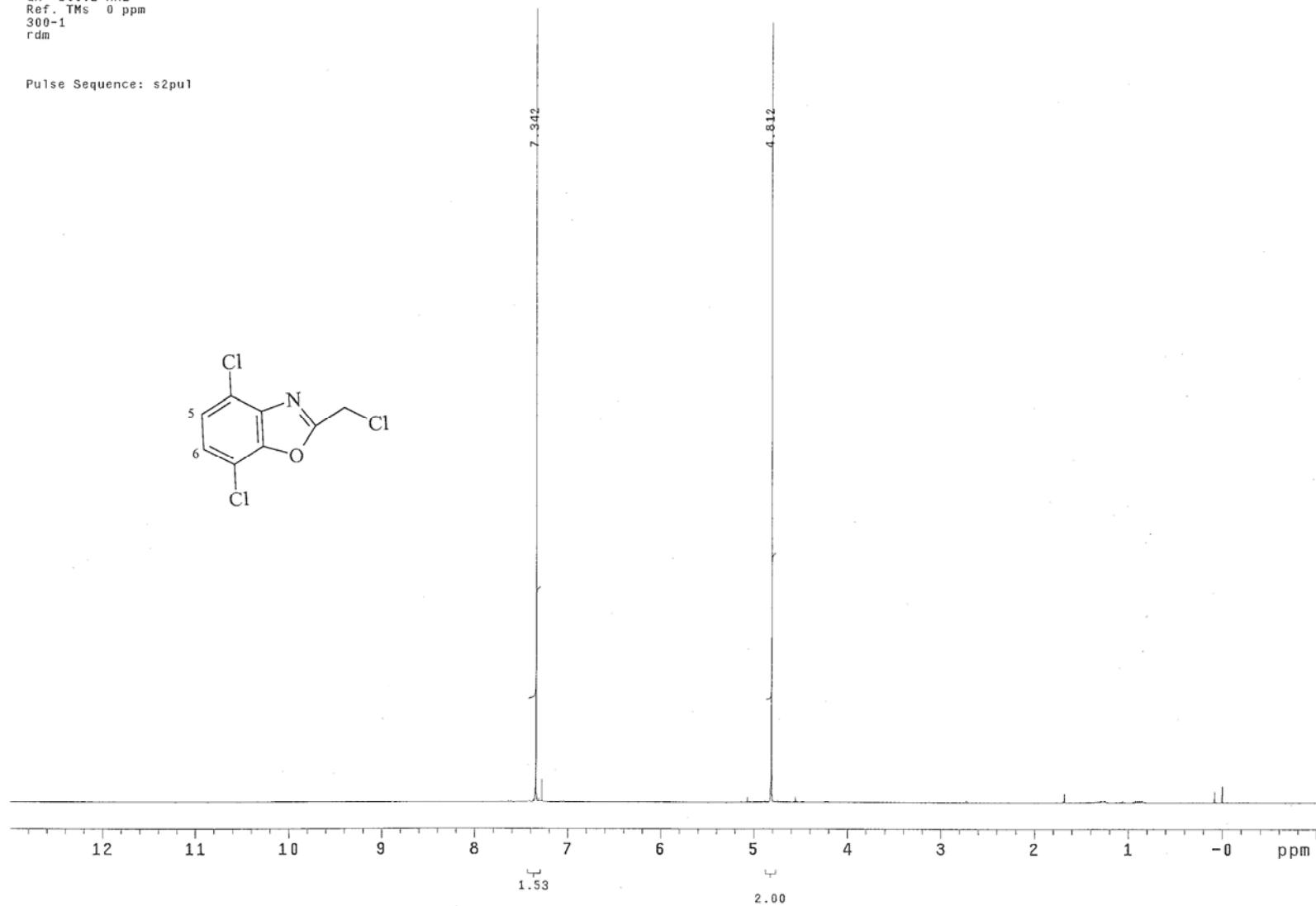
Temp : 6.4 deg.C



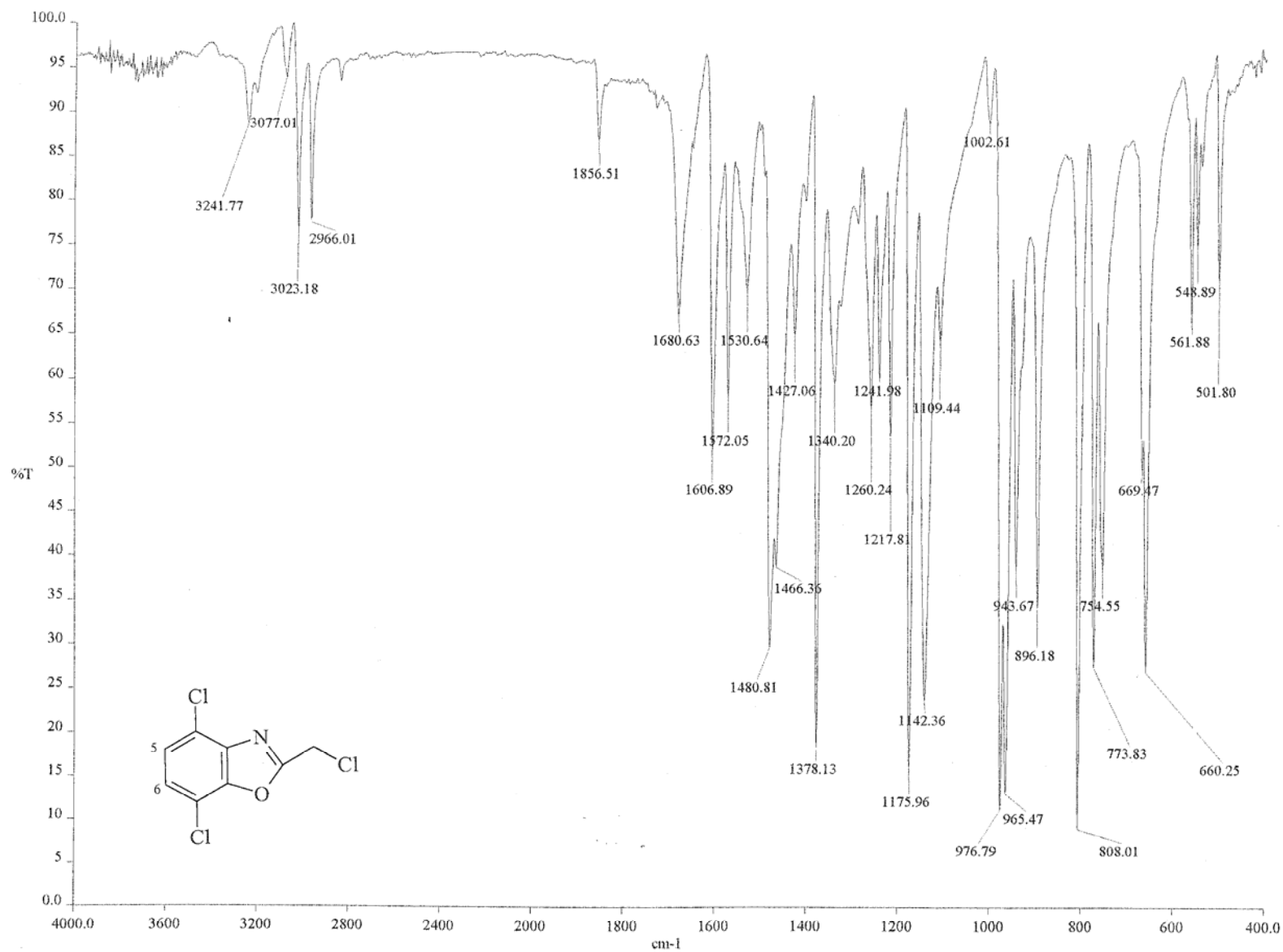
Espectro 13.3. Espectro 11.0 Espectro de EM de 2-Amino-3,6-diclorofenol (33).

USAI
03/FEBRERO/2000
DR. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
CJ-26/CDC13
1H 300.2 MHz
Ref. TMs 0 ppm
300-1
rdm

Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 14.1. Espectro de RMN ¹H de **4,7-Dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (35)**.

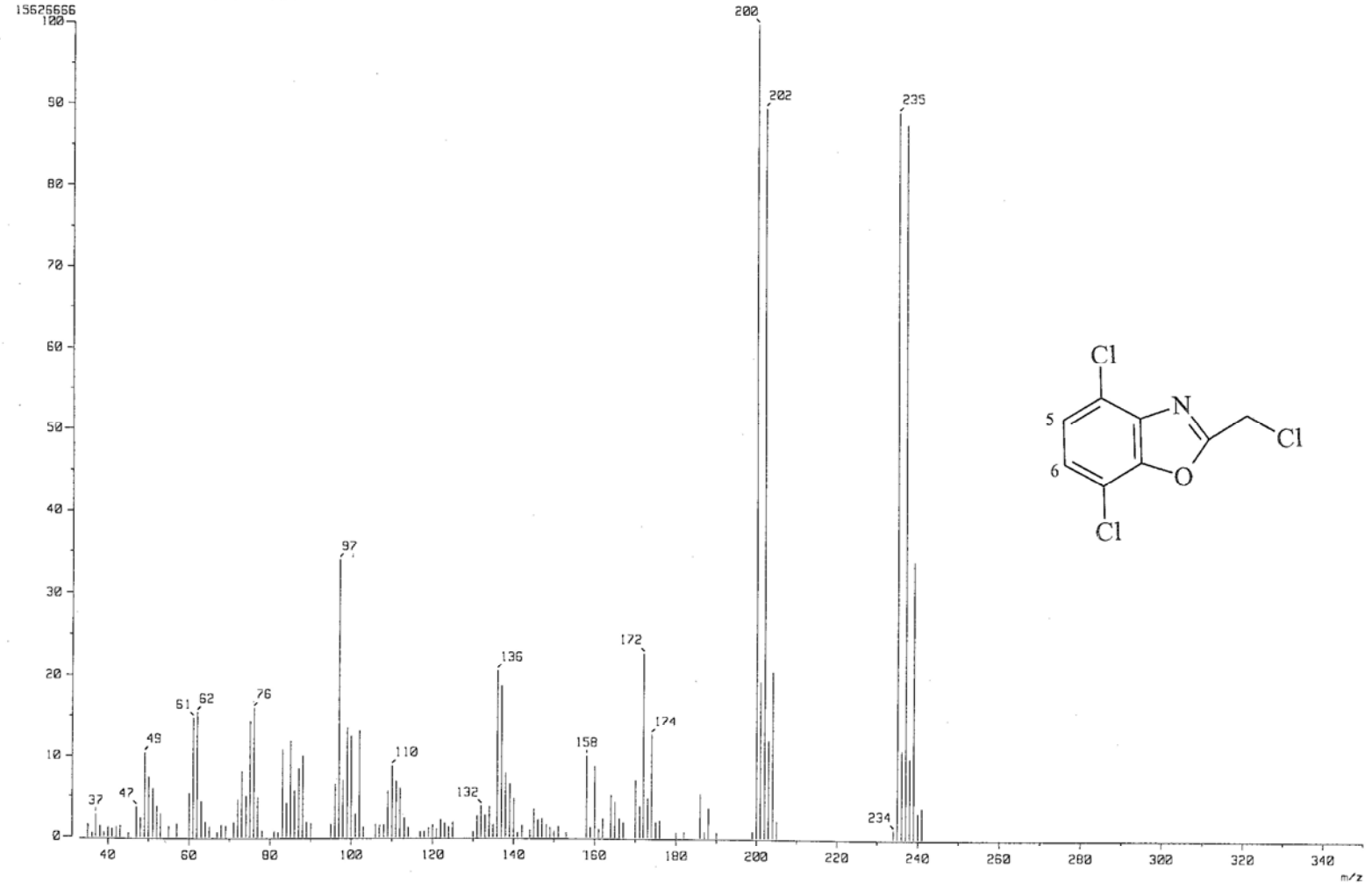


Espectro 14.2. Espectro de IR de **4,7-Dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (35)**.

[Mass Spectrum]
RT : 0.25 min
Ion Mode : EI+

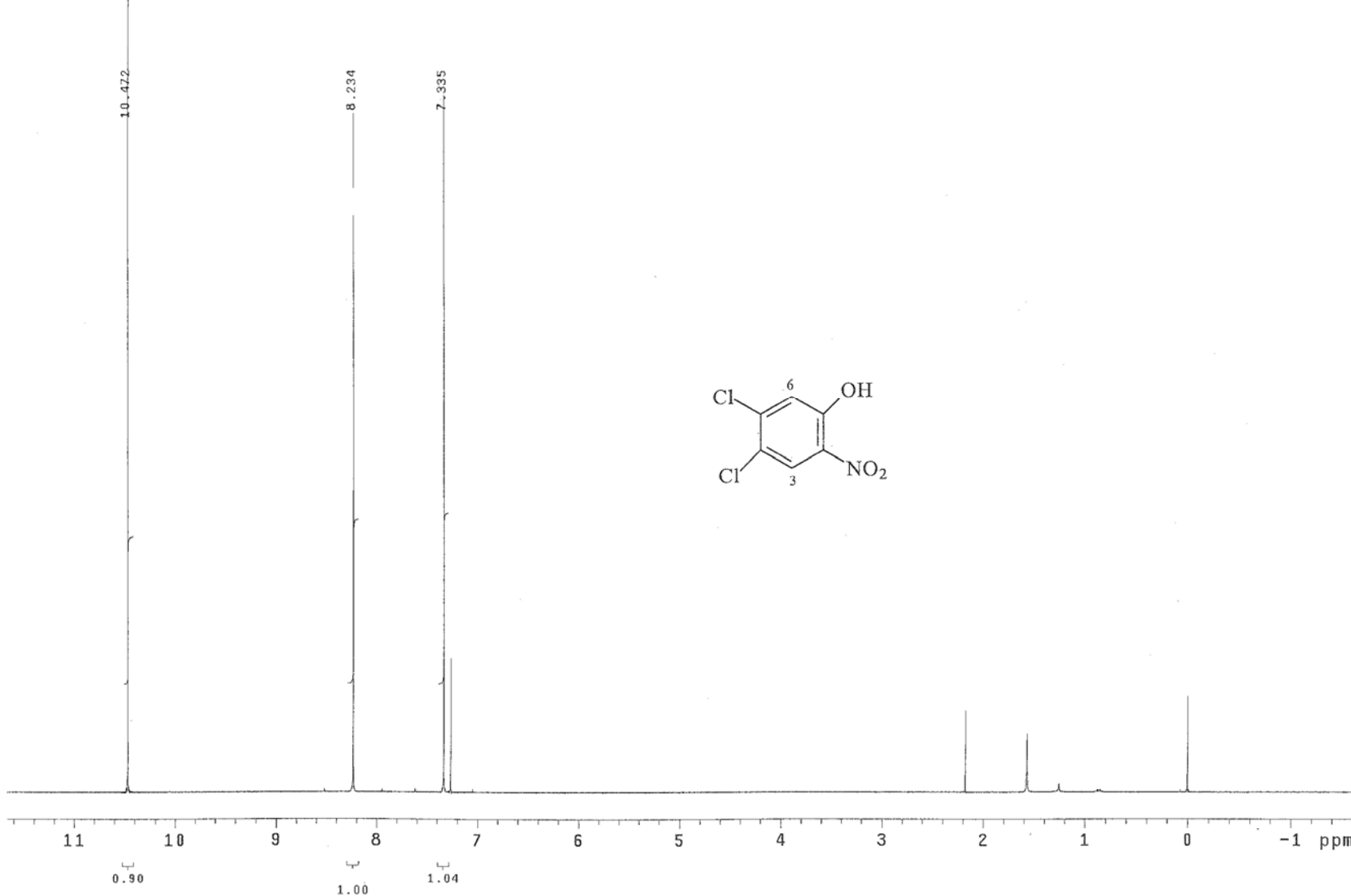
Scan# : (8,13)
Int. : 1450.28

Temp : 18.5 deg.C

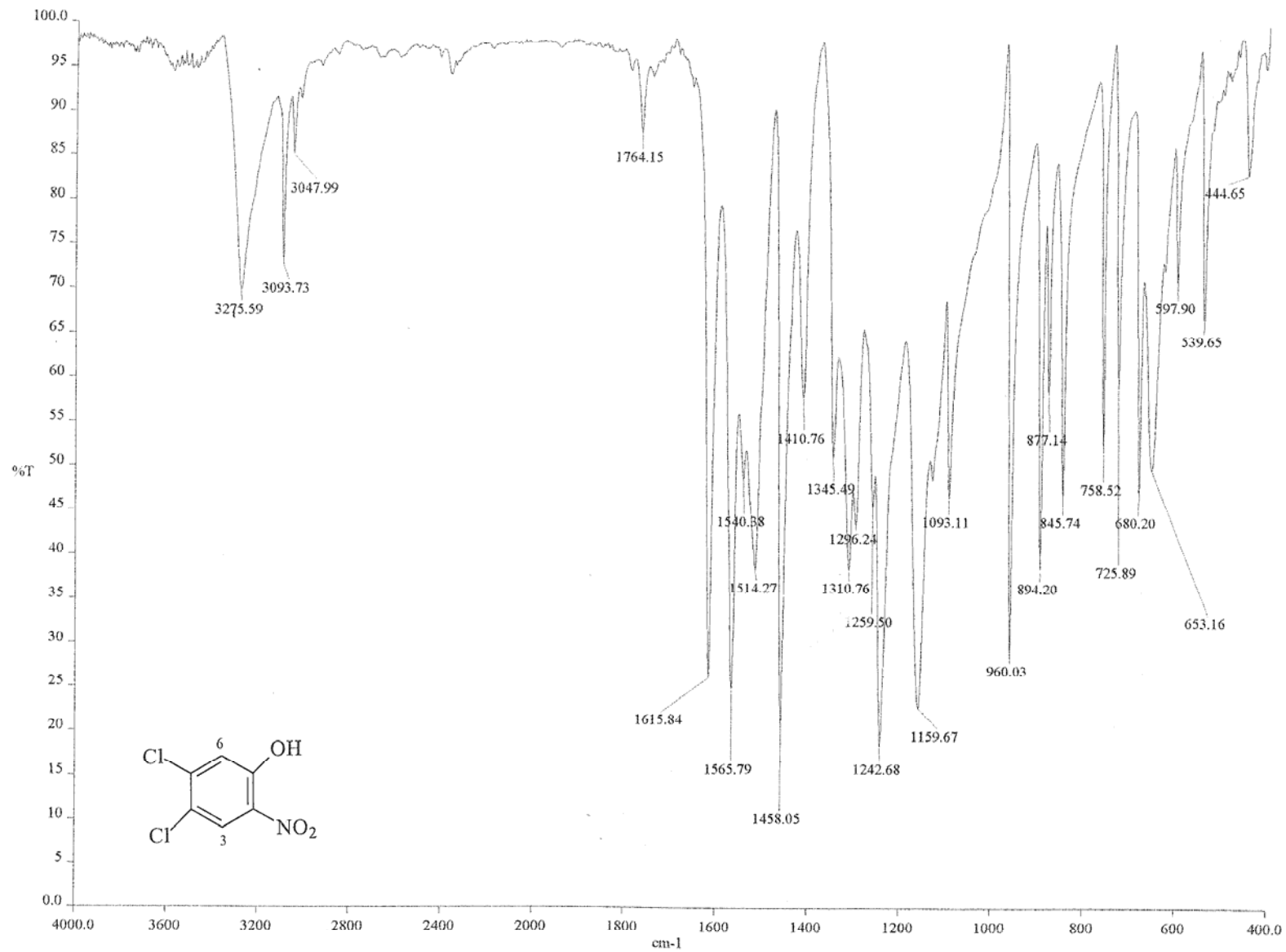


Espectro 14.3. Espectro de EM de **4,7-Dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (35)**.

USAI
30/OCTUBRE/2001
Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
CJ-30/CDC13
1H 299.7 MHz
Ref. DMSO 2.49 ppm
300-2
rdm

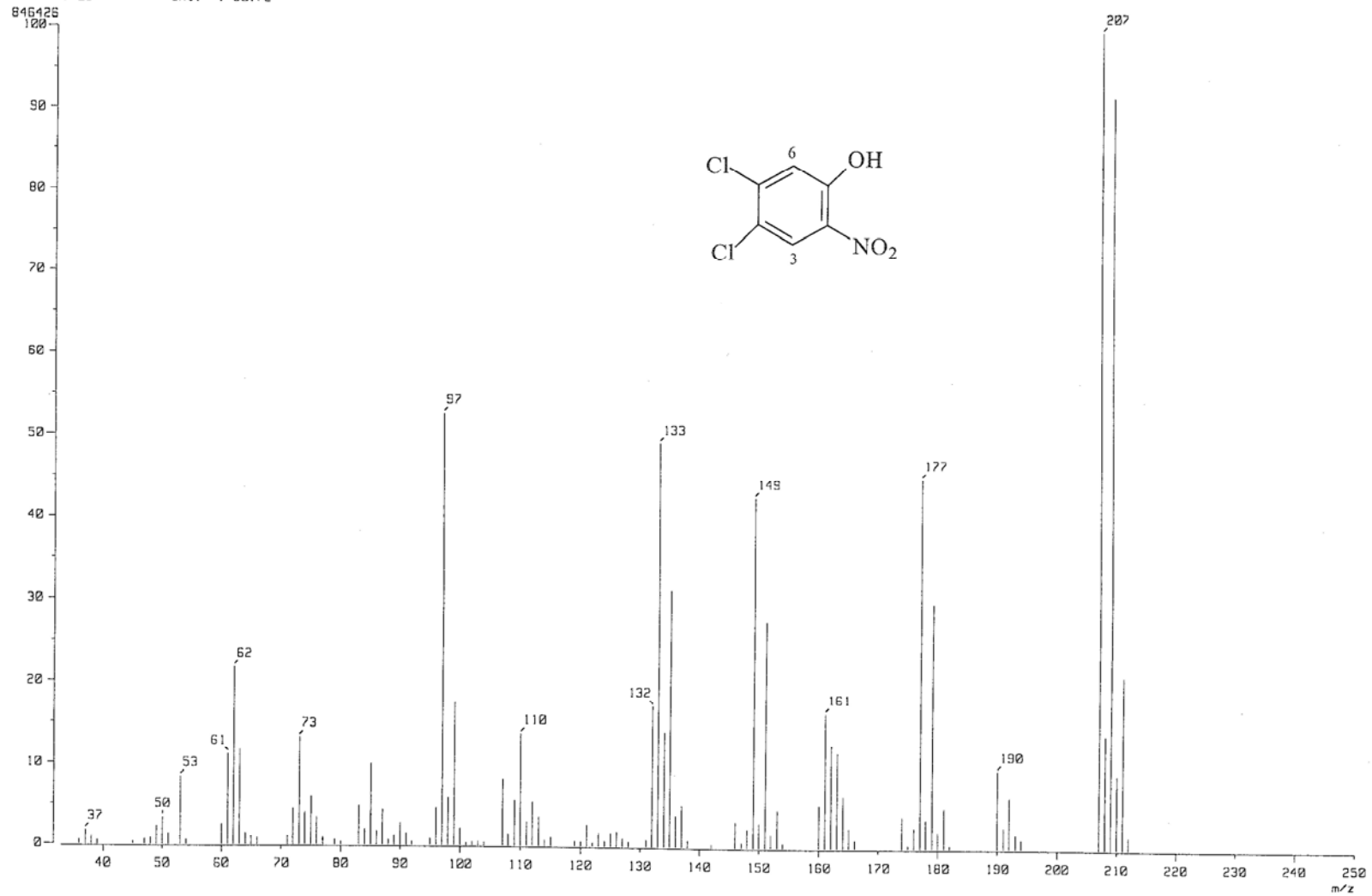


Espectro15.1. Espectro de RMN ¹H de 4,5-Dicloro-2-nitrofenol (37).



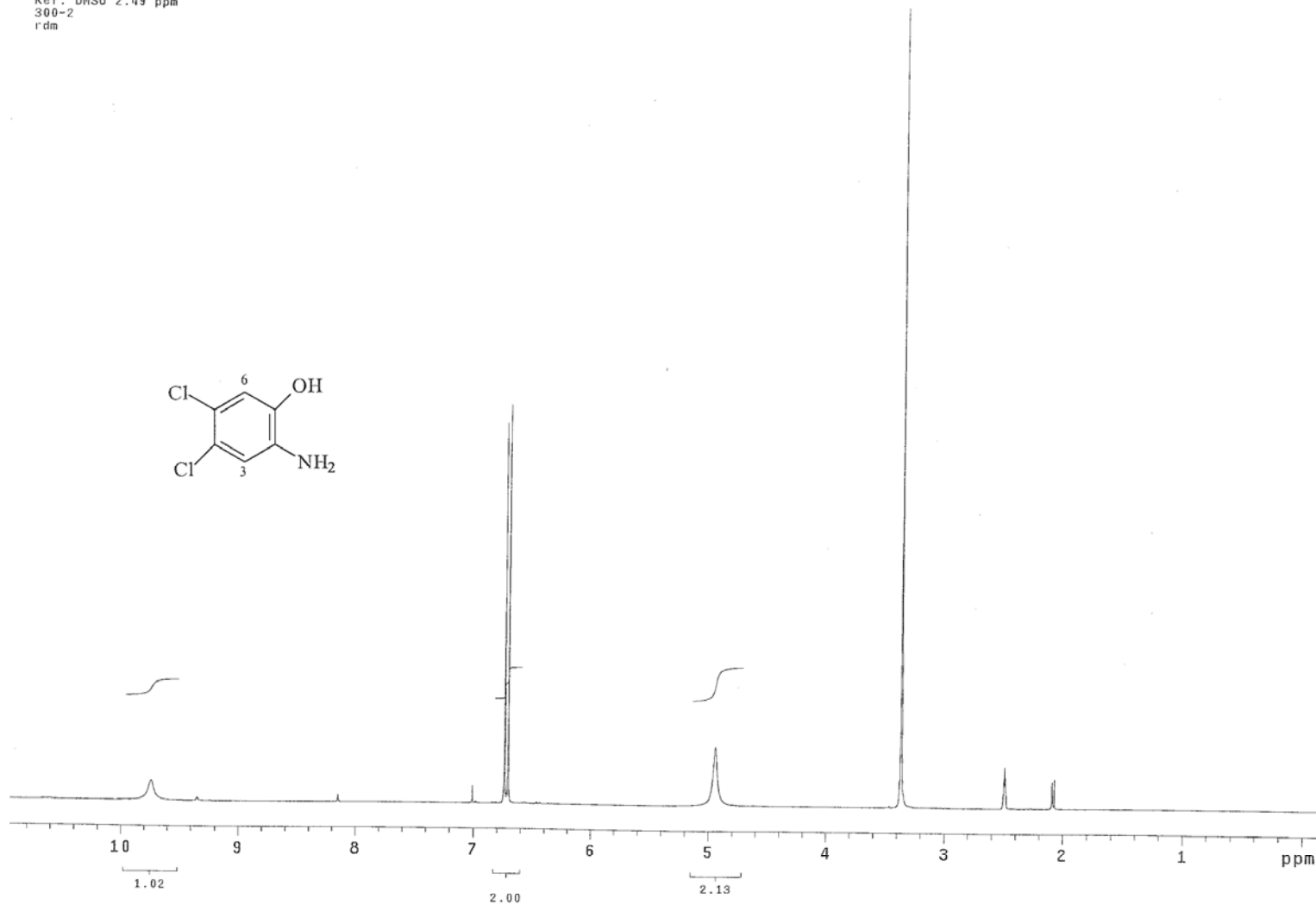
Espectro 15.2. Espectro de IR de 4,5-Dicloro-2-nitrofenol (37).

[Mass Spectrum]
RT : 9.54 min Scan# : 347-(411,532)-(228,29... Temp : 31.1 deg.C
Ion Mode : EI+ Int. : 80.72

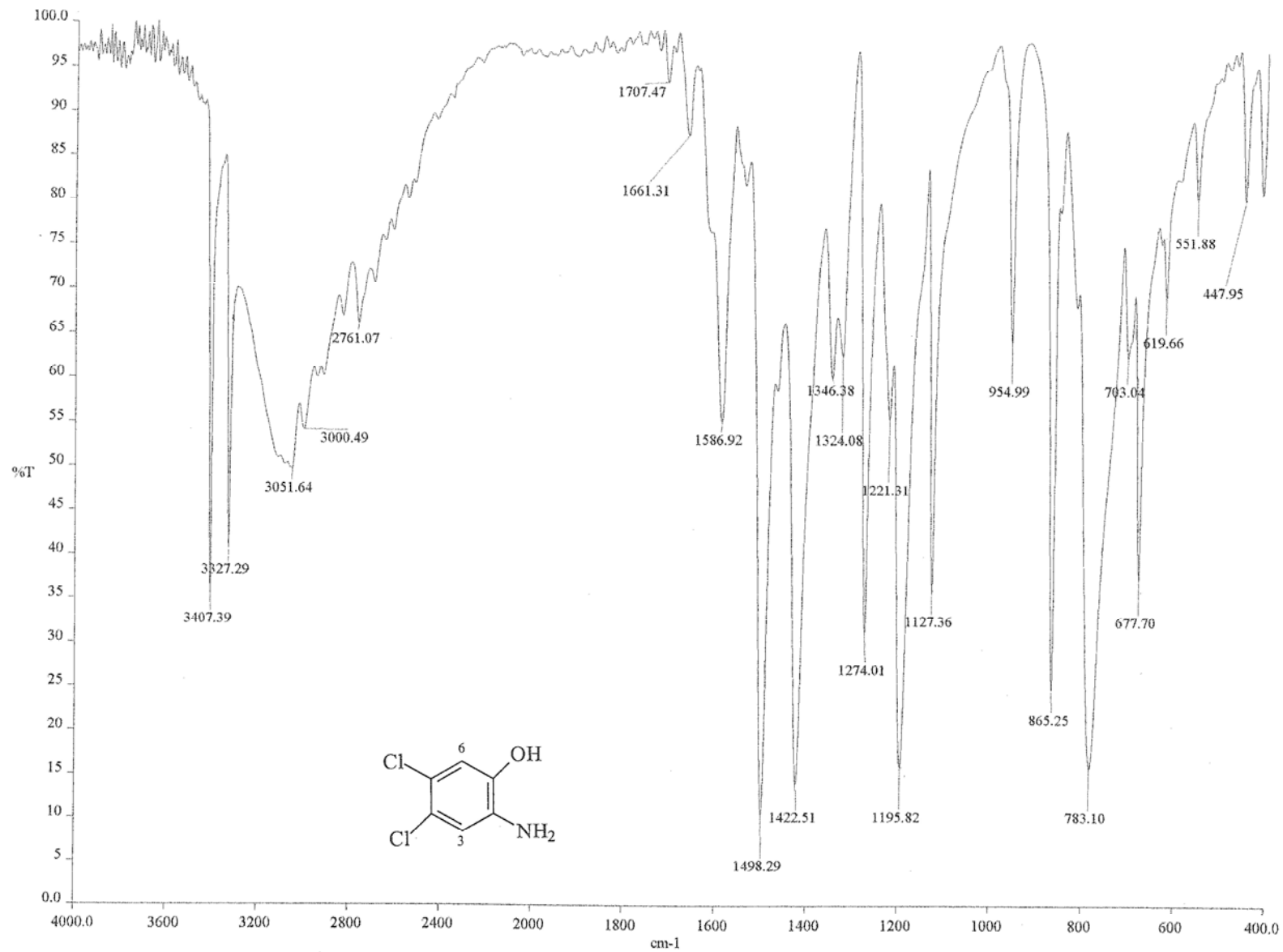


Espectro 15.3. Espectro de **4,5-Dicloro-2-nitrofenol (37)**.

USAI
30/OCTUBRE/2001
Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
CJ-31/DMSO
1H 299.7 MHz
Ref. DMSO 2.49 ppm
300-2
rdm

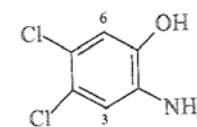
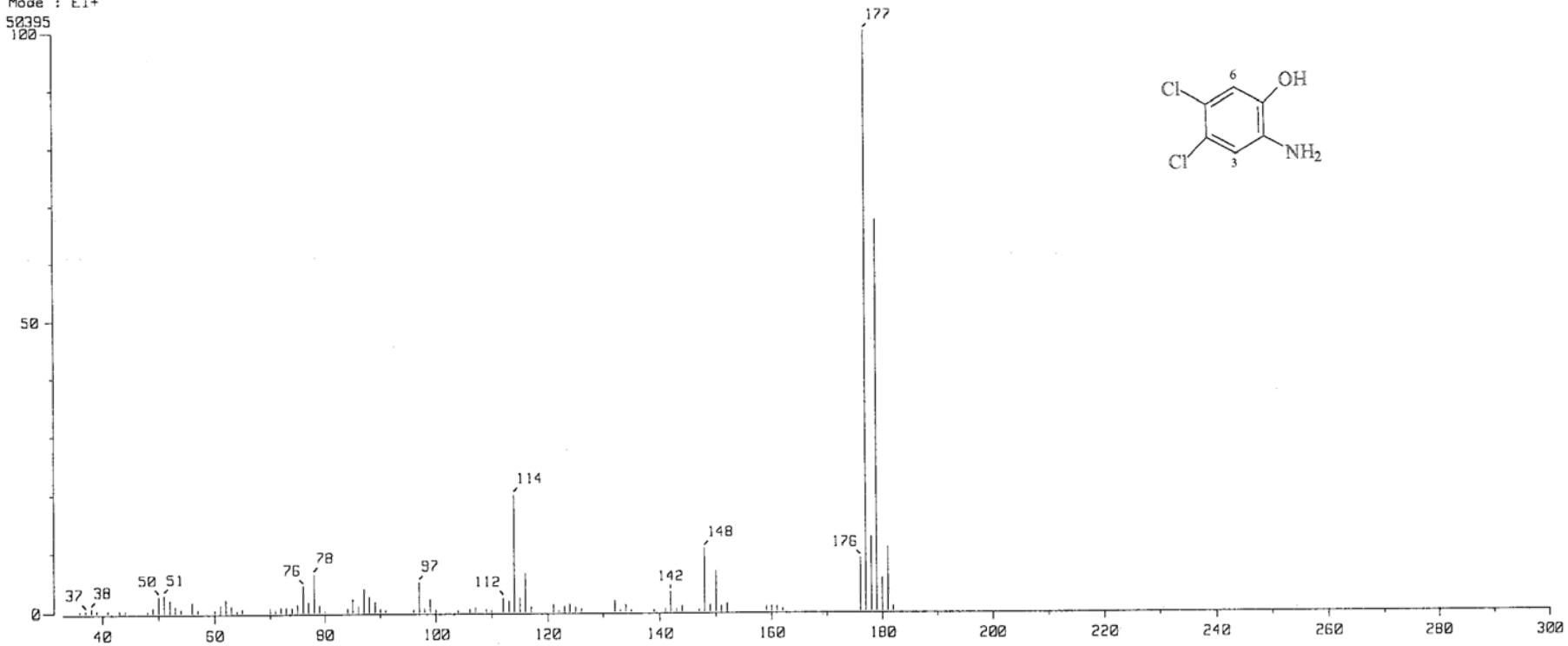


Espectro 16.1. Espectro de RMN ¹H de 2-Amino-4,5-diclorofenol (38).



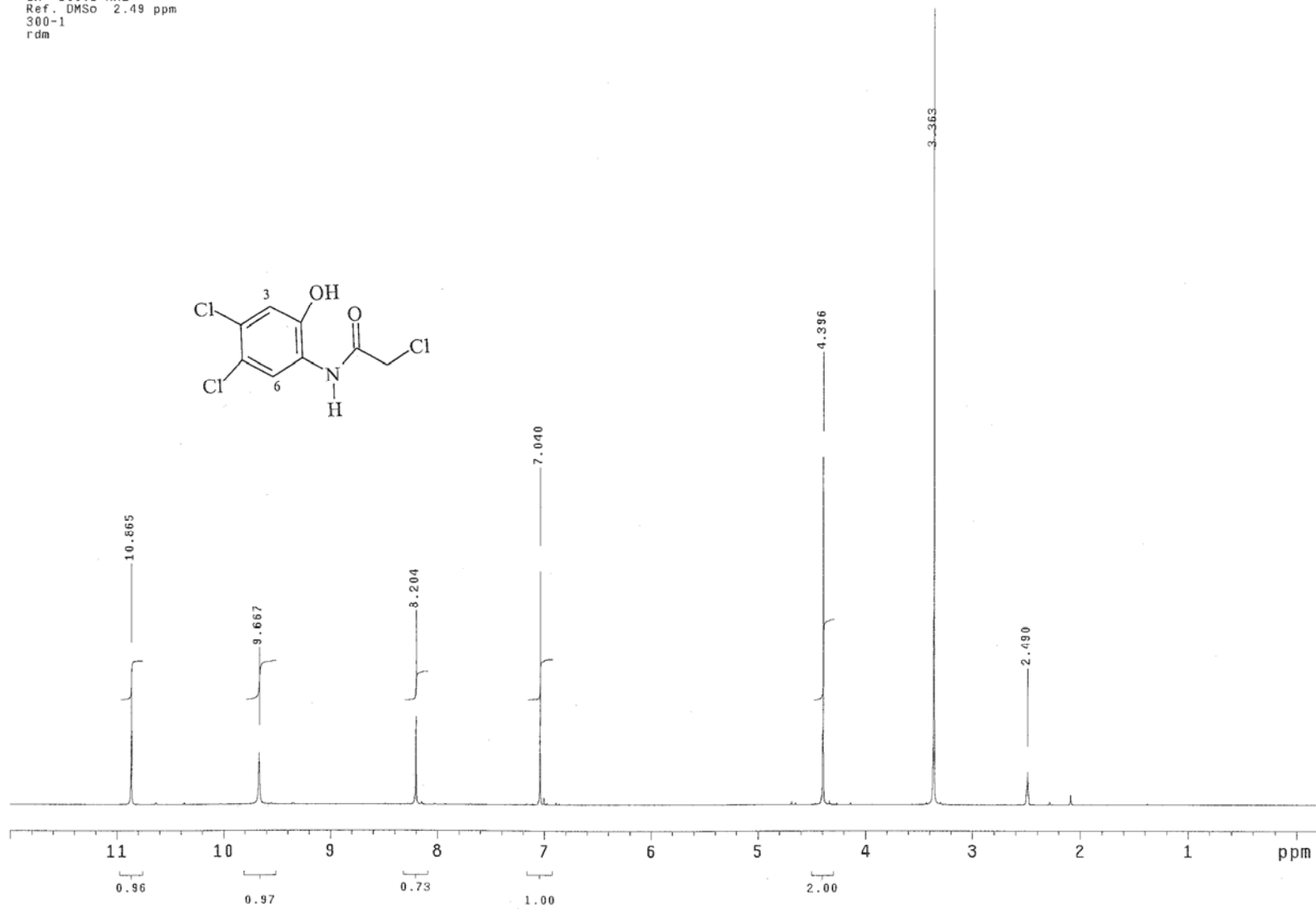
Espectro 16.2. Espectro de IR de 2-Amino-4,5-diclorofenol (38).

[Mass Spectrum]
RT : 12.92 min
Ion Mode : EI+

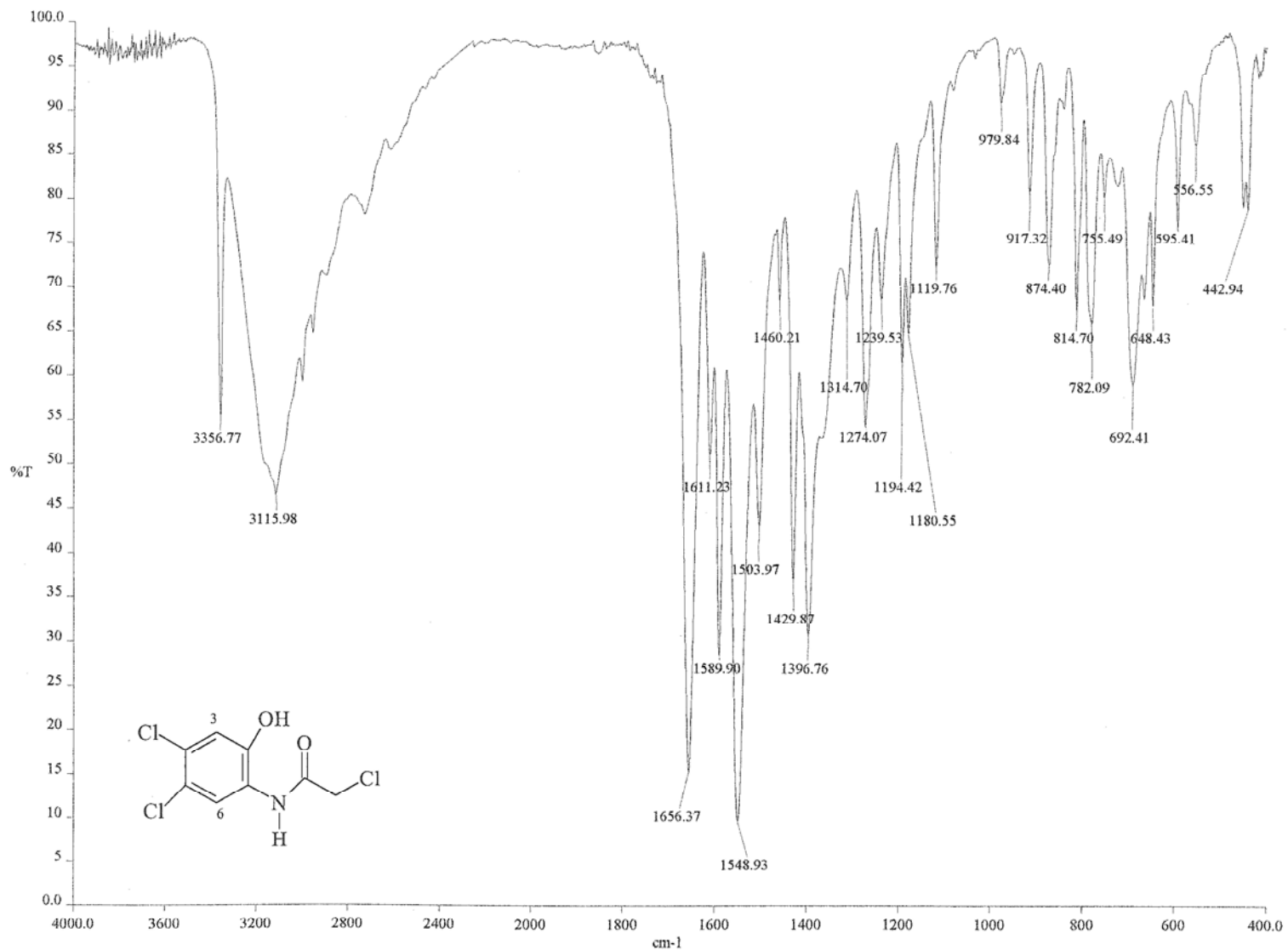


Espectro 16.3. Espectro de IR de **2-Amino-4,5-diclorofenol (38)**.

USA1
28/ENERO/2002
Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
CJ-35/DMSO
1H 300.2 MHz
Ref. DMSO 2.49 ppm
300-1
rdm



Espectro 17.1. Espectro de RMN ¹H de 2-Cloro-N-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (39).

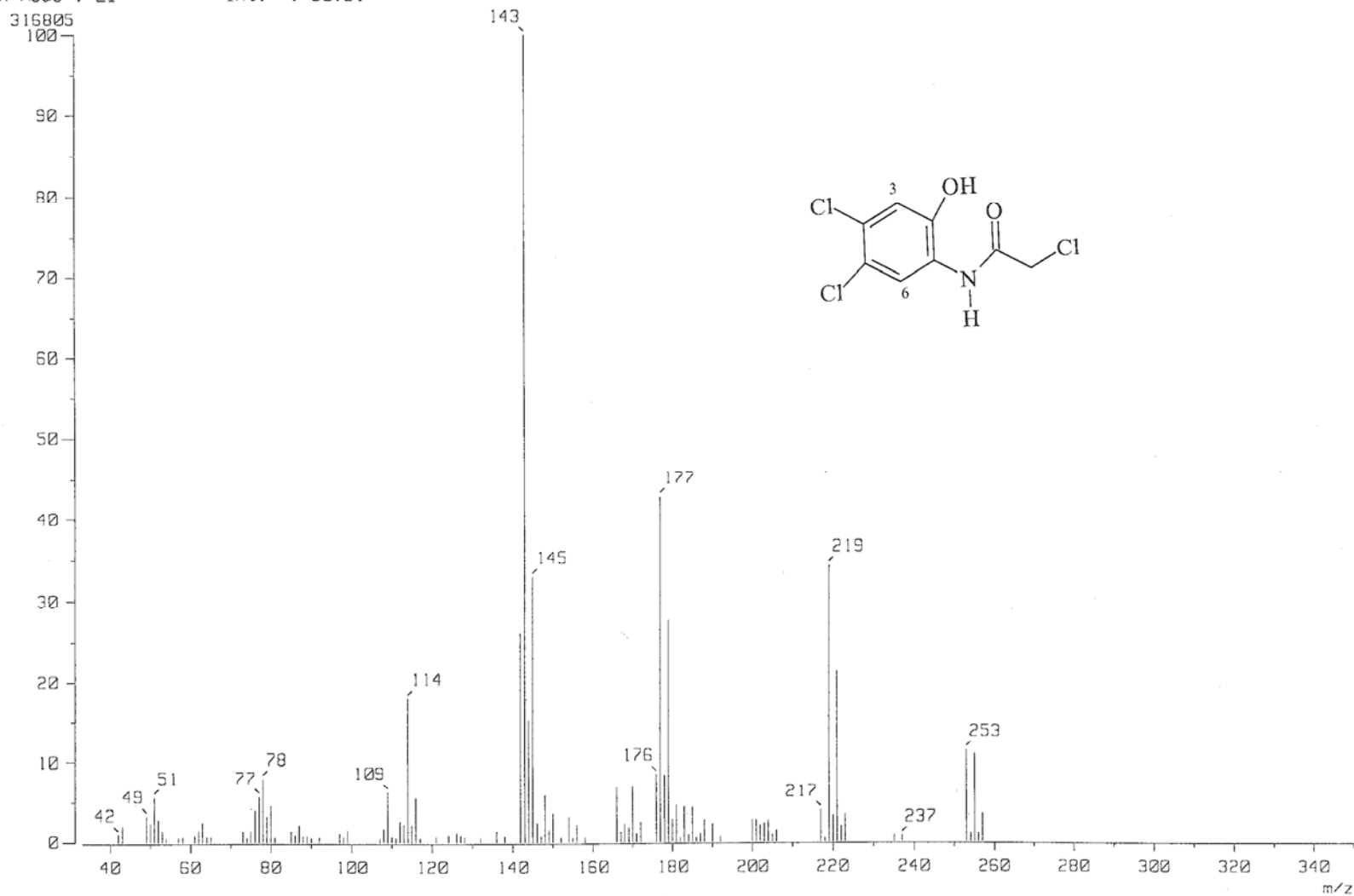


Espectro 17.2. Espectro de IR de 2-Cloro-N-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (39).

.ss Spectrum]
RT : 0.33 min
Ion Mode : EI+

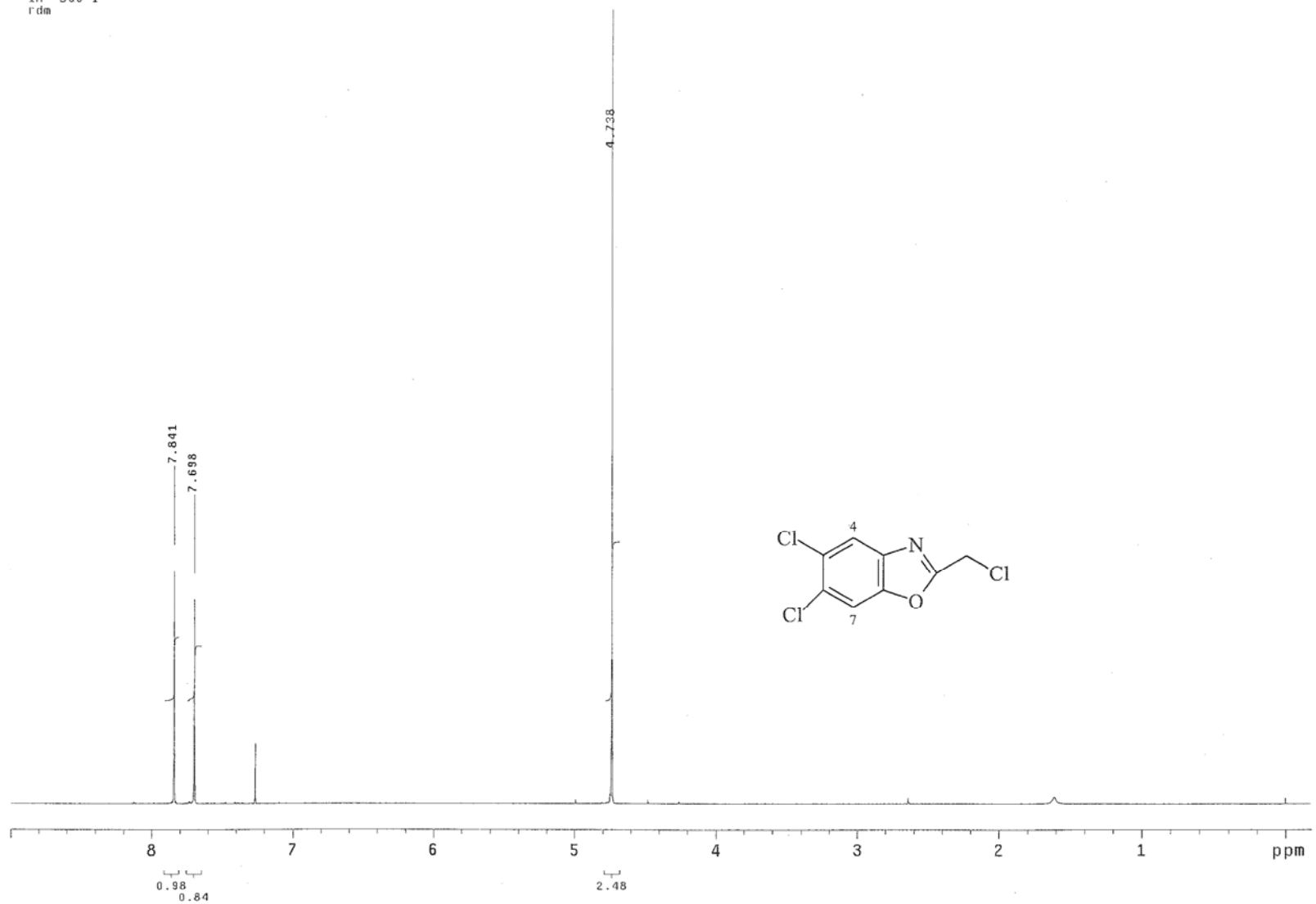
Scan# : (12,14)-(64,128)
Int. : 30.21

Temp : 22.5 deg.C

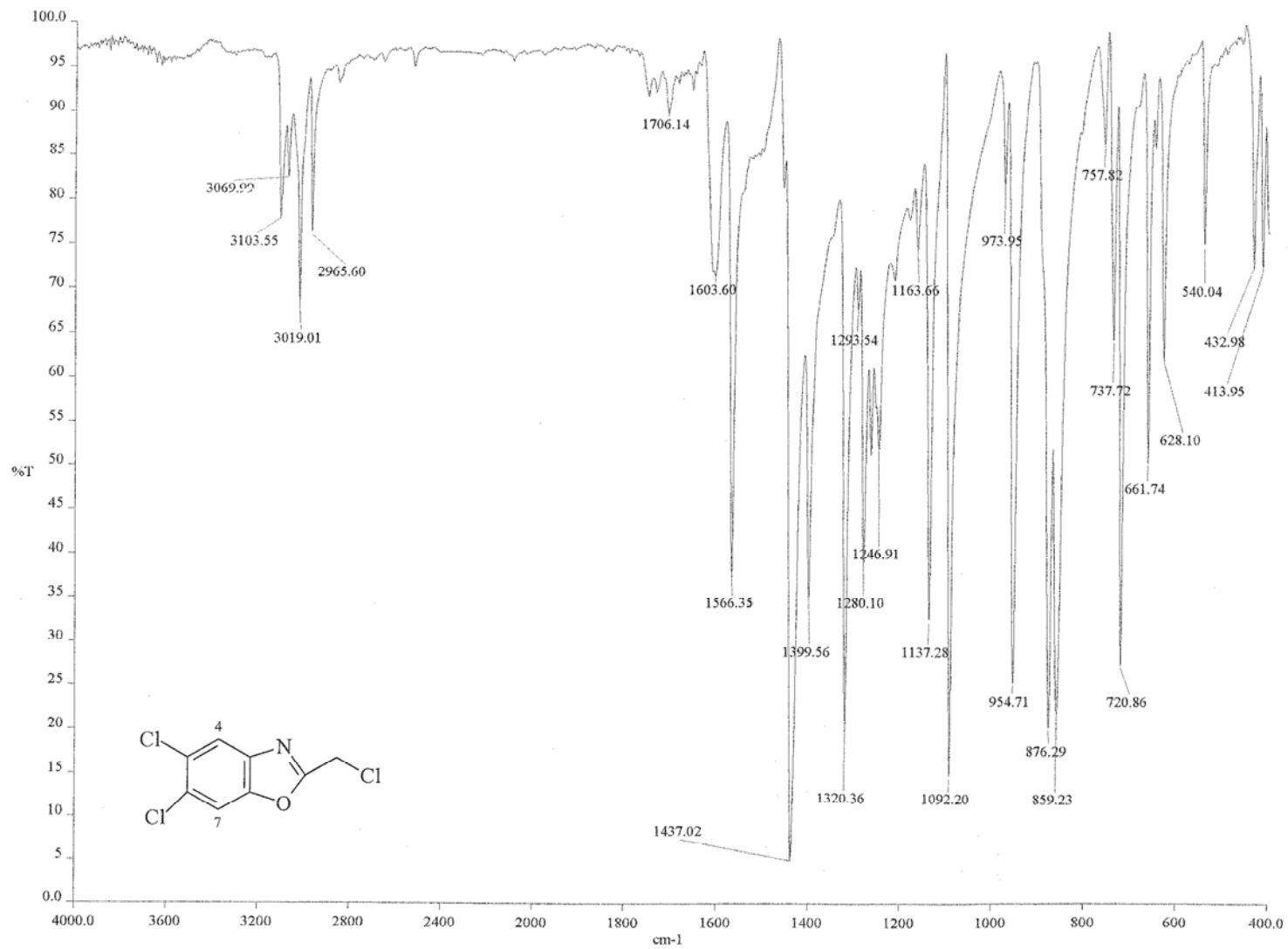


Espectro 17.3. Espectro de EM de **2-Cloro-N-(4,5-dicloro-2-hidroxifenil)acetamida (39)**.

USAI
23/ENERO/2002
Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
CJ-36/CDC13
1H 300-1
rdm



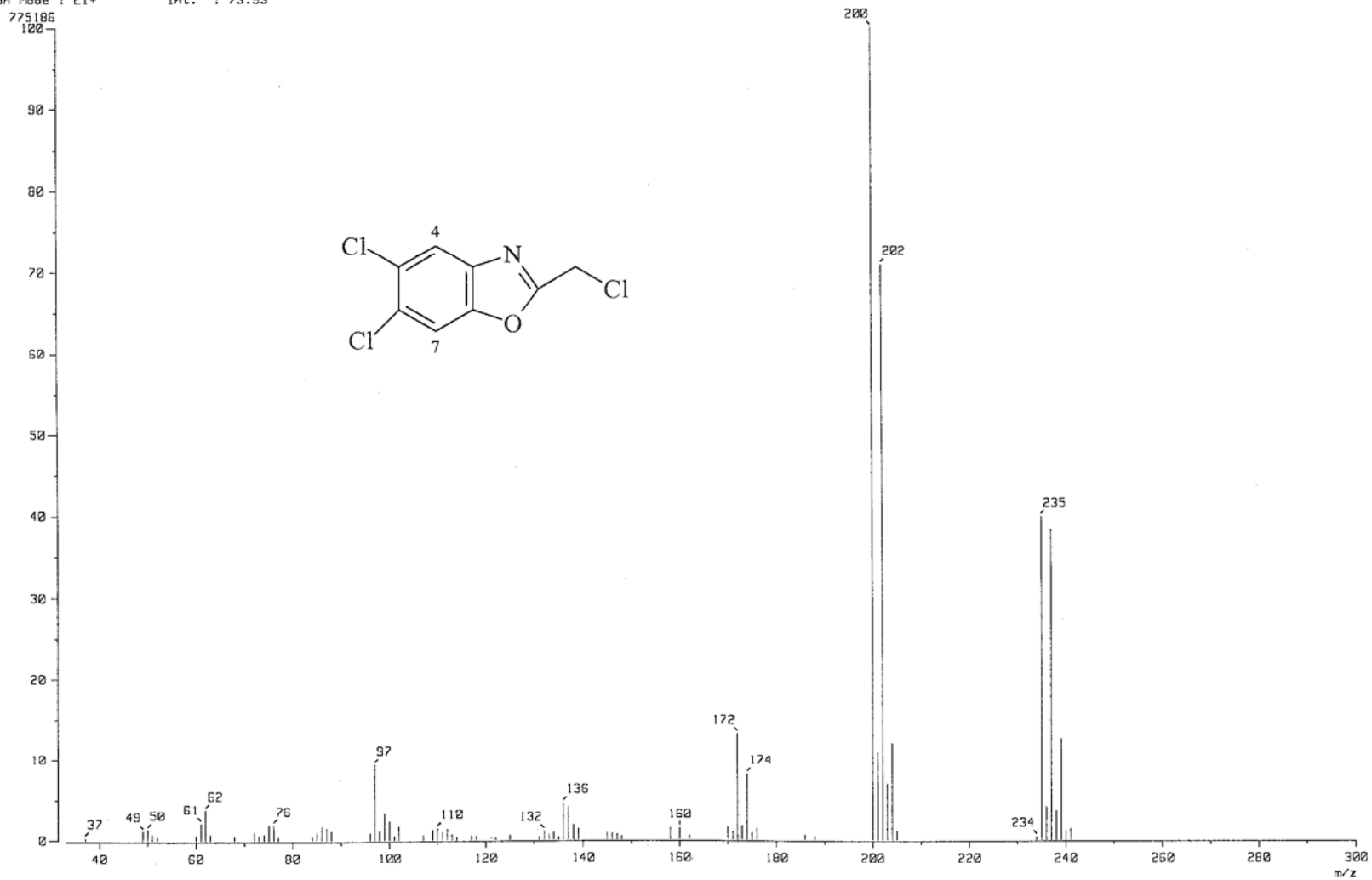
Espectro 18.1. Espectro de RMN ¹H de **5,6-Dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40)**.



Espectro 18.2. Espectro de IR de **5,6-Dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40)**.

RT : 9.01 min
Ion Mode : E1+

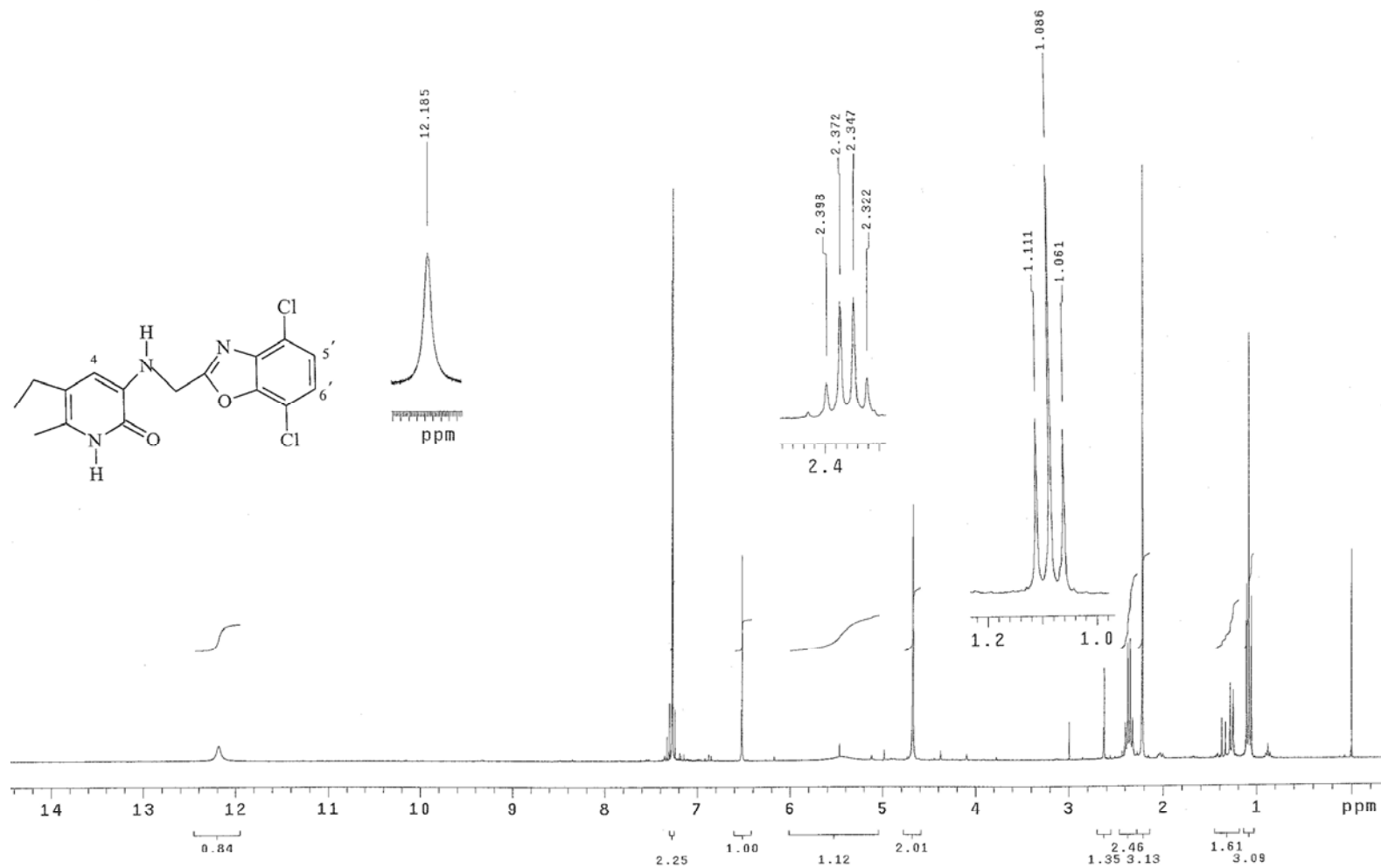
Scan# : 328-(338,343)-(322,324) Temp : 29.7 deg.C
Int. : 73.93



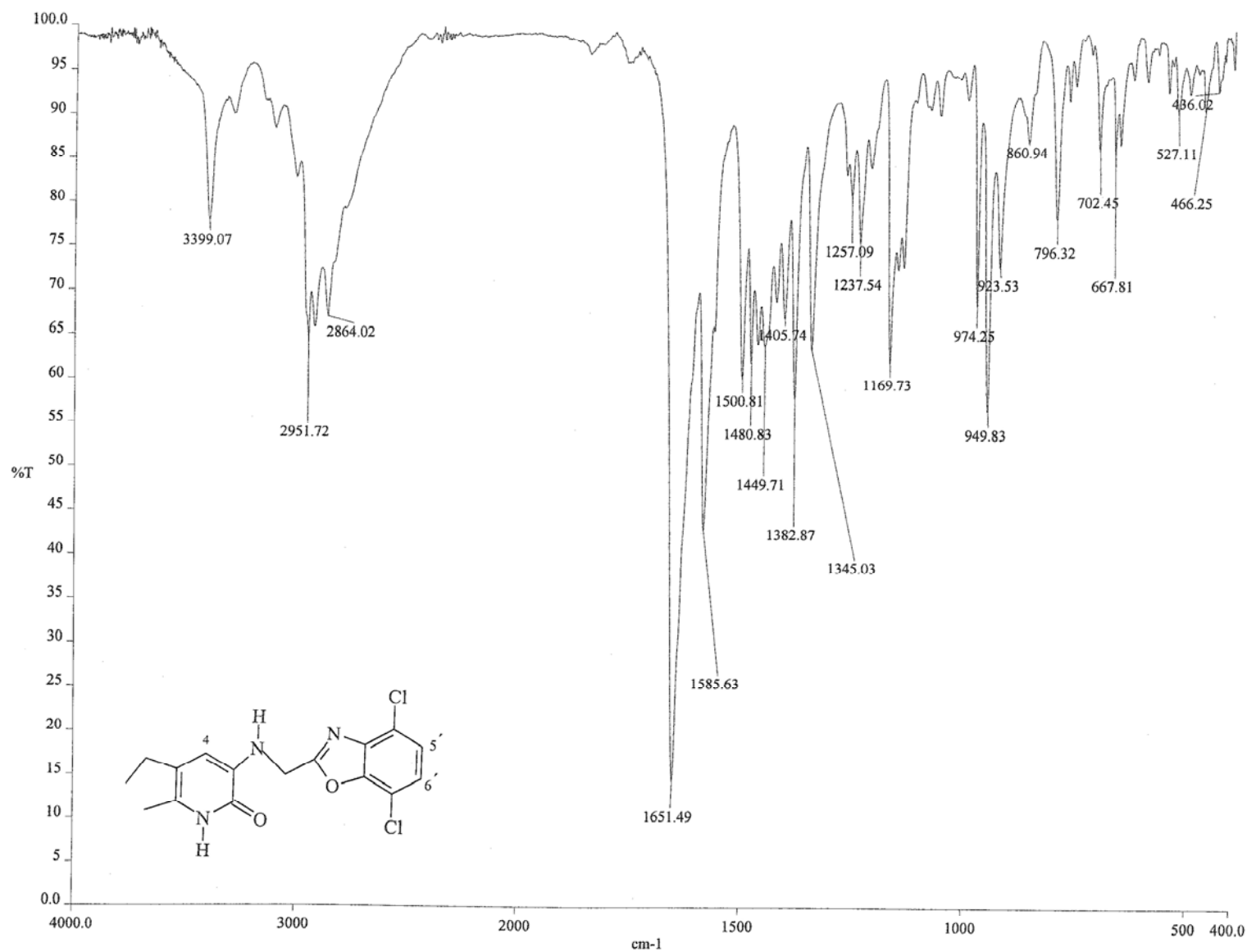
Espectro 18.3. Espectro de EM de **5,6-Dicloro-2-(clorometil)-1,3-benzoxazol (40)**.

USAI
26/AGOSTO/2005
Dr. Rafael Castillo / Cecilia Juarez
CJ-47 / CDC13
1H 299.7 MHz
Ref. TMS 0 ppm
300-2
rdm

Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 19.1. Espectro de RMN ¹H de 3-((4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil)amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (1).



Espectro 19.2. Espectro de IR de 3{[(4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (1).

[Mass Spectrum]

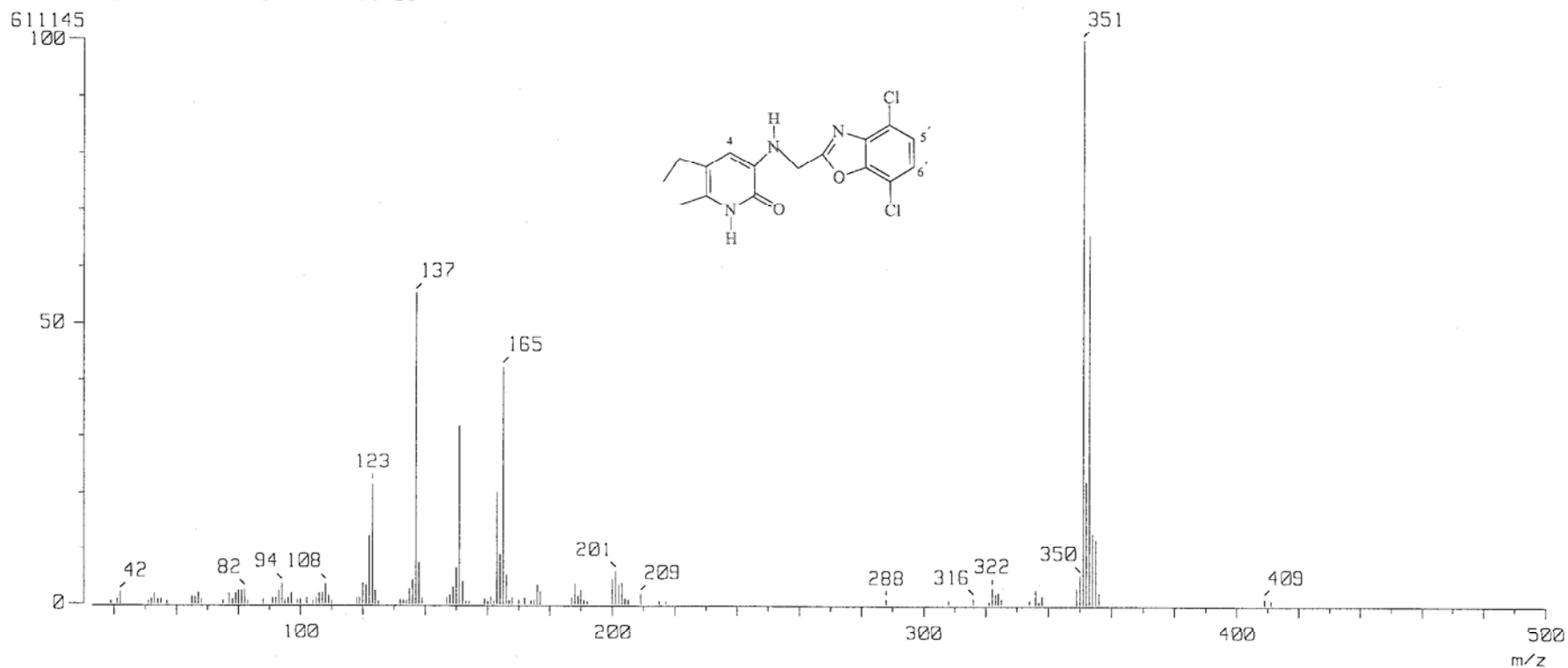
RT : 1.13 min

Ion Mode : EI+

Scan# : 42

Int. : 58.28

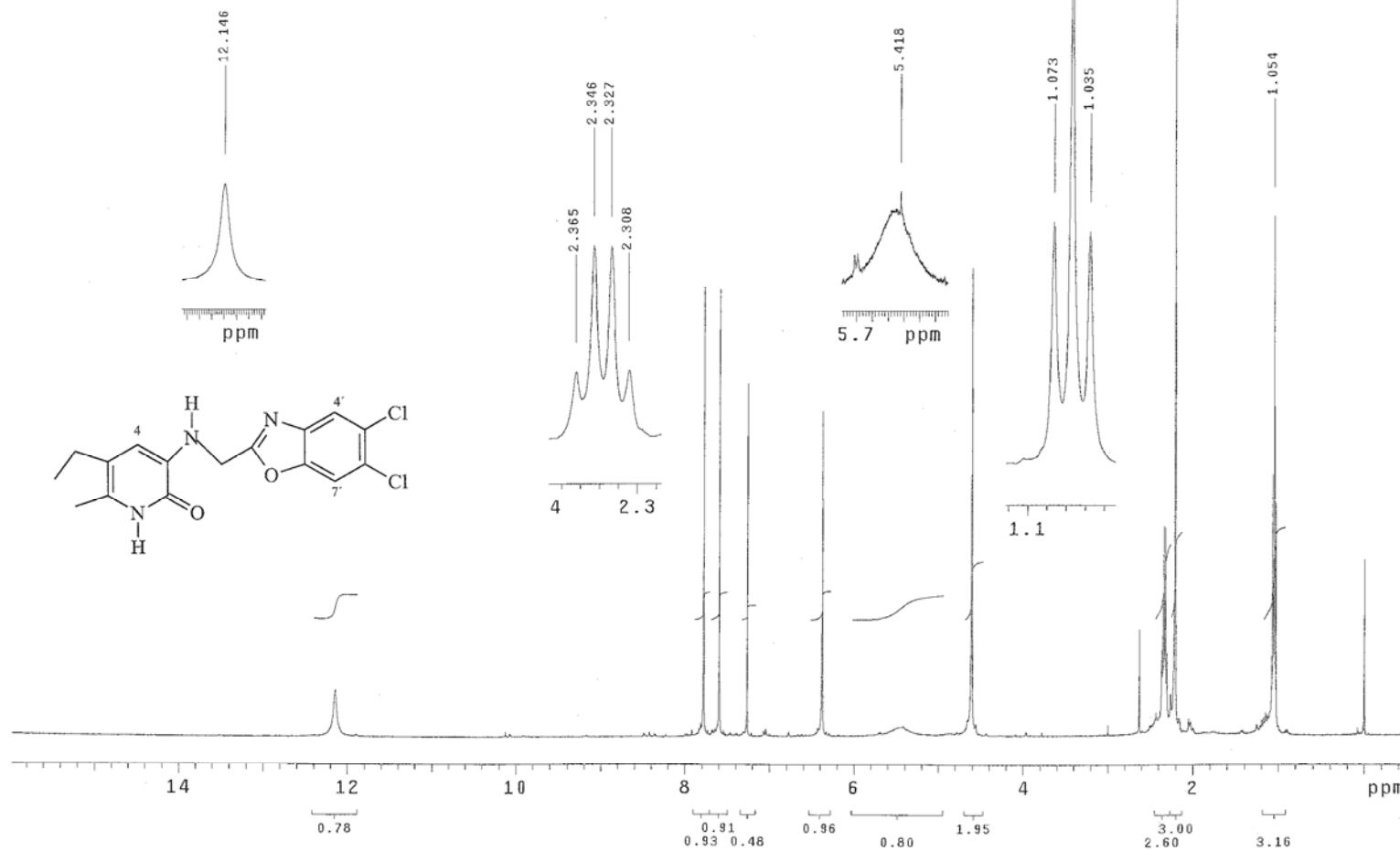
Temp : 32.9 deg.C



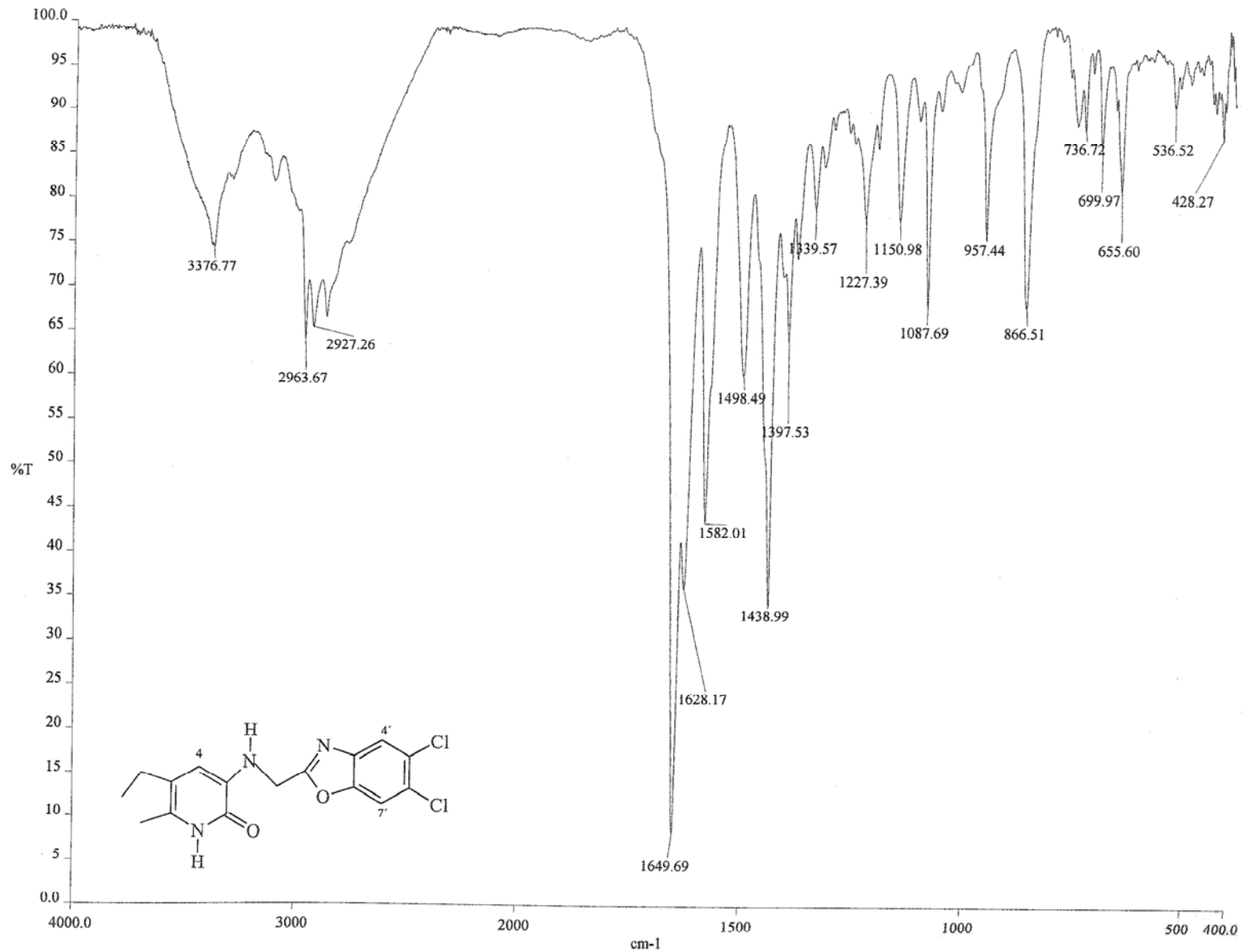
Espectro 19.3. Espectro de EM de 3{[(4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (1).

USAI
25/AGOSTO/2005
Dr. Rafael Castillo / Cecilia Juarez
CJ-44 / CDC13
1H 400 MHz
Ref. TMS 0 ppm
400
rdm

Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 20.1. Espectro de RMN ¹H de 3-((5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil)amino)-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (2).



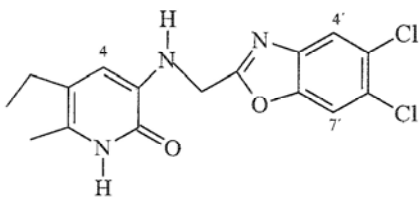
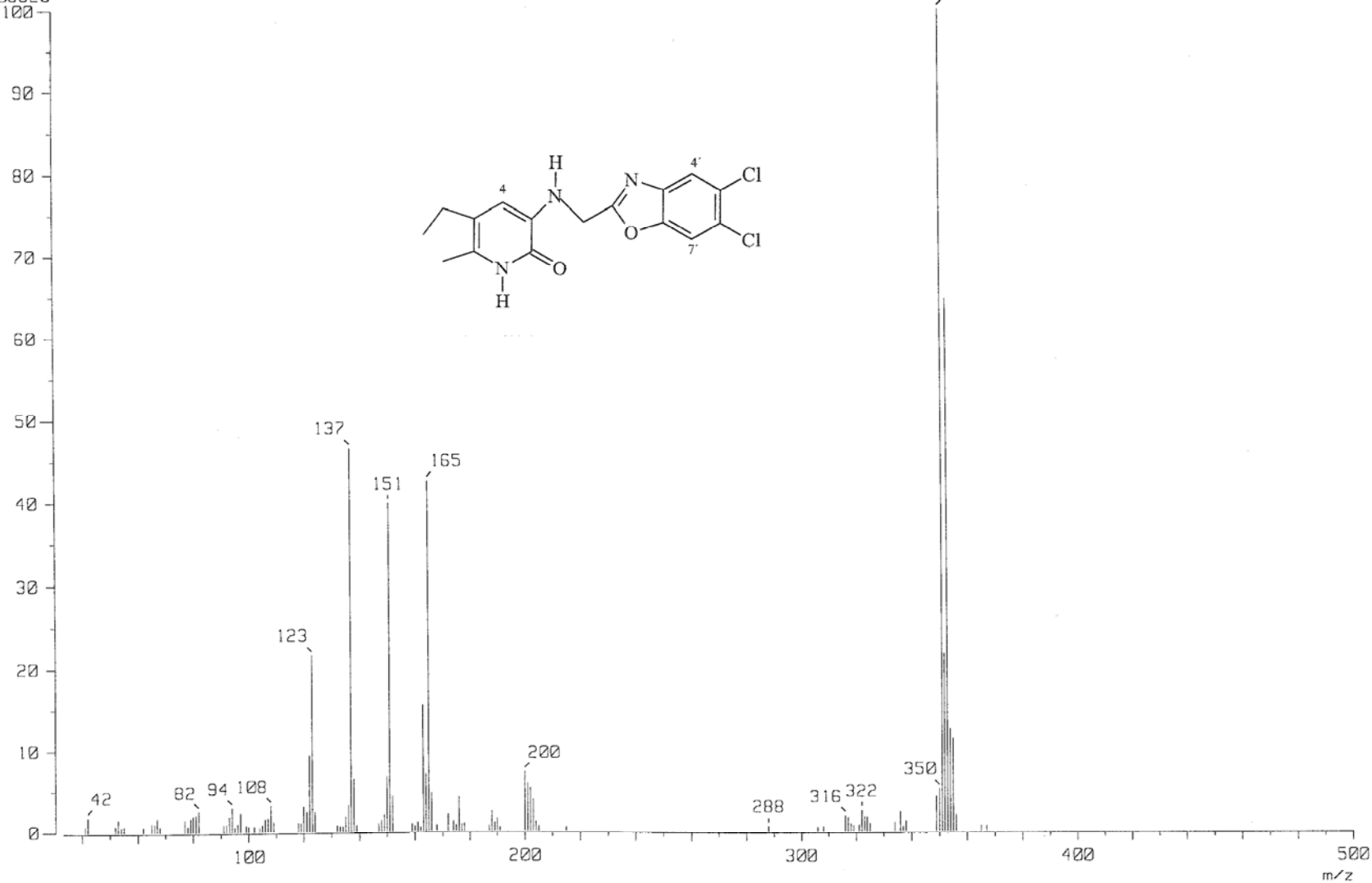
Espectro 20.2. Espectro de IR de 3[[5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino]-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (2).

RT : 3.25 min
Ion Mode : EI+

Scan# : (116,123)-(178,250)
Int. : 29.14

Temp : 52.3 deg.C

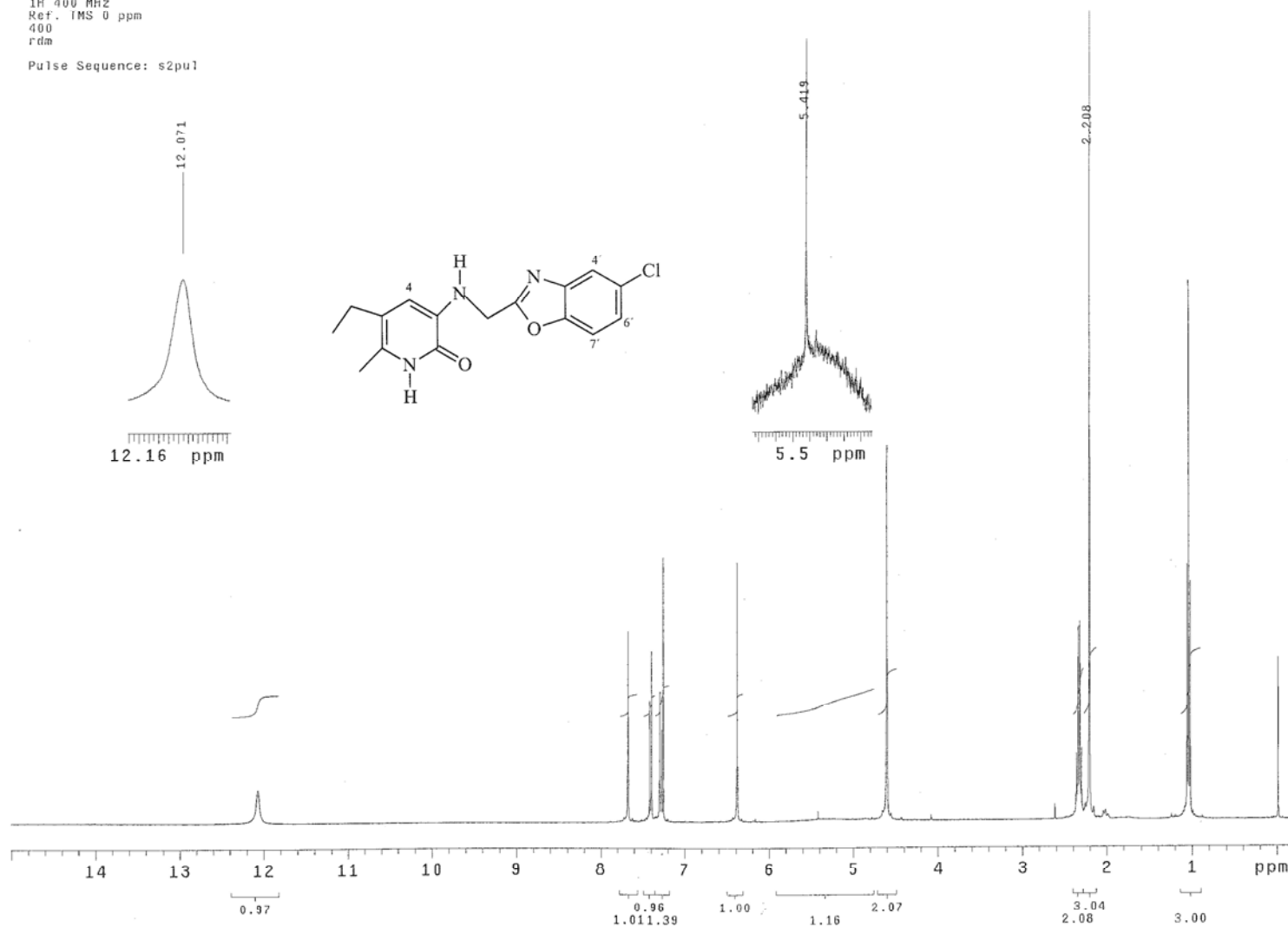
305523



Espectro 20.3. Espectro de EM de 3-[(5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino)-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (2).

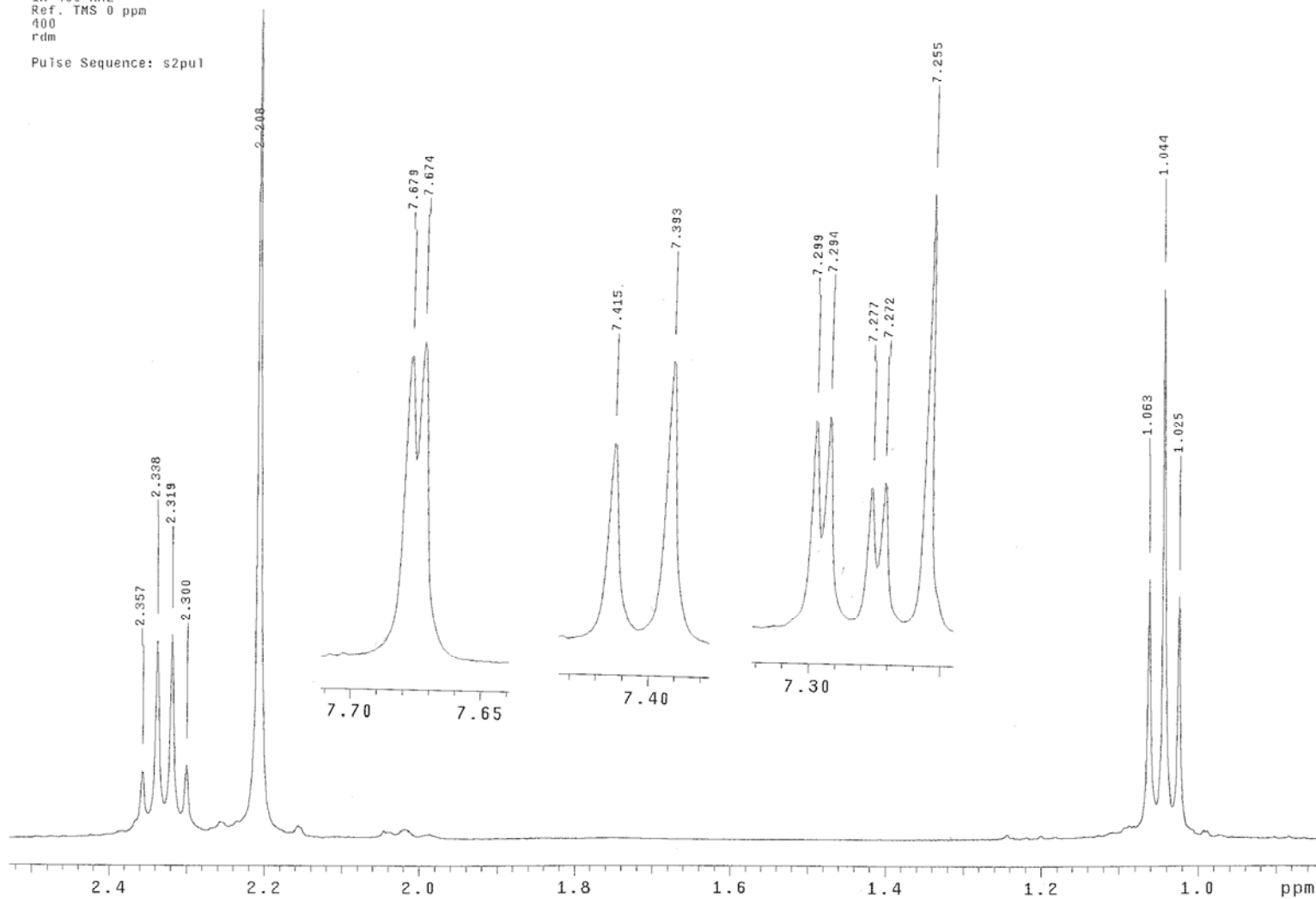
USAI
24/AGOSTO/2005
Dr. Rafael Castillo / Cecilia Juarez
CJ-40 / CDC13
1H 400 MHz
Ref. TMS 0 ppm
400
rdm

Pulse Sequence: s2pu1

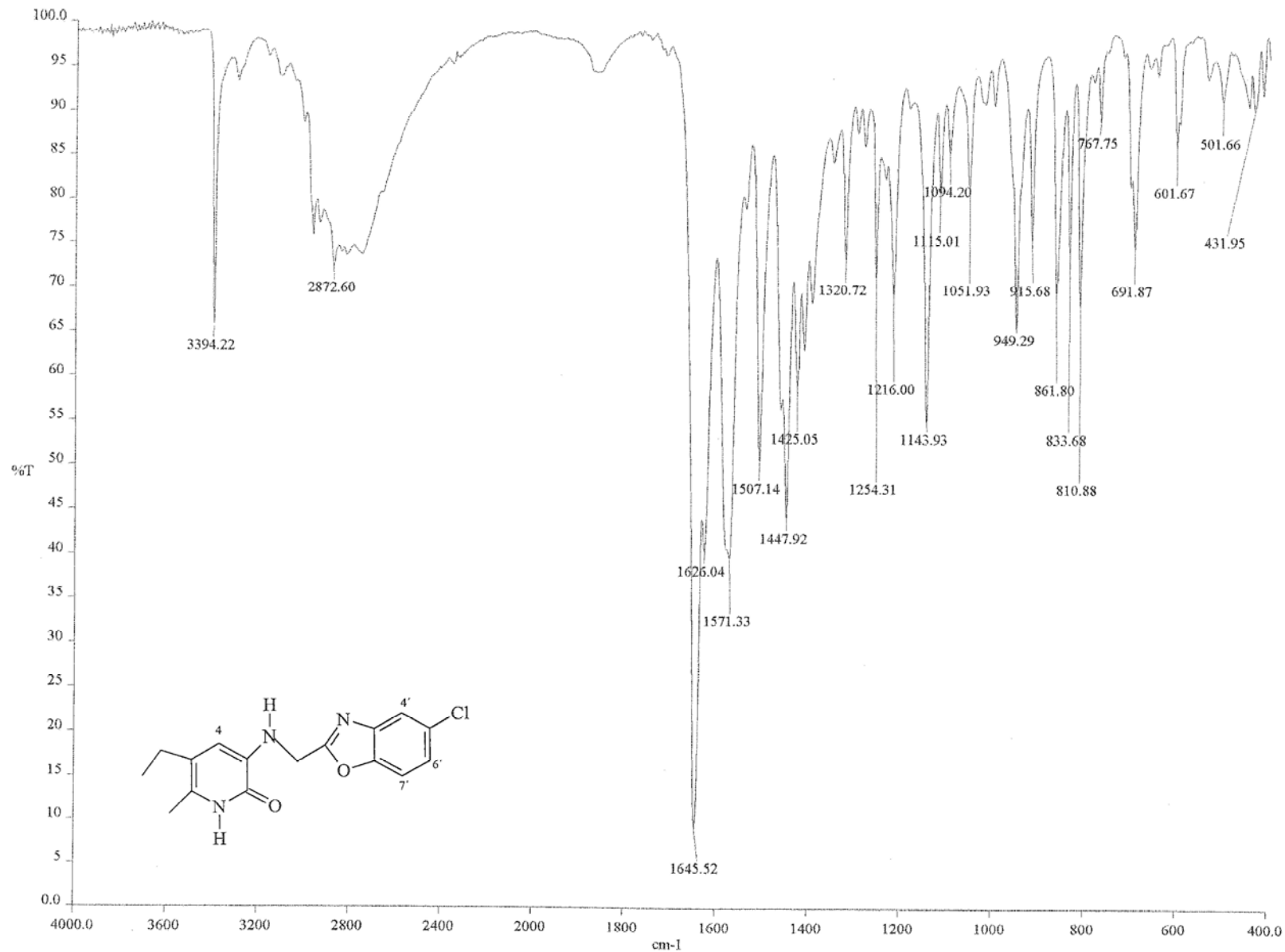


Espectro 21.1. Espectro de RMN ^1H de 3{[(5-Cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (3).

USAI
24/AGOSTO/2005
Dr. Rafael Castillo / Cecilia Juarez
CJ-40 / CDC13
1H 400 MHz
Ref. TMS 0 ppm
400
rdm
Pulse Sequence: s2pul



Espectro 21.1a. Expansión del Espectro de RMN ¹H de 3{[(5-Cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (3).



Espectro 21.2. Espectro de IR de 3{[(5-Cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (3).

[Mass Spectrum]

RT : 0.97 min

Scan# : (36,37)

Temp : 62.7 deg.C

Ion Mode : E1+

Int. : 57.84

606472

120

90

80

70

60

50

40

30

20

10

0

40

42

53

63

82

94

122

123

137

151

165

181

272

287

289

315

317

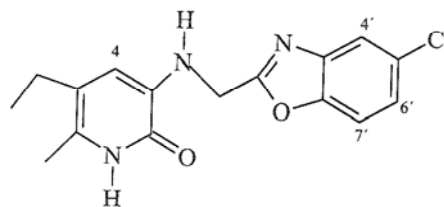
340

360

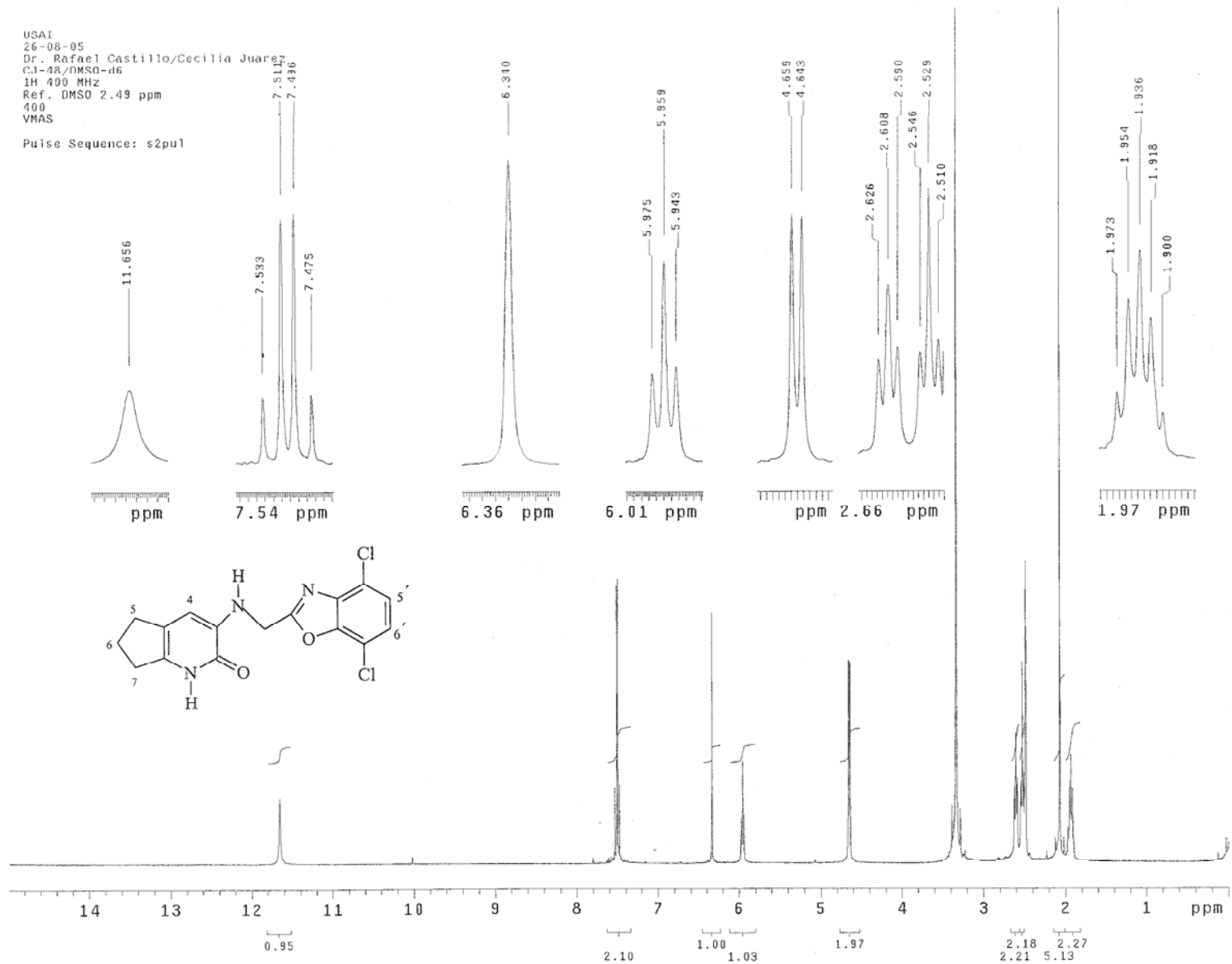
380

400

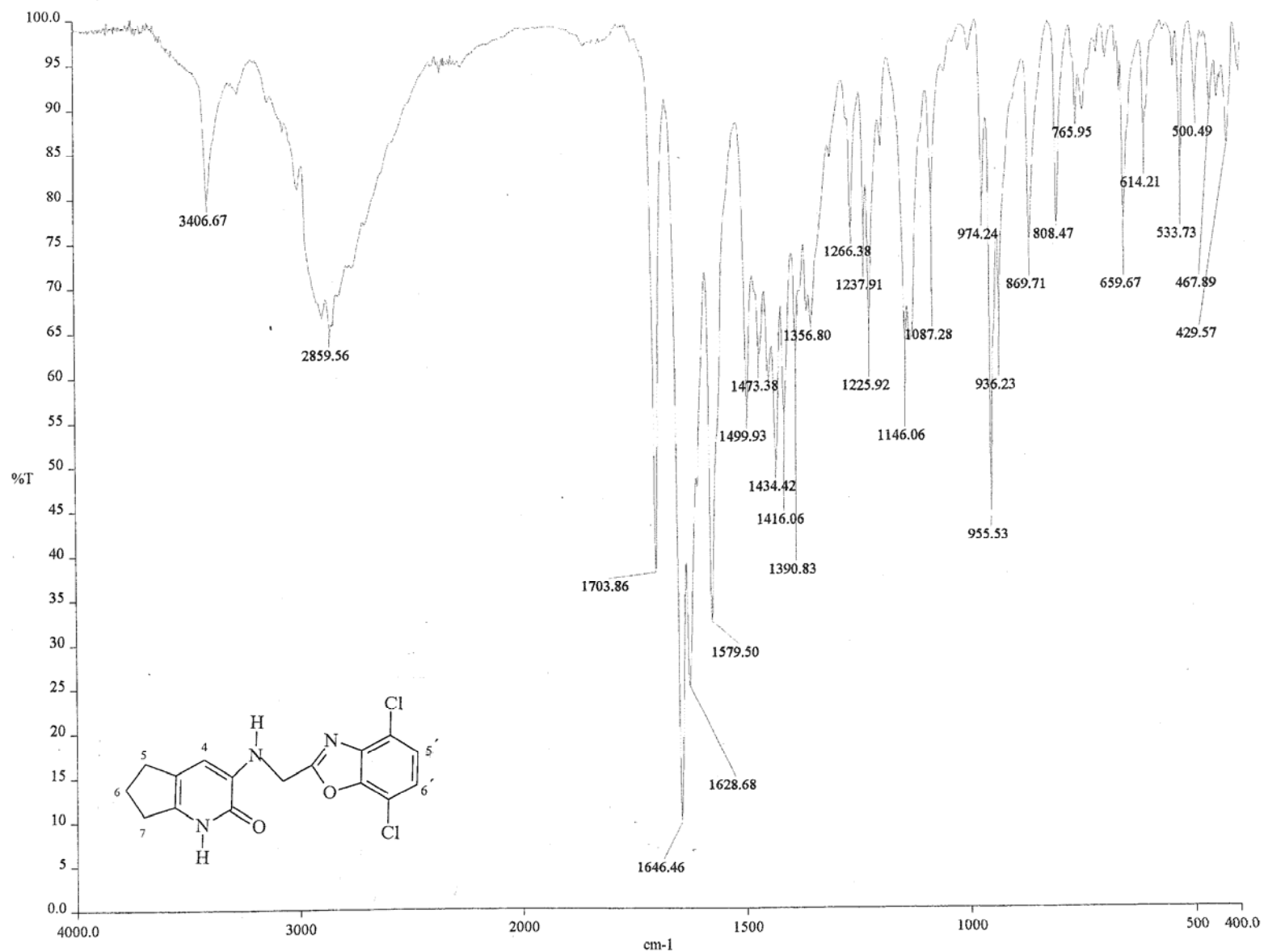
m/z



Espectro 21.3. Espectro de EM de 3-((5-Cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5-etil-6-metilpiridin-2(1H)-ona (3).



Espectro 22.1. Espectro de RMN ^1H de 3[[*(4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil*]amino]-1,5,6,7-tetrahidro-2*H*-ciclopenta[*b*] piridin-2-ona (4).



Espectro 22.2. Espectro de IR de 3{[(4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2H-ciclopenta[b] piridin-2-ona (4).

[Mass Spectrum]

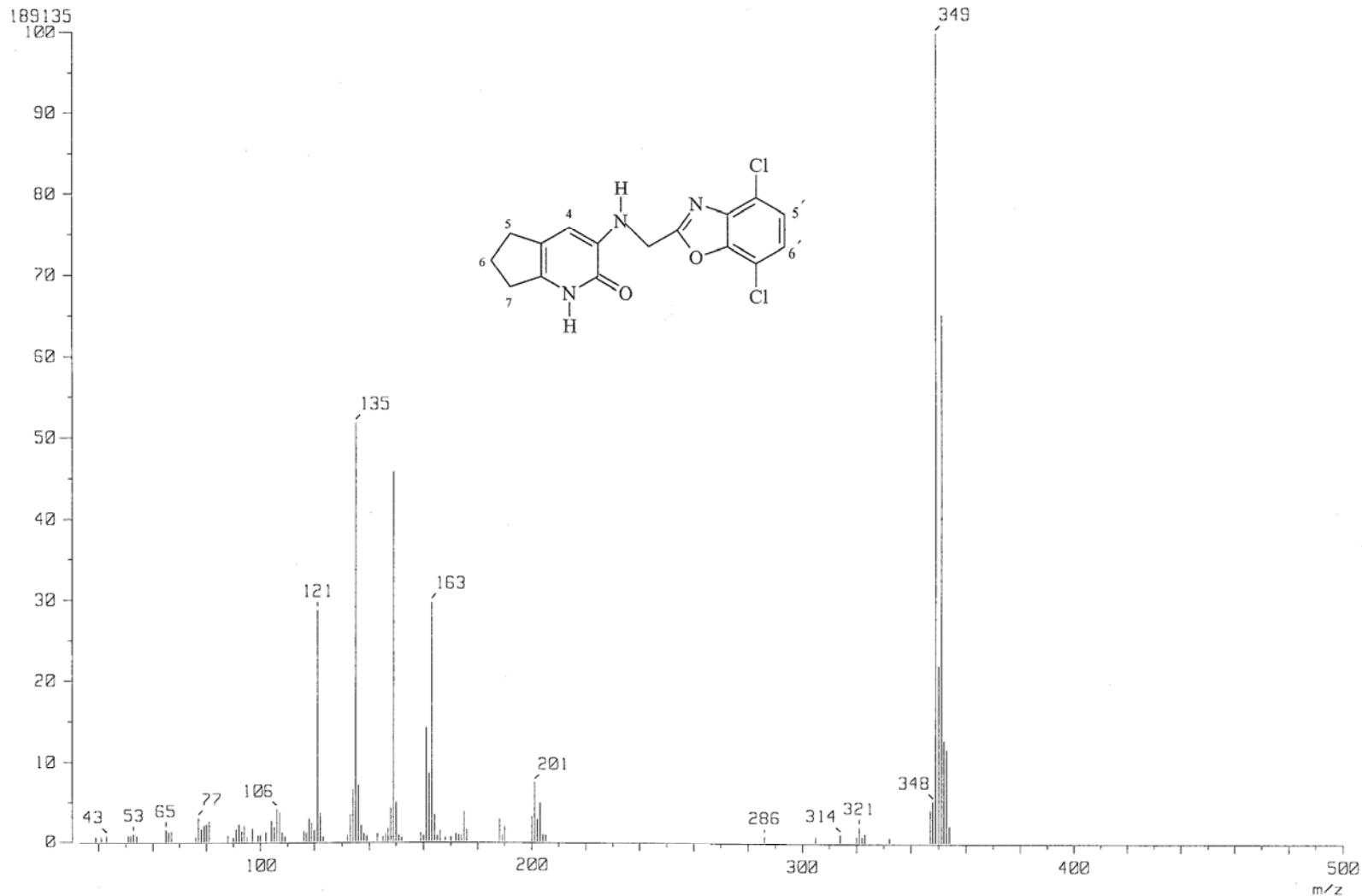
RT : 1.22 min

Scan# : (42,49)

Temp : 6.4 deg.C

Ion Mode : EI+

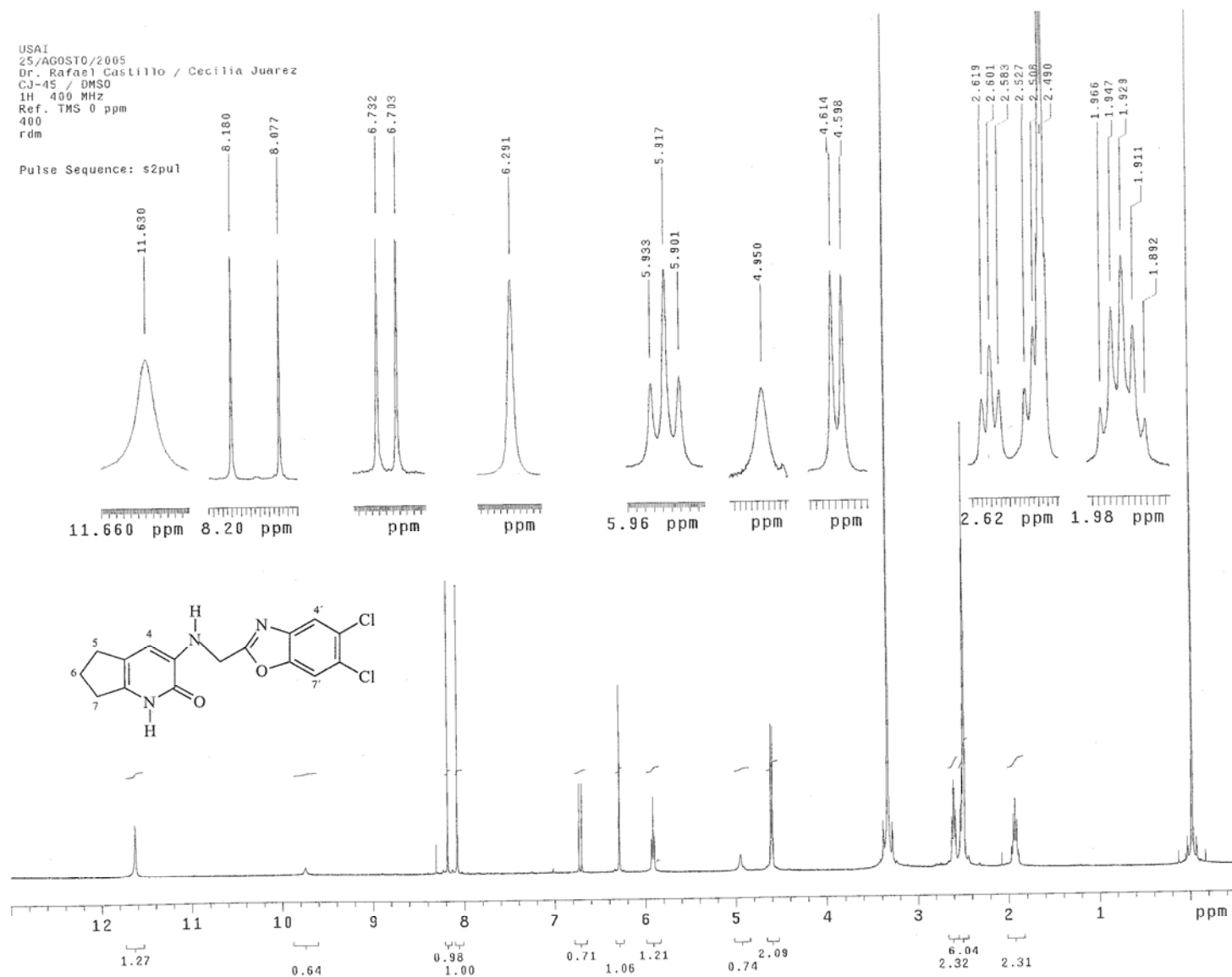
Int. : 18.04



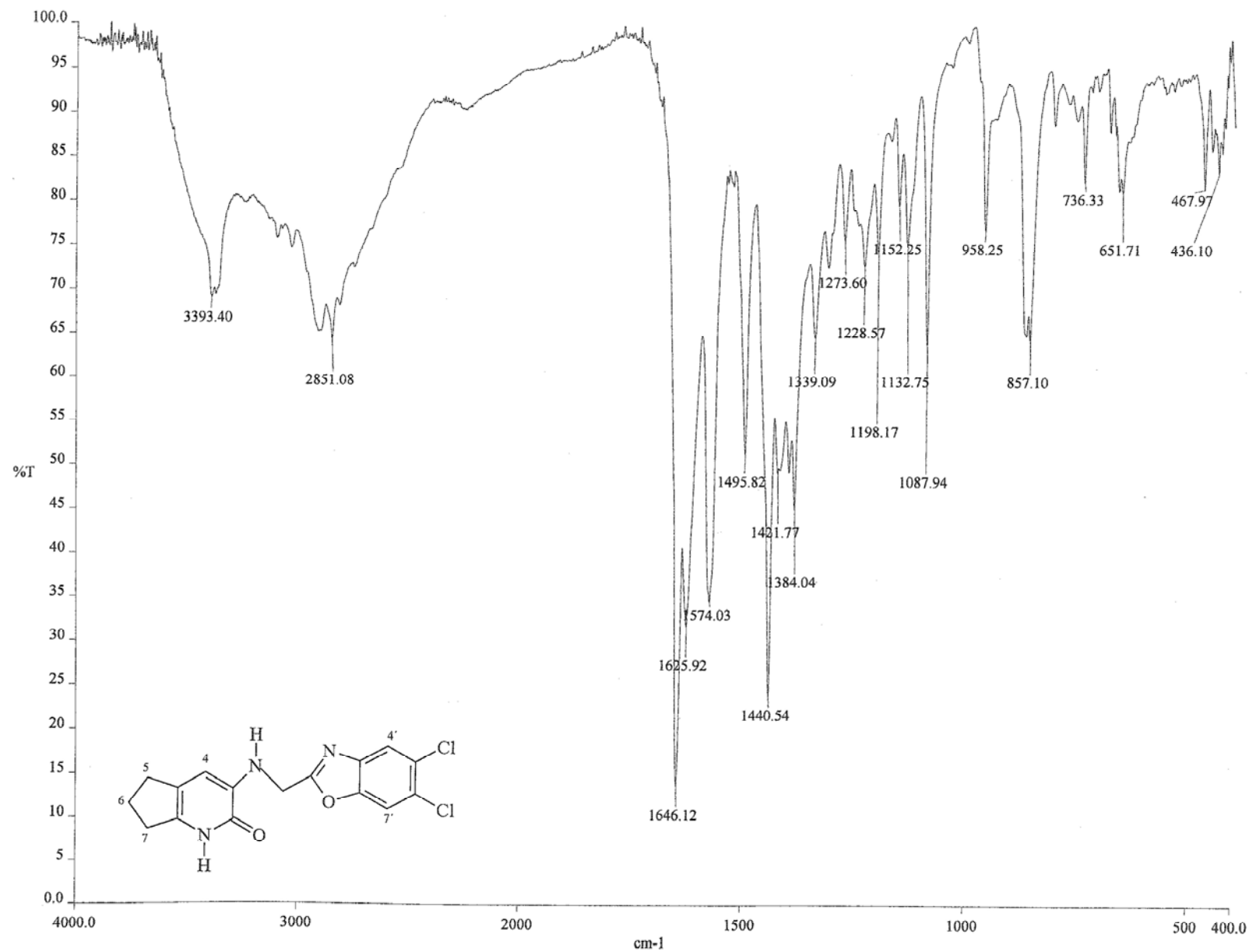
Espectro 22.3. Espectro de EM de 3{[(4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2H-ciclopenta[b] piridin-2-ona (4).

USAI
 25/AGOSTO/2005
 Dr. Rafael Castillo / Cecilia Juarez
 CJ-45 / DMSO
 1H 400 MHz
 Ref. TMS 0 ppm
 400
 rdm

Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 23.1. Espectro de RMN ^1H de 3{[(5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2H-ciclopenta[b] piridin-2-ona (5).



Espectro 23.2. Espectro de IR de 3{[(5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2H-ciclopenta[b] piridin-2-ona (5).

Ion Mode : EI+

935124

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

0

100

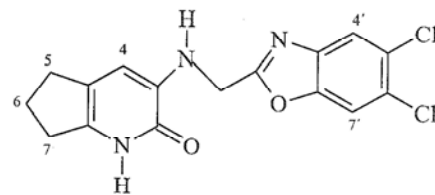
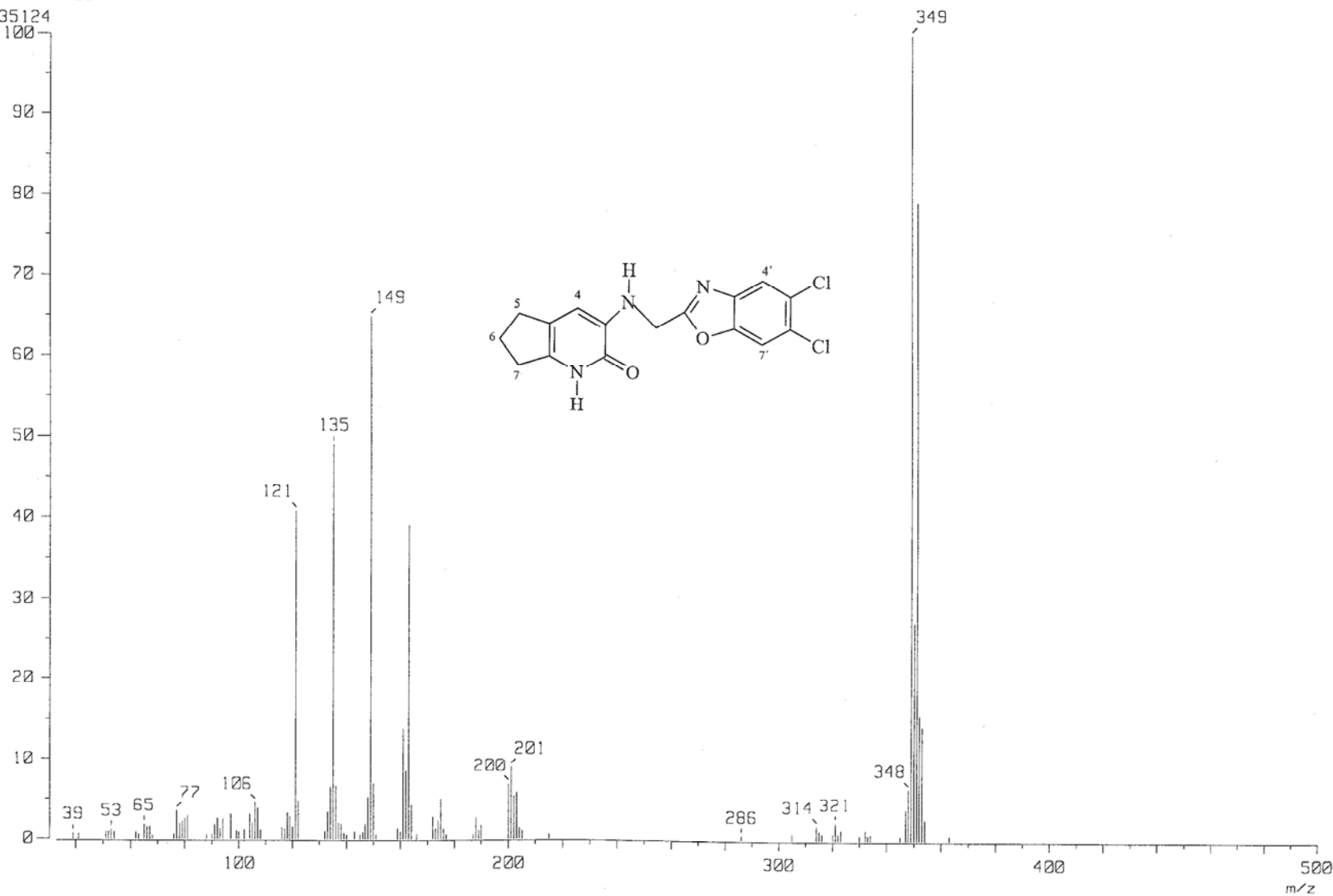
200

300

400

500

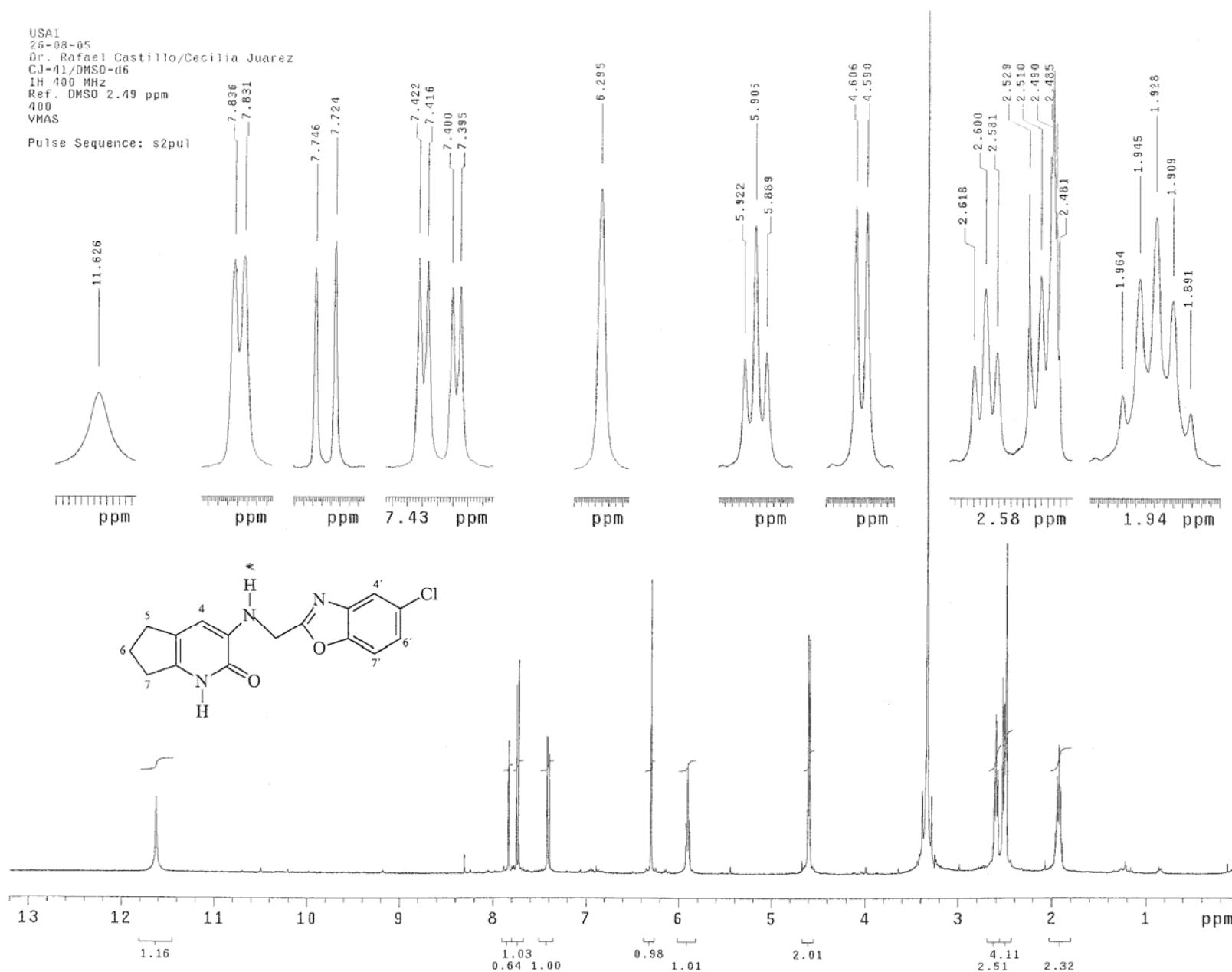
m/z



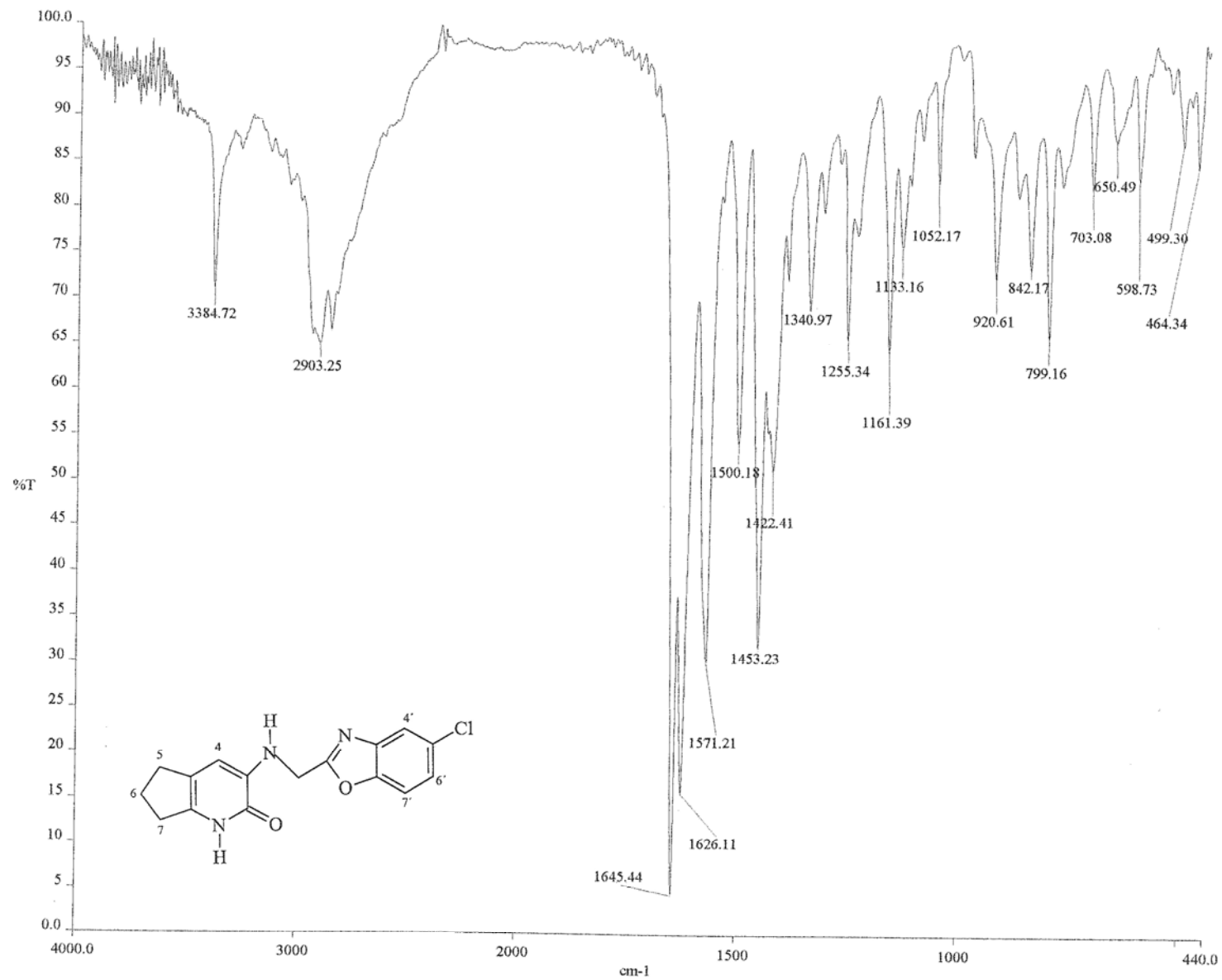
Espectro 23.3. Espectro de EM de 3{[(5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2H-ciclopenta[b] piridin-2-ona (5).

USA1
 26-08-05
 Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
 CJ-41/DMSO-d6
 1H 400 MHz
 Ref. DMSO 2.49 ppm
 400
 VMAS

Pulse Sequence: s2pul



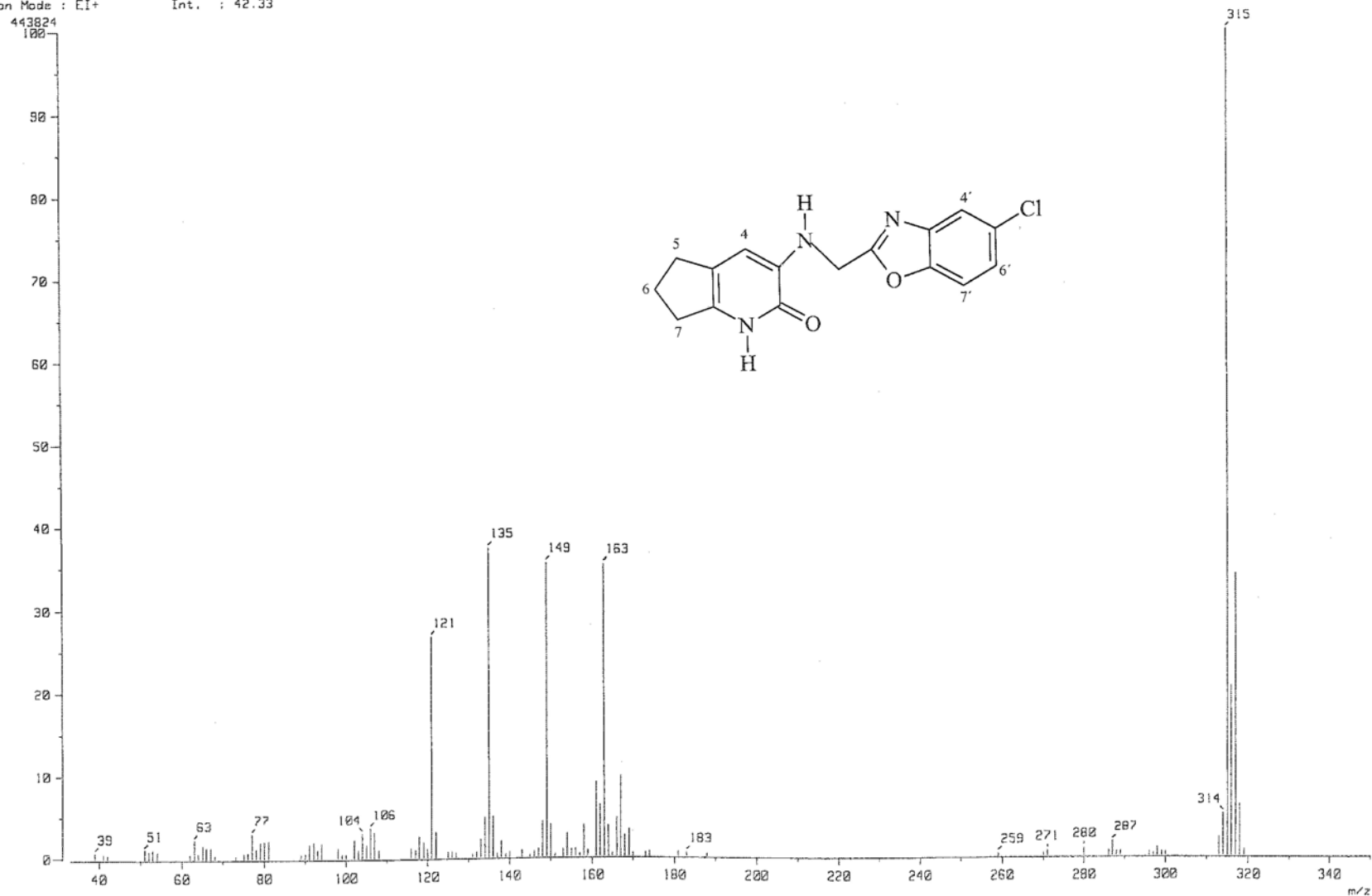
Espectro 24.1. Espectro de RMN ¹H de 3{[(5-cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2H-ciclopenta[b]piri din-2-ona (6).



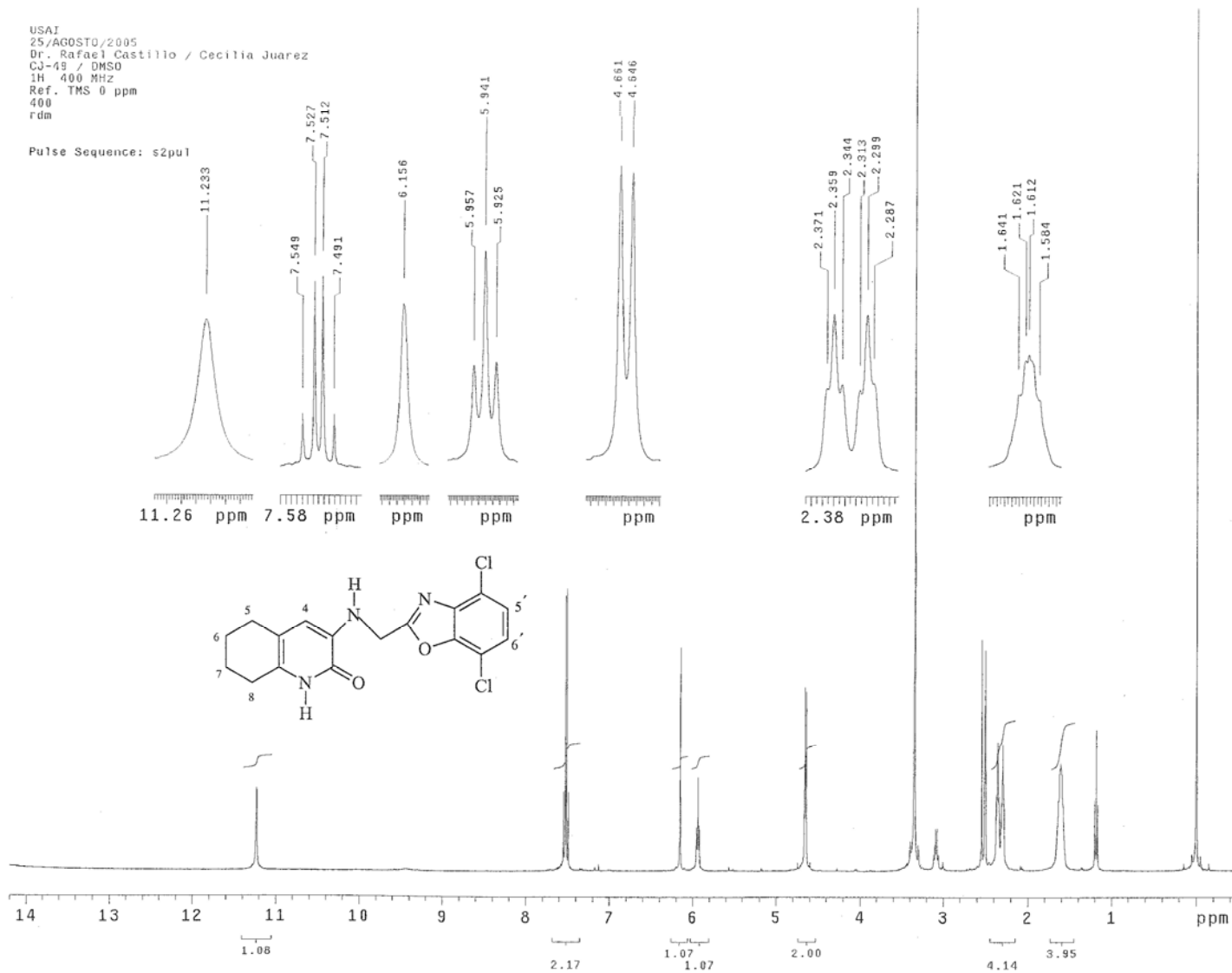
Espectro 24.2. Espectro de IR de 3-[(5-cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2H-ciclopenta[b]piri din-2-ona (6).

[Mass Spectrum]
RT : 1.27 min
Ion Mode : EI+

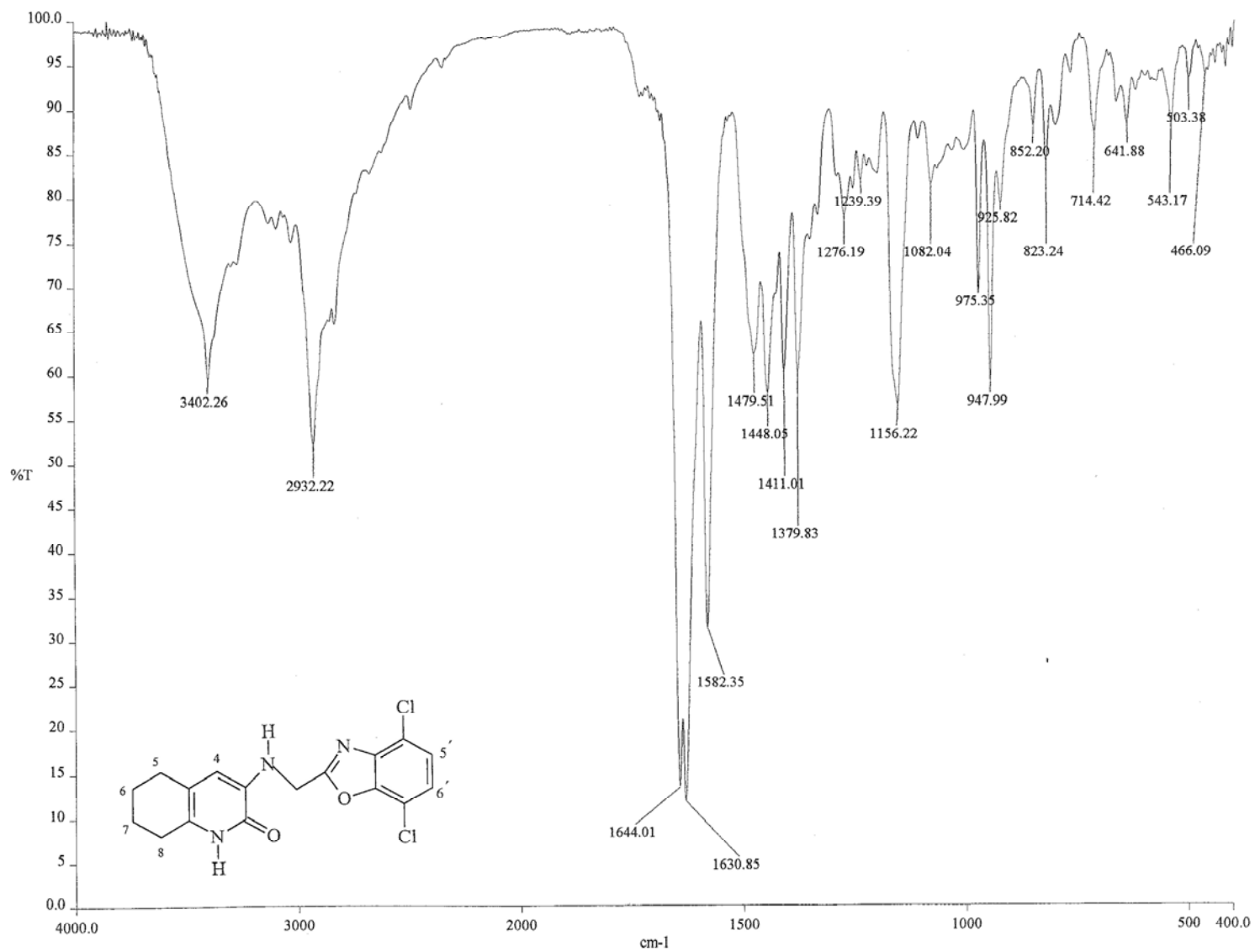
Scan# : (45,49)-(2,25)-(69,105) Temp : 133.7 deg.C
Int. : 42.33



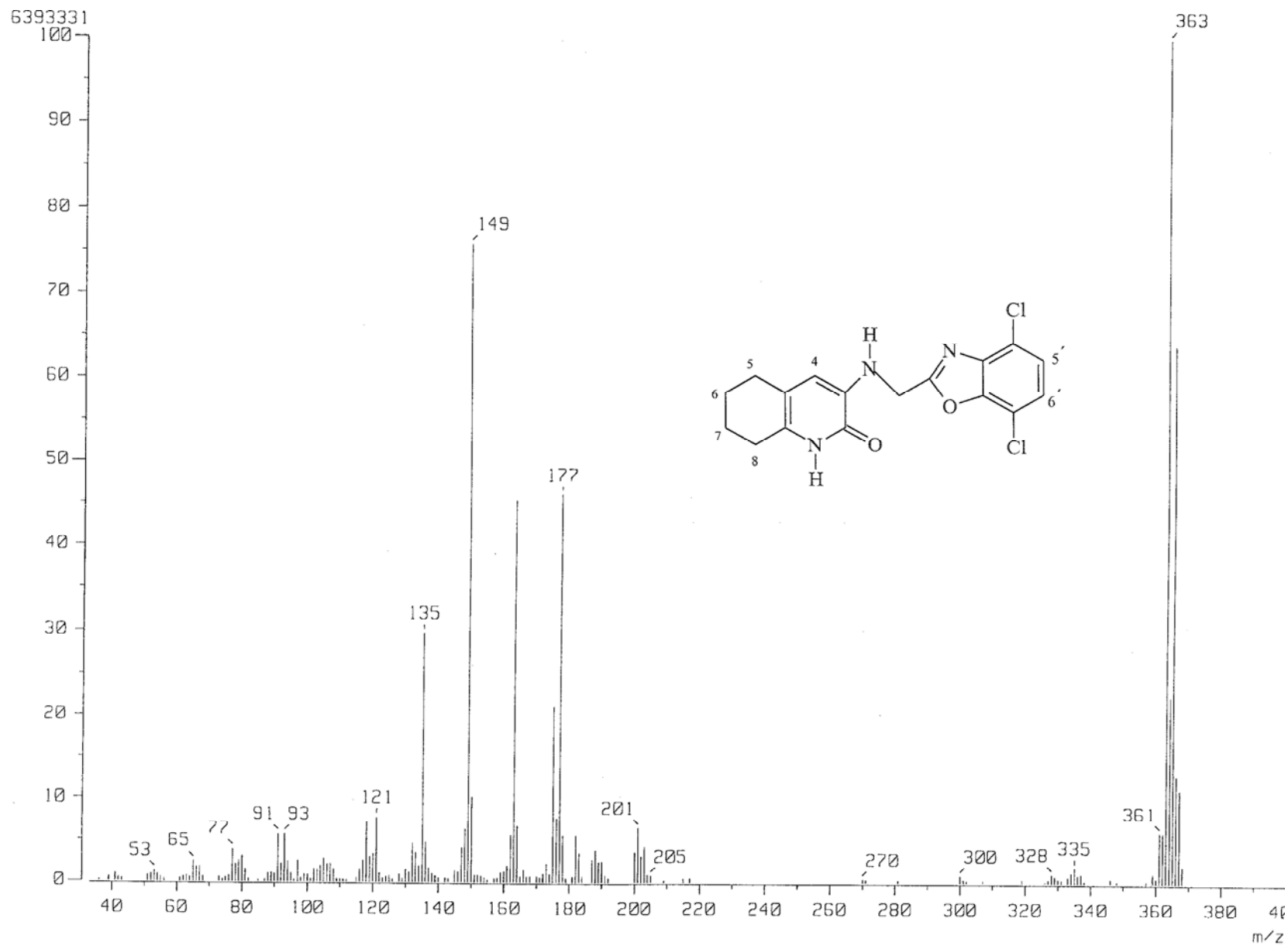
Espectro 24.3. Espectro de EM de 3{[(5-cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-1,5,6,7-tetrahidro-2H-ciclopenta[b]piri din-2-ona (6).



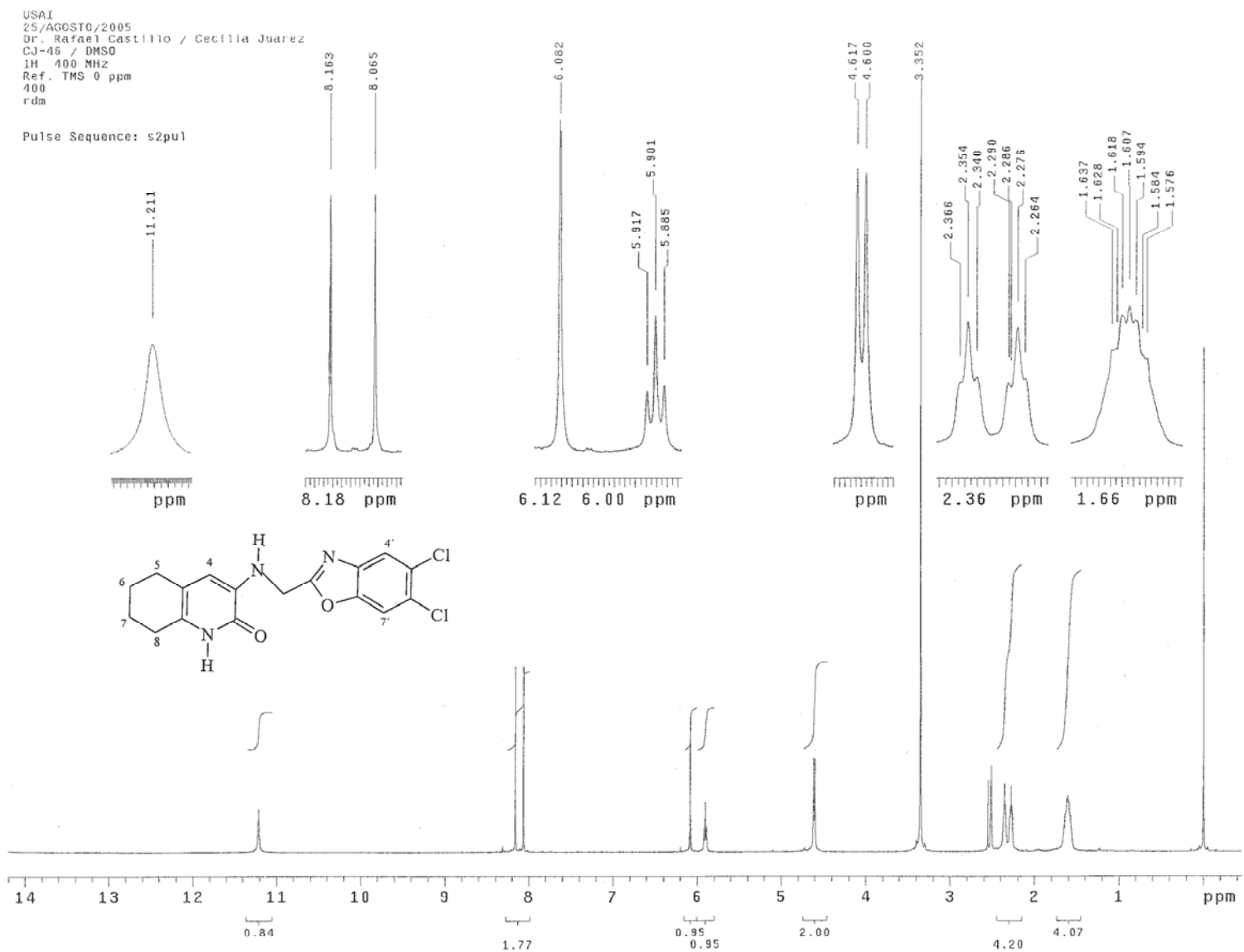
Espectro 25.1. Espectro de RMN ^1H de 3{[(4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-2(*IH*)-ona (7).



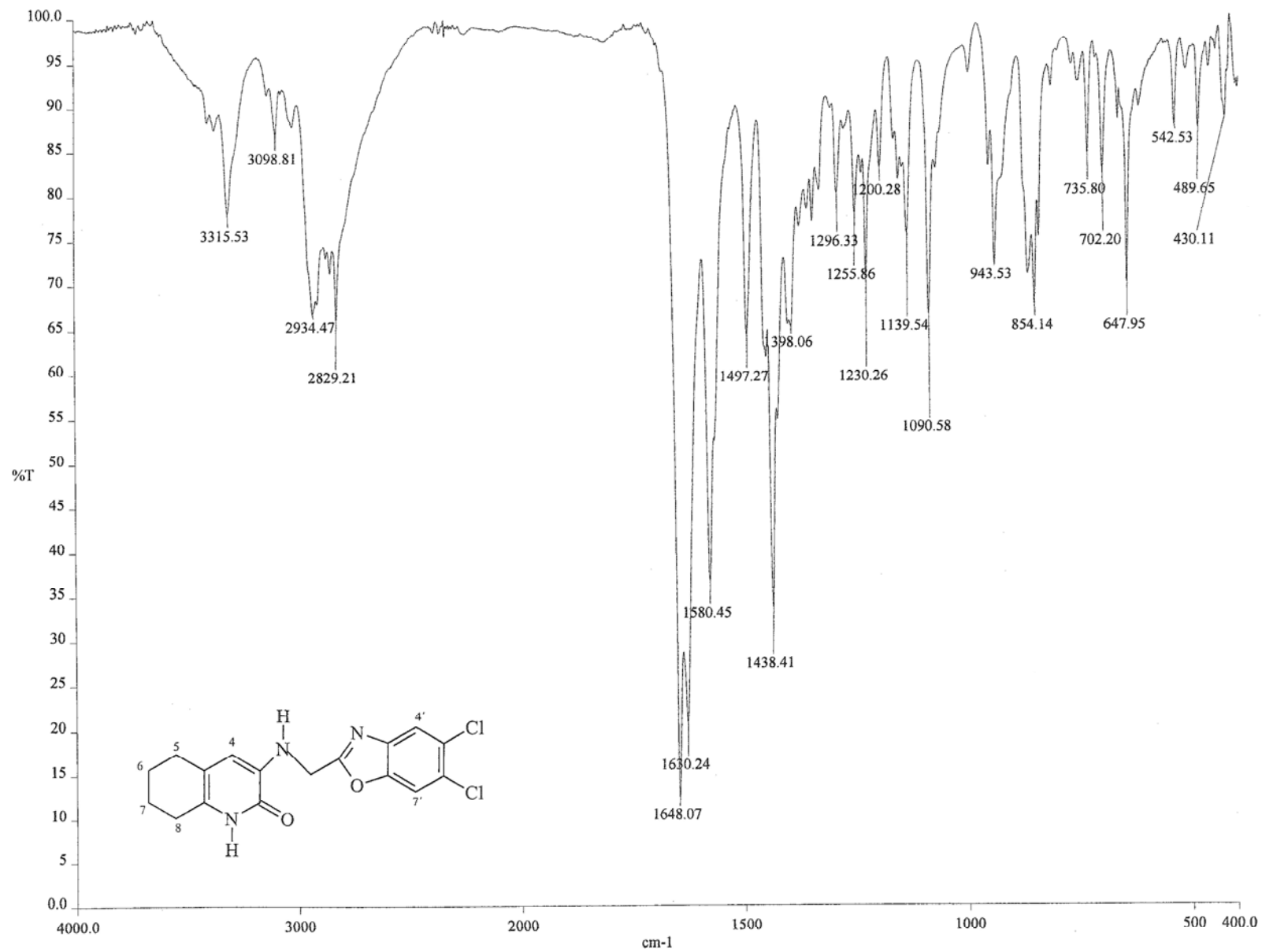
Espectro 25.2. Espectro de IR de 3-[(4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (7).



Espectro 25.3. Espectro de EM de 3-((4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil)amino}-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (7).



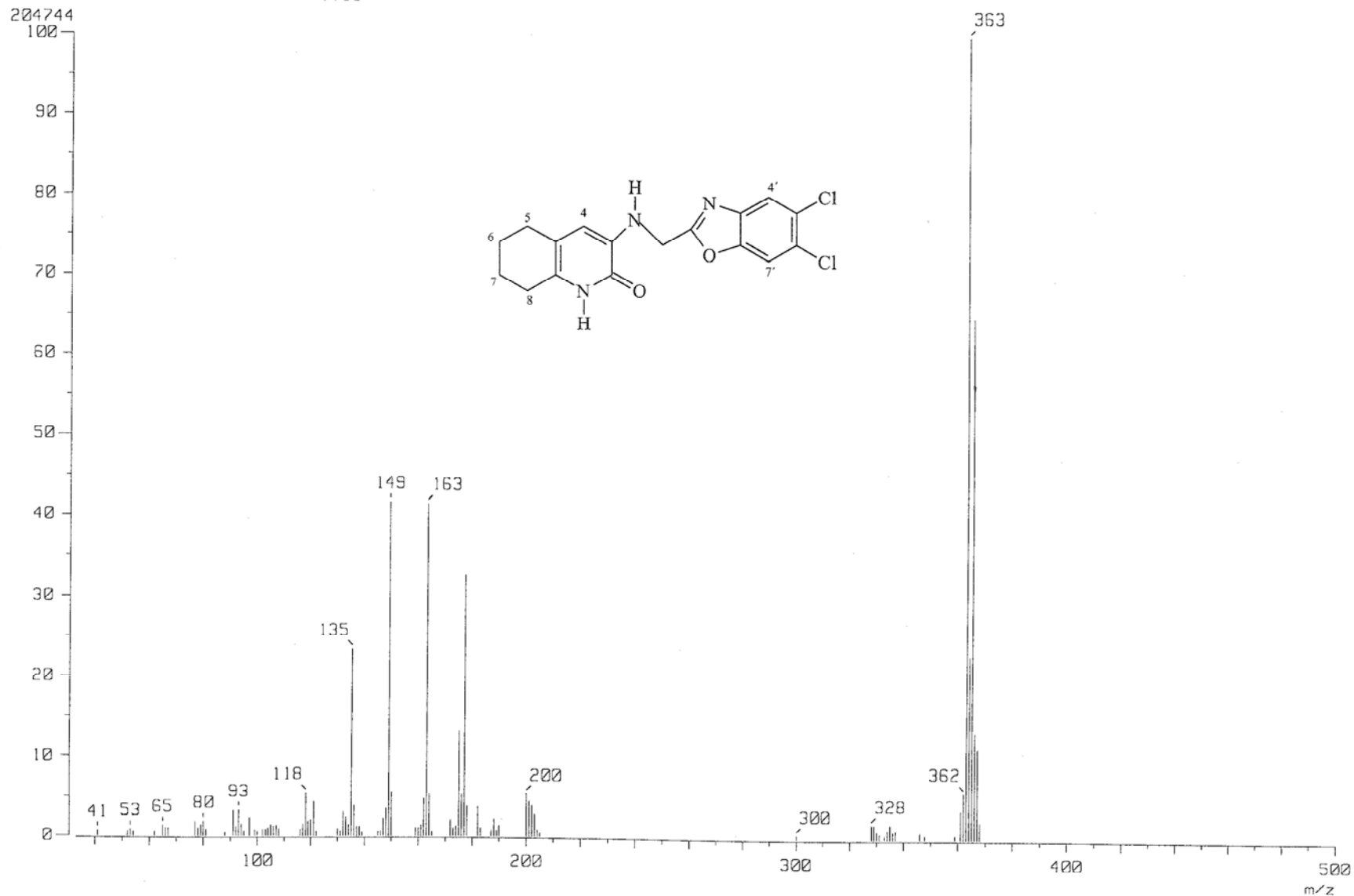
Espectro 26.1. Espectro de RMN ^1H de 3[[5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino]-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (8).



Espectro 26.2. Espectro de IR de 3-[(5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (8).

RT : 3.39 min
Ion Mode : EI+

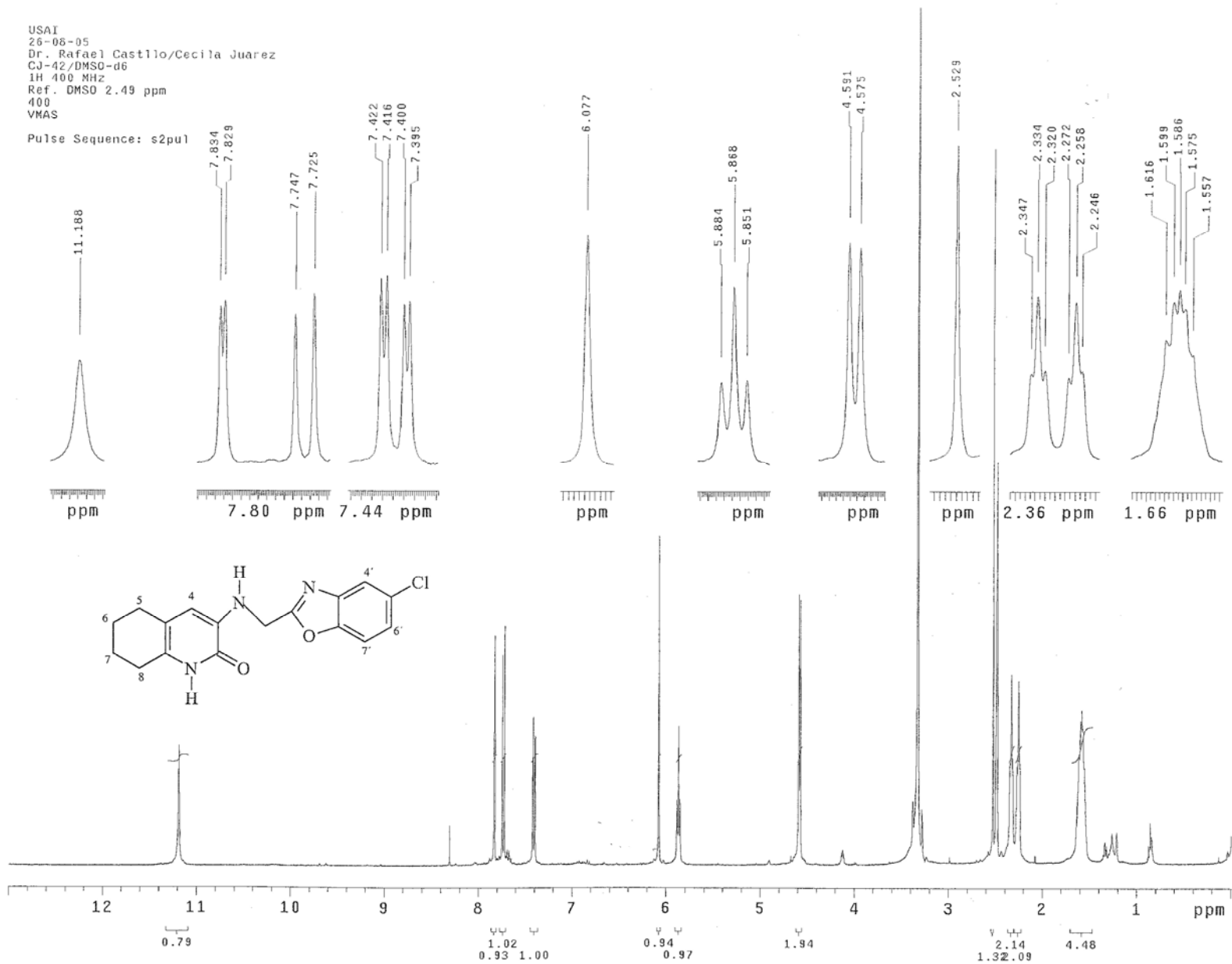
Scan# : (122,127)-(180,241) Temp : 54.3 deg.C
Int. : 19.53



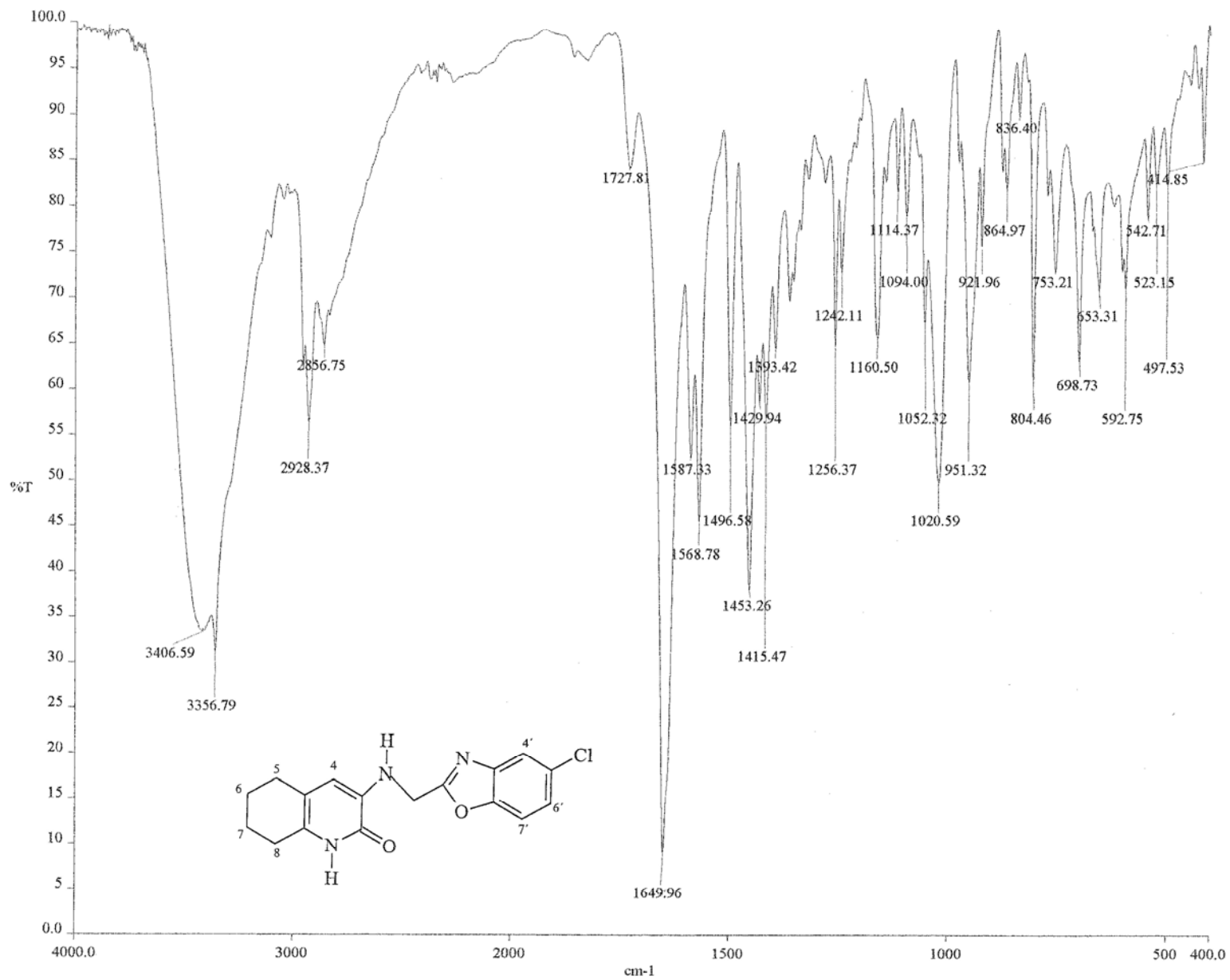
Espectro 26.3. Espectro de EM de 3-((5,6-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)metilamino)-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (8).

USAI
 26-06-05
 Dr. Rafael Castillo/Cecilia Juarez
 CJ-42/DMSO-d6
 1H 400 MHz
 Ref. DMSO 2.49 ppm
 400
 VNAS

Pulse Sequence: s2pu1



Espectro 27.1. Espectro de RMN ^1H de 3-((5-cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino)-5,6,7-8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (9).



Espectro 27.2. Espectro de IR de 3{[(5-cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5,6,7-8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (9).

[Mass Spectrum]

RT : 1.35 min

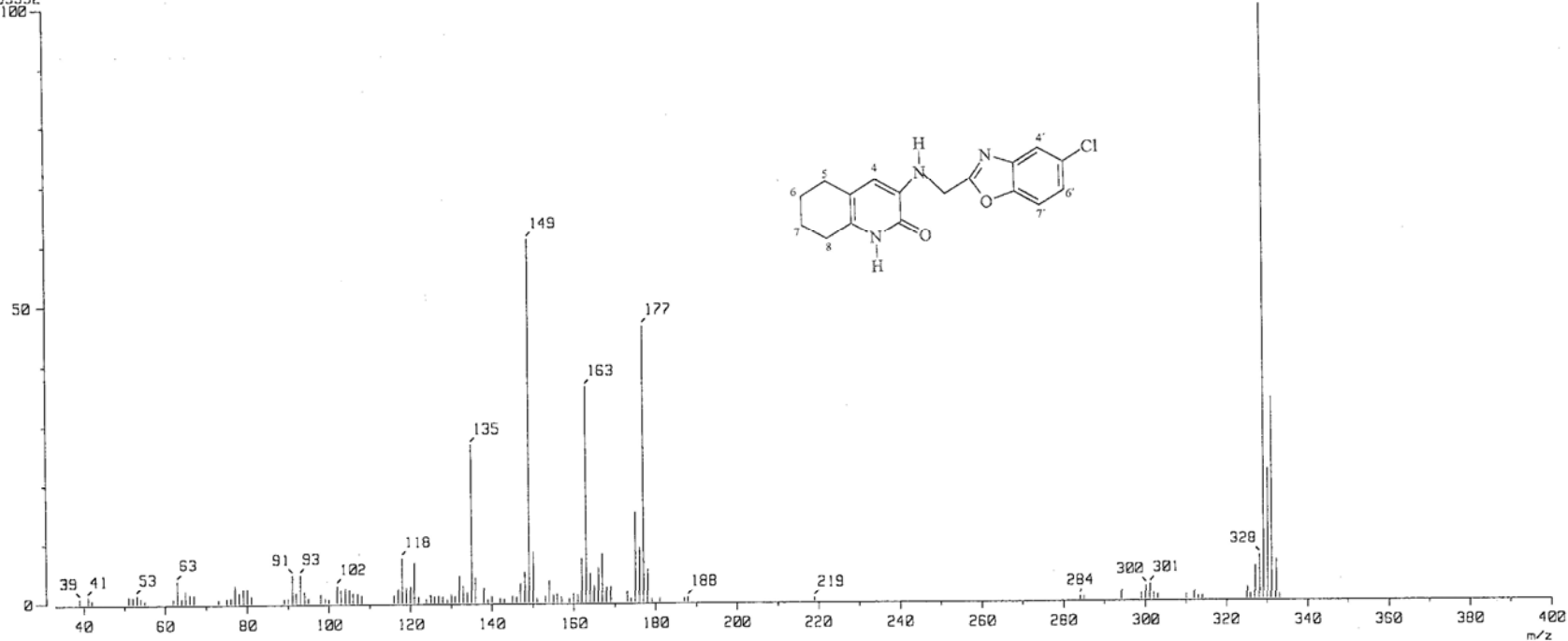
Scan# : (48,53)

Temp : 27.5 deg.C

Ion Mode : EI+

Int. : 43.43

455392



Espectro 27.3. Espectro de EM 3{[(5-cloro-1,3-benzoxazol-2-il)metil]amino}-5,6,7-8-tetrahidroquinolin-2(1H)-ona (9).