



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

"Síntesis y Espectrometría de Masas de
derivados de 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)-fenil]-7-
[(o-; p-R₁)tiofenil]-1,5-benzodiazepina."

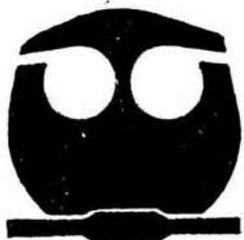
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

KARLA ERIKA SÁNCHEZ MONTES



EXAMENES PROFESIONALES

MÉXICO, D. F. FACULTAD DE QUÍMICA

2004

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente: Q.F.B. Yolanda Caballero Arroyo.
Vocal: Profa. Josefina Elizalde Torres.
Secretario: Dra. Olivia García Mellado
1er suplente: Q.F.B. Martha Yolanda González Quezada.
2do suplente: Q. Blas Flores Pérez.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Instituto de Química, UNAM.

Asesor:



Dra. Olivia García Mellado.

Sustentante:



Karla Erika Sánchez Montes.

*A Eduardo M. C.,
guía y amigo
siempre entre nosotros, en
pensamiento y ejemplo.*

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por brindarme su apoyo incondicional y darme la oportunidad de seguir adelante en mis metas.

A mis hermanos por su ayuda y comprensión recibida en cada momento de mi vida.

A la familia Montes Cortés por su apoyo, afecto y saber que siempre puedo contar y confiar en ustedes.

A los doctores Eduardo Cortés C. y Olivia García M. sin cuya ayuda, esta tesis no habría podido realizarse.

A mis amigos de la Facultad de Química, por los momentos inolvidables que compartimos y su amistad incondicional.

A mis compañeros y amigos del laboratorio 1-2 del Instituto de Química que me permitieron compartir agradables momentos y contar con su apoyo.

A los que en algún momento prestaron su ayuda valiosa y buena voluntad o tuvieron palabras de aliento e interés.

GRACIAS

ÍNDICE

ÍNDICE

Contenido:	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	
2.1 Generalidades sobre benzodiazepinas	6
2.2 Espectroscopia	16
3. OBJETIVOS.....	33
4. PARTE EXPERIMENTAL	
4.1 Ruta de síntesis	36
4.2 Metodología experimental	38
5. DISCUSION DE RESULTADOS	
5.1 Resultados de compuestos intermediarios	46
5.2 Discusión de resultados de compuestos I, II, III y IV.....	49
5.3 Resultados y discusión de compuestos finales.....	50
6. CONCLUSIONES	67
7. INDICE DE ESPECTROS	69
8. ANEXO.....	72
9. BIBLIOGRAFIA	94

LISTA DE ABREVIATURAS

GABA	Ácido gamma amino-butírico
SNC	Sistema Nervioso Central
CID	Colisión Inducida por Disociación
COSY	Correlation Spectroscopy
NOESY	Nuclear Overhauser Spectroscopy
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy
COLOC	Correlated spectroscopy via Long range Coupling
LRHETCOR	Long Range HETCOR
FLOCK	Multiple Bird long Range Correlation Spectroscopy
HMQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
CMRGB	Complejo Macromolecular del Receptor del ácido Gamma amino-Butírico
cm	Centímetros
δ	Desplazamiento químico.
eV	Electronvolts
m/z	Relación masa/carga
CG/MS	Cromatografía de Gases acoplada a Masas.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
rf	Radio frecuencia
H_o	Campo magnético
T	Teslas
MHz	Megahertz
FT-RMN	Transformada de Fourier aplicada a RMN
TMS	Tetrametilsilano
ppm	Partes por millón
DMS	Dimetilsulfoxido
E.M.	Espectrometría de Masas
I.R.	Infrarrojo.

INTRODUCCIÓN

Una gran cantidad de personas experimentan ansiedad, tensión e insomnio de forma aguda o crónica. Las benzodiazepinas han sido ampliamente usadas como remedios sintomáticos efectivos. En los últimos años ha aumentado su prescripción a largo plazo.

Las Benzodiazepinas son psicofármacos sintéticos clasificados dentro de los depresores del Sistema Nervioso Central (SNC). Estos fármacos son agonistas indirectos de GABA, siendo este el neurotransmisor inhibitorio más importante del SNC, estimándose que entre el 30 y 50 % de las sinápsis cerebrales de los mamíferos son gabanérgicas.

Las Benzodiazepinas son bases orgánicas débiles liposolubles y con una rápida absorción oral. Son transportadas por circulación sistémica unidas a proteínas plasmáticas en un alto porcentaje (80-95%). Se metabolizan en el hígado y se eliminan en porcentaje mayoritario por orina después de un metabolismo muy complejo con reacciones que incluyen N-dealquilación, C-hidroxilación y glucuronidación.

Las benzodiazepinas se conocen desde 1955 cuando Sterbach sintetizó accidentalmente el Clorodiazepóxido, inicialmente no se encontró utilidad clínica para esta sustancia, pero en 1957 se descubrieron sus propiedades sedantes y miorrelejante. A partir de 1960 el Clorodiazepóxido o Librium estuvo disponible en el mercado.

Desde entonces se han sintetizado más de tres mil benzodiazepinas y en la actualidad más de cuarenta, son utilizadas clínicamente^[1].

El espectro farmacológico de las benzodiazepinas, consecuencia de las diversas sustituciones en el anillo benzodiazepínico, incluyen propiedades ansiolíticas, sedantes, anticonvulsivantes, miorrelejantes, preanestésicas,

antidepresivas e hipnóticas siendo por estas dos últimas acciones junto con las propiedades euforizantes lo que las confiere el potencial de abuso y dependencia.

De los compuestos benzodiazepínicos, la serie más conocida es la de las 1,4-benzodiazepinas, es decir, las posiciones de los átomos de nitrógeno están en 1 y 4 (1). Esta serie es la que ha dominado el mercado, pero tiene la gran desventaja de desencadenar diversos efectos secundarios en el hombre. Por lo cual las de la serie 1,5-benzodiazepinas (2) cobraron interés cuando se encontró que una de ellas, la "Clozapina" (3) producía menores efectos colaterales.



Figura 1. Estructura base de Benzodiazepinas 1,4 y 1,5.

Hasta la fecha se siguen sintetizando y estudiando farmacológicamente diversos análogos de la "Clozapina", con buenos resultados, pero ninguno de ellos ha logrado superar las propiedades de ésta, por lo cual la búsqueda de nuevos análogos que sean más específicos en el tratamiento de las distintas enfermedades y que presenten menores efectos colaterales sigue siendo un tema de gran interés.

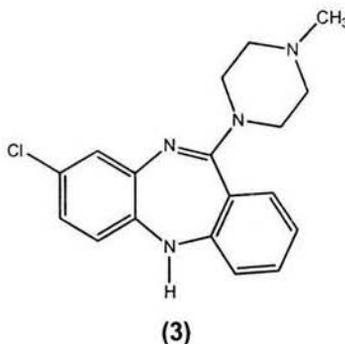


Figura 2. Estructura química de la Clozapina

El estudio que se plantea, forma parte de un programa, cuya finalidad es la síntesis y determinación de propiedades espectroscópicas de nuevos compuestos 1,5-benzodiazepínicos con posible actividad farmacológica y/o biológica.

Por su gran importancia analítica que presenta la Espectrometría de Masas en la elucidación de estructuras de moléculas orgánicas, durante la presente tesis, fue utilizada como herramienta fundamental para la identificación y caracterización de los nuevos derivados; además mediante espectrometría de masas de alta resolución y disociación inducida por colisión (CID) se propusieron los mecanismos y el patrón general de fragmentación de los nuevos compuestos obtenidos.

Por otra parte se utilizaron técnicas complementarias en la identificación y caracterización de dichos compuestos sintetizados, como resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , algunos experimentos bidimensionales: COSY, NOESY, HETCOR y HMBC y espectroscopia de infrarrojo.

ANTECEDENTES

2.1 GENERALIDADES SOBRE BENZODIAZEPINAS.

Durante la primera mitad del siglo XX, la forma en que se trataba las neurosis, en especial los síntomas de la ansiedad, era prescribiendo sedantes, como los barbitúricos,

El primer paso hacia el desarrollo de drogas que actuaran selectivamente sobre los mecanismos de ansiedad se dio a finales de los años cuarenta, con el descubrimiento del Meprobramato que, parecía tener un poder tranquilizador; dicho hallazgo fue hecho por el farmacólogo Frank Berger.

En la búsqueda de nuevos tranquilizantes menores destacan las benzodiazepinas, con alta actividad como ansiolíticos, sedantes, anticonvulsivos y propiedades de relajantes musculares. Estas propiedades las presenta un sistema estructural 5-aril-1H-1,4-benzodiazepinas. (fig.3)

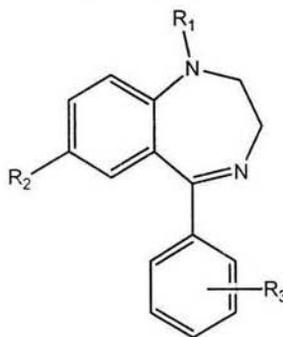


Figura 3. Estructura general de la 5-aril-1H-1,4-benzodiazepinas

A mediados de los años 50, un grupo de investigadores liderados por Leo H. Sternbach^[2], iniciaron un proyecto, cuya finalidad era la síntesis de nuevos compuestos con propiedades farmacológicas superiores a agentes terapéuticos anteriormente mencionados (los tranquilizantes), que empezaban a tener un creciente valor clínico.

La perseverancia, aunado a un poco de suerte, los llevo a descubrir una nueva estructura con actividad sobre el Sistema Nervioso Central, recibiendo el nombre de Clordiazepóxido (4), (ingrediente activo del " Librium"). Sin embargo su perfil farmacológico fue reconocido en 1957, cuando el Dr, Lowell Randal informo sobre los resultados de las propiedades sedantes y tranquilizantes de este compuesto^[4].

Para 1960 dos años y medio después, de los primeros estudios farmacológicos se distribuyo en el mercado de USA bajo el nombre comercial de Librium.

El desarrollo de este compuesto lo realizaron, al tratar en el ultimo paso la N-oxiquinazolina con metilamina para obtener el Clordiazepóxido^[2].

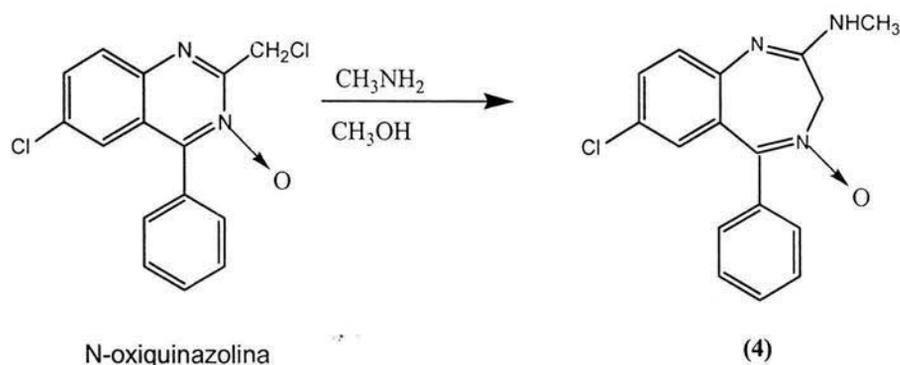


Figura 4. Obtención del 7-cloro-2-(metilamino)-5-fenil-3H-1,4-benzodiazepina-4-N-óxido.

Sternbach no sólo encontró un fármaco más efectivo que muchos de los tranquilizantes existentes en el mercado, sino también abrió una amplia e intensa línea de investigación basada en la modificación molecular del sistema benzodiazepínico. La nueva clase de compuestos es fácil de sintetizar, además

tenía perspectivas farmacológicas, y en esos tiempos era un área relativamente poco estudiada. Estudios posteriores, dieron como resultado una gran variedad de compuestos sintetizados, como en el caso del Prazepam, el cual se sintetizó por alquilación del Desmetildiazepam, usando hidruro de sodio y bromuro de ciclopropil metilo, éste resultó ser activo como ansiolítico, relajante muscular y tranquilizante^[4]. La reducción del Diazepam con hidruro de litio y aluminio dio el derivado Medazepam, que resultó ser un ansiolítico^[4,5].

En los últimos años el Clorodiazepoxido y el Diazepam (5) son de los primeros agentes terapéuticos en términos de prescripción entre la gran mayoría de los fármacos usados en la practica medica; entre otros se encuentra el Medazepam, Lorazepam y Oxazepam (6) que son usados como agentes ansiolíticos, así como el Nitrazepam y Triazolam que son agentes hipnóticos. En México se encuentran disponibles para uso terapéutico 15 derivados benzodiazepínicos dentro de los que se encuentran : Medazepam, Lorazepam (ambos agentes ansiolíticos), Nitrazepam (agente hipnótico) y Clobazam (agente ansiolítico)^[6,7]

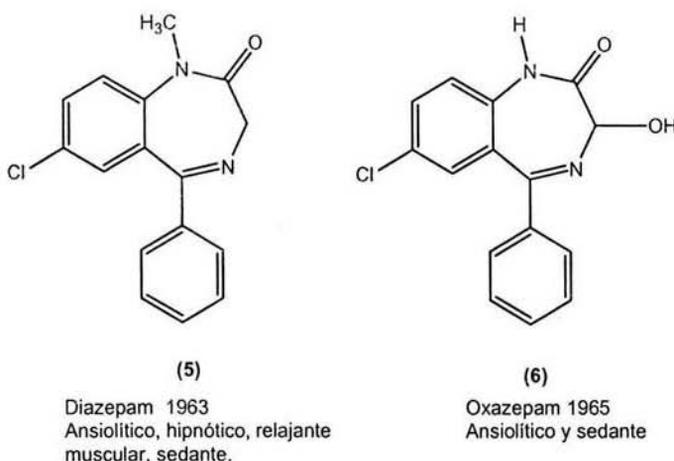


Figura 5. Estructuras del 7-clo-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona. (Diazepam) y 7-clo-1,3-dihidro-3-hidroxi-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona. (Oxazepam)

Una de las variaciones estructurales realizadas sobre las 1,4-benzodiazepinas, fue el cambio de posición de uno de los nitrógenos del anillo diazepínico a un carbón adyacente al anillo bencénico, para dar origen a las 1,5-benzodiazepinas. La síntesis de estos sistemas (1,5-benzodiazepínicos) fueron informados por primera vez en 1978 con la introducción de la Clozapina (3). Los trabajos de investigación que llevo a cabo Ellefson et al., mostraron que estos compuestos presentan gran actividad neuroléptica con menos efectos secundarios en humanos; así como el Clobazam (7) el cual también es un tranquilizante con estructura 5-N-fenil-1,5-benzodiazepin-2,4-diona.

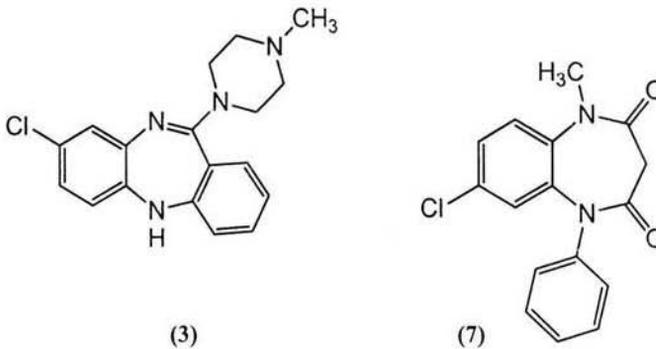


Figura 6. Estructura del 8-cloro-11-(4-metil-1-piperacínil)-5H-dibenzo-[b,e]-1,5-benzodiazepina (Clozapina, 3) y de la 7-cloro-1-metil-5-fenil-1H-1,5-benzodiazepin-2,4(3H,5H) diona (Clobazam, 7)

El Clobazam^[8,9] (7), es otro ejemplo de las 1,5-benzodiazepinas, y fue sintetizada en 1970 por K.H. Weber. Esta benzodiazepina es el ingrediente activo del "Frisium", que en la actualidad se utiliza como tranquilizante menor. Su síntesis se lleva a cabo a partir de las N-(2-nitro-5-clorofenil)-fenilamina y el monoéster

etílico del cloruro de malonilo preparado "in situ". Después de esto, la reducción del grupo nitro del compuesto lleva a una condensación intramolecular con cierre de anillo para dar el compuesto, por último se lleva a cabo la metilación en la posición 1.

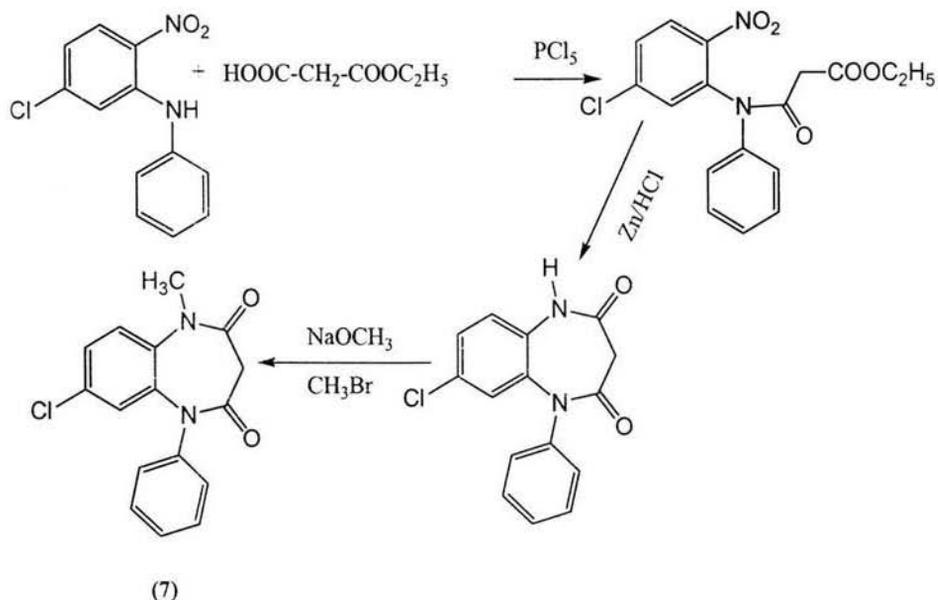


Figura 7. Obtención del compuesto 7-cloro-1-metil-5-fenil-1H-1,5-benzodiazepin-2,4-diona. (Clobazam)

Lo anterior trajo como consecuencia, que se iniciara una nueva línea de investigación basada en la síntesis de análogos de la "Clozapina"; J. Schmutz inicio una serie de estudios^[10] de diversos compuestos que mantienen en su estructura básica el tricyclo 1,5-dibenzodiazepinico, lamentablemente ninguno de ellos igualó las propiedades farmacológicas de la "Clozapina".

En fechas posteriores, Ellefson propuso la síntesis de una serie de derivados que contienen en su estructura básica una combinación estructural de

la " Clozapina" y de las 1,4-benzodiazepinas activas^[11] . Dicha síntesis se llevó a cabo a partir de una 1,5-benzodiazepin-2-tiona .

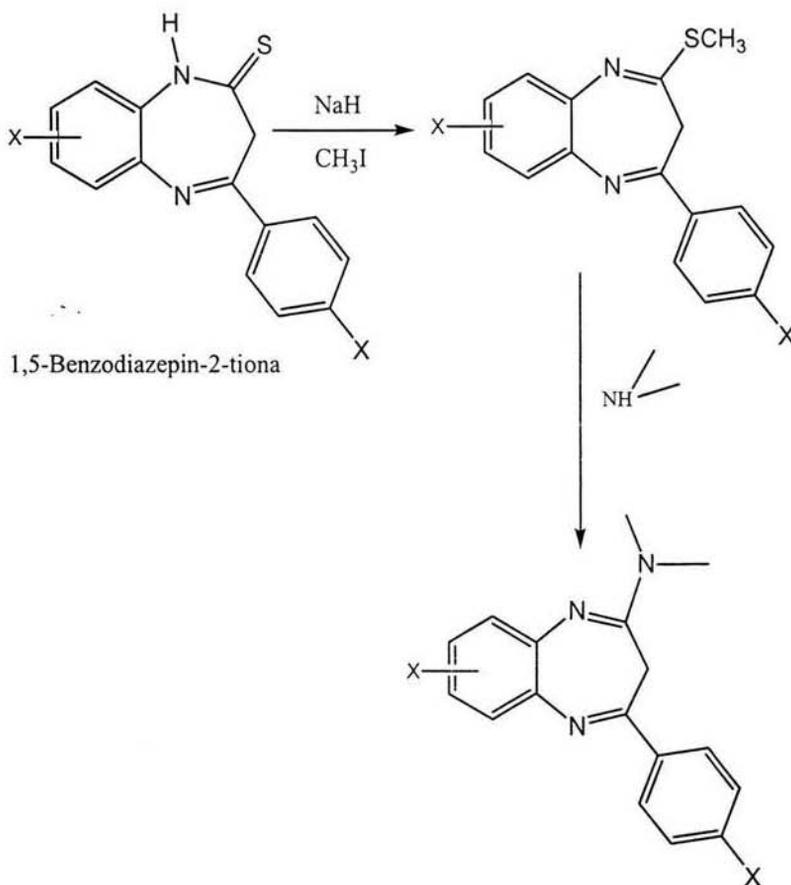


Figura 8. Obtención de derivados análogos de la Clozapina a partir de 1,5-benzodiazepin-2-tiona.

Los resultados al final indican que la actividad farmacológica sufrió un ligero decremento respecto a la "Clozapina", no obstante la búsqueda de nuevos análogos igual o más efectivos que ella no se ha abandonado.

En los últimos años la línea de investigación para obtener nuevas rutas sintéticas, así como nuevos compuestos de la familia de las benzodiazepinas es amplia y muy intensa. Una gran cantidad de nuevos compuestos en sistemas 1,4 y 1.5-benzodiazepínicos que contiene un anillo heterocíclico adicional fusionados en diferentes caras del ciclo heptaoatómico A, C o D muestran un incremento en la actividad depresora y específica sobre el SNC.

En el Instituto de Química de la UNAM, el Dr. Eduardo Cortés C. y colaboradores^[12-19], continúan en la búsqueda de nuevos compuestos con actividades neurológicas mejoradas. Las variaciones incluyen, fusión de anillos a algunas de las caras de la 1,5-benzodiazepina, uso de diferentes sustituyentes y la combinación de estructuras con diferentes actividades farmacológicas.

ACCIÓN FARMACOLÓGICA

Las principales acciones de las benzodiazepinas (hipnótico, ansiolítico, anticonvulsivo, relajante muscular) le confieren un gran valor terapéutico.

Como hipnóticos, las benzodiazepinas están indicadas principalmente por términos transitorios cortos de insomnio, por lo cual es limitado su uso a pocos días, no excediendo las 2 semanas. Los recomendados en este caso son: el Temazepam, Loprazolam y Lormetazepam, el Diazepam también es efectivo solo o dosificado por periodos no continuos^[20, 21, 22].

En general las benzodiazepinas son usadas como ansiolíticos, reacciones de stress agudo, ansiedad episódica, fluctuaciones en ansiedad generalizada y en

el tratamiento inicial de pánico severo. Para este fin, el Diazepam es el fármaco de elección.

Las benzodiazepinas además son utilizadas en el tratamiento de la epilepsia. También se usan en el periodo preoperatorio (en anestesia); con frecuencia se administran la noche anterior o poco antes de la inducción de la anestesia, para aliviar la ansiedad, causar somnolencia y producir amnesia de los sucesos ocurridos el día de la cirugía.

Por otro lado en el caso de desórdenes motores, las benzodiazepinas actúan como relajantes musculares, como es el caso del Diazepam y Prazepam. También son utilizadas en el tratamiento de la psicosis aguda con dosis únicas.

La ventaja clínica de las benzodiazepinas es su gran eficacia y su acción rápida; entre sus desventajas están: causan tolerancia, dependencia y recientemente se ha reportado que causan daños teratológicos.^[23,24,25]

MECANISMO DE ACCION

Ejercen su acción al actuar sobre los receptores específicos localizados a nivel del SNC, los cuales forman parte del complejo macromolecular del receptor del ácido gamma-aminobutírico (CMRGB). La unión del GABA más una benzodiazepina produce una serie de cambios alostéricos en la estructura del receptor, que activa al complejo produciendo una alteración en la permeabilidad de los canales de iones cloruro, con el posterior incremento del flujo del ion cloruro y la hiperpolarización de la célula. El ácido gamma-aminobutírico es un neurotransmisor con acción inhibitoria, y sus receptores forman parte de un

sistema bidireccional inhibitorio conectado entre diversas áreas del SNC. La activación del CMRGB por una benzodiazepina potencia la acción inhibitoria de la sinapsis mediada por el GABA^[26]. Los receptores de las benzodiazepinas se encuentran distribuidos por todo el cerebro y la médula espinal; además se encuentran receptores en otros órganos como las glándulas adrenales, riñones, glándula pineal y plaquetas^[26,27].

Los receptores de las benzodiazepinas fueron inicialmente descritos como centrales y periféricos, pero posteriormente se han denominado como ω_1 , ω_2 y ω_3 . Cada uno de estos subtipos tienden a agruparse en determinadas áreas del SNC, siendo cada subtipo particularmente más frecuente en un área que en otra. Los subtipos *omega*, a su vez están formados por seis subunidades diferentes (α_1 , α_2 , α_3 , α_5 , β_2 , γ_2). La combinación de cada una de estas subunidades determina cada subtipo *omega*. Así, el subtipo ω_1 se encuentra preferentemente a nivel del cortex sensorial y motor, por lo que su estimulación tendrá predominantemente un efecto hipnótico-sedante. El subtipo ω_2 se encuentra fundamentalmente en el área límbica del cerebro y su estimulación tendrá mayormente un efecto ansiolítico y anticonvulsivo. La función de los ω_3 no se conoce aún con exactitud. Algunas de las benzodiazepinas se unen de forma preferente a determinados subtipos *omega*, así el Zolpidem se une al ω_1 ; el Alpidem se une a los ω_1 y ω_3 ; el Flunitracepan, Flumazenil (antagonista de las benzodiazepinas), Diazepam y otras benzodiazepinas actuarían sobre los subtipos ω_1 y ω_2 ^[27].

Cuando el GABA es liberado, y busca un receptor de tipo A (GABA-A receptor benzodiazepínico), se abre el canal de iones cloruro, penetra el ion cloruro en la neurona y se produce hiperpolarización e inhibición neuronal. Cuando una benzodiazepina está utilizando su receptor esta transmisión por GABA se sinergia, y hace más efectiva la transmisión por GABA, se dice que el canal de iones cloruro aumenta la frecuencia de abertura cuando la benzodiazepina está

ocupando el receptor, de donde se puede deducir que la acción de las benzodiazepina tiene que ir ligada a que el GABA esté ocupando el receptor tipo A, de lo contrario no hay efecto de la benzodiazepina.

Los barbitúricos abrirían directamente el canal de iones cloruro produciendo una inhibición mucho mayor y de ahí vendría su efecto depresor general del sistema nervioso sujeto a estrecho margen terapéutico con efectos peligrosos por sobredosis. La mayor afinidad por un tipo de receptor omega por parte de las diferentes benzodiazepinas determina su preponderancia por determinado tipo de acción.



Figura 9. Receptor GABA- A de benzodiazepinas

2.2 ESPECTROSCOPIA

Las moléculas se asocian con varios tipos distintos de movimiento. La molécula gira, los enlaces vibran, e incluso los electrones se mueven a pesar de que lo hacen con tanta rapidez que en general se prefiere hablar solo de distribuciones de densidad electrónica. Cada uno de estos tipos de movimiento se cuantifica. En otras palabras, la molécula puede existir solo en estados específicos que corresponden a contenidos de energía discreta y cada estado se caracteriza por uno o más números cuánticos. La diferencia de energía entre dos estados de esta índole, ΔE , se relaciona con la frecuencia de luz, (ν), por la constante de Planck, h .^[29,35]

$$\Delta E = h\nu$$

Las diferentes radiaciones al interactuar con la materia, producen espectros atómicos y moleculares que son la representación gráfica de la distribución de intensidad de la radiación electromagnética, emitida o absorbida por una muestra, en función de una longitud de onda o frecuencia.

La espectroscopia se divide en dos clases:

- a) Emisión
- b) Absorción

Los espectros de emisión se obtienen excitando una muestra para que emita radiación electromagnética, cuya intensidad se registra en función de su longitud de onda o de frecuencia mediante un espectrógrafo o espectrómetro. Por su parte, los de absorción se obtienen por irradiación de una muestra como una

película, con radiación continua determinando la diferencia en las intensidades de los haces incidentes y transmitidos.

La espectroscopia constituye un procedimiento experimental en el que se miden las diferencias de energía entre los estados permisibles de un sistema, determinando las frecuencias de la luz correspondiente absorbida y/o emitida.

La diferencia de energía entre los distintos estados cuánticos depende del tipo de movimiento implicado. En consecuencia, la longitud de onda de la luz requerida para producir una transición difiere para cada uno de los tipos distintos de movimiento. En otras palabras, cada tipo de movimiento corresponde a cierta absorción de luz en una región diferente del espectro electromagnético. Dichos métodos espectroscópicos son de gran aplicación dado que utilizan una mínima cantidad de muestra para realizar el análisis y esto en tiempos cortos.

INFRARROJO

La región infrarroja del espectro incluye la radiación con número de onda comprendidas entre 12800 y 10 cm^{-1} lo que corresponde a longitudes de onda de 0.78 a $1000\text{ }\mu\text{m}$ (micrómetro), divididas en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano. La gran mayoría de las aplicaciones analíticas se han restringido al uso de una parte del infrarrojo medio comprendida entre los 4000 y los 400 cm^{-1} (de 2.5 a $25\text{ }\mu\text{m}$).

Los aparatos de Infrarrojo trabajan a la mitad de esta región que corresponde a energías que van desde 1.1 hasta 11 kcal/mol . Los fotones que transporta la radiación infrarroja no tienen energía suficiente para provocar transiciones electrónicas pero si pueden conseguir vibraciones de los enlaces covalentes de las moléculas orgánicas. La energía necesaria para provocar una transición vibracional depende del tipo de átomos y del tipo de enlace que los mantiene unidos.

La siguiente figura 10 muestra esquemáticamente los principales componentes de un espectrofotómetro infrarrojo.

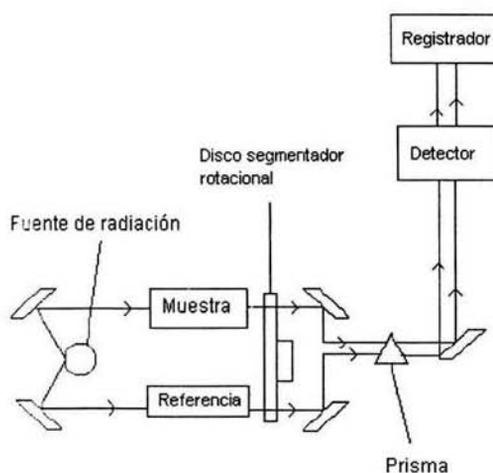


Figura 10. Esquema de un espectrofotómetro de infrarrojo.

El espectrofotómetro infrarrojo va equipado con una *fente de emisión* de radiación infrarroja, que normalmente es una barra de un material cerámico. La radiación emitida por esta fuente se divide en dos haces al atravesar una serie de *espejos*. De los dos haces uno de ellos pasa por una celda que contiene una disolución del compuesto orgánico (*haz de la muestra*) que se desea estudiar, mientras que el otro haz atraviesa una celda que sólo contiene el disolvente empleado (*haz de referencia*). Los dos haces se dirigen luego hacia un dispositivo que permite el pase alternativamente de un haz y luego del otro (*interruptor rotatorio*). El haz se dirige a la *rejilla de difracción* donde se separa en las longitudes de onda que lo componen (espectro de IR). Estas radiaciones,

separadas por su valor de longitud de onda, pasan a través de una *ranura* y llegan al *detector*. El detector es una bobina de alambre cuya resistencia aumenta debido al calentamiento que produce la radiación incidente. Así pues, la resistencia del detector depende de la intensidad de la radiación.

La acción del interruptor rotatorio permite alternar la llegada al detector del haz de la muestra con la llegada del haz de referencia, pudiéndose comparar estas señales mediante una serie de *circuitos eléctricos*. Como la absorción por el disolvente es la misma en ambas celdas el efecto de éste se puede restar y el *registrador* recibe sólo las señales debidas a la absorción de la muestra.

Los compuestos pueden examinarse en tanto en fase gaseosa como en un líquido puro, disolución o estado sólido.

- a) Fase gaseosa. El vapor se introduce en una célula especial, que puede colocarse directamente bajo la trayectoria del haz de infrarrojo. Los compuestos a analizar por esta técnica deben poseer una presión de vapor demasiado baja.
- b) Líquido. Una gota de líquido se comprime entre dos placas de cloruro sódico.
- c) Disolución. El compuesto se disuelve en tetracloruro de carbono o cloroformo libre de alcohol, para dar una disolución del 1 al 5%. La disolución se introduce en una célula especial de cloruro sódico.
- d) Estado sólido. Se muele aproximadamente 1 mg del sólido en un pequeño mortero de ágata hasta obtener un polvo fino, añadiendo para ello una gota de un líquido hidrocarbonato (Lujol, Kaidol), esta material se prensa entre dos láminas de cloruro sódico.

Dado que la radiación infrarroja no es lo suficientemente energética como para producir las transiciones electrónicas que se dan cuando se trata de radiaciones ultravioleta y visible^[30].

La absorción de radiación infrarroja se limita así en gran parte a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los distintos estados vibracionales y rotacionales.

Para que esto ocurra tiene que suceder que las moléculas se exciten a un nivel energético superior, para lo que se debe dar dos casos:

1.- La frecuencia debe ser igual a la diferencia entre dos niveles cuánticos diferentes.

2.- Es necesario que exista un mecanismo físico adecuado que convierta la energía electromagnética en energía de rotación, la integración de la energía electromagnética y las cargas de los enlaces.

Tipos de vibraciones moleculares

Las posiciones relativas de los átomos en una molécula no están exactamente fijas, sino que fluctúan continuamente como consecuencia de multitud de diferentes tipos de vibración. Para una molécula simple diatómica o triatómica es fácil definir el número y la naturaleza de tales vibraciones, y relacionarlas con las energías de vibración. Sin embargo con moléculas poliatómicas un análisis de esta clase se hace difícil no solo a causa del gran número de centros vibratorios, sino que ocurren interacciones entre varios centros que deben tomarse en consideración.

Pueden distinguirse 2 tipos básicos de vibraciones: de tensión y de flexión. Una *vibración de tensión* supone un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las *vibraciones de flexión* se

caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: de tijereteo, de balanceo, de aleteo y de torsión^[31].

En una molécula que contiene más de dos átomos, pueden darse todos los tipos de vibraciones, además puede producirse una interacción o acoplamiento de las vibraciones si estas implican enlaces a un mismo átomo central, el resultado del acoplamiento es un cambio en las características de las vibraciones.

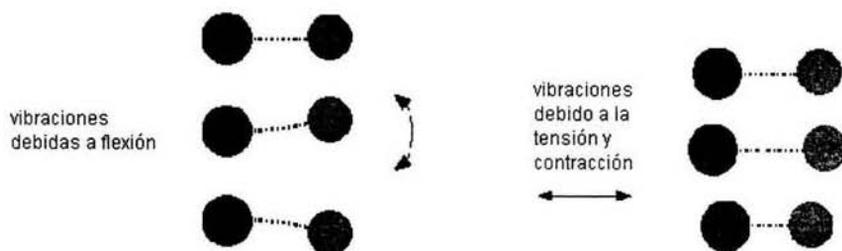


Figura 11. Tipos de vibraciones moleculares

ESPECTROMETRIA DE MASAS

La espectrometría de masas es una técnica instrumental que permite la generación de iones en fase gaseosa, además de su separación y detección, dando como resultado la determinación de la estructura y masa molecular de la sustancia de interés .

Los espectrómetros de masas actuales están basados en el método propuesto por Sir J.J, Thomson (Cavendish Laboratory University of Camdrige) en 1897, cuando, en paralelo con el descubrimiento del electrón se construyo el primer espectrómetro de masas, llamado entonces, parábola espectrográfica.

Las partes básicas de un espectrómetro de masas incluyen: un sistema de vacío, un sistema de introducción de muestras, una fuente de ionización, un analizador de masas y un detector de iones.

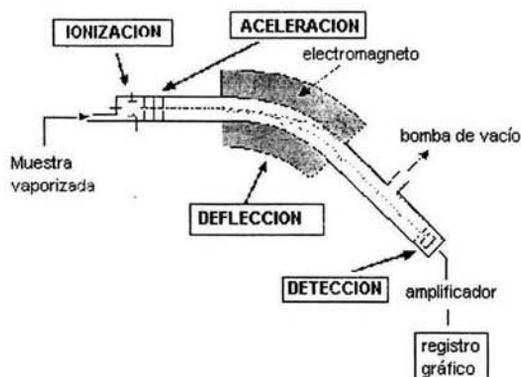


Figura 12. Esquema de un Espectrómetro de Masas

Ionización. La muestra vaporizada pasa a la cámara de ionización, en donde existe una interacción de los electrones con un alto contenido energético (70 eV) con las moléculas de la muestra. En dicho proceso se producen iones positivos y negativos, además, de fragmentos neutros.

Aceleración. Los fragmentos cargados positivamente son repelidos fuera de la cámara de ionización y acelerados por un voltaje de 1 a 10 Kv y el haz de iones formado es alineado al pasar por una abertura selectiva a través de la cual entra al campo magnético.

Deflección. Los diferentes iones son deflectados por un campo magnético a diferentes cantidades, la cantidad de deflección depende de:

- ◆ la masa del ion. Iones ligeros son mayormente deflectados que los iones pesados.
- ◆ la carga del ion. Iones con 2 o más cargas positivas son mayormente deflectados que aquellos que sólo poseen una carga positiva.

Estos dos factores son combinados en un radio de masa/carga (m/z).

Detección. Los rayos de iones son pasados uno a uno a través de una abertura y enfocados hacia una placa colectora que emite un electrón por cada ion que choca con ella formándose una corriente electrónica pequeñísima que se aumenta en el multiplicador electrónico, esta corriente es recibida para ser graficada lo cual nos produce el espectro de masas en el cual el tamaño del pico es una medida relativa del número de iones de cada haz^[29,33].

El espectro de masas se representa en un sistema de coordenadas indicándose en el eje de abscisas la relación m/z y en el eje de ordenadas la abundancia iónica relativa de cada uno de los iones detectados. Es una técnica destructiva para la muestra, al ser ésta ionizada y fragmentada.

El problema más importante de esta técnica, por los requerimientos de alto vacío para mantener las condiciones adecuadas de funcionamiento del sistema, es la limitación en la cantidad de muestra que se puede introducir al sistema y el flujo máximo del gas portador en la cromatografía de gases acoplada a masas (CG/MS).

Los distintos tipos de iones que se registran en los espectros de masa de moléculas orgánicas son:

1) Ion molecular: Corresponde al ion de máximo valor m/z en el espectro. Su intensidad se relaciona con la estabilidad de la estructura molecular de la muestra ante la carga y deficiencia electrónica inducida. Corresponde al peso molecular de la muestra.

2) Iones isotópicos. Todos los elementos que presentan formas isotópicas naturales, proporcionan contribuciones a los pesos moleculares, obteniéndose pequeños picos después del ion molecular en el espectro de masas que se representa como $[M+1]$ cuando la contribución es de una unidad de masa; y $[M+2]$, $[M+4]$, etc., cuando la contribución isotópica corresponde a 2 unidades de masa por cada halógeno o elementos como el azufre y el oxígeno. Relacionando la abundancia relativa del ion molecular con las obtenidas para las contribuciones isotópicas, se puede hacer el cálculo de la fórmula condensada del compuesto analizado.

3) Iones fragmento. Corresponden a todos aquellos iones de masa integral y valor inferior al correspondiente ion molecular que resultan de procesos de descomposición unimolecular, dentro de la cámara de ionización y contiene la información relativa a la estructura de la molécula original.

4) Iones metaestables. Se detectan como iones de baja abundancia, anchos y difusos, cuyo centroíde se localiza a valores m/z no integrales; que resultan de iones moleculares o fragmentos, que después de haber sido acelerados se encuentran en proceso de descomposición unimolecular durante su trayecto. De la determinación de estos iones, se deriva la información mecanística de los procesos de fragmentación que caracterizan a la muestra analizada.

5) Iones múltiples cargados. Es común, para moléculas altamente conjugadas, que durante el proceso de ionización pierdan más de un electrón. Los iones resultantes cuando provienen de especies de masa impar, se detectan en la escala m/z a valores muy pequeños, y con abundancias variables. La aparición de estos iones en los espectros de masa dan una idea de la aromaticidad y/o conjugación de la molécula original.

6) Iones de reagrupamiento. Estos iones resultan de reacciones de descomposición unimolecular a partir de iones moleculares o fragmentos, que se

caracterizan por pérdidas de masa pares racionalizadas a través de reagrupamientos intramoleculares de radicales^[33,34].

Tandem o un espectrometrómetro de masas de múltiples estados

A menudo se necesita más información estructural de la que ha sido generada por el método de ionización usado. Esta información puede ser obtenida acoplando dos analizadores, separados por una celda de colisión. El primer analizador es usado para seleccionar el compuesto de interés. Luego este ion pasa a la celda de colisión que normalmente estará presurizada con un gas inerte como argón. Por colisión del ion con los átomos en la celda se puede inducir la disociación del ion. Esto es conocido como disociación inducida por colisión (CID). Refiriéndonos al ion original como el "precursor" y los iones disociados como los iones "producto". Estos iones productos son luego analizados en el segundo espectrómetro de masas así se genera el espectro de masas de los iones producto del ion precursor original.

RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

La espectroscopia de RMN fue desarrollada a finales de los años cuarenta para estudiar los núcleos atómicos. En 1951, los químicos descubrieron que la espectroscopia de resonancia magnética nuclear podía ser utilizada para determinar las estructuras de los compuestos orgánicos. Esta técnica espectroscópica puede utilizarse solo para estudiar núcleos atómicos con número impar de protones o neutrones (o ambos). Esta situación se da en los átomos de ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P . Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir poseen espín, igual que los electrones, ya que los núcleos poseen carga positiva y poseen un movimiento de rotación sobre un eje que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes.

En ausencia de campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar. Sin embargo cuando una muestra se coloca en un campo magnético, tal y como se muestra en la siguiente figura 13, los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín α mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía denominado estado de espín β .

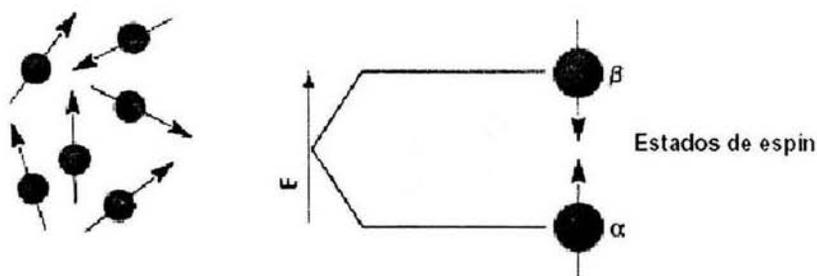


Figura 13. Orientación del espín nuclear

Existen más núcleos en el estado de espín α que en el β , pero aunque la diferencia de población no es enorme sí que es suficiente para establecer las bases de la espectroscopia de RMN.

La diferencia de energía entre los dos estados de espín α y β , depende de la fuerza del campo magnético aplicado H_0 . Cuanto mayor sea el campo magnético, mayor diferencia energética habrá entre los dos estados de espín.

Cuando una muestra que contiene un compuesto orgánico es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín α son promovidos al estado de espín β , esta radiación se encuentra en la región de

las radiofrecuencias (rf) del espectro electromagnético por eso se le denomina radiación rf, cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía (E) entre los estados de espín α y β . El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una grafica de frecuencia frente a intensidad, que es el llamado espectro de RMN. El termino resonancia magnética nuclear procede del hecho de que los núcleos están en resonancia con la radiofrecuencia o la radiación rf. Es decir, los núcleos pasan de un estado de espín a otro como respuesta a la radiación rf a la que son sometidos. La siguiente ecuación muestra la dependencia entre la frecuencia de la señal y la fuerza del campo magnético H_0 (medida en Teslas T)

$$\Delta E = h \nu = h \frac{\gamma}{2\pi} H_0 \quad \text{donde } \gamma = \text{radio giromagnético}$$

El valor del radio giromagnético depende del tipo de núcleo que se está irradiando. Si el espectrómetro de RMN posee un imán potente, éste debe trabajar a una mayor frecuencia puesto que el campo magnético es proporcional a dicha frecuencia. Así por ejemplo, un campo magnético de 14.092 T requiere una frecuencia de trabajo de 600 MHz.^[29,30]

Hoy en día los espectrómetros de RMN trabajan a 200, 300, 400, 500 y 600 MHz.

El espectrómetro de resonancia magnética nuclear

El espectrómetro RMN consta de cuatro partes:

1. Un imán estable, con un controlador que produce un campo magnético preciso.
2. Un transmisor de radiofrecuencias, capaz de emitir frecuencias precisas.
3. Un detector para medir la absorción de energía de radiofrecuencia de la muestra.

4. Un ordenador y un registrador para realizar las graficas que constituyen el espectro de RMN.

Para obtener un espectro de RMN, se coloca una pequeña cantidad (de 2 a 30 mg) del compuesto orgánico disuelto en aproximadamente medio mililitro de disolvente en un tubo de vidrio largo que se sitúa dentro del campo magnético del aparato. El tubo con la muestra se hace girar alrededor del eje vertical.

En los aparatos modernos el campo magnético se mantiene constante mientras un breve pulso de radiación rf excita a todos los núcleos simultáneamente. Como el corto pulso de radiofrecuencia cubre un amplio rango de frecuencias los protones individualmente absorben la radiación de frecuencia necesaria para entrar en resonancia (cambiar de estado de espín). A medida que dichos núcleos vuelven a su posición inicial emiten una radiación de frecuencia igual a la diferencia de energía entre estados de espín. La intensidad de esta frecuencia disminuye con el tiempo a medida que todos los núcleos vuelven a su estado inicial.

Un ordenador recoge la intensidad respecto al tiempo y convierte dichos datos en intensidad respecto a frecuencia, esto es lo que se conoce con el nombre de transformada de Fourier (FT-RMN). Un espectro FT-RMN puede registrarse en 2 segundos utilizando menos de 5 mg de muestra.

Resonancia magnética nuclear de ^1H . Apantallamiento o protección magnética por los electrones.

Solo se ha descrito el concepto de resonancia de un núcleo aislado dentro de un campo magnético, pero en realidad los núcleos, como pueden ser los protones o los carbonos que forman las moléculas orgánicas, no se encuentran aislados sino que están rodeados de electrones que los protegen parcialmente del campo magnético externo al que se ven sometidos. Los electrones se mueven generando un pequeño campo magnético inducido que se opone al campo magnético externo.

En cualquier molécula la nube electrónica que existe alrededor de cada núcleo actúa como una corriente eléctrica en movimiento que, como respuesta al campo magnético externo, genera una pequeña corriente inducida que se opone a dicho campo. El resultado de este hecho es que el campo magnético que realmente llega al núcleo es más débil que el campo externo, por lo tanto, se dice que el núcleo está protegido o apantallado. Este apantallamiento es muy importante desde el punto de vista experimental ya que el campo magnético efectivo (H_{ef}) que siente un protón dentro de una molécula es siempre menor que el campo externo, y por lo tanto, para que el núcleo entre en resonancia dicho campo externo debe ser mayor.

$$H_{ef} = H_o - H_{loc}$$

Por lo general, los efectos de protección, o apantallamiento, de las nubes electrónicas que rodean a cada protón son diferentes, lo que provoca diferentes frecuencias de emisión. El resultado es un espectro de diversas frecuencias donde cada conjunto de núcleos específicos da origen a una señal única de RMN.

Las variaciones en las frecuencias de absorción de resonancia magnética nuclear, que tienen lugar debido al distinto apantallamiento de los núcleos, reciben el nombre de *desplazamientos químicos* (unidades δ ó ppm).

Un método exacto para expresar desplazamientos químicos es determinar el valor respecto a un compuesto de referencia que se añade a la muestra. La diferencia en la intensidad del campo magnético necesario para la resonancia de los protones de la muestra y de los protones de referencia se puede medir, ahora sí, con mucha exactitud

$$\delta \text{ (ppm)} = \frac{\nu_{muestra} - \nu_{referencia}}{\nu_{referencia}} \times 10^6$$

El compuesto de referencia más común en RMN es el tetrametilsilano (TMS), dado que el silicio es menos electronegativo que el carbono, los grupos metilo del TMS son relativamente ricos en electrones, es decir, sus protones están fuertemente apantallados; por lo que dichos protones absorben a una intensidad de campo mayor que el resto de los protones enlazados a carbono o a otros elementos.

Curva de integración.

La intensidad de la señal integrada como el área contenida bajo el pico de un señal de resonancia de una muestra, es proporcional al número y tipo de núcleos contenidos en la molécula. Puesto que la cantidad de energía absorbida por un tipo de protones es cuantificada, la respuesta electrónica del detector de radiofrecuencia del equipo será proporcional al número de esos protones presentes en la molécula.

Acoplamiento espín-espín.

Este es ocasionado por la presencia de protones vecinos (protones en carbonos adyacentes, no equivalentes al protón en cuestión), se observa cuando dos grupos de protones no equivalentes producen desdoblamiento mutuo de señales. Se puede predecir el número de señales resultantes del acoplamiento espín-espín de un protón determinado (o grupo de protones vecinos y no equivalentes) sumando 1 al número total (n) de protones vecinos y no equivalentes al protón en cuestión llamada *la regla $n+1$* .

Los protones con idénticos desplazamientos químicos no producen desdoblamiento de sus señales, solamente los protones vecinos con diferentes desplazamientos químicos. Un protón que carezca de protones no equivalentes en su vecindad, origina en el espectro un pico sencillo, llamado singulete. Un protón vecino a otro no equivalente a él da origen a una señal desdoblada en dos picos, esto es, un doblete^[30,32].

La separación entre los picos de un doblete se llama constante de acoplamiento J. Para cualquier par de protones acoplados, el valor de J es idéntico al medirlo en uno u otro doblete. Por conveniencia el valor de J se expresa en Hz.

Experimentos homonucleares en 2D.

COSY (Correlation Spectroscopy):

Experimento que indica la correlación entre dos protones que se encuentran acoplados escalaramente entre ellos. Si la constante de acoplamiento es pequeña la correlación es pequeña. Si la constante de acoplamiento es grande, a pesar de existir más de 4 enlaces de distancia entre los núcleos involucrados, la correlación existe y es intensa.

NOESY (Two dimensional Nuclear Overhauser Spectroscopy):

Experimento que muestra el efecto nuclear Overhauser entre dos protones. La intensidad de la señal depende de la masa molecular del compuesto. Este efecto es factible observarlo dado que requiere un tiempo muy largo que permita el intercambio de información sobre la proximidad de los núcleos que se encuentran cerca a través del espacio. A este tiempo se le llama de mezclado.

Experimentos heteronucleares en 2D

HETCOR (Heteronuclear Correlation Spectroscopy):

Experimento que detecta al núcleo menos sensible y muestra la correlación a un enlace de distancia entre núcleos distintos; esto es, muestra que núcleos están acoplados a un enlace de distancia.

COLOC (Correlated spectroscopy via Long range Coupling):

Experimento de detección directa que determina las correlaciones a larga distancia entre protón y un heteronúcleo. No suprime las correlaciones a un enlace de distancia.

LRHETCOR (Long Range HETCOR):

Experimento de detección directa que muestra las correlaciones a dos y a tres enlaces de distancia entre núcleos diferentes. Suprime las correlaciones a un enlace de distancia.

FLOCK (Multiple Bird long Range Correlation Spectroscopy):

Experimento de detección directa que muestra la correlación a dos o a tres enlaces de distancia entre núcleos diferentes. Suprime las correlaciones a un enlace de distancia.

HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation):

Experimento que detecta al núcleo más sensible y muestra la correlación a un enlace de distancia entre núcleos distintos vía coherencia cuántica múltiple.

HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation spectroscopy):

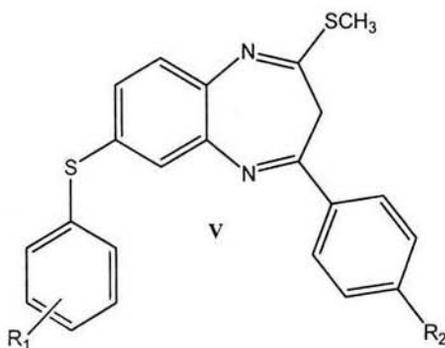
Experimento de detección indirecta que muestra la correlación a un enlace de distancia entre núcleos distintos vía coherencia cuántica sencilla.

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation):

Experimento que detecta al núcleo más sensible y muestra la correlación a dos o a tres enlaces de distancia entre núcleos distintos vía coherencia cuántica múltiple.

OBJETIVOS

1.- Realizar la síntesis de los derivados de 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o-; p-R₁)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. R₁= o-; p-(Br; -Cl), R₂= -Br; -OCH₃.



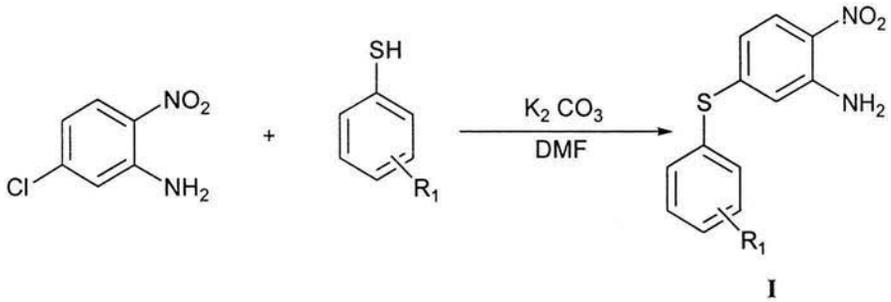
2.- Elucidar las estructuras de los ocho nuevos derivados sintetizados, utilizando técnicas analíticas como Espectroscopia de Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear Protónica y de Carbono 13, así como la Espectrometría de Masas de alta resolución utilizando la técnica de disociación inducida por colisión (CID).

3.- Finalmente proponer el Patrón General de Fragmentación de los derivados de 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o;p-R₁)tiofenil]-1,5-benzodiazepina y los mecanismos que dan origen a los principales iones en los espectros de masas.

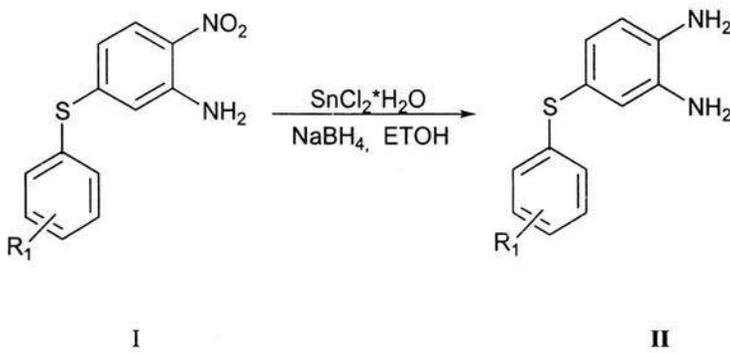
PARTE EXPERIMENTAL

RUTA GENERAL DE SINTESIS

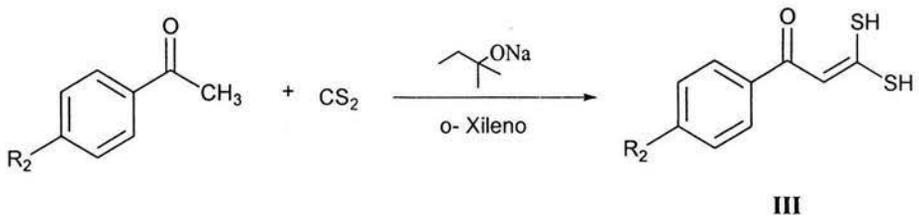
1er. paso.



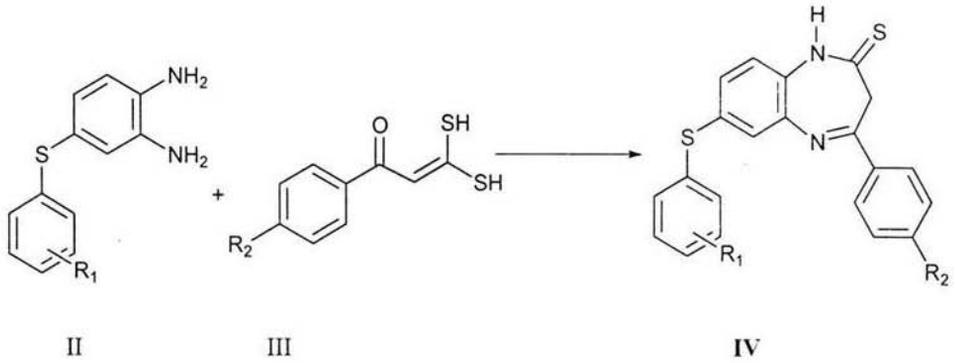
2do. paso.



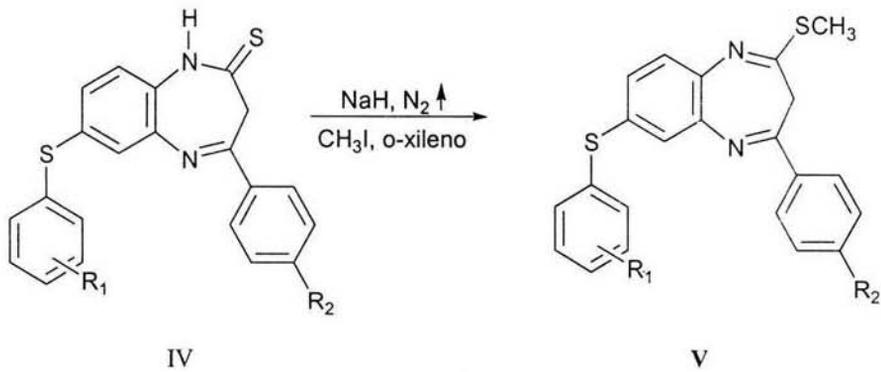
3er paso.



4to paso.

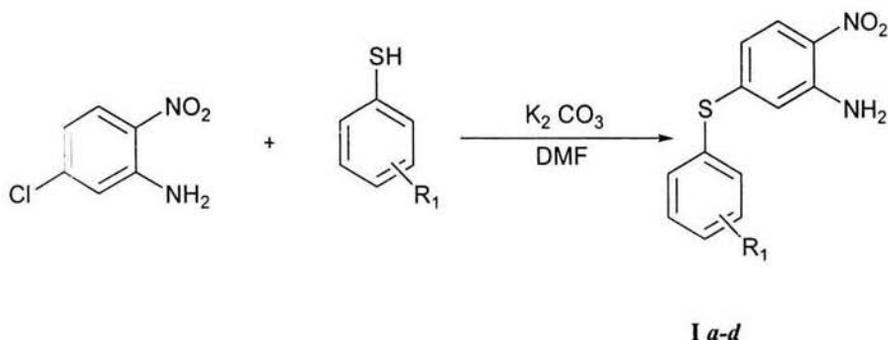


5to. paso



4.2 Obtención de los intermediarios y productos finales, siguiendo la ruta de síntesis que consta de cinco pasos:

1.- Obtención de los derivados de la 5-[(o-; p-R₁)tiofenil]-2-nitroanilina (I) [R₁= o-; p-(Cl,-Br)]



En un matraz de dos bocas de 50 ml equipado con refrigerante en posición de reflujo, agitación magnética y calentamiento, se colocan 5.8 mmoles de 5-cloro-2-nitroanilina y 5.8 mmoles de K₂CO₃ anhidro disuelto en 20 ml de DMF (N,N-dimetilformamida) se deja en reflujo durante una hora. Se deja enfriar y con ayuda de un embudo de adición se agrega gota a gota 5.8 mmoles del R₁-tiofenilo [R₁= o-; p-(Br, -Cl)] respectivo disuelto en 5 ml de DMF se continúa el reflujo hasta transformación total del reactivo (5-8 hrs.). Después de terminada la reacción se enfría a temperatura ambiente, posteriormente se coloca en baño de hielo y se agregan 20ml de agua fría, apareciendo un precipitado, el cual se filtra a vacío y se lava con agua. Se obtienen sólidos café claro con punto de fusión definido con un rendimiento del 80-91%. El rendimiento y el punto de fusión de los compuestos **I a-d**, se indican en la tabla No. 1 (Pág. 46).

Datos espectroscópicos de los compuestos I a-d:

I. a EM (I.E. 70eV): 280[M*](100), 250(15), 234(9), 199(16), 171(6), 122(3), 108(2), 91(6).

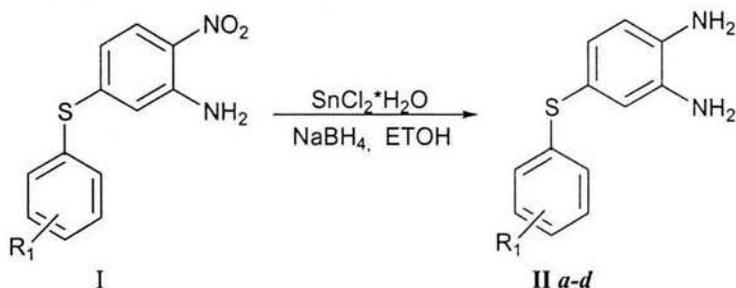
I. b EM (I.E.70eV): 280[M*](96), 250(8), 234(6), 199(100), 171(16), 122(3), 108(10), 91(12).

I. c EM (I.E. 70eV): 324[M*](100), 294(14), 278(8), 199(22), 171(11), 122(3), 108(6), 91(6).

I. d EM (I.E. 70eV): 324[M*](36), 294(3), 278(2), 199(100), 171(18), 122(3), 108(9), 91(11).

2.- Obtención de los derivados de la 5-[(o-; p-R₁)Tiofenil]-1,2-fenilendiamina.

(II). [R₁ = o-; p-(Cl, -Br)]



En un matraz de 250 ml provisto de agitación magnética y calentamiento se colocan 5.81 mmol de la 5-[(o-; p-R₁)tiofenil]-2-nitroanilina correspondiente, agregando etanol hasta disolución total, posteriormente se agrega poco a poco 5.81 mmol de cloruro estanoso dihidratado y 5.81 mmol de borohidruro de sodio, se deja agitando durante 15 minutos, pasando este tiempo se calienta a una temperatura de 45°C durante 30 minutos. Al termino de este tiempo el matraz de reacción se coloca en hielo y se adiciona agua fría equivalente al etanol utilizado para la disolución del reactivo I. Después la reacción es neutralizada, con una solución acuosa de ácido sulfúrico al 10 %.

Se filtra por gravedad, la solución filtrada se evapora al vacío para eliminar el etanol; la solución concentrada se extrae con 10 ml de diclorometano, hasta que la fracción acuosa quede incolora.

Se juntan todas las fracciones orgánicas y se secan con sulfato de sodio anhidro, se filtra por gravedad y el diclorometano se elimina posteriormente en el rotavapor obteniéndose el compuesto esperado, de acuerdo a las características de R₁. Se obtiene hojuelas rojizas oscuras con punto de fusión definido con un rendimiento del 80-97%. Los resultados de los derivados II **a-d**, se muestran en la tabla No.2 (Pág. 46).

Datos espectroscópicos de los compuestos II **a-d**.

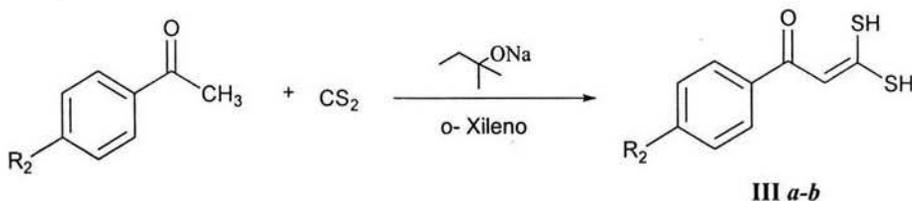
II. **a** EM (IE 70eV): 250[M⁺](100), 218(3.1), 215(4), 214(9.3), 199(15), 186(6.2), 171(12), 122(3).

II. **b** EM (IE 70eV): 250[M⁺](100), 234(3.1), 218(15), 215(6.2), 214(5), 199(4), 186(3.1), 171(3.5), 108(4.3).

II. **c** EM (IE 70eV): 294[M⁺](79), 215(5), 214(14.3), 199(26.2), 186(15.6), 171(33), 122(4.3), 108(14.3).

II. **d** EM (IE 70eV): 294[M⁺](100), 262(12), 215(22.5), 214(10), 199(11.2), 186(18), 171(22), 122(11), 108(31.2)

3.- Obtención de los derivados de la 3,3-dimercapto-1-[(p-R₂)fenil]-2-propen-1-ona. (III) [R₂ = Br; -OCH₃]



En un matraz de dos bocas, provisto de un refrigerante en posición de reflujo, calentamiento, agitación magnética y un embudo de adición, se coloca 75 ml de o-

xileno anhidro, además de 0.05 mol de sodio metálico en trozos pequeños, se pone a reflujo hasta la formación de perlas de sodio, inmediatamente se añade 0.05 mol de alcohol ter-amílico. La reacción se continúa durante 8 horas.

Posteriormente se separa el residuo de sodio y en la solución se tiene el ter-amilato de sodio. El matraz que contiene el ter-amilato recién obtenido se coloca en un baño de hielo exterior, con agitación magnética, y por medio de un embudo de adición se agrega gota a gota 0.025 mol de (p-R₂)-acetofenona, disuelta previamente en 10 ml de o-xileno anhidro. Posteriormente se adicionan 6 ml de CS₂ y 75 ml más de o-xileno anhidro, al término de todo esto, se retira el baño de hielo, y se deja en agitación a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas.

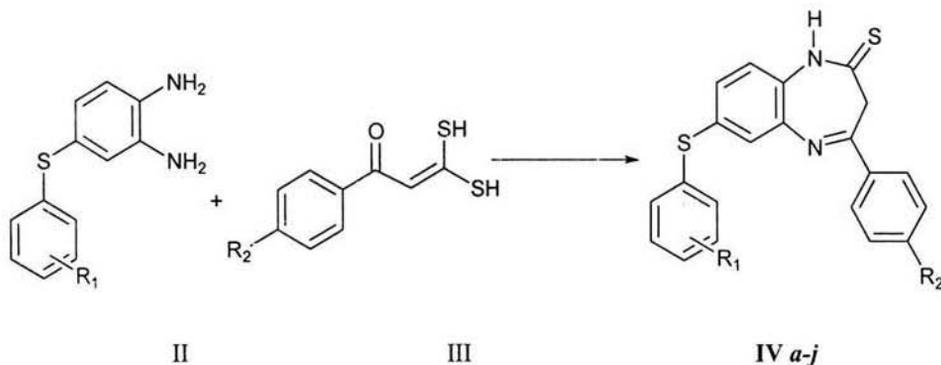
Transcurrido este tiempo, se hacen extracciones a la mezcla de reacción, con 20 ml de agua destilada, hasta que la solución quede incolora. Se juntan las fracciones acuosas y se llevan a un pH de 2 con H₂SO₄ al 10%, obteniéndose un precipitado de color naranja, el cual se filtra a vacío y los cristales obtenidos se lavan con hexano, obteniéndose los intermediarios III **a-b** deseados, con punto de fusión definido y rendimiento general del 40 al 80 %. Los resultados se muestran en la tabla No. 3 (Pág. 47).

Datos espectroscópicos de los compuestos III **a-b**:

III. **a** EM (IE, 70eV): 274[M]⁺(54), 276[M+2]⁺(53), 241(100), 243(98), 213(6), 183(64), 185(61), 155(38).

III. **b** EM (IE, 70eV): 226[M]⁺(77), 193(100), 185(6), 150(12), 135(63), 107(8), 77(18).

4.- Obtención de los derivados de la 2,3-dihidro-4-[(p-R₂)fenil]-7[(o-; p-R₁)tiofenil]-1H-1,5-benzodiazepin-2-tiona (IV).



En un matraz de dos bocas de 250 ml, equipado de un refrigerante en posición de reflujo, calentamiento y agitación magnética, se coloca 0.024 mol del compuesto 3,3-dimercapto-1-[(p-R₂)fenil]-2-propen-1-ona disueltos en benceno anhidro, se pone a reflujo con agitación magnética durante 1 hora, después se agrega gota a gota 0.024 mol del compuesto 4-cloro-1,2-fenilendiamina disueltos en benceno anhidro.

El reflujo se continúa durante 5 horas a una temperatura de 130-135 °C. Al concluir el tiempo de reacción se deja enfriar y se obtiene un precipitado amarillo, el cual se filtra a vacío y se lava con hexano, obteniéndose el compuesto **IV a-j**, correspondiente, con punto de fusión definido. Los rendimientos obtenidos son del 42 al 79%. Los resultados se muestran en la tabla No. 5 (Pág. 47).

Datos espectroscópicos de los compuestos **IV a-j**

IV. a EM (70eV): 472[M⁺](71), 474[M+2](100), 439(3.1), 414(21.4), 328(3.1), 303(308), 296(2.0), 272(4.4), 199(10.7), 183(41.5), 155(15).

IV. b EM (70eV): 424[M⁺](100), 391(7.7), 366(40), 280(3.4), 248(2.1), 224(5.6), 151(8.4), 135(44.7), 107(28).

IV. **c** EM (70eV): 472[M⁺](72), 474[M+2](100), 439(1.2), 414(40), 328(3.1), 272(7.5), 199(2.5), 183(73.1), 155(19).

IV. **d** EM (70eV): 424[M⁺](100), 366(9.8), 280(3.5), 248(2.0), 224(5.5), 151(2.3), 135(44.7), 107(7).

IV. **e** EM (70eV): 516[M⁺](50), 518[M+2](100), 482(6.8), 458(11.2), 328(1.8), 199(8.1), 183(14.3), 155(6.2).

IV. **f** EM (70eV): 468[M⁺](92), 470[M+2](100), 435(6.2), 410(42.5), 280(5.6), 255(5), 224(5), 151(10.6), 107(4).

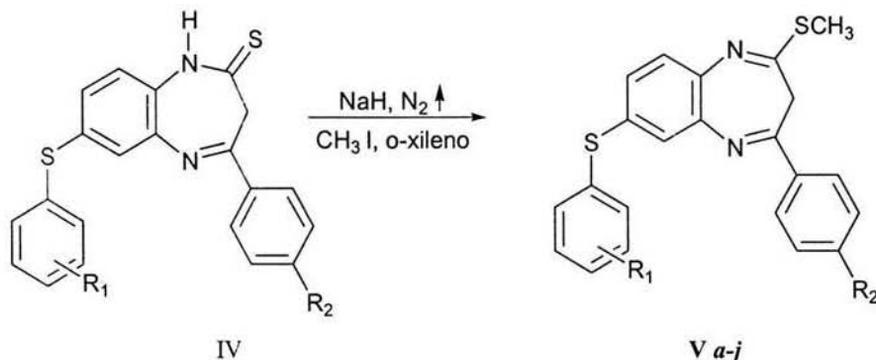
IV. **g** EM (70eV): 516[M⁺](50), 518[M+2](100), 482(7), 458(11.2), 328(2.1), 272(8), 199(2.5), 183(34.3), 155(23.7).

IV. **h** EM (70eV): 468[M⁺](92), 470[M+2](100), 435(6.3), 410(42), 409(5.6), 280(5), 255(4.3), 224(5), 151(11), 107(4.3).

IV. **i** EM (70eV): 468[M⁺](91.5), 470[M+2](100), 410(25), 272(2.1), 199(3.5), 183(3.5), 155(1.4).

IV. **j** EM (70eV): 420[M⁺](100), 387(3.5), 362(33), 280(2.0), 255(2.0), 248(3.0), 151(3.2), 135(7).

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



En un matraz bola de dos bocas de 250 ml, equipado de un refrigerante en posición de reflujo, calentamiento y agitación magnética, se coloca 0.005 mol del compuesto 2,3-dihidro-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o-;p-)R₁-tiofenil]-1H-1,5-benzodiazepin-2-tiona disuelto en 150 ml de o-xileno anhidro; se pone a reflujo por una hora, transcurrido este tiempo, se adiciona lentamente 0.021 mol de hidruro de sodio previamente lavado con hexano. Se deja a reflujo por otra hora más y se enfría la mezcla de reacción y enseguida se le adiciona 0.014 mol de yoduro de metilo disueltos en 3 ml de o-xileno anhidro. La reacción se continúa a reflujo por otra hora más y se detiene. Al enfriarse ésta, se filtra a vacío, y finalmente la solución obtenida se concentra a presión reducida, obteniéndose como productos finales un semisólido de color café rojizo, correspondientes a los derivados **V a-j** (producto final); con rendimiento general del 85 al 96 %. Los Datos espectroscópicos para estos derivados se muestran en las tablas No. 5, No. 6, No. 7 y No. 8 (Páginas, 48, 51, 53 y 54).

RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 Resultados de los compuestos intermediarios

TABLA No 1. Rendimientos y características de los derivados de la 5-[(o; p-R₁)tiofenil]-2-nitroanilina (*I a-d*)

COMPUESTO	SUSTITUYENTE R ₁	PUNTO DE FUSIÓN (°C)	RENDIMIENTO (%)
I. a	<i>p</i> -Cl	147-149	91.5
I. b	<i>o</i> -Cl	155-157	80.0
I. c	<i>p</i> -Br	110-112	76.1
I. d	<i>o</i> -Br	145-147	80.0

TABLA No.2 Rendimientos y características de los derivados de la 5-[(o; p-R₁)tiofenil]-1,2-fenilendiamina (*II a-d*)

COMPUESTO	SUSTITUYENTE R ₁	PUNTO DE FUSIÓN (°C)	RENDIMIENTO (%)
II. a	<i>p</i> -Cl	75-77	97.0
II. b	<i>o</i> -Cl	70-72	83.3
II. c	<i>p</i> -Br	88-90	91.5
II. d	<i>o</i> -Br	100-102	89.1

TABLA No.3 Rendimientos y características de los derivados de la 3,3-dimercapto-1-[(p-R₂)fenil]-2-propen-1-ona (**III a-b**)

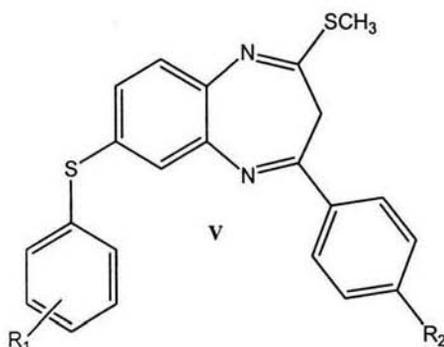
COMPUESTO	SUSTITUYENTE R ₂	PUNTO DE FUSIÓN (°C)	RENDIMIENTO (%)
III. a	<i>p</i> -Br	98-100	89.9
III. b	<i>p</i> -OCH ₃	85-87	91.5

TABLA No.4 Rendimientos y características de los derivados de la 2,3-dihidro-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o-; p-R₁)tiofenil]-1H-1,5-benzodiazepín-2-tiona (**IV a-f**)

COMPUESTO	SUSTITUYENTE R ₁	SUSTITUYENTE R ₂	PUNTO DE FUSIÓN (°C)	RENDIMIENTO (%)
IV. a	<i>o</i> -Cl	<i>p</i> -Br	110-112	60.0
IV. b	<i>o</i> -Cl	<i>p</i> -OCH ₃	109-111	62.0
IV. c	<i>p</i> -Cl	<i>p</i> -Br	198-200	68.0
IV. d	<i>p</i> -Cl	<i>p</i> -OCH ₃	138-140	65.0
IV. e	<i>o</i> -Br	<i>p</i> -Br	188-190	63.0
IV. f	<i>o</i> -Br	<i>p</i> -OCH ₃	125-127	76.0
IV. g	<i>p</i> -Br	<i>p</i> -Br	210-212	42.5
IV. h	<i>p</i> -Br	<i>p</i> -OCH ₃	175-177	79.0
IV. i	<i>o</i> -OCH ₃	<i>p</i> -Br	99-101	41.7
IV. j	<i>p</i> -OCH ₃	<i>p</i> -OCH ₃	212-214	65.0

Los 10 compuestos obtenidos, derivados de 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o-; p-R₁)tiofenil]-1,5-benzodiazepina, son semisólidos de color café oscuro, por lo tanto no fue posible determinar sus puntos de fusión. En la tabla No. 5 se reportan algunas características de cada uno de los nuevos compuestos.

Tabla No.5 Rendimientos y aspectos físicos de los compuestos obtenidos.



COMPUESTO	SUSTITUYENTE R ₁	SUSTITUYENTE R ₂	APARIENCIA	RENDIMIENTO (%)
V. a	o-Cl	p-Br	Semisólido	93.0
V. b	o-Cl	p-OCH ₃	Semisólido	86.0
V. c	p-Cl	p-Br	Semisólido	90.0
V. d	p-Cl	p-OCH ₃	Semisólido	85.0
V. e	o-Br	p-Br	Semisólido	91.0
V. f	o-Br	p-OCH ₃	Semisólido	91.0
V. g	p-Br	p-Br	Semisólido	96.0
V. h	p-Br	p-OCH ₃	Semisólido	92.0
V. i	o-OCH ₃	p-Br	Semisólido	90.0
V. j	p-OCH ₃	p-OCH ₃	Semisólido	87.0

5.2 Discusión de la información espectroscópica de los compuestos I, II, III y IV.

- ◆ En la tabla No. 1 se puede observar el punto de fusión y rendimientos de los derivados **I a-d**. La estructura de estos compuestos fue corroborada con los datos de Infrarrojo y Espectrometría de Masas.

Los compuestos **I a-d** analizados por IR (disolución en cloroformo), presentan una banda de absorción en la región de $3395.3\text{-}3394.9\text{ cm}^{-1}$ que corresponden a las vibraciones de tensión ν N-H de carácter amina aromática primaria, las bandas en la región de $1614.5\text{-}1613.6\text{ cm}^{-1}$ son asignadas a vibraciones de tensión ν C=C del anillo aromático, en esa misma zona aparecen bandas generadas por las vibraciones de tensión de ν C-N.

En los espectros de masas el ion molecular $[M^+]$, corresponden al pico base (P.B.), lo que presupone una alta estabilidad para la molécula.

- ◆ Se corroboró su estructura (**II a-d**) por medio de infrarrojo y espectrometría de masas. El punto de fusión y rendimiento para los derivados **II a-d** se presenta en la tabla No. 2.

Los derivados **II a-d**, analizados por IR (disolución en CHCl_3) presentan dos bandas de absorción en la región de $3440.9\text{-}3439.4\text{ cm}^{-1}$ y $3357.9\text{-}3358.5\text{ cm}^{-1}$ que corresponden a las vibraciones de tensión ν N-H de carácter amina primaria aromática. Las bandas presentes en la región de $3065.9\text{-}3060.2\text{ cm}^{-1}$ de tensión de C-H del anillo aromático, una banda aguda en $1620.8\text{-}1620.7\text{ cm}^{-1}$ de tensión perteneciente a -C=C- .

Al igual que los derivados anteriores en los espectros de masas el ion molecular $[M^+]$, corresponden al pico base (P.B.), lo que presupone una alta estabilidad para la molécula.

♦ Los rendimientos y puntos de fusión de los compuestos III **a-b** se presentan en la tabla No.3. La estructura de dichos compuestos fue corroborada por IR (disolución en CHCl_3), presenta una banda en $3067\text{-}3065\text{ cm}^{-1}$ pertenecientes a las vibraciones de tensión de C-H del esqueleto aromático, una banda en $2553\text{-}2551\text{ cm}^{-1}$ son asignadas a las vibraciones de tensión de S-H, las bandas que se presentan en la región de $1570\text{-}1554\text{ cm}^{-1}$ corresponden a las vibraciones de tensión C=C.

♦ Los espectros de infrarrojo de los compuestos IV **a-j**, presentan una banda característica del enlace N-H en la región de $3386\text{-}3169\text{ cm}^{-1}$, la cual es generada por vibraciones correspondientes de amina secundaria. La banda aguda y de baja intensidad que aparece de $3006\text{-}2964\text{ cm}^{-1}$ corresponde a vibraciones de tensión C-H de carácter aromático. La banda que aparece en la zona de 1575 cm^{-1} son generadas por vibraciones de tensión C=C provenientes del esqueleto aromático.

En el espectro de masas (espectro No. 1) el ion a m/z que presenta una abundancia relativa del 100% es asignable al ion molecular $[M+2]^+$ el cual corresponde al PB de la molécula. Los principales iones que se generan es apartir del ion molecular son: $[M-33]^+$, $[M-58]^+$, $[249+R_2]^+$, $[217+R_2]^+$.

5.3 Discusión de la información espectroscópica de los derivados de la 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o-; p-R₁)tiofenil]-1,5-Benzodiazepina. (Va-f)

Espectroscopia de Infrarrojo (IR).

Los espectros de IR se determinaron en película o en disolución con cloroformo (CHCl_3). Los espectros de los nuevos compuestos presentan una banda en $1386\text{-}1395\text{ cm}^{-1}$ generada por las vibraciones de tensión S-CH₃; una banda aguda a $1561\text{-}1577\text{ cm}^{-1}$ de tensión debida a C=N, una banda aguda en $1300\text{-}1317\text{ cm}^{-1}$ de tensión de C-N, una banda aguda en $1586\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ de tensión de -C=C-

dos bandas agudas en 1250-1260 y 1172-1175 cm^{-1} de tensión debida a C-O y las correspondientes absorciones para los sistemas aromáticos presentes. En la tabla 6 se detallan las absorciones características en cm^{-1} de cada uno de los nuevos compuestos y en la sección de Espectros se anexa un espectro representativo de IR.

Tabla No 6. Bandas de absorción de IR de los compuestos finales (Va-j)

COMPUESTO	R ₁	R ₂	v (cm^{-1})					
			C-H	-C=C-	-C=N	C-N	S-CH ₃	C-O
			AROMÁTICO	AROMÁTICO				
V. a	<i>o</i> -Cl	<i>p</i> -Br	3062.5	1587.4	1562.6	1311.0	1395.6	-----
V. b	<i>o</i> -Cl	<i>p</i> -OCH ₃	3061.3	1599.5	1568.0	1315.3	1390.1	1255.9 1173.8
V. c	<i>p</i> -Cl	<i>p</i> -Br	3052.0	1587.0	1561.5	1309.7	1395.3	-----
V. d	<i>p</i> -Cl	<i>p</i> -OCH ₃	3061.1	1597.8	1571.5	1316.9	1390.6	1255.0 1175.4
V. e	<i>o</i> -Br	<i>p</i> -Br	3061.6	1587.0	1567.2	1311.1	1395.7	-----
V. f	<i>o</i> -Br	<i>p</i> -OCH ₃	3061.1	1600.9	1571.4	1315.2	1390.1	1255.1 1176.0
V. g	<i>p</i> -Br	<i>p</i> -Br	3058.0	1857.2	1564.8	1311.1	1394.7	-----
V. h	<i>p</i> -Br	<i>p</i> -OCH ₃	3059.2	1598.1	1570.5	1317.3	1386.8	1254.0 1176.0
V. i	<i>o</i> -OCH ₃	<i>p</i> -Br	3065.1	1570.6	1584.3	1311.2	1391.3	1246.0 1015.4
V. J	<i>p</i> -OCH ₃	<i>p</i> -OCH ₃	3005.5	1571.4	1592.8	1316.1	1392.1	1250.2 1031.0

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C.

Los disolventes utilizados para efectuar los espectros de RMN, fueron CDCl₃ junto con Dimetilsulfoxido. La asignación de las diferentes señales de RMN ¹H y de ¹³C se corroboró con ayuda de técnicas bidimensionales como son: COSY y NOESY (para ¹H) y para ¹³C se utilizaron las técnicas de HETCOR y COLOC.

En los espectros de RMN de ^1H de los nuevos compuestos presentan las siguientes características:

En los espectros de RMN de ^1H de los nuevos compuestos presentan las siguientes características:

- Una señal en 3.4 ppm originada por los hidrógenos del grupo metileno del anillo diazepínico.
- Una señal entre 2.44-2.51 ppm originada por los hidrógenos del $-\text{SCH}_3$ presente en la molécula.
- Señales entre 6.99-8.08 originadas por los protones aromáticos.

Con lo que respecta a la RMN ^{13}C , presenta las siguientes características:

- Una señal entre 13.25-13.95 ppm que corresponde al carbono del grupo tiometil (SCH_3) unido al anillo diazepínico en la posición 2.
- Una señal entre 39.26-39.63 ppm que corresponde al carbono del metileno del anillo diazepínico.
- Las señales de los carbonos aromáticos, aparecen entre 124.95-161.50 ppm.

En la sección de espectros se anexa un espectro representativo de RMN (^1H , ^{13}C), y bidimensional.

Discusión de Espectrometría de Masas de Alta Resolución de los compuestos (Va-f)

En base a los resultados obtenidos del espectro de masas de alta resolución del compuesto **Vc** ($\text{R}_1 = \text{p-Cl}$, $\text{R}_2 = \text{p-Br}$) el cual se presenta en la tabla No 7 con una incertidumbre dentro del rango de miliunidades de masa entre los valores experimentales y calculados para las composiciones elementales indicadas, se determino la posible ruta de fragmentación que sigue este tipo de derivados.

Del espectro CID obtenido para el ión molecular (espectros No. 12 y 13) se puede establecer que los iones hijos producidos unimolecularmente a partir de $m/z = 486$ involucran las pérdidas de CH_3 [M-15]⁺, SH[M-33]⁺, CH_3S [M-47]⁺, $\text{C}_3\text{H}_4\text{S}$ [M-72]⁺, [217+R₂]⁺, [104+R₂]⁺ y [102+R₂]⁺ principalmente.

Las observaciones anteriores permiten definir con mayor objetividad la ruta de fragmentación que sigue este tipo de derivado, el cual se discute a continuación. En la tabla No.8 se indica la abundancia relativa de los principales fragmentos que presentan los derivados **V (a-j)** en Espectrometría de Masas.

Tabla No.7. Espectrometría de Masas de Alta Resolución del Compuesto **Vc**.

<p>m/z m/z observada m/z estimada Fórmula mínima Error estimado</p>	<p>486 485.9655 485.9627 $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{S}_2\text{ClBr}$ +5.8</p>	
<p>m/z m/z observada m/z estimada Fórmula mínima Error estimado</p>	<p>414 413.9605 413.9593 $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{SClBr}$ +3.0</p>	
<p>m/z m/z observada m/z estimada Fórmula mínima error estimado</p>	<p>273 273.0234 273.0253 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{SCl}$ -7.0</p>	

Espectrometría de Masas

El análisis por Espectrometría de Masas de los nuevos compuestos reveló un comportamiento similar en su fragmentación. En la tabla 8 se reportan las abundancias relativas (%) de los fragmentos más importantes de cada uno de los nuevos compuestos. En la sección de Espectros se anexan los Espectros de Masas de estos nuevos derivados.

Tabla No 8. Abundancia relativa (%) de los fragmentos más importantes en EM de los derivados de la 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o-; p-R₁)tiofenil]-1,5-benzodiazepina (**V a-j**).

m/z %										
R ₁	o-Cl	o-Cl	p-Cl	p-Cl	o-Br	o-Br	p-Br	p-Br	p-OCH ₃	p-OCH ₃
R ₂	p-Br	p-OCH ₃	p-Br	p-OCH ₃	p-Br	p-OCH ₃	p-Br	p-OCH ₃	p-Br	p-OCH ₃
M ⁺	84.3	100	71.2	100	52.2	90.0	49.0	86.0	91	100
[M+2] ⁺	100	44.6	100	51.0	100	100	100	100	100	13.7
[M-15] ⁺	4.0	7.0	3.1	6.2	1.3	8.5	2.5	6.3	2.1	4.8
[M-33] ⁺	3.0	6.0	4.3	3.7	3.0	4.0	2.0	4.2	3.5	4.1
[M-47] ⁺	2.0	11.3	3.1	6.8	1.3	11.6	2.0	11.3	2.8	6.9
[M-72] ⁺	3.1	11.0	9.3	7.5	4.0	8.0	6.3	14.1	6.3	8.9
[217+R] ⁺	2.0	4.4	1.2	2.5	3.0	3.1	4.4	7.0	-----	2.7
[102+R] ⁺	3.1	14.5	4.0	8.1	3.2	11.0	3.0	24.6	2.0	3.4
[104+R ₂] ⁺	3.0	32.1	-----	11.2	12.0	3.1	6.3	3.4	2.0	-----
[76+R] ⁺	12.5	4.4	-----	6.5	5.0	1.2	3.1	-----	-----	-----

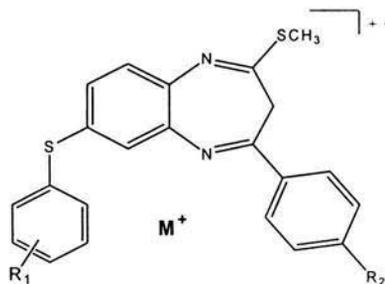
Discusión del Patrón de Fragmentación en Espectrometría de Masas de los derivados Va-j.

Para proponer el patrón y los mecanismos de fragmentación de los derivados de la 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o;p-R₁)tiofenil]-1,5-benzodiazepina, se utilizaron las técnicas de alta resolución (la cual nos da la masa exacta e información sobre los elementos que conforman cada fragmento, indicándonos las proporciones en las que se encuentran) y la de Disociación Inducida por Colisión (CID); esta técnica nos permite conocer los iones que dan origen a cada uno de los fragmentos de m/z más importantes.

Para mayor detalle, se anexa en la sección de Espectros uno de estos estudios que se llevaron a cabo.

1. Ion Molecular

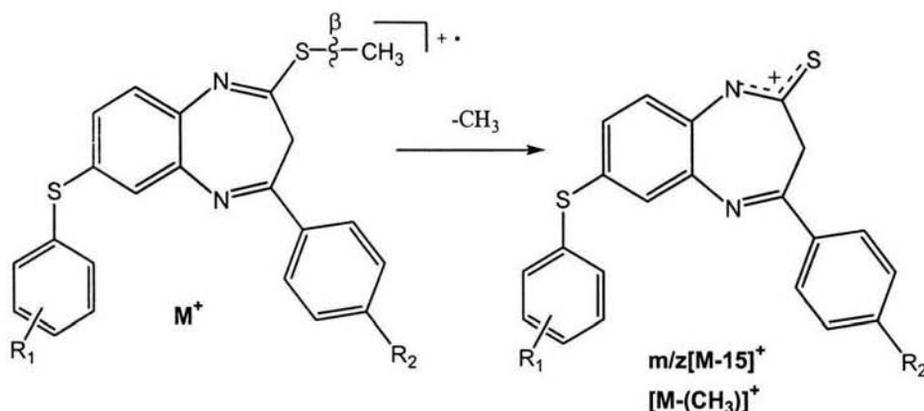
El ion molecular M⁺ es el pico base, solo en tres de los compuestos obtenidos y presentan el 100% de abundancia relativa. Los otros compuestos en los cuales el Ion Molecular no representa el 100%, son aquellos en donde el sustituyente ya sea R₁ o R₂ = Br, es el pico base, dado que [M+2]⁺ corresponde a la contribución isotópica del bromo; con esto, se puede afirmar que la estructura heterocíclica le da gran estabilidad a dichos compuestos. En el Esquema 1 de fragmentación se presenta el ión molecular:



Esquema 1

2. Formación del ion de m/z $[M-15]^+$

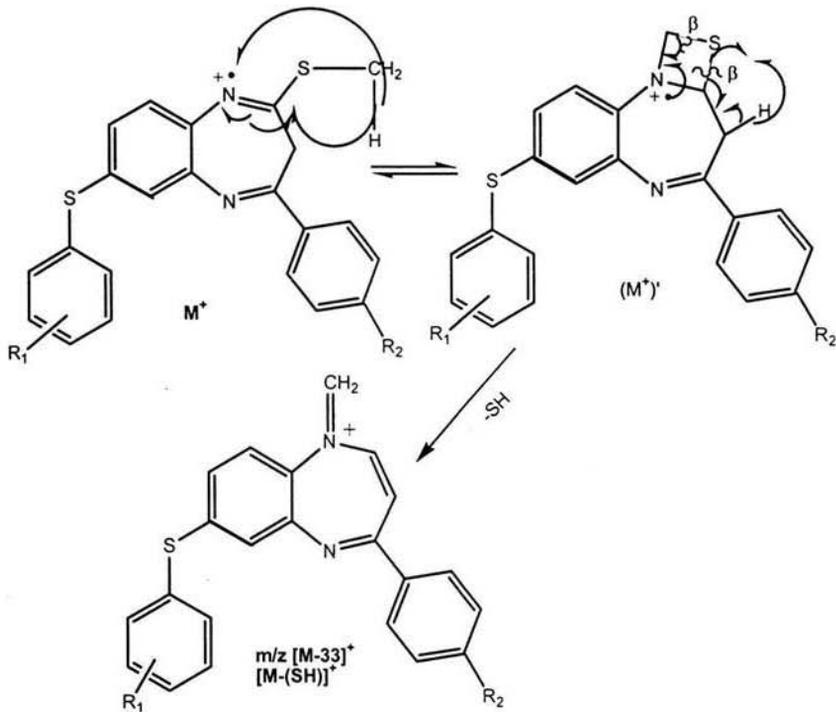
El ion de m/z $[M-15]^+$ presenta una abundancia relativa del 1-7%, el cual se origina a partir del Ion Molecular (M^+), se verifica la ruptura "β" con respecto a la doble ligadura del anillo diazepínico, en la unión S-C del grupo S-CH₃. En el Esquema 2 se presenta el mecanismo de fragmentación propuesto para la formación de dicho fragmento.



Esquema 2

3. Formación del ion de m/z $[M-33]^+$

El fragmento de m/z $[M-33]^+$ con abundancia relativa del 2-6%, su mecanismo de fragmentación se propone que sea debido a un rearrreglo que sufre el grupo S-CH₃ del Ion Molecular (M^+), para dar una forma isomérica del ión molecular (M^+); para posteriormente verificarse una ruptura "β" al heteroátomo de N₁, eliminándose -SH, para dar origen al ion de m/z $[M-33]^+$. El mecanismo de fragmentación propuesto se ilustra en el Esquema 3.



Esquema 3

4. Origen del ion de $m/z [M-47]^+$

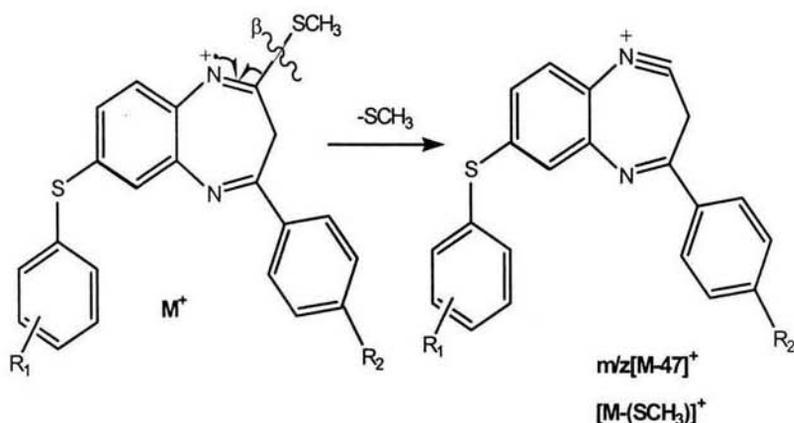
El ion de $m/z [M-47]^+$ con abundancia relativa del 1-12%, puede originarse a través de tres rutas, estas posibles rutas se ilustran en los Esquemas 4 y 4.1:

Ruta 1. A partir del Ion Molecular (M^+) se lleva a cabo la pérdida del grupo $S-CH_3$, debido a una ruptura "β" al heteroátomo N_1 , en el enlace C_2-SCH_3 (Esquema 4a).

Ruta 2. A partir del ion de $m/z [M-15]^+$ mediante la pérdida del azufre cargado positivamente, pasando a través de un intermediario (Esquema 4b).

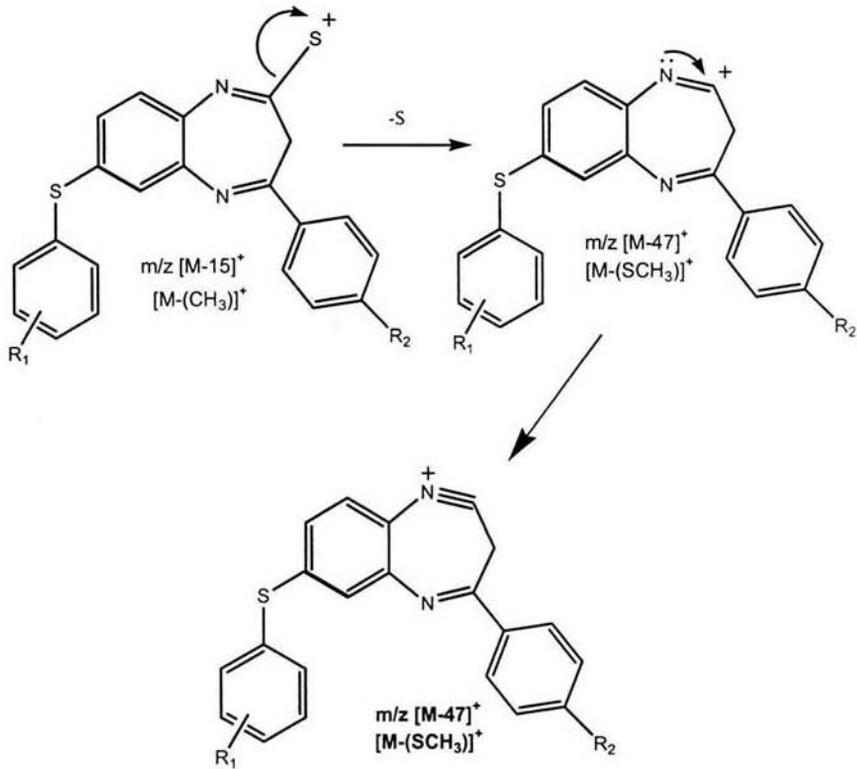
Ruta 3. A partir del ion de $m/z [M-33]^+$, mediante la pérdida de un metileno, pasando a través de una estructura en equilibrio (se muestra en el Esquema 4c).

Ruta 1:



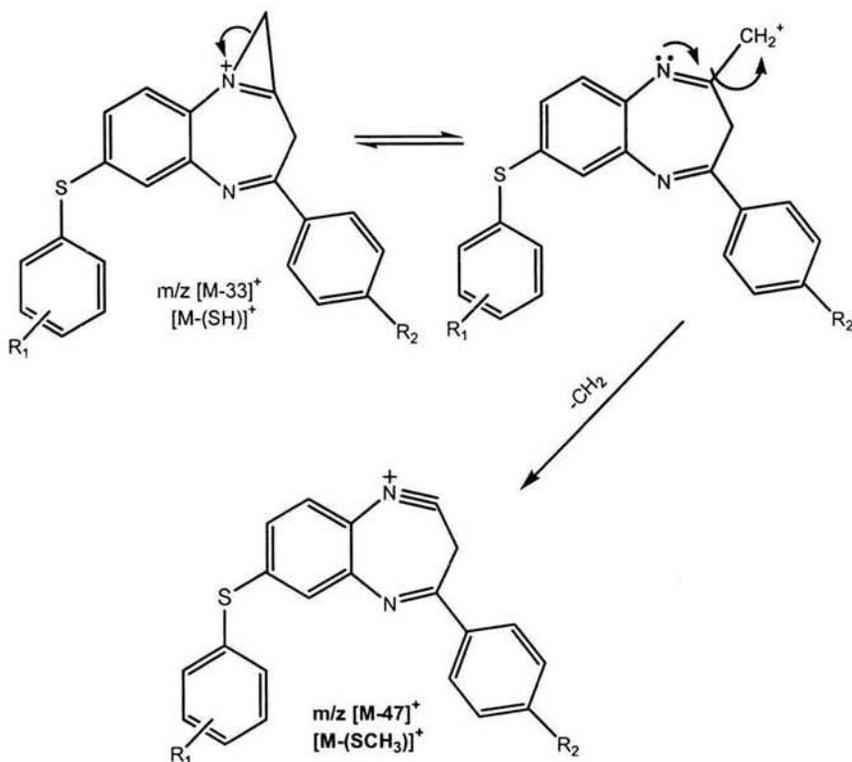
Esquema 4a

Ruta 2:



Esquema 4b

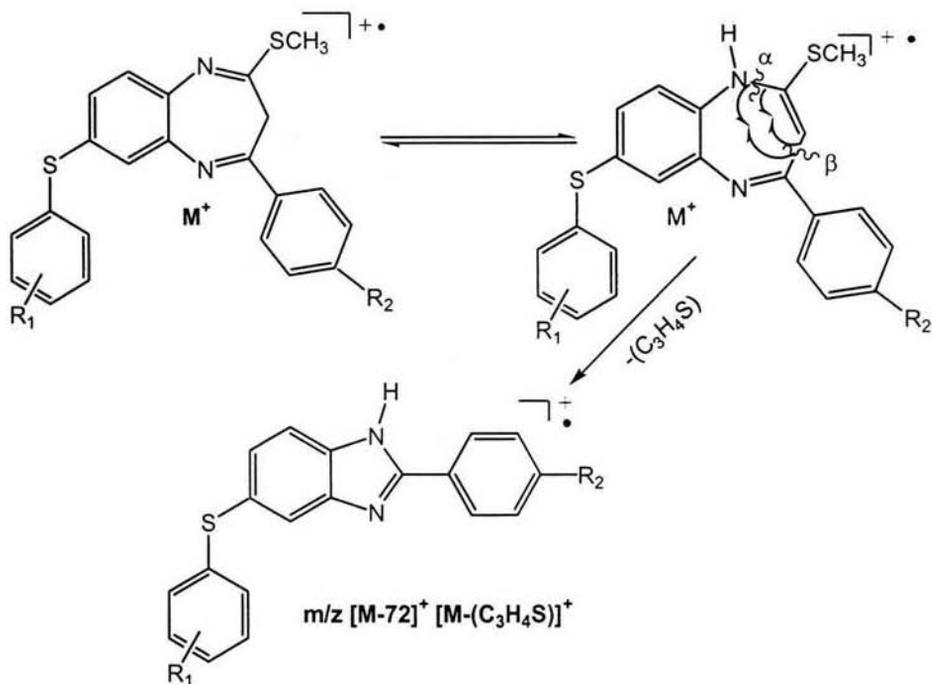
Ruta 3:



Esquema 4c

5. Origen del ion de $m/z [M-72]^+$

El ion de $m/z [M-72]^+$ presenta una abundancia relativa del 3-11%. A partir del Ion Molecular (M^+) se tiene un equilibrio en el cual se llevan cabo a dos rupturas, una ruptura "α" al heteroátomo N_1 y después una ruptura "β" al heteroátomo N_5 , eliminando C_3H_4S para originar el ion $m/z [M-72]^+$. El mecanismo de fragmentación propuesto se ilustra en el Esquema 5.



Esquema 5

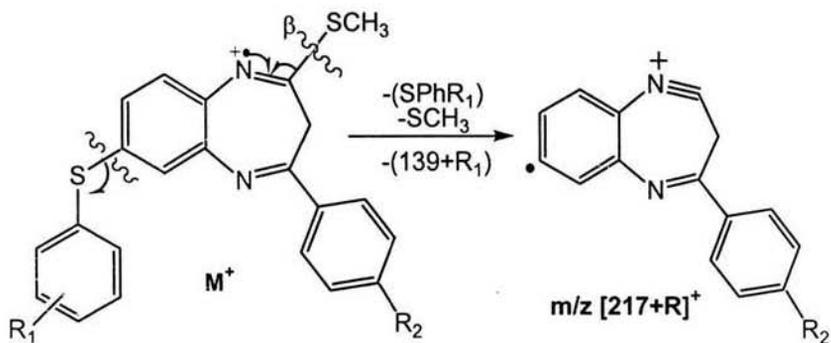
6. Origen del ion de $m/z [217+R]^+$

El fragmento de $m/z [217+R_2]^+$ presenta una abundancia relativa del 1-4%. Este ion se puede originar a través de dos rutas; ambos mecanismos de fragmentación se proponen en el Esquema 6.

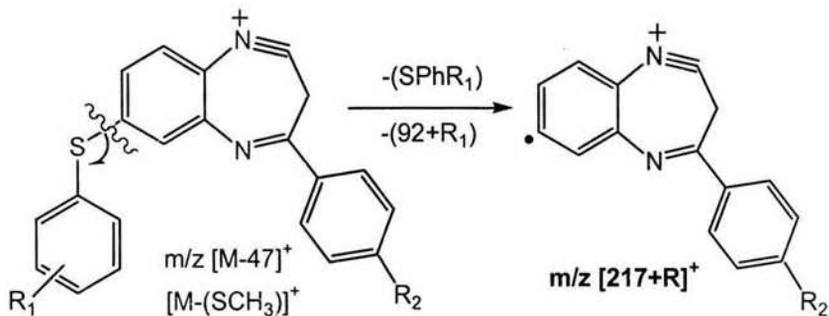
Ruta 1: A partir del ion molecular $[M]^+$ se lleva a cabo la pérdida del grupo $S-CH_3$, debido a una ruptura "β" al heteroátomo N_1 y la pérdida del grupo tifenil $[-SØR_1]$, debido a una ruptura homolítica en el enlace $C_7-SØR_1$.

Ruta 2: A partir del ion de $m/z [M-47]^+$, se verifica la pérdida del grupo tifenil $[-SØR_1]$, mediante una ruptura homolítica en el enlace $C_7-SØR_1$.

Ruta 1:



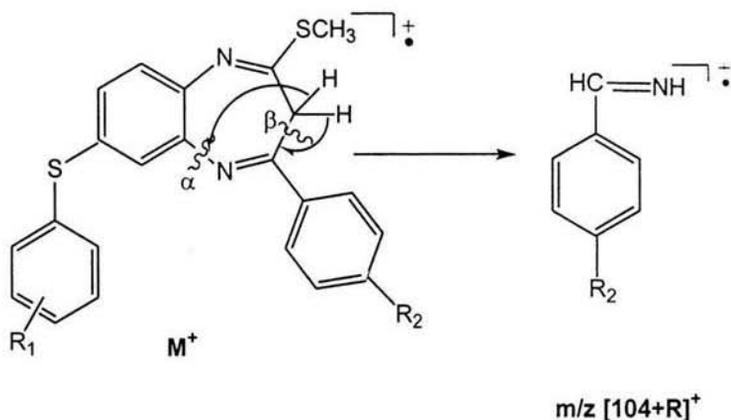
Ruta 2:



Esquema 6

7. Formación del ion de $m/z [104+R_2]^+$

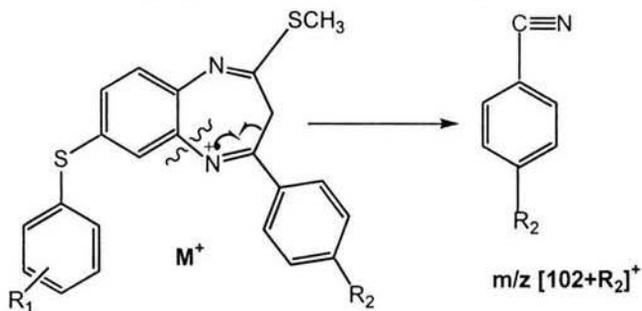
El ion de $m/z [104+R_2]^+$ presenta una abundancia relativa que va del 2-15%. A partir del Ion Molecular (M^+) se lleva a cabo una ruptura "α" al heteroátomo de N_5 , en el enlace $C_{5a}-N_5$, así como una ruptura "β" a este heteroátomo, en el enlace C_3-C_4 ; dando lugar al fragmento de $m/z [104+R]^+$. Este mecanismo de fragmentación se propone en el Esquema 7.



Esquema 7

8. Formación del ion de $m/z [102+R_2]^+$

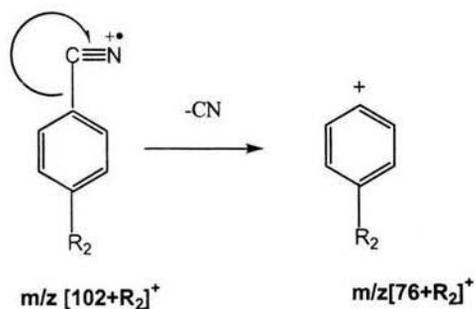
El fragmento de $m/z [102+R_2]^+$ presenta una abundancia relativa que va de 2-32%. A partir del Ion molecular (M^+) se lleva a cabo una ruptura "α" al heteroátomo N_5 , en el enlace $C_{5a}-N_5$, así como una ruptura "β" a este heteroátomo, en el enlace C_3-C_4 ; dando lugar al radical iónico fenilnitrilo de $m/z [102+R_2]^+$. El mecanismo propuesto se ilustra en el Esquema 8.



Esquema 8

9. Formación del ion de $m/z [76+R_2]^+$

La formación del fragmento de $m/z [76+R_2]^+$ con abundancia relativa del 1-12%. Este ion se genera debido a la pérdida de un grupo ciano (-CN) del ion de $m/z [102+R_2]^+$, quedando cargado positivamente el anillo bencénico. El mecanismo de fragmentación propuesto se ilustra en el Esquema 9.



Esquema 9

Una vez conocida la procedencia y composición de cada uno de los iones fue posible establecer el Patrón General de Fragmentación de los compuestos finales:

CONCLUSIONES

La integración de los resultados obtenidos y conocimientos acumulados durante la realización del presente proyecto permitieron llegar a las siguientes conclusiones:

1. Se desarrolló una estrategia y metodología para la obtención de los derivados de la 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o-;p-R₁)tiofenil]-1,5-benzodiazepina, la cual integra una ruta de síntesis que comprende 5 pasos.
2. Con la ruta de síntesis planteada se obtuvieron 10 nuevos derivados (**Va-j**) no descritos en la literatura, con posible actividad farmacológica y/o biológica como anticonvulsivos, ansiolíticos, sedante, relajantes musculares y antidepressivos.
3. Bajo las condiciones de reacción empleadas en la reacción de condensación entre los derivados dimercaptanos (**IIa-b**) con los derivados de fenilendiamina (**IIa-d**) se observa la obtención de isómeros, si bien los rendimientos son bajos, es posible la realización de experimentación adicional para determinar las condiciones óptimas para poder incrementar los rendimientos.
4. El aislamiento de los derivados de la 2-tiometil-3H-4-[(p-R₂)fenil]-7-[(o-; p-R₁)tiofenil]-1,5-benzodiazepina (**Va-j**), permitió determinar su análisis estructural por técnicas espectroscópicas de IR, EM, RMN incluyendo un análisis bidimensional (COSY, HETCOR, HMQC).
5. Mediante el análisis de Espectrometría de Masas (EM) de Alta resolución y Disociación Inducida por Colisión (CID), se proponen los mecanismos de fragmentación y se establece el Patrón General de fragmentación que siguen los nuevos derivados y de acuerdo al Patrón General de Fragmentación se concluye lo siguiente:
 - a. Todos los compuestos finales obtenidos, presentan el mismo Patrón de Fragmentación.

- b. Aquellos compuestos en donde el sustituyente ya sea R_1 o $R_2 = Br$, donde $[M+2]^+$ es el pico base (100%) el cual corresponde a la contribución isotópica del bromo.
 - c. Los iones más importantes en los espectros de masa de los nuevos derivados son: M^+ , $[M-15]^+$, $[M-33]^+$, $[M-47]^+$, $[M-72]^+$, $[217+R_2]^+$, $[104+R_2]^+$, $[102+R_2]^+$, $[76+R_2]^+$.
6. La relación estructural de los derivados de la 2-tiometil-3H-4-[(p- R_2)-fenil]-7-[(o-; p- R_1)]-1.5-benzodizepina (**Va-j**), se determinó por técnicas de RMN bidimensional, con lo cual se concluye la obtención de isómeros.
7. Se propone la realización de pruebas de actividad biológica y farmacología para los compuestos 1,5-benzodiazepínicos sintetizados con el fin de determinar relación estructura-actividad y en base a los resultados obtenidos realizar modificaciones estructurales a los compuestos que presenten actividad bajo las condiciones evaluadas.

ESPECTROSCOPIA DE MASAS

<i>Espectro No 1</i> de 2,3-dihidro-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1H-1,5-benzodiazepi-2-tiona. Compuesto IV. c	72
<i>Espectro No.2</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(o-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. a	73
<i>Espectro No.3</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH ₃)fenil]-7-[(o-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. b	74
<i>Espectro No.4</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. c	75
<i>Espectro No.5</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH ₃)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. d	76
<i>Espectro No.6</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(o-Br)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. e	77
<i>Espectro No.7</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH ₃)fenil]-7-[(o-Br)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. f	78
<i>Espectro No.8</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Br)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. g	79
<i>Espectro No.9</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH ₃)fenil]-7-[(p-Br)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. h	80
<i>Espectro No.10</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(o-OCH ₃)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. i	81
<i>Espectro No.11</i> de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH ₃)fenil]-7-[(p-OCH ₃)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. j	82

ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE ALTA RESOLUCIÓN

2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto **V. c**

CID

Espectro No. 12 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. m/z[M⁺] Compuesto **V. c**..... 83

Espectro No. 13 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. m/z[M-72]⁺ Compuesto **V. c**..... 84

RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto **V. c**

¹H..... 85

COSY..... 86

¹³C 87

¹³C..... 88

HETCOR..... 89

COLOC 90

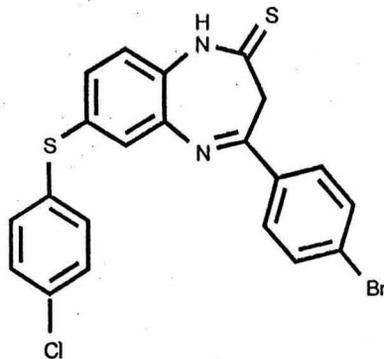
INFRARROJO

Espectro No 20 de la 2,3-dihidro-4-[(p-Br)-7-[(p-Cl)tiofenil]-1H-1,5-benzodiazepín-2-ona. Compuesto **IV.c**..... 91

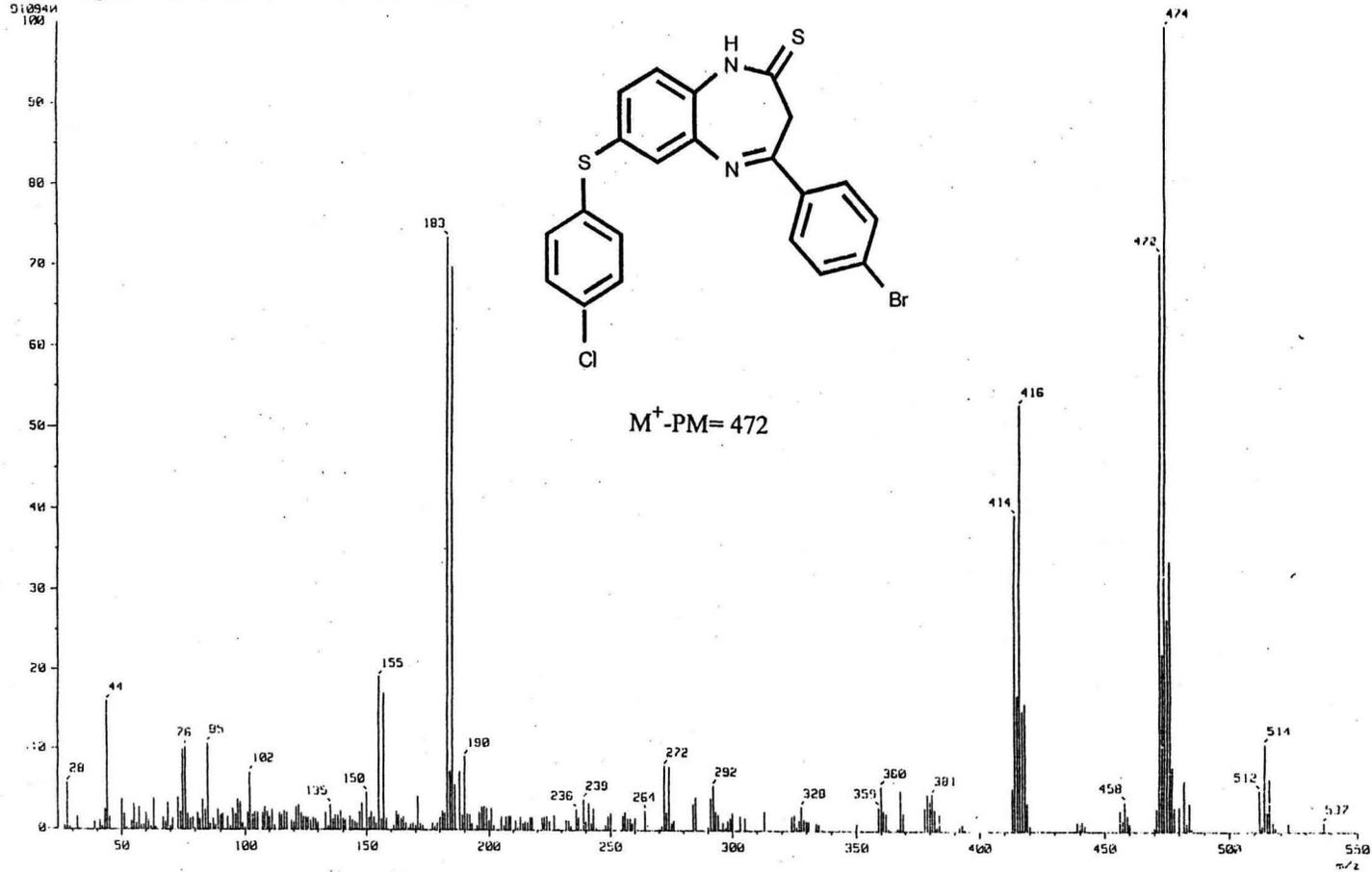
Espectro No 21 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl) tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto **V. c**..... 92

ANEXO

[Mass Spectrum]
Inte : J. Cortes-Eduardo 053 Date : 20-Sep-10E 16:51
Sample: 11X-2-KS-N-1
Note : Javier-Perez
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion (M+-linear)
RT : 2.14 min Scan# : (46,98)-(23,55) Temp : 212.2 deg.C
BP : m/z 474.0000 Int. : 06.87
Output m/z range : 25.1120 to 550.7410 Cut Level : 0.00 %



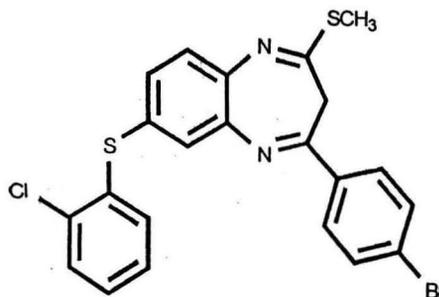
$M^+ - PM = 472$



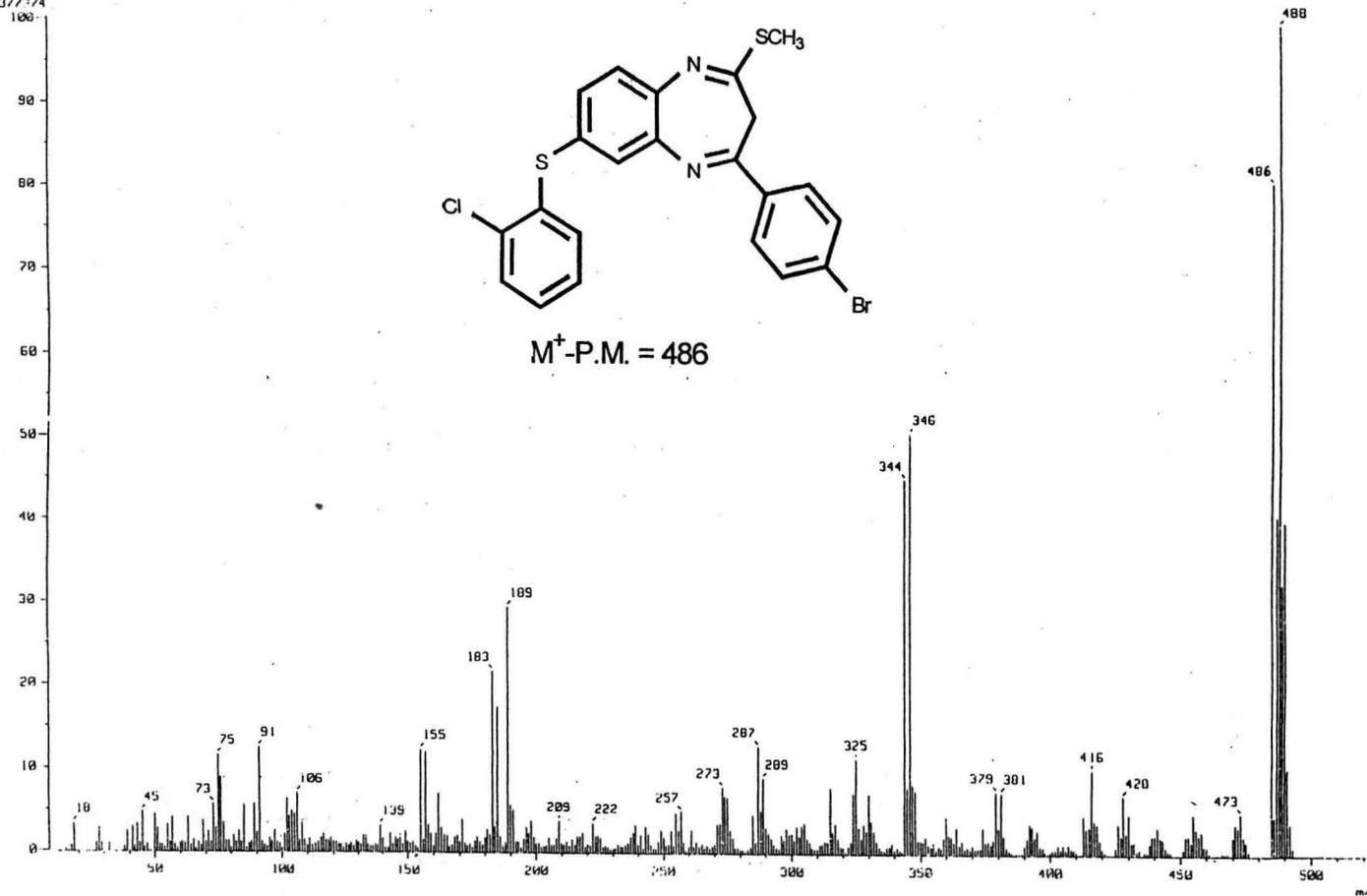
72

Espectro No 1 de 2,3-dihidro-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1H-1,5-benzodiazepi-2-tiona. Compuesto IV. c

1 Mass Spectrum 1
 Date : 13-Mar-1985 18:59
 Sample: 190307-31 KS-V-4
 Note: Javier-Perez
 Inlet: Direct Ion Mode: EI+
 Spectrum Type: Normal Ion (MF-Linear)
 RT: 1.37 min Scan#: (26,39) Temp: 171.3 deg.C
 BP: m/z 480.0000 Int.: 606.44
 Output m/z range: 10.6825 to 525.8160 Cut Level: 0.00 %

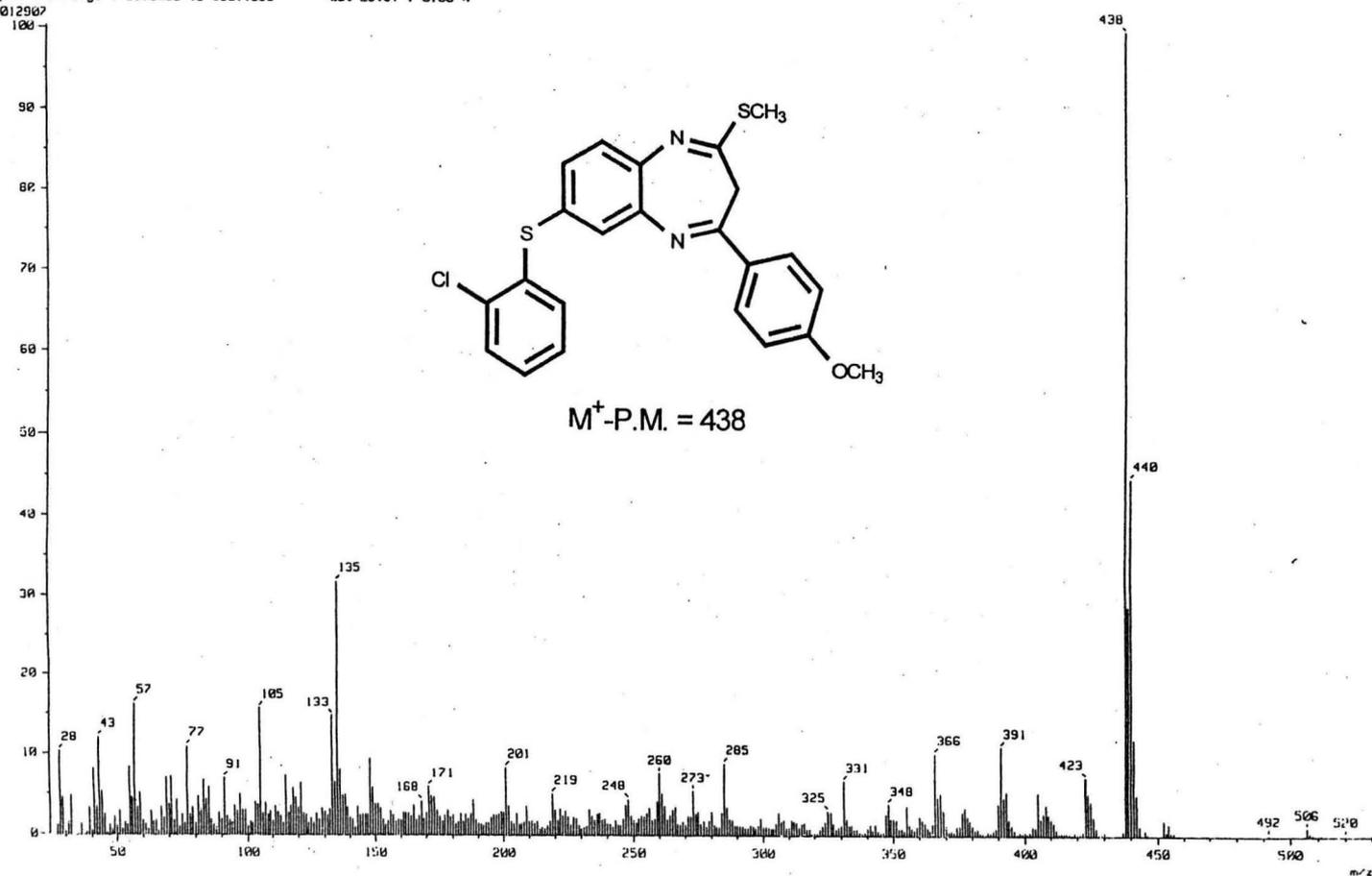


M⁺-P.M. = 486



Espectro No.2 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(o-Cl)tiopenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. a

[Mass Spectrum]
Data : Dr-Cortes-Eduardo-090 Date : 02-Dec-103 13:12
Sample: 021203-01 KS-V-6
Note : Javier Perez
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 1.50 min Scan# : (12,72) Temp : 242.8 deg.C
BP : m/z 438.0000 Int. : 381.60
Output m/z range : 26.0000 to 530.1335 Cut Level : 0.00 %



Espectro No.3 de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH₃)fenil]-7-[(o-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. b

Mass Spectrum 1

Analisis de: JAVIER EDUARDO PEREZ

Date: 14-Nov-1982 11:58

Sample: 47-X7 R2-KS-V-1

Name: JAVIER PEREZ

Volume: 0.05 ml

Ion Mode: E1+

Spectrum Type: Normal Ion (MF-Linear)

RI: 2.15 min Scan: (40,66)-(24,39)

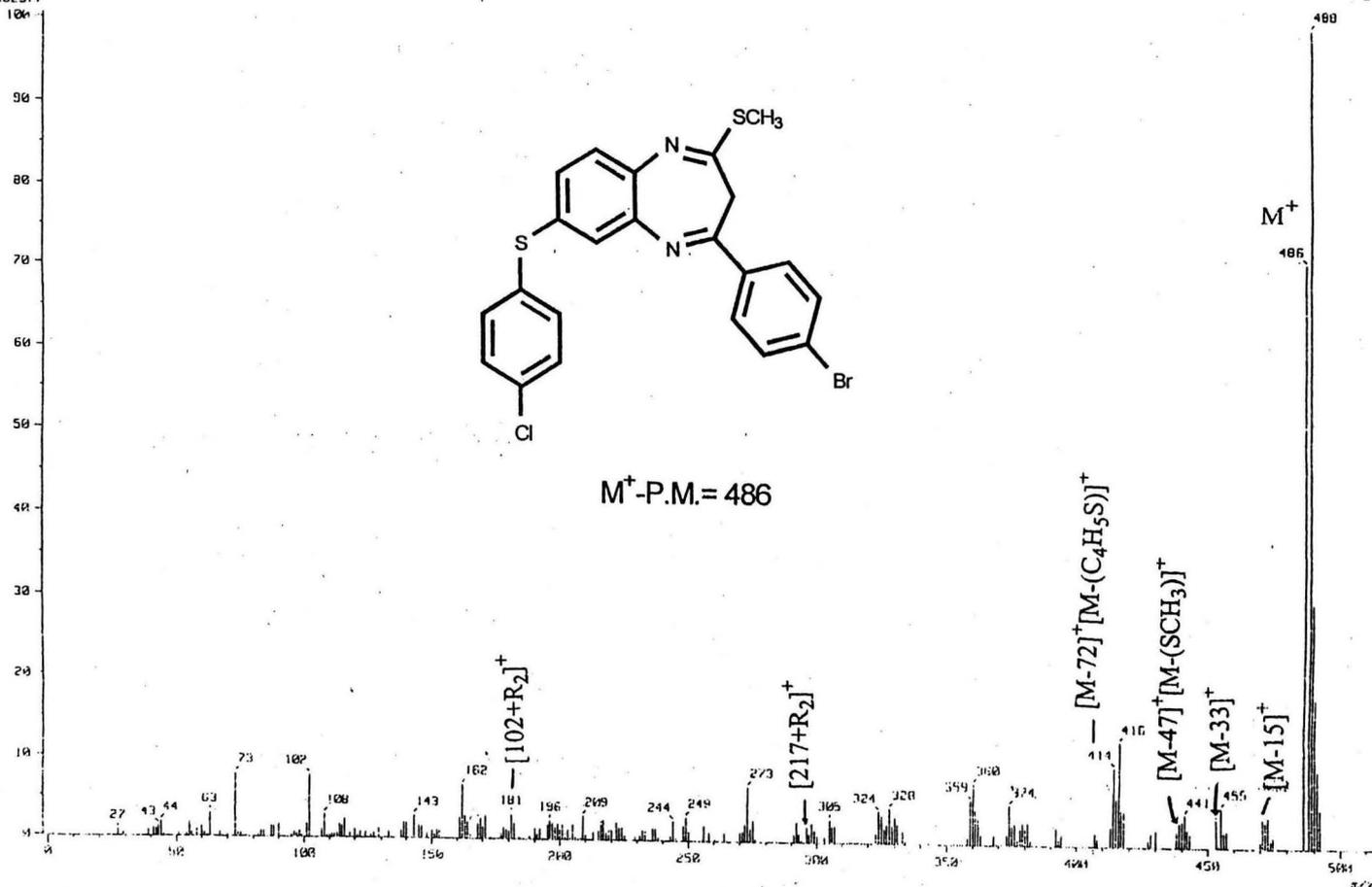
Temp: 250.8 deg.C

BP: m/z 480.0000 Int.: 150.10

Output m/z range: 0.0000 to 513.0564

Cut Level: 0.00 %

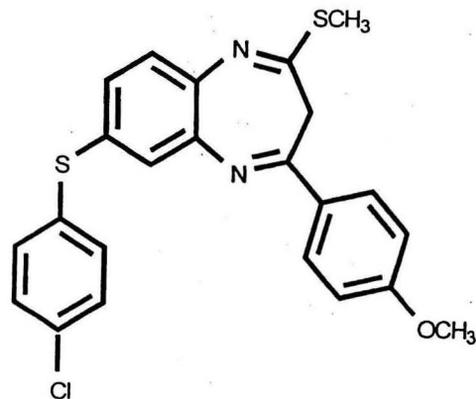
1502977



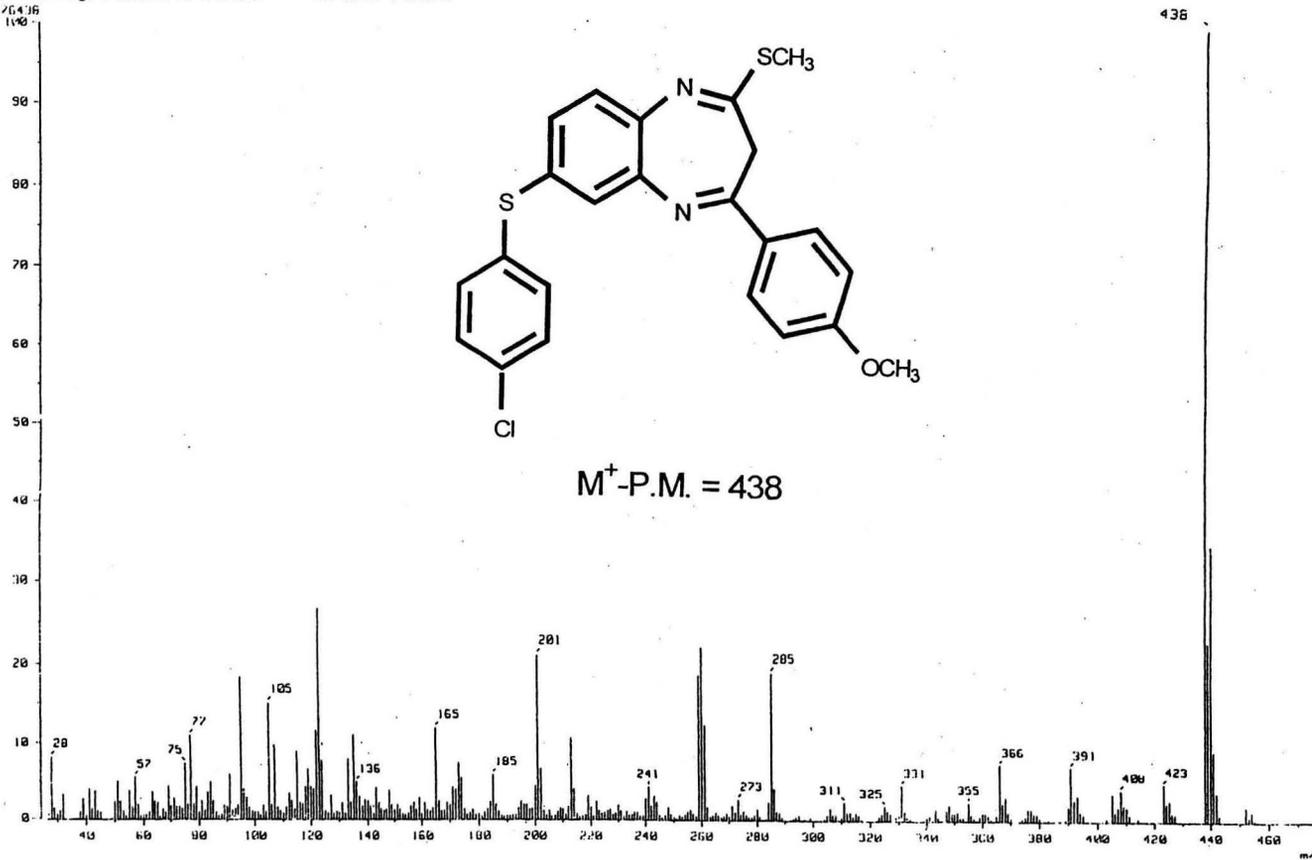
M^+ -P.M. = 486

Espectro No.4 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. c

[Mass Spectrum]
 Date : Dr-Cortes-Eduardo-031 Date : 02-Dec-103 13:27
 Sample : 021203-02 KS-V-5
 Note : Javier Perez
 Spectrum Type : Normal Ion (MS-linear) Ion Mode : EI+
 RF : 0.77 min Scan : (1,101)
 Temp : 95.2 deg C
 Output m/z range : 26.0000 to 478.4700 Int. : 500.00
 Base Level : 0.00 %

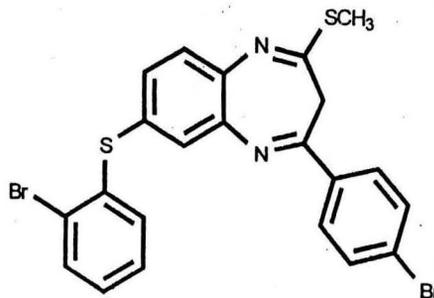


M^+ -P.M. = 438

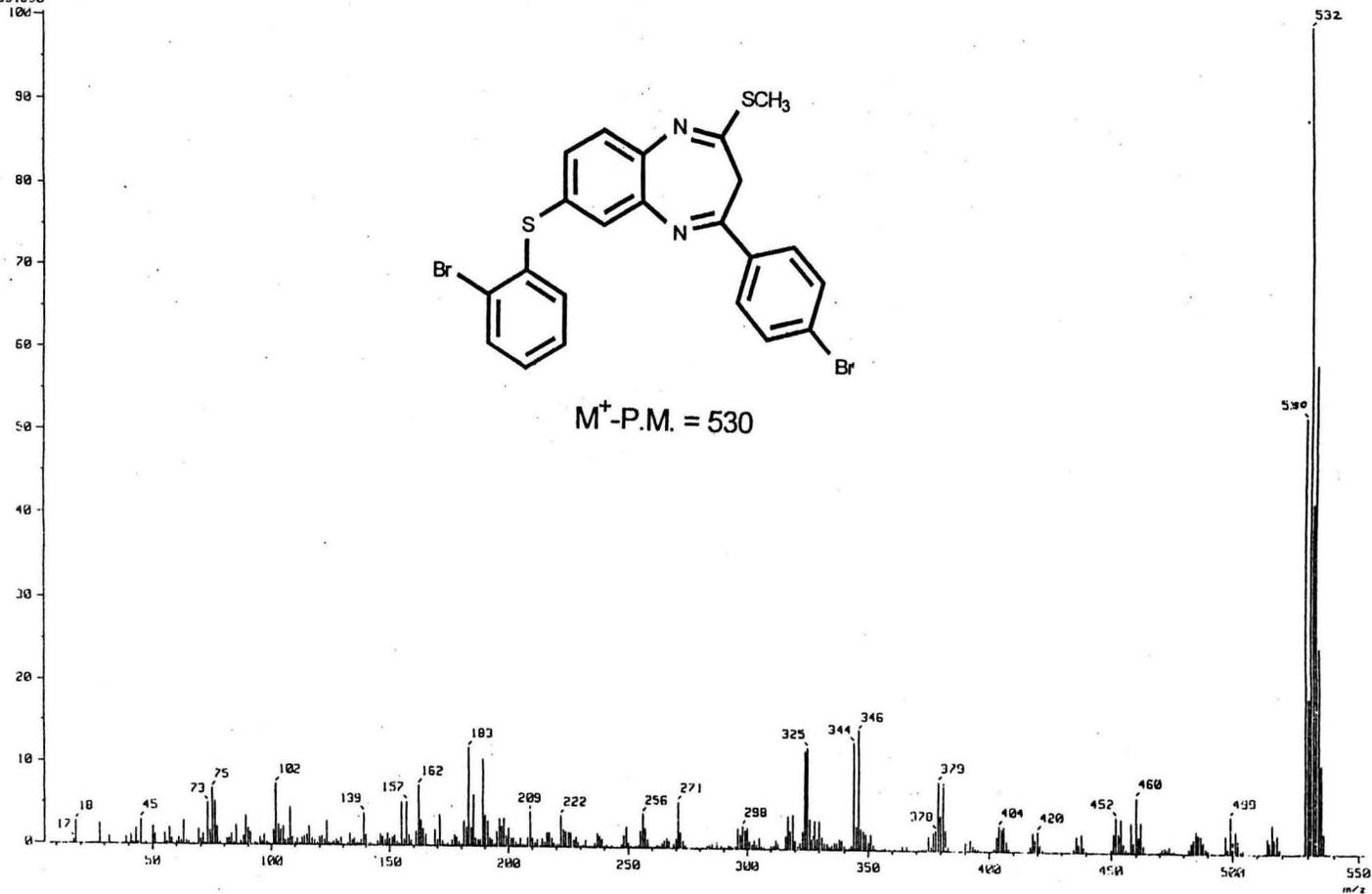


Espectro No.5 de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH₃)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. d

[Mass Spectrum]
 Data : Br-Cortes-Eduardo-015 Date : 07-Mar-10 16:15
 Sample: 070303-15 KS-V-2
 Note : Javier-Perez
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion (MF-Linear)
 RT : 1.11 min Scan# : (21,32) Temp : 149.4 deg.C
 BP : m/z 531.0000 Int. : 347.24
 Output m/z range : 7.1217 to 553.1157 Cut Level : 0.00 %



M^+ -P.M. = 530



Espectro No.6 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(o-Br)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. e

[Mass Spectrum]

012105 KE-V-R 001

Date : 17-Oct-1983 16:01

Sample:

Note : USAI, Fac. de Quimica, UNAM.

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 1.35 min Scan# : 50

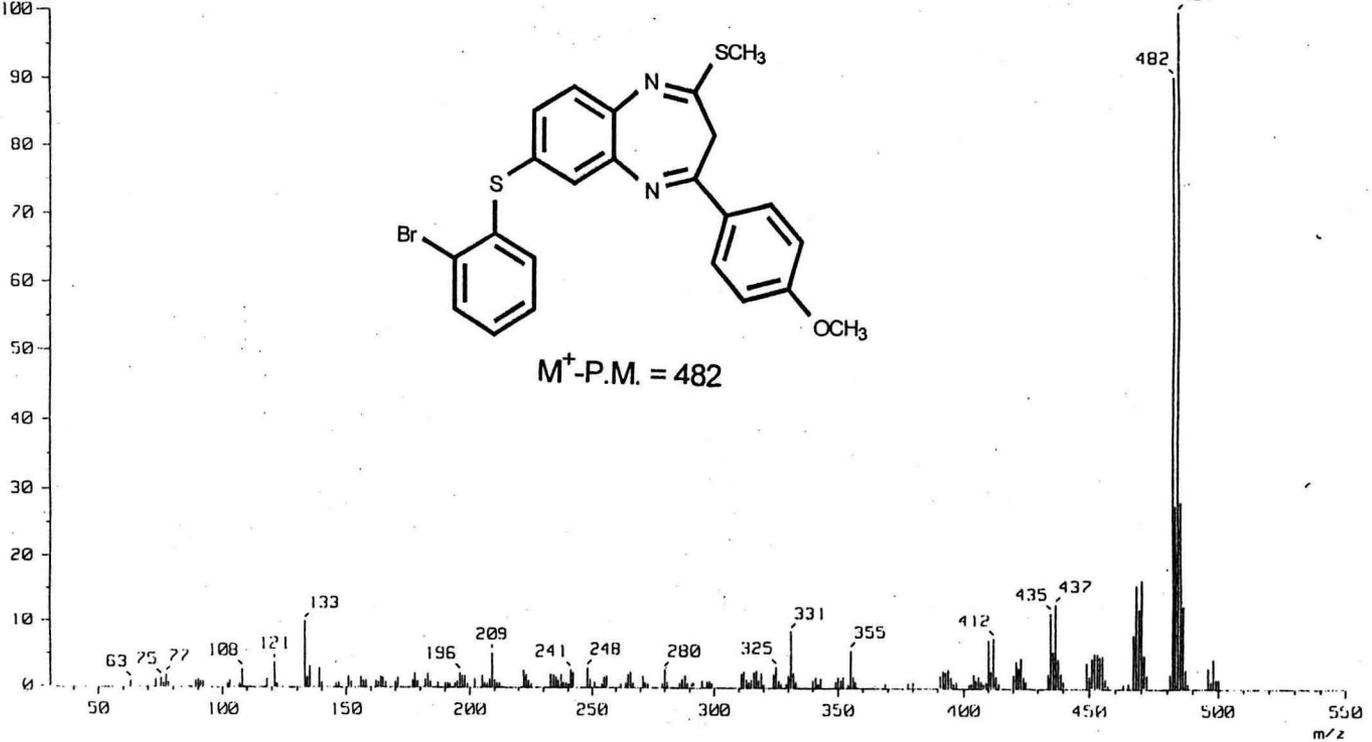
Temp : 29.1 deg.C

BP : m/z 484.0000 Int. : 26.95

Output m/z range : 33.0000 to 550.0000

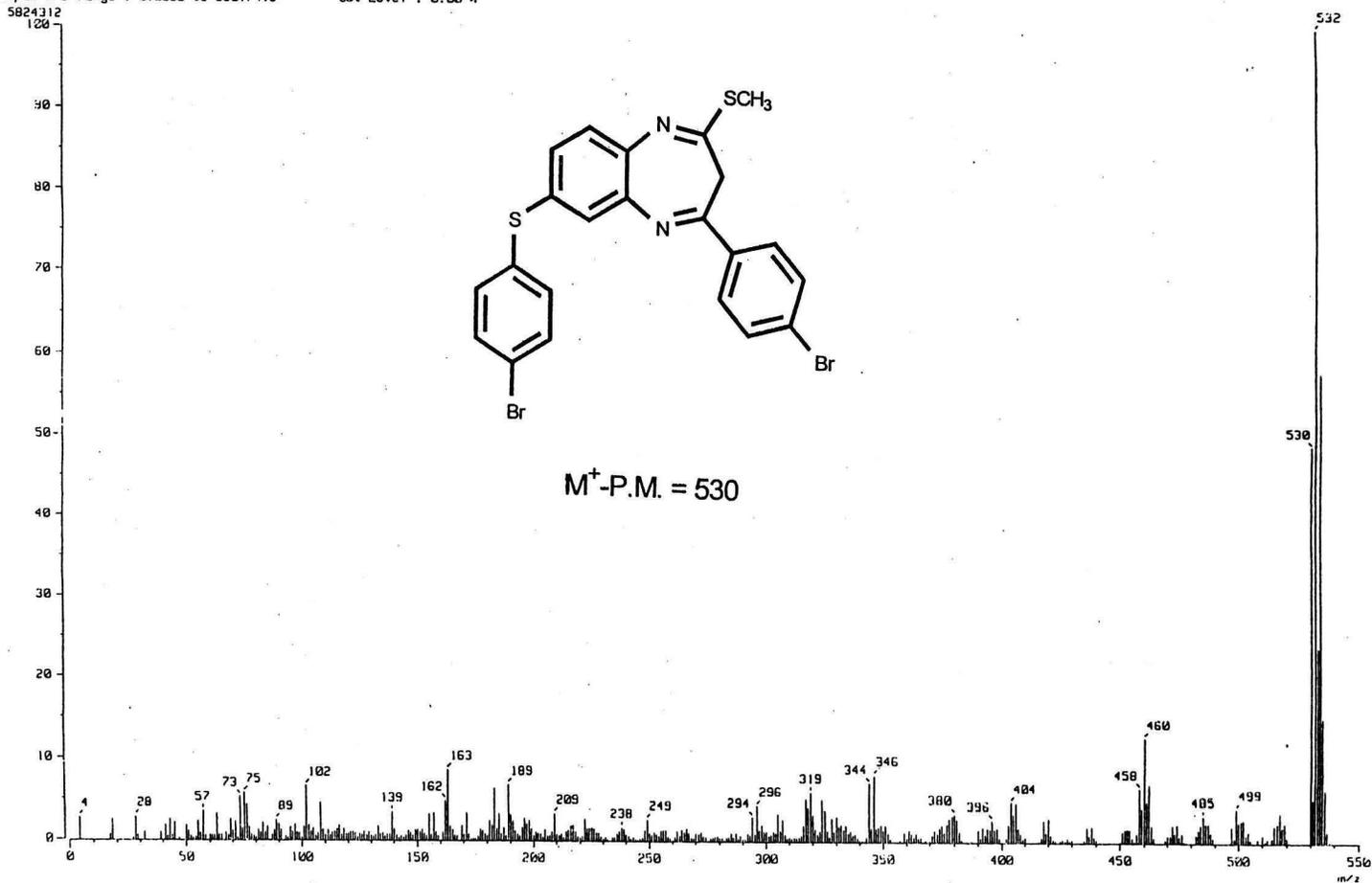
Cut Level : 0.50 %

202541



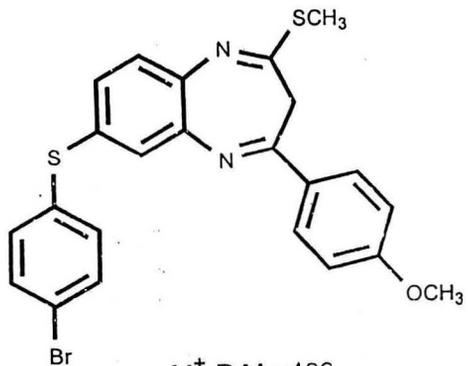
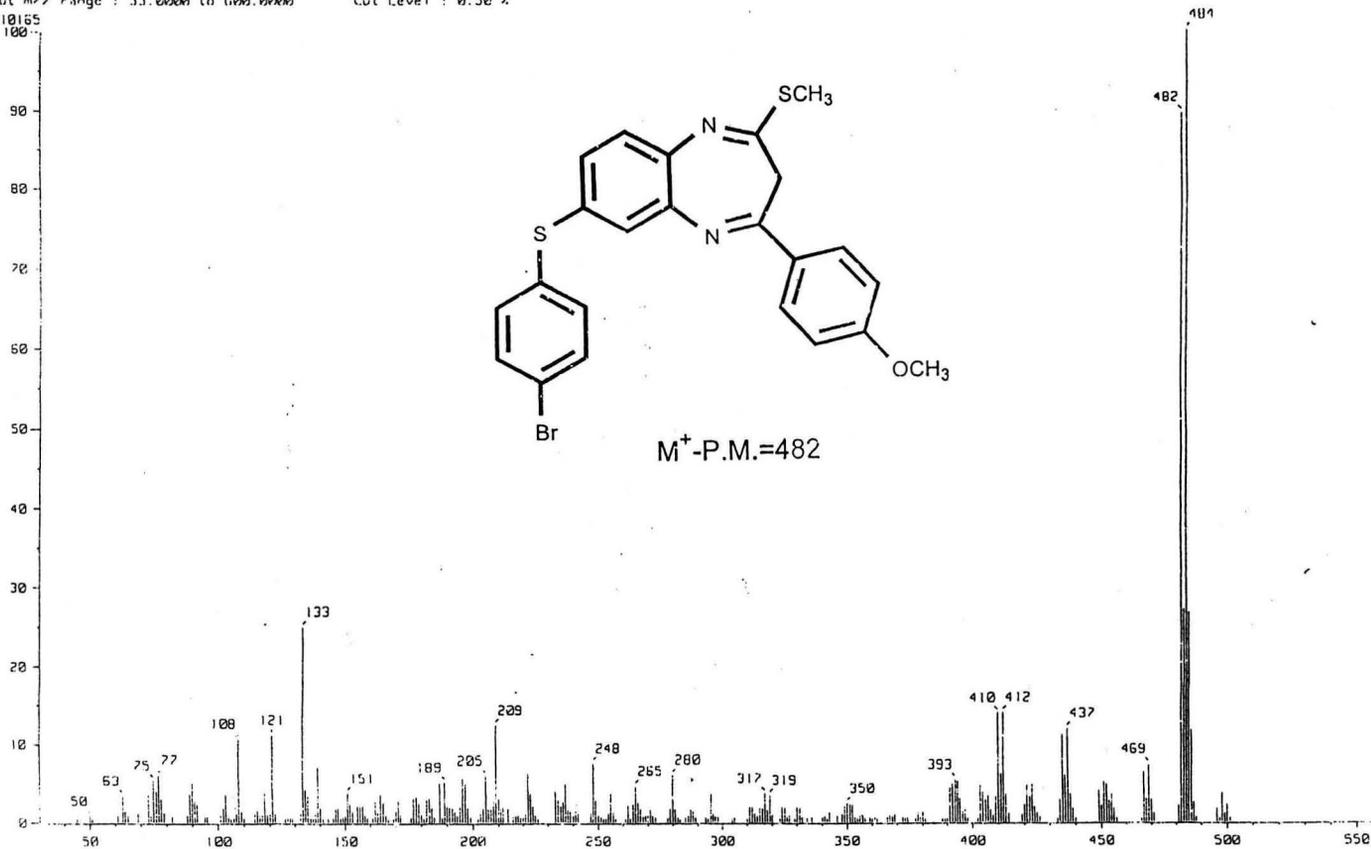
Espectro No.7 de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH₃)fenil]-7-[(o-Br)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. f

[Mass Spectrum]
 Data : Dr. Cortes Eduardo-034 Date : 11-Mar-103 10:30
 Sample: 110103-09 KS-V-3
 Note : Javier-Perez
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion (MF-Linear)
 RT : 1.50 min Scan# : (27,43) Temp : 176.2 deg.C
 DP : m/z 532.0000 Int. : 555.45
 Output m/z range : 0.0000 to 550.7418 Cut Level : 0.00 %



Espectro No.8 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Br)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. g

Mass Spectrum 1
 Date : 017793_KS-V-7_002 Date : 03-Mar-2004 18:04
 Sample :
 Note :
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion (MF-Linear)
 RT : 1.25 min Scan# : (95,103)
 #1 : m/z 404.0000 Int. : 587.71
 Input m/z range : 33.0000 to 600.0000 Cut Level : 0.50 %
 6110165



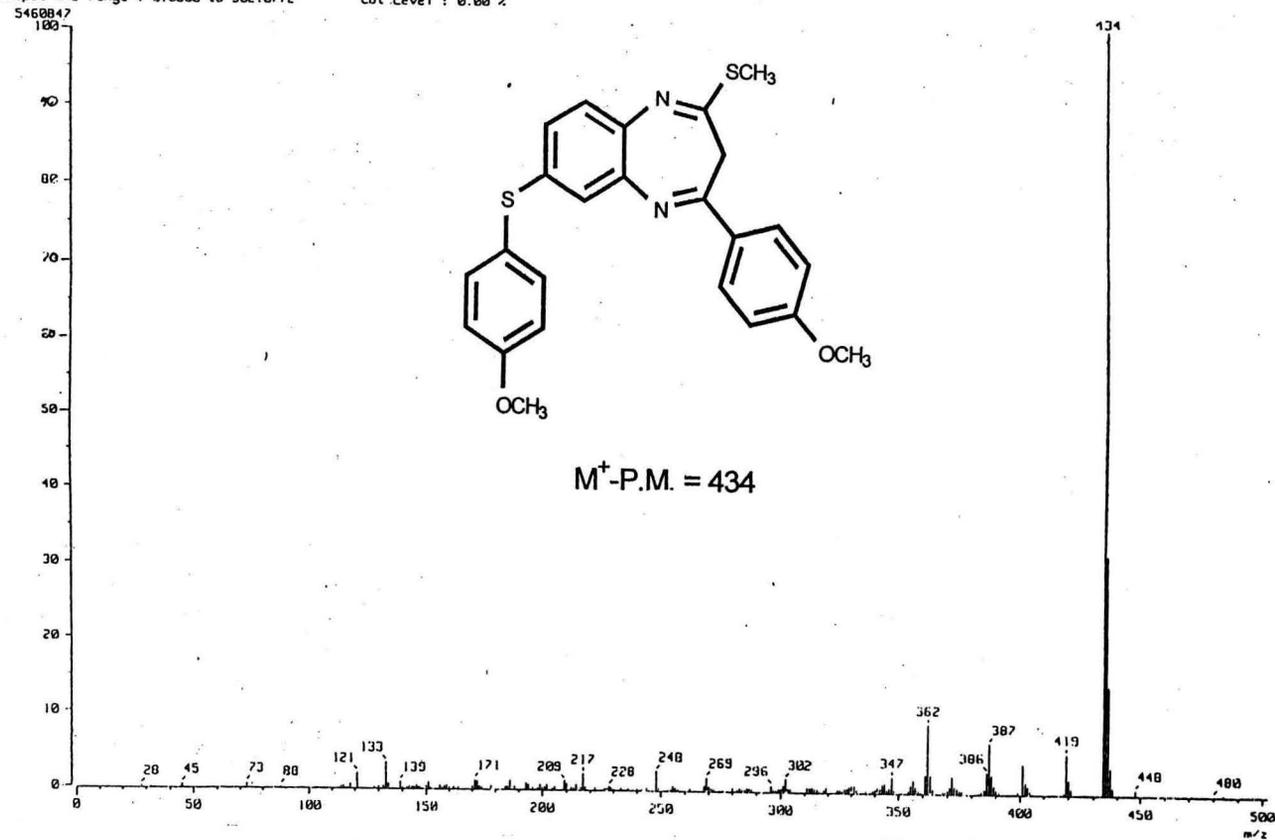
M⁺-P.M.=482

Espectro No.9 de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCi₃)fenil]-7-[(p-Br)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. h

Falta página

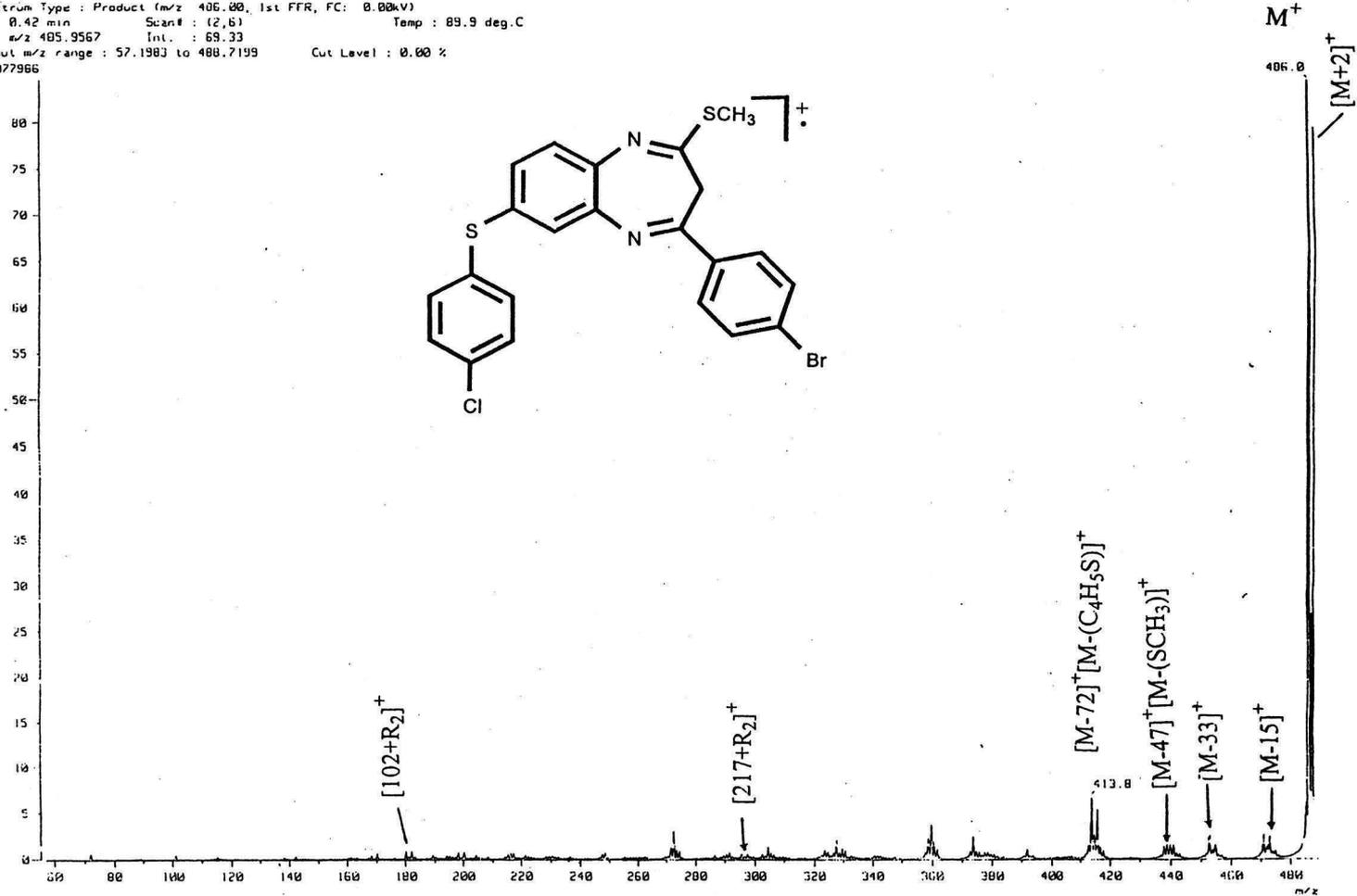
N° 81

Mass Spectrum 1
 Date : 10/05/2010
 Sample: KS-V-10
 Note : -
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion (MF-Linear)
 RT : 1.21 min Scan# : (21,61)-(21,33) Temp : 148.3 deg.C
 BP : m/z 434.0000 Int. : 520.79
 Output m/z range : 0.0000 to 502.0772 Cut Level : 0.00 %



Espectro No.11 de 2-tiometil-3H-4-[(p-OCH₃)fenil]-7-[(p-OCH₃)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. j

(Mass Spectrum)
 Data : Dr-Cortes-Eduardo-106 Date : 06-Dec-10 17:21
 Sample: 091203-13 KS-V-1
 Note : -
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Product (m/z 406.00, 1st FFR, FC: 0.00kV)
 RT : 0.42 min Scan# : 12,61 Temp : 89.9 deg.C
 DP : m/z 405.9567 Int. : 69.33
 Output m/z range : 57.1983 to 408.7199 Cut Level : 0.00 %
 3077966



88

Espectro No 12 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. CID m/z [M⁺] Compuesto V. c

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Cortes-Eduardo-185

Date : 08-Dec-10 17:13

Sample : 001203-13

KS-V-1

Note : -

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Product (m/z 414.00, 1st FFR, FC: 0.00kV)

RT : 0.42 min

Scan# : (2,6)

Temp : 131.1 deg.C

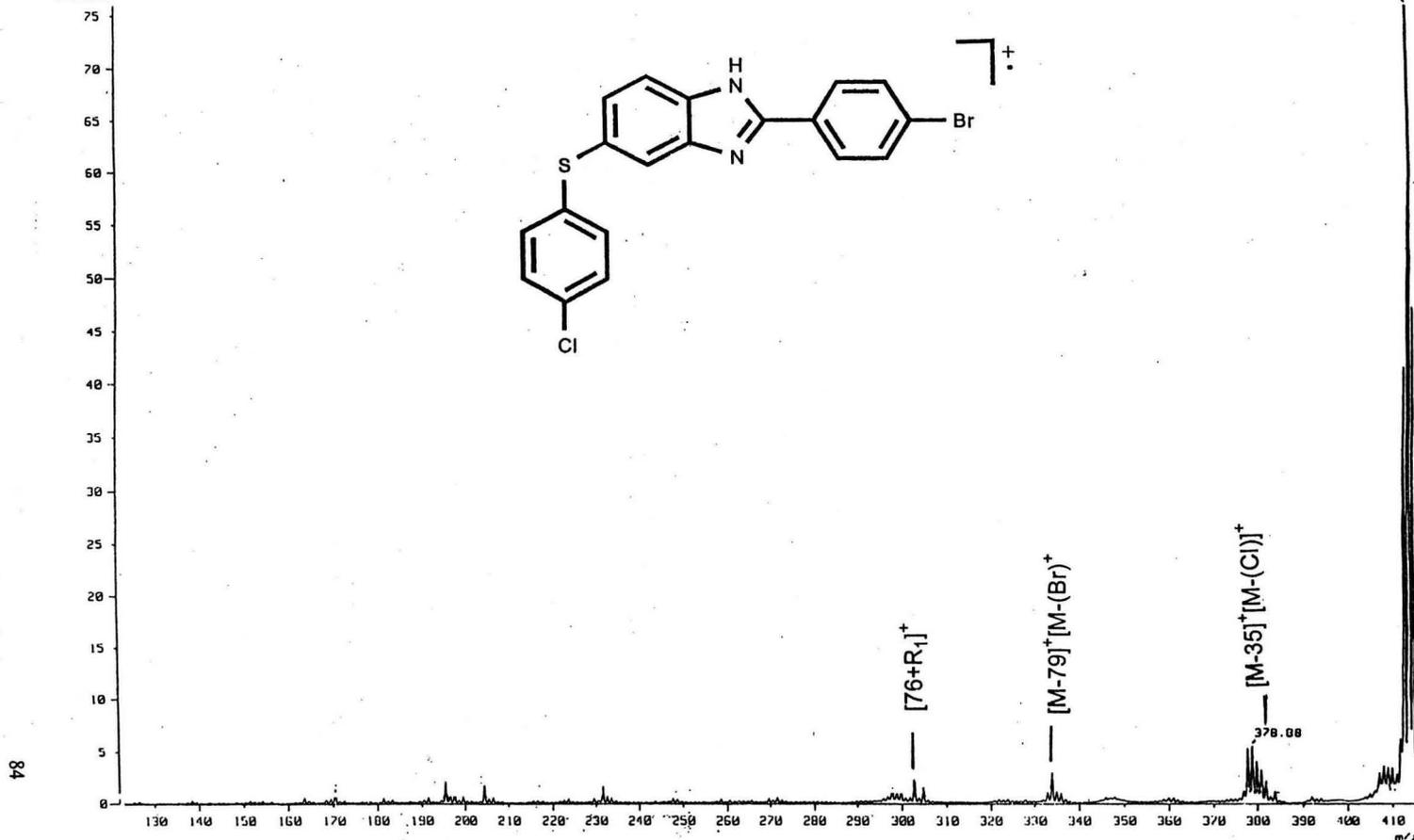
BP : m/z 413.9477

Int. : 77.54

Output m/z range : 123.1865 to 415.3513

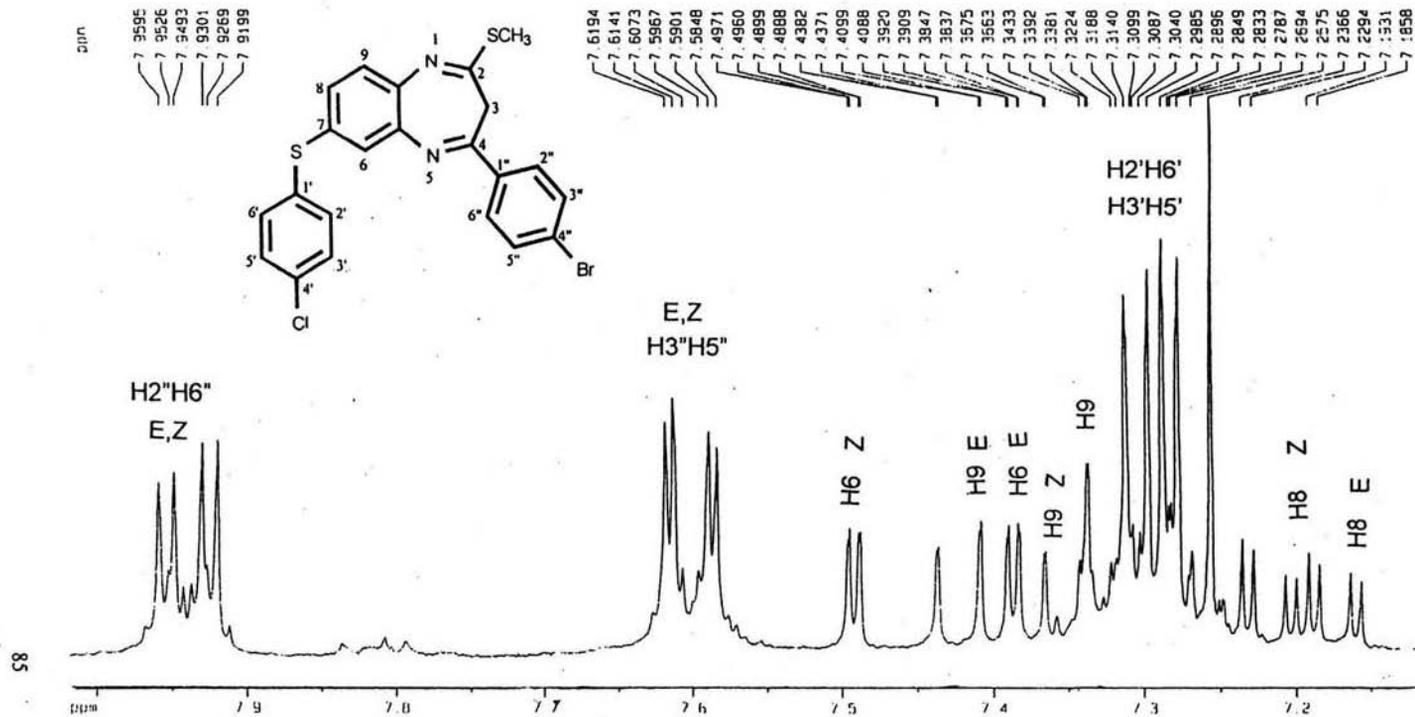
Cut Level : 0.00 %

3069968



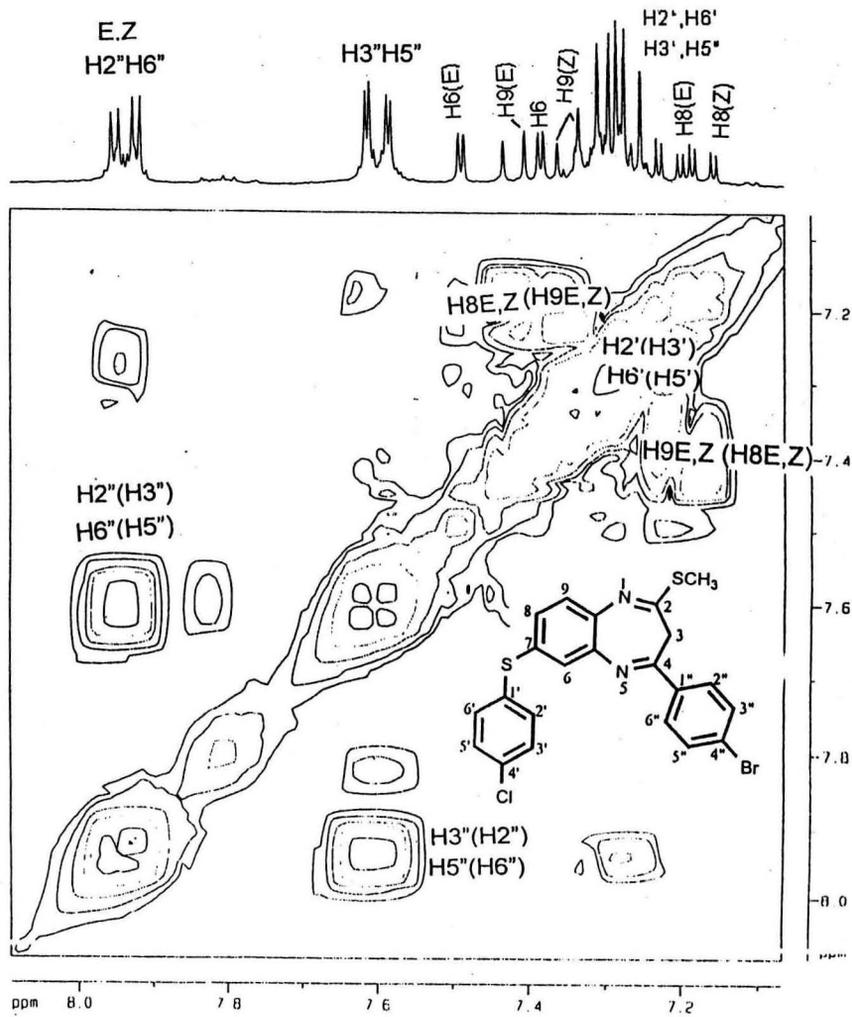
Espectro No 13 de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. CID m/z [m-72]⁺ Compuesto V. c

Instituto de Química, UNAM -IH
 Dr. E. Cortés/Sánchez-M. K.
 Clave: K5-V-1
 No. Orden: 1462
 Solvente: CDCl₃
 Experimento: hidrogeno
 Bruker: AVANCE 300-MHz
 Mayo 22 2003



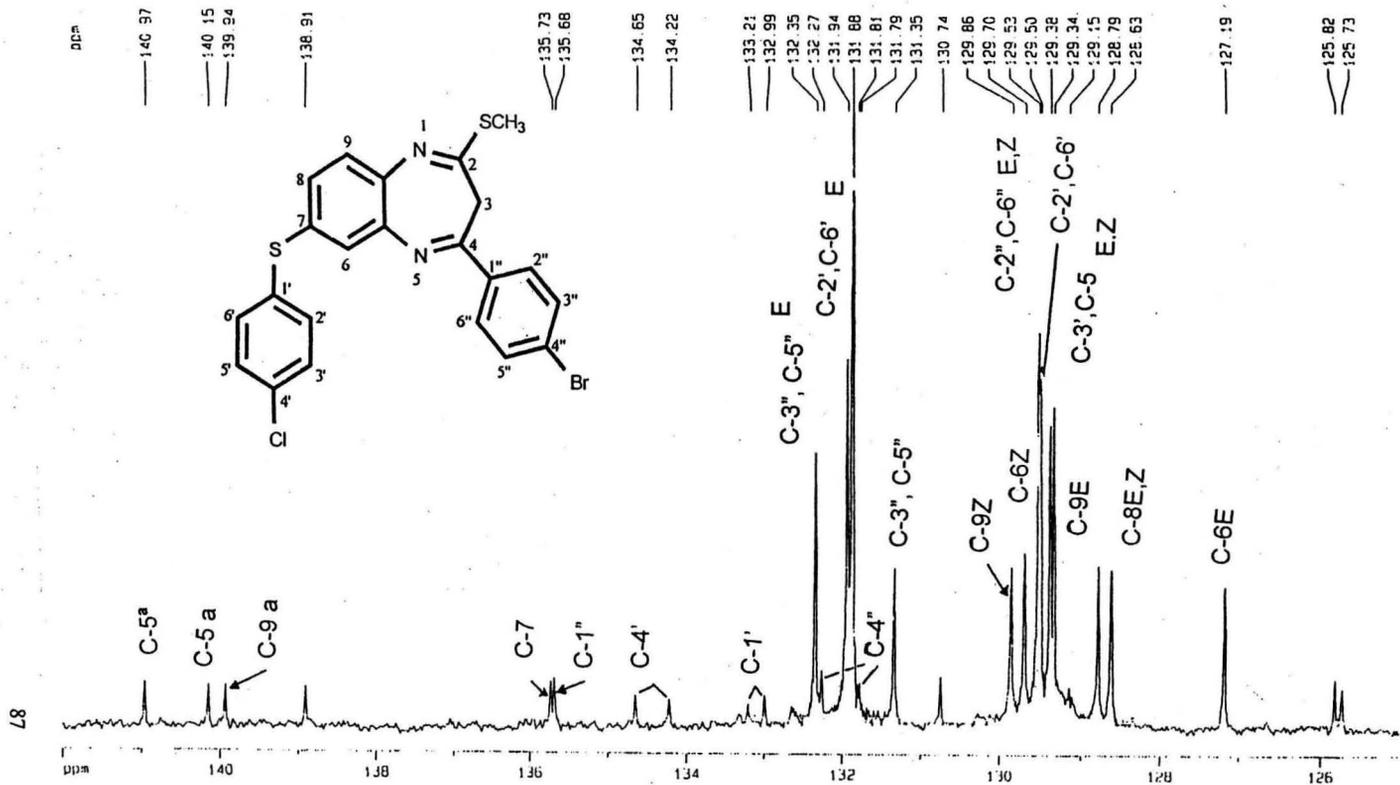
Espectro No.14 RMN (300Mhz,CDCl₃) ¹H de 2-timetil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V.c

Instituto de Química, UNAM HR
 Dr.-E-Cortes/Sanchez-M.K
 Clave: KS-V-1
 Solvent: CDCl₃
 Experimento: COSY
 BRUKER-AVANCE-300-MHZ
 Mayo-22-2003



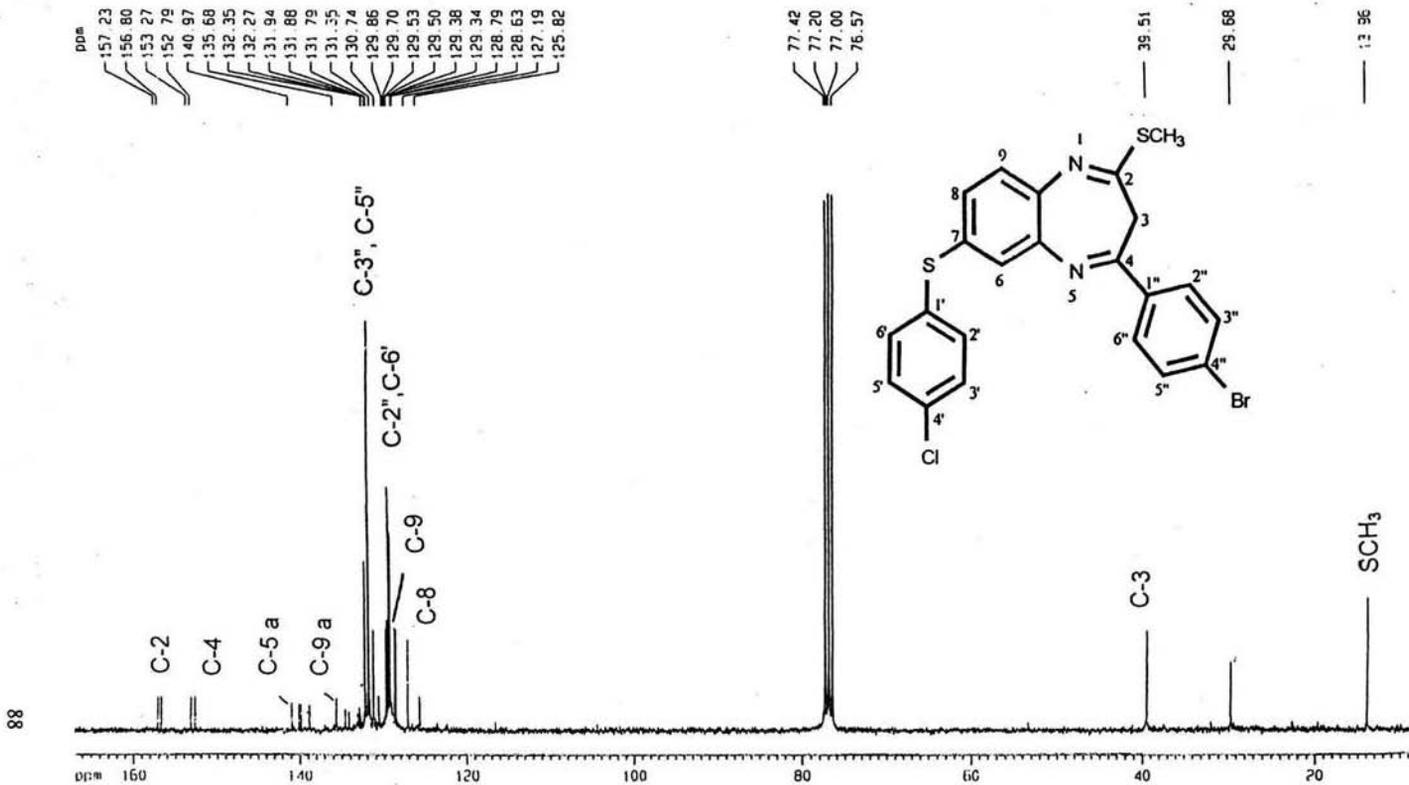
Espectro No.15 RMN (300Mhz,CDCl₃) COSY de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. c

Instituto de Química UNAM HR
 Dr. E. Corles/Sánchez-M. K
 Clave: K5-V-1
 Solvent: CDCl₃
 Experimento: C13
 BHUKER-AVANCE-75-MHZ
 Mayo-22-2003

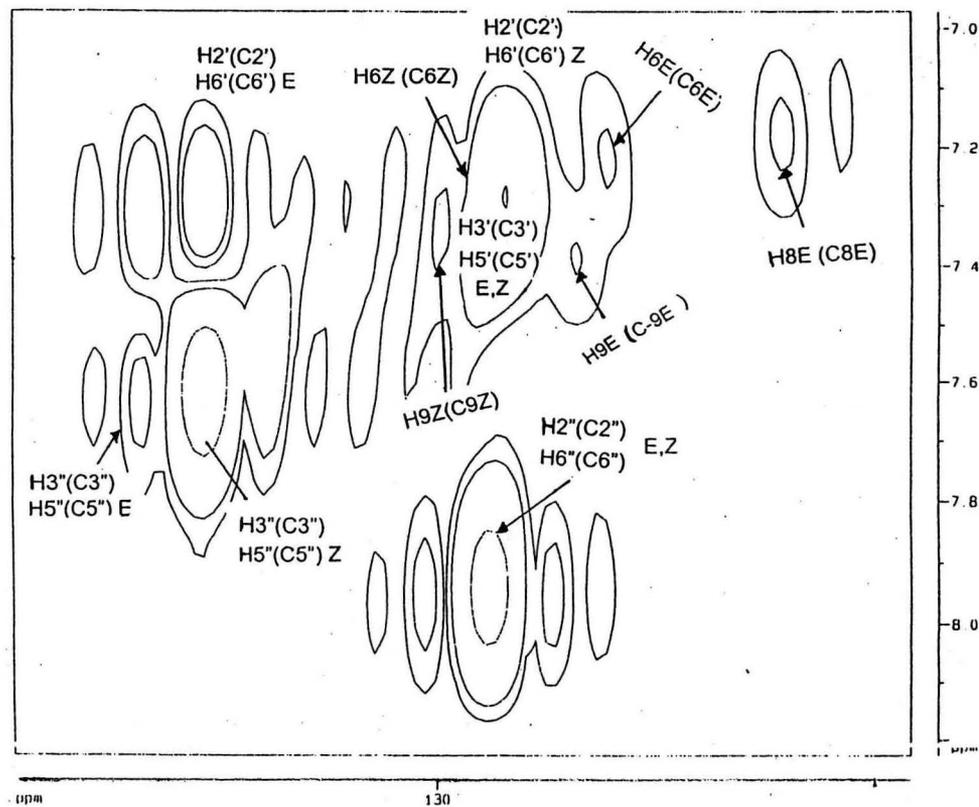
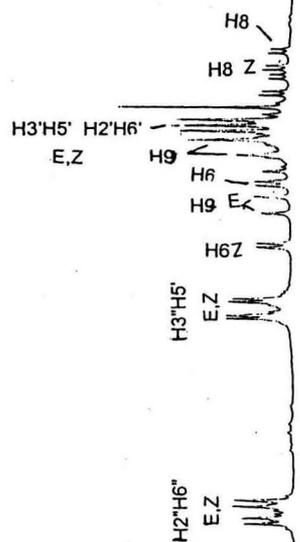
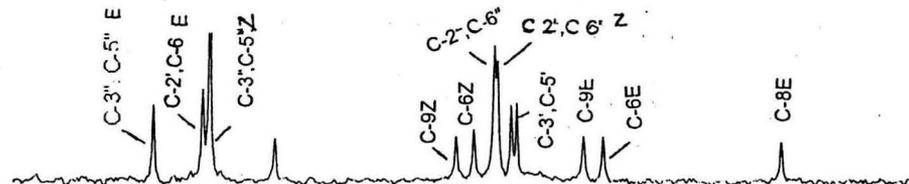
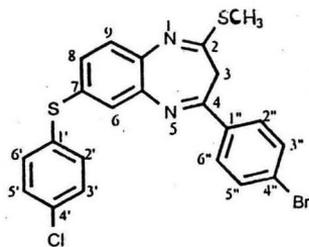


Espectro No.16 RMN (75MHz,CDCl₃) ¹³C de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. c

Instituto de Química UNAM HR
 Dr.-E. Cortes/Sanchez-M.K.
 Clave: KS-V-1
 Solvent: CDCl₃
 Experimento: C13
 BRUKER-AVANCE-75-MHz
 Mayo-22 2003



Espectro No.17 RMN (75 Mhz, CDCl₃) ¹³C de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. c

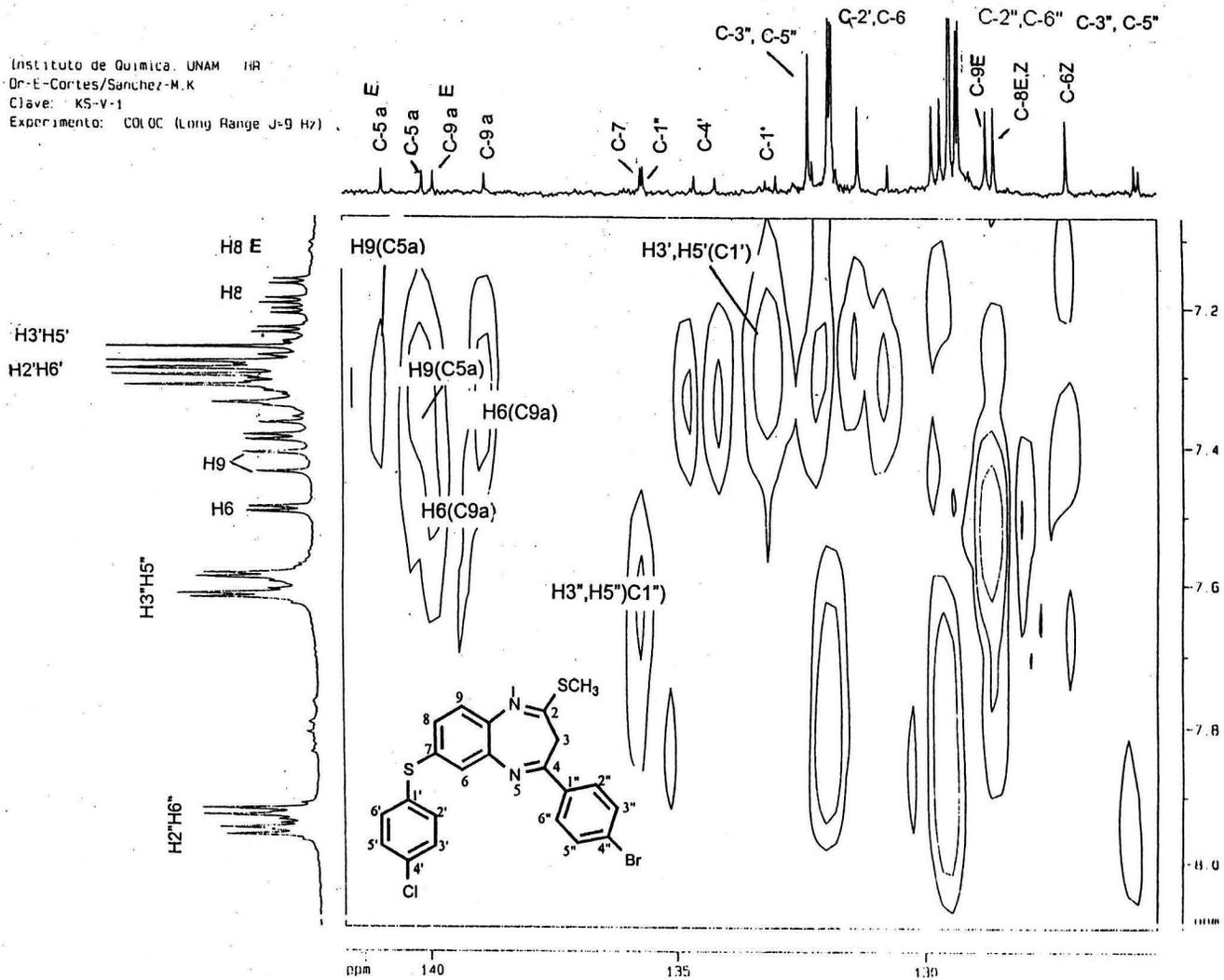


68

Instituto de Quimica, UNAM
 Dr-E-Cortes/Sanchez-M.K
 Clave: KS-V-1
 Solvent: CDCl3
 Experimento: HETCOR
 BRUKER-AVANCE-75-MHz
 Mayo-22-2003

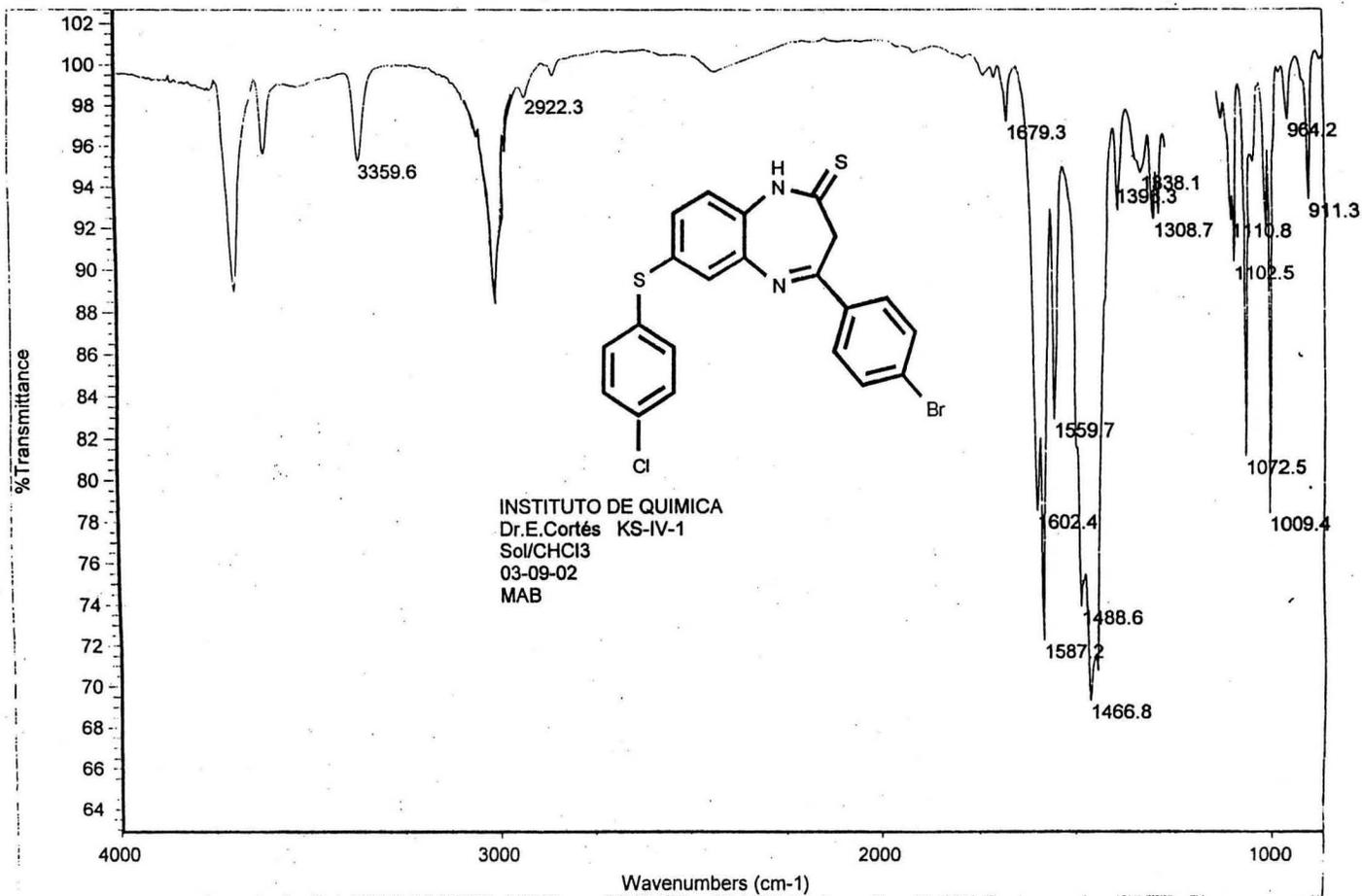
Espectro No.18 RMN (75 Mhz,CDCl₃) HETCOR de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V.

Instituto de Química, UNAM IR
 Dr. E-Cortes/Sanchez-M, K
 Clave: K5-V-1
 Experimento: COLOC (Long Range J-9 H7)

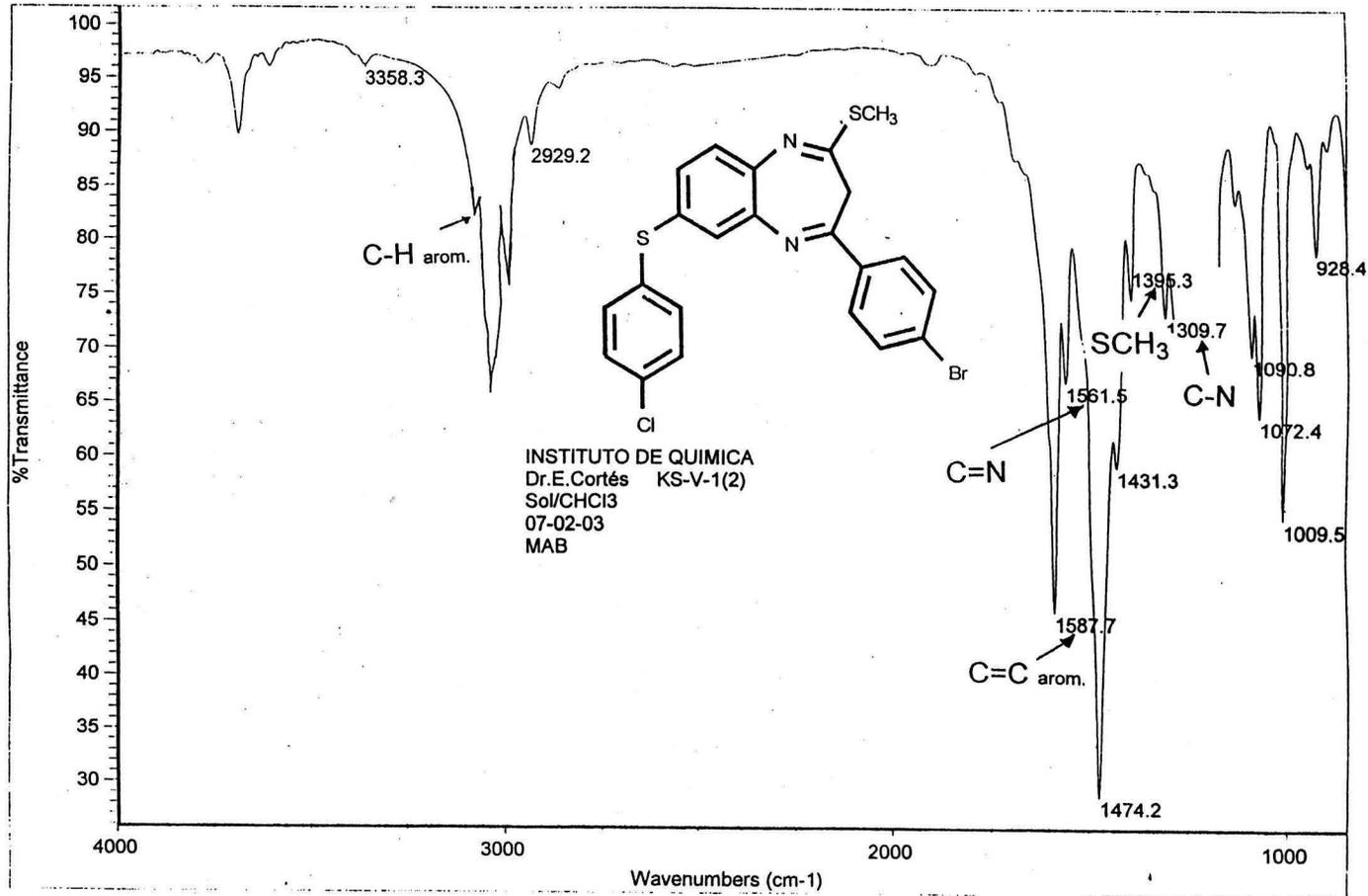


06

Espectro No.19 RMN (300Mhz, CDCl₃) COLOC de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tifenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. c



Espectro No.20 IR de de 2,3-dihidro-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1H-1,5-benzodiazepi-2-tiona. Compuesto IV. c



Espectro No.21 IR de 2-tiometil-3H-4-[(p-Br)fenil]-7-[(p-Cl)tiofenil]-1,5-benzodiazepina. Compuesto V. c

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- <http://user.retacal.es/rafaloren/benzodicepinas2.htm>.
- 2.- Sternbach, L.H; Reeder E.; Séller O.; Metlesics W.; *J. Org. Chem.*; (1961), **26**, 4488.
- 3.- Sternbach, L.H; *J. Med. Chem.*; (1979), **22**, 1.
- 4.- Korolkovas A. *Esentials of Medicinal Chemistry*. 2ª ed. Ed. John Wiley & sons, USA; (1988). p.284.
- 5.- Kleman A. *Pharmaceutical chemistry drug synthesis*. 2ª ed Ed john Wiley & Sons, Great Britain; (1987). p. 3121
- 6.- Rosenstein E.; *Diccionario de Especialidades Farmacéuticas*, 43ª ed., Ediciones P.L.M., México, D.F.; (1995), pp.43-67.
- 7.- *Consumer Reports Books Complete Drug Reference*; Edition United States Pharmacopoeia; (1995).
- 8.- Hansch C.; Sammes P.G.; Taylor J.B., *Comprehensive Medicinal Chemistry*; Vol. 6. Pegamon Press., Londres; (1990), p.394.
- 9.- Schmutz J.; *Arzneim-Forsch.*; (1965), **25**, 712.
- 10.- Hunziker, F.; Fisher, E.; Schmutz, J. *Hel. Chim. Acta.*; (1967), **50**, 1588.
- 11.- Ellefson, C.; Woo, M.; Miller, A.; Kehr, J.R. *J. Med. Chem.*; (1978), **21**, 952.
- 12.- Maza, M. E.; Galíndez, M.; Martínez, R.; Cortés, E. *J. Heterocyclic Chem.* ; (1982), **19**, 107.
- 13.- Cortés, E.; Martínez, R.; *J. Heterocyclic Chem.*; (1983), **20**, 161.
- 14.- Cortés, E.; Martínez, R.; Zarza A.; *J. Heterocyclic Chem.*; (1983), **20**, 1615.
- 15.- Cortés, E.; Martínez, R.; Ceballos I.; *J. Heterocyclic Chem.* ; (1989), **26**, 119.
- 16.- Cortés, E.; Martínez, R.; Ugalde M.; *J.Heterocyclic Chem.* ; (1991), **28**, 365.
- 17.- Cortés, E.; Mendoza A.M.; *J. Heterocyclic Chem.* ; (1996), **33**, 1159.
- 18.- Cortés, E.; Muñoz, P.;Martínez, M.; Zepeda, O. *J.Heterocyclic Chem.* ; (1996), **33**, 1723..
- 19.- Cortés, E.; Martínez, M. *J. Heterocyclic Chem.* ; (1997), **34**, 953.
- 20.- C. Smith; C. Reynord. *Farmacología* 5a ed. Ed. Médica Panamericana, Argentina, 2000. p.275.

- 21.- H. Ashton. *Drugs.*; (1994), **48** (1), 25-40.
- 22.- H. Lüllman; K. Mohr. Atlas de farmacología 2a ed. Ediciones Científicas y Técnicas, S.A., Médica, Barcelona; (1992), p.208.
- 23.- U. Busto; PharmD; I. Kaplan; L. zawertailo; E. M. Sellers. *Clin. Pharm. & Ther. Apr.*; (1994), **55** (4), 451-462.
- 24.- L. A. Hernández; M. C. Márquez, A. Marquez; J.J. Hicks. *Ginecol. y Obstet. de Méx.*; (1991), **59**, 195-201.
- 25.- A. B. Bunin; M. J. Plunkett; J. A. Ellman. *Proc. Natl. Acad. Sci.*; (1994), **99**, 4707-4712.
- 26.- B. E. Maryanoff; W. Ho; D.F: McComsey; A.B. Reitz; P.P. Grous; S. Nortey; R.P. Shank; B. Dubinsky; R.J. Taylor; J.F. *J. Med. Chem.*; (1995), **38**, 16-20.
- 27.- M. Williams. *J. Med. Chem.*; (1983), **26**, (5), 619-628.
- 28.- W. S. Struve. *Fundamentals of Molecular Spectroscopy*. 2a. ed. Ed. John Wiley & Sons, U.S.A.; (1989), p.33.
- 29.- N. Levine. *Espectroscopía Molecular*. 2ª ed. Ed. A.C. España.; (1980), p.117-120.
- 30.- R.M Silverstein; G. Clayton; E. bassley; T.C. Morrill. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 5a ed. Ed John Wiley & Sons Inc., U.S.A; (1991), p.159-169.
- 31.- P.B. Coleman. *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*. 2a ed. Ed CRC Press, U.S.A.; (1993), p.79-87.
- 32.- E. D. Becker. *High Resolution NMR theory and Chemical Application* 3a ed. Ed. Academic Press, U.S.A.; (1980), p.130-138.
- 33.- J. F. Jauregui. *Mass Spectrometry Techniques and Applications*. Ed. John Wiley & Sons Inc., U.S.A.; (1971), p.35-45.
- 34.- E. Cortés. *Apuntes de Espectrometría de Masas* U.E.S. Facultad de química. UNAM.; (1968), p.15-25.
- 35.- S.H. Pine; J.B. Hendrickson, D.J. Cram; G.S. Hammond. *Química Orgánica* 9a ed. Ed Mc Graw-Hill, México.; (1999), p.112.