

**USO DEL ANILLO DE LA TETRAHIDRO-1-BENZOAZEPINA COMO HORMA
MOLECULAR PARA LA CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA TRICÍCLICO
HEXAHIDROBENZO[f]PIRAZINO[1,2-a]AZEPINO-1,4-DIONA
FUNCIONALIZADO**

JUAN ERNESTO RAMÍREZ MORENO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2016**

**USO DEL ANILLO DE LA TETRAHIDRO-1-BENZOAZEPINA COMO HORMA
MOLECULAR PARA LA CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA TRICÍCLICO
HEXAHIDROBENZO[f]PIRAZINO[1,2-a]AZEPINO-1,4-DIONA
FUNCIONALIZADO**

JUAN ERNESTO RAMÍREZ MORENO

Trabajo de Grado como requisito para optar al título de Químico

**DIRECTOR
ALIRIO PALMA RODRÍGUEZ
QUÍMICO, PH. D.**

**CO-DIRECTOR
SERGIO ANDRÉS GUERRERO PARDO
QUÍMICO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2016**

**Gracias al amor y apoyo incondicional de mi padre,
Ernesto Ramírez Rojas, mi madre,
María Yakelyn Moreno Mojica,
y mi hermano, Julián Sebastián Ramírez Moreno**

**Un agradecimiento especial para
Ana María Barrera Díaz,
con quién he compartido los
mejores momentos de mi vida.**

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos

Al profesor Alirio Palma, por haberme permitido el ingreso a su grupo de investigación y poder conocer de cerca el exigente y fascinante mundo de la síntesis orgánica, así como su valiosa guía tanto en el ámbito profesional como personal.

Al Instituto Nacional de Cáncer (NCI) de los Estados Unidos por la evaluación de la actividad anticancerígena.

A Sergio Andrés Guerrero Pardo, por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias dentro de las instalaciones del Laboratorio de Síntesis Orgánica, que me fueron útiles en el momento del desarrollo de este proyecto de grado.

A la profesora Elena Stashenko del Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masas (CROM-MASS) por la toma de los espectros de CG-MS.

Al profesor Enrique Mejía y Ángela María Vásquez del Laboratorio de Espectrometría de Masas de la UIS, por la toma de los espectros ESI-MS.

Al profesor Daniel Molina y Mary Helena Torres del Laboratorio de RMN de la UIS, por la toma de los espectros de RMN.

Al profesor Justo Cobo Domingo de la Universidad de Jaén, España, por la toma de los espectros de masas de alta resolución y la resolución de estructuras por difracción de rayos X de monocristal.

A Alejandro Torres y Lucía Cristina Novoa G del Laboratorio Instrumental de Análisis Químico de la UIS, por la colaboración en la toma de los espectros de IR.

Al profesor Arnold Rafael Romero Bohorquez, por su colaboración como evaluador del presente trabajo de grado.

A mis compañeros de carrera que estuvieron a mi lado durante esta etapa de mi vida: Jeferson, Lorena, Laura, Cristian, Jesús, Nahiwdut, Xuxan, Felix, Sara, Sofía y Diana. Un aprecio especial a mi parcerero Andrés, por la amistad compartida en estos años. Un especial agradecimiento a mis compañeros de laboratorio, Lina María Acosta Quintero e Isidro Burgos Ortiz.

ABREVIATURAS

ACE	Enzima convertidora de angiotensina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ATR	Reflexión total atenuada
BCRP	Proteína Resistente al cáncer de mama
BOC	<i>tert</i> -Butoxicarbonilo
°C	Grados centígrados
CCF	Cromatografía de capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CDK	Quinasas dependientes de ciclinas
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
DEPT	Aumento sin distorsión por transferencia de polarización
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
ESI-MS	Espectrometría de masas por ionización por Electrospray
eV	Electrón voltio
FDA	Administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos
g	Gramos
g/mol	Gramos por mol
¹ H- ¹ H-COSY	Espectroscopia de correlación homonuclear
HLE	Elastasa Leucocitaria Humana
HMBC	Correlación heteronuclear a múltiples enlaces
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
HSQC	Espectroscopia de coherencia cuántica. Heteronuclear sencilla
Hz	Hertzios
H _{ax}	Hidrógeno axial
H _{pseudoax}	Hidrógeno pseudoaxial
H _{eq}	Hidrógeno ecuatorial

$H_{pseudoeq}$	Hidrógeno pseudoecuatorial
INC	Instituto Nacional de Cancerología
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
KI	Yoduro de potasio
LSO	Laboratorio de Síntesis Orgánica
M^+	Ion molecular
min	Minutos
mL	Mililitros
mM	Milimolar
m/z	Relación masa/carga
NCI	Instituto Nacional de Cáncer
NOESY	Espectroscopia nuclear de efecto Overhauser
PAF	Factor activador de plaquetas
P.f.	Punto de fusión
Ph	Fenilo
PTS	Sistema transportador de poliaminas
R_f	Factor de retención
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMN 1H	Resonancia magnética nuclear de protones
RMN ^{13}C	Resonancia magnética nuclear de carbonos
SAR	Relación estructura–actividad
SIADH	Síndrome de secreción inadecuada de la hormona anti–diurética
SNC	Sistema Nervioso Central
SN_2	Sustitución Nucleofílica Bimolecular
TLC	Cromatografía de capa fina
Ts	Tosilo
UV	Ultravioleta
UV–VIS	Ultravioleta–visible
VIH	Virus de inmuno–deficiencia humana

TABLA DE CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN	18
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
2. JUSTIFICACIÓN	22
3. OBJETIVOS	24
4. ESTADO DEL ARTE	25
4.1 Aspectos generales de la tetrahidro-1-benzoazepina	25
4.1.2 Métodos de construcción del núcleo de la tetrahidro-1-benzazepina	27
4.2 Aspectos biológicos del núcleo de la piperazina	31
4.2.1 Métodos de construcción del anillo de la piperazina	32
4.3 Actividad biológica de moléculas con el núcleo de la 2,5-dicetopiperazina	34
4.3.1 Métodos de construcción del anillo de la 2,5-dicetopiperazina	41
5.0 PARTE EXPERIMENTAL	49
5.1 Preparación de los 2-((2-alilaril)amino)acetatos de metilo <u>1</u> a-g	50
5.2 Síntesis de los (2 <i>SR</i> ,4 <i>RS</i>)-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-epoxibenzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo <u>2</u> a-g	53
5.3 Síntesis de los <i>cis</i> -4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo <u>3</u> a-g	57
5.4 Síntesis de los <i>cis</i> -1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo <u>4</u> a-g y <i>cis</i> -4-(2-cloroacetoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo <u>4'</u> a-g	60

5.5	Síntesis de las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenzo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-dionas <u>5a-g</u>	68
6	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	74
6.1	Síntesis de los <i>cis</i> -4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo <u>3a-g</u>	75
6.2	Preparación de los <i>cis</i> -1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo <u>4a-g</u> y sus isómeros de O-cloroacetilación <u>4'a-g</u>	78
6.3	Preparación de las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenzo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-dionas <u>5a-g</u>	95
7	Actividad anti-proliferativa de los compuestos sintetizados	107
8	CONCLUSIONES	114
	CITAS	116
	BIBLIOGRAFÍA	125
	ANEXOS	125

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1.	Estructura molecular de los fármacos Tolvaptan, Conivaptan y Benazepril 26
Figura 2.	Derivados de la 1-benzazepina con actividad anticancerígena. 27
Figura 3.	Modos de construcción del anillo de la tetrahydro-1-benzazepina. 28
Figura 4.	Derivados de la tetrahydro-1-naftoazepina con actividad antiparasitaria y ansiolítica. 30
Figura 5.	Fármacos que poseen en sus estructuras al núcleo de la piperazina. 32
Figura 6.	Estructura general de la 2,5-dicetopiperazina. 35
Figura 7.	Estructura de compuestos de origen marino que poseen el núcleo de la 2,5-dicetopiperazina. 35
Figura 8.	Dipéptidos cíclicos encontrados como metabolitos en tejidos vegetales y animales. 36
Figura 9.	Antibióticos naturales que poseen el núcleo de la 2,5-dicetopiperazina. 37
Figura 10.	Dipéptidos con potencial actividad neuroprotectora desarrollados a partir del péptido modelo [43]. 38
Figura 11.	Compuestos que contiene el núcleo de la 2,5-dicetopiperazina con actividad anti-inflamatoria. 38
Figura 12.	Derivados de la 2,5-dicetopiperazina como agentes anticancerígenos. 40
Figura 13.	Clases de sustratos utilizados en las diferentes metodologías para acceder al núcleo de la 2,5-dicetopiperazina. 41
Figura 14.	Estructura molecular del compuesto natural MPC1001. 43
Figura 15.	Estructura del fármaco Tadalafil. 43
Figura 16.	Ejemplos de sistemas fusionados de la 1-benzazepina. 44
Figura 17.	Un ejemplo de derivados del sistema tricíclico de la tetrahydro-3 <i>H</i> -benzo[<i>c</i>]azepin-3-ona. 45
Figura 18.	Estructura general de los 2-((alilaril)amino)acetatos de metilo 1a-g . 50
Figura 19.	Estructura general de los 1,4-epoxicicloadductos 2a-g . 53
Figura 20.	Estructura general de los <i>cis</i> -4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo 3a-g . 57
Figura 21.	Estructuras generales de los <i>cis</i> -1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo 4a-g y <i>cis</i> -4-(2-cloroacetil)-2,3,4,5-tetrahydro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo 4'a-g . 60
Figura 22.	Estructura general de las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahydrobenzo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepina-1,4-dionas 5a-g . 68

- Figura 23.** Espectro de RMN ^1H del *cis*-1-(2-cloroacetil)-7-flúor-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4c** (CDCl_3 , 400 MHz). **85**
- Figura 24.** Expansión de las regiones de campo intermedio y alto del espectro de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY del derivado **4c**. **86**
- Figura 25.** Expansión la zona de campos intermedio y alto del espectro NOESY del derivado **4c**. **88**
- Figura 26.** Espectro de RMN ^1H del *cis*-4-(2-cloroacetil)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'f** (CDCl_3 , 400 MHz). **92**
- Figura 27.** Expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY del *cis*-4-(2-cloroacetil)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'f** **93**
- Figura 28.** Expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro NOESY del derivado **4'f**. **94**
- Figura 29.** Espectro de RMN ^1H del 9-flúor-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[*f*]-pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-diona **5c**. ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz). **101**
- Figura 30.** Expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY de la 9-flúor-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-diona **5c**. **103**
- Figura 31.** Expansión de la zona alifática del espectro NOESY del derivado **5c**. **105**
- Figura 32.** Estructura molecular resuelta por rayos X de monocristal de la 9-Cloro-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[*f*]pirazino-[1,2-*a*]azepina-1,4-diona **5d**. **106**

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1. Análisis retrosintético para las nuevas hexahidrobenzo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepinas propuestas.	23
Esquema 2. Síntesis de Palma de 1,4-epoxitetrahydro-1-benzoazepinas.	29
Esquema 3. Quimiotecas de derivados de la tetrahydro-1-benzoazepina desarrolladas con la ruta sintética diseñada en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO).	30
Esquema 4. Síntesis de las <i>N</i> -alquil(aril)- <i>N'</i> -tosilpiperazinas [26]	33
Esquema 5. Síntesis de piperazinas <i>N,N'</i> -disustituidas.	33
Esquema 6. Síntesis diastereoselectiva de piperazinas 2,3-disustituidas.	34
Esquema 7. Un ejemplo de síntesis de derivados del sistema tricíclico de la pirazino[2,1- <i>a</i>][2]benzoazepina con actividad antiparasitaria.	46
Esquema 8. Síntesis multi-etapas del compuestos [88] con propiedades pro-apoptóticas.	47
Esquema 9. Ruta sintética utilizada por <i>Wang</i> y colaboradores para acceder al compuesto [96] y su <i>N</i> -metil derivado [97].	48
Esquema 10. Ruta de síntesis utilizada para preparar las hexahidrobenzo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepina-1,4-dionas diseñadas.	75
Esquema 11. Ruta de síntesis desarrollada en el LSO para acceder a los amino-alcoholes 3a-g g. i. H ₂ O ₂ /MeOH, Na ₂ WO ₄ ; ii. Tolueno-reflujo; iii. Zn/HCl/AcOH.	75
Esquema 12. Productos de <i>N</i> - y <i>O</i> -acilación de los amino-alcoholes 3a-g	80
Esquema 13. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los <i>cis</i> -1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo 4a-g .	82
Esquema 14. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los <i>cis</i> -4-(2-cloroacetil)-2,3,4,5-tetrahydro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo 4'd-f .	90
Esquema 15. Mecanismo simplificado propuesto del proceso de ciclocondensación de los precursores 4a-g mediado por el 2-aminoetanol.	96
Esquema 16. Ruta de fragmentación propuesta para el ión molecular protonado del derivado 5e .	98

LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de crecimiento (GI %) de los compuestos evaluados 5a–e , 5g y 4'd a 10 μ M sobre el panel de las 60 líneas celulares.	110
---	------------

LISTA DE ANEXOS

		Página
Anexo A	Espectro de infrarrojo del <i>cis</i> -1-(2-Cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4a .	126
Anexo B	Espectro de masa del <i>cis</i> -1-(2-Cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4a .	126
Anexo C	Espectro de RMN ¹³ C del <i>cis</i> -1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilatos de metilo 4a .	127
Anexo D	Espectro de ¹ H- ¹ H COSY del <i>cis</i> -1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4a .	127
Anexo E	Espectro de HMBC del <i>cis</i> -1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-7-flúor-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4c .	128
Anexo F	Espectro de HSQC del <i>cis</i> -1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-7-flúor-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4c .	129
Anexo G	Espectro de infrarrojo del <i>cis</i> -4-(2-cloroacetil)-7-cloro-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4'd .	129
Anexo H	Espectro de masas del <i>cis</i> -4-(2-cloroacetil)-7-cloro-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4'd .	130
Anexo I	Espectro de RMN ¹³ C del <i>cis</i> -4-(2-cloroacetil)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4'f .	131
Anexo J	Espectro de HMBC del <i>cis</i> -4-(2-cloroacetil)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4'f .	131
Anexo K	Espectro de HSQC del <i>cis</i> -4-(2-cloroacetil)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]azepina-2-carboxilato de metilo 4'f .	132
Anexo L	Espectro de infrarrojo del 6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepina-1,4-diona 5a .	133
Anexo M	Espectro de ESI del 6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepina-1,4-diona 5a .	134
Anexo N	Espectro de RMN ¹³ C del 9-cloro-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepina-1,4-diona 5d .	135
Anexo O	Espectro de HMBC del 9-flúor-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepina-1,4-diona 5c .	135
Anexo P	Espectro de HSQC del 9-flúor-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepina-1,4-diona 5c .	136
Anexo Q	Espectro de ¹ H- ¹ H COSY del 9-cloro-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[<i>f</i>]pirazino[1,2- <i>a</i>]azepina-1,4-diona 5d .	137

RESUMEN

TÍTULO: USO DEL ANILLO DE LA TETRAHIDRO-1-BENZOAZEPINA COMO HORMA MOLECULAR PARA LA CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA TRICÍCLICO HEXAHIDROBENZO[f]PIRAZINO[1,2-a]AZEPINO-1,4-DIONA FUNCIONALIZADO.*

Autor: JUAN ERNESTO RAMIREZ MORENO**

Palabra clave: Tetrahidro-1-benzazepina, 2,5-dicetopiperazina, N-cloroacetilación, O-cloroacetilación, cicloadición 1,3-dipolar, actividad anticancerígena, 2-((2-alilaril)amino)acetato de metilo.

Los sistemas heterocíclicos nitrogenados de la tetrahidro-1-benzazepina y la 2,5-dicetopiperazina han sido ampliamente estudiados desde el punto de vista sintético como farmacológico debido a que hacen parte del andamio estructural de numerosos compuestos que poseen un alto potencial biológico. Es por eso, que el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) de la Universidad Industrial de Santander ha enfocado sus esfuerzos en crear nuevos sistemas heterocíclicos que no han sido reportados. Así, mediante la utilización de una ruta de síntesis propia se logró acceder a 7 nuevos compuestos tricíclicos, los 6-hidroxi-3-(2-hidroxietil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-dionas, a partir de los 2-((2-alilaril)amino)acetatos de metilo como sustratos de partida clave.

En este trabajo de grado se reportan las propiedades físicas y espectroscópicas de los productos intermedios y finales obtenidos durante la síntesis, por medio de los métodos convencionales de elucidación como la espectroscopia de infrarrojo (IR), cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), espectrometría de masas de ionización por Electrospray (ESI-MS), espectrometría de masas de alta resolución (HRMS), resonancia magnética nuclear de protones (RMN ¹H) y de carbono (RMN ¹³C). Teniendo en cuenta la importancia que poseen estos dos heterosistemas, la actividad anticancerígena de la mayoría de los compuestos que se reportan por primera vez fueron evaluados en 60 líneas celulares de cáncer en el Instituto Nacional de Cancer (NCI) de los Estados Unidos.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Director: Alirio Palma Rodríguez. Co-Director Sergio Andrés Guerrero Pardo

ABSTRACT

TITLE: USE OF THE TETRAHYDRO-1-BENZOAZEPINE RING AS MOLECULAR SHAPE FOR THE CONSTRUCTION OF THE TRICYCLIC SYSTEM HEXAHYDRO[*f*]PIRAZINO[1,2-*a*]AZEPINE-1,4-DIONE FUNCIONALIZED.*

Author: JUAN ERNESTO RAMIREZ MORENO**

Keywords: Tetrahydro-1-benzoazepine, 2,5-diketopiperazine, N-chloroacetylation O-chloroacetylation, 1,3-dipolar cycloaddition, anticancer activity, methyl 2-((2-allylaryl)amine) acetate.

The nitrogen heterocycle systems of the tetrahydro-1-benzoazepine and the 2,5-diketopiperazine have been widely studied from the point of synthetic as pharmacological seen, since they are part of the structural scaffolding of numerous compounds that have a high biological potential. That is why, the "Laboratorio de Síntesis Orgánica" of the Universidad Industrial de Santander has focused its effort to create new heterocycles that have not been reported, through the use of an own synthesis route it was achieved to 7 new tricyclic compounds, the 6-hydroxy-3-(2-hydroxyethyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahydrobenzo[*f*] pyrazino[1,2-*a*]azepine-1,4-dione, from methyl 2-((2-allylaryl)amine) acetate as a key substrate starting.

In this degree thesis, it reports physical and spectroscopic properties of the intermediate and final products obtained during the synthesis, using conventional elucidation methods such as infrared spectroscopy (IR), gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), mass spectrometry ionization electrospray (ESI-MS), high resolution mass spectrometry (HRMS), proton nuclear magnetic resonance (¹H NMR) and carbon (¹³C NMR) and finally, X-ray diffraction cristal. Taking into account the importance that possess the two heterosystems of study, the anticancer activity of most of the compounds that are reported for the first time, they were evaluated in 60 cancer cell lines at the National Institute of Cancer (NCI) of the United States.

* Degree Work

** Faculty of Science, School of Chemistry. Director: Alirio Palma Rodríguez. Co-Director Sergio Andrés Guerrero Pardo

INTRODUCCIÓN

Dentro del colosal número de moléculas sintéticas y/o de origen natural de interés farmacológico, los compuestos heterocíclicos nitrogenados han jugado un papel muy destacado en el desarrollo de fármacos para el tratamiento eficaz de distintas enfermedades, y en el mejoramiento de las condiciones de vida de millones de personas en todo el mundo.

Como ejemplo de dichos compuestos con aplicaciones útiles, se puede mencionar, entre otros tantos, algunas moléculas de origen vegetal como la papaverina, un alcaloide opiáceo que se utiliza como un relajante muscular; la teobromina, un alcaloide que se extrae de la planta del cacao y que se utiliza para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares; la quinina, un alcaloide quinolínic extraído de la cinchona que se utilizó en algún tiempo para el tratamiento de la malaria, y la morfina, un potente analgésico que es utilizado frecuentemente en tratamientos clínicos. También se ha descubierto una rica fuente de heterociclos nitrogenados en organismos de origen marino, de los que se han extraído pirroloquinolinas, variolinas y algunos péptidos (aplidina, dolastatina) con un gran potencial farmacológico. Compuestos heterocíclicos nitrogenados se han utilizado en el desarrollo de colorantes (tartracina, mauveína), pesticidas (atrazina, azoxistrobina), herbicidas (paraquat, diquat), etc. Además, algunos heterociclos nitrogenados, como las bases purínicas y pirimidínicas, hacen parte del andamio molecular de la cadena del ADN.

Los sistemas heterocíclicos nitrogenados poseen diferentes tamaños y se pueden encontrar fusionados también de diferente manera con otros heterociclos y carbociclos. Por ejemplo, las lactamas de cuatro miembros están presentes en los antibióticos β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas), los de cinco miembros forman las familias de los azoles y benzazoles, los de seis miembros están ampliamente distribuidos en la naturaleza en forma de alcaloides piperidínicos,

quinolínicos, isoquinolínicos, y en el ADN en forma de bases purínicas y pirimidínicas, los de siete y ocho miembros constituyen la base de las grandes familias de azepinas, diazepinas, benzazepinas, dibenzazepinas, azocinas, benzazocinas y dibenzazocinas. Estos sistemas heterocíclicos se pueden encontrar en las estructuras de moléculas que fueron desarrolladas como eficientes agentes antifúngicos, antileishmanicidas, antipalúdicos, analgésicos, anticonvulsiantes, anticancerígenos y anti-VIH, entre otras tantas manifestaciones farmacológicas comprobadas.

De los sistemas heterocíclicos antes mencionados, las tetrahydro-1-benzazepina fueron el objeto de estudio en el presente Trabajo de Grado, el cual busca, entre otros objetivos, darle continuidad a trabajos previos realizados en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) de la UIS. Con este marco de referencia, se definió como el objetivo principal de estudio la modificación dirigida del núcleo básico de la tetrahydro-1-benzazepina mediante la fusión de dicho núcleo con el de la piperazina, con el fin de crear el sistema tricíclico de la octahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina, del cual se tiene muy poca información, tanto de carácter sintético como biológico, reportada en revistas especializadas. Los nuevos derivados del sistema tricíclico propuesto fueron inicialmente caracterizados y enviados al Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos para estudiar su actividad antitumoral.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De todo lo expuesto en la revisión bibliográfica se puede constatar que tanto el núcleo de la tetrahidro-1-benzazepina como el de la 2,5-dicetopiperazina se han utilizado como hormas estructurales básicas para el desarrollo de nuevos compuestos con una rica variedad de actividades farmacológicas. Es por eso que la fusión de estos dos núcleos farmacofóricos en uno solo, a través de rutas sintéticas sencillas, es una estrategia que puede brindar nuevas posibilidades para la creación de compuestos tríciclicos desconocidos, que, muy seguramente, estarán dotados de esas amplias e interesantes manifestaciones de actividad biológica que se le atribuyen a sus núcleos progenitores. Infortunadamente, y tal como se pudo evidenciar en las dos únicas rutas de síntesis descritas hasta el momento (Esquemas 8 y 9), el acceso a esta clase de compuestos es una tarea muy dispendiosa, primero, porque su preparación involucra muchos pasos, siendo, por lo tanto, económicamente poco atractivas, y segundo, porque parten de sustancias que no están disponibles en el mercado y que, además, son de difícil acceso sintético, con lo cual drásticamente se limita la funcionalización de los productos finales.

En definitiva, la síntesis de esta interesante, pero poco estudiada, clase de compuestos continúa siendo un verdadero reto para los químicos heterociclistas. Sentar las bases experimentales para superar este reto, a través de la ampliación de los alcances sintéticos de la ruta de síntesis diseñada en el LSO para acceder a tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepinas polifuncionalizadas (ver Esquemas 2 y 3), es, justamente, el objetivo principal de este Trabajo Grado.

En consecuencia, en este Trabajo de Grado se plantea la posibilidad de responder positivamente al siguiente interrogante: ¿será posible acceder de manera fácil y eficiente a nuevos compuestos de tipo hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina a

través de la funcionalización de tetrahidro-1-benzoazepinas sustituidas en C-2 con un grupo carboxilato?

2. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación está justificada plenamente sobre la base de los siguientes hechos:

1. Las rutas de síntesis utilizadas para acceder a esta clase de compuestos son en extremo dispendiosas, y utilizan, además, productos de partida que son caros y de difícil acceso sintético.

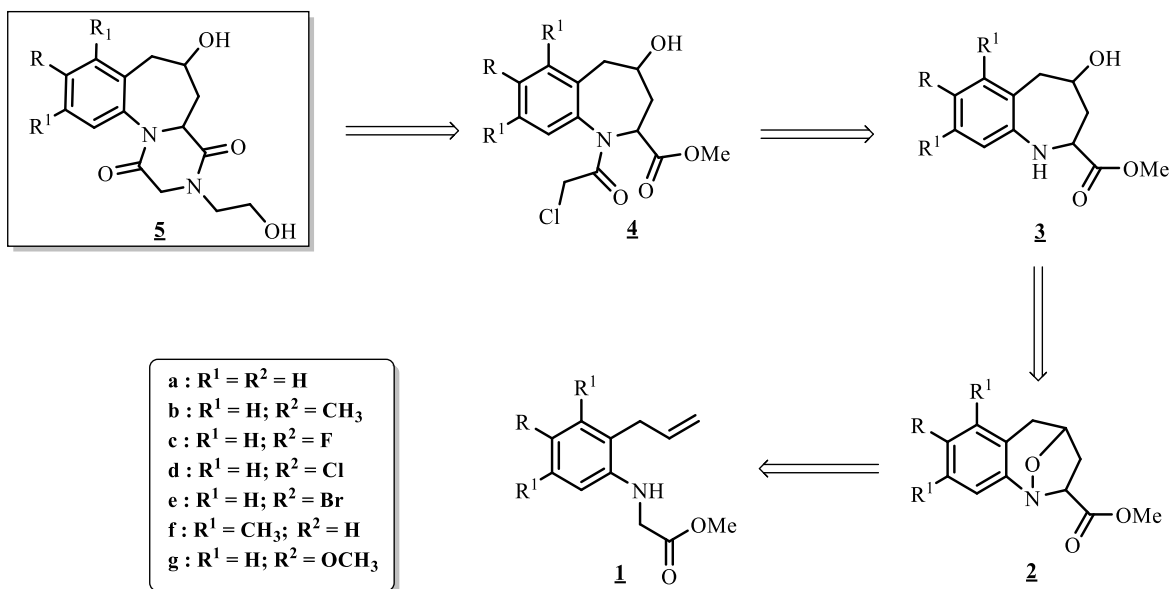
2. La ruta de síntesis que se propone es mucho más sencilla, menos dispendiosa, utiliza reactivos de partida comercialmente accesibles, y garantiza, además, una adecuada funcionalización de los productos intermedios y finales.

3. Los compuestos diseñados no están descritos en la literatura, por lo que la descripción de su síntesis, así como de sus propiedades físico-químicas y espectroscópicas allanarían, en parte, el vacío de información que existe sobre esta clase de compuestos.

4. Los productos diseñados pueden contener un alto potencial biológico heredado de sus progenitores, al tratarse de un sistema tricíclico que resulta de la fusión de dos sistemas heterocíclicos independientes considerados como promisorios farmacóforos.

Al analizar la progresiva conectividad y/o desconectividad de las estructuras que aparece en el esquema retrosintético 9, se hace evidente que la principal hipótesis de trabajo consistirá en demostrar que: 1. Los metil 2-((2-alilaril)amino)acetatos **1** son sustratos de partida idóneos para realizar la síntesis efectiva de los nuevos derivados de la hexahidrobenczo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina propuestos **5**; y 2. La ruta de síntesis propuesta es más flexible y versátil que las existentes.

Esquema 1. Análisis retrosintético para las nuevas hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepinas propuestas.



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Realizar la síntesis, la caracterización física y estructural de la nueva serie de 6-hidroxi-3-(2-hidroxietil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-dionas **5**, y propiciar el estudio de su actividad biológica, enfatizando en su actividad anticancerígena.

3.1.1. Objetivos Específicos

- Obtener los precursores estratégicos, los 4-hidroxitetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepino-2-carboxilatos de metilo **3**.
- Transformar los 4-hidroxitetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepino-2-carboxilatos de metilo **3** en sus correspondientes (2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4**.
- Obtener las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-dionas propuestas **5**.
- Caracterizar todos los productos intermedios y finales sintetizados con ayuda de los métodos analíticos convencionales como IR, GC-MS, ¹H RMN, ¹³C RMN unidimensional y bidimensional.
- Propiciar el estudio de la actividad anticancerígena de los productos finales.

4. ESTADO DEL ARTE

Habiendo definido como el objeto central de estudio la creación de series de derivados desconocidos del sistema tricíclico de la hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-diona, resulta conveniente, entonces, dedicar este apartado a los aspectos sintéticos y biológicos más relevantes de los núcleos heterocíclicos constitutivos de dicho sistema tricíclico, es decir, a los núcleos de la tetrahydro-1-benzazepina y la piperazina, ésta última en sus formas perhidro y 2,5-diceto. También se presentarán algunos ejemplos de moléculas de importancia biológica, en cuyas estructuras ambos sistemas heterocíclicos se encuentran fusionados entre sí, pero también con otras entidades heterocíclicas y/o carbocíclicas.

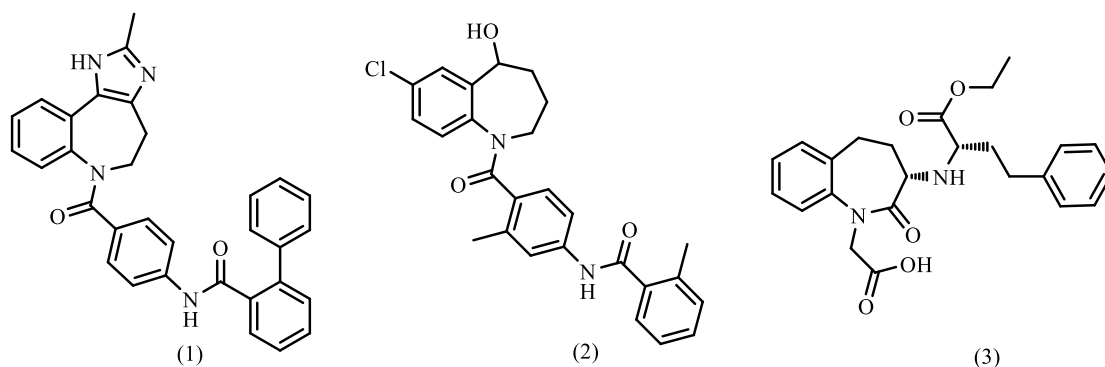
4.1 ASPECTOS GENERALES DE LA TETRAHIDRO-1-BENZAZEPINA

El sistema de la tetrahydro-1-benzazepina es un biciclo que resulta de la fusión del anillo de benceno por la cara *b* del anillo de la tetrahydroazepina. Hace parte constitutiva de un gran arsenal de compuestos que poseen una amplia y diversa actividad biológica, dentro de los cuales especial reconocimiento han encontrado aquellos derivados que actúan como agentes antidiabéticos,¹ antidiuréticos,^{2,3} antihipertensivos,⁴ antipsicóticos,⁵ y anticancerígenos,^{6,7,8,9,10} entre otras tantas aplicaciones.

En la actualidad, la FDA (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos ha aprobado tres fármacos, conocidos como Tolvaptan¹¹ (Samsca) (1), Conivaptan¹¹ (Vaprisol) (2) y Benazepril¹² (Lotensin) (3), (Figura 1), que contienen en sus estructuras al núcleo de la tetrahydro-1-benzazepina. Los dos primeros medicamentos se prescriben para tratar la hiponatremia (baja concentración de sodio en la sangre), enfermedad que se encuentra asociada a la cirrosis, la insuficiencia cardíaca, y al síndrome de secreción inadecuada de la hormona antidiurética (SIADH, por sus siglas en inglés), mientras que el tercero es un

medicamento para tratar la presión alta (hipertensión), la insuficiencia cardíaca congestiva y la insuficiencia renal crónica.

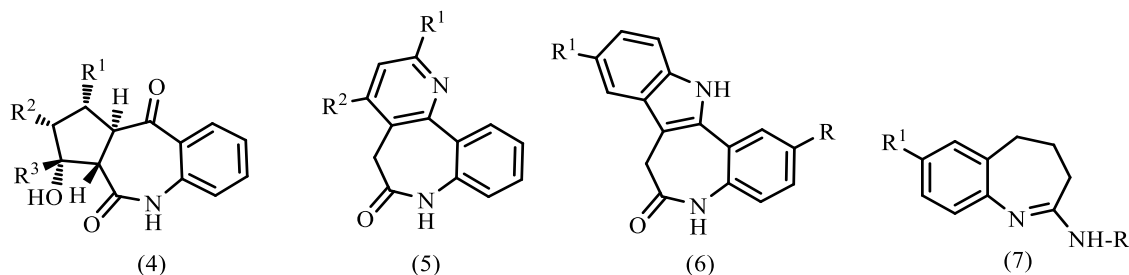
Figura 1. Estructura molecular de los fármacos Tolvaptan, Conivaptan y Benazepril.



Para resaltar más la importante actividad biológica de los derivados de la tetrahydro-1-benzazepina, a continuación, en la figura 2, se presentan algunos ejemplos de compuestos con promisoría actividad anticancerígena. Entre ellos, se encuentran las tetrahydrobenzo[*b*]ciclopenta[*e*]azepin-2,5-dionas (4), las cuales fueron probadas en diferentes líneas celulares tumorales de pulmón, colon, cerebro, ovario, mama, próstata, riñón, así como de leucemia y melanoma⁶, sobre las que revelaron una modesta pero selectiva inhibición del crecimiento celular. Otro ejemplo fue reportado por *Schultz* y colaboradores⁷, quienes realizaron la síntesis de derivados de darponas, un sistema tricíclico conocido por inhibir el crecimiento de células renales cancerígenas *in vivo*; en particular, ellos estudiaron las pirido[3,2-*d*]-1-benzazepin-2-onas (5) como inhibidores del crecimiento de 60 líneas celulares de diferentes tipos de cáncer humano. Las paulonas (6) son moléculas pequeñas que actúan como inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas (CDKs, por sus siglas en inglés).^{8,9} Las CDK son enzimas que están involucradas en la regulación del ciclo celular en una gran variedad de tumores humanos, y es por eso que su inhibición es una opción terapéutica para el tratamiento de esta enfermedad.

En publicaciones más recientes, el núcleo de la tetrahidro-1-benzazepina ha sido funcionalizado con distintas poliaminas a través de un enlace tipo amidina, como los derivados (7) (Figura 2), los cuales presentaron una gran afinidad por los sistemas transportadores de poliaminas (PTS, por sus siglas en inglés). Las poliaminas hacen parte de los organismos vivos y se conoce su participación en la proliferación y diferenciación celular. Los derivados (7) presentaron una gran afinidad por los inhibidores de los PTS, por lo que representan una alternativa terapéutica potencial contra distintas líneas celulares de cáncer¹⁰.

Figura 2. Derivados de la 1-benzazepina con actividad anticancerígena.

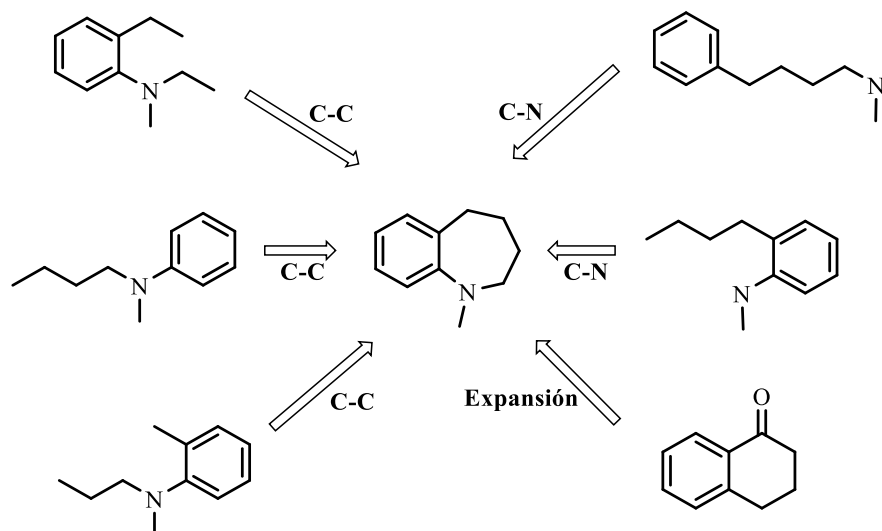


4.1.2 MÉTODOS DE CONSTRUCCIÓN DEL NÚCLEO DE LA TETRAHIDRO-1-BENZAZEPINA

Para la construcción de esta horma molecular se han implementado diversas metodologías, las cuales se fundamentan en transformaciones químicas de sustratos apropiados que involucran la generación de nuevos acoples carbono-carbono (C-C) y/o carbono-nitrógeno (C-N), (Figura 3). Así, la condensación de Dieckmann,¹³ la ciclación intramolecular de Friedel-Crafts catalizada por ácido¹⁴ y la reacción de Heck intramolecular,¹⁵ son ejemplos de metodologías que se han empleado para realizar la construcción del anillo de la tetrahidro-1-benzazepina a través de la generación de nuevos acoples C-C. Mientras que las reacciones de *N*-heterociclación de anilinas sustituidas con apéndices que contienen grupos

hidroxilo,¹⁶ carboxilatos¹⁷ y olefinas,¹⁸ así como la aminación intramolecular de cloruros de arilo¹⁹ y la expansión de anillos de 6 miembros de cetonas carbocíclicas, mediante reordenamientos moleculares de tipo *Beckmann*²⁰ y *Schmidt*²¹, son las metodologías que se han utilizado para construir el anillo de la 1-benzazepina a través de la generación de un nuevo acople C–N. Las rutas sintéticas mencionadas anteriormente han sido analizadas y recopiladas en anteriores Trabajos de Grado y Trabajos de Investigación realizados en el LSO,^{22,23} y por eso no se profundizará en ellos.

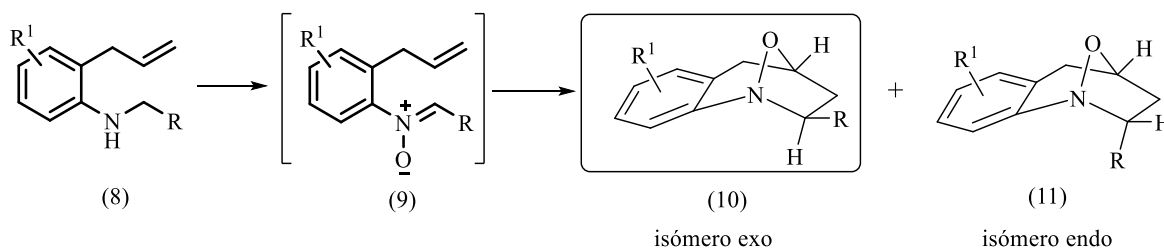
Figura 3. Modos de construcción del anillo de la tetrahidro-1-benzazepina.



Debido al gran interés que presenta este sistema heterocíclico, en el Laboratorio de Síntesis Orgánica se desarrolló y se implementó con éxito una ruta sintética sencilla y versátil para la preparación efectiva de tetrahidro-1-benzazepinas 2,4-disustuidas, utilizando como sustratos de partida las *orto*-alilanilinas de tipo (8) (Esquema 1). En esta ruta de síntesis el paso clave es la construcción del anillo azepínico mediante la formación simultánea de un nuevo enlace C–C y de un nuevo enlace O–C, que tiene lugar en un proceso de cicloadición 1,3-dipolar intramolecular de las nitronas (9), generadas *in situ* como resultado de una

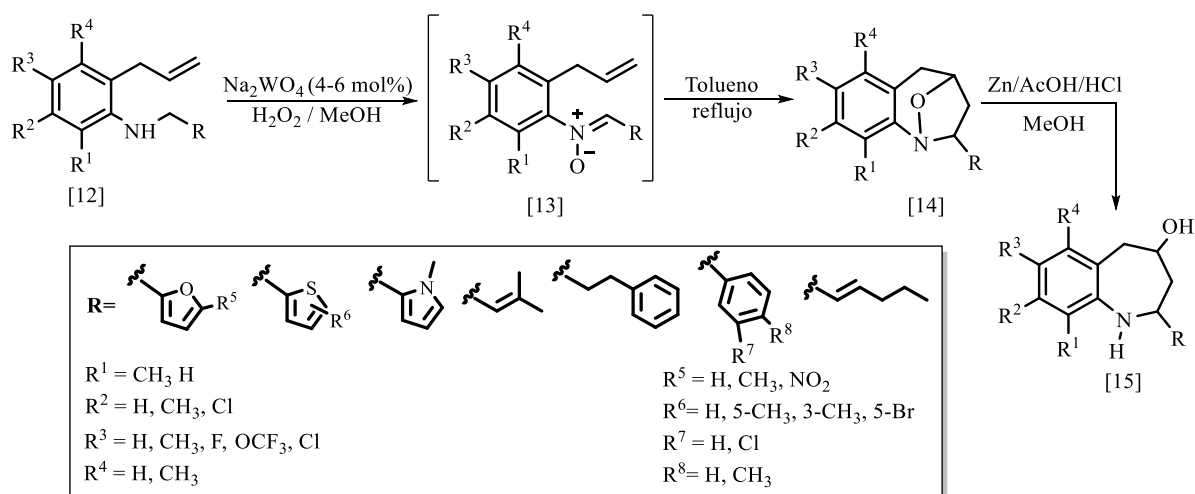
oxidación selectiva del enlace C–N de (8), en las condiciones propuestas por *Murahashi* y colaboradores.²⁴ En este proceso de cicloadición 1,3–dipolar se pueden, eventualmente, formar los dos posibles cicloaductos: el 1,4–epoxicicloaducto *exo* (10), que ha sido el producto principal aislado en todos los casos,^{25,26} y el 1,4–epoxicicloaducto *endo* (11), que sólo se ha aislado como producto minoritario en algunos casos.^{27,28} El anillo de la tetrahidro–1–benzazepina propiamente dicho resulta después de que se realiza la apertura reductiva del enlace N–O de los 1,4–epoxicicloaductos (10) y (11).

Esquema 2. “Síntesis de Palma” de 1,4–epoxitetrahidro–1–benzoazepinas.



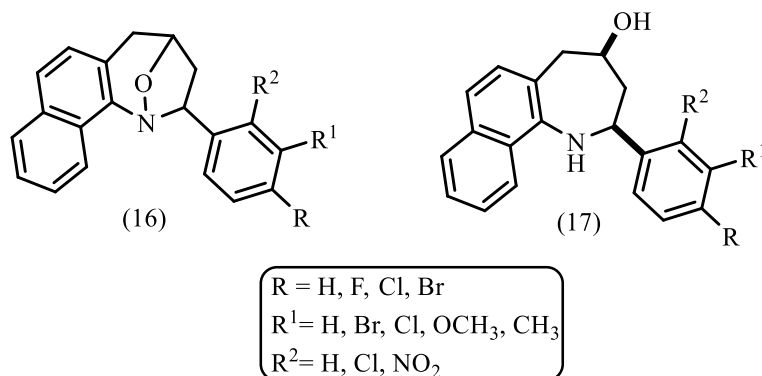
La implementación de esta metodología permitió la creación de las nuevas quimiotecas de derivados de la tetrahidro–1–benzazepina (14) y (15), (Esquema 2), cuyas características físico–químicas, espectroscópicas, así como algunas de sus propiedades biológicas, especialmente las propiedades antiparasitarias contra los parásitos *T. cruzi* y *L. chagasi*, ya fueron reportadas en la literatura especializada.^{29–}

Esquema 3. Quimiotecas de derivados de la tetrahidro-1-benzazepina desarrolladas con la ruta sintética diseñada en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO).



El carácter general y la flexibilidad de la anterior ruta de síntesis se pudo comprobar con la preparación de las 2-*exo*-aril-1,4-epoxitetrahidro-1-naftozepinas (16) y sus correspondientes *cis*-2-aril-4-hidroxitetrahidro-1-naftozepinas (17), (Figura 4), las cuales en ensayos *in vitro* también mostraron una actividad antiparasitaria destacada contra los parásitos mencionados anteriormente,³² así como su actividad ansiolítica en ensayos *in vivo* sobre ratones.³³

Figura 4. Derivados de la tetrahidro-1-naftozepina con actividad antiparasitaria y ansiolítica.

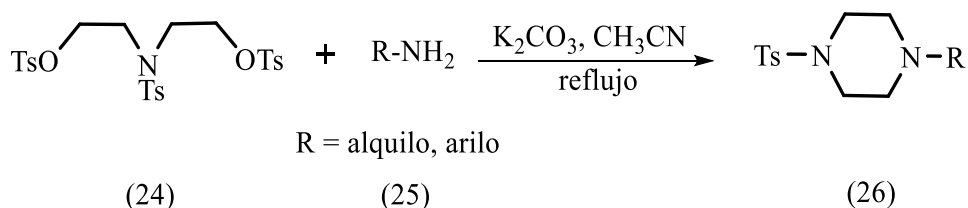


4.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS DEL NÚCLEO DE LA PIPERAZINA

La piperazina es un heterociclo saturado de seis miembros que posee dos átomos de nitrógeno ubicados en las posiciones 1,4. Este heterociclo tiene una gran importancia en la industria farmacéutica, ya que se encuentra como el núcleo central o como apéndice de las estructuras de numerosas drogas o compuestos orgánicos bioactivos. Se ha estimado que este núcleo está presente en más de 300.000³⁴ derivados sintéticos o semi-sintéticos, siendo, por esta razón, uno de los núcleos privilegiados que más se utilizan en la elaboración de nuevos fármacos para tratar distintas enfermedades.

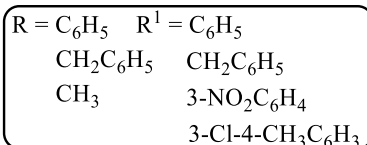
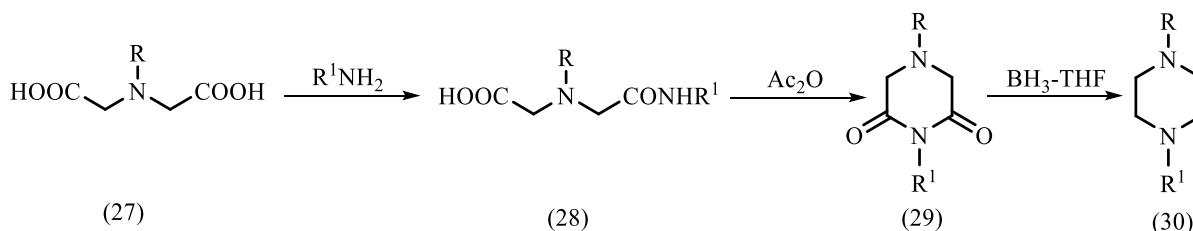
A mediados de los años 50 se descubrieron sus propiedades antihelmínticas, especialmente para tratar las infecciones intestinales causadas por las lombrices *Ascarislumbricoides* y el *Enterebius vermiculorais*.³⁵ En la figura 5 se presentan las estructuras de diferentes fármacos que contienen al núcleo de la piperazina, y que se emplean actualmente para diferentes propósitos: la Ciclizina (18) es un antihistamínico, la Amoxapina (19) es un antidepresivo, la Buspirona (20) es un ansiolítico, la Flufenazina (21) es un antipsicótico, la Ranolazina (22) es un antianginal, y el Iminatib (23) es un anticancerígeno.^{11,36}

Esquema 4. Síntesis de las N–alquil(aril)–N’–tosilpiperazinas (26).



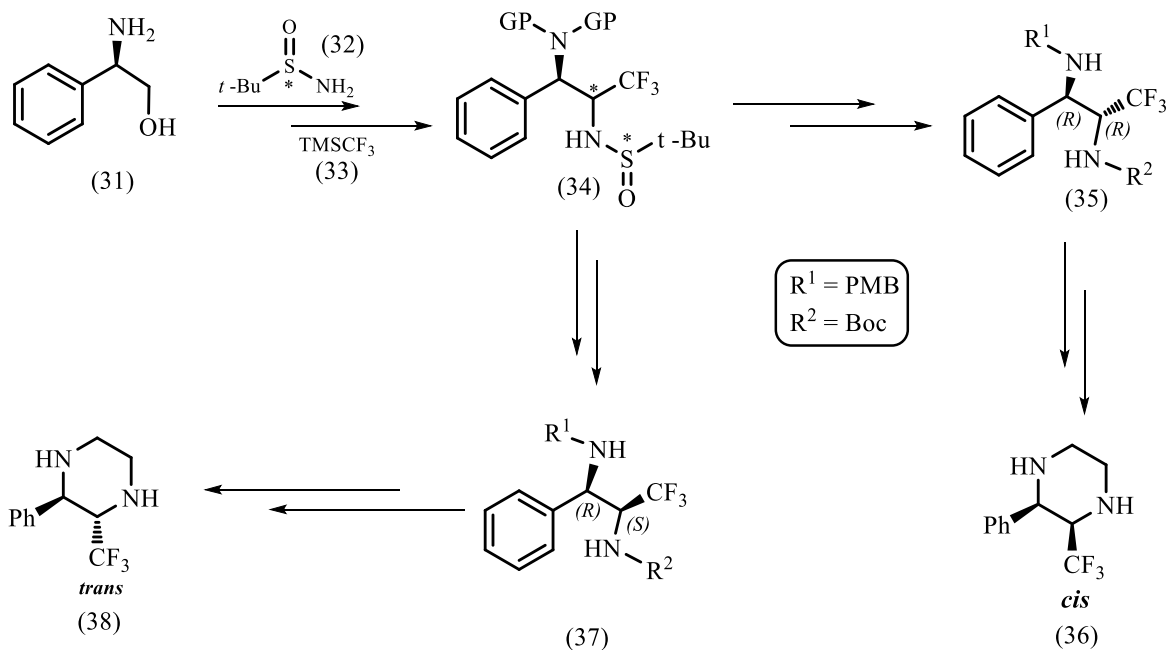
La síntesis de piperazinas N,N’–disustituidas de tipo (30) también la realizó *Henry*,⁴⁰ usando como estrategia de síntesis la monoamidación con aminas primarias de los ácidos iminodiáceticos N–sustituidos (27), seguido de la ciclocondensación de las monoamidas (28) en anhídrido acético, y la posterior reducción de las piperazin–2,5–dionas (29) con el complejo BH₃–THF (Esquema 4).

Esquema 5. Síntesis de piperazinas N,N’–disustituidas.



Uno de los reportes más recientes sobre síntesis de piperazinas es el de *Sánchez–Roselló* y colaboradores,⁴¹ quienes describieron, en el año 2014, la síntesis diastereoselectiva de las *cis*– y *trans*–2–fenil–3–(trifluorometil)piperazinas (36) y (38), a partir del (*R*)–2–amino–2–feniletanol (31), siguiendo la secuencia de reacciones que se muestran en el esquema 5.

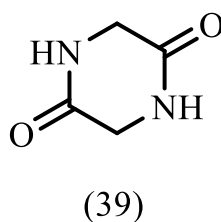
Esquema 6. Síntesis diastereoselectiva de piperazinas 2,3–disustituidas.



4.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE MOLÉCULAS CON EL NÚCLEO DE LA 2,5–DICETOPIPERAZINA

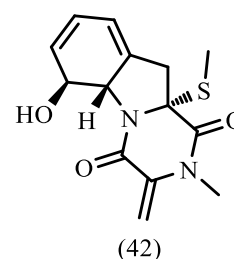
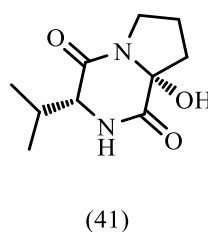
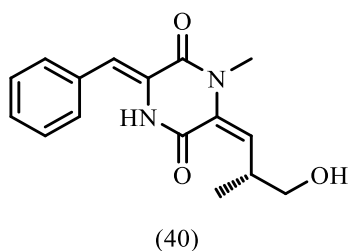
La 2,5–dicetopiperazina (39) (Figura 6), es un péptido cíclico pequeño, que por sus interesantes propiedades ha sido intensamente estudiado en la química medicinal. Este péptido cíclico hace parte constitutiva de las estructuras de diversos productos naturales y sintéticos (más de 20.000 compuestos),³⁴ que se caracterizan por la amplia gama de actividad biológica que poseen. Además, es considerado como un núcleo estructural útil en el diseño y desarrollo racional de nuevos agentes terapéuticos debido a su habilidad de unirse a diferentes receptores.⁴²

Figura 6. Estructura general de la 2,5-dicetopiperazina.



Como ya se mencionó, las 2,5-dicetopiperazinas hacen parte de numerosos productos naturales como una subunidad aislada o en estructuras más complejas y grandes como las que son producidas por bacterias, hongos, plantas y animales. La figura 7 muestra algunos ejemplos de piperazindionas producidas por bacterias marinas de las familias *Actinomycetes*, como la (*E*)-3-((*Z*)-benciliden)-6-((*R*)-3-hidroxi-2-metilpropiliden)-1-metilpiperazin-2,5-diona (40), *Bacillus*, como la (3*R*,8*aR*)-8*a*-hidroxi-3-isopropilhexahidropirrolo[1,2-*a*]pirazin-1,4-diona (41), y por hongos marinos, como la (5*aS*,6*S*,10*aR*)-6-hidroxi-2-metil-3-metileno-10*a*-(metiltio)-hexahidropirazino[1,2-*a*]indol-1,4-diona (42).⁴³

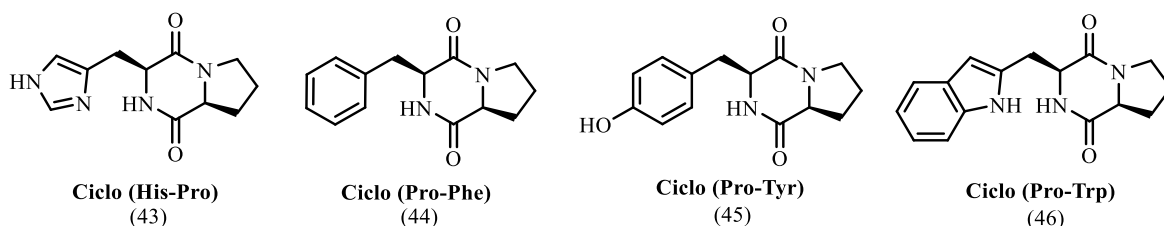
Figura 7. Estructura de compuestos de origen marino que poseen el núcleo de la 2,5-dicetopiperazina.



En comparación con los péptidos lineales, los compuestos que poseen el núcleo de la dicetopiperazina (dipéptidos cíclicos) adquieren ciertas características importantes como la estabilidad a la proteólisis, el control de la estereoquímica de los sustituyentes en cuatro de sus seis posiciones, rigidez conformacional,

promoción de las interacciones de los grupos donadores o aceptores de enlaces de hidrógeno, y el mejoramiento de las interacciones favorables con macromoléculas.⁴⁴ Mención especial merecen las 2,5–dicetopiperazinas que resultan de la ciclocondensación de diferentes amino–ácidos, como las que se muestran en la figura 8.⁴⁵ De ellos, el dipéptido que resulta de la Histidina y la Prolina (ciclo *His–Pro* (43)), se ha estudiado muy bien porque es un metabolito de la hormona liberadora de tirotrópina, el cual se ha encontrado en varios tejidos de los humanos como el hipotálamo, el estómago y el esófago; mientras que en tejidos de otras especies como las ratas, se ha encontrado en el páncreas, los intestinos, y el cerebelo, entre otros. Otros ciclopéptidos, como el ciclo *Pro–Phe* (44), que fue aislado de la *Rosellinia necatrix*, reveló un amplio espectro antibacterial cuando se probó contra cepas de *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. Además, el ciclo *Pro–Tyr* (45), que fue descubierto en los extractos de levadura, resultó ser un agente bloqueador de los canales de potasio, mientras que el ciclo *Pro–Trp* (46), que fue encontrado en el moho, actúa como un agente antifúngico, antibacterial y como un bloqueador de los canales de calcio y potasio.

Figura 8. Dipéptidos cíclicos encontrados como metabolitos en tejidos vegetales y animales.

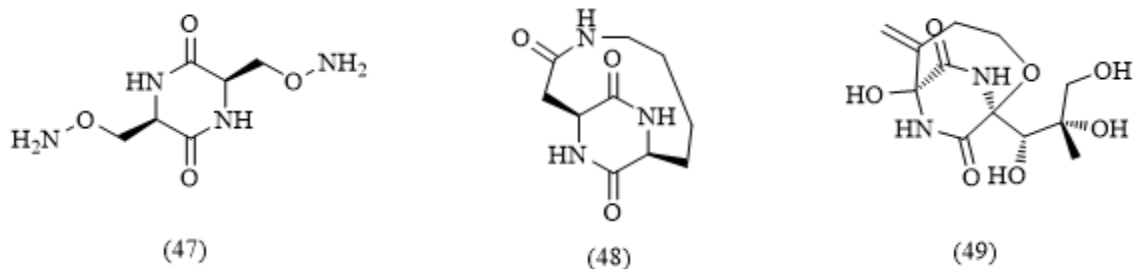


Debido a sus características estructurales y a su potencial terapéutico, numerosos compuestos que poseen el núcleo de la 2,5–dicetopiperazina han sido evaluados como candidatos para la elaboración de nuevos fármacos. Por esa razón, este núcleo estructural se ha convertido en un importante objeto de estudio, tanto para la síntesis como para el aislamiento de nuevas moléculas con actividad

antiarrítmica,⁴⁶ antibiótica,⁴⁴ antifúngica,⁴⁴ neuroprotectora,⁴⁴ ansiolítica,⁴⁴ anti-inflamatoria,⁴⁴ anticancerígena^{44,46} y antiviral.⁴⁴

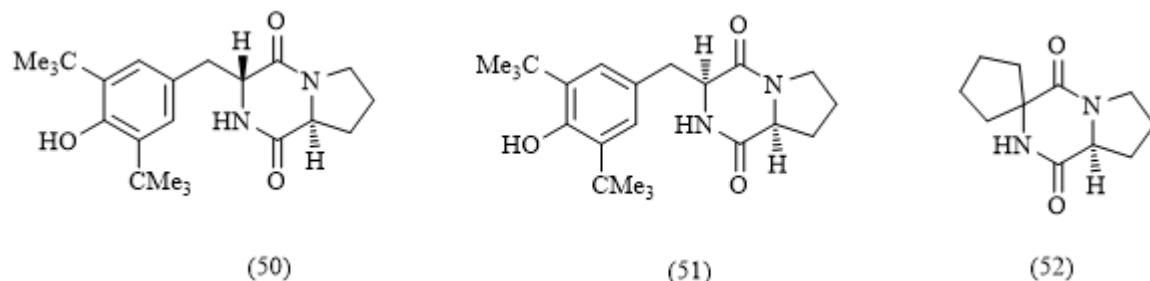
La 2,5-dicetopiperazina es el núcleo central de dipéptidos cíclicos naturales que actúan como antibióticos (figura 9); tal es el caso de la Cicloserina (47), la cual se utiliza para tratar la tuberculosis producida por *Mycobacterium tuberculosis*⁴⁴. La Cairomicina B (48) es otro dipéptido aislado de bacterias del género *Streptomyces* As-C-19, que se utiliza para el tratamiento de infecciones producidas por las bacterias Gram-positivas.⁴⁷ Por último, Miyoshi y colaboradores⁴⁸ desarrollaron varios antibióticos semi-sintéticos a partir del dipéptido natural Biciclomicina (49), con el fin de incrementar su actividad antimicrobiana.

Figura 9. Antibióticos naturales que poseen el núcleo de la 2,5-dicetopiperazina.



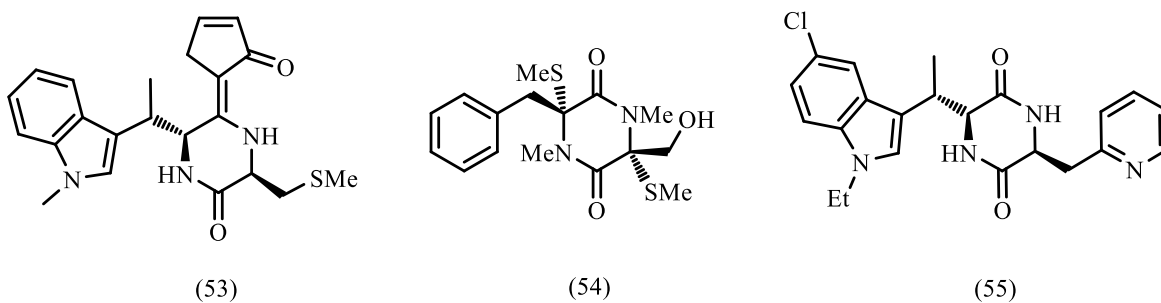
Con respecto al dipéptido cíclico (43), se logró establecer que, además, de actuar como un agente neuroprotector, también exhibe una gran variedad de efectos sobre el sistema nervioso central (SNC). Es por esta razón que se han realizado esfuerzos para funcionalizar su estructura y crear así otros péptidos relacionados, pero con mayor actividad y con menos efectos secundarios, como los tres péptidos (50), (51) y (52) que aparecen en la figura 10.⁴⁴

Figura 10. Dipéptidos con potencial actividad neuroprotectora desarrollados a partir del péptido modelo (43).



El factor activador de plaquetas (PAF, por sus siglas en inglés), es un fosfolípido endógeno, del cual se sabe que es un potente mediador de la anafilaxia y la inflamación. Shimazaki y colaboradores⁴⁹ reportaron el descubrimiento de dos nuevos compuestos cíclicos del tipo 2,5–dicetopiperazina, el FR106969 (53), que fue aislado del hongo *Penicillium citrinum*, y el FR900452 (54), que fue aislado de la bacteria *Streptomyces phaeofaciens*. Estos autores también realizaron la síntesis de nuevos dipéptidos a partir de las moléculas descubiertas, siendo el dipéptido (55) el que presentó mayor inhibición del receptor PAF, con un $IC_{50} = 36$ nM.

Figura 11. Compuestos que contiene el núcleo de la 2,5–dicetopiperazina con actividad anti–inflamatoria.



El núcleo de la 2,5–dicetopiperazina también está presente en moléculas con un alto potencial anticancerígeno. Esa clase de compuestos se puede dividir en 4 grupos:

1) Moléculas que actúan como agentes de unión al ADN: En la búsqueda de nuevos compuestos que puedan ayudar a combatir las líneas celulares del carcinoma de mama y de colón, se sintetizó y se evaluó la nueva espirodicetopiperazina (56). Este dipéptido reveló un potencial citotóxico similar al de los fármacos que frecuentemente se utilizan para el tratamiento de estos carcinomas,⁵⁰ como la Doxorubicina o la Mitoxantrona. La ventaja que posee este nuevo compuesto sobre los fármacos existentes, es que no se ha desarrollado ningún tipo de resistencia por parte de las células cancerígenas.

2) Moléculas que actúan como inhibidores del ciclo celular: Las triprostatinas son una familia de compuestos que fueron aisladas del hongo marino *Aspergillus fumigatus*. La Triprostatina A (57) es un inhibidor de la proteína BCRP/ABCG2, que es la que media la resistencia a la quimioterapia del cáncer de mama, mientras que la Triprostatina B (57) actúa como un inhibidor del ciclo celular en los mamíferos. Mediante estudios SAR (Structure–activity relationship) realizados a la estructura de la Triprostatina A, lograron crear la nueva familia de dipéptidos (58), con el fin de evaluar su habilidad para inhibir el crecimiento de la proteína BCRP y la interrupción del ciclo celular en las células tsFT210.⁵¹

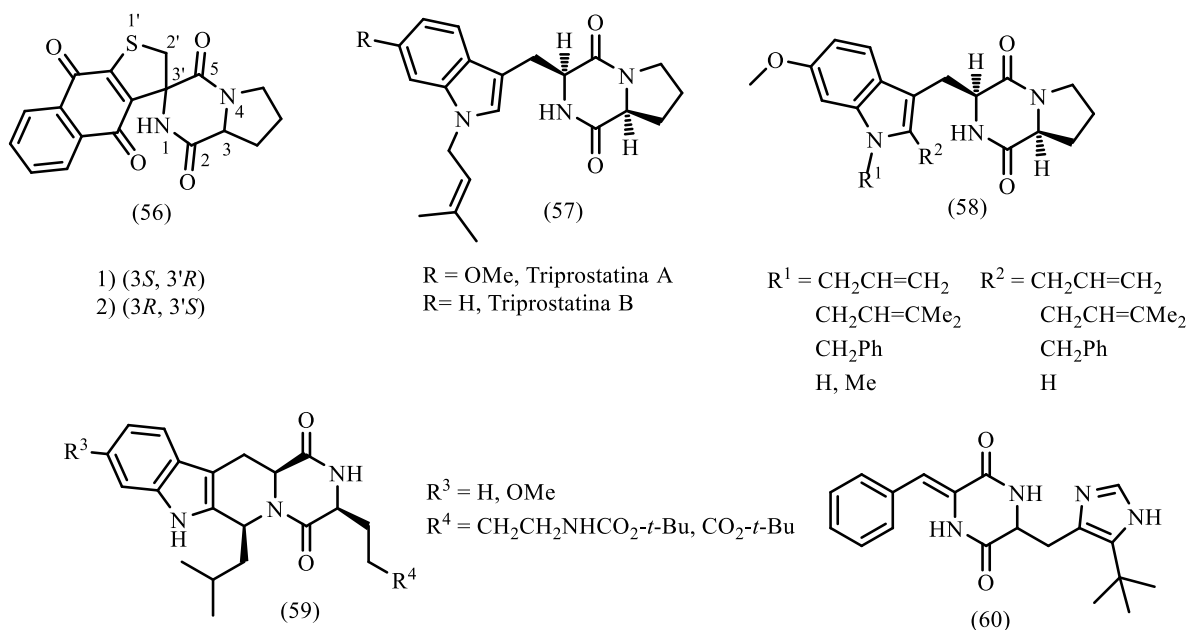
3) Moléculas que actúan como inhibidores de la proteína de resistencia de cáncer de mama (BCRP, por sus siglas en inglés): El mismo hongo marino *A. fumigatus* también produce una serie de compuestos conocidos como fumitremorginas, los cuales resultan de la anelación de las triprostatinas. Una de ellas, la Fumitremorgina C, presenta la misma actividad inhibitoria sobre la proteína BCRP que la presentada por los dipéptidos (59). Debido a la toxicidad de la Fumitremorgina C sobre el sistema nervioso central, otros derivados sintéticos,

como los dipéptidos (58), se han propuesto para potenciar su actividad inhibitoria y disminuir sus efectos secundarios.⁴⁴

4) Moléculas que actúan como agentes de despóimerización de la tubulina:

La (-)-Fenilhistina, un metabolito fúngico aislado del hongo *Aspergillus ustus*, es un agente citotóxico potente contra varias líneas celulares cancerígenas. La síntesis de nuevos derivados de este metabolito derivó en el posterior desarrollo del fármaco Plinabulin (60), el cual, en ensayos preclínicos, resultó ser un agente disruptor vascular de tumores cancerígenos de la próstata, colon, sarcoma y mama. Su modo de acción consiste en atacar los vasos sanguíneos del tumor para inducir la muerte celular por necrosis.⁴⁴

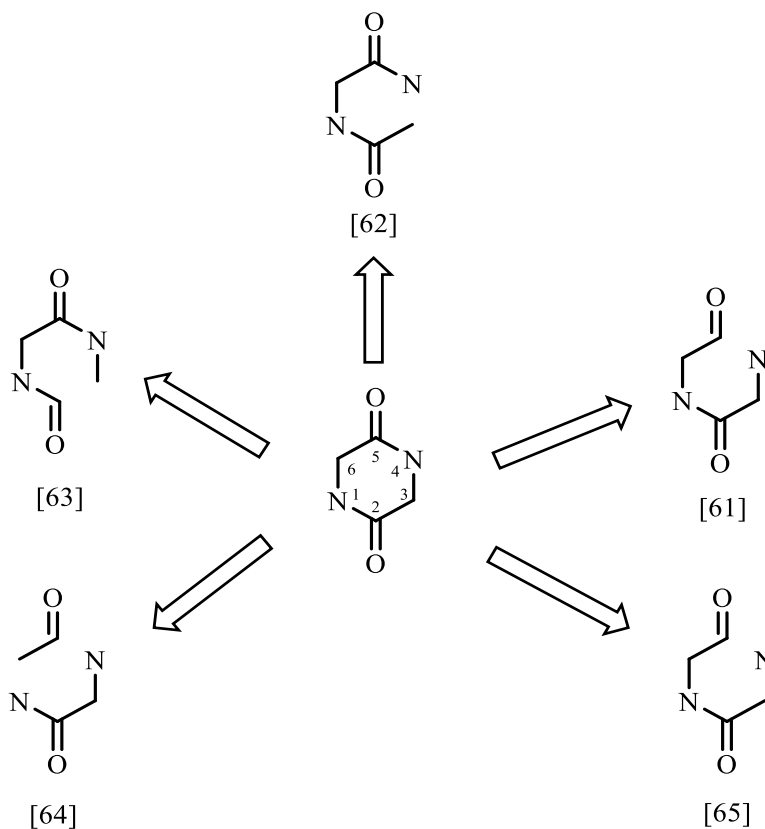
Figura 12. Derivados de la 2,5-dicetopiperazina como agentes anticancerígenos



4.3.1 MÉTODOS DE CONSTRUCCIÓN DEL ANILLO DE LA 2,5-DICETOPIPERAZINA.

El núcleo de la 2,5-dicetopiperazina se suele construir utilizando diferentes precursores y diferentes enfoques metodológicos; estos últimos se pueden clasificar de acuerdo al tipo de enlace que se forma en la etapa clave de la construcción del anillo (Figura 13). El primer enfoque metodológico consiste en la construcción del anillo de la 2,5-dicetopiperazina mediante la generación de un nuevo acople N-C, que tiene lugar durante la ciclocondensación de mono amidas del tipo (61), previamente preparadas a partir α -aminoácidos protegidos y ésteres de otros α -aminoácidos.^{44,52,53}

Figura 13. Clases de sustratos utilizados en las diferentes metodologías para acceder al núcleo de la 2,5-dicetopiperazina.

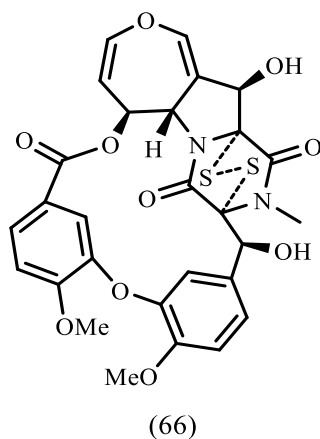


Un ejemplo de este enfoque metodológico es la reacción de Ugi, la cual representa un método alternativo para acceder a los precursores acíclicos, y ofrece mayor diversidad y ventajas químicas debido a que se lleva a cabo en un solo paso (one pot) y sin el uso de reactivos de acoplamiento costosos, características éstas que son aprovechadas para crear librerías de 2,5-dicetopiperazinas.⁴⁴ Se han desarrollado metodologías más amigables con el medio ambiente para la obtención de los dipéptidos cíclicos, utilizando calentamiento por microondas y agua como disolvente de la reacción. Bajo estas condiciones, se pudieron sintetizar 2,5-dicetopiperazinas ópticamente puras N-sustituidas con altos rendimientos.⁵⁴

En el segundo enfoque metodológico también se accede al anillo de la 2,5-dicetopiperazina mediante la generación de un nuevo enlace C–N, que tiene lugar durante la ciclación intramolecular de diamidas halógeno sustituidas del tipo (62) en medio básico.⁴⁴ El uso de la reacción de Ugi de cuatro componentes también se puede utilizar aquí, pero haciendo una selección cuidadosa de los sustratos de partida que garantice tanto la generación de los aductos intermedios como su posterior N-alquilación intramolecular, la cual, al final, conduce a las dicetopiperazinas deseadas.⁴⁴

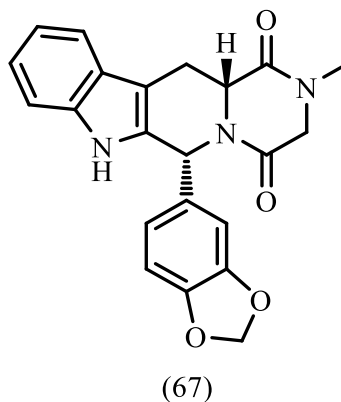
El tercer enfoque metodológico se basa en la construcción del anillo de la dicetopiperazina mediante la generación de un nuevo enlace C–C, que tiene lugar durante la ciclación de N-formilacetamidas del tipo (63). Con ayuda de este enfoque metodológico se sintetizaron derivados del compuesto de origen natural MPC1001 (66), el cual mostró, en ensayos *in vitro*, una potente actividad citotóxica contra células malignas del cáncer de próstata.⁴⁴

Figura 14. Estructura molecular del compuesto natural MPC1001.



Se conocen otros enfoques metodológicos, aunque se usan con menos frecuencia, que se basan en ciclaciones tándem con formación del anillo de la dicetopiperazina a través de los acoplos N_1-C_6/N_4-C_5 , a partir de los precursores del tipo (63), y/o los acoplos $C_3-N_4-C_5$, usando los precursores del tipo (64). Así, *Maw* y colaboradores,⁵⁵ a partir de precursores del tipo (63), prepararon una nueva serie de derivados del fármaco Tadalafil (67), el cual se utiliza para el tratamiento de la disfunción eréctil.

Figura 15. Estructura del fármaco Tadalafil.

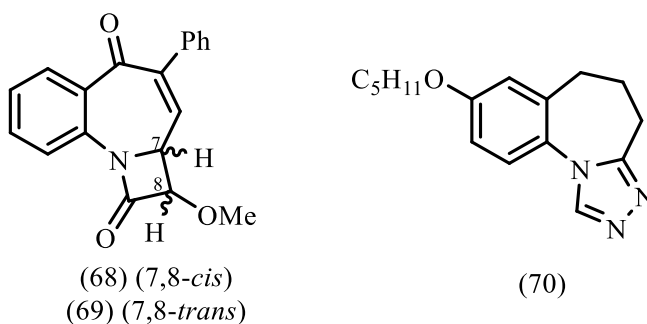


Por otro lado, *Siwicka* y colaboradores reportaron la síntesis de varias 2,5–diceto–piperazinas mediante la ciclocondensación de *Pictet–Spengler* de los precursores del tipo (64), que no son otra cosa que amino–aductos acíclicos, como el formado entre la triptamina y un *L*–aminoácido.⁵⁶

4.4 Aspectos estructurales y actividad biológica de derivados de la hexahidrobenczo[*f*]pirazino[1,2–*a*]azepina.

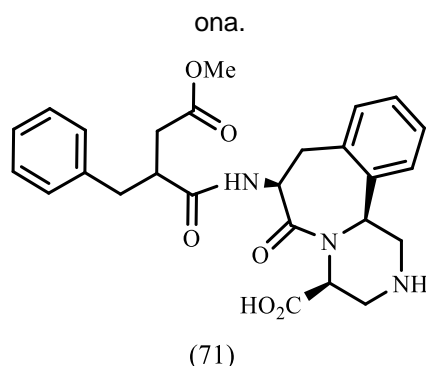
En la literatura se han descrito muy pocos compuestos que contienen el núcleo de la 1(2)–benzazepina fusionado por la cara *a* con otro sistema heterociclo. De esas pocas 1–benzazepinas fusionadas conocidas se deben destacar los sistema beta–lactámicos (68) y (69), descritos por *Monleón* y colaboradores⁵⁷, los cuales mostraron una inhibición entre el 97 y 98% de la actividad enzimática de la proteasa *Human Leukocyte Elastase* (HLE). Esta proteasa, cuando su inhibición fisiológica no está regulada, se involucra en patologías como el enfisema pulmonar, la artritis reumatoide, la psoriasis, y la fibrosis quística, entre otras. También se debe resaltar al compuesto benzotriazolazepínico (70), descrito por *Zhang* y colaboradores,⁵⁸ el cual fue evaluado como un nuevo agente antiepiléptico (Figura 16).

Figura 16. Ejemplos de sistemas fusionados de la 1–benzazepina.



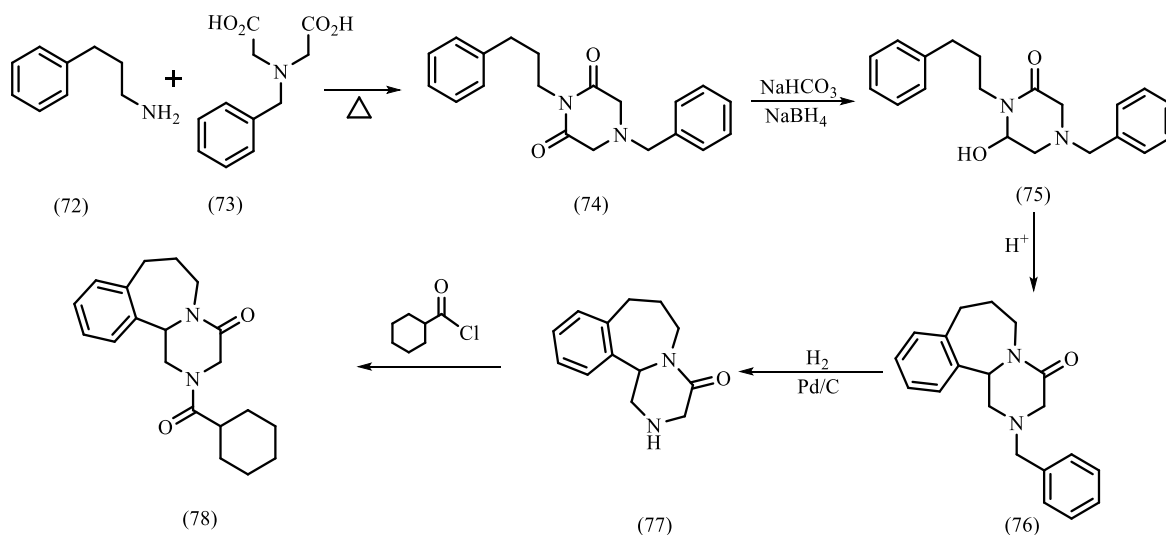
En cuanto a sistemas fusionados de la 2-benzazepina, *Warshawsky* y colaboradores⁵⁹ describieron la síntesis del ácido (4*S*,7*S*,12*bS*)-7-(2-bencil-4-metoxi-4-oxobutanamido)-6-oxo-1,2,3,4,6,7,8,12*b*-octahidrobenczo[*c*]-pirazino[1,2-*a*]azepina-4-carboxílico (71), (Figura 17), en cuya estructura el anillo de la tetrahidro-2-benzazepina, en forma de lactama, se encuentra fusionado a uno de piperazina por la cara *a*; este ácido resultó ser un inhibidor efectivo de los enzimas convertidores de angiotensina (ACE) y encefalinasa. Otros análogos de este compuesto también fueron sintetizados y evaluados como potenciales agentes analgésicos, antidepresivos, diuréticos, así como inhibidores de la proliferación de células lisas musculares.⁵⁹

Figura 17. Un ejemplo de derivados del sistema tricíclico de la tetrahidro-3*H*-benzo[*c*]azepin-3-ona.



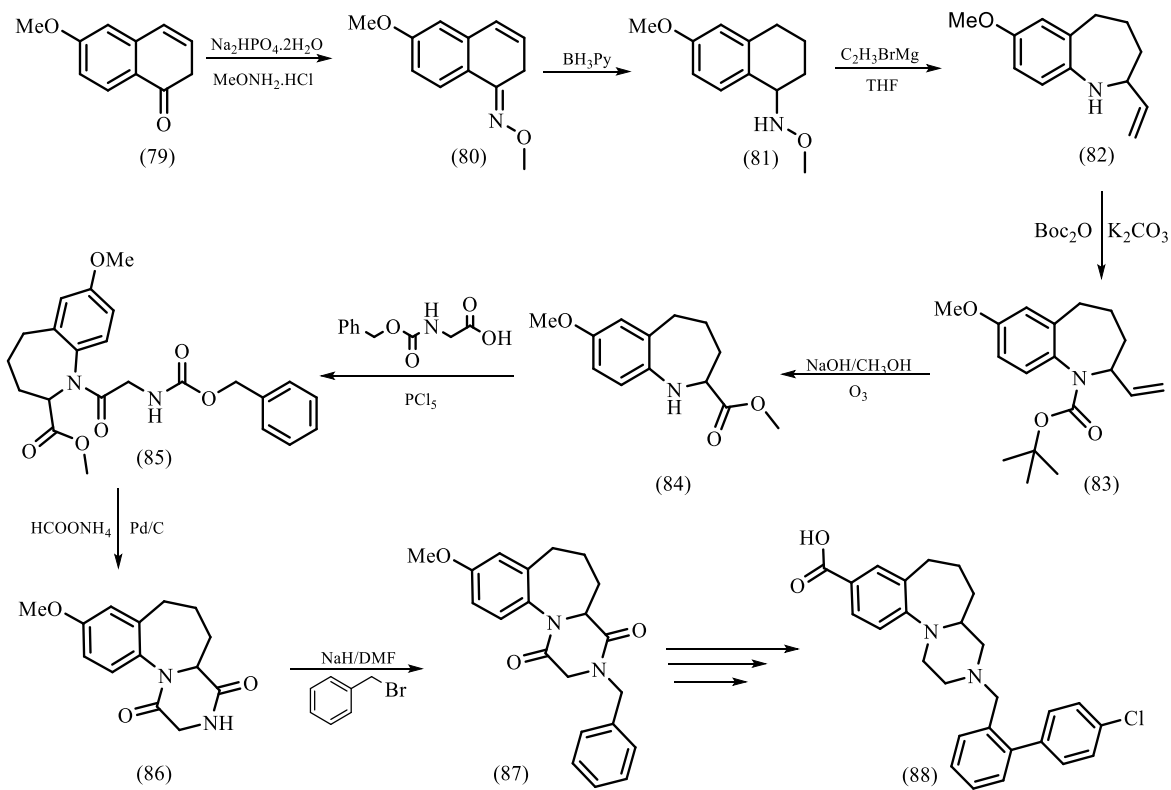
Brewer y colaboradores,⁶⁰ en el año 1989, reportaron la síntesis del derivado *N*-acilado del sistema tricíclico de la pirazino[2,1-*a*][2]benzazepina (78), a través de la secuencia de reacciones que se muestran en el esquema 6. Estudios posteriores de actividad biológica revelaron la promisoría actividad antihelmíntica del compuesto (78), especialmente contra el parásito *Taenia crassiceps*.

Esquema 7. Un ejemplo de síntesis de derivados del sistema tricíclico de la pirazino[2,1-a][2]benzazepina con actividad antiparasitaria.



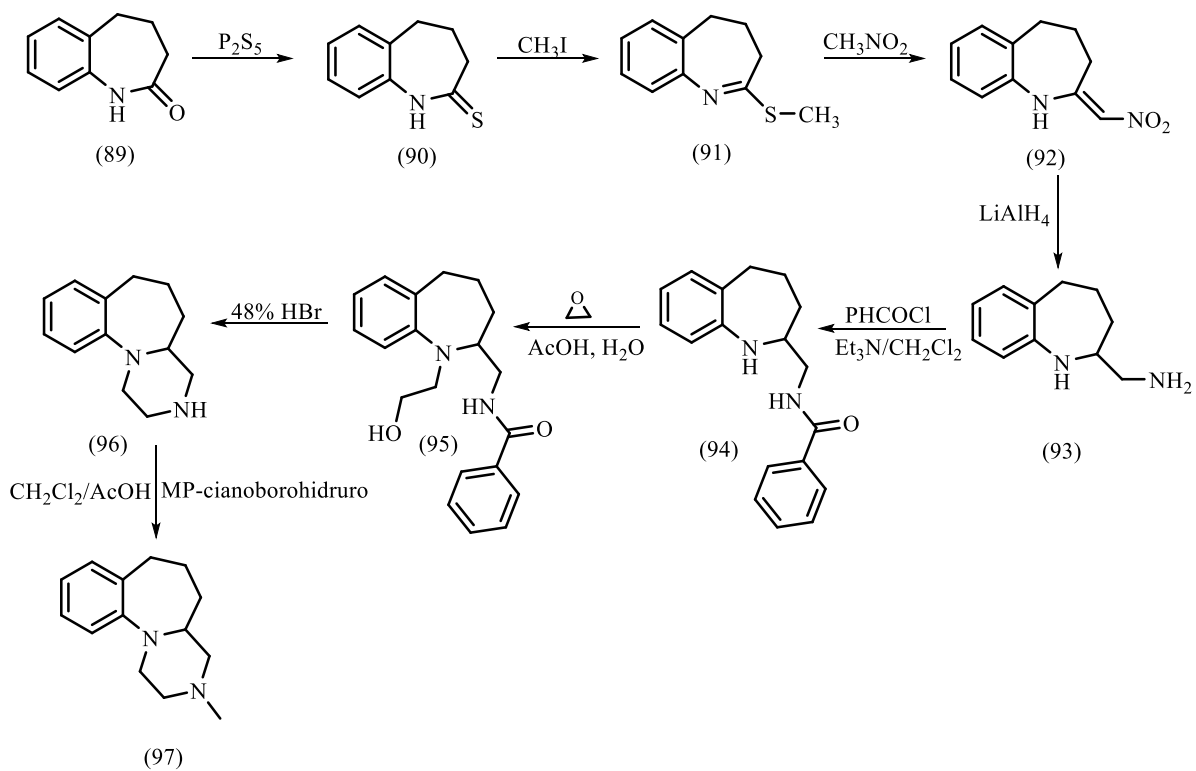
Casara y colaboradores,⁶¹ en el año 2008, sintetizaron una serie de moléculas para ser evaluadas en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la aceleración del proceso de la apoptosis. En el esquema 7 se presentan los diferentes pasos de la ruta de síntesis utilizada por los autores para obtener el compuesto (88), en cuya estructura el núcleo de la piperazina se encuentra fusionado a la cara *a* del núcleo de la tetrahidro-1-benzazepina, siendo éste el primer compuesto al que se le puede considerar como un análogo estructural de los compuestos objeto de estudio en esta investigación. El compuesto (88) reveló interesantes propiedades pro-apoptóticas, que son esenciales para el tratamiento de varios tipos de cáncer.

Esquema 8. Síntesis multi-etapas del compuestos (88) con propiedades pro-apoptóticas.



Otros compuestos análogos de los propuestos en este Trabajo de Grado, son el (96) y su derivado N-metilado (97), los cuales fueron estudiados, en el año 2010, por Wang y colaboradores⁶² como agonistas y antagonistas de los receptores 5-HT. Este tipo de receptores está implicado en diversos procesos fisiológicos y fisiopatológicos. Se cree que estos receptores en el sistema nervioso central están involucrados en el control del apetito, el humor, la ansiedad, las alucinaciones, el sueño, el vómito y la percepción del dolor. En el esquema 8 se muestra la ruta sintética multi-etapas empleada por los autores para acceder a esta clase de compuestos.

Esquema 9. Ruta sintética utilizada por Wang y colaboradores para acceder al compuesto (96) y su N-metil derivado (97).



5. PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos, catalizadores y disolventes utilizados en la preparación de todos los compuestos intermedios y finales fueron de grado para síntesis, de las marcas Merck, Aldrich, J.T. Baker y Alfa Aesar. El control del avance de las reacciones, así como la pureza de los diferentes productos, se verificó por cromatografía en capa fina (CCF) sobre cromatoplasmas de sílica gel 60 F₂₅₄ soportada sobre aluminio de la casa fabricante Merck, las cuales fueron visualizadas en una cámara de revelado Spectroline UV-VIS Model CM-10 ($\lambda = 366$ y 254 nm), o reveladas con vapores de yodo (I₂) y/o solución etanólica de ácido fosfomolibdico.

La purificación de cada uno de los productos obtenidos en las diferentes etapas de la síntesis se realizó por cromatografía en columna, utilizando como fase estacionaria gel de sílice (70–230 y 230–400 Mesh) y como eluentes, mezclas de heptano–acetato de etilo y/o acetato de etilo–etanol (metanol). Las fracciones de los productos aislados se concentraron en un rotoevaporador marca Büchi R-200 conectado a un sistema de vacío Büchi V-700. Adicionalmente, los productos sólidos fueron nuevamente recristalizados de mezclas de heptano–acetato de etilo o acetato de etilo–etanol. Los puntos de fusión (no corregidos) de los compuestos sólidos se determinaron en un fusiómetro Mel-Temp 1201D, y los valores se reportaron como el promedio de tres determinaciones consecutivas.

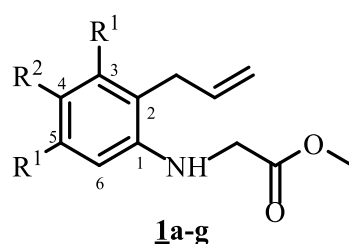
Los espectros de IR fueron obtenidos en un espectrofotómetro BRUKER TENSOR 27 en un módulo de platino ATR (sustancias sólidas y líquidas). La toma de los cromatogramas y espectros de masas se realizó en un cromatógrafo de gases HP5890 serie II acoplado a un detector selectivo de masas HP5972 (70 eV) (CG-MS), en el Laboratorio de Cromatografía de la UIS, o en un equipo Bruker Amazon X acoplado a un detector selectivo de masas de trampa iónica de baja resolución (ESI-MS), en el Laboratorio de Espectrometría de Masas de la UIS. Los espectros de masas de alta resolución se tomaron en un espectrómetro de masas QTOF Agilent modelo 6520B acoplado a un HPLC Agilent-1200; equipado con una

columna Agilent Zorbax extend C18 (2.1 mm x 50 mm x 1,8 μm) PN 727700–902 , usando el siguiente método de HPLC: flujo 0.4 mL/min, elución en gradiente 0–5 min desde acetonitrilo/agua 10% (0.1% ácido fórmico) a acetonitrilo 100% (0.1% ácido fórmico), más 2 min adicionales a esta concentración; el método de ionización es ESI positivo, software de Adquisición: 6200 series TOF/6500 serie, Version: Q–TOF B.05.01 (B5125.3), y/o un espectrómetro Water Micromass AutoSpec–Ultima, con ionización por impacto de electrones, inserción directa de la muestra en la cámara de ionización y sector magnético como analizador; estos dos últimos equipos pertenecen al Centro de Instrumentación Científico–Técnica (CICT) de la Universidad de Jaén (UJA), España.

Los espectros unidimensionales de RMN ^1H y ^{13}C , así como los bidimensionales de correlación homonuclear ($^1\text{H}, ^1\text{H}$ –COSY) y heteronuclear (HMBC y HSQC) fueron registrados en un espectrómetro BRUKER AVANCE III–400, utilizando cloroformo (CDCl_3) y/o dimetilsulfóxido ($\text{DMSO}-d_6$) deuterados como disolventes y estándares internos, en el Laboratorio de RMN de la UIS.

5.1 Preparación de los 2–((2–alilaril)amino)acetatos de metilo **1a–g**.

Figura 18. Estructura general de los 2–((alilaril)amino)acetatos de metilo **1a–g**.



- | | |
|----------|--|
| a | : $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ |
| b | : $\text{R}^1 = \text{H}; \text{R}^2 = \text{CH}_3$ |
| c | : $\text{R}^1 = \text{H}; \text{R}^2 = \text{F}$ |
| d | : $\text{R}^1 = \text{H}; \text{R}^2 = \text{Cl}$ |
| e | : $\text{R}^1 = \text{H}; \text{R}^2 = \text{Br}$ |
| f | : $\text{R}^1 = \text{CH}_3; \text{R}^2 = \text{H}$ |
| g | : $\text{R}^1 = \text{H}; \text{R}^2 = \text{OCH}_3$ |

Metodología General

La preparación de estos productos de partida se realizó utilizando las mismas condiciones experimentales reportadas por Guerrero²⁶ y Sanabria.²⁵ Las propiedades físico-químicas y espectroscópicas también coinciden con las reportadas por estos mismos autores, exceptuando las de **1d**, **1f** y **1g**, porque estos compuestos se describen por primera vez.

5.1.1 2-((2-Alilfenil)amino)acetato de metilo 1a. De 4.52 g (33.94 mmoles) de 2-alil-anilina, 3.15 mL (33.94 mmoles) de bromoacetato de metilo, 4.32 g (40.73 mmoles) de carbonato de sodio, 0.06 g (0.34 mmoles) de yoduro de potasio, y después de 14 horas de reacción, se obtuvieron 5.46 g (26.58 mmoles, 78.25%) de **1a**, $C_{12}H_{15}NO_2$ (205.26 g/mol).

5.1.2 2-((2-Alil-4-metilfenil)amino)acetato de metilo 1b. De 3.38 g (22.96 mmoles) de la 2-alil-4-metil-anilina, 2.13 mL (22.96 mmoles) de bromoacetato de metilo, 2.92 g (27.55 mmoles) de carbonato de sodio y 0.04 g (0.23 mmoles) de yoduro de potasio, y después de 8 horas y media de agitación, se obtuvieron 4.13 g (18.83 mmoles, 82.00%) de **1b**, $C_{13}H_{17}NO_2$ (219.28 g/mol).

5.1.3 2-((2-Alil-4-flúorofenil)amino)acetato de metilo 1c. De 1.52 g (10.05 mmoles) de la 2-alil-4-flúor-anilina, 0.93 mL (10.05 mmoles) de bromoacetato de metilo, 1.28 g (12.06 mmoles) de carbonato de sodio y 0.02 g (0.10 mmoles) de yoduro de potasio, y después de 13 horas de agitación, se obtuvieron 1.43 g (6.40 mmoles, 63.50%) de **1c**, $C_{12}H_{14}FNO_2$ (223.25 g/mol).

5.1.4 2-((2-Alil-4-clorofenil)amino)acetato de metilo 1d. De 2.70 g (16.10 mmoles) de la 2-alil-4-cloro-anilina, 1.50 mL (16.10 mmoles) de bromoacetato de metilo, 2.05 g (19.32 mmoles) de carbonato de sodio y 0.27 g (1.61 mmoles) de yoduro de potasio, y después de 12 horas de agitación, se obtuvieron 2.98 g (12.44

mmoles, 77.30%) de **1d**, $C_{12}H_{14}ClNO_2$ (239.70 g/mol). **1H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.10 (dd, J = 8.5, 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 7.05 (d, J = 2.5 Hz, 1 H, 3-H), 6.40 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 6-H), 5.92 (ddt, J = 16.8, 10.7, 6.2 Hz, 1 H, =CH-), 5.15–5.20 (m, 2 H, =CH₂), 4.39 (t, J = 5.2 Hz, 1 H, N-H), 3.90 (d, J = 5.2 Hz, 2 H, N-CH₂), 3.79 (s, 3 H, -OCH₃), 3.31 (dt, J = 6.2, 1.6 Hz, 2 H, -CH₂-) ppm. **^{13}C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 171.4 (C=O), 143.7 (1-C), 134.8 (-HC=), 129.7 (3-C), 127.3 (5-C), 125.9 (2-C), 122.7 (4-C), 117.3 (=CH₂), 111.5 (6-C), 52.4 (-OCH₃), 45.6 (N-CH₂), 36.1 (-CH₂-) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3420 (N-H), 2953 (C-H), 1743 (C=O), 1637 (C=C_{alilo}), 1507 (C=C_{arom.}), 1215 (C-O), 908 (=C-H_{alilo}) cm^{-1} . **CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%)** = 239 (M^{+} , ^{35}Cl , 52), 182 (32, ^{37}Cl), 180 (100), 165 (8), 164 (27), 152 (20), 145 (58), 144 (48).

5.1.5 2-((2-Alil-4-bromofenil)amino)acetato de metilo 1e. De 1.95 g (9.19 mmoles) de la 2-alil-4-bromoanilina, 0.92 mL (9.19 mmoles) de bromoacetato de metilo, 1.17 g (11.03 mmoles) de carbonato de sodio y 0.01g (0.09 mmoles) de yoduro de potasio, y después de 15 horas de agitación, se obtuvieron 2.10 g (7.39 mmoles, 80.58%) de **1e**, $C_{12}H_{14}BrNO_2$ (284.15 g/mol).

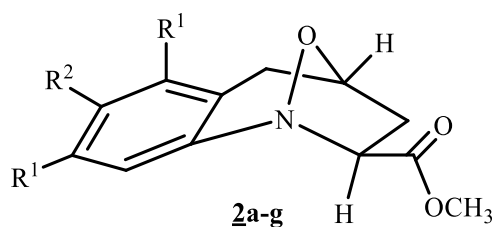
5.1.6 2-((2-Alil-3,5-dimetilfenil)amino)acetato de metilo 1f. De 2.50 g (15.50 mmoles) de 2-alil-3,5-dimetilanilina, 1.44 mL (15.50 mmoles) de bromoacetato de metilo, 1.97 g (18.60 mmoles) de carbonato de sodio y 0.03 g (0.16 mmoles) de yoduro de potasio, y después de 3 horas de agitación, se obtuvieron 2.70 g (11.58 mmoles, 74.70%) de **1f**, $C_{14}H_{19}NO_2$ (233.31 g/mol). **1H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 6.50 (sa, 1 H, 4-H), 6.22 (sa, 1 H, 6-H), 5.87–5.94 (m, 1 H, -CH=), 5.06–5.11 (m, 2 H, =CH₂), 3.91 (sa, 2 H, N-CH₂) 3.79 (s, 3 H, -OCH₃), 3.35 (dt, J = 5.7, 1.6 Hz, 2 H, -CH₂-), 2.27 (s, 3 H, 3-CH₃), 2.25 (s, 3 H, 5-CH₃) ppm. **^{13}C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 171.9 (C=O), 145.3 (1-C), 137.0 (5-C), 136.6 (3-C), 134.9 (=CH-), 121.3 (4-C), 119.5 (2-C), 115.5 (=CH₂), 109.7 (6-C), 52.2 (-OCH₃), 46.0 (N-CH₂), 31.3 (-CH₂-), 20.0 (3-CH₃), 21.4 (5-CH₃) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3420 (N-H), 2952 (C-H),

1744 (C=O), 1635 (C=C_{alilo}), 1512 (C=C_{arom.}), 1202 (C-O), 908 (=C-H_{alilo}) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) = 233 (M⁺, 53), 218 (9), 174 (100), 160 (32), 159 (45), 158 (45), 146 (32).**

5.1.7 2-((2-Alil-4-metoxifenil)amino)acetato de metilo 1g. De 6.45 g (39.52 mmoles) de la 2-alil-4-metoxianilina, 3.66 mL (39.52 mmoles) de bromoacetato de metilo, 5.03 g (47.42 mmoles) de carbonato de sodio y 0.07 g (0.40 mmoles) de yoduro de potasio, y después de 3 horas de agitación, se obtuvieron 5.93 g (25.21 mmoles, 63.80%) de 1g. **C₁₃H₁₇NO₃** (235.28 g/mol). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 6.70–6.74 (m, 2 H, 3-H, 5-H), 6.45–6.47 (m, 1 H, 6-H), 5.90–6.00 (m, 1 H, -CH=), 5.13–5.19 (m, 2 H, =CH₂), 4.10 (s, 1 H, N-H), 3.89 (s, 2 H, N-CH₂), 3.77 (s, 3 H, 4-OCH₃), 3.75 (s, 3 H, -OCH₃), 3.34 (dt, J = 6.2, 1.3 Hz, 2 H, -CH₂-) ppm. **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃): δ = 172.0 (C=O), 152.4 (4-C), 139.4 (1-C), 135.5 (-CH=), 126.2 (2-C), 116.7 (3-C, =CH₂), 112.0 (5-C), 111.8 (6-C), 55.7 (4-OCH₃), 52.3 (-OCH₃), 46.5 (N-CH₂), 36.5 (-CH₂-) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3400 (N-H), 2956 (C-H), 1740 (C=O), 1637 (C=C_{alilo}), 1507 (C=C_{arom.}), 1205 (C-O), 907 (=C-H_{alilo}) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) = 235 (M⁺, 69), 176 (100), 162 (9), 161 (28), 160 (46), 148 (26), 145 (27).**

5.2 Síntesis de los (2SR,4RS)-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-epoxibenzo[b]azepina-2-carboxilatos de metilo 2a-g.

Figura 19. Estructura general de los 1,4-epoxicicloadductos 2a-g.



- a :** R¹ = R² = H
- b :** R¹ = H; R² = CH₃
- c :** R¹ = H; R² = F
- d :** R¹ = H; R² = Cl
- e :** R¹ = H; R² = Br
- f :** R¹ = CH₃; R² = H
- g :** R¹ = H; R² = OCH₃

Metodología General

La síntesis de estos compuestos se realizó utilizando las mismas condiciones experimentales reportadas por Guerrero,²⁶ Acosta^{27,28} y Blanco.²⁹ Las propiedades físico-químicas y espectroscópicas también coinciden con las reportadas por Guerrero,²⁶ exceptuando las de **2d**, **2f** y **2g**, porque estos compuestos se describen por primera vez.

5.2.1 (2SR,4RS)-2,3,4,5-Tetrahidro-1,4-epoxibenzo[b]azepina-2-carboxilato de metilo 2a. De 3.76 g (18.32 mmoles) de **1a**, 7.42 mL de peróxido de hidrógeno (73.28 mmoles), 0.60 g de Na₂WO₄·2H₂O (1.83 mmoles), y después de 18 horas de agitación a temperatura ambiente, seguido de 6 horas de calentamiento en tolueno a reflujo de la nitrona formada, se obtuvieron 1.92 g de **2a** (8.76 mmoles, 47.8%). C₁₂H₁₃NO₃ (219.24 g/mol).

5.2.2 (2SR,4RS)-7-Metil-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-epoxibenzo[b]azepina-2-carboxilato de metilo 2b. De 2.54 g (11.59 mmoles) de **1b**, 4.69 mL de peróxido de hidrógeno (46.37 mmoles), 0.38 g de Na₂WO₄·2H₂O (1.15 mmoles), y después de 14 horas de agitación a temperatura ambiente, seguido de 5 horas de calentamiento en tolueno a reflujo de la nitrona formada, se obtuvieron 1.50 g (6.44 mmoles, 55.55%) de **2b**. C₁₃H₁₅NO₃ (233.27 g/mol).

5.2.3 (2SR,4RS)-7-Flúor-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-epoxibenzo[b]azepina-2-carboxilato de metilo 2c. De 3.05 g (13.08 mmoles) de **1c**, 5.30 mL de peróxido de hidrógeno (52.32 mmoles), 0.43 g de Na₂WO₄·2H₂O (1.31 mmoles), y después de 15 horas de agitación a temperatura ambiente, seguido de 6 horas de calentamiento en tolueno a reflujo de la nitrona formada, se obtuvieron 1.54 g (6.51 mmoles, 49.78%) de **2c**. C₁₂H₁₂FNO₃ (237.23 g/mol).

5.2.4 (2SR,4RS)-7-Cloro-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-epoxibenzo[b]azepina-2-carboxilato de metilo 2d. De 2.94 g (12.26 mmoles) de 1d, 4.96 mL de peróxido de hidrógeno (49.12 mmoles), 0.41 g de Na₂WO₄·2H₂O (1.23 mmoles), y después de 20 horas de agitación a temperatura ambiente, seguido de 8 horas de calentamiento en tolueno a reflujo de la nitrona formada, se obtuvieron 1.45 g (5.71 mmoles, 46.54%) de 2d. Aceite amarillo vítreo. $R_f = 0.28$ (25% acetato de etilo-heptano). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.13$ (dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, 1 H, 8-H), 7.09 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 6-H), 7.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 9-H), 4.87–4.91 (m, 1 H, 4-H), 4.09 (dd, $J = 9.0, 2.6$ Hz, 1 H, 2-H), 3.81 (s, 3 H, -OCH₃), 3.34 (dd, $J = 16.9, 5.3$ Hz, 1 H, 5-H_A), 2.95 (dddd, $J = 12.8, 7.8, 2.6, 1.1$ Hz, 1 H, 3-H_A), 2.48 (da, $J = 16.9$ Hz, 1 H, 5-H_B), 2.26 (ddd, $J = 12.8, 9.0, 1.7$ Hz, 1 H, 3-H_B) ppm. **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 171.1$ (C=O), 147.7 (9a-C), 131.7 (7-C), 129.7 (6-C), 127.1 (5a-C), 127.0 (8-C), 123.3 (9-C), 74.2 (4-C), 73.0 (2-C), 52.9 (-OCH₃), 36.9 (3-C), 34.2 (5-C) ppm. **IR (ATR):** $\nu_{\max} = 3015$ (C-H), 1740 (C=O), 1475 (C=C_{arom.}), 1277 (C-N), 1055 (C-O), 951 (N-O) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) = 253** (M⁺, ³⁵Cl, 100), 235 (4), 194 (70), 177 (14), 166 (41), 164 (47), 138 (37), 152 (18). **EMAR (IE, 70 eV): m/z** Calculado para C₁₂H₁₂ClNO₃: 253.0506, encontrado: 253.0511.

5.2.5 (2SR,4RS)-7-Bromo-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-epoxibenzo[b]azepina-2-carboxilato de metilo 2e. De 2.16 g (7.59 mmoles) de 1e, 2.40 mL de peróxido de hidrógeno (30.36 mmoles), 0.25 g de Na₂WO₄·2H₂O (0.76 mmoles), y después de 22 horas de agitación a temperatura ambiente, seguido de 10 horas de calentamiento en tolueno a reflujo de la nitrona formada, se obtuvieron 1.30 g (4.35 mmoles, 57.31%) de 2e. C₁₂H₁₂BrNO₃ (298.14 g/mol).

5.2.6 (2SR,4RS)-6,8-Dimetilo-2,3,4,5-tetrahidro-1,4-epoxibenzo[b]azepina-2-carboxilato de metilo 2f. De 2.38 g (10.20 mmoles) de 1f, 4.13 mL de peróxido de hidrógeno (40.80 mmoles), 0.34 g de Na₂WO₄·2H₂O (1.02 mmoles), y después de 21 horas de agitación a temperatura ambiente, seguido de 7 horas de calentamiento en tolueno a reflujo de la nitrona formada, se obtuvieron 1.23 g (4.96

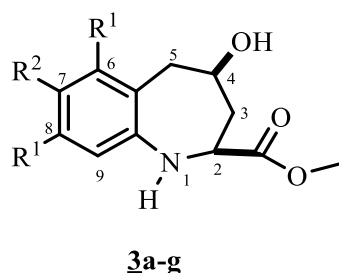
mmoles, 48.62%) de **2f**. Sólido blanco, **P.f.** 117–119 °C. **R_f** = 0.35 (25% acetato de etilo–heptano). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 6.83 (s, 1 H, 7–H), 6.80 (s, 1 H, 9–H), 4.93–4.96 (m, 1 H, 4–H), 4.12 (dd, J = 9.0, 2.8, Hz, 1 H, 2–H), 3.82 (s, 3 H, –OCH₃), 3.13 (dd, J = 16.7, 5.4 Hz, 1 H, 5–H_A), 2.93 (dddd, J = 12.8, 8.0, 2.8, 1.0 Hz, 1 H, 3–H_A), 2.31 (da, J = 16.7 Hz, 1 H, 5–H_B), 2.27 (s, 3 H, 8–CH₃), 2.24 (ddd, J = 12.8, 9.0, 1.6 Hz, 1 H, 3–H_B), 2.13 (s, 3 H, 6–CH₃) ppm. **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃): δ = 171.5 (C=O), 149 (9a–C), 137.6 (6–C), 136.3 (8–C), 128.6 (7–C), 120.2 (5a–C), 120.0 (9–C), 74.8 (4–C), 73.1 (2–C), 52.8 (–OCH₃), 37.3 (3–C), 32.7 (5–C), 18.4 (6–CH₃), 21.0 (8–CH₃) ppm. **IR (ATR):** ν_{\max} = 3008 (C–H), 1736 (C=O), 1481 (C=C_{arom.}), 1286 (C–N), 1026 (C–O), 993 (N–O) cm⁻¹. **CG–EM (IE, 70 eV): m/z (%)** = 247 (M⁺, 100), 188 (47), 160 (34), 158 (65), 157 (45), 146 (45), 132 (32). **EMAR (IE, 70 eV): m/z** Calculado para **C₁₄H₁₇NO₃**: 247.1208, encontrado: 247.1207.

5.2.7 (2SR,4RS)–7–Metoxi–2,3,4,5–tetrahidro–1,4–epoxibenzo[*b*]azepina–2–carboxilato **2g.** De 2.03 g (8.64 mmoles) de **1g**, 3.50 mL de peróxido de hidrógeno (34.56 mmoles), 0.28 g de Na₂WO₄·2H₂O (0.86 mmoles), y después de 7 horas y media de agitación a temperatura ambiente, seguido de 1 hora de calentamiento en tolueno a reflujo de la nitrona formada, se obtuvieron 1.06 g (4.26 mmoles, 49.26%) de **2g**. Sólido blanco, **P.f.** 79–80 °C. **R_f** = 0.20 (25% acetato de etilo–heptano). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.04 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, 9–H), 6.69 (dd, J = 8.7, 2.8 Hz, 1 H, 8–H), 6.61 (d, J = 2.8 Hz, 1 H, 6–H), 4.86–4.89 (m, 1 H, 4–H), 4.08 (dd, J = 9.0, 2.7 Hz, 1 H, 2–H), 3.81 (s, 3 H, OCH₃), 3.76 (s, 3 H, 7–OCH₃), 3.35 (dd, J = 16.7, 5.3 Hz, 1 H, 5–H_A), 2.92 (dddd, J = 12.8, 7.8, 2.7, 1.2 Hz, 1 H, 3–H_A), 2.48 (d, J = 16.7 Hz, 1 H, 5–H_B), 2.28 (ddd, J = 12.8, 9.0, 1.7 Hz, 1 H, 3–H_B) ppm. **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃): δ = 171.4 (C=O), 157.9 (7–C), 142.4 (9a–C), 126.2 (5a–C), 123.0 (9–C), 114.7 (6–C), 112.2 (8–C), 74.4 (4–C), 73.2 (2–C), 55.4 (7–OCH₃), 52.7 (–OCH₃), 36.9 (3–C), 34.6 (5–C) ppm. **IR (ATR):** ν_{\max} = 2971 (C–H), 1736 (C=O), 1494 (C=C_{arom.}), 1254 (C–N), 1029 (C–O), 951 (N–O) cm⁻¹. **CG–EM (IE, 70 eV): m/z (%)** = 249 (M⁺, 66), 190 (100), 175 (9), 162 (66), 160 (42), 148 (51), 134 (23). **EMAR**

(Q-TOF-ESI): m/z Calculado para $C_{13}H_{16}NO_4$ $[M + H]^+$: 250.1074, encontrado: 250.1074.

5.3 Síntesis de los *cis*-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **3a-g**.

Figura 20. Estructura general de los *cis*-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **3a-g**.



a : $R^1 = R^2 = H$
b : $R^1 = H; R^2 = CH_3$
c : $R^1 = H; R^2 = F$
d : $R^1 = H; R^2 = Cl$
e : $R^1 = H; R^2 = Br$
f : $R^1 = CH_3; R^2 = H$
g : $R^1 = H; R^2 = OCH_3$

Metodología General

La síntesis de estos compuestos se realizó utilizando las mismas condiciones experimentales reportadas por Guerrero,²⁶ Acosta,^{27,28} y Blanco.²⁹ Las propiedades físico-químicas y espectroscópicas también coinciden con las reportadas por Guerrero,²⁶ exceptuando las de **3d**, **3f** y **3g**, porque estos compuestos se describen por primera vez.

5.3.1 *cis*-4-Hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **3a.** De 1.50 g (6.84 mmoles) de **2a**, 8.94 g (136.80 mmoles) de zinc en polvo, 5.48 mL de ácido acético glacial (95.76 mmoles), 7.93 mL de ácido clorhídrico (95.76 mmoles), y después de 60 min de agitación a 0 °C, se obtuvieron 1.39 g (6.30 mmoles, 92.14%) del α -aminoéster **3a**. $C_{12}H_{15}NO_3$ (221.26 g/mol).

5.3.2 *cis*-4-Hidroxi-7-metil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **3b**. De 1.90 g (8.14 mmoles) de **2b**, 10.84 g (165.80 mmoles) de zinc en polvo, 6.52 mL de ácido acético glacial (113.96 mmoles), 9.44 mL de ácido clorhídrico (113.96 mmoles), y después de 60 min de agitación a 0 °C, se obtuvieron 1.79 g (7.61 mmoles, 93.44 %) del α-aminoéster **3b**. **C₁₃H₁₇NO₃** (235.28 g/mol).

5.3.3 *cis*-7-Flúor-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **3c**. De 0.50 g (2.11 mmoles) de **2c**, 2.76 g (42.16 mmoles) de zinc en polvo, 1.69 mL de ácido acético glacial (29.51 mmoles), 2.44 mL de ácido clorhídrico (29.51 mmoles), y después de 60 min de agitación a 0 °C, se obtuvieron 0.44 g (1.84 mmoles, 87.45%) del α-aminoéster **3c**. **C₁₂H₁₄FNO₃** (239.25 g/mol).

5.3.4 *cis*-7-Cloro-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **3d**. De 0.89 g (3.52 mmoles) de **2d**, 4.60 g (70.33 mmoles) de zinc en polvo, 2.82 mL de ácido acético glacial (49.28 mmoles), 4.08 mL de ácido clorhídrico (49.28 mmoles), y después de 90 min de agitación a 0 °C, se obtuvieron 0.69 g (2.69 mmoles, 76.45%) del α-aminoéster **3d**. Sólido blanco, **P.f.** 134–135 °C. **R_f** = 0.20 (50% acetato de etilo-heptano). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.09 (d, *J* = 2.5 Hz, 1 H, 6-H), 7.04 (dd, *J* = 8.3, 2.5 Hz, 1 H, 8-H), 6.73 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H, 9-H), 4.30 (s, 1 H, N-H), 3.92–3.87 (m, 1 H, 4-H), 3.79 (s, 3 H, -OCH₃), 3.65 (dd, *J* = 11.1, 2.5 Hz, 1H, 2-H_{ax}), 2.93–2.96 (m, 2 H, 5-H_{ax}H_{eq}), 2.54 (ddd, *J* = 13.1, 3.6, 2.5 Hz, 1 H, 3-H_{eq}), 2.21 (sa, 1 H, 4-OH), 1.90 (ddd, *J* = 13.1, 11.2, 9.0 Hz, 1 H, 3-H_{ax}) ppm. **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃): δ = 173.5 (C=O), 146.3 (9a-C), 131.3 (6-C), 129.9 (5a-C), 127.4 (8-C), 126.7 (7-C), 121.5 (9-C), 68.92 (4-C), 57.5 (2-C), 53.0 (-OCH₃), 43.2 (5-C), 41.8 (3-C) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3278 (N-H/O-H), 2947 (C-H), 1744 (C=O), 1490 (C=C_{arom.}), 1277 (C-N), 1028 (O-C-O) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV):** *m/z* (%) = 255 (M⁺, ³⁵Cl, 25), 198 (33, ³⁷Cl), 196 (100), 178 (29), 152 (33). **EMAR (Q-TOF-ESI):** *m/z* Calculado para **C₁₂H₁₅ClNO₃** [M + H]⁺: 256.0735, encontrado: 256.0734

5.3.5 *cis*-7-Bromo-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **3e**. De 1.30 g (4.36 mmoles) de **2e**, 5.69 g (87.04 mmoles) de zinc en polvo, 3.48 mL de ácido acético glacial (60.91 mmoles), 5.04 mL de ácido clorhídrico (60.91 mmoles), y después de 60 min de agitación a 0 °C, se obtuvieron 0.85 g (2.83 mmoles, 64.89%) del α -aminoéster **3e**. $C_{12}H_{14}BrNO_3$ (300.15 g/mol).

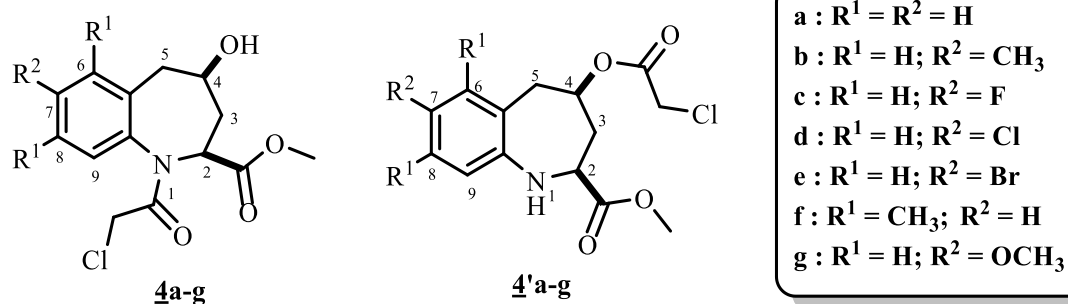
5.4.6 *cis*-6,8-Dimetil-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **3f**. De 0.37 g (1.50 mmoles) de **2f**, 1.97 g (30.09 mmoles) de zinc en polvo, 1.20 mL de ácido acético glacial (21.06 mmoles), 2.44 mL de ácido clorhídrico (21.06 mmoles), y después de 50 min de agitación a 0 °C, se obtuvieron 0.33 g (1.32 mmoles, 86.45%) del α -aminoéster **3f**. Sólido blanco, **P.f.** 120–121 °C. $R_f = 0.25$ (50% acetato de etilo–heptano). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 6.65$ (s, 1 H, 7–H), 6.52 (s, 1 H, 9–H), 4.40 (s, 1 H, N–H), 3.88–3.96 (m, 1 H, 4–H), 3.79 (s, 3 H, –OCH₃), 3.72 (dd, $J = 11.5, 3.0$ Hz, 1 H, 2–H_{ax}), 3.05 (da, $J = 14.4$ Hz, 1 H, 5–H_{eq}), 2.92 (dd, $J = 14.4, 8.7$ Hz, 1 H, 5–H_{ax}), 2.50 (dddd, $J = 13.1, 4.5, 3.0, 1.0$ Hz, 1 H, 3–H_{eq}), 2.29 (s, 3 H, 8–CH₃), 2.22 (s, 3 H, 6–CH₃), 2.18 (sa, 1 H, 4–OH), 1.91 (ddd, $J = 13.1, 11.5, 8.2$ Hz, 1H, 3–H_{ax}) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 173.7$ (C=O), 147.9 (9a–C), 138.0 (6–C), 136.6 (8–C), 125.3 (7–C), 123.8 (5a–C), 119.0 (9–C), 69.1 (4–C), 57.9 (2–C), 52.9 (–OCH₃), 41.4 (5–C), 37.2 (3–C), 21.0 (8–CH₃), 20.8 (6–CH₃) ppm. **IR:** $\nu_{max} = 3343$ (N–H/O–H), 2951 (C–H), 1740 (C=O), 1614 (N–H), 1528 (C=C_{arom.}), 1264 (C–N), 1021 (O–C–O) cm^{-1} . **CG–EM (EI, 70 eV): m/z (%) = 249 (M⁺, 41), 217 (2), 190 (100), 172 (35), 160 (17), 146 (53), 131 (18).** **EMAR (Q–TOF–ESI): m/z** Calculado para $C_{14}H_{20}NO_3$ [M + H]⁺: 250.1438, encontrado: 250.1436

5.4.7 *cis*-4-Hidroxi-7-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **3g**. De 0.50 g (2.0 mmoles) de **2g**, 2.62 g (40.12 mmoles) de zinc en polvo, 1.61 mL de ácido acético glacial (28.08 mmoles), 2.32 mL de ácido clorhídrico (28.08 mmoles), y después de 10 min de agitación a 0 °C, se obtuvieron

0.44 g (1.75 mmoles, 87.10%) del α -aminoéster **2g**. Sólido blanco, **P.f.** 105–106 °C. **R_f** = 0.15 (50% acetato de etilo–heptano). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 6.75 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H, 9–H), 6.70 (d, *J* = 2.9 Hz, 1 H, 6–H), 6.65 (dd, *J* = 8.4, 2.9 Hz, 1 H, 8–H), 4.29 (sa, 1 H, N–H), 3.85–3.91 (m, 1 H, 4–H), 3.78 (s, 3–H, –OCH₃), 3.75 (s, 3 H, 7–OCH₃), 3.60 (dd, *J* = 11.1, 2.5 Hz, 1 H, 2–H_{ax}), 3.02 (dd, *J* = 13.7, 9.5 Hz, 1 H, 5–H_{ax}), 2.92 (dt, *J* = 13.7, 1.8 Hz, 1 H, 5–H_{eq}), 2.51–2.56 (m, 1 H, 3–H_{eq}), 2.15 (sa, 1 H, 4–OH), 1.91 (ddd, *J* = 13.0, 11.1, 9.2 Hz, 1 H, 3–H_{ax}) ppm. **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃): δ = 173.5 (C=O), 155 (7–C), 141.1 (9a–C), 130.1 (5a–C), 121.3 (9–C), 117 (6–C), 112.4 (8–C), 69.2 (4–C), 55.5 (7–OCH₃), 52.7 (–OCH₃), 43.7 (5–C), 42.2 (3–C) ppm. **IR (ATR):** ν_{\max} = 3348 (O–H), 3304 (N–H), 1722 (C=O), 1613 (N–H), 1506 (C=C_{arom.}), 1281 (C–N), 1030 (O–C–O) cm⁻¹. **CG–EM (IE, 70 eV):** *m/z* (%) = 251 (M⁺, 49), 192 (100), 174 (29), 162 (9), 148 (39), 133 (14). **EMAR (Q–TOF–ESI):** *m/z* Calculado para C₁₃H₁₈NO₄ [M + H]⁺: 252.1236, encontrado: 252.123.

5.4 Síntesis de los *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4a-g** y *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4'a-g**.

Figura 21. Estructuras generales de los *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4a-g** y *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4'a-g**.



Metodología General

La síntesis de las tetrahidro-1-benzoazepinas *N*-aciladas **4a-g** y sus homólogas *O*-aciladas **4'a-g** se realizó en un balón de fondo redondo de tres bocas de 50 mL, en el que a cada uno de los amino-ésteres **3a-g** (5 mmoles) disuelto en 30 mL de tetrahidrofurano (THF) seco y en atmósfera inerte (N₂ o Ar), se adicionó trietilamina seca (10 mmoles). Luego, a cada una de estas mezclas de reacción en agitación constante y a temperatura ambiente, se adicionó cloruro de 2-cloroacetilo (7.5 mmoles) disuelto en 5 mL de THF seco. Debido a que a las 48 horas de reacción aún no se había consumido en su totalidad el producto de partida (según los controles por CCF), fue necesario, entonces, adicionar otros 0.5 equivalentes del agente acilante y de la base, después de lo cual se continuó con la agitación durante otras 24-48 horas. Transcurrido este tiempo, se retiró el flujo de gas inerte a las mezclas de reacción, se agregó agua y una solución de Na₂CO₃ hasta alcanzar un pH entre 6-7. La fase orgánica se extrajo con acetato de etilo (3 X 30 mL), se lavó nuevamente con agua (40 mL), y luego se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se removió bajo presión reducida, y los crudos de las reacciones se purificaron por cromatografía en columna, usando como eluente mezclas de heptano-acetato de etilo con aumento gradual del gradiente de la polaridad (5:1 a 1:2). Los productos de *N*-acilación **4a-e** se obtuvieron como pastas de color amarillo y rojo pardo, mientras que **4f,g** se aislaron como sólidos blancos, los cuales fueron nuevamente recristalizados de heptano-acetato de etilo (1:2). En las condiciones de reacción utilizadas también se formaron los productos de *O*-acilación **4'a-g**, de los cuales, sólo se logró aislar como entes individuales los derivados **4'd-f**; estos derivados también representan sustancias sólidas blancas.

5.4.1 *cis*-1-(2-Cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4a**. De 1.40 g (6.33 mmoles) de **3a**, 1.01 mL (12.66 mmoles) de cloruro de 2-cloroacetilo, 2.20 mL (15.82 mmoles) de Et₃N, y después de 72 h de agitación, se obtuvieron 0.76 g (2.54 mmoles, 40.16%)

del compuesto **4a**. Pasta amarilla vítrea. $R_f = 0.25$ (50% acetato de etilo–heptano). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.31\text{--}7.41$ (m, 6–H, 7–H, 8–H, 9–H), 5.00 (dd, $J = 11.4, 3.3$ Hz, 1 H, 2– H_{ax}), 4.22–4.28 (m, 1 H, 4– H_{ax}), 4.00 (d, $J = 13.2$ Hz, 1 H, N– COCH_AH_B), 3.88 (d, $J = 13.2$ Hz, 1 H, N– COCH_AH_B), 3.71 (s, 3 H, $-\text{OCH}_3$), 3.09 (dd, $J = 14.5, 4.9$ Hz, 1 H, 5– H_{ax}), 2.77 (dd, $J = 14.5, 2.1$ Hz, 1 H, 5– H_{eq}), 2.32 (ddd, $J = 14.3, 5.0, 3.3$ Hz, 1 H, 3– H_{eq}), 2.00 (sa, 1 H, 4–OH), 1.42 (ddd, $J = 14.3, 11.4, 9.0$ Hz, 1 H, 3– H_{ax}) ppm. $^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.6$ (2– COOCH_3), 166.8 (N–C=O), 136.8 (5a–C), 134.7 (9a–C), 130.9 (6–C), 129.4 (9–C), 128.7 (7–C), 128.4 (8–C), 66.6 (4–C), 55.3 (2–C), 52.7 ($-\text{OCH}_3$), 41.7 ($-\text{COCH}_2-$), 39.3 (5–C), 34.3 (3–C) ppm. **IR (ATR):** $\nu_{\text{max}} = 3479$ (O–H), 2955 (C–H), 1777 (C=O_{éster}), 1662 (C=O_{amida}), 1492 (C=C_{arom.}), 1377 ($\text{CH}_2\text{--Cl}$), 1019 (O–C–O), 746 (C–Cl) cm^{-1} . **CG–EM (IE, 70 eV):** m/z (%) = 297 (M^+ , ^{35}Cl , 19), 248 (82), 238 (77), 220 (14), 192 (5), 188 (9), 162 (91), 144 (100), 118 (72).

5.4.2 cis–1–(2–Cloroacetil)–4–hidroxi–7–metil–2,3,4,5–tetrahidro–1H–benzo[b]–azepina–2–carboxilato de metilo 4b. De 1.35 g (5.74 mmoles) de **3b**, 0.91 mL (11.42 mmoles) de cloruro de 2–cloroacetilo, 2.00 mL (14.35 mmoles) de Et_3N , y después de 72 h de agitación, se obtuvieron 0.88 g (2.82 mmoles, 49.15%) del compuesto **4b**. Pasta roja vítrea. $R_f = 0.28$ (50% acetato de etilo–heptano). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.25$ (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 9–H), 7.12–7.16 (m, 2 H, 6–H, 8–H), 5.01 (dd, $J = 11.2, 3.4$ Hz, 1 H, 2– H_{ax}), 4.23 (dtd, $J = 10.0, 4.8, 2.2$ Hz, 1 H, 4– H_{ax}), 4.00 (d, $J = 13.2$ Hz, 1 H, N– COCH_AH_B), 3.88 (d, $J = 13.2$ Hz, 1 H, N– COCH_AH_B), 3.70 (s, 3 H, $-\text{OCH}_3$), 3.05 (dd, $J = 14.4, 4.8$ Hz, 1 H, 5– H_{ax}), 2.71 (dd, $J = 14.4, 2.2$ Hz, 1 H, 5– H_{eq}), 2.37 (s, 3 H, 7– CH_3), 2.30 (ddd, $J = 14.4, 4.8, 3.4$ Hz, 1 H, 3– H_{eq}), 1.67 (sa, 1 H, 4–OH), 1.46 (ddd, $J = 14.4, 11.2, 8.8$ Hz, 1 H, 3– H_{ax}) ppm. $^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.6$ (2– COOCH_3), 166.9 (N–C=O), 139.5 (7–C), 134.4 (5a–C), 134.1 (9a–C), 131.6 (6–C), 128.9 (8–C), 128.4 (9–C), 65.7 (4–C), 55.2 (2–C), 52.6 ($-\text{OCH}_3$), 41.7 ($-\text{COCH}_2-$), 39.3 (5–C), 34.4 (3–C), 21.2 (7– CH_3) ppm. **IR (ATR):** $\nu_{\text{max}} = 3434$ (O–H), 2955 (C–H), 1742 (C=O_{éster}), 1658

(C=O_{amida}), 1499 (C=C_{arom.}), 1385 (CH₂-Cl), 1038 (O-C-O), 826 (C-Cl) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%)** = 311 (M⁺, ³⁵Cl, 36), 262 (50), 252 (74), 234 (9), 206 (2), 202 (8), 176 (100), 158 (86), 132 (64).

5.4.3 *cis*-1-(2-Cloroacetil)-7-flúor-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[*b*]-azepina-2-carboxilato de metilo **4c**. De 1.21 g (5.05 mmoles) de **3c**, 0.80 mL (10.10 mmoles) de cloruro de 2-cloroacetilo, 1.76 mL (12.62 mmoles) de Et₃N, y después de 96 h de agitación se obtuvieron 0.81 g (2.56 mmoles, 50.72%) del compuesto **4c**. Pasta amarilla vítrea. **R_f** = 0.30 (50% acetato de etilo-heptano). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.38 (dd, *J* = 9.4, 5.1 Hz, 1 H, 9-H), 7.03–7.07 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 4.97 (dd, *J* = 11.5, 3.6 Hz, 1 H, 2-H_{ax}), 4.23–4.28 (m, 1 H, 4-H_{ax}), 3.96 (d, *J* = 13.0 Hz, 1 H, N-COCH_AH_B), 3.88 (d, *J* = 13.0 Hz, 1 H, N-COCH_AH_B), 3.71 (s, 3 H, -OCH₃), 3.07 (dd, *J* = 14.5, 5.0 Hz, 1 H, 5-H_{ax}), 2.74 (dd, *J* = 14.5, 2.1 Hz, 1 H, 5-H_{eq}), 2.32 (ddd, *J* = 14.5, 4.9, 3.6 Hz, 1 H, 3-H_{eq}), 1.72 (sa, 1 H, 4-OH), 1.41 (ddd, *J* = 14.5, 11.5, 9.0 Hz, 1 H, 3-H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ = 171.4 (2-COOCH₃), 166.9 (N-C=O), 162.6 (d, *J* = 250.1 Hz, 7-C), 137.5 (d, *J* = 8.4 Hz, 5a-C), 132.7 (d, *J* = 3.1 Hz, 9a-C), 130.2 (d, *J* = 9.1 Hz, 9-C), 117.9 (d, *J* = 22.7 Hz, 6-C), 115.0 (d, *J* = 22.7 Hz, 8-C), 65.4 (4-C), 55.1 (2-C), 52.7 (-OCH₃), 41.5 (-COCH₂-), 39.5 (5-C), 34.5 (3-C) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3436 (O-H), 2956 (C-H), 1742 (C=O_{éster}), 1660 (C=O_{amida}), 1493 (C=C_{arom.}), 1385 (CH₂-Cl), 1037 (O-C-O), 834 (C-Cl) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%)** = 315 (M⁺, ³⁵Cl, 20), 266 (40), 256 (65), 238 (10), 210 (6), 206 (5), 180 (99), 162 (94), 136 (100).

5.4.4 *cis*-1-(2-Cloroacetil)-7-cloro-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[*b*]-azepina-2-carboxilato de metilo **4d** y *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-7-cloro-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'd**. De 1.60 g (6.26 mmoles) de **3d**, 1.0 mL (12.52 mmoles) de cloruro de 2-cloroacetilo, 2.18 mL (15.65 mmoles) de Et₃N, y después de 96 h de agitación, se obtuvieron 1.05 g (3.15 mmoles, 50.4%) del compuesto **4d**. Pasta amarilla vítrea. **R_f** = 0.33 (50% acetato de etilo-heptano). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.33–7.36 (m, 3 H,

6-H, 8-H, 9-H), 4.98 (dd, $J = 11.4, 3.5$ Hz, 1 H, 2-H_{ax}), 4.22–4.28 (m, 1 H, 4-H_{ax}), 3.95 (d, $J = 13.0$ Hz, 1 H, N-COCH_AH_B), 3.88 (d, $J = 13.0$ Hz, 1 H, N-COCH_AH_B), 3.71 (s, 3 H, -OCH₃), 3.07 (dd, $J = 14.5, 5.0$ Hz, 1 H, 5-H_{ax}), 2.74 (dd, $J = 14.5, 2.0$ Hz, 1 H, 5-H_{eq}), 2.32 (ddd, $J = 14.5, 4.8, 3.7$ Hz, 1 H, 3-H_{eq}), 1.64 (sa, 1 H, 4-OH), 1.44 (ddd, $J = 14.5, 11.4, 9.0$ Hz, 1 H, 3-H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃):** $\delta = 171.3$ (2-COOCH₃), 166.8 (N-C=O), 136.8 (5a-C), 135.4 (7-C), 135.1 (9a-C), 130.9 (6-C), 129.9 (9-C), 128.4 (8-C), 65.3 (4-C), 55.1 (2-C), 52.7 (-OCH₃), 41.4 (-COCH₂-), 39.3 (5-C), 34.2 (3-C) ppm. **IR (ATR):** $\nu_{\max} = 3434$ (O-H), 2954 (C-H), 1741 (C=O_{éster}), 1660 (C=O_{amida}), 1485 (C=C_{arom.}), 1382 (CH₂-Cl), 1035 (O-C-O), 830 (C-Cl) cm⁻¹. **CG-EM (EI, 70 eV):** m/z (%) = 331 (M⁺, ³⁵Cl, 9), 282 (27), 272 (51), 254 (4), 226 (3), 222 (4), 196 (100), 178 (86), 152 (77).

En las condiciones de reacción utilizadas también se obtuvieron 0.10 gr (5.0 %) del homólogo 4-(2-cloroacetoxilado) **4'd**. Sólido blanco, **P.f.** 122–123 °C. **R_f** = 0.25 (25% acetato de etilo–heptano). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃):** $\delta = 7.10$ (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 6-H), 7.07 (dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, 1 H, 8-H), 6.78 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 9-H), 4.92–4.98 (m, 1 H, 4-H_{ax}), 4.53 (s, 1 H, N-H), 4.09 (d, $J = 15.6$ Hz, 1 H, O-COCH_AH_B), 4.06 (d, $J = 15.6$ Hz, 1 H, O-COCH_AH_B), 3.80 (s, 3 H, -OCH₃), 3.61 (dd, $J = 11.5, 1.9$ Hz, 1 H, 2-H_{ax}), 3.02 (dd, $J = 13.6, 10.1$ Hz, 1 H, 5-H_{ax}), 2.91 (dt, $J = 13.6, 1.8$ Hz, 1 H, 5-H_{eq}), 2.63 (dt, $J = 12.6, 1.9$ Hz, 1 H, 3-H_{eq}), 1.93–1.99 (m, 1 H, 3-H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃):** $\delta = 172.6$ (2-COOCH₃), 166.6 (O-C=O), 146.2 (9a-C), 131.1 (6-C), 128.9 (5a-C), 127.8 (8-C), 127.0 (7-C), 121.8 (9-C), 73.0 (4-C), 57.0 (2-C), 53.0 (-OCH₃), 41.1 (-COCH₂-), 39.8 (5-C), 38.1 (3-C) ppm. **IR (ATR):** $\nu_{\max} = 3346$ (N-H), 1730 (C=O_{éster}), 1492 (C=C_{arom.}), 1378 (CH₂-Cl), 1045 (C-O), 777 (C-Cl) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV):** m/z (%) = 331 (M⁺, ³⁵Cl, 14), 272 (1), 178 (100), 143 (55), 117 (6). **EMAR (Q-TOF-ESI):** m/z Calculado para **C₁₄H₁₆Cl₂NO₄ [M + H]⁺**: 332.0451, encontrado: 332.045.

5.4.5 **cis-7-Bromo-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]-azepina-2-carboxilato de metilo **4e** y cis-7-bromo-4-(2-cloroacetoxi)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepina-2-carboxilato de metilo**

4'e. De 1.40 g (4.66 mmoles) de **4e**, 0.74 mL (9.32 mmoles) de cloruro de 2-cloroacetilo, 1.62 mL (11.65 mmoles) de Et₃N, y después de 96 h de agitación, se obtuvieron 0.86 g (2.28 mmoles, 49.0%) del compuesto **4e**. Pasta amarilla vítrea. **R_f** = 0.33 (50% acetato de etilo-heptano). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃):** δ = 7.49–7.52 (m, 2 H, 6–H, 8–H), 7.28 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H, 9–H), 4.97 (dd, *J* = 11.5, 3.4 Hz, 1 H, 2–H_{ax}), 4.22–4.28 (m, 1 H, 4–H_{ax}), 3.96 (d, *J* = 13.0 Hz, 1 H, N–COCH_AH_B), 3.89 (d, *J* = 13.0 Hz, 1 H, N–COCH_AH_B), 3.71 (s, 3 H, –OCH₃), 3.07 (dd, *J* = 14.5, 4.9 Hz, 1 H, 5–H_{ax}), 2.73 (dd, *J* = 14.5, 2.0 Hz, 1 H, 5–H_{eq}), 2.32 (ddd, *J* = 14.5, 4.8, 3.8 Hz, 1 H, 3–H_{eq}), 1.70 (sa, 1 H, 4–OH), 1.44 (ddd, *J* = 14.5, 11.5, 9.0 Hz, 1 H, 3–H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ = 171.3 (2–COOCH₃), 166.7 (N–C=O), 137.1 (5a–C), 135.9 (9a–C), 133.8 (6–C), 131.4 (8–C), 130.1 (9–C), 123.2 (7–C), 65.3 (4–C), 55.1 (2–C), 52.7 (–OCH₃), 41.4 (–COCH₂–), 39.2 (5–C), 34.2 (3–C) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3444 (O–H), 2954 (C–H), 1740 (C=O_{éster}), 1658 (C=O_{amida}), 1483 (C=C_{arom.}), 1379 (CH₂–Cl), 1035 (O–C–O), 828 (C–Cl) cm⁻¹. **CG–EM (IE, 70 eV):** *m/z* (%) = 375 (M⁺, ³⁵Cl, ⁷⁹Br, 32), 326 (48), 318 (100, ⁸¹Br), 316 (81), 298 (9), 270 (9), 266 (6), 240 (87), 222 (86), 196 (38).

En las condiciones de reacción utilizadas también se obtuvieron 0.12 g (7 %) del homólogo 4–(2-cloroacetoxilado) **4'e**. Sólido blanco, **P.f.** 110–111 °C. **R_f** = 0.25 (25% acetato de etilo-heptano). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃):** δ = 7.25 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H, 6–H), 7.22 (dd, *J* = 8.3, 2.1 Hz, 1 H, 8–H), 6.72 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H, 9–H), 4.92–4.99 (m, 1 H, 4–H_{ax}), 4.53 (s, 1 H, N–H), 4.09 (d, *J* = 15.0 Hz, 1 H, O–COCH_AH_B), 4.05 (d, *J* = 15.0, 1 H, O–COCH_AH_B), 3.80 (s, 3 H, –OCH₃), 3.62 (dd, *J* = 11.5, 1.9 Hz, 1 H, 2–H_{ax}), 3.01 (dd, *J* = 13.6, 9.8 Hz, 1 H, 5–H_{ax}), 2.92 (dt, *J* = 13.6, 2.8 Hz, 1 H, 5–H_{eq}), 2.61–2.65 (m, 1 H, 3–H_{eq}), 1.92–2.01 (m, 1 H, 3–H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ = 172.5 (2–COOCH₃), 166.6 (O–C=O), 146.7 (9a–C), 133.9 (6–C), 130.7 (8–C), 129.3 (5a–C), 122.1 (9–C), 114.4 (7–C), 73.0 (4–C), 56.9 (2–C), 53.0 (–OCH₃), 41.0 (–COCH₂–), 39.7 (5–C), 38.0 (3–C) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3346 (N–H), 1720 (C=O_{éster}), 1499 (C=C_{arom.}), 1385 (CH₂–Cl), 1038 (C–O), 779 (C–Cl) cm⁻¹. **CG–EM (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 375 (M⁺, ³⁵Cl, ⁷⁹Br, 9), 316 (1), 222 (59), 143 (100),

117 (23). EMAR (Q-TOF-ESI): m/z Calculado para $C_{14}H_{16}BrClNO_4$ $[M + H]^+$: 377.9924, encontrado: 377.9926.

5.4.6 *cis*-1-(2-Cloroacetil)-6,8-dimetil-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[*b*]-azepina-2-carboxilato de metilo **4f** y *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'f**.

De 1.0 g (4.01 mmoles) de **3f**, 0.64 mL (8.02 mmoles) de cloruro de 2-cloroacetilo, 1.40 mL (10.02 mmoles) de Et_3N , y después de 80 h de agitación, se obtuvieron 0.56 g (1.71 mmoles, 42.6%) del compuesto **4f**. Sólido blanco, P.f. 159–160 °C. R_f = 0.33 (50% acetato de etilo-heptano). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.06 (sa, 1 H, 7-H), 7.04 (s, 1 H, 9-H), 4.85 (dd, J = 12.6, 3.1 Hz, 1 H, 2-H), 4.21–4.29 (m, 1 H, 4- H_{ax}), 4.01 (d, J = 13.2 Hz, 1 H, N-COCH_AH_B), 3.86 (d, J = 13.1 Hz, 1 H, -COCH_AH_B), 3.72 (s, 3 H, -OCH₃), 3.04 (dd, J = 14.7, 1.7 Hz, 1 H, 5- H_{ax}), 2.74 (dd, J = 14.7, 4.9 Hz, 1 H, 5- H_{eq}), 2.37 (s, 3 H, 6-CH₃), 2.32 (s, 3 H, 8-CH₃), 2.28 (ddd, J = 14.2, 5.4, 3.1 Hz, 1 H, 3- H_{eq}), 1.64 (sa, 1 H, 4-OH), 1.30 (ddd, J = 14.2, 12.6, 9.5 Hz, 1 H, 3- H_{ax}) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 171.6 (2-COOCH₃), 167.0 (N-C=O), 138.0 (6-C), 137.4 (8-C), 136.7 (9a-C), 131.9 (7-C), 130.0 (5a-C), 126.7 (9-C), 66.9 (4-C), 55.4 (2-C), 52.7 (-OCH₃), 42.0 (-COCH₂-), 34.1 (5-C), 34.0 (3-C), 21.1 (8-CH₃), 20.4 (6-CH₃) ppm. IR (ATR): ν_{max} = 3520 (O-H), 2924 (C-H), 1748 (C=O_{éster}), 1643 (C=O_{amida}), 1499 (C=C_{arom.}), 1379 (CH₂-Cl), 1054 (C-O), 771 (C-Cl) cm^{-1} . CG-EM (IE, 70 eV): m/z (%) = 325 (M^+ , ^{35}Cl , 18), 276 (32), 266 (27), 248 (9), 220 (4), 216 (14), 190 (76), 172 (100), 146 (77).

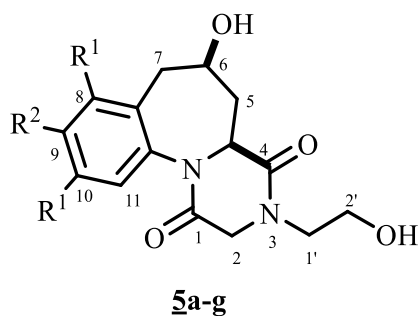
En las condiciones de reacción utilizadas también se obtuvieron 0.13 g (10 %) del homólogo 4-(2-cloroacetoxilado) **4'f**. Sólido blanco, P.f. 109–110 °C. R_f = 0.38 (25% acetato de etilo-heptano). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 6.67 (s, 1 H, 7-H), 6.56 (s, 1 H, 9-H), 4.85–4.91 (m, 1 H, 4- H_{ax}), 4.40 (sa, 1 H, N-H), 4.12 (d, J = 15.8 Hz, 1 H, O-COCH_AH_B), 4.08 (d, J = 15.8 Hz, 1 H, O-COCH_AH_B), 3.80 (s, 3 H, -OCH₃), 3.59 (dd, J = 12.1, 2.0 Hz, 1 H, 2- H_{ax}), 3.13 (dt, J = 13.6, 1.8 Hz, 1 H, 5- H_{eq}), 2.88 (dd, J = 13.6, 9.7 Hz, 1 H, 5- H_{ax}), 2.57–2.62 (m, 1 H, 3- H_{eq}), 2.30 (6-CH₃), 2.23 (8-CH₃), 1.92–1.98 (m, 1 H, 3- H_{ax}) ppm. ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ

= 173.1 (2-COOCH₃), 166.8 (O-C=O), 148.0 (9a-C), 137.7 (6-C), 137.1 (8-C), 125.5 (7-C), 123.5 (5a-C), 119.3 (9-C), 73.7 (4-C), 57.4 (2-C), 52.9 (-OCH₃-), 41.2 (-COCH₂-), 37.7 (3-C), 34.1 (5-C), 20.9 (8-CH₃), 20.4 (6-CH₃) ppm. **IR (ATR):** ν_{\max} = 3337 (N-H), 1730 (C=O_{éster}), 1499 (C=C_{arom}), 1385 (CH₂-Cl), 1038 (C-O), 779 (C-Cl) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV):** m/z (%) = 325 (M⁺, ³⁵Cl, 14), 266 (1), 172 (100), 157 (29), 131 (4). **EMAR (Q-TOF-ESI):** m/z Calculado para C₁₆H₂₁ClNO₄ [M + H]⁺: 326.1154, encontrado: 326.115.

5.4.6 **cis-1-(2-Cloroacetil)-7-metoxi-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[b]-azepina-2-carboxilato de metilo 4g.** De 0.77 g (3.06 mmoles) de **3g**, 0.49 mL (6.12 mmoles) de cloruro de 2-cloroacetilo, 1.07 mL (7.65 mmoles) de Et₃N, y después de 72 h de agitación, se obtuvieron 0.41 g (1.24 mmoles, 40.5%) del compuesto **4g**. Sólido blanco, **P.f.** 137–138 °C. **R_f** = 0.20 (50% acetato de etilo–heptano). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃):** δ = 7.27–7.30 (m, 1 H, 9–H), 6.85 (d, J = 2.6 Hz, 1 H, 6–H), 6.84 (dd, J = 6.8, 2.6 Hz, 1 H, 8–H), 5.02 (dd, J = 11.0, 3.6 Hz, 1 H, 2–H_{ax}), 4.20–4.27 (m, 1 H, 4–H_{ax}), 3.98 (d, J = 13.1 Hz, 1 H, N–COCH_AH_B), 3.87 (d, J = 13.1 Hz, 1 H, N–COCH_AH_B), 3.83 (s, 3 H, 7–OCH₃), 3.70 (s, 3 H, –OCH₃), 3.06 (dd, J = 14.4, 4.9 Hz, 1 H, 5–H_{ax}), 2.71 (dd, J = 14.4, 2.3 Hz, 1 H, 5–H_{eq}), 2.31 (ddd, J = 14.4, 4.7, 3.6 Hz, 1 H, 3–H_{eq}), 1.63 (s, 1 H, 4–OH), 1.47 (ddd, J = 14.4, 11.0, 8.7 Hz, 1 H, 3–H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃):** δ = 171.6 (2-COOCH₃), 167.0 (N-C=O), 160.0 (7-C), 136.2 (5a-C), 129.6 (9-C), 129.4 (9a-C), 116.3 (6-C), 113.0 (8-C), 65.7 (4-C), 55.5 (7-OCH₃), 55.3 (2-C), 52.6 (-OCH₃), 41.7 (-COCH₂-), 39.7 (5-C), 34.4 (3-C) ppm. **IR:** ν_{\max} = 3520 (O–H), 2956 (C–H), 1723 (C=O_{éster}), 1668 (C=O_{amida}), 1483 (C=C_{arom.}), 1385 (CH₂-Cl), 1046 (O–C–O), 779 (C–Cl) cm⁻¹. **CG-EM (IE, 70 eV):** m/z (%) = 327 (M⁺, ³⁵Cl, 59), 278 (14), 268 (68), 250 (18), 222 (34), 218 (4), 192 (100), 174 (74), 148 (62).

5.5 Síntesis de las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-dionas **5a-g**.

Figura 22. Estructura general de las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-dionas **5a-g**.



- a : $R^1 = R^2 = H$
- b : $R^1 = H; R^2 = CH_3$
- c : $R^1 = H; R^2 = F$
- d : $R^1 = H; R^2 = Cl$
- e : $R^1 = H; R^2 = Br$
- f : $R^1 = CH_3; R^2 = H$
- g : $R^1 = H; R^2 = OCH_3$

Metodología General

En un balón de 25 mL de volumen se disolvieron, por separado, en etanol (5 mL), los 1-(2-cloroacetyl)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **5a-g** (0.71 mmoles). Luego, a cada una de estas soluciones etanólicas en agitación constante, se adicionó 2-aminoetanol (2.84 mmoles), después de lo cual se calentó a 85 °C durante 2-7 horas (control por CCF). Concluidas las reacciones, el disolvente y el exceso de aminoetanol se eliminaron a presión reducida, y los crudos de las reacciones se purificaron por cromatografía en columna, usando mezclas de acetato de etilo-etanol con aumento gradual del gradiente de la polaridad (10:1 a 1:1). Los productos **5a-g** se obtuvieron como sólidos blancos, los cuales fueron nuevamente recristalizados de acetato de etilo-etanol (1:4).

5.5.1 6-Hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-diona **5a.** De 0.26 g (0.89 mmoles) de **4a**, 0.21 mL (3.56 mmoles)

de etanolamina, y después de 4h de calentamiento, se obtuvieron 0.18 g (0.62 mmoles, 70%) del producto **5a**. Sólido blanco, **P.f.**175–176 °C. **R_f** = 0.20 (6.7% acetato de etilo–etanol). **¹H RMN (400 MHz, DMSO–D₆)**: δ = 7.32–7.34 (m, 1 H, 8–H), 7.25–7.29 (m, 2 H, 10–H, 11–H), 7.13–7.16 (m, 1 H, 9–H), 5.16 (d, J = 3.4 Hz, 1 H, 6–OH), 4.84 (t, J = 5.3 Hz, 1 H, 2'–OH), 4.49 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2–H_A), 4.06 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2–H_B), 3.80 (d, J = 12.5 Hz, 1 H, 4a–H_{ax}), 3.57–3.62 (m, 1 H, 6–H_{ax}), 3.50–3.62 (m, 3 H, 1'–H_A, 2'–H_AH_B), 3.30–3.37 (m, 1 H, 1'–H_B), 2.73–2.83 (m, 2 H, 7–H_{ax}H_{eq}), 2.24 (da, J = 12.5 Hz, 1 H, 5–H_{eq}), 1.94–2.02 (m, 1 H, 5–H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, DMSO–D₆)**: δ = 166.7 (4–C=O), 164.4 (1–C=O), 140.8 (7a–C), 135.6 (11a–C), 131.4 (8–C), 128.6 (9–C, 11–C), 127.8 (10–C), 68.2 (6–C), 61.0 (4a–C), 58.8 (2'–C), 51.1 (2–C), 48.6 (1'–C), 43.6 (7–C), 43.3 (5–C) ppm. **IR (ATR)**: ν_{\max} = 3400 (O–H), 2890 (C–H), 1640 (C=O_{amida}), 1510 (C=C), 1248 (C–N), 1035 (C–O) cm⁻¹. **ESI (Modo Positivo)**: m/z (%) = 603 (59, [2M+Na]⁺), 581 (11, [2M+H]⁺), 313 (100, [M+Na]⁺), 291 (26, [M+H]⁺), 273 (14, [M–H₂O+H]⁺). **EMAR (Q–TOF–ESI)**: m/z Calculado para **C₁₅H₁₉N₂O₄** [M + H]⁺: 291.1339, encontrado: 291.1336.

5.5.2 6–Hidroxi–3–(2–hidroxietil)–9–metil–2,3,4a,5,6,7–hexahidrobenczo[*f*]–pirazino[1,2–*a*]azepina–1,4–diona **5b.** De 0.25 g (0.80 mmoles) de **4b**, 0.19 mL (3.20 mmoles) de etanolamina, y después de 4 horas y media de calentamiento, se obtuvieron 0.22 g (0.71 mmoles, 88.93%), del producto **5b**. Sólido blanco, **P.f.** 185–186 °C. **R_f** = 0.28 (6.7% acetato de etilo–etanol). **¹H RMN (400 MHz, DMSO–D₆)**: δ = 7.12 (s, 1 H, 8–H), 7.06 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1 H, 10–H), 7.01 (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 11–H), 5.14 (d, J = 3.4 Hz, 1 H, 6–OH), 4.84 (t, J = 5.3 Hz, 1 H, 2'–OH), 4.46 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2–H_A), 4.05 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2–H_B), 3.76 (d, J = 12.4 Hz, 1 H, 4a–H_{ax}), 3.56–3.61 (m, 1 H, 6–H_{ax}), 3.49–3.61 (m, 3 H, 1'–H_A, 2'–H_AH_B), 3.30–3.35 (m, 1 H, 1'–H_B), 2.68–2.76 (m, 2 H, 7–H_{ax}H_{eq}), 2.29 (s, 3 H, 9–CH₃), 2.23 (da, J = 12.8 Hz, 1 H, 5–H_{eq}), 1.89–2.00 (m, 1 H, 5–H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, DMSO–D₆)**: δ = 166.8 (4–C=O), 164.4 (1–C=O), 138.2 (9–C), 138.0 (7a–C), 135.2 (11a–C), 131.8 (8–C), 128.3 (10–C, 11–C), 68.3 (6–C), 61.1 (4a–C), 58.8 (2'–C), 51.1 (2–C), 48.6 (1'–C), 43.6 (7–C), 43.3 (5–C), 21.0 (9–CH₃) ppm. **IR (ATR)**: ν_{\max} = 3398 (O–H),

2899 (C–H), 1647 (C=O_{amida}), 1503 (C=C), 1231 (C–N), 1037 (C–O) cm⁻¹. **ESI (Modo Positivo): *m/z* (%) = 631 (66, [2M+Na]⁺), 327 (100, [M+Na]⁺), 305 (12, [M+H]⁺), 287 (5, [M–H₂O+H]⁺).** **EMAR (Q–TOF–ESI): *m/z*** Calculado para **C₁₆H₂₁N₂O₄** [M + H]⁺: 305.1496, encontrado: 305.1495.

5.5.3 **9–Flúor–6–hidroxi–3–(2–hidroxietil)–2,3,4a,5,6,7–hexahidrobenzo[*f*]pirazino– [1,2–*a*]azepina–1,4–diona 5c.** De 0.27 g (0.85 mmoles) de **4c**, 0.20 mL (3.40 mmoles) de etanolamina, y después de 4 horas y media de calentamiento, se obtuvieron 0.21 g (0.68 mmoles, 80.15%), del producto **5c**. Sólido blanco, **P.f.** 208–209 °C. **R_f**= 0.23 (6.7% acetato de etilo–etanol). **¹H RMN (400 MHz, DMSO–D₆):** δ = 7.18–7.21 (m, 2 H, 8–H, 11–H), 7.09 (td, *J* = 8.5, 2.9 Hz, 1 H, 10–H), 5.18 (sa, 1 H, 6–OH), 4.82–4.84 (m, 1 H, 2'–OH), 4.48 (d, *J* = 17.5 Hz, 1 H, 2–H_A), 4.06 (d, *J* = 17.5 Hz, 1 H, 2–H_B), 3.82 (d, *J* = 11.9 Hz, 1 H, 4a–H_{ax}), 3.59–3.66 (m, 1 H, 6–H_{ax}), 3.50–3.59 (m, 3 H, 1'–H_A, 2'–H_AH_B), 3.25–3.41 (m, 1 H, 1'–H_B), 2.82 (d, *J* = 13.3 Hz, 1 H, 7–H_{eq}), 2.70–2.76 (m, 1 H, 7–H_{ax}), 2.24 (da, *J* = 12.1, 1 H, 5–H_{eq}), 1.93–2.02 (m, 1 H, 5–H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, DMSO–D₆):** δ = 166.6 (4–C=O), 164.5 (1–C=O), 161.5 (d, *J* = 244.8 Hz, 9–C), 138.3 (d, *J* = 7.7 Hz, 7a–C), 137.0 (d, *J* = 7.6 Hz, 11a–C), 130.7 (d, *J* = 9.1 Hz, 11–C), 117.7 (d, *J* = 22.4 Hz, 8–C), 114.4 (d, *J* = 22.5 Hz, 10–C), 67.9 (6–C), 60.9 (4a–C), 58.8 (2'–C), 51.0 (2–C), 48.6 (1'–C), 43.2 (5–C, 7–C) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3319 (O–H), 2894 (C–H), 1646 (C=O_{amida}), 1498 (C=C), 1251 (C–N), 1066 (C–O) cm⁻¹. **ESI (Modo Positivo): *m/z* (%) = 639 (72, [2M+Na]⁺), 331 (100, [M+Na]⁺), 309 (8, [M+H]⁺), 291 (3, [M–H₂O+H]⁺).** **EMAR (Q–TOF–ESI): *m/z*** Calculado para **C₁₅H₁₈FN₂O₄** [M + H]⁺: 309.1245, encontrado: 309.1245.

5.5.4 **9–Cloro–6–hidroxi–3–(2–hidroxietil)–2,3,4a,5,6,7–hexahidrobenzo[*f*]pirazino– [1,2–*a*]azepina–1,4–diona 5d.** De 0.19 g (0.57 mmoles) de **4d**, 0.14 mL (2.28 mmoles) de etanolamina, y después de 5 h de calentamiento, se obtuvieron 0.14 g (0.43 mmoles, 76.09%), del producto **5d**. Sólido blanco, **P.f.** 193–194 °C. **R_f**= 0.23 (6.77% acetato de etilo–etanol). **¹H RMN (400**

MHz, DMSO-D₆): δ = 7.44 (sa, 1 H, 8-H), 7.33 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1 H, 10-H), 7.18 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 11-H), 5.19 (d, J = 2.8 Hz, 1 H, 6-OH), 4.83 (t, J = 5.3 Hz, 1 H, 2'-OH), 4.48 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2-H_A), 4.06 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2-H_B), 3.84 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, 4a-H_{ax}), 3.61–3.71 (m, 1 H, 6-H_{ax}), 3.50–3.58 (m, 3 H, 1'-H_A, 2'-H_{AH_B}), 3.29–3.37 (m, 1 H, 1'-H_B), 2.84 (d, J = 13.8 Hz, 1 H, 7-H_{eq}), 2.74 (dd, J = 13.8, 10.8 Hz, 1 H, 7-H_{ax}), 2.24 (d, J = 12.1 Hz, 1 H, 5-H_{eq}), 1.93–2.01 (m, 1 H, 5-H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, DMSO-D₆):** δ = 166.6 (4-C=O), 164.5 (1-C=O), 139.7 (11a-C), 138.0 (7a-C), 132.6 (9-C), 131.0 (8-C), 130.6 (11-C), 127.6 (10-C), 67.8 (6-C), 60.7 (4a-C), 58.7 (2'-C), 51.0 (2-C), 48.7 (1'-C), 43.2 (5-C), 43.1 (7-C) ppm. **IR (ATR):** ν_{\max} = 3400 (O-H), 2890 (C-H), 1640 (C=O_{amida}), 1510 (C=C), 1248 (C-N), 1035 (C-O) cm⁻¹. **ESI (Modo Positivo):** m/z (%) = 671 (59, ³⁵Cl, [2M+Na]⁺), 347 (100, [M+Na]⁺), 325 (7, [M+H]⁺). **EMAR (Q-TOF-ESI):** m/z Calculado para C₁₅H₁₈ClN₂O₄ [M + H]⁺: 325.095, encontrado: 325.0947.

5.5.5 **9-Bromo-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[*f*]pirazino- [1,2-*a*]azepina-1,4-diona 5e.** De 0.14 g (0.37 mmoles) de 4e, 0.10 mL (1.50 mmoles) de etanolamina, y después de 6 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.12 g (0.32 mmoles, 86.23%), del producto 6e. Sólido blanco, **P.f.** 180–181 °C. **R_f** = 0.25 (6.7 % acetato de etilo-etanol). **¹H RMN (400 MHz, DMSO-D₆):** δ = 7.58 (s, 1 H, 8-H), 7.46 (dd, J = 8.4, 2.3 Hz, 1 H, 10-H), 7.12 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 11-H), 5.18 (d, J = 2.9 Hz, 1 H, 6-OH), 4.83 (t, J = 5.4 Hz, 1 H, 2'-OH), 4.48 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2-H_A), 4.06 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2-H_B), 3.85 (d, J = 12.6 Hz, 1 H, 4a-H_{ax}), 3.61–3.69 (m, 1 H, 6-H_{ax}), 3.50–3.58 (m, 3 H, 1'-H_A, 2'-H_{AH_B}), 3.30–3.38 (m, 1 H, 1'-H_B), 2.83 (d, J = 13.3 Hz, 1 H, 7-H_{eq}), 2.72 (dd, J = 13.3, 10.7 Hz, 1 H, 7-H_{ax}), 2.23 (da, J = 12.2 Hz, 1 H, 5-H_{eq}), 1.91–2.04 (m, 1 H, 5-H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, DMSO-D₆):** δ = 166.6 (4-C=O), 164.4 (1-C=O), 140.1 (11a-C), 138.3 (7a-C), 133.9 (8-C), 130.9 (11-C), 130.6 (10-C), 121.2 (9-C), 67.8 (6-C), 60.7 (4a-C), 58.7 (2'-C), 51.0 (2-C), 48.7 (1'-C), 43.2 (5-C), 43.0 (7-C) ppm. **IR (ATR):** ν_{\max} = 3330 (O-H), 2885 (C-H), 1646 (C=O_{amida}), 1488 (C=C),

1243 (C–N), 1040 (C–O) cm^{-1} . **ESI (Modo Positivo):** m/z (%) = 761 (55, ^{79}Br , $[2\text{M}+\text{Na}]^+$), 393 (100, ^{81}Br , $[\text{M}+\text{Na}]^+$) 391 (96, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 369 (3, $[\text{M}+\text{H}]^+$). **EMAR (Q–TOF–ESI):** m/z Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{BrN}_2\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 369.0444, encontrado: 369.0446.

5.5.6 **8,10–Dimetil–6–hidroxi–3–(2–hidroxietil)–2,3,4a,5,6,7–hexahidrobenzo[*f*]–pirazino[1,2–*a*]azepina–1,4–diona 5f.** De 0.23 g (0.71 mmoles) de **4f**, 0.17 mL (2.84 mmoles) de etanolamina, y después de 4 horas y media de calentamiento, se obtuvieron 0.20 g (0.64 mmoles, 91.11%), del producto **5f**. Sólido blanco, **P.f.** 211–212 °C. **R_f** = 0.20 (6.7% acetato de etilo–etanol). **^1H RMN (400 MHz, DMSO–D₆):** δ = 6.99 (s, 1 H, 9–H), 6.79 (s, 1 H, 11–H), 5.15 (d, J = 3.6 Hz, 1 H, 6–OH), 4.83 (t, J = 5.5 Hz, 1 H, 2'–OH), 4.48 (d, J = 17.5 Hz, 1 H, 2–H_A), 4.03 (d, J = 17.5 Hz, 1 H, 2–H_B), 3.73 (dd, J = 12.8, 2.0 Hz, 1 H, 4a–H_{ax}), 3.54–3.58 (m, 2 H, 2'–H_AH_B), 3.46–3.52 (m, 2 H, 6–H_{ax}, 1'–H_A), 3.32–3.38 (m, 1 H, 1'–H_B), 2.97 (d, J = 13.7 Hz, 1 H, 7–H_{eq}), 2.46 (dd, J = 13.7, 11.2 Hz, 1 H, 7–H_{ax}), 2.31 (s, 3 H, 8–CH₃), 2.21 (s, 3 H, 10–CH₃), 2.19–2.21 (m, 1 H, 5–H_{eq}), 1.94 (td, J = 12.9, 10.4 Hz, 1 H, 5–H_{ax}) ppm. **^{13}C RMN (100 MHz, DMSO–D₆):** δ = 166.8 (4–C=O), 164.3 (1–C=O), 141.3 (7a–C), 137.3 (8–C), 136.3 (10–C), 131.1 (11a–C), 131.0 (9–C), 126.4 (11–C), 67.8 (6–C), 61.1 (4a–C), 58.8 (2'–C), 51.1 (2–C), 48.6 (1'–C), 42.9 (5–C), 38.1 (7–C), 20.7 (10–CH₃), 20.4 (8–CH₃) ppm. **IR (ATR):** ν_{max} = 3356 (O–H), 2916 (C–H), 1640 (C=O_{amida}), 1448 (C=C), 1266 (C–N), 1064 (C–O) cm^{-1} . **ESI (Modo Positivo):** m/z (%) = 659 (96, $[2\text{M}+\text{Na}]^+$), 357 (3, $[\text{M}+\text{K}]^+$), 341 (100, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 319 (1, $[\text{M}+\text{H}]^+$). **EMAR (Q–TOF–ESI):** m/z Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 319.1652, encontrado: 319.1654.

5.5.7 **6–Hidroxi–3–(2–hidroxietil)–9–metoxi–2,3,4a,5,6,7–hexahidrobenzo[*f*]pirazino– [1,2–*a*]azepina–1,4–diona 5g.** De 0.23 g (0.70 mmoles) de **4g**, 0.17 mL (2.80 mmoles) de etanolamina, y después de 1 hora y media de calentamiento, se obtuvieron 0.21 g (0.67 mmoles, 94.30%), del producto **5f**. Sólido blanco, **P.f.** 209–210 °C. **R_f** = 0.18 (6.7% acetato de etilo–etanol). **^1H RMN**

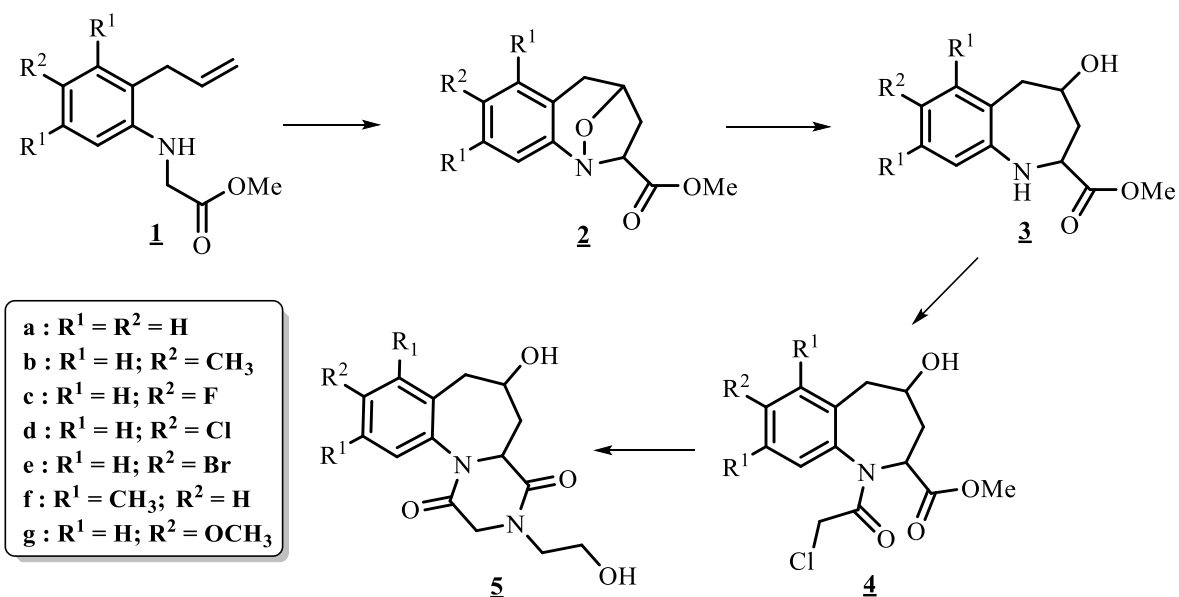
(400 MHz, DMSO-D₆): δ = 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 11-H), 6.88 (d, J = 2.9 Hz, 1 H, 8-H), 6.80 (dd, J = 8.6, 2.9 Hz, 1 H, 10-H), 5.14 (d, J = 3.0 Hz, 1 H, 6-OH), 4.83 (t, J = 5.5 Hz, 1 H, 2'-OH), 4.46 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2-H_A), 4.04 (d, J = 17.6 Hz, 1 H, 2-H_B), 3.76 (s, 3 H, 9-OCH₃), 3.75–3.78 (m, 1 H, 4a-H_{ax}), 3.58–3.63 (m, 1 H, 6-H_{ax}), 3.49–3.57 (m, 3 H, 1'-H_A, 2'-H_AH_B), 3.29–3.34 (m, 1 H, 1'-H_B), 2.68–2.79 (m, 2 H, 7-H_{ax}H_{eq}), 2.23 (dd, J = 12.6, 2.9 Hz, 1 H, 5-H_{eq}), 1.91–1.97 (m, 1 H, 5-H_{ax}) ppm. **¹³C RMN (100 MHz, DMSO-D₆):** δ = 166.8 (4-C=O), 164.5 (1-C=O), 159.0 (9-C), 136.9 (7a-C), 133.5 (11a-C), 129.6 (11-C), 116.3 (8-C), 112.9 (10-C), 68.3 (6-C), 61.3 (4a-C), 58.8 (2'-C), 55.8 (9-OCH₃), 51.1 (2-C), 48.6 (1'-C), 43.7 (7-C), 43.4 (5-C) ppm. **IR (ATR):** ν_{\max} = 3365 (O-H), 2942 (C-H), 1650 (C=O_{amida}), 1500 (C=C), 1231 (C-N), 1027 (C-O) cm⁻¹. **ESI (Modo Positivo):** m/z (%) = 663 (87, [2M+Na]⁺), 359 (3, [M+K]⁺), 344 (100, [M+Na]⁺), 321 (3, [M+H]⁺). **EMAR (Q-TOF-ESI):** m/z Calculado para C₁₆H₂₁N₂O₅ [M + H]⁺: 321.1445, encontrado: 321.1441.

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En esta sección se intentará resaltar la versatilidad de la ruta de síntesis diseñada e implementada en el LSO para desarrollar, de una manera efectiva y fácil, a partir de los 2-((2-alilaril)amino)acetatos de metilo **1**, una librería pequeña de compuestos derivados del sistema tricíclico de la hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-diona **5** (Esquema 10), compuestos que aún no han sido descritos en la literatura especializada, tal y como se pudo constatar de la exhaustiva revisión bibliográfica que se realizó antes y durante la ejecución de este Trabajo de Grado.

Es conveniente anotar, sin embargo, que este Trabajo de Grado, en esencia, representa una lógica continuación de trabajos previos realizados en el LSO por otros estudiantes de pregrado y posgrado, por lo que en esta sección se discutirá en detalle sólo la síntesis y la caracterización espectroscópica de los verdaderamente nuevos compuestos N-acilados de los 4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4** y sus correspondientes productos de ciclación, las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-dionas **5**; para estos últimos compuestos, que representan el objetivo principal de este Trabajo de Grado, también se reportan los resultados de la evaluación de su presumible actividad anticancerígena realizada en el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos. En correspondencia con lo anterior, la síntesis y caracterización de los 2,3,4,5-tetrahydro-1,4-epoxibenzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **2** y los *cis*-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **3** no se discutirá en detalle, porque toda la información de carácter sintético y espectroscópico de estos compuestos se puede consultar en el Trabajo de Grado de Sergio Pardo.²⁶

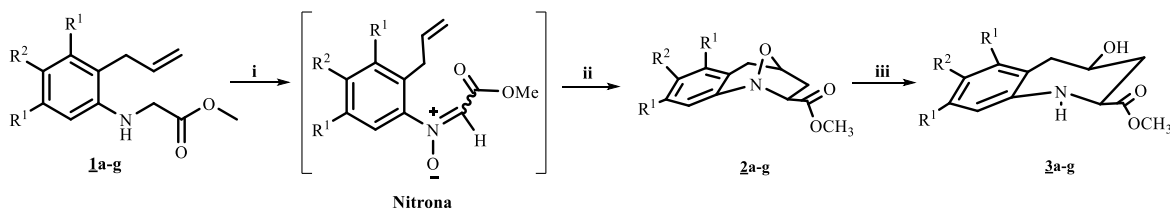
Esquema 10. Ruta de síntesis utilizada para preparar las hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-dionas diseñadas.



6.1 Síntesis de los *cis*-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **3a-g**.

Como se aprecia en el esquema 11, los α -amino-ésteres **3a-g**, precursores inmediatos de los productos finales de interés, se sintetizaron en dos etapas mediante dos transformaciones químicas bien estudiadas, a partir de los 2-((2-alilaril)amino)acetatos de metilo **1**: la oxidación selectiva de aminas secundarias y la apertura reductiva de isoxazolidinas.

Esquema 11. Ruta de síntesis desarrollada en el LSO para acceder a los amino-alcoholes **3a-g**. i. $H_2O_2/MeOH, Na_2WO_4$; ii. Tolueno-reflujo; iii. $Zn/HCl/AcOH$.



Brevemente, la preparación previa de los compuestos de partida **1a-g** se llevó a cabo por una N–alquilación de las correspondientes 2–alililinas en una típica reacción de sustitución nucleofílica S_N2 , utilizando bromoacetato de metilo como agente alquilante. Para tal propósito, los dos componentes (anilinas y agente alquilante) se hicieron reaccionar en cantidades equimolares en DMF como disolvente de la reacción, y en la presencia de un ligero exceso de carbonato de sodio (1.2 equivalentes gramo) y de cantidades catalíticas de KI; el papel de esta última sal es el de actuar como coadyuvante de la reacción de sustitución nucleofílica. En la mayoría de los casos, la reacción de N–alquilación transcurrió a 60 °C; la excepción fue para la N–alquilación de la *orto*–alililina 4–metoxi–sustituida, la cual transcurrió a la temperatura del ambiente y en un menor tiempo debido, muy seguramente, al carácter básico más acentuado del nitrógeno de la anilina como resultado de la transferencia de densidad electrónica por efecto mesomérico desde el grupo metoxilo al átomo de nitrógeno. Después de la correspondiente purificación de los crudos de las reacciones por cromatografía en columna, fue posible aislar los productos **1a-g** como aceites viscosos de color amarillo y con rendimientos del 64 al 82%.

En la siguiente etapa, para la oxidación selectiva de los 2–((2–alilaril)amino)acetatos de metilo **1a-g** (formación de las nitronas intermedias), éstos se disolvieron en metanol y se hicieron reaccionar a la temperatura del ambiente con exceso de una solución 30% de peróxido de hidrógeno, y en la presencia de tungstanato de sodio dihidratado.²⁴ La desaparición de **1a-g** de la mezcla de reacción (corroborada por CCF) se tomó como una clara evidencia de la formación de las correspondientes nitronas, las cuales no se aislaron sino que, después de haber sido eliminado el catalizador (por filtración), el metanol y el exceso de H_2O_2 (por evaporación al vacío), se disolvieron en tolueno y se calentaron a reflujo para inducir térmicamente la cicloadición intramolecular 1,3–dipolar entre la nitrona recién generada (1,3–

dipolo) y el fragmento olefínico terminal (dipolarófilo) de las *orto*-alilanilinas. Después de la purificación de los crudos de las reacciones por cromatografía en columna, se obtuvieron los correspondientes 2,3,4,5-tetrahidro-1,4-epoxibenzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **2a-g** con rendimientos del 46 al 57%; **2a-c** y **2e-g** se aislaron como sólidos blancos, mientras que el compuesto **2d** se obtuvo como una pasta vítrea de color amarillo.

A continuación, los 1,4-epoxicicloadductos **2a-g** fueron sometidos a una apertura reductiva del enlace cabeza de puente N-O, para así completar la preparación de los precursores estratégicos de los productos de interés diseñados, los α -amino-ésteres **3a-g**. Para conseguir la apertura reductiva de **2a-g** se utilizaron las mismas condiciones experimentales que se habían establecido previamente en otros trabajos relacionados, es decir, disolviendo **2a-g** en metanol a 0 °C y luego tratándolos con un exceso de cinc en polvo, ácido acético glacial y ácido clorhídrico concentrado. En estas condiciones de reacción, al cabo de 10 a 90 minutos tuvo lugar la completa apertura del enlace N-O con la concomitante formación de los α -amino-ésteres **3a-g**, los cuales fueron aislados como sólidos blancos con rendimientos del 76 al 93%.

Como se mencionó al comienzo de esta sección, la ruta sintética que se utilizó para realizar la síntesis estereoselectiva de los productos **3a-g** fue desarrollada e implementada con mucho éxito en varios trabajos previos,^{28,29} lo que justifica que acá sólo se hubiese presentado una breve descripción de la misma, y que no se hubiese discutido en detalle la caracterización de dichos productos, ya que fue el mismo análisis con ayuda del cual se realizó la completa elucidación estructural de los cuatro productos (**3a-c, e**), que ya fueron reportados en el Trabajo de Grado de Guerrero²⁶ y en la Tesis de Maestría de Sanabria.²⁵ Basta con dejar constancia que las propiedades físicas y espectroscópicas (IR, CG-MS, ¹H-RMN y ¹³C-RMN) de estos cuatro compuestos, así como las de sus inmediatos y lejanos progenitores **2a-c,e** y **1a-c,e**, respectivamente, coinciden en su totalidad con las ya reportadas

en los trabajos recién citados. También es pertinente constatar que con el minucioso análisis de los espectros bidimensionales de ^1H RMN, pero especialmente los de NOESY, y con los valores de las constantes de acoplamiento de los protones alifáticos del anillo azepínico, fue posible reconfirmar que la cicloadición intramolecular 1,3-dipolar de las nitronas intermedias fue altamente estereoselectiva con formación del correspondiente cicloaducto *exo*, y que la subsiguiente apertura reductiva de dichos cicloaductos fue estereoespecífica con formación exclusiva de los isómeros *cis*-2,4-disustituidos, en los cuales el anillo de la tetrahydroazepina adopta la conformación de silla.

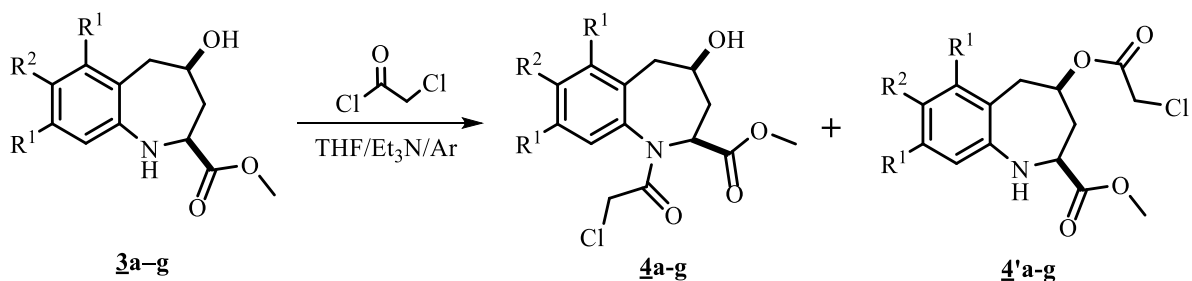
Teniendo en consideración lo recién expuesto, y en aras de evitar la duplicación de la información ya reportada, en la parte experimental de este manuscrito sólo se incluyeron los datos espectroscópicos detallados (IR, CG-MS, RMN ^1H y RMN ^{13}C) y las propiedades físico-químicas para los compuestos **1d**, **1f,g**, **2d**, **2f,g**, **3d**, y **3f,g**.

6.2 Preparación de los *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b]azepina-2-carboxilatos de metilo **4a-g y sus isómeros de O-cloroacetilación **4'a-g**.**

Para acceder a los compuestos **4a-g** diseñados fue necesario someter a los aminoalcoholes precursores **3a-g** a un proceso de N-acilación, utilizando para este fin el cloruro del ácido 2-cloroacético (Esquema 12). La reacción se realizó en atmósfera inerte (argón), en la presencia de trietilamina anhidra como base y tetrahidrofurano seco (THF) como disolvente. El uso de la atmósfera inerte evita la descomposición del agente acilante, y favorece, al mismo tiempo, el proceso de N-acilación, aunque, como lo indican los tiempos de reacción prolongados (72 horas), este proceso fue bastante lento. Después de la correspondiente purificación de los crudos de las reacciones por cromatografía en columna, los productos deseados **4a-g** se aislaron, en su mayoría, como pastas vítreas, siendo la excepción los derivados **4f** y **4g**, que se aislaron como sólidos blancos; los rendimientos de las reacciones oscilaron entre el 40 y 51%.

Los rendimientos modestos de los productos de N-acilación se pueden, en parte, explicar por el hecho de que todas las reacciones se realizaron a la temperatura del ambiente, y porque, incluso a esta temperatura, fue imposible evitar la formación de los productos de O-cloroacetilación, en una clara competencia de los grupos amino e hidroxilo presentes en la molécula por el agente acilante. De hecho, según los controles de las reacciones por CCF, a temperaturas mayores se observaba un incremento considerable en la formación de estos últimos. Se probó incrementar el rendimiento de los productos deseados realizando la reacción a 0 °C, pero a esta temperatura no se observó ninguna transformación. Adicionalmente, la presencia del grupo electroatractor metoxicarbonilo en la posición C-2 adyacente al grupo amino, puede, por acción del efecto inductivo y por impedimento estérico (apantallamiento del par de electrones libres sobre el nitrógeno), disminuir también la capacidad (fuerza) nucleofílica del grupo amino, y así retardar el proceso mismo de N-acilación. Aunque en todos los casos se evidenció la formación de los productos de O-cloroacetilación, es decir, los *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4'a-g**, sólo fue posible aislar de manera individual tres de ellos (**4'd-f**), los cuales se obtuvieron como sustancias sólidas con rendimientos del 5-10%. Es importante anotar que la separación de los productos de N-acilación y O-acilación fue difícil, porque prácticamente coelúan de la columna cromatográfica, siendo esta la causa por la cual los derivados **4'a-c** y **4'g** no se pudieron aislar como entidades químicas individuales, sino como mezclas inseparables con sus isómeros **4a-c** y **4g**, con lo cual los rendimientos globales de los productos puros formados se vieron disminuidos.

Esquema 12. Productos de N- y O-acilación de los amino-alcoholes **3a-g**.



La caracterización completa de los compuestos de N-cloroacilación **4a-g** y de O-cloroacilación **4'd-f** se realizó por espectroscopia de infrarrojo, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de baja resolución, espectrometría de masas de alta resolución, resonancia magnética nuclear monodimensional (RMN ^1H , RMN ^{13}C) y bidimensional (^1H - ^1H COSY, HMBC, HSQC).

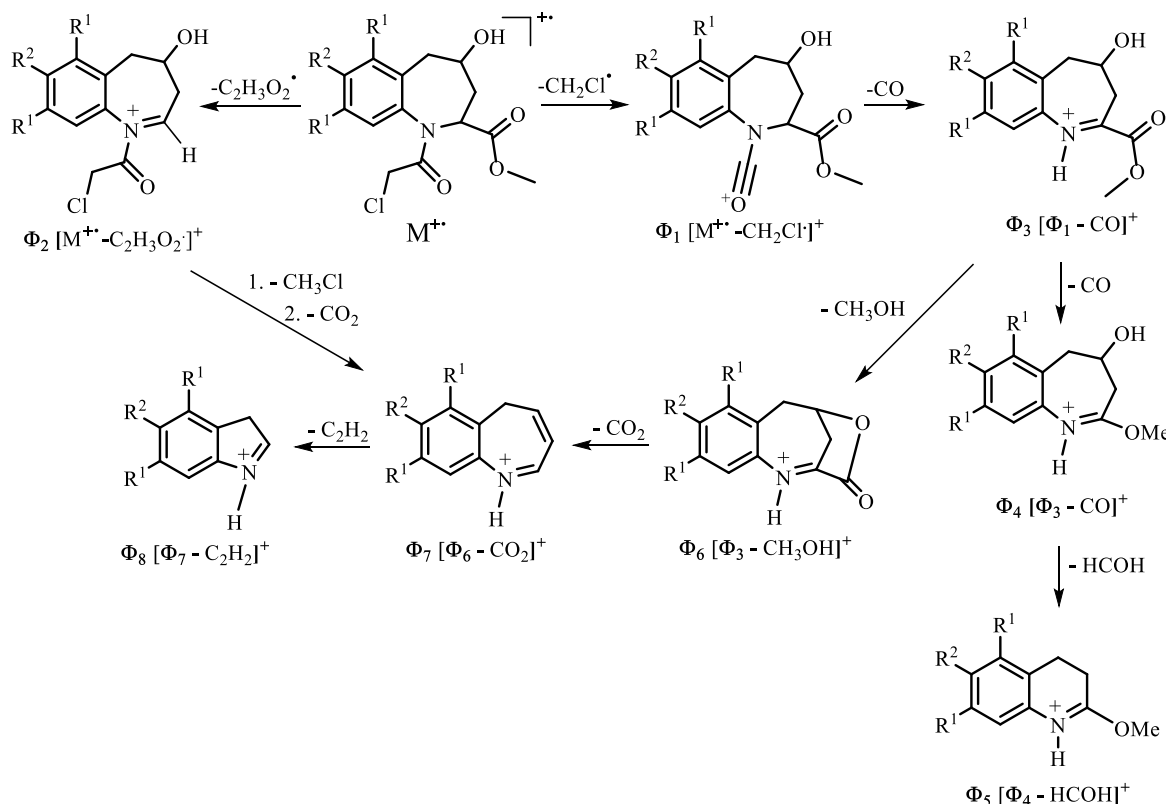
El análisis por espectroscopia de infrarrojo evidenció la presencia del fragmento 2-clorometilcarbonilo como parte integral de los productos **4a-g** (Anexo 1), confirmándose así la desaparición de la banda de vibración de tensión del grupo amino secundario N-H, que, aunque en la mayoría de los casos se solapa con la banda de absorción del grupo hidroxilo, es característica en los espectros de los precursores **3a-g** ($3278\text{--}3541\text{ cm}^{-1}$). La nueva banda de absorción asociada a la vibración de tensión del enlace C=O del grupo amida se registra en el rango de $1643\text{--}1668\text{ cm}^{-1}$, mientras que las presumibles vibraciones de flexión de tipo aleteo del grupo $\text{CH}_2\text{--Cl}$ y de la vibración de tensión del enlace C-Cl se registran en los rangos de $1377\text{--}1385$ y $746\text{--}834\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. Otras bandas de absorción características para este tipo de compuestos, que también estaban presentes en los espectros de los precursores, son: la de la vibración de tensión del grupo hidroxilo O-H, en $3434\text{--}3520\text{ cm}^{-1}$, la de la vibración de tensión del grupo carbonilo del fragmento metoxycarbonilo, en $1723\text{--}1777\text{ cm}^{-1}$, la de la presumible vibración de tensión del enlace C=C aromático, en $1483\text{--}1499\text{ cm}^{-1}$, y las presumibles vibraciones de tensión del enlace O-C-O, en $1019\text{--}1054\text{ cm}^{-1}$. Los valores de los

números de onda de las principales bandas de absorción para cada derivado se reportan en la parte experimental.

El análisis de **4a–g** por espectrometría de masas también corroboró su formación, pues los picos de los iones moleculares de baja y mediana intensidades registrados en los espectros de masas coinciden con la masa nominal de cada una de sus fórmulas condensadas (Anexo 1). En el esquema 13 se proponen las posibles rutas de fragmentación de los iones moleculares de estos compuestos, las cuales se realizan a través de dos canales de fragmentación diferentes; por el primero, se produce la pérdida del radical $\cdot\text{CH}_2\text{Cl}$, que da origen al ión fragmento Φ_1 del tipo ((4-hidroxi-2-(metoxicarbonil)-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1-*il*)metilidina)oxonio, y por el segundo pierden un radical $\cdot\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$, que condiciona la generación del ión fragmento Φ_2 del tipo 1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-4,5-dihidro-3*H*-benzo[*b*]azepin-1-*io*. Estos dos iones fragmento también decaen por diferentes canales de fragmentación. Así, el ión fragmento Φ_1 , al perder monóxido de carbono, se transforma en el ión 4-hidroxi-2-(metoxicarbonil)-4,5-dihidro-3*H*-benzo[*b*]azepin-1-*io* Φ_3 , el cual nuevamente pierde monóxido de carbono, pero esta vez el fragmento metoxicarbonilo, y se transforma en el catión 4-hidroxi-2-metoxi-4,5-dihidro-3*H*-benzo[*b*]azepin-1-*io* Φ_4 , que decae por la pérdida de una molécula de formaldehído y se convierte en el ión 2-metoxi-3,4-dihidroquinolin-1-*io* Φ_5 , el cual es el ión pico de base para los compuestos **4b**, **4d**, **4e**, y **4g**; por un segundo canal de fragmentación, el ión fragmento Φ_3 pierde una molécula de metanol y condiciona la generación del ión 3-oxo-5,6-dihidro-3*H*-2,5-metanobenzo[*e*][1,4]oxazocin-1-*io* Φ_6 , el que, a su vez, sufre una descarboxilación y produce el ión fragmento 5*H*-benzo[*b*]azepin-1-*io* Φ_7 , que representa el ión pico de base para los compuestos **4a** y **4f**; finalmente, Φ_7 pierde una molécula de acetileno y genera el ión 3*H*-indol-1-*io* Φ_8 , que es el ión pico de base para el compuesto **4c**. Al parecer, el ión fragmento Φ_7 también se genera como resultado de pérdidas sucesivas de una molécula de cloroformo y de una molécula de CO_2 desde el ión fragmento Φ_2 .

Las intensidades de los iones moleculares y de los iones fragmento de estos compuestos están reportadas en la parte experimental.

Esquema 13. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4a-g**.



A partir de la anterior información de IR y EM, y la posterior interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear, se corroboró inequívocamente la identidad completa de cada uno de los productos de N-acilación **4a-g**. A continuación, se presentará una descripción detallada de la asignación de cada una de las señales registradas en los espectros de RMN 1H y RMN ^{13}C , y sus correlaciones homonuclear y heteronuclear registradas en los espectros bidimensionales COSY, HMBC y HSQC. Por último, se presentará un análisis de la determinación de la estereoquímica de los sustituyentes ubicados en C-2 y C-4 con la ayuda de los espectros NOESY.

Para iniciar, cuando se comparan los espectros de RMN ^1H de los amino-alcoholes **3a–g** con los espectros de los productos **4a–g**, se observa que, independientemente de los valores de los desplazamientos químicos de las diferentes señales de los protones aromáticos y alifáticos, la diferencia entre ellos la constituye la ausencia del singulete característico que era generado por el protón del grupo amino en **3a–g** ($\delta = 4.29\text{--}4.40$ ppm), y la aparición, a campo intermedio de los espectros, de dos nuevas señales en forma de doblete ($J = 13.0\text{--}13.2$ Hz), las cuales fueron generadas por los protones metilénicos del fragmento cloroacetilo ($\text{ClCH}_A\text{H}_B\text{CO}-$); el doblete que fue asignado al protón diastereotópico H_A se registra en el rango de $3.95\text{--}4.01$ ppm, mientras que el doblete generado por el protón diastereotópico H_B se encuentra en el rango de $3.86\text{--}3.89$ ppm.

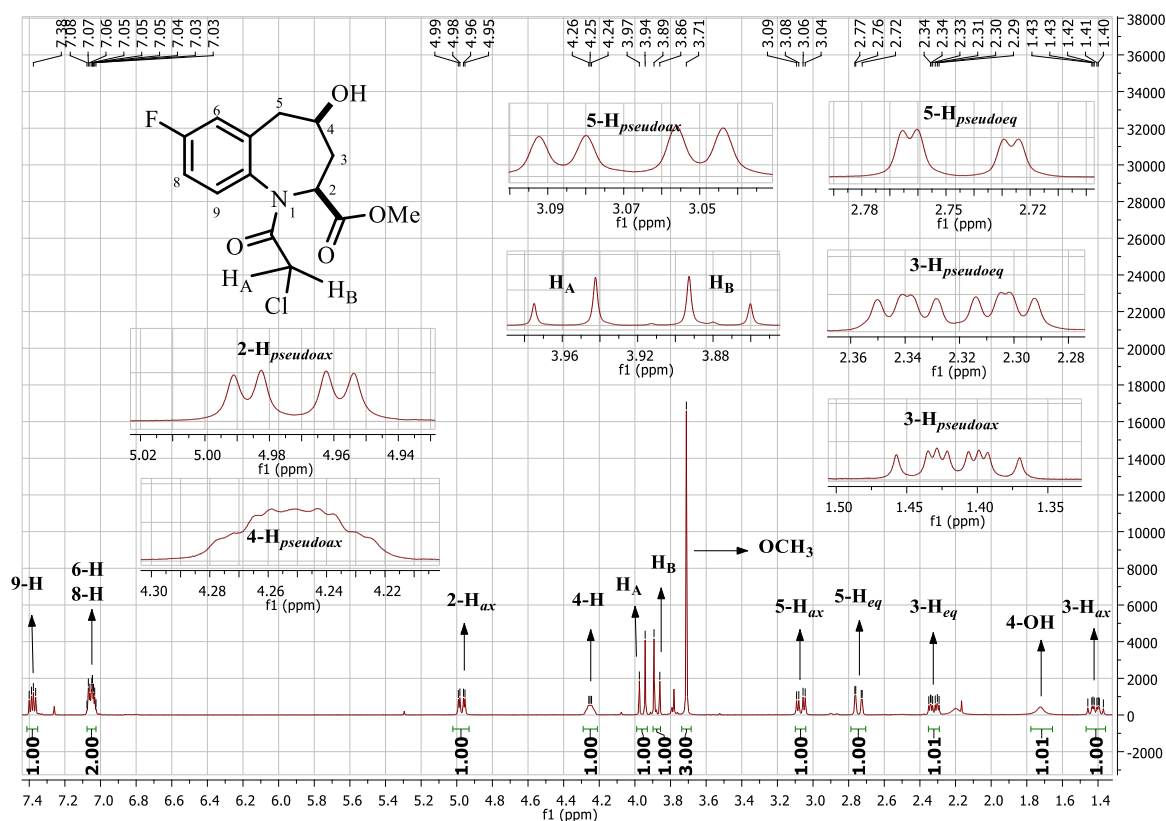
La asignación detallada de las señales de todos los protones de los compuestos **4a–g**, incluida la estereoquímica de los protones azepínicos, se realizó de la siguiente manera: el doblete de dobletes (dd), centrado en $4.85\text{--}5.02$ ppm, fue asignado al protón metínico 2-H_{ax} ; este protón presenta constantes de acoplamiento de $11.0\text{--}12.6$ y $3.1\text{--}3.6$ Hz, que son valores típicos para acoples vecinales de los tipos axial–axial y axial–ecuatorial con los protones vecinos $3\text{-H}_{ax}\text{H}_{eq}$. El doblete de dobletes de dobletes (ddd), centrado en $1.30\text{--}1.47$ ppm, fue asignado al protón 3-H_{ax} ; este protón presenta constantes de acoplamiento de $14.2\text{--}14.5$, $11.0\text{--}12.6$ y $8.7\text{--}9.5$ Hz, valores éstos que corresponden a los acoplamientos geminal con el protón 3-H_{eq} , y vecinales de los tipos axial–axial con el protón 2-H_{ax} y axial–pseudoaxial con el protón $4\text{-H}_{pseudoax}$. A campo ligeramente más bajo, centrado en $2.28\text{--}2.32$ ppm, se observa otro doblete de dobletes de dobletes que fue asignado al protón 3-H_{eq} ; este protón presenta una constante de acoplamiento geminal ($J = 14.2\text{--}14.5$ Hz) y dos constantes de acoplamiento vecinal asociadas a los acoples ecuatorial–(pseudo)axial con los protones 2-H_{ax} ($J = 3.1\text{--}3.8$ Hz) y $4\text{-H}_{pseudoax}$ ($J = 4.7\text{--}5.4$ Hz). El multiplete que se registra en el rango de $4.20\text{--}4.29$ ppm fue asignado al protón $4\text{-H}_{pseudoax}$. Centrados en $2.71\text{--}2.77$ y $3.04\text{--}3.09$ ppm se observan dos dobletes de dobletes, que fueron asignados a los

protones $5\text{-H}_{\text{pseudoeq}}$ y $5\text{-H}_{\text{pseudoax}}$, respectivamente; estos protones presentan una constante de acoplamiento geminal de 14.4–14.7 Hz, y sus correspondientes constantes de acoplamiento vecinal de los tipos pseudoecuatorial–pseudoaxial de 1.7–2.3 Hz y pseudoaxial–pseudoaxial de 4.8–5.0 Hz.

Además de las señales generadas por los 6 protones azepínicos y los dos protones metilénicos del fragmento cloroacetilo, en las regiones de campo alto e intermedio de los espectros también se observan dos singuletes, uno ancho, centrado en 1.63–2.00 ppm y que integra para un protón, y el otro, centrado en 3.70–3.72 ppm y que integra para 3 protones; el primero fue asignado al protón del grupo hidroxilo, y el segundo, a los protones del metoxilo del grupo metoxicarbonilo. En la zona aromática de los espectros se registran de dos a cuatro señales, cuyas multiplicidades dependen del grado de sustitución del anillo de benceno.

En la parte experimental se reportan los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamientos de todos los protones de los productos **4a–g**. Como un ejemplo representativo, en la figura 23 se reproduce el espectro de RMN ^1H del derivado **4c** con las asignaciones de todos sus protones y las integrales para cada una de las señales registradas.

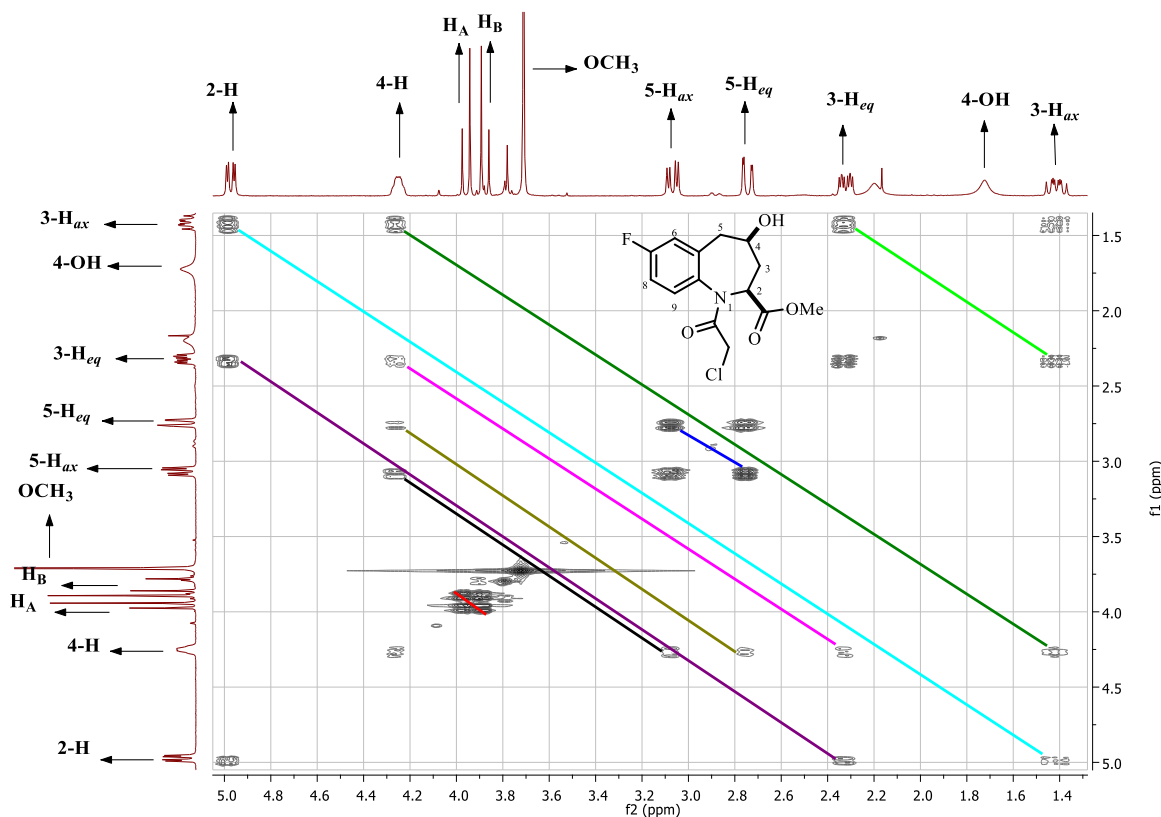
Figura 23. Espectro de RMN ^1H del *cis*-1-(2-cloroacetil)-7-flúor-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4c** (CDCl_3 , 400 MHz).



Todas las anteriores asignaciones de los protones aromáticos y alifáticos se corroboraron inequívocamente con el análisis exhaustivo de los espectros de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY y de correlación heteronuclear HMBC y HSQC A modo de ejemplo, en la figura 24 se reproduce una expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro COSY del compuesto **4c**, en el que con líneas coloreadas se representan las diferentes correlaciones geminales y vecinales que presentan los protones del anillo azepínico; éstas se identificaron de la siguiente manera: los contornos de las señales que están unidos en diagonal con las líneas verde claro y azul oscuro corresponden a las correlaciones entre los protones geminales 3-H_{ax}/3-H_{eq} y 5-H_{pseudoax}/5-H_{pseudoeq}; los contornos de las señales que se encuentran unidos con las líneas azul celeste y morada corresponden a las

correlaciones que presenta el protón 2-H_{ax} con sus protones vecinos 3-H_{ax} y 3-H_{eq}, respectivamente; de igual manera, se observa que el protón metínico 4-H_{pseudoax} presenta cuatro correlaciones, dos con los protones vecinos 3-H_{ax} y 3-H_{eq}, representadas con las líneas verde oscuro y fucsia, respectivamente, y dos con los otros dos protones vecinos 5-H_{pseudoax} y 5-H_{pseudoeq}, representadas con las líneas negra y amarillo oscuro, respectivamente. Finalmente, que los nuevos protones diastereotópicos del fragmento cloroacetilo son magnéticamente diferentes quedó demostrado por el cross-peak que se observa entre ellos (línea roja).

Figura 24. Expansión de las regiones de campo intermedio y alto del espectro de correlación homonuclear ¹H-¹H COSY del derivado **4c**.



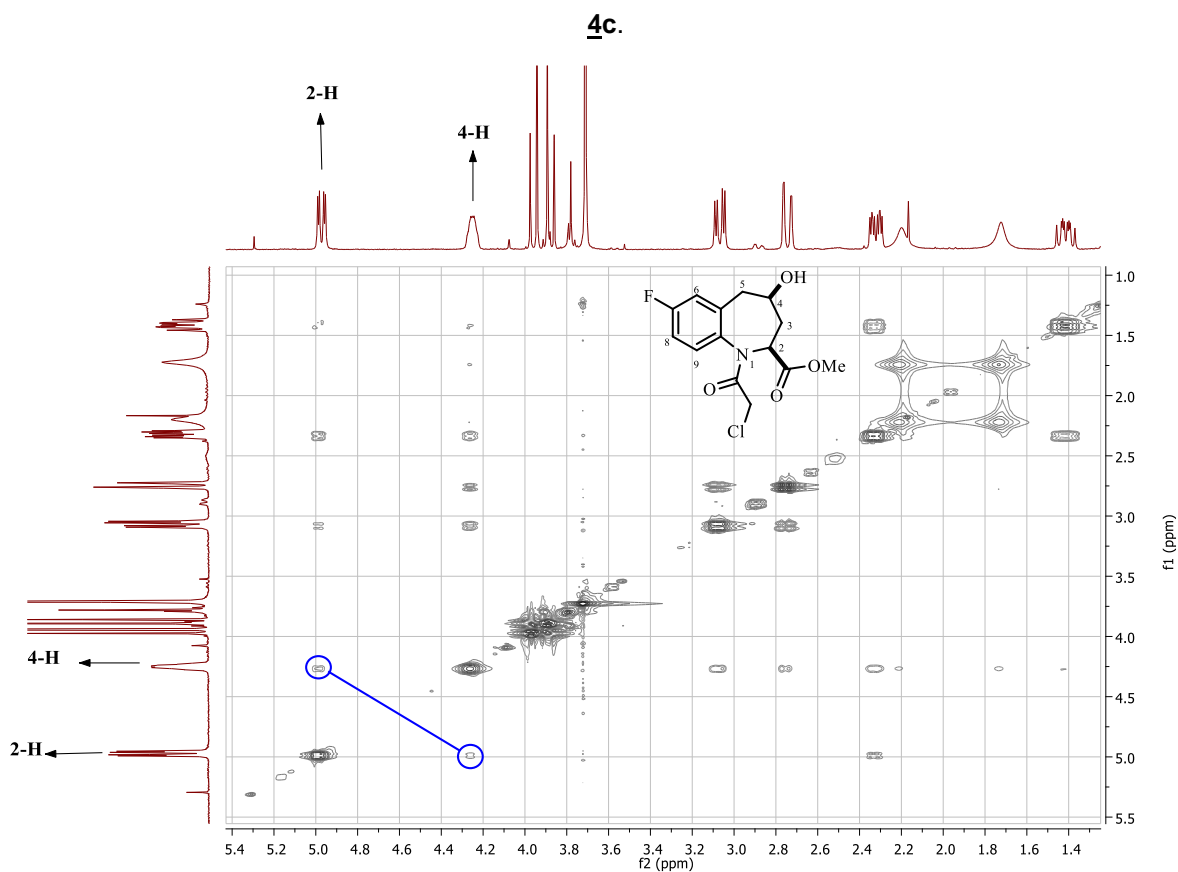
Con ayuda del análisis combinado de los espectros de RMN ¹³C, DEPT-135, HMBC y HSQC se realizó la asignación inequívoca de cada uno de los carbonos que

constituyen los esqueletos carbonados de los nuevos compuestos sintetizados **4a–g**. Al comparar los espectros de RMN ^{13}C de los precursores **3a–g** con los de **4a–g**, se comprueba que en estos últimos se registran dos nuevas señales, una a campo muy bajo, en 166.7–167.0 ppm, que es generada por el carbono del carbonilo amídico, y la otra a campo alto, en 41.4–42.0 ppm, perteneciente al carbono metilénico del grupo cloroacetilo. La correcta asignación del carbono carbonilo amídico se corroboró con el cross–peak que la señal de éste presenta con los protones diastereotópicos $\text{Cl-CH}_A\text{H}_B$ en el espectro de HMBC (Anexo 1). A su vez, la asignación inequívoca del carbono metilénico se corroboró con los dos cross–peaks que la señal de éste presenta con sus propios protones en el espectro de HSQC (Anexo 1). En la parte experimental se reportan los desplazamientos químicos de los carbonos de los compuestos **4a–g** y las constantes de acoplamiento para el derivado fluorado **4c**.

Por último, para establecer la estereoquímica de los sustituyentes en C–2 y C–4 del anillo azepínico de los productos de N–cloroacetilación **4a–g**, se tuvo en cuenta el hecho ya demostrado de que si en los amino–alcoholes precursores los sustituyentes en C–2 y C–4 tienen una orientación ecuatorial y son *cis* entre sí, y que si durante el proceso de acilación estos sustituyentes no tienen participación alguna, entonces sus orientaciones espaciales tampoco deberían, en principio, sufrir alteración alguna, es decir, ellos deberían conservar su orientación ecuatorial y su configuración seguiría siendo *cis* entre sí. Efectivamente esto fue lo que se encontró, pues como lo indican los valores de las constantes de acoplamiento del protón metínico 2–H con los protones vecinos 3– $\text{H}_{ax}\text{H}_{eq}$, este protón debe tener una disposición axial, y, en consecuencia, el grupo metoxicarbonilo en C–2 deber estar orientado ecuatorialmente. Por las mismas razones, es decir, teniendo en consideración los valores de las constantes de acoplamiento que los protones 3– $\text{H}_{ax}\text{H}_{eq}$ y 5– $\text{H}_{pseudoax}\text{H}_{pseudoeq}$ presentan con el protón metínico 4–H, se concluye que el grupo hidroxilo en C–4 también debe tener una orientación (pseudo)ecuatorial. Para corroborar la configuración *cis* entre estos dos grupos funcionales se recurrió a los espectros de correlación espacial NOESY, en los que efectivamente se registra

un cross-peak entre las señales de los protones metínicos 2-H y 4-H, tal como se puede evidenciar en la expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro NOESY del derivado **4c** que se reproduce en la figura 25.

Figura 25. Expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro NOESY del derivado

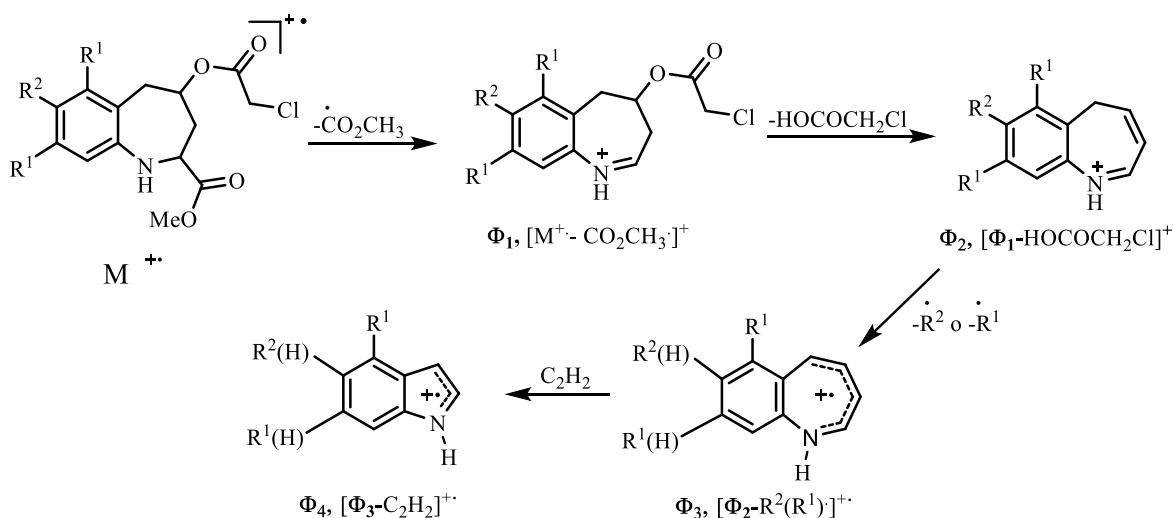


Los compuestos O-acilados **4'd-f** fueron identificados por las mismas técnicas instrumentales que se utilizaron para la caracterización de sus isómeros **4d-f**. En los espectros de IR de estos tres compuestos (Anexo 2), al igual que en los espectros de sus isómeros **4d-f**, también se registran, y con poca diferencia en sus números de onda, las presumbles vibraciones de flexión (aleteo) del enlace CH₂-Cl, en 1378–1385 cm⁻¹, y de tensión del enlace C-Cl, en 777–780 cm⁻¹, del fragmento 4-(2-cloroacetoxilo); la otra banda de absorción nueva y distintiva en los

espectros de estos compuestos es la de la vibración de tensión del grupo amino secundario, la cual se registra en 3337–3346 cm^{-1} . Las bandas de absorción asociadas a las vibraciones de tensión del enlace C=O de los grupos 2-metoxicarbonilo y 4-(2-cloroacetoxilo) se solapan, generando una señal intensa que se registra en 1729–1730 cm^{-1} . Las anteriores bandas de absorción, así como las asociadas a las vibraciones de tensión de los enlaces C=C aromático y O–C–O se reportan para cada compuesto en la parte experimental.

En los espectros de masas (IE, 70 eV, Anexo 2) se registran los iones moleculares de baja intensidad (9–14%) de estos compuestos, cuyas relaciones masa–carga (m/z) coinciden con las masas nominales de sus fórmulas condensadas. En el esquema 14 se propone la posible fragmentación que experimentan estos iones moleculares, la cual es mucho más pobre que la fragmentación de los iones moleculares de los isómeros **4d–f** y está gobernada por una ruptura β al nitrógeno, que involucra la pérdida del radical metoxicarbonilo con la consecuente formación del ión fragmento Φ_1 de muy baja intensidad (<1%). Este ión fragmento pierde una molécula de ácido cloroacético y se transforma en el ión 5*H*–benzo[*b*]azepin–1–io Φ_2 , el cual es el ión pico de base para los derivados **4'd** y **4'f**. Posteriormente, Φ_2 decae por la pérdida del sustituyente ubicado en la posición *para* (cloro y bromo) o en las posiciones *meta* (metilo) del anillo de benceno y genera el catión radical Φ_3 , siendo éste el ión pico de base para el derivado **4'e**. Por último, Φ_3 pierde una molécula de acetileno y se transforma en el catión radical de tipo 3*H*–indol–1–io Φ_4 . En la parte experimental se reportan las intensidades de los iones moleculares, así como las de los principales iones fragmento que se generan durante la fragmentación de los primeros.

Esquema 14. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4'd-f**.



La identidad inequívoca de **4'd-f**, incluida la estereoquímica de los sustituyentes en C-2 y C-4 del anillo azepínico, se corroboró con ayuda de los espectros de resonancia magnética nuclear unidimensional (RMN ¹H, RMN ¹³C) y bidimensional (¹H-¹H COSY, NOESY, HMBC y HSQC). En primer lugar, al comparar los espectros de **4'd-f** con los de sus isómeros **4a-g**, se puede apreciar claramente que en los primeros ya no se registra ningún singulete ancho a campo alto, como sí ocurre en los espectros de **4a-g** (1.63–2.00 ppm, para el protón del grupo hidroxilo en C-4), pero sí se observa uno a campo intermedio, en 4.40–4.53 ppm; este singulete ancho que integra para un protón, fue asignado al protón del grupo amino secundario N-H. A campo ligeramente más alto, centrados en 4.09–4.12 y 4.05–4.08 ppm, se registran dos dobletes que integran para un protón cada uno, los cuales fueron asignados a los protones diastereotópicos H_A y H_B del grupo 4-(2-cloroacetoxilo); las señales de estos dos protones no solo se encuentran más cerca una de la otra, sino que están desplazadas a campo más bajo, en aproximadamente 0.13 y 0.2 ppm, respectivamente, en comparación con las señales de sus protones homólogos en los espectros de **4a-g**; además, los valores de sus constantes de acoplamiento son aproximadamente 2.5 Hz más altos que los de sus homólogos. La existencia de

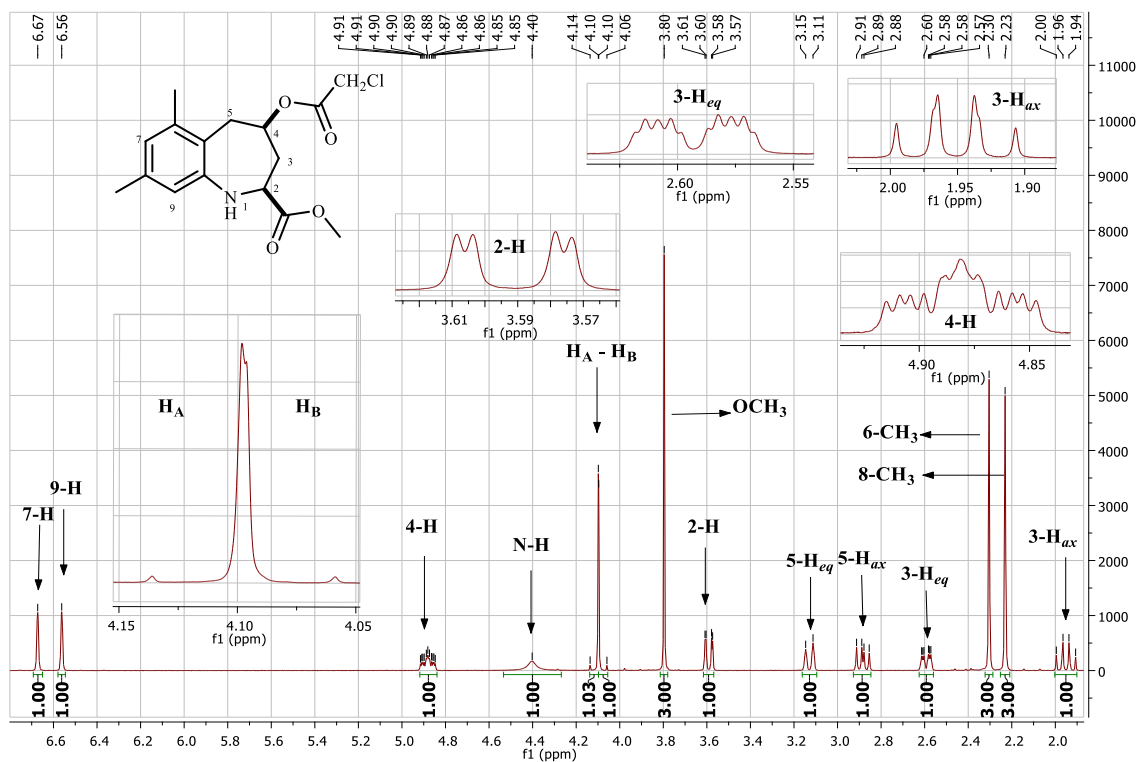
estas tres señales es la evidencia contundente que corrobora la identidad inequívoca de los productos de O-cloroacetilación.

De los seis protones de los carbonos secundarios y terciarios del anillo azepínico, sólo el protón metínico 2-H_{ax} y los protones metilénicos 5-H_{eq}H_{ax} generaron señales con multiplicidades bien definidas: el protón 2-H_{ax} resuena como un doblete de dobletes (dd), centrado en 3.59–3.62 ppm (desplazado en aproximadamente 1.3 ppm hacia campo más alto, en comparación con su protón homólogo en los espectros de **4a–g**), con constantes de acoplamiento de los tipos axial–axial y axial–ecuatorial de 11.5–12.1 y 1.9–2.0 Hz con sus protones vecinos 3-H_{ax}H_{eq}; el protón 5-H_{ax} también resuena como un doblete de dobletes (dd), centrado en 2.88–3.02 ppm, con una constante de acoplamiento geminal de 13.6 Hz y otra de tipo axial–axial de 9.7–10.1 Hz con el protón metínico 4-H; el protón 5-H_{eq} resuena como un doblete de tripletes (dt), centrado en 2.91–3.13 ppm, multiplicidad ésta que resulta del acoplamiento con el protón geminal 5-H_{ax} y de los acoplamientos de magnitud similar (1.8–2.8 Hz) con el protón 4-H y con el protón 3-H_{eq} (acople de tipo W). El acople tipo W entre los protones 5-H_{eq} y 3-H_{eq} se registra muy bien en los espectros COSY, tal y como se puede apreciar en la expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro COSY del derivado **4'f**, que se reproduce en la figura 27. La señal del protón 4-H_{ax} se registra como un multiplete en el rango de 4.85–4.99 ppm, desplazado en aproximadamente 0.6 ppm a campo más bajo en comparación con el multiplete de su protón homólogo en los espectros de **4a–g**. Los protones diastereotópicos 3-H_{eq} y 3-H_{ax} también generan señales con forma de multiplete, el primero resuena en el rango de 2.57–2.65 ppm, mientras que el segundo lo hace en el intervalo de 1.92–2.01 ppm; estos dos protones resuenan a campo más bajo, en aproximadamente 0.3 y 0.6 ppm, respectivamente, en comparación con sus protones homólogos en los espectros de **4a–g**.

Además de las anteriores señales, en la zona aromática de los tres espectros también se registran tres o dos señales, cuyas multiplicidades dependen del grado de sustitución del anillo de benceno, mientras que en la zona de campo intermedio, centrado en 3.80 ppm, se registra otro singulete, pero éste integra para 3 protones,

el cual fue asignado a los protones del metoxilo del grupo metoxicarbonilo ubicado en C-2. Como ejemplo representativo, en la figura 26 se reproduce el espectro del derivado **4'f** con las asignaciones de todos sus protones.

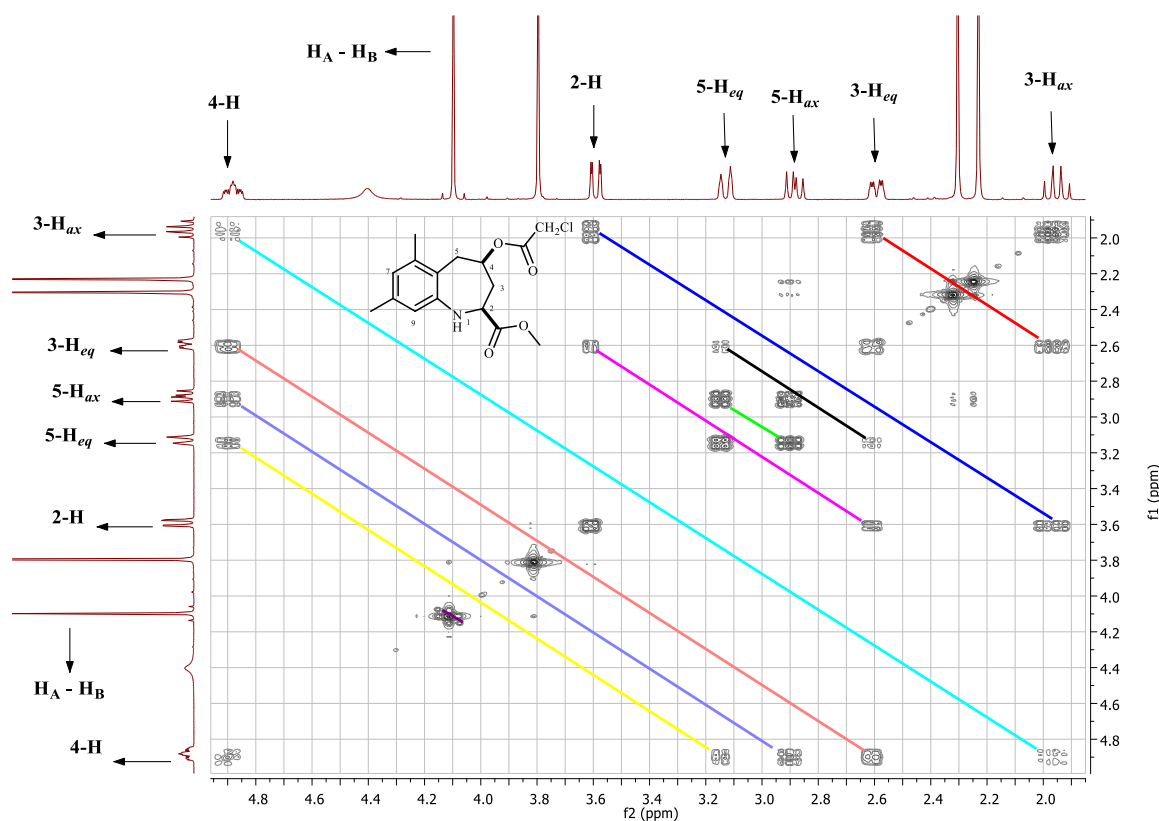
Figura 26. Espectro de RMN ^1H del *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'f** (CDCl_3 , 400 MHz).



Las anteriores asignaciones fueron corroboradas con el análisis de los espectros de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY y heteronuclear HMBC y HSQC. Como ejemplo representativo, en la figura 27 se reproduce una expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro COSY del derivado **4'f**, en el que con líneas de diferentes colores se resaltan las correlaciones que presentan los protones del anillo central azepínico: con las líneas rojo y verde, las correlaciones entre los protones geminales 3-H_{ax}/3-H_{eq} y 5-H_{ax}/5-H_{eq}; con las líneas azul y fucsia, las

correlaciones entre los protones vecinos $2\text{-H}_{ax}/3\text{-H}_{ax}$ y $2\text{-H}_{ax}/3\text{-H}_{eq}$; las correlaciones entre los protones $4\text{-H}/3\text{-H}_{ax}$, $4\text{-H}/3\text{-H}_{eq}$, $4\text{-H}/5\text{-H}_{ax}$ y $4\text{-H}/5\text{-H}_{eq}$ están representadas con las líneas de los colores cian, naranja, azul claro, y amarillo, respectivamente. Por último, con la línea de color negro se representa el acople de tipo W entre los protones $5\text{-H}_{eq}/3\text{-H}_{eq}$, de cuya existencia ya se había hecho mención.

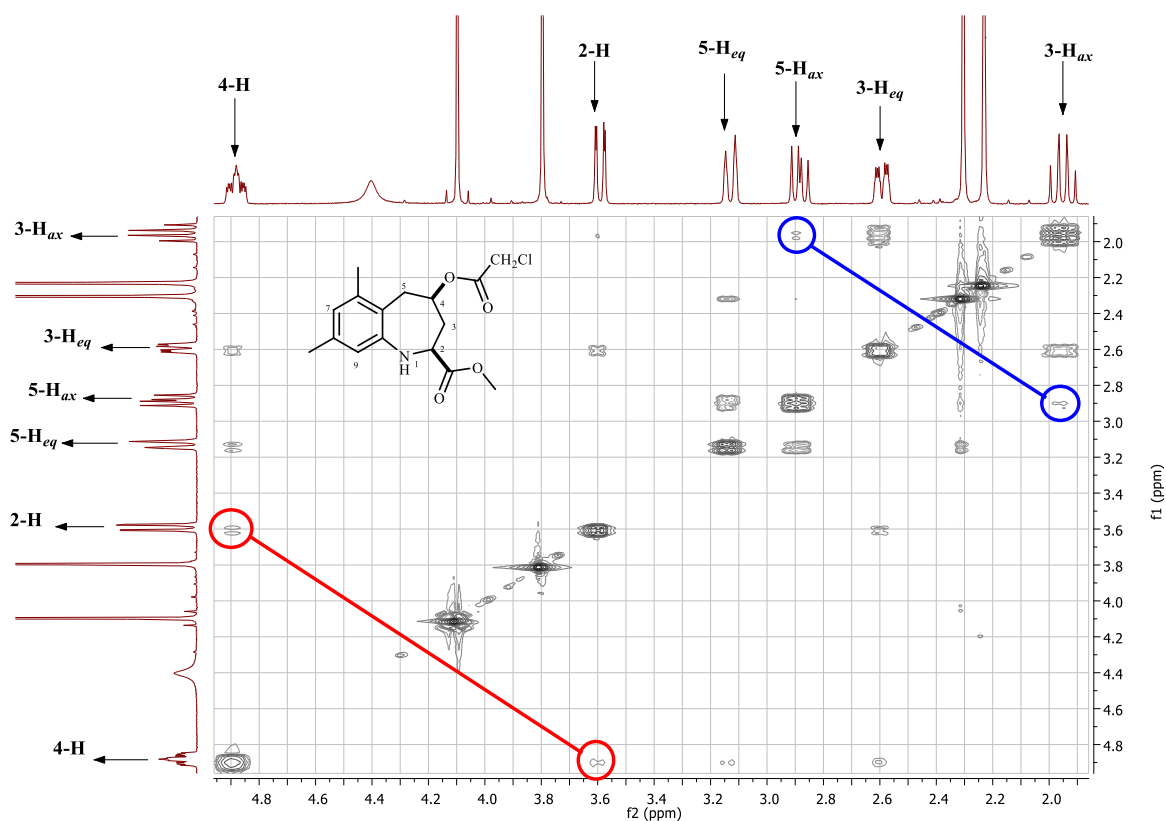
Figura 27. Expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro COSY del *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4**'*f*.



La estereoquímica de los sustituyentes en C-2 y C-4 de los compuestos **4**'*d-f*, es decir, de los grupos 2-metoxicarbonilo y 4-(2-cloroacetoxilo), se determinó a partir de los valores de las constantes de acoplamiento entre el protón metínico 2-H y sus dos protones vecinos 3-H_{ax}H_{eq}, de un lado, y entre los protones 5-H_{ax}H_{eq} y el protón

metínico 4-H, de otro lado, los cuales claramente indican que la disposición de los protones 2-H y 4-H en el anillo central azepínico es axial, pero *cis* entre si, como lo demuestra el cross-peak que se observa entre las señales de estos dos protones en los espectros NOESY; este cross-peak se puede apreciar en la expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro NOESY del derivado **4'f** que se reproduce en la figura 28. En consecuencia, la orientación de los sustituyentes en C-2 y C-4 es ecuatorial y también *cis* entre si. En el espectro NOESY también se registra una interacción espacial entre los protones 3-H_{ax} y 5-H_{ax}, lo cual es un indicativo de que, en solución, el anillo central azepínico adopta una conformación de tipo silla.

Figura 28. Expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro NOESY del derivado **4'f**.



La asignación inequívoca de todos los carbonos que constituyen las estructuras de los compuestos **4'd-f** se realizó mediante el análisis combinado de los espectros de RMN ^{13}C , DEPT-135 y de correlación heteronuclear HMBC y HSQC (Anexo 2, ver parte experimental). Al igual que en los espectros de los isómeros N-acilados, en los espectros de RMN ^{13}C de **4'd-f** se registran dos nuevas señales, generadas, en este caso, por el nuevo carbono carbonilo del grupo 4-(2-cloroacetoxilo), en 166.6–166.8 ppm, y por el carbono metilénico del mismo grupo, en 41.1–41.2 ppm. La asignación del primero se corroboró por el cross-peak entre la señal de éste y las señales de los protones diastereotópicos H_A y H_B, que se registra en el espectro de HMBC, mientras que la asignación del segundo se hizo con base en los dos cross-peaks entre la señal de este carbono y las dos señales de sus propios protones, que se registran en el espectro de HSQC.

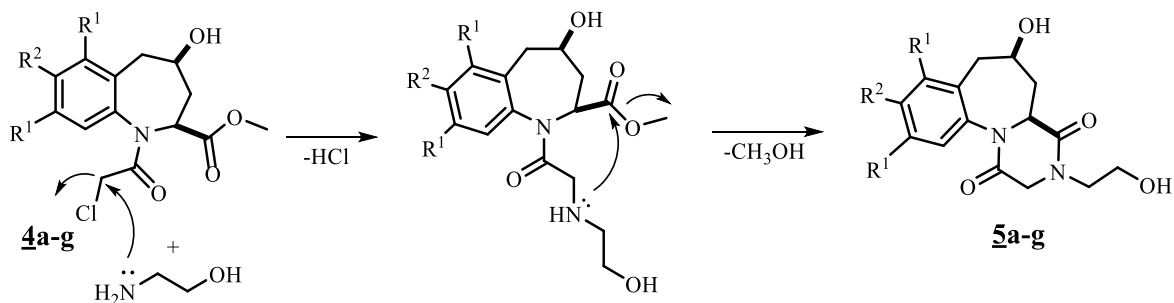
6.3 Preparación de las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenzo[f]-pirazino[1,2-a]azepina-1,4-dionas 5a-g.

Para lograr el objetivo principal de este Trabajo de Grado, en la última etapa de la síntesis diseñada se realizó la reacción de ciclocondensación de los productos de N-cloro-acetilación **4a-g**. Para tal propósito, los derivados **4a-g** se sometieron a calentamiento con exceso de 2-aminoetanol en etanol como disolvente de la reacción. Como mostraron los controles del avance de la reacción, al cabo de 2–7 horas de calentamiento los productos de partida prácticamente se habían consumido en su totalidad. Después de estos tiempos de reacción, el exceso de 2-aminoetanol se eliminó a presión reducida, y los crudos de las reacciones se purificaron por cromatografía en columna sobre gel de sílice, de donde se aislaron las esperadas hexahidrobenzo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-dionas **5a-g** como sustancias sólidas y con rendimientos del 70 al 94%.

Como se muestra en el esquema 15, el proceso de ciclocondensación de **4a-g** mediado por el 2-aminoetanol, que juega simultáneamente el papel de agente

nucleofílico y de ciclación, y también de trampa del ácido clorhídrico que se genera, es el resultado de dos reacciones en cascada: la sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2) del átomo de cloro del fragmento 1-(2-cloroacetilo), que produce el carboxilato intermedio 4-hidroxi-1-((2-hidroxi-etil)glicil)-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo, el cual posee un grupo amino secundario que es el que, en la segunda reacción, promueve la ciclocondensación propiamente dicha, que en realidad es el resultado de una adición nucleofílica intramolecular que va acompañada de la subsiguiente eliminación del grupo metoxilo; el resultado final es la formación del nuevo anillo de la piperazindiona presente en los productos diseñados **5a-g**.

Esquema 15. Mecanismo simplificado del proceso de ciclocondensación de los precursores **4a-g** mediado por el 2-aminoetanol.



La caracterización completa de las nuevas piperazindionas tricíclicas **5a-g** se realizó por espectroscopia de infrarrojo, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear monodimensional (RMN ¹H, RMN ¹³C), y bidimensional homonuclear (¹H-¹H COSY, NOESY) y heteronuclear (HMBC, HSQC).

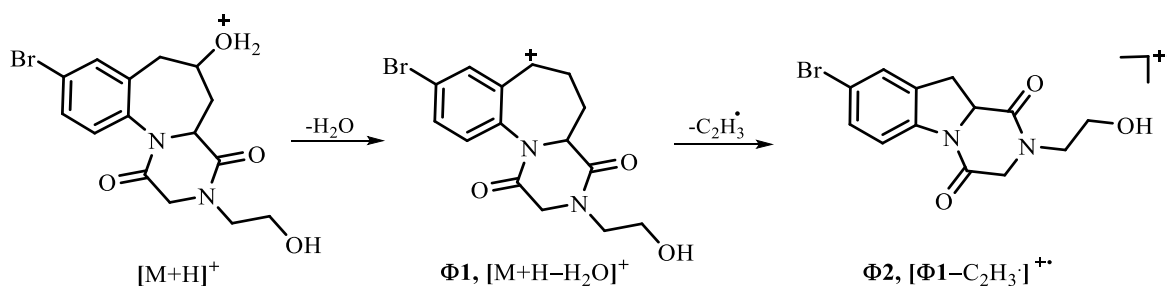
Con el análisis de los espectros de infrarrojo se identificaron las principales bandas de absorción que caracterizan a los nuevos compuestos tricíclicos **5a-g** (Anexo 3). Así, cuando se compararon los espectros de **5a-g** con los de sus progenitores **4a-g**, se evidenció la desaparición de las bandas de absorción asociadas a las

vibraciones de tensión del enlace C=O del grupo éster (1723–1777 cm^{-1}), y de las presumibles vibraciones de flexión (aleteo) del enlace C–Cl (746–834 cm^{-1}) y de tensión del grupo CH₂–Cl (1377–1385 cm^{-1}), que son características en los espectros de **4a–g**. De otro lado, si en los espectros de **4a–g** la banda de absorción asociada a la vibración de tensión del carbonilo amídico (1643–1668 cm^{-1}) se diferenciaba de la banda de absorción del carbonilo del grupo éster (1723–1777 cm^{-1}), en los espectros de **5a–g** las bandas de absorción de los dos carbonilos amídicos presentes en el nuevo anillo de la piperazindiona se solapan y se registran como una sola señal intensa en el rango de 1640–1650 cm^{-1} , con lo cual se corrobora, preliminarmente, la formación del ciclodipéptido que se esperaba. Otras bandas de absorción características en los espectros de IR de los productos finales **5a–g** son las de las vibraciones de tensión del grupo O–H (3319–3400 cm^{-1}), y las de las presumibles vibraciones del enlace C–O (1027–1066 cm^{-1}), del enlace C=C aromático (1448–1510 cm^{-1}) y las del enlace C–N (1226–1251 cm^{-1}). Los valores de los números de onda de las bandas de absorción en el infrarrojo para cada derivado se reportan en la parte experimental.

Debido a que no fue posible analizar los nuevos dipéptidos cíclicos **5a–g** por la técnica de CG–MS, porque éstos se retenían en la columna cromatográfica del cromatógrafo, fue necesario, entonces, recurrir a la técnica de espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI–MS). Esta técnica permite el análisis de compuestos altamente polares, como es el caso de los compuestos **5a–g**, que poseen dos grupos hidroxilo y dos grupos amida en su estructura. La toma de los espectros se realizó en el modo positivo (Anexo 3), y de esta manera se registraron en el *full scan* los principales iones–aductos que fueron reportados en la parte experimental. El ión pico de base para todos los compuestos correspondió al aducto formado entre la molécula analizada más un catión de sodio $[\text{M}+\text{Na}]^+$, mientras que el segundo ión más intenso fue para el dímero de la molécula analizada más un catión de sodio $[2\text{M}+\text{Na}]^+$. Por otra parte, cuando el ión molecular protonado $[\text{M}+\text{H}]^+$ de baja y mediana intensidades (1–26%) se fragmenta, éste pierde una molécula

de agua y genera un catión secundario de tipo 1,4-dioxo-hexahidro-benzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepin-7-ilio Φ_1 . En el caso de la fragmentación del ión molecular protonado del compuesto **5e**, además del pico del catión Φ_1 , se observa otro pico de mediana intensidad (17%), que resulta de la pérdida de un radical vinilo de 27 unidades a partir del carbocatión Φ_1 , el que presumiblemente puede corresponder a un catión radical de tipo 8-bromo-2-(2-hidroxi)etil)hexahidropirazino[1,2-*a*]indol-1,4-dionio Φ_2 (Esquema 16).

Esquema 16. Ruta de fragmentación propuesta para el ión molecular protonado del derivado **5e**



Mediante el análisis de los espectros de 1H RMN tomados en $DMSO-d_6$, se evidencia, en primera instancia, la presencia de las señales correspondientes a los seis protones del anillo azepínico, así como las dos señales generadas por los dos protones diastereotópicos del nuevo anillo de la piperazindiona, y la señal generada por el protón del grupo hidroxilo en C-6. También se constata la presencia de tres nuevas señales que en conjunto integran para cinco protones, los cuales corresponden a los cuatro protones metilénicos y al protón del nuevo grupo hidroxilo del fragmento 2-hidroxi)etil) que está conectado al nitrógeno piperazindiónico N-3. En la zona aromática de los espectros se registran de dos a cuatro señales, cuyas multiplicidades dependen del grado de sustitución del anillo de benceno. Finalmente, en todos los espectros es incuestionable la ausencia del singulete que era generado por los protones del grupo carboxicarbonilo, con lo cual se corrobora la realización exitosa del proceso de ciclocondensación de los precursores **4a-g**.

Antes de presentar la discusión sobre la asignación de las señales anteriormente mencionadas, exceptuando las de los protones aromáticos (porque no aportan nada a la discusión), es pertinente anotar que la mayoría de ellas se registran como multipletes y/o como señales ensanchadas no bien resueltas debido, posiblemente, a la alta viscosidad del DMSO- d_6 , razón por la cual para esas señales no se determinaron sus constantes de acoplamiento. Sin embargo, la asignación inequívoca de cada una de ellas fue corroborada con ayuda de los espectros de correlación homonuclear COSY y heteronuclear HMBC y HSQC. La asignación de las señales se hizo teniendo en cuenta el orden de su aparición en la dirección de campo alto hacia campo bajo. Así, las primeras señales que aparecen corresponden a las generadas por los protones diastereotópicos 5- $H_{ax}H_{eq}$: en los espectros de los derivados **5a-e** y **5g**, la señal del protón 5- H_{ax} aparece como un multiplete en el rango de 1.89–2.04 ppm, mientras que en el espectro de **5f**, éste resuena como un triplete de dobletes con constantes de acoplamiento de 12.9 Hz y 10.4 Hz; en los espectros de los derivados **5a-e**, el protón 5- H_{eq} resuena como un doblete ancho centrado en 2.23–2.24 ppm, con una única constante de acoplamiento geminal de 12.1–12.8 Hz, mientras que en el espectro del derivado **5f**, su señal se registra como un multiplete localizado en el rango de 2.19–2.21 ppm; el protón 5- H_{eq} del compuesto **5g** fue el único que se registró como un doblete de dobletes, centrado en 2.23 ppm, con constantes de acoplamiento geminal de 12.6 Hz y vecinal de tipo axial–ecuatorial de 2.9 Hz.

A continuación, en el intervalo de 2.68–2.83 ppm, aparecen las señales de los protones diastereotópicos 7- $H_{ax}/7-H_{eq}$, las cuales, en los espectros de **5a,b** y **5g**, se registran como dos multipletes que se solapan, pero que en conjunto integran para dos protones; en el espectro del derivado **5c**, la señal del protón 7- H_{ax} también se registra como un multiplete en el rango de 2.70–2.76 ppm, mientras que en los espectros de **5d-f** se registra como un doblete de dobletes, centrado en 2.46–2.74 ppm, con una constante de acoplamiento geminal (13.3–13.8 Hz) y otra vecinal (10.7–11.2 Hz) con el protón metínico 6-H; asimismo, en los espectros de los

derivados **5c–f**, la señal generada por el protón 7–H_{eq} se registra como un doblete, centrado en 2.82–2.97 ppm, con una constante de acoplamiento de 13.3–13.8 Hz

Desplazadas hacia campo bajo en aproximadamente 0.5–0.6 ppm, se encuentran las señales que fueron asignadas a los cuatro protones metilénicos del fragmento 3–(2–hidroxietilo). Primero, entre 3.25–3.41 ppm, aparece un multiplete que se solapa con la señal del agua presente en el disolvente (DMSO–d₆), el cual fue asignado al protón identificado como 1'–H_B, a continuación, entre 3.49–3.62 ppm, aparece otro multiplete que integra para tres (cuatro) protones y que fue asignado a los protones identificados como 1'–H_A y 2'–H_AH_B. Solapado con el anterior multiplete, en el rango de 3.46–3.71 ppm, y también con forma de multiplete, se encuentra la señal del protón metínico 6–H.

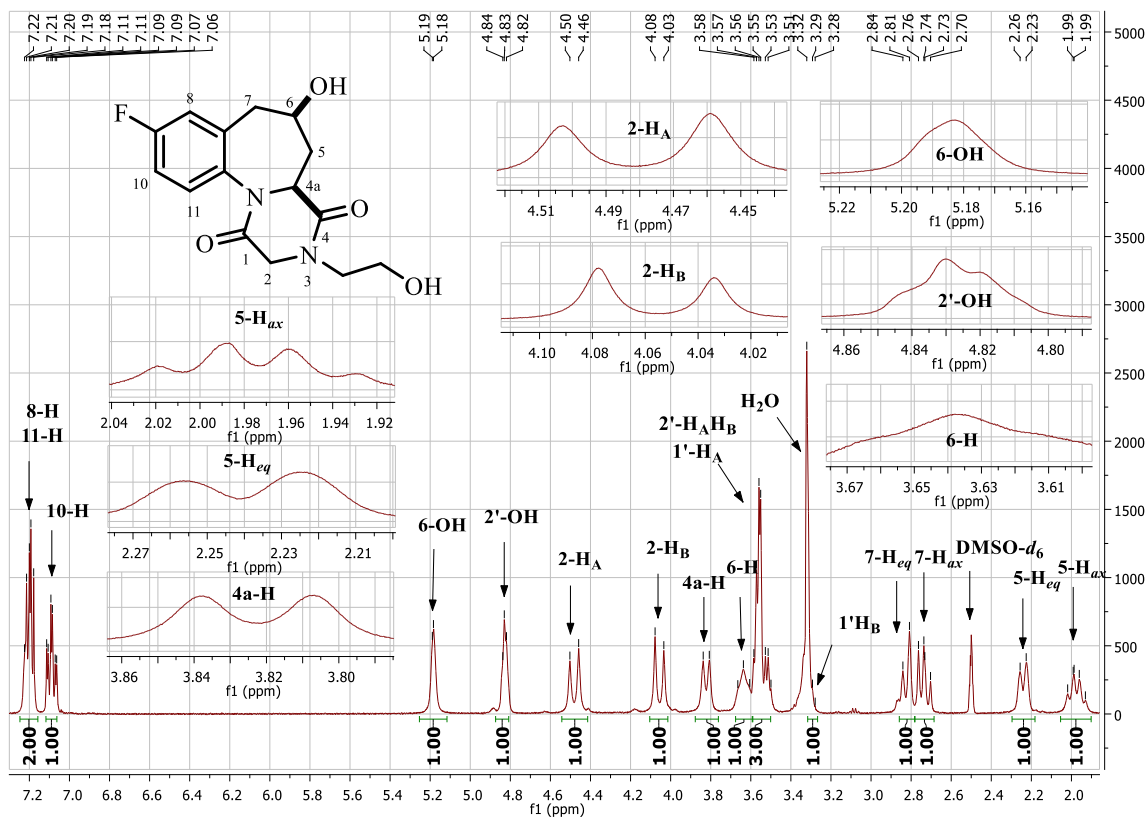
La siguiente señal en aparecer es la del protón metínico 4a–H, la cual, en los espectros de los derivados **5a–e**, se registra como un doblete ancho, centrado en 3.76–3.85 ppm, con una constante de acoplamiento de 11.9–12.6 Hz con el protón 5–H_{ax}, que es un valor característico para un acople de tipo axial–axial, mientras que en el espectro del derivado **5f** se registra como un doblete de dobletes, centrado en 3.73 ppm, con una constante de acoplamiento de tipo axial–axial de 12.8 Hz con el protón 5–H_{ax} y otra de tipo axial–ecuatorial de 2.0 Hz con el protón 5–H_{eq}; este mismo protón, en el espectro del derivado **5g**, resuena como un multiplete localizado en el rango de 3.75–3.78 ppm.

Después de la(s) señal(es) del protón 4a–H aparecen dos dobletes ($J = 17.5–17.7$ Hz), centrados en 4.03–4.06 y 4.46–4.49 ppm, los cuales fueron asignados a los protones diastereotópicos 2–H_B y 2–H_A del nuevo anillo de la piperazindiona. Al comparar la ubicación (desplazamientos químicos) de estos dos dobletes con la de los dos dobletes que generan los protones diastereotópicos del fragmento cloroacetilo en los espectros de los precursores **4a–g**, se advierte que los dos primeros están mucho más distanciados uno del otro, y que, además, están desplazados, especialmente el doblete del protón 2–H_A, hacia campo más bajo en aproximadamente 0.15 y 0.5 ppm, respectivamente, esto debido, muy seguramente,

a que dicho protón se encuentra (cae) en el cono de desprotección anisotrópica del grupo carbonilo y del anillo de benceno.

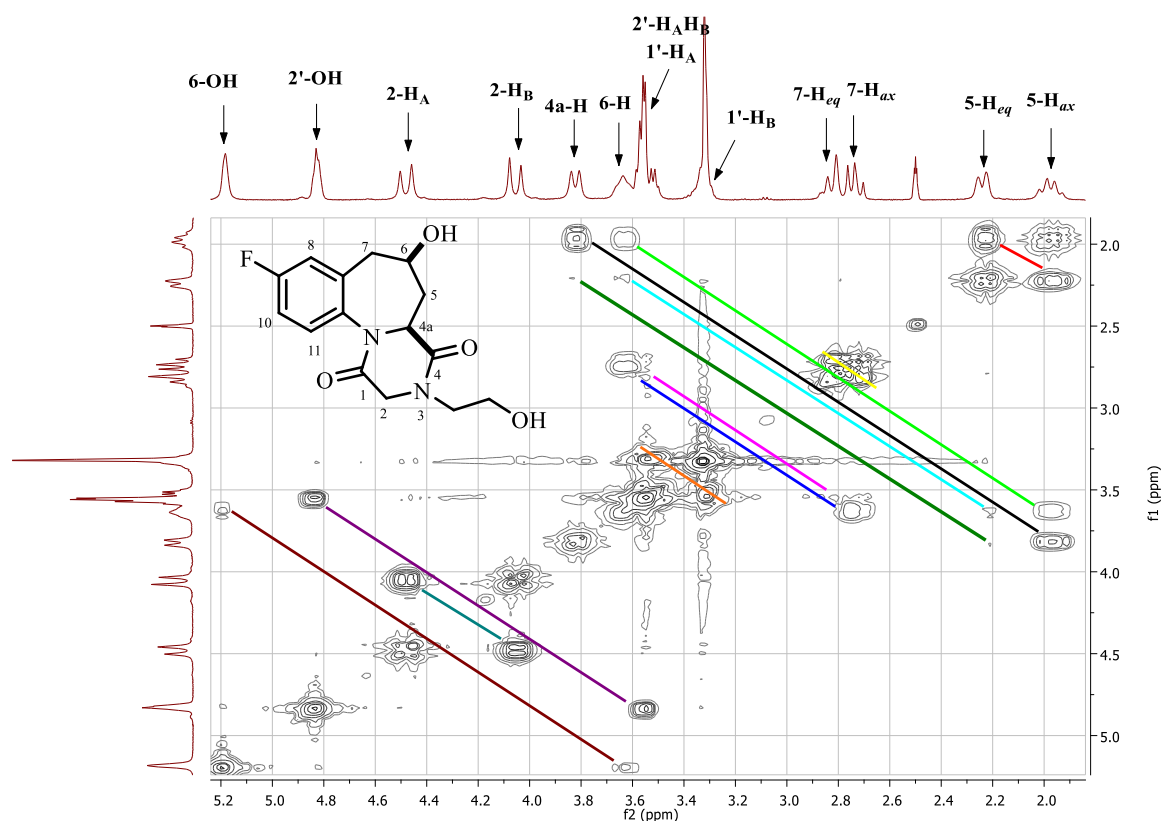
Finalmente, en la zona de campo intermedio de los espectros se registran otras dos señales: la primera, centrada en 4.83–4.84 ppm, es un triplete (excepto para el derivado **5c**, que es un multiplete) con una constante de acoplamiento de 5.3–5.5 Hz con los protones 2'–H_AH_B, la cual fue asignada al protón del grupo hidroxilo 2'–OH; la segunda, centrada en 5.13–5.19 ppm, es un doblete (excepto para el derivado **5c**, que es un singulete ancho) con una constante de acoplamiento de 2.8–3.6 Hz con el protón metínico 6–H, la cual fue asignada al protón del grupo hidroxilo 6–OH. Como ejemplo representativo, en la figura 29 se reproduce el espectro de RMN ¹H del derivado fluorado **5c** con la asignación de todos sus protones.

Figura 29. Espectro de RMN ¹H del 9-flúor-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobencof[*f*]-pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-diona **5c**. (DMSO-*d*₆, 400 MHz).



Como ya se anotó, todas las asignaciones de los protones de los nuevos dipéptidos tricíclicos **5a–g** fueron corroboradas de manera inequívoca con los espectros de correlación homonuclear ^1H – ^1H COSY y de correlación heteronuclear HMBC y HSQC. A modo de ilustración, en la figura 30 se reproduce una expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro COSY del derivado fluorado **5c**, en el que se resaltan con líneas de diferentes colores las correlaciones que se presentan entre los protones alifáticos de este derivado. Las primeras correlaciones que se observan (de campo alto a campo bajo del espectro) son las de los protones geminales 5– H_{ax} /5– H_{eq} (línea roja) y 7– H_{ax} /7– H_{eq} (línea amarilla). Para los protones vecinos se observan varias correlaciones, siendo el protón 6–H el que más presenta: con 5– H_{ax} (línea verde), con 5– H_{eq} (línea cian), con 7– H_{ax} (línea azul), con 7– H_{eq} (línea fucsia), y, por último, con el protón del grupo hidroxilo 6–OH (línea de color rojo oscuro). Para el protón 4a–H se registran las correlaciones con los protones vecinos 5– H_{ax} (línea de color negro) y 5– H_{eq} (línea verde oscuro). La correlación entre los protones diastereotópicos 2– H_A y 2– H_B se resalta con la línea color cian oscuro, y con la línea de color naranja, la correlación entre los protones diastereotópicos 1'– H_AH_B y 2'– H_AH_B . Finalmente, con la línea de color fucsia oscuro se resalta la correlación entre los protones 2'– H_AH_B y el protón del grupo hidroxilo 2'–OH.

Figura 30. Expansión de la zona de campos intermedio y alto del espectro COSY de la 9-flúor-6-hidroxi-3-(2-hidroxiethyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-diona **5c**.



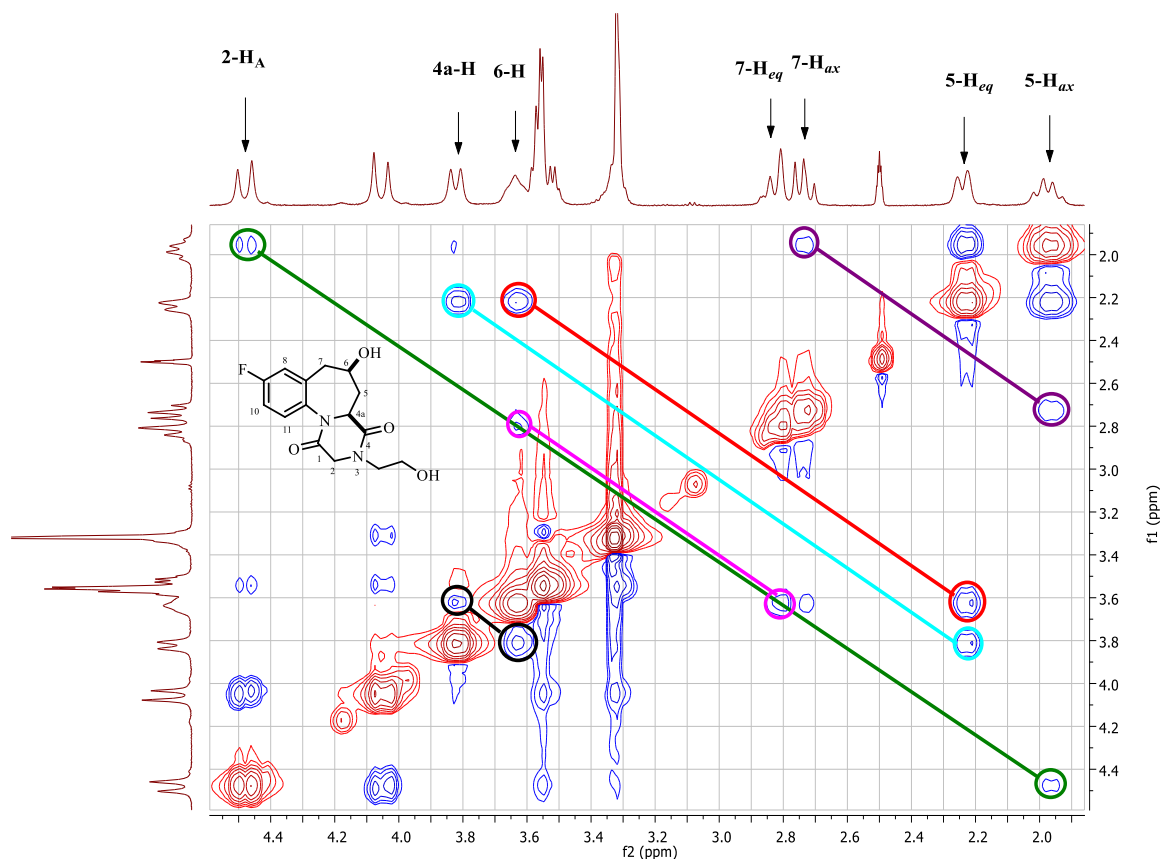
Sin embargo, un análisis más detallado de las correlaciones que por separado presenta cada uno los protones metínicos 4a-H y 6-H con el protón 5- H_{eq} (contornos unidos por las líneas cian y verde oscuro, respectivamente) permite desvelar y corroborar, al mismo tiempo, que los acoples entre dichos protones o no se dan o deben ser muy pequeños, y en consecuencia los valores de sus constantes de acoplamiento también deben ser pequeños o muy cercanos al cero. Es por esta razón, quizás, que en el espectro de RMN 1H del derivado **5c** que se está analizando, pero también en los espectros de los derivados **5a**, **5b** y **5g**, la señal del protón 5- H_{eq} se registra como un doblete, el cual está asociado exclusivamente al acople con su protón geminal. Asimismo, la correlación pequeñita que se alcanza a

registrar entre las señales de los protones 6-H y 7-H_{eq} (línea fucsia) es una evidencia del prácticamente inexistente acople entre ellos, de ahí que en el espectro de **5c**, pero también en los espectros de **5d** y **5f**, la señal del protón 7-H_{eq} también se registra como un doblete, el cual está asociado exclusivamente al acople con su protón geminal. Ahora bien, si se asocia la ausencia completa y/o la casi nula presencia de los correspondientes acoples entre los protones en cuestión con la mutua disposición espacial que ellos ocupan dentro de la molécula, entonces, se puede inferir que los valores de los ángulos diedros entre los tres conjuntos de protones H-C₆-C₇-H_{eq}, H-C₆-C₅-H_{eq} y H-C_{4a}-C₅-H_{eq} son cercanos a 90°.

Que los ángulos diedro entre los protones que se están tratando tengan valores cercanos a 90°, sólo es factible siempre y cuando sus mutuas disposiciones dentro la molécula sea *cis*-axial-ecuatorial (del mismo lado del plano del anillo), y esto es efectivamente lo que se registra en los espectros de NOESY, y en particular en la expansión de la zona alifática del espectro NOESY del derivado fluorado **4c**, que se reproduce en la figura 31. En esta expansión se observan dos cross-peaks intensos entre cada una de las señales de 6-H y 4a-H con la señal de 5-H_{eq}, pero ningún cross-peak con la señal del protón 5-H_{ax} (disposición *trans*-axial-axial), lo cual es un claro indicativo de que la disposición de 6-H y 4a-H con respecto de 5-H_{eq} es *cis*-axial-ecuatorial; la disposición *cis*-axial-ecuatorial de 6-H con respecto a 7-H_{eq} también se corrobora con el cross-peak, aunque menos intenso que los anteriores, entre las señales de estos dos protones. Asimismo, la disposición *cis*-axial-axial entre los protones 6-H y 4a-H queda determinada por el cross-peak que se observa entre sus señales.

De lo anterior se deduce que la disposición del grupo hidroxilo en C-6 es ecuatorial, como en las moléculas de sus precursores, y si, adicionalmente, se tiene en consideración el cross-peak intenso que se registra entre las señales de los protones 7-H_{ax} y 5-H_{ax} (disposición espacial *cis*-axial-axial), entonces, se puede inferir que, en solución, el anillo azepínico del nuevo sistema tricíclico desarrollado adopta una conformación cercana a la de silla.

Figura 31. Expansión de la zona alifática del espectro NOESY del derivado **5c**.



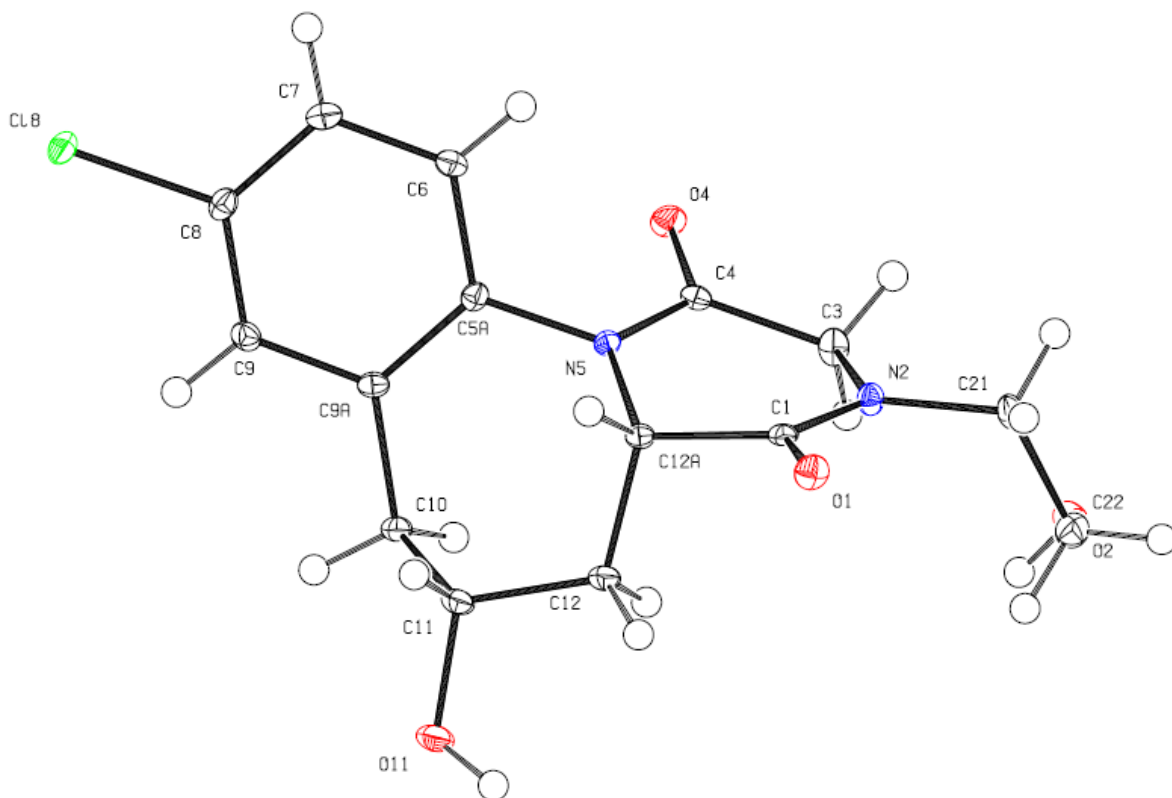
La conformación que adopta el nuevo anillo de la piperazindiona es más difícil de determinar con los espectros de correlación espacial NOESY, por lo que se requiere de estudios adicionales, especialmente, de difracción de rayos X, para corroborarla. Sin embargo, si se tiene en consideración el cross-peak relativamente intenso que se registra en el espectro NOESY de **5c** entre las señales de los protones diastereotópicos 2-H_A y 5-H_{ax} (disposición espacial *cis*-axial-axial entre ellos), y el hecho ya comprobado de que en muchos de los derivados del sistema de la 2,5-dicetopiperazina que han sido estudiados por difracción de rayos X, el anillo adopta, por lo general, una conformación plana o de tipo bote, con una diferencia de energía muy pequeña entre ambas conformaciones,⁴⁴ entonces, es muy probable que, en solución, el anillo de la piperazindiona del derivado tricíclico **5c**, en particular, y de

todos los demás isómeros de la serie **5** desarrollada, en general, también adopte una conformación de tipo bote retorcido.

La asignación de todos los carbonos de las nuevas benzo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-dionas **5a-g** se llevó a cabo mediante el análisis integral de los espectros de RMN ¹³C y de correlación heteronuclear HMBC y HSQC. Estas asignaciones se encuentran reportadas en la parte experimental.

La estereoquímica de los centros estereogénicos, la conformación que adopta el anillo de la tetrahydroazepina y el nuevo anillo de la piperazindiona fueron confirmados por la resolución estructural del dipéptido tricíclico **5d** (R= XXX) por rayos X de monocristal, tal como se aprecia en la figura 32, que reproduce la estructura molecular tridimensional de **5d**.

Figura 32. Estructura molecular resuelta por rayos X de monocristal de la 9-Cloro-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobencofpirazino-[1,2-*a*]azepina-1,4-diona **5d**.



7. Actividad anti-proliferativa de los compuestos sintetizados

El cáncer es un término empleado para designar a un grupo de enfermedades que surgen por el mal funcionamiento en los mecanismos que controlan el crecimiento y la proliferación celular. Suele ser el resultado de mutaciones que aparecen en el curso de la vida por exposición a los carcinógenos, dentro de los cuales se incluyen ciertos químicos y la radiación ultravioleta.⁶³

Según estadísticas del Instituto Nacional de Cancerología (INC), durante los años 2007–2011 se registraron en Colombia 29.734 casos nuevos de cáncer por año en hombres y 33.084 casos en mujeres. Durante ese mismo período se registraron 16.081 muertes anuales por cáncer en hombres y 16.572 en mujeres. Entre los hombres, los tipos de cáncer más frecuentes fueron: próstata, estómago, pulmón, colon–recto y ano, y linfomas no Hodgkin, mientras que en las mujeres, el cáncer de mama, cuello del útero, colon–recto y ano, estómago y tiroides fueron los más prevalentes.⁶⁴

Teniendo en cuenta que uno de los objetivos adicionales planteados en este Trabajo de Grado consistía en buscar alianzas estratégicas que permitieran iniciar el estudio de la actividad biológica de los nuevos compuestos sintetizados, se estimó conveniente proponer al Instituto Nacional de Cáncer (NCI) de los Estados Unidos (Bethesda, Maryland, USA) las estructuras de todos los compuestos sintetizados de las series **2–5** y **4'**, de las cuales sólo los derivados tricíclicos finales **5a–e** y **5g**, así como el derivado O–cloroacetilado **4'd** fueron seleccionados, los cuales posteriormente fueron enviados para su evaluación *in vitro* sobre una batería de 60 líneas celulares humanas de un panel de nueve tipos de cáncer: leucemia, pulmón, colón, SNC, melanoma, ovario, riñón, próstata y seno.

La evaluación de la actividad anticancerígena de los nuevos compuestos que son seleccionados por el NCI se divide en dos etapas; la primera consiste en evaluarlos a una única dosis alta (10^{-5} M) sobre el panel completo de las 60 líneas celulares. A partir de los resultados obtenidos, aquellas moléculas que presenten una actividad

que cumpla con los criterios del NCI progresarán a la segunda etapa de la evaluación, que consiste en el ensayo de las 5-dosis, en el cual los compuestos se prueban sobre las mismas 60 líneas celulares, pero a cinco diferentes concentraciones: 0.01, 0.1, 1.0, 10 y 100 μM .

Parámetros empleados para la evaluación de la actividad anti-cancerígena

Los compuestos seleccionados son inicialmente solubilizados en una mezcla DMSO: glicerol 9:1 a una concentración de 4.0 mM, para el primer ensayo a una única dosis, y 40 mM, para el segundo ensayo a cinco dosis. En ambos casos, en el momento de realizar los ensayos, la solución madre es diluida 1:400 hasta las mayores concentraciones previstas para cada uno de los compuestos (10 o 100 μM , respectivamente). A partir de estas soluciones se hacen rediluciones para obtener las demás concentraciones requeridas para el ensayo a cinco dosis (0.01, 0.1 y 1.0 μM). Las 60 líneas celulares de tumores humanos del panel se cultivan en un medio RPMI 1640 que contiene 5% de suero fetal bovino y 2 mM de L-glutamina. Las células se inoculan en pozos durante 24 horas a 37 °C, 5% de CO₂, 95% de aire y el 100% de humedad relativa, antes de adicionar los nuevos compuestos. Después de las 24 horas de incubación, dos pozos de cada línea celular son fijados con ácido tricloroacético (TCA), con el fin de medir la población celular antes de la adición del fármaco (tiempo cero, Tz). Posteriormente, alícuotas de 100 μL del doble de la concentración deseada de las soluciones de los nuevos compuestos se adicionan a cada uno de los pozos que ya contiene 100 μL del medio de cultivo. La solución del compuesto a evaluar contiene gentamicina (antibiótico) a una concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Inmediatamente después de que se ha efectuado la adición del fármaco, las células se incuban durante 48 horas a 37 °C, 5% de CO₂, 95% de aire y el 100% de humedad relativa. Pasado este tiempo, se fijan las células con TCA, y, a continuación, se adiciona una solución de sulforodamina B en 1% de ácido acético, y nuevamente se incuban durante 10 min a temperatura ambiente. Después de la tinción se lee la absorbancia en un lector de placas a 515 nm. Con estos valores de

absorbancia se determina el porcentaje de crecimiento (PC), teniendo en cuenta el tiempo cero (Tz), el control de crecimiento (C), y el crecimiento en presencia de los nuevos compuestos evaluados (Ti), usando las siguientes expresiones matemáticas:

$$[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100 \text{ si: } Ti \geq Tz$$

$$[(Ti-Tz)/Tz] \times 100 \text{ si: } Ti < Tz$$

Resultados obtenidos a partir del ensayo de una dosis para los compuestos seleccionados

Los datos obtenidos para el ensayo a una dosis (one-dose data) se reportan en un gráfico de la media (mean-graph), el cual indica el porcentaje de crecimiento de las células cancerígenas tratadas. El número que se reporta en este ensayo es relativo al control sin fármaco y al tiempo cero del cultivo celular. Esto permite determinar el porcentaje de crecimiento (PC) (valores entre 0 y 100), o la letalidad (valores menores que 0). El porcentaje de inhibición del crecimiento se calcula restando el porcentaje de crecimiento de 100. Por ejemplo, un valor de PC de 100 significa que no hay inhibición del crecimiento, un valor de 60 significa un porcentaje de inhibición del crecimiento del 40%, un valor de 0 significa que no hay un crecimiento neto en el curso del experimento, y un valor de -100 significa que todas las células están muertas.

El gráfico de la media es una barra vertical construida a partir de los valores obtenidos de los compuestos evaluados. Es la diferencia entre el valor del log GI₅₀ (concentración de inhibición al 50%) de un compuesto en una línea celular y el valor de la media de log GI₅₀ del compuesto en todas las líneas celulares, la cual se refiere como un valor "delta". Los valores delta indican si una línea celular es significativamente más o menos sensible que las otras líneas celulares para el compuesto evaluado. Los valores positivos de delta que se ubican hacia la derecha de la línea vertical significan que la sensibilidad celular del compuesto evaluado excede el valor de la media. Los valores negativos ubicados hacia la izquierda de la

línea vertical representan una sensibilidad inferior a la media para el compuesto analizado.

A partir del gráfico de la media de los derivados **5a–e**, **5g** y **4'd** se construyó la tabla 1, la cual muestra el porcentaje de inhibición durante la evaluación de las 60 líneas celulares de cáncer. Los resultados obtenidos muestran que la inhibición que presentaron los compuestos es muy baja y en varios casos fue nula. Cabe resaltar que el compuesto **4'd** presentó la mayor inhibición de la línea celular SR (20.59%) en el cáncer de leucemia. El derivado **5b** presentó un valor de inhibición del 23.39% para la línea celular A549/ATCC del cáncer de pulmón de células no pequeñas, el cual representa el valor más alto obtenido para este tipo de cáncer, igualmente para la línea celular SNB–75 de cáncer del SNC (17.02%). La mayor inhibición de la línea celular HCT–116 del cáncer de colon la presentó el derivado **5e**, con un valor de 14.74%. El derivado **5d** presentó el porcentaje de inhibición más alto para la línea celular UACC–257 del cáncer de melanoma, con un valor de 25.04%. Para las demás líneas de cáncer (ovario, renal, próstata y mama), el porcentaje de inhibición de los nuevos compuestos no superó el 16%, y algunos compuestos, como los derivados **5b** y **5c**, no presentaron ninguna inhibición contra las líneas del cáncer de ovario.

Teniendo en cuenta que los resultados obtenidos en la primera etapa de la evaluación de la actividad anti–proliferativa de los compuestos seleccionados **5a–e**, **5g** y **4'd** no cumplieron con los criterios establecidos por el NCI, éstos no fueron aprobados para la segunda etapa de evaluación.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de crecimiento (GI%) de los compuestos evaluados **5a–e**, **5g** y **4'd** a 10 μ M sobre el panel de las 60 líneas celulares.

Líneas celulares de cáncer	% Porcentaje de inhibición (GI %)ª de los compuestos evaluados						
	5a	5b	5c	5d	5e	5g	4'd
<i>Leucemia</i>							
CCRF–CEM	–	–	–	7.35	9.42	1.45	17.48

HL-60(TB)	8.14	3.07	5.91	–	4.46	0.66	0.98
K-562	–	–	–	–	0.37	9.17	4.04
MOLT-4	5.12	7.84	7.07	1.32	8.88	3.41	14.36
RPMI-8226	–	1.23	–	2.96	3.68	–	5.85
SR	8.92	12.69	5.89	5.39	0.36	7.85	20.59

Cáncer de pulmón

de células

no pequeñas

A549/ATCC	10.48	23.39	17.9	20.0	17.97	18.87	8.1
EKVX	2.79	–	–	2.62	0.54	4.18	–
HOP-62	4.25	–	0.11	1.35	5.68	13.45	9.48
HOP-92	–	–	–	7.95	16.38	20.16	20.28
NCI-H226	–	4.14	5.33	–	3.31	–	3.53
NCI-H23	–	0.68	–	–	0.99	–	–
NCI-H322M	–	–	–	–	–	–	–
NCI-H460	–	–	–	–	–	–	–
NCI-H522	13.05	17.55	1.14	8.03	8.59	12.1	22.04

Cáncer de Colon

COLO 205	–	–	–	–	–	–	–
HCC-2998	–	–	–	–	6.42	–	–
HCT-116	0.7	4.14	7.42	5.43	14.74	6.51	–
HCT-15	–	–	–	–	–	2.06	–
HT29	6.04	3.92	0.44	2.41	–	–	1.1
KM12	–	–	0.36	–	–	–	–
SW-620	–	–	–	3.02	–	–	–

Cáncer del SNC

SF-268	2.04	0.3	1.58	1.34	1.76	–	8.01
--------	------	-----	------	------	------	---	------

SF-295	5.19	–	7.35	–	4.67	6.03	–
SF-539	2.43	–	–	2.35	2.02	5.88	1.34
SNB-19	2.46	–	–	–	–	–	0.27
SNB-75	16.23	17.02	6.52	15.57	12.2	6.39	1.00
U251	4.55	4.64	4.63	6.31	8.33	8.56	8.07
<i>Melanoma</i>							
LOX IMVI	3.73	3.82	4.56	2.59	3.35	3.58	7.09
MALME-3M	–	–	–	–	–	1.05	15.26
M14	–	–	0.51	0.19	1.02	1.38	12.84
MDA-MB-435	–	–	–	3.62	–	–	9.23
SK-MEL-2	6.83	13.8	–	0.85	6.31	–	11.28
SK-MEL-28	–	–	–	–	–	–	–
SK-MEL-5	–	–	–	0.16	–	–	5.34
UACC-257	9.11	18.87	11.16	25.04	18.14	17.2	10.2
UACC-62	–	2.66	–	–	1.55	–	7.14
<i>Cáncer de Ovario</i>							
IGROV1	–	–	–	–	–	–	–
OVCAR-3	–	–	–	–	–	–	–
OVCAR-4	–	–	–	–	–	–	–
OVCAR-5	2.44	–	–	–	0.87	–	–
OVCAR-8	–	–	–	4.97	–	–	1.63
NCI/ADR-RES	–	–	–	–	–	–	–
SK-OV-3	–	–	–	4.11	14.89	13.51	2.75
<i>Cáncer Renal</i>							
786-0	3.13	–	1.91	5.64	1.5	3.32	7.88
A498	–	0.59	3.43	0.41	7.05	2.9	8.17
ACHN	–	–	–	–	1.17	–	–

CAKI-1	8.00	7.42	7.68	4.89	2.07	5.12	4.51
RXF 393	–	9.55	–	–	–	–	–
SN12C	–	–	–	–	1.87	0.58	1.09
TK-10	14.36	11.45	10.32	3.01	10.79	7.17	7.66
UO-31	5.82	4.25	6.34	9.71	7.9	10.7	9.85
<i>Cáncer de próstata</i>							
PC-3	0.55	3.25	2.16	8.41	5.44	6.11	6.47
DU-145	–	–	–	–	–	–	–
<i>Cáncer de mama</i>							
MCF7	2.52	3.24	0.83	1.77	–	5.62	12.74
MDA-MB-231/ATCC	–	7.64	–	–	–	–	–
HS 578T	0.69	–	–	–	–	–	–
BT-549	–	–	–	0.52	2.31	–	6.74
T-47D	–	6.94	–	–	10.91	8.1	15.22
MDA-MB-468	–	3.97	2.29	0.69	1.67	5.86	6.15

^a Códigos NSC: **5a** (D-788713 / 1); **5b** (D-788709 / 1); **5c** (D-788708 / 1); **5d** (D-788719 / 1); **5e** (D-788723 / 1); **5g** (D-788720/1); **4'd** (D-788722/1)

8. CONCLUSIONES

En este Trabajo de Grado se demostró la validez de la ruta sintética desarrollada en el Laboratorio de Síntesis Orgánica para acceder a los nuevos dipéptidos tricíclicos, las 6-hidroxi-3-(2-hidroxiethyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenzo[*f*]-pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-dionas **5a-g**. Se comprobó nuevamente que la reacción de cicloadición 1,3-dipolar intramolecular de las nitronas provenientes de los 2-((2-alilaril)amino)acetatos de metilo **1a-g** fue altamente estereoselectiva debido a que sólo se formó el cicloadducto *exo*, y que la apertura reductiva de estos cicloadductos fue completamente estereoespecífica, ya que trajo consigo la formación exclusiva de los nuevos amino-alcoholes *cis*-2,4-disustituídos **3d**, **3f-g**.

Durante la N-cloroacetilación de los productos **3** en condiciones libres de humedad, también se observó la formación de los productos de O-cloroacetilación en menor proporción, de los cuales, sólo fue posible aislar tres de ellos. Ambas familias de compuestos, los *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4a-g** y los *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4'd-f** presentaron la misma estereoquímica que sus precursores, en donde la disposición espacial de los sustituyentes metoxicarbonilo e hidroxilo (cloroacetoxilo) ubicados en C-2 y C-4, respectivamente, es *cis*-ecuatorial-euatorial.

La ciclocondensación de los productos de N-cloroacetilación **4a-g** promovida por el 2-aminoetanol rindió los dipéptidos tricíclicos diseñados **5a-g** con excelentes rendimientos. Se estableció que el anillo azepínico de este sistema tricíclico adopta una conformación de silla, mientras que para el anillo de la dicetopiperazina, preliminarmente, se le asignó una conformación de bote retorcido.

El estudio de la actividad anticancerígena de los compuestos seleccionados por el Instituto Nacional de Cáncer (NIC), (**5a-e**, **5g** y **4'd**), mostró que el porcentaje de inhibición que ellos presentaron sobre las 60 líneas celulares evaluadas fue muy bajo, y, por lo tanto, no fueron propuestos para la segunda etapa del estudio biológico. Lo anterior indica que la fusión del núcleo de la tetrahydro-1-benzazepina con el anillo de la piperazindiona por la cara **a**, no es una combinación buena para la búsqueda de nuevos agentes anticancerígenos.

CITAS

1. Chao, H.; Tuerdi, H.; Kick, E. and Yang, W. LXR Modulators. US2007/0093470A1, **2007**.
2. Kondo, K.; Kan, K.; Tanada, Y.; Bando, M.; Shinohara, T.; Kurimura, M.; Ogawa, H.; Nakamura, S.; Hirano, T.; Yamamura, Y.; Kido, M.; Mori, T. and Tominaga, M. Characterization of Orally Active Nonpeptide Vasopressin V₂ Receptor Agonist. Synthesis and Biological Evaluation of Both the (5*R*)- and (5*S*)- Enantiomers of 2-[1-(2-Chloro-4-pyrrolidin-1-yl-benzoyl)-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-1-benzazepin-5-yl]-*N*-isopropylacetamide. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3805–3808.
3. Nakamura, S.; Yamamura, Y.; Itoh, S.; Hirano, T.; Tsujimae, K.; Aoyama, M.; Kondo, K.; Ogawa, H.; Shinohara, T.; Kan, K.; Tanada, Y.; Teramoto, S.; Sumida T.; Nakayama, S.; Sekiguchi, K.; Kambe, T.; Tsujimoto, G.; Mori, T. and Tominaga M. Characterization of a Novel Nonpeptide Vasopressin V₂-Agonist, OPC-51803, in Cells Transfected Human Vasopressin Receptor Subtypes. *Br. J. Pharmacol.* **2000**, *129*, 1700–1706.
4. Watthey, J.; Stanton, J.; Desai M.; Babiarz, J. and Finn, B. Synthesis and Biological Properties of (Carboxyalkyl)amino-Substituted Bicyclic Lactam Inhibitors of Angiotensin Converting Enzyme. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1511–1516.
5. Hino, K.; Nagai, Y.; Uno, H.; Masuda, Y.; Oka, M. and Karasawa, T. A Novel Class of Potential Central Nervous System Agents. 3-Phenyl-2-(1-Piperaziny)-5*H*-1-Benzazepines. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 107–117.
6. Kunick, C.; Bleeker, C.; Prühs C.; Totzke, F.; Schächtele, C.; Kubbutat, M. and Link, A. Matrix compare analysis discriminates subtle structural differences in a family of novel antiproliferative agents, diaryl-3-hydroxy-2,3,3a,10a-tetrahydrobenzo[*b*]cyclopenta[*e*]azepine-4,10(1*H*,5*H*)-diones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 2148–2153.

7. Schultz, C.; Link, A. and Kunick, C. Aryl Rings are Part of the Darpone Pharmacophore. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2001**, *334*, 163–166.
8. Xie, X.; Lemcke, T.; Gussio, R.; Zaharevitz, D.; Leost, M.; Meijer, L. and Kunick, C. Epoxide-containing side chains enhance antiproliferative activity of paullones. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *7*, 655–661.
9. Kunick, C.; Schultz, C.; Lemcke, T.; Zaharevitz, D.; Gussio, R.; Jalluri, R.; Sausville, E.; Leost, M. and Meijer, L. 2-Substituted Paullones: CDK1/Cyclin B-Inhibiting Property and In Vitro Antiproliferative Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 567–569.
10. Tomasi, S.; Renault, J.; Martin, B.; Duhieu, S.; Cerec, V.; Le Roch, M.; Uriac, P. and Delcros, J. Targeting the Polyamine Transport System with Benzazepine and Azepine–Polyamine Conjugates. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7647–7663.
11. Wu, Y. Progress in heterocycle chemistry. **2012**, *24*, 1–53.
12. DRUG BANK. Drug & Drug Target Database. [en línea]. Disponible en internet <URL: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00542>>. Consultado el 20 de diciembre del 2015.
13. Kondo K.; Ogawa, H.; Yamashita, H.; Miyamoto, H.; Tanaka, M.; Nakaya, K.; Kitano, K.; Yamamura, Y.; Nakamura, S.; Onogawa, T.; Mori, T. and Tominaga, M. 7-Chloro-5-hydroxy-1-[2-methyl-4-(2-methylbenzoylamino)benzoyl]-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepine (OPC-41061): A Potent, Orally Active Nonpeptide Arginine Vasopressin V₂ Receptor Antagonist. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1743–1754.
14. Jarikote, D.; Pawar, V.; Bhusare, S.; Hangarge, R.; Vibhute, Y. and Pawar, R. A Facile Synthesis of 1,3,4,6-Tetrahydro-1,6-benzodiazocine-2,5-diones. *Russ. J. Org. Chem.* **2004**, *40*, 575–577.
15. Qadir, M.; Cobb, J.; Sheldrake, P.; Whittall, N.; White, A.; Hii, K.; Horton, P. and Hursthouse, M. Conformation Analyses, Dynamic Behavior and Amide Bond Distortions of Medium-sized Heterocycles. 1. Partially and Fully Reduced 1-Benzazepines. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1545–1551.

16. Fujita, K.; Yamamoto, K. and Yamaguchi, R. Oxidative Cyclization of Amino Alcohols Catalyzed by a Cp*Ir Complex. Synthesis of Indoles, 1,2,3,4-Tetrahydroquinolines, and 2,3,4,5-Tetrahydro-1-benzazepine. *Org. Lett.* **2002**, *16*, 2691–2694.
17. Kimball, S.; Floyd, D.; Das, J.; Hunt, J.; Krapcho, J.; Rovnyak, G.; Duff, K.; Lee, V.; Moquin, R.; Turk, C.; Hedberg, A.; Moreland, S.; Brittain, R.; McMullen, D.; Normandin, D. and Cucinotta, G. Benzazepinone Calcium Channel Blockers. 4. Structure–Activity Overview and Intracellular Binding Site. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 780–793.
18. Anastasiou, D. and Jackson, W. A New Metal-catalysed Route to 4,5-Dihydro-3H-1-Benzazepines. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, *17*, 1205–1206.
19. Omar–Amrani, R.; Thomas, A.; Brenner, E.; Schneider, R. and Fort, Y. Efficient Nickel-Mediated Intramolecular Amination of Aryl Chlorides. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2311–2314.
20. Ren, H.; Zanger, M. and McKee, J. Synthesis of Tetrahydrobenzazepine sulfonamides and Their Rearrangement to Diarylsulfones. *Synth. Comm.* **2006**, *36*, 355–363.
21. Guzikowski, A.; Hawkinson, J.; Weber, E. and Keana, J. 6,7,8,9-Tetrahydro-3-hydroxy-1H-1-benzazepine-2,5-diones via a Diels–Alder Reaction: Antagonists With A Non-Planar Hydrophobic Region For NMDA Receptor Glycine Sites. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2747–2748.
22. Blanco, M. C. Búsqueda de nuevos y promisorios agentes antiparasitarios derivados de la 4-hidroxi-2-(2'-heteril, 2-alkil)-tetrahydro-1-benzoazepina. Bucaramanga, **2010**. Trabajo de Maestría. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Laboratorio de Síntesis Orgánica.
23. Gómez–Ayala, S. L. Síntesis y elucidación estructural de series no descritas de tetrahydro-1-benzoazepinas y pirrolo[1,2-a]quinolinas, y estudio de sus potenciales actividades antiparasitaria, ansiolítica y anticancerígena.

- Bucaramanga, **2011**. Tesis Doctoral. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Laboratorio de Síntesis Orgánica.
24. Murahashi, S.; Mitsui, H.; Shiota, T.; Tsuda, T. and Watanabe, S. Tungstate-Catalyzed Oxidation of Secondary Amines to Nitrones. α -Substitution of Secondary Amines via Nitrones. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1736–1744.
25. Sanabria, C. M. Preparación y caracterización de α -amino-ácidos derivados de la tetrahydro-1-benzazepina y dibenzo[b,e]azepina a partir de 3-(2-aminoaril) propenos. Bucaramanga, **2013**. Trabajo de Maestría. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Laboratorio de Síntesis Orgánica.
26. Guerrero, S. A. La cicloadición intramolecular 1,3-dipolar como etapa clave en la síntesis estereoselectiva de α -aminoácidos derivados de la 4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1-benzazepina. Bucaramanga, **2013**. Trabajo de grado. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Laboratorio de Síntesis Orgánica.
27. Acosta, L. M. Creación de una nueva quimioteca de tetrahydro-1-benzazepinas sustituidas en C-2 con apéndices de tipo alquenil/etnil, y estudio preliminar de su actividad biológica. Bucaramanga, **2010**. Trabajo de Maestría. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Laboratorio de Síntesis Orgánica.
28. Acosta, L.; Palma, A.; Noguerras, M. and Cobo, J. Stereoselective Synthesis of Novel 2-Alkenyl-2,3,4,5-Tetrahydro-1,4-Epoxy-1-Benzazepines and 2-Alkenyl-2,3,4,5-Tetrahydro-1*H*-1-Benzazepin-4-ols. *Synthesis*. **2012**, *44*, 3765–3782.
29. Blanco, M.; Escobar, P.; Leal, S.; Bahsas, A.; Cobo, J.; Noguerras, M. and Palma, A. Synthesis of Novel Polysubstituted (2*SR*,4*RS*)-2-Heteroaryltetrahydro-1,4-Epoxy-1-Benzazepines and cis-2-Heteroaryl-4-Hydroxytetrahydro-1*H*-1-Benzazepines as Antiparasitic Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 291–309.

30. Gómez–Ayala, S.; Stashenko, E.; Palma, A.; Bahsas, A. and Amaro–Luis, J. Sequential Amino–Claisen Rearrangement/Intramolecular 1,3–Dipolar Cycloaddition/Reductive Cleavage Approach to the Stereoselective Synthesis of *cis*–4–Hydroxy–2–Aryl–2,3,4,5–Tetrahydro–1(1*H*)–Benzazepines. *Synlett*, **2006**, 14, 2275–2277.
31. Gómez–Ayala, S.; Castrillón, J.; Palma, A.; Leal, S.; Escobar, P. and Bahsas, A. Synthesis, structural elucidation and in vitro antiparasitic activity against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania chagasi* parasites of novel tetrahydro–1–benzazepine derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 4721–4739.
32. Palma, A.; Yépes, A.; Leal, S.; Coronado, C. and Escobar, P. Synthesis and in vitro activity of new tetrahydronaphtho[1,2–*b*]azepine derivatives against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania chagasi* parasites. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 2360–2363.
33. Marini, L.; Fontela, J.; Palma, A.; Gómez, S. and Yépez, A. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **2008**, 30, 155.
34. Maes, B.; Orru, R. and Ruijter, E. Synthesis of Heterocycles via Multicomponent Reactions I. Topics in Heterocyclic Chemistry. *Springer*, **2010**; Vol. 23, pp. 85–90.
35. Mason, P. and Sturman, G. Some Pharmacological Properties of Piperazine. *Br. J. Pharmacol.* **1972**, 44, 169–176.
36. Meher, C.; Rao A. and Omar, M. Piperazine–Pyrazine And Their Multiple Biological Activities. *Asian J. Pharm. Sci & Res.* **2013**, 3, 43–60.
37. King, S. Transamination of Nitrogen–Containing Compounds to High Molecular Weight Polyalkyleneamines. US9000217B2, **2015**.
38. Pollard, C. and Wicker, T. Derivatives of Piperazine. XXIV. Synthesis of 1–Arylpiperazines and Amino Alcohol Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 1853–1855.
39. Huang, J.; Xu, W.; Xie, H. and Li, S. One–Step Cyclization: Synthesis of *N*–Heteroalkyl–*N'*–tosylpiperazines. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 7506–7511.

40. Henry, D. A Facile Synthesis of Piperazines from Primary Amines (1). *J. Heterocycl. Chem.* **1966**, *3*, 503–511.
41. Sánchez–Roselló, M.; Delgado, O.; Mateu, N.; Trabanco, A.; Van Gool, M. and Fustero, S. Diastereoselective Synthesis of 2–Phenyl–3–(trifluoromethyl)piperazines as Building Blocks for Drug Discovery. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 5887–5894.
42. Cornacchia, C.; Cacciatore, I.; Baldassarre, L.; Mollica, A.; Feliciani, F. and Pinnen, F. 2,5–Diketopiperazines as Neuroprotective Agents. *Mini–Reviews in Medicinal Chemistry*, **2012**, *12*, 2–12.
43. Huang, R.; Yi, X.; Zhou, Y.; Su, X.; Peng, Y. and Gao, C. An Update on 2,5–Diketopiperazines from Marine Organisms. *Mar. Drugs*, **2014**, *12*, 6213–6235.
44. Borthwick, A. 2,5–Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 3641–3716.
45. Prasad, C. Bioactive Cyclic Dipeptides. *Peptides*, **1995**, *16*, 151–164.
46. McClelland, K.; Milne, P.; Lucieto, F.; Frost, C.; Brauns, S.; Van De Venter, M.; Du Plessis, J. and Dyason, K. An investigation into the biological activity of the selected histidine–containing diketopiperazines cyclo(His–Phe) and cyclo(His–Tyr). *J. Pharm. Pharmacol.* **2004**, *56*, 1143–1153.
47. Shimi, I.; Abedallah, N. and Fathys, S. Cairomycin B, a New Antibiotic. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, *11*, 373–375.
48. Iseki, M.; Miyoshi, T.; Aoki, H. and Imanaka, H. Mechanism of action of bicyclomycin. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1976**, *29*, 155–168.
49. Shimazaki, N.; Shima, I.; Okamoto, M.; Yoshida, K.; Hemmi, K. and Hashimoto, M. PAF Inhibitory Activity of Diketopiperazines: Structure–Activity Relationships. *Lipids*, **1991**, *26*, 1175–1178.
50. Gomez–Monterrey, I.; Campiglia, P.; Carotenuto, A.; Califano, D.; Pisano, C.; Vesci, L.; Lama, T.; Bertamino, A.; Sala, M.; Mazella N di Bosco, A.; Grieco, P. and Novellino, E. Design, Synthesis, and Cytotoxic Evaluation of a New

Series of 3-Substituted Spiro[(dihydropyrazine-2,5-dione)-6,3'-(2',3'-dihydrothieno[2,3-*b*] naphtho-4',9'-dione)] Derivatives. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 1787–1798.

51. Jain, H.; Zhang, C.; Zhou, S.; Zhou, H.; Ma, J.; Liu, X.; Liao, X.; Deveau, A.; Dieckhaus, C.; Johnson, M.; Smith, K.; Macdonald, T.; Kakeya, H.; Osada, H. and Cook, J. Synthesis and structure–activity relationship studies on tryprostatin A, an inhibitor of breast cancer resistance protein. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4626–4651.
52. Rajappa, S. and Natekar, M. Piperazine-2,5-diones and Related Lactim Ethers. *Advances In Heterocyclic Chemistry. Elsevier Ltd.*, **1993**, *57*, pp. 188–191.
53. Nitecki, D.; Halpern, B. and Westley, J. A Simple Route to Sterically Pure Diketopiperazines. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 864–866.
54. Pérez-Picaso, L.; Escalante, J.; Olivo, H. and Ríos, M. Efficient Microwave Assisted Syntheses of 2,5-Diketopiperazines in Aqueous Media. *Molecules*, **2009**, *14*, 2836–2849.
55. Maw, G.; Allerton, C.; Gbekor, E. and Million, W. Design, Synthesis and Biological Activity of β -Carboline-Based Type-5 Phosphodiesterase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1425–1428.
56. Siwicka, A.; Wojtasiewicz, K.; Rosiek, B.; Leniewski, A.; Maurin, J. and Czarnocki, Z. Diastereodivergent synthesis of 2,5-diketopiperazine derivatives of β -carboline and isoquinoline from L-amino acids. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 975–993.
57. Monleón, L.; Díez-García, F.; Zamora, H.; Anaya, J.; Grande, M.; de Diego, J. and Rodríguez, F. *In vitro* evaluation of the antielastase activity of polycyclic β -lactams. *Bioorg. Chem.* **2012**, *45*, 29–35.
58. Zhang, W.; Han, R.; Zhang, W.; Jiang, R. and Piao, F. Synthesis and anticonvulsant activity of 8-alkoxy-5,6-dihydro-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*]azepine derivatives. *Med. Chem. Res.* **2012**, *21*, 2587–2594.

59. Warshawsky, A. and Flynn, G. Carboxyalkyl Tricyclic Derivatives Useful As Inhibitors of Enkephalinase and Ace. US005455242A, **1995**.
60. Brewer, M.; Burgess, M.; Dorgan, R.; Elliott, R.; Mamalis, P.; Manger, B. and Webster, R. Synthesis and Anthelmintic Activity of a Series of Pyrazino[2,1-a][2]benzazepine Derivatives. *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 2058–2062.
61. Casara, P.; Le Diguarher, T.; Geneste, O. and Hickman, J. Tricyclic Compounds, a Process for Their Preparation and Pharmaceutical Compositions Containing Them. US2008/0188400A1, **2008**.
62. Wang, Y.; Brewer, J.; Akritopoulouzanze, I.; Djuric, S.; Pohlki, F.; Braje, W. and Relo, A. Modulators of 5-HT Receptors and Methods of Use Thereof. WO2010/124042A2, **2010**.
63. Lodish, H., Berk, A., Zipurski, S., Matsudaira, P., Baltimore, D. y Darnell, J. E. *Biología Celular y Molecular*. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, **2005** (traducción de la 5ª edición en inglés), p. 935.
64. Pardo C, y Cendales, R. Incidencia, mortalidad y prevalencia de cáncer en Colombia, 2007–2011. Primera edición. Bogotá. D.C. Instituto Nacional de Cancerología, **2015**, 1, p. 148.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, L. *et al.* Stereoselective Synthesis of Novel 2-Alkenyl-2,3,4,5-Tetrahydro-1,4-Epoxy-1-Benzazepines and 2-Alkenyl-2,3,4,5-Tetrahydro-1*H*-1-Benzazepin-4-ols. *Synthesis* [online] October 23, 2012. Vol 44 N° 24 [cited: 10 Ene. 2016] p. 3765-3782. Available from: Thieme.

BLANCO, M. *et al.* Synthesis of Novel Polysubstituted (2*SR*,4*RS*)-2-Heteroaryltetrahydro-1,4-Epoxy-1-Benzazepines and *cis*-2-Heteroaryl-4-Hydroxytetrahydro-1*H*-1-Benzazepines as Antiparasitic Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online] October 30, 2014. Vol 86 N° 30 [cited: 10 Ene. 2016] p. 291-309. Available from: Science Direct.

BORTHWICK, A. 2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products. *Chemical Reviews* [online] May 11, 2012. Vol 112 N° 7 [cited: 10 Ene. 2016] p. 3641-3716. Available from: ACS Publications.

BREWER, M. *et al.* Synthesis and Anthelmintic Activity of a Series of Pyrazino[2,1-*a*][2]benzazepine Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry* [online] October 27, 1989. Vol 32 N° 9 [cited: 10 Ene. 2016] p. 2058-2062. Available from: ACS Publications.

GÓMEZ-AYALA, S. *et al.* Sequential Amino-Claisen Rearrangement/Intramolecular 1,3-Dipolar Cycloaddition/Reductive Cleavage Approach to the Stereoselective Synthesis of *cis*-4-Hydroxy-2-Aryl-2,3,4,5-Tetrahydro-1(1*H*)-Benzazepines. *Synlett* [online] May 16, 2006. Vol 20 N° 14 [cited: 10 Ene. 2016] p. 2275-2277. Available from: Thieme.

GÓMEZ–AYALA, S. *et al.* Synthesis, structural elucidation and in vitro antiparasitic activity against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania chagasi* parasites of novel tetrahydro–1–benzazepine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* [online] May 05, 2010. Vol 18 [cited: 10 Ene. 2016] p. 4721–4739. Available from: Science Direct.

MASON, P. and STURMAN, G. Some Pharmacological Properties of Piperazine. *British Journal of Pharmacology* [online] 1972, Vol 44 [cited: 10 Ene. 2016] p. 169-176. Available from: NCBI.

MURAHASHI, S. *et al.* Tungstate–Catalyzed Oxidation of Secondary Amines to Nitrones. α –Substitution of Secondary Amines via Nitrones. *Journal of Organic Chemistry* [online] August 22, 1990. Vol 55 N° 6 [cited: 10 Ene. 2016] p. 1736-1744. Available from: ACS Publications.

PALMA, A. *et al.* Synthesis and in vitro activity of new tetrahydronaphtho[1,2–*b*]azepine derivatives against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania chagasi* parasites. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* [online] May 2, 2008. Vol 19 [cited: 10 Ene. 2016] p. 2360-2363. Available from: Science Direct.

WANG, Y. *et al.* Modulators of 5–HT Receptors and Methods of Use Thereof. European Patent Office [online] April 22, 2010. WO2010/124042A2. [cited: 10 Ene. 2016]. Available from: Espacenet.

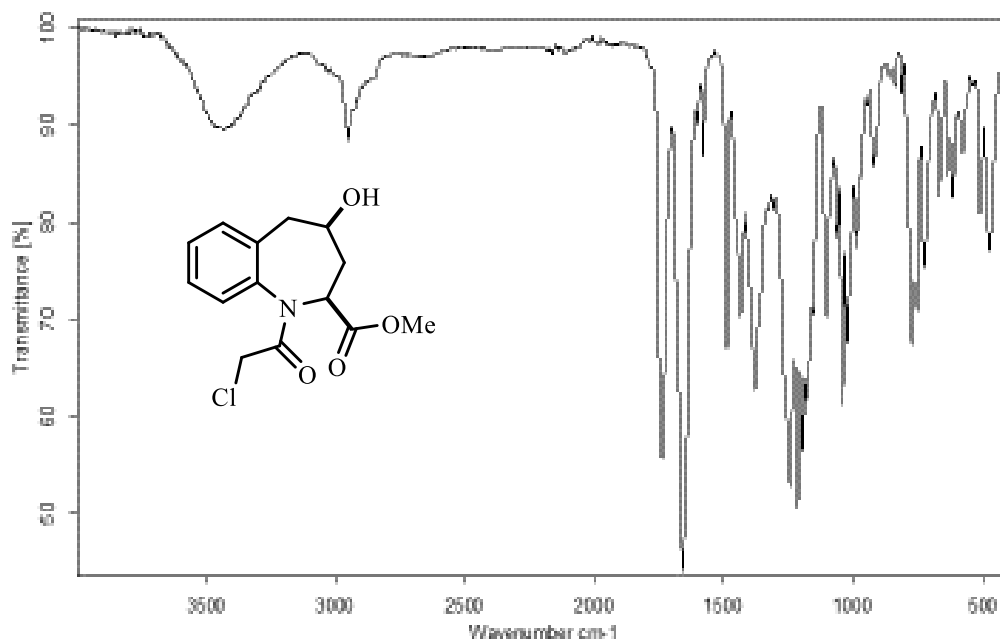
ANEXOS

(ESPECTROS DE INFRARROJO, CG-EM, ESI-MS, RMN ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, HMBC Y HSQC)

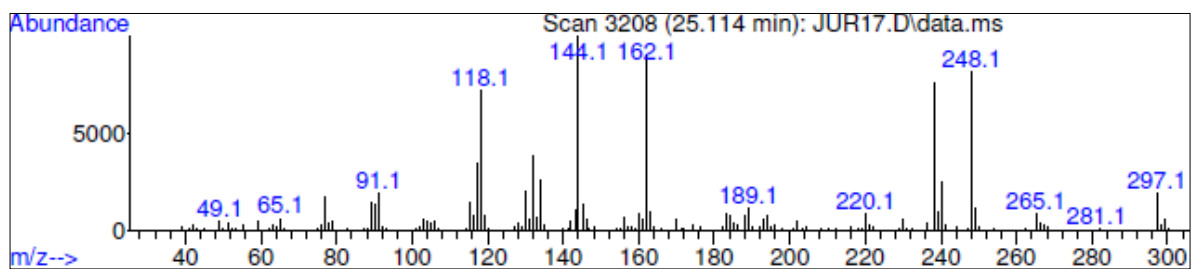
Espectros de IR, MS, RMN ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, HMBC y HSQC de los *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4a-g**.

Espectros infrarrojos de los compuestos **4a-g**

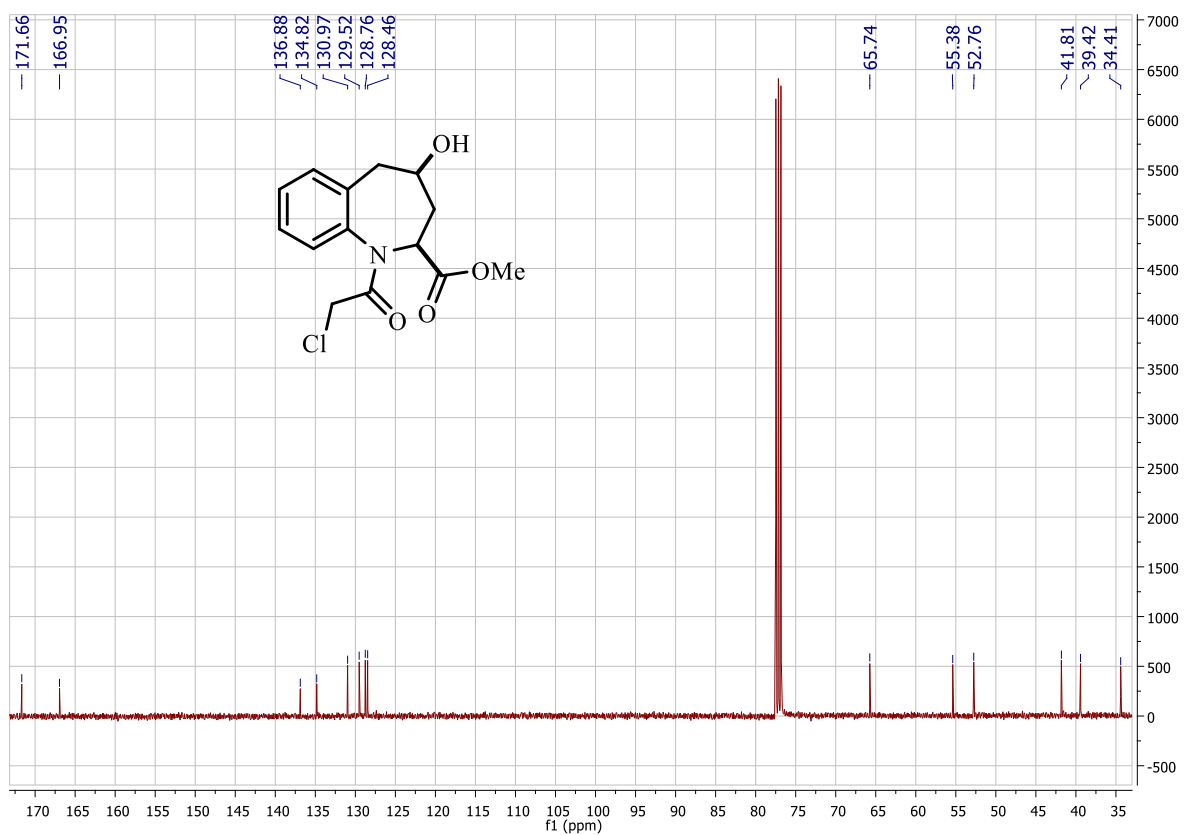
Anexo A. Espectro de infrarrojo del *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4a**.



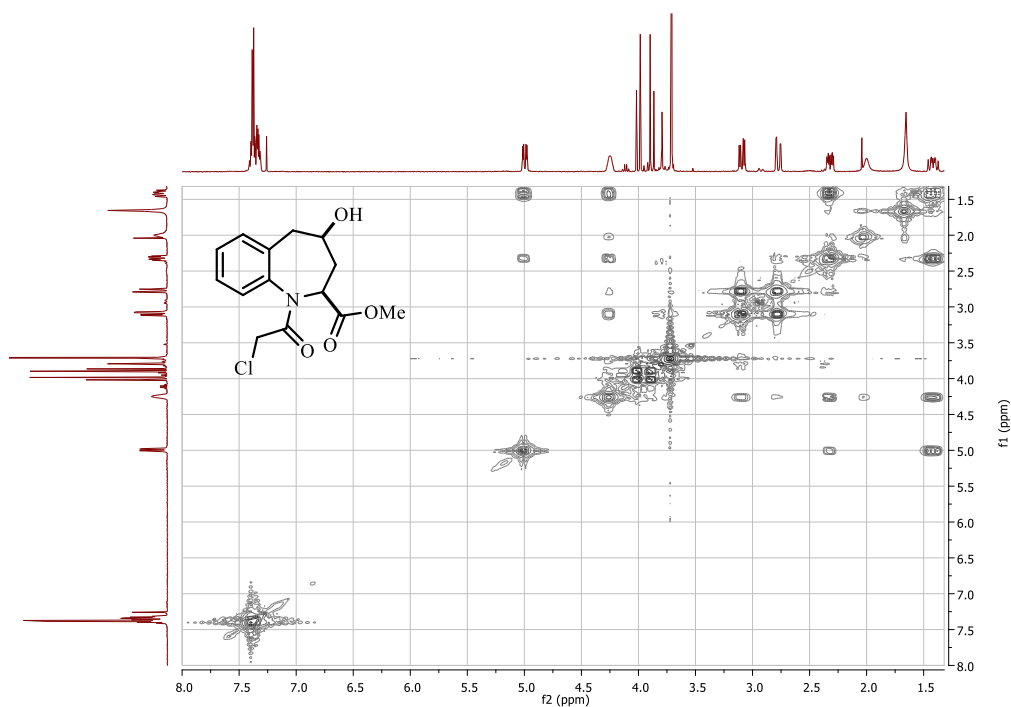
Anexo B. Espectro de masa del *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4a**.



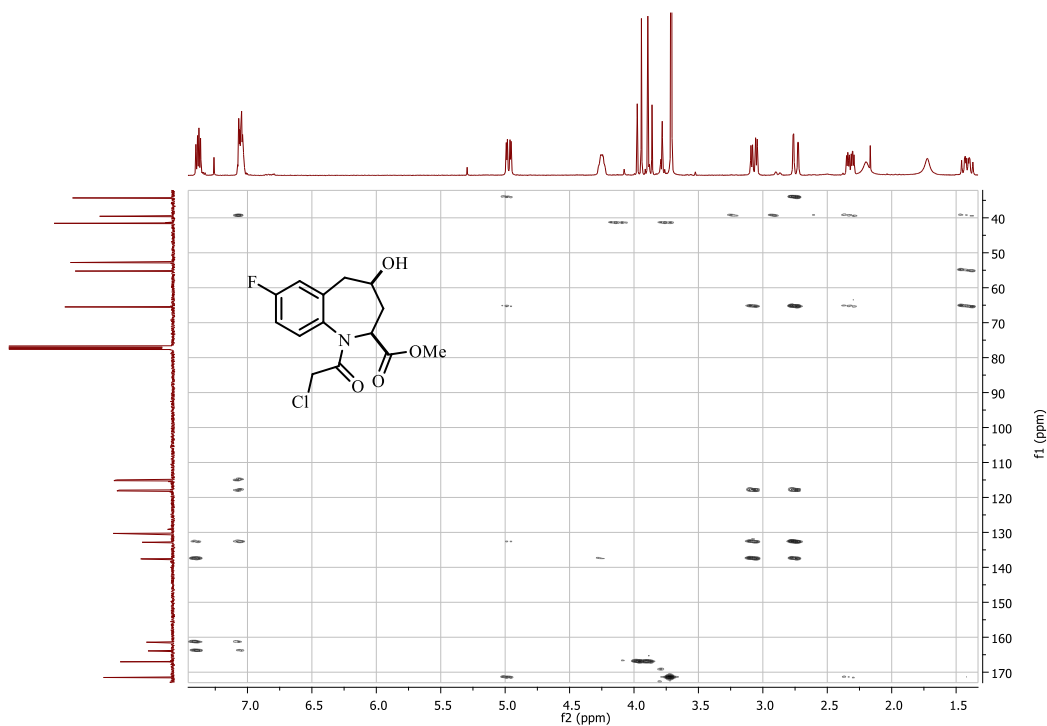
Anexo C. Espectro de RMN ^{13}C del *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4a**.



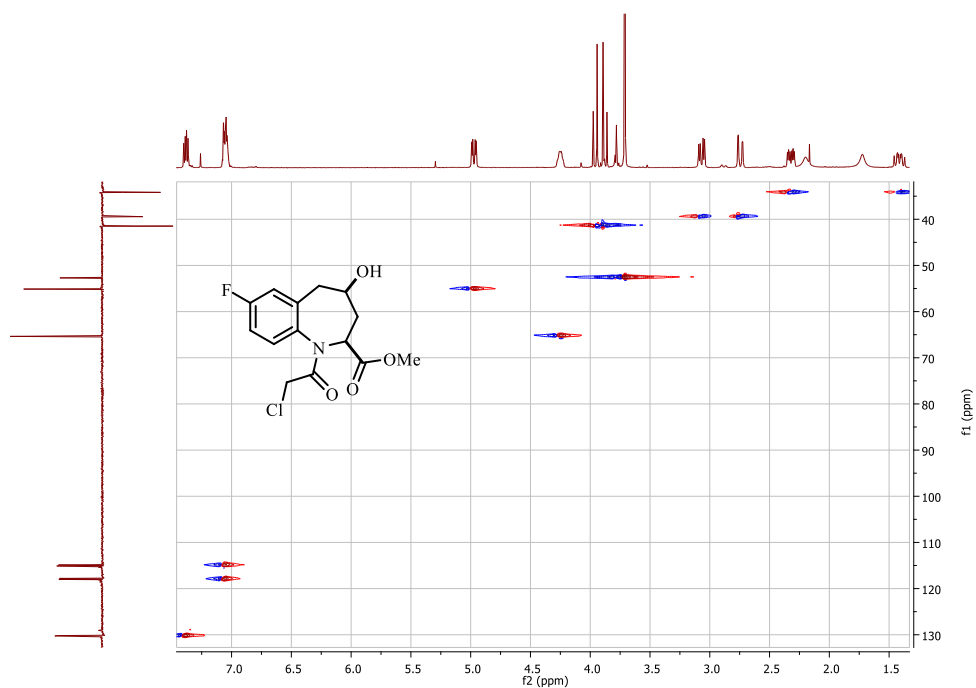
Anexo D. Espectro ^1H - ^1H COSY del *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4a**.



Anexo E. Espectro de HMBC del *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-7-flúor-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4c**.

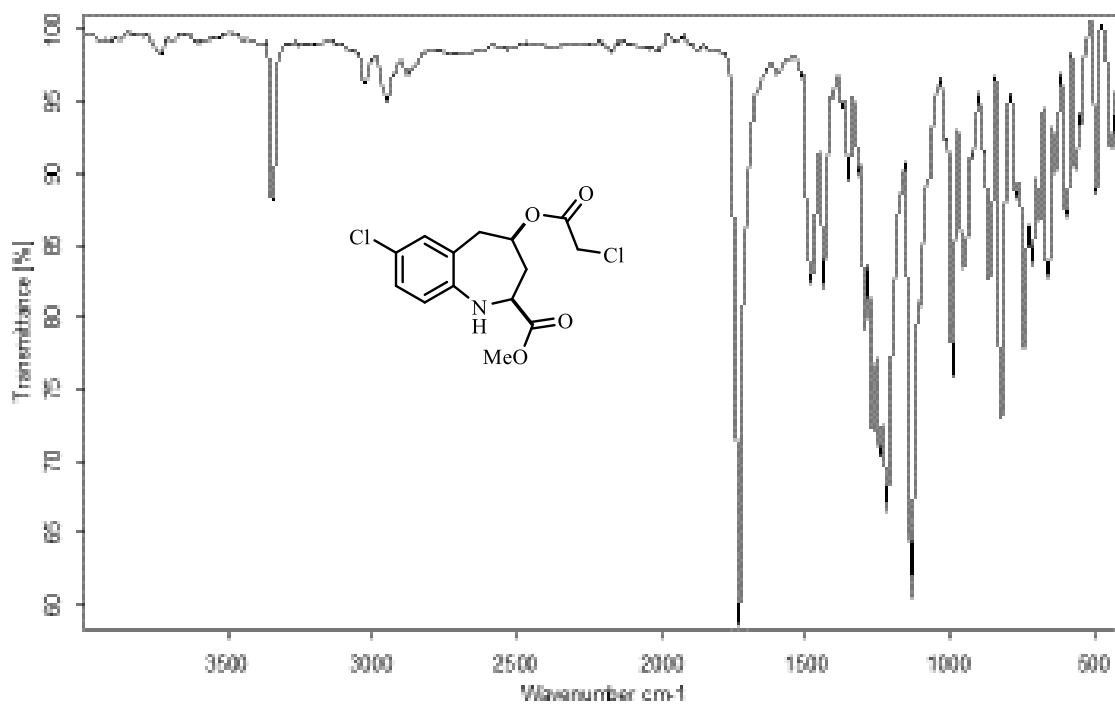


Anexo F. Espectro de HSQC del *cis*-1-(2-cloroacetil)-4-hidroxi-7-flúor-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4c**.

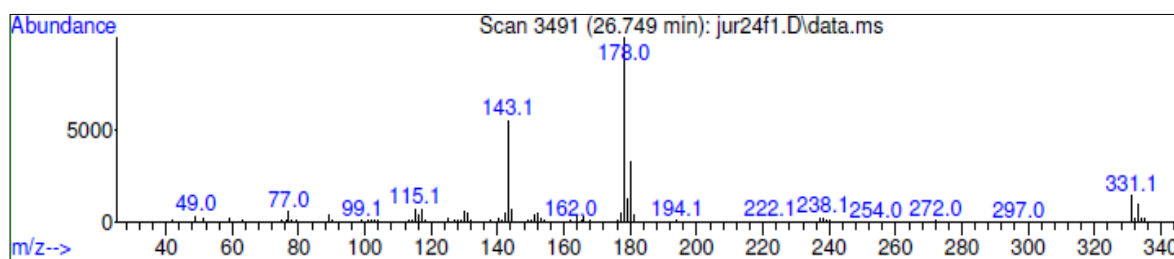


Espectros de IR, MS, RMN ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, HMBC y HSQC de los *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilatos de metilo **4'd-f**.

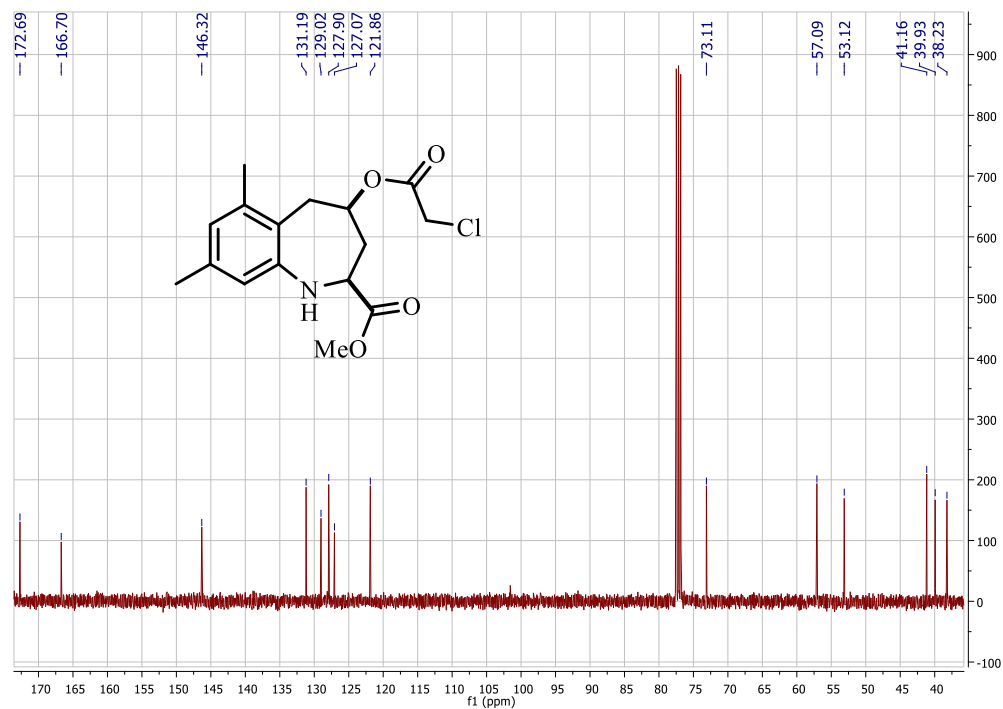
Anexo G. Espectro de infrarrojo del *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-7-cloro-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'd**.



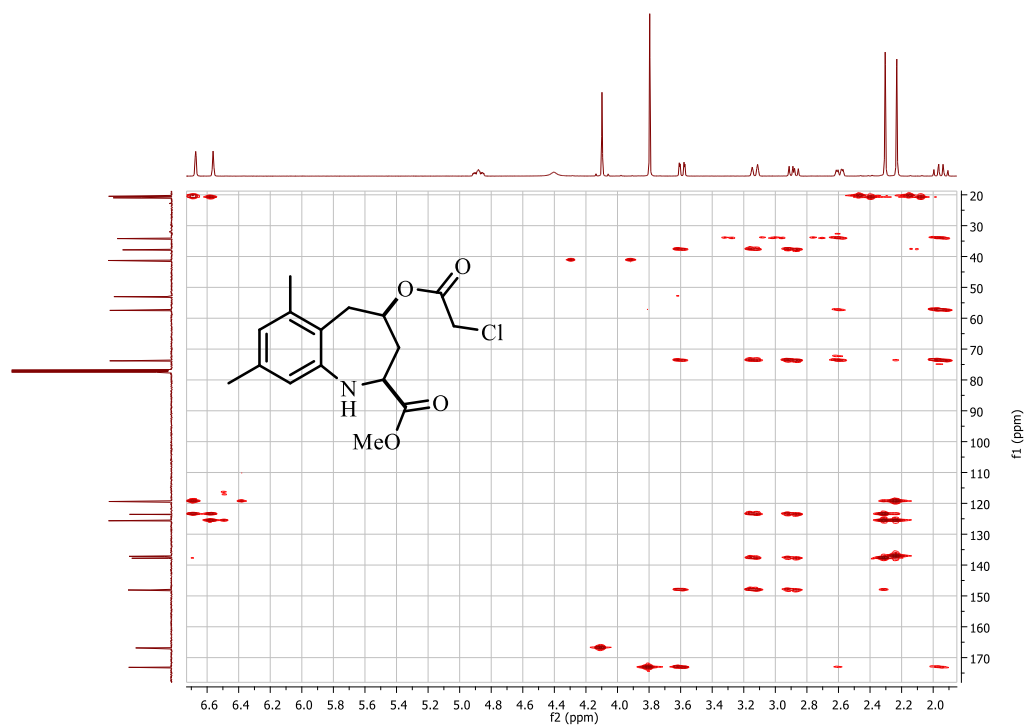
Anexo H. Espectro de masas del *cis*-4-(2-cloroacetil)-7-cloro-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'd**.



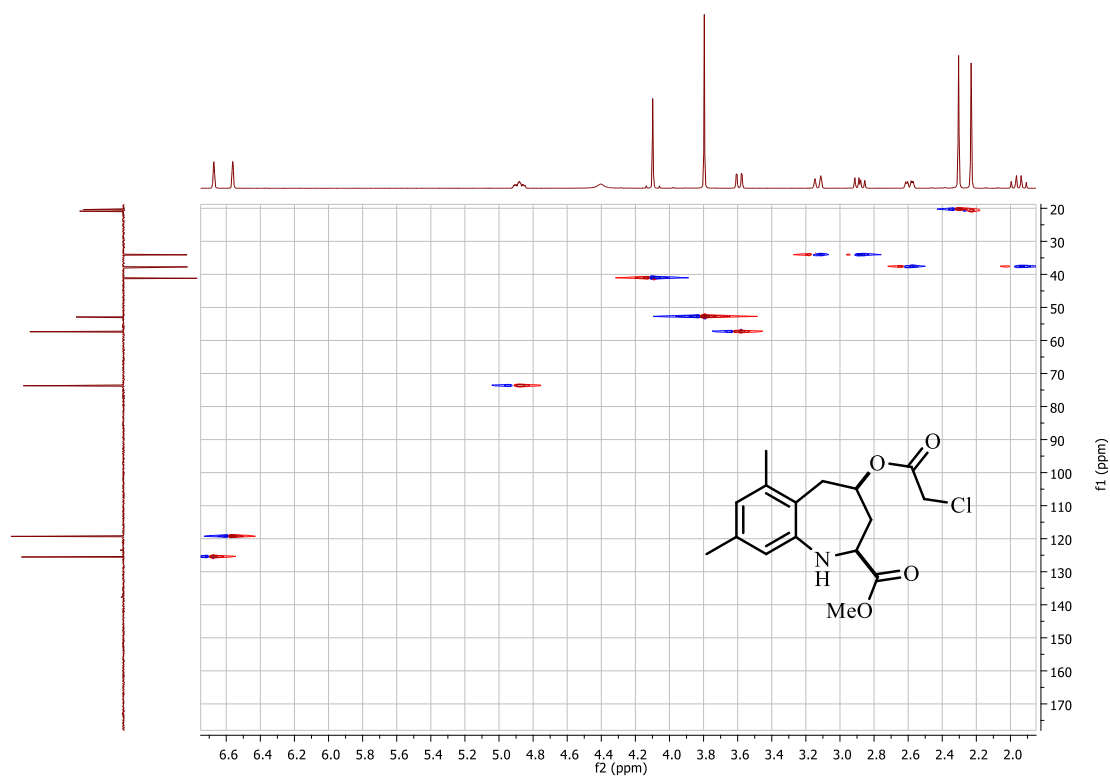
Anexo I. Espectro de RMN ^{13}C del *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'**f.



Anexo J. Espectro de HMBC del *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'**f.



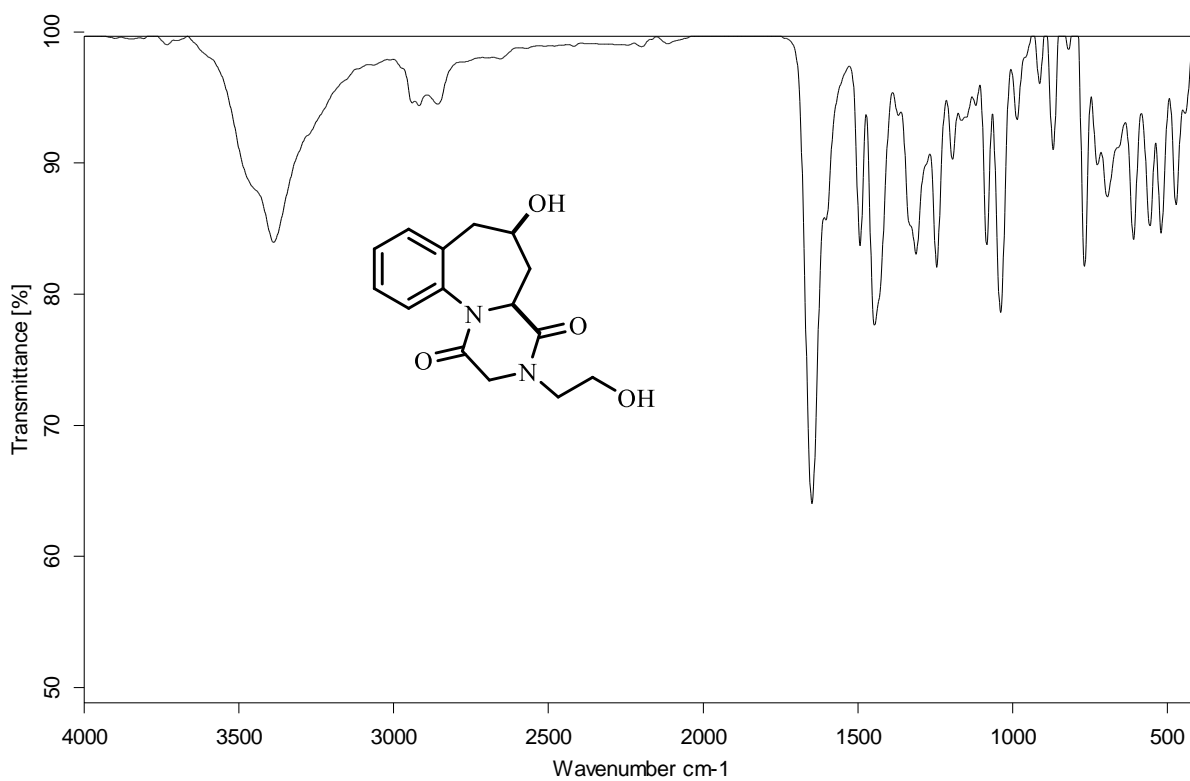
Anexo K. Espectro de HSQC del *cis*-4-(2-cloroacetoxi)-6,8-dimetil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepina-2-carboxilato de metilo **4'f**.



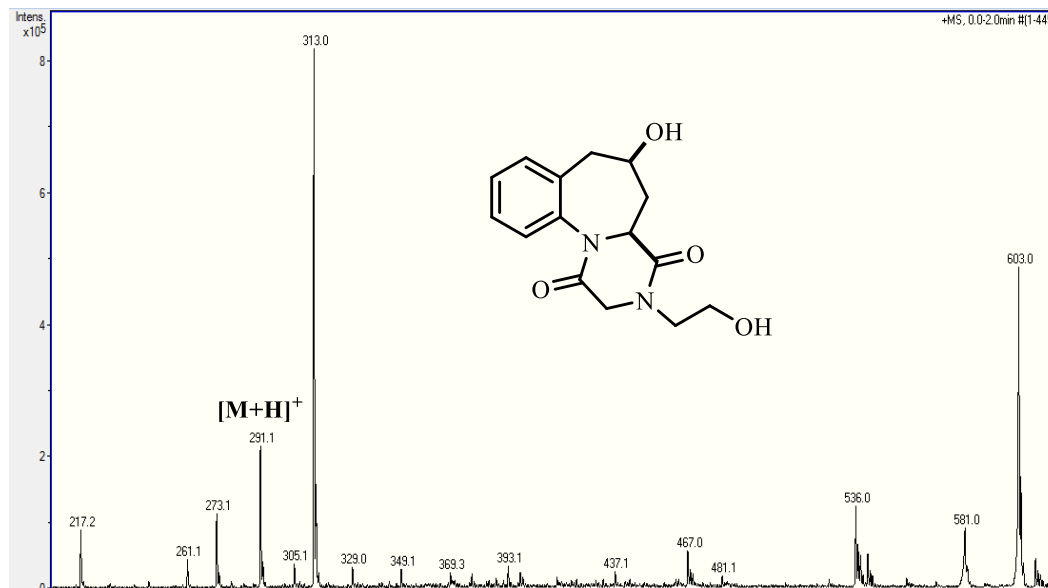
Espectros de IR, MS-ESI, RMN ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, HMBC y HSQC de las 6-hidroxi-3-(2-hidroxietil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-dionas **5a-g**.

Espectros de infrarrojo de los compuestos **5a-g**.

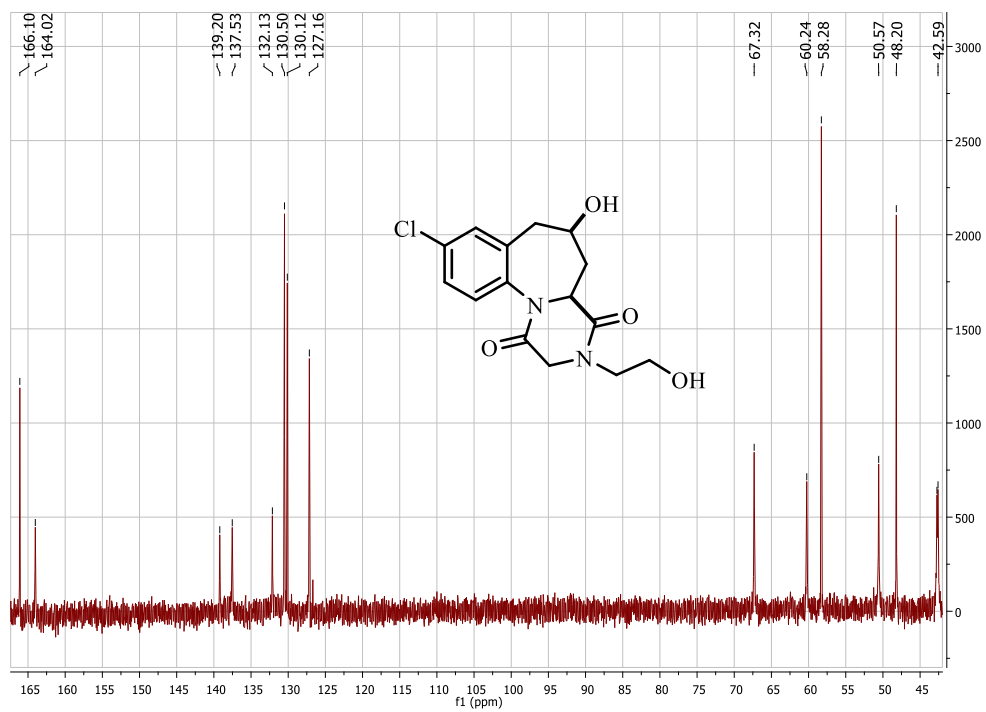
Anexo L. Espectro de infrarrojo de la 6-hidroxi-3-(2-hidroxietil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidro-benczo[*f*]pirazino[1,2-*a*]azepina-1,4-diona **5a**.



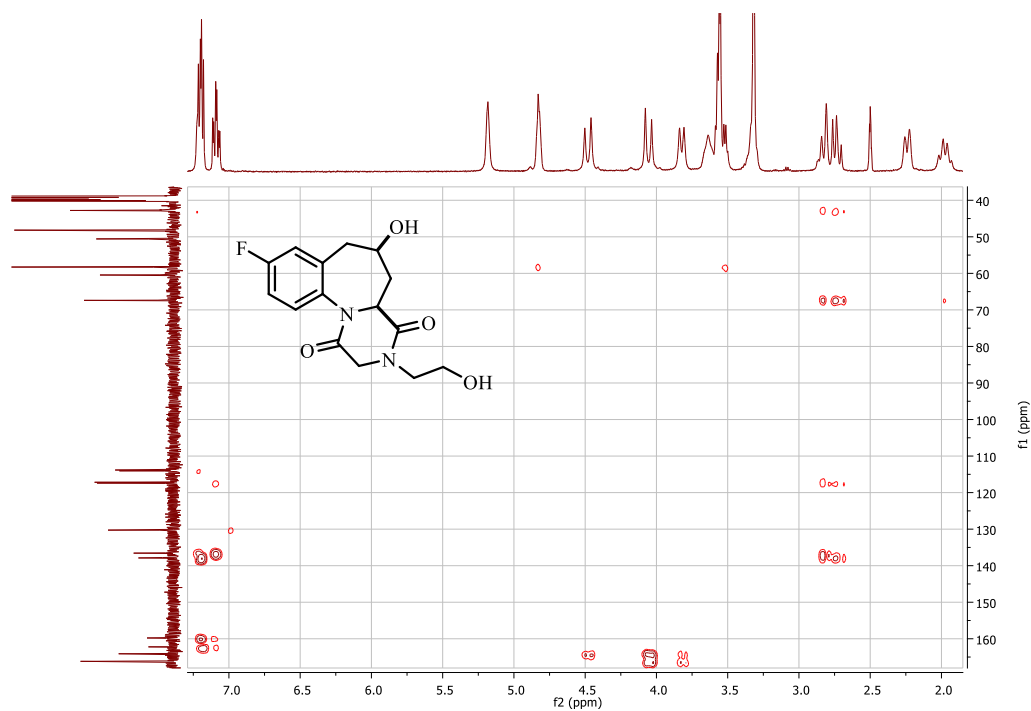
Anexo M. Espectro de ESI de la 6-hidroxi-3-(2-hidroxi-etil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidro-benzo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-diona **5a**.



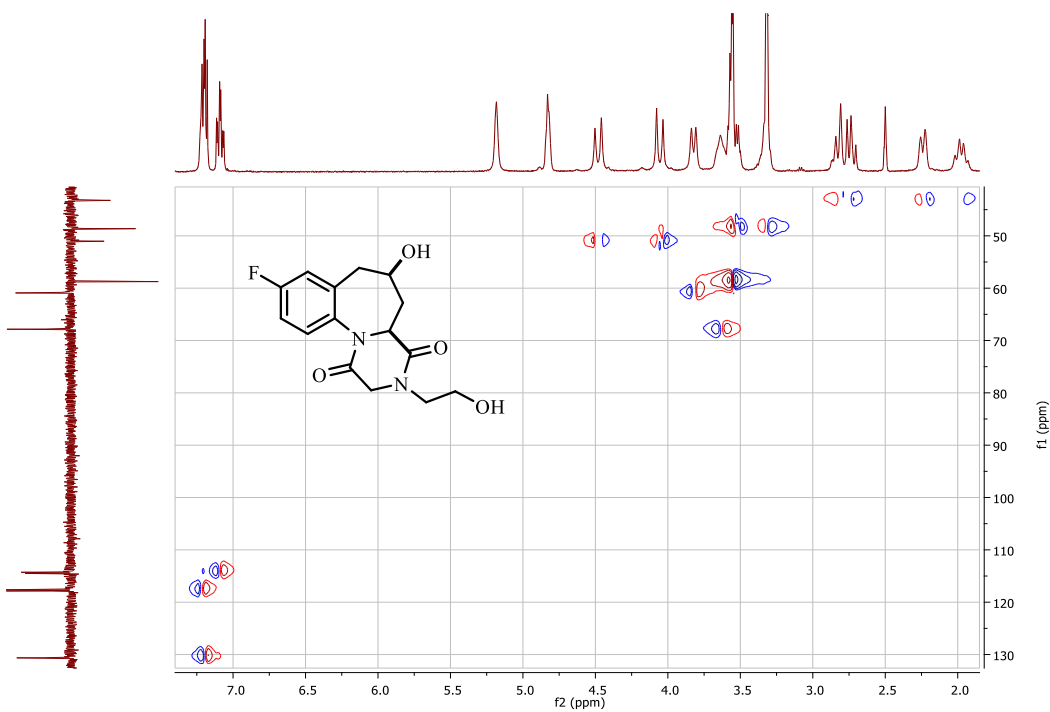
Anexo N. Espectro de RMN ^{13}C de la 9-cloro-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobencofpirazino[1,2-a]azepina-1,4-diona **5d**.



Anexo O. Espectro de HMBC de la 9-flúor-6-hidroxi-3-(2-hidroxietyl)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobencofpirazino[1,2-a]azepina-1,4-diona **5c**.



Anexo P. Espectro de HSQC de la 9-flúor-6-hidroxi-3-(2-hidroxietil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobenczo[f]pirazino[1,2-a]azepina-1,4-diona **5c**.



Anexo Q. Espectro de ^1H - ^1H COSY de la 9-cloro-6-hidroxi-3-(2-hidroxi-etil)-2,3,4a,5,6,7-hexahidrobencofpirazino[1,2-a]azepina-1,4-diona **5d**.

