

✓  
HAB-a  
u 86  
c.1

**SINTESIS DE 4-HIDROXI-7-X-1,4-BENZOXAZIN-3-ONAS  
Y SU REACTIVIDAD EN MEDIOS FUERTEMENTE ACIDOS**

**Tesis  
presentada a la  
Universidad de Chile  
en cumplimiento parcial de los requisitos  
para optar al grado de  
Magister en Ciencias Químicas  
Facultad de Ciencias**



por

**ANDRES EDUARDO QUIROZ CORTEZ**

**Profesor Patrocinante : Dr. Hermann Niemeyer M.**

**Enero 1991**

**FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACION  
TESIS DE MAGISTER**



Se informa a la Comisión de Postgrado de la facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por el Candidato:

**ANDRES EDUARDO QUIROZ CORTEZ**

ha sido aprobada por la Comisión informante de Tesis como requisito para optar al Grado de Magister en Ciencias Químicas.

Patrocinante de Tesis:

Dr. Hermann Niemeyer M.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Hermann Niemeyer", written over a horizontal line.

Comisión informante de Tesis:

Dr. Bruce Cassels

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Bruce Cassels", written over a horizontal line.

Dr. Renato Contreras

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Renato Contreras", written over a horizontal line.

Dr. Jaime Valderrama

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Jaime Valderrama", written over a horizontal line.

*A SOLANGE Y CONSTANZA*

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos al Dr. Hermann Niemeyer M., por su constante apoyo, colaboración y orientación durante el desarrollo de este trabajo y también deseo hacerlos extensivos al grupo de académicos del Laboratorio de Química Ecológica; a la profesora Sylvia Copaja, al profesor Héctor Bravo y al Dr. Francisco Pérez por sus consejos y recomendaciones y a la Comisión Informante por su comprensión y valiosos aportes.

Fue un largo recorrido que caminé junto a mis grandes amigos y compañeros de nuestra facultad. Fueron muchas las conversaciones sostenidas con Arturo Givovich, Victoria Leighton, Keni Figueroa y Elías Quezada, los que con su amistad y apoyo ayudaron a que esta tesis saliera adelante. A todos ellos les estoy infinitamente agradecidos.

No puedo dejar de agradecer a Claudia y a Patricia, las que más que colaboradoras se transformaron en dos muy queridas amigas, y a todas las personas que pertenecen al Laboratorio de Química Ecológica.

Elevo finalmente mis agradecimientos a Dios.

## INDICE DE MATERIAS

	<b>Pág.</b>
Lista de Tablas	vii
Lista de Figuras	viii
Resumen	x
Abstract	xi
<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>MATERIALES Y METODOS</b>	<b>6</b>
<b>SINTESIS DE ACIDOS HIDROXAMICOS</b>	<b>6</b>
<b>OBTENCION DE NITROFENOLES</b>	<b>6</b>
5-Metoxi-2-nitrofenol	7
5-Ciano-2-nitrofenol	7
4-Hidroxi-3-nitrobenzoato de metilo	7
5-Cloro-2-nitrofenol	8
<b>OBTENCION DE FENOXIDOS DE POTASIO</b>	<b>8</b>
5-Metoxi-2-nitrofenóxido de potasio	8
5-Metil-2-nitrofenóxido de potasio	8
2-Nitrofenóxido de potasio	9
5-Fluor-2-nitrofenóxido de potasio	9
5-Cloro-2-nitrofenóxido de potasio	9
5-Metoxicarbonil-2-nitrofenóxido de potasio	9
5-Ciano-2-nitrofenóxido de potasio	9
<b>OBTENCION DE NITROFENOXIDOS DE METILO</b>	<b>10</b>
5-Metoxi-2-nitrofenoxiacetato de metilo	10
5-Metil-2-nitrofenoxiacetato de metilo	10
2-Nitrofenoxiacetato de metilo	11
5-Fluor-2-nitrofenoxiacetato de metilo	11
5-Cloro-2-nitrofenoxiacetato de metilo	11
5-Metoxicarbonil-2-nitrofenoxiacetato de metilo	11
5-Ciano-2-nitrofenoxiacetato de metilo	12
<b>CICLACION REDUCTIVA</b>	<b>12</b>
4-Hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona	13
4-Hidroxi-7-metil-1,4-benzoxazin-3-ona	13
4-Hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona	14

4-Hidroxi-7-fluor-1,4-benzoxazin-3-ona	14
4-Hidroxi-7-cloro-1,4-benzoxazin-3-ona	14
4-Hidroxi-7-metoxicarbonil-1,4-benzoxazin-3-ona	15
4-Hidroxi-7-ciano-1,4-benzoxazin-3-ona	15
<b>SINTESIS DE LACTAMAS</b>	19
7-Metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona	19
1,4-Benzoxazin-3-ona	20
<b>ESTUDIOS CINETICOS</b>	21
Preparación de soluciones de los compuestos	21
Soluciones de ácidos	21
Obtención de constantes de velocidad	23
<b>ESTUDIOS DE PRODUCTOS DE REACCION</b>	24
Análisis de productos	24
Cinética de aparición de productos	24
<b>METODOS CROMATOGRAFICOS</b>	24
<b>METODOS ESPECTROSCOPICOS</b>	25
<b>RESULTADOS</b>	26
<b>CINETICAS</b>	26
<b>ANALISIS DE PRODUCTOS DE REACCION</b>	30
Reacción entre la 4-hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona y HCl	30
Reacción entre la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona y HCl	30
Cinéticas de aparición de productos	32
<b>CORRELACIONES LINEALES DE ENERGIA LIBRE</b>	33
Cinéticas	33
<b>DISCUSION</b>	34
<b>CONCLUSIONES</b>	44
<b>REFERENCIAS</b>	45

### Lista de Tablas

Tabla 1	Propiedades físicas y espectroscópicas de nitrofenoles.	16
Tabla 2	Propiedades físicas y espectroscópicas de nitroésteres.	17
Tabla 3	Propiedades físicas y espectroscópicas de ácidos hidroxámicos	18
Tabla 4	Propiedades físicas y espectroscópicas de lactamas.	20
Tabla 5	Constantes de velocidad (log) para la descomposición de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl de distintas concentraciones.	29
Tabla 6	Propiedades físicas y espectroscópicas de productos.	31
Tabla 7	Constantes de velocidad de primer orden para la descomposición de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazin-3-onas en HCl 9,6 M y a 31°C y parámetros de Hammett.	33
Tabla 8	Valores de $K_B$ , $K_{BH^+}$ y $pK_B$ de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazin-3-onas.	36

### Lista de Figuras

Figura 1.	Descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M ( $H_0 = -3,5$ ) a 31°C.	26
Figura 2.	Descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 0,25 M ( $H_0 = -0,47$ ) a 31°C.	27
Figura 3.	Cinética (a) y ajuste a una ecuación de pseudo primer orden (b) para la descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M ( $H_0 = -3,5$ ) a 31°C.	27
Figura 4.	Cinética (a) y ajuste a una ecuación de pseudo primer orden (b) para la descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 0,25 M ( $H_0 = -0,47$ ) a 31°C.	28
Figura 5.	Cinética de aparición de productos en la descomposición de la 4-hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M.	32
Figura 6.	Cinética de aparición de productos en la descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M.	32
Figura 7.	Efecto de la acidez del medio sobre las constantes de velocidad de la reacción de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl de diferentes concentraciones, a 31°C.	34
Figura 8.	Efecto de la acidez sobre la constante de velocidad para la reacción de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl de diferentes concentraciones.	35
Figura 9.	Gráfico de Hammett para la protonación de 4-hidroxi-7-X-2H-1,4-benzoxazin-3-onas.	36
Figura 10.	Efecto del pH sobre constantes de velocidad de pseudo primer orden para la descomposición de la 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona a 31°C.	37
Figura 11.	Efecto de la acidez del medio sobre constantes de velocidad de pseudo primer orden para la descomposición de la 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona en soluciones de distinta acidez, a 31°C.	38
Figura 12.	Gráfico de Hammett para la descomposición de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazin-3-onas en HCl al 37 % a 31°C.	39

- Figura 13. Mecanismo propuesto para la descomposición de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M. 41
- Figura 14. Gráfico de frecuencias de absorción ( $1/\lambda_1$ ) en el UV vs. el parámetro  $\sigma_p^+$  para la serie de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazinas. 42
- Figura 15. Gráfico de frecuencias de absorción ( $1/\lambda_2$ ) en el UV vs. el parámetro  $\sigma_p^+$  para la serie de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazinas. 42

## RESUMEN

La mutagenicidad de ciertos ácidos hidroxámicos derivados de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona ha sido relacionada con la activación enzimática del grupo hidroxilo. Esta resultaría en la formación de ésteres sulfatos o acetatos, que al ionizarse formarían un intermediario fuertemente electrofílico con estructura ión nitrenio. Por otra parte, se ha informado que la reacción de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona con HCl produce la respectiva lactama clorada en la posición 7 y se ha postulado la participación de un intermediario electrofílico.

Con el objeto de aportar pruebas adicionales sobre el mecanismo de esta reacción se estudió el comportamiento de una serie de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazin-3-onas, donde X = CH<sub>3</sub>O, CH<sub>3</sub>, H, F, Cl, CO<sub>2</sub>Me y CN, en HCl de diferentes concentraciones (0,001 M a 9,6 M).

Los productos aislados fueron: a) la 7-metoxi-5-cloro-1,4-benzoxazin-3-ona para la reacción entre la 4-hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona y HCl concentrado; y b) la 5- y la 7-cloro-1,4-benzoxazin-3-ona para la reacción entre la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona y HCl concentrado.

El efecto de la acidez del medio sobre las constantes de velocidad de reacción observadas, permite suponer la existencia de una especie electrofílica cinéticamente activa a un valor de H<sub>0</sub> aproximadamente igual a -3.

El efecto de los sustituyentes sobre las constantes de velocidad observadas dió origen a correlaciones de energía libre bilineales en las cuales la velocidad máxima corresponde a valores de  $\sigma_p^+$  cercanos a 0,2 ( $\rho = 0,71$  para  $-0,268 < \sigma_p < 0,227$ ;  $\rho = -4,08$  para  $0,114 < \sigma_p^+ < 0,659$ ).

Las pruebas anteriores permiten postular un mecanismo en cuatro etapas: a) protonación del grupo hidroxilo; b) deshidratación; c) ataque nucleofílico del ión Cl<sup>-</sup> sobre el anillo aromático y, d) aromatización. La relación de energía libre descrita sugiere la existencia de un cambio en el paso que determina la velocidad de la reacción en este mecanismo común.

## ABSTRACT

The mutagenic activity of some hydroxamic acids derived from 4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one has been related to the enzymatic activation of the hydroxyl group. This activation presumably involves the formation of sulphate esters or acetates which, upon ionization, are capable of forming strongly electrophilic intermediates of the nitrenium ion type. Moreover, it has been reported that the reaction between 4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one and concentrated HCl gives rise to the respective C-7-chlorinated lactam, suggesting the participation of an electrophilic intermediate.

In order to obtain additional evidence regarding this reaction mechanism, the behaviour of a series of 4-hydroxy-7-X-benzoxazin-3-ones (where X = CH<sub>3</sub>O, CH<sub>3</sub>, H, F, Cl, CO<sub>2</sub>Me and CN) was studied in HCl solutions (0.001 M to 9.6 M).

The following products were isolated: a) 7-methoxy-5-chloro-1,4-benzoxazin-3-one from the reaction between 4-hydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one and concentrated HCl; and b) 5- and 7-chloro-1,4-benzoxazin-3-one from the reaction between 4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one and concentrated HCl.

The effect of the acidity of the medium on the rate constants suggests the presence of a kinetically active electrophilic species, active at H<sub>0</sub> values around -3.

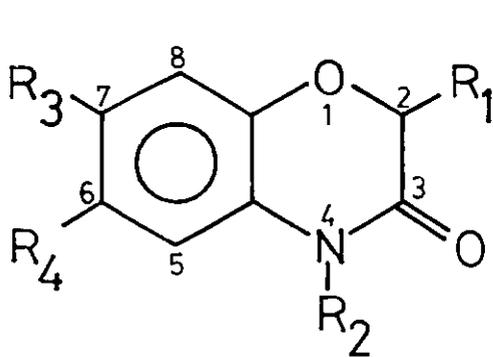
Substituent effects on the observed rate constants gave place to a bilinear free energy relationship in which maximum velocity corresponds to  $\sigma_p^+$  values about 0.2 ( $\rho = 0.71$  for  $-0.268 < \sigma_p < 0.227$ );  $\rho = -4.08$  for  $0.114 < \sigma_p^+ < 0.659$ ).

This evidence is in agreement with the postulation of a four step reaction mechanism: a) protonation of the hydroxyl group; b) dehydration; c) nucleophilic attack by the Cl<sup>-</sup> ion on the aromatic ring and, d) rearomatization.

The free energy relationship described above suggests the existence of a change in the rate determining step in this common mechanism.

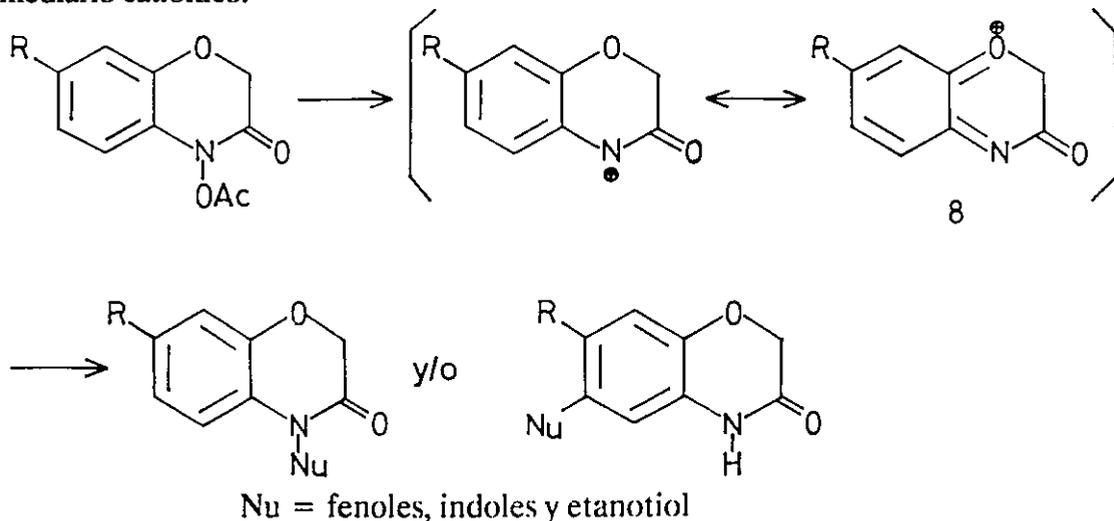
## INTRODUCCION

La 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona **1** y la 2,4-dihidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona **2**, dos ácidos hidroxámicos aislados de extractos de gramíneas e involucrados en la resistencia de ellas hacia insectos, hongos y bacterias (Niemeyer, 1988) y la 4-hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona **3** y la 4-hidroxi-6-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona **4**, dos compuestos análogos, muestran efectos mutagénicos en el test de Ames (Hashimoto y col., 1979).

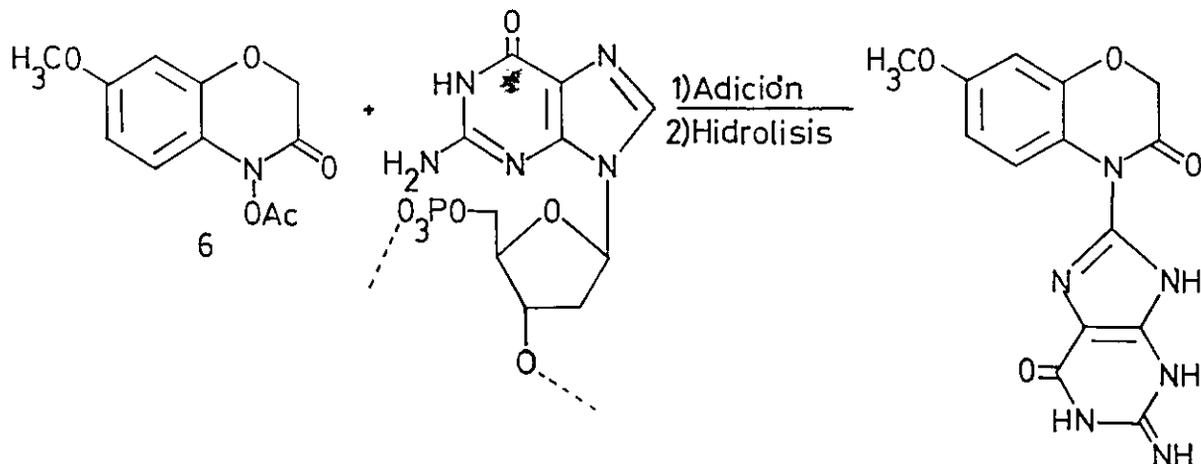


Compuesto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
1	OH	OH	CH <sub>3</sub> O	H
2	OH	OH	H	H
3	H	OH	CH <sub>3</sub> O	H
4	H	OH	H	CH <sub>3</sub> O
5	H	OH	H	H
6	H	OAc	CH <sub>3</sub> O	H
7	H	OAc	H	H

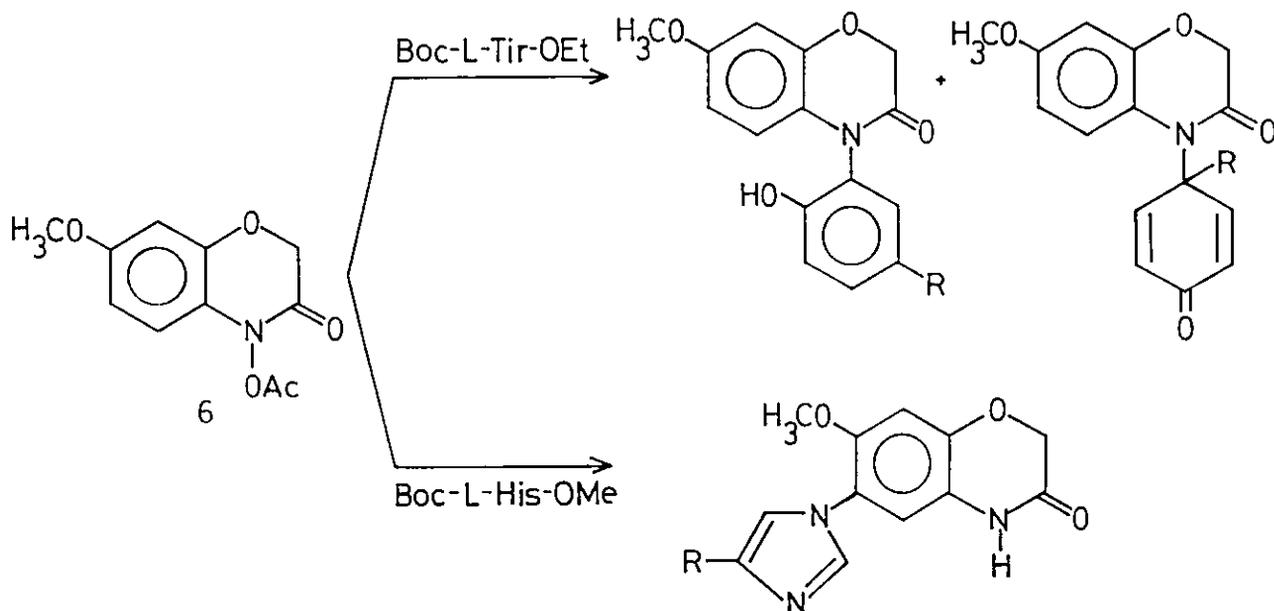
Con el objetivo de buscar las bases químicas de esta actividad biológica, Hashimoto y col. (1979a) investigaron la reactividad de **3** y **5** frente a algunos nucleófilos tales como fenoles, indoles y etanotiol. Encontraron que en tanto aquellos compuestos no reaccionaban, sus respectivos derivados acetilados **6** y **7** sí lo hacían. Los productos obtenidos de estas últimas reacciones correspondían a la eliminación del grupo acetilo y la incorporación del nucleófilo, ya sea sobre el nitrógeno o sobre el C-6. Los autores encontraron que el grupo 7-metoxilo aumentaba esta reactividad, y postularon que la ruptura heterolítica del enlace N-O formaba un intermediario catiónico.



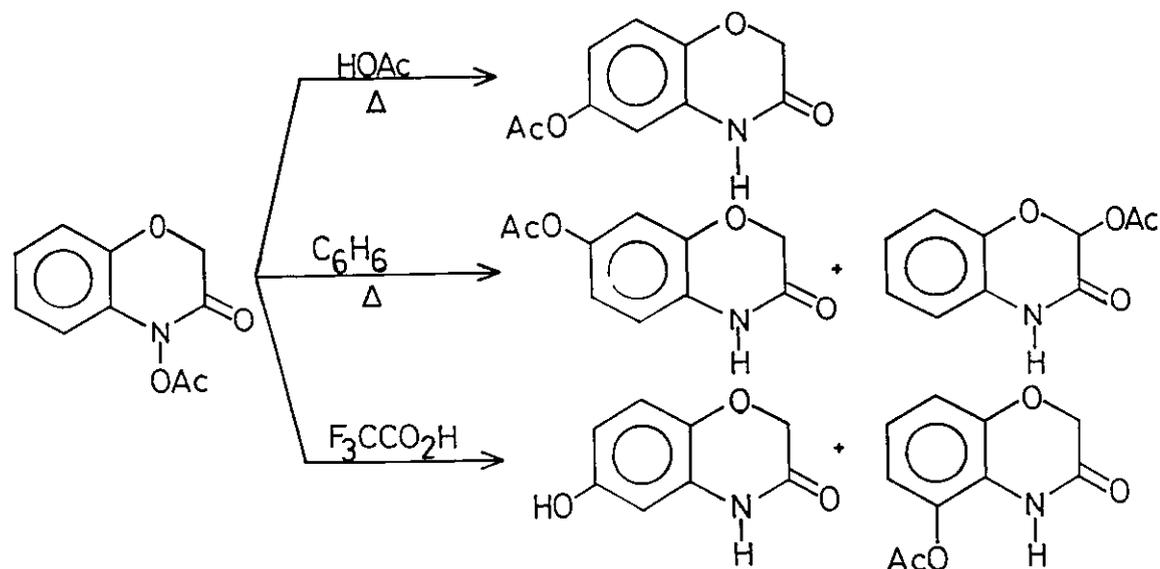
La reacción de **6** con centros nucleofílicos del ADN estudiada por Ishizaki y col. (1982), puso sobre bases más sólidas el origen químico de la actividad mutagénica de las benzoxazinonas.



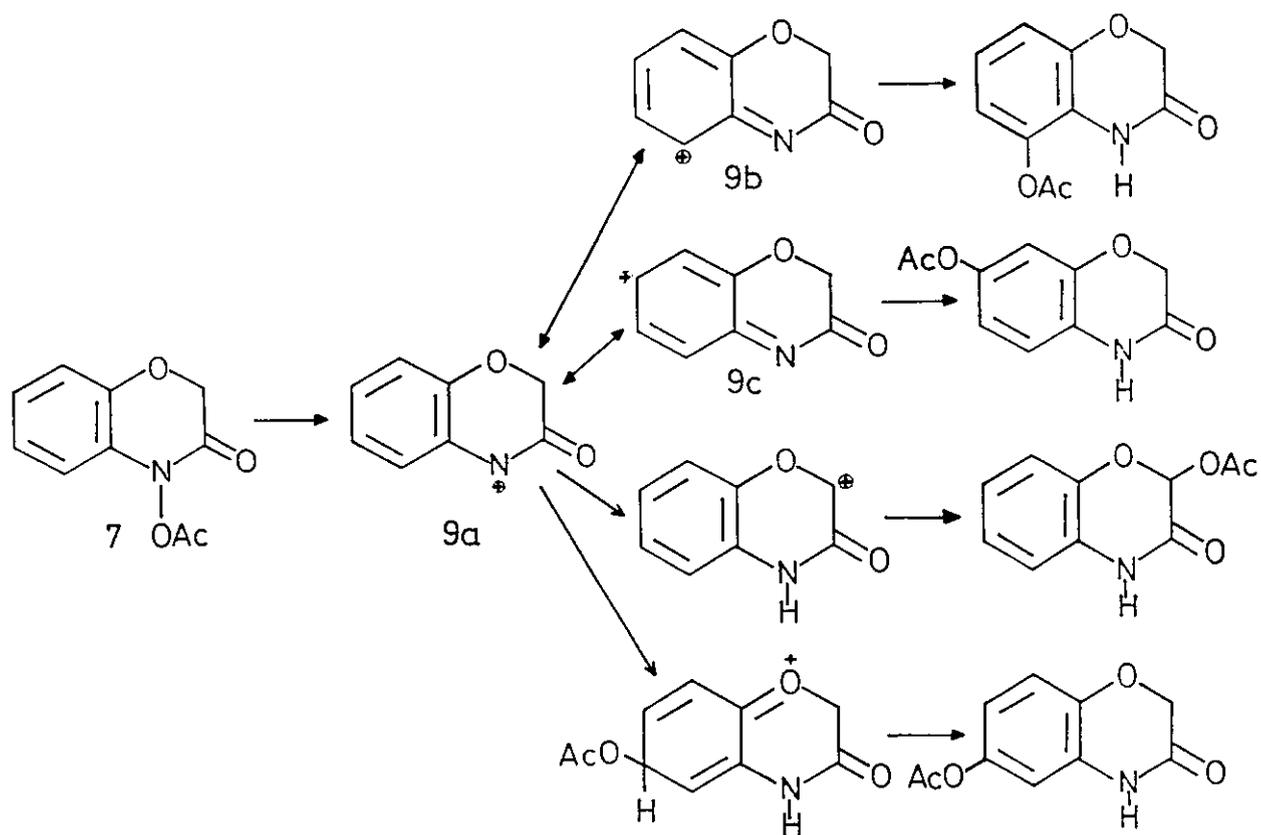
Adicionalmente, Ishizaki y col. (1983) informaron sobre la reacción de **6** con derivados de aminoácidos la cual lleva a productos generados por sustitución en las posiciones N-4 y C-6 del sistema de benzoxazinona.



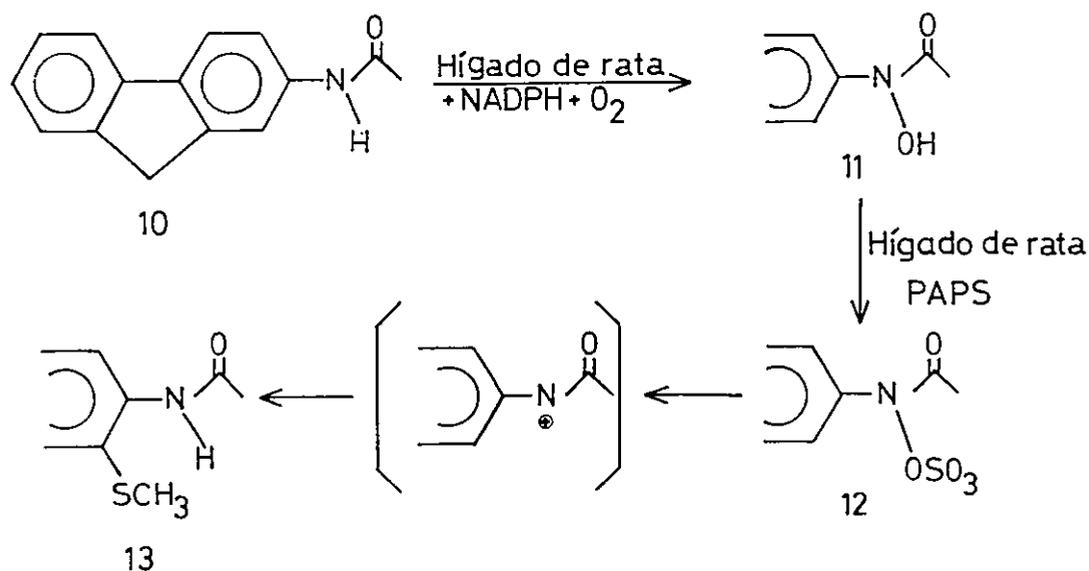
Posteriormente, Hashimoto y col. (1983) estudiaron el reordenamiento de **7** en distintos medios y postularon mecanismos que también recurrían a intermediarios electrofílicos para explicar la formación de los distintos productos generados en condiciones diferentes.



El ataque a las posiciones C-5 y C-7 fué interpretado considerando que en el catión **9a** la carga positiva se deslocaliza sobre dichas posiciones (estructuras resonantes **9b** y **9c**), y el ataque a las posiciones 2 y 6 mediante la formación del ión oxonio **8**.



La reactividad relativa de derivados N-hidroxiados y N-acetilados llevó a la hipótesis que la O-esterificación de ácidos arilhidroxámicos sería un paso de activación importante para la ruptura heterolítica del enlace N-O. La pieza clave en estas reacciones sería la formación de una especie química con un átomo de nitrógeno deficiente en electrones, capaz de sufrir ataque nucleofílico. En apoyo a esta hipótesis, Scribner y col. (1970) y Miller (1970) habían postulado que la carcinogenicidad de algunas arilaminas se debería a la formación de un ión nitrenio producto de reacciones metabólicas de ellas. Por otra parte, estudios acerca de la carcinogenicidad del 2-acetilaminofluoreno (AAF) **10**, revelaron que este compuesto es metabolizado a 1- y 3-metilmercaptoacetilaminofluoreno **13** (DeBaun y col., 1970) por medio de la transformación enzimática de **10** a N-hidroxi-AAF **11** (Cramer y col., 1960) y la formación de N-sulfato de AAF **12** (Weisburger y col., 1972) por la reacción de **11** con 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfato (PAPS) catalizada por una sulfotransferasa (DeBaun y col., 1970). Se ha postulado que la transformación del N-sulfato intermediario **12** en el producto final **13** ocurre con formación de un ión nitrenio (DeBaun y col., 1970), que podría sufrir el ataque de nucleófilos tales como los ácidos nucleicos (Scribner, 1976; DeBaun y col., 1970).



Debido a que no hay antecedentes físicoquímicos acerca de la existencia de estas especies electrofílicas es que nos propusimos buscar evidencias cinéticas sobre la formación de estas especies electrofílicas a partir de ácidos hidroxámicos del tipo 1,4-benzoxazin-3-ona.

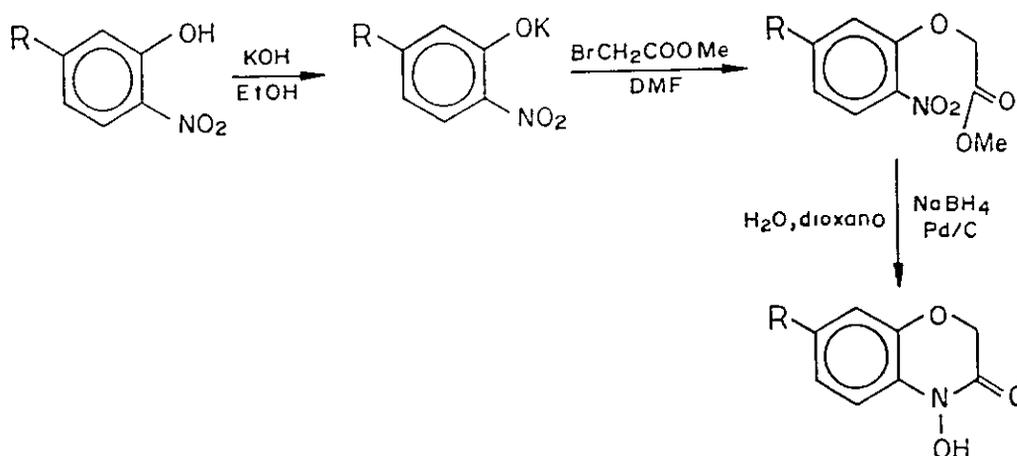
Una alternativa para generar estas especies electrofílicas a partir de ácidos hidroxámicos es someterlos a la acción de medios fuertemente ácidos que permitirían la protonación del grupo OH hidroxámico y la posterior pérdida de agua con ruptura heterolítica del enlace N-O.

En esta tesis se plantearon tres enfoques para detectar la presencia de esta especie electrofílica: a) variación de la acidez del medio; b) variación de sustituyentes en el anillo aromático, y c) análisis de productos de la reacción.

## MATERIALES Y METODOS

### 1 SINTESIS DE ACIDOS HIDROXAMICOS

Todos los ácidos hidroxámicos fueron sintetizados mediante modificaciones de los métodos descritos por Jernow y Rosen (1975) y por Coutts y Noble (1964). La reacción involucra una ciclación reductiva de un nitroéster, el cual se obtiene por reacción de un o-nitrofenóxido de potasio con bromoacetato de metilo. Los nitrofenoles fueron a su vez sintetizados por métodos clásicos.



Los datos espectroscópicos y físicos de todos los compuestos sintetizados se encuentran tabulados en las Tablas 1, 2 y 3.

Todos los productos de síntesis fueron purificados por métodos cromatográficos, como se describe más adelante (pág. 24) y fueron identificados mediante técnicas espectroscópicas convencionales (pág. 25).

#### 1.1 OBTENCIÓN DE NITROFENOLES

Algunos 2-nitrofenoles sustituidos en posición 5 están disponibles comercialmente (R = H, CH<sub>3</sub> y F). Los otros fueron sintetizados utilizando tres tipos de reacciones : de nitración del

anillo (R = CH<sub>3</sub>O y CN), de esterificación de una función carboxilo presente en el anillo (R = CO<sub>2</sub>Me) o de desmetilación de un grupo metoxilo presente en el anillo (R = Cl).

#### 1.1.1 5-Metoxi-2-nitrofenol

Se disolvieron 25,5 g (0,20 mol) de 3-metoxifenol en 40 ml de ácido acético y se agregó gota a gota esta solución sobre una mezcla formada por 36 ml de ácido acético y 13 ml de ácido nítrico concentrado, manteniéndose la mezcla de reacción a 5°C con agitación. Al terminar la adición, la mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante treinta minutos y posteriormente vertida sobre hielo picado. Por último, el producto se retiró de la mezcla de reacción mediante destilación en corriente de vapor de agua obteniéndose 15,5 g (45 %) de un sólido amarillo.

#### 1.1.2 5-Ciano-2-nitrofenol

Se disolvieron 4,0 g (0,03 moles) de 3-cianofenol en 20 ml de ácido acético y se agregó gota a gota esta solución sobre 17,5 ml de ácido nítrico al 70 % p/p, manteniéndose la mezcla de reacción a 5°C. Después de que un tercio del fenol fue agregado, se retiró el balón del baño frío y se continuó la adición a temperatura ambiente. Al cabo de una hora de agitación a temperatura ambiente la mezcla de reacción se virió sobre hielo picado. Esta mezcla fue extraída 3 veces con éter etílico. La fase etérea fue llevada a sequedad. El análisis por cromatografía en capa fina del sólido (3,5 g) reveló la presencia de 3 productos. El cianonitrofenol deseado fue separado por métodos cromatográficos. El sólido amarillo obtenido pesó 1,01 g (20 %).

#### 1.1.3 3-Hidroxi-4-nitrobenzoato de metilo

Se disolvieron 5,0 g (0,027 mol) de ácido 3-hidroxi-4-nitrobenzoico en 100 ml de metanol y se adicionó 100 ml de cloruro de metileno y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla de reacción fue calentada a reflujo durante 12 horas. Posteriormente la mezcla fue enfriada y vaciada sobre agua destilada. La fase orgánica fue evaporada a sequedad en un evaporador rotatorio. La fase acuosa fue extraída dos veces con diclorometano y la fase orgánica evaporada a sequedad. Se obtuvieron 4,8 g (89 %) de un sólido amarillo.

#### 1.1.4 5-Cloro-2-nitrofenol

Una solución formada por 10,0 g (0,053 mol) de 3-cloro-6-nitroanisol disueltos en 70 ml de ácido bromhídrico al 48 % en agua fue calentada a reflujo durante 20 horas y luego extraída tres veces con diclorometano. La fase orgánica fue lavada tres veces con agua destilada y fue concentrada hasta que quedó un residuo que precipitó a temperatura ambiente. Este sólido (7,1 g) fué lavado con una solución de NaOH al 1 %, dando origen a una solución de color rojo y a un residuo de color rojo que fue separado por filtración. El filtrado fue llevado a pH 7 con una solución de HCl 1N. Esta solución neutra fue extraída tres veces con eter etílico. La fase etérea fue concentrada, quedando un residuo líquido espeso al cual se le adicionó unas gotas de cloroformo. Al cabo de unos pocos minutos a  $-10^{\circ}\text{C}$ , precipitó un sólido amarillo, que fue filtrado y que pesó 2,5 g (26 %).

### 1.2 OBTENCION DE FENOXIDOS DE POTASIO

Todos los nitrofenóxidos de potasio fueron obtenidos por titulación de soluciones etanólicas del nitrofenol correspondiente con KOH disuelto en etanol. La reacción fue espontánea, precipitando en cada caso un sólido rojo, que fue filtrado con succión y secado bajo vacío.

#### 1.2.1 5-Metoxi-2-nitrofenóxido de potasio

Se disolvieron 10,0 g (0,06 mol) de 5-metoxi-2-nitrofenol en 68 ml de etanol caliente y se adicionaron 3,4 g (0,06 mol) de KOH disueltos en 34 ml de etanol caliente. Se formó una suspensión de color rojo, la cual se filtró. El sólido pesó 10,2 g (83%).

#### 1.2.2 5-Metil-2-nitrofenóxido de potasio

Se disolvieron 5,0 g (0,03 mol) de 5-metil-2-nitrofenol en 4 ml de etanol caliente y se agregaron 1,8 g (0,03 mol) de KOH disueltos en 15 ml de etanol con suave calentamiento. Se obtuvieron 4,8 g (76%) de producto.

### 1.2.3 2-Nitrofenóxido de potasio

Se disolvieron 10,0 g (0,07 mol) de 2-nitrofenol en 70 ml de etanol caliente y se adicionaron 3,9 g (0,07 mol) de KOH disueltos en 34 ml de etanol con suave calentamiento. El producto final pesó 12,0 g (97%).

### 1.2.4 5-Fluor-2-nitrofenóxido de potasio

Se disolvió 1,0 g (0,0064 mol) de 5-fluor-2-nitrofenol en 1 ml de etanol caliente y se adicionaron 0,36 g (0,061 mol) de KOH disueltos en 3 ml de etanol con suave calentamiento. El producto final pesó 0,9 g (72%).

### 1.2.5 5-Cloro-2-nitrofenóxido de potasio

Se disolvieron 2,0 g (0,012 mol) de 5-cloro-2-nitrofenol en 15 ml de etanol caliente y se adicionaron 0,64 g (0,011 mol) de KOH disueltos en 15 ml de etanol con suave calentamiento. El producto final pesó 1,2 g (47%).

### 1.2.6 5-Metoxicarbonil-2-nitrofenóxido de potasio

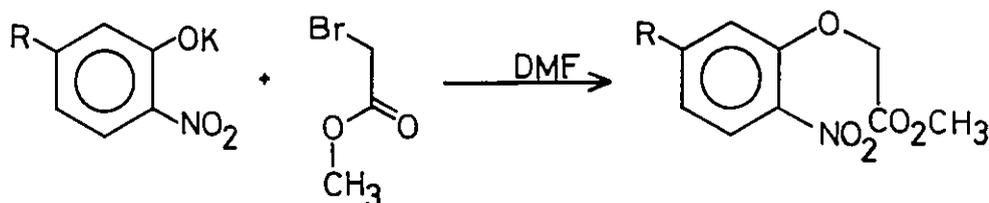
Se disolvieron 3,0 g (0,015 mol) de 3-hidroxi-4-nitrobenzoato de metilo en 20 ml de etanol caliente y se adicionaron 0,85 g (0,015 mol) de KOH disueltos en 20 ml de etanol con suave calentamiento. El producto final pesó 2,9 g (82%).

### 1.2.7 5-Ciano-2-nitrofenóxido de potasio

Se disolvieron 0,70 g (0,0043 mol) de 5-ciano-2-nitrofenol en 6 ml de etanol caliente y se adicionaron 0,24 g (0,0043 mol) de KOH disueltos en 6 ml de etanol con suave calentamiento. El producto final pesó 0,86 g (99%).

### 1.3 OBTENCION DE NITROFENOXIACETATO DE METILO

Se suspendió el fenolato en N,N-dimetilformamida y se adicionó gota a gota bromoacetato de metilo en una proporción molar entre 1,2 y 1,4. La adición del bromoéster se efectuó a temperatura ambiente y con agitación lenta. Luego que se verificó, por medio de controles en cromatografía en capa fina, que la reacción hubo finalizado, se adicionó agua en una proporción de tres veces el volumen de N,N-dimetilformamida. En algunos casos esta adición trajo consigo la precipitación del producto deseado. En otros casos la mezcla debió ser extraída con eter etílico. La evaporación del éter condujo al producto deseado. En ambos casos el producto aislado tuvo la pureza suficiente como para continuar con la siguiente etapa de la síntesis.



#### 1.3.1 5-Metoxi-2-nitrofenoxiacetato de metilo

Se disolvieron 8,0 g (0,039 mol) de 5-metoxi-2-nitrofenoxido de potasio en 180 ml de DMF, y se agregaron 5,3 ml (0,057 mol) de bromoéster. Al terminar la reacción, se adicionaron 540 ml de agua destilada, precipitando un sólido blanco cuyo peso fué de 10,0 g (100 %).

#### 1.3.2 5-Metil-2-nitrofenoxiacetato de metilo

Se disolvieron 4,0 g (0,021 mol) de 5-metil-2-nitrofenoxido de potasio en 50 ml de DMF, y se agregaron 0,24 ml (0,0026 mol) de bromoéster. Al terminar la reacción, se adicionaron 150 ml de agua destilada, precipitando un sólido amarillo cuyo peso fué de 4,1 g (87 %).

### 1.3.3 2-Nitrofenoxiacetato de metilo

Se disolvieron 10,0 g (0,056 mol) de 2-nitrofenoxido de potasio en 225 ml de DMF, y se agregaron 7,0 ml (0,076 mol) de bromoéster. Al terminar la reacción, se adicionaron 675 ml de agua destilada. Esta mezcla fue extraída tres veces con éter etílico. La fase etérea fué evaporada a sequedad y el residuo seco pesó 10,9 g (93 %).

### 1.3.4 5-Fluor-2-nitrofenoxiacetato de metilo

Se disolvieron 0,50 g (0,0026 mol) de 5-fluor-2-nitrofenoxido de potasio en 6 ml de DMF y se agregaron 0,25 ml (0,0027 mol) de bromoéster. Al terminar la reacción, se adicionaron 18 ml de agua destilada. Esta mezcla fue extraída tres veces con éter etílico. Se evaporó a sequedad la fase etérea y el residuo seco pesó 0,45 g (76 %).

### 1.3.5 5-Cloro-2-nitrofenoxiacetato de metilo

Se disolvió 1,0 g (0,0047 mol) de 5-cloro-2-nitrofenoxido de potasio en 25 ml de DMF y se agregaron 0,6 ml (0,0065 mol) de bromoéster. Al cabo de veinte horas de reacción con agitación, el reaccionante se había consumido completamente. Al terminar la reacción se adicionaron 75 ml de agua destilada, precipitando un sólido blanco, el cual pesó 0,95 g (83 %).

### 1.3.6 5-Metoxicarbonil-2-nitrofenoxiacetato de metilo

Se disolvieron 2,0 g (0,085 mol) de 5-metoxicarbonil-2-nitrofenoxido de potasio en 45 ml de DMF y se agregaron 1,1 ml (0,012 mol) de bromoéster. Al terminar la reacción se adicionaron 135 ml de agua destilada. Esta mezcla fue extraída tres veces con éter etílico. Se evaporó la mezcla, quedando un residuo del cual precipitó un sólido blanco al adicionar unas gotas de agua destilada. El residuo pesó 2,1 g (92 %).

### 1.3.7. 5-Ciano-2-nitrofenoxiacetato de metilo

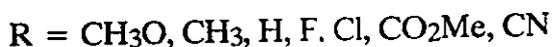
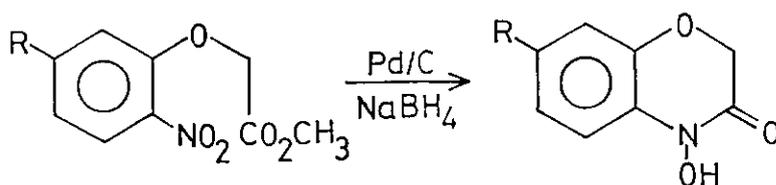
Se disolvieron 0,70 g (0,0035 mol) de 5-ciano-2-nitrofenoxido de potasio en 17 ml de DMF, y se agregaron 0,4 ml (0,0043 mol) de bromoéster. Al terminar la reacción, se adicionaron 50 ml de agua destilada. Esta mezcla fue extraída tres veces con éter etílico. La fase etérea fué evaporada a sequedad. El residuo seco pesó 0,5 g (60 %).

## 1.4 CICLACION REDUCTIVA

El nitroéster fue disuelto en dioxano, agregándose luego la solución gota a gota a una suspensión formada por  $\text{NaBH}_4$  (50% de la cantidad estequiométrica del nitroéster) y Pd/C al 10% (50 mg por cada gramo de nitroéster) formándose una mezcla final agua/dioxano (1:1) en volumen. Esta suspensión fue preparada suspendiendo el Pd/C en agua destilada y agregándola gota a gota sobre una solución de borohidruro de sodio en agua destilada diluída con dioxano.

La adición de una gota de la solución del nitroéster tiñó la mezcla de reacción de un color amarillo a rojo. La gota siguiente fue agregada una vez que el color hubo desaparecido, lo que ocurrió aproximadamente a los 15 segundos, y así sucesivamente. Después de verificar, por medio de cromatografía en capa fina, que el nitroéster se había consumido completamente, la mezcla fue agitada por otros 15 a 30 minutos. Entonces fue filtrada y acidificada con una solución 1 N de HCl hasta que no se formó más espuma y el pH fue de aproximadamente 4. La solución fue extraída inmediatamente tres veces con éter etílico. Las fases orgánicas reunidas fueron lavadas con agua con sal y secada con sulfato de sodio. En algunos casos la solución etérea fue tratada con carbono para decolorar. Por último, fue evaporada a sequedad.

En todas las ciclaciones reductivas, se obtuvieron dos productos: uno fue el ácido hidroxámico deseado y el otro fue un producto que no fue aislado ya que no era necesario para cumplir los objetivos planteados. Probablemente este producto secundario era la respectiva lactama del ácido hidroxámico (Atkinson, 1989).



#### 1.4.1 4-Hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona

Se disolvieron 8,0 g (0,033 mol) del nitroéster en 40 ml de dioxano y se adicionaron gota a gota a una suspensión formada por 4,0 g de NaBH<sub>4</sub> y 400 mg de Pd/C al 10 % en 320 ml de una mezcla agua/dioxano 1:1. Esta suspensión fue preparada suspendiendo el Pd/C en 20 ml de agua destilada y agregando la suspensión cuidadosamente y gota a gota a la solución de borohidruro en 140 ml de agua destilada diluida con 120 ml de dioxano.

Después de finalizada la adición del nitroéster, la mezcla fue agitada durante una hora. Luego fue filtrada y acidificada. Posteriormente fue extraída con éter etílico y la fase etérea fue evaporada a sequedad. El residuo seco pesó 5,2 g. Este residuo se encontraba impurificado por un producto secundario, el cual fue separado por cromatografía de columna rápida utilizando una gradiente de acetato de etilo/éter de petróleo. Se obtuvieron 3,2 g de producto puro (50 %).

#### 1.4.2 4-Hidroxi-7-metil-1,4-benzoxazin-3-ona

Se disolvieron 3,0 g (0,013 mol) del nitroéster en 15 ml de dioxano y se adicionaron gota a gota a una suspensión formada por 1,5 g de NaBH<sub>4</sub> y 150 mg de Pd/C al 10 % en 120 ml de una mezcla agua/dioxano 1:1. Esta suspensión fue preparada suspendiendo el Pd/C en 7,0 ml de agua destilada y agregando la suspensión gota a gota a la solución de borohidruro de sodio en 53 ml de agua destilada diluida con 45 ml de dioxano. La mezcla se agitó durante 45 minutos.

Después de finalizada la adición del nitroéster, la mezcla fue agitada por una hora. Luego fue filtrada y acidificada. Posteriormente fue extraída con éter etílico y la fase etérea fue evaporada a sequedad. El residuo seco pesó 2,05 g. Este residuo se encontraba impurificado y el ácido hidroxámico fue separado por cromatografía de columna rápida, utilizando una gradiente de acetato de etilo/éter de petróleo. Se obtuvieron 0,4 g de producto puro (17 %).

#### 1.4.3 4-Hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona

Se disolvieron 11,0 g (0,052 mol) del nitroéster en 55 ml de dioxano y se adicionaron gota a gota a una suspensión formada por 5,5 g de NaBH<sub>4</sub> y 500 mg de Pd/C al 10 % en 440 ml de una mezcla agua/dioxano 1:1. Esta suspensión fue preparada suspendiendo el Pd/C en 28 ml de agua destilada que cuidadosamente fue agregada gota a gota a la solución de borohidruro de sodio en 192 ml de agua destilada diluida con 165 ml de dioxano. La mezcla fué agitada durante 30 minutos.

A diferencia de la síntesis anterior (1.4.2), en ésta se formó un sólido negro, el que fue filtrado y disuelto en agua destilada. Esta solución fue filtrada y el filtrado acidificado con HCl 1 N. Posteriormente fue extraído con éter etílico y la fase etérea evaporada a sequedad dejó 8g de un residuo del cual se aisló el producto de interés por cromatografía en columna rápida, utilizando una gradiente de acetato de etilo/éter de petróleo. Se obtuvieron 6,3 g de producto puro (73 %).

#### 1.4.4 4-Hidroxi-7-fluor-1,4-benzoxazin-3-ona

Se disolvieron 0,30 g (0,0013 mol) del nitroéster en 1,5 ml de dioxano y se adicionaron gota a gota a una suspensión formada por 150 mg de NaBH<sub>4</sub> y 15 mg de Pd/C al 10 % en 15 ml de una mezcla agua/dioxano 1:1. Esta suspensión fue preparada suspendiendo el Pd/C en 1,8 ml de agua destilada y la suspensión fue cuidadosamente agregada a la solución de borohidruro de sodio en 5,7 ml de agua destilada diluida con 6 ml de dioxano.

Después de finalizada la adición del nitroéster, la mezcla fue agitada por una hora. Luego fue filtrada y acidificada. Posteriormente fue extraída con acetato de etilo y la fase orgánica evaporada a sequedad. El producto de interés fue purificado por cromatografía de columna rápida, utilizando una gradiente de acetato de etilo/éter de petróleo. Se obtuvieron 190 mg de producto puro (80 %).

#### 1.4.5 4-Hidroxi-7-cloro-1,4-benzoxazin-3-ona

Se disolvieron 0,50 g (0,002 mol) del nitroéster en 2,5 ml de dioxano y se adicionaron gota a gota a una suspensión formada por 250 mg de NaBH<sub>4</sub> y 25 mg de Pd/C al 10 % en 25 ml de una mezcla agua/dioxano 1:1. Esta suspensión fue preparada suspendiendo el Pd/C en 3,5 ml de agua

destilada y la suspensión fué agregada cuidadosamente a la solución de borohidruro de sodio en 9 ml de agua destilada diluida con 10 ml de dioxano.

Al cabo de 5 minutos de reacción el reaccionante desapareció completamente. Se observó poca formación de sólido negro. La mezcla fue filtrada y el sólido fue disuelto en agua destilada y la solución extraída, obteniéndose 0,18 g de crudo. Por otra parte el filtrado fue también extraído con éter etílico y la fase etérea evaporada a sequedad proporcionó 0,15 g de crudo. Se juntaron ambos crudos y la mezcla fue cristalizada en metanol generando 0,25 g (63 %) del ácido hidroxámico.

#### 1.4.6 4-Hidroxi-7-metoxicarbonil-1,4-benzoxazin-3-ona

Se disolvieron 0,50 g (0,0019 mol) del nitroéster en 2,5 ml de dioxano y se adicionaron gota a gota a una suspensión formada por 250 mg de NaBH<sub>4</sub> y 25 mg de Pd/C al 10 % en 25 ml de una mezcla agua/dioxano 1:1. Esta suspensión fue preparada de la manera habitual (Pd/C, 3,5 ml de agua; borohidruro de sodio, 9 ml de agua y 10 ml de dioxano).

Al cabo de nueve minutos de reacción, el reactivo inicial desapareció completamente y se formó una pasta de color negro. La mezcla fue filtrada y el filtrado de color verdoso llevado a pH 3. El sólido fue disuelto en agua destilada y su solución también fue llevada a pH 3. Ambas soluciones ácidas fueron extraídas con éter etílico. La evaporación de la solución etérea condujo a 0,39 g de un sólido que fue purificado por cromatografía en columna. Se obtuvieron 0,21 g de producto semipuro, el que fue cristalizado en metanol caliente generando 0,20 g del ácido hidroxámico (47 %).

#### 1.4.7 4-Hidroxi-7-ciano-1,4-benzoxazin-3-ona

Se disolvieron 0,50 g (0,0021 mol) del nitroéster en 2,5 ml de dioxano y se adicionaron gota a gota a una suspensión formada por 250 mg de NaBH<sub>4</sub> y 25 mg de Pd/C al 10 % en 25 ml de una mezcla agua/dioxano 1:1. Esta suspensión fue preparada de la manera ya descrita (Pd/C, 3,5 ml de agua; borohidruro de sodio, 9 ml de agua y 10 ml de dioxano).

Al cabo de nueve minutos de reacción, el reactivo inicial desapareció completamente y se formó una pasta de color negro. El procedimiento para aislar el producto fue similar al empleado en la síntesis anterior (1.4.6). Finalmente se obtuvieron 0,23 g (57 %) de producto puro.

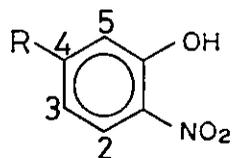


Tabla 1  
Propiedades físicas y espectroscópicas de nitrofenoles

R	p. f. (°C)	UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	i. r. $\nu_{\text{máx}}$ (cm <sup>-1</sup> )	nmr <sup>1</sup> H $\delta$ (ppm)
CH <sub>3</sub> O	92-93	258;335	3255-3000(a), 2940(m), 1620(i), 1595(i), 1530(m), 1480(i), 1460(m), 1330(m), 1285(i), 1180(i)	8,0(d,1H, J <sub>2-3</sub> =9Hz) 6,5(m,2H) 3,9(s,3H)
Cl	40-41	277;337	3280-3220(a), 1612(i), 1580(i), 1525(i), 1470(m) 1455(i), 1315(i), 1260(ma), 1180(m), 1150(m), 1090(d), 860(m), 750(i), 665(m,b), 440(m)	10,6(s,1H) 8,0(d,1H, J <sub>2-3</sub> =9Hz) 7,2(d,1H, J <sub>5-3</sub> =2Hz) 7,0(dd,1H, J <sub>3-5</sub> =2Hz, J <sub>3-2</sub> =9Hz)
CO <sub>2</sub> Me	90-91	269;350	3320(a,m), 1720(i), 1625(i), 1585(i), 1520(m), 1475(i), 1335(i), 1280(i), 1220(i), 1145(i), 1095(i), 1065(i), 965(i), 890(m), 840(i), 795(m), 778(m), 740(i), 665(a,m)	10,8(s,1H) 8,2(d,1H, J <sub>2-3</sub> =8Hz) 7,5(d,1H, J <sub>5-3</sub> =2Hz) 7,6(dd,1H, J <sub>3-5</sub> =2Hz, J <sub>3-2</sub> =8Hz) 3,9(s,3H)
CN	118-120	264;340	3330(i), 2240(m), 1615(i), 1575(i), 1535(m), 1510(i), 1465(i), 1425(m,b), 1323(i), 1260(i), 1135(i,a), 1065(m), 955(i), 898(m), 840(m), 750(i), 683(m), 650(m,b), 625(m), 580(m), 470(m)	10,6(s <sub>a</sub> ,1H) 8,2(d,1H, J <sub>2-3</sub> =9Hz) 7,5(d,1H, J <sub>5-3</sub> =2Hz) 7,2(dd,1H, J <sub>3-5</sub> =2Hz, J <sub>3-2</sub> =9Hz)

Nota: Los puntos de fusión (°C) informados por Atkinson (1989) son los siguientes :  
91.5-92.5 (CH<sub>3</sub>O), 39.5-40 (Cl), 89-90 (CO<sub>2</sub>Me) y 118-119.5 (CN).  
Los corrimientos químicos de las señales principales informados por el  
mismo autor son las siguientes:  $\delta$ 7,85(d,1H, J=10Hz), 6,3(m,2H) para CH<sub>3</sub>O;  
para Cl los corrimientos principales son:  $\delta$ 8,3(d,1H, J=2Hz), 7,17(d,1H,  
J=2,2Hz), 6,95(dd,1H), para CN:  $\delta$ 8,22(d,1H, J=8,8Hz), 7,49(d,1H, J=1,8Hz),  
7,26(dd,1H) y para CO<sub>2</sub>Me:  $\delta$ 7,95(d,1H, J=9Hz), 7,65(d,1H, J=2,5Hz) y  
7,28(dd,1H, J=2,5Hz, J=9Hz).

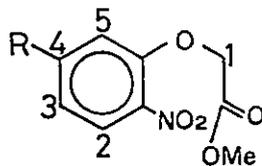


Tabla 2

Propiedades físicas y espectroscópicas de nitroésteres

R	p. f. (°C)	UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	i. r. $\nu_{\text{máx}}$ (cm <sup>-1</sup> )	nmr <sup>1</sup> H $\delta$ (ppm)
CH <sub>3</sub> O	102-105	277; 320	3340(md), 3085(md), 3020(d), 1725(i), 1600(i), 1585(i), 1505(i), 1440(m), 1335(i), 1300(i), 1255(i), 1210(i), 1090(i), 1045(i), 1025(m), 1000(i), 840(s), 750(m)	7,9(d, 1H, J <sub>2-3</sub> =11Hz) 6,7(d, 1H, J <sub>5-3</sub> =2Hz) 6,5(dd, 1H, J <sub>3-5</sub> =2Hz, J <sub>3-2</sub> =11Hz) 5,0(s, 2H) 3,9(s, 3H) 3,7(s, 3H)
CH <sub>3</sub>	68-70	265; 325	3500(md), 2860(md), 1755(i), 1605(i), 1592(i), 1505(i), 1415(m), 1350(i), 1290(m), 1220(i), 1175(i), 1095(m), 930(m), 840(m), 825(i), 750(i), 695(m)	7,8(d, 1H, J <sub>2-3</sub> =8Hz) 6,9(d <sub>a</sub> , 2H, J=9Hz) 4,8(s, 2H) 3,8(s, 3H) 2,3(s, 3H)
H	58-60	255; 310	3470(d), 3000(m), 2960(m), 1730(i), 1700(i), 1605(i), 1580(i), 1430(i), 1370(i), 1340(i), 1295(i), 1205(i, a), 1085(i), 1055(i), 855(i), 772(i), 740(i), 688(i), 655(i),	7,9(d, 1H, J=6Hz) 7,5(d, 1H, J=7Hz) 7,1(t, 1H) 4,8(s, 2H) 3,8(s, 3H)
F	60-62	252; 296	3490(md), 3060(m), 3000(m), 1755(d), 1615(i), 1588(i), 1512(i), 1345(i), 1288(i), 1255(i), 1220(i), 1160(i), 1052(i), 972(i), 950(i), 845(i), 745(i), 10(i), 680(i), 630(i), 620(s), 580(s), 530(m),	8,0(dd, 1H, J=8Hz, J=5Hz) 6,8(m, 2H) 4,8(s, 2H) 3,8(s, 3H)
Cl	75-77	260; 307	3450(md), 3110(d), 1750(i), 1602(i), 1568(m), 1510(i), 1430(m), 1405(m), 1335(i), 1225(i), 1150(m), 1055(m), 895(i), 840(d), 830(m), 750(m), 732(d)	7,8(d <sub>a</sub> , 1H, J=7Hz) 7,1(d <sub>a</sub> , 2H, J=7Hz) 4,8(s, 2H) 3,8(s, 3H)
CO <sub>2</sub> Me	77-80	235; 320	3340(md), 2960(d), 2850(md), 1740(s), 1525(i), 1585(m), 1515(i), 1450(m), 1435(m), 1345(m), 1300(i), 1270(m), 1235(i), 1225(i), 875(m), 830(m), 785(m), 778(m), 735(i)	7,6(m, 3H) 4,8(s, 2H) 3,9(s, 3H) 3,8(s, 3H)
CN	125-128	235; 310	3400-3500(md, a), 2230(i), 1605(i), 1590(i), 1535(i), 1438(m), 1415(i), 1360(i), 1212(i), 1175(i), 1098(i), 1062(i), 840(m), 745(m)	7,9(d, 1H, J <sub>2-3</sub> =8Hz) 7,4(d, 1H, J <sub>5-3</sub> =2Hz) 4,8(m, 1H) 3,8(s, 3H)

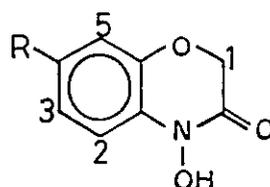


Tabla 3

Propiedades físicas y espectroscópicas de ácidos hidroxámicos

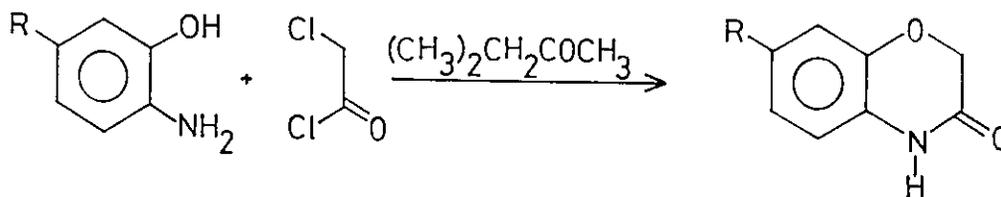
R	p. f. (°C)	UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	i. r. $\nu_{\text{máx}}$ (cm <sup>-1</sup> )	nmr <sup>1</sup> H $\delta$ (ppm)
CH <sub>3</sub> O	122-123	276; 295	3400-3500(da), 2780(m), 1662(s), 1620(i), 1500(-), 1440(m), 1430(m), 1410(m), 1362(m), 1262(m), 1235(m), 1200(i), 1195(i), 1032(m), 1028(m), 1000(md), 795(m), 762(m), 633(m)	9,2(s, 1H) 7,2(d, 1H, J <sub>2-3</sub> =10Hz) 6,6(dd, 1H, J <sub>3-2</sub> =10Hz, J <sub>3-5</sub> =2Hz) 6,2(d, 1H, J <sub>5-3</sub> =2Hz) 4,7(s, 2H) 3,8(s, 3H)
CH <sub>3</sub>	142-143	262; 290	3100(am), 1655(i), 1595(i), 1505(m), 1285(m), 1275(m), 1152(m), 1049(i), 925(i), 865(i), 805(i), 760(i), 700(m), 635(i), 572(i), 768(m), 438(m), 360(m)	7,2(d, 1H, J <sub>2-3</sub> =7Hz) 6,9(d <sub>2</sub> , 2H, J=8Hz) 4,7(s, 2H) 2,3(s, 3H)
H	160-163	258; 285	3080(a), 1672(i), 1640(i), 1490(i), 1460(i), 1395(i), 1365(i), 1272(i), 1222(i), 1050(i), 980(d), 922(m), 828(i), 740(i), 458(m), 390(m)	7,4(d <sub>2</sub> , 1H, J=8Hz) 7,0(m, 3H) 4,7(s, 2H)
F	153-154	261; 285	3450(am), 1678(i), 1640(i), 1488(i), 1445(m), 1412(c), 1265(m), 155(i), 1085(d), 995(mc), 982(md), 938(m) 845(i), 800(m), 770(d), 530(m)	7,3(d <sub>2</sub> , 1H, J=11Hz) 6,6(m, 2H) 4,7(s, 2H)
Cl	140-142	262; 290	3450(a), 2860(a), 1680(i), 1645(s), 1490(i), 1418(m), 1398(m), 1360(m), 1310(d), 1130(c), 1078(m), 1045(i), 995(d), 850(m), 800(i), 550(m), 530(m)	7,3(d, 1H, J <sub>2-3</sub> =9Hz) 7,0(dd, 1H, J <sub>3-5</sub> =2Hz, J <sub>3-2</sub> =9Hz) 6,8(d, 1H, J <sub>5-3</sub> =2Hz) 4,7(s, 2H)
CO <sub>2</sub> Me	201-203	279; 307	3400-3600(da), 1725(i), 1700(i), 1662(m), 1612(m), 1505(m), 1440(m), 1428(m), 1392(m), 1295(i), 1245(m), 1100(m), 1045(m), 985(d), 975(d), 760(i),	7,5(m, 3H) 4,7(s, 2H) 3,9(s, 3H)
CN	210-212	285; 317	3400-3600(am), 2930(mb), 2860(mb), 1690(i), 1648(i), 1500(i), 1395(i), 1050(i), 1000(d), 912(m), 895(m), 815(i), 762(m), 740(m), 745(m)	7,3(d <sub>2</sub> , 3H) 4,8(s, 2H)

Nota: Atkinson (1989) informó los siguientes datos físicos y espectroscópicos: A) para R = CH<sub>3</sub>O informó un punto de fusión de 121-123°C y  $\delta$  7,21(d, 1H, J=8,8Hz), 6,63(dd, 1H, J=8,8Hz, J=2,6Hz), 6,55(d, 1H, J=2,6Hz); para R = H un p. f. de 162-165°C y  $\delta$  7,32(dd, 1H, J=7,8, J=1,6), 7,05(m, 3H) y 4,69(s, 2H).

## 2 SINTESIS DE LACTAMAS

Estos compuestos, que son productos secundarios de la síntesis de ácidos hidroxámicos, fueron sintetizados de acuerdo al método descrito por Shridhay y col (1982) y fueron usados como patrones en las cinéticas y en el análisis de productos.

A una solución del o-aminofenol respectivo disuelto en isobutilmetilcetona, se adicionaron bicarbonato de sodio y agua. La mezcla fue enfriada en un baño de hielo y se agregó cloruro de cloroacetilo gota a gota y con agitación. La mezcla fue calentada a reflujo y luego enfriada a temperatura ambiente. Posteriormente la mezcla fue llevada a pH 3 con NaOH y extraída con éter etílico. La fase etérea fue evaporada a sequedad y el residuo obtenido purificado por recristalización en metanol caliente.



Los datos espectroscópicos y físicos de ambas lactamas se encuentran tabulados en la Tabla 4

### 2.1 7-Metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona

Para sintetizar esta lactama fue necesario primero sintetizar el 5-metoxi-2-aminofenol. Para ello se colocaron en un balón provisto de refrigerante 1,0 g (0,006 moles) de 5-metoxi-2-nitrofenol, 1,1 g (0,009 moles) de Sn y 0,5 ml de agua destilada. A esta mezcla fueron adicionados lentamente a través del refrigerante 2,2 ml de HCl concentrado. La mezcla fue calentada a reflujo durante 1 hora. Posteriormente fue enfriada a temperatura ambiente y llevada a pH 5,5 con una solución de NaOH. La mezcla fue luego filtrada y el filtrado extraído con 10 ml de isobutilmetilcetona.

A esa solución en isobutilmetilcetona fueron adicionados 1,40 g (0,016 mol) de  $\text{NaHCO}_3$  en 10 ml de agua destilada. La mezcla fue enfriada y a ella se adicionaron gota a gota 0,90 g (0,008 mol) de cloruro de cloroacetilo. La mezcla fue calentada a reflujo por 12 horas y posteriormente

enfriada a temperatura ambiente y llevada a pH 3 con NaOH. Finalmente fue extraída con éter etílico y la fase etérea evaporada a sequedad. El residuo (0,35 g) fue lavado con acetona y recristalizado con metanol caliente. La benzoxazinona pesó 0,23 g (21 %).

## 2.2 1,4-Benzoxazin-3-ona

Se disolvió 1,0 g (0,009 mol) de 2-aminofenol en 10 ml de isobutilmetilcetona y se adicionaron 1,84 g (0,022 mol) de NaHCO<sub>3</sub> en 10 ml de agua destilada. La mezcla fue enfriada en un baño de hielo y a ella se agregaron gota a gota y con agitación 1,9 g (0,02 mol) de cloruro de cloroacetilo. Para llegar al producto final, que pesó 0,4 g (39 %), se utilizó un procedimiento similar al expuesto en el punto anterior.

Tabla 4

### Propiedades físicas y espectroscópicas de lactamas

R	UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	nmr <sup>1</sup> H $\delta$ (ppm)
CH <sub>3</sub> O	261; 290	6,8 (d, 1H, J=10Hz) 6,5 (m, 2H) 4,5 (s, 2H) 3,8 (s, 3H)
H	253; 281	6,9 (s, 4H) 4,6 (s, 2H)

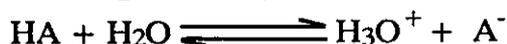
### 3 ESTUDIOS CINETICOS

#### 3.1 PREPARACION DE SOLUCIONES DE LOS COMPUESTOS

Todas las soluciones de los compuestos fueron preparadas de modo tal que la absorbancia al iniciar las cinéticas estuviera entre 0,5 y 1,5. Esto se logró disolviendo entre 4 y 6 mg de cada compuesto en 100 ml de acetona anhidra. Posteriormente se sacaron alícuotas de 1 ml y se distribuyeron en tubos de ensayo, evaporándose luego la acetona mediante una corriente de nitrógeno seco. En cada tubo quedó un residuo cuyo peso variaba entre 30 y 50 g. En el momento de usar estos tubos se les agregó 3 ml del solvente o reactivo, obteniéndose una concentración alrededor de 80  $\mu$  M.

#### 3.2 SOLUCIONES DE ACIDOS

De acuerdo a la definición de Brønsted y Lowry un ácido es un dador de protones y una base una aceptora de protones. Así una reacción ácido-base es simplemente una transferencia de protones. Por otra parte, la posición de un equilibrio ácido-base define las fuerzas relativas de los dos ácidos y de las dos bases presentes en una solución. De esta manera una serie de equilibrios ácido-base podrían ser usados para establecer una secuencia de fuerzas de ácidos y bases. El agua es el solvente y la base de referencia más usada para relacionar las fuerzas de los ácidos en la posición de equilibrio de acuerdo al siguiente esquema:



Las soluciones son mantenidas lo suficientemente diluídas para que los coeficientes de actividad sean unitarios y para que la concentración de agua sea constante. La fuerza de un ácido HA es entonces medida por la constante de disociación ( $K_a$ ) o por su logaritmo negativo ( $pK_a$ ).

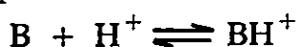
$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$$pK_a = -\log(K_a) = \log(1/K_a) = \text{pH} - \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$$\text{pH} = pK_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (\text{ecuación 1})$$

En soluciones concentradas de ácidos la ecuación 1 falla debido a que en estos medios los coeficientes de actividad no son unitarios. Además la ecuación sólo puede ser aplicada en sistemas donde el solvente sea agua.

Hammett y Deyrup (1932) desarrollaron una expresión que permitió cuantificar la acidez de tales medios, esto es, una medida que denotara la habilidad de un sistema para donar un protón a una base, de acuerdo al siguiente esquema:



donde la constante de equilibrio expresada en términos de las actividades es la siguiente:

$$K = \frac{a_{BH^+}}{a_B \cdot a_{H^+}}$$

La constante de equilibrio puede ser relacionada con el grado de protonación de la base, introduciendo los apropiados coeficientes de actividad ( $\gamma$ ).

$$K = \frac{\gamma_{BH^+} [BH^+]}{\gamma_B [B] \gamma_{H^+}} = \frac{\gamma_{BH^+}}{\gamma_B \gamma_{H^+}} \cdot \frac{[BH^+]}{[B]}$$

la cual expresada en forma logarítmica queda de la siguiente forma:

$$pK_{BH^+} = \log(\gamma_{BH^+} / \gamma_B \gamma_{H^+}) - \log \frac{[B]}{[BH^+]} \quad (\text{ecuación 2})$$

Si definimos  $\log(\gamma_{BH^+} / \gamma_B \gamma_{H^+}) = \log(1/h_o) = H_o$ , la ecuación 2 queda de la siguiente forma:

$$H_o = pK_{BH^+} - \log \frac{[BH^+]}{[B]} \quad (\text{ecuación 3})$$

En soluciones acuosas diluídas la ecuación 3 se reduce a la ecuación 1, ya que  $h_o = [H_3O^+]$  y  $H_o = pH$ .

Los valores de  $H_o$  estan relacionados con el porcentaje p/p del ácido o con su concentración molar. Paul y Long (1957) determinaron los valores de  $H_o$  para soluciones acuosas de HCl en función de sus concentraciones molares. Las soluciones de HCl de distintos valores de  $H_o$  fueron preparadas a partir de HCl concentrado, de acuerdo con las tablas de Paul y Long (1957).

### 3.3 OBTENCION DE CONSTANTES DE VELOCIDAD

Las cinéticas fueron seguidas espectrofotométricamente a 31°C. Se registraron espectros de manera secuencial entre 220 y 270 nm. Posteriormente se eligió una longitud de onda analítica y los datos fueron analizados mediante un programa para reacciones de pseudo primer orden con infinito desconocido (Holt y Norris, 1977). Las cinéticas fueron seguidas por al menos tres vidas medias controlando la desaparición del compuesto en algunos casos o la aparición de productos en otros y fueron realizadas por triplicado, obteniéndose constantes de velocidad que no diferían más allá de 5%.

## 4.- ESTUDIOS DE PRODUCTOS DE REACCION

### 4.1 ANALISIS DE PRODUCTOS

Se identificaron los productos finales de las reacciones de la 4-hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona **3** y de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona **4** con HCl concentrado ( $H_0 = -3,5$ ). Para ello se disolvió 0,5 g de cada uno de estos ácidos hidroxámicos en 10 ml de HCl. Las mezclas de reacción permanecieron a 35°C durante 7 días. Al séptimo día, las soluciones ácidas fueron neutralizadas con una solución de NaOH, y luego extraídas tres veces con éter etílico. Las soluciones etéreas fueron secadas con sulfato de magnesio anhidro, posteriormente filtradas, y luego evaporadas a sequedad. Los productos fueron separados por métodos cromatográficos que son descritos más adelante (pág. 32).

### 4.2 CINETICA DE APARICION DE PRODUCTOS

La aparición de productos se siguió por medio de cromatografía en capa fina. Para tal efecto se disolvieron por separado 20 mg de cada uno los ácidos hidroxámicos en 2 ml de HCl concentrado. Las reacciones fueron llevadas a cabo a 8°C con el objetivo de hacer más lenta la reacción y fueron controladas, a ciertos intervalos de tiempo, por cromatografía en capa fina utilizando como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/éter de petróleo 1:1, y como patrones los productos previamente aislados e identificados.

## 5.- METODOS CROMATOGRAFICOS

La purificación de todos los compuestos sintetizados y aislados se realizó por cromatografía en columna rápida de mediana presión, utilizando una columna de aproximadamente 47 cm de largo y aproximadamente 3 cm de diámetro interno, conectada por un lado a un mezclador de solventes y por el otro a una bomba conectada a su vez a un colector de fracciones.

La relación entre la cantidad de sílice a utilizar en la "cabeza" de la columna y la cantidad de muestra fue de 5:1, en tanto que la relación entre la cantidad de sílice a usar para el empaque de la columna y la cantidad de muestra fue de 40:1.

Las fases móviles utilizadas fueron mezclas de éter de petróleo y acetato de etilo. La presión fue variable, dependiendo del tamaño del empaque de la columna, pero se tomó como

referencia el tener un flujo constante de salida. Los volúmenes de las fracciones recogidas fueron función de la cantidad de muestra a separar. Es así como, para cantidades inferiores a 500 mg, se recogieron fracciones menores que 5 ml, para cantidades de muestra entre 0,55 y 1 g se recogieron fracciones de aproximadamente 5 ml y para cantidades mayores que 1 g se recogieron fracciones mayores que 5 ml.

El mezclador de solventes consistió en un matraz que contenía 50 ml del solvente menos polar al que se adicionaban sucesivamente 10 alícuotas de 25 ml de polaridad creciente. Estas 10 mezclas se formaron de la siguiente manera: se prepararon 50 ml de una mezcla de eter de petróleo y acetato de etilo 1:1 en volumen, se sacaron 25 ml de esta mezcla los que formarían la alícuota 10, se adicionaron 25 ml del solvente más polar a los 25 ml restantes de la mezcla 1:1, se sacaron 25 ml de esta última mezcla los que pasarían a ser la alícuota 9, nuevamente se adicionaron 25 ml del solvente más polar a los 25 ml restantes de esta última mezcla, 25 ml de esta última mezcla serían la alícuota 8 y así sucesivamente. Una vez preparadas las 10 alícuotas se procedió a adicionar los 25 ml de la mezcla menos polar al mezclador de solventes y una vez consumidos 25 ml se adicionaron los otros 25 ml de la mezcla menos polar.

## 6.- METODOS ESPECTROSCOPICOS

Los espectros de absorción de UV fueron tomados en metanol utilizando un equipo Shimadzu UV-visible 240.

Los espectros de masa fueron tomados a las muestras sólidas en un espectrómetro de masas Hewlett Packard 5980A.

Los espectros de absorción de IR fueron tomados a las muestras homogenizadas en KBr usando un espectrofotómetro Perkin Elmer 621.

Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron tomados a las muestras disueltas en cloroformo deuterado en un Bruker WH-90 de 90 MHz y en un Varian de 60 MHz.

## RESULTADOS

### 1 CINÉTICAS

En el intervalo de concentraciones de HCl empleado en esta serie de cinéticas se observaron dos diferentes patrones dependiendo de la concentración de HCl. A concentraciones altas de HCl ( $H_0 < -0,5$ ) se obtuvieron cinéticas caracterizadas por un decaimiento global progresivo del espectro (Figura 1).

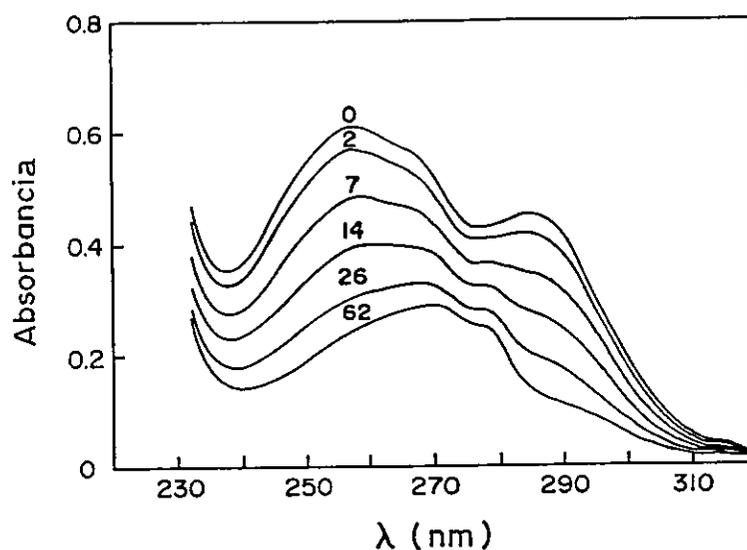


Figura 1. Descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M ( $H_0 = -3,5$ ) a 31°C.

En las cinéticas obtenidas con HCl más diluido ( $H_0 > -0,5$ ), el patrón fue diferente, notándose la aparición de un punto isobéptico alrededor de 270 nm (Figura 2).

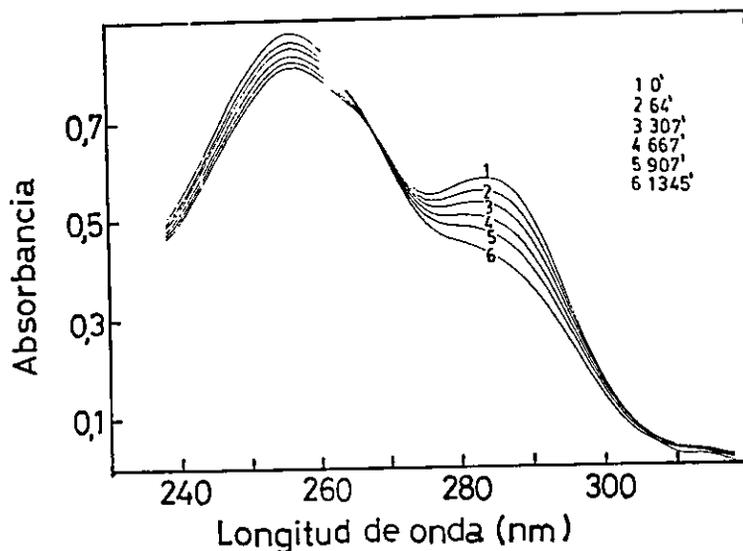


Figura 2. Descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 0,25 M ( $H_0 = -0,47$ ) a  $31^\circ\text{C}$ .

Para determinar las constantes de velocidad se eligieron longitudes de onda donde los cambios observados fueron mayores y se evaluaron los datos de absorbancia en el programa de análisis mencionado anteriormente (pág. 23). La Figura 3a muestra un gráfico de absorbancia a 259 nm vs. tiempo para la reacción en HCl 9,6 M ( $H_0 = -3,5$ ), en tanto que la Figura 3b muestra la gráfica para la misma cinética considerada como de pseudo primer orden.

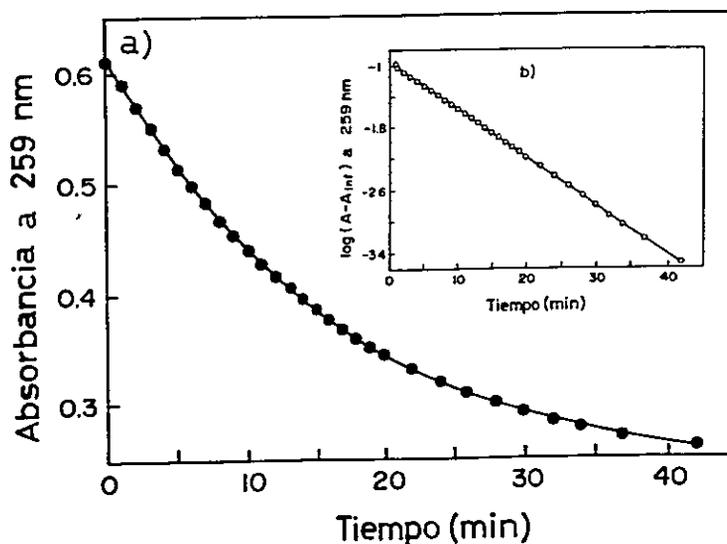


Figura 3. Cinética (a) y ajuste a una ecuación de pseudo primer orden (b) para la descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M ( $H_0 = -3,5$ ) a  $31^\circ\text{C}$ .

La Figura 4a muestra un gráfico de absorbancia vs. tiempo para la reacción con HCl 0,25 M ( $H_0 = -0,47$ ). Estos datos fueron obtenidos a 285 nm. La Figura 4b muestra la gráfica para la misma cinética considerada como de pseudo primer orden.

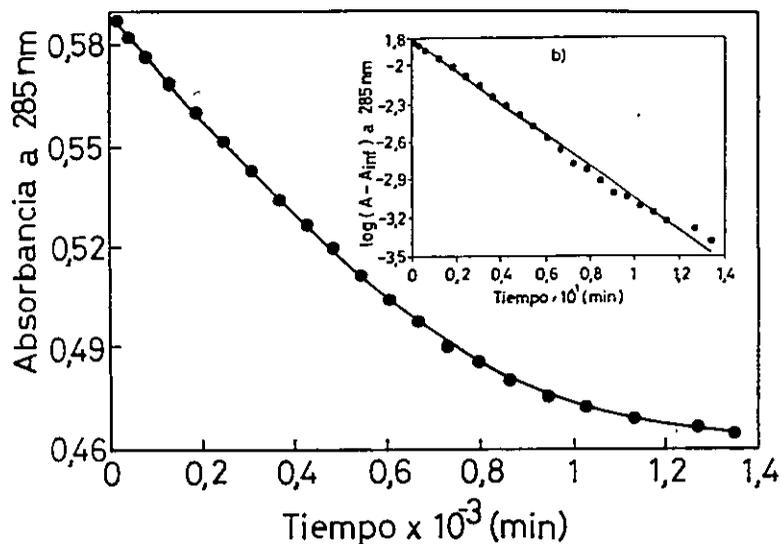


Figura 4. Cinética (a) y ajuste para una cinética de pseudo primer orden (b) para la descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 0,25 M ( $H_0 = -0,47$ ) a  $31^\circ\text{C}$ .

Las formas de las cinéticas para los reaccionantes sustituidos en el anillo aromático fueron muy similares a las que se obtuvieron en el caso del compuesto sin sustituir mostradas en las figuras 1 y 2.

Las constantes de velocidad obtenidas en HCl de distintas concentraciones para los distintos sustratos estudiados se encuentran tabuladas en la Tabla 5.

Por otra parte es importante señalar que las constantes de velocidad obtenidas a una misma concentración de HCl y a diferentes longitudes de onda no variaron más allá de 3%.

Tabla 5  
 Constantes de velocidad (log) para la descomposición de 7-X-4-hidroxi-  
 1,4-benzoxazin-3-ona en HCl de distintas concentraciones

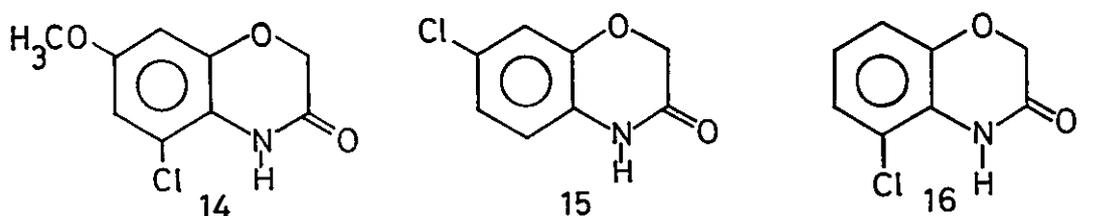
Sustituyente		CH <sub>3</sub> O	CH <sub>3</sub>	H	F	Cl	CO <sub>2</sub> Me	CN
[M]	H <sub>0</sub> /pH							
11,5	-5,65						-2,05*	3,2*
9,6	-3,5	-1,38	-1,28	-1,19	-1,12	-1,02	-2,21	-3,35
7,7	-2,8							-3,54
7,1	-2,7	-1,43		-1,23				
6	-2,12			-1,38		-1,41		-4,25
5,4	-1,9	-1,41						
4,5	-1,58			-1,41			-3,23	
3,1	-1,1	-2,27						
3,0	-1,05			-2,27		-1,99		
1,6	-0,5	-2,43						
1,5	-0,47			-2,48		-2,29	-4,1	
1,4	-0,4	-2,69						
0,25	0,55	-3,02		-2,9				
0,1	1	-3,19		-2,92		-2,99		
0,01	2	-3,15		-2,94			-4,6	
0,003	2,5					-3,2		
0,001	3	-3,22						

\* Estas cinéticas fueron estudiadas en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

## 2.- ANALISIS DE PRODUCTOS DE REACCION

### 2.1 REACCION ENTRE LA 4-HIDROXI-7-METOXI-1,4- BENZOXAZIN-3-ONA Y HCl

De la descomposición a tiempos largos de 500 mg en HCl 9,6 M, se aislaron 100 mg de un producto mayoritario (14), el cual fue identificado por técnicas espectroscópicas (Tabla 6). También fué posible detectar, por medio de cromatografía en capa fina, la presencia de otros dos productos muy minoritarios, que no fueron identificados.



### 2.2 REACCION ENTRE LA 4-HIDROXI-1,4-BENZOXAZIN-3-ONA Y HCl

De la descomposición de 500 mg en HCl concentrado, se aislaron 70,6 mg del compuesto clorado (15) y 38,6 mg de otro producto clorado (16), los cuales fueron identificados por medio de técnicas espectroscópicas (Tabla 6). Además se contrastó el punto de fusión de 15 con el informado en la literatura. Este resultado concuerda con el obtenido por Coutts y Pound (1970).

Cabe hacer notar que los bajos rendimientos obtenidos para ambas reacciones probablemente se deban a que estos productos solamente corresponden a los presentes en la fase orgánica, con un rendimientos entre 80 y 95%. Lo que lleva a pensar que la fase acuosa, la cual no fue analizada, contenga otros productos.

Tabla 6

Propiedades físicas y espectroscópicas de productos

p. f. (°C)	UV $\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	i. r. $\nu_{\text{máx}}$ (cm <sup>-1</sup> )	nmr <sup>1</sup> H $\delta$ (ppm)	EMIE m/z (%)	
14	164-165	260; 290	3400-3500(d), 1705(i), 1585(m), 1502(i), 1385(m), 1300(m), 1152(i), 1135(m), 1050(d), 945(d), 818(d), 808(d), 755(d), 670(d)	9,0(s <sub>a</sub> , 1H) 6,5(dd, 2H, J= 7Hz, J=2Hz) 4,6(s, 2H) 3,8(s, 3H)	216(24) y 214(100)M <sup>+</sup> , 200(4), 198(8), 187(9), 85(18), 172(10), 170(16)
15	196-197	253; 280	3400-3600(d), 3220(d), 1692(i), 1498(i), 1472(m), 1410(m), 1388(m), 1290(d), 1185(d), 1060(d), 1050(d), 825(d), 770(i), 765(d), 712(i), 528(m), 458(m)	7,2(d, 1H) 6,9(dd, 1H) 6,7(s, 1H) 4,6(s, 2H)	185(33) y 183(100)M <sup>+</sup> , 156(25), 154(79), 145(2), 142(8), 140(2), 127(8), 92(15)
16	150-152	257; 285	3400-3500(d), 3190(am), 3120(am), 3075(am), 2960(da), 2930(am), 1695(i), 1605(m), 1500(i), 1415(m), 1400(i), 1295(m), 1288(m), 1220(m), 1080(i), 1040(i), 900(i), 850(m), 840(m), 812(i), 800(m), 788(m), 585(m), 532(i), 482(m), 438(m)	6,9(m, 3H) 4,6(s, 2H)	185(32) y 183(100)M <sup>+</sup> , 157(27), 155(92), 144(2), 142(7), 129(4), 127(2)

### 2.3 CINÉTICAS DE APARICIÓN DE PRODUCTOS

La cinética de aparición de los tres productos principales de descomposición de la 4-hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M y a 5°C reveló que primero aparecía un producto que posee el menor R<sub>f</sub> de los tres. Posteriormente aparecían los otros dos productos (figura 5), uno de los cuales corresponde al producto clorado aislado.

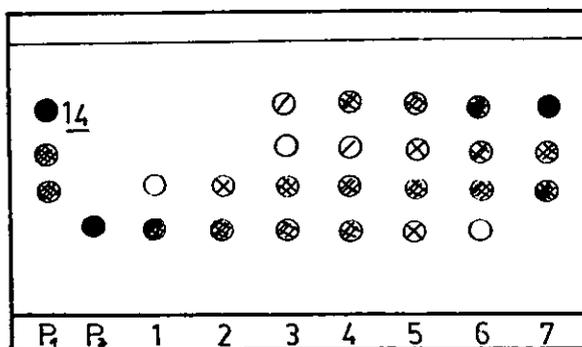


Figura 5. Cinética de aparición de productos en la descomposición de la 4-hidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M. P<sub>1</sub> = productos de descomposición, P<sub>2</sub> = reaccionante. Tiempos de reacción: 1 = 2', 2 = 27', 3 = 56', 4 = 121', 5 = 1200', 6 = 2580' y 7 = 6000'.

La cinética de aparición de productos para el caso del compuesto no sustituido fue similar a la observada para el compuesto metoxilado en la posición 7, apareciendo primero un producto no identificado y luego el producto identificado como la lactama clorada (Figura 6).

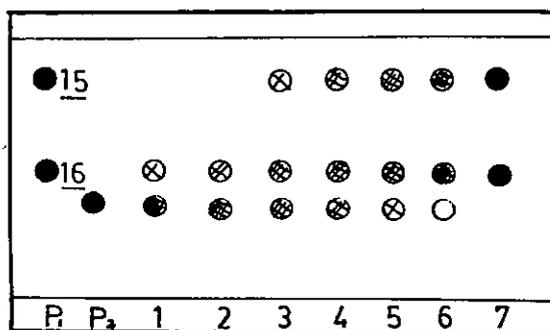


Figura 6. Cinética de aparición de productos en la descomposición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M. P<sub>1</sub> = productos de descomposición, P<sub>2</sub> = reaccionante. Tiempos de reacción: 1 = 50', 2 = 75', 3 = 94', 4 = 100', 5 = 110', 6 = 120', 7 = 240'.

### 3.- CORRELACIONES LINEALES DE ENERGIA LIBRE

#### 3.1 CINETICAS

Para este estudio se descompusieron en HCl 9,6 M ( $H_0 = -3,5$ ) los siete ácidos hidroxámicos sustituidos en la posición 7. Se eligieron longitudes de onda analíticas, no necesariamente iguales para todos los compuestos, y se analizaron los datos tal como fue mencionado. Cabe señalar que las constantes de velocidad obtenidas a diferentes longitudes de onda no variaron más allá de 4%. Las constantes de velocidad de primer orden se detallan en la Tabla 7.

Tabla 7  
Constantes de velocidad de primer orden para la descomposición de 4-hidroxi-7-X-2H-1,4-benzoxazin-3-onas en HCl 9,6 M y a 31°C, y parámetros de Hammett

X	$k_{obs} (\text{min}^{-1})$	$\sigma_p$	$\sigma_p^+$
CH <sub>3</sub> O	$4,18 \times 10^{-2}$	-0,268	-0,778
CH <sub>3</sub>	$5,27 \times 10^{-2}$	-0,170	-0,311
H	$6,52 \times 10^{-2}$	0,000	0,000
F	$7,66 \times 10^{-2}$	0,062	-0,073
Cl	$9,48 \times 10^{-2}$	0,227	0,114
CO <sub>2</sub> Me	$6,17 \times 10^{-3}$	0,310	0,489
CN	$4,48 \times 10^{-4}$	0,660	0,659

## DISCUSION

La Figura 7 muestra el efecto de la acidez del medio sobre las constantes de velocidad para la reacción de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona y HCl de diferentes concentraciones (ver Tabla 5).

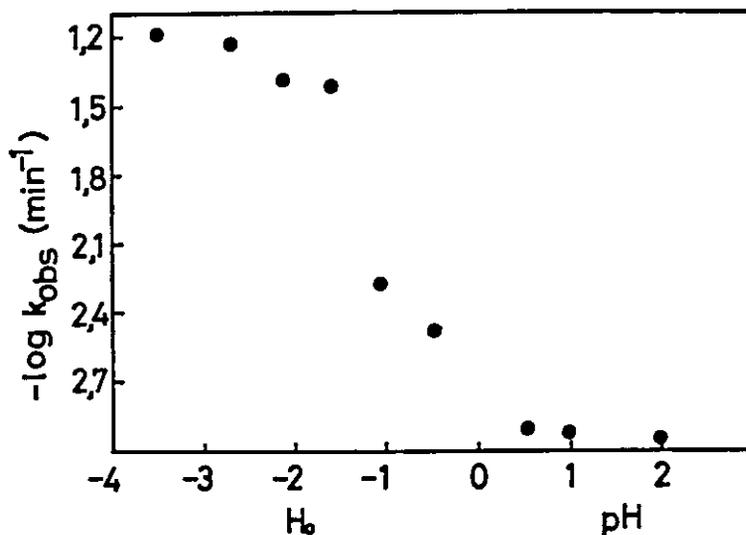
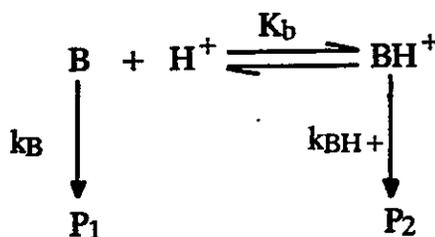


Figura 7. Efecto de la acidez del medio sobre las constantes de velocidad de la reacción de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl de diferentes concentraciones, a 31°C.

Se obtuvieron gráficas similares para sustratos con otros sustituyentes que presentan efectos electrónicos opuestos tales como 7-CH<sub>3</sub>O y 7-CO<sub>2</sub>Me. En ellas las constantes de velocidad aumentaron en la medida que lo hacía la acidez del medio desde un plató a pH *ca.* 1 hasta otro a H<sub>0</sub> *ca.* -3,5, lo que permite suponer la presencia de especies no protonada y protonada que se descompondrían independientemente de acuerdo al Esquema 1, descrito por la ecuación 1.



Esquema 1

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_B + k_{\text{BH}^+} K[\text{H}^+]}{K[\text{H}^+] + 1}$$

Ecuación 4

El ajuste de los datos expuestos en la Figura 7 a la ecuación 1 por un método de cuadrados mínimos se muestra en la Figura 8. Se realizaron ajustes similares para los datos obtenidos con compuestos sustituidos, generando los valores de  $k_B$ ,  $k_{\text{BH}^+}$  y  $K$  que se muestran en la Tabla 8.

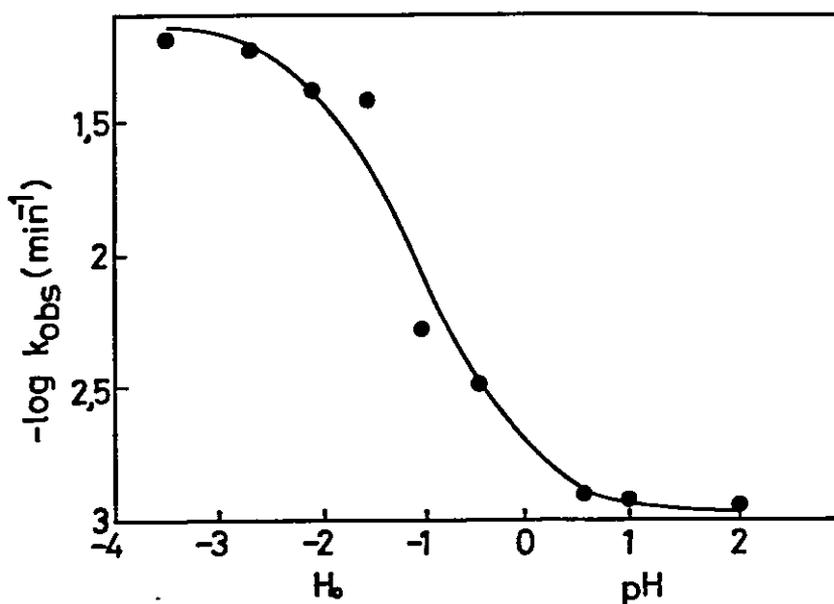


Figura 8. Efecto de la acidez sobre la constante de velocidad para la desaparición de la 4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl de diferentes concentraciones. La línea continua representa el ajuste según el criterio de cuadrados mínimos.

Tabla 8

Valores de  $k_B$ ,  $k_{BH^+}$  y  $pK_b$  de 4-hidroxi-7-X-4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-onas

X	$k_B$	$k_{BH^+}$	$pK_b$
CH <sub>3</sub> O	$7,04 \times 10^{-4}$	$4,23 \times 10^{-2}$	0,88
H	$1,09 \times 10^{-3}$	$7,24 \times 10^{-2}$	1,97
CO <sub>2</sub> Me	$2,5 \times 10^{-5}$	$8,01 \times 10^{-3}$	2,69

La Figura 9 muestra una la relación entre el parámetro de Hammett  $\sigma_p^+$  y los valores de  $pK_b$ . En ella se puede observar que la protonación es favorecida por sustituyentes dadores de electrones en el anillo.

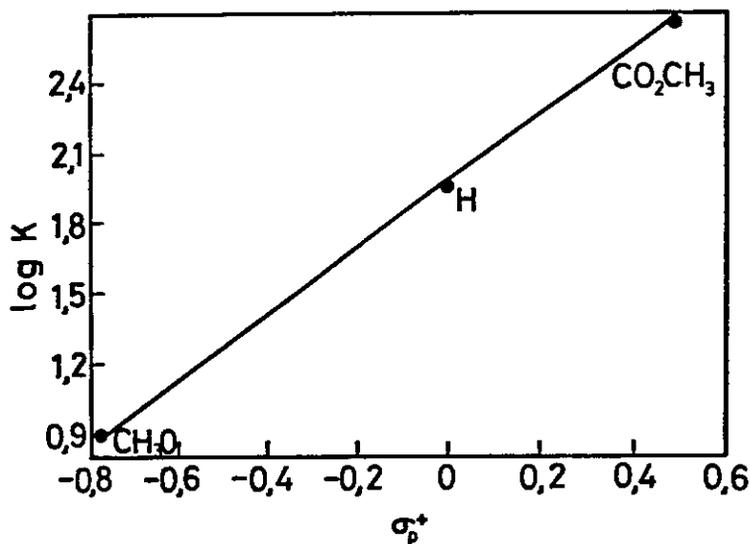


Figura 9. Gráfico de Hammett para la protonación de 7-X-2H-1,4-benzoxazin-3-onas

Por otra parte, el compuesto análogo con un grupo hidroxilo adicional en la posición 2, la 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona, se comporta como un ácido diprótico en la zona entre pH 3 y 13 observándose tres especies cinéticamente activas: neutra, monoaniónica y dianiónica respectivamente (Niemeyer y col., 1982) (figura 10).

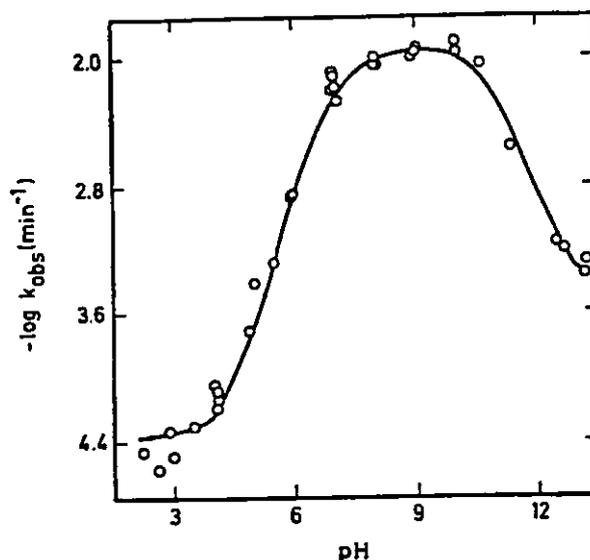


Figura 10. Efecto del pH sobre constantes de velocidad de pseudo primer orden para la descomposición de la 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona a 31°C (Niemeyer y col., 1982)

La descomposición de este ácido hidroxámico en medios fuertemente ácidos (Figura 11) generó una curva semejante a las obtenidas para las benzoxazinonas sin el grupo hidroxilo en el C-2, dando apoyo a la hipótesis de que estos ácidos hidroxámicos se comportarían como ácidos en la zona de pH o como bases en la zona de  $H_0$ . En los estudios cinéticos con compuestos con sustituyentes de las más contrastantes características electrónicas se observó que en solución de HCl con  $H_0 = -3,5$  todos los sustratos habían alcanzado el plató correspondiente a la presencia de la especie protonada. En consecuencia los datos de la Tabla 7 corresponden a la reacción de una misma especie, la especie monoprotonada y son por lo tanto, comparables entre si.

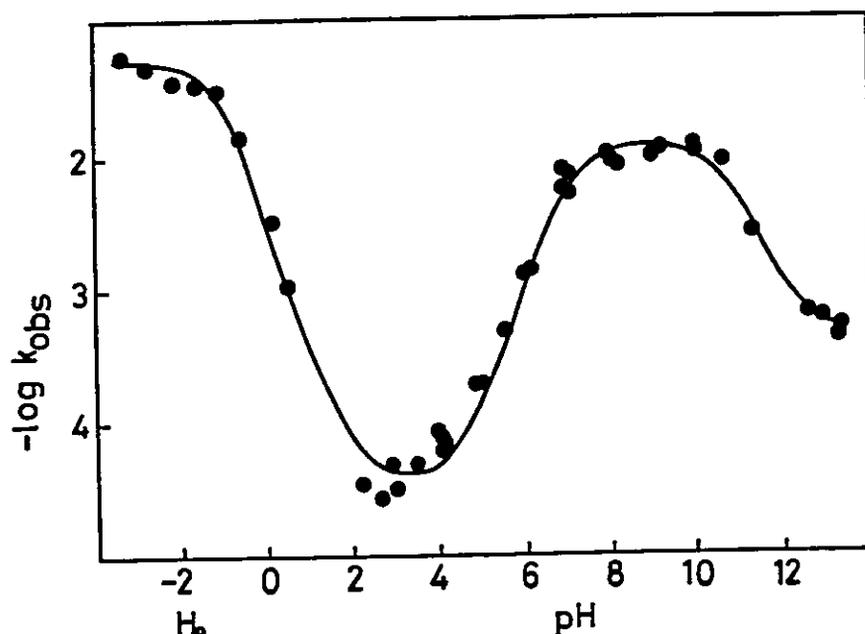


Figura 11. Efecto de la acidez del medio sobre constantes de velocidad de primer orden para la descomposición de la 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona en soluciones de distinta acidez, a 31°C (Niemeyer y col., 1982, para los puntos correspondientes a  $pH \geq 2$ ).

El gráfico de Hammett para la reacción de estas especies protonadas (Figura 12) no sigue una tendencia normal ya que las velocidades más bajas corresponden tanto a los sustituyentes fuertemente atractores de electrones (CN) como a los fuertemente dadores de electrones ( $CH_3O$ ).

Los sustituyentes se pueden dividir en dos grupos: a) uno que da origen a una correlación lineal mejor con valores de  $\sigma_p$  que con valores de  $\sigma_p^+$  ( $\rho = 0,71$  y  $r = 0,988$  con  $\sigma_p$  vs.  $\rho = 0,36$  y  $r = 0,86$  con  $\sigma_p^+$ ) y b) otro donde la correlación es mejor con valores de  $\sigma_p^+$  que con valores de  $\sigma_p$  ( $\rho = -4,08$  y  $r = -0,96$  con  $\sigma_p^+$  vs.  $\rho = -4,75$  y  $r = -0,88$  con  $\sigma_p$ ). El ácido hidroxámico p-Cl sustituido ocupa una posición ambigua. Los dos puntos mostrados para este sustituyente corresponden a los valores de  $\sigma_p$  y  $\sigma_p^+$

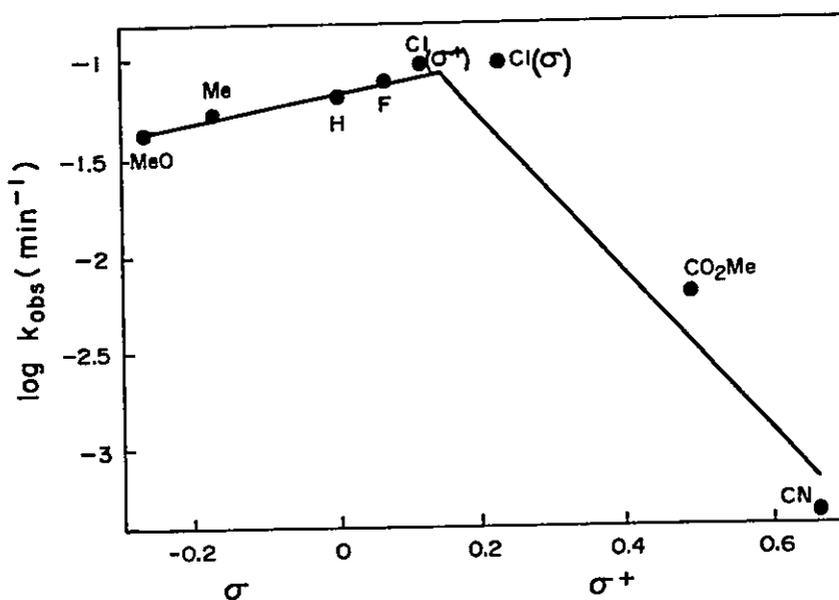


Figura 12. Gráfico de Hammett para la descomposición de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazin-3-onas en HCl al 37% a 31°C.

Leffler y Grunwald (1963) han señalado que una relación quebrada de energía libre como la de la Figura 12 revela un cambio en el paso que determina la velocidad de la reacción de un mecanismo que involucra ambos procesos. El mecanismo que se muestra en la Figura 13 explicaría tanto los datos cinéticos como la naturaleza de los productos aislados. Cabe hacer notar que Coutts y Pound (1970) informaron sobre la acción de HCl sobre algunos ácidos hidroxámicos del tipo 2H-1,4-benzotiazinas y benzoxazinas. Todos los productos aislados fueron las respectivas lactamas cloradas en la posición 7. Estos autores explicaron estos productos por medio de un mecanismo concertado que involucraba un ataque nucleofílico sobre el ácido hidroxámico protonado. El hecho que exista un quiebre en la relación de energía libre (Figura 12), en tanto implica la existencia de dos pasos mecanísticos como mínimo, descarta la posibilidad de un mecanismo concertado. Además la formación de los productos 14, 15 y 16 se podría explicar a través de un ataque nucleofílico sobre un intermediario análogo al 17.

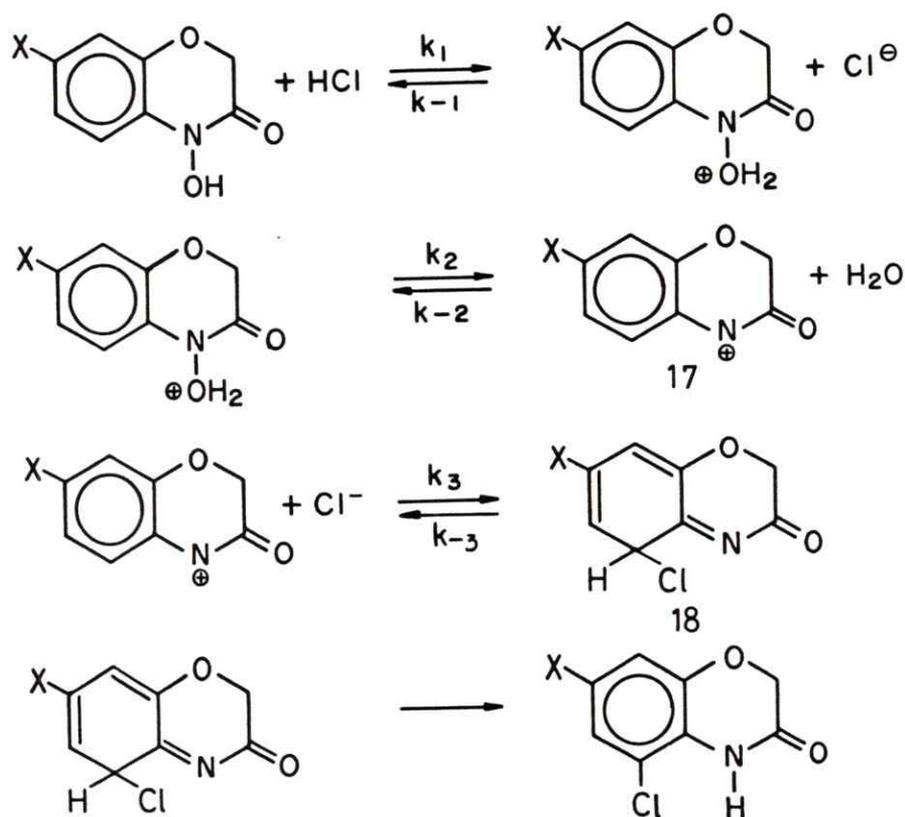
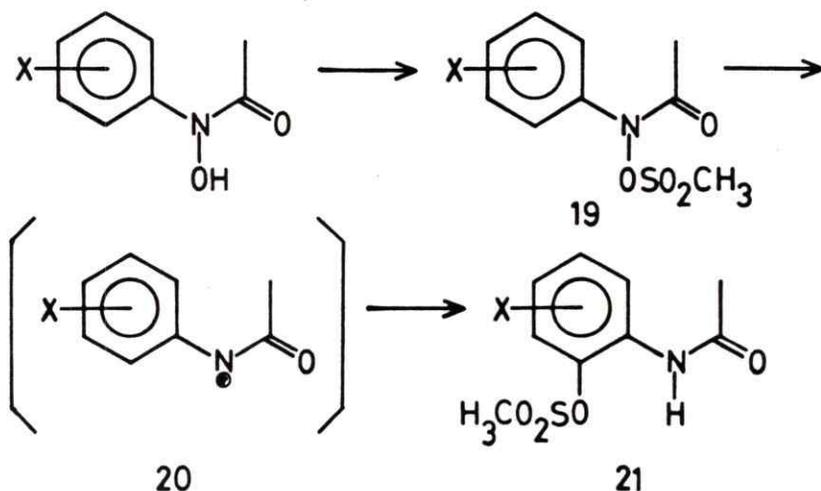


Figura 13. Mecanismo propuesto para la descomposición de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazin-3-ona en HCl 9,6 M.

El primer paso, la protonación de un oxígeno hidrofílico, es en cualquier circunstancia considerado como extremadamente rápido.

La segunda etapa sería la determinante de la velocidad de reacción para aquellos sustituyentes fuertemente atractores de electrones como CN y CO<sub>2</sub>Me. El hecho de que se obtenga una mejor correlación de Hammett con valores de  $\sigma_p^+$  en vez de  $\sigma_p$ , sería reflejo de la posibilidad de conjugación directa entre los sustituyentes dadores de electrones y el átomo de nitrógeno electrofílico del intermediario 17. El signo negativo de  $\rho$  es consistente con un proceso que genera carga positiva en el centro de reacción. La magnitud de  $\rho$  se puede comparar con la obtenida para el reordenamiento de los ésteres metanosulfónicos de ácidos arilhidroxámicos 19 (Gassman y Granrud, 1984). En este caso se obtuvo un valor de  $\rho$  de -9,24 utilizando  $\sigma^+$ . La mayor magnitud de  $\rho$  en este caso podría relacionarse con la presencia de un excelente nucleófilo en el centro de reacción y la posibilidad de conjugación irrestricta entre los sustituyentes y el

átomo de nitrógeno en el intermediario **20**, situación que no se da en los compuestos cíclicos presentes en este estudio debido a que el anillo heterocíclico se encuentra torsionado.



Por otra parte, en el caso de sustituyentes capaces de estabilizar la especie electrofílica, la adición del ión  $\text{Cl}^-$  llega a ser la etapa que determina la velocidad de reacción. La mejor correlación obtenida con valores de  $\sigma_p$  que con  $\sigma_p^+$ , es atribuible a que la conjugación directa entre el sustituyente y el átomo de nitrógeno en el intermediario **17** es disminuida por el ataque del nucleófilo, que no sólo interrumpe el sistema conjugado sino que neutraliza la carga positiva sobre el nitrógeno. Esto último permite argumentar en favor de la magnitud pequeña de  $\rho$ .

La última etapa, la migración sigmatrópica conducente a la aromatización del sistema, puede ser considerada rápida en relación con las etapas anteriores.

Los compuestos en estudio presentan dos máximos de absorbancia en sus espectros de UV. Las relaciones lineales de energía libre que se obtienen con los valores de  $1/\lambda_1$  y  $1/\lambda_2$  resultaron anómalas (Figuras 14 y 15). Se pueden distinguir nuevamente dos líneas de correlación distintas: a) una para sustituyentes dadores de electrones, con pendientes de  $3,1 \times 10^{-4}$  para  $\lambda_1$  y  $1,54 \times 10^{-4}$  para  $\lambda_2$ , con coeficientes de correlación 0,965 y 0,964 respectivamente; y b) otra para sustituyentes atractores de electrones, con pendientes de  $-5,7 \times 10^{-4}$  para  $\lambda_1$  y  $-4,9 \times 10^{-4}$  para  $\lambda_2$ , con coeficientes de correlación de 0,996 y 0,990 respectivamente.

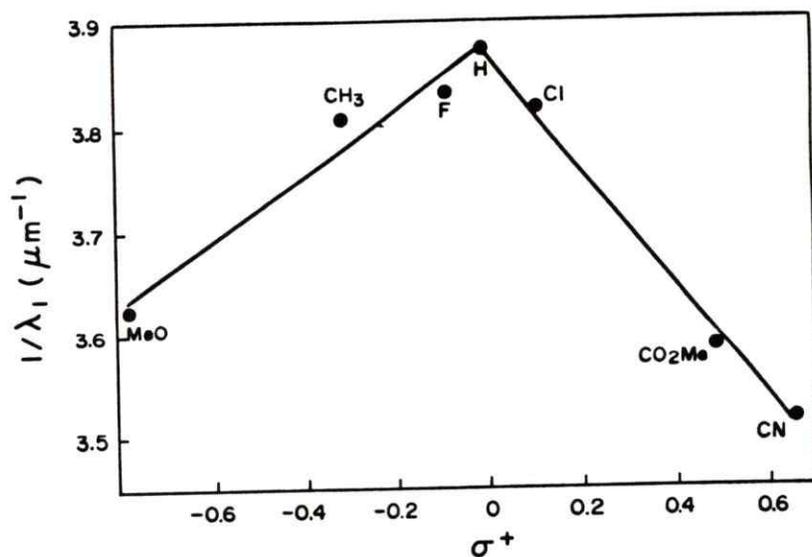


Figura 14. Gráfico de frecuencias de absorción ( $1/\lambda_1$ ) en el UV vs. el parámetro  $\sigma_p^+$  para la serie de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazinas.

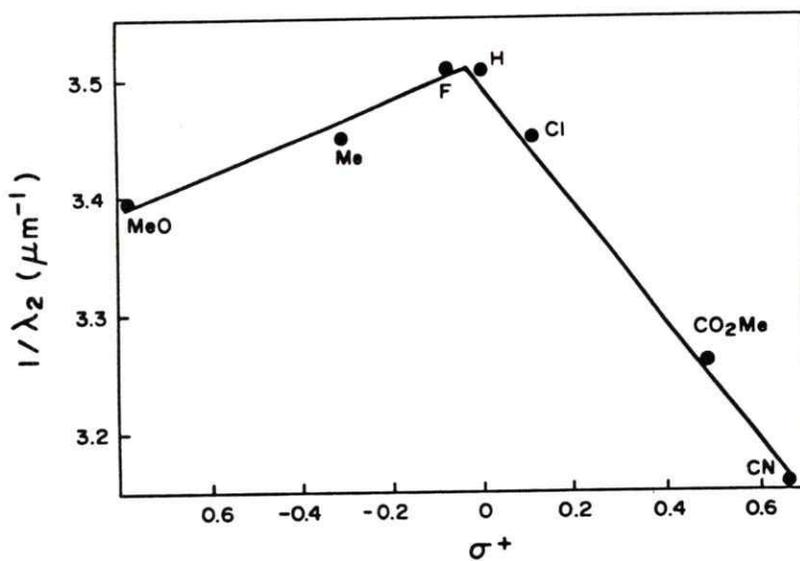
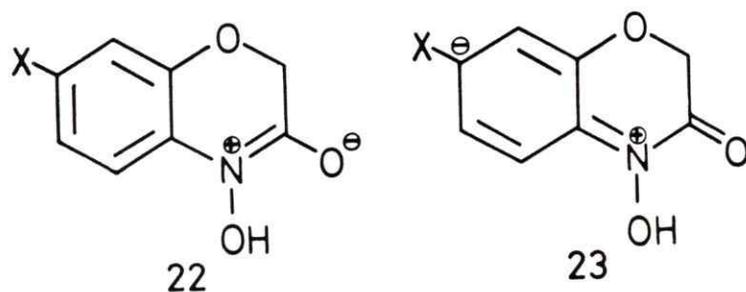


Figura 15. Gráfico de frecuencias de absorción ( $1/\lambda_2$ ) en el UV vs. el parámetro  $\sigma_p^+$  para la serie de 4-hidroxi-7-X-1,4-benzoxazinas.

El par de electrones del átomo de nitrógeno puede alternativamente deslocalizarse hacia el anillo aromático o hacia el grupo carbonilo, como lo muestran las estructuras **22** y **23**.



Sustituyentes aceptores de electrones favorecerán la primera alternativa; sustituyentes dadores de electrones favorecerán la segunda. De cualquier modo ambos tipos de sustituyentes aumentarían la conjugación en la molécula con respecto al compuesto sin sustituir y en consecuencia disminuirían las longitudes de onda de sus máximos de absorción. También ambos tipos de sustituyentes, al favorecer las estructuras **22** y **23**, provocan una baja en las densidades electrónicas sobre el átomo de nitrógeno con respecto al compuesto sin sustituir y en consecuencia, retardan cualquier reacción en la cual se genere carga positiva en el estado de transición. Por lo tanto los datos espectroscópicos son coherentes con los resultados de la Figura 12 y el mecanismo de la Figura 13.

## CONCLUSIONES

Los productos aislados (estructuras 14, 15 y 16, pág. 30), los estudios cinéticos que permitieron suponer la existencia de una especie electrofílica cinéticamente activa a un valor de  $H_o$  igual -3 (Figura 8, pág. 35) y el estudio del efecto de los sustituyentes sobre las constantes de velocidad, el cual evidenció una correlación de energía libre bilineal (Figura 12, pág. 39), permitieron postular un mecanismo de reacción de estos ácidos hidroxámicos en medios fuertemente ácidos el que consideraba 4 etapas: a) protonación del grupo hidroxilo; b) deshidratación; c) ataque nucleofílico del ión  $Cl^-$  sobre el anillo aromático y, d) aromatización. La etapa determinante de la velocidad de reacción estaría gobernada por el tipo de efecto electrónico del sustituyente. Es así como para sustituyentes dadores de electrones, la adición del ión  $Cl^-$  llegaría a ser la etapa determinante de la velocidad de reacción y para sustituyentes atrectores de electrones, la deshidratación sería la etapa determinante de la velocidad de reacción.

## REFERENCIAS

- Atkinson, J.K. (1989) A structure-activity study of naturally occurring and synthetic cyclic hydroxamic acids. Tesis doctoral, Universidad de Ottawa. Ottawa, Canadá, página 16.
- Coutts, R.T., D. Noble & D.G. Wibberley (1964) Some cyclic hydroxamic acids. *J. Pharm. Pharmacol.* **16** : 773-778.
- Coutts, R.T. & N.J. Pound (1970) Preparation of an aromatic hydroxylamine and some cyclic hydroxamic acids, and their reaction with hydrochloric acid. *Can. J. Chem.* **48** : 1859-1864.
- Cramer, J.W., J.A. Miller & E.C. Miller (1960) N-hydroxylation : A new metabolic reaction observed in the rat with carcinogen 2-acetylaminofluorene. *J. Biol. Chem.* **235** : 885-888.
- DeBaun, J.R., E.C. Miller & J.A. Miller (1970) N-Hydroxy-2-acetylaminofluorene sulfotransferase : Its probable role in carcinogenesis and in protein-(methion-S-yl) binding in rat liver. *Cancer Res.* **30** : 577-595.
- Gassman, P.G. & J.E. Granrud (1984) Synthesis and rearrangement of methanesulfonate esters of N-hydroxyacetanilides. A model for a penultimate carcinoge *J. Am. Chem. Soc.* **106** : 1498-1499.
- Hammett, L.P. & A.J. Deyrup (1932) A series of simple basic indicators. I. The acidity function of mixtures of sulfuric and perchloric acids with water. *J. Am. Chem. Soc.* **54** : 2721-2739.
- Hashimoto, Y., T. Ishizaki, K. Shudo & T. Okamoto (1983) Rearrangement of 4-acetoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one. *Chem. Pharm. Bull.* **31** : 3891-3896.
- Hashimoto, Y., K. Shudo, T. Okamoto, M. Nagao, Y. Takahashi & T. Sugimura (1979) Mutagenicities of 4-hydroxy-1,4-benzoxazinones naturally occurring in maize plants and of related compounds. *Mutation Res.* **66** : 191-194.
- Hashimoto, Y., T. Ohta, K. Shudo & T. Okamoto (1979a) Reactions of 4-acetoxy-2H-1,4-benzoxazin-3-ones with some nucleophiles. *Tet. Lett.* **18** : 1611-1614.
- Holt, M.J.J. & A.C. Norris (1977) A new approach to the analysis of first-order kinetic data. *J. Chem. Educ.* **54** : 426-428.
- Ishizaki, T., Y. Hashimoto, K. Shudo & T. Okamoto (1982) Reaction of 4-acetoxy-1,4-benzoxazin-3-one with DNA. A possible chemical mechanism for the antifungal and mutagenic activities. *Tet. Lett.* **23** : 4055-4056.
- Ishizaki, T., Y. Hashimoto, K. Shudo & T. Okamoto (1983) Reaction of 4-acetoxy-1,4-benzoxazin-3-one with amino acid derivatives. *Heterocycles* **20** : 1481-1485.

- Jernow, J.A. & P. Rosen (1975) 2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ones. U.S. Patent **3** : 862,180.
- Leffler, J.E. & E. Grunwald (1963) En Rates and equilibria of organic reactions. Wiley, pp. 189-190.
- Miller, J.A. (1970) Carcinogenesis by chemicals : an overview. Cancer Res. : **30** : 559-576.
- Niemeyer, H.M. (1988) Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in the gramineae. Phytochem. **27** : 3349-3358.
- Niemeyer, H.M., H.R. Bravo, G.F. Peña & L.J. Corcuera (1982) En Chemistry and Biology of Hydroxamic Acids, H. Kehl, ed., Karger AG, pp. 111-118.
- Paul, M.A. & F.A. Long (1957) H<sub>0</sub> and related indicator acidity functions. Chem. Rev. **57** : 1-45.
- Scribner, J.D., J.A. Miller & E.C. Miller (1970) Nucleophilic substitution on carcinogenic N-acetoxy-arylacetamides. Cancer Res. **30** : 1570-1579.
- Scribner, J.D. (1976) Solvolysis of the carcinogen N-acetoxy-n-(4-stilbenyl)acetamide. Solvent addition to an intermediate quinone imide methide. J. Org. Chem. **41** : 3820-3824.
- Shridar, D.R., M. Jogibhukta & V.S.H. Krishnan (1982) A general and convenient synthesis of 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones. Org. Prep. Proceed. Int. **14** : 195-197.
- Sone, T., Y. Tokuda, T. Sakai, S. Shinkai & O. Manabe (1981) Kinetics and mechanism of the Bamberger rearrangement. Part 3. Rearrangement of phenylhydroxylamines to p-aminophenols in sulphuric acid solutions. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 298.
- Weisburger, J.H., R.S. Yamamoto, G.M. Williams, P.H. Grantham, T. Matsushima & E.K. Weisburguer (1972) On the sulfate ester of N-Hydroxy-N-2-fluorenylacetamide as a key ultimate hepatocarcinogen in the rat. Cancer Res. **32** : 491-500.