

AA33540



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA  
UNIVERSIDAD CATÓLICA ANDRÉS BELLO  
FACULTAD DE HUMANIDADES Y EDUCACIÓN



**SÍNTESIS Y ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE NUEVOS DERIVADOS DEL  
2-METOXIBENCILHIDRAZONAS SUSTITUIDAS**

Trabajo presentado ante la ilustre Universidad Católica Andrés Bello para optar al  
título de Licenciado en Educación Mención Biología y Química.

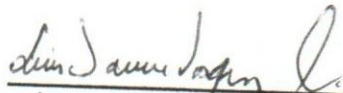
AUTOR: Br. ESTABA A, KAREN K

TUTOR: MSc. VÁSQUEZ LUIS

CARACAS, JUNIO 2012

En mi carácter de Tutor del Trabajo de Grado titulado: SÍNTESIS Y ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE NUEVOS DERIVADOS DE 2-METOXIBENCILHIDRAZONAS SUSTITUIDAS realizado por la Br. ESTABA ARMAS, KAREN K para optar al Título de Licenciado en Educación, Mención Biología y Química, considero que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a su defensa oral y evaluación por parte del Jurado examinador designado.

En Caracas, a los 23 días del mes de Abril de 2012

  
Luis Javier Vásquez A.  
C.I.: V-10.805.643

Este trabajo fue realizado en la Universidad Pedagógica Experimental Libertador:  
Laboratorio de Química Orgánica. Caracas, Venezuela.

Dedico este trabajo a mis padres, Cruz y Yajaira. A mi esposo Pedro, a mis hijos Dylan y a la pequeña Kelly que viene en camino.



## AGRADECIMIENTOS

Al Msc. Luis J. Vásquez Tutor, por su valiosa asesoría e inigualable estímulo y orientación durante la realización de este trabajo. Por estar siempre dispuesto a ayudarme cuando lo necesitaba. Muchísimas gracias por su paciencia y todo el apoyo otorgado.

Al Lic. Ismael Oropeza por su colaboración en los espectro de IR. Muchas Gracias.

A la Lic. Greta Lares por su ayuda en la traducción de documentos, gracias por todo.

A mis amigas Adi y Andy, por su estímulo y apoyo. Muchísimas gracias, las adoro.

A mis padres por su dedicación, constancia, estímulo y apoyo incondicional. Los amo. Muchas gracias papi y mami.

A mi adorable esposo por apoyarme en cada momento. Muchas gracias amor!!!

A la Universidad Pedagógica Experimental Libertador, Instituto Pedagógico de Caracas. Departamento de Biología y Química, por su apoyo.

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento del proyecto, CDCH: PI-067477-2009-1, otorgado para el desarrollo del mismo.

Al Dr. José N. Domínguez responsable del proyecto frente al CDCH.

## INDICE GENERAL

	Página
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE GRÁFICOS.....	xi
LISTA DE TABLAS.....	xii
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I. EL PROBLEMA.....</b>	<b>8</b>
Planteamiento del problema.....	8
Objetivos de la investigación.....	10
Justificación.....	11
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>12</b>
Compuestos Carbonílicos.....	13
Aldehídos y Cetonas.....	14
Adicción Nucleofílica.....	15
Mecanismo de formación de Iminas.....	18
Formación de la hidrazonas.....	20
Reacción de Wolff-Kishner.....	21
Espectroscopia Infrarroja.....	23
Resonancia Magnética Nuclear de Protones.....	25
Toxicidad de los Compuestos Orgánicos.....	26
<i>Artemia salina</i> .....	27

<b>CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>30</b>
Diseño de Investigación.....	30
Definición de Variables.....	30
Propuesta de Investigación .....	31
Síntesis de los derivados de 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas.....	31
Procedimiento general para la síntesis de derivados 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas.....	32
Evaluación de la Actividad Biológica de los nuevos derivados de 2-metoxibencilhidrazonas.....	34
Incubación de la <i>Artemia Salina</i> .....	35
Procedimiento para la incubación de la <i>Artemia salina</i> .....	35
Ensayo de Toxicidad.....	36
<b>CAPÍTULO IV. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>37</b>
Consideraciones Generales.....	37
Materiales y Equipos.....	38
Parte Experimental Sección Química.....	39
<b>CAPÍTULO V. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....</b>	<b>63</b>
Sección Química.....	64
Sección Biológica.....	73
<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>78</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>80</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>82</b>

## Abreviaturas y Símbolos

°C	Grado centígrado
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CHCl <sub>3</sub>	Cloroformo
Cl <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria 50
δ	Desplazamiento químico
D	Doblete
dd	Doblete de doblete
E	Engegert
h	Hora
Hz	Hertz
IR	Espectrometría infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
M	Concentración en mol/dm <sup>3</sup>
m	Multiplete
mg	Miligramo
MHz	Megahertz
mmol	Milimol
ND	No determinado

nm	Nanómetro
p.f	Punto de fusión
Ph	Fenilo
Phe	Fenilalanina
PM	Peso molecular
ppm	Partes por millón
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia magnética nuclear de protones
s	Singlete
t.a	Temperatura ambiente
TLC	Cromatografía de capa fina
μM	Micromolar



## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Grupos funcionales presentes en una Hidrazona.....	3
<b>Figura 2.</b> La Glucosilación no enzimática de proteínas.....	4
<b>Figura 3.</b> Equilibrio Tautomérico en las bases de Schiff.....	5
<b>Figura 4.</b> Estructura de la Salicilhidrazona del piridoxal.....	6
<b>Figura 5.</b> Estructura de la salicialdehido-benzoilhidrazona.....	7
<b>Figura 6.</b> Estructura de Tiosemicarbazonas.....	8
<b>Figura 7.</b> Estructura base de Tiocromano y Feniltiocromano.....	9
<b>Figura 8.</b> Familias de compuestos que contienen al grupo carbonilo.....	13
<b>Figura 9.</b> Re-hibridización del carbono carbonílico.....	16
<b>Figura 10.</b> Principales Nucleófilos usados en las reacciones orgánicas.....	16
<b>Figura 11.</b> Hidratación de cetona o aldehído.....	17
<b>Figura 12.</b> Formación de cianohidrinás.....	17
<b>Figura 13.</b> Formación de una Imina.....	19
<b>Figura 14.</b> Formación de Hidrazona.....	20
<b>Figura 15.</b> Formación de Aldazina.....	20
<b>Figura 16.</b> Formación de Hidrazona de aldehído.....	21
<b>Figura 17.</b> Mecanismo de la reducción Wolff-Kishner de una cetona o aldehído para producir un alcano.....	22
<b>Figura 18.</b> Diagrama de un espectrofotómetro de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR).....	24

<b>Figura 19.</b> Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear.....	26
<b>Figura 20.</b> Toxicidad aguda.....	27
<b>Figura 21.</b> Esquema general de síntesis.....	31
<b>Figura 22.</b> Procedimiento para la incubación de la <i>Artemia Salina</i> .....	35
<b>Figura 23.</b> Espectro de RMNH <sup>1</sup> para el compuesto 4(N, N-dimetilamino)-2-metoxibencilhidrazona.....	40
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMNH <sup>1</sup> para el compuesto 2',4'-dicloro-2-metoxibencilhidrazona.....	43
<b>Figura 25.</b> Espectro de RMNH <sup>1</sup> para el compuesto 2',4' dimetoxi-2-metoxibencilhidrazona.....	46
<b>Figura 26.</b> Espectro de RMNH <sup>1</sup> para el compuesto (E)-N-(benzil)-2-metoxibencilhidrazona.....	49
<b>Figura 27.</b> Espectro de RMNH <sup>1</sup> para el compuesto 2',4'-difluoro-2-metoxibencilhidrazona.....	52
<b>Figura 28.</b> Espectro de RMNH <sup>1</sup> para el compuesto 4'-fluoro-2-metoxibencilhidrazona.....	55
<b>Figura 29.</b> Espectro de RMNH <sup>1</sup> para el compuesto 3',4',5'-trimetoxi-2-metoxibencilhidrazona.....	58
<b>Figura 30.</b> Espectro de RMNH <sup>1</sup> para el compuesto N-(etilimino) -2- metoxibenzamida.....	61
<b>Figura 31.</b> Metodología empleada para la síntesis de los 2 metoxibencil derivados.....	64
<b>Figura 32.</b> Espectro RMNH <sup>1</sup> para el compuesto 8.....	67
<b>Figura 33.</b> Espectro RMNH <sup>1</sup> compuesto 5.....	70
<b>Figura 34.</b> Efecto de 2,4- DCL sobre la <i>Artemia salina</i> .....	74

<b>Figura 35.</b> Efecto de 2,4- DF sobre la <i>Artemia salina</i> .....	74
<b>Figura 36.</b> Efecto de 4- F sobre la <i>Artemia salina</i> .....	75
<b>Figura 37.</b> Efecto de 4- DMA sobre la <i>Artemia salina</i> .....	75
<b>Figura 38.</b> Efecto de 2,4-DOMe sobre la <i>Artemia salina</i> .....	76
<b>Figura 39.</b> Efecto de Phe sobre la <i>Artemia salina</i> .....	76
<b>Figura 40.</b> Efecto de 3, 4,5-TOMe sobre la <i>Artemia salina</i> .....	77
<b>Figura 41.</b> Efecto de Me sobre la <i>Artemia salina</i> .....	77



## LISTA DE GRÁFICOS

	Página
<b>Gráfico 1.</b> Marcha para la síntesis de derivados 2-metoxibencilhidrazonas.....	33
<b>Gráfico 2.</b> Ensayo de toxicidad sobre <i>Artemia salina</i> .....	36

## LISTA D TABLAS

	Páginas
<b>Tabla 1.</b> Señales correspondientes de IR y RMNH <sup>1</sup> presentes en los espectros correspondientes al compuesto 8.....	65
<b>Tabla 2.</b> Señales correspondientes de IR y RMNH <sup>1</sup> presentes en los espectros correspondientes al compuesto 5.....	68
<b>Tabla3.</b> Propiedades Físicas de los derivados de 2-metoxibencilhidrazona sintetizados.....	71
<b>Tabla 4.</b> Dosis- Respuestas.....	73

## INTRODUCCIÓN

El hombre desde el principio de su existencia se ha preocupado por la búsqueda de las soluciones a todos aquellos males que lo afectan, uno de los que más ha llamado su atención es la cura y tratamiento de las enfermedades. La medicina es la rama de la ciencia que se encarga de buscar soluciones a este problema, sin embargo, es la Química Medicinal la que aplica los principios de la química y la biología para la creación de los conocimientos necesarios que lleven a la obtención de nuevos medicamentos.

Los medicamentos o fármacos pueden clasificarse según su estructura química o su acción farmacológica (Camacho, 2002). Según la primera clasificación ellos se incluyen dentro de las siguientes categorías: acetales, ácidos, alcoholes, amidinas, semicarbazonas, sulfatas, tioles, hidrazonas entre otros.

Actualmente la segunda clasificación es la preferida, según ella, los fármacos pueden dividirse en los siguientes grupos principales:

1. Agentes farmacodinámicos, que se emplean en enfermedades no infecciosas para corregir funciones anormales del organismo.
2. Agentes quimioterapéuticos, empleados en la curación de enfermedades infecciosas.
3. Vitaminas
4. Hormonas

Por ejemplo para el año de 1979 la fuente de los fármacos empleados era la siguiente: productos de síntesis química un 50%; productos extraídos de microorganismos, 12%; minerales, 7%; extraídos de plantas, 25%; extraídos de animales, 6% (Burckhalter y Korolkovas, 1979).

Con el propósito de descubrir nuevos medicamentos que mejoren la calidad de vida del ser humano, se sintetizan y ensayan continuamente muchas sustancias. Las que resultan ser más activas y más inocuas se introducen en la terapéutica a través de las siguientes rutas:

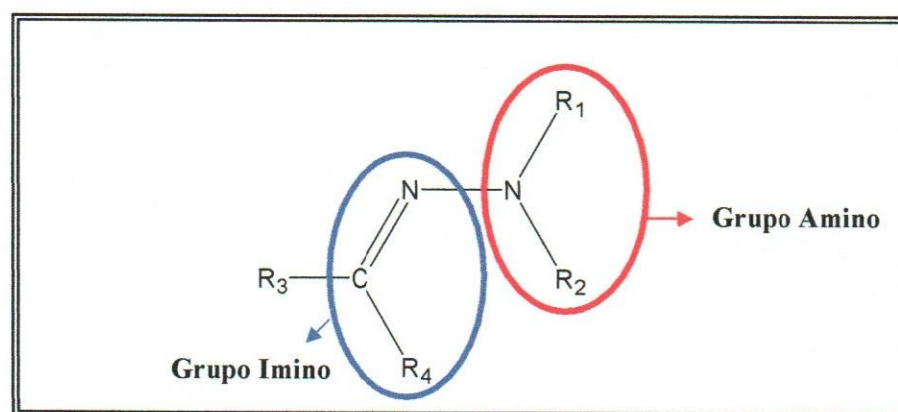
1. Por casualidad, como la penicilina.
2. Screening general: según esta modalidad, se somete cualquier sustancia química asequible a diversos ensayos biológicos con la esperanza de que de algunos pueda deducirse cierta actividad útil.
3. Extracción de principios activos a partir de fuentes naturales, como la morfina, quinina.
4. Síntesis planificadas de compuestos químicos nuevos sobre bases racionales; éste método busca la creación de un fármaco que pueda responder a una acción farmacológica muy definida, para su implementación se necesita un amplio conocimiento de los mecanismos biológicos que se originan en el organismo; pero gracias a los avances de la genética y en la biología molecular este método está siendo cada vez mas implementado, en este grupo se encuentra la lidocaína.
5. Modificación molecular de fármacos conocidos: la modificación molecular es un desarrollo natural de la química orgánica, consiste esencialmente en tomar como origen una sustancia química de actividad biológica conocida, y sintetizar y ensayar análogos estructurales. Este es el método más frecuente y el más rentable para la búsqueda de nuevos fármacos, como la cloroquina (Camacho, 2002).

En este mismo sentido y basándonos en la quinta ruta de introducción de un medicamento (fármaco) a la terapéutica, en el siguiente trabajo de investigación se propone sintetizar análogos de hidrazonas.



Las Hidrazonas son compuestos orgánicos que se caracterizan por poseer en su estructura la agrupación  $R_2C=N-NR_2$ . Dependiendo de los sustituyentes (R) se pueden generar diferentes tipos de Hidrazonas. Estos sustituyentes pueden ser: protones, radicales alquilo, radicales arilo, radicales acilo, radicales O-alquilo, así como dióxido de nitrógenos o halógenos. (Martorrel, 2003; Viñuelas, 2007)

Debido a que las Hidrazonas se caracterizan por la presencia de grupos iminos y aminos (Figura 1), su elevada reactividad hace posible su aplicación en dianas biológicas y farmacéuticas como agentes antitumorales, antivirales, antibacterianos, antimicóticos (Martorrel, 2003).

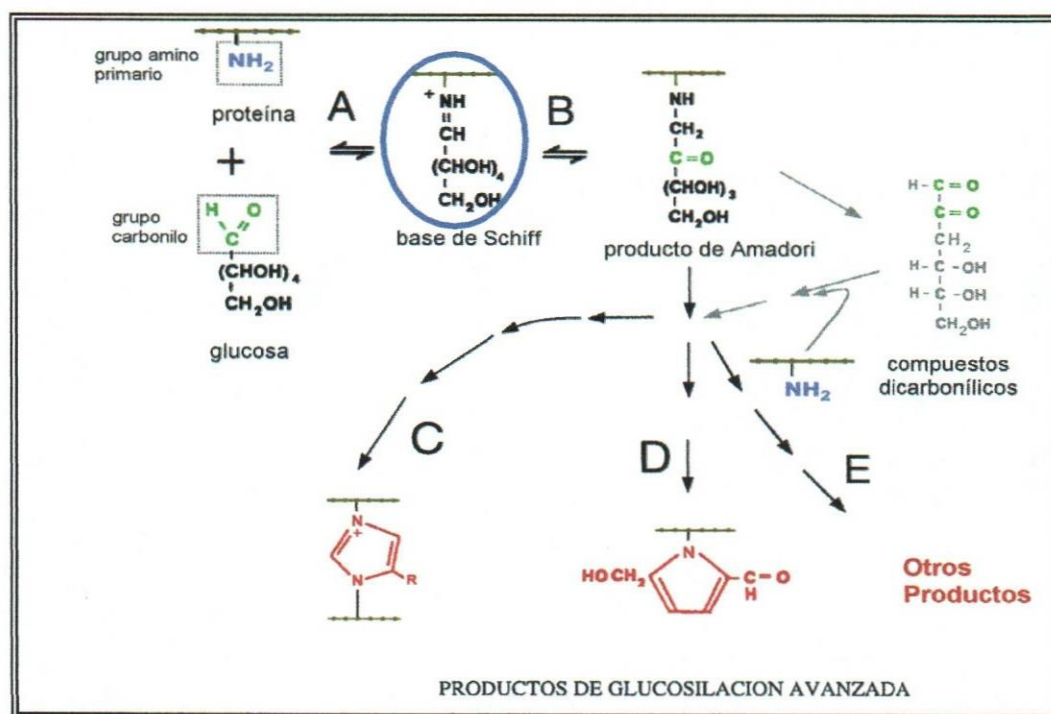


**Figura 1. Grupos funcionales presentes en una hidrazona.**

Las hidrazonas son compuestos conocidos como bases de Mannich. Las bases de Mannich se obtienen a través de una reacción sencilla que tiene lugar entre una amina y un aldehído o una acetona. El aldehído y la amina que son utilizados con más frecuencia son el formaldehído y la dimetilamina. (Allinger, Cava, Jongh, Johnson, Lebel, Stevvs, 1984)

La reacción de Mannich se usa ampliamente en la síntesis de aminas secundarias y terciarias y se emplea como una etapa intermedia en la síntesis de muchas moléculas bioactivas. (Rivera, Ríos, Quevedo, Nathan, 2005). Un ejemplo de

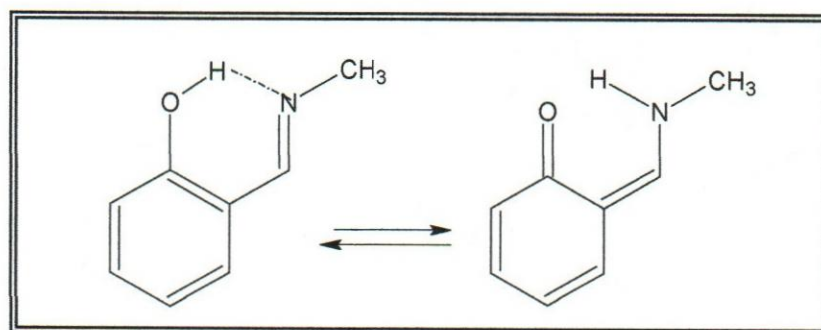
este tipo de reacción puede ser: la glucosilación la cual, se define como la reacción del grupo amino primario de un aminoácido, péptido ó proteína con el grupo carbonilo de los azúcares reductores. A lo largo de esta reacción se pueden distinguir tres etapas: inicialmente se produce la asociación del azúcar con la proteína, formando un compuesto denominado base de Schiff como se observa en la Figura 2 (González, Castello, Gagliardino, 2000).



**Figura 2. La Glucosilación no enzimática de proteínas.** Tomado de Gonzalez.et al (2000).

La formación de bases de Shicff es una variante de la reacción de Mannich, en donde un aldehído o una cetona reaccionan con cualquier amina primaria para formar imina. La imina es un compuesto con un doble enlace carbono- nitrógeno, como se evidencia en los óvalos azules de las figuras 1 y 2 (Bruice, 2008).

Según Zarycz y Aucar. (2006) las bases de Schiff derivadas de un aldehído aromático (como el salisalaldehído) posee diversas aplicaciones tanto en química, biología y en la tecnología. Sus propiedades están relacionadas con la existencia de un enlace de hidrogeno intramolecular y la transferencia de un protón en equilibrio (figura 3).

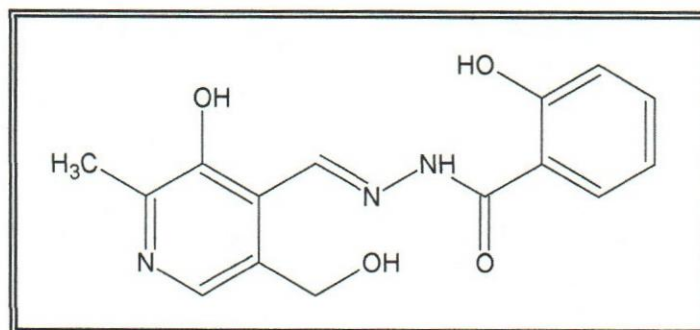


**Figura 3. Equilibrio Tautomérico en las bases de Schiff.** Tomado de Zarycz .et al 2006.

Muchos de estos compuestos son bioactivos como ya se mencionó anteriormente, por ejemplo las proteínas que presentan una vida relativamente corta como son las proteínas plasmáticas y las presentes en las células que son rápidamente reemplazadas (los glóbulos rojos) pueden formar unos compuestos conocidos como productos de Amadori (ver figura 2). Se ha podido comprobar que estos compuestos están asociados al desarrollo de patologías vasculares y renales (Cohen, Hud, Wu, Ziyadeh, 1996).

Según Viñuelas (2007) las Hidrazonas son utilizadas en las industrias como agentes plastificantes, antioxidantes e iniciadores de la polimerización. Por su parte Fouda (2007) determinó que este tipo de compuestos tiene actividad antiinflamatoria y analgésica igual o similar a la de la aspirina. Las Hidrazonas, tal como: la Salicilhidrazona del piridoxal (Figura 4), actúan como droga eficaz por vía oral para el tratamiento de las enfermedades genéticas de sobrecarga de hierro o talasemia.



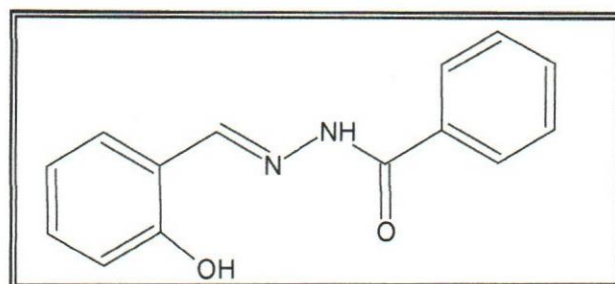


**Figura 4. Estructura de la Salicilhidrazona del piridoxal.** Tomado de Fouda 2007.

Por su parte Asikiya (2004), realizó el estudio de arihidrazonas y su actividad antimálarica frente a cepas sensibles y resistentes a cloroquina como posible quelantes de hierro, observando que las Hidrazonas se unen al hierro y esto es de suma importancia debido a que el hierro es un factor determinante en la proliferación celular del parásito responsable de la enfermedad.

La salicilaldehido-benzoilhidrazona (figura 5) ha sido investigada como fármaco para tratar desordenes genéticos como la talasemia, que consiste en una elevada concentración de hierro en el organismo, que termina produciendo daño en los tejidos. Este mismo compuesto presenta una leve actividad bactericida pero una gran capacidad de inhibir la síntesis de ADN y, por consiguiente, del crecimiento celular. Asimismo, en ciertos casos, el complejo de cobre II) formado con este compuesto potencia las propiedades citotóxicas exhibidas. (Viñuelas, 2007).





**Figura 5. Estructura de la salicialdehido-benzoilhidrazona.** Tomado de Viñuelas 2007.

En este mismo sentido y teniendo como base todo lo mencionado anteriormente, en el siguiente trabajo de investigación se propone sintetizar análogos de hidrazonas y se pretende evaluar su posible actividad citotóxica.

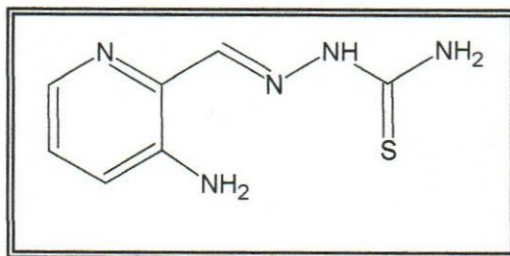
## CAPÍTULO I EL PROBLEMA

### Planteamiento del problema

Las Hidrazonas desempeñan un papel importante en la mejora de la selectividad antitumoral y la toxicidad de los agentes antitumorales mediante la formación de los sistemas de soporte de drogas (Fouda, 2007).

En ese mismo sentido, son muy versátil por su conducta quelante por lo cual son ampliamente utilizada en química analítica. Los derivados de Hidrazonas también, se han utilizado en la determinación espectroscópica de ciertos metales de transición y como agente de extracción selectiva de metales (Alaghaz, Hanafy, 2007).

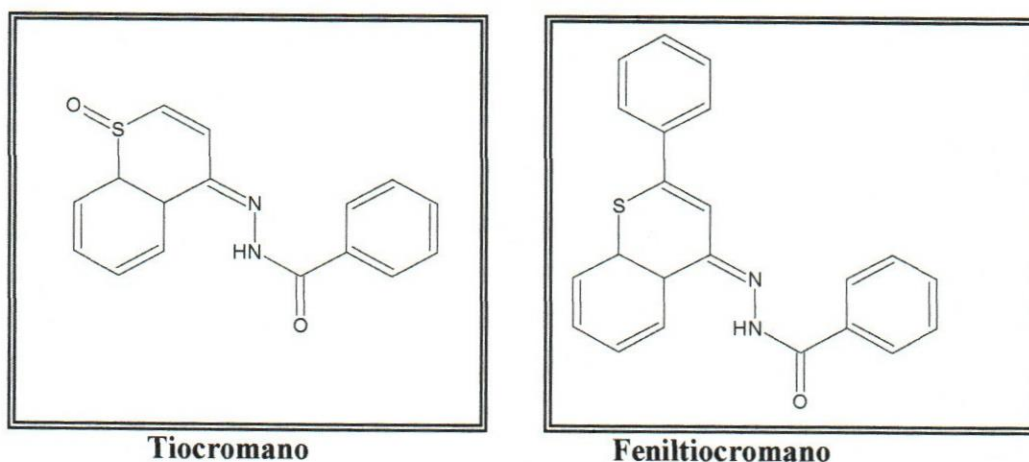
Además, algunas Hidrazonas se han aplicado a las drogas quelante del hierro en el tratamiento de las anemias y trastornos genéticos tales como talasemia. Tiosemicarbazonas (figura 6) y sus complejos metálicos también han sido el objeto de amplios estudios debido a su alto potencial antifúngico y antibacterial (Alaghaz et al, 2007).



**Figura 6. Estructura Tiosemicarbazonas.** Tomado de Alaghaz 2007.

Otras investigaciones realizadas evidencias que algunas hidrazonas tienen la capacidad de inhibir las proteasas de cisteína (PC) del parásito causante de la Leishmaniasis. Adicionalmente se ha detectado otro mecanismo de acción, pues las

hidrazonas tienen la capacidad de quelar el hierro de *Plasmodium*, afectando su crecimiento en todos los estadios. Los resultados obtenidos han sido satisfactorios para el tratamiento de la *Leishmaniasis*, figura 7 (Muñoz, 2006).



**Figura 7. Estructura base de Tiocromano y Feniltiocromano.** Tomado de Muñoz 2006.

Un hecho muy importante es que los parásitos de *Leishmaniasis*, *Plasmodium* y *Tripanosoma* parecen compartir un sitio activo muy similar, por lo cual es de esperarse que una sustancia sea activa simultáneamente sobre ellos. (Muñoz, 2006)

Sobre la base de todo lo anterior y encaminados en la búsqueda de nuevas sustancias con posible actividad citotóxica, en este trabajo se propone como problema de investigación, **LA SÍNTESIS DE SEIS NUEVOS DERIVADOS DE LAS 2-METOXIBENCILHIDRAZONAS SUSTITUIDAS COMO POSIBLES AGENTES CITOTÓXICOS.**

## Objetivos

### Objetivo General

- Sintetizar seis nuevos derivados de las 2-metoxibencilhidrazonas a partir de la reacción de condensación de benzaldehídos sustituidos y la 2-metoxibencilhidrazina y evaluar su posible actividad citotóxica.

### Objetivos Específicos

1. Obtener los derivados de 2-metoxibencilhidrazonas a partir de la reacción de condensación de Benzaldehídos sustituidos y la 2 methoxibenzidrazina en medio ácido mediante la técnica de reflujo.
2. Purificar las 2-metoxibencilhidrazonas obtenidas a través de la técnica de res cristalización por mezcla de solvente (metanol-agua).
3. Caracterizar las 2-metoxibencilhidrazonas obtenidas a través de su punto de fusión en una plancha de calentamiento.
4. Caracterizar las 2-metoxibencilhidrazonas sintetizadas a través de sus bandas de absorción como sólido disperso en KBr mediante la técnica de espectroscopía de infrarrojo (IR-FT)
5. Caracterizar las 2-metoxibencilhidrazonas sintetizadas a partir de sus señales de desplazamiento químico, mediante la técnica espectroscópica de resonancia magnética nuclear de protones (RMN  $^1\text{H}$ ).
6. Determinar la actividad citotóxica de los nuevos derivados de 2-metoxibencilhidrazonas sintetizados sobre el crustáceo *Artemia salina*. Según protocolo.



### Justificación de la investigación

En la actualidad el hombre se ve afectado por diversas enfermedades tales como: la Malaria, la *Leishmaniasis*, el Cáncer, el VIH, entre otras, las cuales ocasionan grandes pérdidas humanas todos los años. Con el pasar del tiempo, los alcances del hombre en los diferentes campos de la ciencia y la tecnología, no han sido suficiente para lograr la erradicación de estas enfermedades, constituyendo así, una de sus principales preocupaciones y grandes retos

A pesar de que existe una gran variedad de fármacos y drogas para tratar las diferentes enfermedades, las cifras de mortalidad y morbilidad todavía siguen siendo altas y esto es debido a la gran resistencia que han creado los parásitos o las bacterias a las distintas drogas. Por otra parte de esto muchos medicamentos presentan altos niveles de toxicidad, ocasionando efectos adversos al hombre, por lo cual, se han tenido que retirar del mercado una gran cantidad de ellos. Esto ha motivado que aumente el número de investigaciones destinadas a descubrir nuevos fármacos que cumplan con dos criterios importantes:

1. Bajos niveles de toxicidad al hombre.
2. Que los agentes causantes de enfermedades no generen resistencia a los mismos.

En este sentido, los estudios realizados con Hidrazonas son pocos. Es por esa razón que la ejecución de esta investigación pretende contribuir en el desarrollo de nuevos fármacos, con los cuales se pueda combatir el problema de la toxicidad de las diferentes drogas actuales.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

En este capítulo se van a tratar los siguientes puntos:

- Compuestos Carbonílicos
- Aldehídos y Cetonas
- Adición Nucleofílica
- Mecanismo de Formación de Iminas
- Formación de Hidrazonas
- Espectroscopia Infrarroja
- Resonancia Magnética Nuclear de Protones
- Toxicidad de los Compuestos Orgánicos
- *Artemia salina*

## Compuestos Carbonílicos

El grupo carbonilo es probablemente el grupo funcional más importante de los compuestos orgánicos y los compuestos que lo tienen en su estructura son llamados compuestos carbonílicos. Estos compuestos son abundantes en la naturaleza y muchos juegan un papel importante en los procesos biológicos (Bruice, 2006).

Los compuestos carbonílicos son aquellos que poseen un doble enlace entre el carbono y el oxígeno  $C = O$ , el cual es conocido con el nombre de grupo carbonilo. La figura 8 muestra las formulas generales de los diferentes grupos funcionales que contienen el grupo carbonilo. (Allinger et al, 1984).

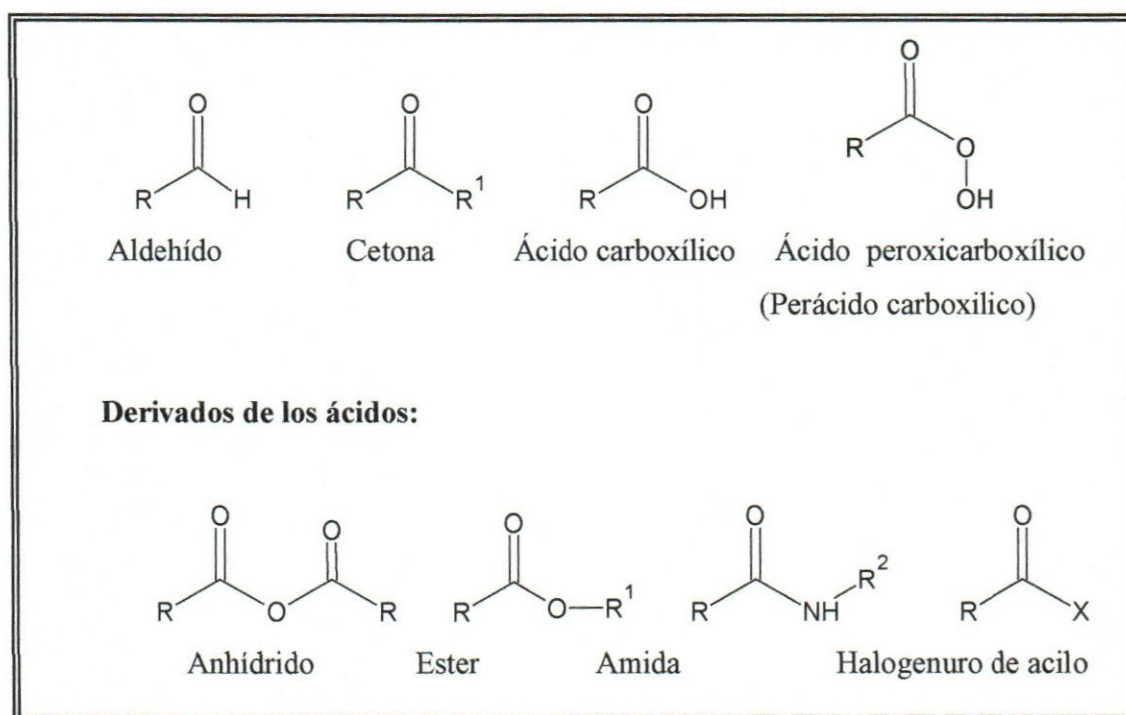


Figura N° 8 Familias de compuestos que contienen al grupo carbonilo. Tomado de Allinger et al, 1984.



Aunque el enlace carbono oxígeno ( $C = O$ ) es muy fuerte, 176-179 kcal/mol, algo más fuerte que dos enlaces simples  $C-O$  ( $2 \times 85,5$  kcal/mol) es, sin embargo, un doble enlace muy reactivo. La gran reactividad de los compuestos carbonílicos es debido a la polaridad del grupo carbonilo; el oxígeno es más electronegativo que el carbono, por lo tanto el carbono carbonílico es un electrófilo, por lo que se puede afirmar que va a ser atacado por nucleófilo (Allinger et al 1984 y Bruce, 2006).

Según Wade (2004) los grupos carbonílicos más simples son las cetonas y los aldehídos, debido a que las cetonas tienen dos grupos alquilo (o arilo) enlazado al átomo de carbono carbonílico mientras que los aldehídos tienen un grupo alquilo (o arilo) y un átomo de hidrogeno.

Gran parte de la química orgánica se encarga de estudiar los compuestos carbonílicos. Los aldehídos y las cetonas son intermediarios en la síntesis de muchos agentes farmacéuticos, innumerables procesos y en casi todas las rutas industriales y biológicas. La comprensión de sus propiedades y reacciones es esencial y por esa razón se van a estudiar con un poco más en detalle (McMurry, 2008).

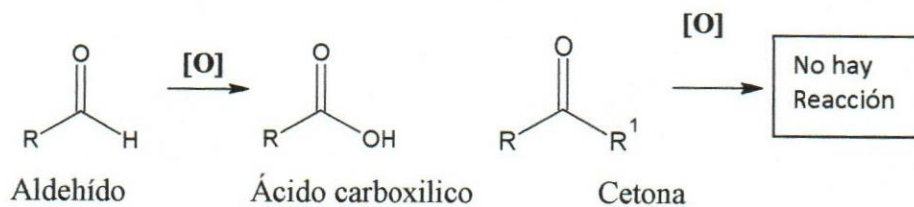
### **Aldehídos y Cetonas**

Los aldehídos son sustancias con fórmula general  $RCHO$ ; mientras que las cetonas son compuestos con formula general  $RR'CO$ . Los grupos  $R$  y  $R'$  pueden ser alifáticos o aromáticos. (Morrison, 1998).

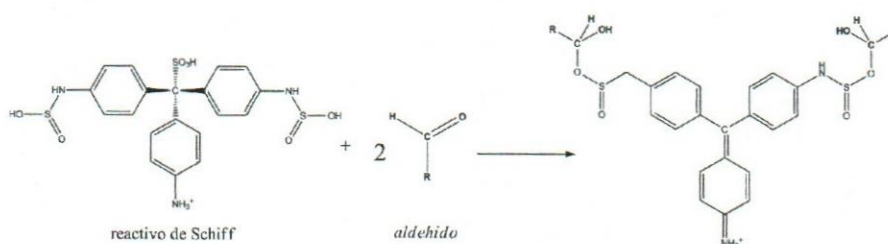
Los aldehídos y las cetonas se asemejan en la mayoría de sus propiedades. Sin embargo, el grupo carbonilo de los aldehídos contiene, además, un hidrogeno, mientras que las cetonas tiene dos grupos sustituyentes. Esta diferencia estructural afecta a sus propiedades en dos formas:



1. Los aldehídos se oxidan con facilidad para formar ácidos carboxílicos, pero por lo general las cetonas son inertes a la oxidación. La diferencia es consecuencia de la estructura; los aldehídos tienen un protón  $-CHO$  que puede sustraerse durante la oxidación, pero las cetonas no.



2. Los aldehídos suelen ser más reactivos que las cetonas en adiciones nucleofílicas. (Morrison, 1998)



### Adición Nucleofílica

Los aldehídos y las cetonas participan en diversas reacciones para dar una amplia gama de derivados útiles. La principal reacción que sufren es la adición nucleofílica al carbono carbonílico, donde el nucleófilo ataca al átomo de carbono electrofílico ( $C=O$ ) del grupo carbonilo. Al mismo tiempo, hay una re-hibridación del carbono carbonílico, es decir, pasa de  $sp^2$  a  $sp^3$ , donde un par de electrones del doble enlace carbono-oxígeno se mueve al átomo de oxígeno negativo, produciendo así, un ión tetraédrico intermedio, como se evidencia en las figuras 9 y 10 (Wade 2004, McMurry 2008)

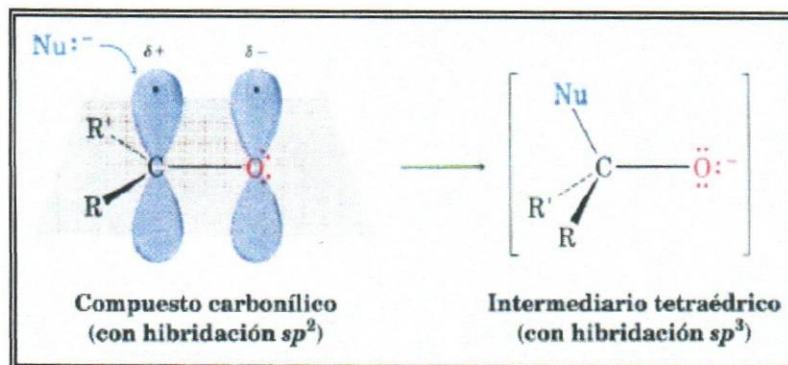


Figura 9. Re-hibridización del carbono carbonílico. Tomado de McMurry 2008

El nucleófilo atacante puede tener carga negativa o neutra, y cuando es neutro suele llevar un átomo de hidrogeno, el cual puede ser eliminado luego.

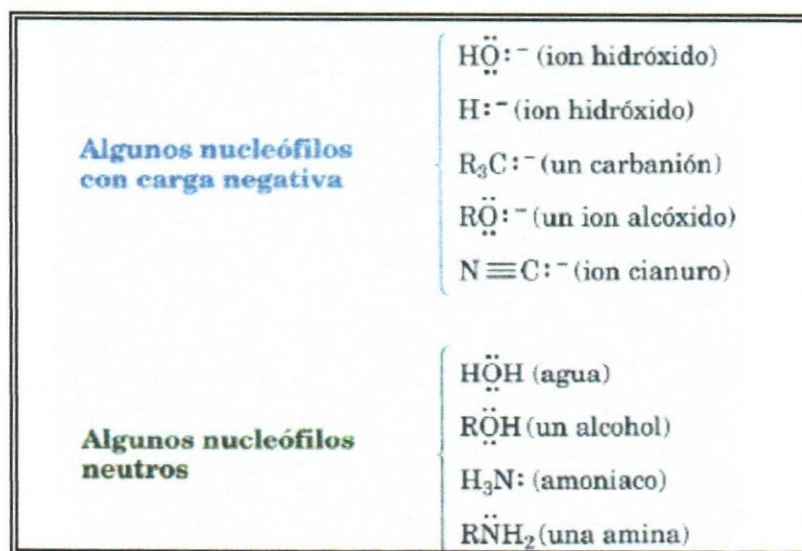


Figura 10. Principales Nucleófilos usados en las reacciones orgánicas. Tomado McMurry 2008

Existen diferentes reacciones donde participan los aldehídos y las cetonas, entre ellas tenemos las siguientes:

- **Hidratación**

Las cetonas y los aldehídos reaccionan con agua (nucleófilo neutro) para producir dioles geminales (gem). Esta reacción es reversible, por lo tanto un gem diol puede generarse de un aldehído o una cetona, figura 11 (McMurry, 2008)

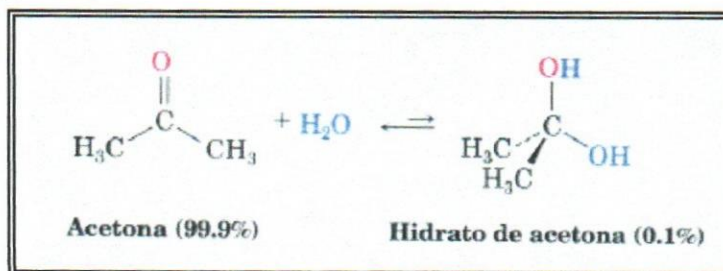


Figura 11. Hidratación de cetona o aldehído. Tomado McMurry 2008.

- **Formación de cianohidrinas**

Los aldehído y las cetonas reaccionan con el cianuro de hidrogeno (ácido cianhídrico), el cual es un líquido soluble en agua para formar cianohidrina, figura 12 (Wade, 2004).

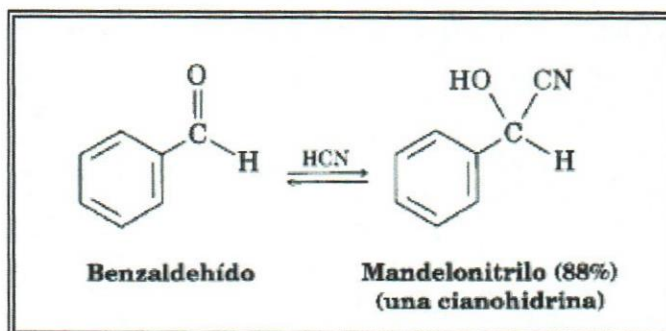


Figura 12. Formación de cianohidrinas. Tomado de McMurry 2008.



- Adición de reactivo de Grignard y reactivo hidruro: formación de alcoholes

Las cetonas y aldehídos reaccionan con el reactivo de Grignard,  $\text{RMgX}$ , produciendo un alcohol debido a la adición nucleofílica de un carbanión. Por otro lado cuando una acetona y un aldehído están en contacto con  $\text{LiAlH}_4$  o  $\text{NaBH}_4$  reduce al grupo carbonilo y también se produce un alcohol (McMurry, 2008).

- Adición de aminas: formación de iminas

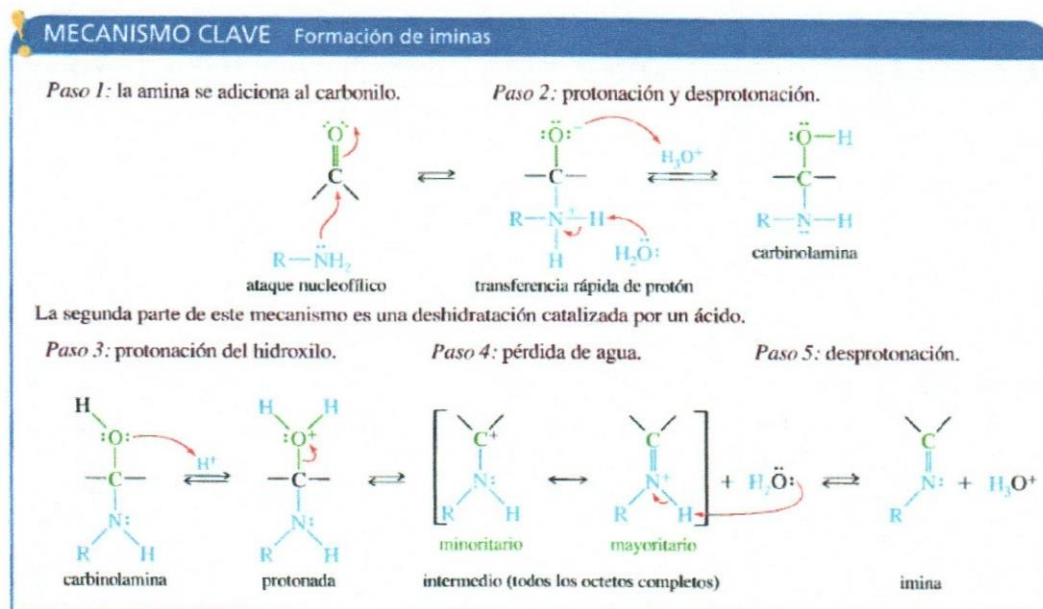
En condiciones adecuadas, el amonio o una amina primaria,  $\text{RNH}_2$  se une a los aldehídos y cetonas para formar una imina. Las iminas son análogos nitrogenados de las cetonas y aldehídos, con un doble enlace carbono-nitrógeno (Wade, 2004)

### **Mecanismo de Formación de Iminas**

La formación de iminas es un proceso reversible comenzando con la adición de un nucleófilo básico de la amina primaria al grupo carbonilo. Seguido de la transferencia de un protón del nitrógeno al oxígeno, dando lugar a un intermediario inestable denominado carbinolamina (McMurry, 2008)

La carbinolamina se transforma en una imina mediante la pérdida de agua y la formación de un doble enlace: deshidratación. La deshidratación requiere un catalizador ácido para protonar el grupo hidroxilo y convertirlo en un buen saliente (agua). El catión resultante está estabilizado por una estructura de resonancia con todos los octetos completos y la carga positiva localizada en el nitrógeno. La pérdida de un protón da lugar a una imina (Wade, 2004).

En la figura 13 se observa con detalle el mecanismo anteriormente descrito por el cual probablemente transcurre esta reacción.



**Figura 13 Formación de una Imina.** Tomado de Wade 2004.

Los aldehídos y cetonas también se condensan con otros derivados del amoníaco, tales como la hidroxilamina y las Hidrazinas sustituidas para formar derivados de iminas.

La hidroxilamina reacciona con aldehídos y cetonas generalmente al utilizar como medio de reacción al ácido acético y el acetato sódico para formar oximas (Allinger et al, 1984). Los derivados de hidrazina reaccionan para formar Hidrazonas. El mecanismo de reacción es similar al mecanismo para formar iminas (Wade, 2004). Por otro lado las hidrazonas sustituidas se comportan de manera análoga a las hidroxilamina (Allinger et al, 1984).

Este trabajo se basará esencialmente en una variante muy útil de la formación de iminas, consiste en hacer reaccionar aldehídos y cetonas con hidrazina para formar hidrazonas mediante la adición nucleofílica de hidrazina.

### Formación de hidrazonas

Las cetonas y aldehídos reaccionan con hidracina para generar hidrazonas, (McMurry, 2008). Por la adición de derivados de la hidracina sustituidas, generalmente se utiliza fenilhidracina, en disolución de ácido acético, se obtiene la fenilhidrazona (Beyer, Walter, Wolfgang, Coaut, 1987)

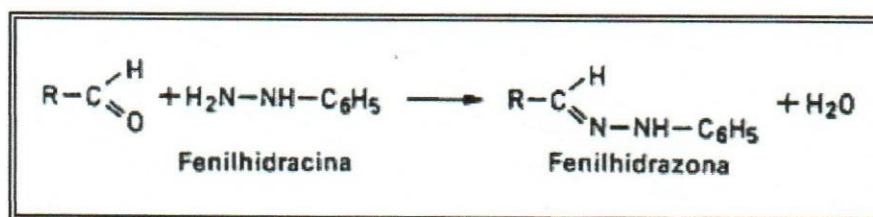


Figura 14. Formación de Hidrazona. Tomado de Beyer, Wolfgang, 1987

La hidracina o el hidrato son poco característicos de este tipo de reacción, debido a que no reacciona sólo un grupo  $\text{NH}_2$  para formar Hidrazona de aldehído, sino que reaccionan ambos grupos de  $\text{NH}_2$  originando aldazinas.

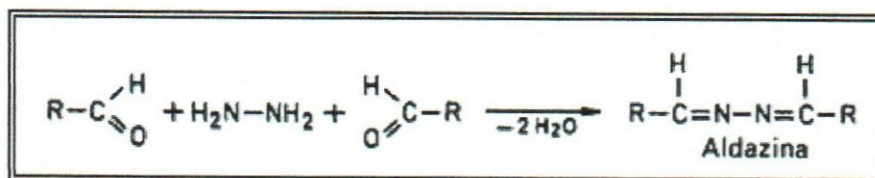


Figura 15. Formación de Aldazina. Tomado de Beyer, et.al 1987



Por corto calentamientos de la Aldazina con hidrato de hidracina se obtiene hidrazonas de aldehídos, relativamente inestables.

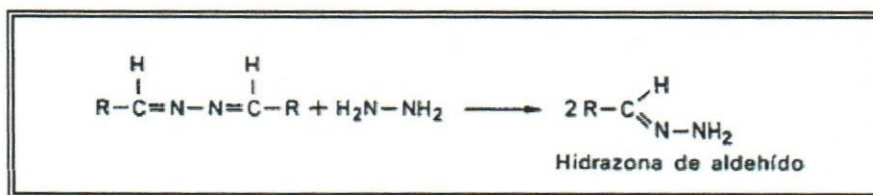


Figura 16. Formación de Hidrazona de aldehído. Tomado de Beyer, et.al 1987

### Reacción de Wolff-Kishner.

La reacción Wolff-Kishner comprende la formación de Hidrazonas intermedias,  $\text{R}_2\text{C}=\text{NNH}_2$ , seguidamente de la migración del doble enlace teniendo lugar cuando la base elimina uno de los protones débilmente ácidos del NH para generar un anión de hidrazona. Debido a la resonancia, el doble enlace se coloca entre los átomos de nitrógeno y una carga negativa sobre el carbono. La alta estabilidad de la molécula de  $\text{N}_2$  produce la pérdida del nitrógeno y la formación de un anión alquilo.

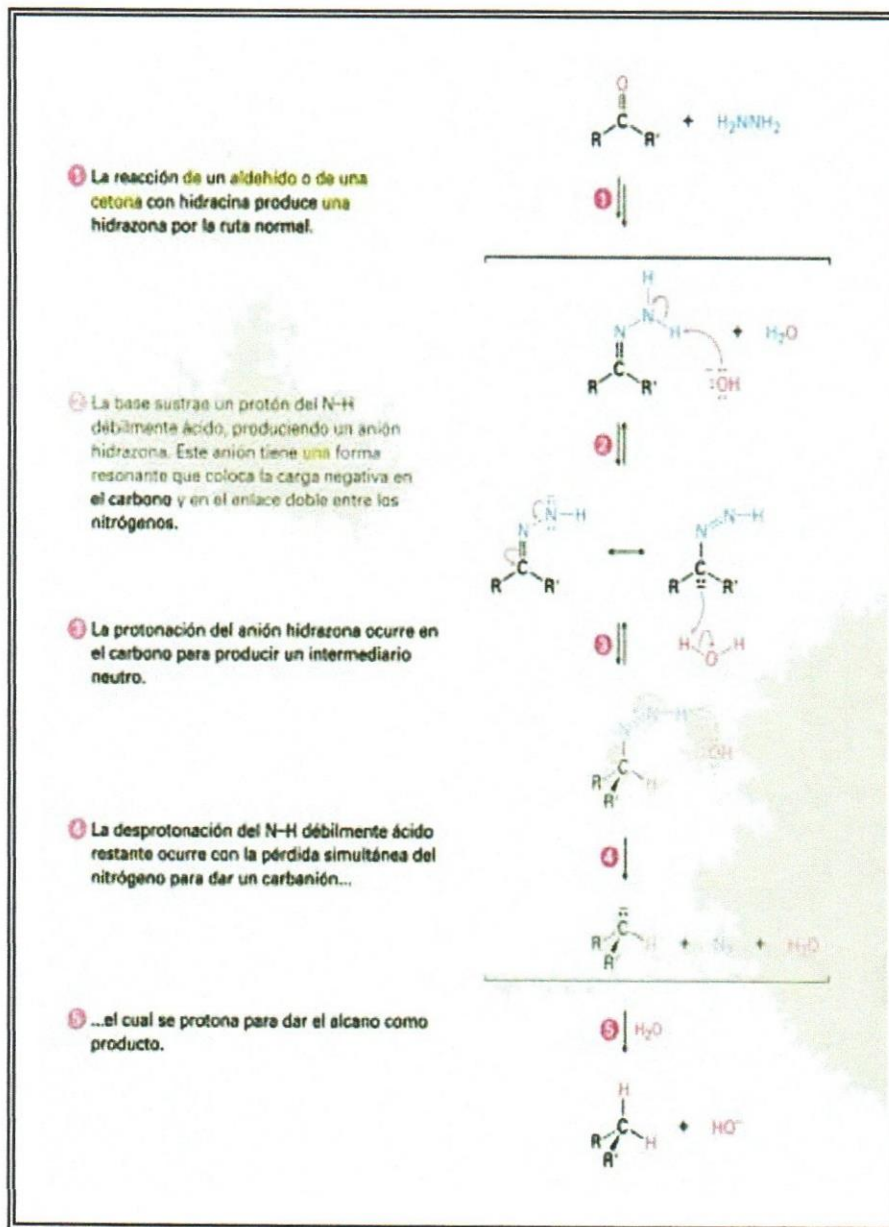


Figura 17. Mecanismo de la reducción Wolff-Kishner de una cetona o aldehído para producir un alcano. Tomado de McMurry 2008.



## **Espectroscopia Infrarroja**

El espectrofotómetro Infrarrojo mide las frecuencias de la luz que son absorbidas por un compuesto. En un espectrofotómetro sencillo se utiliza dos haces de luz, las cuales son: a) El haz de la muestra la cual pasa a través de la celda de muestra. b) El haz de referencia que pasa a través de referencia que contiene sólo el disolvente. El espectro infrarrojo se puede realizar en sólidos, líquidos o gases. Los sólidos deben ser triturados y mezclados con KBr (polvo) hasta conseguir una mezcla homogénea, la cual va a ser analizada (Wade, 2004).

En la espectroscopia IR se utilizan dos tipos de espectrómetros: de tipo disperso y de transformada de Fourier en este trabajo se utilizó el espectrofotómetro de infrarrojo de transformada de Fourier.

### **Espectrofotómetro de infrarrojo de transformada de Fourier**

Un espectrofotómetro de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) utiliza un interferómetro (Ver figura 18), para medir un espectro. La luz infrarroja va desde la fuente incandescente hasta un separador del haz luminoso, realizado generalmente con KBr pulido colocado a un ángulo de  $45^\circ$  con respecto al haz. Parte de la luz atraviesa el separador y parte es reflejado con un ángulo de  $90^\circ$ . La luz reflejada incide sobre un espejo estacionario, mientras que la transmitida incide sobre un espejo que se mueve a velocidad constante. Los rayos retornan de los espejos para recombinarse del separador. Los rayos del espejo móvil han recorrido una distancia diferente al recorrido por los espejos fijos y los dos tipos de rayos se combinan para crear un modelo de interferencia denominado interferograma. El mismo contienen simultáneamente todas las frecuencias pero desfasadas unas de otras con una fracción de segundo, pasando a través del compartimiento de la muestra al detector. (Wade, 2004).

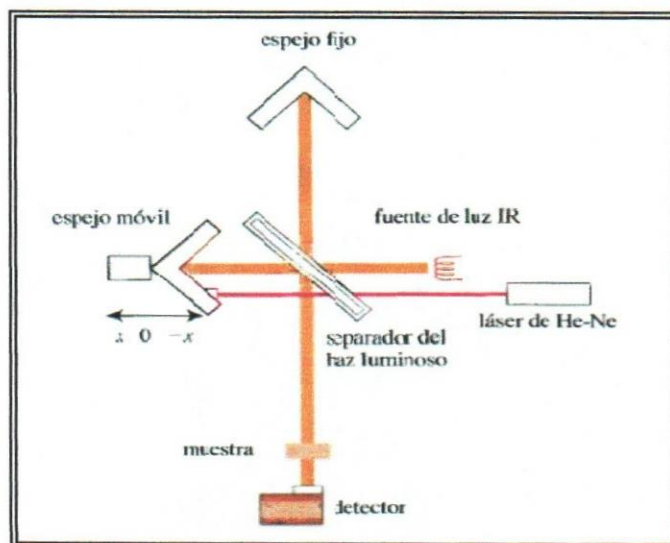


Figura 18. Diagrama de un espectrofotómetro de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR). Tomado de Wade 2004.

El espectro infrarrojo suministra información sobre los grupos funcionales presentes en un compuesto, los cuales permiten obtener información acerca de la estructura química, impurezas e interacción entre grupos sustituyentes, por lo cual que es de gran importancia en cuanto al análisis cualitativo y cuantitativo (Servicios de Instrumentación Tecnológica, 2007)

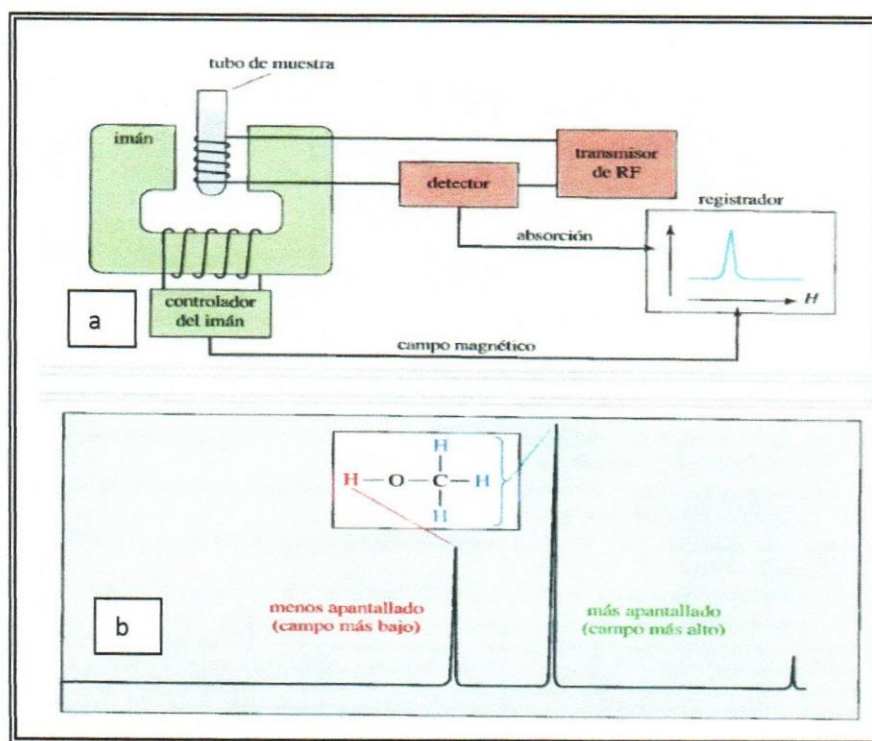
Según el Servicio de Instrumentación Tecnológica (2007) el espectro infrarrojo posee una gran selectividad, por lo tanto es útil para realizar análisis cuantitativo en una mezcla compleja y teniendo múltiples aplicaciones: análisis de polímeros, aditivos, estudios forenses, identificación de contaminantes ambientales, medicina, diversas áreas de la química (organometálicos, orgánica, inorgánica, agrícola, industrial, etc.) (Servicio de Instrumentación Tecnológica, 2007), Sin embargo no proporciona mucha información sobre el esqueleto de carbono o sobre los grupos ahuilos de un compuesto, estos aspectos se determinan con mayor facilidad realizando un espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) (Wade, 2004)

### **Resonancia Magnética Nuclear de protones (RMNH<sup>1</sup>)**

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear es una de las herramientas más valiosas que posee la química, ya que permite determinar la estructura de las moléculas orgánicas, el espectro RMN se utiliza generalmente en conjunto con otros tipos de espectroscopia y análisis químicos (Wade, 2004)

La espectroscopia de RMN fue desarrollada a finales de los años cuarenta para estudiar los núcleos atómicos. En 1951, los químicos descubrieron que la espectroscopia de resonancia magnética nuclear podía ser utilizada para determinar las estructuras de los componentes orgánicos. Esta técnica espectroscópica puede utilizarse sólo para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones. Esta situación se da en los átomos de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  y  $^{31}\text{P}$ . Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir, poseen espín, igual que los electrones, ya que los núcleos tienen carga positiva y poseen un movimiento de rotación sobre un eje que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes. En ausencia de campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar. Sin embargo cuando una muestra se coloca en un campo magnético los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín  $\alpha$ , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía denominado estado de espín  $\beta$  (Wade, 2004)





**Figura 19. Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear. a.)Diagrama de un espectrómetro de resonancia magnética nuclear; b) Espectro de RMN<sup>1</sup> del metanol. Tomado de Wade, 2004**

### Toxicidad de los Compuestos Orgánicos

La toxicidad aguda de una sustancia química se refiere a los efectos adversos que se manifiesta tras la administración oral o cutánea de una sola dosis de la sustancia, de dosis múltiples aplicadas en 24 horas, o como consecuencia de la inhalación durante 4 horas. (Publicación de la Naciones Unidas, 2005)

Según García (2001). La toxicidad aguda se suele medir en términos de la dosis que produce la muerte de un 50% de individuos de una determinada población (dosis letal media: DL<sub>50</sub>). La dosis se expresa por kg de peso vivo, para poder



comparar individuos de distintos tamaños. Mientras menos sea la  $DL_{50}$  mayor será la toxicidad. Convencionalmente:

- $DL_{50}$  menor a 1 mg/kg toxicidad extrema
- $DL_{50}$  entre 1 mg/kg y 59 mg/kg toxicidad alta
- $DL_{50}$  entre 59 mg/kg y 500 mg/kg toxicidad moderada
- $DL_{50}$  entre 500 mg/kg y 5000 mg/kg toxicidad ligera

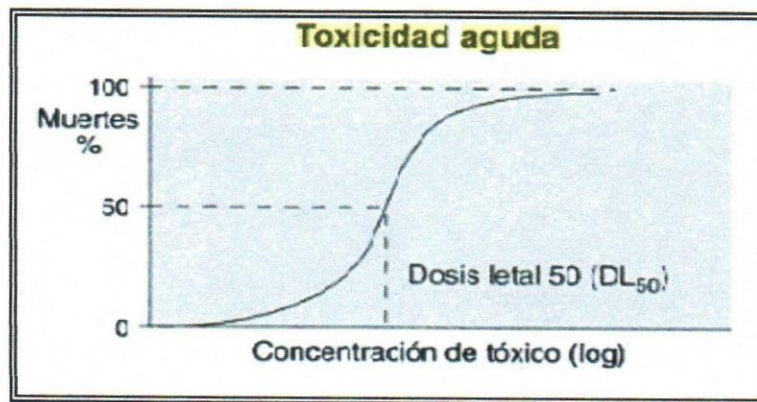


Figura 20. Toxicidad aguda. Tomada de García, 2001

La determinación de la toxicidad crónica de una sustancia es muy costosa y larga debido a que primero se debe determinar la máxima dosis sin efectos nocivos (de cualquier tipo) en al menos tres especies a lo largo de varias generaciones. Por esta razón este tipo de prueba se lleva a cabo solamente en sustancias los ensayos más sencillos (García, 2001)

### *Artemia Salina*

Unos de los grupos de crustáceos más populares para el estudio son las *Artemia*, también conocido como "monos de mar", las *Artemia* pertenecen al orden de crustáceo conocido como branquiópodos. Se caracterizan por estar dotados de

apéndices torácicos en forma de hoja, cada uno es portador de una branquia y carecen de caparazón rígido, contrariamente como sucede con la mayoría de los crustáceos. (Castelló, F 1993)

El género *Artemia* está compuesto por varias especies, de las cuales se han podido identificar al menos cinco especies bisexuales y varias poblaciones partenogenéticas, entre ellas *Artemia salina* Leach, *Artemia persimilis* Piccinelli y Prosdocimi, *Artemia franciscana* Kellogg (bisexuales) y *Artemia partenogenetica* Bowen y Sterling. (Pino; Lazo, 2010). Esto se debe a que se han realizado varios experimentos de cruzamiento entre ejemplares de cepas bisexuales de distinto origen geográfico. El primer hecho sorprendente es su exclusiva presencia en agua hipersalinas, en salinas solares marinas o litorales, en enormes lagos salados. Sin embargo sorprende más el hecho de que, teniendo su ancestro en formas de aguas dulce, han conseguido adaptarse a las condiciones tan extremas de estos ecosistemas. (Castelló, F 1993).

Las *Artemias* pueden crecer a temperaturas entre 6 y 35°C. Se alimentan de algas y bacterias y son fuente de alimentos para peces, pájaros y varios invertebrados. Las hembras producen huevos que, en condiciones externas favorables, eclosionan produciendo larvas de un tamaño aproximado de 1 mm. Los huevos también pueden formar quistes y permanecer en esta forma por un año o más. Las *Artemias* se convierten en adultos transcurridas 6 a 8 semanas, alcanzando un tamaño promedio de 7mm. (Pino et al, 2010).

Las *Artemias* son el único animal que se vende en estado criptobiótico, es decir, en forma de quiste, esto constituye la clave para su utilización en los ensayos biológicos, ya que las especies en estado criptobiótico son más adecuadas para el desarrollo de un bioensayo estándar. La disponibilidad de los huevos (quiste) ofrece una serie de ventajas tales como:

- No hay necesidad de mantener una colonia viva permanentemente.
- Las pruebas pueden realizarse donde sea y cuando sea necesario.
- Se dispone siempre de un número de individuos suficiente

Las *Artemias* pueden ser utilizadas para evaluar la actividad citotóxica de diversos fármacos, según Castillo; Guette; Baldiris; Jaramillo; Olivero (2007). La *Justicia secunda*, es una planta usada en medicina tradicional con diversos fines, tales como cálculos renales, trastornos glicémicos entre otros. Igualmente posee pigmentos rojizos y azules que son liberados en medios acuosos y alcohólicos, los cuales pueden ser usados con fines farmacéuticos. Hasta los momentos no sean realizados estudios toxicológicos, ni farmacéuticos amplios de esta planta, pero si se ha reportado actividad citotóxica frente a *Artemia Salina* del extracto acuoso (  $CL_{50}=37,93$   $\mu\text{g/mL}$ )



## **CAPÍTULO III METODOLOGÍA**

En este capítulo se presenta en primer lugar el diseño de la investigación seguido de la definición de variables, propuesta de la investigación y por último los procedimientos.

### **Diseño de la investigación**

Según el diseño de la investigación este trabajo es de tipo experimental debido a que se manipulan las variables que pueden afectar la síntesis. (Hernández, Fernández y Baptista, 2006). La calidad de los materiales de partida puede ser controlada antes del proceso de síntesis, para así obtener mejores resultados.

### **Definición de variables**

#### **Controladas**

- Calidad de los reactivos y solventes.
- Condiciones experimentales para la síntesis y de los ensayos biológicos (pH, temperatura, solventes, etc.)
- Concentraciones de diferentes derivados de los 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas sintetizadas utilizadas para la actividad biológica.

#### **Dependientes**

- Posible toxicidad de los diferentes derivados de los 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas sintetizadas.



### Independientes

- Estructura química de los diferentes derivados de los 2-metoxibencilhidrazonas sintetizadas.

### Síntesis de los derivados de 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas.

La síntesis comienza con la adición de un nucleófilo básico en el aldehído o cetona al grupo carbonilo. Seguido de la transferencia de un protón del nitrógeno al oxígeno.

### Propuesta de Investigación

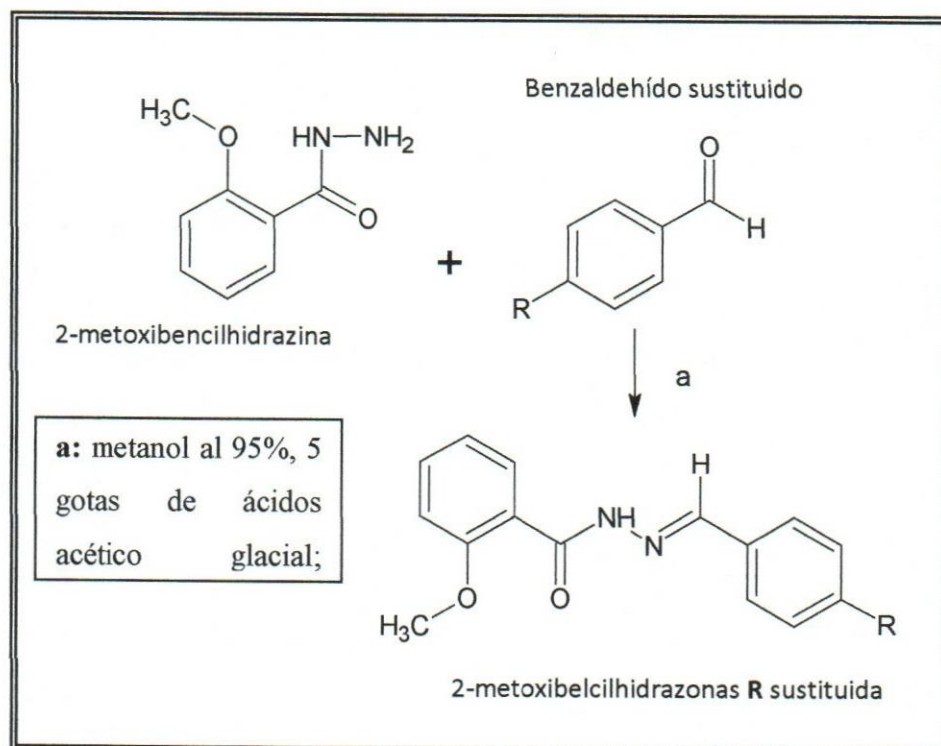


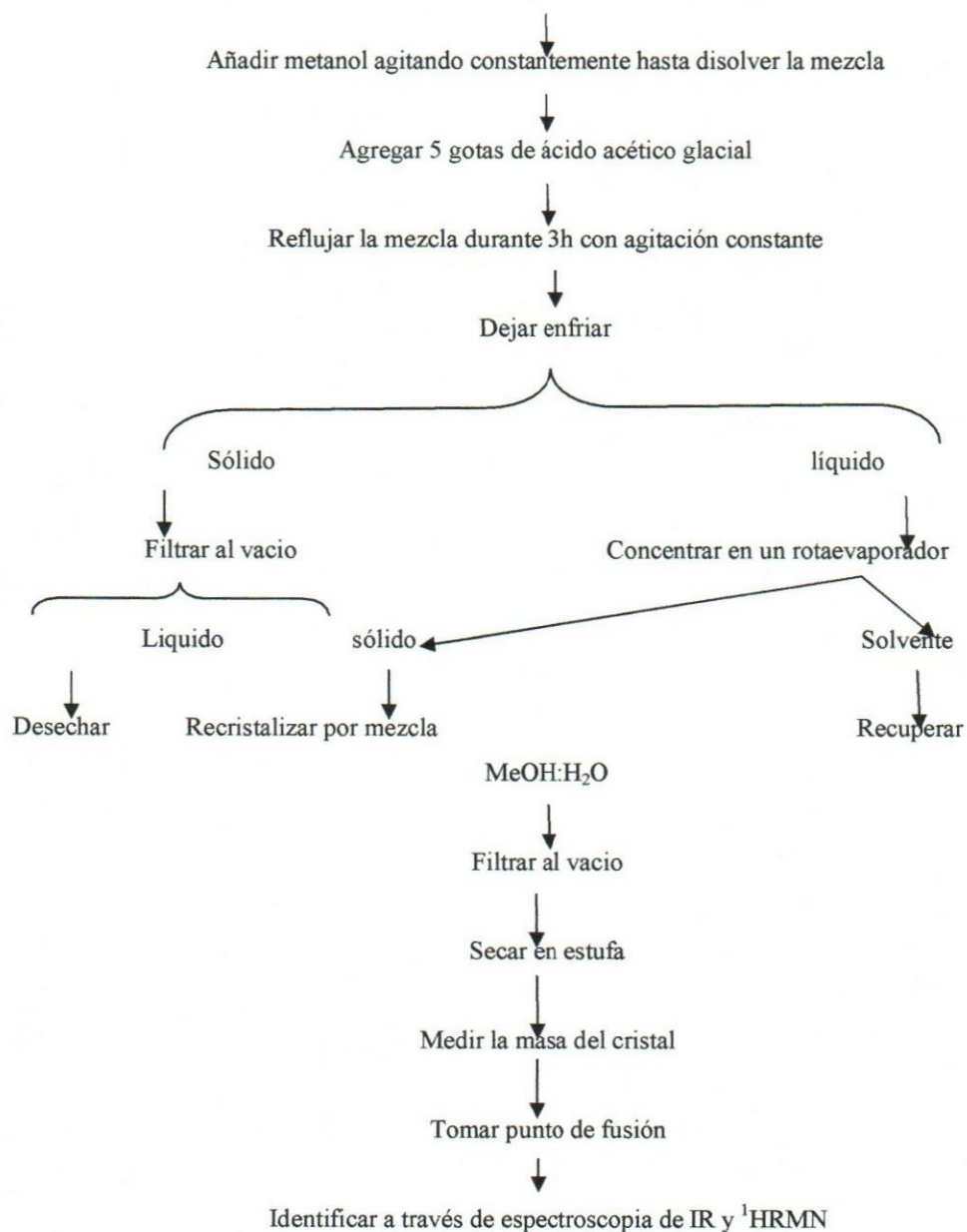
Figura 21. Esquema general de síntesis de 2-metoxibencilhidrazona sustituida. (R= 4-DMA, 2,4-DCI, 2,4-DOMe, Phe, 2,4-DF, 4-F, 3, 4,5-TOMe, Me).

**Procedimiento General para la Síntesis de Derivados 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas.**

En un balón de 50 mL provisto de agitador magnético se mezclaron 1,3 mmol del benzaldehído (R) sustituido, 1mmol de 2-metoxibenzahidracina y 15 mL de metanol al 95%, una vez disuelta se adicionó 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se reflujo por 3 horas. Finalmente la reacción, el sólido se filtró por succión y se recristalizó con 20 mL de una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fusión y sus espectro de FT-IR y HRMN<sup>1</sup>.

### Procedimiento para la síntesis de derivados 2-metoxibencilhidrazonas

Agregar en un balón de 50mL, provisto de un agitador magnético, 1,3 mmol del benzaldehído (R) sustituido y 1 mmol de 2-metoxibencilhidracina



**Grafico1. Marcha para la síntesis de derivados 2-metoxibencilhidrazonas.** Tomado y ajustado de Muñoz (2006)

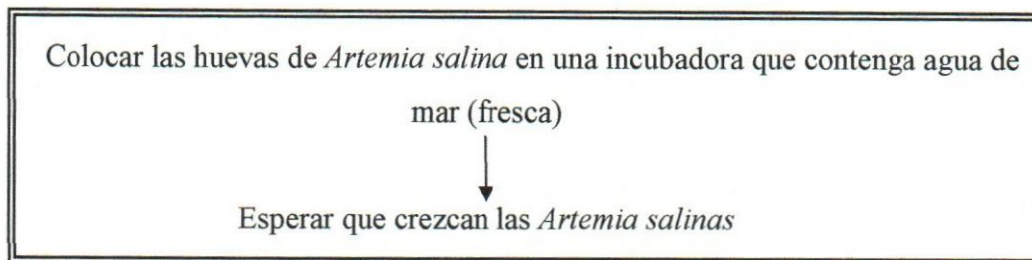
## EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS NUEVOS DERIVADOS DE 2 METOXIBENCILHIDRAZONAS

La evaluación de la actividad biológica se realizó a través de un ensayo sencillo y confiable, que es la prueba de toxicidad sobre el crustáceo *Artemia salina*. Este crustáceo posee una piel muy permeable, lo que permite el intercambio de sustancias desde el medio en cual se encuentre a su interior y viceversa, lo que facilita su utilización en estas pruebas. Para esto se sigue el protocolo desarrollado, por McLaughlin, J., Colman-Saizarbitoria, T y Anderson, J. E en 1995, titulado Ensayo de toxicidad sobre *Artemia salina*.

Para la realización del ensayo con la *Artemia salina* se realizará la incubación siguiendo el procedimiento indicado, para esto, se colocaran las huevas de *Artemia salina* en una incubadora con agua de mar y se esperará 48 horas para que eclosionen los quistes. (Ver figura 22).



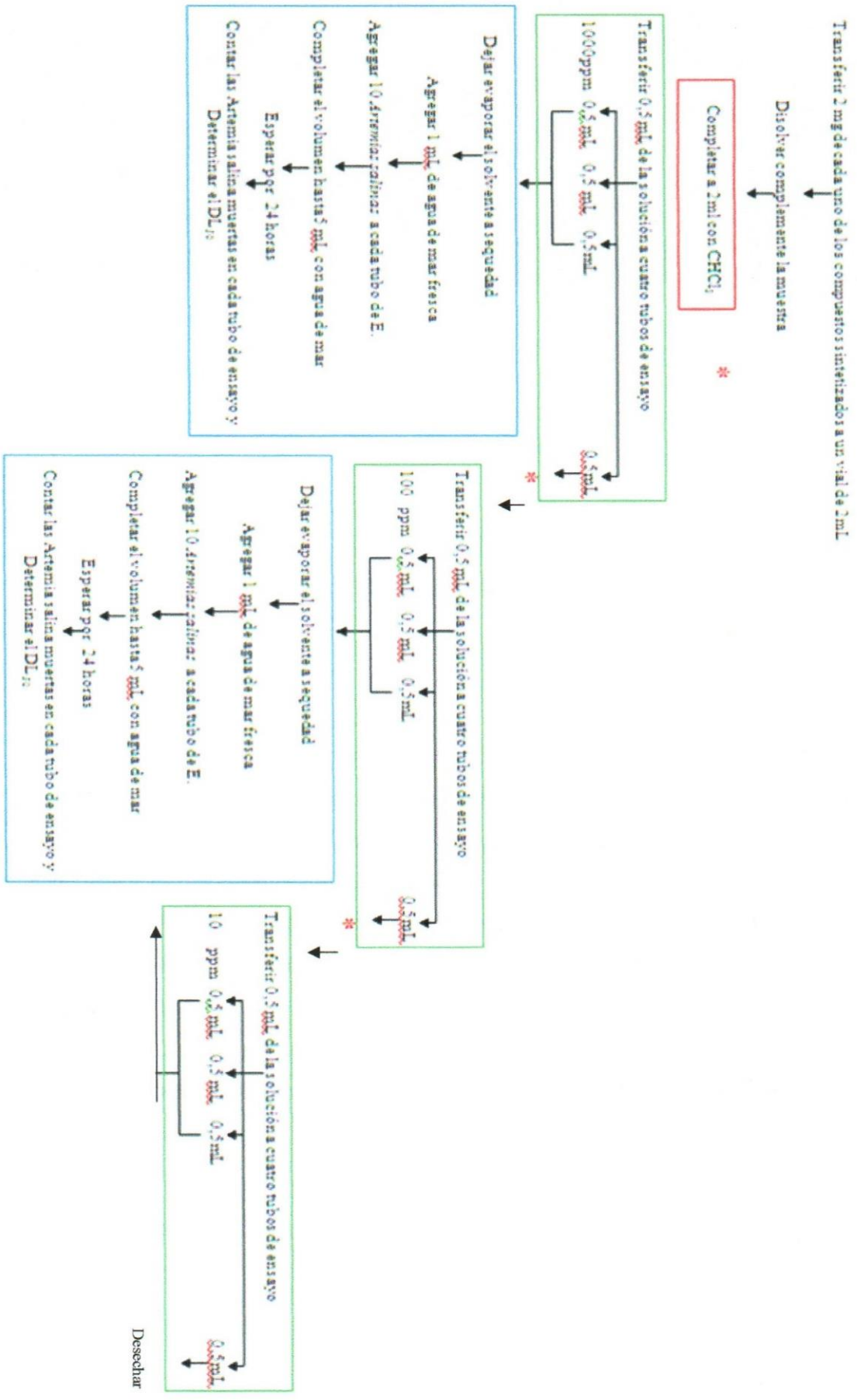
### INCUBACIÓN DE LA ARTEMIA SALINA



**Figura 22. Procedimiento para la incubación de la *Artemia salina*.** Tomado y ajustado de McLaughlin, J., Colman-Saizarbitoria, T y Anderson, J. E. (1995)

Se realizará el ensayo de toxicidad siguiendo el protocolo establecido en el gráfico 3, para esto se prepararon solución de concentración 10, 100 y 1000 ppm de los nuevos derivados de 2- metoxibencilhidrazonas transfiriendo 2 mg a un vial de 2 mL, se completará con  $\text{CHCl}_3$  y se disolverá la muestra completamente, se trasfiere 0,5 mL de la solución a cuatro tubos de ensayo identificados previamente limpios y secos ( 1 de estos es utilizados para preparar la disolución a 100 ppm) a tres de los tubos de ensayo se les dejo evaporar completamente el solvente a sequedad, se agregó 1 mL de agua de mar y 10 *Artemia salinas* en cada tubo utilizando un gotero de punta alargada, el volumen será completado a 5mL con agua de mar, se esperará 24 horas y se contará las *Artemia salina* muertas en cada tubo de ensayo. Con el cuarto tubo de ensayo se realizará el mismo procedimiento completando a 2 mL la disolución para la concentración final de 100 ppm y por último con el cuarto tubo de ensayo de la segunda dilución se realizará este procedimiento para obtener la concentración de 10 ppm; por último los resultados obtenidos de la mortalidad en cada una de las diluciones realizadas se utilizará para determinar la  $\text{DL}_{50}$ .

### Ensayo de Toxicidad



**Gráfico 2** Ensayo de toxicidad sobre *Artemia salina*. Tomado y ajustado de McLaughlin, J., Colman-Saizartitoria, T y Anderson, J. E. (1995)

## CAPÍTULO IV

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Consideraciones Generales

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato electrothermal y no fueron corregidos. Los espectros de infrarrojo fueron tomados en un espectrofotómetro IR Perkin Elmer Espectro RX con Transformada en Fourier, la absorbancia es reportada en  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protones (RMN  $^1\text{H}$ ) fueron tomados en un espectrómetro JEOL ECLIPSE 270 (270 MHz). Se utilizó  $\text{CDCl}_3$  como solvente. El desplazamiento químico ( $\delta$ ) está reportado en ppm, empleando como patrón interno de  $\text{CHCl}_3$ . Las cromatografías en capa fina (Thin Layer Chromatography TLC) se realizaron en placas de POLYGRAM<sup>®</sup> de sílica gel con indicador fluorescente  $\text{UV}_{254}$ . Los solventes utilizados en la síntesis fueron previamente purificados.

## Materiales y Equipos

### Equipos

- Espectrómetro IR, Perkin Elmer. Modelo: espectro RX (FT)
- Espectrómetro Joel. Modelo: Eclipse 270 (270 MHz)
- Fusiómetro electrothermal, Melting Point Apparatus. Modelo: 3306DDMETPT
- Lámpara de luz ultravioleta. Modelo: 6286T16,T25
- Placas de TLC POLYGRAM<sup>®</sup>
- Rotavaporador Buchi. Modelo R's

### Solventes

- Etanol
- Metanol
- Cloroformo (deuterado)
- Ácido Acético Glacial
- Dimetilsulfoxido ,DMSO ( deuterado)

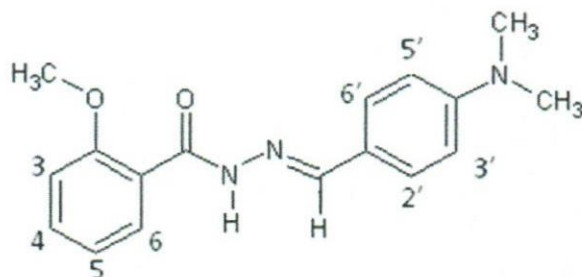
### Material de vidrio

- Vidrio de Reloj
- Vaso Precipitado
- Balón
- Tubo de Ensayo
- Matraz Erlenmeyer
- Tubo Refrigerante
- Termómetro



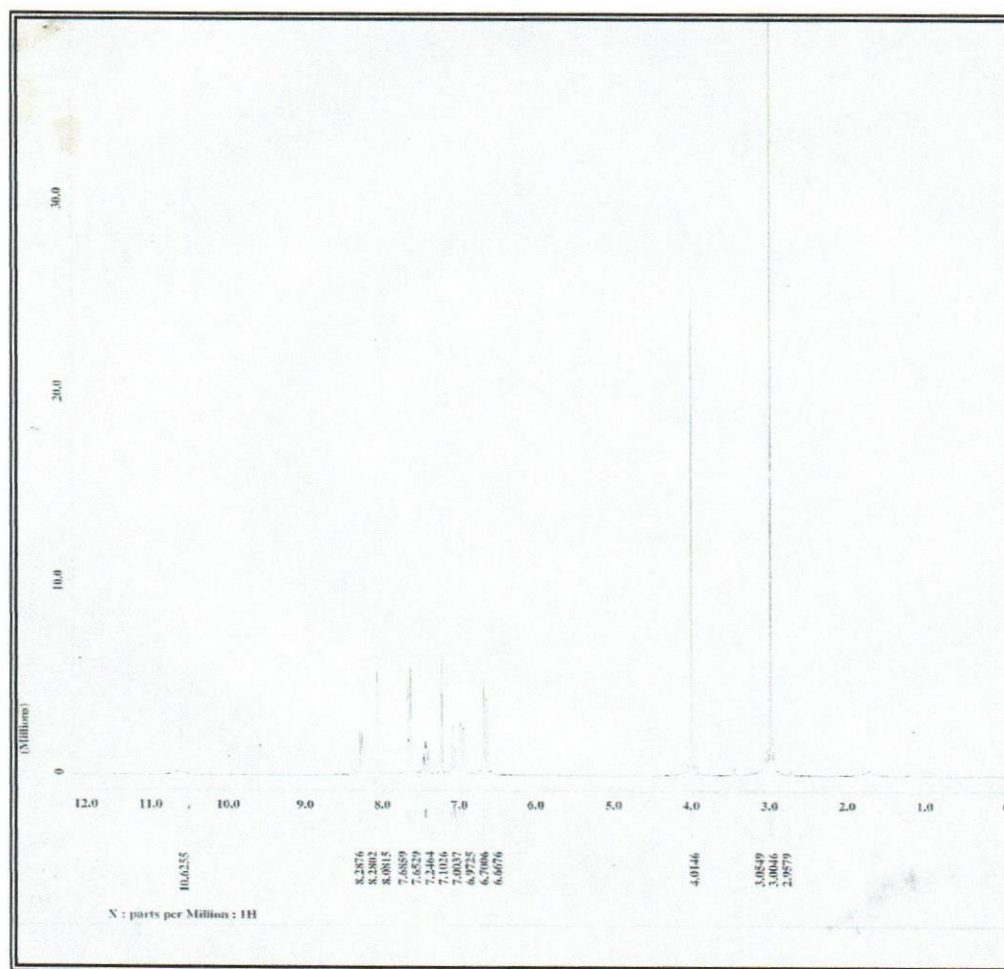
## Parte experimental sección química

### 1. Síntesis de 4'-(N,N-dimetilamino)-2-metoxibencilhidrazona



#### Procedimiento:

En un balón de 50 ml provisto de agitador magnético se mezclaron 149,1 mg del 4-dimetilaminobenzaldehído, 166,9 mg de 2-metoxibenzahidracina y 15 ml de metanol, una vez disuelta se adiciono 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se reflujo por 3 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se filtró por succión, el sólido obtenido se recristalizo en una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fisión, propiedades espectroscópicas (IR y RMN<sup>1</sup>H).



**Figura 23.** Espectro de RMN<sup>1</sup>H para el compuesto 4'(N,N-dimetilamino)-2-metoxibencilhidrazona

Se obtuvo un % de Rendimiento (%R) = 66,05%

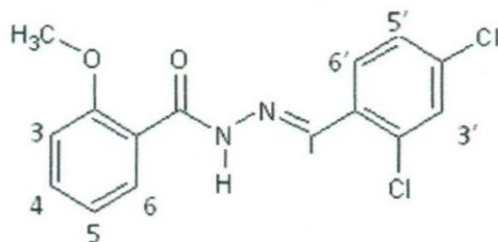
Punto de Fusión = 186-188°C.

IR KBr (cm<sup>-1</sup>) = 3260 (NH); 1702 (O=C-N); 1636 (C=N); 1059 (O-CH<sub>3</sub>); 1181 (C-N).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) 10,626 ppm s 1H<sub>(NH)</sub>; 8,288 dd 1H<sub>(H6)</sub>;  $J_1 = 7,67$  Hz y  $J_2 = 1,75$  Hz; 8,082 ppm s 1H<sub>(CHN)</sub>; 7,678 ppm d 2H<sub>(H2' y H6')</sub>  $J_{(H2',H3' y H6',H5')} = 8,91$  Hz; 7,458 ppm td 1H<sub>(H5)</sub>;  $J_{(H5,H4,H6)} = 7,67$  Hz y  $J_{(H5,H3)} = 1,73$  Hz; 7,103 ppm td 1H<sub>(H4)</sub>  $J_{(H3,H4,H5)} = 7,68$  Hz y  $J_{(H4,H6)} = 0,75$  Hz; 7,004 ppm d 1H<sub>(H3)</sub>  $J_{(H3,H4)} = 8,42$  Hz; 6,701 ppm d 2H<sub>(H3' y H5')</sub>  $J_{(H5',H6' y H3',H2')} = 8,91$  Hz; 4,0146 ppm s 3H(OMe); 3,0046 ppm s 6H(NMe<sub>2</sub>).

En el espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto 1 se observaron las señales características del mismo, en 3,0046 ppm un singlete que integra 6 protones asignados al grupo NMe<sub>2</sub>; en 4,0146 ppm un singlete que integra 3 protones asignados al grupo OMe; en 6,701 ppm un doblete con una J=8,01 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub> y H<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>). A 7,004 ppm un doblete con una J=8,42 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>); en 7,103 un triplete con una J= 7,68 Hz asignados a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) y otra J=0,75 Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub>, H<sub>6</sub>); en 7,458 un triplete con una J= 7,67 Hz correspondiente a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>) y otra J = 1,73 asignados a los protones (H<sub>5</sub> y H<sub>3</sub>), en la señal 7,678 ppm un doblete con una J=8,91 Hz asignado al protón (H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub> y H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>). En 8,082 ppm presenta un singlete asignada a un protón correspondiente al grupo (CHN); en 8,288 ppm un doblete de doblete con una J=7,67 Hz asignado al protón (H<sub>6</sub>). Por último la señal 10,626 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).

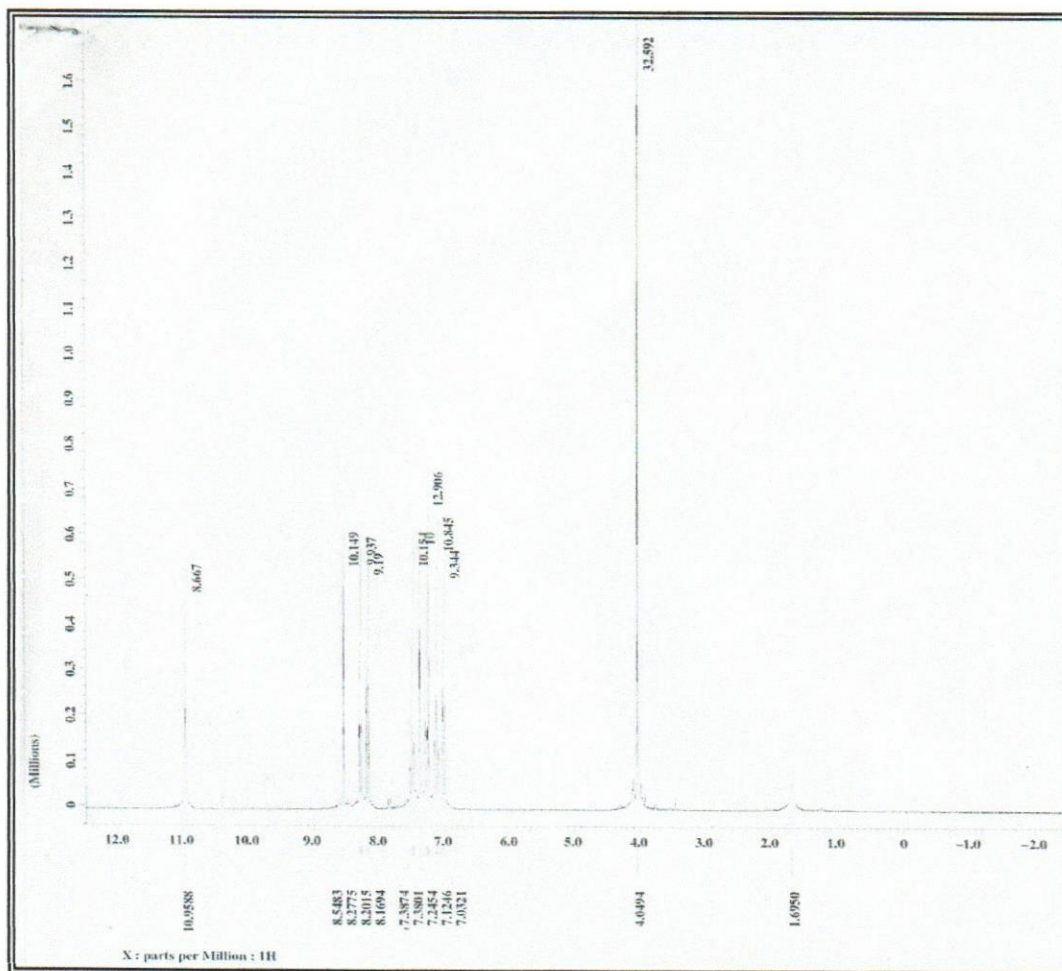
## 2. Síntesis de 2',4'-dicloro-2-metoxibencilhidrazona



### Procedimiento:

En un balón de 50 ml provisto de agitador magnético se mezclaron 228,8 mg del 2,4 diclorobenzaldehído con 167,2 mg de 2-metoxibenzahidracina y 15 ml de metanol, una vez disuelta se adiciono 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se reflujo por 3 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se filtró por succión, el sólido obtenido se recristalizo en una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fisión, propiedades espectroscópicas (IR y RMN<sup>1</sup>H).





**Figura 24.** Espectro de  $\text{RMNH}^1$  para el compuesto 2',4'-dicloro-2-metoxibencilhidrazona.

**Se obtuvo un Rendimiento (%R)=64,98%**

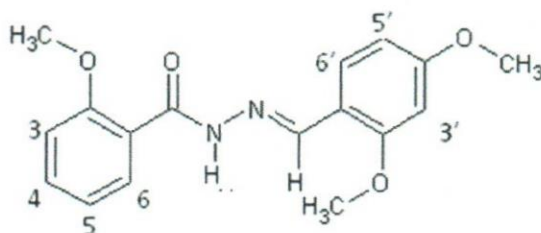
**Punto de Fusión=168°C**

**IR KBr ( $\text{cm}^{-1}$ )=3100 (NH); 1702 (CONH); 1676 (C=N); 790 (Cl).**

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** 10,9588 ppm s  $1\text{H}_{(\text{NH})}$ ; 8,5483 ppm s  $1\text{H}_{(\text{CHN})}$ ; 8,3123 ppm dd  $1\text{H}_{(\text{H}_3)}$   $J_{(\text{H}_3,\text{H}_4)}=7,668$  Hz y  $J_{(\text{H}_3,\text{H}_5)}=1,73$  Hz; 8,2015 ppm d  $1\text{H}_{(\text{H}_6)}$   $J_{(\text{H}_6,\text{H}_5)}=8,66$  Hz; 7,5376 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_5)}$   $J_{(\text{H}_5,\text{H}_4,\text{H}_6)}=8,65$  Hz y  $J_{(\text{H}_5,\text{H}_3)}=1,73$  Hz; 7,3874 ppm d  $1\text{H}_{(\text{H}_3')}$   $J_{(\text{H}_3',\text{H}_5')}=1,971$  Hz; 7,2967 ppm dd  $1\text{H}_{(\text{H}_5')}$   $J_{(\text{H}_5',\text{H}_6')}=8,64$  Hz y  $J_{(\text{H}_5',\text{H}_3')}=1,73$  Hz ; 7,1520 ppm t  $1\text{H}_{(\text{H}_4)}$   $J_{(\text{H}_4,\text{H}_3,\text{H}_5)}=7,66$  Hz; 7,0321 ppm d  $1\text{H}_{(\text{H}_6')}$   $J_{(\text{H}_6',\text{H}_5')}=8,424$  Hz; 4,0494 ppm s  $3\text{H}_{(\text{OCH}_3)}$ .

En la espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto **2** se presentaron las siguientes señales de RMNH<sup>1</sup>, a 4,0494 ppm un singlete que integra tres protones asignado al grupo OCH<sub>3</sub>; en 7,0321 ppm un doblete con una J=8,424 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>,H<sub>6</sub>).A 7,1520 ppm un triplete con una J=7,66 Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>); en 7,2967 un doblete de doblete con una J= 8,64 Hz correspondiente a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>), en la señal 7,1520 ppm un triplete con una J=7,911 Hz asignado al protón (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J=1,73 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub> y H<sub>3</sub>). En 7,3874 ppm presenta un doblete con una J=1, 971 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>); en 7,5376 ppm un triplete con una J=8,65 Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub>,H<sub>5</sub>,H<sub>6</sub>) y otra J=1,73 asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>); en la señal 8,2015 un doblete con una de J= 8,66 Hz asignado a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>); en la señal 8,3123 ppm presenta un doblete de doblete con una J= 7,668 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>,H<sub>4</sub>) y otra J= 1,73 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>,H<sub>3</sub>).En la señal 8,5483 ppm representa un singlete asignado a un protón correspondiente al grupo (CNH). Por último la señal 10,9588 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).

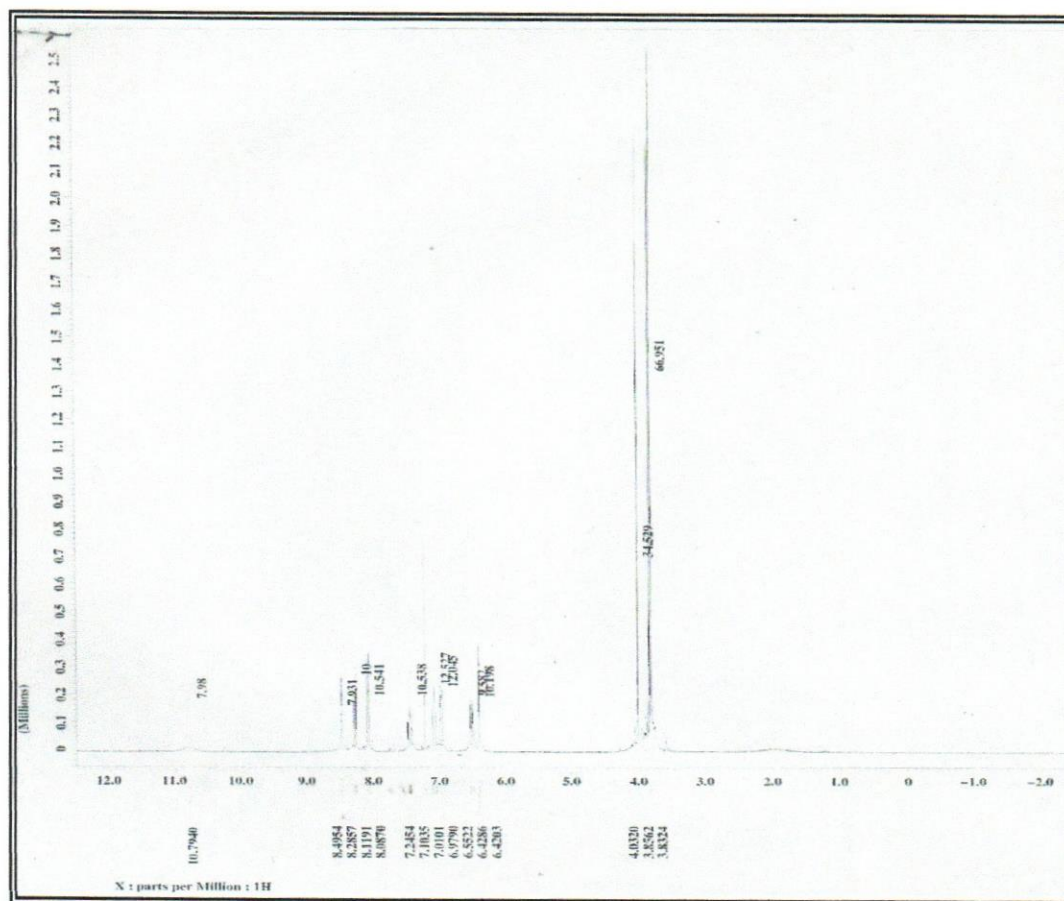
### 3. Síntesis de 2',4'-dimetoxi-2-metoxibencilhidrazona



#### Procedimiento:

En un balón de 50 ml provisto de agitador magnético se mezclaron 217,3 mg del 2,4 dimetoxibenzaldehído con 168,6 mg de 2-metoxibenzahidracina y 15 ml de metanol, una vez disuelta se adiciono 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se reflujo por 3 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se filtró por succión, el sólido obtenido se recrystalizo en una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fisión, propiedades espectroscópicas (IR y RMN<sup>1</sup>H).





**Figura 25.** Espectro de  $\text{RMNH}^1$  para el compuesto 2',4'-dimetoxi-2-metoxibencilhidrazona.

Se obtuvo un rendimiento %R=22,6%

Punto de Fusión= (173-175°C)

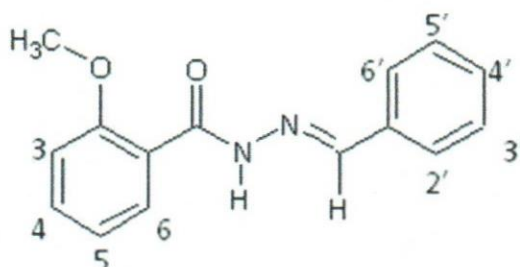
IR KBr ( $\text{cm}^{-1}$ )=3207 (NH); 1700 (CONH); 1653 (C=N); 1100 (OMe).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 10,7940 ppm s 1H<sub>(NH)</sub>; 8,4954 ppm s 1H<sub>(CHN)</sub>; 8,3150 ppm dd 1H<sub>(H3)</sub>  $J_{(H3,H4)}$ =7,91 Hz y  $J_{(H3,H5)}$ = 1,97 hz; 8,1191 ppm d 1H<sub>(H6')</sub>  $J_{(H6',H5')}$ =8,66 Hz; 7,4753 ppm td 1H<sub>(H5)</sub>  $J_{(H6,H5,H4)}$ =6,424 Hz y  $J_{(H5,H3)}$ =0,99 Hz; 7,1337 ppm td 1H<sub>(H4)</sub>  $J_{(H3,H4,H5)}$ =8,15 Hz y  $J_{(H4,H6)}$ =0,97 Hz; 7,0742 ppm d 1H<sub>(H6)</sub>  $J_{(H6,H5)}$ =8,34 Hz; 6,5604 ppm dd 1H<sub>(H5')</sub>  $J_{(H6',H5')}$ =8,64 Hz y  $J_{(H5',H3')}$ =2,214 Hz; 6,4286 ppm d 1H<sub>(H3')</sub>  $J_{(H3',H5')}$ =2,24 Hz; 4,0320 ppm s 3H<sub>(OMe 2)</sub>; 3,8562 s 3H<sub>(OCH3 2')</sub>; 3,8324 s 3H<sub>(OMe 4')</sub>.



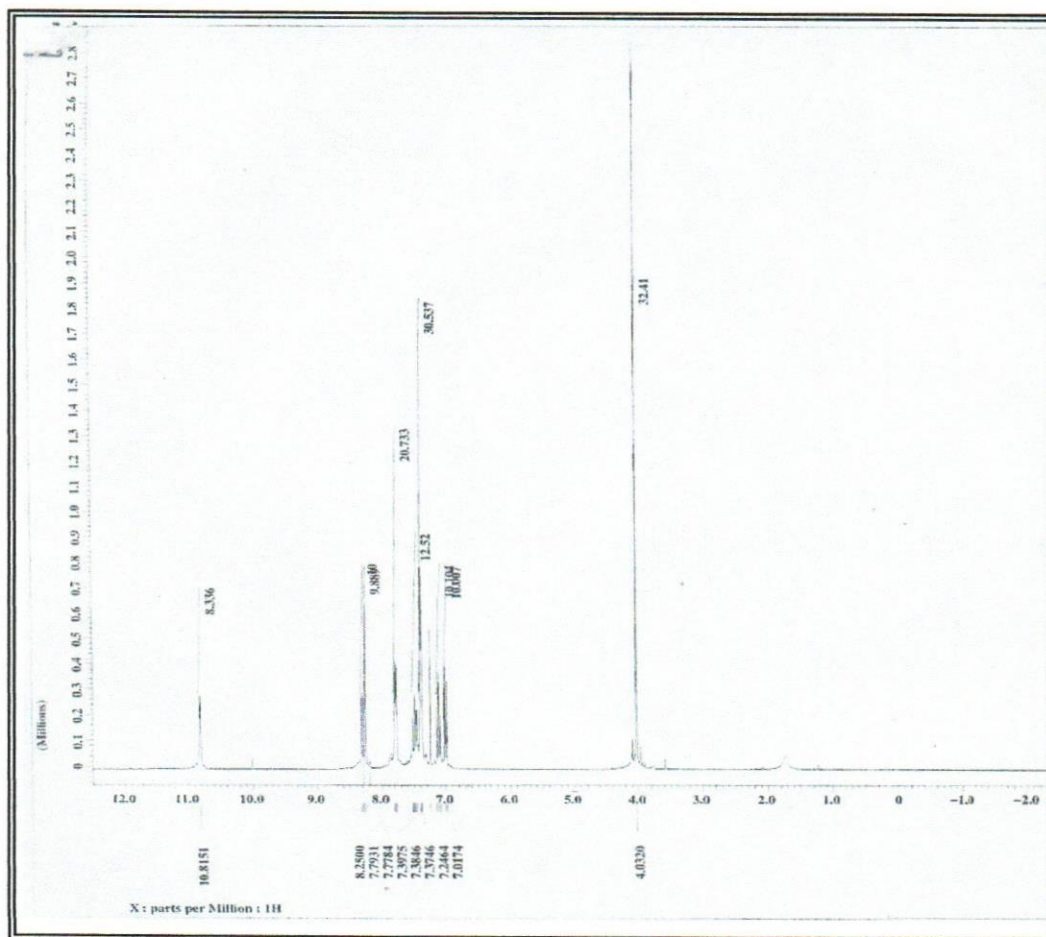
En el espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto 3 se observaron las señales características del mismo, en 3,8324 ppm un singlete que integra 3 protones asignados al grupo (OMe<sub>4</sub>); en 3,8562 ppm un singlete que integra 3 protones asignados al grupo (OCH<sub>3</sub> 2); en 4,0320 ppm un singlete que integra 3 protones asignados al grupo (OMe<sub>2</sub>); en 6,4286 ppm un doblete con una  $J=2,24$  Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>). A 6,5604 ppm un doblete de doblete con una  $J=8,64$  Hz asignado a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>) y otra  $J=2,214$  Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>); en 7,0742 ppm un doblete con una  $J= 8,34$  Hz asignados a los protones (H<sub>6</sub>,H<sub>5</sub>); en 7,1337 ppm un triplete con una  $J= 8,15$  Hz correspondiente a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) y otra  $J = 0,97$  asignados a los protones (H<sub>4</sub> y H<sub>6</sub>), en la señal 7,4753 ppm otro triplete con una  $J=6,424$  Hz asignado al protón (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>) y otra  $J= 0,99$  Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>,H<sub>3</sub>). En 8,1191 ppm presenta un doblete con un  $J=8,66$  Hz asignado a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>); en 8,3150 ppm un doblete de doblete con una  $J= 7,91$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>,H<sub>4</sub>) y otra  $J= 1,97$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>,H<sub>5</sub>); en la señal 8,4954 ppm singlete asignada a un protón correspondiente al grupo (CHN).Por último la señal 10,7940 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).

#### 4. Síntesis de (*E*)-*N*-(benzil)-2-metoxibenzoilhidrazona



#### Procedimiento:

En un balón de 50 ml provisto de agitador magnético se mezclaron 151,8 mg del benzaldehído con 183,4 mg de 2-metoxibenzahidracina y 15 ml de metanol, una vez disuelta se adiciono 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se refluxo por 3 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se filtró por succión, el sólido obtenido se recristalizo en una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fisión, propiedades espectroscópicas (IR y RMN<sup>1</sup>H).



**Figura 26.** Espectro de  $\text{RMNH}^1$  para el compuesto *(E)*-*N*-(benzil)-2-metoxibenzoilhidrazona.

Se obtuvo un % de Rendimiento (%R) = 89, 47%

Punto de Fusión = 175°C

IR KBr ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3261,9(NH); 1647,7(C=N); 1702,0(CONH)

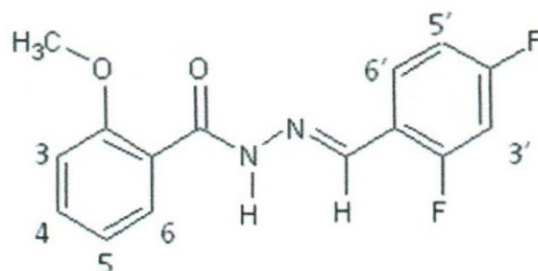
RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 10,815 ppm s 1  $\text{H}_{(\text{NH})}$ ; 8,3141 ppm dd 1 $\text{H}_{(\text{H}_3)}$   $J_{(\text{H}_3,\text{H}_4)} = 7,66$  Hz y  $J_{(\text{H}_3,\text{H}_5)} = 1,73$  Hz; 8,2500 ppm s 1 $\text{H}_{(\text{CNH})}$ ; 7,8059 ppm m 2 $\text{H}_{(\text{H}_2',\text{H}_6')}$   $J_{(\text{H}_2',\text{H}_3' \text{ y } \text{H}_6',\text{H}_5')} = 7,425$  Hz y  $J_{(\text{H}_6',\text{H}_4' \text{ y } \text{H}_2',\text{H}_4')} = 2,214$  Hz; 7,5174 ppm td 1 $\text{H}_{(\text{H}_5)}$ ;  $J_{(\text{H}_4,\text{H}_5,\text{H}_6)} = 8,34$  Hz y  $J_{(\text{H}_5,\text{H}_3)} = 1,971$  Hz; 7,3975 ppm m 3 $\text{H}_{(\text{H}_3',\text{H}_4',\text{H}_5')}$ ; 7,1127 ppm td 1 $\text{H}_{(\text{H}_4)}$ ;  $J_{(\text{H}_3,\text{H}_4,\text{H}_5)} = 7,641$  Hz; 7,0174 ppm d 1 $\text{H}_{(\text{H}_6)}$   $J_{(\text{H}_6,\text{H}_5)} = 8,154$  Hz; 4,0320 ppm s 3H ( $\text{OCH}_3$ ).



En el espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto **4** se observaron las señales características del mismo, en 4,0320 ppm un singlete que integra 3 protones asignados al grupo (OCH<sub>3</sub>); en 7,0174 ppm un doblete con una  $J=8.154$  Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>). A 7,1127 ppm un triplete con una  $J=7,641$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>); en 7,0742 ppm un doblete con una  $J= 8,34$  Hz asignados a los protones (H<sub>6</sub>,H<sub>5</sub>); en 7,3975 ppm un multiplete asignado a tres protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>), en la señal 7,5174 ppm un triplete con una  $J=8,34$  Hz asignado a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>) y otra  $J= 1,971$  Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>,H<sub>3</sub>). En 7,8059 ppm presenta un multiplete con un  $J=7,425$  Hz asignado a los protones (H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub> y H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>) y otra  $J=1,971$  asignado a loa protones (H<sub>5</sub> y H<sub>3</sub>); en 8,2500 ppm un singlete asignada a un protón correspondiente al grupo (CHN); en 8,3141 ppm un doblete de doblete con una  $J= 7,66$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub> y H<sub>4</sub>) y otra  $J= 1,73$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub> y H<sub>5</sub>). Por último la señal 10,815 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).

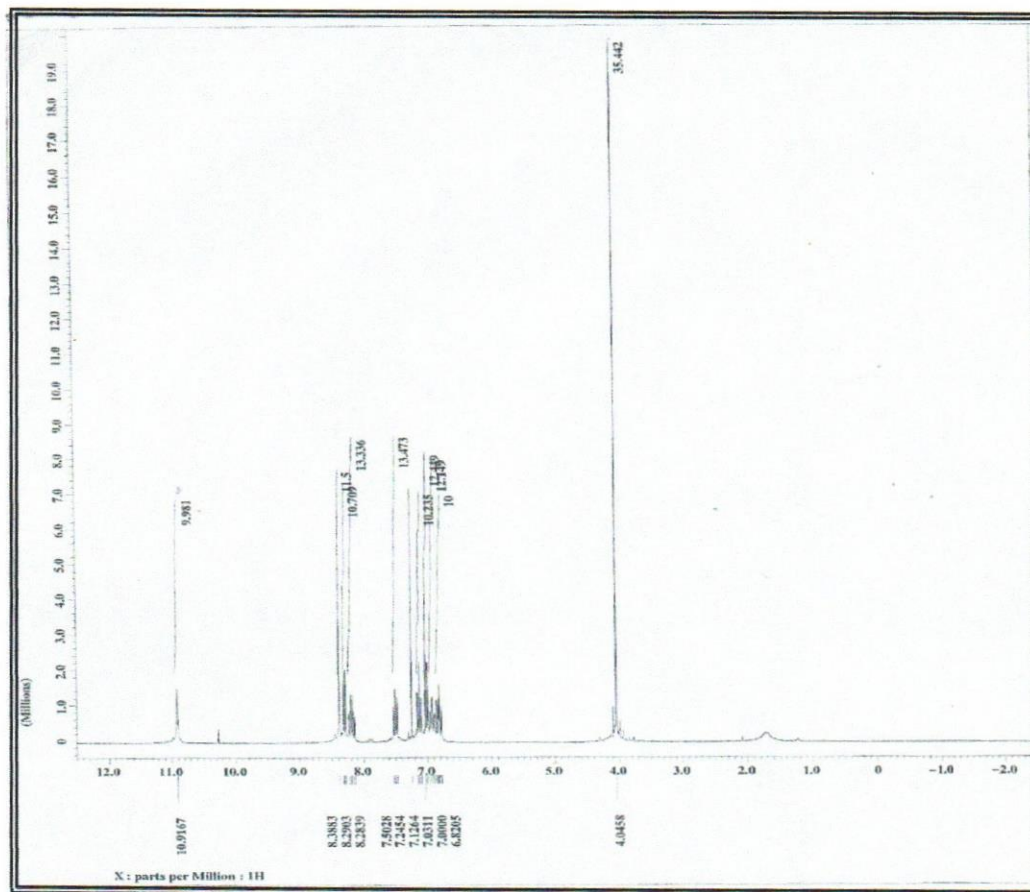


### 5. Síntesis de 2',4'-difluoro-2-metoxibencilhidrazona



#### Procedimiento:

En un balón de 50 ml provisto de agitador magnético se mezclaron 184,73 mg del 2,4 difluorbenzaldehído con 172,27 mg de 2-metoxibenzahidracina y 15 ml de metanol, una vez disuelta se adiciono 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se reflujo por 3 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se filtró por succión, el sólido obtenido se recristalizo en una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fisión, propiedades espectroscópicas (IR y RMN<sup>1</sup>H).



**Figura 27.** Espectro de  $\text{RMNH}^1$  para el compuesto 2',4'-difluoro-2-metoxibencilhidrazona.

**Se obtuvo un % de Rendimiento (%R) = 96,46%**

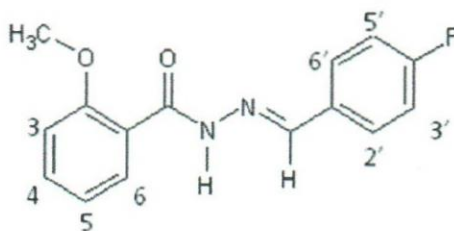
**Punto de Fusión = 69°C**

**IR KBr ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3180 (NH); 1702 (CONH); 1640 (C=N); 820 (F).**

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )** 10,9167 ppm s  $1\text{H}_{(\text{NH})}$ ; 8,3883 ppm  $1\text{H}_{(\text{CNH})}$ ; 8,3123 ppm dd  $1\text{H}_{(\text{H}_3)}$   $J_{(\text{H}_3, \text{H}_4)} = 7,911$  Hz y  $J_{(\text{H}_3, \text{H}_5)} = 1,97$  Hz; 8,2079 ppm cd  $1\text{H}_{(\text{H}_3')}$   $J_{(\text{H}_3', \text{H}_5')} = 8,64$  y  $J_2 = 1,99$  Hz; 7,5064 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_5)}$   $J_{(\text{H}_4, \text{H}_5, \text{H}_6)} = 8,91$  Hz y  $J_{(\text{H}_5, \text{H}_3)} = 1,728$  Hz; 7,1520 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_4)}$   $J_{(\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5)} = 7,911$  Hz y  $J_{(\text{H}_4, \text{H}_6)} = 0,99$  Hz; 7,000 ppm d  $1\text{H}_{(\text{H}_6)}$   $J_{(\text{H}_6, \text{H}_5)} = 8,397$  Hz; 6,9542 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_5')}$   $J_{(\text{H}_6', \text{H}_5')} = 8,154$  Hz y  $J_{(\text{H}_5', \text{H}_3')} = 2,457$  Hz; 6,8517 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_6')}$   $J_{(\text{H}_5', \text{H}_6')} = 8,64$  Hz y  $J_2 = 2,457$  Hz; 4,0458 ppm s  $3\text{H}(\text{OCH}_3)$ .

En la espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto **5** (figura 18) se presentaron las siguientes señales de RMNH<sup>1</sup>, a 4,0458 ppm un singlete que integra tres protones asignado al grupo OCH<sub>3</sub>; en 6,8517 ppm un triplete con una J=8,64 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J= 2,457 Hz .A 6,9542 ppm un triplete con una J=8,154 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J=2,457 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>); en 7,000 un doblete con una J= 8,397 Hz correspondiente a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>), en la señal 7,1520 ppm un triplete con una J=7,911 Hz asignado al protón (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) y otra J=0,99 Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub> y H<sub>6</sub>). En 7,5064 ppm presenta otro triplete con una J=8,91 Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J= 1,728 Hz correspondiente a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>); en 8,2079 ppm un multiplete con una J=8,64 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>), en la señal 8,3123UN doblete de doblete con una de J<sub>1</sub>= 7,911 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) y J= 1,97 Hz correspondiente a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>), en la señal 8,3883 ppm representa un singlete asignado a un protón correspondiente al grupo (CNH). Por último la señal 10,9167 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).

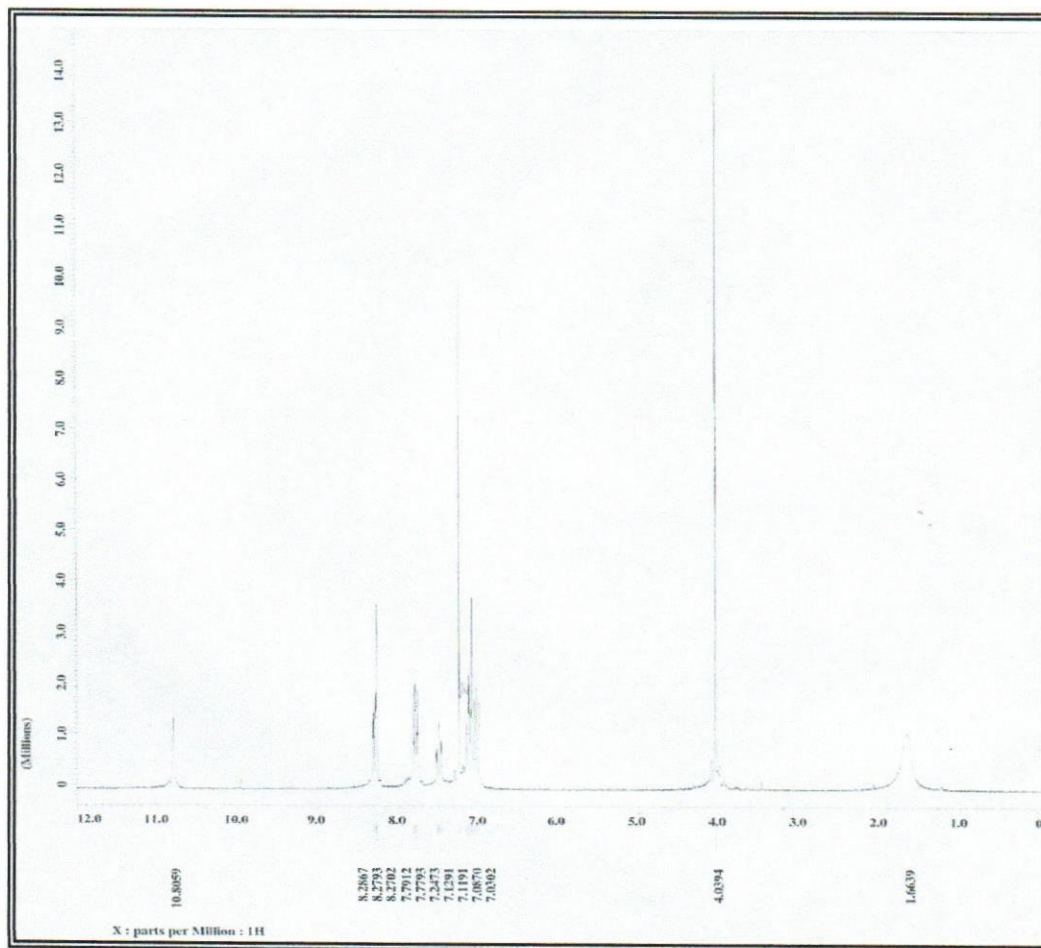
## 6. Síntesis de 4'-fluoro-2-metoxibencilhidrazona



### Procedimiento:

En un balón de 50 ml provisto de agitador magnético se mezclaron 187,8 mg del p-fluorbenzaldehído con 177,9 mg de 2-metoxibenzahidracina y 15 ml de metanol, una vez disuelta se adiciono 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se reflujo por 3 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se filtró por succión, el sólido obtenido se recristalizo en una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fisión, propiedades espectroscópicas (IR y RMN<sup>1</sup>H).





**Figura 28.** Espectro de  $\text{RMNH}^1$  para el compuesto 4'-fluoro-2-metoxibencilhidrazona.

Se obtuvo un % de Rendimiento (%R) =93,41%

Punto de Fusión= 76°C

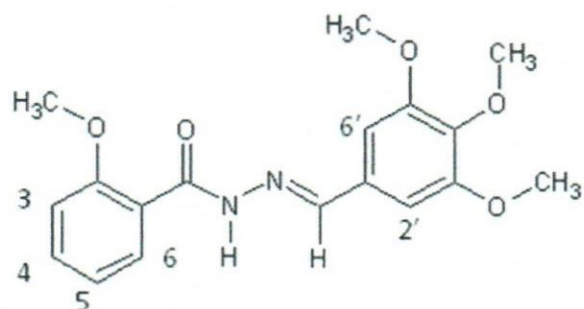
IR KBr ( $\text{cm}^{-1}$ ) =3200 (NH); 1702 (CONH); 1676 (C=N); 820 (F).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 10,8059 ppm s $1\text{H}_{(\text{NH})}$ ; 8,3086 ppm dd  $1\text{H}_{(\text{H}_3)}$   $J_{(\text{H}_3,\text{H}_4)}=7,91$  Hz y  $J_{(\text{H}_3,\text{H}_5)}=1,99$  Hz; 8,2793 ppm s  $1\text{H}_{(\text{CHN})}$ ; 7,8040 ppm cd  $2\text{H}_{(\text{H}_3' \text{ y } \text{H}_5')}$   $J_{(\text{H}_2',\text{H}_3' \text{ y } \text{H}_5',\text{H}_6')}=5,454$  Hz y  $J_{(\text{H}_5',\text{H}_3')}=1,99$  Hz; 7,5229 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_5)}$   $J_{(\text{H}_4,\text{H}_5,\text{H}_6)}=7,398$  Hz y  $J_{(\text{H}_5,\text{H}_3)}=1,971$  Hz; 7,1291 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_4)}$   $J_{(\text{H}_3,\text{H}_4,\text{H}_5)}=8,397$  y  $J_{(\text{H}_4,\text{H}_6)}=2,7$  Hz; 7,0980

ppm d  $1H_{(H_6)}$   $J=8,64$  Hz; 7,0320 ppm d  $2H_{(H_2' \text{ y } H_6')}$   $J_{(H_2',H_3' \text{ y } H_6',H_5')}= 8,3097$  Hz; 4,0394 ppm s  $3H(OCH_3)$ .

En el espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto **6** se observaron las señales características del mismo, en 4,0394 ppm un singlete que integra 3 protones asignados al grupo (OCH<sub>3</sub>); en 7,0174 ppm un doblete con una  $J=8,3097$  Hz asignado al protón (H<sub>6</sub>). A 7,1291 ppm un triplete con una  $J=8,397$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) y otra  $J= 2,7$  Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub> y H<sub>6</sub>); en 7,0742 ppm otro triplete con una  $J= 7,398$  Hz asignados a los protones (H<sub>6</sub>,H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>) y otra  $J= 1,971$  Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>,H<sub>3</sub>); en 7,8040 ppm un multiplete con una  $J= 5,454$  Hz asignado a los protones (H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub> y H<sub>5</sub>·H<sub>6</sub>), en la señal 7,5174 ppm un triplete con una  $J=8,34$  Hz asignado a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>) y otra  $J= 1,99$  Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>,H<sub>3</sub>). En 8,2793 ppm presenta un singlete asignado a un protón correspondiente al grupo (CHN); en 8,3086 ppm un doblete de doblete con una  $J= 7,91$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub> y H<sub>4</sub>) y otra  $J= 1,99$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub> y H<sub>5</sub>). Por último la señal 10,8059 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).

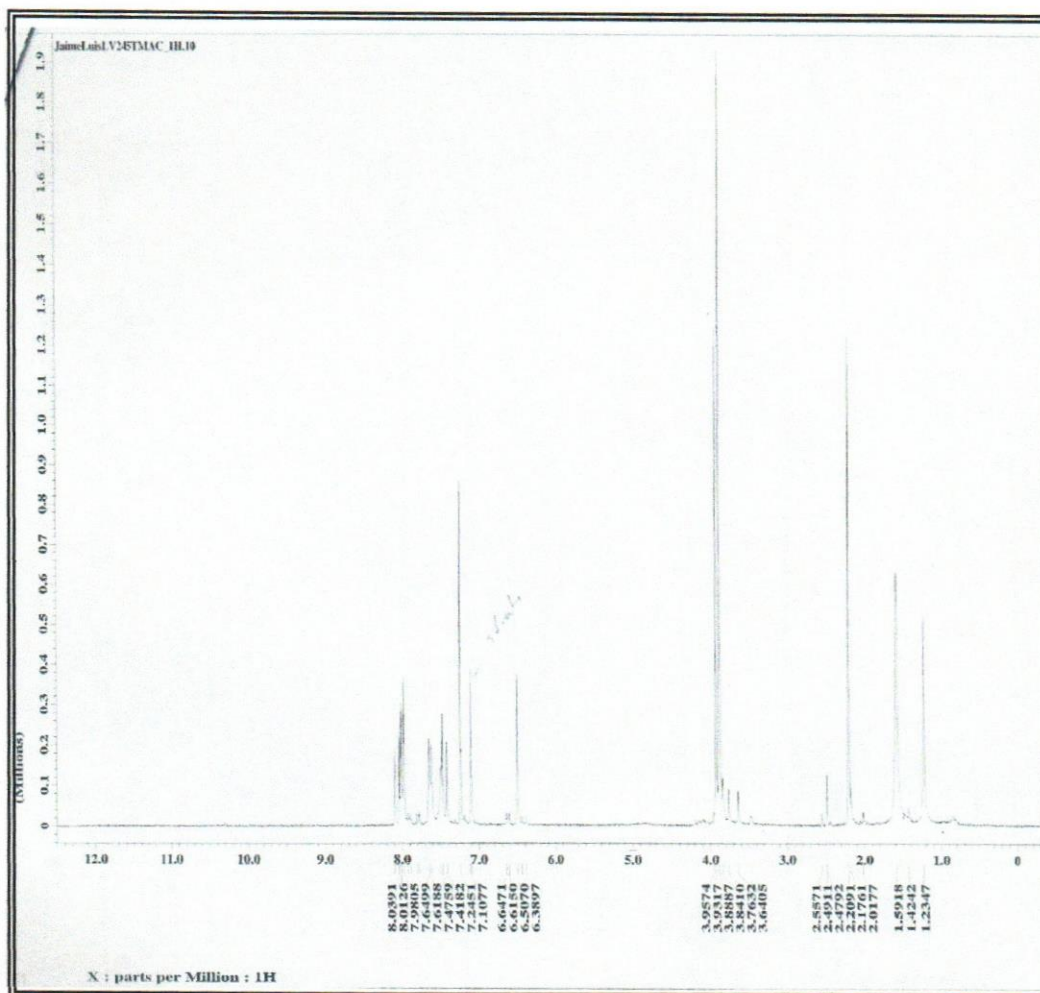
### 7. Síntesis de 3', 4', 5'- trimetoxi 2 metoxibencilhidrazona



#### Procedimiento:

En un balón de 50 ml provisto de agitador magnético se mezclaron 196,4 mg del 3,4,5 dimethoxybenzaldehído con 166,4 mg de 2-metoxibenzahidracina y 15 ml de metanol, una vez disuelta se adiciono 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se refluxo por 3 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se filtró por succión, el sólido obtenido se recristalizo en una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fisión, propiedades espectroscópicas (IR y  $\text{RMN}^1\text{H}$ ).





**Figura 29.** Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  para el compuesto 3',4',5'-trimetoxi-2-metoxibencilhidrazona

Se obtuvo un % de Rendimiento (%R) = 80,76%

Punto de Fusión = 202-204°C

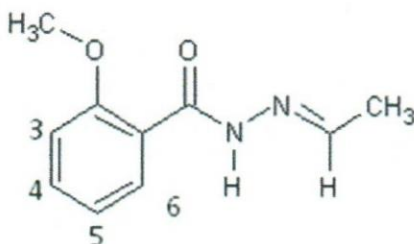
IR KBr ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3100 (NH); 1710 (CONH); 1676 (C=N); 1120 (OMe).

$\text{RMN}^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 10,626 ppm s  $1\text{H}_{(\text{NH})}$ ; 8,288 dd  $1\text{H}_{(\text{H}_6)}$ ;  $J_1 = 7,67$  Hz y  $J_2 = 1,75$  Hz ; 8,082 ppm s  $1\text{H}_{(\text{CHN})}$ ; 7,458 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_5)}$ ;  $J_{(\text{H}_5, \text{H}_4, \text{H}_6)} = 7,67$  Hz y  $J_{(\text{H}_5, \text{H}_3)} = 1,73$  Hz ; 7,103 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_4)}$   $J_{(\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5)} = 7,68$  Hz y  $J_{(\text{H}_4, \text{H}_6)} = 0,75$  Hz ; 7,004 ppm d  $1\text{H}_{(\text{H}_3)}$   $J_{(\text{H}_3, \text{H}_4)} = 8,42$  Hz ; 6,701 ppm d  $2\text{H}_{(\text{H}_3', \text{H}_5')}$   $J_{(\text{H}_5', \text{H}_6' \text{ y } \text{H}_3', \text{H}_2')} = 8,91$  Hz; 4,0394 ppm s  $3\text{H}_{(\text{OMe } 2)}$ ; 3,8562 s  $6\text{H}_{(\text{OMe } 3' \text{ y } \text{OMe } 5')}$ ; 3,8324 s  $3\text{H}_{(\text{OMe } 4')}$ .



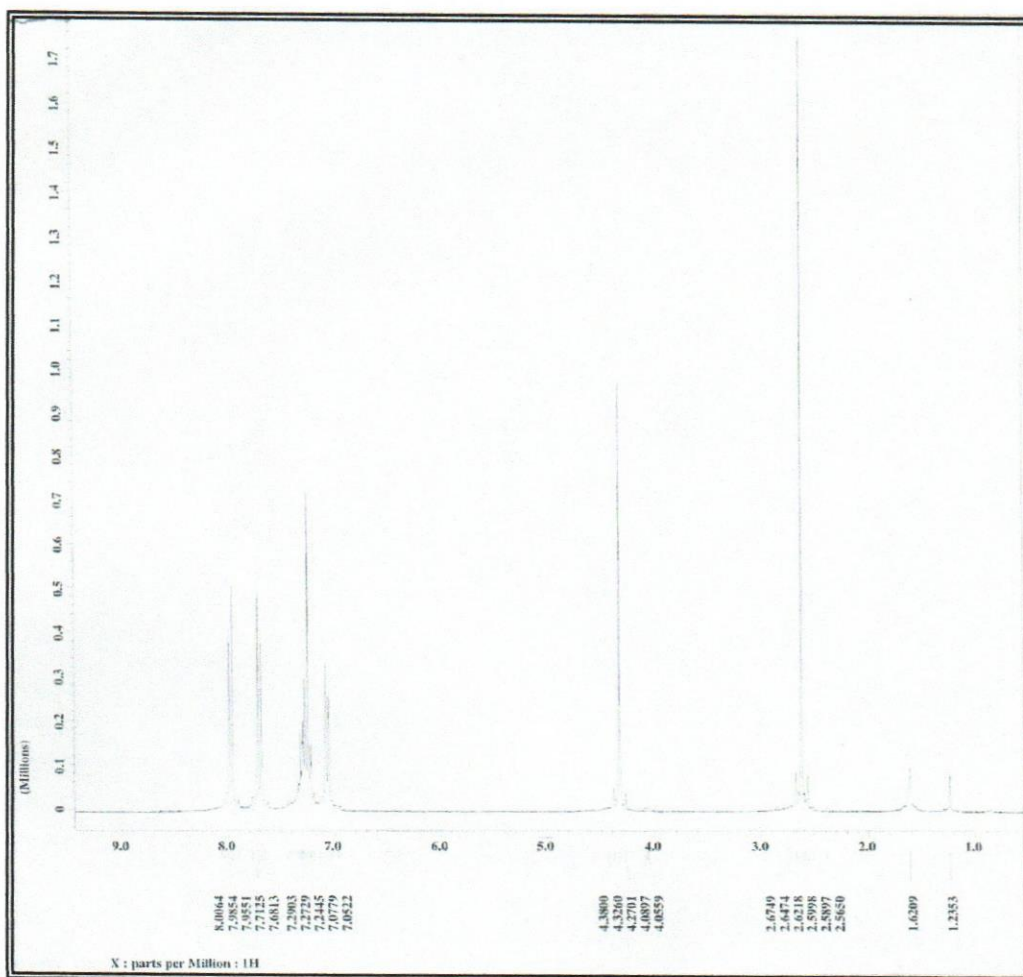
En el espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto 7 se observaron las señales características del mismo, en 3,8324 ppm un singlete que integra 3 protones asignados al grupo (OMe<sub>4</sub>); en 3,8562 ppm un singlete que integra 6 protones asignados al grupo (OMe<sub>3</sub> y OMe<sub>5</sub>); en 4,0394 ppm un singlete que integra 3 protones asignados al grupo (OMe<sub>2</sub>); en 6,4701 ppm un doblete con una  $J=8,91$  Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub> y H<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>). A 7,004 ppm un doblete con una  $J=8,42$  Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>); en 7,103 ppm un triplete con una  $J=7,68$  Hz asignados a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) y otra  $J=0,75$  Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub> y H<sub>6</sub>); en 7,458 ppm otro triplete con una  $J=7,67$  Hz correspondiente a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>6</sub>) y otra  $J=1,73$  asignados a los protones (H<sub>3</sub> y H<sub>5</sub>). En la señal 8,082 ppm un singlete asignada a un protón correspondiente al grupo (CHN); en 8,288 ppm presenta un doblete de doblete con un  $J=7,67$  Hz asignado al (H<sub>6</sub>) y otra  $J=1,75$  Hz. Por último la señal 10,626 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).

## 8. Síntesis de N-(etilimino)-2-metoxibenzamida



### Procedimiento:

En un balón de 50 ml provisto de agitador magnético se mezclaron 50 mg del acetaldehído con 165,1 mg de 2-metoxibenzahidracina y 15 ml de metanol, una vez disuelta se adiciono 5 gotas de ácido acético glacial. La mezcla se reflujo por 3 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se filtró por succión, el sólido obtenido se recristalizo en una mezcla de metanol-agua (9:1). El sólido se caracterizó por su punto de fisión, propiedades espectroscópicas (IR y RMN<sup>1</sup>H).



**Figura 30.** Espectro de  $\text{RMNH}^1$  para el compuesto N-(etilimino) -2-metoxibenzamida.

**Se obtuvo un % de Rendimiento (%R) = 45.3%**

**Punto de Fusión= < 25°C**

**IR KBr ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3250 (NH); 3100 (CH); 1700 (CONH); 1650 (C=N)**

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 10,626 ppm s  $1\text{H}_{(\text{NH})}$ ; 8,288 dd  $1\text{H}_{(\text{H}_6)}$ ;  $J_1 = 7,67$  Hz y  $J_2 1,75$  Hz ; 8,082 ppm s  $1\text{H}_{(\text{CHN})}$ ; 7,458 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_5)}$ ;  $J_{(\text{H}_5, \text{H}_4, \text{H}_6)} = 7,67$  Hz y  $J_{(\text{H}_5, \text{H}_3)} = 1,73$  Hz ; 7,103 ppm td  $1\text{H}_{(\text{H}_4)}$   $J_{(\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5)} = 7,68$  Hz y  $J_{(\text{H}_4, \text{H}_6)} = 0,75$  Hz ; 7,004 ppm d  $1\text{H}_{(\text{H}_3)}$   $J_{(\text{H}_3, \text{H}_4)} = 8,42$  Hz ; 6,701 ppm d  $2\text{H}_{(\text{H}_3' \text{ y } \text{H}_5')}$   $J_{(\text{H}_5', \text{H}_6' \text{ y } \text{H}_3', \text{H}_2')} = 8,91$  Hz; 4,0394 ppm s  $3\text{H}_{(\text{OCH}_3)}$ ; 2.517 ppm s  $3\text{H}_{(\text{Me})}$ .**

En el espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto 8 se observan las señales característica del mismo, en 2,517 ppm un singlete que integra tres protones asignado al grupo Me; en 4,0394 ppm un singlete que integra 3 protones correspondientes al grupo OCH<sub>3</sub>; en 6,0701 ppm un doblete con una J=8,91 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub> y H<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>); en 7,004 un doblete con una J= 8,42 Hz correspondiente a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>); en la señal 7,103 ppm un triplete con una J=7,68 Hz asignado al protón (H<sub>4</sub>) y otra J=0,75 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub> y H<sub>4</sub>); en 7,458 ppm presenta otro triplete con una J=7,67 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J= 1,73 Hz correspondiente a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>); en 8,082 ppm un singlete correspondiente al protón asignado al (CHN); en la señal 8,288 ppm presenta un doblete de doblete con unas de J<sub>1</sub>= 7,67 Hz y J<sub>2</sub> 1,75 Hz correspondiente al protón (H<sub>6</sub>). Por último la señal 10,626 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).



## CAPÍTULO V

### **Análisis de los resultados**

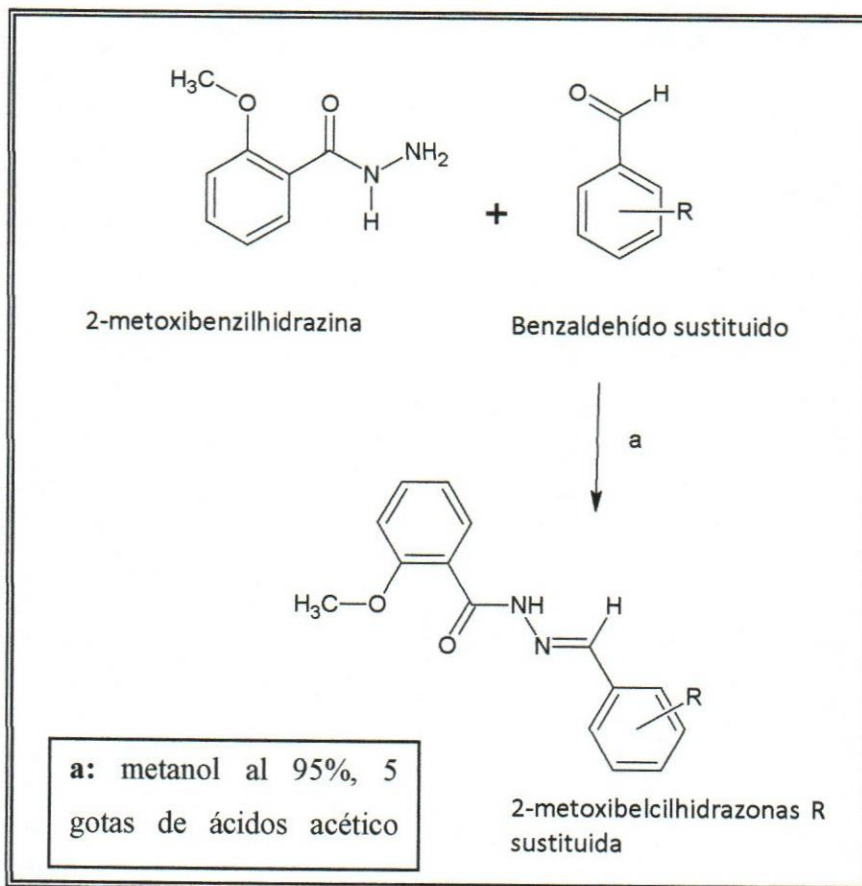
En el presente capítulo se presentan los resultados tanto químicos como biológicos obtenidos durante la realización de este trabajo. Para ello se reportan los resultados en dos secciones:

**Sección química:** se describen y discuten los resultados obtenidos en la síntesis de nuevos derivados de 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas.

**Sección biológica:** Se describe y discute en el ensayo de citotoxicidad sobre las *Artemias*.

### Sección química:

La metodología inicialmente empleada para la obtención de los compuestos 2-metoxibencilhidrazona, se basó en una síntesis lineal de un solo paso (Figura 31), con un rendimiento entre 22,6% y 96,26% donde se obtuvo los derivados de 2-metoxibencilhidrazonas, partiendo de un benzaldehído y 2-metoxibenzahidrazida mediante una reacción de adición nucleofílica al carbonilo.

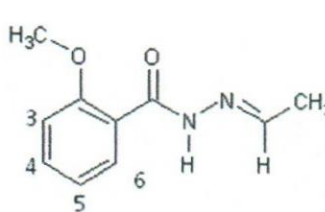


**Figura 31.** Metodología empleada para la síntesis de los 2 metoxibencil derivados. (R= 4-DMA, 2,4-DCI, 2,4-DOMe, Phe, 2,4-DF, 4-F, 3, 4,5-TOMe, Me). Tomado de Muñoz, 2006

### Síntesis de [(E)-ethylidiazenyl](2-methoxyphenyl)methanone

El compuesto **8** fue sintetizado bajo una reacción de adición nucleofílica al carbonilo, a partir de dos reactivos, el 2 metoxibenzahidrazida y el acetaldehído. Esta reacción se llevo a cabo en reflujo metanol al 95% como solvente y ácido acético glacial como catalizador. El metanol es el medio propicio para que ocurra la reacción, mientras que el ácido acético glacial favorece la reacción. Para la síntesis de este compuesto se utilizó en protocolo reportado por Muñoz (2006). En la tabla 2 se observan las señales de FT-IR y resonancia magnética nuclear características del compuesto.

**Tabla 1. Señales correspondientes de IR y RMNH<sup>1</sup> presentes en los espectros correspondientes al compuesto 8.**

Compuesto	IR KBr (cm <sup>-1</sup> )	RMNH <sup>1</sup> (ppm)
 <p style="text-align: center;"><b>8</b></p>	3250 cm <sup>-1</sup> (NH); 3100 cm <sup>-1</sup> (CH);1700 (CONH); 1650 (C=N)	10,626 ppm s 1H <sub>(NH)</sub> ; 8,288 dd 1H <sub>(H6)</sub> ; $J_1= 7,67$ Hz y $J_2$ 1,75 Hz ; 8,082 ppm s 1H <sub>(CHN)</sub> ; 7,458 ppm td 1H <sub>(H5)</sub> ; $J_{(H5,H4,H6)}=7,67$ Hz y $J_{(H5,H3)}=1,73$ Hz ; 7,103 ppm td 1H <sub>(H4)</sub> $J_{(H3,H4,H5)}=7,68$ Hz y $J_{(H4,H6)}=0,75$ Hz ;7,004 ppm d 1H <sub>(H3)</sub> $J_{(H3,H4)}= 8,42$ Hz ; 6,701 ppm d 2H <sub>(H3' y H5')</sub> $J_{(H5',H6' y H3',H2')}= 8,91$ Hz; 4,0394 ppm s 3H(OCH <sub>3</sub> ); 2,517 ppm s 3H <sub>(Me)</sub> .

En el espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto 8 se observan las señales características del mismo, en 2,517 ppm un singlete que integra tres protones asignado al grupo Me; en 4,0394 ppm un singlete que integra 3 protones correspondientes al grupo OCH<sub>3</sub>; en 6,0701 ppm un doblete con una J=8,91 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub> y H<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>); en 7,004 un doblete con una J= 8,42 Hz correspondiente a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>); en la señal 7,103 ppm un triplete con una J=7,68 Hz asignado al protón (H<sub>4</sub>) y otra J=0,75 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub> y H<sub>4</sub>); en 7,458 ppm presenta otro triplete con una J=7,67 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J= 1,73 Hz correspondiente a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>); en 8,082 ppm un singlete correspondiente al protón asignado al (CHN); en la señal 8,288 ppm presenta un doblete de doblete con unas de J<sub>1</sub>= 7,67 Hz y J<sub>2</sub> 1,75 Hz correspondiente al protón (H<sub>6</sub>). Por último la señal 10,626 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH) (Figura 32).



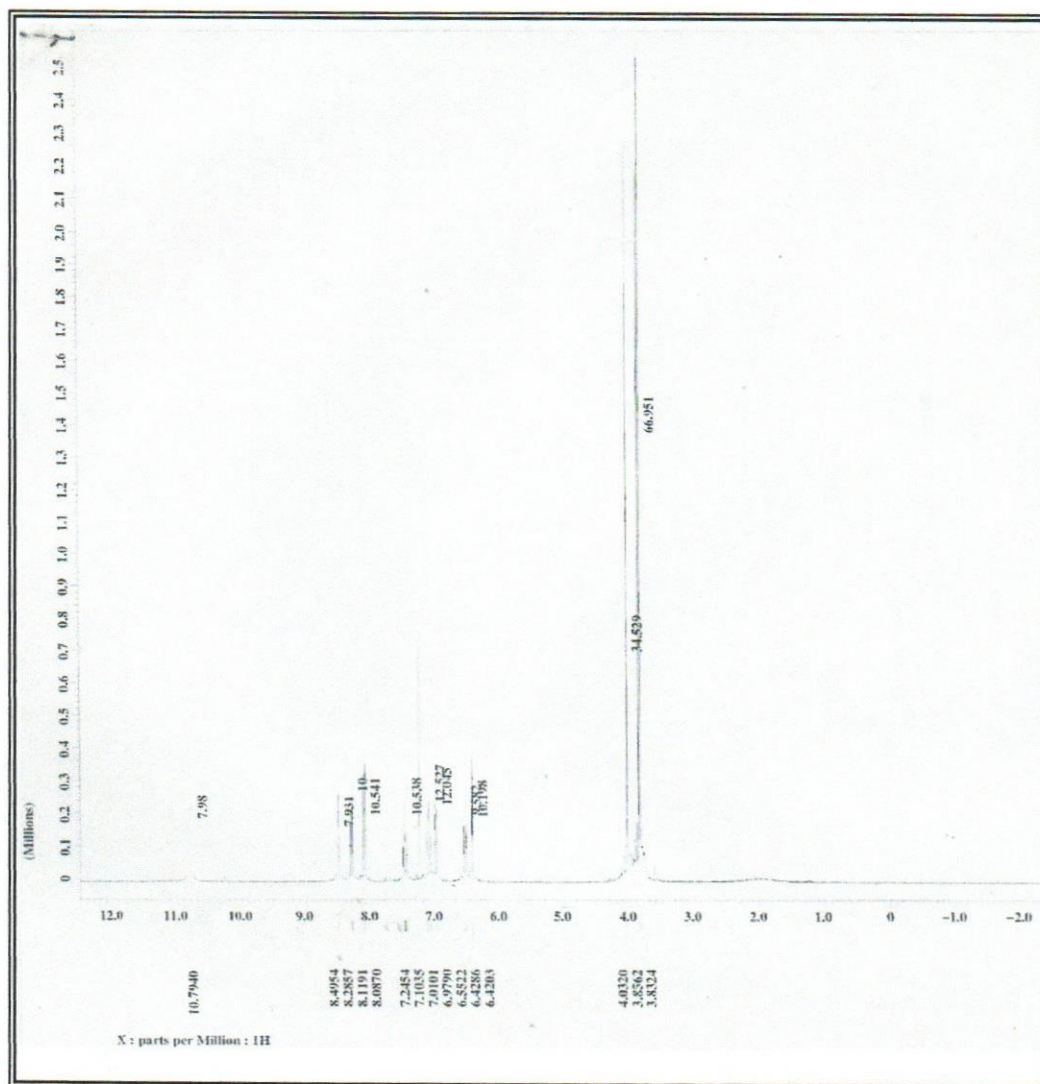


Figura 32. Espectro RMNH<sup>1</sup> para el compuesto 8

### Síntesis de (*E*)-*N*-(2',4'-difluorobenzil)-2-metoxibenzoilhidrazona

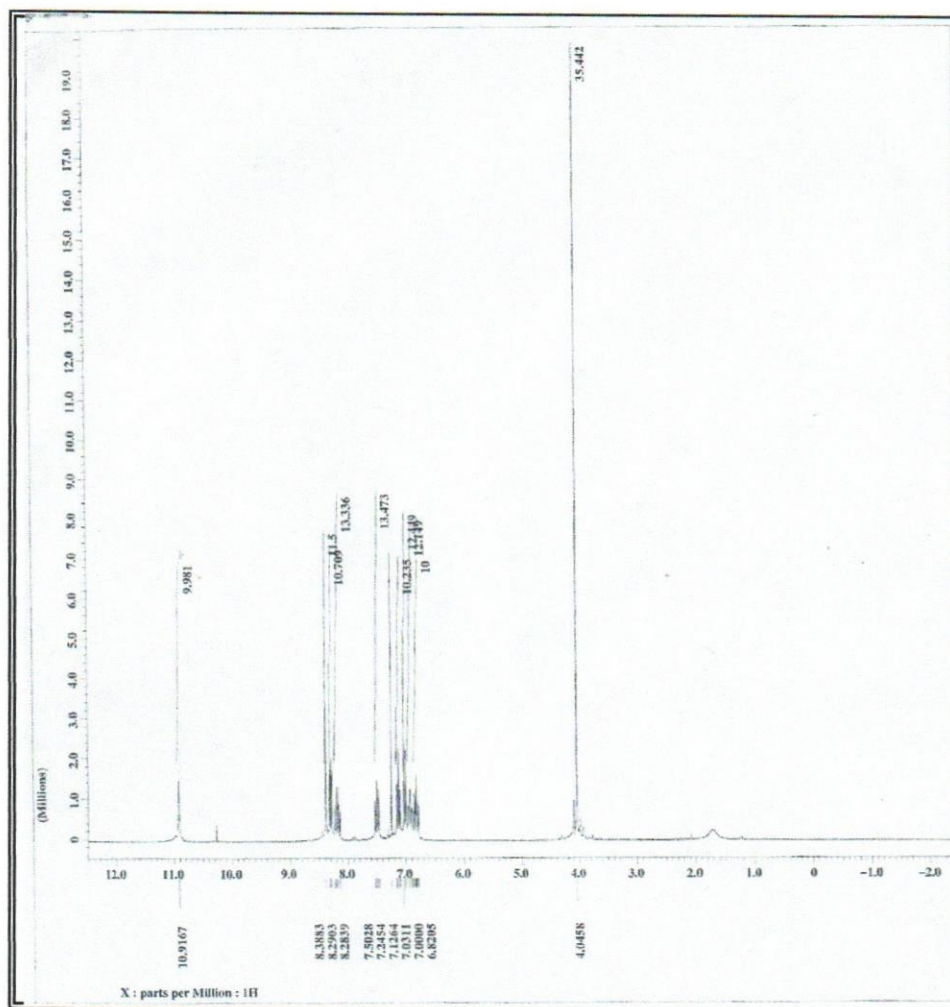
El compuesto **5** fue sintetizado bajo una reacción de adición nucleofílica al carbonilo, a partir de dos reactivos, el 2 metoxibenzahidrazida y el acetaldehído. Esta reacción se llevo a cabo en reflujo en un medio con metanol al 95% y 5 gotas de ácido acético glacial. El metanol es el medio propicio para que ocurra la reacción, mientras que el ácido acético glacial favorece la misma. Para la síntesis de este compuesto se utilizó en protocolo reportado por Muñoz (2006). En la tabla 3 se observan las señales de FT-IR y resonancia magnética nuclear características del compuesto.

**Tabla 2.** Señales correspondientes de IR y RMNH<sup>1</sup> presentes en los espectros correspondientes al compuesto **5**.

Compuesto	IR KBr (cm <sup>-1</sup> )	RMNH <sup>1</sup> (ppm)
<p style="text-align: center;"><b>(5)</b></p>	3180 (NH); 1702 (CONH); 1640 (C=N); 820 (F).	10,9167 ppm s 1H <sub>(NH)</sub> ; 8,3883 ppm s 1H <sub>(CNH)</sub> ; 8,3123 ppm dd 1H <sub>(H3)</sub> $J_{(H3,H4)}= 7,911$ Hz y $J_{(H3,H5)}= 1, 97$ Hz; 8,2079 ppm cd 1H <sub>(H3')</sub> $J_{(H3',H5')}= 8,64$ y $J_2=1,99$ Hz; 7,5064 ppm td 1H <sub>(H5)</sub> $J_{(H4,H5,H6)}= 8,91$ Hz y $J_{(H5,H3)}= 1,728$ Hz; 7,1520 ppm td 1H <sub>(H4)</sub> $J_{(H3,H4,H5)}=7,911$ Hz y $J_{(H4,H6)}= 0,99$ Hz; 7,000 ppm d 1H <sub>(H6)</sub> $J_{(H6,H5)}=8,397$ Hz; 6,9542 ppm td 1H <sub>(H5')</sub> $J_{(H6',H5')}= 8,154$ Hz y $J_{(H5',H3')}= 2,457$ Hz; 6,8517 ppm td 1H <sub>(H6')</sub> $J_{(H5',H6')}= 8,64$ Hz y $J_2=2,457$ Hz; 4,0458 ppm s 3H(OCH <sub>3</sub> ).

En la espectro de RMNH<sup>1</sup> del compuesto **5** (Figura 33) se presentaron las siguientes señales de RMNH<sup>1</sup>, a 4,0458 ppm un singlete que integra tres protones asignado al grupo OCH<sub>3</sub>; en 6,8517 ppm un triplete con una J=8,64 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J= 2,457 Hz .A 6,9542 ppm un triplete con una J=8,154 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J=2,457 Hz asignado a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>); en 7,000 un doblete con una J= 8,397 Hz correspondiente a los protones (H<sub>6</sub>, H<sub>5</sub>), en la señal 7,1520 ppm un triplete con una J=7,911 Hz asignado al protón (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) y otra J=0,99 Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub> y H<sub>6</sub>). En 7,5064 ppm presenta otro triplete con una J=8,91 Hz asignado a los protones (H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) y otra J= 1,728 Hz correspondiente a los protones (H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>); en 8,2079 ppm un multiplete con una J=8,64 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>), en la señal 8,3123UN doblete de doblete con una de J<sub>1</sub>= 7,911 Hz asignado a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) y J= 1,97 Hz correspondiente a los protones (H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>), en la señal 8,3883 ppm representa un singlete asignado a un protón correspondiente al grupo (CNH). Por último la señal 10,9167 ppm es un singlete asignado a un protón perteneciente al grupo (NH).



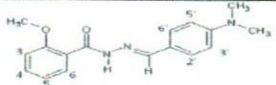
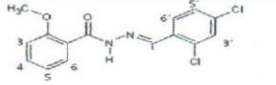
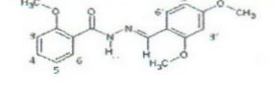
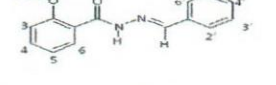
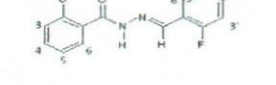
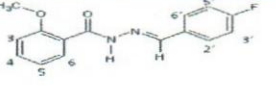
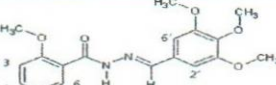
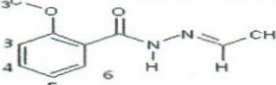


**Figura 33.** Espectro RMNH<sup>1</sup> compuesto 5

Los compuestos se sintetizaron siguiendo la metodología anteriormente señalada, obteniendo un porcentaje de rendimiento que estuvo entre 22 y 96 %. El compuesto que mostró menor porcentaje rendimiento (22,6%) fue el 2' 4'-dimetoxi derivado, esto se puede atribuir al proceso de rescristalización debido a que el compuesto era débilmente soluble en metanol. El compuesto que dio mayor rendimiento fue 2' 4' difluor derivado. En la tabla 3 se presentan las propiedades físicas de los derivados sintetizados.



**Tabla 3. Propiedades Físicas de los derivados de 2-metoxibencilhidrazona sintetizados.**

Compuestos	MM (g/mol)	p.f.(°C)	% de rendimiento
 <p>(1)</p>	297,35	186-188°C	66,05
 <p>(2)</p>	343	168 °C	64,98
 <p>(3)</p>	316	173-175°C	22,6
 <p>(4)</p>	256	175°C	89,47
 <p>(5)</p>	292	69°C	96,46
 <p>(6)</p>	273	76°C	93,41
 <p>(7)</p>	346	202-204°C	80,76
 <p>(8)</p>	218	<25°C	45,3

La síntesis de un compuesto pasa por tres procesos básicos que son la obtención, purificación e identificación. La obtención de los compuestos se basó en una síntesis lineal de un solo paso que involucró la adición nucleofílica del grupo amino de la 2-metoxibencilhidrazina al carbonilo de los diferentes aldehídos sustituidos. La mayoría de los compuestos se obtuvieron con rendimientos aceptables. Esto como ya se mencionó anteriormente fue debido al que hubo pérdida en el proceso de purificación (rescristalización). La identificación de los compuestos se realizó por propiedades físicas y espectrales (p.f, FT-IT y RMN-H).

### Sección biológica

Se realizó el ensayo de toxicidad siguiendo el protocolo establecido en el gráfico 3, para esto se prepararon soluciones de concentración: 10, 100 y 1000 ppm de los nuevos derivados de 2- metoxibencilhidrazonas. Los resultados se pueden observar en la tabla 4.

**Tabla 4. Dosis- Respuestas**

concentración	10 ppm		100 ppm		1000ppm		DL <sub>50</sub>
	vivos	muertos	vivos	muertos	Vivos	muertos	
4-DMA	18	12	13	17	9	21	41,9
2,4-DCI	8	22	5	25	1	29	0,9
2,4-DOMe	20	10	12	18	3	27	37,7
Phe	29	1	27	3	26	4	51203,6
2,4-DF	10	20	6	24	0	30	3,9
4-F	5	25	2	28	0	30	0,5
3,4,5-TOMe	29	1	30	0	30	0	Indeterminado
Me	30	0	30	0	30	0	indeterminado
CONTROL	10	0	10	0	10	0	

Se observan los compuestos con menor DL<sub>50</sub>, ya que mientras menor sea el DL<sub>50</sub> mayor será la toxicidad del mismo. Los compuestos presentaron un a DL<sub>50</sub> entre 0,5962 y 41,9925; siendo el 2,4 DCI. el 2,4 DF y el 4F los que presentaron un a DL<sub>50</sub> menor entre 0,5962 y 3,9425 por lo tanto tienen mayor toxicidad aguda.

En las figuras 34,35 y 36 se puede observar el efecto de los compuestos más tóxicos sobre la *Artemia salina*.

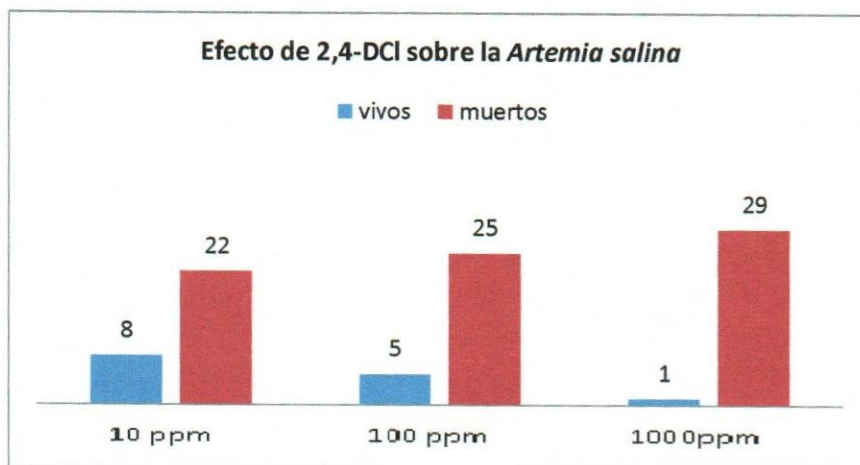


Figura 34. Efecto de 2,4- DCL sobre la *Artemia salina*

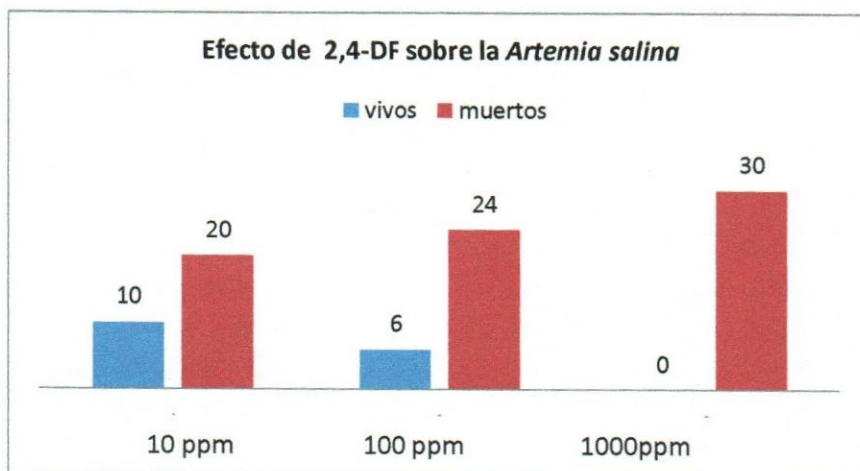


Figura 35. Efecto de 2,4- DF sobre la *Artemia salina*



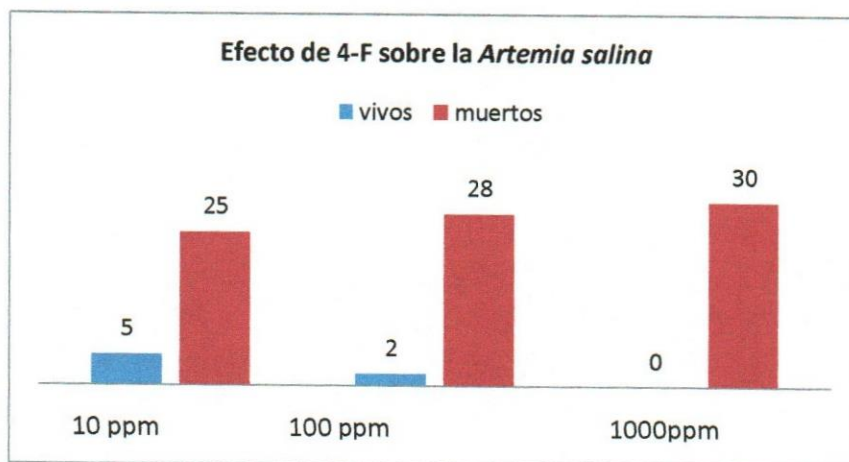


Figura 36. Efecto de 4- F sobre la *Artemia salina*

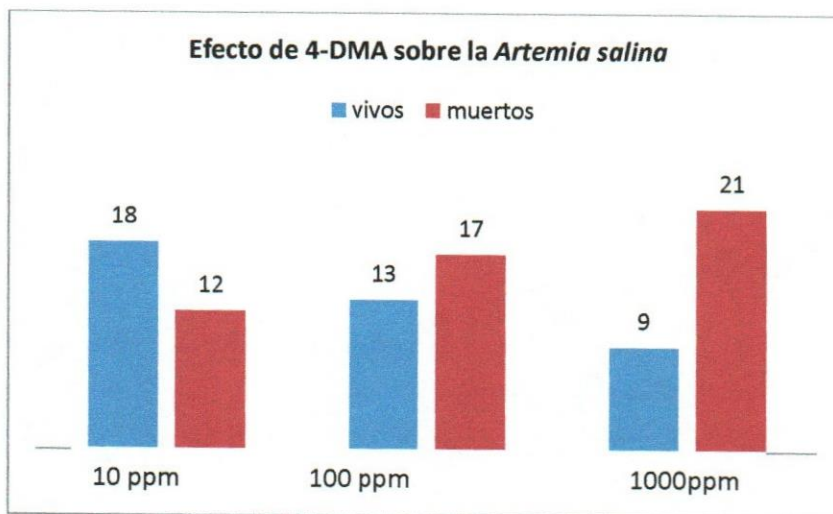


Figura 37. Efecto de 4-DMA sobre la *Artemia salina*

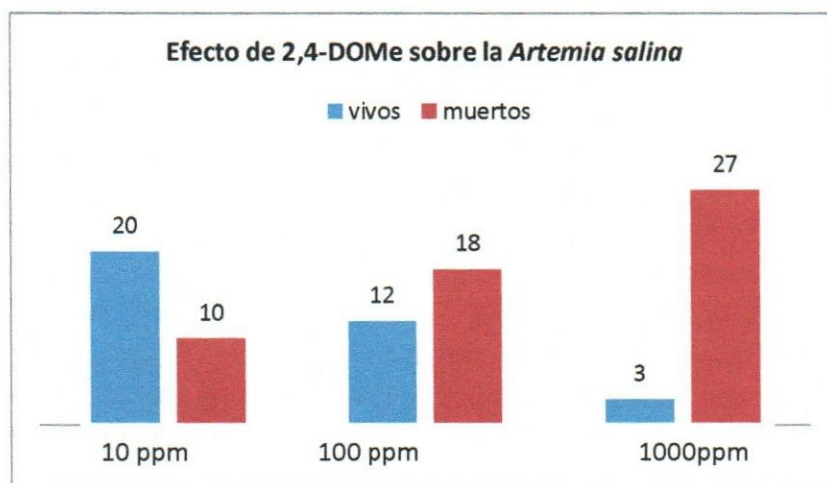


Figura 38. Efecto de 2,4-DOMe sobre la *Artemia salina*

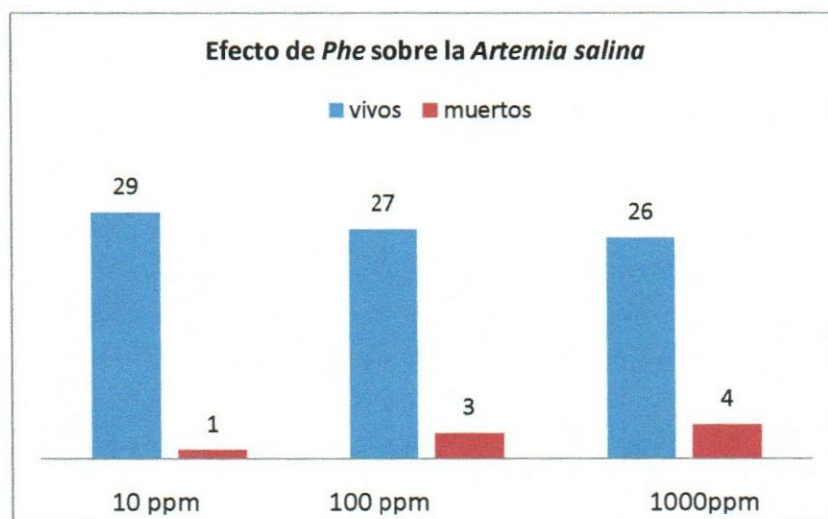


Figura 39. Efecto de Phe sobre la *Artemia salina*

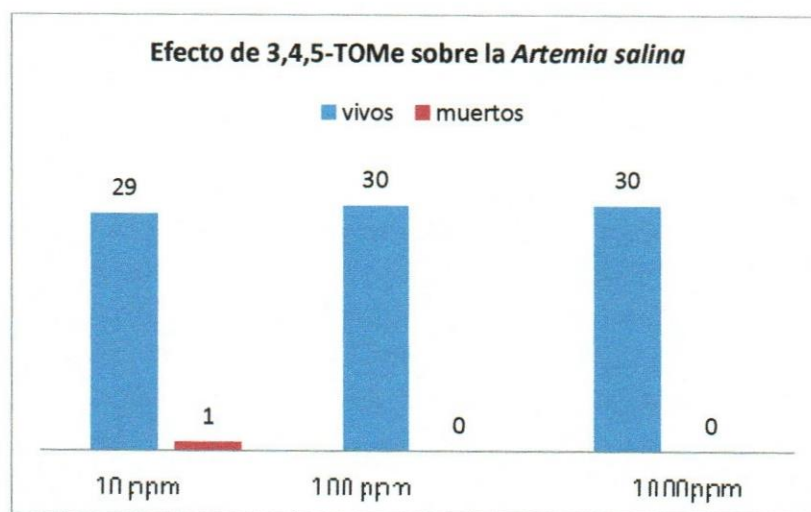


Figura 40. Efecto de 3,4,5-TOMe sobre la *Artemia salina*

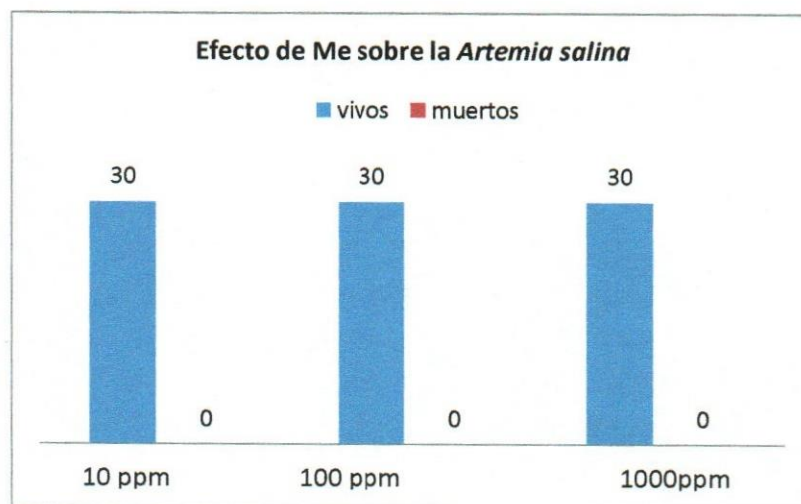


Figura 41. Efecto de Me sobre la *Artemia salina*

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

Tras analizar los resultados ya presentados y discutidos se pueden formular las siguientes conclusiones:

#### Sección química

- Se sintetizaron ocho derivados de 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas a partir de 2- metoxibencilhidrazina y diversos aldehídos a través de condensación de los mismos obteniéndose sólidos blancos con puntos de fusión que oscilan entre 25 Y 204 °C.
- Se purificaron los derivados de 2-metoxibencilhidrazonas sustituidas mediante la técnica de recristalización con una mezcla de metanol-agua.
- Los compuestos se obtuvieron con un porcentaje de rendimientos entre 22,6 y 96, 46 % respectivamente, donde la mayoría se obtuvieron con rendimientos aceptables.
- Se logró la identificación de derivados de 2- metoxibencilhidrazonas obtenidos a partir de técnicas espectroscópicas como IR y RMNH<sup>1</sup>, corroborando que las estructuras planteadas para todos los derivados eran correctas.
- La metodología empleada para la obtención de los derivados de 2-metoxibencilhidrazonas se realizo mediante una síntesis de un solo paso, representando un método efectivo, para la obtención de compuestos relacionados. Se sintetizaron un total de 8 nuevas 2 –metoxibencilhidrazonas sustituidas, con rendimientos entre 22 y 96 %.



**Sección biológica**  
**Actividad citotóxica**

- El ensayo de toxicidad se realizó siguiendo el protocolo establecidos utilizando concentraciones de 10, 100 y 100 ppm de los derivados sintetizados.
- Los derivados 2,4- Dicloro, 2,4- Diflúor y 4-Flúor (**2, 5,6**) fueron los que presentaron mayor actividad citotóxica, siendo su  $DI_{50}$  0,93, 3,94 y 0,59 ppm respectivamente.
- A partir del ensayo de toxicidad se puede establecer que es necesario sustituyente de electrones en la posición 2, 4 del anillo proveniente del benzaldehído sustituido.
- El compuesto más activo fue el compuesto 4 flúor derivado con un  $DI_{50}$  de 0,59 ppm. Esto se puede atribuir a su alta electronegatividad.
- De acuerdo a los resultados obtenidos los compuestos sintetizados resultan interesante, ya que presentan actividad citotóxica antes las *Artemias Salinas* por lo cual se recomienda realizar otro tipo de ensayo más específico.

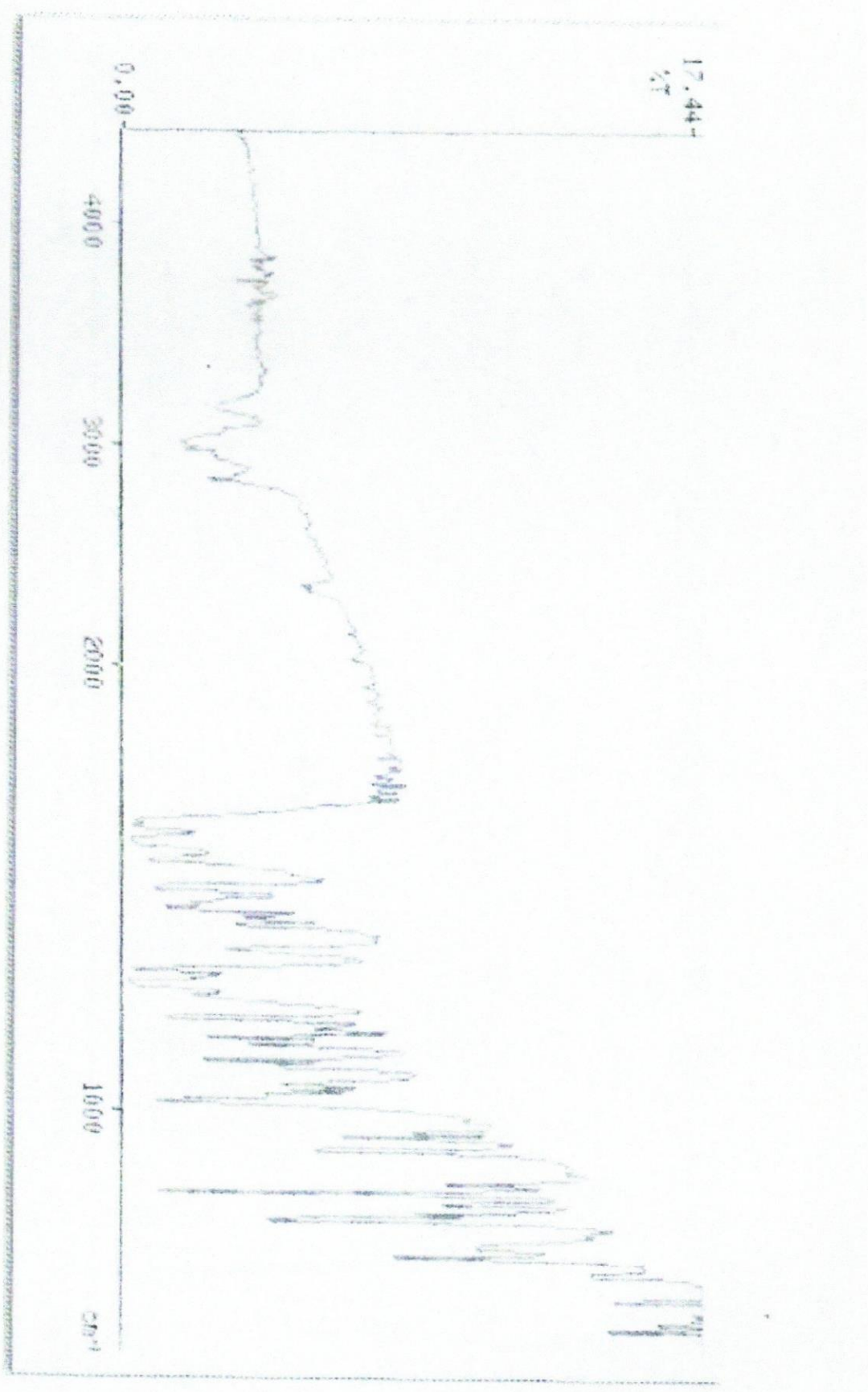
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alaghaz, A., Hanafy, A. (2007) Synthesis and Characterization of Some Novel Diphenyl Phosphate Hydrazones and Semicarbazones and Their Metal Complexes.
- Allinger, N.L., Cava, M., Jongh, D., Johnson, C., Lebel, N., Stevens, C. (1984) Química Orgánica, Editorial Reverté.
- Asikiya, W. (2004). Novel aroylhydrazone and thiosemicarbazone iron chelators with anti-malarial activity against chloroquine-resistant and -sensitive parasites. The international Journal of Biochemistry & Cell Biology, 36,401-407.
- Beyer Hans, Walter Wolfgang (1987). Manual de Química orgánica. España . Editorial Reverte.
- Bruckhalter, J.H., Korolkovas A. Comprendido esencial de química farmacéutica. 1979, Editorial Reverté. pp 17-50.
- Bruice, P.Y.(2008). Química Orgánica (5<sup>ta</sup>.) Mexico: Prentice Hall.
- Camacho, J.R. (2002), Síntesis de 2,5 Bis-[4-(Dibenzohidrazona)- fenil ] Furanos con posible actividad citotóxica. Trabajo especial de grado.
- Castello, F. (1993) Acuicultura Marina: Fundamentos biológicos y tecnológicos de producción. 2<sup>da</sup> edición. Mexico. Universitat de Barcelona,
- Cohen, M.P., Hud E., Wu V.Y., Ziyadeh F.N. Glycated albumin modified by Amadori adducts modulates aortic endothelial cell biology. Mol Cell Biochem 143, 73-79,1995.
- Fouda, M. (2007) Synthesis and characterization of a hydrazone ligand containing antipyrine and its transition metal complexes. Vitae, 61(12)
- García, F. (2001) Entre el Placer y la Necesidad. España. Editorial Crítica
- González, F.; Castello, P.; Gagliardino, J.; Rossi, J. (2000) La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento.2 (3)
- Hernandez,R., Fernandez, C. y Baptista, P.(2006). Metodología de la investigación. Cuarta Edición. Mexico. McGraw Hill.

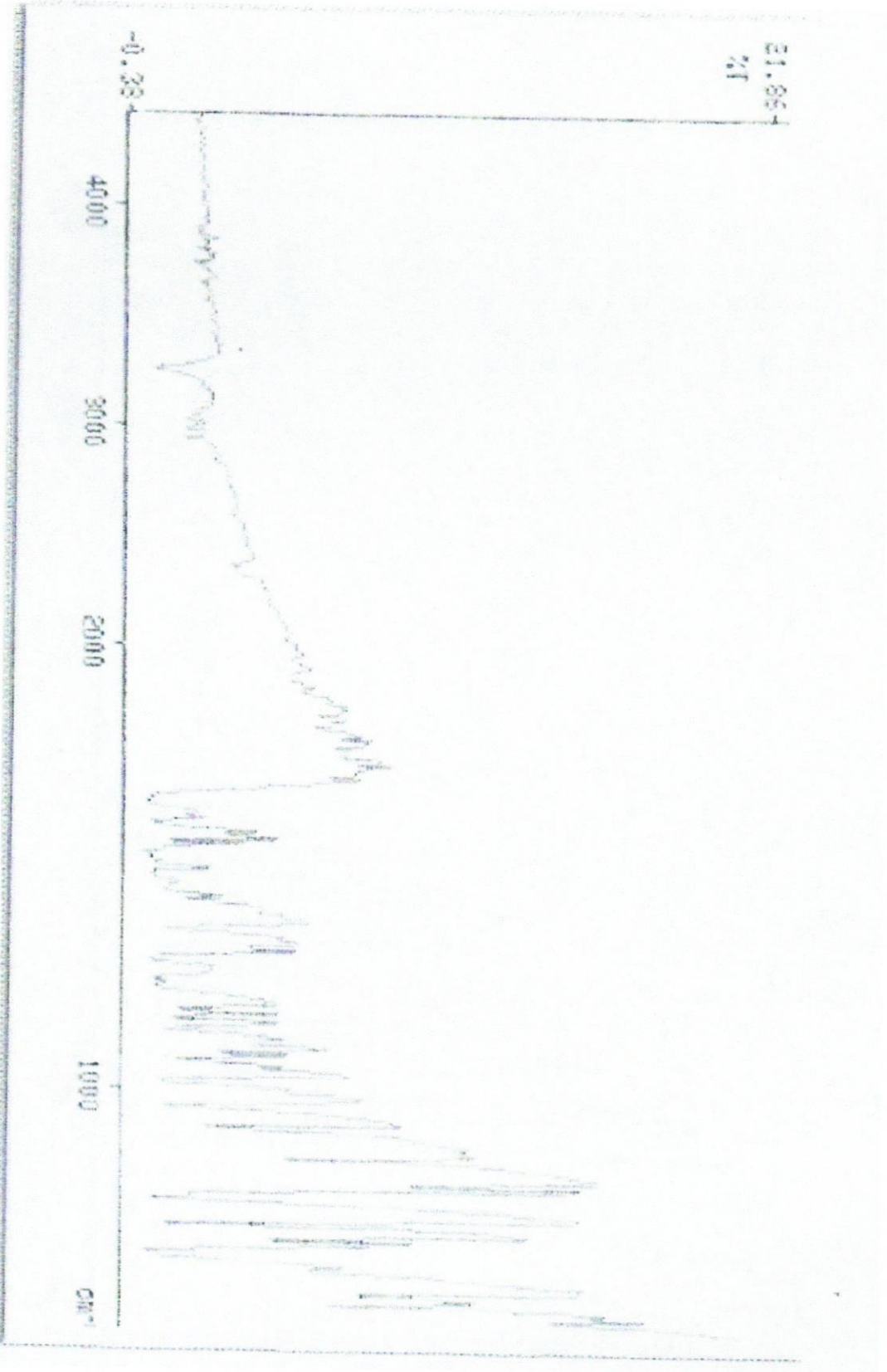
- Martorrel, J.(2003) Desarrollo de metodología de análisis simultaneo para la monitorización de Fe, Al y Cu en conducciones de plantas desaladoras. Trabajo de grado. Universidad de Cádiz.
- Morrison, R., Boyd, R. (1998) Química Orgánica. Quinta edición. México. Pearson Addison Wesley.
- McLaughlin, J.I., Colman-Saizarbitoria, T y Anderson, J. E. (1995). Tres bioensayos simples para químicos de productos naturales. Sociedad Venezolana de Química. 18(4),13-15.
- McMurry, J. (2008) Química Orgánica. 7ª edición. México. Edamsa.
- Muñoz, D. (2006) Efecto de Hidrazonas sobre amastigotes intracelulares de *Leishmania panamensis* y una proteasa de cisteína parasitaria. *Vitae*, 13(2),5-12.
- Pino, O., Lazo, F. (2010) Ensayo de Artemia: Útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales.
- Rivera, A., Rios, A., Quevedo, R., Nathan, P. (2005) Nuevos aspectos de la reacción tipo mannich en medio básico de 1,3,6,8- tetrazatriciclo[4.4.1.1<sup>3,8</sup>] dodecano (Tatd) con fenoles. *Vitae* 34(2)
- Servicio de Instrumentación Tecnológica (SIT). (2007). Universidad Politecnica de Cartagena.[Página Web en línea] Disponible: En [http://www.upct.es/~sait/html/recursos\\_espectrofotometria.htm](http://www.upct.es/~sait/html/recursos_espectrofotometria.htm). [Consulta: 2012 Enero 12].
- Viñuelas, E. (2007) Capacidad coordinante de ligandos derivados de 2-tiazolina e hidrazona frente a iones metálicos de transición. Trabajo de grado. Universidad de Extremadura.
- Wade,L.(2004). Química. 5ª edición. España: Pearson Prentice may.
- Zarycs N., Aucar, G. (2006) Estudio de transferencia de protones en bases de schiff mediante acoplamiento J (NH).Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

**Anexos**

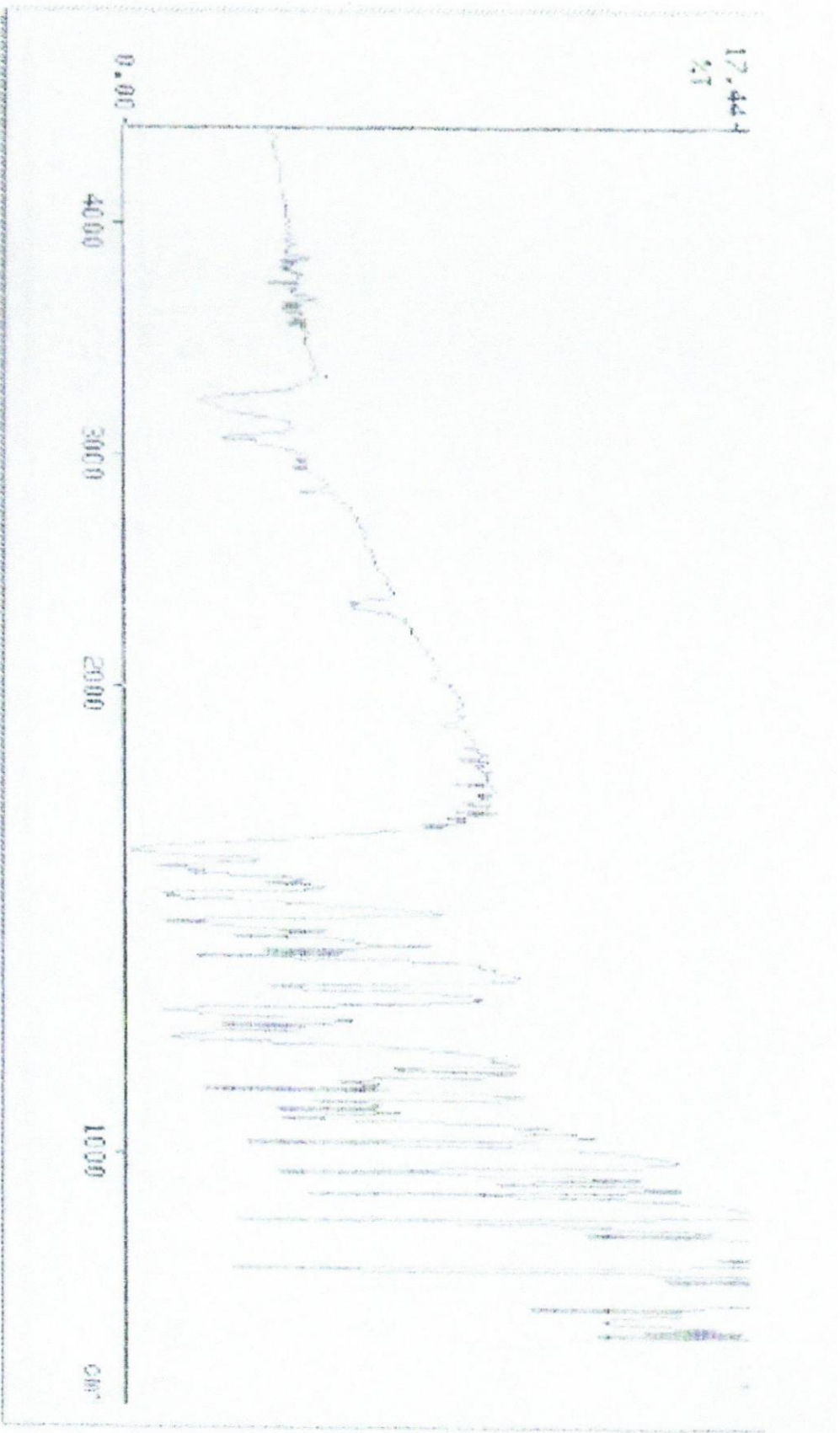




Anexo I. Espectro de IR de 2',4'-dicloro-2-metoxibencilhidrazona

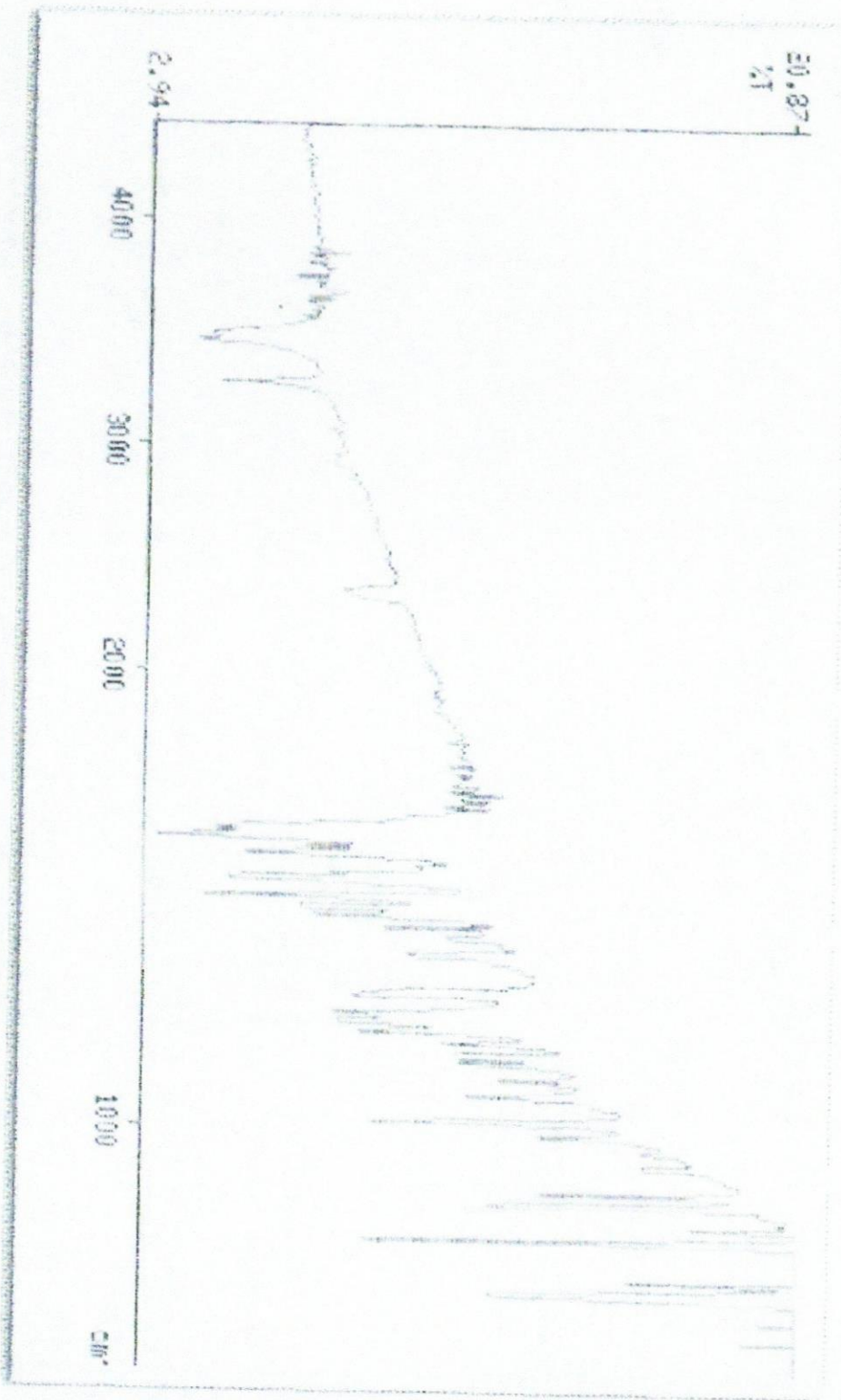


Anexo 2. Espectro de IR de 2',4'-dimetoxi-2-metoxibencilhidrazona



**Anexo 3.** Espectro de IR de (E)-N-(benzil)-2-metoxibenzoilhidrazona



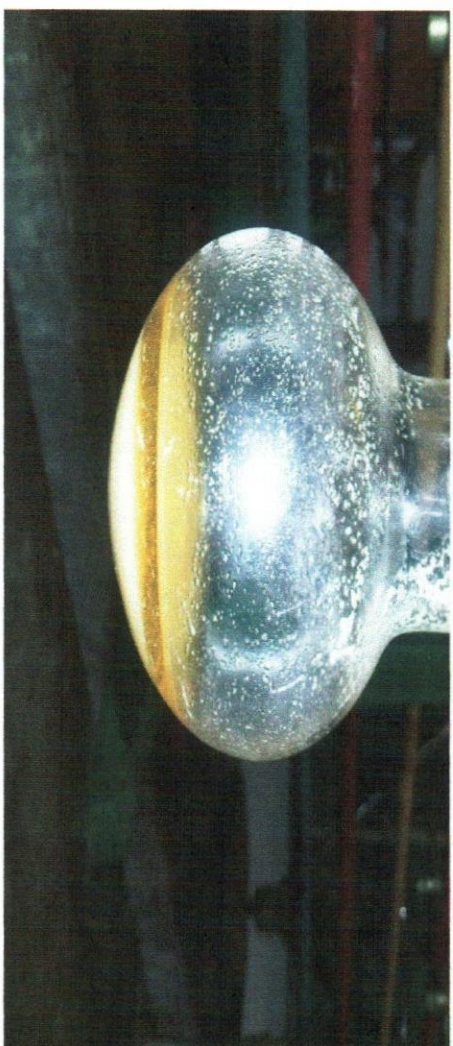


Anexo4. Espectro de IR de 2,4'-difluoro-2-metoxibencilhidrazona

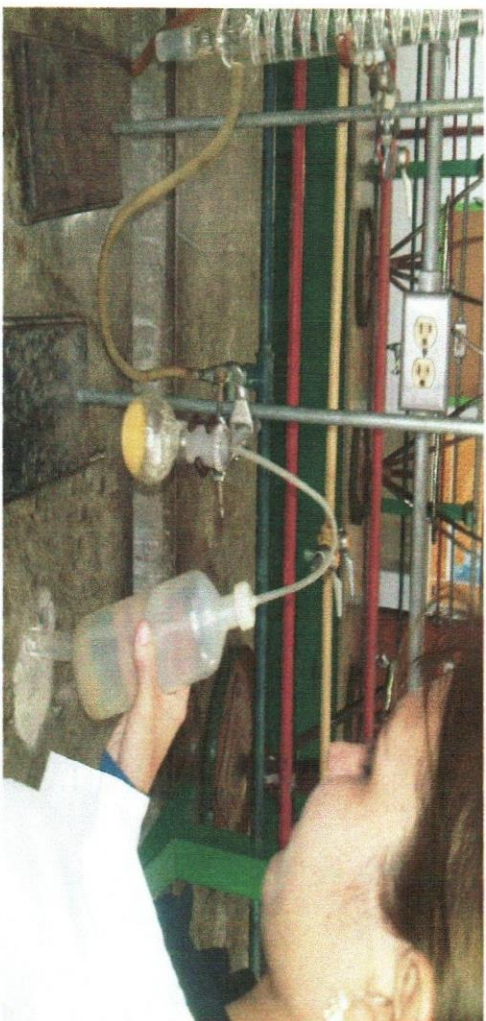




Anexo 12. Sistema de Reflujo



**Anexo 13.** Obtención de un sólido blanco

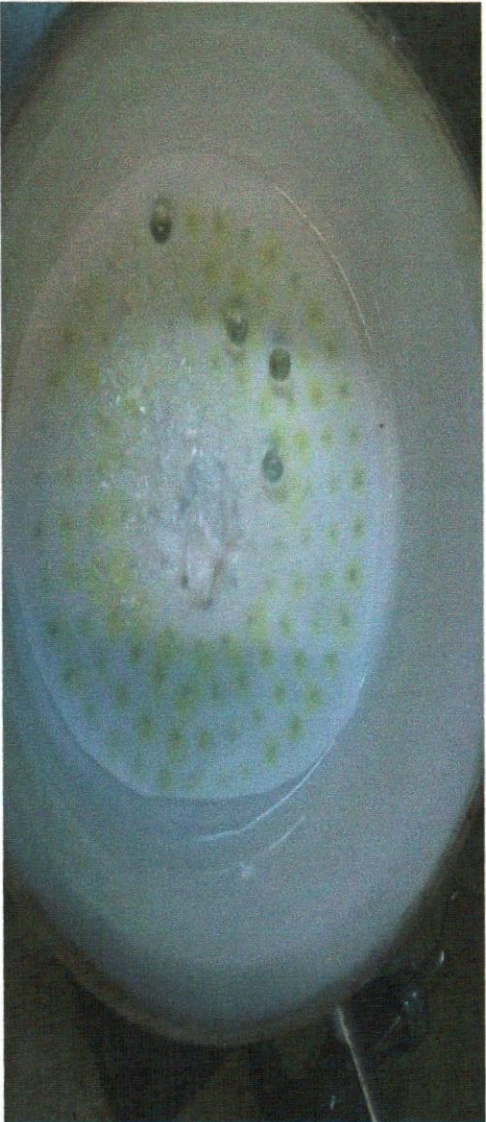


**Anexo 14.** Precipitación del producto con agua destilada.



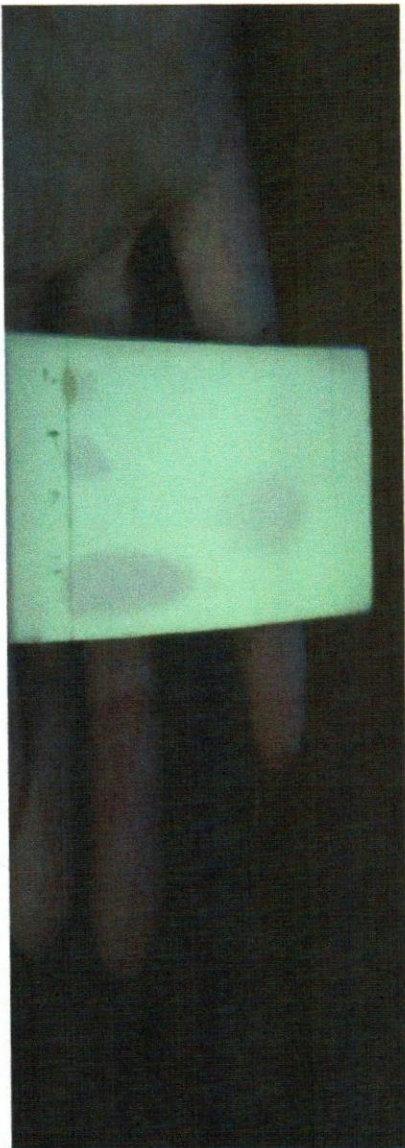


**Anexo 15.** Sistema para filtrado al vacio



Anexo 16: Cristales obtenidos.

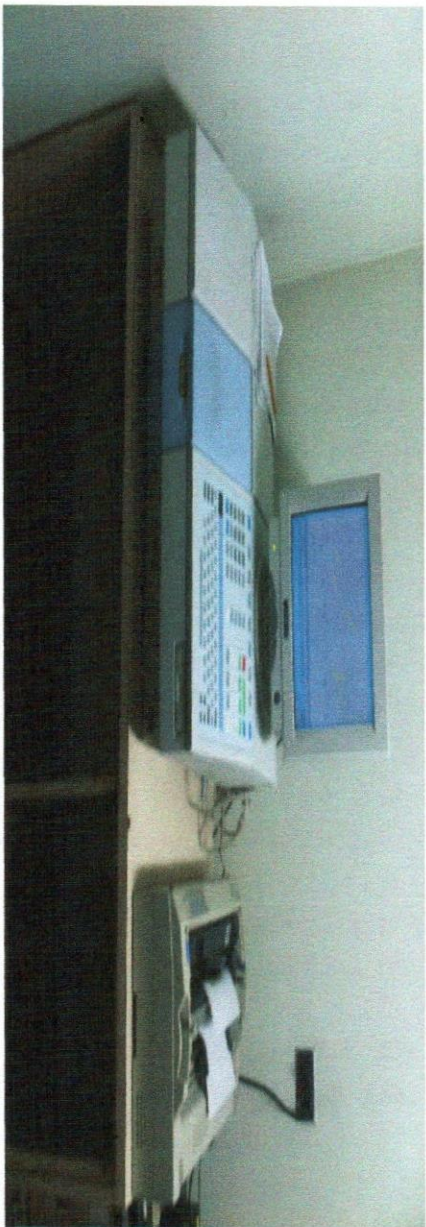




**Anexo. 17.** Cromatografía de capa fina (Thin Layer Chromatography, TLC ) para el producto



a



b

**Anexo 18.** Determinación de IR (a. elaboración de la pastilla por el técnico Ismael Oropeza, b. equipo utilizado espectrómetro).





**Anexo 19.** Aparato para determinar de Fusión. Electrothermal



**Anexo 20.** Rotaevaporador Buchi. Modelo R's. Utilizado en la parte experimental.