



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE FARMACIA**

Tesis

**Síntesis, caracterización y evaluación analgésica de la hidrazona
derivada del 2-nitrobenzaldehído**

Para obtener el título de:
Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Presenta:
Brenda Gonzalino Hernández

Matricula:
201861265

Directora Interna:
MES. Teresa Pacheco Álvarez

Director externo:
Dr. Jorge Rigoberto Juárez Posadas

Junio 2024



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



El presente trabajo se desarrolló en la Facultad de Ciencias Químicas y el Laboratorio de Química Orgánica Básica IC8 del Centro de Química, Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma De Puebla bajo la dirección de la MES. Teresa Pacheco Álvarez y el Dr. Jorge R. Juárez Posadas. Además, se contó con el apoyo de Dra. Ailed Verónica Arenas González y Dra. Jacqueline Jiménez Hernández.

La realización de este trabajo se desarrolló gracias al apoyo económico recibido con el financiamiento del proyecto CONAHCYT A1-S-308049 del fondo FOSEC SEP- Investigación Básica, BUAP-CA-157-Química Orgánica Básica.

Finalmente, la Universidad Tecnológica de Puebla (UTP) a través de mi directora de tesis, brindó las facilidades necesarias para utilizar el reactivo Fenilhidracina hidrociorada del Proyecto de Investigación 02.I/2023-R del Grupo de Investigación UTPUE-GI-03, de manera que, se pudiera sintetizar la hidrazona correspondiente para evaluarla posteriormente en pruebas microbiológicas con alumnas de la UTP, todo ello en el marco del convenio vigente de colaboración que se tiene entre la BUAP-UTP-CIDETEQ.

AGRADECIMIENTOS

A la MES, Teresa Pacheco Álvarez, por su apoyo incondicional. Su constante guía, su compromiso y dedicación han sido una gran inspiración para mí, no solo en el ámbito académico y profesional, su figura se ha vuelto para mí un ejemplo a seguir. Siempre estaré agradecida por su confianza.

Al Dr. Jorge R. Juárez Posadas, cuyo generoso apoyo y guía me han permitido avanzar en mi trabajo de una manera excepcional.

Al Dr. José Luis Gárate Morales por su inigualable apoyo durante toda mi trayectoria universitaria y el aporte de sus conocimientos a este trabajo. Su guía constante fue fundamental para mi desarrollo académico y personal.

A la Dra. Ailed Verónica Arenas González y Dra. Jacqueline Jiménez Hernández, la amabilidad y disposición al compartir sus vastos conocimientos ha enriquecido enormemente el proyecto.

Al Dr. Ángel Gabriel Mendoza Martínez y al M.C. José García Tela, su colaboración ha sido fundamental para el éxito de este trabajo. Estoy profundamente agradecida por la oportunidad de aprender de su experiencia.

DEDICATORIA.

En primer lugar, a Dios, porque sin Él, nada es posible. Su amor incondicional y amistad han sido mi refugio y fortaleza en todo momento y han hecho posible cada logro en mi vida, incluyendo este trabajo.

A mis queridos padres y mis hermanas, cuya guía inquebrantable, sacrificios y amor incondicional han sido guía en este camino. Han estado a mi lado en cada paso, brindándome su sabiduría, consuelo y aliento cuando más lo necesitaba. Este logro es también suyo, y les dedico este trabajo con todo mi corazón.

You may say I'm a dreamer, but I'm not the only one.
-John Lennon

Índice

Abreviaturas.....	8
INTRODUCCIÓN.....	10
ANTECEDENTES.....	12
Química Orgánica.....	12
Grupo Carbonilo.....	12
Hidracinas.....	13
Hidrazonas.....	14
Historia de las hidrazonas.....	15
Síntesis de hidrazonas.....	16
Aplicaciones.....	21
Actividades biológicas.....	22
Dolor.....	34
Tipos de dolor.....	34
Mecanismo de dolor.....	35
Prostaglandinas y las COX1 y 2.....	36
Analgésia.....	38
Modelos de analgesia.....	41
OBJETIVO GENERAL.....	43
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	43
METODOLOGÍA.....	44
Síntesis y caracterización de la hidrazona resultante de la reacción entre el 2-nitrobenzaldehído y la fenilhidrazina.....	44
Equipos.....	44
Diagrama de reacción.....	45
Síntesis del compuesto.....	45
Prueba de analgesia (retirada de cola).....	48
Material, Equipo y Reactivos.....	48
Valoración del efecto analgésico.....	49
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	52
Espectroscopía FTIR.....	52
Resonancia Magnética Nuclear.....	53
Espectro RMN ¹ H, 500 MHz, CD ₃ CN.....	54

Espectro RMN ¹³ C, 125 MHz, CD ₃ CN	57
Espectros de 2 dimensiones.	59
Resultados de prueba de analgesia	63
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	67
Referencias	68
ANEXOS.....	73
Anexo 1	73

Abreviaturas.

ADME: Absorción Distribución Metabolismo y Excreción; proceso por los que pasa un fármaco en el organismo.

AINE: Analgésico Antiinflamatorio No Esteroideo

AINEs: Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroideos

AMPc: Adenosín monofosfato cíclico; funge como segundo mensajero en la actividad celular.

BK: Bradicinina; péptido que provoca vasodilatación y contracción mediante la secreción de prostaciclina, óxido nítrico y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio.

5HT: Serotonina; neurotransmisor que si se desequilibra puede causar hipersensibilización del sistema nervioso central, causando dolor constante.

CFI: Concentración Mínima Inhibitoria: concentración más baja a la que un antimicrobiano puede inhibir el crecimiento de cierta cepa bacteriana.

COX 1: Ciclooxygenasa 1; enzima constitutiva encargada de la síntesis de prostaglandinas protectoras como protección gastrointestinal, homeostasis, hemodinámica renal y función plaquetaria.

COX 2: Ciclooxygenasa 2; enzima inducible encargada de la síntesis de prostaglandinas que causan inflamación y dolor.

IASP: Asociación Internacional para el Estudio del Dolor

IC50: Concentración Inhibitoria media; es la concentración necesaria de un compuesto para poder inhibir la actividad biológica en un 50% en comparación con un control sin tratamiento.

LOX 15: Lipoxigenasa 15; enzima que forma parte de la familia de las Lipoxigenasas, implicada en la generación de inflamación.

OMS: Organización Mundial de la Salud

P<0.05: “P” valor; es un valor de probabilidad estadística que oscila entre 0 y 1 y es comparado con el nivel de significancia. Una $P<0.05$ significa que solo hay 5% de probabilidad de los resultados obtenidos hayan sido producto de la casualidad.

PLA 2: Fosfolipasa A2; enzima que cataliza el rompimiento de los ácidos grasos en la posición 2 de los fosfolípidos.

SP: Sustancia P; neurotransmisor involucrado en la percepción del dolor.

SNC: Sistema Nervioso Central

T pareada: Prueba T de Student Pareada; prueba estadística que compara pares de medias aritméticas de un mismo grupo entre dos aspectos diferentes.

TLC: Cromatografía en placa fina.

TRPA1: Receptor Transitorio de Anquirina 1: es un receptor de irritantes reactivos, estrés y daño tisular.

TRPV1: Receptor de Potencial Transitorio V1; uno de los principales receptores de temperaturas altas.

INTRODUCCIÓN

Desde que el ser humano puso un pie sobre la tierra sus necesidades por sobrevivir lo obligaron a aprender a utilizar, manipular y transformar todo lo que se encontraba en su entorno. Lo que ha dado como resultado en la actualidad al levantamiento de múltiples tipos de industrias para poder satisfacer esas necesidades.

Las necesidades cambian con el tiempo, por ejemplo, hace algunos años las muertes por infecciones microbianas azotaban la salud mundial, y se tuvo la necesidad de buscar algo que mitigara estas muertes y así con el descubrimiento de los antibióticos en el siglo pasado se salvaron muchas vidas. Actualmente, el problema no son las muertes causadas por infecciones, si no, por la resistencia a los antibióticos debido a la automedicación, la Organización Mundial de la Salud estima que en 2050 la resistencia bacteriana ocasionará 10 millones de muertes (Giono Cerezo, Santos Preciado, Morfín Otero, Torres-López, & Alcántar Curiel, 2020)

Lo mismo sucede con diversos medicamentos como son los analgésicos; debido a la tolerancia que causa la mala administración, los pacientes recurren a dosis más altas o a analgésicos más fuertes (Moreno Royo & Muedra Navarro, 2020).

Otro problema ha sido la aparición de nuevas enfermedades, como la pandemia que azotó al mundo hace apenas un par de años, la COVID-19, que evidenció la falta de preparación en materia de salud que existe en diversos países, debido a que, no se contaba con medicamentos eficientes, adecuados y específicos que ayudaran a combatirla (Neergaard, 2020). Pocos fueron los países que lograron obtener su propia vacuna para inmunizar a sus ciudadanos, mientras otros dependían de ellos para obtener dichas vacunas.

Debido a estas problemáticas actuales se ha generado la necesidad de crear nuevos medicamentos, que sean más efectivos, con actividad biológica aumentada para lograr que la administración de estos se efectuó en concentraciones bajas. Al mismo tiempo, es necesario intentar adquirir un fármaco con alta selectividad,

sensibilidad y especificidad para lograr los mejores resultados (Laysna dos Anjos Santos, y otros, 2021).

Las hidracinas son compuestos que se han sintetizado desde 1887 por el químico Theodor Curtius, sin embargo, aun sabiendo de la existencia de estos compuestos desde hace más de un siglo, no es que hasta hace unos años se empezaron a conocer de sus funciones metabólicas (Nees, 2018).

Ahora se sabe que sus derivados, las hidrazonas y los complejos metálicos de estas, presentan realmente muchas aplicaciones, tanto de tipo industriales como farmacológicas. Estas hidrazonas se han utilizado como antibióticos, analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos, tienen utilidad como antiplaquetarios, diuréticos, en la insuficiencia cardíaca, anticancerígenos, antiprotozoarios, antioxidantes, antiparasitarios, cardioprotectores, antihelmínticos, antidiabéticos, antituberculosos, anti- VIH, etc (Verma, y otros, 2014) (de la Cruz Argüello, Gálvez Cardoza, Díaz Crespín, & Morán Rodríguez, 2022) (Laura Mejía, 2018).

De este modo, las hidrazonas son un abanico de oportunidades por su amplia actividad farmacológica que presentan, misma que se le atribuye al doble enlace entre carbono y nitrógeno, a los sustituyentes específicos que poseen, los cuales, también son responsables de las propiedades físicas y químicas de las hidrazonas y, así como a la reactividad hacia los electrófilos y nucleófilos (P. Belskaya, Dehaen, & Bakulev, 2010).

Es así como, se observa que las hidrazonas tienen un gran potencial en el ámbito farmacéutico, con una alta capacidad farmacológica que podría responder a las diversas necesidades de la salud en el mundo actual.

ANTECEDENTES

Química Orgánica

Una de las ciencias más interesantes que existen es la química. En esta ciencia existen diferentes tipos de química y una de las más importantes es la química orgánica, centrada en el estudio de los compuestos orgánicos, que llevan carbono en su estructura.

En la actualidad, es muy importante esta rama en el ámbito farmacéutico, para la síntesis de nuevos compuestos que puedan ser potenciales fármacos. Los químicos orgánicos estudian la estructura de los medicamentos para optimizar las propiedades farmacológicas del fármaco, como su biodisponibilidad, potencia y seguridad (Cook, 2023).

Grupo Carbonilo

La definición de grupo carbonilo no varía prácticamente en la bibliografía y de acuerdo con la enciclopedia británica que da una definición clara y consistente, el grupo carbonilo es una unidad química divalente formada por un átomo de carbono (C) y un átomo de oxígeno (O) conectados por un doble enlace (Britannica, 2018). Además, se encuentran unidos al carbono carbonilo otros dos átomos que pueden ser hidrógeno, carbono u otros grupos funcionales, lo que da como resultado un grupo de compuestos que se llaman compuestos carbonílicos y son abundantes en la naturaleza. Incluso, algunos de ellos tienen papeles importantes en los procesos biológicos. Las hormonas, vitaminas, aminoácidos, proteínas, medicinas y saborizantes son sólo unos cuantos de los compuestos carbonílicos con los que se mantiene contacto a diario (Bruice Yurkanis, 2008) (Morrison & Boyd, 1990).

De acuerdo con lo anterior, es probable que el grupo carbonilo sea el grupo funcional más importante. Y esto se debe principalmente a la reactividad de los compuestos carbonílicos consecuencia de la polaridad que presenta el grupo. Esta polaridad está dada por la diferencia de electronegatividad entre el átomo de carbono y el átomo de oxígeno, y de la polarización de su enlace doble (Autino, Romanelli, & Ruiz, 2013). Es decir, el oxígeno al ser más electronegativo que el carbono (carga

parcial negativa), deja con una deficiencia de electrones al carbono, actuando así el carbono carbonilo como un electrófilo (carga parcial positiva), que en consecuencia podría ser atacado por un nucleófilo. Esto le confiere así una gran reactividad que es clave en la síntesis orgánica, permite formar nuevos enlaces y construir moléculas más complejas (Ercilia Allegretti, 2022).

En resumen, el grupo carbonilo es fundamental en la química orgánica debido a sus propiedades reactivas y a su presencia en una variedad de compuestos orgánicos esenciales para la vida y la síntesis de nuevos compuestos.

Hidracinas

Entre los compuestos orgánicos de nitrógeno que tienen nitrógeno por encima del nivel de oxidación del amoníaco se encuentran una amplia variedad de sustancias con N–NN–N enlaces. Uno de los grupos más importantes de estos son las hidracinas (Roberts & Caserio, 1977).

La hidracina como tal es un compuesto que contiene un enlace único nitrógeno-nitrógeno con dos átomos de hidrógeno unidos a cada átomo de nitrógeno $\text{NH}_2\text{-NH}_2$; sus derivados, las llamadas hidracinas o diazanos orgánicos, son compuestos orgánicos que presentan una sola unión nitrógeno-nitrógeno con uno o dos átomos de hidrógeno unidos a esos átomos de nitrógeno: R-NH-NH-R (Fisher Scientific, 2020) (Roberts & Caserio, 1977)

Las hidracinas son conocidas por su capacidad para donar protones y actuar como agentes reductores en reacciones químicas (Majedi, Rauf, & Boustanbakhsh, 2019). Se han utilizado como combustibles de propulsión en la industria aeroespacial (Díaz, 2015), en la síntesis de otros productos químicos e incluso en la industria fotográfica en el revelado de las películas (Tapia González, 2007).

En la actualidad, tanto las hidracinas como sus variantes encuentran numerosas aplicaciones en la industria. Se utilizan como iniciadores de polimerización y agentes espumantes en la fabricación de plásticos espumados, así como en la producción de pesticidas. Además, se emplean como bloques de construcción sintéticos, se integran en la fabricación de productos farmacéuticos, y tienen roles

importantes en la formulación de propulsores y en la creación de bolsas de aire para vehículos automotores (Bourdauducq & Schirmann, 2001).

En el ámbito médico, se ha descubierto que, las hidracinas y sus derivados pueden desempeñar funciones como agentes con propiedades farmacológicas. Un ejemplo de ello es su capacidad para actuar como antidepresivos al inhibir la monoaminoxidasa (MAO), una enzima que facilita la desaminación e inactivación de neurotransmisores estimulantes como la norepinefrina y la dopamina. Este mecanismo contribuye a mantener niveles más elevados de dichos neurotransmisores, lo que se asocia con efectos positivos en el tratamiento de la depresión (Majedi, Rauf, & Boustanbakhsh, 2019).

Hidrazonas

Las hidrazonas son una clase especial de compuestos orgánicos de la familia de bases de Schiff (Kajal, Bala, Sharma, Kamboj, & Saini, 2014).

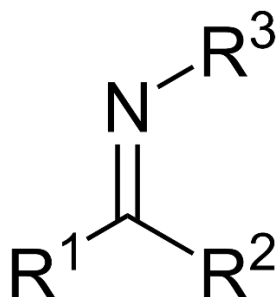


Figura 1. Estructura de las Bases de Schiff

Si bien las bases de Schiff tienen la forma $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{N}-\text{R}_3$, donde R_3 es un grupo arilo o alquilo, las hidrazonas son compuestos orgánicos de la forma $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{NNH}_2$:

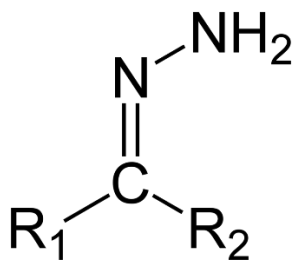


Figura 2. Estructura de las hidrazonas

Debido a esta estructura se ha visto que, las hidrazonas son muy versátiles y exhiben una amplia variedad de actividades biológicas (Flores Castillo, y otros, 2017). Estos compuestos son el producto de la reacción de condensación entre un aldehído o cetona y una hidracina. La reacción es simple, se mezclan cantidades de concentración molar iguales de ambos reactantes, se utiliza ácido como catalizador y temperatura (Ripoll Rascheya, 2021).

Historia de las hidrazonas

Aunque se conocían las hidracinas desde el siglo XIX, no fue hasta hace poco que comenzaron a descubrirse sus funciones en el metabolismo. Se ha confirmado que, los compuestos relacionados, como las hidrazonas y sus complejos metálicos, tienen numerosas aplicaciones en el ámbito farmacológico.

El químico alemán Theodor Curtius, entre 1887-1888, realizó por primera vez la producción de hidracina a partir de éster diazoacético. Posteriormente a partir de la hidracina produjo un nuevo ácido, el ácido hidrazoico, con propiedades muy semejantes al ácido clorhídrico (Nees, 2018).

La identidad de la primera persona que sintetizó derivados de las hidracinas no se conoce con certeza, pero uno de los primeros investigadores en llevar a cabo estas síntesis fue Emil Fischer, reconocido por descubrir relevantes productos farmacéuticos, logró obtener cristales incoloros con un alto rendimiento. Este material tenía un punto de fusión de 80 °C y se obtuvo al hacer reaccionar su fenilhidracina con acetaldehído (etanal), generando así la Acetaldehído fenilhidrazona (Bernades, y otros, 2019).

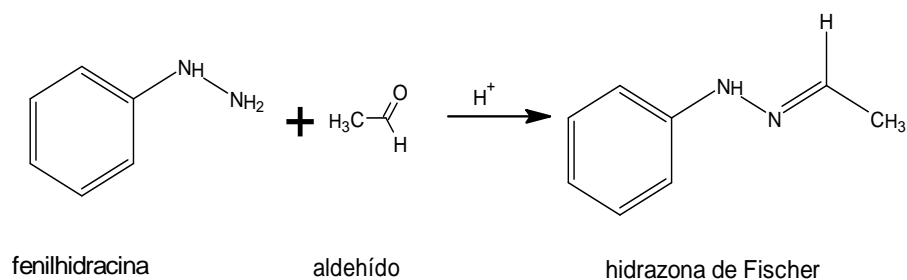


Figura 3. Reacción de la hidrazona de Fischer (Bernades, y otros, 2019)

Se ha descubierto que, estos derivados tienen una gran actividad biológica y se han empleado como antibióticos, analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos, tienen utilidad como antiplaquetarios, diuréticos, en la insuficiencia cardíaca, etc (Cabrera Vivas, Ramírez García, Palillero Cisneros, & Meléndez Balbuena, 2018).

Síntesis de hidrazonas

Las aminas primarias o el amoníaco reaccionan con aldehídos y cetonas para formar iminas (Bases de Schiff, compuestos que tienen una función $C=N$) (Ercilia Allegretti, 2022), pero estas iminas a veces son difíciles de aislar y purificar debido a su sensibilidad a la hidrólisis; por lo que se han utilizado otros reactivos del tipo $R-NH_2$ y se ha encontrado que dan productos estables de tipo $R_2-C=N-Y$ (Wade, 2011), a estos productos se les ha llamado derivados de iminas, esto debido a que, el sustituyente unido al nitrógeno de imina no es un grupo R. La imina obtenida en la reacción con la hidroxilamina se llama oxima; la imina obtenida en la reacción con la hidracina se llama hidrazona y la obtenida en la reacción con la semicarbacida se llama semicarbazona (Bruice Yurkanis, 2008).

$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{R} \end{array} + \text{H}_2\text{N}-\text{G} \xrightleftharpoons{\text{H}^+} \begin{array}{c} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{N}-\text{G} \\ \diagdown \\ \text{R} \end{array} + \text{H}_2\text{O} $		
G	Reactivo	Producto
H	Amoniaco NH ₃	$ \begin{array}{c} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{N}-\text{H} \\ \diagdown \\ \text{R} \end{array} $ Imina
R	Amina 1° R-NH ₂	$ \begin{array}{c} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{N}-\text{R} \\ \diagdown \\ \text{R} \end{array} $ Imina
OH	Hidroxilamina HO-NH ₂	$ \begin{array}{c} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{N}-\text{OH} \\ \diagdown \\ \text{R} \end{array} $ Oxima
NH ₂	Hidracina H ₂ N-NH ₂	$ \begin{array}{c} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{N}-\text{NH}_2 \\ \diagdown \\ \text{R} \end{array} $ Hidrazona
NHPh	Fenilhidracina PhNH-NH ₂	$ \begin{array}{c} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{N}-\text{NH}-\text{Ph} \\ \diagdown \\ \text{R} \end{array} $ Fenilhidrazona
NHCONH ₂	Semicarbacida	$ \begin{array}{c} \text{R} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{N}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2 \\ \diagdown \\ \text{R} \end{array} $ Semicarbazona

Figura 4. Productos de adición de amoniaco, aminas y derivados a aldehídos y cetonas (Ercilia Allegretti, 2022)

La formación de iminas comienza con la adición nucleofílica del reactivo nitrogenado al enlace doble C=O, y posteriormente se produce la pérdida (eliminación) de una molécula de agua. Además, estas reacciones se denominan reacciones de condensación; debido a que, son aquellas en las que dos o más, compuestos orgánicos se unen, con eliminación de una molécula pequeña, generalmente de agua (Autino, Romanelli, & Ruiz, 2013).

Así los productos de condensación obtenidos con hidracina son las hidrazonas.

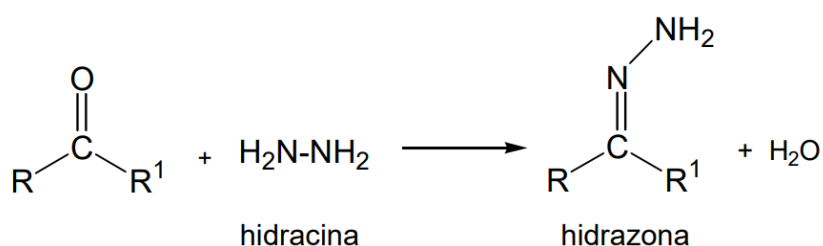


Figura 5. Reacción de condensación entre una cetona y una hidracina (Autino, Romanelli, & Ruiz, 2013).

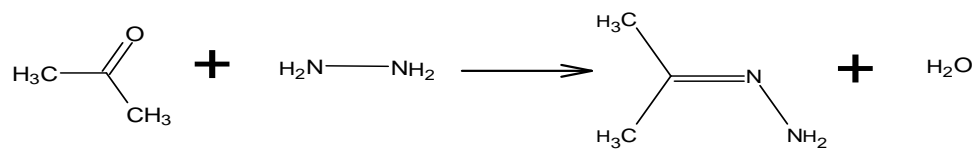
De igual manera, la adición de una amina a un aldehído o una cetona es una reacción de adición nucleofílica-eliminación: adición nucleofílica de una amina para formar un intermediario tetraédrico inestable seguida por la eliminación de agua (Bruice Yurkanis, 2008). Este mecanismo puede llevarse a cabo con un catalizador ácido si se trabaja con un nucleofílico débil, o sin un catalizador si se usa un nucleófilo fuerte. La amina puede actuar como un nucleófilo fuerte, de manera que, la adición al grupo carbonilo puede ser ya sea por ácido o por base (Wade, 2011).

El mecanismo para la formación de hidrazonas es idéntico para el de la formación de iminas (Fernández, 2022). Por lo que, adaptando el mecanismo de formación de iminas propuesto por Wade, 2011, para el mecanismo de formación de hidrazonas, quedaría de la siguiente manera: se comienza con una adición nucleofílica catalizada por ácido de la hidracina al grupo carbonilo (protonación del grupo carbonilo) lo que provoca un cambio de hibridación del carbono carbonílico de sp² a sp³, un par de electrones del enlace C=O se mueve hacia el átomo de oxígeno electronegativo (McMurry, 2008).

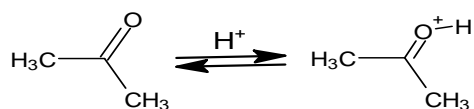
El ataque por la hidracina, seguida por la desprotonación del átomo de nitrógeno (NH_2), produce un intermediario inestable llamado carbinolamina. La protonación del grupo hidroxilo lo convierte en un buen grupo saliente y sale como agua. El catión resultante es estabilizado por formas de resonancia, incluyendo una con todos los octetos llenos y la carga positiva en el nitrógeno. Finalmente, la pérdida de un protón forma la hidrazona (Wade, 2011)

Fernández, 2022, en su libro Fundamentos de química orgánica ilustra el mecanismo de formación de la hidrazona resultante a partir de la propanona, en donde podemos observar lo establecido por Wade:

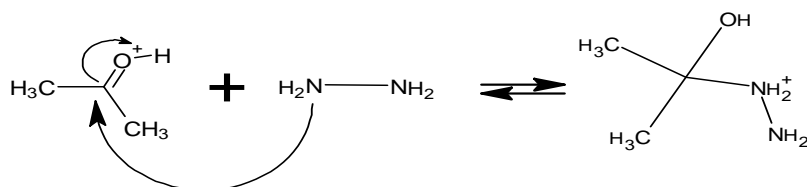
Formación de la hidrazona de la propanona



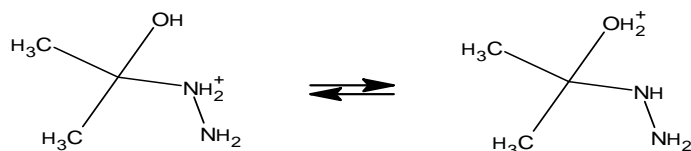
1.- Protonación del carbonilo



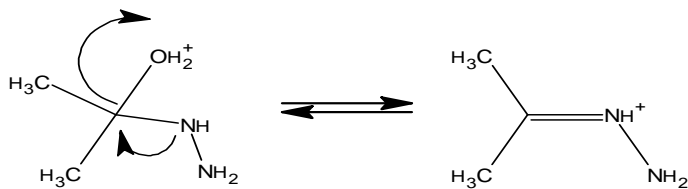
2.- Ataque nucleófilo



3.- Equilibrio ácido-base



4.- Pérdida de agua



5.- Deprotonación del catión

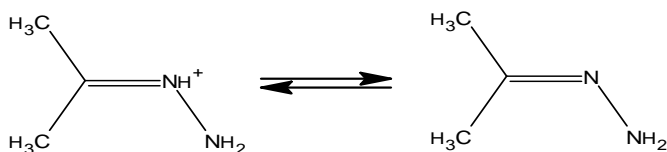


Figura 6. Formación de la hidrazona de la propanona (Fernández, 2022)

De acuerdo con lo anterior, para la formación de hidrazonas, comúnmente se emplea un catalizador ácido que vuelve más electrófilo al carbono del grupo carbonilo. Actualmente, se han desarrollado y utilizado varios sistemas catalíticos para la síntesis de derivados de hidrazona. Recientemente, se ha utilizado difosfato nanoestructurado, $\text{Na}_2\text{CaP}_2\text{O}_7$, como un catalizador ecológico y eficaz para diferentes tipos de reacciones. Achagar et al. reportaron la síntesis de derivados de fenilhidrazona usando este catalizador en reacciones libres de disolvente; utilizando 0.02 g del catalizador, las reacciones se completaron en 15 minutos con rendimientos que varían entre el 87% y el 95%. Sin embargo, la síntesis de este catalizador requiere altas temperaturas que van de entre 100°C y 600°C (Achagar, y otros, 2021).

Aplicaciones

En el grupo de las hidrazonas, ambos átomos de nitrógeno son nucleofílicos, aunque el nitrógeno de tipo amino muestra una mayor reactividad. Por otro lado, el átomo de carbono exhibe características tanto electrofílicas como nucleofílicas (P. Belskaya, Dehaen, & Bakulev, 2010). Este grupo de hidrazonas desempeña diversas funciones gracias a los centros activos presentes, específicamente los átomos de carbono y nitrógeno, que son los principales determinantes de sus propiedades físicas y químicas; a esto se debe su capacidad para interactuar con electrófilos y nucleófilos, lo que contribuye a su notable reactividad (Syeda, Abdul, & R. Abo Nawar, 2018).

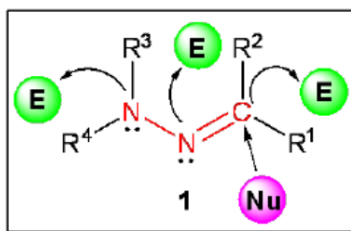


Figura 7. Centros activos de las hidrazonas, el átomo de carbono y los dos de nitrógeno (P. Belskaya, Dehaen, & Bakulev, 2010).

Las iminas presentan ocasionalmente desafíos en cuanto a su aislamiento y purificación, ya que son sensibles a la hidrólisis; en contraste, las hidrazonas no

muestran esta susceptibilidad, lo que facilita su manejo. Las hidrazonas se emplean en diversas reacciones como materia prima debido a su estructura (De La Cruz Argüello, Gálvez Cardoza, Díaz Crespín, & Morán Rodríguez, 2022). Ya que la preparación de estos derivados suele ser sencilla, rápida y resulta en sólidos cristalinos, con regularidad son valiosos para la comparación e identificación de compuestos carbonílicos (Wade, 2011). Además, la presencia de varios centros nucleofílicos hace que las hidrazonas reaccionen con varios reactivos bieletrófilos produciendo una variedad de compuestos heterocíclicos lo que hace que aumente su funcionalidad (P. Belskaya, Dehaen, & Bakulev, 2010).

Todas las características mencionadas que exhiben las hidrazonas son altamente deseables en el ámbito de la síntesis orgánica. Además, estas propiedades les otorgan una notable actividad biológica. Gracias a estos atributos positivos, las hidrazonas han sido objeto de estudio durante un extenso período (Laura Mejía, 2018). Sin embargo, a pesar de su relevancia, gran parte de la química básica asociada a este grupo de compuestos aún permanece sin explorar (de la Cruz Argüello, Gálvez Cardoza, Díaz Crespín, & Morán Rodríguez, 2022).

Actividades biológicas

Las hidrazonas y sus derivados son una clase polifacética de compuestos en el campo de la química orgánica y, sin duda, la versatilidad estructural que le permite una gran variedad de derivados ha despertado el interés de los científicos en busca de nuevos agentes farmacológicos con aplicaciones potenciales en el tratamiento de diversas enfermedades.

Actualmente, el desarrollo de nuevas hidrazonas ha demostrado que poseen actividades biológicas, por lo que se han vuelto compuestos importantes para el diseño de fármacos. Entre sus usos como agentes farmacológicos se observa que pueden actuar como antibacteriales, anticonvulsivantes, antidepresivos, antiinflamatorios, analgésicos, antiplaquetarios, anticancerígenos, antifúngico, antivirales, antitumorales, antimaláricos, antituberculosos e incluso como anti-VIH,

entre otros (Verma, y otros, 2014) (de la Cruz Argüello, Gálvez Cardoza, Díaz Crespín, & Morán Rodríguez, 2022) (Laura Mejía, 2018).

Antidepresivos

En los últimos años, se ha observado un aumento significativo en la conciencia y la atención pública hacia las afecciones mentales. Aunque estas condiciones han existido mucho tiempo, parece que hoy se les está dando la importancia y el reconocimiento que merecen. Se ha producido un cambio cultural que destaca la importancia de abordar la salud mental de manera más abierta.

Esta mayor conciencia ha aumentado la búsqueda de tratamientos que puedan ayudar a las personas a sobrellevar las afecciones mentales de forma más efectiva.

Desde el punto de vista de la farmacología se ha trabajado para encontrar nuevas moléculas con efecto antidepresivo; en un estudio de la Universidad Federal de Santa Catarina, se sintetizaron una serie de sulfonamidas y sulfonilhidrazonas (figura 8), donde la mayoría después de evaluarlas mediante la prueba de natación forzada en ratones, dieron activas como antidepresivos. El compuesto más activo fue una sulfonilhidrazona que mostró una actividad mayor en la prueba antidepresiva que la imipramina, un antidepresivo comercial, por lo que, estos derivados de hidrazonas son compuestos potenciales para usar en el diseño de nuevos candidatos para el tratamiento de la depresión (Navakoski de Oliveira, y otros, 2011). Así mismo, se evaluaron nuevos derivados de 2-metoxiacilhidrazona sintetizados por Cutshall *et al* para determinar la inhibición de la fosfodiasterasa 10A (PDE10A), una PDE responsable de trastornos neurológicos y psicológicos como la esquizofrenia. (Verma, y otros, 2014).

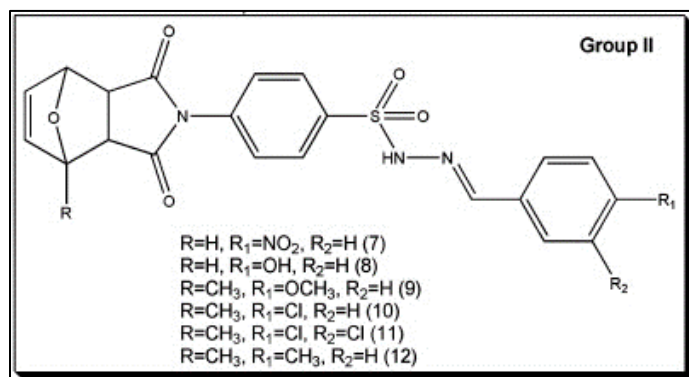


Figura 8. Compuestos derivados de sulfonilhidrazonas (Navakoski de Oliveira, y otros, 2011).

Antiinflamatorios

En el año 2014, Anu Kajal y colaboradores llevaron a cabo la elaboración de una serie de benzotiazina N-acilhidrazonas mediante la modificación estructural de piroxicam. Estos compuestos fueron sintetizados y, al evaluar su capacidad antiinflamatoria mediante un ensayo de edema de pata inducido por carragenina, demostraron una mayor eficacia analgésica y antiinflamatoria en comparación con el fármaco de referencia llamado piroxicam. Así mismo, se desarrollaron derivados de estas hidrazonas que actuaron como agentes antiinflamatorios y antinociceptivos, logrando inhibir el reclutamiento celular en un 70% y 80%, respectivamente, a dosis de 100 $\mu\text{mol/kg}$ por vía oral en peritonitis inducida por zimosano y carragenina (Kajal, Bala, Sharma, Kamboj, & Saini, 2014).

Por otra parte, durante 2019 se llevó a cabo un estudio en la Universidad del Sur de California, Los Ángeles, con el objetivo de investigar la eficacia antiinflamatoria de derivados de hidrazona. Se compararon dos compuestos notables (hidrazona+metilbenceno e hidrazona+nitrobenzoilo) contra fármacos que se encuentran en el mercado. Los resultados demostraron que ambos compuestos presentaron una inhibición similar de la inflamación de edema en rata en comparación con el ketoprofeno, lo que sugiere su eficacia comparativa. El ketoprofeno demostró una inhibición del 91,23%, el compuesto de metilbencilo un 91,23%, el compuesto de nitrobenzoilo terminó con un 78,95% de inhibición

después de 3 horas. Estos hallazgos destacan el potencial de las hidrazonas como agentes antiinflamatorios (Wahbeh & Milkowski, 2019).

Así mismo, en el 2022, se sintetizaron, caracterizaron y evaluaron una nueva serie de hidrazonas derivadas de AINES: ácido diclofenaco e hidrazonas que contienen naproxeno (figura 9). Estas moléculas mostraron un potencial inhibidor in vitro contra la enzima 15-lipoxigenasa (15-LOX) a una IC₅₀ 4,61 ± 3,21 μM lo que podría presentar una mayor efectividad que los AINES convencionales (Sardar, y otros, 2022).

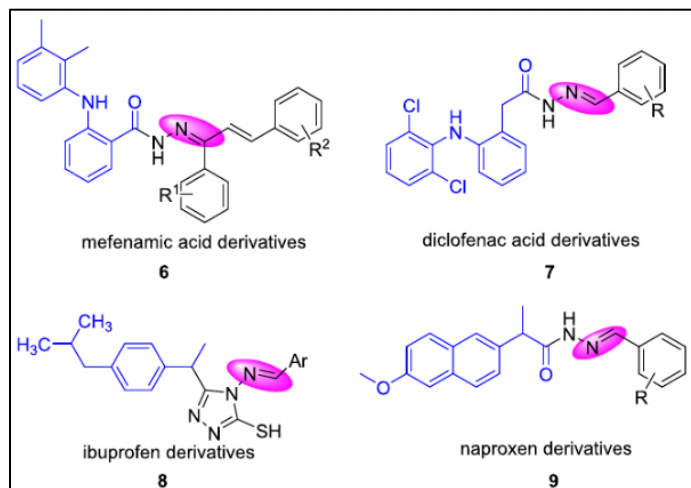


Figura 9. Hidrazonas derivadas de AINES (Sardar, y otros, 2022).

Antiparasitarios

Las afecciones generadas por parásitos pueden impactar significativamente a una gran parte de la población en ciudades tropicales, especialmente en áreas vulnerables con condiciones desfavorables de vivienda e higiene.

Por ejemplo, la leishmaniasis ha emergido como una enfermedad sin un tratamiento específico o preventivo, lo que la convierte en un grave problema de salud pública. Aunque se recurre a la quimioterapia como opción, esta resulta insatisfactoria debido a la escasa disponibilidad de medicamentos, la variabilidad en la sensibilidad

(o resistencia) de los parásitos, la toxicidad asociada a tratamientos prolongados y el alto costo, que resulta especialmente significativo dadas las condiciones de pobreza de los afectados (OMS, 2023). Por ello, es preciso buscar nuevas sustancias que puedan llevar al desarrollo de medicamentos innovadores. Ya desde hace algunos años se ha estado trabajando con hidrazonas derivadas de cromano, tiocromano, alquil y aril hidrazonas, pues presentan actividad leishmanicida que afecta a las proteasas de cisteína (enzimas que participan en funciones importantes del ciclo de vida de parásitos). Se ha observado que varios de estos compuestos, si bien, muestran actividad contra los amastigotes, no tienen efecto sobre una proteasa de cisteína del parásito lo que sugiere un mecanismo de acción diferente a la inhibición de esta enzima (Muñoz, y otros, 2006). Recientemente se realizaron estudios in silico de cinco hidrazonas, al evaluar su potencial inmunomodulador antileishmanial, se revelaron importantes propiedades farmacocinéticas y toxicológicas, además de potencial antileishmanial para reducir la infección y la infectividad en macrófagos parasitados (Carlos de Sousa, y otros, 2023)

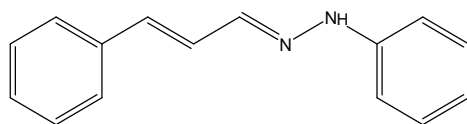


Figura 10. Hidrazona con potencial inmunomodulador antileishmanial (Carlos de Sousa, y otros, 2023).

Otra enfermedad parasitaria que azota a diferentes partes del mundo es la malaria, cuyo tratamiento es de difícil acceso, demasiado costoso y la resistencia que están presentando los antipalúdicos a base de quinolina, hace necesario buscar otras alternativas farmacológicas. Las hidrazonas presentan un papel importante en la química de coordinación de metales, al formar complejos con diorganoestaño puede aumentar el valor terapéutico de estas, y se ha demostrado a través de ensayos ADME in silico que estos tipos de compuestos son antipalúdicos activos (Taxak, Devi, Kumar, & Asija, 2023).

Anticancerígenos

Las hidrazonas y sus derivados también se han hecho presente en la lucha contra el cáncer debido a que los tratamientos convencionales resultan ser agresivos, de difícil acceso y no siempre efectivos. Las hidrazonas están siendo ampliamente estudiadas para su uso en la farmacoterapia de neoplasias, porque tienen la capacidad de inhibir el crecimiento *in vitro* de varias líneas celulares neoplásicas, incluidas las de mama, colon humano, pulmón y esófago (Laysna dos Anjos Santos, y otros, 2021).

La evaluación de la actividad anticancerígena utilizando líneas celulares cancerosas no malignas, ha demostrado que varias cafeína-hidrazonas muestran una actividad anticancerígena significativa y un gran índice de selectividad hacia las células de leucemia linfoblástica T. (Kaplánek, y otros, 2015). En 2020 en el Instituto Nacional del Cáncer, en EUA, se probaron una serie de compuestos análogos de quinolina-hidrazona contra 60 líneas celulares de cáncer humano, estos compuestos exhibieron una importante actividad antiproliferativa además de que, el compuesto más potente se comparó con los agentes anticancerígenos utilizados clínicamente, la bendamustina y el clorambucilo, y revelaron que las quinolil hidrazonas son prometedoras como posibles agentes anticancerígenos (Katariya, Shah, & Reddy, 2020). También, se ha evaluado el perfil farmacocinético de algunas hidrazonas derivadas de cinamaldehído, mostrando una alta absorción intestinal, un perfil de distribución deseable relacionado con la unión a proteínas plasmáticas, una excreción renal adecuada y una baja toxicidad, de la misma manera mostraron una alta actividad citotóxica contra líneas celulares leucémicas y glioblastomas (Laysna dos Anjos Santos, y otros, 2021).

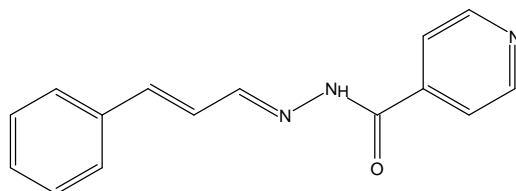


Figura 11. Hidrazona derivada de cinamaldehído con propiedades antineoplásicas (Laysna dos Anjos Santos, y otros, 2021).

Antivirales

Sin lugar a duda, el año 2020 marcó un período de cambios drásticos a nivel mundial. La irrupción del SARS-CoV-2 evidenció cómo agentes microscópicos pueden ocasionar un impacto considerable y trascendental.

Esta situación motivó a la industria farmacéutica a emprender la búsqueda de nuevos antivirales capaces de enfrentar la resistencia y mutación de los virus.

En este contexto, se han diseñado compuestos dirigidos contra la neuraminidasa (NA), ya que esta proteína facilita la capacidad del virus de la influenza para unirse a la célula huésped e iniciar la infección. Se ha comprobado que, los derivados de acilhidrazona exhiben una notable actividad inhibidora de esta proteína (Li, Cheng, Pang, Zhong, & Guo, 2020). También, se han diseñado derivados de tiazolidrazonas como inhibidores de la NA, los resultados farmacológicos mostraron que, la mayoría de los compuestos exhibieron una actividad inhibidora de la influenza NA de moderada a buena (Cui, y otros, 2019).

Se ha encontrado, además, que las hidrazonas también actúan contra el Virus de Inmunodeficiencia Humana, de hecho, Sha y colaboradores en el 2018, informaron sobre una nueva clase de derivados de 8-hidroxiquinolinahidrazona, se analizó la actividad anti-VIH de todos los análogos sintetizados. Los resultados demostraron que, el compuesto 48 resultó ser el más potente puesto que exhibió la mayor actividad anti-VIH (Sharma, y otros, 2020).

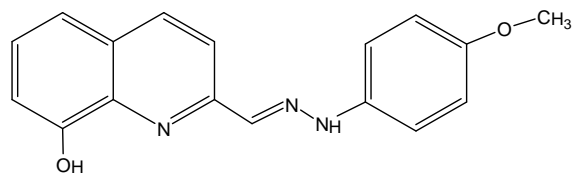


Figura 12. Derivado de 8-hidroxiquinolinahidrazona con actividad anti-VIH (Sharma, y otros, 2020).

Antimicrobianos

Hace apenas algunos años, en India se hicieron estudios de síntesis de tiazolihidrazonas donde se puso a prueba la actividad antifúngica *in vitro* de los compuestos sintetizados contra especies de hongos como *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*, la actividad era de moderada a buena en comparación con el fluconazol estándar (Kauthale, Tekale, Damale, Sangshetti, & Pawar, 2017).

Taxak (2023) diseñó y sintetizó nuevos complejos de diorganoestaño de ligandos de hidrazona, que aparte de propiedades antipalúdicas cuentan con potencial antimicrobiano; los compuestos se probaron contra seis patógenos, incluidas cuatro cepas bacterianas y dos fúngicas, mediante un ensayo de dilución en serie tomando ciprofloxacina y fluconazol como fármacos de referencia. Además, los compuestos se sometieron a análisis ADME *in silico*, lo que sugiere que los compuestos pueden emplearse como fármacos activos por vía oral.

En 2021, Achagar et al, llevaron a cabo la síntesis de ocho derivados de fenilhidrazona con sustituyentes diferentes y se evaluó la actividad antibacteriana de estos compuestos frente a cepas Gram positivas y Gram negativas. Entre ellas el (E)-1-(2-nitroencilideno)-2-fenilhidrazona, (compuesto 7, figura 13), que es el compuesto de interés de este trabajo de tesis, que se sintetizó libre de disolvente y con el catalizador $\text{Na}_2\text{CaP}_2\text{O}_7$, donde el tiempo de reacción fue de 15 minutos y tuvo un rendimiento del 94%.

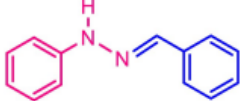
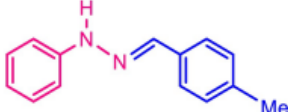
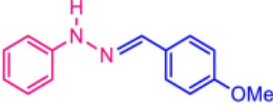
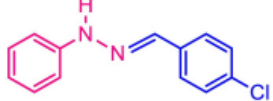
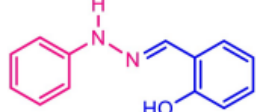
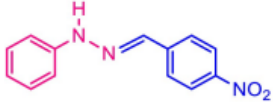
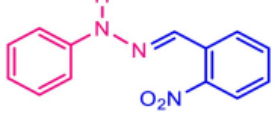
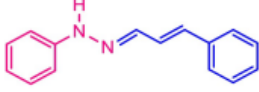
Entry	R	Product ^[a]
1	C ₆ H ₅	3 a 
2	4-Me-C ₆ H ₄	3 b 
3	4-MeO-C ₆ H ₄	3 c 
4	4-Cl-C ₆ H ₄	3 d 
5	2-HO-C ₆ H ₄	3 e 
6	4-O ₂ N-C ₆ H ₄	3 f 
7	2-O ₂ N-C ₆ H ₄	3 g 
8	C ₆ H ₅ CH=CH	3 h 

Figura 13. Compuestos derivados de fenilhidrazona (Achagar, y otros, 2021).

En este estudio, se pudo observar que los compuestos sintéticos 3 y 5 de la figura 13, destacaron como los más eficaces, al exhibir el menor valor de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y el espectro más amplio de actividad antibacteriana. Por otro lado, los compuestos 1, 2 y 8 demostraron una actividad inhibidora moderada frente a las bacterias analizadas. En contraste, los compuestos 4, 6 y 7 mostraron la menor actividad en este aspecto (Achagar, y otros, 2021).

Analgésicos

Desde años atrás, se están investigando hidrazonas como posibles agentes analgésicos y antiinflamatorios en comparación con los fármacos de primera

elección, los antiinflamatorios no esteroides (AINEs). Los AINEs se utilizan comúnmente para tratar el dolor y la inflamación, pero pueden provocar efectos secundarios gastrointestinales graves, broncoconstricción y hepatotoxicidad (Akdağ, Ünal, Tok, Arıcıoğlu, & E. Temel, 2018). Además, se ha observado que ciertos derivados de hidrazona muestran actividad antiinflamatoria, especialmente aquellos con grupos metoxi en posiciones específicas. Algunos compuestos también tienen una inhibición selectiva de la COX-2, lo que podría reducir los efectos secundarios gastrointestinales. Estos hallazgos sugieren que las hidrazonas podrían ser prometedoras como alternativas a los AINEs en el tratamiento del dolor y la inflamación (Asif & Husain, 2013).

En el 2018, Akdağ, y colaboradores, sintetizaron 21 nuevos derivados de hidrazona que contienen un anillo de pirimidina como agentes analgésicos que evaluaron en ratas mediante el test de placa caliente donde los resultados indicaron que 15 de los 21 compuestos tuvieron efecto analgésico.

En Brasil en el 2021 se realizó un estudio donde se sintetizaron cinco derivados de hidrazona (H1, H2, H3, H4 y H5). Estos derivados de hidrazona mostraron efectos antinociceptivos y antiinflamatorios notables en pruebas experimentales en ratones, siendo H5 (figura 14) el más activo en ambos aspectos. De acuerdo con estudios de acoplamiento molecular que se les realizaron a estos compuestos, se sugiere que el mecanismo de acción antinociceptivo de H5 puede ser periférico, a través de la vía de señalización de los opioides, mientras que su efecto antiinflamatorio podría implicar vías de receptores histaminérgicos y la inhibición de la COX-2. Los análisis *in silico* respaldan su perfil farmacocinético adecuado. En resumen, H5 se perfila como un fuerte candidato para un nuevo fármaco oral antiinflamatorio de múltiples objetivos, demostrando capacidad para atenuar tanto la respuesta nociceptiva como la inflamatoria en modelos experimentales en ratones (Bezerra Medeiros, y otros, 2021).

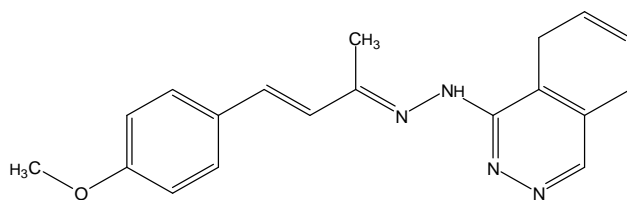


Figura 14. Hidrazona H5 del estudio “Antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydrazone derivatives and their possible mechanism of action in mice” con gran potencial como fármaco antiinflamatorio y analgésico (Bezerra Medeiros, y otros, 2021).

Kumar N. et al desarrollaron una serie de nuevos compuestos derivados de hidrazona del ácido mefenámico unidos a chalcona (figura 15). Al determinar su capacidad analgésica en ratas, dos compuestos demostraron consistentemente una fuerte actividad antiinflamatoria y analgésica lo que podría indicarlas como posibles inhibidores COX. Además, en un estudio sobre toxicidad gastrointestinal aguda, se observó que los dos compuestos no presentaron los efectos adversos más severos en el tracto digestivo (Kumar, Chauhan, Sharma, Dashora, & Bera, 2015). En 2020, Alsaif y colaboradores llevaron a cabo la síntesis de catorce nuevas hidrazonas de diclofenaco, de las cuales se destacaron tres compuestos por su notable actividad analgésica en comparación con el fármaco de referencia diclofenaco. Específicamente, el compuesto que presenta una sustitución de 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenilo, mostró ser el agente más prometedor tanto en términos de actividad antiinflamatoria como analgésica. Además, al evaluar su actividad ulcerogénica, se observó una reducción significativa de la formación de úlceras, lo que sugiere que este compuesto podría tener efectos preservadores en el estómago (Alsaif, y otros, 2020).

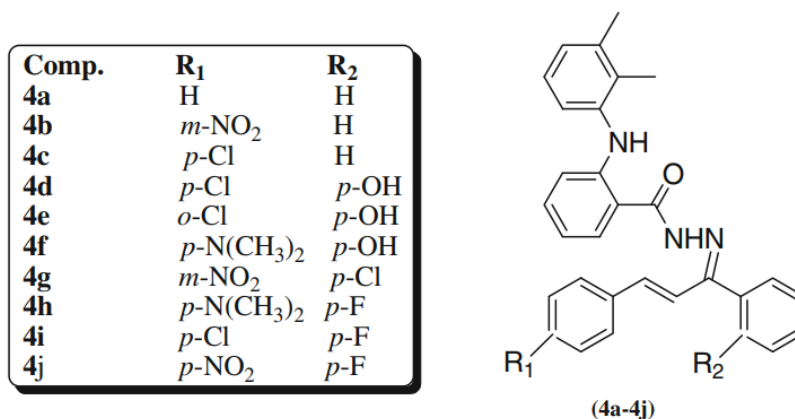


Figura 15. Compuestos derivados de hidrazona del ácido mefenámico unidos a chalcona (4^a- 4j) (Kumar, Chauhan, Sharma, Dashora, & Bera, 2015).

En Irán, Shokri, y colaboradores, desarrollaron y evaluaron una nueva serie de farmacóforos híbridos de hidrazona y ftalimida con el propósito de actuar como agentes analgésicos (figura 16). Tres de estos compuestos se destacaron como ligandos altamente selectivos para la COX-2, con una relación de selectividad para la COX-2 de 0,79., y otros tres de estos compuestos demostraron ser menos tóxicos que el fármaco de referencia utilizado (Shokri, y otros, 2023).

Un estudio reciente donde se tiene registro de una serie de novedosas hidrazonas, denominadas verbenona-hidrazonas (figura 16), donde la actividad analgésica de los compuestos aplicados tópicamente fue comparable a la del fármaco estándar benzocaína, utilizado como analgésico tópico que activa los canales TRPV1 y TRPA1, el tiempo de reacción registrado en la prueba difirió estadísticamente de los datos de control por lo que los canales iónicos TRPA1 y TRPV1 podrían proponerse como uno de los objetivos moleculares para estas hidrazonas (Nesterkina, Barbalat, & Kravchenko, 2020).

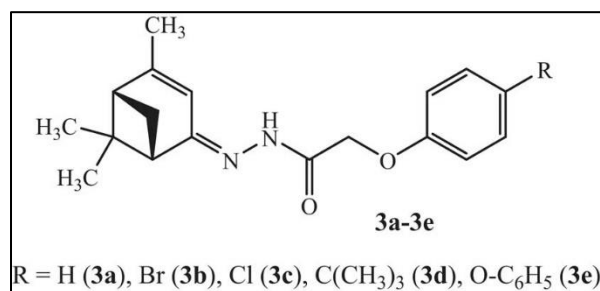


Figura 16. Estructuras de verbenona-hidrazonas (3a-3f) (Nesterkina, Barbalat, & Kravchenko, 2020).

De este modo, las hidrazonas tienen un gran potencial como analgésicos que podrían sustituir a los analgésicos de elección debido a las ventajas que han demostrado tener sobre ellos como mayor eficacia y menos citotoxicidad.

Dolor

Desde tiempos inmemoriales, los seres humanos se han ocupado del tema del dolor, esto se debe a su profundo impacto en la calidad de vida, afectando tanto el bienestar físico como emocional y social. Es comprensible que, a lo largo de la historia, la humanidad haya sentido una fuerte motivación por entender qué es el dolor y cómo manejarlo de manera efectiva. Por ello, ha llevado a cabo numerosos esfuerzos, y sigue haciéndolo, en un intento constante por controlar esta experiencia tan fundamental del hecho de estar vivos.

Según la Asociación Internacional para el estudio del dolor (IASP) el dolor se define como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o similar a la asociada con un daño tisular real o potencial. El dolor es, por tanto, subjetivo y existe siempre que un paciente diga que algo le duele (IASP, 2020).

Tipos de dolor

Si bien hay diversos tipos de dolor según su origen, como el psicológico y el espiritual, en este trabajo se abordará el dolor físico.

El dolor físico puede ser de dos tipos: nociceptivo o neuropático.

El dolor nociceptivo, normal o sensorial se origina por la activación de los nociceptores en la periferia del cuerpo, los cuales transmiten señales nerviosas a través de las vías sensoriales sin dañar los nervios periféricos o el sistema nervioso central (SNC). Este tipo de dolor se divide en tres categorías:

- Dolor somático: es localizado, agudo y bien definido, y puede ser atribuido a una estructura anatómica específica, afecta a la piel, músculos, articulaciones, ligamentos o huesos.
- Dolor visceral: es difuso, mal localizado, se produce por lesiones en órganos internos, por lo que puede ser un síntoma de alguna enfermedad.

- Dolor profundo: se percibe en una zona del cuerpo distinta de donde se origina.

Por otro lado, el *dolor neuropático*, anormal o patológico, surge de una lesión directa en los nervios periféricos, los receptores nociceptivos o el SNC (López Forniés, Iturralde García de Diego, Clerencia Sierra, & Ortiz de Landázuri, 2006) (Sánchez Herrera, 2003).

Mecanismo de dolor.

Los estímulos dolorosos, llamados noxas, son detectados por receptores sensoriales especializados conocidos como nociceptores, presentes en todo el cuerpo. Estos receptores nerviosos, también llamados nociceptivos, son terminaciones libres de fibras nerviosas ubicadas en la piel, las articulaciones, los músculos y las paredes de las vísceras. Hay tres tipos principales: mecanorreceptores, termorreceptores y receptores polimodales, que responden a diferentes tipos de estímulos dolorosos, como presión, temperaturas extremas y otros estímulos químicos, térmicos y mecánicos (Zegarra Piérola, 2007) (López Forniés, Iturralde García de Diego, Clerencia Sierra, & Ortiz de Landázuri, 2006).

El proceso del dolor comienza cuando hay una activación directa debido a una fuerte presión o una lesión celular, es decir, con la activación y sensibilización periférica donde tiene lugar la transducción por la cual un estímulo nociceptivo se transforma en impulso eléctrico. La fibra nerviosa estimulada inicia un impulso nervioso denominado potencial de acción. Esta lesión celular conduce a cambios en el pH (H^+), liberación de potasio (K^+) y producción de ciertas sustancias como las prostaglandinas (PG) y la bradicinina (BK). Estas prostaglandinas hacen que las terminaciones nerviosas sean más sensibles a la bradicinina y otras sustancias que causan dolor.

Además, se produce una activación secundaria, donde los impulsos generados en las terminaciones nerviosas estimuladas se propagan hacia hasta la segunda neurona localizada en el asta dorsal de la médula, es decir, se lleva a cabo la transmisión, lo que resulta en la liberación de neurotransmisores de dolor: péptidos, incluida la sustancia P (SP) que provoca la dilatación de los vasos sanguíneos y la

acumulación de bradicinina, también induce la liberación de histamina de las células cebadas y de serotonina (5TH) de las plaquetas.

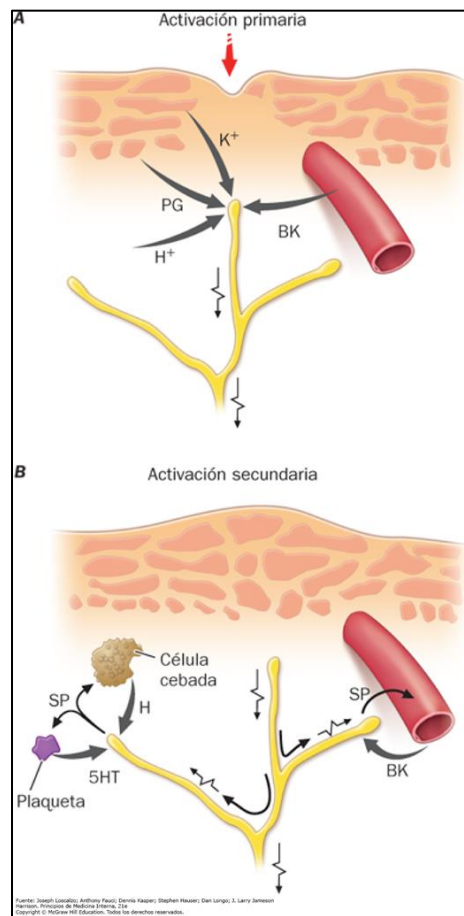


Figura 17. Mecanismo del dolor. Activación primaria y secundaria (Rathmell & Fields, 2022).

Esta neurona secundaria atraviesa la médula espinal hacia el lado opuesto y viaja a través del haz espinotalámico hasta llegar al tálamo. En el tálamo, otra neurona, la de tercer orden, se activa y se dirige hacia la corteza somatosensorial, donde finalmente se percibe la sensación dolorosa (Rathmell & Fields, 2022) (López Forniés, Iturralde García de Diego, Clerencia Sierra, & Ortiz de Landázuri, 2006).

Prostaglandinas y las COX1 y 2

Las prostaglandinas son mediadores locales o cofactores que aumentan la sensibilidad de las terminaciones nerviosas libres.

Durante una lesión las citocinas y bradicininas activan las fosfolipasas presentes en las células dañadas y en las células circundantes, lo que resulta en la liberación de

ácido araquidónico de las membranas celulares y posteriormente en la liberación de prostaglandinas (Ferrandiz Mach, 2015) (Zegarra Piérola, 2007)

Una vez activada la enzima fosfolipasa A2, actúan sobre los fosfolípidos presentes en las membranas celulares, liberando así el ácido araquidónico hacia el citosol, donde se somete a procesos enzimáticos para su metabolismo. Esto da lugar a la formación de diferentes eicosanoides a través de diversas vías metabólicas. Una de las vías más estudiadas es aquella mediada por las ciclooxigenasas (COX), que produce prostanoides como las prostaglandinas y los tromboxanos.

Hay dos formas de la enzima ciclooxigenasa (COX):

La COX-1, que es una enzima constitutiva que se encuentra en la mayoría de las células del cuerpo y regula la producción normal de prostanoides para mantener la homeostasis.

La COX-2, que es una enzima inducible que se activa en respuesta a estímulos inflamatorios como citoquinas pro-inflamatorias, lipopolisacáridos (LPS) bacterianos, factores de crecimiento y sustancias que promueven el crecimiento de tumores. (Cantú, Lee, Donoso, Puyó, & Peredo, 2017).

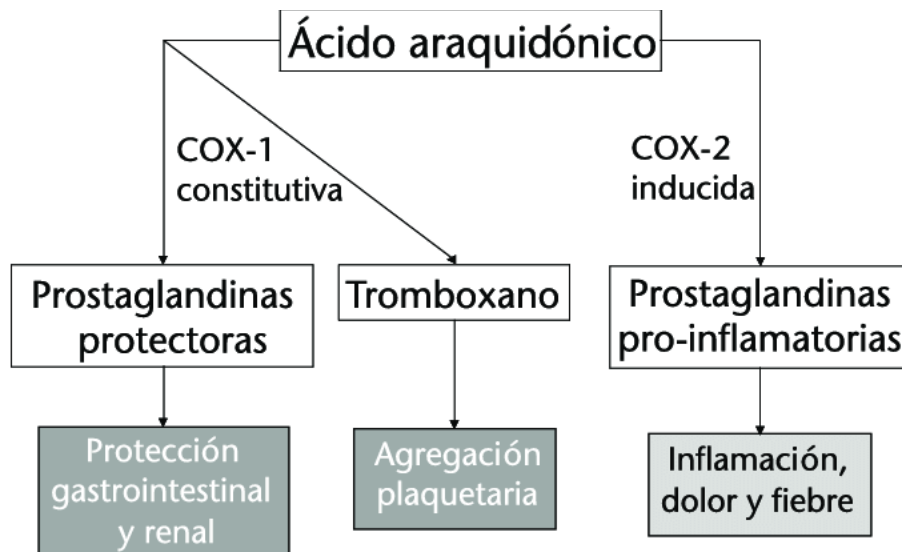


Figura 18. Activación de las COX por ácido araquidónico (Gené Tous, Calvet Calvo, & Iglesias, 2009).

Analgesia

Sí bien el dolor es un tema muy amplio, también es importante entender su contraparte, la analgesia, que se entiende como ausencia de dolor en respuesta a una estimulación que normalmente sería dolorosa. (IASP, 2020).

En la búsqueda de preservar y recuperar la salud, así como aliviar el sufrimiento, los analgésicos se han convertido en una herramienta crucial para aliviar el dolor.

Con fines analgésicos existen fármacos entre los que se agrupan los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los opioides.

Los fármacos opioides, derivados del opio, son ampliamente utilizados para tratar el dolor crónico de moderado a intenso, y ocasionalmente el dolor agudo. Son conocidos por ser los analgésicos más efectivos disponibles. Estos medicamentos, también llamados narcóticos producen depresión respiratoria y no bloquean simplemente el dolor, sino que, alteran la percepción de este, haciendo que sea menos molesto. No son de venta libre debido a que aparte de su efecto analgésico provocan un estado de euforia, lo que podría provocar una dependencia psíquica. Actúan sobre receptores específicos tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en el periférico, lo que resulta en una analgesia intensa. Los receptores μ (μ), κ (κ) y δ (δ) son los principales objetivos de estos fármacos, son receptores metabotrópicos de siete hélices transmembrana acoplados a proteínas G que, tras su activación:

- Inhiben el adenilato ciclasa y, por lo tanto, la síntesis de adenosín monofosfato cíclico (AMPc).
- Abren canales de potasio (K^+) sensibles al voltaje en las neuronas postsinápticas.
- Cierran canales de calcio (Ca^{+2}) dependientes de voltaje de las neuronas presinápticas.

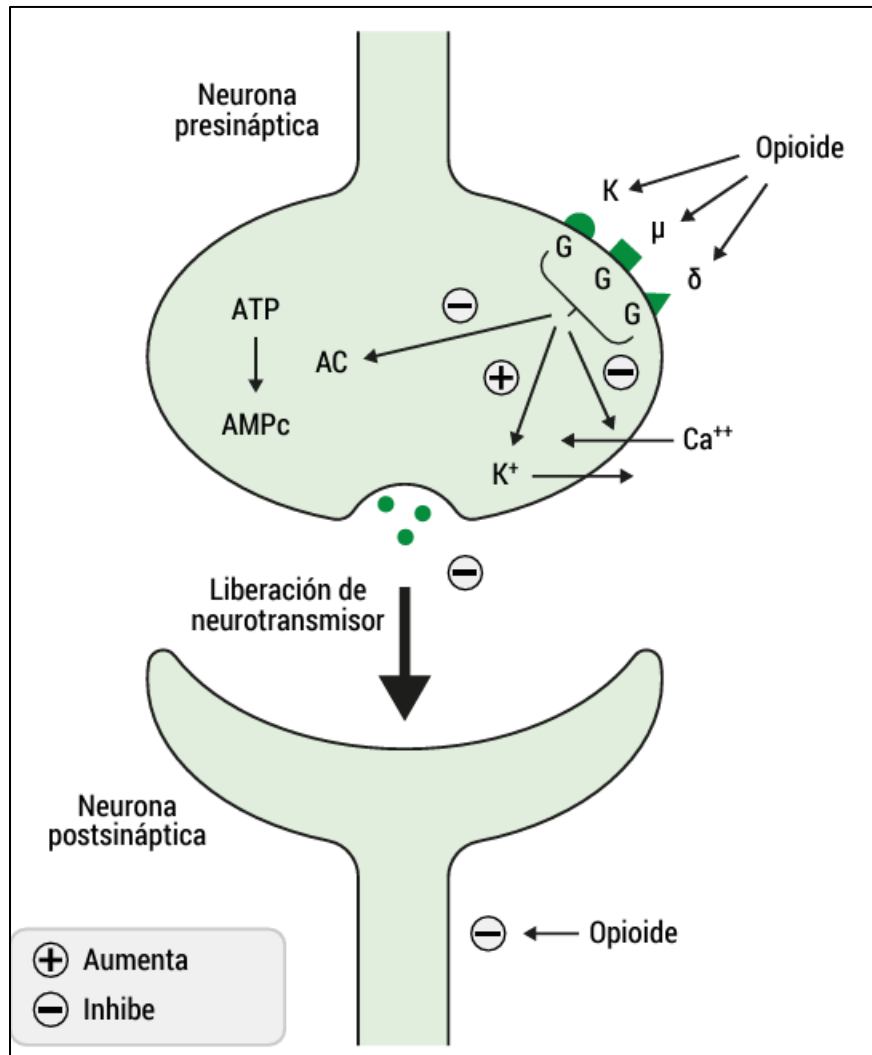


Figura 19. Mecanismo de acción de los Opioides (Moreno Royo & Muedra Navarro, 2020).

Esto reduce la liberación de neurotransmisores y la excitabilidad neuronal, lo que en última instancia ayuda a aliviar el dolor (Moreno Royo & Muedra Navarro, 2020) (Dávila Cabo de Villa, Morejón Hernández, & Acosta Figueredo, 2020).

Por otro lado, los AINEs, constituyen un conjunto variado de fármacos con propiedades terapéuticas y efectos secundarios compartidos. Son eficaces para aliviar dolores de intensidad leve a moderada y también tienen propiedades antipiréticas y antiinflamatorias. Se recomienda utilizar la dosis mínima necesaria durante el menor tiempo posible para evitar efectos adversos, seleccionando el medicamento menos tóxico según las necesidades de inhibición de las enzimas COX-1 y COX-2. A diferencia de los opioides, los AINEs no causan depresión

respiratoria, tolerancia o dependencia física. Sin embargo, su eficacia analgésica tiene un límite y no es dependiente de la dosis; es decir, aumentar la dosis no necesariamente aumenta la analgesia ni la incidencia de efectos secundarios. Son especialmente útiles para tratar el dolor nociceptivo con componente inflamatorio o de tipo cólico.

El mecanismo principal de acción de los AINEs es bloquear la actividad de la COX para inhibir la formación de prostaglandinas. Entender este mecanismo de acción es crucial para comprender y prevenir posibles riesgos y efectos secundarios asociados con el uso de los AINEs, pues uno de los problemas principales son los asociados a la disminución de la protección gastrointestinal que origina la inhibición de la síntesis de prostaglandinas provenientes de la COX-1. (Font, 2002) (Rivera Ordoñez, 2006) (Dávila Cabo de Villa, Morejón Hernández, & Acosta Figueredo, 2020).

Es crucial administrar los analgésicos de manera adecuada para evitar que el cuerpo se vuelva tolerante a ellos. La tolerancia puede ocurrir después de tomarlos repetidamente y sin tener en cuenta la dosis (Hernández Delgadillo & Cruz, 2005) lo que limita su efectividad en el tratamiento del dolor. Por eso, es importante tener un control cuidadoso sobre su uso en la práctica clínica.

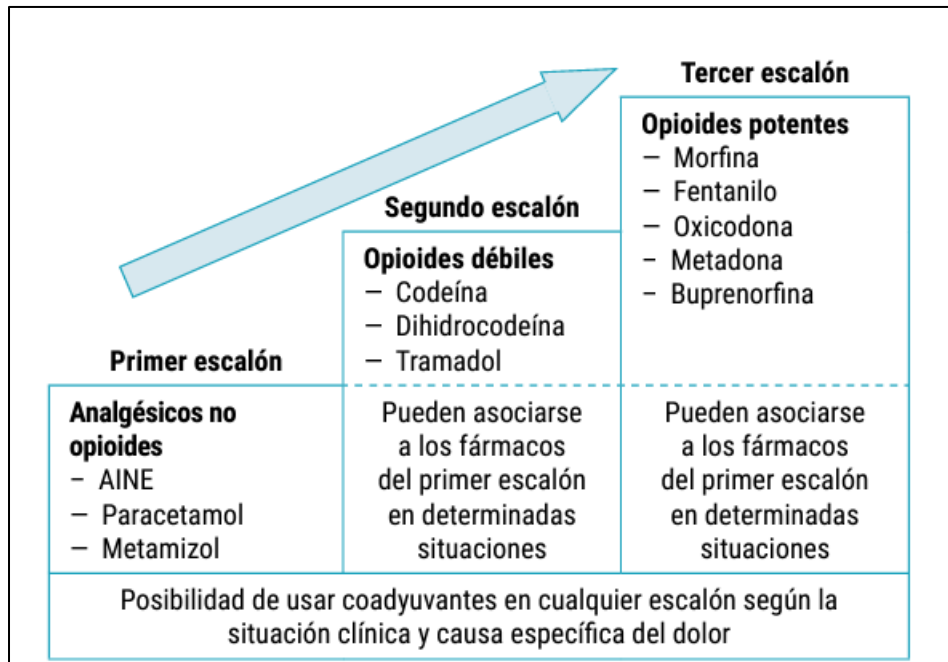


Figura 20. Guía de administración de analgésicos según la OMS (Moreno Royo & Muedra Navarro, 2020).

De manera que, es crucial buscar nuevos analgésicos que no provoquen efectos secundarios y que puedan ser administrados en dosis muy bajas. Esto permitiría un tratamiento más efectivo del dolor sin los riesgos asociados a dosis altas o efectos adversos.

Modelos de analgesia

A lo largo del tiempo, se han ideado numerosas pruebas para evaluar la sensación de dolor en animales, y las especies más comúnmente empleadas en investigaciones sobre este tema son las ratas y los ratones. En estas pruebas se analiza la fuerza y duración de la respuesta o la fuerza y duración del estímulo, esto mediante el registro de comportamientos de escape, salto, movimiento o ataque como expresiones de dolor. (Santacruz, Oyuela Vargas, Briñez Orta, Echeverry, & Lareo, 2008)

Existen varios modelos para la investigación del dolor en animales, Tjølsen, A. y Hole, K. describen algunos de ellos (1997):

Tabla 1. Modelos de analgesia más empleados.

MODELO	DESCRIPCIÓN
Prueba de retirada de cola	Utilizada en ratas y ratones. La cola se calienta por inmersión en agua caliente mantenida a una temperatura constante hasta que el animal mueva la cola.
Prueba del movimiento de cola	Utilizada en ratas y ratones. El calor radiante se concentra en la cola y se mide el tiempo hasta que el animal aleja la cola del rayo.
Pruebas de presión en la pata	En ambas pruebas se aplica una presión creciente, a una pata o a la cola, respectivamente, y se registra la fuerza cuando ocurre la respuesta de retirada o vocalización.
Prueba de pellizco en la cola	
Titulación de choque	Se registra la respuesta a descargas eléctricas en las patas como medida de la sensibilidad al dolor en ratas.
Prueba de placa caliente	La prueba mide la latencia de respuestas nociceptivas de ratones (saltos, patadas, bailes y lamida de pata trasera) colocados en la placa caliente a una temperatura constante de 55 °C.
Prueba de placa caliente con aumento de temperatura	Aquí, la temperatura de la placa se establece por debajo del umbral de dolor, y la temperatura se aumenta gradualmente hasta que se observa una respuesta (lamida de pata trasera).
Prueba de Formalina	Aquí se inyecta formalina diluida de forma subcutánea en una pata, y se mide el comportamiento nociceptivo (en ratones y ratas, por ejemplo, lamido y mordedura de la pata inyectada)
Inducción Química de Retorcimiento: El Ensayo de Estiramiento Abdominal.	En esta prueba se aplica una inyección intraperitoneal de un irritante que induce un síndrome llamado 'retorcimiento', que consiste en contracciones del abdomen, torsión y giro del tronco, y extensión de las extremidades traseras. Se ha demostrado que varios compuestos provocan este síndrome, como fenilquinona, ácido acético, bradicinina y acetilcolina (Tjolsen, A. & Hole, K., 1997).

OBJETIVO GENERAL

Obtener la hidrazona derivada del 2-nitrobenzaldehído y evaluar su efecto analgésico en ratas mediante la prueba de retirada de cola.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar una hidrazona a partir de: fenilhidracina y 2-nitrobenzaldehído.
2. Caracterizar el producto obtenido mediante IR, RMN de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas y punto de fusión.
3. Evaluar el efecto analgésico de la hidrazona en ratas mediante la prueba de retirada de cola.

METODOLOGÍA

Para este trabajo la metodología se dividió en dos partes: “síntesis y caracterización” y “prueba de analgesia”.

Síntesis y caracterización de la hidrazona resultante de la reacción entre el 2-nitrobenzaldehído y la fenilhidracina.

Equipos.

El seguimiento de la reacción se realizó por cromatografía en capa fina en una mezcla 9:1 hexano/acetato de etilo, empleando cromatoplasmas analíticas de aluminio TLC Silica Gel 60 F254 Aluminium sheets 20x20 de la marca Merck, adaptadas a 2.5x5 cm, aplicando para su revelado una lámpara de luz UV de 254 nm.

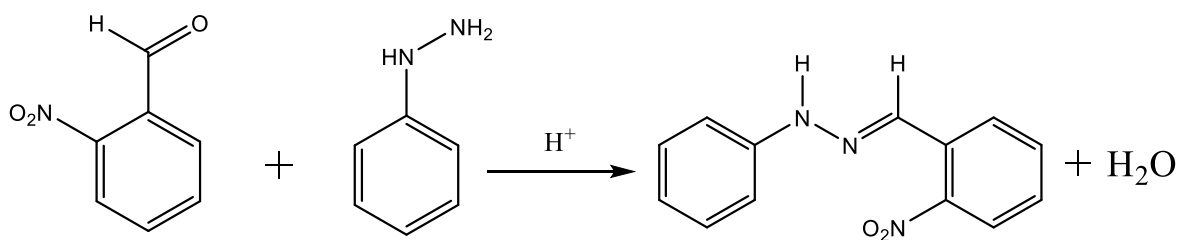
Los puntos de fusión se determinaron utilizando un fusiómetro marca Fisher Johns en grados Celsius y no fue corregido.

La caracterización por espectrometría de masas se realizó mediante el método de ionización de impacto electrónico (IE), en un intervalo de lectura m/z de 0-800, haciendo uso de un espectrómetro de masas marca JEOL modelo JMS-700. Los espectros de masas se obtuvieron con una energía de ionización de 70 eV a una temperatura de 250 °C en la cámara de ionización.

Los espectros de FT-IR se realizaron en un espectrofotómetro Digilab Scimitar FT-IR. Todas las mediciones se realizaron a temperatura ambiente en soporte de KBr. El número de onda se expresan en cm^{-1} .

Los espectros de RMN de ^1H y de ^{13}C se obtuvieron en equipos Varian de 300 MHz y Bruker de 500 MHz. Todos los experimentos se realizaron usando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y acetonitrilo (CD_3CN) como disolvente. Los desplazamientos químicos se expresan en ppm (δ), las constantes de acoplamiento en Hz (J) y la multiplicidad de las señales de ^1H es indicada con las siguientes abreviaturas: s=simple, d=doble, dd=doble de dobles, t-triple, td-triple dobleteada, m=múltiple y sa=señal ancha.

Diagrama de reacción



Esquema 1. Reacción entre el 1-(2-nitrobenzildeno)-2-fenilhidrazona.

Síntesis del compuesto

En un matraz de bola se pesaron cantidades equimolares de 2-nitrobenzaldehído (0.1242 g) y clorhidrato de fenilhidracina (0.1880 g). Posteriormente, se añadieron 15 ml de etanol como disolvente de reacción. La mezcla resultante se sometió a reflujo con agitación, y a los cinco minutos, comenzó a gotear.

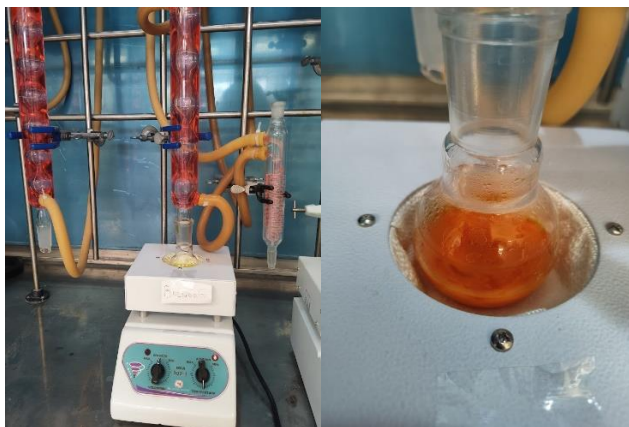


Figura 21. Reacción a reflujo entre 2-nitrobenzaldehído y fenilhidracina.

Mediante la TLC se observaron los diferentes valores de R_f, correspondientes al del producto, la fenilhidracina y el 2-Nitrobenzaldehído. Después de 30 min iniciada la reacción, se llevó a cabo una segunda placa, en la cual ya no se observaba la presencia de materia prima, solo se observaba el valor del R_f del producto, lo cual indicaba que ambos reactivos se habían consumido. De modo que, la reacción se detuvo a los 40 minutos del goteo y se permitió que la mezcla se enfriara a temperatura ambiente. La reacción se realizó rápida y eficientemente al emplear la fenilhidracina en su forma de clorhidrato. Si bien se probó anteriormente realizar la

reacción añadiendo más ácido clorhídrico como catalizador, la placa mostraba que sí se obtenía un producto mayoritario, pero además se obtenían otros subproductos, por lo que se optó llevar a cabo la reacción sin catalizador.

Para el secado del producto, este se colocó en un rotavapor y transcurrida media hora, se eliminó el etanol obteniéndose así un polvo cristalino de color rojizo.

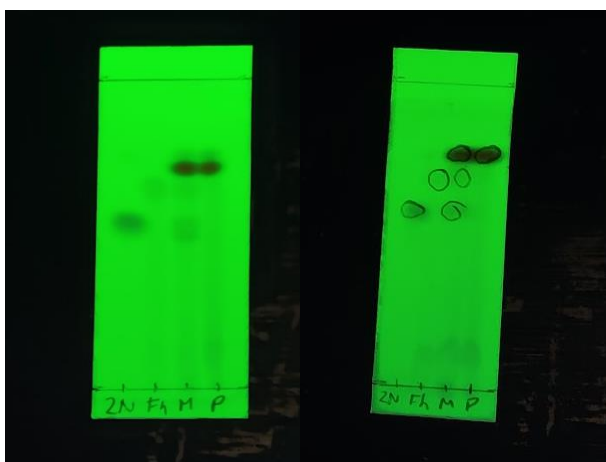


Figura 22. Placas de CCF en luz UV. A la izquierda se muestra la placa tomada a los 5 minutos cuando empezó a gotear el reflujo y a la derecha la placa tomada a la media hora después de comenzar la reacción (donde 2N=2-nitrobenzaldehído, Fh=fenilhidracina, M=mezcla y P=producto)

1-(2-nitrobenzilideno)-2-fenilhidrazona (2NbFhdzn)

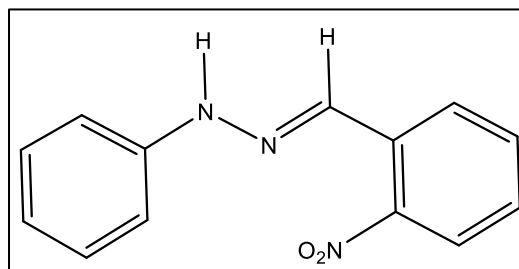


Tabla 2. Resultados de la 1-(2-nitrobenzilideno)-2-fenilhidrazona

Aspecto físico	Polvo naranja-rojizo
Rendimiento (%)	83
M.S.-E.I. (m/z)	241 M ⁺
Punto de fusión (°C)	148-150
IR (KBr) (cm ⁻¹):	3296 (N-H); 3103-3007, 904-692 (aromático-CH); 1602 (C=N), 1541, 1477 (aromático, C=C); 1257 (C-N), 1535, 1359 (NO ₂)
RMN	<p>¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ ppm: 6.87 (dd, <i>J</i> = 7.3, 1.3 Hz, 1H), 7.13 (dd, <i>J</i> = 8.6, 1.0, 2H), 7.27 (dd, <i>J</i> = 8.6, 2H), 7.45 (dd, <i>J</i> = 7.4, 1.4, 1H), 7.65 (dd, <i>J</i> = 7.4, 1H), 7.92 (dd, <i>J</i> = 8.2, 1.1, 1H), 8.20 (dd, <i>J</i> = 8.0, 1.2, 1H), 8.25 (s, 1H), 9.13 (s, 1H).</p> <p>¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ ppm: 113.5 (CAr), 121.2 (CAr), 125.1 (CAr), 128.3 (CAr), 129.2 (CAr), 130.2 (CAr), 131.1 (C-NH), 132.5 (C=N), 133.9 (CAr), 145.5 (Cq-C=N), 148.2 (C-NO₂)</p>

Prueba de analgesia (retirada de cola)

Para esta segunda parte de la tesis, se recurrió a la prueba de analgesia “retirada de cola” con el propósito de observar el comportamiento de fármacos analgésicos y del compuesto obtenido (**2NbFhdzn**) en un modelo biológico.

Material, Equipo y Reactivos.

Se utilizaron cinco ratas macho de la cepa Long-Evans con un peso de 230-310 g que fueron proporcionados por el Bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla los cuales, estuvieron previamente en un ciclo luz/oscuridad 12/12 h, agua y alimento ad libitum. Además, todos los procedimientos experimentales, así como los protocolos para el cuidado y uso de animales para experimentación fueron cumplidos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

Para pesar las ratas se utilizaron balanzas granatarias de canastilla para animales. Para la aplicación de los fármacos se utilizó un inmovilizador cilíndrico para roedores y jeringas tipo insulina, además de un cronómetro para medir los tiempos de respuesta.

El calentamiento de agua se llevó a cabo con una parrilla, un vaso de precipitado de un litro y un termómetro.

Como fármaco analgésico de referencia se utilizó Clorhidrato de Tramadol, además, el compuesto sintetizado **2NbFhdzn** y se empleó DMSO (dimetilsulfóxido) para solubilizar a la hidrazona y el tramadol.

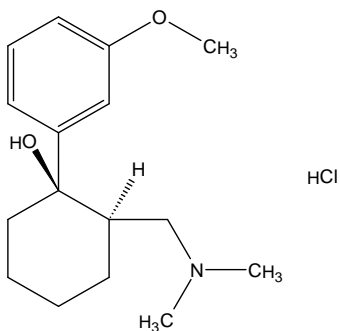


Figura 23. Clorhidrato de Tramadol

Valoración del efecto analgésico.

Se marcaron cada una de las ratas y se pesaron para administrar las cantidades adecuadas de compuesto de acuerdo con su peso.

Tabla 3. Pesos de las ratas empleadas en el estudio

Marca	Fármaco o compuesto	Peso (g)
T	Clorhidrato de Tramadol	306
DS	DMSO	272
1	Rata 1 para 2NbFhdzn	238
2	Rata 2 para 2NbFhdzn	254
3	Rata 3 para 2NbFhdzn	270

El tramadol se administró a una dosis de 20 mg/Kg y el **2NbFhdzn** se administró a una dosis de 30 mg/Kg. Los compuestos se disolvieron en 0.3 mL de DMSO.

Para preparar las concentraciones de los fármacos y del **2NbFhdzn** se realizaron los cálculos correspondientes (ver Anexo 1).

La prueba de retirada de cola implica inducir dolor de manera experimental en animales de laboratorio y observar cuánto tiempo tarda en manifestarse un comportamiento o síntoma que indique dolor. Este proceso se realiza tanto sin como con la administración de un analgésico. El dolor se genera físicamente sumergiendo la cola de los animales en agua a una temperatura de 58°C (BUAP, 2022) (Tjølsen & Hole, 1997).

Se llenó con agua un vaso de precipitado y se llevó a una temperatura de 58 °C, esta temperatura debe ser lo más exacta posible, por lo cual se monitoreó todo el tiempo con ayuda de un termómetro para mantenerla constante.

Se colocó a la rata en una cámara cilíndrica para limitar su movimiento, dejando su cola expuesta. Luego, su cola fue rápidamente sumergida en un recipiente con agua a 58°C, y se inició un cronómetro para medir cuánto tiempo tardó la rata en sacudir la cola o realizar otros movimientos corporales en respuesta al dolor. Después de dos minutos, el proceso de sumergir la cola de la rata en agua a 58°C se repitió dos

veces más para obtener un total de tres mediciones basales. Esto permite obtener una base de referencia más sólida para evaluar la respuesta de la rata al dolor.



Figura 24. Manejo de las ratas Cepa Long-Evans. Izquierda (introducción de la rata en la trampa inmovilizadora). Derecha (introducción de la cola de la rata en agua caliente).

Después, se administró a la rata el fármaco por vía intraperitoneal en la dosis calculada, posteriormente se esperó un período de 60 minutos para permitir que el fármaco hiciera efecto. A continuación, se realizaron tres mediciones adicionales, con intervalos de tres minutos entre cada una, manteniendo la temperatura del agua a 58°C. Estas mediciones adicionales se llevaron a cabo para evaluar si el fármaco tenía algún efecto en la respuesta de la rata al dolor, comparando las mediciones realizadas antes y después de la administración del fármaco.



Figura 25. Administración de los fármacos y prueba de analgesia

Este procedimiento se llevó a cabo con cada una de las ratas, administrándoles el fármaco correspondiente. A continuación, se observan los resultados de cada rata.

Tabla 4. Tiempo en segundos en que la rata sintió dolor en la prueba de analgesia.

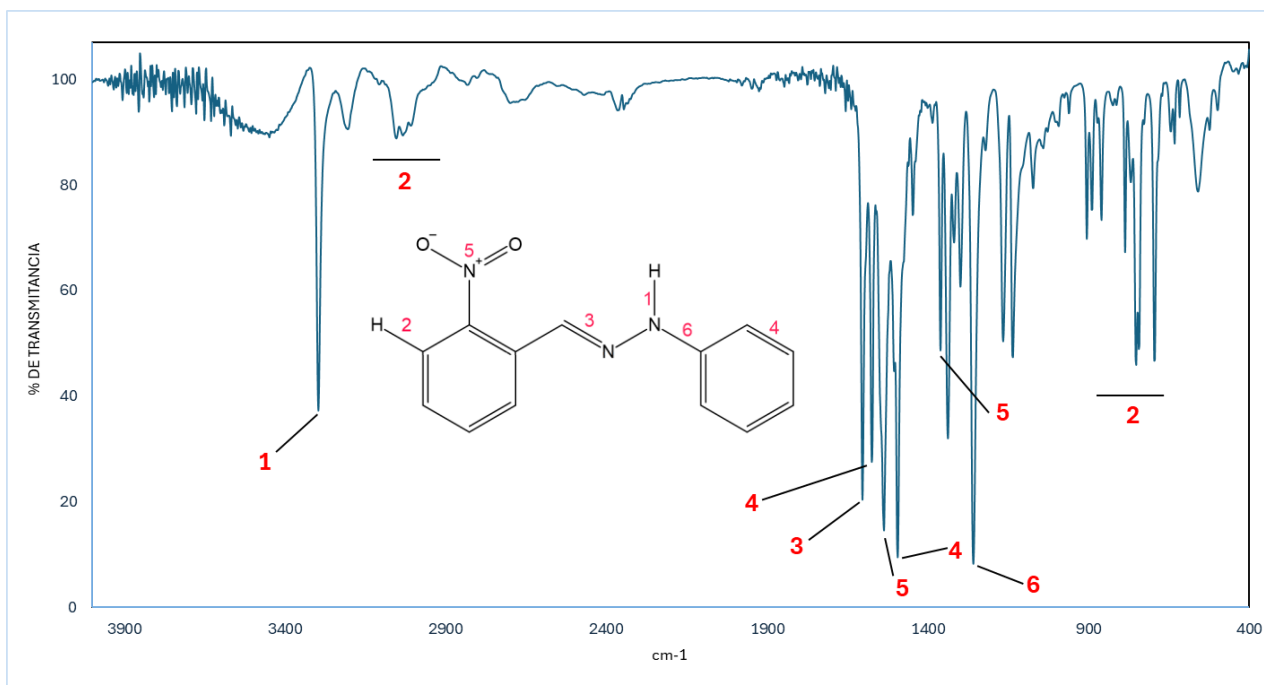
Rata Tramadol Control (+)	Basales. Sin fármaco (Tiempo en segundos)	60 min después de la administración. (Tiempo en segundos)
1° medición	0.83	2.30
2° medición	2.11	3.42
3° medición	2.56	3.31
Rata Blanco Control (-) Solo se administró DMSO*		
1° medición	2.28	1.47
2° medición	1.21	1.04
3° medición	1.28	1.33

Rata 1 Con 2NbFhdzn	Basales. Sin fármaco (Tiempo en segundos)	60 min después de la administración. (Tiempo en segundos)
1° medición	2.20	3.00
2° medición	1.46	4.36
3° medición	2.98	5.96
Rata 2 Con 2NbFhdzn		
1° medición	1.48	4.11
2° medición	2.53	3.60
3° medición	2.90	3.47
Rata 3 Con 2NbFhdzn		
1° medición	2.93	3.31
2° medición	2.31	4.86
3° medición	2.41	3.10

Posteriormente los datos obtenidos se procesaron en el programa GraphPad Prism 8, que es un programa de procesamiento de datos y gráficos, para su análisis estadístico. (Graph Pad, 2017)

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Espectroscopía FTIR



Espectro 1. Espectro de FTIR de la 1-(2-nitrobenzilideno)-2-fenilhidrazona

Tabla 5. Señales de Infrarrojo características de la 1-(2-nitrobenzilideno)-2-fenilhidrazona

Número	Número de onda (cm ⁻¹)	Enlace
1	3296	N-H
2	3103-3007 904-692	C-H aromáticos
3	1602	C=N
4	1541 1477	C=C aromáticos
5	1535 1359	NO ₂
6	1257	C-N

Como se puede observar en el espectro de infrarrojo, existe una banda característica de la tensión del enlace N-H alrededor de 3296 cm^{-1} y una pequeña banda ancha con varios picos que se encuentra entre $3013\text{-}3005\text{ cm}^{-1}$, al igual que el fragmento $858\text{-}692\text{ cm}^{-1}$, los cuales corresponden a los enlaces C-H de los anillos aromáticos.

La banda asociada al enlace C=N en el espectro de infrarrojo se observa en el rango que va aproximadamente de 1600 a 1680 cm^{-1} , en el espectro anterior se nota esta banda alrededor de 1602 cm^{-1} , esto es un buen indicativo puesto que si se siguiera teniendo el enlace C=O del nitrobenzaldehído, se observaría una banda bien definida en el rango de número de onda de aproximadamente 1690 a 1750 cm^{-1} , misma que no aparece, es decir no existe presencia de materia prima.

En 1541 y 1477 cm^{-1} se encuentran dos bandas que pertenecen al enlace C=C de los aromáticos. También se observan las dos bandas distintivas del NO_2 en 1535 y 1539 cm^{-1} .

La banda correspondiente al enlace C-N de tipo amino en el espectro se puede observar en 1257 cm^{-1} .

Resonancia Magnética Nuclear

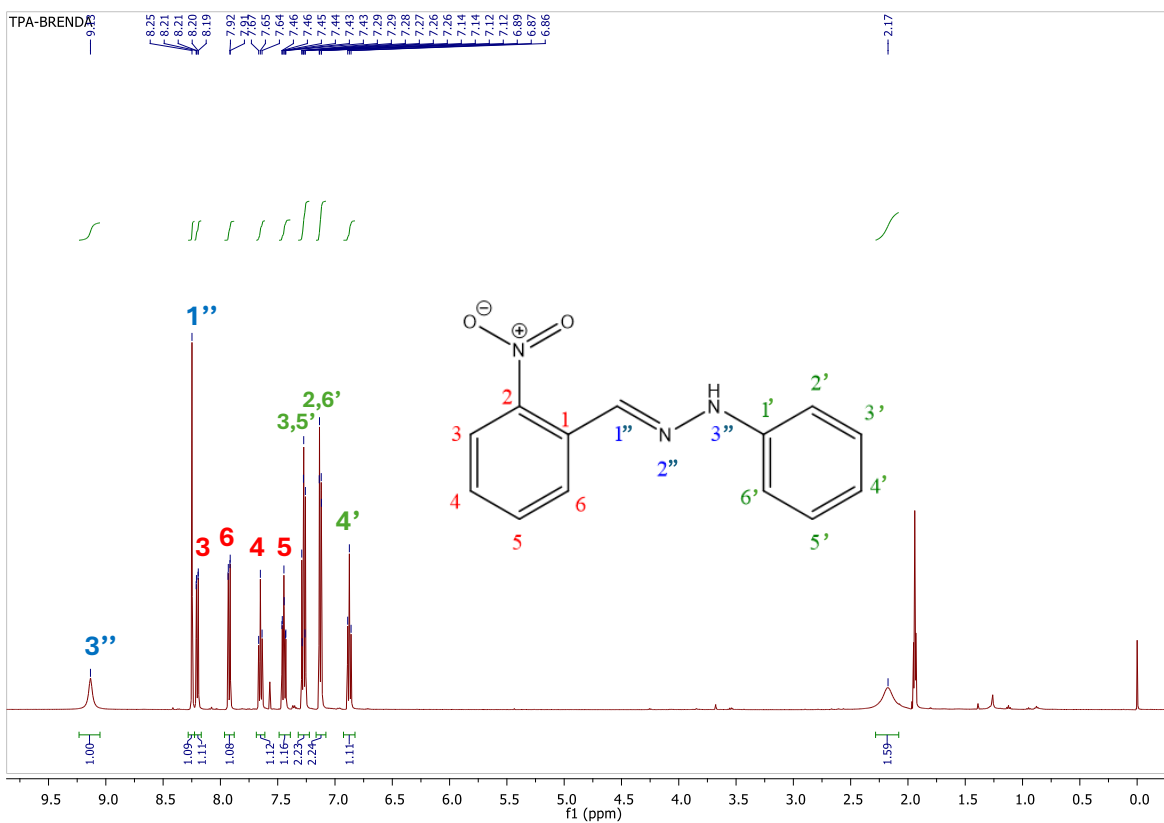
Como parte de la caracterización de compuestos orgánicos se utiliza la técnica de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) que consiste en mantener un campo magnético constante y emitir pulsos de radiofrecuencia para excitar los núcleos atómicos (para cambiar su estado de spin) que luego emiten radiación al volver a su estado inicial. La intensidad de esta frecuencia disminuye con el tiempo a medida que todos los núcleos vuelven a su estado inicial. Una computadora recoge la intensidad respecto al tiempo y convierte dichos datos en intensidad respecto a frecuencia (Laurella, 2017). Los resultados fueron los siguientes:

Tabla 6. Principales señales de RMN de ^1H y de ^{13}C de la 1-(2-nitrobencilideno)-2-fenilhidrazona

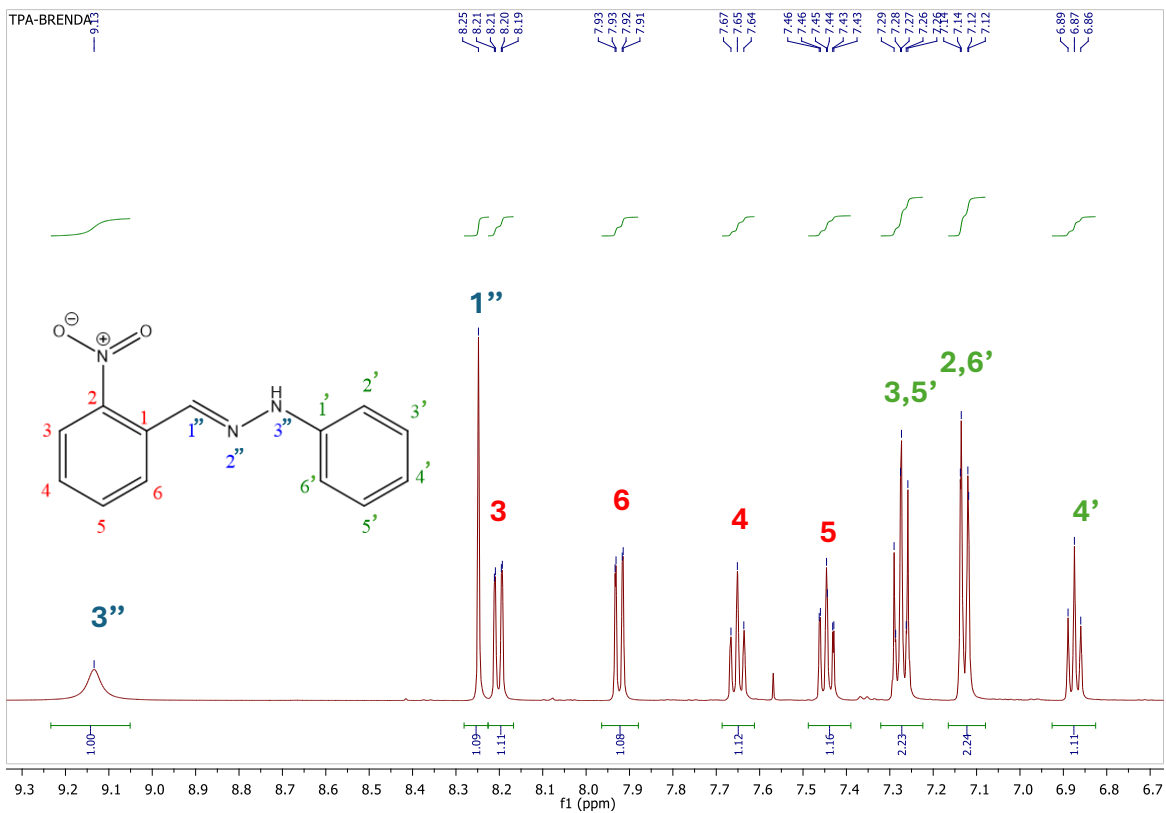
Posición	δ_{H}	δ_{C} , tipo	COSY
1''	8.25, s, 1H	132.5	
3''	9.13, sa, 1H		
1	-	145.5	
2	-	148.2	
3	8.20, dd, (8.0, 1.2 Hz), 1H	128.3, CH	
4	7.65, dd, (7.4 Hz), 1H	133.9, CH	H-3, H-5
5	7.45, dd, (7.4, 1.4 Hz), 1H	129.2, CH	H-4
6	7.92, dd, (8.2, 1.1 Hz), 1H	125.1, CH	H-5
1'	-	131.1	
2, 6'	7.13, dd, (8.6, 1.0 Hz), 2H	113.5, CH	H-3, H-5
3, 5'	7.27, dd, (8.6 Hz), 2H	130.2, CH	H-2, H-4, H-6
4'	6.87, dd, (7.3, 7.3 Hz), 1H	121.2, CH	H-3, H-5

Espectro RMN ^1H , 500 MHz, CD_3CN

En el espectro RMN de ^1H se observa una señal doble de dobles en 6.87 ppm con una $J = 7.3, 1.3$ Hz que integra para 1H aromático correspondiente al H-4'. En 7.13 y 7.27 ppm hay dos señales de doble de dobles con una $J = 8.6, 1.0$ que integran cada una para 2H que corresponden a los H aromáticos 2,6' y 3,5' respectivamente. En 7.45 se ve una señal doble de dobles con una $J = 7.4, 1.4$ que integra para 1H perteneciente al H aromático 5. En 7.65 ppm hay un doble de dobles con un desplazamiento $J = 7.4$ que integra para 1H que pertenece a la señal del H aromático 4, mientras que 7.92 ppm hay una señal doble de dobles con una $J = 8.2, 1.1$ que integra para 1H aromático. En 8.20 ppm se observa una señal doble de doble con una $J = 8.0, 1.2$ que integra para 1H y corresponde al H aromático 3. En 8.25 ppm se presenta una señal simple que integra para 1H correspondiente al H 1''. Finalmente, en 9.13 se encuentra una señal ancha que integra para 1H y corresponde al H 3''.



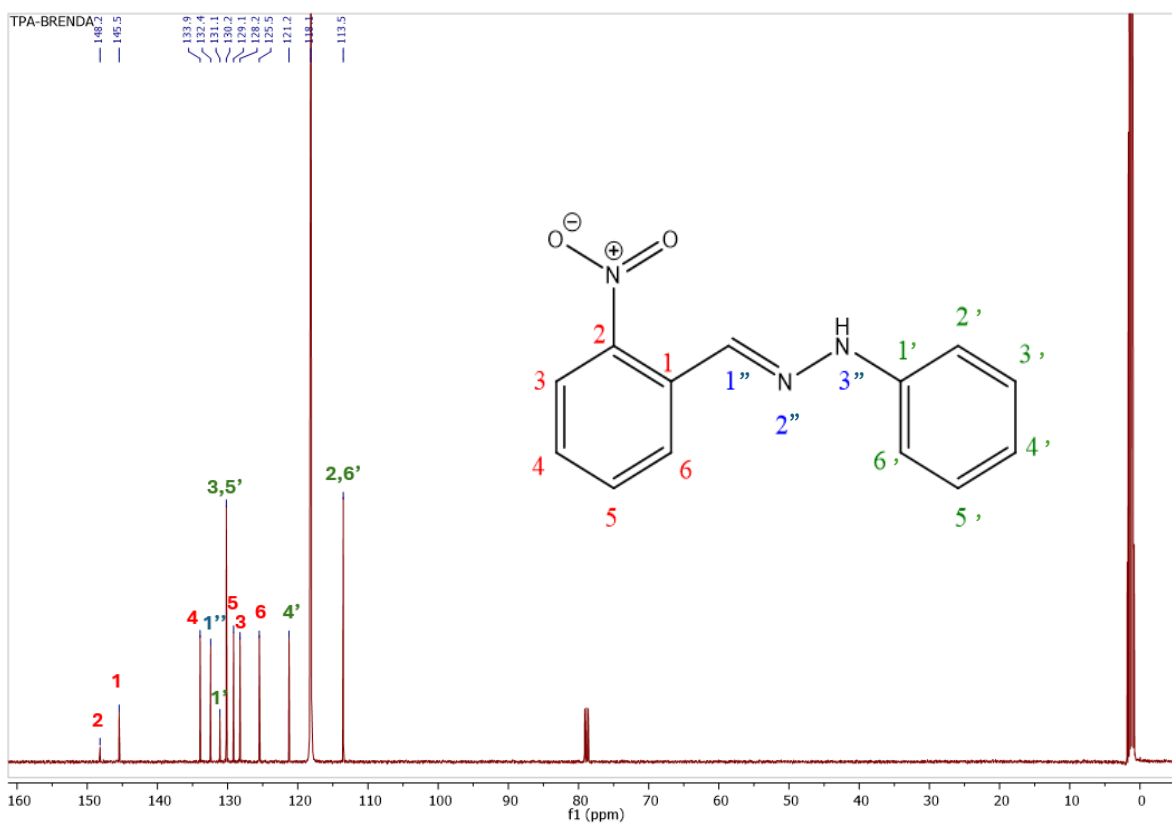
Espectro 2. RMN ^1H , 500 MHz, CD_3CN de la 1-(2-nitrobenzylideno)-2-fenilhidrazona



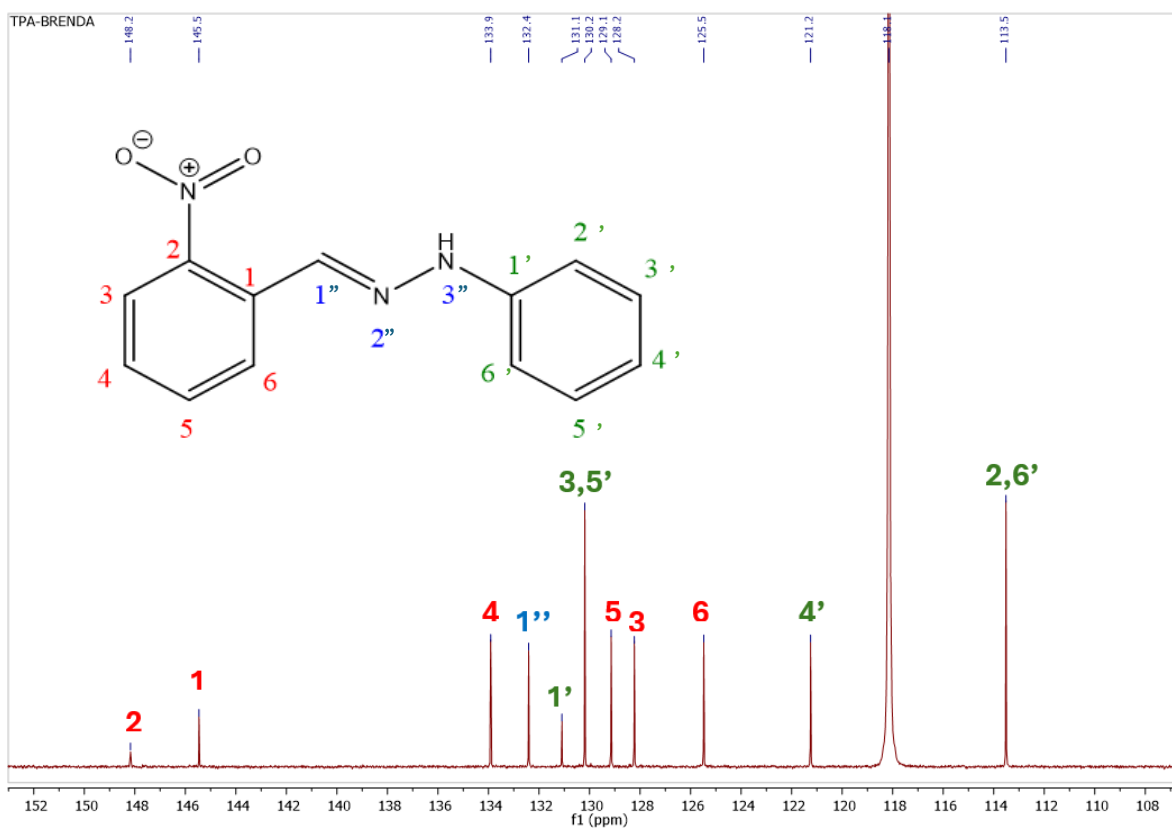
Espectro 3. RMN ^1H , 500 MHz, CD_3CN (ampliación) de la 1-(2-nitrobenzylideno)-2-fenilhidrazona

Espectro RMN ^{13}C , 125 MHz, CD_3CN

En el espectro RMN de ^{13}C se observa una señal a 113.5 ppm de los carbonos aromáticos correspondientes a los carbonos 2,6'. En 121.2 ppm se presenta una señal para un carbono aromático que pertenece al carbono 4'. En 125.1 ppm esta la señal del carbono aromático 6. Se muestra en 128.3 ppm la señal del carbono aromático 3, mientras que en 129.2 ppm se ve la señal 5. En 130.2 ppm se observa la señal de los carbonos aromáticos 3,5'. En 131.1 se ve la señal del carbono 1'' (C-NH). En 132.5 ppm se puede apreciar la señal del carbono 1'' (C=N). En 133.9 ppm se encuentra la señal del carbono aromático 4. Así en 145.5 ppm se presenta la señal del carbono cuaternario 1 (Cq-C=N). Y finalmente en 148.2 ppm se encuentra la señal del carbono aromático 2 (C-NO₂).



Espectro 4. Espectro RMN de ^{13}C , 125 MHz, CD_3CN , de la 1-(2-nitrobenzylideno)-2-fenilhidrazona

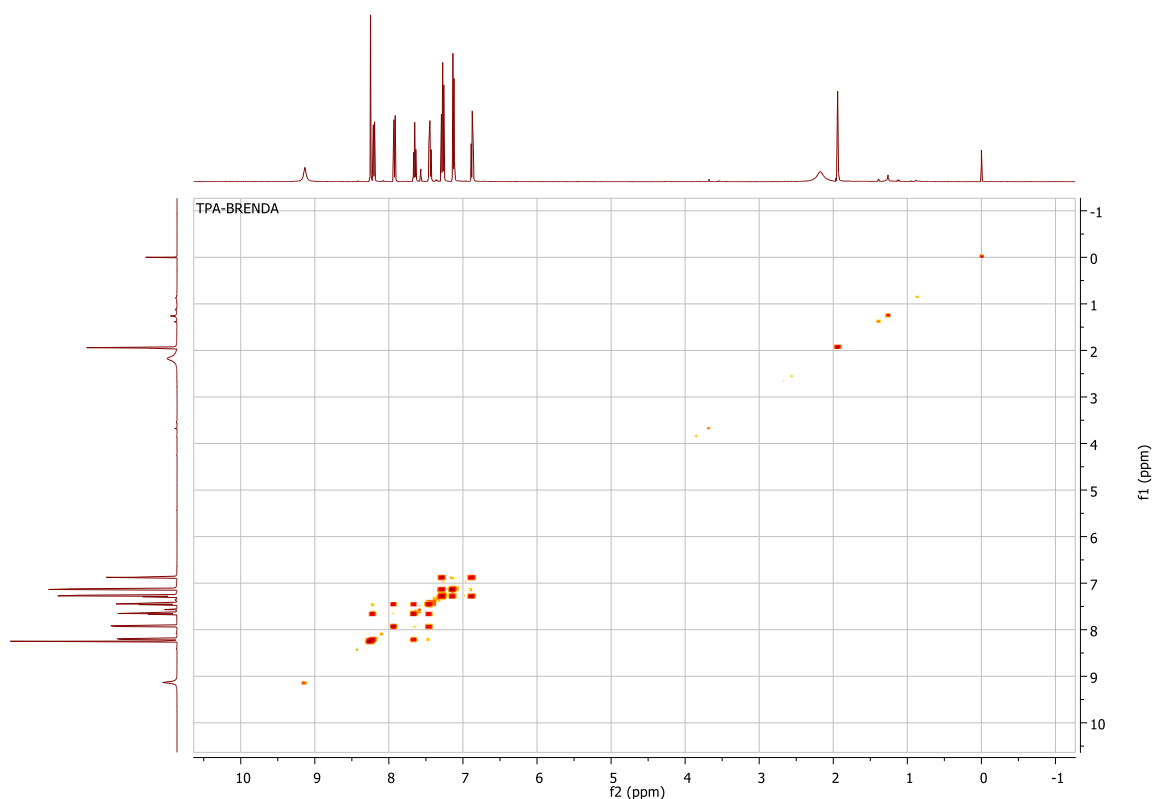


Espectro 5. Espectro RMN de ^{13}C (ampliación) 125 MHz, CD_3CN , de la 1-(2-nitrobenzylideno)-2-fenilhidrazona

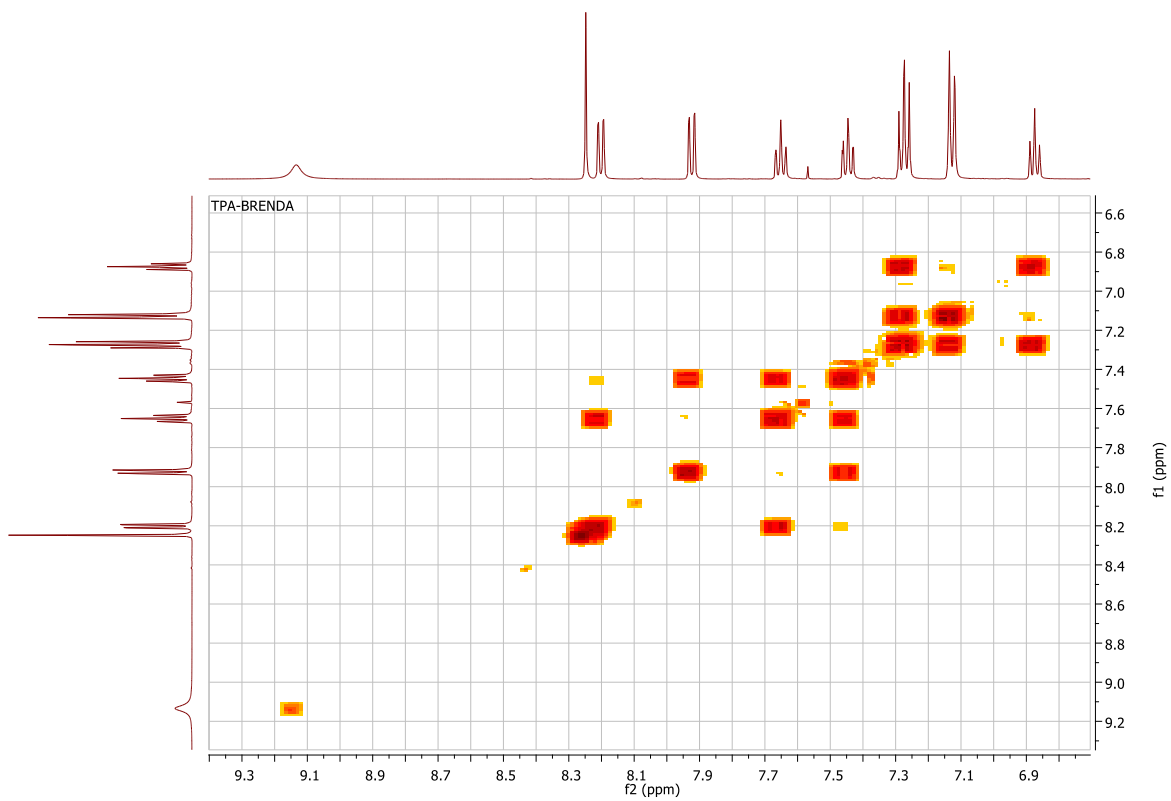
Espectros de 2 dimensiones.

Si bien se obtuvieron los espectros de ^1H y ^{13}C deseados, se decidió realizar espectros de 2 dimensiones, COSY y HSQC, para tener una información complementaria de la molécula, puesto que los espectros anteriores dan información del entorno químico individual de los protones y carbonos, los espectros de dos dimensiones permiten determinar cómo los átomos de hidrógeno y carbono están interconectados en la molécula, lo que es esencial para una comprensión completa de la estructura molecular.

Espectro COSY

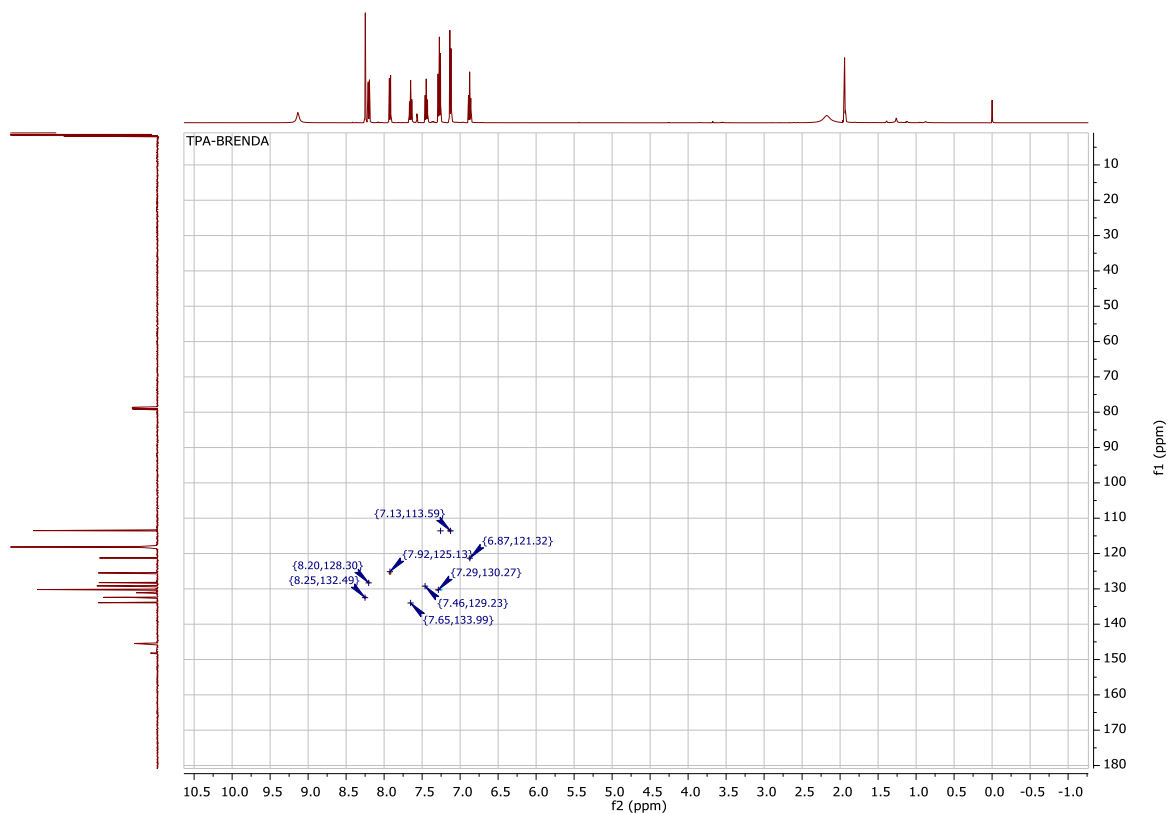


Espectro 6. COSY RMN, (^1H 500 MHz, CD_3CN , ^{13}C /125 MHz, CD_3CN) de la 1-(2-nitrobenzylideno)-2-fenilhidrazona



Espectro 7. COSY aumentado (^1H 500 MHz, CD_3CN , ^{13}C /125 MHz, CD_3CN) de la 1-(2-nitroencilideno)-2-fenilhidrazona

Espectro HSQC



Espectro 4. Espectro HSQC, (^1H 500 MHz, CD_3CN , ^{13}C /125 MHz, CD_3CN) de la 1-(2-nitrobenzylideno)-2-fenilhidrazona



Espectro 5. Espectro HSQC aumentado, (^1H 500 MHz, CD_3CN , ^{13}C /125 MHz, CD_3CN) de la 1-(2-nitrobenzylideno)-2-fenilhidrazona

Los resultados de caracterización son equiparables con la literatura para el **1-(2-nitrobenzylideno)-2-fenilhidrazona** (Achagar, y otros, 2021).

Resultados de prueba de analgesia

Con los datos de cada uno de los fármacos utilizados se realizaron pruebas estadísticas T pareadas.

Al aplicar la prueba T pareada ($P < 0.05$) para Tramadol, que es un fármaco analgésico, indicó que cuenta con una diferencia significativa, esto quiere decir que, se obtuvo el resultado esperado, debido a que el tramadol representa el control positivo, es decir, sí presenta una acción analgésica.

Lo dicho anteriormente se observa en el Gráfico 1 donde se presenta la comparación de medias del tiempo entre la Pre-administración (1.8 segundos) y la Post-administración después de 60 minutos (3.0 segundos), es decir, la comparación entre las medias de tiempo de respuesta ante el estímulo doloroso antes de la administración del fármaco y después de 60 minutos de la administración del fármaco. Esto significa que, después de la administración del tramadol se está teniendo un efecto al reducir la respuesta al dolor.

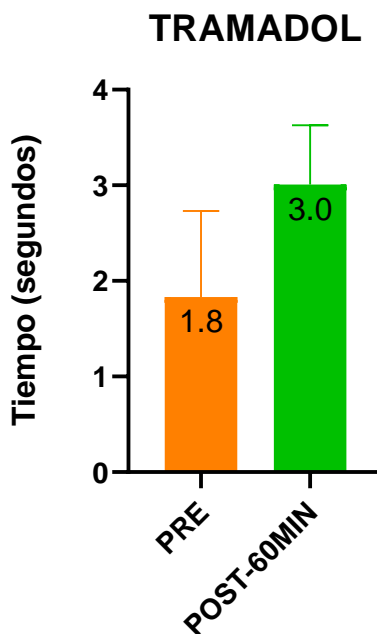


Gráfico 1. Comparación de medias de tiempo entre la Pre y Post administración del Tramadol. Donde visualmente se muestra una diferencia entre los tiempos de respuesta al estímulo doloroso antes y después de la administración del fármaco.

Por el contrario, al aplicar la prueba T pareada ($P < 0.05$) para DMSO, que es el compuesto utilizado como vehículo, indicó que NO cuenta con una diferencia significativa lo que quiere decir que se obtuvo el resultado esperado, puesto que el DMSO representa el control negativo y no debe presentar una acción analgésica en el modelo animal.

Lo anterior se muestra en el Gráfico 2, en donde se presenta la comparación de medias del tiempo de respuesta ante el estímulo doloroso entre la Pre-administración (1.59 segundos) y la Post-administración de 60 minutos (1.28 segundos) de DMSO. Se observa claramente como hay una escasa diferencia entre las medias, puesto que ambas columnas son casi del mismo tamaño, esto significa que no hace diferencia la administración de DMSO en el dolor.

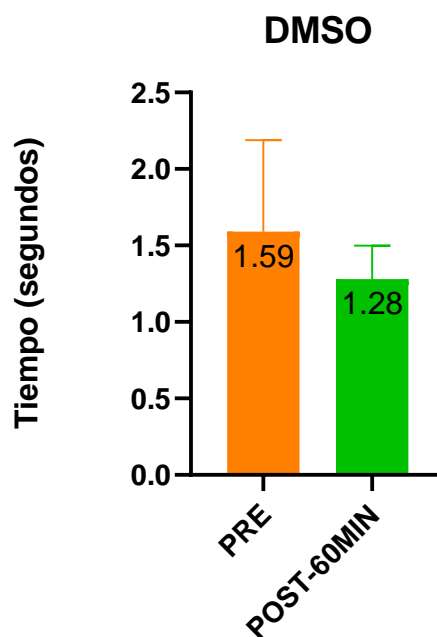


Gráfico 2. Comparación de medias de tiempo entre la Pre y Post administración del DMSO. Donde visualmente NO se observa una gran diferencia entre los tiempos de respuesta al estímulo doloroso antes y después de la administración del DMSO.

Finalmente, la prueba T pareada aplicada al **2NbFhdzn** ($P < 0.05$) indicó que cuenta con una diferencia estadísticamente significativa, es decir, sí presenta una acción analgésica. Esto se observa en el Gráfico 3, en donde se aprecia la comparación de medias del tiempo entre la Pre-administración (2.4 segundos) y la Post-

administración después de 60 minutos (4.0 segundos), es decir, la comparación entre las medias de tiempo de respuesta ante el estímulo doloroso antes de la administración del compuesto y después de 60 minutos de la administración de este. De igual forma, es muy visual como hay una diferencia entre el tamaño de las columnas, puesto que la columna más alta es la columna correspondiente a la post administración, es decir, aumenta la latencia, lo que indica un efecto positivo del compuesto en la reducción de la respuesta al dolor, es decir que, hay indicios de un probable efecto analgésico de la 2NbFhdzn.

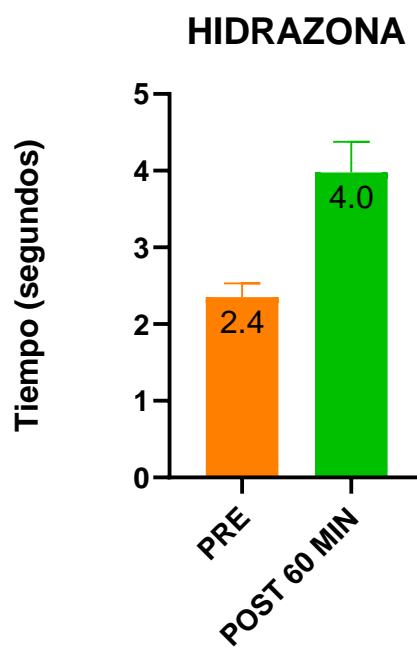


Gráfico 3. Comparación de medias de tiempo entre la Pre y Post administración del compuesto **2NbFhdzn**. Donde visualmente se muestra una diferencia entre los tiempos de respuesta al estímulo doloroso antes y después de la administración del compuesto.

Si bien los resultados arrojados son muy alentadores y dan un indicio de que el compuesto sí puede tener acción analgésica, para tener resultados más precisos lo mejor sería aumentar el número de sujetos en el experimento y valorar de esa forma si se tiene una acción farmacológica o no, además se podrían realizar otras pruebas como las mencionadas en la tabla 1.

Según la bibliografía citada, las hidrazonas tienen la capacidad de inhibir selectivamente la enzima COX-2. Esto sugiere que las hidrazonas actúan mediante

un mecanismo similar al de los AINEs, pero con la capacidad de no inhibir la COX-1. Por lo tanto, es posible que la hidrazona 2NbFhdzn, al mostrar efectos analgésicos, siga el mismo camino que los AINEs pero sin afectar a la COX-1. De esta manera, se plantea el siguiente mecanismo de acción para el 2NbFhdzn como analgésico:

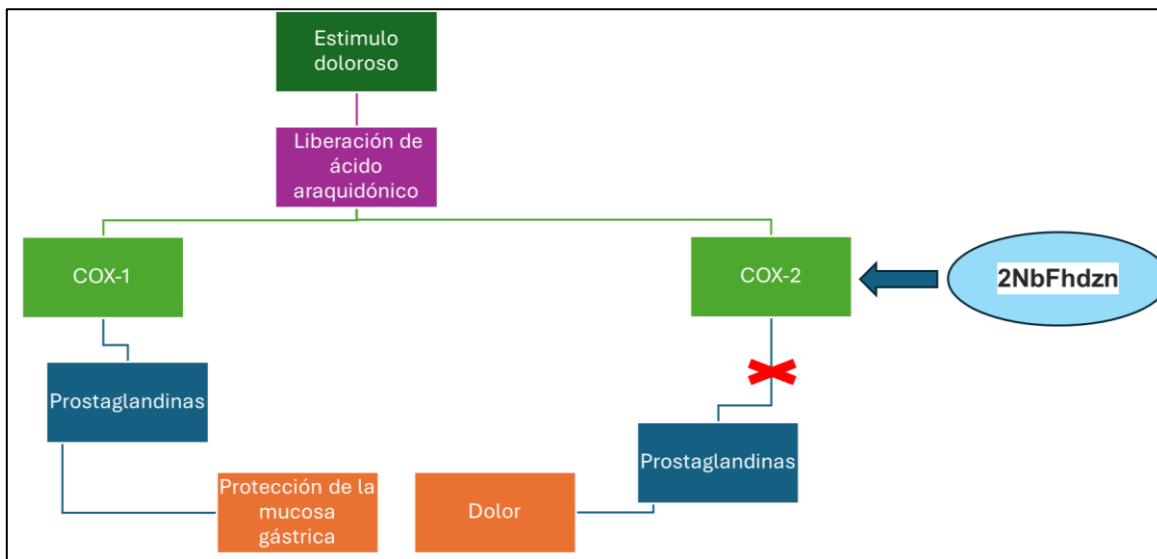


Figura 26. Posible mecanismo de acción del 2NbFhdzn como analgésico, donde se marca la inhibición selectiva de la COX-2 por parte del 2NbFhdzn

Considerando este posible mecanismo, se pueden utilizar métodos más avanzados, como el Docking molecular, para obtener más información sobre el mecanismo analgésico.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Se logró sintetizar una hidrazona a partir de: fenilhidracina y 2-nitrobenzaldehído de forma satisfactoria obteniendo un rendimiento del 83%.

La caracterización del producto obtenido mediante espectros de IR, RMN de ^1H y ^{13}C , masas y el punto de fusión aportaron la información necesaria para aseverar que se obtuvo el compuesto esperado: 1-(2-nitrobenzilideno)-2-fenilhidrazona(2NbFhdzn).

La evaluación de la hidrazona obtenida mediante la prueba de analgesia en ratas Evans arrojó resultados satisfactorios, ya que los análisis estadísticos sugieren indicios de actividad farmacológica analgésica por parte del compuesto a la dosis de 30 mg/Kg y cabe mencionar, que a esta dosis no se causó ningún deceso en los animales empleados. Este experimento puede considerarse como una prueba piloto que servirá como guía para futuros estudios, los cuales podrían llevarse a cabo con una muestra más amplia para obtener datos estadísticos más robustos. Además, se podría considerar la posibilidad de utilizar otros tipos de pruebas de analgesia, como las mencionadas en este trabajo, y sería beneficioso explorar otras propiedades potenciales de las hidrazonas, como su actividad antiviral, anticancerígena, antidepresiva, entre otras.

Referencias

- Achagar, R., Elmakssoudi, A., Mohamed, D., Elamrani, A., Zouheir, Y., Zahouily, M., & Jamaledine, J. (2021). A Green and Efficient Protocol for the Synthesis of Phenylhydrazone Derivatives Catalyzed by Nanostructured Diphosphate $\text{Na}_2\text{CaP}_2\text{O}_7$ and Screening of Their Antibacterial Activity. *ChemistrySelect*, 1366-1371.
- Akdağ, K., Ünal, G., Tok, F., Arıcıoğlu, F., & E. Temel, H. (2018). Synthesis and Biological Evaluation of Some New Hydrazone Derivatives Bearing Pyrimidine Ring as Analgesic and Anti-Inflammatory Agents. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 1147-1159.
- Alsaif, N., Bhat, M., Al-Omar, M., Al-Tuwajiri, H., Naglah, A., & Al-Dhfyhan, A. (2020). Synthesis of Novel Diclofenac Hydrazones: Molecular Docking, Anti-Inflammatory, Analgesic, and Ulcerogenic Activity. *Journal of Chemistry*, 1-12.
- Asif, M., & Husain, A. (2013). Analgesic, Anti-Inflammatory, and Antiplatelet Profile of Hydrazones Containing Synthetic Molecules. *Journal of Applied Chemistry*, 2013.
- Autino, J. C., Romanelli, G., & Ruiz, D. M. (2013). *Introducción a la Química Orgánica*. Buenos Aires, Argentina: La Plata.
- Bernades, C., Carraveta, M., Coles, S. J., Van Eck, E., Meeks, H., Minas da Piedade, M., . . . Threlfall, T. (2019). El curioso caso del acetaldehído fenilhidrazona: resolución de un rompecabezas de 120 años de antigüedad en el que formas con puntos de fusión muy diferentes tienen la misma estructura. *Go to Crystal Growth & Design ACS Publications*, 907-917.
- Bezerra Medeiros, M., Gama e Silva, M., De Menezes Barbosa, J., Martins de Lavor, É., Feitosa Ribeiro, T., Ferreira Macedo, C., . . . Guedes da Silva Almeida, J. (2021). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydrazone derivatives and their possible mechanism of action in mice. *PLOS ONE*, 16(11).
- Bourdauducq, P., & Schirmann, J.-P. (2001). Hydrazine. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 79-96.
- Britannica. (9 de Febrero de 2018). *Britannica*. (E. o. Encyclopaedia, Editor) Obtenido de Britannica: <https://www.britannica.com/science/carbonyl-group>
- Bruice Yurkanis, P. (2008). *Química Orgánica. Quinta Edición*. México: Pearson.
- Buap, F. d. (2022). *Manual de Farmacología II*. Puebla .
- Cabrera Vivas, B. M., Ramírez García, J. C., Palillero Cisneros, Á., & Meléndez Balbuena, L. (2018). Caracterización espectroscópica del producto de condensación de una dicetona con difenilhidrazina . *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*.

- Cantú, S., Lee, H., Donoso, A., Puyó, A., & Peredo, H. (2017). El ácido araquidónico y sus derivados: generalidades de los prostanoideos en relación con procesos inflamatorios. *Ciencia e Investigación*, 5-10.
- Carlos de Sousa, V., De Cássia Viana Carvalho, R., Dos Reis Barcelar, K., Silva de Melo, D., Melo Nunes, J., De Araújo Sousa, P., . . . De Amorim Carvalho, F. (2023). Synthetic hydrazones: In silico studies and in vitro evaluation of the antileishmania potential. *Toxicology in Vitro*, 105560.
- Cook, A. (2023). Medicinal and organic chemistry and The Goals of medicinal chemistry. *Journal of Medicinal and Organic*, 34-35. doi:10.37532/ jmoc.2023.6(2).34-36
- Cui, M.-Y., Nie, J.-X., Yan, Z.-Z., Xiao, M.-W., Lin, D., Ye, J., & Hu, A.-X. (2019). Design, synthesis, bioactivity, and DFT calculation of 2-thiazolyl-hydrazone derivatives as influenza neuraminidase inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 938-947.
- Dávila Cabo de Villa, E., Morejón Hernández, J., & Acosta Figueredo, E. (2020). Dolor y analgésicos. Algunas consideraciones oportunas. *Medisur*, 694-705.
- De la Cruz Argüello, B. E., Gálvez Cardoza, B. E., Díaz Crespín, G., & Morán Rodríguez, A. E. (2022). Synthesis and evaluation of the antifungal activity of aromatic hydrazones. *Revista de Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 6-15.
- Ercilia Allegretti, P. (2022). *Química Orgánica II Guía de estudio para estudiantes de Licenciatura en Química*. Buenos Aires, Argentina: Editorial de la Universidad de la Plata.
- Fernández, G. (2022). *Fundamentos de Química Orgánica*. Oviedo, España: Universidad de Oviedo.
- Ferrandiz Mach, M. (2015). *Fisiopatología del dolor*. España: Societat Catalana d'Anestesiologia, Reanimació i Terapèutica del Dolor.
- Fisher Scientific*. (2020). Obtenido de Fisher Scientific: <https://www.fishersci.es/es/es/browse/80013978/hidracinas-y-derivados>
- Flores Castillo, Z. A., Ariza Ramírez, J. L., Cabrera Vivas, B. M., Orea Flores, L., Aguirre Cabrera, C., & Meléndez Balbuena, L. (2017). Síntesis verde y caracterización espectroscópica de una hidrazona de estructura novedosa. *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*, 274-277.
- Font, E. (2002). Analgesia y analgésicos. *Offarm*, 70-78.
- Gené Tous, E., Calvet Calvo, X., & Iglesias, M. (2009). Recomendaciones en la prescripción de antiinflamatorios e indicaciones de gastroprotección en urgencias. *Emergencias: Revista de la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias*, 295-300.
- Giono Cerezo, S., Santos Preciado, J. I., Morfín Otero, M. d., Torres-López, F. J., & Alcántar Curiel, M. D. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta Médica de México*, 172-180.

- Graph Pad. (2017). Prism 8 [Software].
- Hernández Delgadillo, G., & Cruz, S. (2005). Mecanismos de tolerancia analgésica a los opiodes. *Salud Mental*, 22-31.
- IASP, S. (2020). Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. *Pain.*, 6(3):249-52.
- Iriondo Gabilondo, M. C., & Martínez Layana, F. J. (2013). *Química en Biociencias*. Pais Vasco: OCW.
- Kajal, A., Bala, S., Sharma, N., Kamboj, S., & Saini, V. (2014). Therapeutic Potential of Hydrazones as Anti-Inflammatory Agents. *Hindawi International Journal of Medicinal Chemistry*, 1-11.
- Kaplánek, R., Jakubek, M., Rak, J., Kejík, Z., Havlík, M., Dolenský, B., . . . Král, V. (2015). Caffeine-hydrazones as anticancer agents with pronounced selectivity toward T-lymphoblastic leukaemia cells. *Bioorganic Chemistry*, 19-29.
- Katariya, K., Shah, S., & Reddy, D. (2020). Anticancer, antimicrobial activities of quinoline based hydrazone analogues: Synthesis, characterization and molecular docking. *Bioorganic Chemistry Vol 94*, 103406.
- Kauthale, S., Tekale, S., Damale, M., Sangshetti, J., & Pawar, R. (2017). Synthesis, antioxidant, antifungal, molecular docking and ADMET studies of some thiazolyl hydrazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 3891-3896.
- Kumar, N., Chauhan, L., Sharma, C., Dashora, N., & Bera, R. (2015). Synthesis, analgesic and anti-inflammatory activities of chalconyl-incorporated hydrazone derivatives of mefenamic acid. *Medicinal Chemistry Research*, 2580-2590.
- Laura Mejía, L. (10 de 04 de 2018). *Repositorio de Tesis PUCP*. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12404/12830>
- Laurella, S. (2017). *Resonancia magnética nuclear. Una herramienta para la elucidación de estructuras moleculares*. Buenos Aires. Argentina: Edulp.
- Laysna dos Anjos Santos, V., De Assis Gonsalves, A., Souza Silva, M. F., Evangelista de Oliveira, F. d., Pinheiro da Costa, M., O. Pessoa, C., & Melo Araújo, C. R. (2021). Hydrazones derived from natural aldehydes: in vitro cytotoxic evaluation and in silico pharmacokinetic predictions. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 217-235.
- Li, M., Cheng, L., Pang, W., Zhong, Z., & Guo, L. (2020). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Acylhydrazone Derivatives as Potent Neuraminidase Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry*, 1745-1750.
- López Forniés, A., Iturralde García de Diego, F., Clerencia Sierra, M., & Ortiz de Landázuri, J. (2006). Capítulo 71 DOLOR. En *TRATADO de GERIATRÍA para residentes* (págs. 721-731). Madrid: Sociedad Española de Geriatria y Gerontología (SEGG).

- Majedi, S., Rauf, H., & Boustanbakhsh, M. (2019). Chemical Review and Letters DFT study on sensing possibility of the pristine and Al-and Ga-doped B12N12 nanostructures toward hydrazine and hydrogen peroxide and their analogues. *Chemical Review and Letters*, 176-186.
- McMurry, J. (2008). *Química Orgánica 7ma Edición*. México: Cengage Learning Editores,S.A.
- Moreno Royo, L., & Muedra Navarro, V. (2020). Farmacología básica del dolor (analgésicos). En *Máste en Abordaje Integral del Dolor* (págs. 1-15). Editorial Médica Paramericana.
- Morrison, R. T., & Boyd, R. N. (1990). *Química Orgánica* . New York: Pearson.
- Muñoz, D., Cardona, D., Cardona, A., Carrillo, L., Quiñones, W., Echeverri, F., . . . Robledo, S. (2006). EFFECT OF HYDRAZONES AGAINST INTRACELLULAR AMASTIGOTES OF *Leishmania panamensis* AND A PARASITIC CYSTEIN PROTEASE. *Vitae Vol. 13*, 5-12.
- Navakoski de Oliveira, K., Costa, P., Santin, J., Mazzambani , L., Bürger, C., Mora, C., . . . De Souza, M. (2011). Synthesis and antidepressant-like activity evaluation of sulphonamides and sulphonyl-hydrazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 4295-4306.
- Neergaard, L. (13 de Abril de 2020). ¿Podrían vacunas viejas ayudar a proteger contra COVID-19? *San Diego Union Tribune* .
- Nees, K. (2018). Eruditos famosos de Kiel: Theodor Curtius. Universidad Christian Albrechts de Kiel.
- Nesterkina, M., Barbalat, D., & Kravchenko, I. (2020). Design, synthesis and pharmacological profile of (-)-verbenone hydrazones. *Open Chemistry*, 943-950.
- OMS, O. (12 de Enero de 2023). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Leishmaniasis: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
- P. Belskaya, N., Dehaen, W., & Bakulev, V. (2010). Synthesis and properties of hydrazones bearing amide, thioamide and amidine functions. *Special Issue Reviews and Accounts ARKIVOC*, 275-332.
- Rathmell, J., & Fields, H. (2022). Dolor: fisiopatología y tratamiento. En *Harrison. Principios de Medicina Interna, 21e.* . McGraw-Hill Education.
- Ripoll Rascheya, G. G. (2021). *Estudio de MOF's basados en ligandos del tipo piridincarbohidracidas derivadas de acilpirazonas como potenciales adsorbentes de colorantes* . Concepción, Chile .
- Rivera Ordoñez, A. (2006). AINES: Su mecanismo de acción en el sistema nervioso central. . *Revista Mexicana de Anestesiología*, 36-40.
- Roberts, J. D., & Caserio, M. C. (1977). *Basic Principles of Organic Chemistry, second edition.* . Menlo Park, CA: W. A. Benjamin, Inc. .

- Sánchez Herrera, B. (2003). Abordajes teóricos para comprender el dolor humano. *Aquichan*, 3(1), 32-41.
- Santacruz, M., Oyuela Vargas, R., Briñez Orta, J., Echeverry, S., & Lareo, L. (2008). Efectos sobre la actividad nociceptiva de la rata de un péptido nootrópico sintético. *Revista Latinoamericana de Psicología*, Bogotá.
- Sardar, A., Abid, O.-u.-R., Daud, S., Shah, B., Shahid, W., Ashraf, M., . . . Alissa, S. (2022). Identification of novel diclofenac acid and naproxen bearing hydrazones as 15-LOX inhibitors: Design, Synthesis, In vitro evaluation, cytotoxicity, and In silico studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 104300.
- Sharma, P., Sharma, D., Sharma, A., Saini, N., Goyal, R., Ola, M., . . . Thakur, V. (2020). Hydrazone comprising compounds as promising anti-infective agents: chemistry and structure-property relationship. *Materials Today Chemistry*, 100349.
- Shokri, S., Ayazi, H., Tamjid, M., Ghoreishi, F., Shokri, M., Badakhshannouri, S., . . . Davood, A. (2023). Hybrid Analogues of Hydrazone and Phthalimide: Design, Synthesis, In vivo, In vitro, and In silico Evaluation as Analgesic Agents. *Current Computer-Aided Drug Design*, 685-696.
- Syeda , H., Abdul, H., & R. Abo Nawar , B. (2018). Properties and Uses of Substituted Hydrazones. *Journal of Pharmaceutical and Applied Chemistry*, 17-21.
- Tapia González, A. C. (2007). *Cinética de la reacción de precipitación de plata complejada con tiosulfatos*.
- Taxak, B., Devi, J., Kumar, S., & Asija, S. (2023). Exploring the antimalarial, antioxidant and antimicrobial properties of newly synthesized diorganotin(IV) complexes with ONO-donor hydrazone ligands. *Inorganic Chemistry Communications*, 111473.
- Tjølsen, A., & Hole, K. (1997). Animal Models of Analgesia. En *The Pharmacology of Pain* (págs. 1-20). Board.
- Verma, G., Marella, A., Shaquiquzaman, M., Akhtar, M., Rahmat Ali, M., & Mumtaz Alam, M. (2014). A review exploring biological activities of hydrazones. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 69-80.
- Wade, L. (2011). *Química Orgánica. Vol. 2. Wade. 7a Edición*. México: Pearson.
- Wahbeh, J., & Milkowski, S. (2019). The Use of Hydrazones for Biomedical Applications. *SLAS Technology*, 161-168.
- Zegarra Piérola, J. (2007). Physiopathological bases of the pain. *Acta Médica Peruana*, 35-38.

ANEXOS

Anexo 1

Clorhidrato de Tramadol (sólido) Control (+)	Peso Rata: 306 g 20 mg ----- 1000 g X = ? -----306 g X = 6.12 mg que se disolvieron en 0.3 ml de DMSO
DMSO Control (-)	Peso Rata: 272 g *Solo se le administraron 0.3 ml de DMSO
Rata 1 Cepa Long-Evans	Peso: 238 g 30 mg ----- 1000 g X = ? -----238 g X = 7.14 mg que se disolvieron en 0.3 ml de DMSO
Rata 2 Cepa Long-Evans	Peso: 254 g 30 mg ----- 1000 g X = ? -----254 g X = 7.62 mg que se disolvieron en 0.3 ml de DMSO
Rata 3 Cepa Long-Evans	Peso: 260 g 30 mg ----- 1000 g X = ? -----270 g X = 8.1 mg que se disolvieron en 0.3 ml de DMSO

Tabla 7. Cálculos para administrar en las ratas el fármaco o compuesto correspondiente