

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

“Evaluación en líneas celulares cancerosas de hidrazonas derivadas del benzaldehído sustituido con grupos electroattractores y la hidracina. Análisis experimental y teórico.”

TESIS PRESENTADA
PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIATURA EN QUÍMICA

PRESENTA:

CARLA AGUIRRE CABRERA

DIRECTORES DE TESIS:

Dra. Blanca Martha Cabrera Vivas Dr. Juan Carlos Ramírez García

Asesor:

Dr. Ángel Palillero Cisneros

Puebla, Puebla a Marzo de 2019



ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
A	Absorbancia
Å	Angstrom
AD	Adamantano
A22	(<i>E</i>)-2-(4-Nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina
A26	(<i>E</i>)-2-(2,4-Dinitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina
A30	(<i>E</i>)-2-(2-Nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina
CCF	Cromatografía en capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
COSY	Resonancia Magnética Nuclear “Correlated Spectroscopy” (Espectroscopia correlacionada)
d	Señal doble
dd	Señal doble de doble
ddd	Señal doble de doble de doble
DNP	Dinitrofenol
dt	Señal doble de triple
e ⁻	Eléctron
eV	Electronvoltio
E. M.	Espectrometría de masas
EtOH	Etanol
DFT	Funcionales de la Densidad
FT-IR	Transformada de Fourier (IR)
gap	Diferencia entre el HOMO y el LUMO
HeLa	Línea celular de cáncer cérvico-uterino
HREI	Impacto electrónico de alta resolución



HSQC	Resonancia Magnética Nuclear “Heteronuclear Simple Quantum Coherence” (Coherencia cuántica simple heteronuclear)
I. E.	Impacto electrónico
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
kcal/mol	Kilocaloría por mol
K-562	Células de Leucemia
KBr	Bromuro de potasio
m	Señal múltiple
m/z	Relación masa/carga
MDA-MB-231	Cáncer de mama
MeOH	Metanol
MHz	mega Hertz
MTX	Metotrexato
n°	número
v	Número de onda
OM_s	Orbitales moleculares
p. f.	Punto de fusión
Ph	Fenilo
PM	Peso molecular
ppm	Partes por millón
RMN ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear ¹³ C
RMN ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de ¹ H
RE	Rotatory Evaporator: rotavapor
s	Señal simple
T. a.	Temperatura ambiente
t	Señal triple



TMS	Tetrametilsilano, $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
δ	Desplazamiento químico
λ	Longitud de onda
λ_{max}	Lambda máxima (UV)
π	Enlace o electrones pi
σ	Enlace sigma
well	Pozo



ÍNDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	2
RESUMEN	7
CAPÍTULO 1.	8
INTRODUCCIÓN	8
CAPÍTULO 2	10
2.1. ANTECEDENTES GENERALES	10
2.1.1 Grupo carbonilo	10
2.1.2. Espectroscopia UV	18
2.1.3. Espectroscopia IR	19
2.1.4. Espectroscopia RMN ¹ H y Espectroscopia RMN ¹³ C	20
2.1.5. Espectrometría de masas:	22
2.1.6. Análisis de difracción de rayos-X	23
2.1.7. Química Computacional	26
2.2. ANTECEDENTES PARTICULARES	29
OBJETIVOS	41
CAPÍTULO 3	42
3.1. MATERIALES Y MÉTODOS	42
3.1.1 Materiales y reactivos	42
3.1.2. Equipos	42
3.1.3. Parte experimental	42
3.2. MECANISMO DE REACCIÓN	43
3.3. PROCEDIMIENTO	44
CAPÍTULO 4	47
DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	47
4.1. Producto 1: A22. (<i>E</i>)-2-(4-nitrobencliden)-1,1-difenilhidracina	47
4.1.1. Espectroscopia UV-Vis	47
4.1.2. Espectroscopia Infrarroja	48
4.1.3. Espectroscopia RMN ¹ H	49
4.1.4. Espectroscopia RMN ¹³ C	51
4.1.5. Espectrometría de masas	52
4.1.6. Difracción de rayos-X	54



4.2. Compuesto 2: A26: (<i>E</i>)-2-(2,4-dinitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina	54
4.2.1. Espectroscopia UV-Vis	55
4.2.2. Espectroscopia Infrarroja	56
4.2.3. Espectroscopia RMN ¹ H	57
4.2.4. Espectroscopia RMN ¹³ C	58
4.2.5. Espectrometría de masas	59
4.2.7. Difracción de rayos x	60
4.3. Compuesto 3: A30 (<i>E</i>)-2-(2-nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina	61
4.3.1. Espectroscopia UV-Vis	62
4.3.2. Espectroscopia Infrarroja	63
4.3.3. Espectroscopia RMN ¹ H	63
4.3.4. Espectroscopia RMN ¹³ C	64
4.3.5. Espectrometría de masas.	65
4.3.6. Difracción de rayos-X	66
CAPÍTULO 5	68
5.1. EVALUACIÓN EN CÉLULAS CANCEROSAS	68
CAPÍTULO 7	72
7.1. CÁLCULOS TEÓRICOS	72
CONCLUSIONES	75
BIBLIOGRAFÍA	76
ANEXO I	78
ANEXO II	84
ANEXO III	90



RESUMEN

En el presente trabajo se muestra la síntesis de tres compuestos hidrazona los cuales se obtuvieron al hacer reaccionar benzaldehído, 4-nitrobenzaldehído, 2-nitrobenzaldehído y 2,4-dinitrobenzaldehído con difenilhidracina. Las hidrazonas sintetizadas con buen rendimiento tienen las siguientes claves con sus respectivos nombres

:

- **A22** (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina
- **A26** (*E*)-2-(2,4-dinitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina
- **A30** (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina

Los compuestos se analizaron por diferentes técnicas de caracterización como: Ultravioleta-Visible (UV-Vis) espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia de resonancia magnética de hidrógeno y carbono (RMN ^1H , RMN ^{13}C) y rayos-X del producto que cristalizó adecuadamente.

Se realizó la evaluación anticancerosa de cada hidrazona en las líneas celulares HeLa (cáncer cérvico-uterino), MDA-MB-231 (cáncer de mama) y K-562 (médula ósea).

Se realizó una comparación teórica con los datos obtenidos experimentalmente en la espectroscopia de IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C .



CAPÍTULO 1.

INTRODUCCIÓN

En la presente tesis se describe la síntesis de tres compuestos tipo hidrazona derivados del benzaldehído. Los siguientes reactivos, 4-nitrobenzaldehído, 2-nitrobenzaldehído y 2,4-dinitrobenzaldehído se hicieron reaccionar con difenilhidracina para formar el grupo azometino. Las hidrazonas sintetizadas se obtuvieron con buen rendimiento, las cuales tienen las siguientes claves con sus respectivos nombres:

- **A22** (*E*)-2-(4-nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina
- **A26** (*E*)-2-(2,4-dinitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina
- **A30** (*E*)-2-(2-nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina

Los compuestos obtenidos fueron analizados las siguientes técnicas de caracterización: Ultravioleta-Visible (UV-Vis), espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia de resonancia magnética de hidrógeno y carbono (RMN ^1H , RMN ^{13}C), COSY, HSQC y difracción de rayos-X de monocristal, todo esto con el objetivo de verificar que los cristales obtenidos correspondieran a las estructuras propuestas.

En diversos artículos se habla acerca de la actividad biológica de las hidrazonas, como antibacteriana, antifúngica, antituberculosa, antiinflamatoria y anticancerosa, entre otras. Por tal motivo, una vez sintetizados y caracterizados, los compuestos fueron evaluados respecto a su actividad anticancerosa en las líneas celulares HeLa (cáncer cérvico-uterino), MDA-MB-231 (cáncer de mama) y K-562 (cáncer de médula ósea).

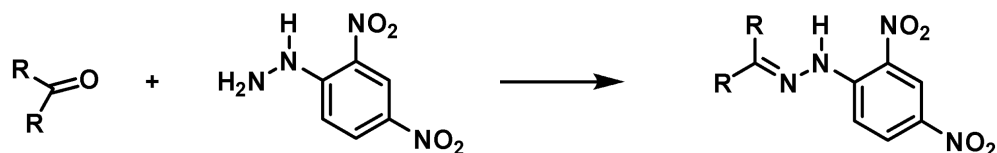
Debido a que la materia prima utilizada para la síntesis de hidrazonas contiene el grupo carbonilo, es indispensable explicar las características más importantes, así como la reactividad de este grupo funcional, puesto que es considerado uno de los grupos funcionales más importantes a nivel biológico e industrial, lo cual se abordará en el capítulo 2.

Las reacciones de grupo carbonilo con derivados de amoniacos forman hidrazonas y se les llama reacciones de Condensación, debido a que se libera como subproducto agua. Una hidrazona es una clase de compuesto orgánico que posee la estructura $\text{R}_2\text{C}=\text{NNR}_2$. Están relacionados con las cetonas y aldehídos mediante la sustitución del átomo de oxígeno por el grupo funcional $-\text{NNH}_2$. Generalmente se preparan por la acción de la hidracina o algún derivado de hidracina sobre cetonas o aldehídos. Estas reacciones de grupo carbonilo son reacciones de Adición nucleofílica que se lleva a cabo en dos etapas: Adición y posteriormente



Eliminación, reacciones que se aceleran por catálisis ácida, a través de un equilibrio que puede ser manejado por el Principio de Le Châtelier. Esta reacción tiene su importancia en el hecho de que las hidrazonas son productos fácilmente identificables porque son sólidos, en muchos casos forman cristales que poseen color. Y esta es la base de las reacciones de identificación y caracterización de grupos funcionales.¹

Reacciones en las que exista la posibilidad de disponer de una serie de reacciones que permitan caracterizar determinados grupos funcionales a través de un cambio macroscópico fácilmente discernible como es cambio de color, formación de un precipitado o desprendimiento de un gas. Así, la 2,4-dinitrofenilhidracina es un reactivo que sirve para identificar grupo carbonilo, debido a que el producto obtenido es un precipitado coloreado. De esta manera, si el producto cristalino es amarillo, esto es indicativo de presencia de un compuesto carbonílico saturado, si se obtiene un precipitado naranja indica la presencia de un sistema α,β -insaturado y un precipitado rojo es indicativo de una cetona o un aldehído aromático.²



Esquema 1.1.

Desde el punto de vista de aplicaciones, las hidrazonas han mostrado poseer una amplia variedad de actividades industriales, biológicas, por mencionar algunas, y se piensa que es debido al grupo funcional que contienen $-\text{NHN}=\text{CH}-$, en donde existe una alta densidad electrónica y por eso a nivel químico-medicinal, constituyen una amplia variedad de compuestos para el desarrollo de nuevos fármacos.

Por otro lado, la formación de derivados de hidrazona aromáticos, por ejemplo, se usa para medir la concentración de aldehídos y cetonas de bajo peso molecular, en corrientes de gas. Por ejemplo, la dinitrofenilhidracina revistiendo un sorbente de sílica es la base de un cartucho de adsorción. A continuación, las hidrazonas son eluidas y analizadas por HPLC usando un detector UV.

Por hacer una comparación entre el doble enlace $\text{C}=\text{O}$ y el $\text{C}=\text{N}$, se sabe que en general, el grupo funcional imínico tiene menos electrofilia que los compuestos



carbonílicos homólogos, debido a que el átomo de oxígeno es más electronegativo que el de nitrógeno. Por ello, si se quiere hacer reaccionar las hidrazonas que contienen este grupo imínico, se requiere de la presencia de nucleófilos altamente reactivos.³

CAPÍTULO 2

2.1. ANTECEDENTES GENERALES

2.1.1 Grupo carbonilo

Los aldehídos y las cetonas son similares en estructura debido a que ambas clases de compuestos poseen un enlace doble $>C=O$ llamado grupo carbonilo.

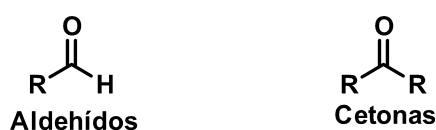


Figura 2.1.1.1. Estructura general de los aldehídos y cetonas.

Los aldehídos y las cetonas tienen puntos de ebullición más elevados que los hidrocarburos de masa molecular similar, esto refleja la polaridad de las moléculas que contienen al grupo carbonilo. No obstante, los aldehídos y las cetonas poseen puntos de ebullición inferiores a los de los alcoholes correspondientes porque los aldehídos y las cetonas no construyen puentes de hidrógeno, ya que carecen del protón unido a un átomo electronegativo. Las diferencias en los puntos de ebullición de los compuestos carbonílicos y los alcoholes relacionados estructuralmente, se hacen más pequeñas al aumentar la masa molecular. Este cambio refleja la disminución en la importancia del puente de hidrógeno con relación a la molécula total al crecer la masa molecular.

A excepción de aquellos aldehídos y cetonas que contienen cuatro o menos átomos de carbono, ambas especies de compuestos orgánicos, no son muy solubles en agua. Los compuestos de masa molecular baja pueden constituir puentes de hidrógeno con el agua, como sucede con la acetona que es completamente miscible en ella.

Los aldehídos de masa molecular baja tienen olores irritantes, pero los compuestos de masa molecular alta y las cetonas son sustancias fragantes. El aroma de las sustancias fragantes los hace provechosos en el campo de la perfumería y como agentes que dan sabor. Por ejemplo, la cetona cíclica civetona que es una secreción glandular del gato de algalia y la muscona que se extrae de



las glándulas abdominales del macho de la cabra almizclera, son sustancias empleadas en la fabricación de perfumes.⁴



Figura 2.1.1.2. Cetonas cíclicas.

El grupo carbonilo está presente en muchos compuestos que fácilmente se reconocen porque son responsables de muchos sabores y olores, utilizados en la industria.

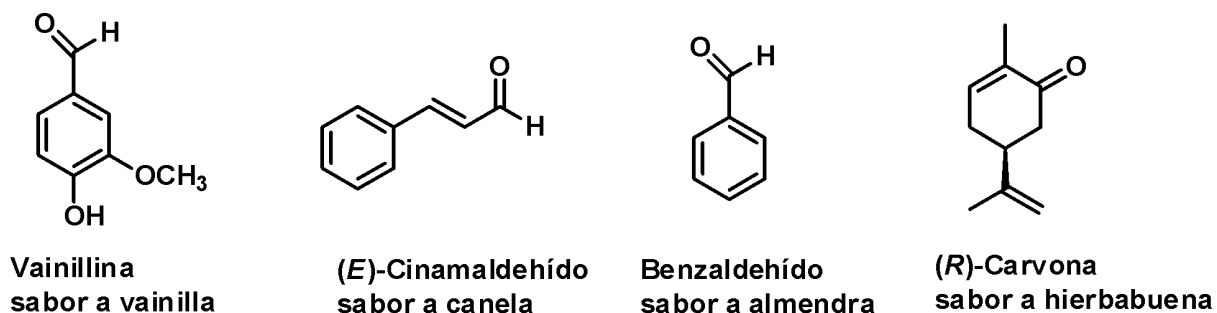


Figura 2.1.1.3. Aldehídos y cetonas utilizados en la industria.

Específicamente, los aldehídos y las cetonas tienen una reactividad muy elevada frente a una gran variedad de nucleófilos. Muchas de estas reacciones son muy comunes en caminos biológicos, incluyendo el rol que el β -caroteno, que es encontrado en frutas y vegetales como el chabacano, mango, zanahorias y papas dulces y juega un papel importante en promover una visión saludable.⁵

Los aldehídos y las cetonas son también sabiamente explotados en el diseño y síntesis de fármacos.

Muchos compuestos biológicamente importantes también exhiben un grupo carbonilo, incluyendo progesterona y testosterona que son las hormonas femenina y masculina respectivamente.



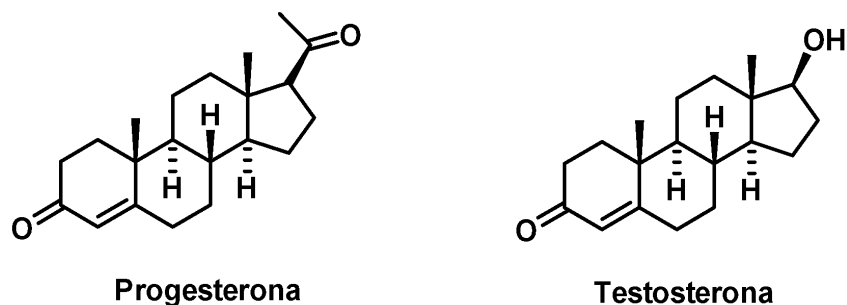


Figura 2.1.1.4. Hormonas femenina y masculina.

Algunos aldehídos y cetonas simples son importantes industrialmente, por ejemplo, la acetona es usada como disolvente y es muy común encontrarla en los removedores pulidores de uñas, mientras el formaldehido es usado como preservativo en algunas formulaciones de vacunas.



Figura 2.1.1.5. Estructuras de carbonilos sencillos.

Aldehídos y cetonas son también usados como bloques de construcción en la síntesis de compuestos importantes, comerciales y farmacológicos y polímeros.⁶

Debido a la versatilidad en la reactividad del grupo carbonilo de aldehídos y cetonas, ocupan un rol central en la química Orgánica. La electrofilicidad del carbono carbonílico se debe a efectos de resonancia también como efectos inductivos.

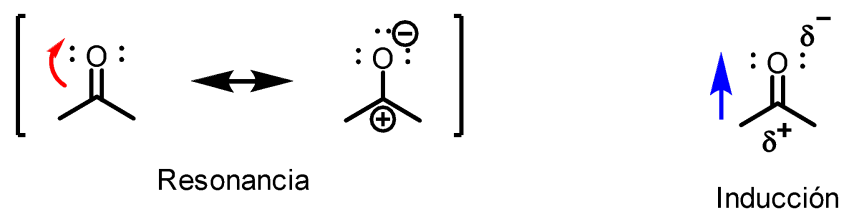


Figura 2.1.1.6. Esquemas de los efectos electrónicos del grupo carbonilo.



Ambos efectos, Inductivo y Resonancia originan que el átomo de carbono posea una deficiencia de densidad electrónica, por lo tanto, el resultado es que el átomo de carbono sea susceptible al ataque por reactivos nucleofílicos. Cálculos de orbitales moleculares sugieren que el ataque nucleofílico ocurra con un ángulo de aproximadamente 107° sobre el plano que conforman los átomos del grupo carbonilo, y durante el proceso, el estado de hibridación del átomo de carbono cambia.

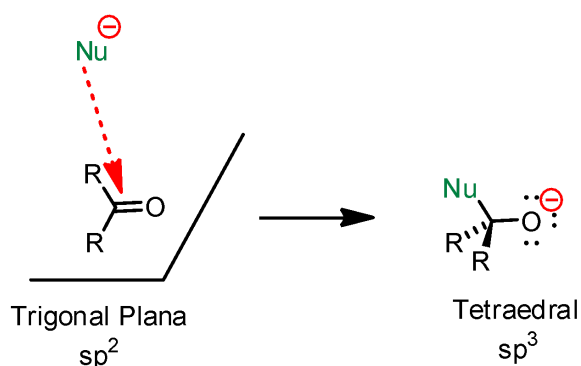


Figura 2.1.1.7. Ataque nucleofílico sobre el carbono carbonílico.

En general los aldehídos son más reactivos que las cetonas hacia el ataque nucleofílico. Esta observación se puede explicar en términos de efectos estéricos y electrónicos.⁶

1. Efectos estéricos: Una cetona tiene dos grupos alquilo, los cuales contribuyen al impedimento estérico en el estado de transición cuando sucede el ataque por el nucleófilo. En contraste los aldehídos tienen un solo grupo alquilo, así es que el estado de transición se encuentra menos apiñado y con menor energía.
2. Efectos electrónicos: Recordar que los grupos alquilo entregan densidad electrónica. Una cetona tiene dos grupos alquilo que pueden estabilizar la δ^+ sobre el átomo de carbono del grupo carbonilo. En contraste los aldehídos únicamente tienen un grupo electrodonante.⁶

La carga δ^+ de un aldehído está menos estabilizada que la cetona. Como consecuencia, los aldehídos son más electrófilos que las cetonas y por lo tanto más reactivos.

Por todo lo antes mencionado, se puede decir que la reacción típica del grupo carbonilo de aldehídos y cetonas es la Adición Nucleofílica. Por lo tanto, los

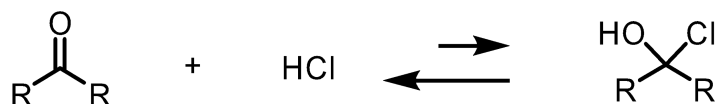


aldehídos y las cetonas reaccionan con una amplia variedad de nucleófilos. Algunos nucleófilos requieren condiciones básicas, mientras otros demandan condiciones ácidas.

Es verdad que el grupo carbonilo es siempre bastante fuerte como electrófilo; sin embargo, el grupo carbonilo protonado sostiene una carga positiva total, proveyendo un átomo de carbono aún más electrofílico; esto es especialmente cierto e importante cuando los nucleófilos son débiles como el H₂O o ROH.

Cuando el grupo carbonilo es atacado por un nucleófilo en condiciones ácidas o básicas, la posición del equilibrio es altamente dependiente de la habilidad del nucleófilo para funcionar como grupo saliente. Por ejemplo, el reactivo de Grignard, es un agente nucleofílico fuerte, pero no funciona como buen grupo saliente debido a que el carbanión es bastante inestable para salir, como resultado el equilibrio favorece grandemente a los productos, así que la reacción ocurre únicamente en una dirección.

En contraste, los haluros son buenos nucleófilos, pero también son buenos grupos salientes. Por lo tanto, cuando el haluro funciona como reactivo nucleofílico, el equilibrio se desplaza hacia los reactivos de partida.

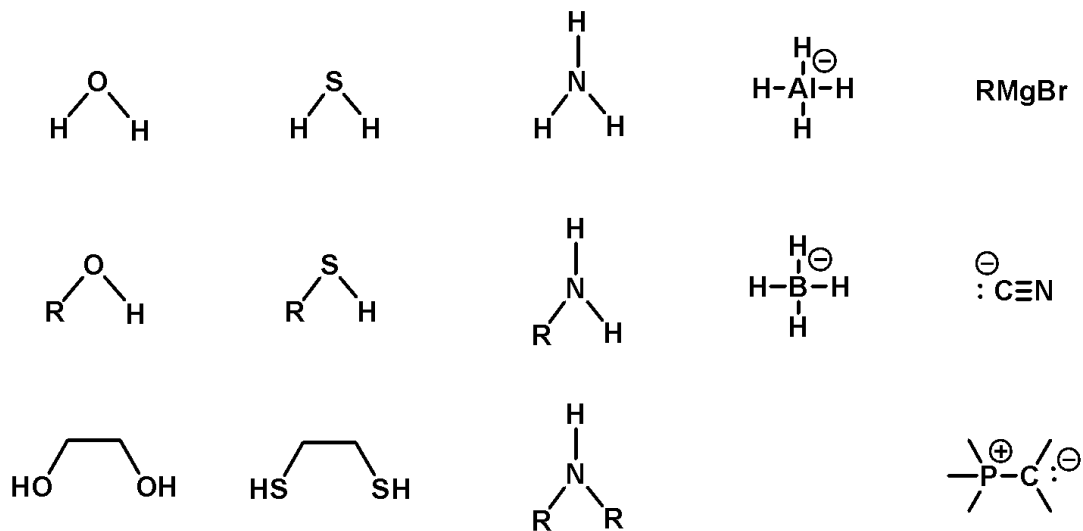


Esquema 2.1.1.1. Reacción reversible entre un grupo carbonilo y un haluro de hidrógeno.

Adición Nucleofílica (A_N) se caracteriza por la transformación del carbono carbonilo con hibridación sp² geometría trigonal plana a sp³ geometría tetraédrica.

A continuación se muestran algunos nucleófilos que pueden ser usados para atacar al carbono electrofílico del carbonilo, y que están basados sobre átomos de oxígeno, azufre, nitrógeno, hidrógeno y carbono.⁴





Esquema 2.1.1.2. Nucleófilos en donde participan diferentes átomos.

Una reacción importante de la A_N es la reacción entre el grupo carbonilo y un diol para dar como producto la formación de un acetal como un compuesto estable, sobre todo cuando se forman anillos de cinco o seis miembros.

Los acetales son productos de la reacción entre un grupo carbonilo y un diol y son usados como pro-fármacos. Los pro-fármacos son moléculas químicas que ejercen su acción cuando son transformados por el organismo, en general enzimas del hígado, mediante una ligera modificación química en la sustancia activa o fármaco propiamente dicho. Se puede decir entonces que un pro-fármaco es una sustancia farmacológicamente inactiva que es convertida por el cuerpo humano transformándola en activa. Muchas estrategias son usadas en el diseño de pro-fármacos. Un ejemplo es la fluocinonida, pro-fármaco que contiene un acetal y es vendido en forma de crema para tratamientos de enfermedades de la piel. La fluocinonida tópica se usa para tratar la picazón, enrojecimiento, resequedad, costras, descamación, inflamación y las molestias ocasionadas por diferentes problemas en la piel, incluyendo la psoriasis y eczema.



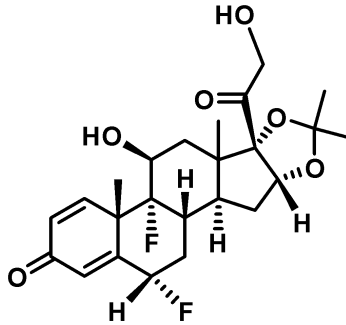


Figura 2.1.1.8. Estructura de la fluocinonida.

La piel tiene varias funciones importantes, incluyendo prevención de la absorción de sustancias extrañas dentro del torrente sanguíneo. Esta característica protege al ser humano de sustancias nocivas, pero también previene que drogas benéficas penetren dentro de la piel. Este efecto es más pronunciado con drogas que contienen grupos OH que pueden interactuar con sitios de unión sobre la superficie de la piel. Para evadir este problema, dos grupos –OH pueden ser convertidos temporalmente en un acetal. El acetal del pro-fármaco es capaz de penetrar en la piel más profundamente, porque carece de grupos OH que se enlacen en la piel. Una vez que el pro-fármaco alcanza su objetivo, el acetal es lentamente hidrolizado, por lo tanto, se libera el fármaco activo.⁴

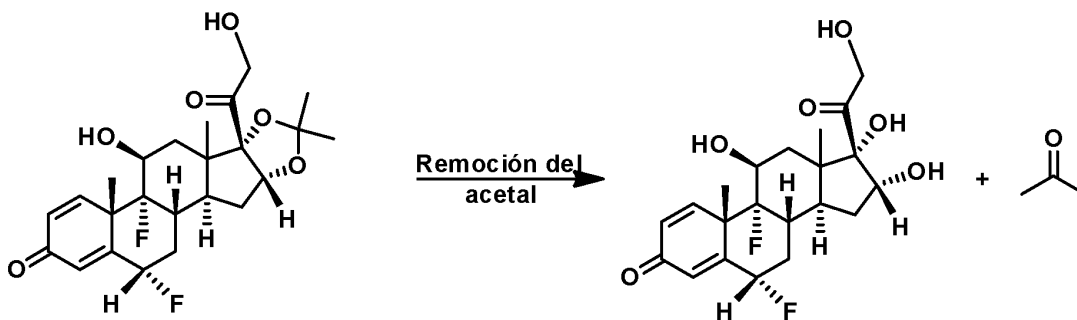
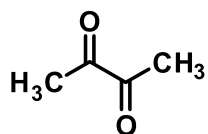


Figura 2.1.1.9. Reacción de hidrólisis de la fluocinonida.

El olor se asocia con la transpiración resultado de una cadena de eventos iniciada por una bacteria que siempre está presente en la piel. Esta bacteria produce ácido láctico, la cual crea un ambiente ácido que permite que otras bacterias rompan los componentes de la transpiración, produciendo compuestos con olores poco



atractivos, asociados con las axilas y pies sudados. Uno de esos componentes es la butanodiona.⁷

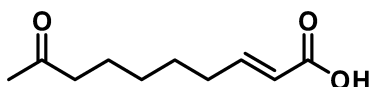


butanodiona

Figura 2.1.1.10. Estructura de uno de los componentes de la transpiración.

Otros compuestos que contienen grupos carbonilo, son las feromonas, las cuales son sustancias químicas que se emplean como forma de comunicación entre los miembros individuales de una especie. Estos compuestos funcionan como atractores sexuales, marcadores de rastros o alarmas. Cuando vemos hormigas marchando en fila, se sabe que están siguiendo un rastro químico hacia los alimentos o agua trazado por un explorador que tuvo éxito y excretó un compuesto específico para ayudar a sus colegas. Una especie de hormiga (*Iridomyrmex priunosus*) utiliza la 2-heptanona para alertar a los otros miembros del hormiguero respecto a un peligro. Este tipo de moléculas que han sido identificadas como atractores sexuales se han colocado en trampas especiales y de esa manera se ha podido controlar tanto la lagarta, que amenazaba los bosques de Nueva Inglaterra, como el gusanillo tornillo, que originó problemas serios en el ganado de Texas, sin recurrir a la aplicación generalizada de insecticidas.

Muchas feromonas son compuestos carbonílicos; por ejemplo, el ácido 9-cetodecenoico, que es el atractor sexual que utiliza la abeja reina en su vuelo nupcial y que también ayuda a desarrollar los ovarios de las abejas obreras que lo ingieren.



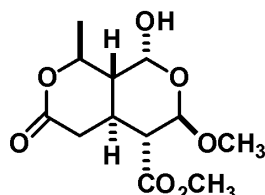
Ácido (*E*)-9-oxodec-2-enoico

Figura 2.1.1.11. Estructura de una feromona utilizada como atractor sexual.

La siguiente pregunta es: ¿Existen feromonas humanas? Los estudios indican que los mamíferos no responden de manera automática y estandarizada a las sustancias químicas como lo hacen los insectos. Sin embargo, se han empleado



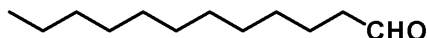
comercialmente dos esteroides para inducir la postura de apareamiento en las marranas y facilitar así la inseminación artificial de cerdos. La medicina tradicional de África y Asia abunda en ejemplos de sustancias que son supuestos afrodisiacos humanos; sin embargo, no se ha probado de manera objetiva la eficacia de ninguna de esas sustancias. Una de ellas, la xilomolina, fue sintetizada por primera vez en el laboratorio por Fox.⁸



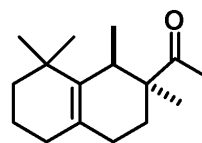
metil (1*R*,3*R*,4*R*,4*aS*,8*S*,8*aR*)-1-hidroxi-3-metoxi-8-metil-6-oxohexahidro-1*H*,3*H*-pirano[3,4-*c*]piran-4-carboxilato

Figura 2.1.1.12. Estructura y nombre IUPAC de la xilomolina.

El avance fue superado únicamente en la segunda mitad del siglo diecinueve, cuando los químicos comenzaron a explorar la síntesis orgánica cuando intentaron reproducir esencias naturales seductoras, tales como el almizcle (1888), la vainilla (1890) y la violeta (1893). En los 1920 y 1930s adoptaron una ola creativa con las fragancias legendarias como Chanel No.5 (1921), Joy (1931) y Donna Karan escoltando una nueva era de producción, distribución a gran escala y consumo de perfumes finos.¹⁰



lauril aldehído (naranja)
Chanel No. 5
Chanel (1921)



Geogwood® leñoso
Be Delicious Men
Donna Karan (2005)

Figura 2.1.1.13. Estructuras de carbonilos utilizados en perfumería.



2.1.2. Espectroscopia UV

Recordando, la espectroscopia permite probar la estructura molecular por el estudio de la interacción entre la materia y la radiación electromagnética. La frecuencia de luz determina la energía del fotón, y el rango de todas las posibles frecuencias es conocido como el espectro electromagnético. La Espectroscopia de UV, se enfocará sobre la interacción entre la materia y la región UV-Vis del espectro electromagnético. Específicamente, los compuestos orgánicos con sistemas conjugados π absorben UV o luz visible para promover una excitación electrónica. Así que, un electrón π absorbe un fotón y es promovido a un nivel energético mayor. La energía del fotón ($h\nu$) es absorbida por un electrón π en el orbital HOMO (Φ_n) y en consecuencia el electrón es promovido al LUMO de más alta energía (Φ_{n+1}). Para que esta excitación ocurra, el fotón debe poseer la suma de energía correcta, la energía del fotón debe ser equivalente a la energía del gap entre los dos orbitales moleculares (OM_s). Para la mayoría de los compuestos orgánicos con sistemas conjugados π , la energía relevante corresponde con la luz, UV o luz visible. Esta excitación es llamada transición π a π estrella ($\pi-\pi^*$). Los electrones excitados entonces regresan a su orbital molecular original, liberando la energía en forma de calor o luz. De esta manera, los compuestos con sistemas de enlaces π absorberán UV o luz visible. Un espectrómetro standard de UV-Vis, irradia una muestra con luz de longitudes de onda en el rango de 200-800 nm y compara las intensidades del rayo a cada longitud de onda en particular y el resultado es una gráfica que muestra la absorbancia como función de la longitud de onda. La absorbancia es definida como

$$A = \log I_0/I$$

Donde:

I_0 es la intensidad del rayo de referencia

I es la intensidad del rayo de la muestra.

Para los propósitos de esta tesis, la característica más importante del espectro de absorción es la λ_{max} (lambda máxima), la cual indica la longitud de onda de máxima absorción. La suma de luz ultravioleta a la λ_{max} para cualquier compuesto es descrita por la absorptividad molar (E) y es expresada por la llamada ley de Beer.

$$E = A / C \times l$$

donde:



A = absorbancia

C = la concentración de la solución (mol/L)

l es la longitud del recorrido de la muestra (ancho de la cubeta) en centímetros (cm)

La absorptividad molar (E) es una característica física de un compuesto investigado en particular y el rango típico es de 0-15000.

El valor de la λ_{\max} para un compuesto en particular es altamente dependiente de la extensión de la conjugación. Esto es debido a que, a mayor conjugación, habrá mayor número de orbitales moleculares y la muestra exhibirá gaps de menor energía entre los orbitales moleculares. Por lo tanto, compuestos con sistemas de conjugación alta requieren menor energía para promover a un estado electrónico excitado. Esto es debido a que la energía del fotón es directamente proporcional a la frecuencia de la luz, pero inversamente proporcional a la longitud de onda. Como resultado, una longitud de onda más grande corresponde con menor energía. Se encontrará que compuestos con una gran extensión de la conjugación tendrán λ_{\max} mayores.

La región del espectro electromagnético donde la longitud de onda se encuentra entre 400-700 nm es la región del visible. Cuando un compuesto posee un sistema de enlaces π conjugados alto, es posible que la λ_{\max} se encuentre arriba de 400 nm. Tales compuestos absorberán luz visible, más que luz UV y por lo tanto el compuesto será coloreado.⁹

2.1.3. Espectroscopia IR

Los niveles de energía vibracional para un enlace en particular son separados entre ellos por un gap de energía (ΔE). Si un fotón de luz posee exactamente esta cantidad de energía, el enlace puede absorber el fotón y promocionar una excitación vibracional. La energía del fotón es temporalmente guardada como energía vibracional hasta liberarla de nuevo al medio ambiente, usualmente en forma de calor. Existen varios tipos diferentes de excitación vibracional, porque los enlaces almacenan energía vibracional por varios caminos. Los enlaces se pueden estirar como un resorte y también pueden flexionarse de diferentes maneras. Por ejemplo, vibración de flexión en un plano (scissoring) y vibración de flexión fuera del plano (twisting).

Los enlaces absorben fotones de diferentes energías, de hecho, cada tipo de enlace absorberá a una frecuencia característica, permitiéndonos determinar cuál tipo de enlace está presente en la molécula.



En un espectrómetro de IR una muestra es irradiada con frecuencias de radiación infrarroja y las frecuencias que pasan a través (que no son absorbidas por la muestra) son detectadas. Una gráfica se construye mostrando las frecuencias que fueron absorbidas por la muestra. El espectrómetro más comúnmente usado es llamado espectrómetro de Transformada de Fourier (FT-IR), el cual irradia la muestra con todas las frecuencias de manera simultánea y después utiliza una operación matemática llamada Transformada de Fourier, para determinar que frecuencias pasaron a través de la muestra.¹⁰

2.1.4. Espectroscopia RMN ¹H y Espectroscopia RMN ¹³C

Al igual que los electrones, los protones y los neutrones tienen espín. Un núcleo que contiene un número impar de protones o de neutrones o de ambos tiene espín y es magnéticamente activo. El núcleo más pequeño que satisface este requisito es ¹H, pero también lo satisfacen ¹³C, ¹⁷O, ⁹F y ³¹P: Estos núcleos se comportan como si girarán en torno a un eje y por tanto tienen momento angular. Puesto que el núcleo tiene carga positiva, este movimiento de rotación sobre un eje hace que se comporte como si fuera un imán diminuto. De acuerdo a la mecánica cuántica, cuando un núcleo con un espín neto se coloca en un campo magnético grande, su orientación con respecto al campo magnético externo define estados de energía cuantizados para el núcleo. En el caso de núcleos con espín de ½ como ¹H y ¹³C, son posibles dos orientaciones: la alineación a favor del campo magnético externo o en contra del mismo. La alineación del espín nuclear a favor del campo magnético es ligeramente más favorable que la alineación en contra del campo, de modo que estas dos alineaciones son de distinta energía. En consecuencia, el número de moléculas cuyos núcleos tienen una alineación paralela es ligeramente mayor que el de las que tienen núcleos con alineación anti paralela. La observación de las transiciones entre estos dos estados de espín proporciona abundante información acerca del ambiente que rodea a los núcleos de las moléculas.

Los núcleos se pueden inducir a saltar de un estado de espín de baja energía a uno de mayor energía por medio de energía electromagnética de una frecuencia tal que coincida con la diferencia de energía entre los dos estados. A la inversa, cuando un núcleo en el estado de mayor energía cae al estado de más baja energía, se emite energía electromagnética de esa frecuencia. El espín que da origen a ambos estados es una propiedad del núcleo del átomo, y la técnica se conoce como espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN). Cuando los núcleos de una muestra están saltando rápidamente entre ambos estados, se dice



que están en resonancia con la radiación electromagnética aplicada. Los químicos pueden detectar cuando esto sucede de 2 maneras: midiendo la energía que los núcleos absorben de una señal electromagnética aplicada cuando saltan al estado de más alta energía o “escuchando” la energía que los núcleos irradian cuando regresan al estado de más baja energía.

La frecuencia de la energía que se requiere para inducir el salto entre estados de espín en los núcleos varía en proporción directa con la magnitud del campo magnético aplicado. Cuanto mayor es la intensidad del campo, más grande es la diferencia entre los estados de espín paralelo y antiparalelo, y mayor es la energía de la señal necesaria para inducir el cambio. Los espectrómetros de RMN comerciales tienen imanes muy grandes que emplean cables superconductores para generar un campo magnético. Con estas intensidades de campo se requiere una energía del orden de las radiofrecuencias para inducir el salto entre estados. Los espectrómetros de RMN se clasifican por la frecuencia que emplean para cambiar el estado de espín de los núcleos magnéticamente activos. Las máquinas de campo más alto disponibles en la actualidad de fabricantes de instrumentos comerciales operan a 900 MHz (1 mega Hertz, equivale a 1 millón de ciclos por segundo), los más comunes son de 100 a 300 y 400 MHz.

Por ejemplo, las frecuencias de 100 MHz corresponden a muy poca energía, alrededor de 1×10^{-5} Kcal/mol y esta energía de radiofrecuencia sólo puede ser absorbida por los núcleos que se comportan como imanes en un campo magnético aplicado.

Los núcleos de hidrogeno y carbono son los que más interesan a los químicos orgánicos, siendo el espín neto de $\frac{1}{2}$ para los isotopos más abundantes de ambos. Aunque el isotopo más abundante de carbono representa sólo el 1.1% presente en las muestras normales y es preciso utilizar instrumentos más sensibles para observar los cambios de estado de espín de este núcleo, la abundante información que contienen los espectros de RMN de ^{13}C hace que valga la pena construir y usar estos instrumentos.

El campo efectivo (H_{ef}) que percibe el núcleo difiere del campo magnético aplicado (H_0) a causa de un minúsculo campo magnético local (H_{loc}) que establece la nube de electrones en circulación que rodea al núcleo.

$$(H_{\text{ef}}) = (H_0) - (H_{\text{loc}})$$

La densidad electrónica en torno a cada átomo de la molécula varía con la naturaleza de los átomos circundantes y es ligeramente distinta para cada átomo no equivalente. En esencia, el núcleo de un átomo experimenta un cierto grado de



protección respecto al campo magnético externo. Por lo tanto, cada núcleo específico experimenta un H_{ef} diferente y en consecuencia emite energía a una frecuencia distinta. El resultado es una gráfica de la intensidad de señal en función de la frecuencia de la energía electromagnética que liberan los diversos núcleos de una muestra.

Las frecuencias se informan como la diferencia (en partes por millón, o ppm) entre las señales que se registran para una muestra y la de un compuesto de referencia, el tetrametilsilano, $(CH_3)_4Si$ (TMS), que se agrega a la muestra para la espectroscopia tanto de protones como de carbono. Así pues, las señales se informan como desplazamientos químicos, o cambios, respecto a este estándar en la escala delta (δ), donde 1 δ equivale a 1 ppm y la señal del TMS es el 0 (cero).

$$\delta = (\omega \text{ muestra} - \omega \text{ estandar} / \omega \text{ estandar}) \times 10^6$$

Puesto que la escala δ se basa en la relación de la diferencia de frecuencia entre un estándar y una muestra a la frecuencia del estándar, los valores son independientes de la intensidad del campo magnético. La mayoría de las señales de protones varían entre 0-12 ppm; mientras que el intervalo del carbono es más grande, de 0-250 ppm.

Casi todas las señales aparecen a frecuencias inferiores a la del estándar y se dice que están a frecuencias más bajas que el TMS, porque el silicio es menos electronegativo que el carbono, el enlace C-Si del TMS está polarizado hacia los átomos de carbono de los grupos metilo. Esta densidad electrónica protege los núcleos de hidrogeno y de carbono de esta molécula respecto al campo magnético aplicado y por eso aparece a frecuencias altas.

A partir del número de señales se establece el número de tipos distintos de núcleos presentes: el desplazamiento químico de cada señal revela detalles acerca del ambiente químico de cada tipo de núcleo, y el desdoblamiento de las señales permite deducir cuántos protones están cerca de cada uno. Cabe recalcar que los espectros de protones, se desdoblan en patrones simétricos, como resultado de interacciones con protones vecinos y aparecen más complejos que los espectros de carbono en donde se registran como una serie de líneas individuales agudas.¹¹

2.1.5. Espectrometría de masas:

La espectroscopia es el estudio de la interacción entre la materia y la radiación electromagnética. En contraste, la espectrometría de masas es el estudio de la



interacción entre la materia y una fuente de energía más que de radiación electromagnética. La espectrometría de masas es usada principalmente para determinar el peso molecular (I.E) y la fórmula molecular de un compuesto (HREI). En el espectrómetro de masas, el compuesto es primero vaporizado y convertido en sus iones, los cuales son separados y detectados. La técnica más común de ionización involucra el bombardeo del compuesto con electrones de alta energía. Estos electrones llevan una suma extraordinaria de energía, usualmente alrededor de 1600 kcal/mol o 70 electronvoltios (eV). Cuando estos electrones de alta energía golpean a la molécula, ocasionan que uno de los electrones de la molécula sea expulsado. Esta técnica conocida como **ionización de impacto electrónico** (IE), genera un intermediario de alta energía que es a su vez un radical y un catión.

El espectro de masas es una gráfica de la relación de la abundancia del ion contra m/z . El ion más abundante formado en la cámara de ionización da como resultado el pico más alto en el espectro, a lo que se llama pico base. La abundancia relativa de los otros picos se reportan como porcentajes de abundancia del pico base. El haz de electrones en la cámara de ionización convierte algunas de las moléculas de la muestra en iones positivos, algunos de estos iones son importantes para examinar. La remoción simple de un electrón de la molécula origina un ion cuyo peso es el peso molecular de la molécula original. Éste es llamado el ion molecular que se simboliza por la letra M^+ .¹²

2.1.6. Análisis de difracción de rayos-X

Los rayos-X se descubrieron en 1895 por el físico alemán Röntgen y recibieron ese nombre porque se desconocía su naturaleza en ese momento. En 1912 se estableció de manera precisa la naturaleza de estos rayos. En ese año se descubrió la difracción de rayos-X en cristales y este descubrimiento probó la naturaleza de los rayos-X y proporcionó un nuevo método para investigar la estructura de la materia de manera simultánea. Los rayos-X son radiación electromagnética de la misma naturaleza que la luz, pero de longitud de onda mucho más corta. La unidad de medida en la región de los rayos -X es el angstrom (Å), que equivale a 10^{-10} m y los rayos -X usados en difracción tienen longitudes de onda en el rango 0.5-2.5 Å mientras que la longitud de onda de la luz visible está en el orden de 6000 Å.

El espectro continuo. Los rayos-X se producen cuando una partícula cargada eléctricamente con suficiente energía cinética es frenada repentinamente. Los



electrones son las partículas utilizadas habitualmente y la radiación se obtiene en un dispositivo conocido como tubo de rayos-X.

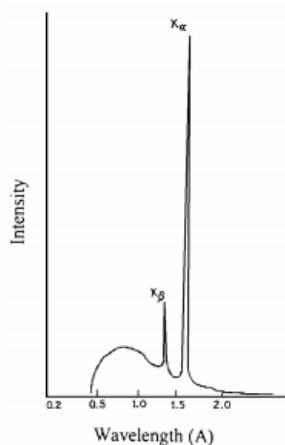


Figura 2.1.6.1. Espectro de rayos-X.

Los rayos-X emitidos consisten en una mezcla de diferentes longitudes de onda y la variación de intensidad con λ depende del voltaje del tubo. La figura 1.5.1 muestra el tipo de curvas obtenidas. La intensidad es cero hasta cierta longitud de onda, llamada λ_{lim} , la cual aumenta rápidamente hasta un máximo y entonces decrece sin un límite abrupto en la parte de longitud de onda larga. Esta radiación se denomina radiación continua o blanca, pues está formada igual que ocurre con la luz blanca por muchas longitudes de onda.

El espectro característico. Cuando el voltaje de un tubo de rayos-X supera cierto valor crítico, aparecen picos estrechos y agudos a ciertas longitudes de onda superpuestos sobre el espectro continuo. Dado que son picos estrechos y que la longitud de onda depende del metal usado como blanco se denominan líneas características. Estas líneas se agrupan en conjuntos denominados K, L, M, etc. en orden de λ creciente y todas juntas forman el espectro característico del metal usado como blanco. Normalmente, únicamente las líneas K son útiles en difracción, las de λ más larga son absorbidas con demasiada facilidad. Hay varias líneas en el conjunto K, pero sólo las tres más intensas se observan en el trabajo de difracción habitual y son $K\alpha_1$, $K\alpha_2$ y $K\beta_1$; para Mo las λ son aproximadamente las siguientes:

$K\alpha_1$: 0.709 Å

$K\alpha_2$: 0.71 Å



$K\beta_1$: 0.632 Å

Las líneas de rayos-X características fueron sistematizadas por Moseley, éste encontró que la longitud de onda de una línea particular descendía conforme el nº atómico del emisor aumentaba.

En concreto, encontró una relación lineal entre la raíz cuadrada de la frecuencia y el nº atómico Z es la siguiente: $\sqrt{\nu} = C (Z - \sigma)$

Dónde: C y σ son constantes.

Mientras que el espectro continuo tiene su origen en la deceleración de los electrones que inciden sobre el blanco de un tubo de rayos-X, el origen del espectro característico está en los átomos mismos del blanco. Para comprender este fenómeno es suficiente considerar un átomo como un núcleo central rodeado por electrones formando capas donde los términos K, L, M... corresponden al nº cuántico principal $n=1,2,3,\dots$. Si uno de los electrones que bombardean el blanco posee suficiente energía cinética puede arrancar un electrón de la capa K dejando el átomo en un estado excitado de alta energía. Uno de los electrones en niveles superiores cae inmediatamente en la vacante generada emitiendo energía en el proceso; la energía emitida tiene un λ definida, es de hecho radiación K.

Estado cristalino. Todos los materiales cristalinos adoptan una distribución regular de átomos o iones en el espacio. La porción más simple de la estructura que al repetirse mediante traslación reproduce todo el cristal se define como celda unidad.

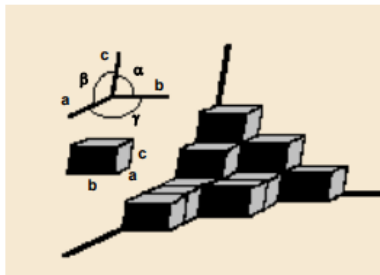


Figura 2.1.6.2. Distribución de celda unidad sobre el eje de coordenadas.

Un nivel creciente de simetría origina relaciones entre los diferentes parámetros de celda y da lugar a los 7 sistemas cristalinos.

Tabla 2.1.6.1. Parámetros de celda correspondientes a los sistemas cristalinos.



Parámetro de celda unidad	Sistema cristalino
$a \neq b \neq c \quad \alpha \neq \beta \neq \gamma$	Triclínico
$a \neq b \neq c \quad \alpha = 90^\circ \quad \beta \neq 90^\circ$	Monoclínico
$a \neq b \neq c \quad \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Ortorrómico
$a = b \neq c \quad \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Tetragonal
$a = b = c \quad \alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$	Trigonal
$a = b \neq c \quad \alpha = \beta = 90^\circ \quad \gamma = 120^\circ$	Hexagonal
$a = b = c \quad \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Cúbico

La posición de un átomo dentro de la celda unidad se describe normalmente usando coordenadas fraccionarias. La simetría traslacional de una estructura cristalina se caracteriza mediante la red de Bravais y existen 14 redes de Bravais diferentes.

Interacción de los rayos-X con la materia.

Difracción. La interacción de los rayos-X con la materia esencialmente ocurre mediante dos procesos: a) Algunos fotones del haz incidente son desviados sin pérdida de energía, constituyen la radiación dispersada exactamente con la misma λ que la radiación incidente (es la que origina el fenómeno de la difracción). b) Los fotones pueden sufrir una serie de choques inelásticos al incidir sobre un blanco y su energía incrementa la T de la muestra o da lugar al fenómeno de fluorescencia. ¿Bajo qué condiciones el haz de rayos-X será difractado? Un rayo difractado puede definirse como un rayo compuesto de un gran número de rayos dispersados que se refuerzan mutuamente. La difracción es, por tanto, esencialmente un fenómeno de dispersión. Los átomos dispersan la radiación incidente en todas direcciones, y en algunas direcciones los rayos dispersados estarán completamente en fase y por tanto se refuerzan mutuamente para formar rayos difractados

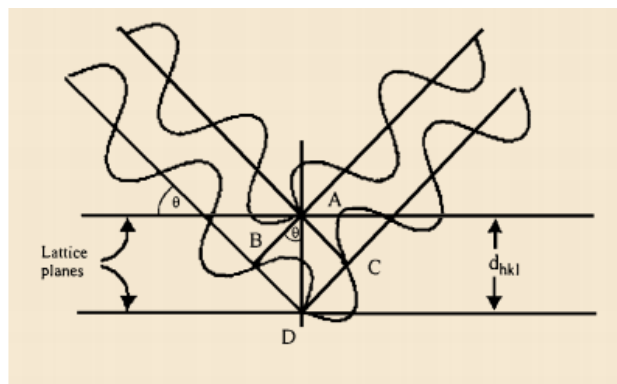


Figura 2.1.6.3. Dispersión de los rayos -X con la materia



Los rayos dispersados estarán completamente en fase si esa diferencia de fase es igual a un número entero n de longitudes de onda: $n\lambda = 2d\sin\theta$ Esta relación se conoce como Ley de Bragg y establece la condición esencial que debe cumplirse para que ocurra la difracción; n se denomina orden de difracción y debe ser un n° entero consistente con $\sin\theta$ menor o igual que 1.12.¹³

2.1.7. Química Computacional

La Química Computacional, también llamada Química Teórica o Modelamiento molecular, es un campo de la ciencia que es antigua y moderna. Ya que sus fundamentos surgen con el desarrollo de la teoría cuántica de Max Planck, y es reciente; sin embargo, debido a que el avance de la tecnología de las computadoras ha avanzado desde hace la década de los 1970's, lo cual da cabida a aplicar nuevas metodologías teóricas.¹⁴

Esta nueva rama de la ciencia simula estructuras y reacciones químicas de manera numérica, basada completamente o en parte en las leyes de la física. Esto permite a los químicos estudiar fenómenos, haciendo cálculos en computadoras, en lugar de tener que realizar todas las reacciones y preparar todos los compuestos experimentalmente. Esto no significa de ninguna manera que se pretenda cambiar las metas básicas de los químicos experimentales. Debido a que modelar por sí mismo, no conduce a la síntesis de ningún material, solo a las especificaciones de los mismos. Por lo tanto, la química sintética mantiene su lugar tan importante dentro de la química.

Los conceptos teóricos cuánticos permean la Química más frecuentemente de lo que se piensa. Los químicos son conocedores intuitivos de los diferentes tipos de enlace químico, usando la estructura, la espectroscopia y la dinámica de moléculas, y con la variedad de las posibles reacciones químicas. Los químicos usan los conceptos basados en la teoría, por ejemplo de la mecánica cuántica o la mecánica estadística, para describir y analizar los fenómenos químicos. La principal tarea de la química teórica ha sido siempre proveer el marco teórico necesario para entender la química.

El auge de la química teórica se ha dado en las últimas décadas, se ha dado por el avance de métodos computacionales, software y hardware. Un ejemplo muy tangible son: 1) cálculos Ab Initio muy precisos de la espectroscopia, dinámica de moléculas pequeñas, también 2) cálculos con la metodología de los Funcionales de la Densidad de mecanismos de reacción y de catálisis de metales de transición,



3) cálculos de la mecánica molecular de reacciones enzimáticas o 4) Reacciones de Simulación de Dinámica molecular de biomoléculas.

Sin embargo, una de las razones por la cual la química cuántica es importante y debe ser utilizada, es porque existen métodos por medio de los cuales se puede examinar no sólo moléculas estables, sino también intermediarios inestables de corta vida, y aún más se pueden modelar y estudiar estados de transición.

Ningún cálculo es ideal para todos los problemas, y un gran número de esfuerzos son dirigidos para encontrar métodos adecuados para diferentes problemas. Por eso, se utilizan diferentes metodologías para obtener datos adecuados para diferentes problemas. Los métodos se basan en ecuaciones fundamentales de la física clásica como la dinámica molecular o la mecánica molecular, o métodos que se basan en las ecuaciones derivadas de la física cuántica, como los métodos semi-empíricos que utilizan valores como constantes de distancias, ángulos o valores termodinámicos de átomos o moléculas. Las metodologías que no utilizan constantes son del tipo Ab initio, y los métodos que utilizan a la densidad electrónica como variable fundamental, llamados Funcionales de la Densidad o DFT.

Los cálculos de mecánica molecular son rutinariamente empleados por los químicos para obtener geometrías moleculares en equilibrio y conformaciones. Describe moléculas en términos de la posición de átomos, y geometría molecular en términos de la física clásica de Newton, calculando distancias y ángulos de enlace y ángulos diedros que resulten en una energía más baja, tomando en cuenta también las interacciones de no enlace tipo Van der Waals y Coulómbicas. Con el esqueleto molecular obtenido de mecánica molecular, la energía de la molécula es descrita en términos de una suma de contribuciones provenientes de distorsiones de distancias de enlace "ideal" (contribuciones de estiramiento), ángulos de enlace "ideal" (contribuciones de inclinamiento) y ángulos diedros "ideal" (contribuciones de torsión), junto con contribuciones debidas a las interacciones de no-enlazamiento tipo Van der Waals y Coulómbicas.

Los métodos semi-empíricos pueden ser aplicados a moléculas que comprendan hasta 200 átomos, y han sido probados con éxito para cálculos de geometrías en equilibrio, y moderadamente exitosas para el cálculo de geometrías de los estados de transición. Sin embargo, no son satisfactorias para evaluaciones termoquímicas y cinéticas o para asignaciones conformacionales.

Los métodos de cálculo del tipo Ab initio, tienen diferente grado de refinamiento y se calculan valores geométricos, electrónicos y energéticos. Los métodos de



mecánica cuántica parten de la ecuación de Schrödinger, la cual puede ser resuelta exactamente solo para el caso especial del átomo de hidrógeno. Por lo tanto, se han introducido una serie de aproximaciones para resolver el problema de sistemas multielectrónicos. Esta metodología da valores muy precisos. Se aplica ampliamente para calcular y simular espectros vibracionales IR, UV/Vis y RMN. Calcular los valores de energía de los orbitales HOMO y LUMO.

La Teoría del Funcional Densidad (DFT, por sus siglas en inglés), aplicada a sistemas electrónicos, es un procedimiento variacional alternativo a la solución de la ecuación de Schrödinger, donde el funcional de la energía electrónica es minimizado con respecto a la densidad electrónica. Es uno de los métodos más utilizados en los cálculos cuánticos de la estructura electrónica de la materia, tanto en la física de la materia condensada como en la química cuántica. Esta metodología se utiliza ampliamente para calcular los valores de energía de los estados basales de las moléculas, datos electrónicos, cargas atómicas, potenciales electrostáticos, también se utilizan para obtener datos estructurales.

Los retos de la química teórica van acompañados de avances en la tecnología y la aplicación de los métodos teóricos, de las funciones base que se emplean y de la aplicación e interpretación de los resultados.¹⁵

Las hidrazonas son una clase de compuestos orgánicos con aplicaciones en la síntesis orgánica y la química medicina, propiedades farmacológicas, entre otros diversos usos.¹⁶ Algunas propiedades comprobadas como antimicrobianos, antiinflamatorios, analgésicos, anti-tuberculosis, antivirales, etc.¹⁷ Algunas razones de sus múltiples usos son por su estabilidad hacia la hidrólisis, así como por la diversidad de reacciones de la (i) estructura de la hidrazona $C=N-N$, ya que la estructura tiene carácter nucleofílico con sus dos diferentes N (imínico y amínico) que permite su aplicación en diferentes reacciones, (ii) tiene un C imínico que tiene ambas características electrofílico y nucleofílico, (iii) isomerismo configuracional, desde la naturaleza intrínseca del doble $C=N$, y (iv) en la mayoría de los casos un protón ácido N-H. Todo lo cual le confiere al grupo hidrazona diversas propiedades de reactividad química.



2.2. ANTECEDENTES PARTICULARES

Las Hidrazidas-hidrazonas constituyen una clase de compuestos orgánicos que han atraído la atención de químicos medicinales, debido al hecho de que contienen el grupo azometino (-NH-N=CH-) unido a un grupo carbonilo, el cual es responsable de sus diferentes aplicaciones farmacéuticas y hace posible la síntesis de compuestos heterocíclicos.¹⁸

Los derivados de Hidrazidas-hidrazonas están presentes en muchas moléculas bioactivas y presentan diferentes actividades biológicas tales como la antibacteriana, antituberculosis, antifúngica, anticancerosa, antiinflamatoria, anticonvulsionante, antiviral y contra protozoarios. De las cuales, la propiedad biológica más común encontrada en la literatura es la antibacteriana.¹⁹

La importancia de los compuestos heterocíclicos en química medicinal no debe ser desestimada, ya que son componentes principales de muchos fármacos. Los heterociclos de 5-7 miembros nitrogenados son importantes ya que forman parte esencial de muchos fármacos, los cuales son utilizados en el tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo, el problema de este tipo de heterociclos para el tratamiento de infecciones bacterianas por ejemplo, es que además de causar efectos secundarios, muchas bacterias han llegado a ser resistentes a varios antibióticos. Por lo tanto, los investigadores se han visto en la necesidad de sintetizar nuevos compuestos contra infecciones bacterianas que se enfoquen en una característica específica en el ciclo de vida del patógeno. Tal es el caso de Yong *et al.*²⁰, quienes sintetizaron los compuestos **1** 1-(2-[(5-metilfuranyl)metilen])hidrazono)ftalazina, y **2**, (2-acetiltiofenohidrazono)ftalazina, que son bases de Schiff de hidralazina.



Figura 2.2.1. Compuestos 1 y 2 derivados de la hidralazina.

La actividad antibacteriana de los compuestos **1** y **2** fue realizada por el método buena-difusión en agar para 6 diferentes cepas bacterianas. Nombradas como

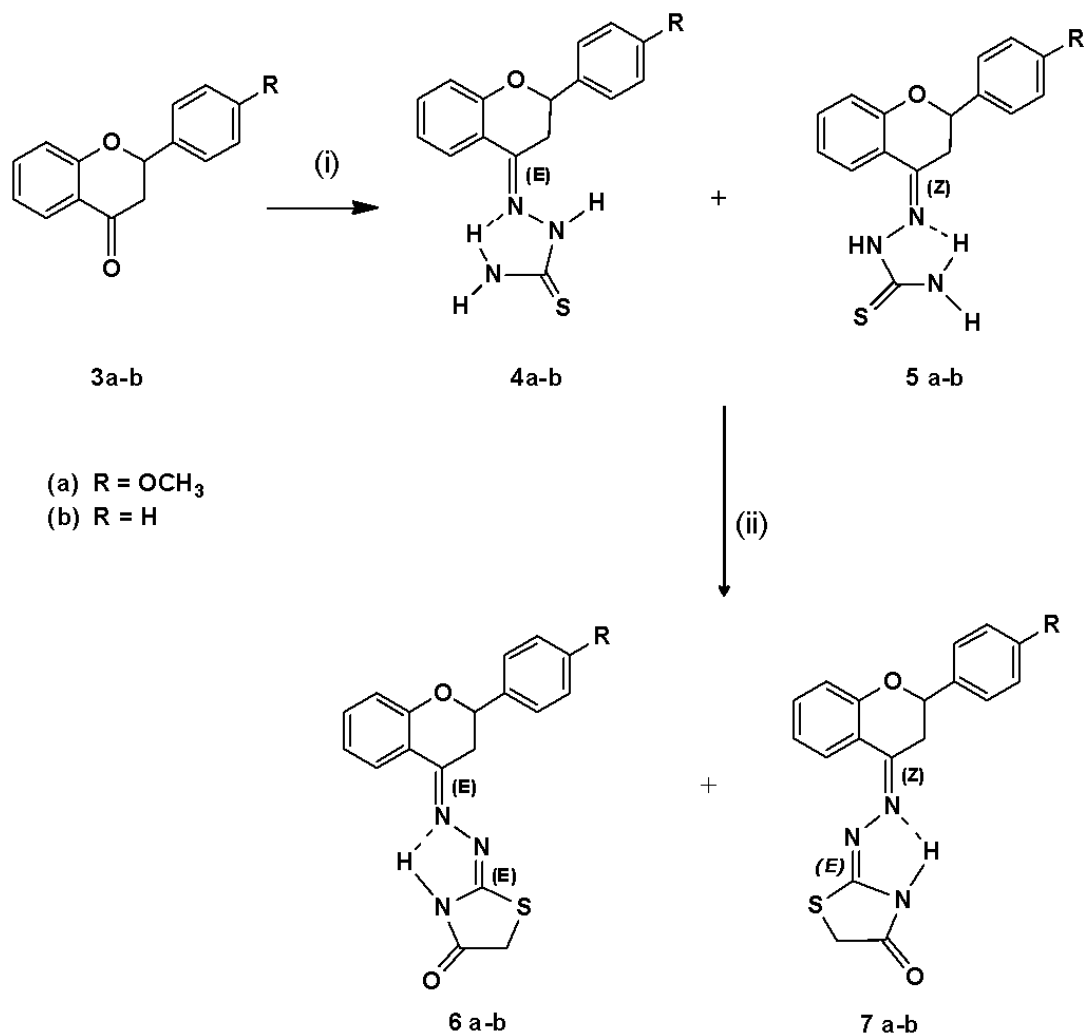


bacterias Gram negativa cepas: *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, y bacterias Gram positiva cepas: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. La actividad antimicrobiana de los compuestos *in vitro* fue evaluada en términos de zonas inhibitorias alrededor de cada pozo. Los diámetros

de la zona de inhibición producida por los compuestos **1** y **2** fue comparada con los producidos por los antibióticos comerciales como la amoxicilina y norfloxacin (5 mg/mL) los cuales son antibióticos comunes usados para el manejo de infecciones desencadenadas por bacterias Gram positiva y Gram negativa.²⁰

Mukhtar y colaboradores²¹ se ocuparon de la síntesis, estereoquímica y el monitoreo de 4 compuestos nuevos: tipo tiazolidin-4-ona a partir de 4-metoxiflavanona **3a** y de la flavanona **3b** vía la reacción con la respectiva tiosemicarbazonas **4a** y **4b**, con ácido cloro acético y acetato de sodio en ácido acético. Los resultados del monitoreo de los compuestos **4a**, **4b**, **6a** y **6b** son de la actividad antimicrobiana contra 4 bacterias: *Escherichia coli* U.P-2566, *Bacillus subtilis* MTCC-121 aislado en el laboratorio, *Staphylococcus aureus* IOA-106; *Pseudomonas aeruginosa* IOA-110 y contra un hongo, *Candida albicans* SC-5314.





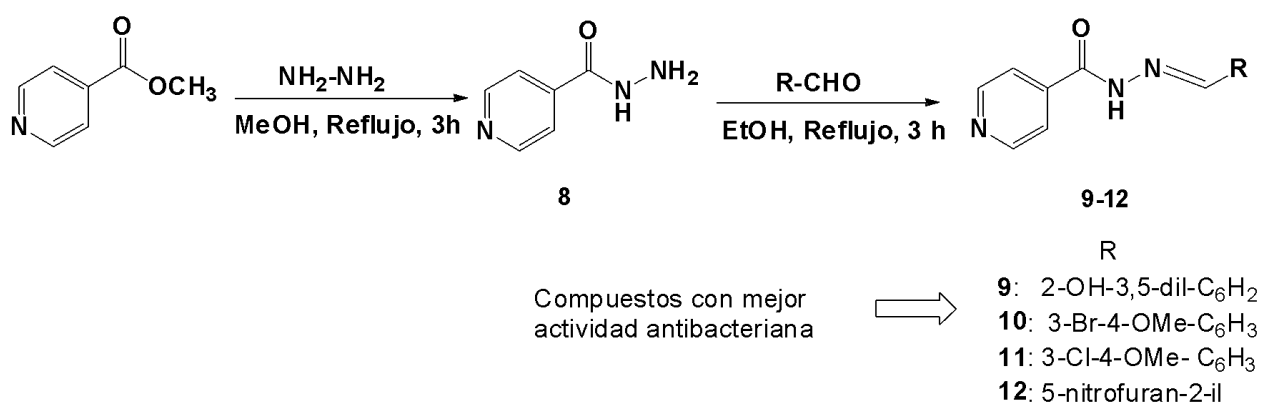
Esquema 2.2.1. Síntesis de los compuestos 4 + 5 (i) 1/H₂N-NH-(C=S)-NH (relación molar, 1:1.25), AcOH, alcohol absoluto, reflujo, 8 h. 6 + 7 (ii) 2/Cl.CH₂COOH/AcONa (relación molar, 1: 1.25: 1.5), AcOH, reflujo, 10 h obtenidos por Mukhtar *et al.*

Los nuevos compuestos sintetizados, **4a**, **4b**, **5a**, **5b** fueron evaluados por su actividad antibacteriana y antifúngica. La actividad antimicrobiana contra bacterias “Gram negativa” fue encontrada para todos los compuestos. Los compuestos designados como **4a** y **4b** demostraron una actividad antimicrobiana de amplio espectro, por ejemplo, contra bacterias “Gram negativa” y “Gram positiva”, mientras que los derivados de tiazolidin-4-onas **6a** y **6b** mostraron actividad únicamente contra bacterias “Gram negativa”, pero no se encontró actividad antifúngica significativa para ninguno de los compuestos examinados



contra el hongo *C. albicans*. También encontraron que la concentración efectiva de estos compuestos fue de 200 mg/well.²¹

Popiolek *et al.*²², obtuvieron 15 nuevas hidrazidas-hidrazonas por condensación de la hidrazida del ácido isonicotínico con diferentes aldehídos aromáticos, confirmando su estructura por métodos espectroscópicos. Todos los compuestos sintetizados fueron sujetos a ensayos antimicrobianos *in vitro* contra las cepas de las bacterias Gram negativa” y “Gram positiva” y el correspondiente hongo, *Candida spp.* Algunos de los compuestos sintetizados hidrazidas-hidrazonas resultaron ser compuestos con actividad antibacteriana significativa y más potente que los agentes quimioterapéuticos comúnmente utilizados.



Esquema 2.2.2. Pasos en la síntesis de nuevas hidrazida-hidrazonas del ácido isonicotínico. Popiolek

Los datos obtenidos por Popiolek *et al.* indican que los nuevos compuestos sintetizados **9-12**, exhiben algún tipo de actividad antimicrobiana contra bacterias y levaduras de referencia. Los compuestos **9** y **12** mostraron el efecto antibacteriano más alto. El compuesto **9** exhibió una actividad muy fuerte contra todas las bacterias Gram-positivas y con efecto bactericida hacia *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633 y efecto bacteriostático contra otras bacterias.

Vale la pena resaltar la actividad del compuesto **9** contra *S. aureus* ATCC 25923 y *M. luteus* ATCC 10240, el cual fue ocho veces y 32 veces respectivamente mejor que la actividad de la nitrofurantoina.



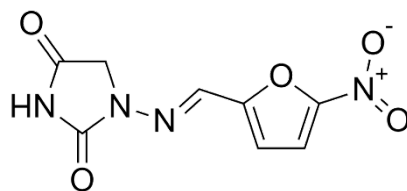


Figura 2.2.2. Estructura de la nitrofurantoina.

La actividad de este derivado también fue significativa contra *B. subtilis* ATCC 6633, la cual fue dos veces más alta que la actividad de la cefuroxima y ocho veces más alta que la actividad de la ampicilina.

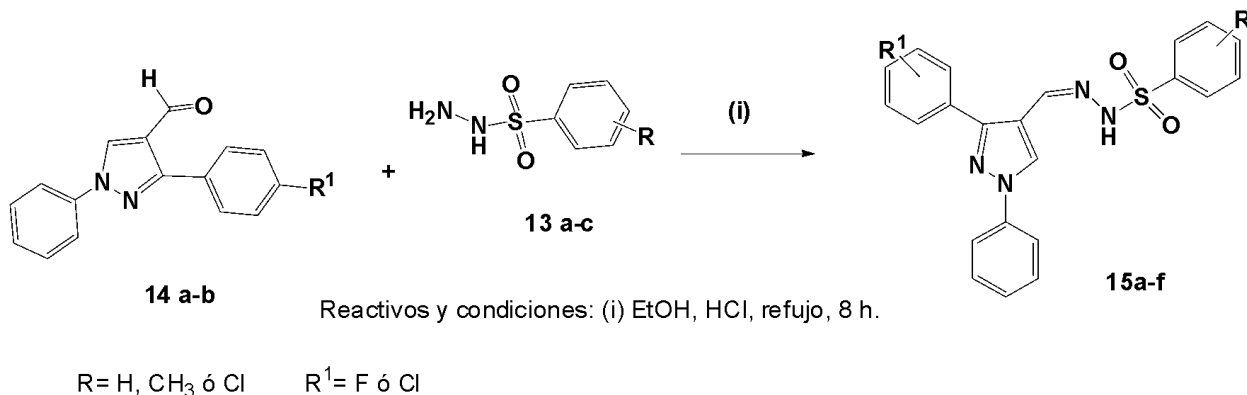
Esta sustancia mostró también una buena actividad bactericida hacia la bacteria Gram- negativa *Bordetella bronchiseptica* ATTC 4617. La actividad contra esta bacteria fue igual a la actividad de la nitrofurantoina con efecto bactericida.

Los compuestos **10** y **11** mostraron un efecto moderado hacia *M. luteus* ATTC 10240 y buena actividad bactericida contra otras bacterias Gram positivas. Más aún el compuesto **9** indica tener un buen efecto antifungicida hacia *Candida spp.*²²

Las hidrazonas han sido importantes en productos naturales y en el descubrimiento de fármacos. Así mismo, los derivados de sulfonamidas son importantes farmacóforos con estabilidad y tolerancia en el sistema humano.

Por lo tanto, Bhat y colaboradores¹¹ realizaron estudios en este ámbito y en este artículo explican la condensación de varios arilsulfonohidrazidas con dos aldehídos de pirazol para obtener las correspondientes hidrazonas **15a-f**. Las hidrazonas sintetizadas fueron caracterizadas espectroscópicamente. Las interacciones de puente de hidrógeno intermolecular del tipo N-H...O, C-H...O, C-H...C, O-H...O, O-H...N y C-H...N juegan un papel significativo en la estabilidad de las moléculas. El Análisis 3D Hirshfeld y las gráficas 2D de huella dactilar han ayudado a descodificar el comportamiento de las interacciones y sus contribuciones cuantitativas con relación a la estructura empaquetada de los cristales. Además, la efectividad antibacteriana de las moléculas sintetizadas **15a-f**, fueron analizadas contra cepas Gram-negativa y Gram-positiva. Es interesante que los compuestos de pirazol fluorados **15a** y **15c** aparecen con buena inhibición bacteriana, teniendo un alcance para producir efectos terapéuticos en un futuro.





Esquema 2.2.3. Síntesis de N'-[4-(4-aryl)-1-fenil-1H-pirazol-3-il]metiliden-bencenesulfonohidrazida por Bhat *et al.*

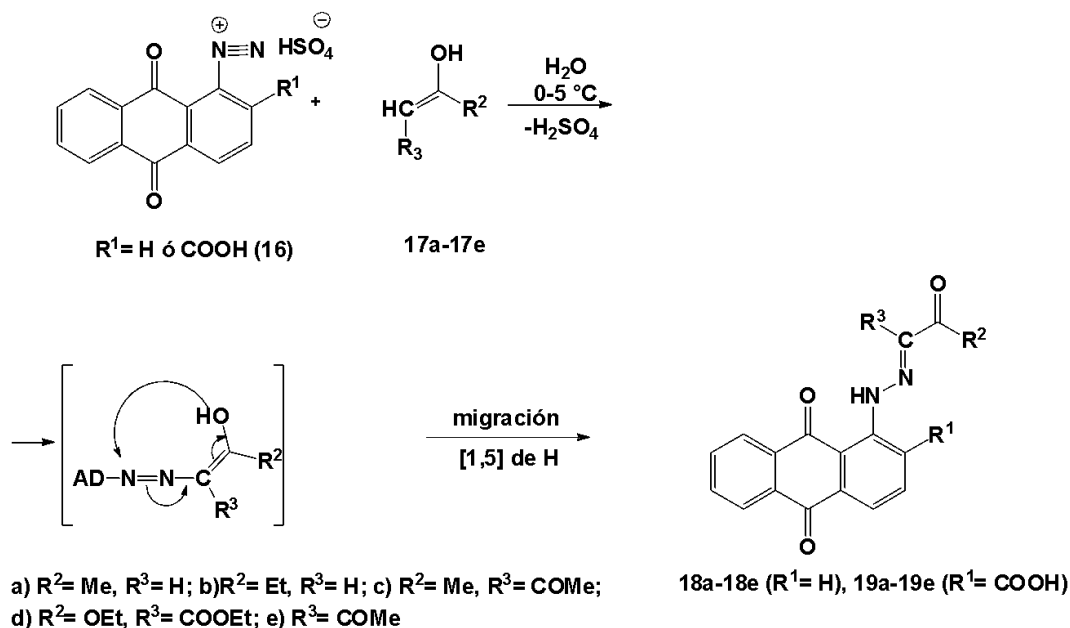
Ensayo antibacterial *in vitro*: La eficacia antibacteriana de los compuestos (**15a-f**) fue determinada en términos de MIC, concentración mínima de la solución de prueba a la cual no se observa crecimiento bacteriano.

Los compuestos **15a** y **15c** que contienen un flúor en el anillo de fenilo de la fracción del pirazol, exhibieron buena inhibición del crecimiento de *E. faecalis*. El reemplazo del átomo de flúor por el de cloro en el anillo fenílico del pirazol redujo la efectividad del compuesto **15e**. Sin embargo, se encontró que todos los derivados fueron moderadamente activos contra la cepa *S. aureus*. Además, la sulfonamida no jugó un papel importante en extenuar el crecimiento bacteriano.

El ensayo antibacterial de los compuestos dio a conocer el papel de flúor en el aumento de la efectividad de los compuestos **15a** y **15c**, lo cual reafirma la necesidad de realizar modificaciones estructurales en la sulfonamida, reemplazando el anillo fenílico por moléculas fluoradas, lo cual podría ofrecer un compuesto líder en el futuro.²³

Stasevych y su grupo de colaboradores²⁴ establecieron experimentalmente que en las hidrazonas, la libre rotación alrededor del enlace N=C, la cual es posible, existe como un isómero debido a la presencia de un enlace intramolecular de hidrógeno en la molécula. Se encontró que la antraquinonilhidrazona de la dimedona tiene acción contra las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* 209-P, *Mycobacterium luteum* B-917, y el hongo *Candida tenuis* VKM Y-70. Las hidrazonas de la dimedona y del ácido barbitúrico exhibieron mejor actividad antioxidante contra la enzima catalasa. Se definieron las correlaciones entre la estructura de las hidrazonas sintetizadas y su actividad antioxidante.

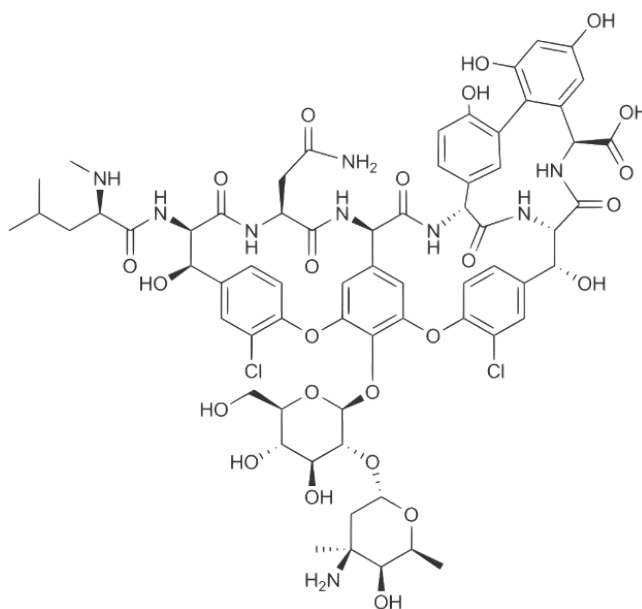




Esquema 2.2.4. Síntesis de nuevas hidrazonas 18 a-e y 19 a-e a partir de la reacción Japp-Klingemann en agua por Stasevych *et al.*

Los compuestos sintetizados **18a–18e**, **19a–19e**, **21a–21c**, **22a–22c** fueron evaluados por sus actividades antibacteriana y antifúngica contra las cepas *Escherichia coli* B-906, *Staphylococcus aureus* 209-P, *Mycobacterium luteum* B-917, *Candida tenuis* VKM Y-70, y *Aspergillus niger* VKM F1119.

Sus actividades fueron comparadas contra un agente antibacterial conocido (vancomicina) y un agente antifúngica (nistatina, control C).



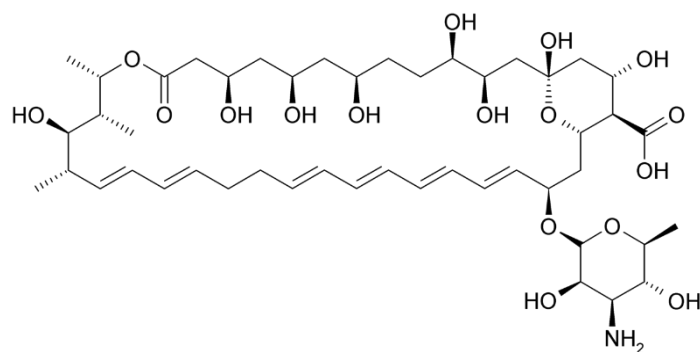


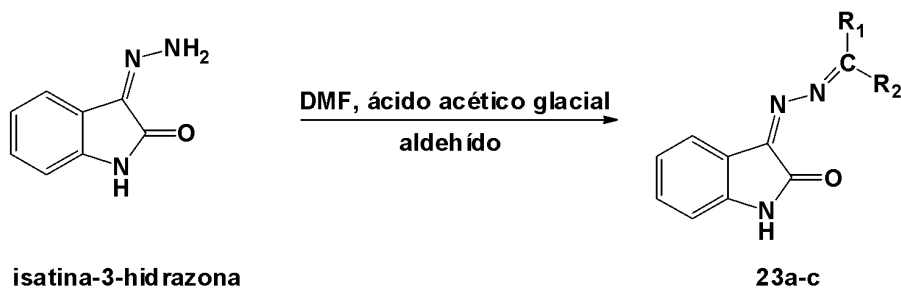
Figura 2.2.3. Estructuras de la vancomicina y de la nistatina.

La bacteria *E. coli* no fue sensible a ninguno de los compuestos sintetizados. *S. aureus* y la bacteria de cultivo *M. luteum* resultaron ser altamente sensibles al compuesto **22a**. Las cepas de los hongos *C. tenuis* y *A. niger* fueron muy sensibles a los compuestos **19c**, **19e**, **22b**. Finalmente se encontró que únicamente el compuesto **22b** tuvo efecto inhibitorio contra *A. niger*.

Capacidad antioxidante CUPRAC: Stasevych *et al.*¹², determinaron la capacidad antioxidante de las antraquinonilhidrazones **18a–18e**, **19a–19e**, **21a–21c**, **22a–22c** comparándola contra trolox (TR) como compuesto estándar de referencia utilizando el ensayo CUPRAC (a temperatura ambiente) y por sus actividades inhibitorias contra la enzima catalasa.

Los compuestos **22a** y **22b** exhibieron mejor capacidad antioxidante, así como la actividad de inhibición contra la enzima catalasa más alta comparada con los otros compuestos sintetizados.



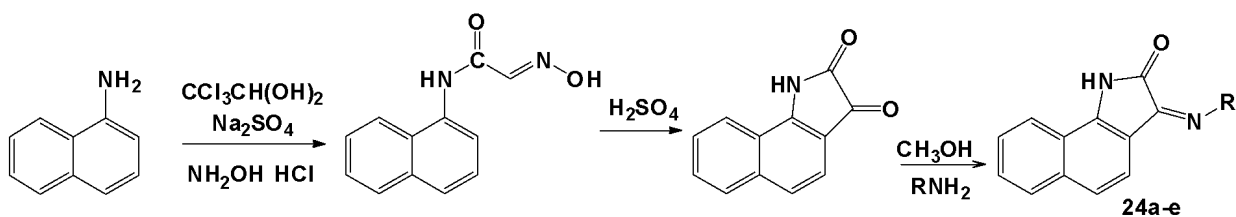


23a: R₁=R₂= H, formaldehido
23b: R₁= H y R₂= CH₃, acetaldeh\u00eddo,
23c: R₁= H y R₂= C₂H₅, propaldeh\u00eddo

Esquema 2.2.6. Esquema de bases de Schiff de la Isatina-3-hidrazonas sintetizados por Saxena *et al.*

Vasanthi *et al.*²⁶ sintetizaron nuevos derivados de 3-hidrazon-1*H*-benzoindol-2(3*H*)-ona por condensaci\u00f3n de 1*H*-benzoindole-2,3-diona con varios derivados de hidracina. Dichos compuestos fueron caracterizados por an\u00e1lisis f\u00edsico y espectrosc\u00f3pico. Se examinaron la actividad antibacteriana y antifungicida de todos los compuestos a diferentes concentraciones (100 $\mu\text{g/mL}$, 150 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$).

Estos compuestos son relativamente activos contra cepas bacterianas y mic\u00f3ticas. Los compuestos **24c** y **24e** mostraron actividad significativa contra bacterias y hongos.¹⁴



R= a) NH₂-NH₂, b) C₆H₅NHNH₂, c) NH₂NHCONH₂,
 d) NH₂NHCSNH₂, e) 2,4-DNP

Esquema 2.2.7. Reacci\u00f3n de s\u00edntesis de derivados de 3-Hidrazon-1*H*-benzoindol-2(3*H*)-ona.

Kumari *et al.*²⁷ examinaron la actividad antibacteriana de 3-cloro-6-(2,5-difluorobenzoyl)-1-(fenilamino)-8-(5-(4(trifluorometil)fenil)-1*H*-tetrazol-1-il)-1,6,7-triazaspiro [3.4]oct-7-eno-2,5-diona (**25a-g**) contra las bacteria Gram-positivas *Staphylococcus aureus* NCCS 2079 y *Bacillus cereus* NCCS 2106. La bacteria Gram negativa utilizada fue *Escherichia coli* 2065. Los resultados antibacterianos revelan que la mayor\u00eda de los compuestos exhiben buena



actividad antibacteriana contra ambas bacterias (concentración= 50µg/mL). La presencia del grupo nitro **25f**, trifluorometil **25g**, cloro **25d** y bromo **25e** mostraron mayor actividad que otros compuestos sustituidos. El cloranfenicol se utilizó como compuesto de referencia para comparar la actividad.

Los autores examinaron la actividad antifúngica de 3-cloro-6-(2,5-difluorobenzoyl)-1-(fenilamino)-8-(5-(4(trifluorometil)fenil)-1H-tetrazol-1-il)-1,6,7-triazaspiro [3.4]oct-7-eno-2,5-diona **25a-g** contra *Aspergillus niger* NCCS1196 y *Candida albicans* NCCS 2106. Los resultados antifúngicas revelan que la mayoría de los compuestos exhiben buena actividad antifúngica contra ambos hongos (concentración = 50 µg/mL). La presencia del grupo nitro **25f**, trifluorometil **25g**, cloro **25d** y bromo **25e** mostraron mayor actividad que otros compuestos sustituidos. El ketoconazol se utilizó como compuesto de referencia para comparar la actividad.²⁷

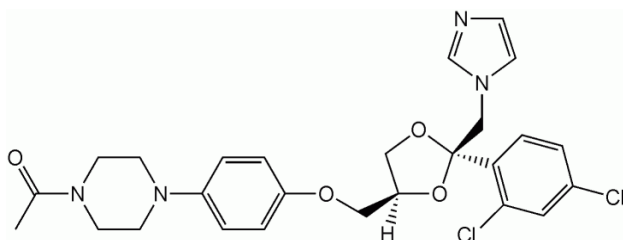
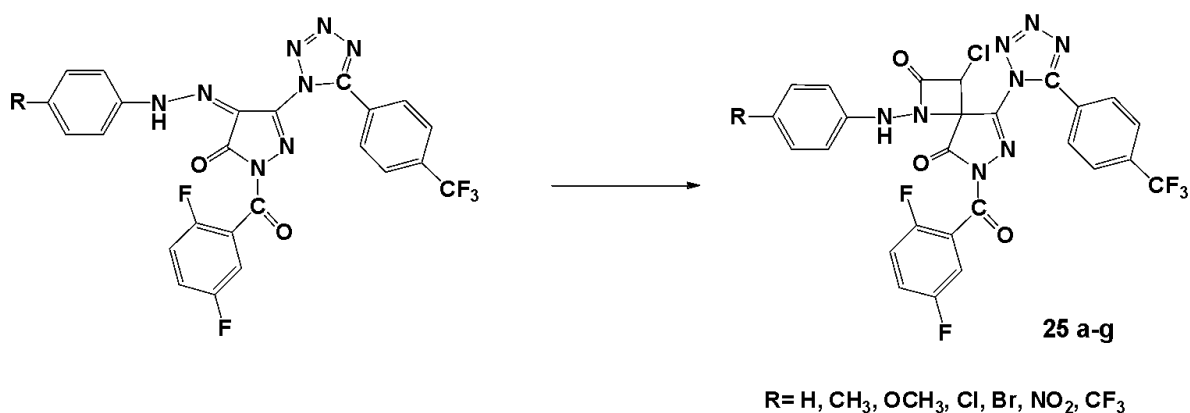


Figura 2.2.5. Estructura química del ketoconazol.

El orden de actividad antimicrobial es el siguiente:

25f>25g >25d>25e>25c>25a>25b



Reactivos y Condiciones de reacción: Cloruro de cloroacético, CH₂Cl₂, agitación 8 h t. a., (7:3) ciclohexano, acetato de etilo, 3 días, t. a., RE, malla de gel de sílice 60-120, hielo triturado

Esquema 2.2.8. Reacción de síntesis de nuevos derivados de



3-cloro-6-(2,5-difluorobenzoi)-1-(fenilamino)-8-(5-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-tetrazol-1-il)

-1,6,7-triazaespiro[3.4]oct-7-en-2,5-diona (25a-g).

Compuestos sintetizados por Kumari *et al.*

Easmon *et al.*²⁸ describieron recientemente las actividades antitumorales de 2-benzoxazolilhidrazonas derivadas de 2-formil y 2-acetilpiridinas. En búsqueda de un análogo más eficaz, los compuestos que contenían el 2-acetilpiridina fueron reemplazados por los grupos 2-acilpiridina y α -(N)-acetildiazinas/quinolinas y se sintetizaron.

Las hidrazonas 2-acilpiridil inhibieron la proliferación en el rango nano molar, donde las hidrazonas derivadas de las α -(N)-acetildiazinas/quinolinas inhibieron el crecimiento celular en el rango micromolar.

Los compuestos probados en el ensayo celular NCI-60 fueron inhibidores efectivos de la leucemia, colon, y células cancerosas de los ovarios. **E-13k** [N-benzoxazol-2-il-N'-(1-isoquinolin-3-il-etiliden)-hidracina] inhibieron la proliferación de células carcinoma de mama MCF-7 de manera más eficiente que las células transformadas MCF-10A.

A pesar de los recientes progresos en terapia tumoral, la mayoría de los tumores sólidos no son curables en la actualidad por quimioterapia. La mitad de los pacientes con cáncer fallan en su respuesta a la quimioterapia o recaen tras la respuesta inicial y finalmente mueren de enfermedad metastática. Por lo tanto, existe una urgencia por desarrollar fármacos altamente activos que sean idealmente activos de manera oral. Una posible mejora en quimioterapia tumoral reside en una investigación continua diseñada para optimizar la administración de los fármacos antitumorales disponibles hoy en día o desarrollar derivados conocidos de estos fármacos, que sean más tolerables que los actuales. Otra posibilidad es descubrir productos terapéuticos nuevos, explotando el entendimiento de la biología tumoral.²⁸



Por todo lo antes mencionado y conociendo que las enfermedades forman parte de la vida de los seres humanos, no importando si son producidas por bacterias, parásitos, hongos y virus, o si puedan ser crónicas, agudas o esporádicas, la variedad de tipos en cuanto a la peligrosidad, síntomas y causas es enorme. Por otro lado, se sabe que los fármacos utilizados para combatirlas tienen, al mismo tiempo, efectos secundarios no deseables y contraindicaciones. Considerando todo esto y el hecho de que las hidrazonas han mostrado poseer una amplia variedad de actividades biológicas debido al grupo funcional que contienen, $\text{NHN}=\text{CH}$, en donde existe una alta densidad electrónica y, por esta razón, constituyen una vasta diversidad de compuestos para el desarrollo de nuevos fármacos. Por estas razones los investigadores se han visto en la necesidad de realizar una exploración para descubrir nuevos fármacos con actividades biológicas acrecentadas para lograr que la administración de estos se realice en bajas concentraciones. Por tal motivo, se propone el presente trabajo en donde se realiza la síntesis de 3 hidrazonas de estructura nueva con la finalidad de realizarse evaluación en líneas celulares cancerosa.

OBJETIVOS

- ✓ Determinar las condiciones de reacción para sintetizar las hidrazonas con clave
A22 **(E)-2-(4-nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina,** **A26**
(E)-2-(2,4-dinitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina, **A30**
(E)-2-(2-nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina con buen rendimiento.

- ✓ Caracterizar los productos obtenidos por métodos espectroscópicos de UV-VIS, IR, RMN ^1H , ^{13}C y COSY, HSQC, espectrometría de masas y difracción de rayos-X del producto que cristalizó adecuadamente.

- ✓ Evaluar la actividad en células cancerosas de una hidrazona en las líneas celulares HeLa (cáncer cérvico-uterino), MDA-MB-231 (cáncer de mama) y K-562 (médula ósea).

- ✓ Realizar estudios teóricos con funcionales de la densidad electrónica, con el método y base B3LYP/6-311++G (d,p), para realizar una comparación teórica con los datos obtenidos experimentalmente en la espectroscopia de IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C .



CAPÍTULO 3

3.1. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Materiales y reactivos

Los disolventes utilizados en este trabajo fueron EtOH grado Absoluto ACS y MeOH de la marca Fermont. Todas las reacciones se monitorearon por cromatografía en capa fina utilizando placas cromatográficas de aluminio “DC-Fertigfolien ULUGRAM Xtra SIL G/UV₂₅₄” de 0.20 mm de espesor; revelándolas con una lámpara de luz Ultravioleta “UVGL-25” con intensidad de 254 nm. Los compuestos obtenidos se purificaron a través de recristalización. Los reactivos utilizados difenilhidracina, 4-nitrobenzaldehído, 3-nitrobenzaldehído, 2-nitrobenzaldehído y 2,4-dinitrobenzaldehído se obtuvieron de la marca comercial Aldrich y se utilizaron sin purificación previa.

3.1.2. Equipos

Los puntos de fusión se obtuvieron mediante un fusiómetro “Tekno-Lab” con escala en grados Celsius y no fueron corregidos. Para la espectroscopia UV-Vis, se utilizó un espectrofotómetro UV-Visible modelo “CARY 50”, marca “VARIAN” con celda de cuarzo y acetona como blanco; para la espectroscopia infrarroja se empleó un equipo modelo “Excalibur FTS 3000”, marca “DIGILAB” con soporte de KBr. Los espectros de RMN de ¹H y ¹³C se realizaron en un equipo de RMN Mercury (400 MHz y 100 MHz respectivamente), los desplazamientos químicos se expresaron en ppm empleando TMS como referencia interna y las muestras fueron disueltas en CDCl₃. La caracterización por espectrometría de masas se realizó en un espectrómetro de masas marca “JEOL” modelo “The JMStation JMS-700” y se utilizó como forma de ionización el impacto electrónico. Los análisis de Rayos x se realizaron en un difractor “Gemini Atlas” de cuatro círculos y doble fuente de radiación (Mo, Cu), Marca “Rigaku Oxford Diffraction”.

3.1.3. Parte experimental

A continuación, se muestra la reacción general para la síntesis de los compuestos:

- **A22** (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina
- **A26** (*E*)-2-(2,4-dinitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina



- **A30** (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina.

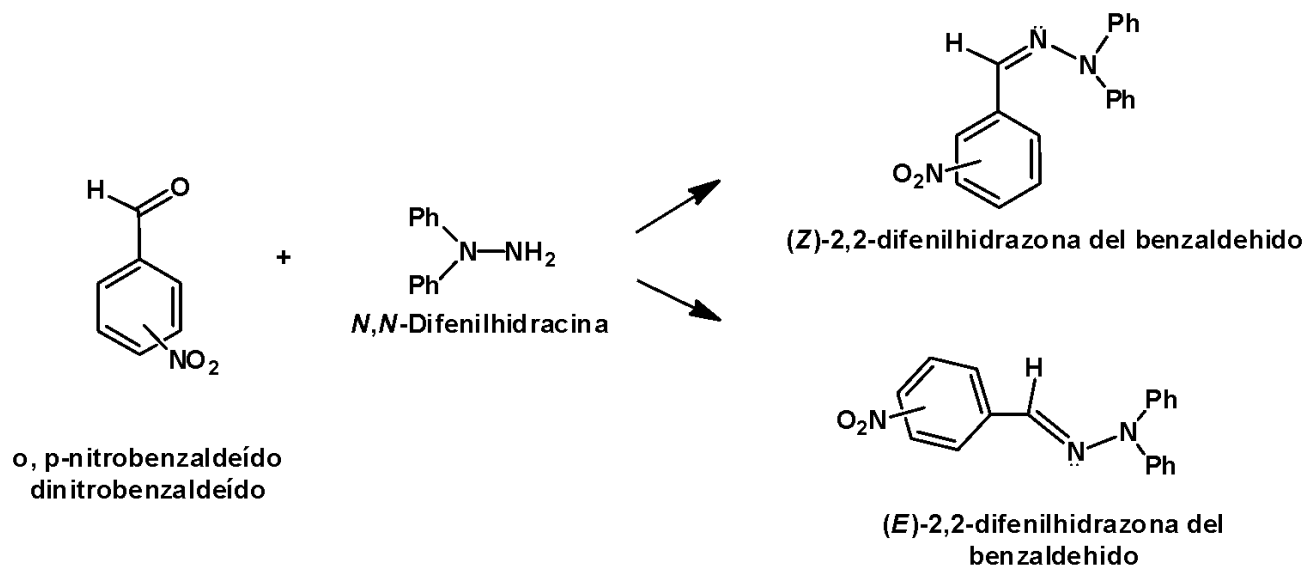
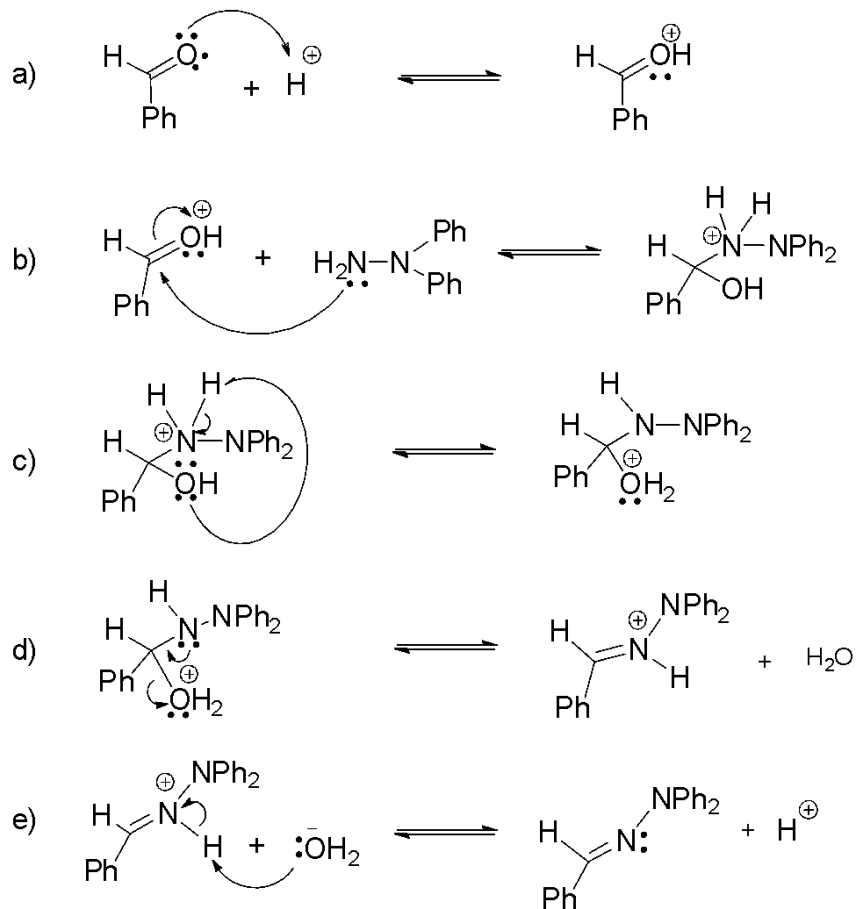


Figura 3.3.1. Reacción general de síntesis de las hidrazonas.

3.2. MECANISMO DE REACCIÓN





- El grupo carbonilo del aldehído es protonado por el medio ácido para hacer más electrofílico al carbono del carbonilo.
- El par de electrones libres de nitrógeno realiza un ataque nucleofílico al carbonilo, polarizando el doble enlace y formando un intermediario tetraédrico, dejando al nitrógeno de la hidracina con carga positiva.
- Se lleva a cabo una transferencia de un protón desde el nitrógeno hacia el Oxígeno, formando agua como buen grupo saliente.
- El par de electrones libre del nitrógeno entra a formar un doble enlace con el carbono y se libera una molécula de agua, para formar un intermediario imonio.
- El agua del medio atrapa un protón del ion imonio para recuperar la neutralidad del nitrógeno y del medio ácido formándose el grupo azometino.



3.3. PROCEDIMIENTO



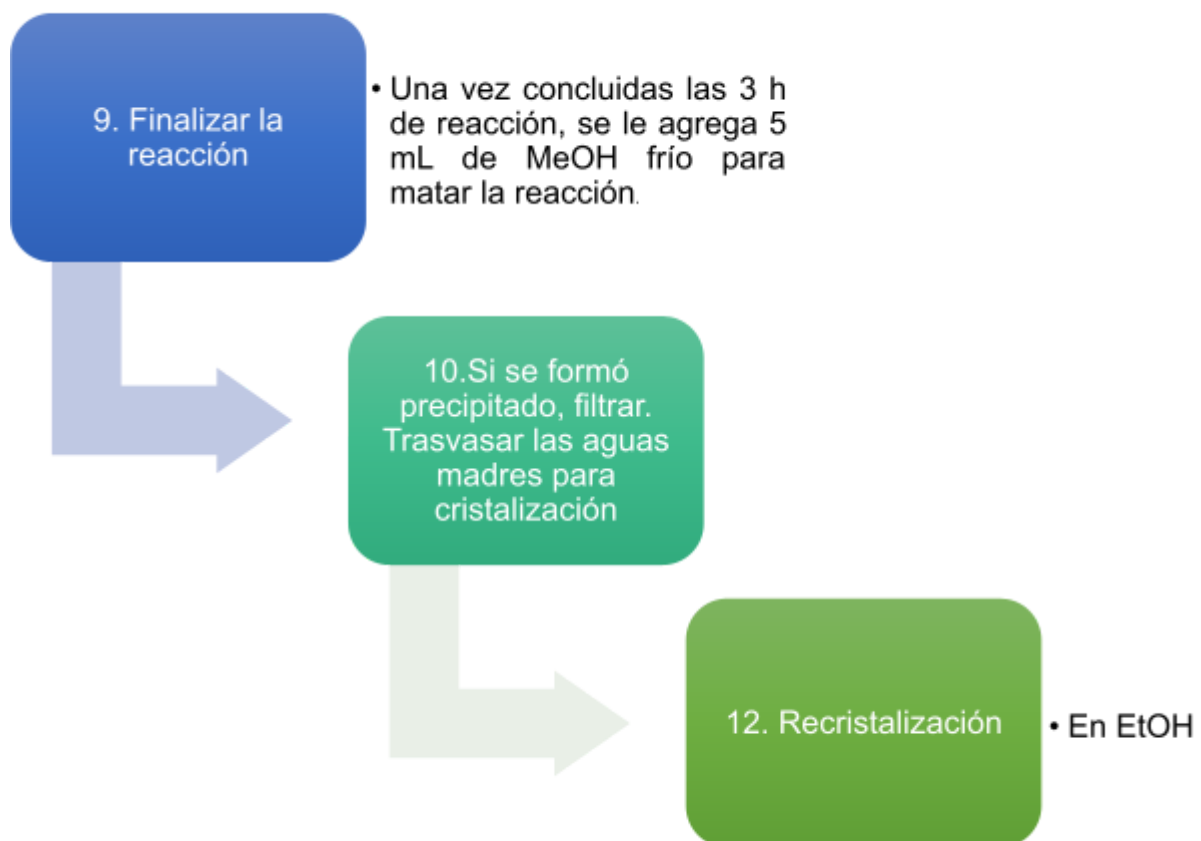
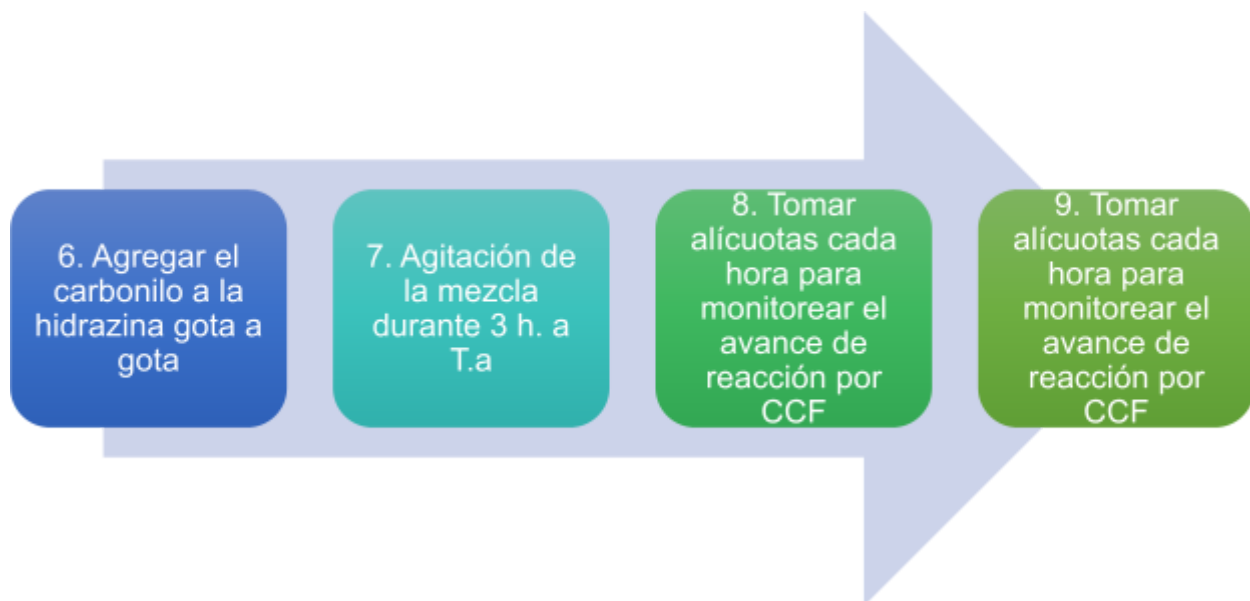


Diagrama 3.3.1. Procedimiento de síntesis de los compuestos de la serie

A.

Tablas 3.3.1. Número de equivalentes y mg utilizados en la síntesis de los compuestos de la serie A

A22	No. de equivalentes	mg utilizados
A= Hidracina	1	365.7
22= para-nitrobenzaldehído	1	300

A26	No. de equivalentes	mg utilizados
A= Hidracina	1	281.9
2,4-Dinitrobenzaldehído	1	300

A30	No. de equivalentes	mg utilizados
A= Hidracina	1	365.7
orto-nitrobenzaldehído	1	300



CAPÍTULO 4

DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Producto 1: A22. (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina

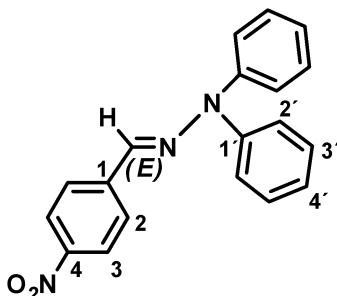


Figura 4.1. Estructura de (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A22)

Tabla 4.1. Propiedades físicas de (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A22).

Aspecto físico	Cristales amarillos
Rendimiento	585 mg 93% a 25 °C
Punto de fusión	136-138 °C
MS-EI: m/z	317 M ⁺ .
FT. IR(film) (cm ⁻¹):	3031 v(C-H), 1590, 1553 v(C=N), 1506 v(Ph-NO ₂), 1095 (C-N), 1202 (C-N), 692 (C-H).
RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm)	8.56 (d, H3), 8.23 (d, H2), 7.85 (dd, H3'), 7.63 (N-C=H), 7.60 (m, H2', H4')
RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) δ (ppm)	143.05 (C4), 143.0 (C1'), 142.78 (C1), 132.28 (C=N), 130.01 (C3'), 126.56 (C2), 125.33 (C4'), 123.86(C3), 122.41 (C2').

4.1.1. Espectroscopia UV-Vis

El compuesto sintetizado, que presenta cristales de color amarillo, fue analizado por espectroscopia UV-Vis. El color en el compuesto indica la presencia de grupos cromóforos que se dan por los dobles enlaces y la presencia del heteroátomo (N:) dentro de la molécula, es decir que contiene sistemas π -conjugados y el nitrógeno presenta un par de electrones no compartidos, por lo que se puede obtener un



espectro como el que se muestra a continuación en la figura 4.1.1.2 En éste, se observa que el máximo de absorción ocurre a 413 nm, es decir que absorbe la radiación de la luz violeta transmitiendo el color amarillo. Esta aseveración concuerda con la coloración de la hidrazona.

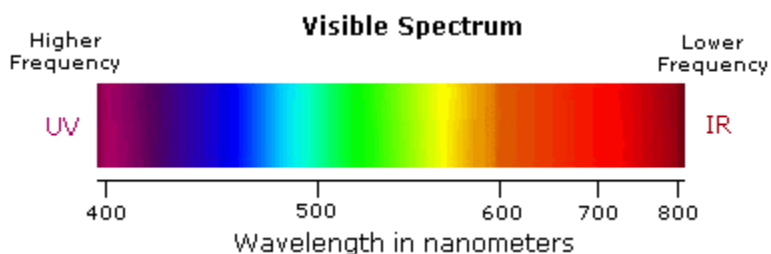


Figura 4.1.1.1. Porción del espectro electromagnético

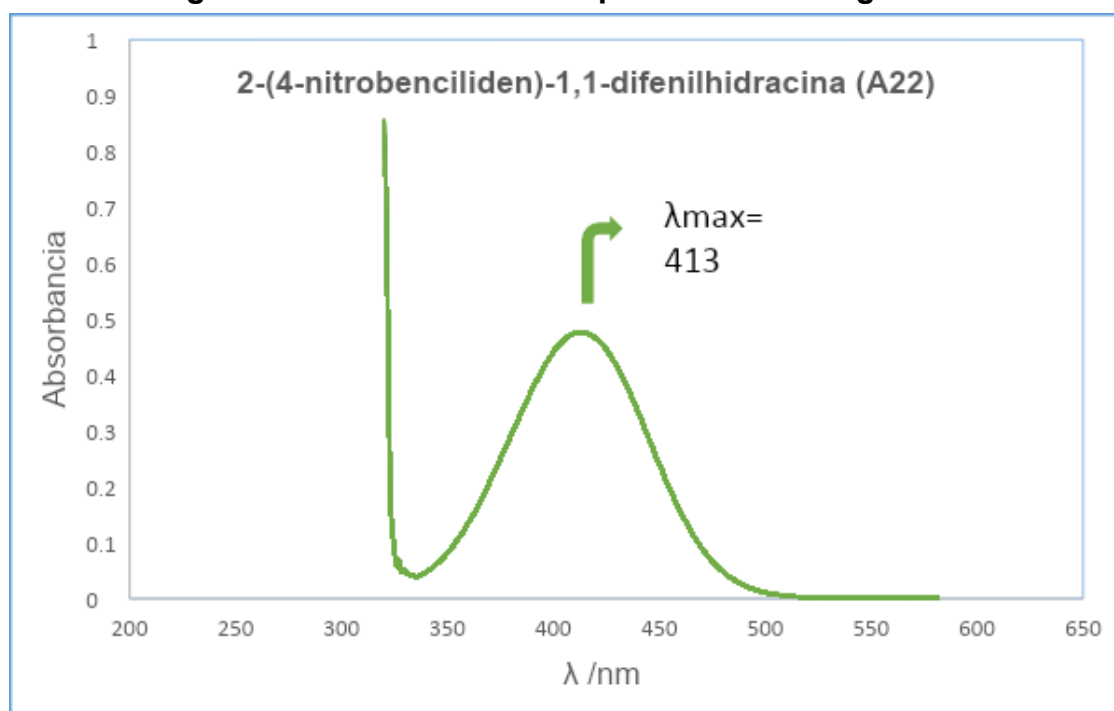


Figura 4.1.1.2. Espectro de UV de (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A22).

4.1.2. Espectroscopia Infrarroja

Se analizó el compuesto (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A22) por espectroscopia infrarroja para confirmar la presencia de los grupos funcionales más representativos. Uno de los más importantes que pueden encontrarse en este



tipo de moléculas como las hidrazonas, es el grupo azometino, también conocido como base de Schiff, en honor al científico que las descubrió. El grupo azometino consta de un carbono unido con un doble enlace al nitrógeno, donde el nitrógeno puede estar unido a un grupo arilo o alquilo, pero carece de un hidrógeno, lo que le confiere estabilidad a la molécula.

En la figura 4.1.2 se muestra el espectro de este compuesto con las bandas de absorción de los principales grupos funcionales de la molécula que son las siguientes: 2924 cm^{-1} corresponde al enlace C con hibridación $\text{sp}^2\text{-H}$, 1590 y 1553 cm^{-1} (C=N), 1506 estiramiento asimétrico (Ph- NO_2), 1339 cm^{-1} estiramiento simétrico ($\text{C}_{\text{arom}}\text{-N}$), 1095 cm^{-1} estiramiento (C-N), 1202 cm^{-1} estiramiento del enlace C-N (amina) y en 692 cm^{-1} asignada al enlace C-H de anillo aromático monosustituido.

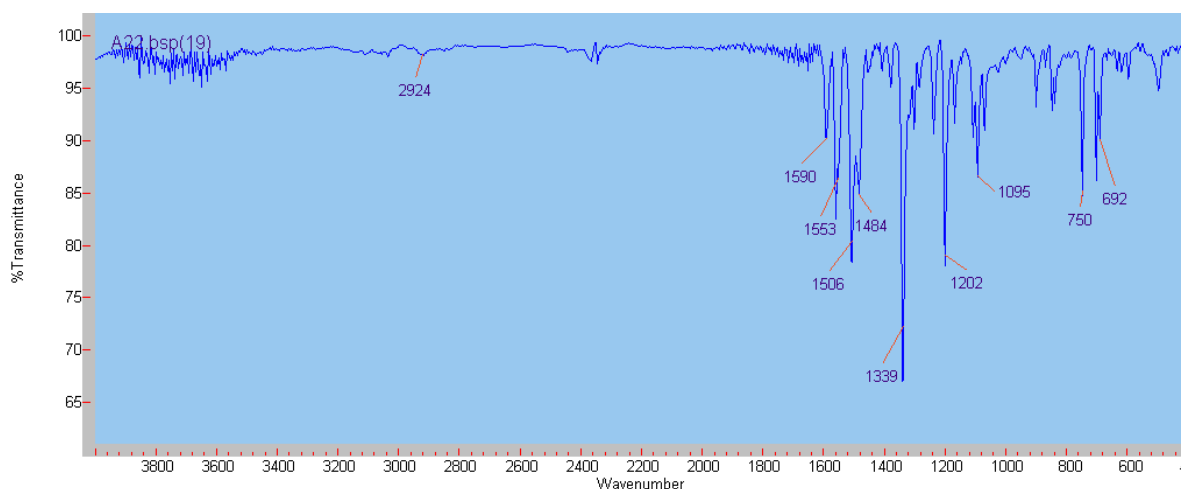


Figura 4.1.2. Espectro de IR de 2-(4-nitrobenzideno)-1,1-difenilhidracina (A22).

4.1.3. Espectroscopia RMN ^1H

En la figura 4.1.3 se muestra el espectro de RMN ^1H de **2-(4-nitrobenzideno)-1,1-difenilhidracina**. En éste, se muestra una señal doble en 8.56 ppm que integra para dos hidrógenos. Estos hidrógenos que se encuentran a campo más bajo que el resto, pertenecen a los carbonos 3 y 5 del anillo aromático unido directamente al carbono imínico. Por encontrarse más cerca del grupo nitro están más desprotegidos. En 8.23 ppm aparece otra señal doble que integra para dos hidrógenos y que también corresponden a los carbonos 2 y 6



del anillo aromático aunque más alejados del grupo nitro por eso se encuentran a campo más alto. En 7.85 ppm aparece una señal doble de doble que integra para cuatro hidrógenos que se asignaron al carbono **3'** y **5'**, además de los hidrógenos que se encuentran en la misma posición pero del otro fenilo. Finalmente, se presenta una señal múltiple centrado en 7.60 ppm que integra para siete hidrógenos y que corresponde a los hidrógenos **2'**, **4'** y **6'** que en total suman 6 hidrógenos. Cabe señalar que dentro de esta última señal se encuentra insertado el hidrógeno imínico.

La J_{5-6} es de 8.95 lo cual significa que ambos hidrógenos (5 y 6) están acoplados.

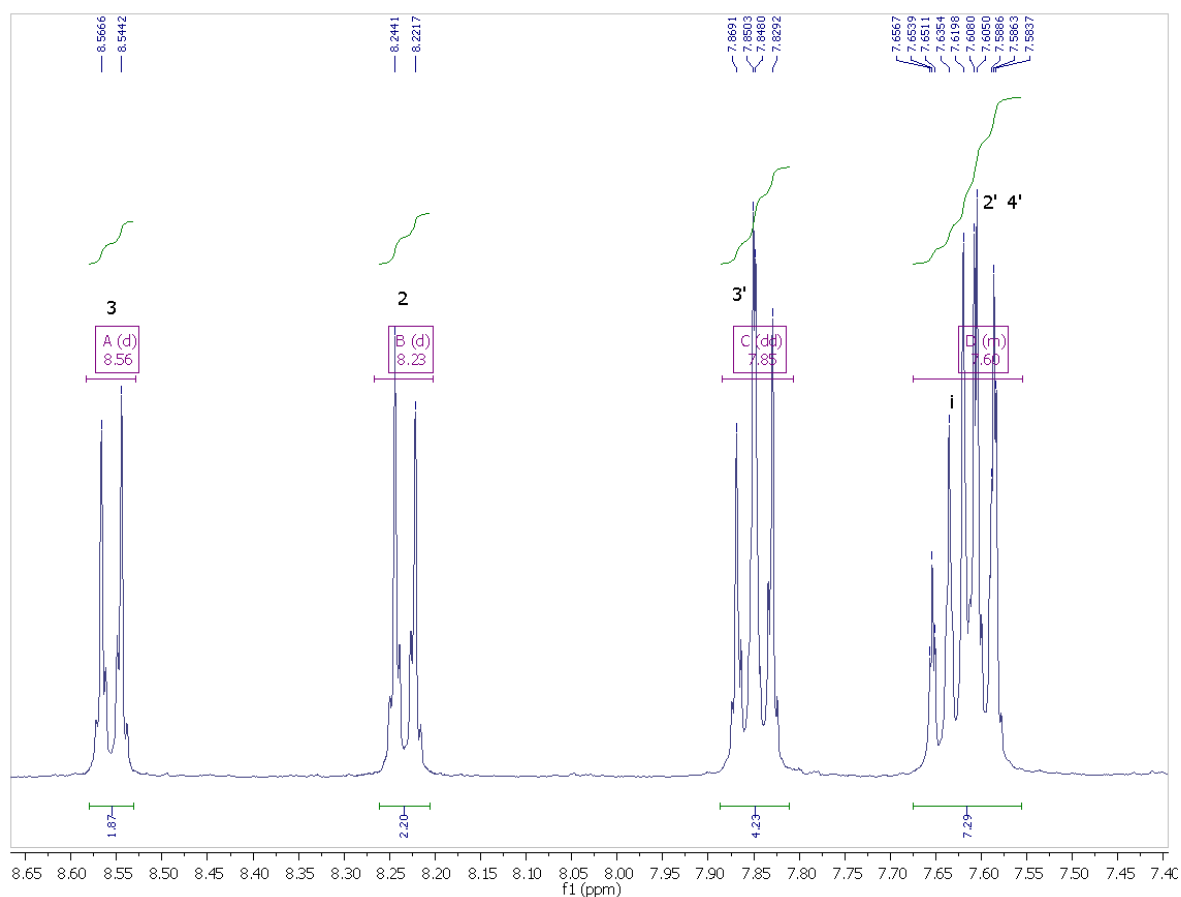


Figura 4.1.3.a Espectro RMN ¹H a 400 MHz de 2-(4-nitrobenzylidene)-1,1-difenilhidracina (A22) en (CD₃)₂CO.



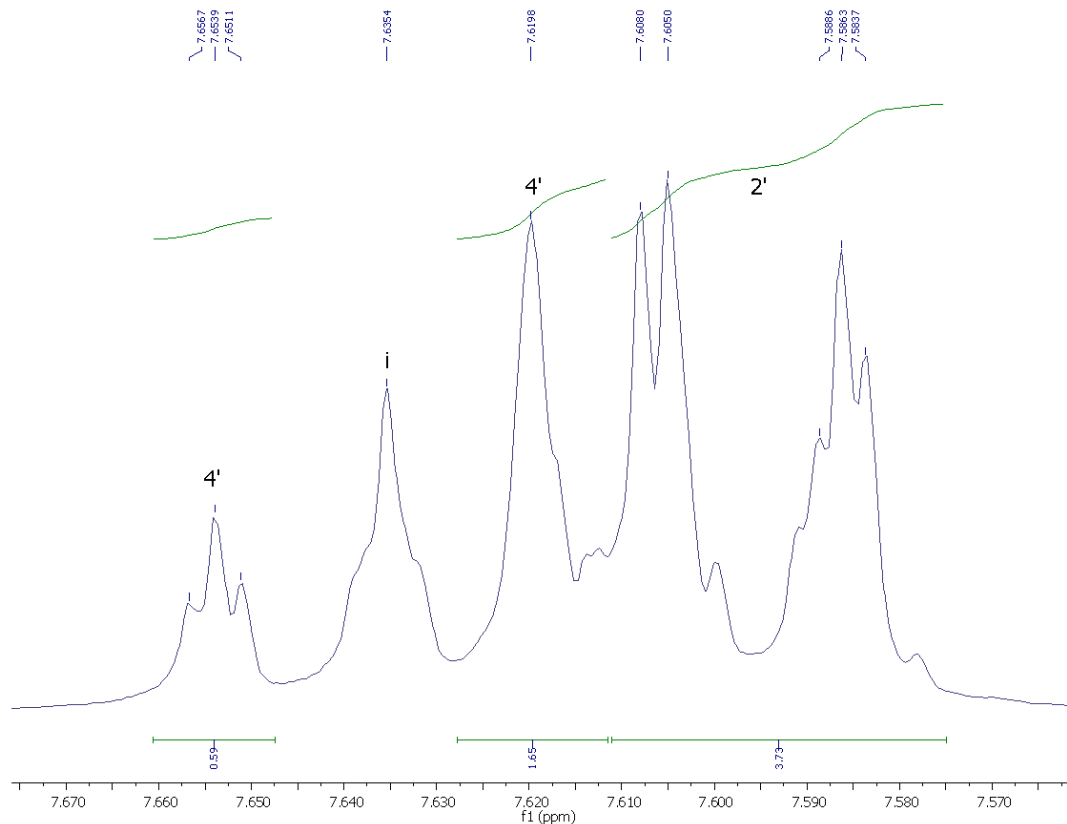


Figura 4.1.3.b Espectro RMN ¹H a 400 MHz de 2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A22) en (CD₃)₂CO, expansión de la zona de 7.67-7.57.

4.1.4. Espectroscopia RMN ¹³C

En el espectro de RMN ¹³C de la figura 4.1.4, observamos una señal en 143.05 ppm asignada al (C4), otra en 143.0 ppm correspondiente al (C1'), en 142.78 ppm aparece el (C1). La señal del carbono **imínico** se encuentra en 132.28 ppm, a 130.01 ppm la señal que corresponde al (C3'), en 126.56 ppm se localiza el (C2), en 125.33 ppm aparece el (C4'), en 123.86 ppm (C3) y finalmente en 122.41 ppm se localiza al (C2').



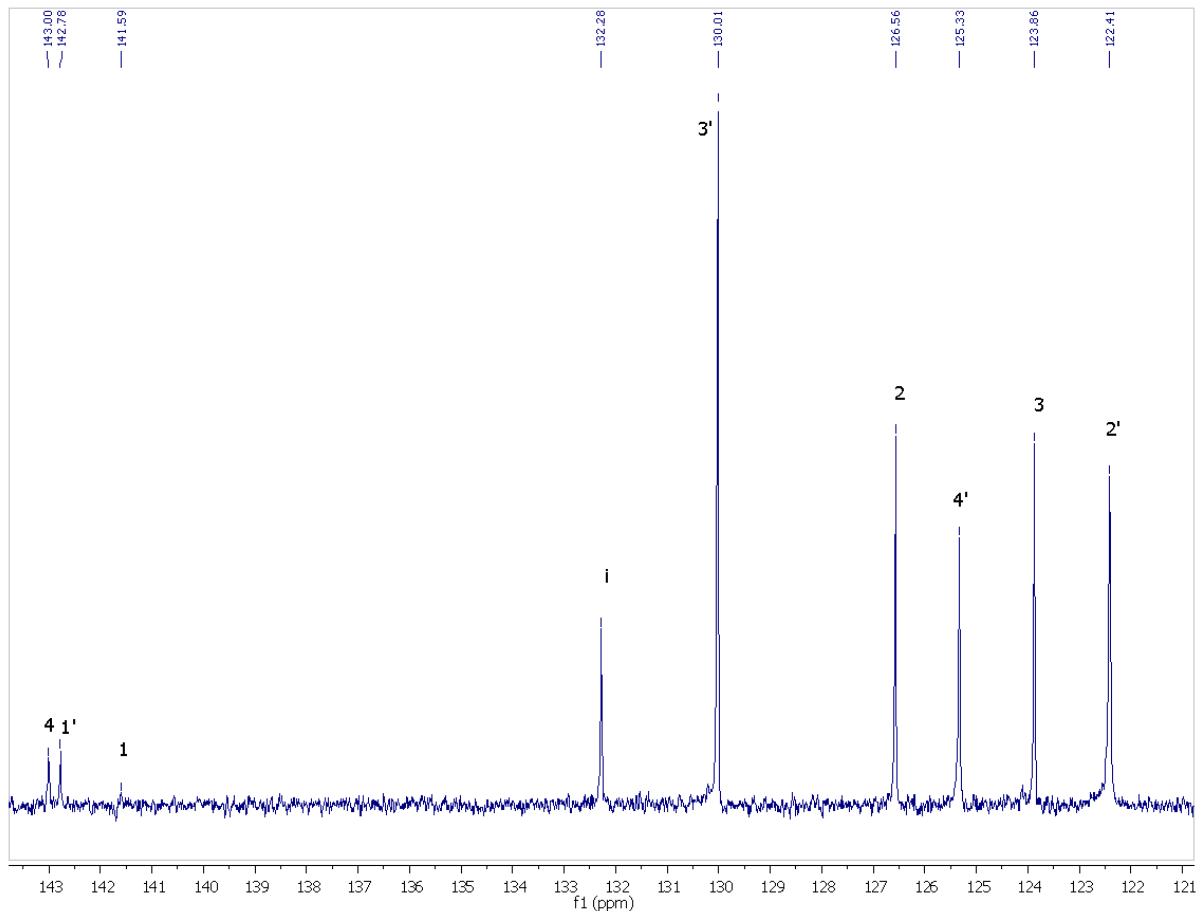


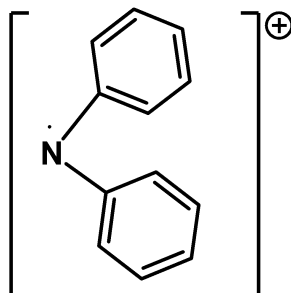
Figura 4.1.4. Espectro RMN ^{13}C a 100 MHz de $(E)2$ -(4-nitrobenzylideno)-1,1-difenilhidracina (A22) en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

4.1.5. Espectrometría de masas

En la figura 4.1.7 se presenta el espectro de masas de $(E)2$ -(4-nitrobenzylideno)-1,1-difenilhidracina (A22), donde se puede observar que el ion molecular M^+ tiene un valor m/z de 317, el cual corresponde al peso molecular de la molécula propuesta. Así mismo, se corrobora la fórmula molecular del compuesto: $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$.

El pico con mayor abundancia es el que tiene un valor ($m/z = 168$), cuyo fragmento pertenece a Ph-N-Ph.





Otro de los picos que aparece junto al ion molecular es el que tiene peso molecular de 318, cuyo fragmento es el mismo que el ion molecular, el cual se denomina M+1, que se debe a la presencia del otro isótopo de carbono, ^{13}C , con abundancia del 1.11%.

Finalmente el pico de 18 g/mol que pertenece a una molécula de agua.

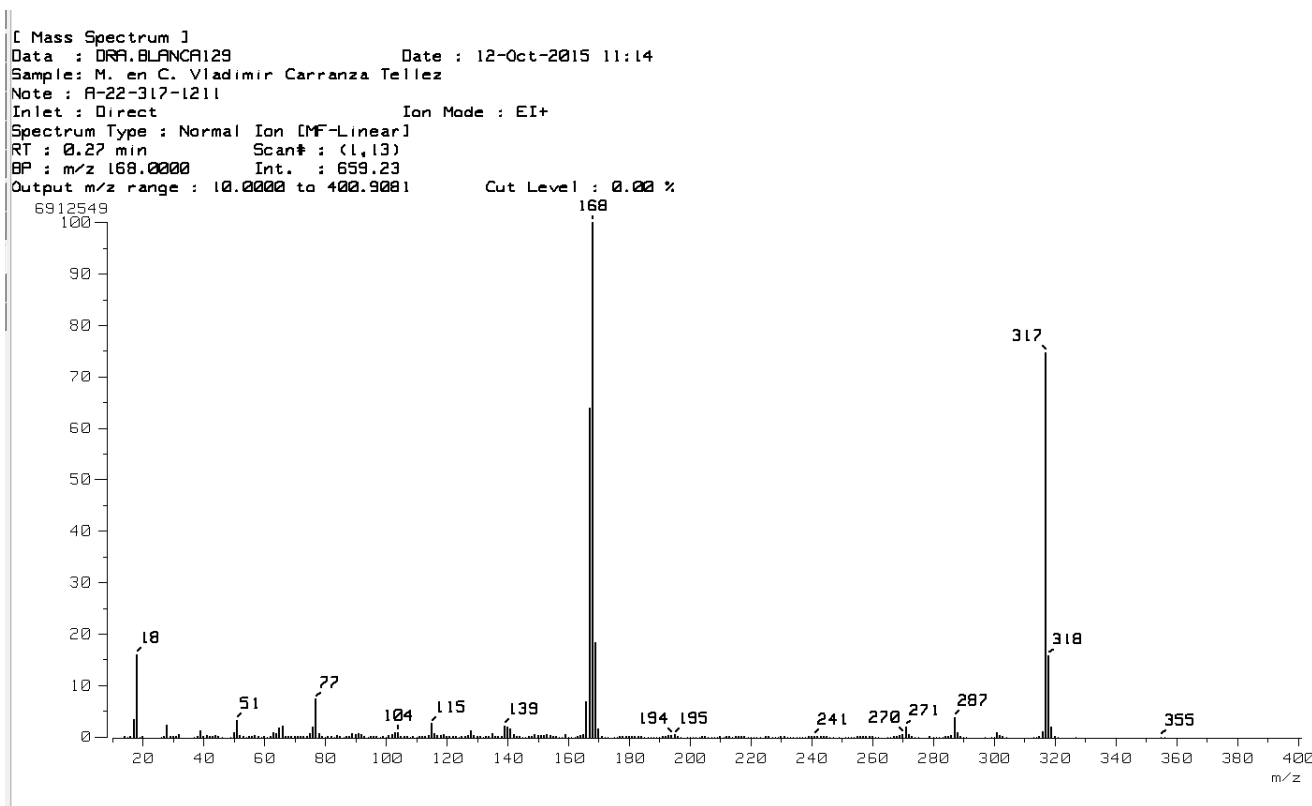


Figura 4.1.5. Espectro de masas de 2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A-22).



4.1.6. Difracción de rayos-X

El compuesto **2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A-22)** fue sometido al análisis de difracción de rayos x donde se puede confirmar el tipo de átomos que compone a la molécula. Así mismo se puede observar la orientación de las moléculas en un eje de coordenadas y en este caso, puede verse que en la figura 4.1.8 la celda unitaria se compone de 2 moléculas.

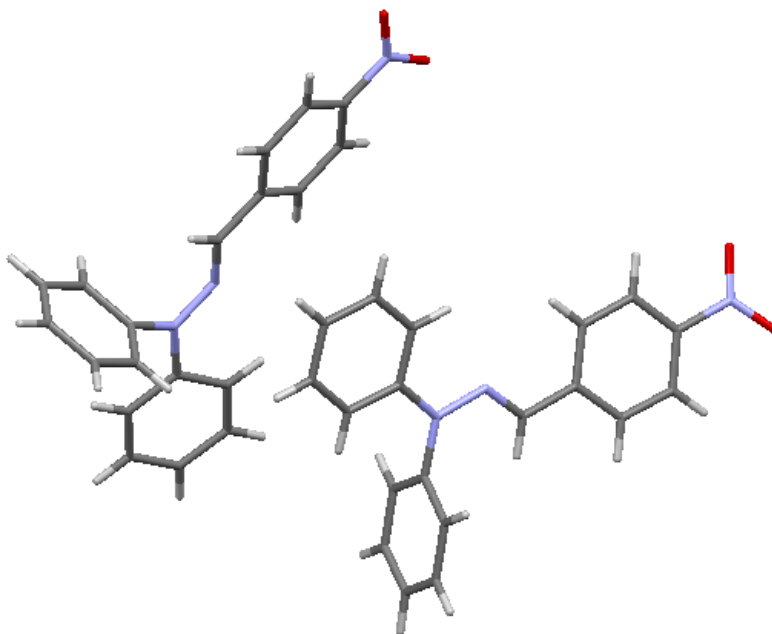


Figura 4.1.6. Estructura cristalina de rayos x del compuesto 2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A-22) (diagrama ORTEP).

4.2. Compuesto 2: A26: (*E*)-2-(2,4-dinitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina

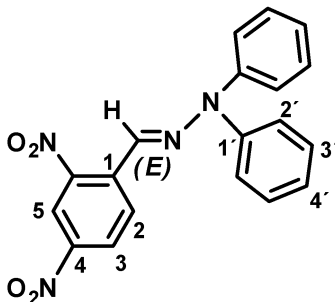


Figura 4.2. Estructura de la (*E*)-2-(2,4-dinitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A26)





Aspecto físico	Cristales rojo-dorado
Rendimiento	499 mg 90% a 25 °C
Punto de fusión	174-176 °C
MS-EI: m/z	362 M ⁺ .
FT. IR(film) (cm ⁻¹):	3119 ν(C-H), 1593 ν(C=N), 1347 ν(NO ₂) 1192 (C-N), 692 (C-H).
RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm)	8.71 (d,1H, H3), 8.46 (d,1H, H6), 8.32 (ddd,1H, H5), 7.62 (s,1H, N-C=H), 7.42 (t, 4H, H3'), 7.24 (t, 2H, H4'), 7.16 (dd, 4H, H2').
RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) δ (ppm)	145.88 (C4), 145.43 (C2), 142.26 (C1), 136.90 (C1'), 130.09 (C3'), 128.40 (C6), 127.54 (C=N), 126.75 (C5), 126.28 (C4'), 122.49 (C2'), 121.03 (C3).

Tabla 4.2. Propiedades físicas y características espectroscópicas de la (E)-2-(2,4-dinitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A26).

4.2.1. Espectroscopia UV-Vis

(E)-2-(2,4-dinitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A26) se analizó por Espectroscopia Ultravioleta-Visible. Lo que le confiere el color a este compuesto es la deslocalización de los electrones π acompañada de insaturaciones conjugadas múltiples. Dicho compuesto presenta un máximo de absorción en 445 nm como se observa en la figura 4.2.1 por la presencia de los grupos auxocromos y la unión de éstos a los grupos cromóforos. Los cromóforos son grupos de átomos con electrones π, estos electrones son transferidos del estado basal al excitado por absorción de la radiación y así produciendo el color. Por otro lado, los grupos auxocromos tienden a incrementar la resonancia interaccionando los pares de electrones no compartidos del nitrógeno (auxocromo) con los electrones π del anillo aromático. Este incremento en la resonancia aumenta la intensidad de la



absorción de la luz y también desplaza la absorción de la banda a longitudes de onda mayores. De esta manera el color se hace más intenso. Con esto, se hace evidente que el incremento en la resonancia da como resultado que el color del compuesto se intensifique.

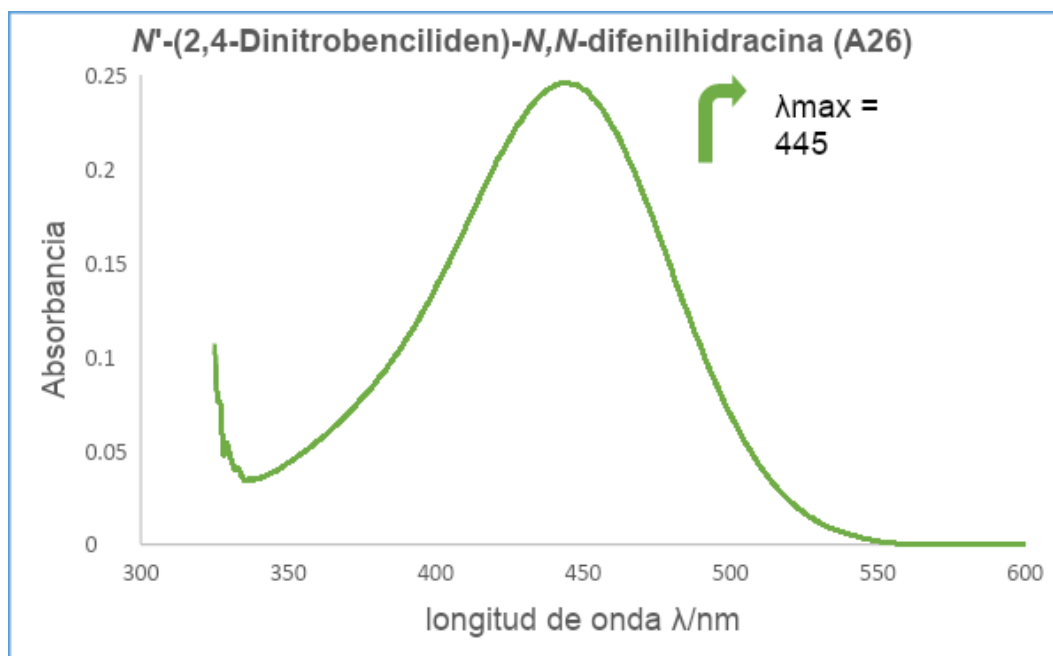


Figura 4.2.1 Espectro de UV de *N'*-(2,4-Dinitrobenziliden)-*N,N*-difenilhidracina (A26).

4.2.2. Espectroscopia Infrarroja

En espectro de infrarrojo de la figura 4.2.2, se puede observar una banda absorción débil con frecuencia en 3115 cm^{-1} asignada a la vibración del enlace $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$; en 1593 cm^{-1} (v) la banda se asigna a la vibración del grupo azometino característico de las hidracinas; 1347 cm^{-1} (v) la vibración pertenece al estiramiento del enlace N=O (grupo nitro); en 1192 cm^{-1} se observa la vibración del enlace C-N (amina) y en 692 cm^{-1} la banda es asignada al enlace C-H de anillo aromático monosustituido.



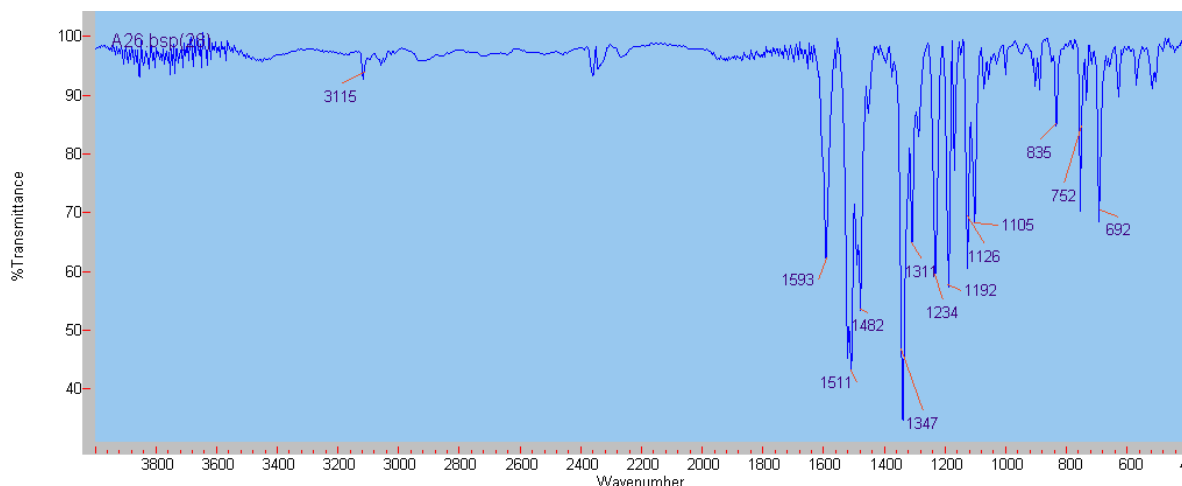


Figura 4.2.2. Espectro de IR de *N'*-(2,4-dinitrobenzylidene)-*N,N*-difenilhidracina (A26).

4.2.3. Espectroscopia RMN ^1H

En la figura 4.3.3, en 8.71 ppm se observa una señal doble perteneciente al C3, dicha banda se encuentra a frecuencias más altas porque se encuentra más desprotegido que el resto de los hidrógenos por encontrarse justo en medio de 2 grupos nitro que le retiran densidad electrónica. En 8.46 ppm puede verse otra señal doble, la cual es asignada al C6. En 8.32 ppm se observa una señal doble de doble de doble asignada al C5 este hidrógeno se encuentra desprotegido por la presencia del grupo nitro aunque a campos más altos puesto que sólo se trata de un grupo de este tipo. El C5 presenta las siguientes constantes de acoplamiento: $J^{5-6} = 8.95 \text{ Hz}$ y $J^{5-3} = 2.3 \text{ Hz}$. En 7.62 ppm se localiza una señal simple perteneciente al carbono imínico. Todas las señales antes mencionadas integran para un protón.

En 7.42 se encuentra una señal triple que pertenece al C3', esta señal integra para cuatro protones de los grupos fenilo unidos al Nitrógeno 1.

En 7.24 ppm se tiene una señal triple que pertenece al C4' e integra para cuatro protones. Finalmente en 7.16 ppm se encuentra una señal doble de doble asignada al C2' que integra para dos protones de los hidrógenos de los anillos aromáticos en posición para.



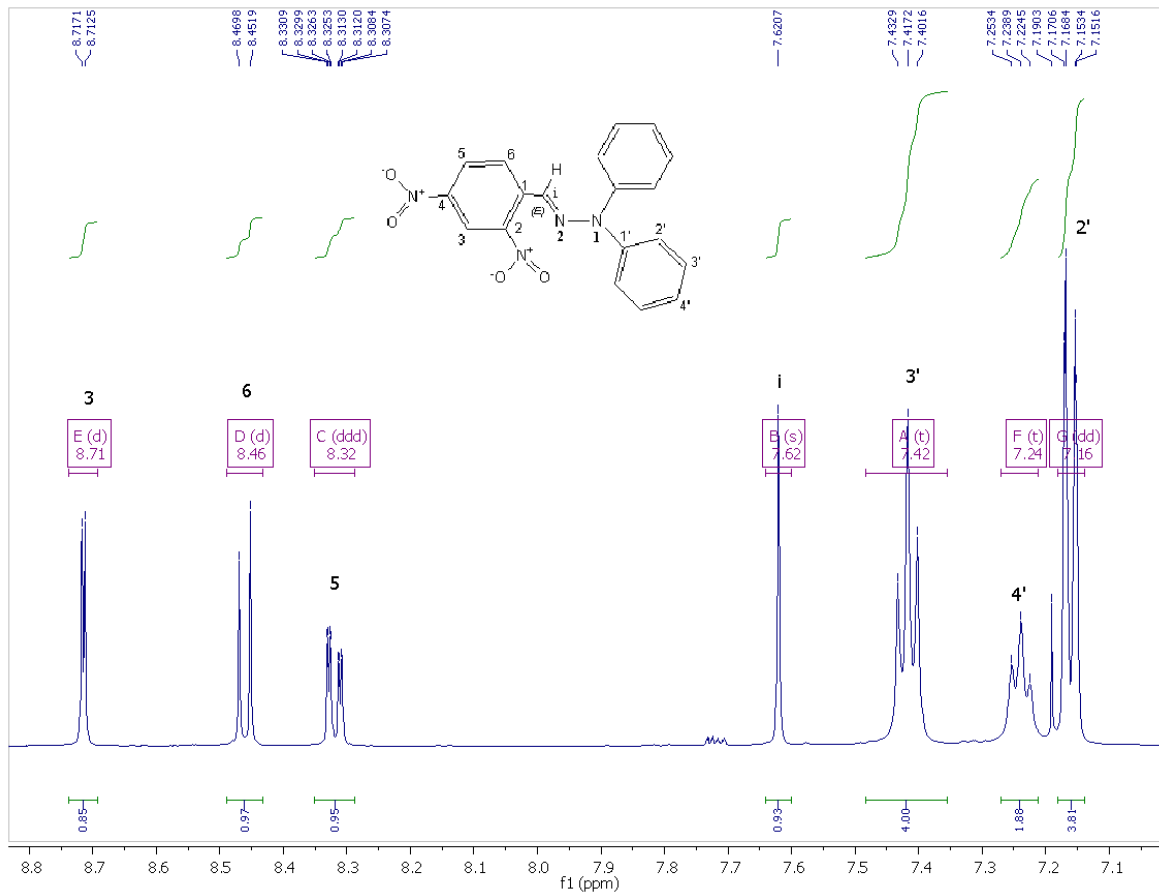


Figura 4.2.3. Espectro de RMN ¹H a 400 MHz de *N'*-(2,4-dinitrobenzylidene)-*N,N*-difenilhidracina (A26) en CDCl₃.

4.2.4. Espectroscopia RMN ¹³C

En la figura 4.3.4 se observa el espectro de RMN ¹³C donde en 145.88 ppm se observa el C4 y junto a esta señal se observa el C2 a 145.43 ppm. Ambas señales se localizan muy cerca una de otra debido a que ambos carbonos se encuentran unidos un grupo nitro que ocasiona un efecto de desprotección electrónica. En 142.26 ppm se localiza una señal muy pequeña asignada al C1. En 136.90 ppm se observa el C1'. En 130.09 ppm se localiza el C3'; en 128.40 ppm se observa la señal correspondiente al C6; en 127.54 ppm se localiza la señal perteneciente al carbono imínico. En 126.75 ppm se encuentra la señal del C5; en 126.28 ppm se observa la señal del C 4'; en 122.49 ppm se tiene la señal del C2' y en 121.03 ppm se tiene la señal del C3, dando un total de 11 carbonos diferentes que corresponden con la estructura propuesta.



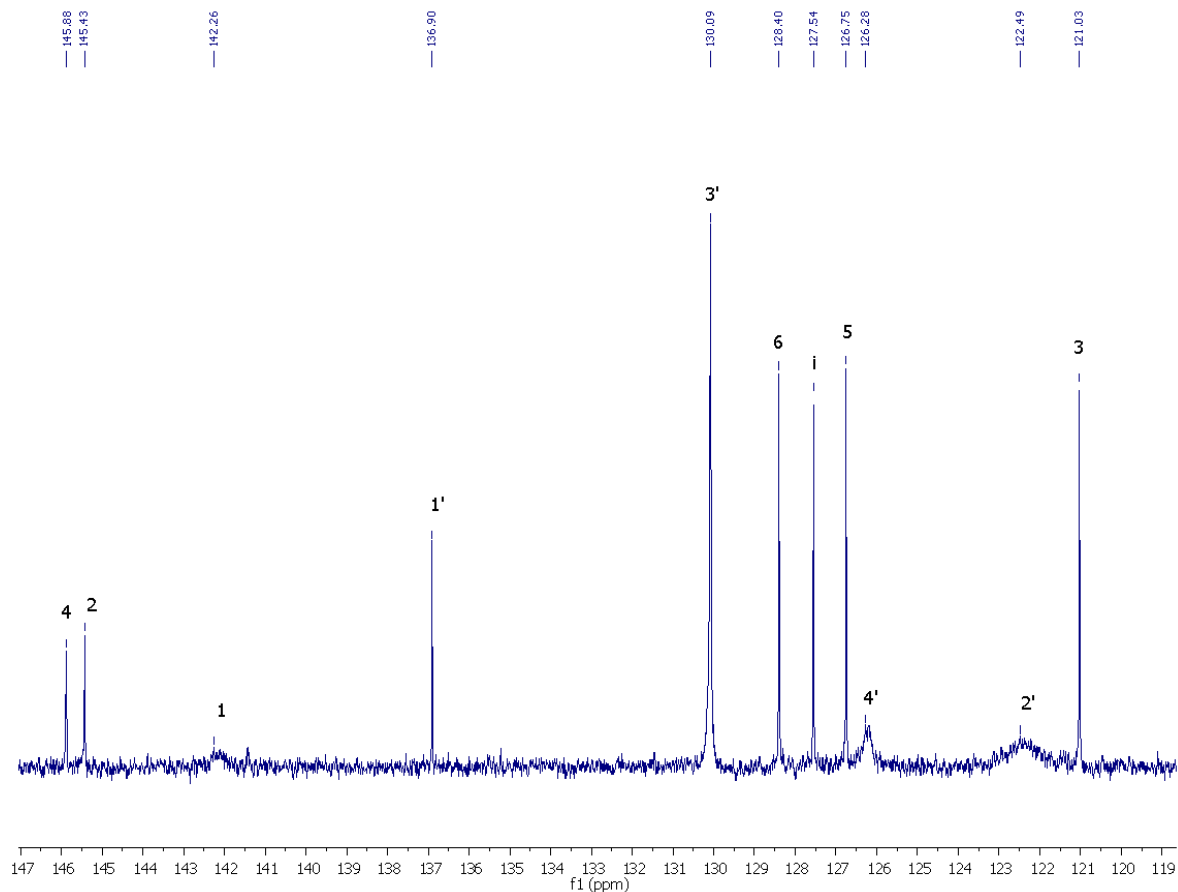


Figura 4.2.4. Espectro de RMN ^{13}C a 100 MHz de N' -(2,4-dinitrobenziliden)- N,N -difenilhidracina (A26) en CDCl_3 .

4.2.5. Espectrometría de masas

Como ya se explicó anteriormente, al remover un electrón de la molécula se genera un ion con peso molecular igual al de la molécula original, es decir el ion molecular M^+ . Para este compuesto el ion molecular tiene un valor m/z de 362, el cual coincide con la fórmula molecular propuesta: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4$. El pico base tiene un valor de 168 m/z que corresponde al fenilo unido a dos grupos nitro.



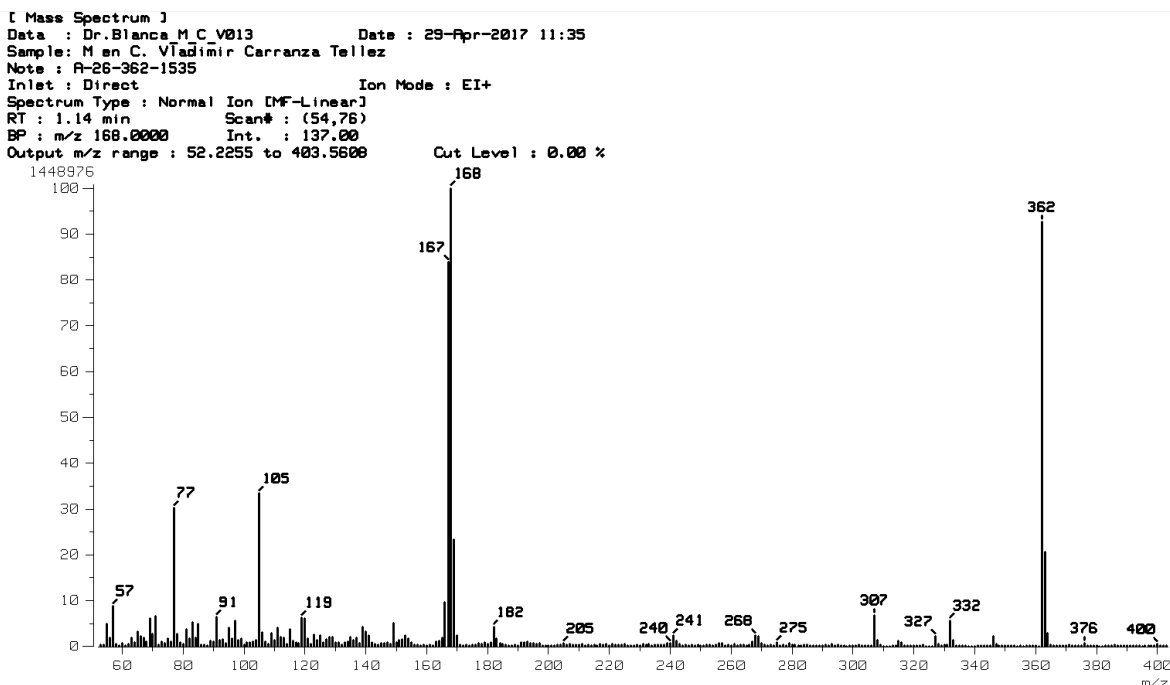


Figura 4.2.6. Espectro de masas *N*-(2,4-dinitrobenzylidene)-*N,N*-difenilhidracina (A26).

4.2.7. Difracción de rayos x

La obtención de cristales de buena calidad permitió llevar a cabo el análisis por difracción de rayos x de monocristal. De esta manera se obtuvo la figura 4.2.4 donde puede observarse que los cristales obtenidos pertenecen al isómero (*E*). Con el diagrama ORTEP se puede indicar las magnitudes y direcciones de las vibraciones térmicas de los átomos en estructuras cristalinas como esta. En la figura se observa que aparecen 2 moléculas que pertenecen a la celda unidad. Con el diagrama ORTEP se pudo corroborar la estructura propuesta.



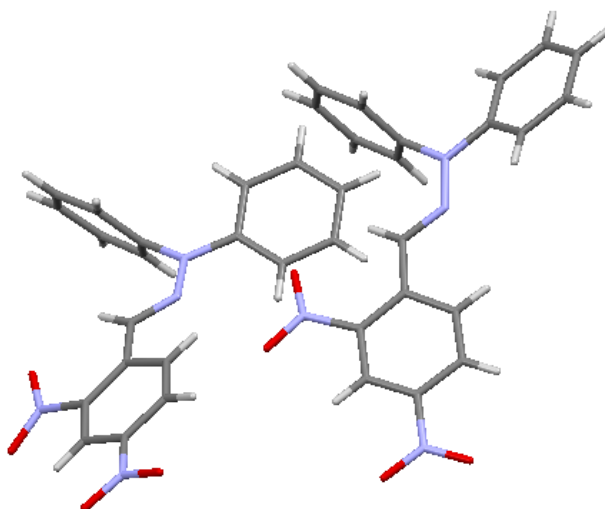


Figura 4.2.4. Estructura cristalina de rayos x del compuesto *N'*-(2,4-Dinitrobenzilideno)-*N,N*-difenilhidracina (A26) (diagrama ORTEP).

4.3. Compuesto 3: A30 (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina

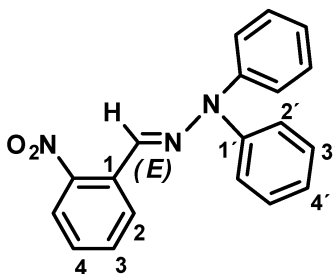


Figura 4.3. Estructura de la (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30)

Aspecto físico	Cristales naranjas en forma de aguja
Rendimiento	0.57 g 91% a 25 °C
Punto de fusión	140-142 °C
MS-EI: m/z	317 M ⁺ .
FT. IR(film) (cm ⁻¹):	3026 v(C-H), 1575 v(C=N), 1514 y 1335 v(NO ₂), 1485 v (Ph-NO ₂); 1231 C-N, 695 cm ⁻¹ (C-H).
RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm)	8.28 (dd,1H,H3), 7.91 (dd,1H,H5), 7.73 (m,1H,H4), 7.60 (s,1H, N-C=H), 7.52 (d, 1H, H6), 7.48 (m, 4H, H3') 7.28 (m, 1H, H2'), 7.23 (m, 5H, H4').



RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

147.76 (C2), 143.14 (C1'), 132.98 (C4), 130.39 (C=N), 130.11 (C6), 129.97 (C3'), 128.39 (C1), 127.70 (C3), 125.24 (C4'), 124.48 (C5), 122.40 (C2').

Tabla 4.3. Propiedades físicas y características espectroscópicas de la (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30).

4.3.1. Espectroscopia UV-Vis

El compuesto (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30) también se analizó por Espectroscopia UV-Vis para corroborar que el compuesto que es anaranjado, absorbiera energía en este rango del espectro electromagnético.

La (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30) presenta dos máximos de absorción, uno en 333 nm (pertenece a la porción del UV) y el otro en 407 nm como puede observarse en espectro de la figura 4.4.1. La absorción a longitud de onda más corta, requiere de mayor energía, por lo que la transición electrónica va desde el orbital π de enlace a π^* (antienlace). Mientras que el máximo en 407 nm corresponde a la transición del orbital n (no enlace) a π^* , puesto que se requiere de menor energía para realizar la transición.

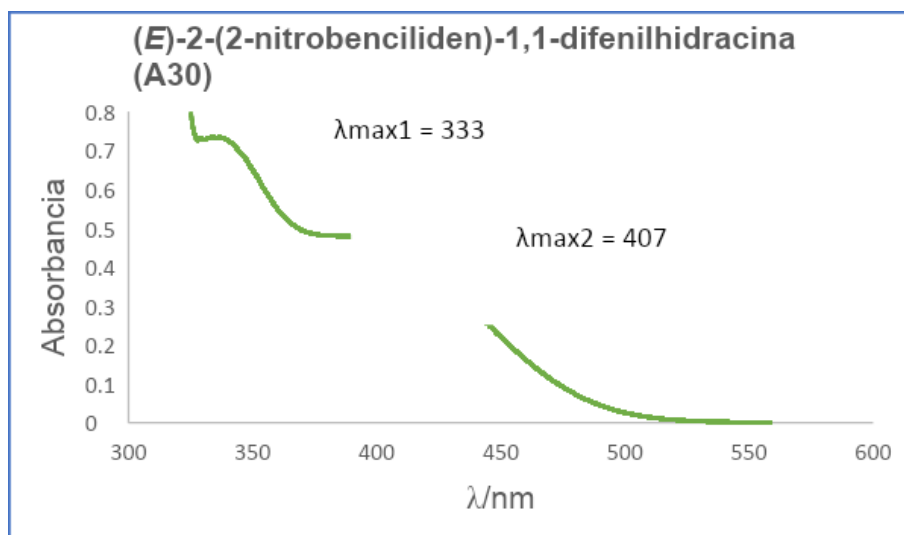
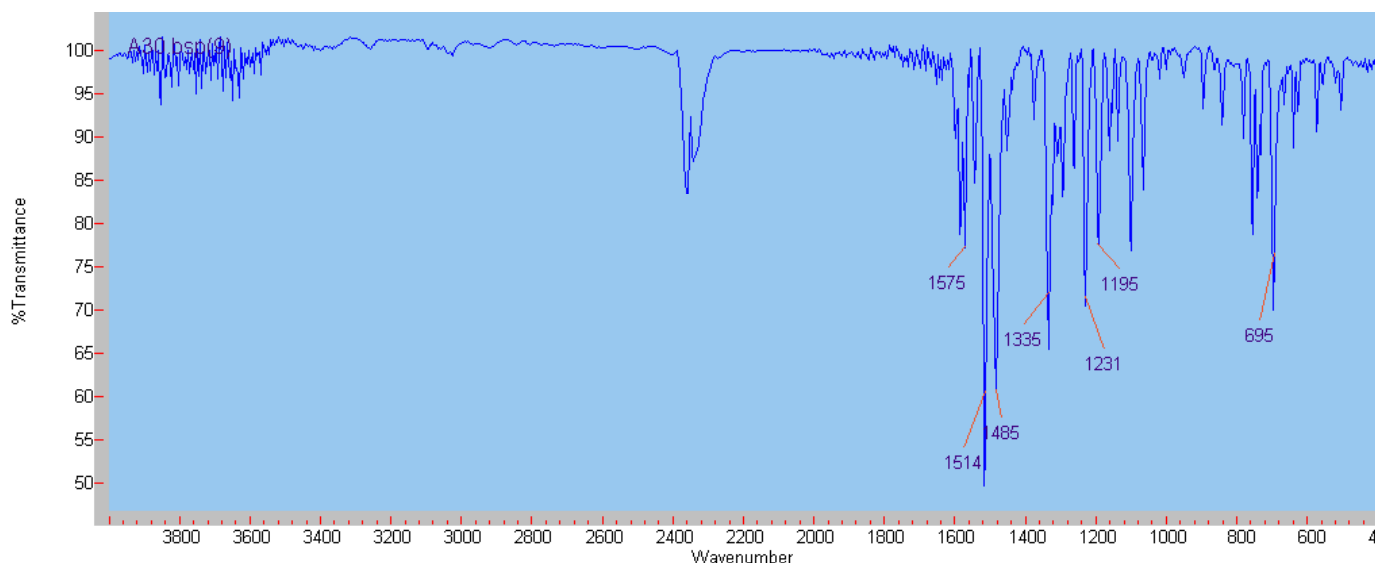


Figura 4.3.1 Espectro de UV (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30).



4.3.2. Espectroscopia Infrarroja

En la figura 4.4.2 se presenta el espectro infrarrojo del compuesto **(E)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30)** señalándose las bandas de absorción de los grupos funcionales más representativos. En 1575 se observa el pico correspondiente al enlace C=N; 1514 y 1335 cm^{-1} (ν) asignada a la vibración del enlace N=O (grupo nitro); 1485 ν (Ph-NO₂); 1231 cm^{-1} enlace C-N (amina) y en 695 cm^{-1} se encuentra la vibración correspondiente al enlace C-H de anillo aromático monosustituido.



**Figura 4.3.2. Espectro de IR de
(E)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30).**

4.3.3. Espectroscopia RMN ¹H

En la figura 4.4.3 se muestra el espectro de Resonancia Magnética Nuclear de protón donde se observa una señal doble de doble a 8.28 ppm correspondiente al C3, a 7.91 ppm se encuentra el H con una señal doble de doble asignado al C5 ($J^{5-6} = 10.3$ Hz) y a 7.73 ppm se observa el hidrógeno del C4 con una señal múltiple ($J^{3-4} = 1.7$ Hz, $J^{5-4} = 11.65$ Hz). Estos hidrógenos corresponden al anillo aromático unido al grupo nitro y al carbono imínico, por lo tanto, se encuentran a campos más bajos puesto que se encuentran más apantallados que los hidrógenos del otro fenilo a causa del grupo nitro que retira densidad electrónica por efecto de resonancia e inducción. Las señales antes mencionadas integran para un protón. A 7.60 ppm se localiza el hidrógeno imínico con una señal simple. 7.52 ppm aparece el hidrógeno del C6 como señal doble y junto a ésta aparece la señal del



C3' en 7.48 ppm como una señal múltiple e integra para cuatro hidrógenos ($J^{3'-2'} = 2.5$ Hz; $J^{3'-4'} = 1.2$ Hz). En 7.28 ppm aparece una señal múltiple que corresponde al C2' e integra para un hidrógeno. Finalmente, en 7.23 ppm se encuentra el hidrógeno del C4' como señal múltiple e integra para 5 hidrógenos.

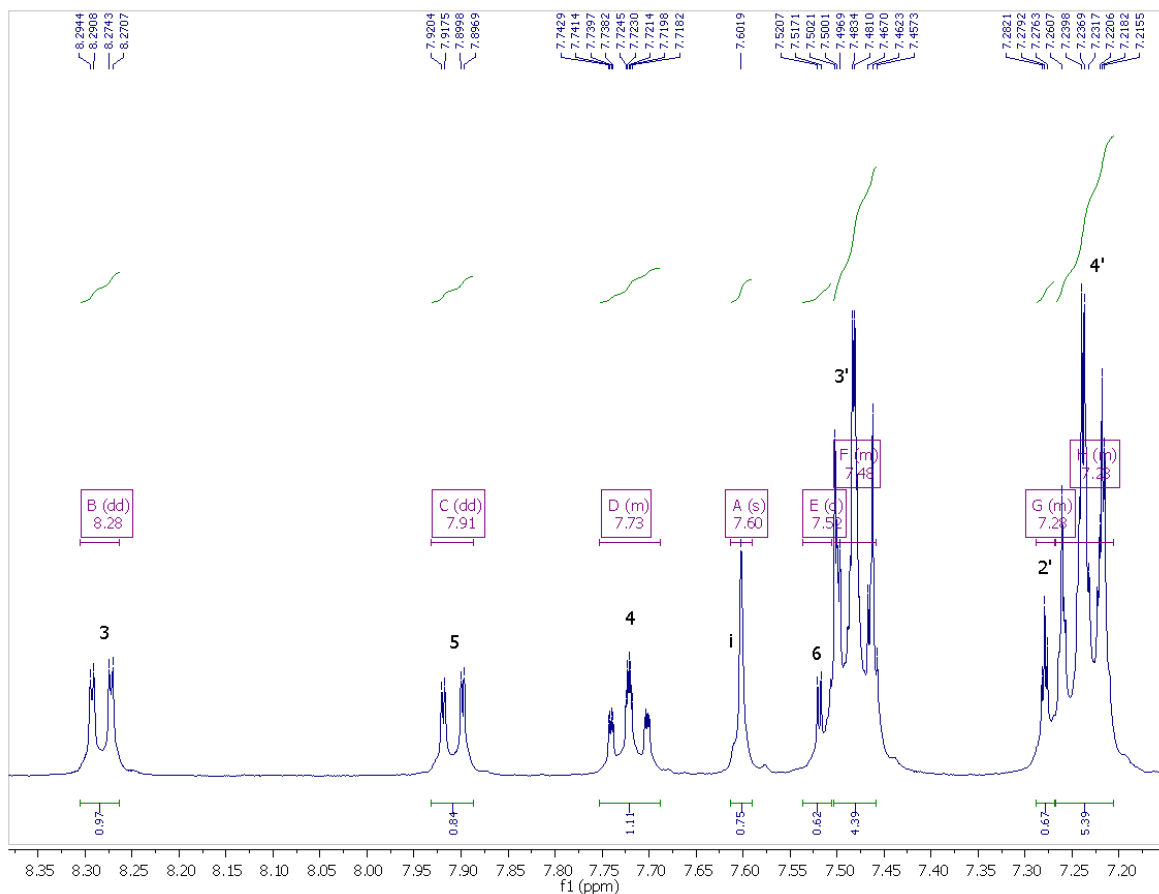


Figura 4.3.3. Espectro de RMN ^1H a 400 MHz de *(E)*-2-(2-nitrobenzylidene)-1,1-difenilhidracina (A30) en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

4.3.4. Espectroscopia RMN ^{13}C

En la figura 4.4.4 se tiene el espectro de RMN de ^{13}C donde se pueden observar las siguientes señales: a 147.76 ppm se encuentra el C2, dicho carbono aparece a campos más bajos que el resto debido a que éste se encuentra unido directamente al grupo nitro, que por la deslocalización de electrones se encuentra más desprotegido.



A 143.14 ppm se encuentra el C1'; a 132.98 ppm se observa la señal del C4; a 130.39 ppm se observa una señal muy pequeña perteneciente al carbono imínico; junto a éste, se observa la señal del C6 en 130.11 y con una señal más intensa en 129.97 ppm se encuentra la señal del C3'. En 128.39 ppm se observa el C1; a 127.70 ppm está la señal del C3.

A campos más altos se encuentran tres señales más, en 125 ppm, la señal correspondiente al C4'; a 124 ppm, la del C5 y en 122 ppm, la del C2'.

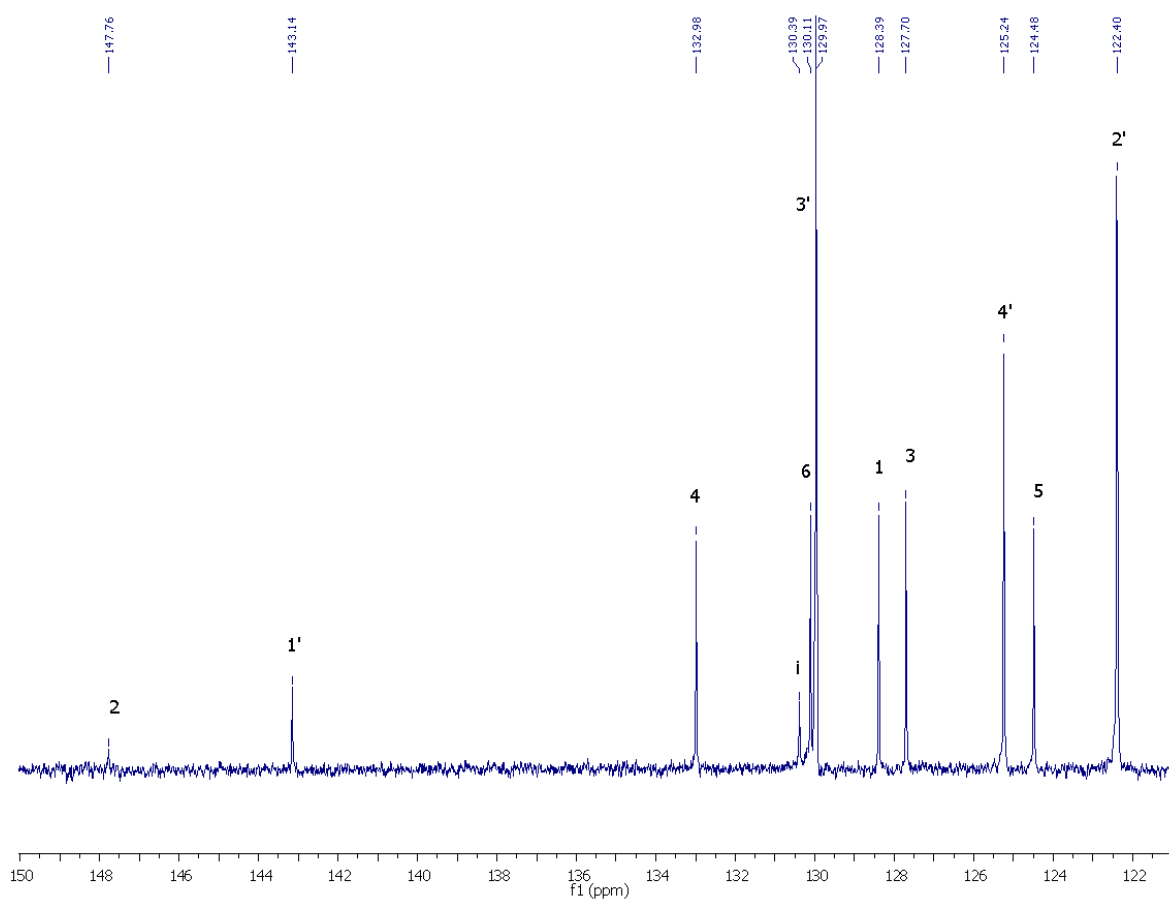


Figura 4.3.4. Espectro de RMN ^{13}C a 100 MHz de *(E)*-2-(2-nitrobenzylidene)-1,1-difenilhidracina (A30) en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.



4.3.5. Espectrometría de masas.

En la figura 4.4.7 se encuentra el espectro de masas del compuesto (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30) donde se observa que el ion molecular M^+ tiene un valor de 317 m/z que corresponde al peso molecular de la molécula propuesta y con el cual se puede corroborar la fórmula molecular del compuesto, la cual es: $C_{19}H_{15}N_3O_2$.

Otros picos sobresalientes dentro del espectro son el de 167 (Ph-N-Ph, menos un H), 105 (N-N-2Ph), 77 (Ph) y 18 m/z y son los más abundantes.

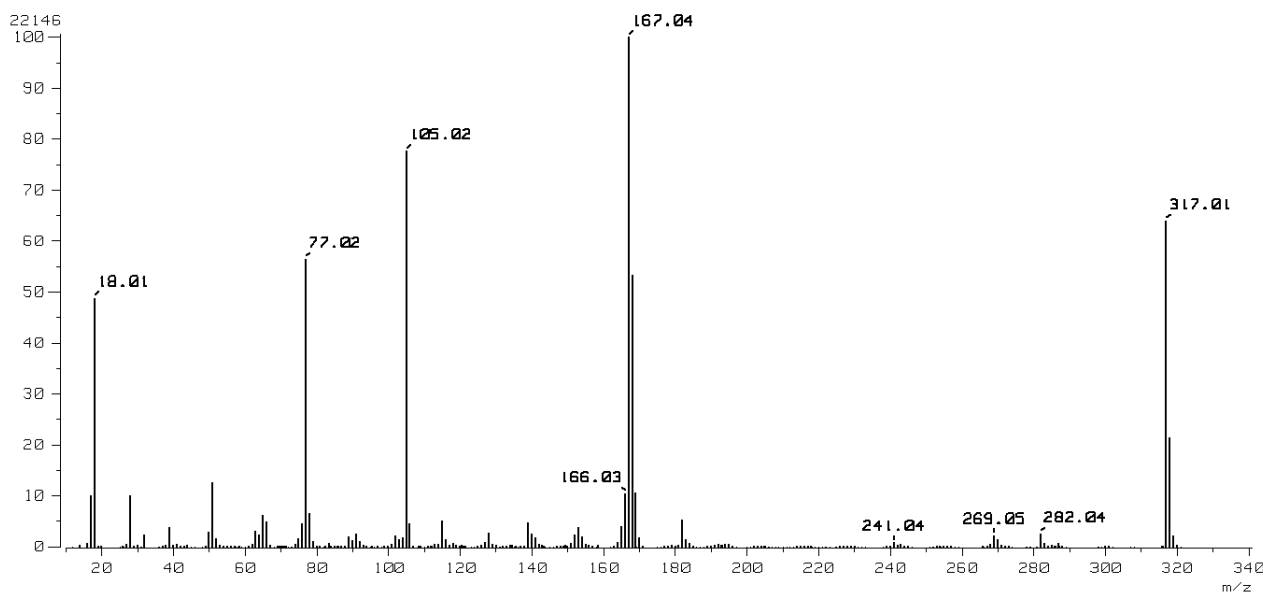


Figura 4.3.6. Espectro de masas de (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30).

4.3.6. Difracción de rayos x

En la figura 4.3.6 se encuentra el diagrama ORTEP del compuesto (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30), donde puede observarse que efectivamente el sólido obtenido se trata únicamente del isómero (*E*). Dicha configuración se realiza con respecto al doble enlace C=N; el enlace que une al C imínico con el Ph-NO₂ se encuentra en posición contraria al enlace que une al N del grupo azometino con el N-Ph₂.



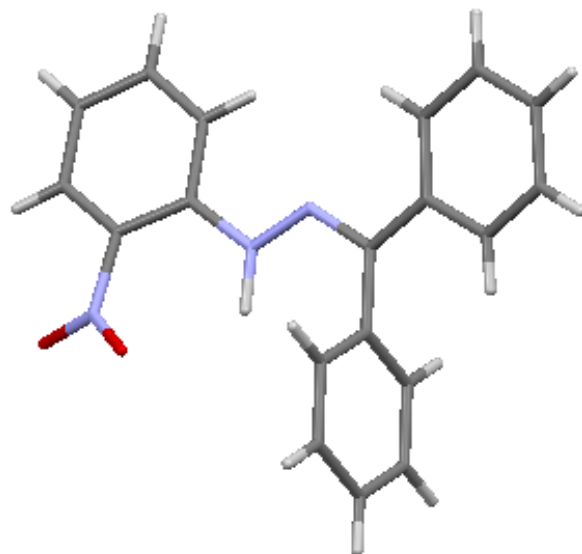


Figura 4.3.6. Estructura cristalina de rayos x del compuesto de *(E)*-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A30) (diagrama ORTEP).



CAPÍTULO 5

5.1. EVALUACIÓN EN CÉLULAS CANCEROSAS

Los experimentos para la evaluación en células cancerosas de la hidrazona con clave A22, se llevaron a cabo en la Universidad de Veracruz, por lo que el material, los equipos y la metodología utilizados fueron bajo las condiciones establecidas por el equipo de esta misma Universidad. Se tomaron como referencia, los compuestos colchicina y MTX (figura 2.5) que son los fármacos actualmente utilizados en el tratamiento de diversos tipos de cáncer como son celulares HeLa (cáncer cérvico-uterino), MDA-MB-231 (cáncer de mama) y K-562 (médula ósea).

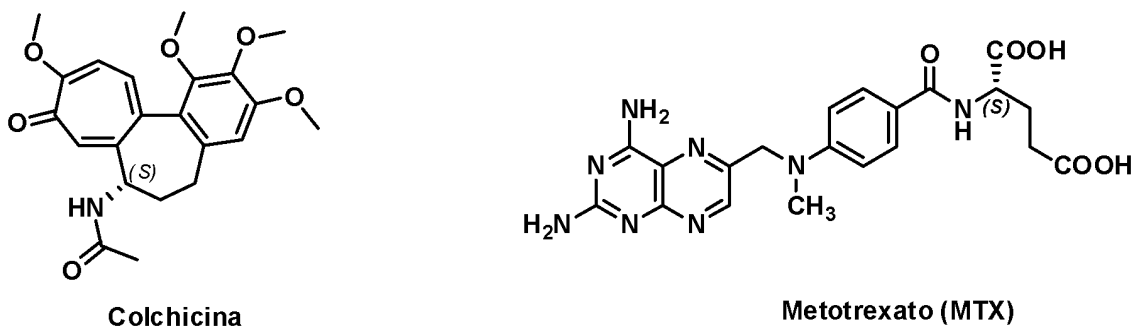
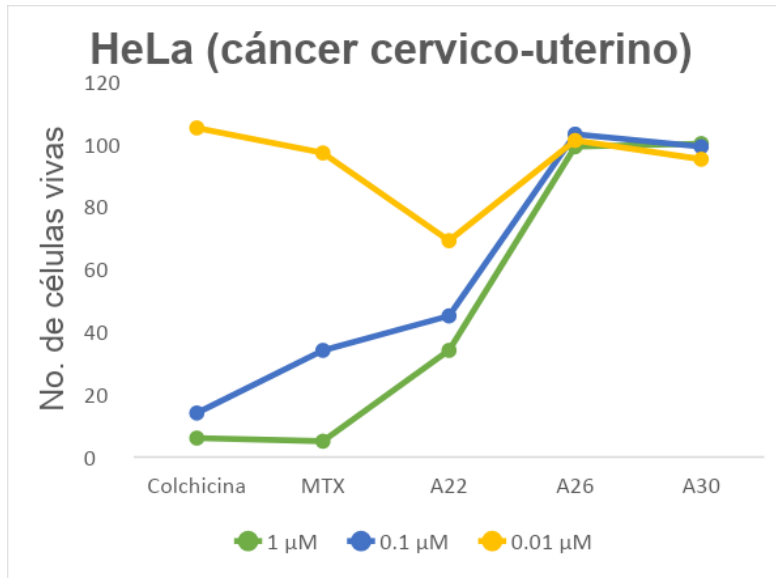


Figura 5.1. Compuestos actualmente empleados para el tratamiento del cáncer.

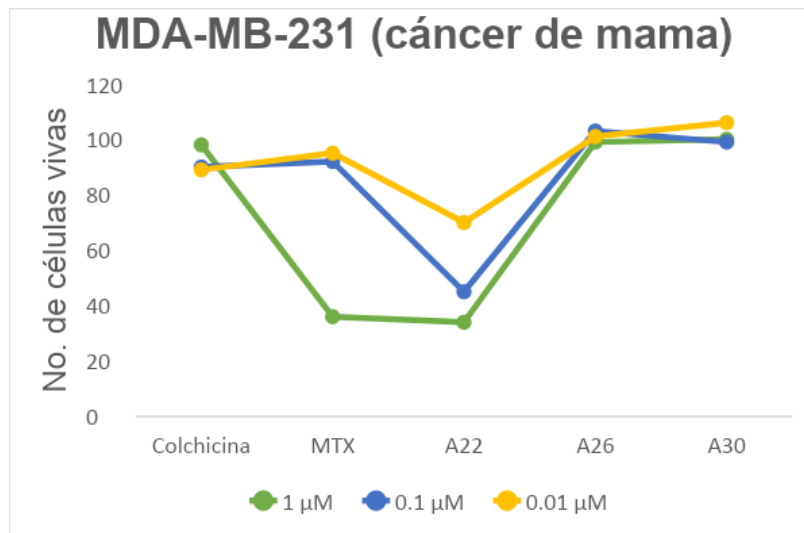
- ✓ Los compuestos de hidrazona utilizados como prueba y los fármacos colchicina y MTX se trataron con las líneas celulares cancerosas HeLa (cáncer cérvico-uterino), MDA-MB-231 (cáncer de mama) y K-562 (médula ósea), en las siguientes disoluciones en DMSO:

- ✓ 1 μ M
- ✓ 0.1 μ M
- ✓ 0.01 μ M



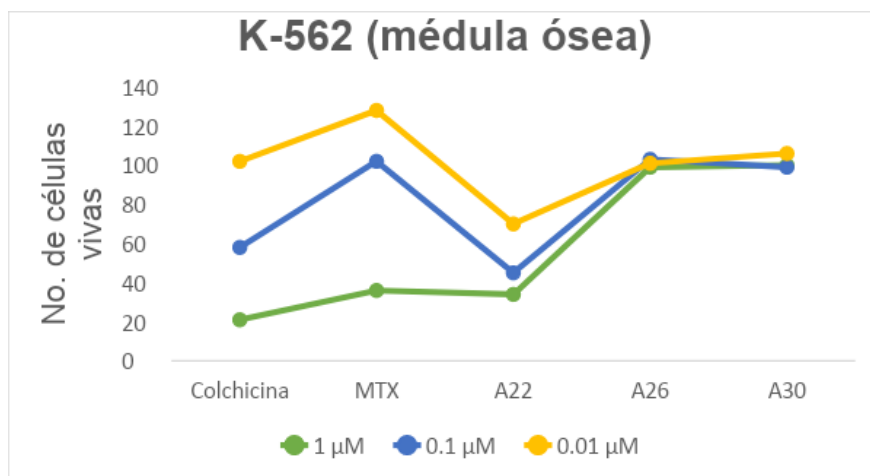


Gráfica 5.1. Comparación entre la efectividad de diferentes hidrazonas y estándares de referencia frente a líneas celulares HeLa.



Gráfica 5.2. Comparación entre la efectividad de diferentes hidrazonas y estándares de referencia frente a líneas celulares MDA-MB-231.





Gráfica 5.3. Comparación entre la efectividad de diferentes hidrazonas y estándares de referencia frente a líneas celulares K-562.

De los resultados obtenidos frente a la evaluación en líneas celulares cancerosas se observó lo siguiente:

Para cada una de las líneas celulares estudiadas, la concentración más efectiva resultó ser 1 µM, tanto para los fármacos de control como para las hidrazonas.

Para las líneas celulares HeLa (cáncer cérvico-uterino), la hidrazona que eliminó de manera más eficiente a las células cancerosas fue la **A22** (*E*)-2-(4-nitroenciliden)-1,1-difenilhidracina, aunque no resultó mejor que la colchicina o MTX.

En la línea celular MDA-MB-231 (cáncer de mama), el compuesto **A22** (*E*)-2-(4-nitroenciliden)-1,1-difenilhidracina presentó una mejor efectividad ante el MTX y la colchicina.

En el caso de las líneas celulares K-562 (médula ósea) se obtuvo mejores resultados con el compuesto **A22** (*E*)-2-(4-nitroenciliden)-1,1-difenilhidracina comparado con el MTX sólo superado por la colchicina.



Los otros 2 compuestos **A26**
(*E*)-2-(2,4-dinitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina y **A30**
(*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina no resultaron tan efectivos
contra estas líneas celulares.



CAPÍTULO 7

7.1. CÁLCULOS TEÓRICOS

Se hicieron cálculos teóricos de la estructura electrónica de las moléculas de la figura 1. Para calcular los espectros UV, vibracionales y de RMN se empleó la teoría de los funcionales de la densidad electrónica, con el método y base B3LYP/6-311++G (d,p). Para la optimización de las estructuras se empleó la instrucción Geom con la opción de recuperar datos del archivo chk. Se hicieron tres diferentes cálculos para los desplazamientos químicos de UV, el espectro de IR y RMN con el método GIAO, para ^1H y ^{13}C . Los espectros teóricos de UV; IR y RMN fueron comparados con la molécula, (E)-1-(3,4-dimethylbenzylidene)-2,2-difenilhidracina, obtenida experimentalmente (1).

Los resultados de las señales espectroscópicas se recopilaron en las siguientes tablas. En donde se presentan los resultados de los cálculos teóricos y de los datos experimentales:

Tabla 7.1.1. Datos de señales vibracionales IR experimentales (FTIR film) y $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ a 400 MHz) y teóricos de la molécula A22. Datos de la Resonancia Magnética Nuclear (ppm) de ^1H y ^{13}C a 400 MHz con TMS B3LYP/6-311+G (2d,p) GIAO.³¹

A22	$\nu(\text{C—H})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{Ph-NO}_2)$	^1H (m,4H)	^{13}C (C=N)	^{13}C (C-NO ₂)
Experimental	3031	1590	1553	7.6	132.28	143.05
Teórico	3177.09	1601.20	1561.55	7.34	126.76	153.26

Tabla 7.1.2. Datos de señales vibracionales IR experimentales (FTIR film) y CDCl_3 a 400 MHz) y teóricos de la molécula A26. Datos de la Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C a 400 MHz con TMS B3LYP/6-311+G(2d,p) GIAO.³²

A26	$\nu(\text{C—H})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{Ph-NO}_2)$	^1H (m,4H)	^{13}C (C=N)	^{13}C (C-NO ₂)
Experimental	3115	1593	1347	7.24	127.54	145.88, 145.43
Teórico	3191.28	1604.51, 1588.35	1406.39	7.4253 – 7.1012	127.934	154.086



Tabla 7.1.3. Datos de señales vibracionales IR experimentales (FTIR film) y $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ a 400 MHz) y teóricos de la molécula A30. Datos de la Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C a 400 MHz con TMS B3LYP/6-311+G(2d,p) GIAO.³³

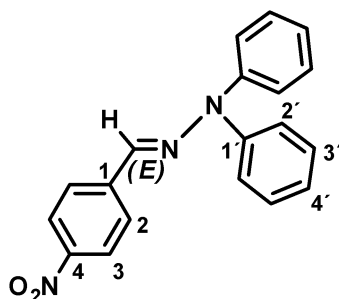
A30	$\nu(\text{C—H})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{Ph-NO}_2)$	^1H (m,4H)	^{13}C (C=N)	^{13}C (C-NO ₂)
Experimental	3026	1575	1514	7.23	130.39	147.76
Teórico	3171	1594.74	1567.33	7.5124	134.065	154.942

De los resultados experimentales de las tablas I, II y III de RMN de ^{13}C se observa que el C del enlace C=N va variando su apantallamiento. La molécula A22 tiene el C más protegido (125.35 ppm), con menos carga positiva disponible. El C de la molécula A30 análoga con un solo grupo NO_2 , presenta un C (130.41 ppm) más desprotegido, más electrofílico que el C de A22. Finalmente en la molécula A26 hay dos grupos NO_2 y un C (128.78 ppm) con carga intermedia, más electrofílico que el C de A22. Estos valores de variación de la reactividad se deben a efectos inductivos de la densidad electrónica y la carga atómica que a los efectos estéricos de los grupos nitro.

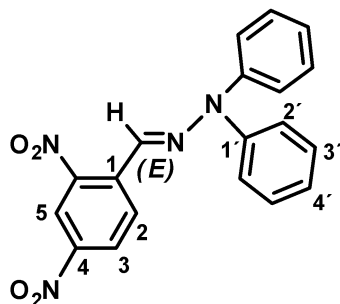
De igual manera la variación de la acidez en los protones de las moléculas A22, A26 y A30. Varía y se observa con la señal de RMN ^1H .

En caso diferente a la presencia del grupo NO_2 que apantalla la carga de protones y carbonos, las señales de IR se ven fuertemente influenciadas por la presencia del grupo nitro. Ya que en la molécula A26 la frecuencia del enlace C=N se encuentra desplazada a valores mayores de longitud de onda, debido a la atracción de los grupos nitro.

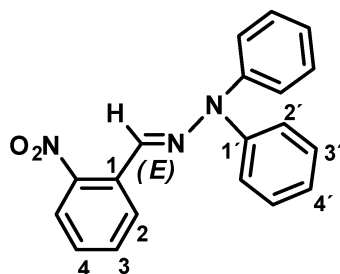
A22



A26



A30



CONCLUSIONES

- ✓ Se sintetizaron hidrazonas con estructura nuevas a partir de *N,N*-difenilhidracina y aldehídos derivados del nitrobenzaldehído:
[a] 4-Nitrobenzaldehído, [b] 2,4-Dinitrobenzaldehído y [c] 2-Nitrobenzaldehído.
- ✓ Los productos de cada reacción se caracterizaron por espectrometría de masas y espectroscopias de UV-Vis, IR, RMN ¹H, RMN ¹³C, COSY y HSQC para identificar y poder corroborar las estructuras propuestas.
- ✓ Se estableció la metodología de obtención de las hidrazonas, obteniéndose rendimientos elevados para **A26** (*E*)-2-(2,4-dinitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina y **A30** (*E*)-2-(2-nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina y rendimientos buenos para **A22** (*E*)-2-(4-nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina.
- ✓ De manera general, con los resultados obtenidos en todas las líneas celulares estudiadas, se puede concluir que a la dosis más elevada (1.0 μM) de la hidrazona **A22** (*E*)-2-(4-nitrobenciliden)-1,1-difenilhidracina existe una mayor efectividad contra las células cancerosas, aún mejor que los fármacos de control.
- ✓ En la síntesis de los nuevos compuestos se cumplieron algunos de los principios de la Química verde, tales como:
 - El uso de disolventes en mínima cantidad.
 - Las reacciones fueron realizadas a temperatura y presión ambiental.
 - Se diseñó un método de síntesis en el cual se incorporaron al máximo todos los reactivos y sustancias utilizadas en las reacciones, sin la formación de subproductos.
- ✓ A través de los cálculos teóricos fue posible realizar la comparación entre los valores teórico y experimental de las vibraciones en el (IR) y desplazamientos (RMN ¹H y ¹³C) de las hidrazonas sintetizadas y se observó que los valores son muy cercanos.





BIBLIOGRAFÍA

1. Klein, D. R. (2012). *Organic Chemistry*. Ed. Limusa Wiley.
2. Yurkanis, P.; Bruice, P. (2008), *Química Orgánica*, Pearson/Prentice Hall, México, 5ª. Edición.
3. <http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/571809>.
4. <https://lidus.us.es/xmlui>
5. Ouellette, R. J. (1996). *Introducción a la Química Orgánica*, Harla de C. V.
6. Fox, M. A. (2000). *Química Orgánica*, Educación: Addison Wesley.
7. Nicolaou, K. C.; Montagnon T. (2008). *Molecules that changed the World*. Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co KGaA Weinheim.
8. Rollas, S; Küçükgülzel, S. G. *Molecules* **2007**, 12(8), 1910-1939.
9. Popiołek, L. *Med Chem Res.*, **2017**, 26, 287-301.
10. Yong, J. N.; Asobo, P. F.; Nyongbela, K. D.; Njong, R. N.; Nfor, O. N. *ACSJ*. **2016**, 14(3), 1-10.
11. Mukhtar, S.; Al-Ahmdi, M. I.; Parveen, H. *Asian J. Chem.* **2016**, 2(12), 2589-2595.
12. Popiołek, Ł.; Biernasiuk, A.; Berecka, A.; Gumieniczek, A.; Malm, A.; Wujec, M. *Chem Biol Drug Des.* **2018**, 91, 915–923.
13. Bhat, M.; Poojary, B.; Kumar, S. M.; Hussain, M. M.; Pai, N.; Revanasiddappa, B. C.; Byrappa, K. *J. Mol. Struct.* **2018**, 1159, 55-66.
14. Stasevych, M.; Zvarych, V.; Lunin, V.; Kopak, N.; Komarovska-Porokhnyavets, O.; Deniz, N.G.; Sayil, C.; Ozyurek, M.; Guclu, K.; Vovk, M.; Novikov, V. *Monatsh. Chem.* **2018**, 149, 1111–1119.
15. Saxena, A.; Das, R.; Saxena, S. *IJAR.* **2015**, 3(7), 81-85.
16. Vasanthi, R.; Sundar, P. S.; Ramana, H.; Rao, K. N. V.; Nayyar, S.; Rajeswardutt, K. *IAJPS.* **2017**, 4(10), 3859-3863.
17. Kumari, M. S.; Babu, K.S.; Ravindhranath, L. K.; Latha, J.; Harinagamaddaih, K. *IJCPS.* **2015**, 3(9), 1951–1956.
18. Easmon, J.; Pürstinger, G.; Thies, K. S.; Heinisch, G.; Hoffman, J. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 6343-6350.
19. Cramer, C. J. (1961). *Essentials of Computational Chemistry: theories and models*. Wiley, England. 2ª Edición.
20. Angew, T. *Chem. Int. Ed.*, **2011**, 50, 9216 – 9217.
21. Su, X; Aprahamian, I. *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 1963-1981



22. Verma, G.; Marella, A.; Shaquiquzzaman, M.; Akhtar, M.; Ali, M. R.; Alam, M. M. *J Pharm Bioallied Sci.* **2014**, 6(2), 69–80.
23. Özyürek, M.; Güçlü, K.; Tütem, E.; Başkan, K. S.; Erol, E; Çelik, K. S; Sefa, B.; Leyla, Y.; Şeyda, K; Reşat, A. **2011**. *RSC* 3, 2439-2453.
24. Cefuroxima. (2007). Recuperado de http://www.facmed.unam.mx/bmd/gi_2k8/prods/PRODS/Cefuroxima.html
25. Ampicilina. (2007). Recuperado de http://www.facmed.unam.mx/bmd/gi_2k8/prods/PRODS/Ampicilina.htm
26. Van Drie J. H. (2007). Monty Kier and the Origin of the Pharmacophore Concept. *Internet Electronic Journal of Molecular Design*, 6, 271–279. Recuperado de https://www.researchgate.net/post/What_is_Pharmacophore
27. Zhong, Y; Shahidi, F. (2015). Handbook of Antioxidants for Food Preservation. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/trolox-equivalent-antioxidant-capacity>
28. Molina González, G.; Rosales, M. E.; Bárcenas Morales, G.; Montaraz Crespo, J. A. (2006). *Vet. Méx.* Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2006/vm063d.pdf>
29. Cervantes-García, E; García-González, R; Salazar-Schettino, P. M. (2014) *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab.*
30. Vircell S. L. (2014). Recuperado de <https://www.vircell.com/enfermedad/27-candida-albicans/>
31. <http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/aspergillus-niger/>
32. Nikoofar, K; Yielzoleh, F. M. *J Saudi Chem Soc*, **2018**, 22(6), 715-741.



ANEXO I

Las espectros COSY y HSQC de los compuestos **A22** (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina, **A26** (*E*)-2-(2,4-dinitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina y **A30** (*E*)-2-(2-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina se incluyen a continuación para comprobar la existencia de los acoplamientos ^1H - ^1H e ^1H - ^{13}C , respectivamente.

Espectro COSY del compuesto A22

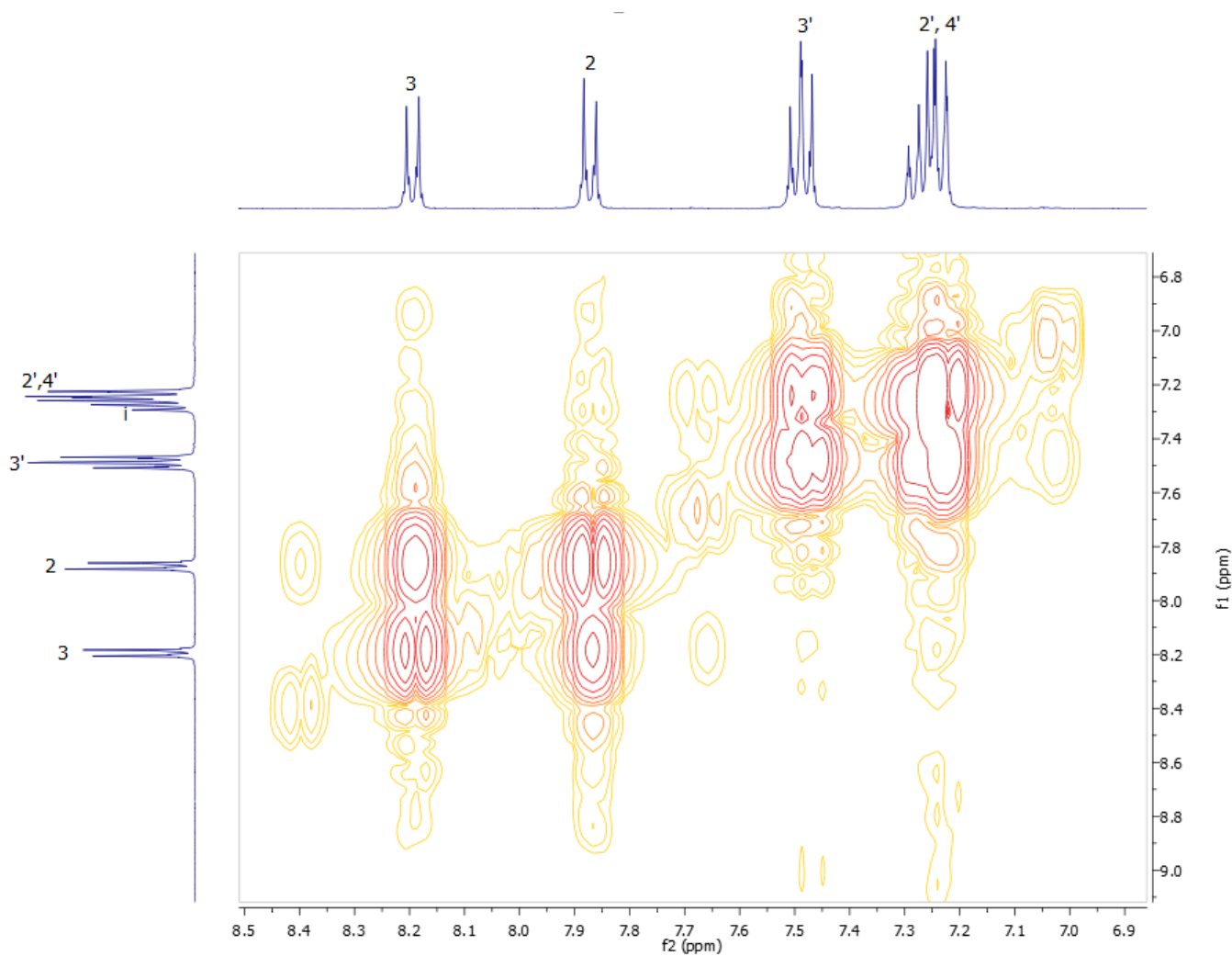


Figura I.1. Espectro COSY de (*E*)-2-(4-nitrobenziliden)-1,1-difenilhidracina (A22) en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.



Espectro HSQC del compuesto A22

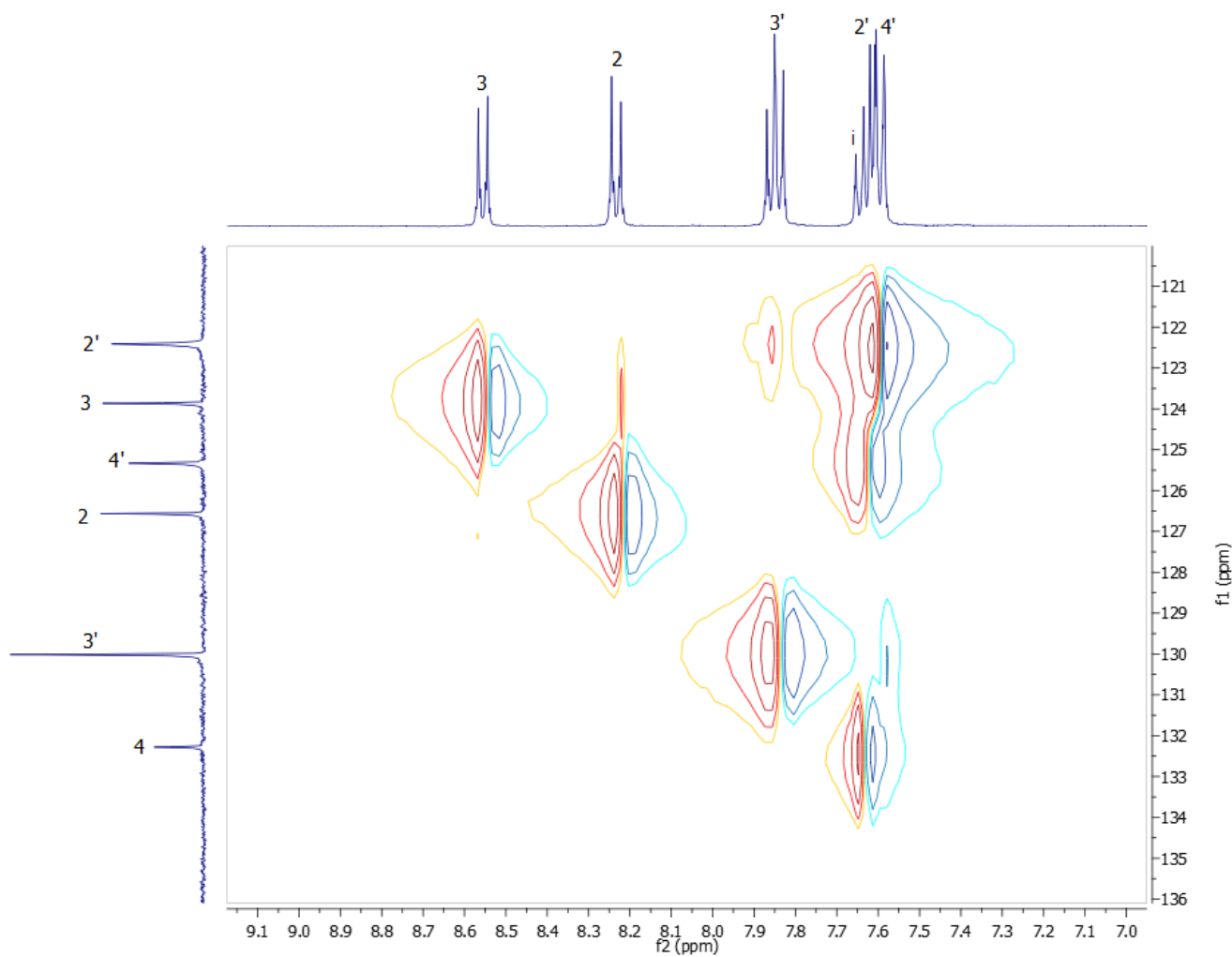


Figura I.2. Espectro HSQC de (*E*)-2-(4-nitroenciliden)-1,1-difenilhidracina (A22) en (CD₃)₂CO.

Espectro COSY del compuesto A26

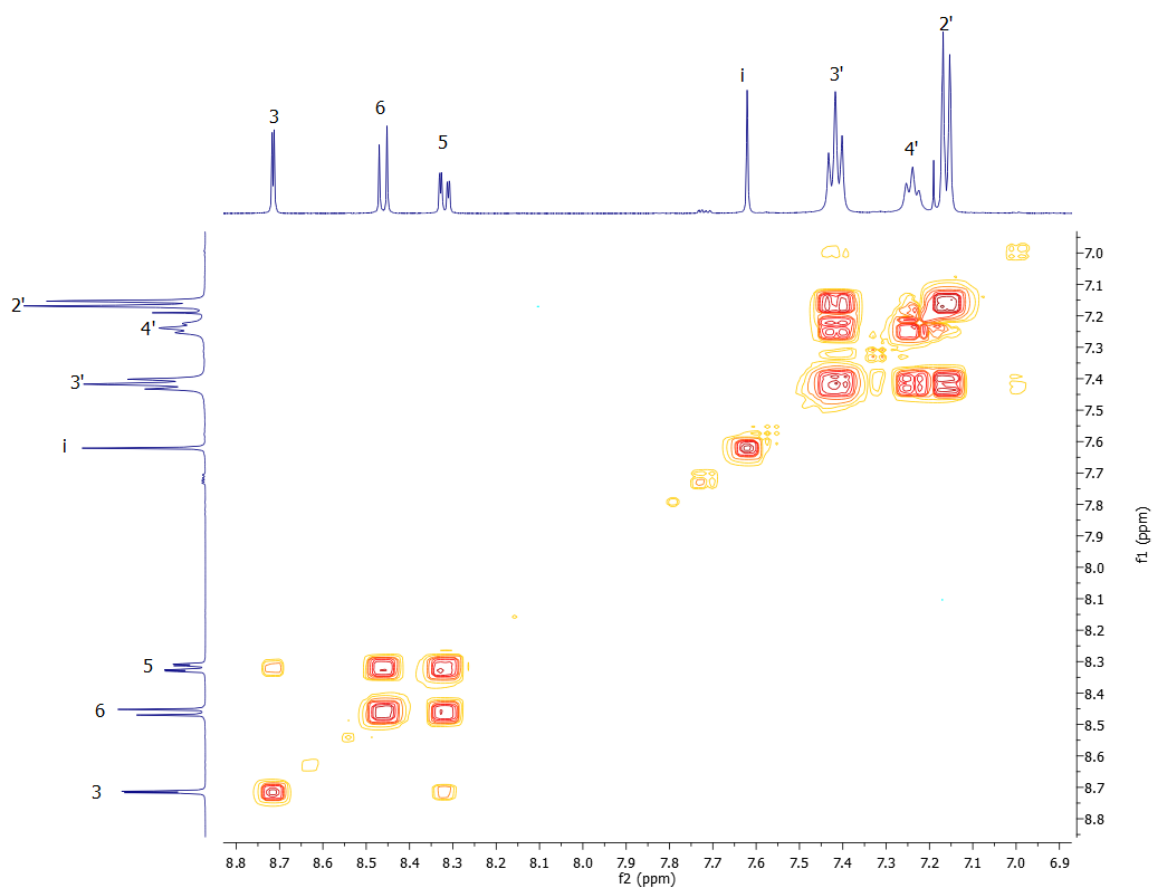


Figura I.3. Espectro COSY de N'-(2,4-Dinitrobenzilideno)-N,N-difenilhidracina (A26) en CDCl₃.



Espectro HSQC del compuesto A26

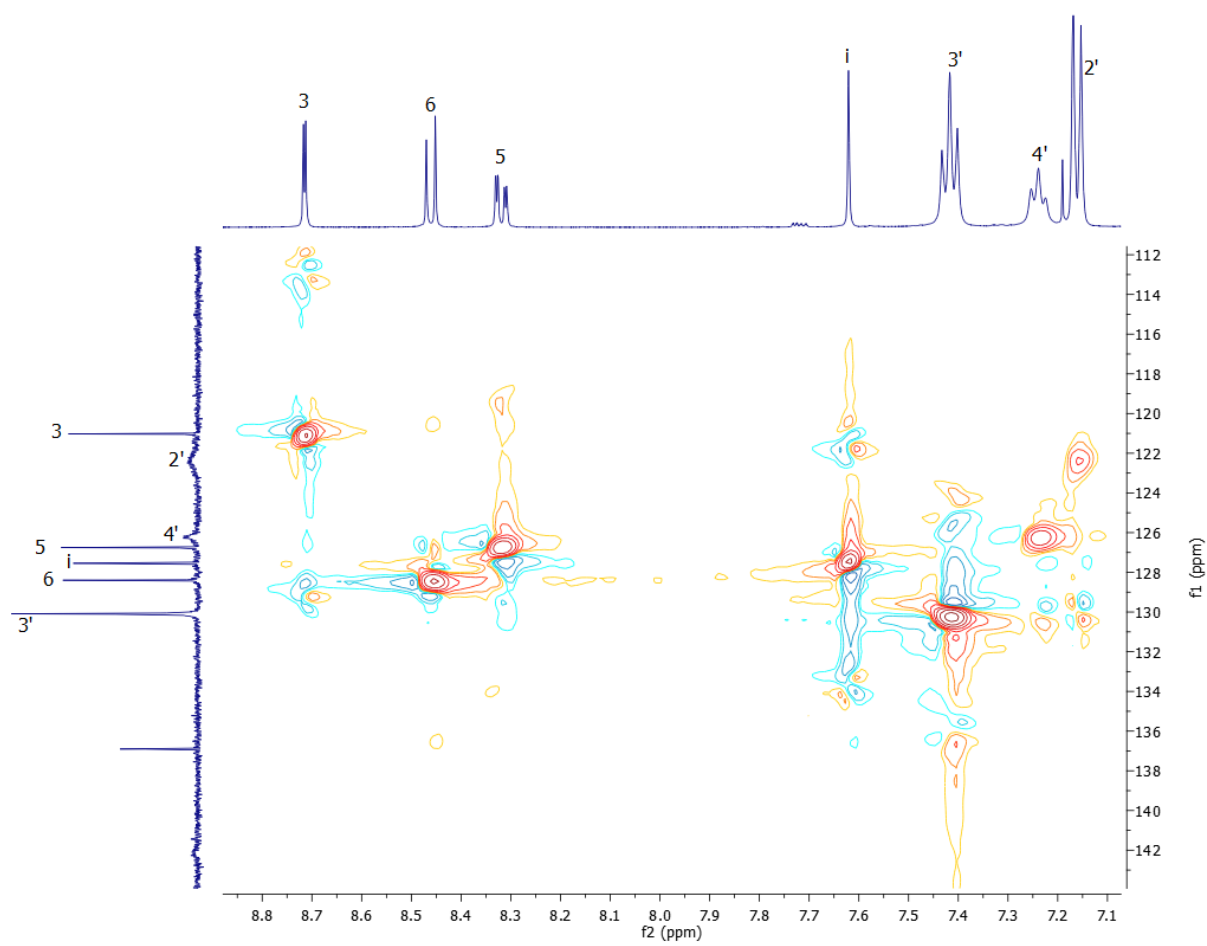


Figura I.4. Espectro HSQC de *N'*-(2,4-dinitrobenziliden)-*N,N*-difenilhidracina (A26) en CDCl₃.



Espectro COSY del compuesto A30

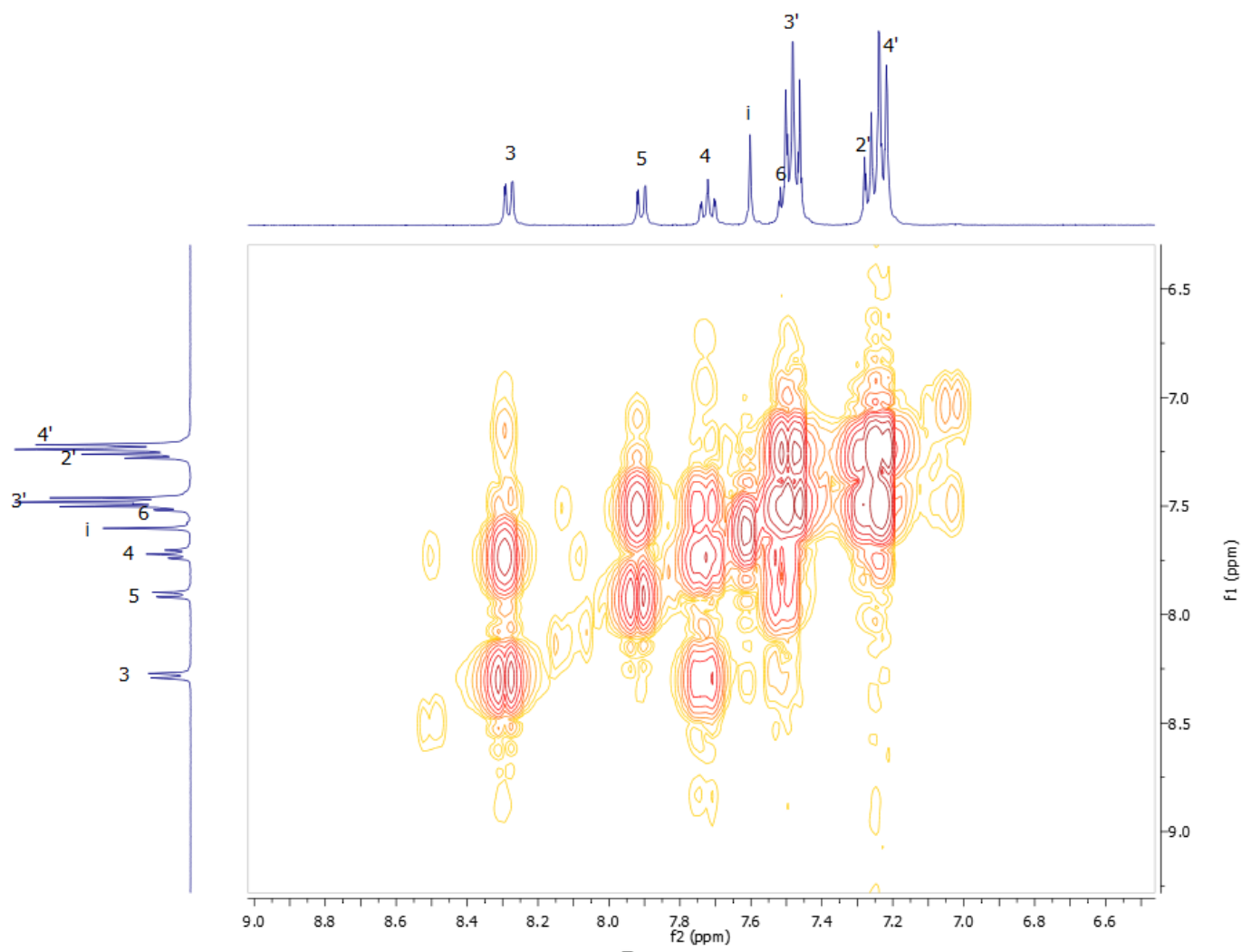


Figura I.5. Espectro COSY de (*E*)-2-(2-nitroenciliden)-1,1-difenilhidracina (A30) en (CD₃)₂CO.



Espectro HSQC del compuesto A30

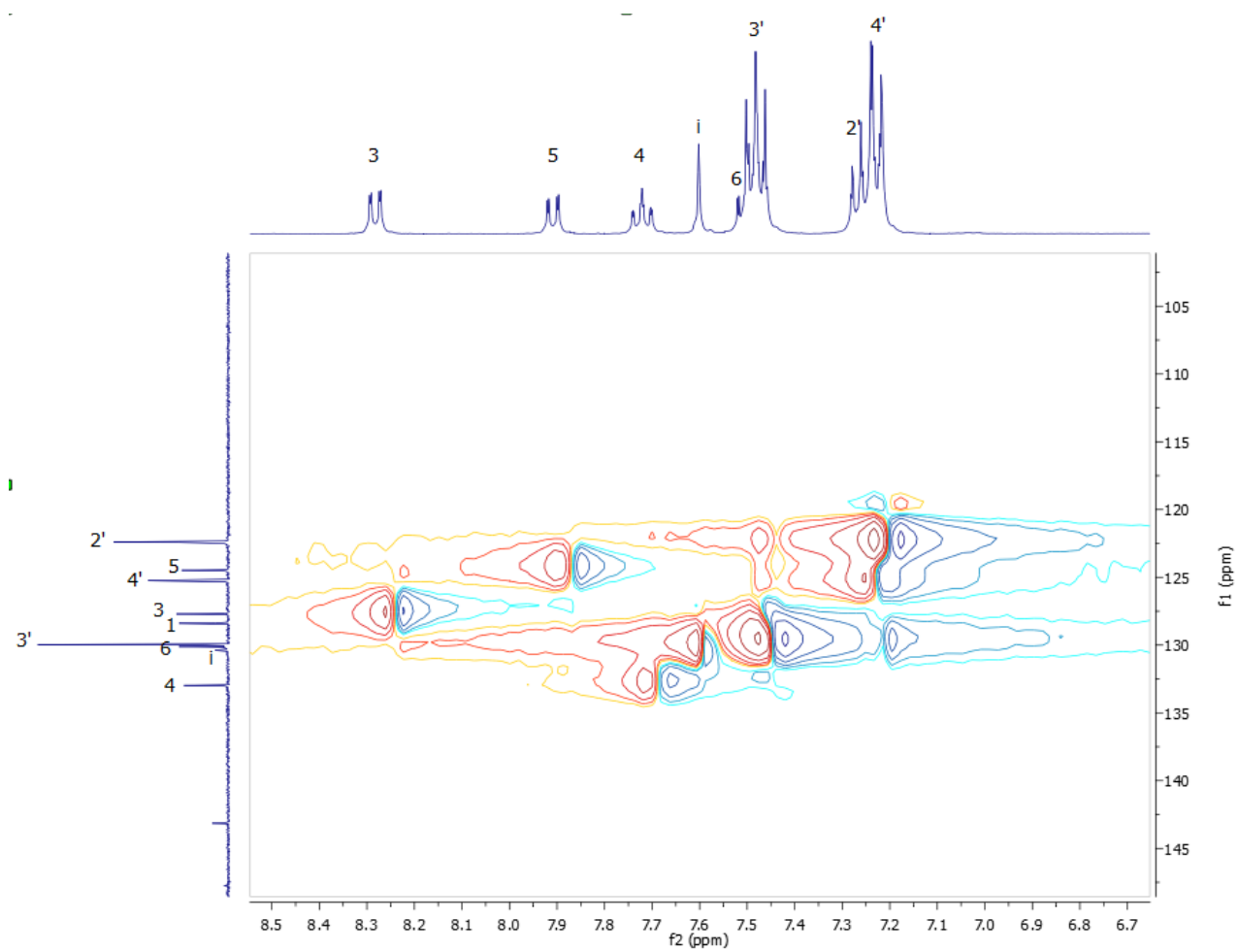


Figura I.6. Espectro HSQC de (*E*)-2-(2-nitroenciliden)-1,1-difenilhidracina (A30) en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.



ANEXO II

Glosario de términos farmacéuticos y biológicos

Actividad antibacteriana. Un fármaco con actividad antibacteriana es capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado, como los antibióticos.

Actividad antifúngica. Un fármaco con actividad antifúngica es capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de hongos o su eliminación.

Ampicilina. Está indicada en el tratamiento de infecciones causadas por cepas susceptibles de los siguientes microorganismos:

- Infecciones del aparato genitourinario: *E. coli*, *P. mirabilis*, enterococos, *Shigella*, *S. typhosa* y otras como *Salmonella* y *N. gonorrhoeae* no productora de penicilinas.
- Infecciones del aparato respiratorio: *H. influenzae* no productora de penicilinas y estafilococos sensibles a la penicilina G, estreptococos incluyendo *Streptococcus pneumoniae* y neumococos.
- Infecciones del aparato gastrointestinal: *Shigella*, *S. typhosa* y otras salmonelas, *E. coli*, *P. mirabilis* y enterococos.
- Meningitis: *N. meningitidis*. Debido a que es efectiva contra los patógenos más comunes causantes de la meningitis, puede usarse por vía intravenosa como tratamiento inicial antes de que se disponga de los resultados bacteriológicos.³⁴

Análisis 3D Hirshfeld. En los últimos años el análisis de estructuras cristalinas moleculares utilizando herramientas basadas en superficies Hirshfeld ha ganado popularidad. Distancias internucleares ángulos, diagramas de empaquetamiento



cristalino con moléculas representadas por varios modelos, y la identificación contactos cercanos. Observar moléculas como una “totalidad orgánica”.

***Aspergillus niger* NCCS 1196 y VKM F1119.**

Es un hongo que produce un moho negro en vegetales, muy común en la lechuga, el tomate, acelga y limón. Puede causar infecciones limitadas a los pulmones y puede extenderse en todo el cuerpo en los casos más severos. Este hongo está asociado con otomicosis, aspergilosis crónica pulmonar, asma, aspergilosis alérgica broncopulmonar, entre otras. NCCS significa que la cepa fue obtenida de National Centre Realizar estudios teóricos con funcionales de la densidad electrónica, con el método y base B3LYP/6-311++G (d,p), para realizar una comparación teórica con los datos obtenidos experimentalmente en la espectroscopia de IR, RMN ¹H y RMN ¹³C. for Cell Science mientras que VKM, fue obtenido de The Norwegian Scientific Committee for Food and Environment (Vitenskapskomiteen for mat og miljø).

ATCC.

American Type Culture Collection. Organización no lucrativa que recolecta, almacena y distribuye microorganismos estándares de referencia, líneas celulares y otros materiales para la investigación y desarrollo.

Bacillus pumillus. Tipo de bacteria perteneciente al grupo de *Bacillus subtilis* y junto con *B. licheniformis* han sido las bacterias más reportadas asociadas con enfermedades transmitidas a través de los alimentos. No es patógeno en humanos.

***Bacillus subtilis* ATCC 6633**. Tienen forma de barra con bordes redondeados. Miden aproximadamente 1 micra de ancho por 2-3 micras de largo. Se encuentran de forma individual o formando pequeñas cadenas. Cuando se somete al proceso de tinción de Gram, la bacteria adopta la típica coloración violeta de las bacterias Gram positivas. Esto es debido al peptidoglicano presente en su pared celular. Puede subsistir en ambientes sin disponibilidad de oxígeno.

***Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617**. Puede causar enfermedad en diversas especies de mamíferos, como traqueobronquitis infecciosa canina (TBIC); bronconeumonía en conejos y cuyes; rinitis atrófica en cerdos; afecciones respiratorias en gatos, ratas y caballos. En humanos se encuentra como comensal o colonizador del tracto respiratorio y raramente como patógeno, pero quizá sea



un factor de predisposición para enfermedades respiratorias. Se le ha relacionado en enfermedades de humanos con estado inmunocomprometido.

***Candida albicans* NCCS 2106.** Hongo asociado a animales de sangre caliente que coloniza la vagina y los tractos digestivo y respiratorio humanos. Puede infectar la piel, uñas y membranas mucosas, pero la presentación diseminada que se desarrolla en pacientes inmunodeprimidos es la complicación más seria de la enfermedad. Las siglas NCCS significa que la cepa fue obtenida de National Centre for Cell Science.

Candida spp. Se identifica como levaduras mitospóricas alargadas o ligeramente redondas de 2-6 x 3-9 μm que se reproducen por gemación (blastoconidios). A excepción de *C. glabrata*, el resto de las especies asociadas a candidosis pueden formar pseudomicelios; *C. albicans* y *C. dubliniensis* además son formadoras de hifas.

***Candida tenuis* VKM Y-70.** Este hongo ha sido aislado de numerosos árboles coníferos, raíces de cactus y del tracto digestivo muchas especies de escarabajos barrenadores, donde el hongo podría tener una relación simbiótica con el escarabajo. Es una especie de levadura importante para la investigación en la producción de biocombustible debido a su rara habilidad para fermentar y asimilar de manera eficiente la xylosa, componente principal de las paredes celulares de las plantas.

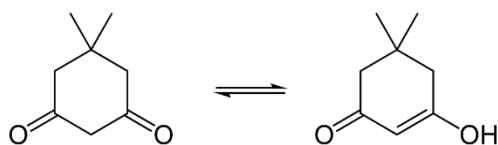
Cefuroxima. Antibiótico de espectro amplio, del grupo de las cefalosporinas de segunda generación, se relaciona ampliamente con cefamandol y la cefoxitina, siendo superior a éstos debido a su resistencia a las penicilinasas, lo que le confiere efectividad contra *Neisseria gonorrhoeae* y otras bacterias productoras de penicilinasas.

CUPRAC. Método para medir la actividad/capacidad antioxidante. Por sus siglas en inglés el método CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity) se basa en la medida de la absorbancia del quelato Cu(I)- neocuproin (Nc) formado como resultado de la reacción redox antioxidantes rompe cadenas con el reactivo de CUPRAC, Cu(II)-Nc, donde la absorbancia es registrada a la longitud de onda de absorción de luz máxima de 450 nm; por lo tanto ésta es método basado en la transferencia de electrones.

Dimedona. (25 °C y 1 atm). La **dimedona** es una dicetona cíclica es utilizada en síntesis orgánica para determinar si un compuesto contiene un grupo de aldehído. También es empleada como sustrato en una gran variedad de reacciones orgánicas incluyendo transformaciones multicomponentes. Lo que hace notable a



este compuesto es la propiedad ácida del grupo metileno, el cual se encuentra en equilibrio con su forma tautomérica como se muestra en el siguiente esquema.



Este fenómeno le permite ser utilizada para distintas reacciones orgánicas con una potente exclusividad farmacéutica.

Enterococcus faecalis. Esta bacteria se encuentra en las heces y vive normalmente en los intestinos humanos sin causar daño; sin embargo, si se expande a otras partes del cuerpo puede causar infecciones más serias ya que puede llegar a la sangre, orina o alguna herida durante cirugía, y de ahí puede viajar hacia otros lados causando infecciones más severas como sepsis, endocarditis y meningitis. Generalmente no causa problemas en personas sanas pero puede afectar a personas con sistemas inmunológicos debilitados. Se contagia de persona a persona por falta de higiene.

Escherichia coli B-906. *Escherichia coli* es la especie bacteriana más común de la microbiota intestinal; se presenta como un comensal del intestino humano pocas horas después del nacimiento. Es raro encontrar cepas comensales asociadas a enfermedad. Empero, existen varios patotipos de *E. coli* implicados en un amplio espectro de enfermedades agrupados en tres síndromes clínicos. Afecta principalmente a la población infantil de países en desarrollo.

Escherichia coli 2065. *E. Coli* obtenida de National Collection of Industrial Microorganisms (NCIM), Pune, India.

Farmacóforos. Grupo de átomos en la molécula de un fármaco responsable de la acción del mismo. Es una descripción abstracta de las características moleculares que son necesarias para el reconocimiento de un ligante en una macromolécula biológica. El modelo de un farmacóforo explica como diversos ligantes se enlazan estructuralmente a un receptor común o un sitio enzimático.

Gram-negativa. Conjunto de bacterias que al ser teñidas por la técnica de tinción Gram, adquieren una coloración rosada que las diferencia de las Gram-positivas, que se colorean por la misma técnica, en morado. La estructura y composición de la pared celular son diferentes en ambos grupos. En el caso de las



Gram-negativas, ésta está formada por varias capas de peptidoglicano y la membrana externa.

Gram-positivas. Bacterias que adquieren color morado en los procedimientos de tinción Gram.

Hollow fiber assay (HFA). Herramienta de descubrimiento de fármacos que ayuda a los investigadores en prioritización de compuestos líderes identificados por pruebas in vitro para desarrollo posterior en modelos de animales con alguna enfermedad. En la HFA, las células son cultivadas en fibras huecas que contienen poros de un diámetro de (500 kDa) lo suficientemente grandes como para que las proteínas y otras macromoléculas entren, pero bastante pequeñas como para que las células no escapen. Las fibras se rellenan con células, se sellan y se colocan en la cavidad peritoneal de los ratones inmunodeficientes. Los ratones se someten a un régimen de tratamiento predeterminado después del cual las fibras se recuperan y las células se evalúan de acuerdo a su actividad en algún modelo de enfermedad relevante.

***Micrococcus luteus* ATCC 10240.** Bacteria Gram positiva que tiene forma esférica, con un diámetro aproximado de 0.5–3.5 micras. Esta bacteria ha sido aislada de un gran número de hábitats, como el suelo, el agua, el aire y el polvo. Se ha demostrado que forma parte de la flora bacteriana normal de la superficie corporal de los mamíferos. Además es capaz de colonizar en los seres humanos la cavidad bucal, la orofaringe y las vías respiratorias superiores. Cepa obtenida de **American Type Culture Collection**.

NCCS (National Centre for Cell Science). El Centro Nacional para la Ciencia Celular es un centro de investigación de Nivel Nacional, Biotecnología, Ingeniería de Tejidos y Banca de Tejidos ubicado en el campus de la Universidad Savitribai Phule Pune en Pune, ciudad del estado indio occidental de Maharashtra.

Nitrofurantoina: (DCI) es un fármaco utilizado en el tratamiento de las infecciones urinarias no complicadas. Es activa contra la mayoría de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se emplea habitualmente con fines preventivos y en tratamientos de supresión a largo plazo.

ORTEP. Abreviación de Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot. Representación de la estructura molecular determinada por difracción de rayos-X.

Pseudomonas aureuginosa. Bacteria gram-negativa perteneciente a la rama y de las proteobacterias. Se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza y se puede aislar de muestras de suelo, aguas prístinas y contaminadas, así como de



plantas y animales. Todas las cepas son potencialmente patógenas para el hombre y algunas pueden infectar también a plantas e invertebrados. Esta bacteria es capaz de utilizar una enorme variedad de compuestos orgánicos como sustrato para crecer, capacidad que le permite colonizar nichos en los que son escasos los nutrientes.

Reacción de Japp-Klingemann. La reacción de Japp-Klingemann es una reacción química utilizada para sintetizar hidrazonas a partir de β -ceto-ácidos (o β -ceto-ésteres) y sales de aril diazonio. La Reacción está nombrada en honor a los químicos Francis Robert Japp y Felix Klingemann.

***Staphylococcus aureus* ATTC 25923.** Es un patógeno considerado el más virulento, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida. El impacto de las cepas de *S. aureus* sobre la salud es la resistencia que puede presentar a múltiples antibióticos, sobre todo a la meticilina

Tinción Gram. La estructura de su pared celular incluye una capa de peptidoglucano y ácidos teicoicos que es más ancha que la de las bacterias Gram-negativa.

Trolox (TR) Equivalent Antioxidant Capacity. Ensayo (TEAC) se desarrolló como un método simple y conveniente para la determinación de la capacidad antioxidante total (TAC) (Miller *et al.*, 1993), basada en la reducción de radicales por transferencia de átomos de hidrógeno (ensayo FRAP), transferencia de electrones simple (métodos por radicales DPPH y ABTS). El ensayo mide la habilidad de los antioxidantes de estabilizar radicales libres (en inglés, scavenger) el radical catiónico estable ABTS⁺ (azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) un cromóforo azul verdoso con absorción máxima a 734 nm que disminuye en intensidad ante la presencia de antioxidantes.



ANEXO III

Densidad electrónica. El número de electrones por unidad de volumen en un punto del espacio.

Ecuación de Schrödinger. La ecuación de la mecánica cuántica que toma en cuenta los movimientos del núcleo y del electrón en sistemas atómicos y moleculares. Aplicaciones incluye el cálculo de distribución electrónica y de carga, geometrías moleculares en estados basales y excitados, superficies de energía potencial, constantes de velocidad de reacciones elementales y detalles de dinámica molecular.

Funciones Base. Las funciones usualmente centradas sobre los átomos en los cuales se ha realizado una combinación lineal para obtener el conjunto de orbitales atómicos.

HOMO. El orbital molecular más alto ocupado.

LUMO. El orbital molecular más bajo desocupado.

Mecánica cuántica. Métodos basados en la aproximación de la solución de la ecuación de Schrödinger.

Modelos semi-empíricos. Métodos de mecánica cuántica que buscan soluciones aproximadas de la ecuación de Schrödinger de muchos electrones, pero que involucran parámetros empíricos.

