

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
QUÍMICA ORGÁNICA**



**Síntesis, Caracterización y Evaluación en líneas celulares
cancerosas de hidrazonas nitradas derivadas del
benzaldehído y la fenilhidracina.**

**Tesis de licenciatura para obtener el título de:
Licenciatura en Química**

PRESENTA

JORGE LUIS ARIZA RAMÍREZ

DIRECTORES

Dra. Blanca Martha Cabrera Vivas

Dr. Juan Carlos Ramírez García

ASESOR DE TESIS

Dr. Ángel Palillero Cisneros



Noviembre 2018

ÍNDICE DE CONTENIDO

Abreviaturas y símbolos-----	6
Resumen-----	7
CAPITULO 1.- INTRODUCCIÓN	
1.1.- Introducción -----	10
1.2.- Química verde-----	12
1.3.- Grupo carbonilo-----	14
1.4.- Formación de hidrazonas-----	17
1.5.- Análisis espectroscópico-----	19
1.5.1.- Espectroscopia Ultravioleta Visible-----	20
1.5.2.- Espectroscopia Infrarroja-----	20
1.5.3.- Espectroscopia de RMN (Resonancia Magnética Nuclear) -----	20
1.5.4.- Espectrometría de Masas de alta resolución-----	21
CAPITULO 2.- ANTECEDENTES	
2.1.- Hidrazonas como agentes anticancerígenos y otras aplicaciones farmacológicas-----	24
2.2.- Alternativa contra canceres-----	25
2.3.- Derivados de hidrazona de compuestos carbonílicos considerados como una clase de compuestos biológicamente activos-----	28
2.3.1.- Actividad anticonvulsiva-----	29
2.3.2.- Actividad anticancerosa-----	30
2.3.3.- Actividad antituberculosa-----	32
2.3.4.- Actividad vasodilatadora -----	35
2.3.5.- Actividad antidepresiva-----	35
2.4.- Hipótesis-----	37
2.5.- Objetivos-----	37
CAPITULO 3.- DESARROLLO EXPERIMENTAL	
3.1.- Síntesis -----	40
3.2.- Metodología-----	40
3.3.- Método experimental-----	42

CAPITULO 4.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1.- Resultados y discusión-----	46
4.2.- Síntesis de B-22, (E)-1-(4-nitroenciliden)-2-fenilhidracina-----	47
4.2.1.- Caracterización por espectroscopia UV-Vis-----	47
4.2.2.- Caracterización por espectroscopia Infrarroja-----	48
4.2.3.- Caracterización por espectroscopia de RMN de ¹ H y ¹³ C-----	51
4.2.4.- Caracterización por espectrometría de masas de alta resolución-----	53
4.2.5.- Caracterización por análisis de difracción de rayos X-----	54
4.3.- Síntesis de B-22, (E)-1-(3-nitroenciliden)-2-fenilhidracina-----	57
4.3.1.- Caracterización por espectroscopia UV-Vis-----	57
4.3.2.- Caracterización por espectroscopia Infrarroja-----	58
4.3.3.- Caracterización por espectroscopia de RMN de ¹ H y ¹³ C-----	62
4.3.4.- Caracterización por espectrometría de masas de alta resolución -----	65
4.4.- Síntesis de B-30, (E)-1-(2-nitroenciliden)-2-fenilhidracina-----	66
4.4.1.- Caracterización por espectroscopia UV-Vis-----	66
4.4.2.- Caracterización por espectroscopia Infrarroja-----	67
4.4.3.- Caracterización por espectroscopia de RMN de ¹ H y ¹³ C-----	71
4.4.4.- Caracterización por espectrometría de masas de alta resolución-----	74
4.4.5.- Caracterización por análisis de difracción de rayos X-----	75
4.5.- Análisis comparativo de los compuestos B-22, B-23 y B-30.-----	78
4.5.1.- Comparación por espectroscopia Infrarroja-----	78
4.5.2.- Comparación por espectroscopia de RMN de ¹ H y ¹³ C-----	80
4.5.3.- Comparación por análisis de difracción de rayos X-----	83
CAPITULO 5.- EVALUACIÓN BIOLÓGICA	
5.1.- Pruebas de citotoxicidad-----	87
CAPITULO 6.- CONCLUSIONES	
6.1.- Conclusiones-----	91
CAPITULO 7.- ANEXOS	
7.1.- Conceptos de términos farmacéuticos y biológicos-----	93
Bibliografía -----	94

Abreviaturas y símbolos

δ : desplazamiento

$^{\circ}\text{C}$: Grados Celsius

IE: Impacto Electrónico

IR: Infrarrojo

J: Constante de acoplamiento

m: Múltiple

ppm: Partes por millón

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

σ : enlace sigma

E⁺: electrófilo

IC₅₀: concentración media máxima inhibidora

MTX: Metotrexato

mM: milimolar

μM : micromolar

nm: nanómetro

Å: ángstrom

λ : longitud de onda

λ_{max} : longitud de onda máxima

SAR: relación, estructura, actividad (Structure-Activity Relationship)

MIC: concentración mínima inhibitoria

PBMC: Célula mononuclear de sangre periférica

MDR: multi-resistente a los fármacos

T.A: temperatura ambiente

mg: miligramos

mL: mililitro

Hz: Hertz

N⁻: nucleófilo

HR-MS: Espectrometría de Masas de Alta Resolución

High Resolution Mass Spectrometry

RMN ¹H: Resonancia Magnética Nuclear de ¹H

RMN ¹³C: Resonancia Magnética Nuclear ¹³C

UV-Vis: Ultravioleta visible

s: singulete

d: Doblete

t: triplete

dd: Doble de dobles

td: triple de dobles

ddd: doble de doble de doble

UV: Ultravioleta

p.f: punto de fusión

HTB-38: Cáncer de colon rectal

HTB-177: Cáncer de pulmón

MOLT-4: Leucemia linfoblástica

MCF-7: Cáncer de mama

RESUMEN

En este proyecto de investigación, se describe detalladamente la síntesis, caracterización espectroscópica y evaluación anticancerosa de tres nuevos compuestos tipo hidrazona. Estos compuestos son derivados del benzaldehído sustituidos por un grupo nitro (-NO₂) en las tres posiciones diferentes del benzaldehído, haciéndolas reaccionar con un reactivo nucleofílico denominado fenilhidracina. Los tres compuestos sintetizados corresponden al nombre y clave:

B-22, (*E*)-1-(4-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina

B-23, (*E*)-1-(3-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina

B-30, (*E*)-1-(2-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina

Estos compuestos fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas como espectroscopia de Ultravioleta-Visible (UV-Vis), espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia de Resonancia Magnética de hidrógeno y de carbono (RMN de ¹H y de ¹³C, espectrometría de masas (E. M.), así como la determinación de sus propiedades físicas. Los resultados obtenidos concuerdan con la estructura propuesta inicialmente, además de que en ambos casos se obtiene el isómero *E*, lo cual, teóricamente corresponde al isómero más estable, lo que explica sus altos puntos de fusión, además de los colores característicos debido a la extensión de la conjugación de los enlaces π en toda la estructura.

Una vez terminada la síntesis y corroboración estructural mediante las técnicas espectroscópicas ya mencionadas, se realizó la evaluación citotóxica en las líneas celulares cancerosas de HTB-38 (Colon rectal), HTB-177 (Pulmón), MOLT-4 (leucemia linfoblástica), MCF-7 (cáncer de mama) para así evaluar su actividad farmacológica ante estas enfermedades.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1.-Introducción

La química orgánica ha sido un área de interés enorme para aquellos que aprecian el arte de la creación; no como personas que desean alcanzar el poder de DIOS, si no como aquellos que admiran la sabiduría con la que se crearon las cosas.

“Hagamos al hombre a nuestra imagen conforme a nuestra semejanza”

Génesis, 1:26

Estos es lo que relata DIOS en el último día de la creación, y le hizo capaz de crear cosas bellas. Así, a partir de rocas, ladrillos y vigas, el hombre ha sido capaz de construir monumentos hermosos a lo largo de la historia; palabras simples que en boca de un poeta hacen llorar hasta el corazón más duro; letras que ordenadas adecuadamente, un escritor logra contar historias maravillosas que trascienden los tiempos; así como a partir de pequeñas moléculas se



**FIGURA 1 ROBERT BURNS
WOODWARD PREMIO NOBEL DE
QUÍMICA**

han logrado crear bellas estructuras moleculares, que para muchos científicos además de ser una simple estructura muestra en su gran esplendor un trabajo de arte. En esto consiste la Síntesis Orgánica, una actividad que por y para muchos artifices es considerado un arte. Uno de los más representativos de este arte dijo: “La síntesis orgánica es fuente de conmoción, aventura y grandes retos, y puede ser también un noble arte” (*There can be excitement, adventure, challenge, and there can be great art in organic síntesis synthesis*) por Roberts Burns Woodward.

Todo comenzó con la urea, Friedrich Wöhler, pedagogo y químico alemán (1800-1882), famoso por conseguir sintetizar por primera vez urea, un compuesto orgánico sintetizado a partir de isocianato de plata, un compuesto inorgánico. Este descubrimiento fue importante en su tiempo, ya que derribó la teoría vitalista de que para sintetizar un compuesto orgánico se necesitaba de un ser vivo para que este le comunicase su “fuerza vital”. Aunque fue un descubrimiento casual, como la

mayoría de esa época, marcó el nacimiento de la síntesis total y motivó a los químicos de la época a intentar nuevas síntesis.

Entre 1900 y 1945 el objetivo de los químicos se centró en sintetizar compuestos derivados de productos naturales. William H. Perkin, un químico británico, sintetizó la cumarina y describió la reacción que lleva su nombre. A esa época también pertenecen dos de los más grandes y brillantes químicos de la historia merecedores del premio nobel: Hermann Emil Fischer (1902) por su trabajo en la síntesis de purinas y carbohidratos, y Sir Robert Robinson (1947) por la síntesis de antocianinas y alcaloides [1].

A pesar de que ahora parezcan moléculas sencillas, es asombrosa la habilidad con la que los químicos de esa época, a principios del siglo XX, considerando las herramientas tan primitivas de análisis que disponían para la elucidación de sus

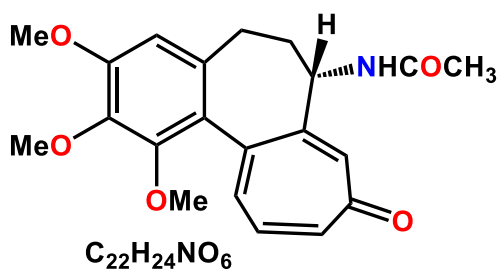


FIGURA 2 COLCHICINA

estructuras. Fue después de la segunda guerra mundial cuando se pasó a otro nivel de sofisticación. Ello fue debido al desarrollo fundamental de técnicas cromatográficas para la separación de compuestos orgánicos y de técnicas espectroscópicas para la elucidación de las estructuras. Como resultado de estos

avances, en el periodo de 1945 y 1960, se llevaron a cabo síntesis de moléculas muy complejas como la vitamina A (O. Isler, 1949), la morfina (M. Gates, 1956), la penicilina (J. Seehan, 1957) y la colchicina (A. Eschenmoser, 1959) [1].

De todos ellos cabe destacar a Robert Burns Woodward (E.U.A, 1917-1979) por ser capaz de diseñar procedimientos sintéticos para algunas de las estructuras más complicadas conocidas en su tiempo. Ejemplos de ellos en orden cronológico y de decreciente dificultad son la quinina, el colesterol y la cortisona, el ácido lisérgico, la estricnina, la reserpina y la eritromicina [1,5].

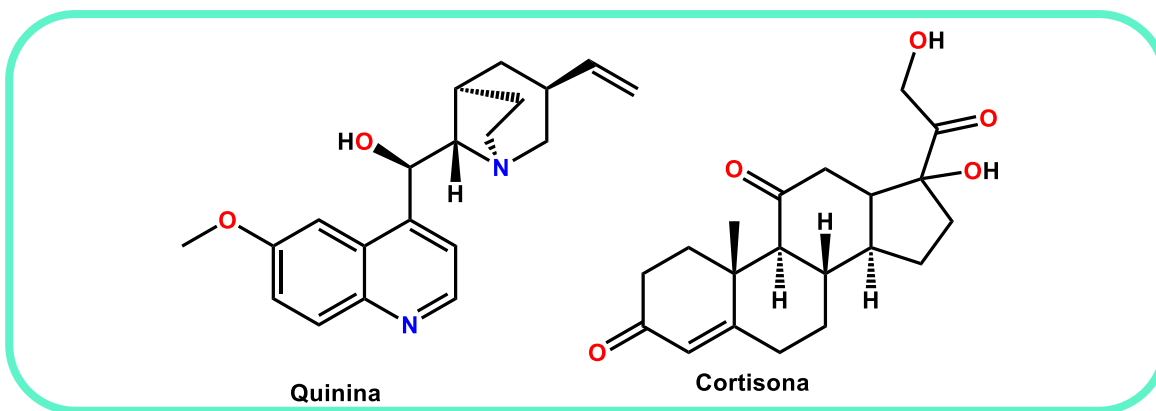
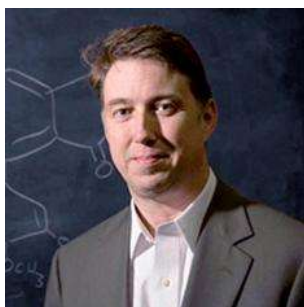


FIGURA 3 MOLÉCULAS SINTETIZADAS POR ROBERTS BURNS WOODWARD

1.2.- Química verde

Actualmente, ha aumentado el deterioro del medio ambiente por parte de la industria química, por lo que se ha generado la necesidad de buscar alternativas que mejoren la sustentabilidad ambiental. Una de estas herramientas es la Química Verde, un término muy sonado en las últimas décadas, la cual denomina una serie de acciones que contempla el diseño de productos y procesos que reduzcan e incluso eliminen la generación de sustancias peligrosas y además maximicen la eficiencia en la utilización de recursos materiales y energéticos. El uso de tecnologías menos contaminantes, permitirá que las empresas químicas puedan mitigar los efectos ambientales asociados a sus actividades, reduciendo así el consumo de materiales e incrementando la participación de recursos renovables [2].



**FIGURA 4 PAUL T.
ANASTAS**

Como se menciona anteriormente, el término “química verde” se relaciona con el diseño de procesos y productos químicos que reduzcan o eliminen el uso y generación de sustancias peligrosas. Definición introducida por Paul Anastas, quien escribió el libro “Green Chemistry: Theory and Practice” junto con John Warner (1998), donde aparecen los 12 principios de la Química Verde, como unos de los criterios más importantes que deben tomarse en

cuenta a la hora de valorar una reacción, proceso, o bien, un producto químico en base al medio ambiente [3].

Estos principios han sido ampliamente difundidos por todo el mundo por el autor del libro ya mencionado. A continuación se muestran los doce principios de la química verde.

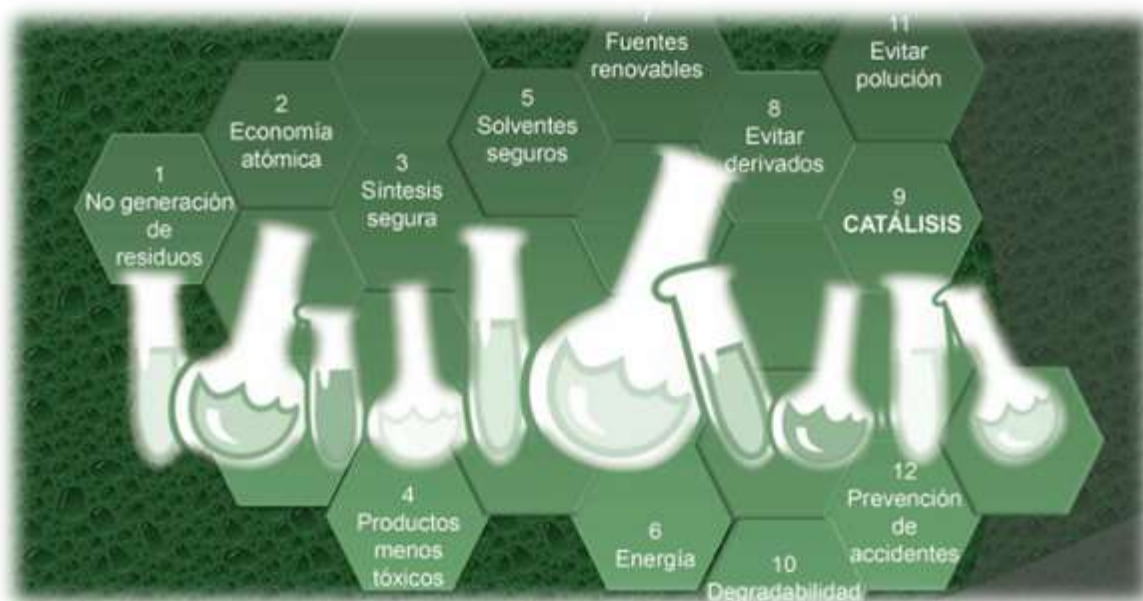


FIGURA 5 LOS 12 PRINCIPIOS DE LA QUÍMICA VERDE

Cada uno de estos principios se define de la siguiente manera:

1. Prevención:

Evitar la producción de un residuo que tratar de limpiarlo.

2. Economía atómica:

La síntesis diseñada, minimizar la formación de subproductos.

3. Uso de metodologías que generen productos con toxicidad reducida:

Generar sustancias que tengan poca o ninguna toxicidad.

4. Generar productos eficaces pero no tóxicos:

Productos químicos que mantengan la eficacia a la vez que reduzcan su toxicidad.

5. Reducir el uso de sustancias auxiliares:

Como solventes, reactivos para llevar a cabo separaciones, etc. y en el caso de que se utilicen lo más inocuos posible.

6. Disminuir el consumo energético:

7. Utilización de materias primas renovables:

La materia prima renovable en vez de agotable, aunque debe ser técnica y económicamente viable.

8. Evitar la derivatización innecesaria:

Se evitará en lo posible la formación de derivados (grupos de bloqueo, de protección/desprotección, modificación temporal de procesos físicos/químicos).

9. Uso de la catálisis:

Catalizadores selectivos, reutilizables en lo posible.

10. Generar productos biodegradables

11. Desarrollar metodologías analíticas para la monitoreo en tiempo real

12. Minimizar el potencial de accidentes químicos.

1.3.- Grupo carbonilo

El grupo carbonilo, $>C=O$, rige la química de aldehídos y cetonas de dos maneras:

(a) Proporcionando un sitio para la adición nucleofílica.

(b) Aumenta la acidez de los átomos de hidrógeno unidos al carbono alfa.

Estos dos efectos concuerdan con la estructura del grupo carbonilo y se deben, de hecho, a lo mismo: la capacidad de acomodar una carga negativa.

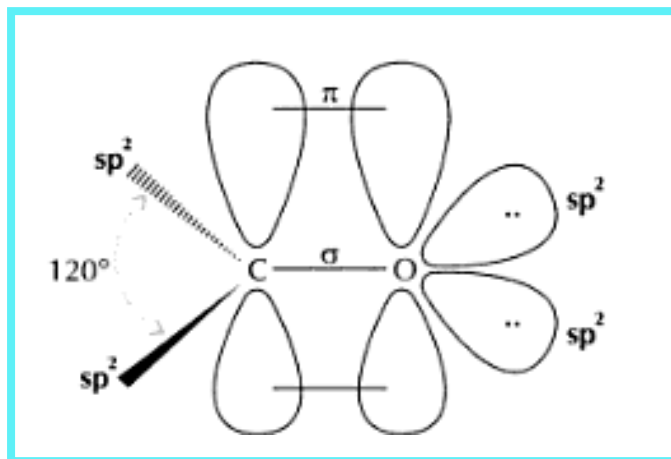


FIGURA 6 INTERACCIONES PI EN EL MODO DE ENLACE DEL GRUPO CARBONILO

El carbonilo contiene un doble enlace carbono-oxígeno. Como los electrones π móviles son fuertemente atraídos por el oxígeno, el carbono carbonílico es deficiente en electrones, mientras que el oxígeno es rico en ellos. Por ser plano, la parte de la molécula que lo contiene queda abierta al ataque relativamente libre por arriba y por abajo del plano, por lo que no es de sorprender que este grupo polarizado sea muy reactivo. Debido a que

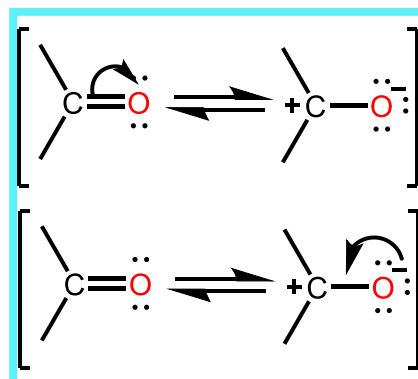


FIGURA 7 ESTRUCTURAS RESONANTES DEL GRUPO CARBONILO

el paso importante de estas reacciones es la formación de un enlace con el carbono carbonílico deficiente en electrones (electrofílico), este grupo es más susceptible al ataque de grupos ricos en electrones (nucleofílicos), es decir, el carbono del carbonilo se comporta como un ácido de Lewis y el reactivo nucleofílico como una base de Lewis.

Las reacciones típicas de los aldehídos y cetonas son la adición nucleofílica. Implica la adición de un nucleófilo al carbono electrófilo, del grupo carbonilo, puesto que el nucleófilo emplea su par de electrones para formar el nuevo enlace con el carbono, los dos electrones forman un doble enlace $>C=O$, deben desplazarse hacia el átomo de oxígeno, que es más electronegativo. Donde son estabilizados y se forma un anión alcóxido, como un compuesto intermediario tetraédrico.

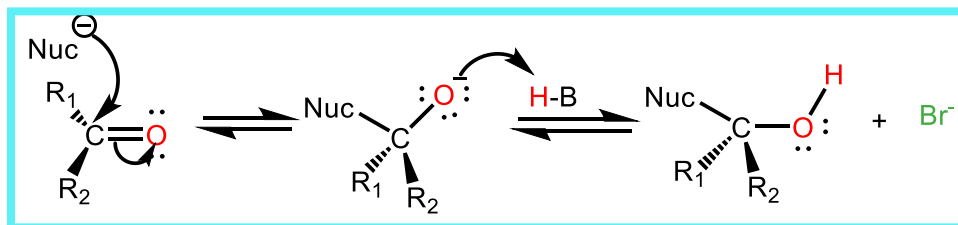


FIGURA 8 ATAQUE NUCLEOFÍLICO AL GRUPO CARBONILO

Para aumentar aún más la reactividad de este grupo, los carbonilos, en presencia de un ácido de Lewis, el oxígeno del carbonilo se une a esta especie ácida. Esta interacción hace que la E_{act} disminuya para el ataque nucleofílico, ya que permite que el oxígeno adquiera los electrones π sin tener que aceptar una carga negativa; por esta razón es que en muchas de las reacciones que conllevan un carbonilo se catalizan con un ácido de Lewis.

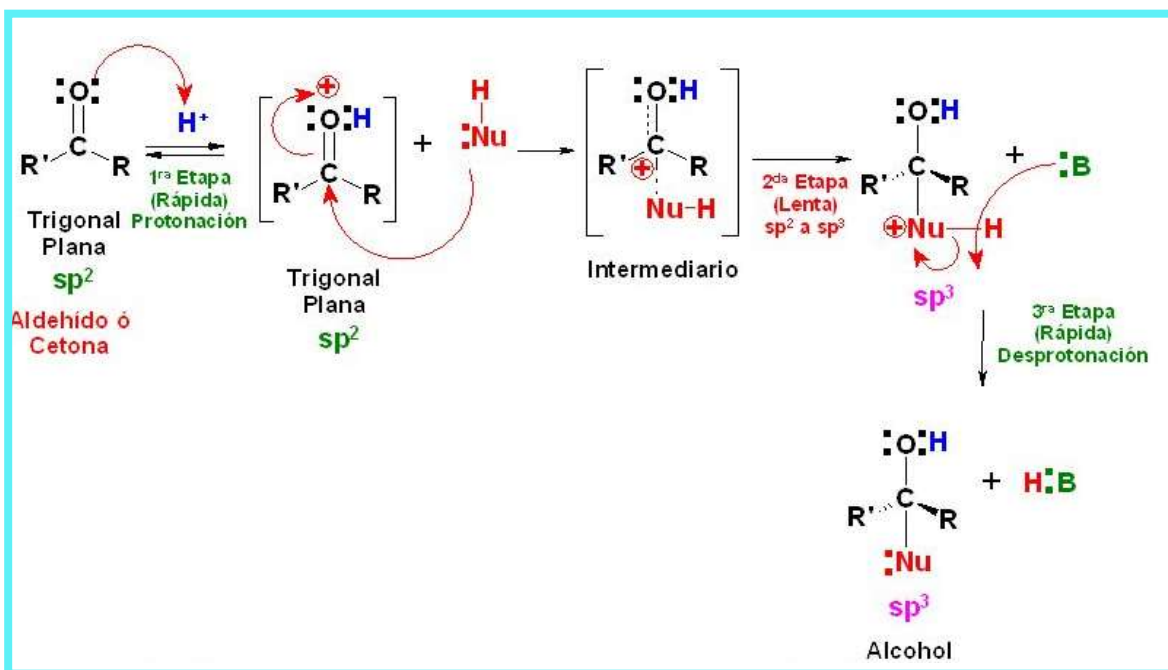


FIGURA 9 ATAQUE NUCLEOFÍLICO AL GRUPO CARBONILO CATALIZADO POR UNA ÁCIDO DE LEWIS

Como se mencionó anteriormente, el grupo carbonilo es susceptible a reacciones de adición nucleofílica, es decir, en presencia de un nucleófilo rico en electrones, el carbono del carbonilo es capaz de formar nuevos compuestos según sea la especie reactiva, por ejemplo: -OH, -NH₂, -NRH, NR₂, MgXR, -CN, entre otras. Sin embargo, las adiciones que interesan son las que se realizan con compuestos derivados del amoníaco, en específico, las hidracinas.

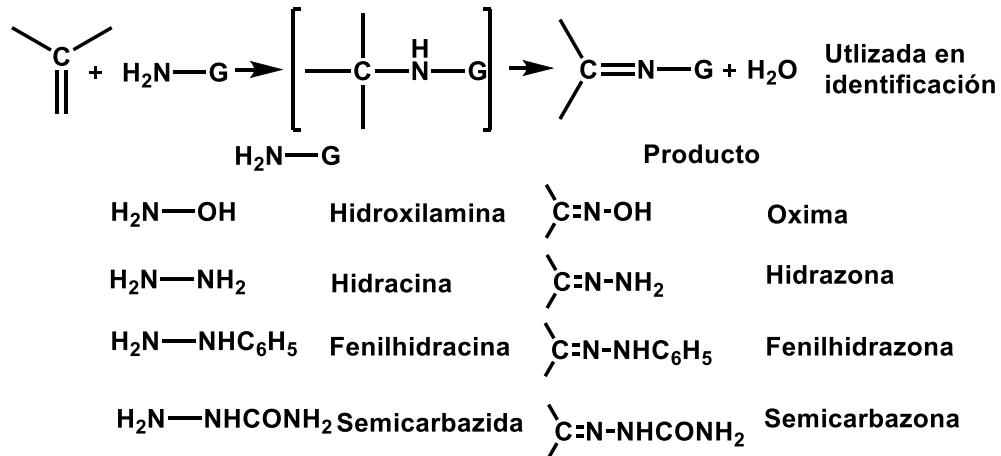


FIGURA 10 ADICIÓN DE DERIVADOS DE AMONIACO AL GRUPO CARBONILO

1.4.-Formación de hidrazonas

Las hidrazonas (C) se obtienen por reacción de aldehídos o cetonas (A) con hidracina (B). Igual que en el caso de las iminas y oximas requiere pH=4

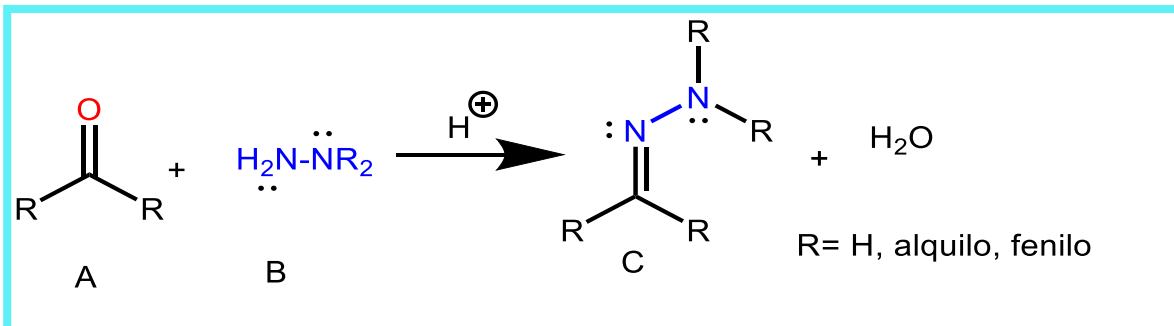


FIGURA 11 REACCIÓN GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE HIDRAZONAS

El mecanismo para la obtención de hidrazonas, es muy similar a la formación de iminas. El mecanismo se muestra a continuación.

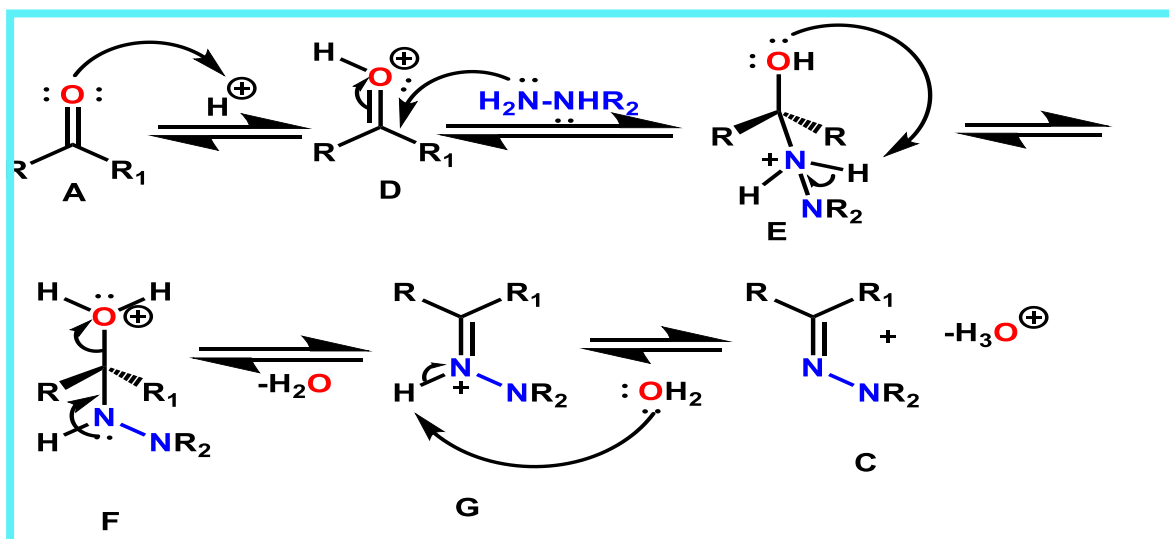


FIGURA 12 MECANISMO DE REACCIÓN EN LA OBTENCIÓN DE HIDRAZONAS CATALIZADAS POR UN ÁCIDO DE LEWIS

El carbonilo (A) se protona formando su ácido conjugado (D). La importante polaridad del carbono carbonilo de (D) favorece el ataque de la hidracina (B) para formar el intermediario (E). El compuesto (E) intercambia un protón entre el nitrógeno y el oxígeno, transformando el grupo hidroxilo en agua (buen grupo saliente). El intermediario (F) pierde una molécula de agua transformándose en (G), cuya desprotonación da la hidrazona final (C).

Debido a que es una reacción de condensación en medio ácido, se obtiene como subproducto una molécula de agua.

Las hidrazonas tienen un enlace imínico, un protón azometino y dos nitrógenos ricos en electrones, lo que conduce a una clase ideal de compuestos para el desarrollo de nuevas drogas [6].

La reactividad más significativa de las hidrazonas es la nucleofilicidad del átomo de carbono de la hidrazona, ya que se puede observar que en las reacciones de Mannich, el acoplamiento y halogenaciones se han llevado a cabo en este carbono (C=N). Mientras que los nucleófilos duros parecen atacar preferentemente al átomo

de nitrógenos, los nucleófilos suaves lo hacen preferentemente al átomo de carbono [4].

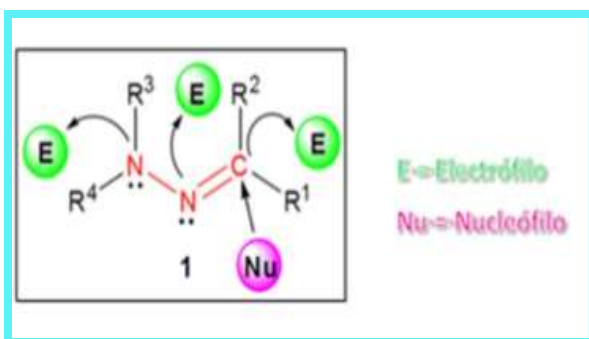


FIGURA 13 MAPA DE REACTIVIDAD DE LAS HIDRAZONAS (BELSKAYA, DEHAEN, BAKULEV, 2010)

Cabe mencionar que las hidrazonas tienen dos átomos de nitrógeno de diferente naturaleza química, ya que el doble enlace C=N está conjugado con el par de electrones del átomo de nitrógeno terminal. Estos fragmentos químicos estructurales son los encargados de otorgar las

propiedades físicas y químicas de los compuestos hidrazona. Ambos nitrógenos de la hidracina son grupos nucleófilos, aunque el nitrógeno tipo amino es más reactivo (Shawali et al Parkanyi, 1980).

1.5.- Análisis espectroscópico

El conocimiento de propiedades físicas y químicas de principios activos, es de mucha importancia para la industria, además de la utilidad que esta información representa, ya que permite conocer el comportamiento químico en el cuerpo de la molécula y su mecanismo de acción. Con un estudio completo de estas sustancias, se pueden desarrollar síntesis más eficientes y menos costosas, incluso desarrollar rutas de síntesis, es decir, mecanismos de reacción que ayuden a explicar la formación de compuestos químicos.

Las propiedades físicas y químicas de los compuestos activos condicionan muchos de los procesos de liberación, adsorción, distribución, metabolismo y excreción, por lo que son de gran importancia en cuanto a la biodisponibilidad del fármaco. Por ejemplo, la solubilidad del medicamento en agua y lípidos dependerá del grado de adsorción a través de las membranas, la acumulación de depósitos grasos (distribución) o la velocidad de eliminación. Las propiedades espectroscópicas son las más utilizadas en caracterización, identificación y cuantificación de un fármaco [4].

1.5.1.- Espectroscopia Ultra Violeta Visible (UV-Vis)

Una técnica muy utilizada en el análisis de compuestos orgánicos es la espectroscopia UV-Vis. La absorción de radiación por moléculas orgánicas en la región de longitud de onda de entre 180 a 780 nm, resulta de la interacción de los fotones y electrones que participan de manera directa en la formación de enlaces. En el caso de la espectroscopia UV-Vis, la transición se produce entre niveles electrónicos. La longitud de onda que absorbe una molécula orgánica depende de la fuerza de los enlaces. Los enlaces compartidos en los enlaces simples carbono-carbono o carbono-hidrógeno están sujetos con tal firmeza, que su excitación requiere de energías que corresponden a longitudes de onda de la región ultravioleta, que están por debajo de los 180 nm. Los electrones de los enlaces dobles o triples de moléculas orgánicas, se sujetan con menos fuerza y por tanto se excitan mediante radiación con mayor facilidad (Skoog, 2005).

1.5.2.- Espectroscopia Infrarroja (IR)

Casi todas las moléculas que tengan enlaces covalentes absorben varias frecuencias de radiación electromagnética en la región del infrarrojo. Para propósitos químicos, es de interés la porción vibracional de la región infrarroja fundamental, que incluye las longitudes de onda de entre 500 a 3500 nm. La radiación de esta energía corresponde al rango de frecuencias que causan estiramientos vibracionales de los enlaces covalentes de las moléculas. La energía absorbida aumenta la amplitud del movimiento vibracional de los enlaces de la molécula. La energía de vibración depende de los átomos que intervienen en el enlace, tipo de enlace y la molécula en sí ^[4].

1.5.3.- Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C (RMN)

Las primeras aplicaciones de la espectroscopia de RMN se registraron en el año 1946 convirtiéndose en una de las metodologías más útiles en diferentes campos del conocimiento, desde cinética hasta superconductividad, sin mencionar la elucidación de moléculas orgánicas (Becker, 1993). La principal limitación de la espectroscopia de RMN es la baja sensibilidad en la detección y mayor consumo de

tiempo, comparado con cristalografía de rayos X o espectrometría de masas. En muchos casos la cantidad de muestra es limitada o la solubilidad de la sustancia de interés es bajo. Aunque se usa un instrumento de alto costo y cuidado, la fuerza de la espectroscopia de RMN consiste en generar datos para el análisis estadístico de mezclas hasta permitir la determinación de estructuras tridimensionales para moléculas de interés biológico (Kovacs et al, 2005).

La combinación de RMN de ^1H y ^{13}C en solución ha proporcionado un análisis más detallado de la composición de las moléculas orgánicas y sobre todo del entorno químico [5].

1.5.4.- Espectrometría de Masas (EM)

Los primeros equipos de espectrometrías de masas se remontan a 1912 cuando J. J. Thomson construyó el primer espectrómetro de masas y se empezaron a comercializar hasta 1942. Este instrumento mide la relación masa/carga de los electrones, y cuyos desarrollos permitieron demostrar la existencia de isótopos y han permitido analizar macromoléculas de interés biológico usando técnicas de ionización y desorción de matriz asistida por láser (MALDI). Entre las desventajas que muestra la técnica de E. M. están la destrucción de la muestra, costo, dificultad para introducir la muestra en un sistema de alto vacío. Las ventajas que muestra esta técnica es que no necesita de una gran cantidad de muestra, posee alta sensibilidad y especificidad, además de que el tiempo de análisis es relativamente corto [6].

El primer paso en análisis de espectrometría de masas de compuestos, es la producción de iones en fase gaseosa del compuesto de interés, por ejemplo, por impacto electrónico, en donde el ion molecular resultante sufre fragmentaciones. Debido a este ion molecular es un catión radical con un número impar de electrones, éste puede fragmentar para dar un radical y un ion, con un número par de electrones o una molécula y un nuevo radical catión. Estos tipos de iones tienen propiedades químicas diferentes, cada producto derivado del ion molecular primario puede sufrir

fragmentaciones sucesivamente. Todos estos iones son separados en el espectrómetro de masas según su relación masa/carga y son detectados según su abundancia (W. J. Griffiths, 2008).

CAPITULO 2

ANTECEDENTES

2.1.- Hidrazonas como agentes anticancerosos

y otras aplicaciones farmacológicas

En la actualidad existen numerosas enfermedades que día con día cobran muchas vidas humanas a nivel mundial, por lo que es necesario seguir buscando nuevos fármacos que ayuden a evitar este problema. Es muy sabido que muchos de los fármacos utilizados en diferentes enfermedades, provocan daños colaterales a lo largo de la exposición a ese medicamento, es por eso que, se busca introducir nuevos tratamientos biológicamente activos perfeccionados que aumenten su selectividad y disminuyan los efectos colaterales no deseados [7].

Una de las principales áreas de interés de la química orgánica es la búsqueda de nuevos compuestos con actividad biológica. En este sentido cabe destacar el especial interés que despiertan los compuestos nitrogenados, debido a que constituye una de las familias más numerosas entre las biomoléculas, ya que están implicadas en múltiples procesos a nivel metabólico y estructural. Entre las moléculas más destacadas están los péptidos y las proteínas, además de las bases nitrogenadas que constituyen el material genético [7].

Las hidrazonas están presentes en muchos compuestos bioactivos que han sido de gran interés por sus aplicaciones biológicas y clínicas. Este interés es debido a su actividad anticancerosa, anti-VIH, antimicobacterial, antihelmíntico, antidiabético y antimicrobiano.

Se han realizado estudios con la intención de recabar las propiedades biológicas de las hidracidas e hidrazonas reportadas en el nuevo milenio, ya que estas estructuras fungían como opciones en el tratamiento para estas infecciones, especialmente en pacientes debilitados e inmunocomprometidos.

Las hidrazonas son un grupo de compuestos de interés químico, debido a su peculiar estructura $>C=N-N<$, donde la presencia de dos átomos de nitrógeno de diferente naturaleza química, crea un ambiente de alta densidad electrónica. Lo anterior, unido a los diferentes sustituyentes que esta pueda poseer, la hace una estructura candidata a poseer diferentes actividades biológicas.

La literatura muestra que las hidrazonas con sustituyentes y estructuras aromáticas, poseen actividad antitumoral, antimicrobianas, así como anticonvulsivas o antituberculosas.

La introducción de grupos funcionales en la molécula de la hidrazona, expande el uso de técnicas para síntesis orgánica, por lo que, la combinación del grupo hidrazono con otros grupos funcionales conduce a compuestos químicos con propiedades físicas y químicas únicas.

Estructuralmente hablando, las hidrazonas son vistas como *N*-aminos-iminas sustituidas, es decir, iminas ricas en electrones, o bien, aza-enaminas, donde la polarización intrínseca del doble enlace $>C=N$, puede hacer que se comporten como electrófilos, mientras la conjugación del par de electrones no apareado del nitrógeno del amino con el doble enlace $C=N$, debería conferir propiedades nucleofílicas moderadas al carbono azometino.

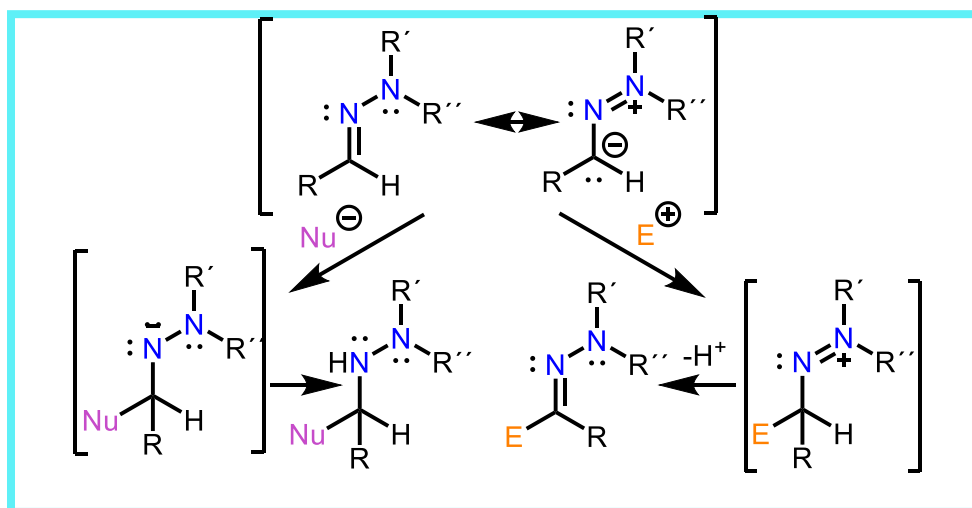


FIGURA 14 COMPORTAMIENTO ELECTRÓFILO Y NUCLEÓFILO EN LAS HIDRAZONAS (FERNÁNDEZ Y LASSALETTA)

2.2.- Alternativas contra cánceres

La quimioterapia es poco satisfactoria debido a que son muy pocos los medicamentos disponibles y su eficacia se ve afectada por la diferente sensibilidad o resistencia de los parásitos a los medicamentos, la toxicidad asociada a tratamientos prolongados con medicamentos empíricos y a su precio, relativamente

alto si se tiene en cuenta las condiciones de pobreza de las personas afectadas. Por esta razón se hace necesaria la búsqueda de nuevas sustancias que conduzcan al desarrollo de nuevos medicamentos, elemento que se vislumbra como elemento clave para la prevención y control de la enfermedad [8].

Recientemente, en la búsqueda de sustancias antiparasitarias, se han sintetizado diferentes hidrazonas, ya que algunas tienen la capacidad de inhibir parásitos.

Adicionalmente también se ha detectado otro mecanismo de acción, ya que algunas hidrazonas tienen la capacidad de quelar hierro de *Plasmodium*, afectando su crecimiento en todos sus estadios.

Por ejemplo, los medicamentos de primera línea utilizados para tratar la tripanosomiasis americana son los compuestos nitroaromáticos (nifurtimox y benznidazol). Su actividad tripanocida se atribuye a los metabolitos citotóxicos producidos por la actividad de una nitroreductasa tipo tripanosomal. Más recientemente, se ha introducido la terapia de combinación nifurtimox-eflornitina (NECT) y ha conducido a alguna mejora en el tratamiento del HAT. Se sabe que varios aminoadamantanos del virus A de la gripe A, *p. rimantadina*, muestran actividad tripanocida contra las formas sanguíneas de *T. brucei*. Además, las 2-adamantanaminas *N*, 1-disustituidas, con sustituyentes hidrófobos R1 y R2 muestran una actividad incrementada.

Se han informado previamente sobre la síntesis de 5- (1-adamantil) -2-imidazolininas, que se encontró que eran potentes contra la forma del torrente sanguíneo de *T. brucei*. Además, se han introducido sustituyentes hidrófobos R (ciclopentilo, ciclohexilo y fenilo) en el esqueleto de adamantano de los compuestos y los derivados resultantes mostraron una actividad tripanocida mejorada en comparación con el compuesto original.

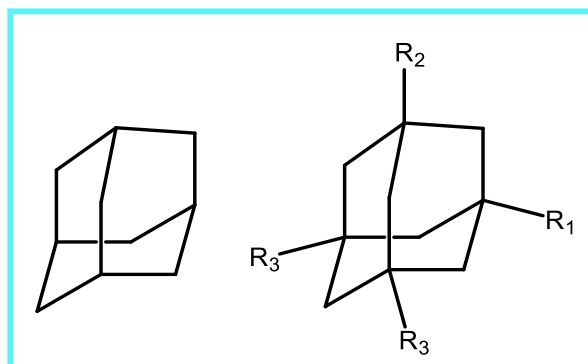


FIGURA 15 PRECURSORES EN LA SÍNTESIS DE COMPUESTOS CONTRA *T. BRUCEI*

Debido a que nifurtimox tiene la estructura de una hidrazona de 5-nitro-2-furaldehído, y los derivados de adamantano muestran un rango de actividad tripanocida, de tal manera, que se pueden diseñar hidrazonas medicinales.

Nifurtimox, una hidrazona de 5-nitro-2-furaldehído se usa terapéuticamente contra las infecciones por *Trypanosoma brucei* y *Trypanosoma cruzi*. Los compuestos más prometedores tenían una actividad 20 veces mayor ($IC_{50} \sim 100 \text{ mM}$) que nifurtimox, con índices de selectividad de 20-80. Los estudios de SAR revelaron que la actividad se asocia con una mayor lipofilia influenciada por la flexibilidad conformacional. Los derivados que carecían de un grupo nitro eran prácticamente inactivos contra ambos parásitos [9].

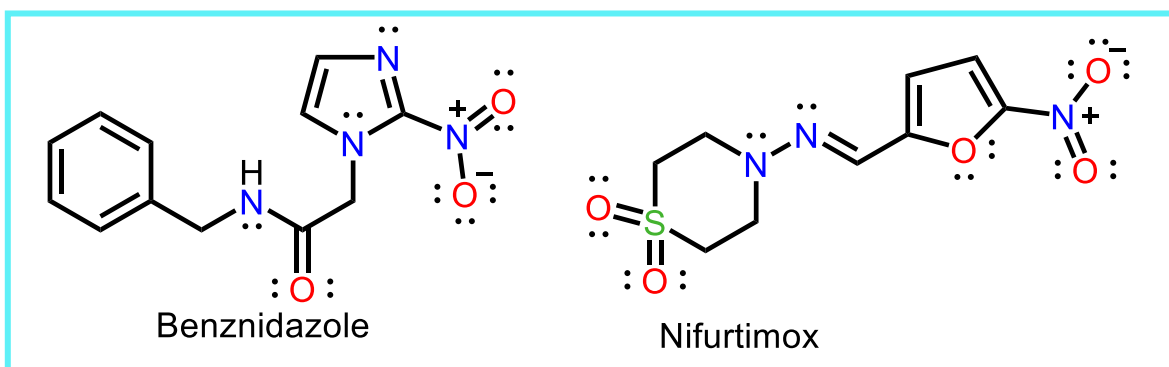


FIGURA 16 MEDICAMENTOS UTILIZADOS EN TRATAMIENTOS CONTRA *TRYPANOSOMA BRUCEI* Y *TRYPANOSOMA CRUZI*.

2.3.- Derivados de hidrazona de compuestos carbonílicos considerados como una clase de compuestos biológicamente importantes.

La hidrazona es un grupo privilegiado y tiene una posición importante en el campo de la química médica. Debido a su valioso potencial quimioterapéutico, la hidrazona recibe mucha atención de los investigadores de hoy en el campo del descubrimiento y desarrollo de fármacos. Estas observaciones pueden ser útiles para el desarrollo de nuevas hidrazonas con actividades biológicas potentes ^[10].

La fracción de hidrazona adquiere una posición significativa en la química sintética y medicinal. El resto de hidrazona constituye un grupo "azometino" $R-C(H)=N-N(H)-Ar$ que puede ser un derivado de aldehídos y cetonas por reemplazo del átomo de oxígeno con el grupo $=NNH_2$. Las hidrazonas también actúan como intermediarias para el desarrollo de nuevos fármacos ^[11]. Los estudios bibliográficos sobre hidrazonas han demostrado que esta clase de compuestos posee diversas propiedades biológicas y farmacológicas, como anticonvulsivas, antimicobacterianas, antidepresivas, anticancerosas, analgésicas, antiinflamatorias, antivirales, antiplaquetarias, antimaláricas, antimicrobianas, protectoras de cardio/vasodilatador, anti-VIH, antihelmíntico, antidiabético, antiprotozoario, anti-tripanosómico ^[14-15], etc. Debido a las flexibilidades sintéticas, la selectividad y la sensibilidad a los iones de metales de transición, la hidrazona ha sido estudiada por los químicos durante años ^[16]. Sus complejos metálicos tienen aplicaciones potenciales como catalizadores, sondas luminiscentes y sensores moleculares ^[17, 18]. Los híbridos de las hidrazonas con otros grupos funcionales conducen a compuestos con características físicas y químicas únicas ^[19]. Debido a su valor quimioterapéutico en el desarrollo de nuevos compuestos de actividad farmacológica, las hidrazonas han recibido mucha atención del químico sintético en las últimas décadas y aún se están realizando estudios. Esta revisión es un intento de estudiar el potencial sintético y quimioterapéutico de las hidrazonas en biología y medicina ^[20].

2.3.1.- Actividad anticonvulsiva

Dimmock y colaboradores ^[21] informaron sobre la síntesis y la selección biológica de varias acetilhidrazonas y semicarbazonas que brindan una buena protección contra las convulsiones.

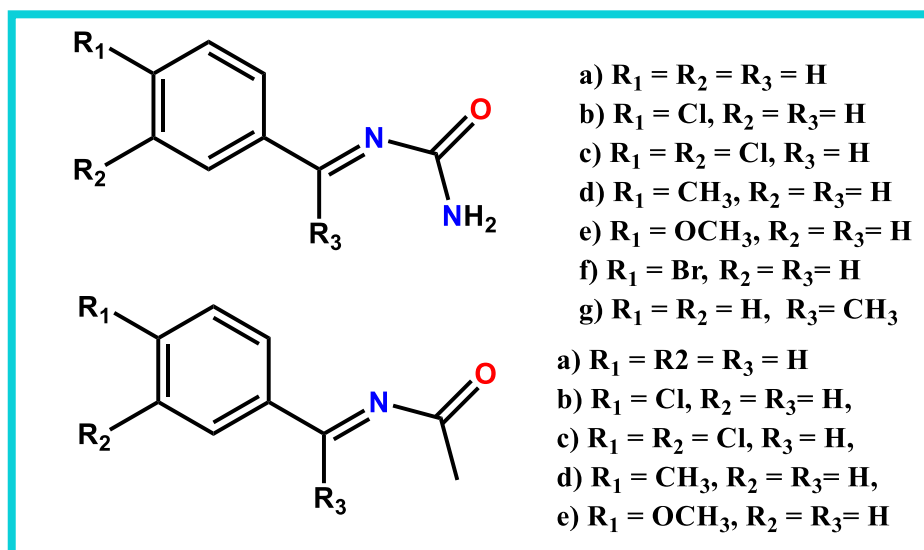


FIGURA 17 PRECURSORES EN LA SÍNTESIS DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE (DIMMOCK Y COLABORADORES)

En otro estudio, se sintetizaron una serie de 2-cloroquinolinil hidrazonas sustituidas y se examinaron *in vitro* contra modelos eléctricos y químicos de convulsiones. Los compuestos sintetizados se encontraron muy eficaces como agente anticonvulsivo, pero los investigadores encontraron que la actividad disminuye con la introducción de espaciadores alquilo u alcóxido como -CH₂- o -CH₂O-, etc. ^[13].

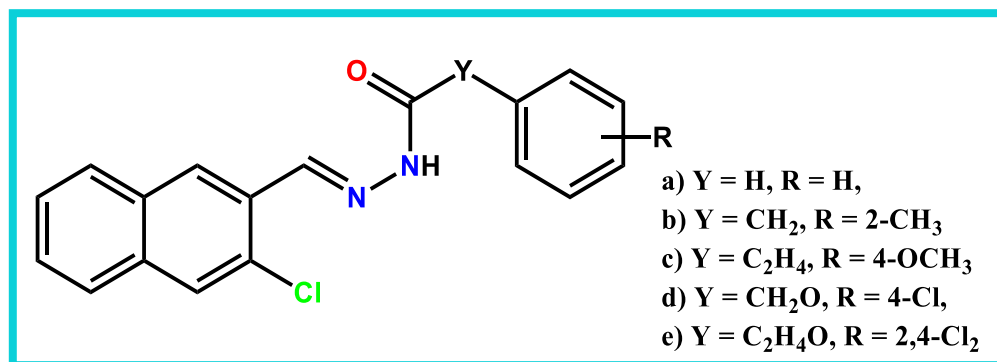


FIGURA 18 COMPUESTOS ORGÁNICOS CON ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE (VERMA G Y COLABORADORES)

Ulloora y colaboradores [22] investigaron derivados de 1,4-dihidropiridin-4-il-fenoxiacetohidrazonas por su actividad anticonvulsiva mediante pruebas de MES, scPTZ y 6 Hz, pero se encontró que los compuestos eran muy efectivos contra la prueba de MES.

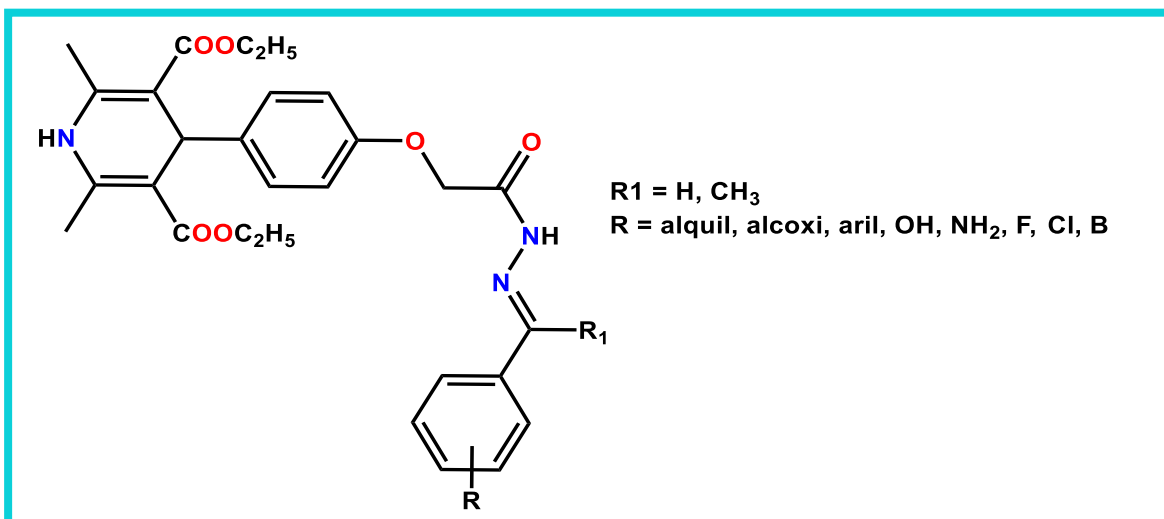


FIGURA 19 COMPUESTOS EFECTIVOS ANTE LA PRUEBA MES (ULLOORA Y COLABORADORES)

2.3.2.- Actividad anticancerosa

La literatura reporta que se sintetizaron y evaluaron *in vitro* cumarinas que contenían el grupo de hidracida-hidrazona frente a células de *carcinoma pancreático humano* (Panc-1) sensibles a las drogas (carcinoma hepático; Hep-G2 y leucemia; CCRF) líneas celulares que utilizan doxorubicina (DOX) como control positivo. Se encontró que los derivados de hidrazida de cumarina hidromida brominados son más potentes que el DOX [23].

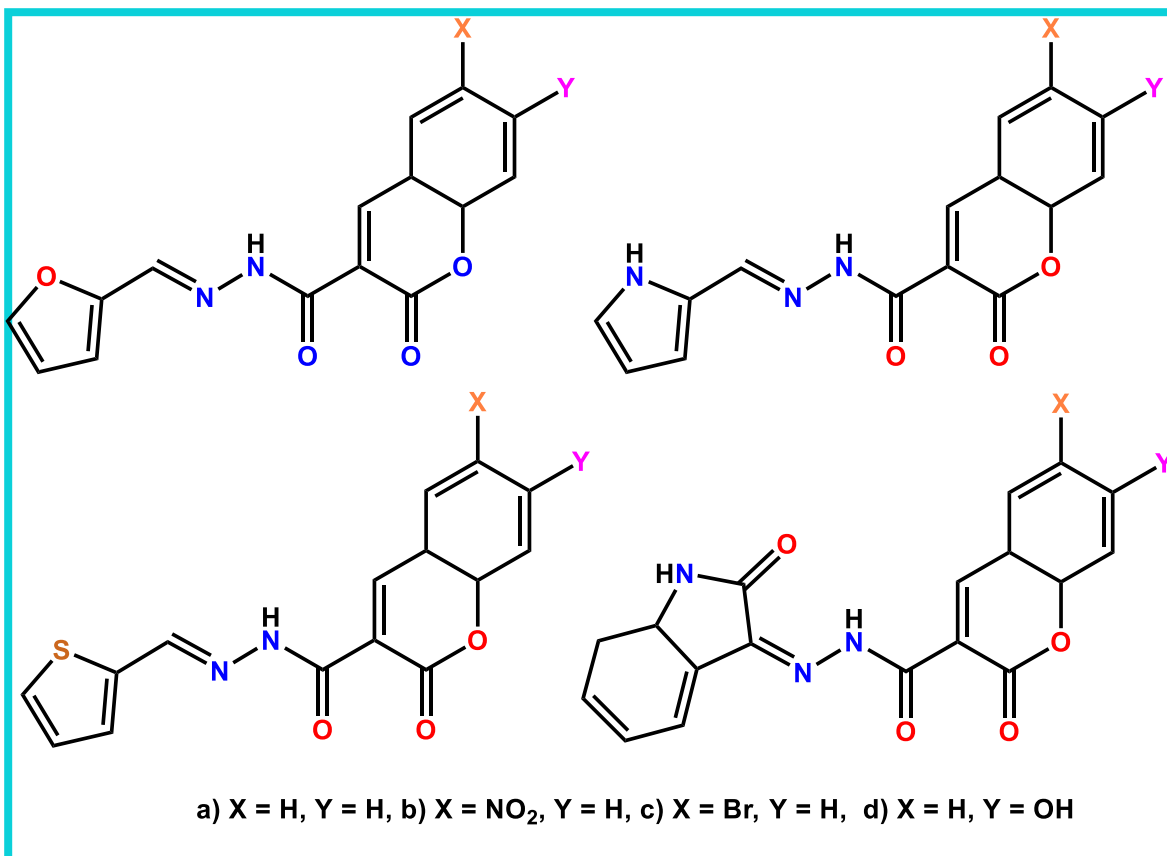


FIGURA 20 CUMARINAS CON GRUPO HIDRACIDA-HIDRAZONA BIOLÓGICAMENTE ACTIVAS CONTRA CARCINOMA PANCREÁTICO HUMANO (PANC-1) (NASR T Y COLABORADORES)

Por otro lado, Hassan y colaboradores [24] investigaron el potencial de proliferación de algunas pirazol hidrazonas contra la línea celular del adenocarcinoma de mama humano MCF-7.

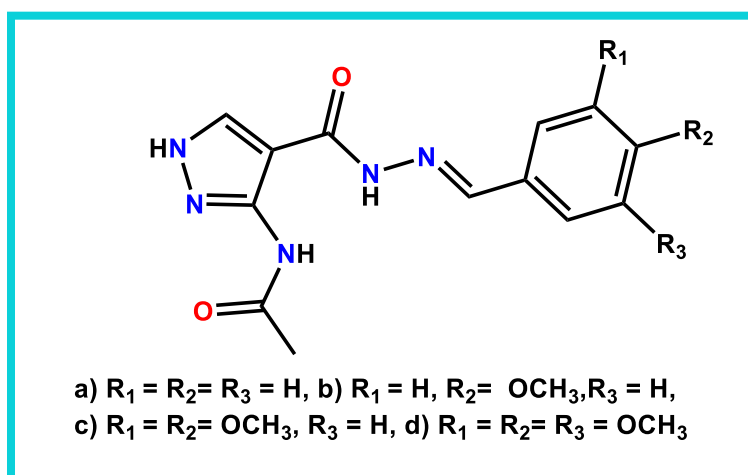


FIGURA 21 LÍNEA DE COMPUESTOS BIOATIVOS CONTRA CÁNCER DE MAMA

2.3.3.- Actividad antituberculosa

Sriram y colaboradores ^[25] dieron a conocer sobre la síntesis de derivados de isonicotinoil hidrazona y los evaluaron para determinar la actividad antimicrobacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis*. El compuesto *N*-(1-[2-hidroxi-3-(piperazin-1-ilmetil) fenil] etiliden) isonicotinohidracida se encontró que era más potente que el compuesto de referencia.

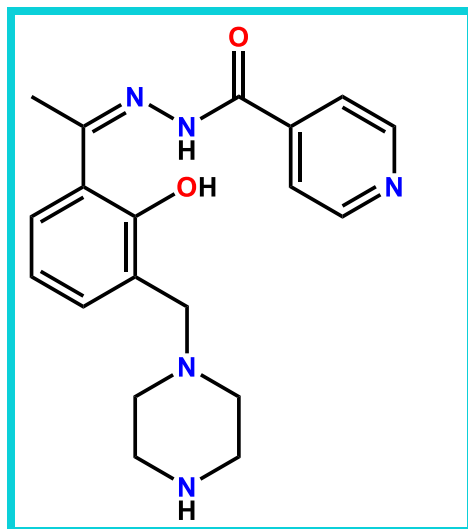


FIGURA 22 COMPUESTO
BIOLÓGICAMENTE ACTIVO CONTRA LA
TUBERCULOSIS

Se sintetizaron hidrazonas que contienen flúor con propiedades antimicrobacterianas. Se encontró que todos los sintetizados no son tóxicos en las concentraciones de MIC para hepatocitos humanos, células PBMC y células de neuroblastoma SH-SY5Y humano. Los compuestos mostraron una actividad notable contra la tuberculosis MDR y se encontró que son más potentes para inhibir la infección por TB-MDR que las referencias ^[26].

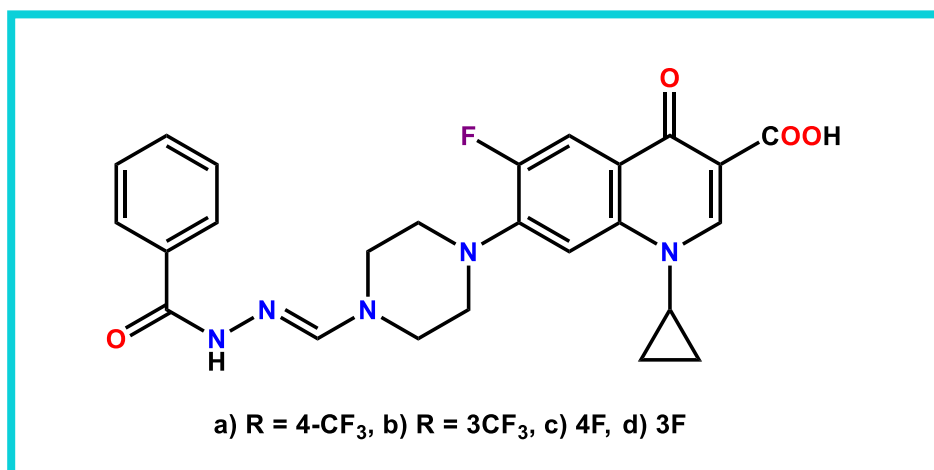


FIGURA 23 HIDRAZONAS FLUORADAS CON PROPIEDADES ANTIMICOBACTERIANAS

La aroil hidrazona quelante 2-hidroxi-1-naftilaldehído isonicotinoil hidrazona, mostró mayor actividad antimalárica que la desferrioxamina contra la cloroquina [27].

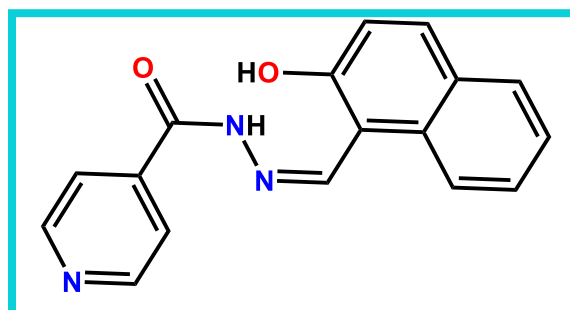


ILUSTRACIÓN 24 2-HIDROXI-1-NAFTILALDEHIDO ISONICOTINOIL

Se sintetizaron fenil-*N*-[(fenil sustituido)metilen]-1H-pirazol-4-carbohidracidas y sus efectos leishmanicidas y citotóxicos se compararon con los fármacos prototipo (Ketoconazol, benzimidazol, alopurinol y pentamidina) *in vitro*. Los derivados de 1H-pirazol-4-carbohidrazida con X = Br, Y = NO₂ y X = NO₂, Y = Cl demostraron la mayor actividad [28].

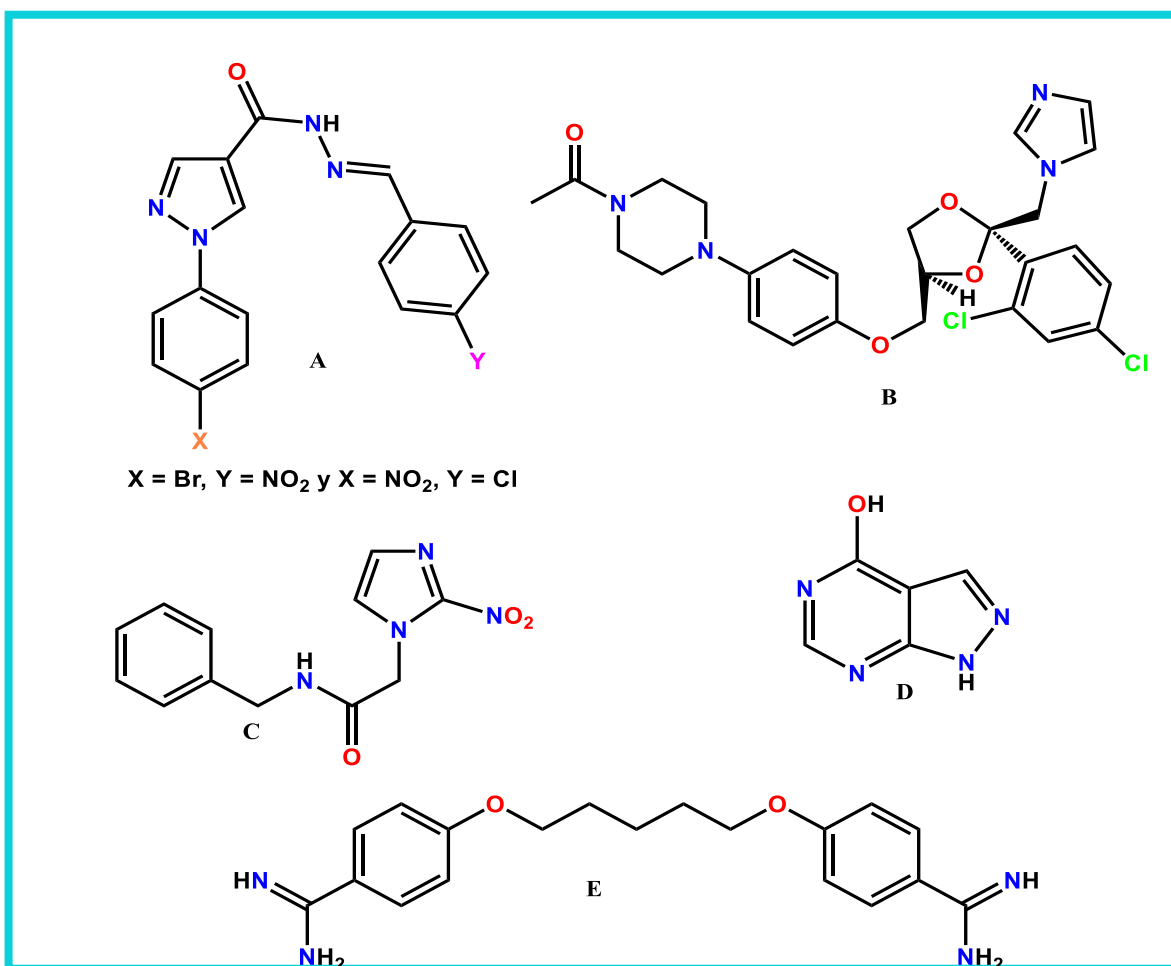


FIGURA 25 A(LÍNEA DE COMPUESTOS QUE MOSTRARON MEJOR ACTIVIDAD BIOLÓGICA QUE LOS DE REFERENCIA), B (KETOCONAZOL), (C) BENZIMIDAZOL, (D) ALOPURINOL Y (E) PENTAMIDINA

Derivados de hidrazona con actividad antituberculosa

Se han sintetizado compuestos derivados del ácido benzoico [(5-nitro-tiofen-2-il) metilen] hidrazida y se probaron contra *M. tuberculosis* TB H37 RV.

Rando y colaboradores han aplicado la metodología Topliss, a un conjunto de análogos de nitrógeno. Se demostró que el ácido 4-metoxibenzoico [(5-nitrotiofen-2-il) metilen] hidrazida es el compuesto más activo.

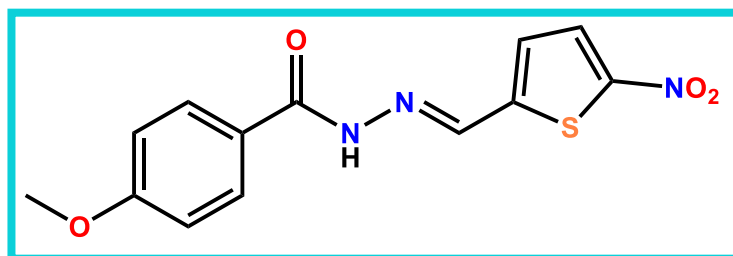


FIGURA 26 ÁCIDO 4-METOXIBENZOICO-(5-NITROTIOFEN-2-IL)METILEN) HIDRACIDA CON ACTIVIDAD ANTITUBERCULAR

3.3.4.- Actividad vasodilatadora

Un nuevo compuesto bioactivo de la clase de acilhidrazona, 3,4-metilendioxi-benzoil-2-tienil hidrazona denominada LASSBio-294, demostró tener efectos inotrópicos y vasodilatadores [29].

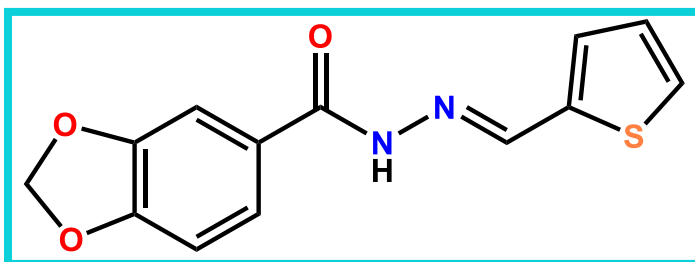


FIGURA 27 LASSBIO-294 (SILVA A.G Y COLABORADORES)

2.3.5.- Actividad antidepresiva

Se sintetizaron nuevas hidracidas de arilideno haciéndose reaccionar hidrazida del ácido 3-fenil-5-sulfonamidoindol-2-carboxílico con varios aldehídos. Estos fueron evaluados por su actividad antidepresiva.

El ácido 3-fenil-5-sulfonamidoindol-2-carboxílico 3,4-metilendioxi/4-metil/4-nitrobencilidenedhidrazida mostró actividad más favorable [30].

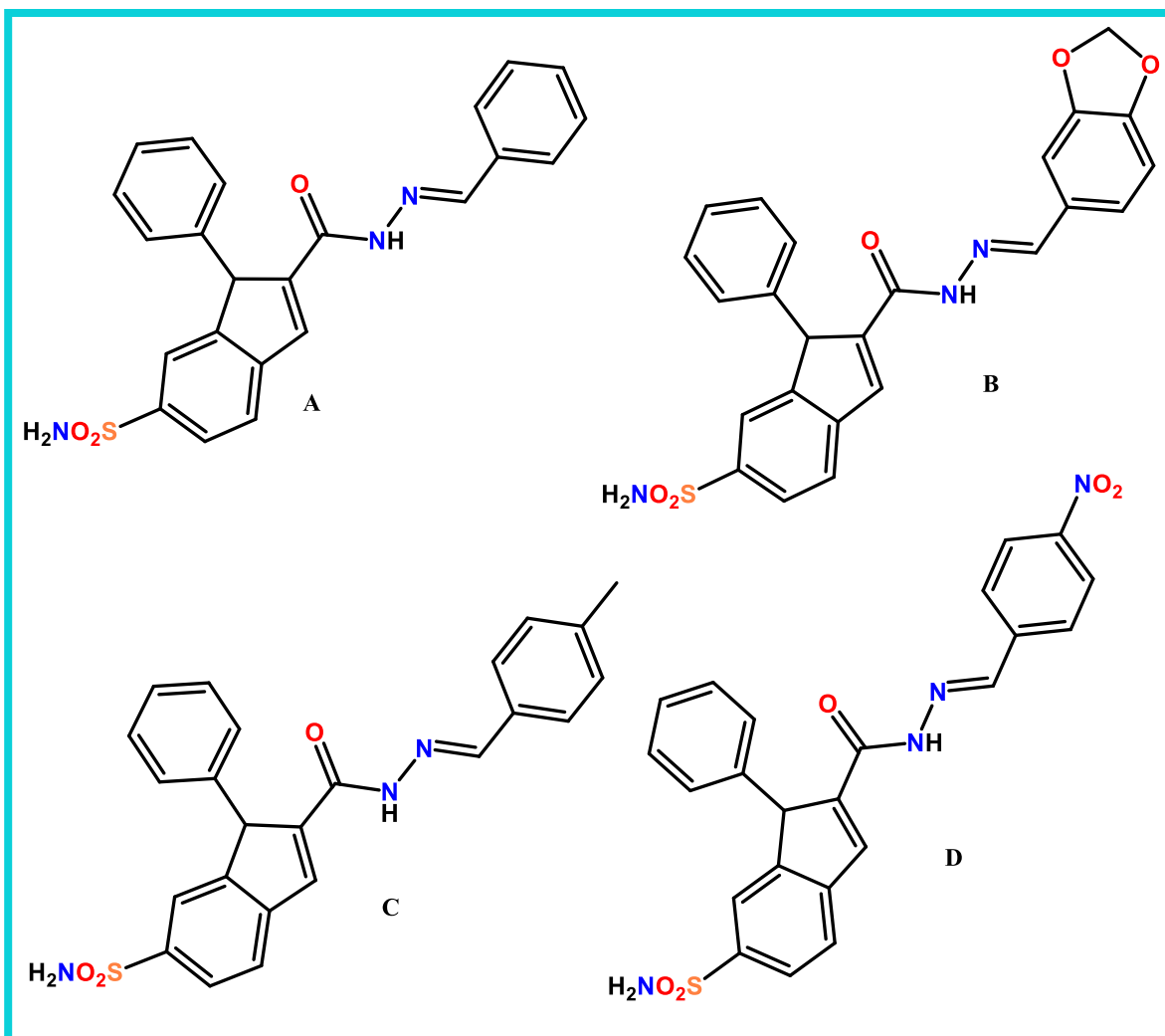


FIGURA 28 COMPUESTOS DERIVADOS DE HIDRACIDAS DE ARILIDENO CON ACTIVIDAD ANTIDEPRESIVA (ERGENÇ N Y GÜNAY N.S)

3.4.- HIPÓTESIS

Se propone como hipótesis la síntesis de 3 compuestos tipo hidrazona a partir de un compuesto carbonílico sustituido por un grupo ($-\text{NO}_2$) en tres posiciones diferentes y un reactivo nucleofílico denominado fenilhidracina, con la intención de comparar la reactividad química que cada una de estas pueda presentar durante la síntesis, además de comparar su actividad farmacológica en diferentes líneas celulares.

3.5.- OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES

- Llevar a cabo la síntesis de compuestos orgánicos mediante un vía de la química verde
- Realizar la síntesis de los compuestos **B-30** (*E*)-1-(2-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina), **B-23** (*E*)-1-(3-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina), **B-22** (*E*)-1-(4-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina).
- Caracterizar por técnicas espectroscópicas y corroborar si la estructura propuesta corresponde a la obtenida.
- Mejorar la el proceso de obtención de las hidrazonas para aumentar el rendimiento y eficiencia del producto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Comparar la reactividad de los productos obtenidos a partir del carbonilo de partida, y así relacionar su estabilidad química.
- ✓ Evaluar los compuestos obtenidos en líneas celulares cancerosas para observar y comparar su potencial como agentes anticancerígenos.

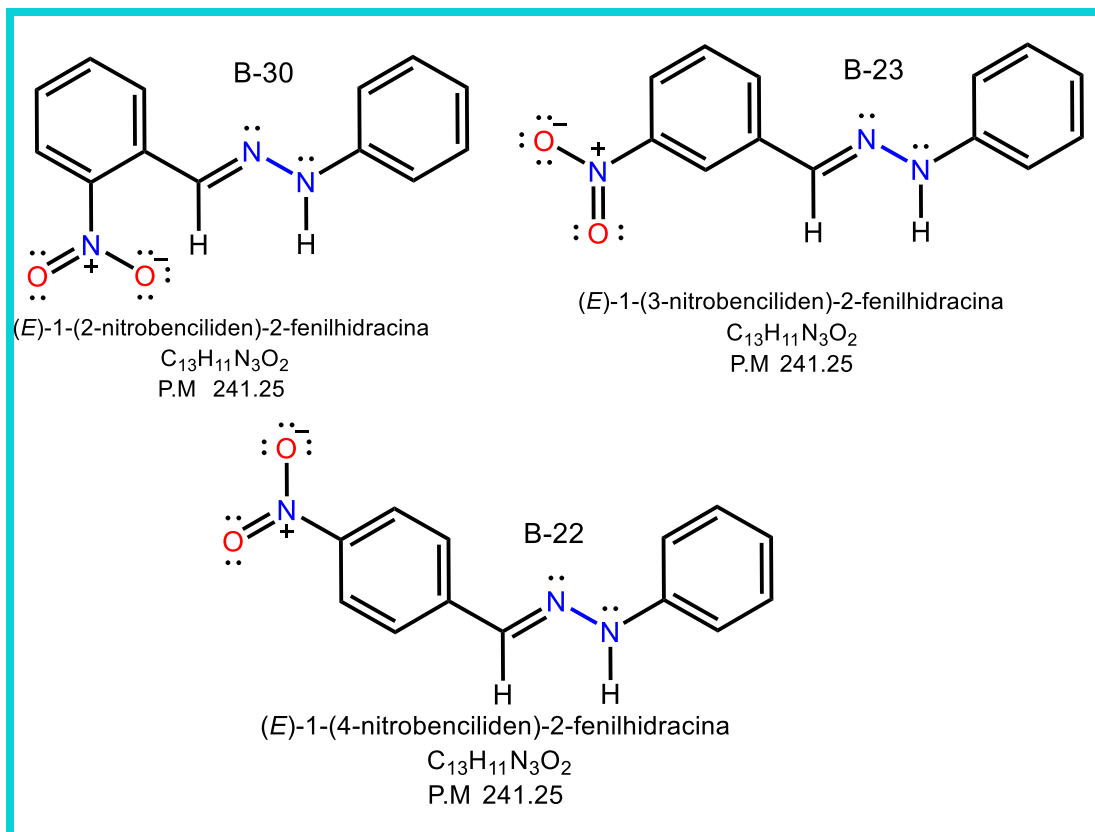


FIGURA 29 MOLÉCULAS OBJETIVO

CAPITULO 3

DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1.- Síntesis

Para las síntesis realizadas se utilizaron los siguientes reactivos (Sigma Aldrich):

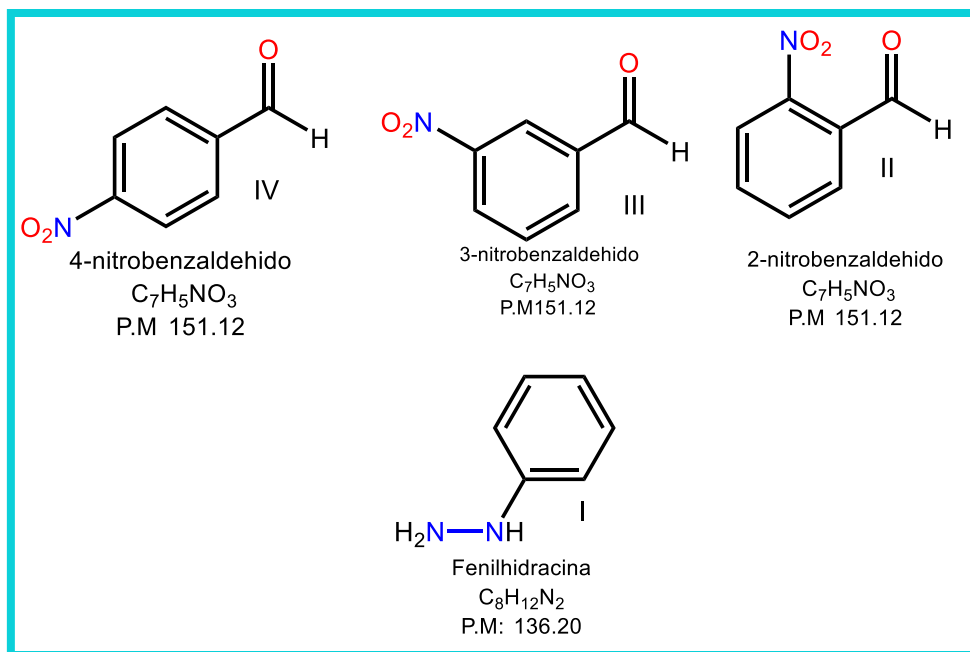


FIGURA 30 MATERIAS PRIMAS

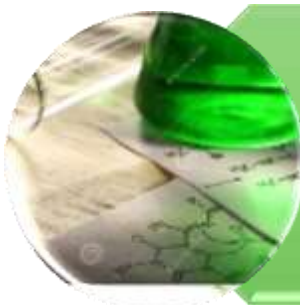
3.2.- Metodología

La metodología que se siguió fue en base a la química verde, utilizando reactivos en cantidades equimolares, lo que hace referencia a la economía atómica. Se utilizó etanol como disolvente (disolventes verdes que no afecten al medio ambiente). No se usó calentamiento durante la reacción (disminución del consumo energético), pero sí agitación magnética. Como método de purificación se utilizó la recrystalización (se evitó el uso de columnas de separación, que generan desechos y subproductos dañinos).

Durante las reacciones, se llevó a cabo el monitoreo de éstas mediante cromatografía en capa fina, utilizando placas de aluminio como soporte y sílice como la fase estacionaria de marca y características DC-Fertigfolien ALUGRAM Xtra SIL G/UV₂₅₄ de 0.20 mm de espesor. La fase móvil fue una mezcla de disolventes grado

reactivo de Hexano/Acetato de etilo 8/2. Las aplicaciones se hicieron mediante la ayuda de un capilar con un intervalo de 3-5 aplicaciones en cada punto. Las placas fueron reveladas en una cámara de luz ultravioleta modelo UVGL-25 Multiband UV-254/366 nm.

Esta metodología consiste en tres fases importantes para la síntesis y caracterización de los productos sintetizados.



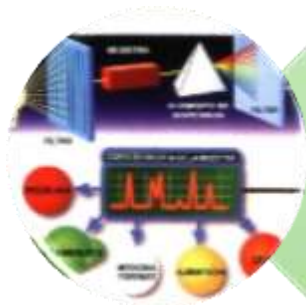
SÍNTESIS

Se lleva a cabo la reacción en un matraz de bola donde se coloca en solución etanólica a la hidracina. Posteriormente se agrega gota a gota el carbonilo previamente disuelto. Esto se lleva a cabo con agitación magnética y a temperatura ambiente durante 3 horas. Se detiene la reacción hasta que uno de los reactivos se consume, lo cual se monitoreará por cromatografía en capa fina.



PURIFICACIÓN

La obtención del producto con una alta pureza se obtendrá mediante la recristalización de los sólidos obtenidos directamente del matraz de reacción previamente filtrados. Se solubiliza en metanol caliente y se filtra por gravedad con papel filtro. Se deja en reposo hasta cristalizar. El tiempo de cristalización varía desde los 2 a 7 días.



CARACTERIZACIÓN

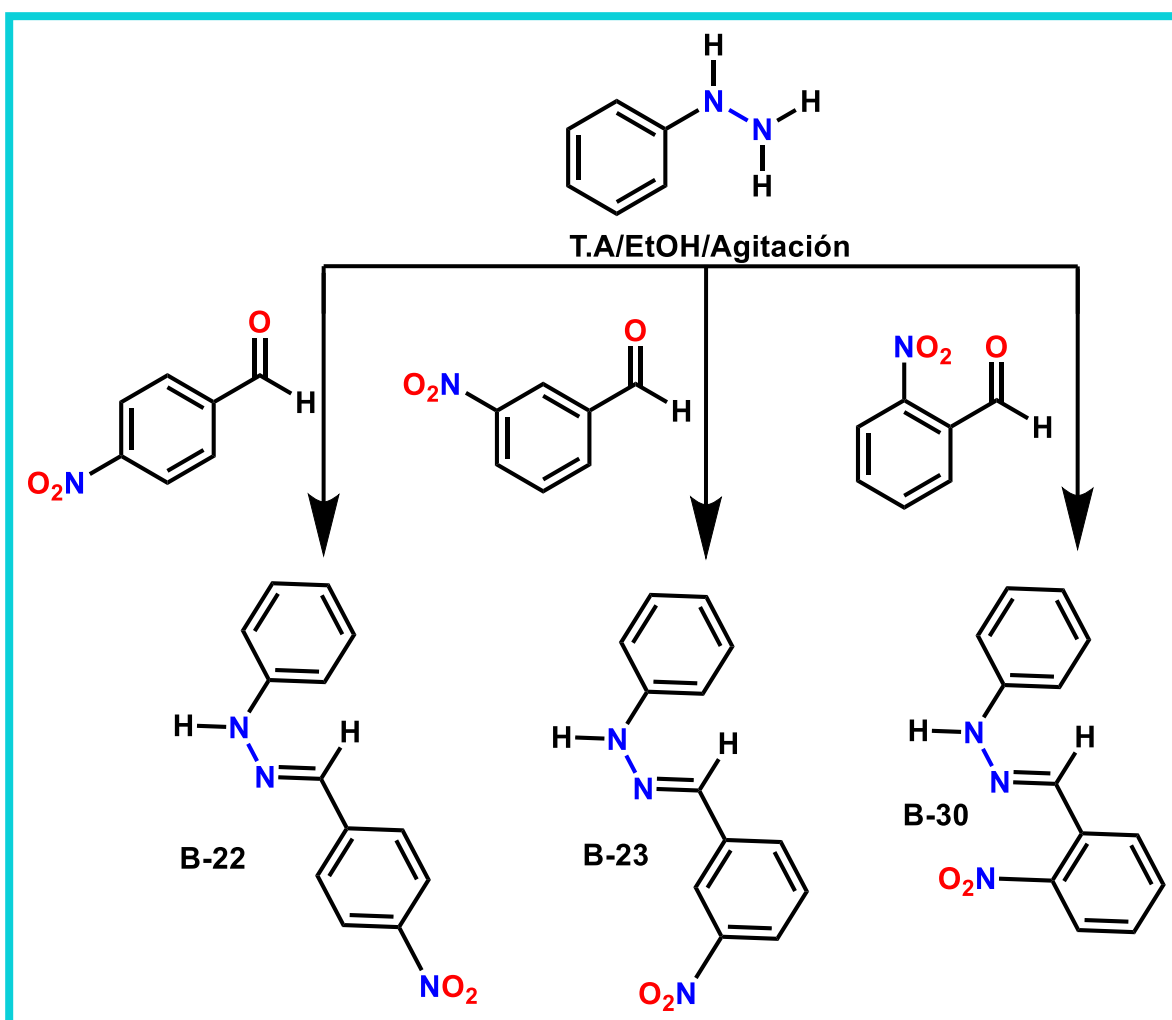
Una vez obtenido el sólido puro (cabe mencionar que los productos suelen ser desde polvos opacos hasta cristales con formas bien definidas), se pesa y almacena para determinar propiedades físicas. Posteriormente se realizará los análisis espectroscópicos correspondientes que ayudarán a elucidar y/o corroborar la estructura.

ESQUEMA 1 MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS OBJETIVO

3.3.- Método experimental

Síntesis de los compuesto B-22, (*E*)-1-(4-nitroenciliden)-2-fenilhidracina, B-23 (*E*)-1-(3-nitroenciliden)-2-fenilhidracina y B-30 (*E*)-1-(2-nitroenciliden)-2-fenilhidracina

Debido a que el reactivo nucleófilo (fenilhidracina) es el mismo y los compuestos carbonílicos son isómeros estructurales de posición, se resume en un sola ruta sintética la obtención de los 3 productos.



ESQUEMA 2.- REACCIONES

La síntesis se llevó acabo en una relación equimolar de 1:1.

La reacción se llevó a cabo siguiendo el método propuesto anteriormente en el diagrama 1 siguiendo el apartado relacionado con la síntesis.

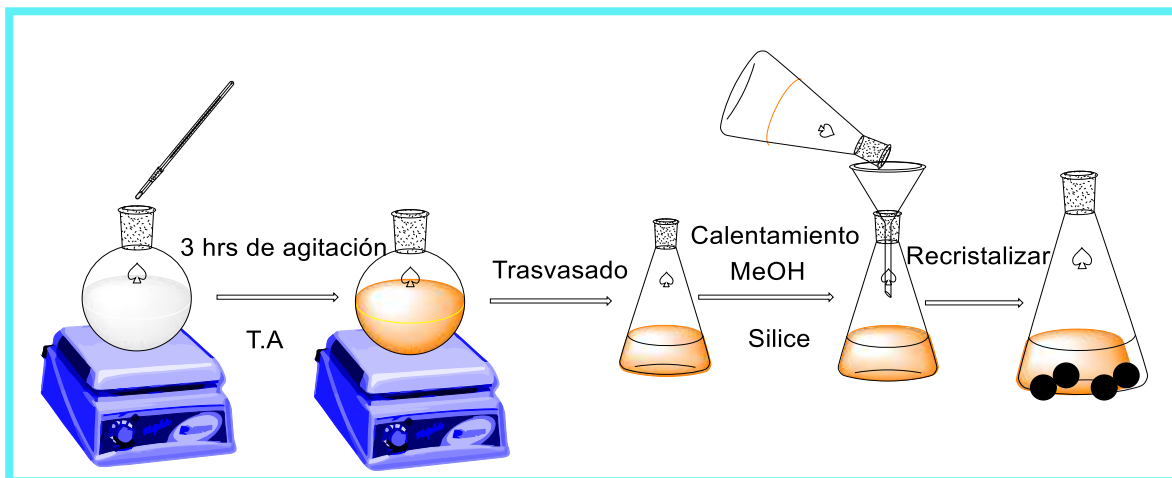


FIGURA 31 MECANISMO EXPERIMENTAL DE SÍNTESIS

En un matraz de bola de 100 mL se disolvieron 214.6 mg de fenilhidracina en la mínima cantidad de etanol como disolvente. A esta solución se le agregó gota a gota 300 mg del carbonilo correspondiente a cada reacción B-22 (4-nitrobenzaldehído), B-23 (3-nitrobenzaldehído) y B-30 (2-nitrobenzaldehído). La mezcla resultante se colocó sobre una placa de agitación y a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina en intervalos de 20 minutos hasta que uno de los reactivos se consumiera totalmente, lo que sucedió al mismo tiempo que un cambio de coloración de la solución.

Terminada la reacción se trasvasaron las aguas madres a un matraz Erlenmeyer de 120 mL al cual se le agregaron 5 ml de metanol. La solución fue calentada hasta ebullición y fue filtrada sobre papel filtro con una capa de gel de sílice a otro matraz Erlenmeyer. La solución obtenida se dejó en reposo durante una semana, tiempo en el cual se dio la obtención de cristales.

Para el caso específico de la reacción B-23 se obtuvo un precipitado en el seno de reacción, el cual se le realizó una recristalización para la obtención de un producto más puro.

NOTAS

- En todos los casos, la reacción entre los precursores para dar el producto es evidente, ya que al contacto de ambos reactivos se presencié un cambio de color, considerando que los reactivos eran básicamente incoloros.
- Cabe mencionar que no siempre se obtienen cristales, algunos productos son sólidos en forma de hojuelas o polvo.
- En la mayoría de los casos, debido a que las hidrazonas son sólidos, existe un desplazamiento del equilibrio de la reacción mencionada hacia productos.

CAPITULO 4

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Obtenidos los productos, se realizaron los análisis físicos y espectroscópicos correspondientes a cada uno de los productos.

Punto de fusión

El punto de fusión se determinó con ayuda de un fusiómetro de marca Tekno-Lab en grados centígrados y no fueron corregidos.

Análisis UV-Vis

Los espectros UV-Vis se obtuvieron del equipo UV-Vis Spectrophotometer Cary 50 Conc. Se usó una celda de cuarzo y acetona como blanco.

Espectroscopia infrarroja

Esta espectroscopia se llevó a cabo con transformadas de Fourier en el equipo de IR de la facultad de marca y modelo FTIR EXCALIBUR FTS 3000 MX en soporte de KBr.

Espectroscopia de RMN de ^{13}C y ^1H

La resonancia se llevó a cabo en el Instituto de Química de la facultad con el equipo Mercury de 500 MHz

Espectrometría de masas

Se obtuvieron del Instituto de Química de la facultad con el equipo Espectrómetro de masas marca JEOL modelo JMS-700

4.1.- Resultados y discusión

Por conveniencia, los resultados obtenidos de cada síntesis de los compuestos correspondientes se analizarán por separado en orden ascendente según la clave.

4.2.- Síntesis de B-22, (*E*)-1-(4-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina

Se obtuvieron como producto 401 mg de un sólido cristalino, el cual fue resultado de la cristalización sobre el cual se realizaron los análisis correspondientes.

Propiedades físicas del (<i>E</i>)-1-(4-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina					
Formula	P.M	Aspecto	Color	P.F	Rendimiento
C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₂	241.25	Cristales rómicos	Rojo brillante	142-144°C	83.85%

TABLA 1 PROPIEDADES FÍSICAS DEL COMPUESTO CON CLAVE B-22

4.2.1.- Caracterización por espectroscopia UV-Vis

Se obtuvo el espectro UV-Vis del producto y mostró las siguientes características:

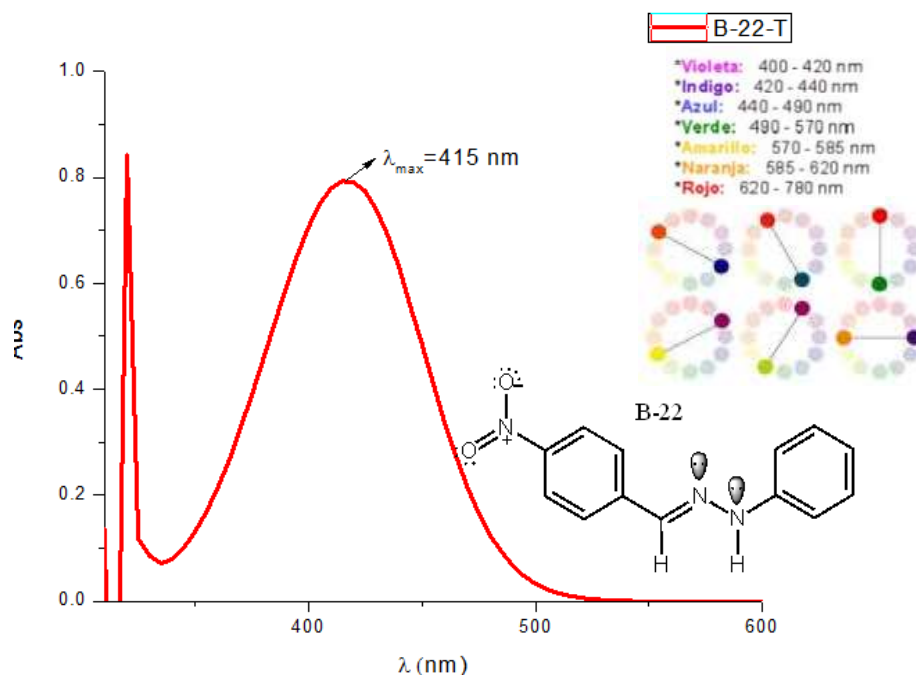


FIGURA 32 ESPECTRO DE UV-VIS DEL COMPUESTO (*E*)-1-(4-NITROBENZILIDEN)-2-FENILHIDRACINA

El espectro UV-Vis del compuesto B22, (*E*)-1-(4-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina) que es de color rojo tiene una λ_{max} de absorción de 415 nm, longitud de onda que corresponde al color índigo según el espectro UV-Vis, lo que confirma que la longitud de onda corresponde a la emitida o no absorbida. Otra característica que se puede apreciar en este espectro, es que el color presente se

debe al aumento de la extensión de la conjugación de los electrones π presentes en el producto.

4.2.2.- Caracterización por espectroscopia Infrarroja

Los análisis por espectroscopia infrarroja se realizaron sobre el producto recristalizado.

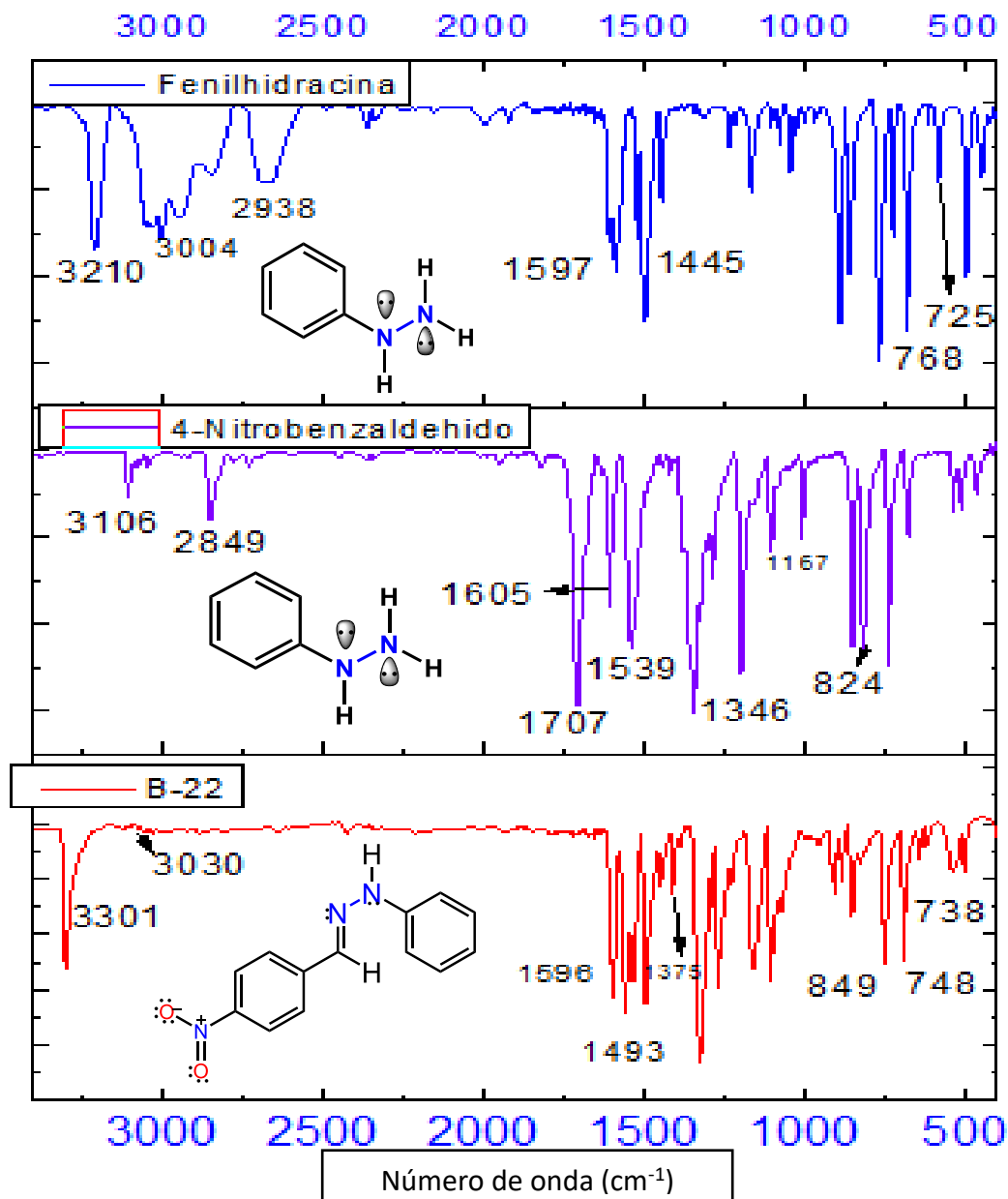


FIGURA 33 ESPECTROS DE INFRARROJO DE: --- FENILHIDRACINA, --- 4-NITROBENZALDEHIDO, --- (E)-1-(4-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

Tabla de bandas de IR características de reactivos y producto			
	4-Nitro-Benzaldehido	Fenilhidracina	Compuesto B-30
Asignación	cm ⁻¹	cm ⁻¹	cm ⁻¹
Φ- sust 1 (β)	----	768, 725	748,738
Φ- sust 1,4 (β)	824	----	849
Φ-NHR (β)	----	1445	1334
-NO ₂ (β)	1518	----	1493
C _{sp} ² =N _{sp} ² -R (v)	----	----	1596
C _{sp} ² -H (v)	3100	2938, 3004	3030
N-H (v)	----	3210	3301
C=O (v)	1572	----	----
N-H ₂ (β) sim	----	1597	----

TABLA 2 COMPARACIÓN DE SEÑALES CARACTERÍSTICAS DE REACTIVOS Y PRODUCTOS DEL COMPUESTO (E)-1-(4-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

Se observa una señal de intensidad media que corresponde a la banda de estiramiento simétrico del enlace N-H en 3301 cm⁻¹; una banda intensa en 1596 cm⁻¹ que corresponde al estiramiento del enlace C_{sp}²=N; una banda ancha e intensa en 1493 cm⁻¹ correspondiente al estiramiento del grupo NO₂-C_{sp}²; dos señales en 748 cm⁻¹ y 738 cm⁻¹ que indican la sustitución N-Ph de la hidracina y una señal medianamente intensa y ancha en 849 cm⁻¹ que indica la sustitución en 4 del bencilideno.

Se realizó una comparación entre los espectros obtenidos. Los resultados se muestran a continuación en la figura 37.

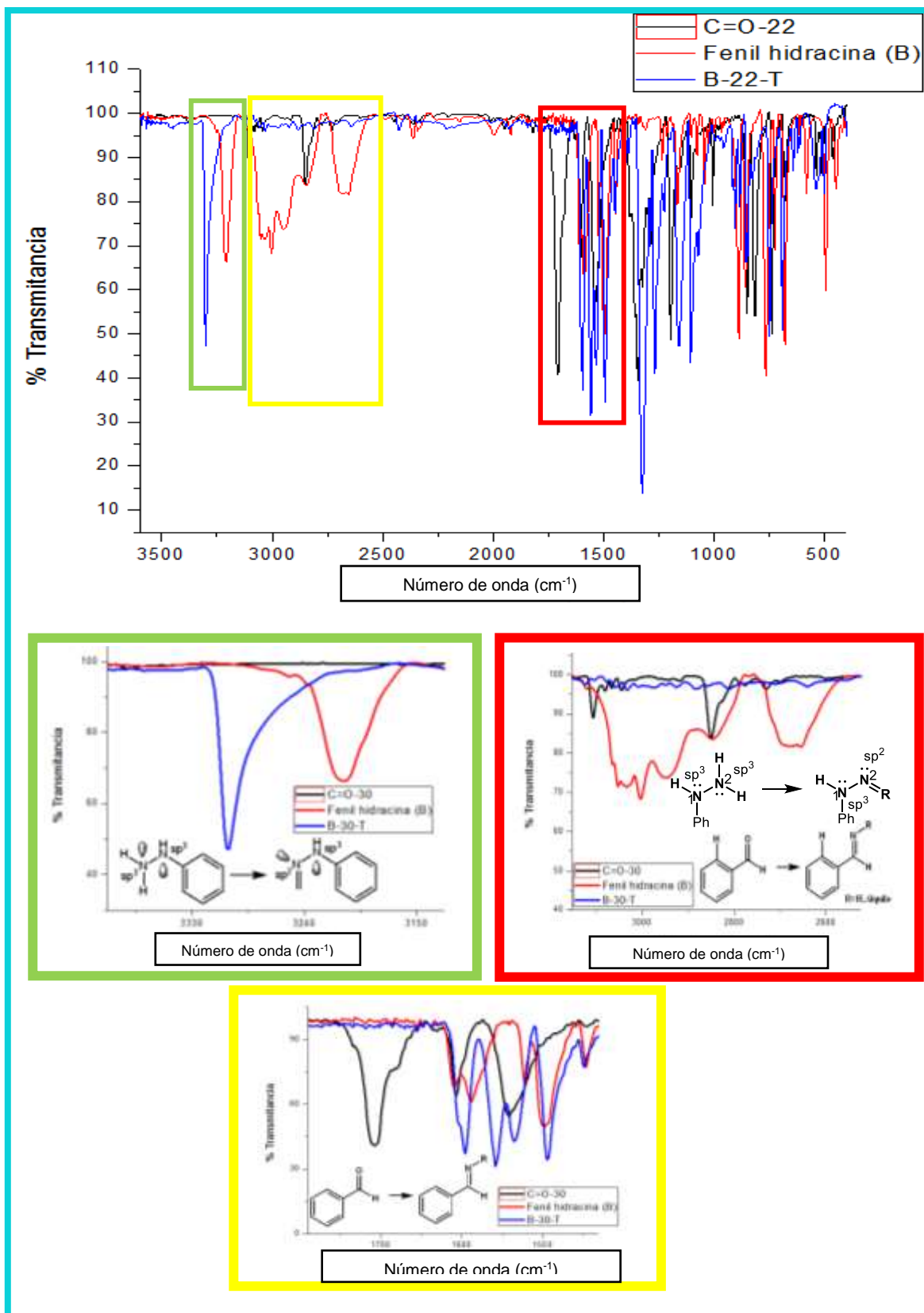


FIGURA 34 ANÁLISIS POR INFRARROJO DE LA REACTIVIDAD DEL COMPUESTO B-22

En la zona marcada de color verde, se observa el desplazamiento a números de onda mayores del enlace N-H en el producto, debido al cambio del entorno químico presente en la nueva molécula. En la zona marcada de color rojo se observa el rompimiento de enlaces N1-H del reactivo, ya que estas bandas correspondientes a la fenilhidracina desaparecen en el producto. Por último, en la zona marcada de amarillo, desaparece la banda del carbonilo en el producto pero aparece una nueva banda correspondiente al enlace imínico (C=N), el cual vibra a números de onda menores debido a que el nitrógeno es menos electronegativo que el oxígeno, por consecuencia sus longitudes de enlace son más largas y menos fuertes que los formados con el oxígeno; por lo tanto son de menor energía y las bandas aparecen a menores números de onda.

4.2.3.- Caracterización por espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C

Se hicieron análisis espectroscópicos de RMN de ^1H y ^{13}C .

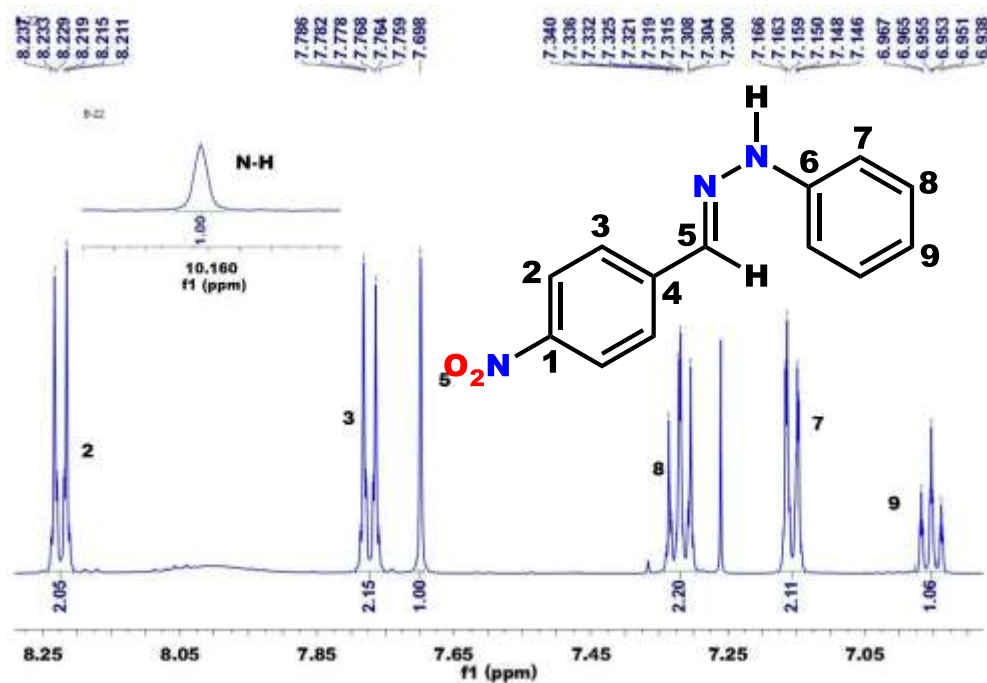


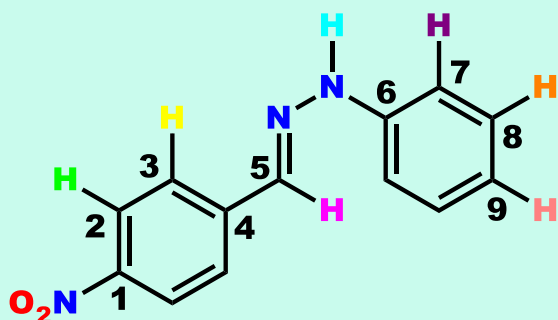
FIGURA 35 ESPECTRO DE ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) DEL COMPUESTO (*E*)-1-(4-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

El espectro de RMN de ^1H del compuesto B-22 muestra siete señales diferentes para cada uno de los protones no equivalentes presentes en las moléculas. En

10.16 ppm se observa una señal simple que integra para un protón correspondiente al N-H; en 8.24 ppm se observa una señal doble que integra para dos hidrógenos correspondientes a los CH(2); en 7.79 ppm una señal doble que integra para 2 hidrógenos del CH(3); en 7.70 ppm una señal simple que integra para el protón imínico; en 7.70 ppm una señal simple que integra para el protón imínico; en 7.34 ppm una señal triple que integra para 2 protones del CH(8); En 7.17 ppm se observa una señal doble que integra para 2 protones que corresponden al CH(7); En 6.97 ppm se observa una señal triple que integra para un protón correspondiente al CH(9). Cabe mencionar que muchas de las señales presentan un desdoblamiento, esto es debido a los acoplamiento de tipo W que los protones presentan en la molécula.

En la siguiente tabla se desglosan cada una de las señales obtenidas en el espectro de RMN de ^1H para el compuesto B-22

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) de B-22 (*E*)-1-(4-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina)



Tipo de hidrogeno	Multiplicidad	Integración (H)	Desplazamiento (ppm)	Constante de acoplamiento (Hz)
N-H	s	1	10.16	----
CH (2)	m	2	8.24	----
CH (3)	m	2	7.79	----
CH (5)	s	1	7.70	----
CH (7)	m	2	7.17	----
CH (8)	m	2	7.34	----

CH (9)	m	1	6.97	----
--------	---	---	------	------

TABLA 3 SEÑALES OBTENIDAS DEL ESPECTRO DE RMN DE ^1H DEL COMPUESTO B-22

3-22

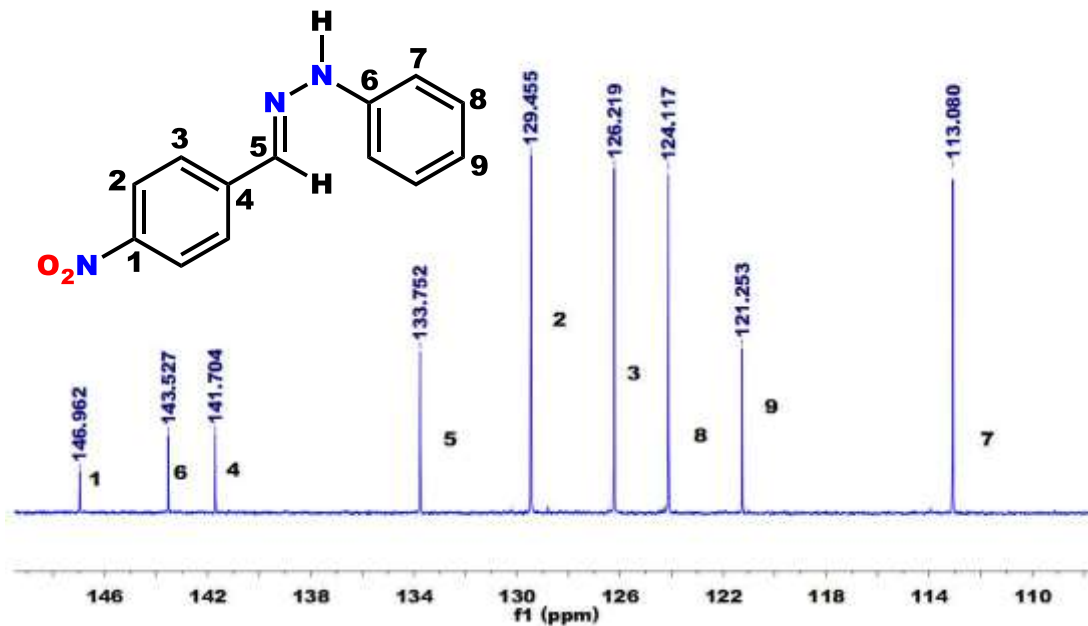


FIGURA 36 ESPECTRO DE ^{13}C NMR (123 MHz, CDCl_3) DEL COMPUESTO (*E*)-1-(4-NITROBENZILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

El espectro de RMN de ^{13}C muestra nueve señales para los 9 carbonos diferentes, de los cuales 3 señales en 146.96 ppm, 143.53 ppm y 141.70 ppm respectivamente corresponden a los carbonos ipso (C1, C6, C4) presentes en la molécula. La señal más desplazada a mayores frecuencias corresponde al carbono que sostiene al grupo $-\text{NO}_2$.

4.2.4.- Caracterización por espectroscopia de Masas de alta resolución

Se obtuvo el espectro por impacto electrónico de alta resolución que se muestra en la figura 37.

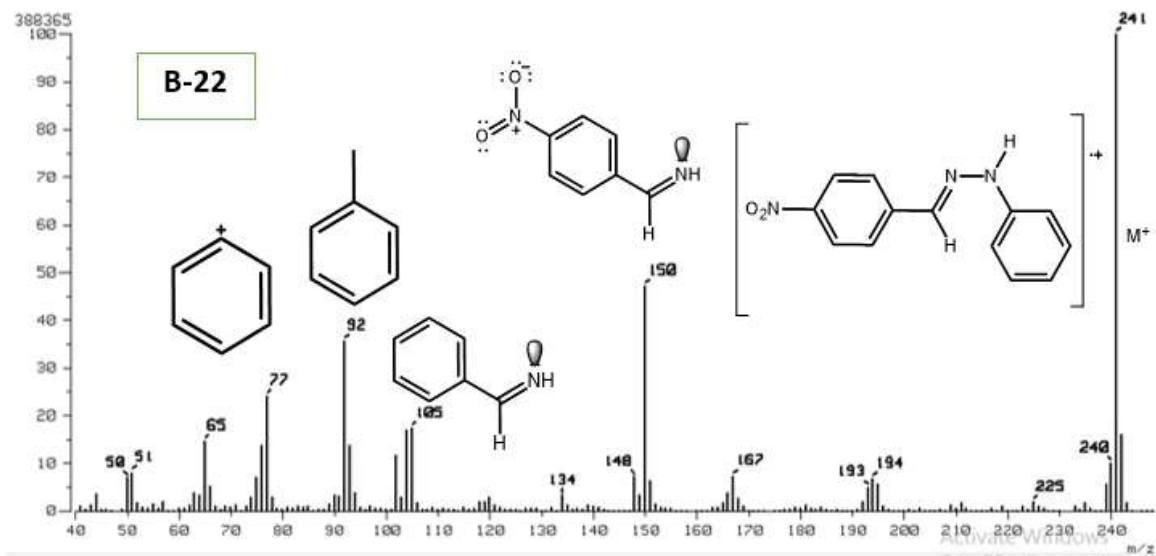


FIGURA 37 ESPECTRO DE MASAS POR IMPACTO ELECTRÓNICO DE ALTA RESOLUCIÓN DEL COMPUESTO (E)-1-(4-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

Como se observa en el espectro de masas correspondiente al producto B-22, da un pico ion-molecular de m/z de 241 que corresponde a la relación m/z teórico del compuesto, lo que además indica el peso molecular esperado para esta molécula. En la figura de este espectro se puede apreciar que coincide el pico ion-molecular, con el pico base y esto se debe a la estabilidad relativa respecto a las demás fracciones, es decir, la molécula del producto ionizada es más estable y por eso hay mayor proporción de esta fracción que de las derivadas de éste.

4.2.5.- Caracterización por análisis de difracción de rayos X

Debido a que se obtuvieron cristales con buena calidad, se logró realizar el análisis de difracción de rayos X de monocristal, el cual se observa la presencia únicamente del isómero *E*.



FIGURA 39 VISTA FRONTAL DE LA ESTRUCTURA OBTENIDA POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE MONOCRISTAL DEL COMPUESTO (*E*)-1-(4-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

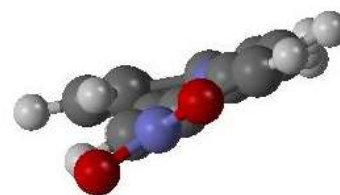


FIGURA 38 POSICIÓN EN EL EJE (Y-90°)

Con ayuda del programa Mercury 3.1 se determinaron las longitudes de enlace y ángulos más representativos de la molécula mostrados en la siguiente tabla.

Longitudes y ángulos de enlace del (<i>E</i>)-1-(4-nitrobenzylidene)-2-fenilhidracina)			
Enlace	(Å)	Átomos	Ángulo (°)
N1-N2	1.354(2)	H1-N1-C009	118(2)
N1-N1H	0.92(3)	H1N-N1-N2	120(2)
N2-C007	1.282(3)	N2-C007-H007	119.3(2)
C007-H007	0.930(2)	H007-C007-C006	119.2(2)
N1-C009	1.381(3)	C006-C007-N2	119.3(2)
N3-C003	1.464(3)	N2-N1-C009	122.1(2)
C006-C007	1.455(3)	C007-N2-N1	115.5(2)
Distancias de enlace teóricas (Å)		N1-C009-C010	118.2(2)
C-N	1.43	C007-C006-C004	119.0(2)
C=N	1.38	N1-C009-C015	122.6(2)
N-N	1.47	C007-C006-C014	119.0(2)
N=N	1.24	C015-C009-C010	119.2(2)
C=C	1.34	C014-C006-C004	118.8(2)
C-C	1.54		

TABLA 4 LONGITUDES Y ÁNGULOS DE ENLACE OBTENIDOS DE LA ESTRUCTURA OBTENIDA POR ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE MONOCRISTAL DEL COMPUESTO B-22

Examinando los resultados, se observa en la estructura obtenida por el análisis de rayos X de monocristal del compuesto (*E*)-1-(4-nitrobenzylidene)-2-fenilhidracina) sobre la posición en el eje y-90 que la molécula no presenta una planaridad total, sin embargo, se esperaría una desviación mayor debido al N1 con hibridación sp^3 presente en la molécula. Esto se comprueba con los ángulos de enlace obtenidos en la tabla 4 la cual indica que la molécula oscila entre ángulos de 115° a 122° , lo cual es debido a la resonancia presente que le da cierto carácter plano.

En cuanto a las distancias de enlace se observa una disminución en la longitud entre los N1 y N2 debido al efecto de resonancia existente entre ellos; por lo que el enlace es de 1.35 Å cuando debería ser de 1.47 Å.

Se realizó un análisis sobre las interacciones de tipo Van der Waals y del sistema cristalino que presenta este compuesto.

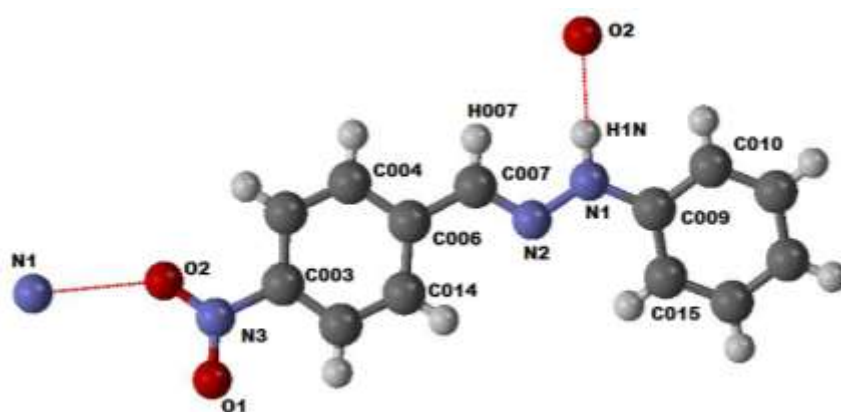


FIGURA 40 ESPECTRO DE RAYOS X MOSTRANDO LAS INTERACCIONES DE VAN DER WAALS DEL COMPUESTO B-22

Átomos	Distancia (Å)	Radio de Van der Waals (Å)
N1-O2	2.986	3.07
H1N-O2	2.082	2.72

TABLA 5 COMPARACIÓN DE LOS RADIOS DE VAN DER WAALS CONTRA LOS OBTENIDOS DE LA ESTRUCTURA DE RAYOS X

Se concluye que las interacciones que presenta el compuesto con clave B-22 son reales, ya que la longitud de las interacciones son menores a la longitud de los radios de Van der Waals.

Se observa el acomodamiento del compuesto B-22 debido a las interacciones de Van der Waals.

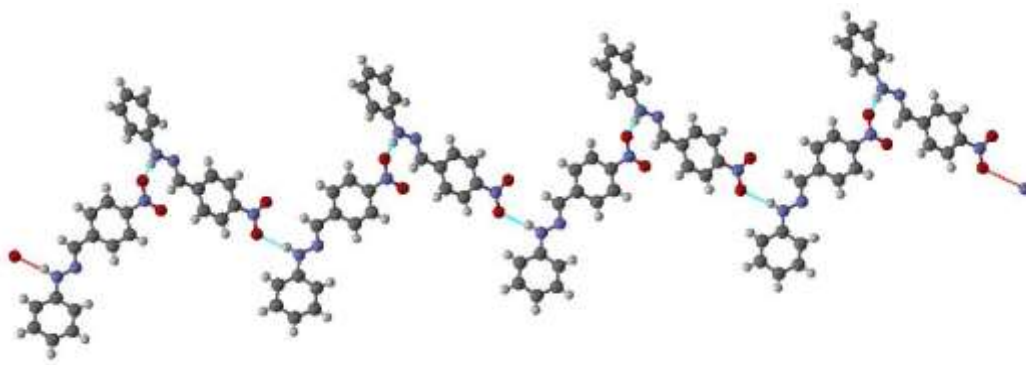


FIGURA 41 PATRÓN DEL ARREGLO CRISTALINO QUE PRESENTA EL COMPUESTO (*E*)-1-(4-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

4.3.- Síntesis de B-23 (*E*)-1-(3-nitrobenzylidene)-2-fenilhidracina)

Se obtuvieron 311 mg de producto recristalizado. Los análisis físicos y espectroscópicos se realizaron sobre esta muestra recristalizada.

Propiedades físicas del (<i>E</i>)-1-(3-nitrobenzylidene)-2-fenilhidracina)					
Formula	P.M	Aspecto	Color	P.F	Rendimiento
C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₂	241.25	Polvo opaco	Naranja	118-120°C	65.06%

TABLA 6 PROPIEDADES FÍSICAS DEL COMPUESTO B-23

4.3.1.- Caracterización por espectroscopia UV-Vis

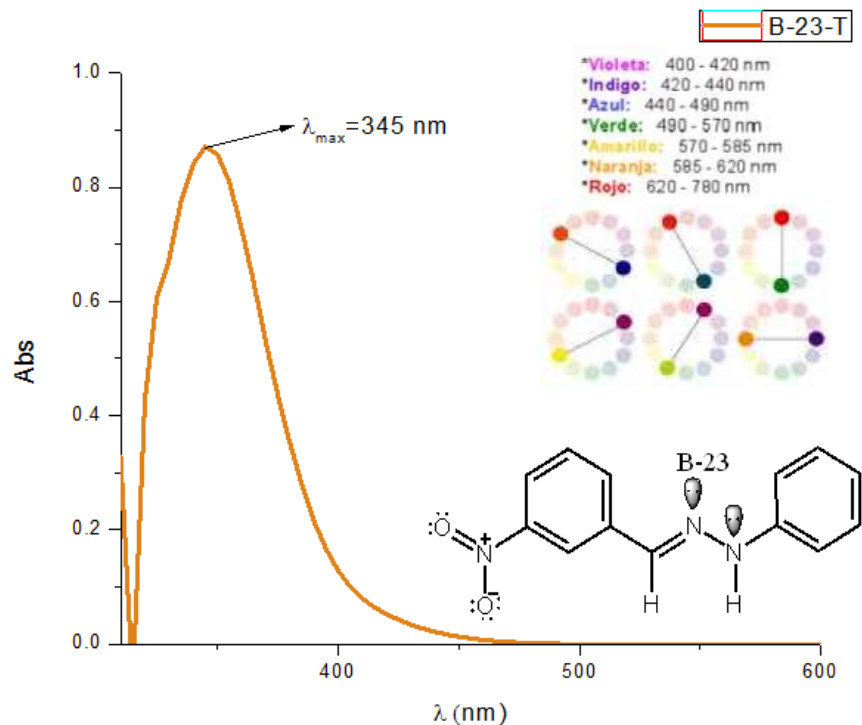


FIGURA 42 ESPECTRO DE UV-VIS DEL COMPUESTO (E)-1-(3-NITROBENCILIDEN)-FENILHIDRACINA

Se obtuvo el espectro por UV-Vis del compuesto B-23 (*E*-1-(4-nitrobenzyliden)-2-fenilhidracina) el cual tiene un λ_{max} de absorción de 345 nm, esta longitud de onda corresponde a un tono purpura según el espectro ultravioleta. En consecuencia de esta λ absorbida el producto presenta el color complementario naranja emitido por la no absorción de esta longitud de onda. La presencia de este color se debe a la alta conjugación electrónica que se obtuvo al hacer reaccionar los reactivos precursores del producto.

4.3.2.- Caracterización por espectroscopia infrarroja

Se caracterizó el producto resultante de la reacción correspondiente a la clave B-23.

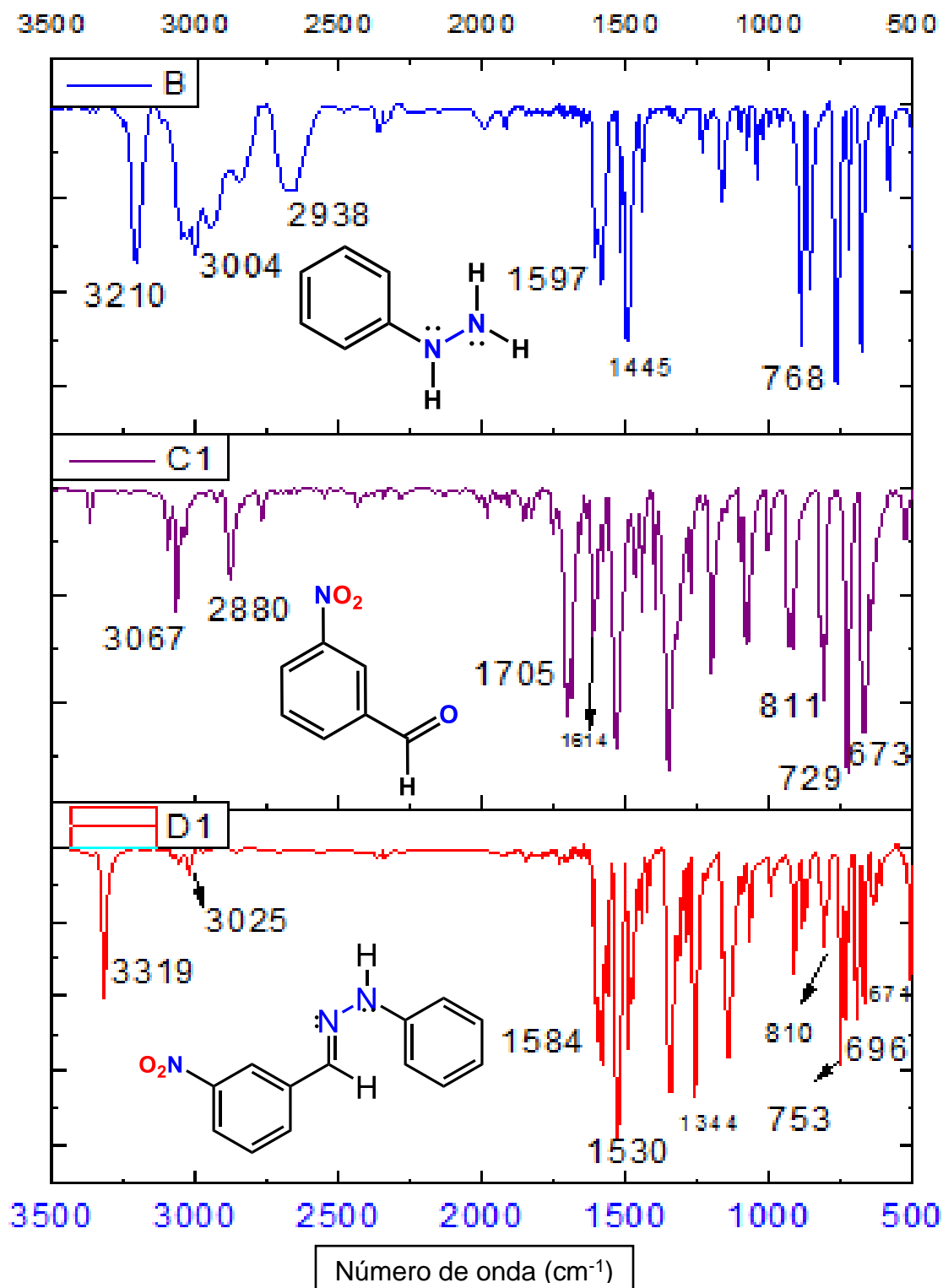


FIGURA 43 B (FENILHIDRACINA), C1 (3-NITROBENZALDEHIDO) Y D1 ((E)-1-(3-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

Tabla de bandas de IR características de reactivos y producto			
	4-Nitro-Benzaldehido	Fenilhidracina	Compuesto B-30
Asignación	cm ⁻¹	cm ⁻¹	cm ⁻¹
Φ- sust 1 (β)	----	768, 725	753 doblete
Φ- sust 1,3 (β)	671,696,810	----	671,696,810
Φ-NHR (β)	----	1445	1344
-NO ₂ (β)	1533	----	1530
C _{sp} ² =N _{sp} ² -R (v)	----	----	1584
C _{sp} ² -H (v)	3067	2938, 3004	3025
N-H (v)	----	3210	3319
C=O (v)	1705	----	----
N-H ₂ (β) sim	----	1597	----

TABLA 7 COMPARACIÓN DE SEÑALES CARACTERÍSTICAS DE REACTIVOS Y PRODUCTOS DEL COMPUESTO (E)-1-(3-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA

Se observa una banda intensa en 1584 cm⁻¹ que corresponde al estiramiento del enlace imino (C_{sp}²=N) del producto; una señal aguda e intensa en 3319 cm⁻¹ relacionada al estiramiento del N-H; se nota una señal intensa para el estiramiento C_{sp}²-NO₂ en 1530 cm⁻¹; en 753 cm⁻¹ existe un doblete que indica la mono sustitución del benceno de la hidracina; para la sustitución 1,3 en el benceno del bencilideno se observa el patrón característico de tres bandas en 671 cm⁻¹, 696 cm⁻¹ y 810 cm⁻¹.

A continuación se presenta el análisis de la reacción en base a los espectros obtenidos en la figura 44.

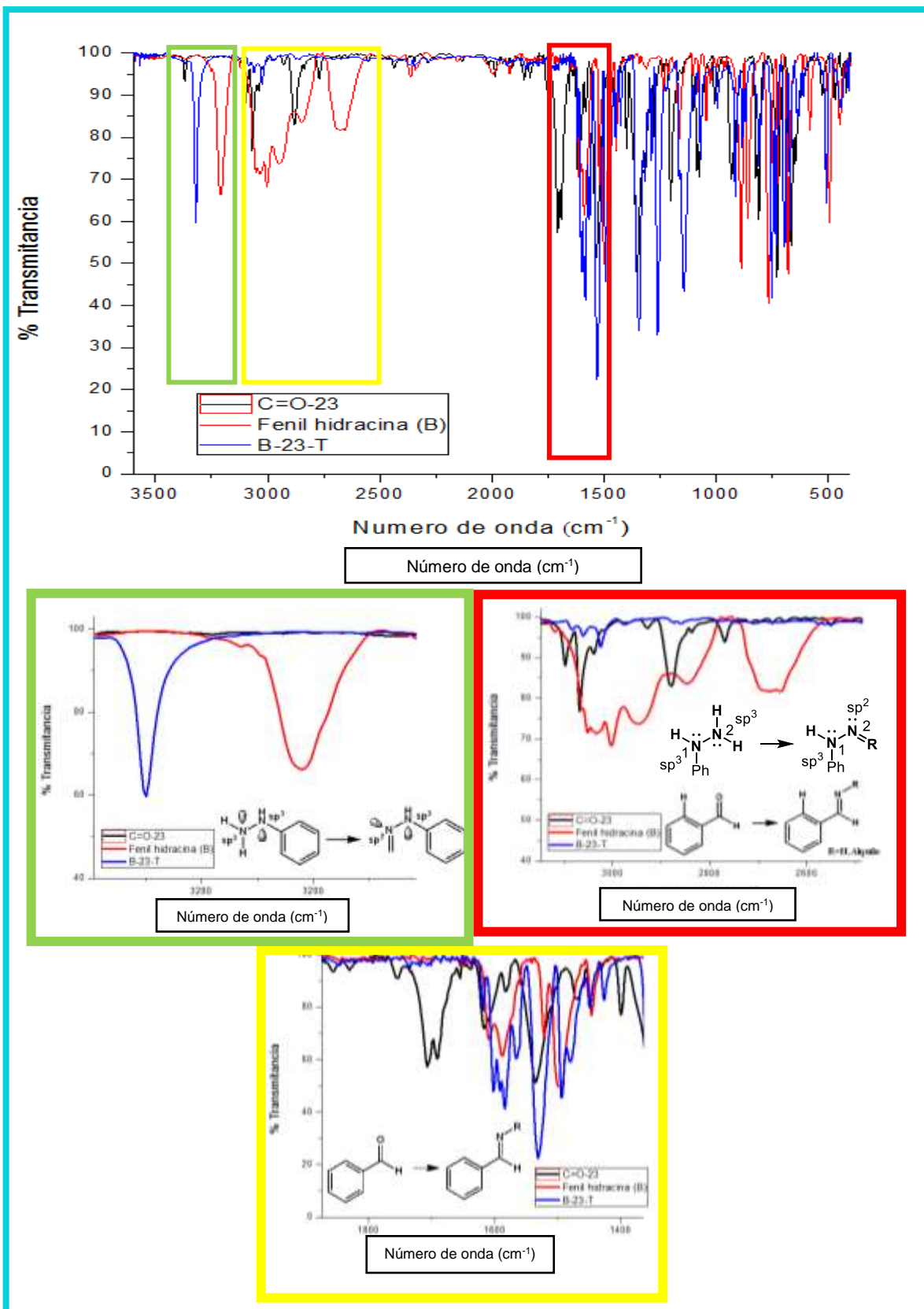


FIGURA 44 ANÁLISIS POR INFRARROJO DE LA REACTIVIDAD DEL PRODUCTO

La zona marcada en verde indica que el entorno del enlace N-H que presentaba en la fenilhidracina es diferente en el producto, lo que indica que se ha llevado a cabo la formación de un nuevo producto, por lo que el enlace N-H en el producto se desplaza a números de onda mayor. La zona marcada en amarillo muestra el rompimiento de los enlaces N1-H en el reactivo para dar la formación del enlace N1=C en el producto; esto se confirma en el espectro del producto, debido a que las bandas características correspondientes al enlace N1-H del reactivo desaparecen en el espectro del producto. En la zona marcada de rojo se muestra y confirma la formación del enlace de interés en el producto, ya que el desplazamiento del carbonilo en el reactivo a números de onda menores en el producto se debe a la sustitución del oxígeno del carbonilo por el nitrógeno en el producto (enlace imínico).

4.3.3.- Caracterización por espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C

Se obtuvieron los espectros de RMN de la reacción B-23 (*E*)-1-(3-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina) mediante los análisis de ^1H , ^{13}C que se muestran en las figuras 45

y

46

respectivamente.

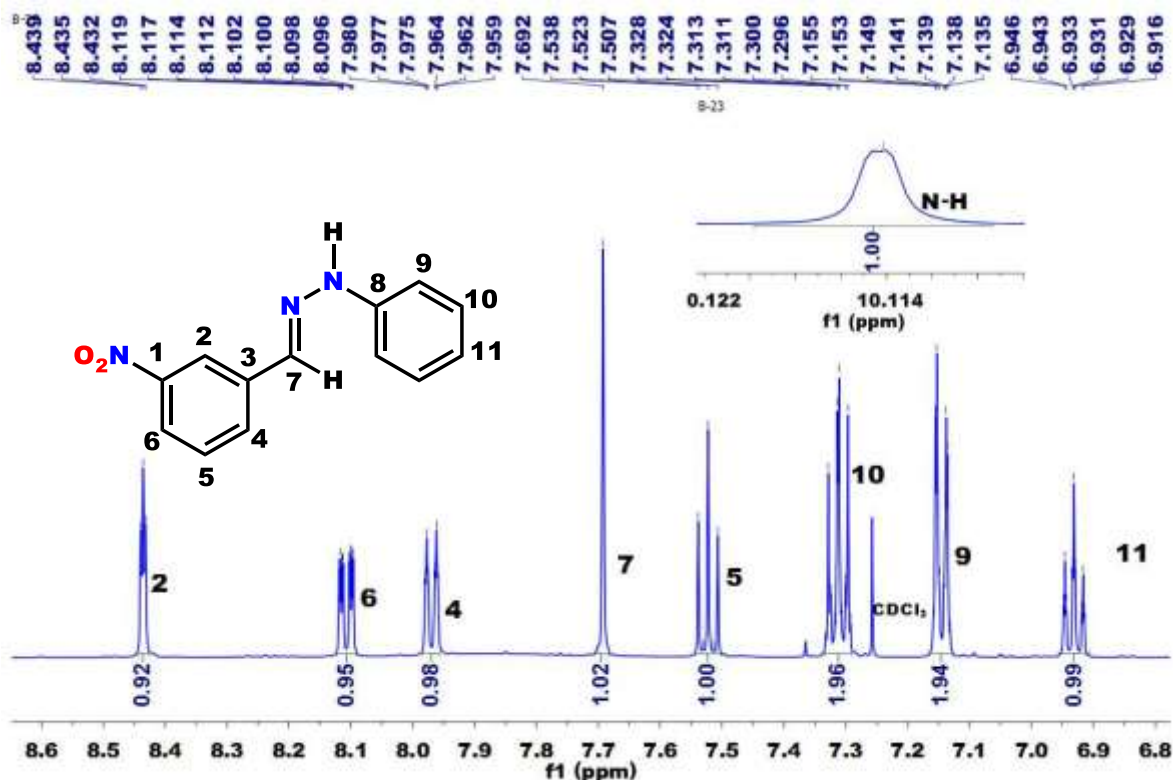


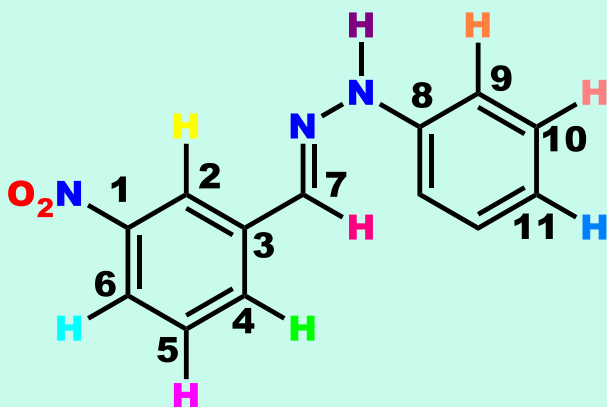
FIGURA 45 ESPECTRO DE ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) DE B-23 (*E*)-1-(3-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto con clave B-23 se asigna una señal simple a 10.11 ppm que integra para un protón del enlace N-H; otra señal simple en 8.45 ppm que integra para 1 protón correspondiente al CH(2); una señal doble en 8.11 ppm integrando para un protón asignada al CH(6) con una $J_{\text{H}_6-\text{H}_5}=8.2$ Hz, $J_{\text{H}_6-\text{H}_4}=2.3$ Hz y $J_{\text{H}_6-\text{H}_2}=1.0$ Hz; una señal doble en 7.97 ppm que integra para el protón del CH(4), con una $J_{\text{H}_4-\text{H}_5}=8.2$ Hz y $J_{\text{H}_4-\text{H}_6}=2.3$ Hz y $J_{\text{H}_4-\text{H}_2}=1.0$ Hz. Se presenta una señal simple en 7.69 ppm que integra para el protón imínico de la molécula; una señal triple en 7.55 ppm que integra para un protón que corresponde al CH(5); una señal triple en 7.34 ppm que integra para 2 protones y corresponden a los CH(10); en 7.17 ppm se observa una señal doble que corresponde al CH(9) e integra para 2 protones; por último una señal triple en 6.93 ppm que integra para el protón correspondiente al CH(11) con una $J_{\text{H}_{11}-\text{H}_{10}}=7.4$ Hz y $J_{\text{H}_{11}-\text{H}_9}=1.1$ Hz. Varias de las

señales se desdoblaron debido a los acoplamientos de tipo W presentes en la molécula.

A continuación se desglosan en la tabla 8, las señales obtenidas en el espectro de RMN de ^1H del compuesto B-23.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) de B-23 (*E*)-1-(3-nitrobenzideno)-2-fenilhidracina)



Tipo de hidrogeno	Multiplicidad	Integración (H)	Desplazamiento (ppm)	Constante de acoplamiento (Hz)
N-H	s	1	10.11	----
CH (2)	m	1	8.45	----
CH (4)	dt	1	7.97	8.2, 2.3, 1.0
CH (5)	m	1	7.55	----
CH (6)	ddd	1	8.11	8.2, 2.3, 1.0
CH (7)	s	1	7.69	----
CH (9)	m	2	7.34	----
CH (10)	m	2	7.34	----
CH (11)	tt	1	6.93	7.4, 1.1

TABLA 8 SEÑALES OBTENIDAS DE ^1H RMN DEL COMPUESTO B-23

Se caracterizó por RMN de ^{13}C , los resultados fueron los siguientes.

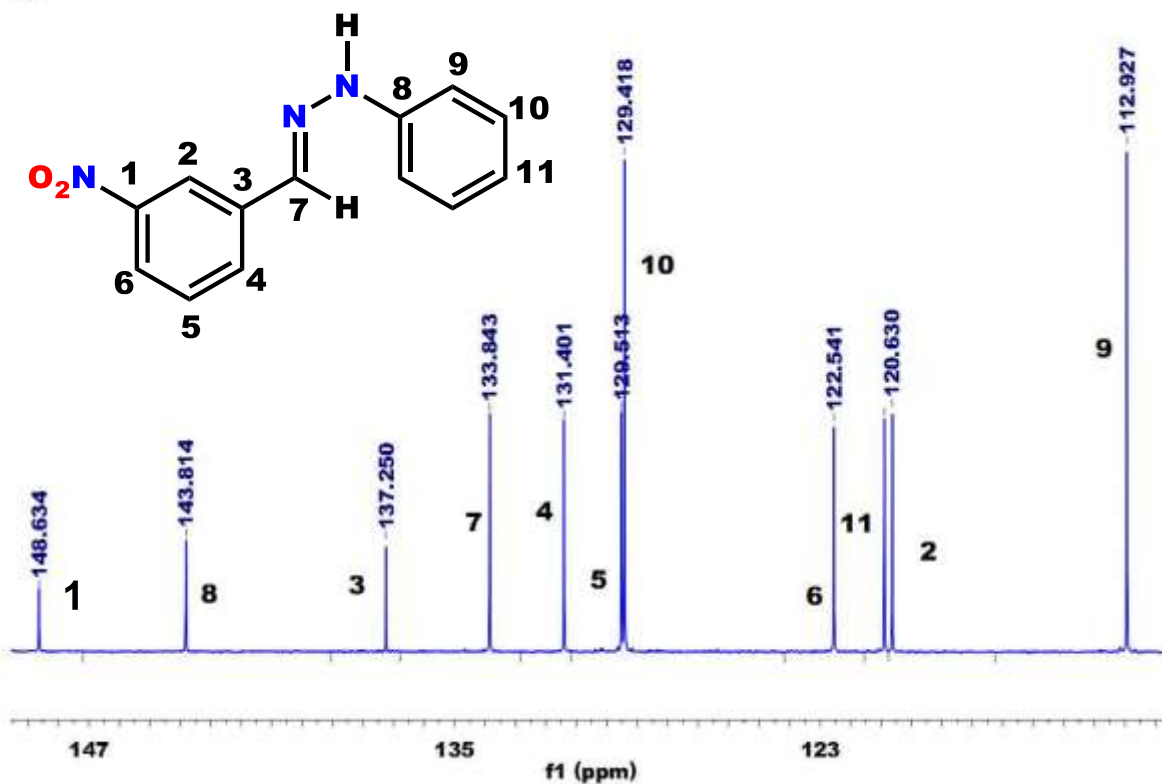


FIGURA 46 ESPECTRO DE ^{13}C RMN (123 MHz, CDCl_3) DEL COMPUESTO (*E*)-1-(3-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA

Se observan 11 señales diferentes, una para cada carbono diferente en la molécula, de las cuales tres pertenecen a los carbonos ipso (1-148.63 ppm, 8-143.81 ppm y 3-137.25 ppm) presentes en la molécula en una proporción de altura menos que las otras señales debido a que estos no presentan un acoplamiento directo C-H

4.3.4.- Caracterización por espectroscopia de Masas de alta resolución

Se obtuvo el espectro de masas del producto obtenido (*E*)-1-(3-nitrobenzylidene)-2-phenylhydrazine) recristalizado para su análisis, el cual se muestra en la figura 47.

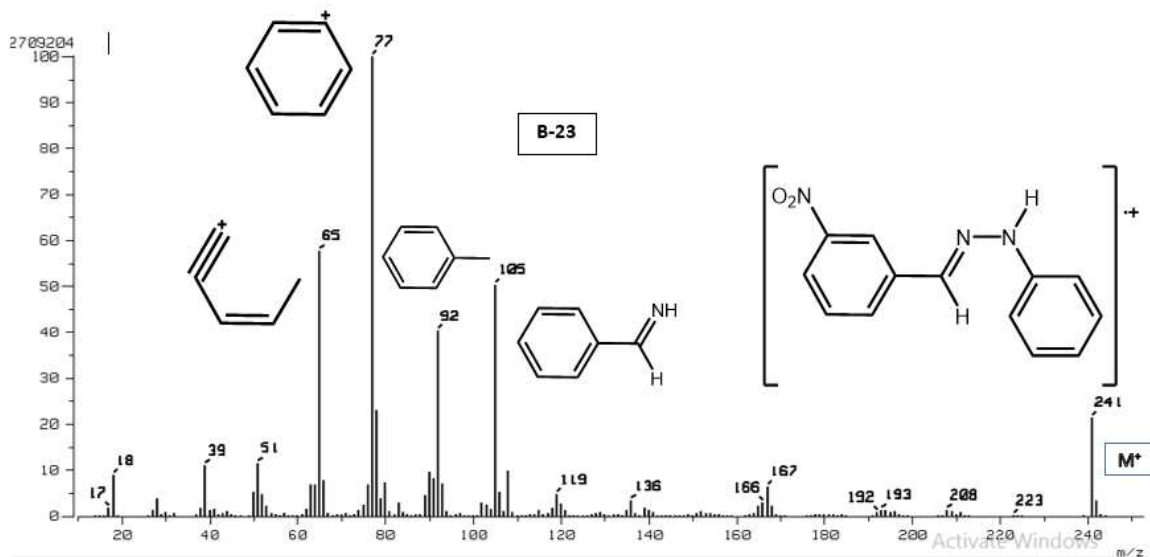


FIGURA 47 ESPECTRO DE MASAS POR IMPACTO ELECTRÓNICO DE ALTA RESOLUCIÓN DEL COMPUESTO (E)-1-(3-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA

El espectro muestra el pico ion-molecular correspondiente a una relación m/z de 241, Debido a la relación entre la masa y la carga de la molécula podemos relacionarlo con el peso molecular del producto sintetizado, lo cual coincide el obtenido experimentalmente con el teórico. Las fragmentaciones observadas se localizan sobre el espectro y son consistentes con la estructura propuesta.

4.4.- Síntesis de B-30 (E)-1-(2-nitrobenzylidene)-2-fenilhidracina)

Se obtuvieron 352 mg de producto cristalizado. Se realizaron los análisis físicos y espectroscópicos correspondientes sobre el producto purificado.

Propiedades físicas del (E)-1-(4-nitrobenzylidene)-2-fenilhidracina)					
Formula	P.M	Aspecto	Color	P.F	Rendimiento
$C_{13}H_{11}N_3O_2$	241.25	Cristales en forma de aguja	Rojo oscuro	144-146°C	73.58%

TABLA 9 PROPIEDADES FÍSICAS DEL COMPUESTO (E)-1-(2-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

4.4.1.- Caracterización por espectroscopia UV-Vis

Se realizó el análisis espectroscópico por UV-Vis del producto recristalizado mostrado en la figura 48.

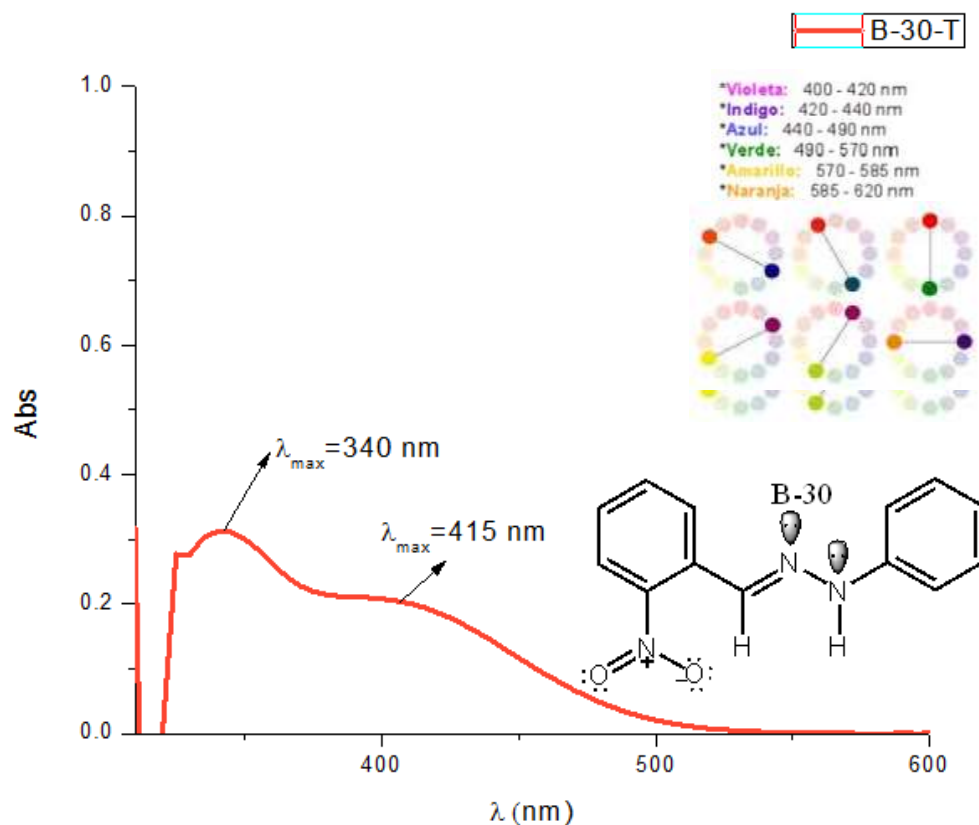


FIGURA 48 ESPECTRO DE UV-VIS DEL COMPUESTO (*E*)-1-(2-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

El compuesto B-30 (*E*)-1-(2-nitrobenzylidene)-2-phenylhydrazine) muestra que este compuesto absorbe en dos longitudes de onda (λ) distintas, cabe resaltar que la λ_{\max} de absorción corresponde a 340 nm, longitud de onda correspondiente a un tono violeta. Dado este comportamiento, el color que presenta este compuesto es un rojo brillante, correspondiente a la interacción de ambas longitudes de onda de absorción.

4.4.2.- Caracterización por espectroscopia Infrarroja

Se obtuvieron los espectros infrarrojos del producto y de los reactivos que se presentan en la figura 49.

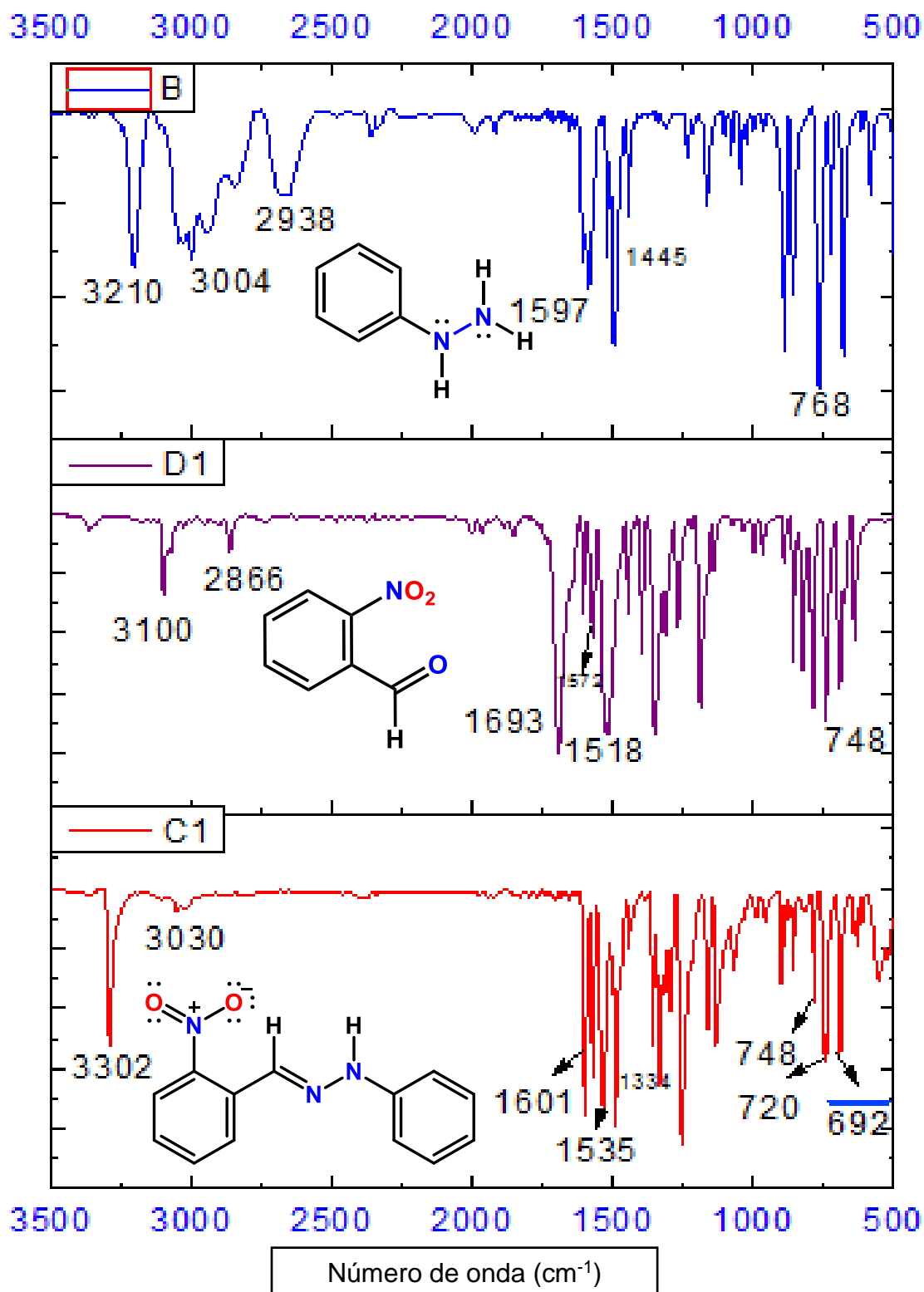


FIGURA 49 ESPECTROS DE INFRARROJO DE B (FENILHIDRACINA), D1 (2-NITROBENZALDEHIDO) Y C1 ((E)-1-(2-NITROBENZILIDEN) -2-FENILHIDRACINA))

Tabla de bandas de IR características de reactivos y producto			
	4-Nitro-Benzaldehido	Fenilhidracina	Compuesto B-30
Asignación	cm ⁻¹	cm ⁻¹	cm ⁻¹
Φ- sust 1 (β)	----	768, 725	720, 692
Φ- sust 1,2 (β)	737	----	748
Φ-NHR (β)	----	1445	1375
-NO ₂ (β)	1539	----	1535
C _{sp} ² =N _{sp} ² -R (ν)	----	----	1601
C _{sp} ² -H (ν)	3106	2938, 3004	3030
N-H (ν)	----	3210	3302
C=O (ν)	1707	----	----
N-H ₂ (β) sim	----	1597	----

TABLA 10 BANDAS VIBRACIONALES DE INFRARROJO CARACTERÍSTICAS DE LOS REACTIVOS Y PRODUCTO (E)-1-(3-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA CON CLAVE B-30

En el espectro de infrarrojo correspondiente al compuesto con clave B-30 se observa una banda aguda e intensa de absorción a 3302 cm⁻¹ perteneciente al enlace N-H; una banda de estiramiento intensa en 1601 cm⁻¹ para el enlace de la imina (C_{sp}²-N); en 1535 cm⁻¹ una señal intensa que corresponde al estiramiento del enlace C_{sp}²-NO₂; en las bandas de 720 cm⁻¹ y 692 cm⁻¹ se observa el patrón que indica la mono sustitución del benceno de la hidracina, mientras que en 748 cm⁻¹ indica la sustitución 1,2 del bencilideno.

Se hizo un análisis comparativo entre reactivos y productos que se observa en la figura 50.

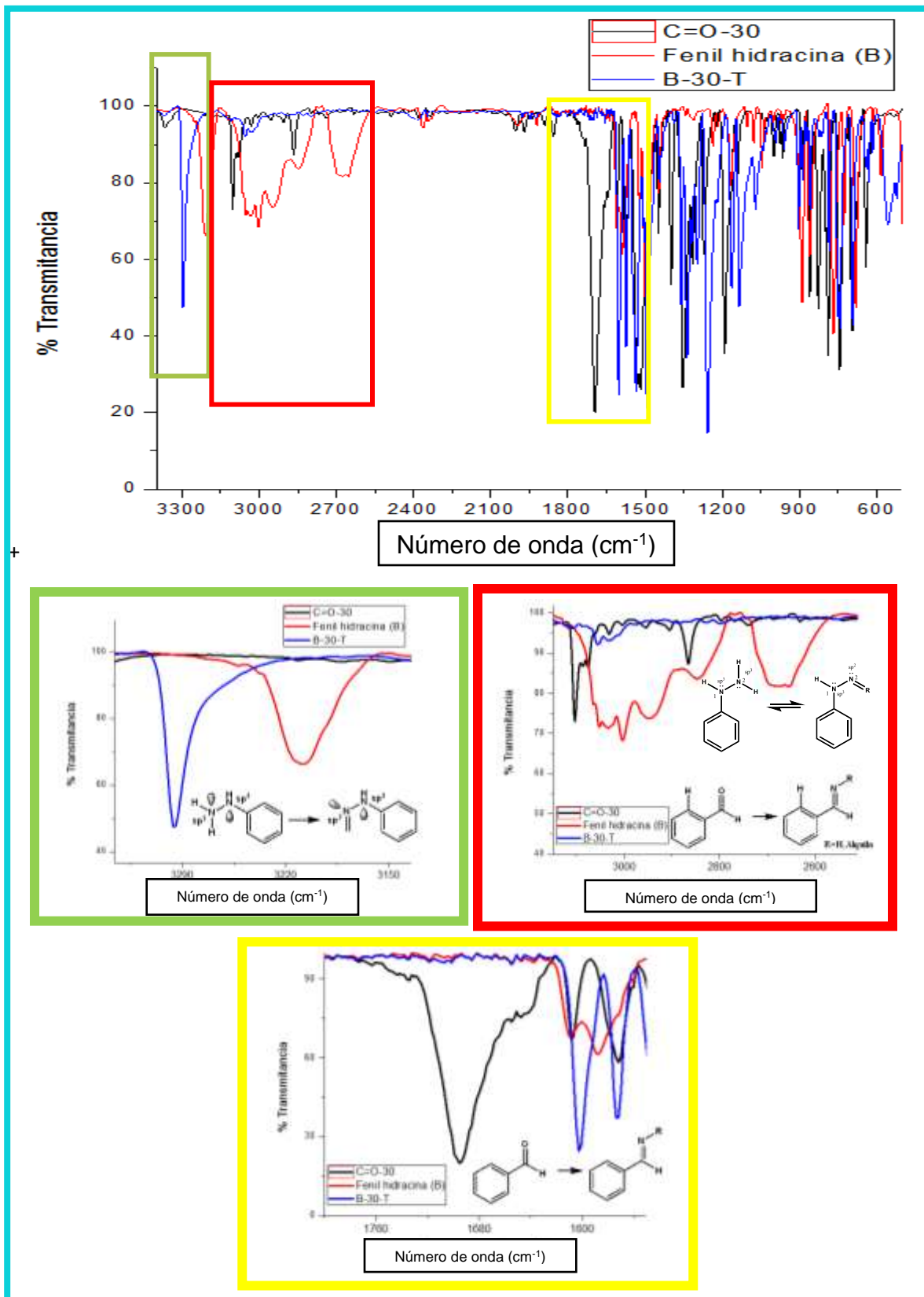


FIGURA 50 ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN LA FORMACIÓN DEL PRODUCTO

En la zona marcada de color verde, se aprecia el desplazamiento de la banda correspondiente a la vibración del enlace N-H a números de onda mayores que en la fenilhidracina, lo cual es debido al cambio en el entorno químico de este enlace en la nueva molécula. En la zona marcada de amarillo, se aprecia el rompimiento de los enlaces N1-H para pasar a la formación el enlace N1=CH-R, por lo que se observa la desaparición de las bandas características del reactivo hidracina en el producto. Por último, en la zona marcada de rojo, indica la formación del enlace característico y más importante del producto, el doble enlace imínico. La banda del carbonilo del reactivo desaparece en el producto debido a que el oxígeno del carbonilo es reemplazado por el nitrógeno de la hidracina, lo cual debido a que es menos electronegativo que el oxígeno, este vibra a longitudes de onda menores, ya que entre el carbono y el nitrógeno el doble enlace es más débil que el formado con oxígeno, por lo tanto debe vibrar a longitudes de onda menores, tal como se presenta en el producto.

4.4.3.- Caracterización por espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C

El análisis de RMN de ^1H y ^{13}C se efectuó sobre el producto puro.

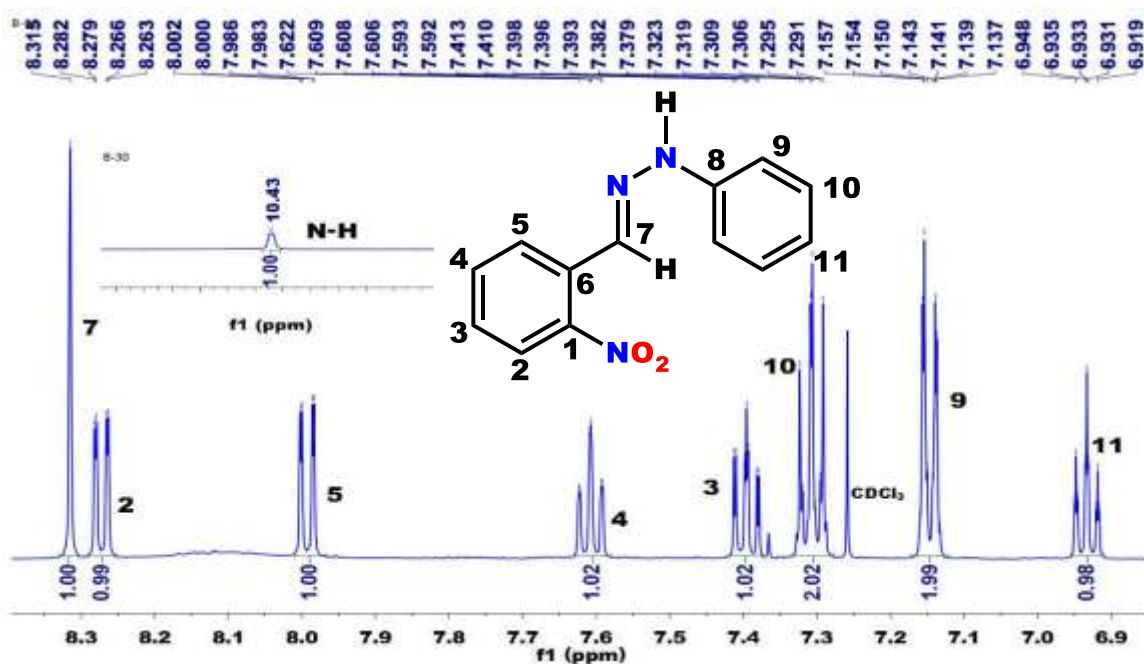
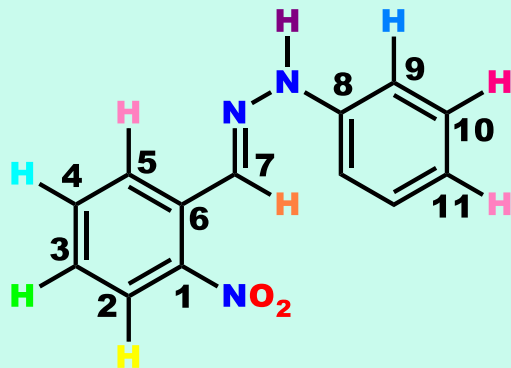


FIGURA 51 ESPECTRO DE ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) DE B-23 (E)-1-(2-NITROBENZILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)

En el espectro de RMN de ¹H del compuesto B-30 se observa una señal simple que integra para un protón en 10.43 ppm que corresponde al H del enlace N-H; en 8.31 ppm se observa una señal simple que integra para el protón imínico; una señal doble en 8.27 ppm que integra para un protón correspondiente al CH(2) con una $J_{H_2-H_3}=8.0$ Hz y $J_{H_2-H_4}=1.4$ Hz. Posteriormente se observa una señal doble en 7.99 ppm del CH(5) que integra para un protón con una $J_{H_5-H_4}=8.31$ y $J_{H_5-H_3}= 1.3$; en 7.63 ppm se tiene una señal triple que integra para un protón correspondiente al CH(4); una señal triple en 7.40 ppm que corresponde al protón del CH(3) con una $J_{H_3-H_2}=8.5$ Hz, $J_{H_3-H_4}=7.3$ Hz y $J_{H_3-H_5}= 1.4$ Hz; en 7.33 ppm se tiene una señal triple que integra para los hidrógenos del CH(10); una señal doble en 7.17 ppm que integra para dos hidrógenos y corresponden a los del CH(9) y por último una señal triple en 6.93 ppm que integra para un protón correspondientes al CH(11) con una $J_{H_{11}-H_{10}}= 7.4$ Hz y $J_{H_{11}-H_9}= 1.1$ Hz.

Debido a la resolución del equipo se observa que las señales se desdoblan por causa de acoplamiento de tipo W. En la siguiente tabla se muestran las señales obtenidas desglosadas con su respectiva constante de acoplamiento.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) de B-23 (*E*)-1-(2-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina)



Tipo de hidrogeno	Multiplicidad	Integración (H)	Desplazamiento (ppm)	Constante de acoplamiento (Hz)
N-H	d	1	10.43	0.6
CH (2)	dd	1	8.27	8.0, 1.4
CH (3)	ddd	1	7.40	8.5, 7.3, 1.4
CH (4)	m	1	7.63	----
CH (5)	dd	1	7.99	8.31, 1.3
CH (7)	s	1	8.31	----
CH (9)	m	2	7.17	----
CH (10)	m	2	7.33	----
CH (11)	tt	1	6.93	7.4,1.1

TABLA 11 DESCRIPCIÓN DE LAS SEÑALES OBTENIDAS DEL ESPECTRO DE RMN DE ¹H DEL COMPUESTO B-30

Para el espectro de RMN de ¹³C se asignaron las siguientes señales.

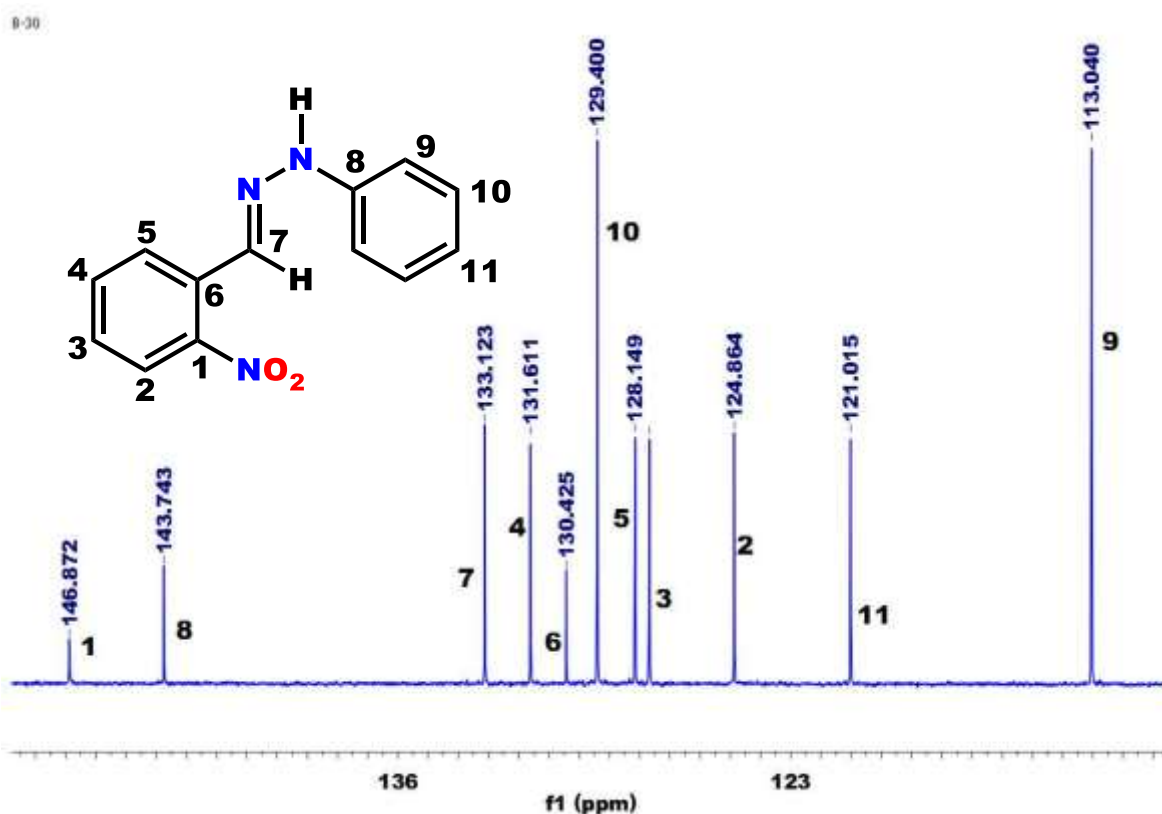


FIGURA 52 ESPECTRO DE ^{13}C RMN (123 MHz, CDCl_3) DEL COMPUESTO (E)-1-(2-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA

Se tienen 11 señales correspondientes a los 11 tipos diferentes de carbonos presentes en la molécula de la reacción B-30. Se observan 3 carbonos ipso (1-146.872 ppm, 8-143.743 ppm y 6-130.425), uno de los cuales (6) se desplaza a menores ppm, esto debido a que durante la resonancia no está tan desprotegido a diferencia de los otros dos (1 y 8).

4.4.4.- Caracterización por espectroscopia de Masas de alta resolución

Se realizó un análisis por espectroscopia de Masas por impacto electrónico de alta resolución de los cristales obtenidos correspondientes al producto B-30. Los resultados se muestran en la figura 53.

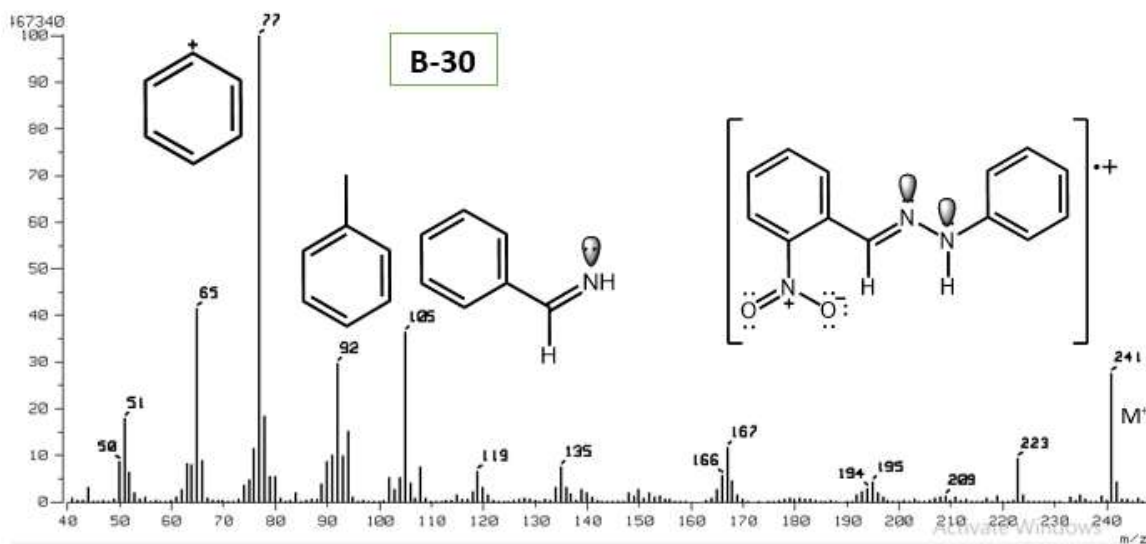


FIGURA 53 ESPECTRO DE MASAS POR IMPACTO ELECTRÓNICO DE ALTA RESOLUCIÓN DEL COMPUESTO (E)-1-(2-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA

La espectrometría de masas del compuesto B-30 mostrado en la figura anterior indica el pico ion-molecular en una relación masa/carga de 241 que corresponde exactamente al peso molecular de la molécula propuesta menos un electrón, lo cual, debido a que su peso es insignificante, esto corresponde totalmente a la masa del producto. Esto se corrobora con las fragmentaciones lógicas que presenta la molécula a relaciones m/z menores y que se ubican sobre el espectro.

4.4.5.- Caracterización por análisis de difracción de rayos X

Se realizó un análisis de rayos X de monocristal sobre el producto obtenido recristalizado. Las longitudes de enlace y ángulos se presentan en la tabla 12.

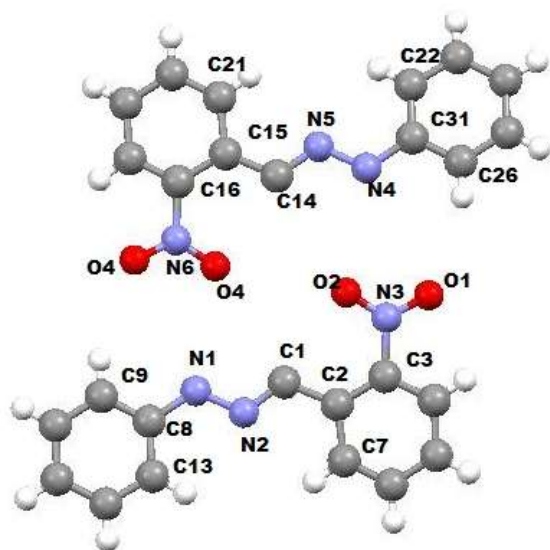


FIGURA 54 ESTRUCTURA OBTENIDA POR ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE MONOCRISTAL DEL COMPUESTO (*E*)-1-(2-NITROBENCILIDEN)-2-FENILHIDRACINA)



FIGURA 55 VISTA EN EL EJE X-90 DEL ESPECTRO DE RAYOS X DEL COMPUESTO B-30

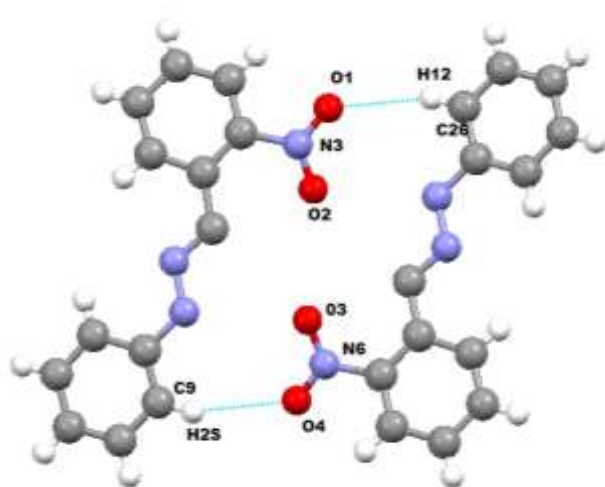
Longitudes y ángulos de enlace del (*E*)-1-(2-nitrobenzylidene)-2-fenilhidracina)

Enlace	(Å)	Enlace	(Å)	Átomos	Ángulo (°)	Átomos	Ángulo (°)
C1-N2	1.283(9)	C14-N5	1.289(8)	C22-C31-C26	120.04	C13-C8-C9	120.6(5)
N2-N1	1.33(2)	N5-N4	1.35(1)	C22-C31-N4	121.6(5)	C13-C8-N1	120.8(5)
N1-C8	1.421(9)	N4-C31	1.394(8)	C26-C31-N4	118.4(5)	C9-C8-N1	118.6(5)
C1-C2	1.46(1)	C14-C15	1.44(1)	C31-N4-N5	120.2(5)	C8-N1-N2	120.6(6)
C3-N3	1.485(7)	C16-N6	1.483(7)	N4-N5-C14	118.9(5)	N1-N2-C1	118.3(6)
Distancias de enlace teóricas (Å)				N5-C14-C15	119.5(5)	N2-C1-C2	120.0(6)
C-N	1.43			C14-C15-C16	126.3(5)	C1-C2-C3	127.6(5)
C=N	1.38			C14-C15-C21	120.1(5)	C1-C2-C7	119.4(6)
N-N	1.47			C14-C16-N6	121.6(5)	C2-C3-N3	121.7(5)
N=N	1.24						
C=C	1.34						
C-C	1.54						

TABLA 12 LONGITUDES Y ÁNGULOS DE ENLACE OBTENIDOS DE LA ESTRUCTURA OBTENIDA POR ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DEL COMPUESTO B-30

Con el estudio del análisis de difracción de rayos X de monocristal, se verificó la estructura y se concluye la obtención del producto deseado, además de confirmar de que se obtiene únicamente el isómero *E*. Como se observa en la tabla, los ángulos indican que la molécula presenta cierta planaridad, ya que estos oscilan entre los 118° y 127°. Esto es debido a resonancia presente entre los átomos de nitrógeno.

A continuación se presentan las interacciones de tipo Van der Waals que la molécula presenta en estado sólido.



Átomos	Distancia (Å)	Radio de Van der Waals (Å)
O4-H2S	2.672	3.07
O1-H12	2.637	2.07

TABLA 13 LONGITUDES DE ENLACE DE LAS INTERACCIONES DE TIPO VAN DER WAALS EN ESTADO SÓLIDO (EXPERIMENTALES Y TEORICAS)

FIGURA 56 INTERACCIONES DE TIPO VAN DER WAALS EN ESTADO SÓLIDO DEL COMPUESTO B-30

Tomando en cuenta los radios obtenidos del espectro de rayos X del compuesto B-30 y comparándolos con las longitudes de los radios de Van der Waals, se obtiene que estas interacciones son reales, ya que estas interacciones resultan ser de menor longitud que la suma de los radios de Van der Waals.

Dadas las interacciones, se observa el arreglo cristalino que esta molécula presenta.

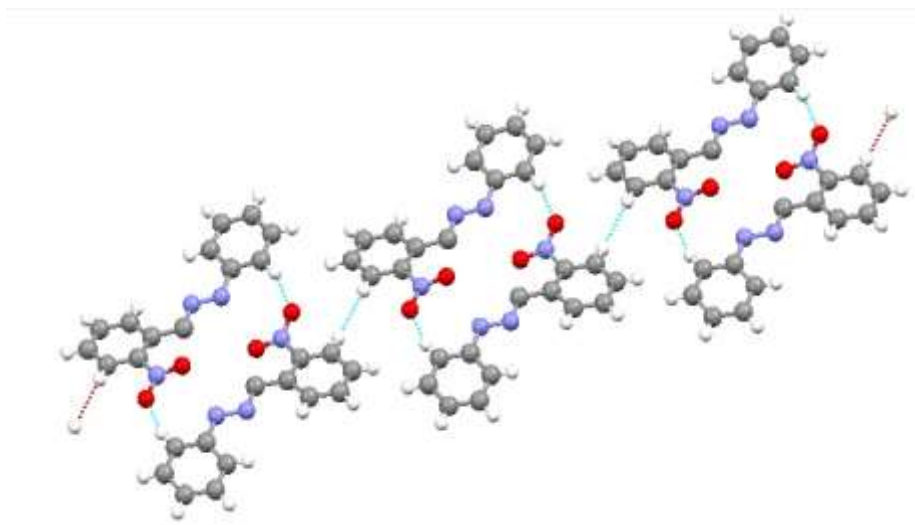


FIGURA 57 PATRÓN DEL ARREGLO CRISTALINO QUE PRESENTA EL COMPUESTO B-30

4.5.- Comparación de los tres compuestos sintetizados.

Debido a que estos productos son isómeros estructurales de posición, se realizó un análisis comparativo entre los tres productos.

4.5.1.- Análisis por espectroscopia Infrarroja

Se realizó un análisis de espectros de IR correspondientes a cada uno de los productos obtenidos para comparar el desplazamiento de las bandas características que presentaron cada uno de ellos.

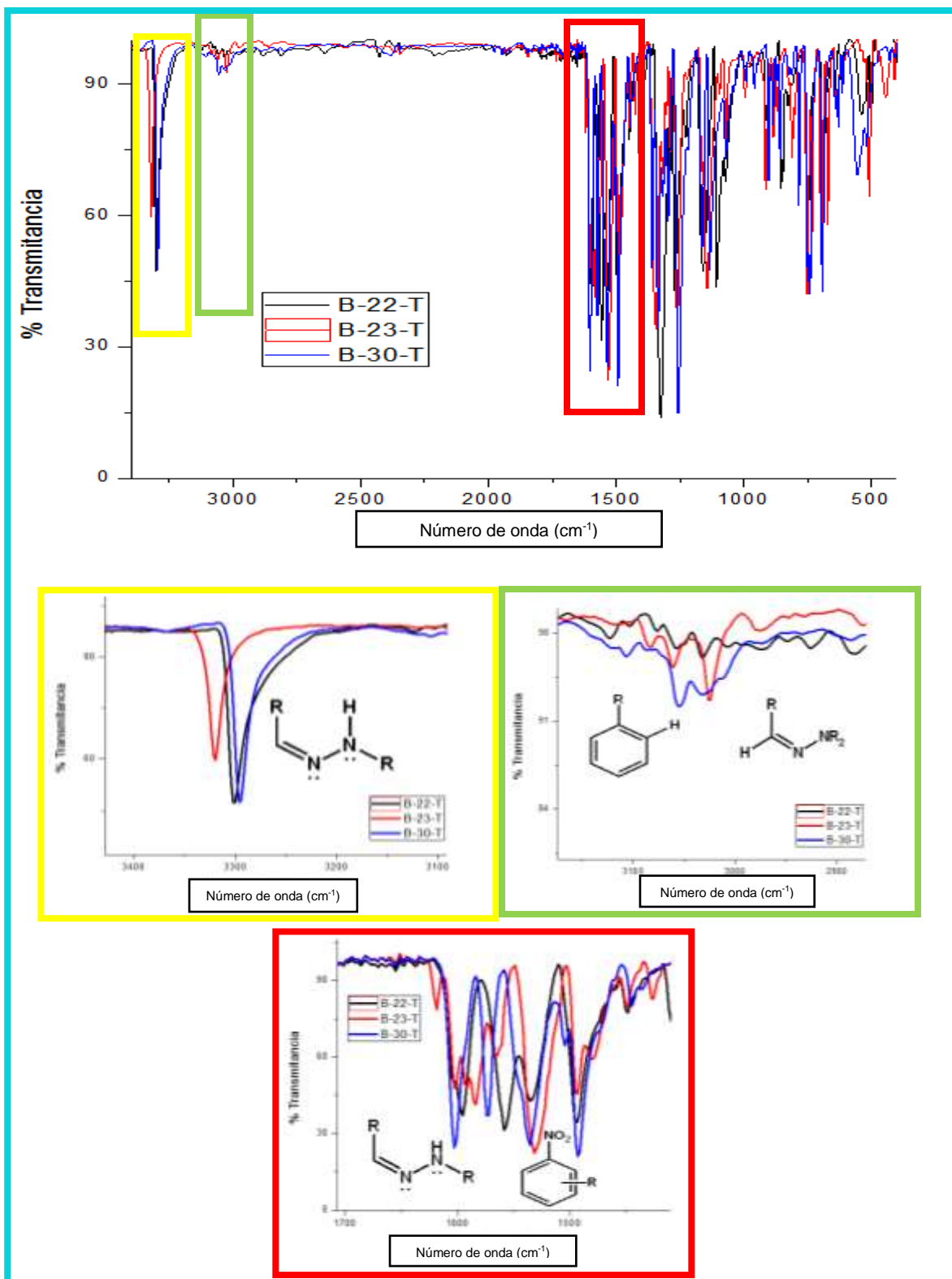


FIGURA 58 ANÁLISIS COMPARATIVO POR IR DE LOS PRODUCTOS B-22, B-23 Y B-30.

Tabla de bandas de IR características de los productos sintetizados			
	(E)-1-(4-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina	(E)-1-(3-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina	(E)-1-(2-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina
Asignación	cm ⁻¹	cm ⁻¹	cm ⁻¹
Φ- sust 1 (β)	748,738	753 doblete	720, 692
Φ- sust 1,2 (β)	849	671,696,810	748
Φ-NHR (β)	1334	1344	1375
-NO ₂ (β)	1493	1530	1535
C _{sp²} =N _{sp²} -R (v)	1596	1584	1601
Csp ² -H (v)	3030	3025	3030
N-H (v)	3301	3319	3302

TABLA 14 COMPARACIÓN DE BANDAS VIBRACIONALES DE IR DE LOS COMPUESTOS B-22, B-23 Y B-30

Se observan bandas vibracionales del N-H a mayores números de onda en el compuesto B-23, mientras que en los compuestos B-22 y B-30 el desplazamiento es muy similar. Esto es debido al efecto de resonancia eficiente y similar que ocurre entre estos compuestos (B-22 y B-30) debilitando al enlace N-H, haciendo que vibre a menores números de onda, sin embargo, el compuesto B-23 no presenta una resonancia tan eficiente por lo que la banda correspondiente al enlace N-H es de mayor energía y vibra a números de onda mayor.

4.5.2.- Análisis comparativo por RMN de ¹H y ¹³C

Se compararon los tres compuestos sintetizados por espectroscopia de RMN de ¹H y ¹³C. A continuación se muestran los resultados en la tabla 15.

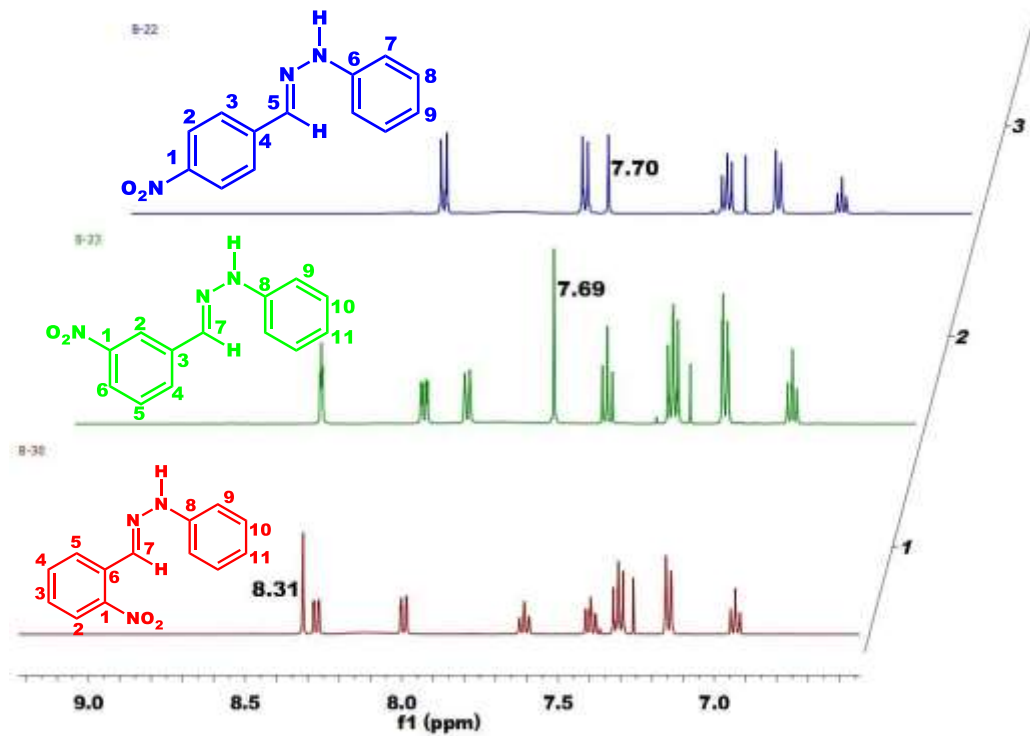


FIGURA 59 COMPARACIÓN DEL DESPLAZAMIENTO DEL PROTÓN IMÍNICO DE LOS PRODUCTOS B-22, B-23 Y B-30

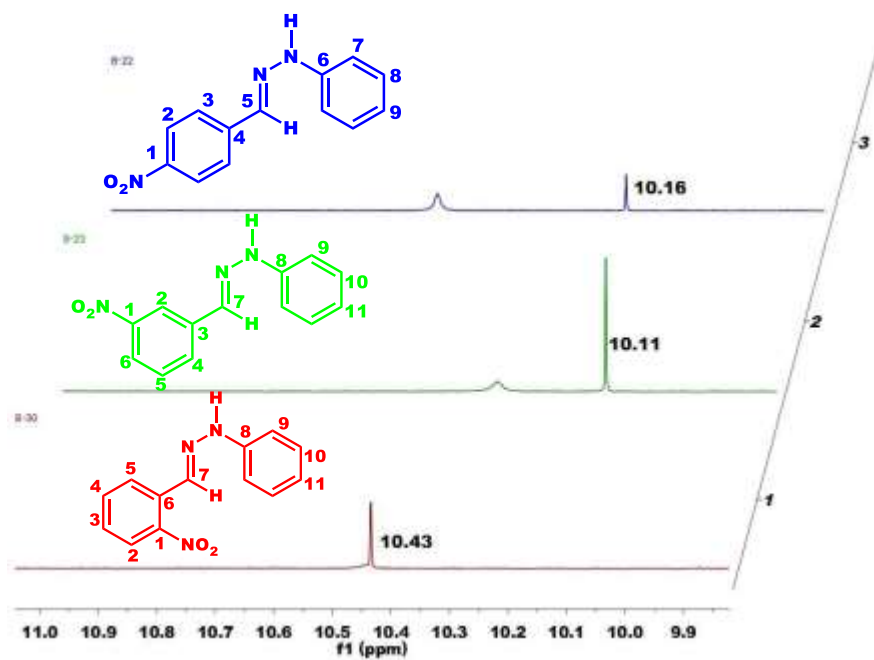


FIGURA 60 COMPARACIÓN POR RMN DE ^1H DEL DESPLAZAMIENTO DEL H EN EL ENLACE N-H DE LOS COMPUESTOS B 22,23 Y 30

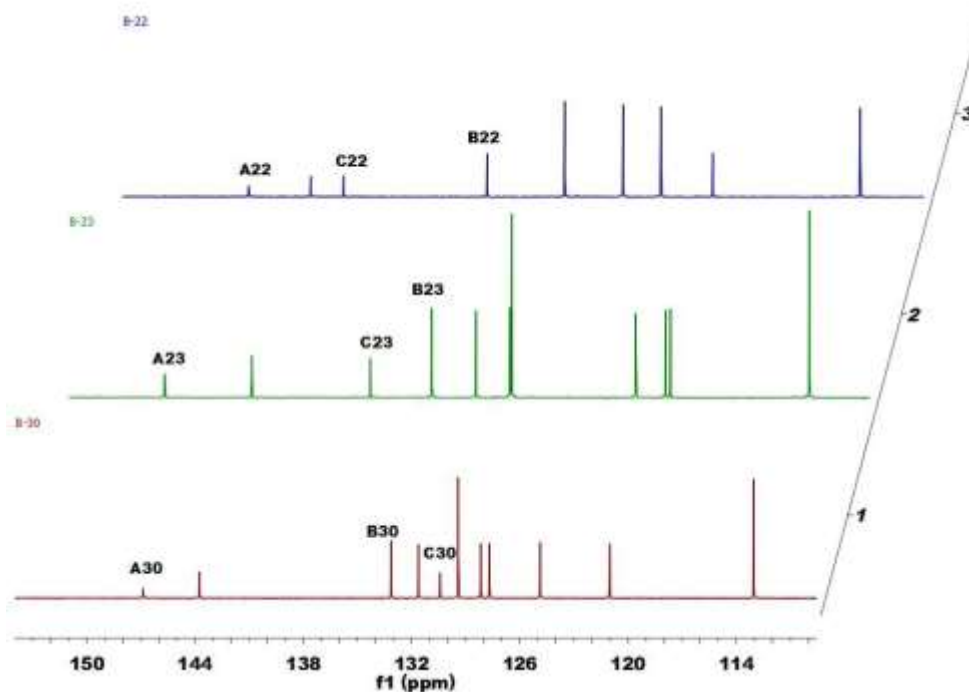


FIGURA 61 COMPARACIÓN POR RMN ^{13}C DE LOS COMPUESTOS B-22, 23 Y 30

H y C más representativos de los productos obtenidos			
	(<i>E</i>)-1-(2-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina	(<i>E</i>)-1-(2-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina	(<i>E</i>)-1-(2-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina
Señal	B-22 (ppm)	B-23 (ppm)	B-30 (ppm)
N-H	10.16	10.11	10.48
H imínico	7.70	7.69	8.31
C nitrado (A)	146.662	148.634	146.872
C imínico (B)	133.752	133.843	133.123
C ipso α al C imínico (C)	141.704	137.750	130.425

TABLA 15 COMPARACIÓN DE DESPLAZAMIENTOS CARACTERÍSTICOS DE H Y C DE LOS COMPUESTOS B-22, 23 Y 30

Para la comparación de los compuestos B-22, 23 y 30 por RMN de ^1H , se observa que las señales correspondientes al H del enlace N-H de B-22 y B-30 se desplazan a mayores ppm, mientras que el de B-23 a menores ppm, indicando que la resonancia en las posiciones orto y para son más eficientes que en la posición meta. Los desplazamientos del H imínico indican que el fenómeno que predomina en este comportamiento es el efecto inductivo, ya que a menor distancia con el grupo nitro la señal se desplaza a mayores ppm.

Por comparación de RMN de ^{13}C de los tres compuestos se observa lo siguiente:

Analizando el C que sostiene al grupo nitro de cada compuesto se observa que en las posiciones orto y para hay un desplazamiento similar, mientras que la posición meta se desplaza a mayores ppm, esto se explica con el fenómeno de resonancia, indicando que en las posiciones orto y para hay una estabilización de cargas por la deslocalización de la carga (-) a lo largo de la molécula y en la posición meta no existe tal estabilización.

En cuanto al C imínico, se observa un comportamiento muy similar entre los tres compuestos, sin embargo, la variación notable de B-23 indica que hay menor efecto de resonancia, viéndose afectado más por el efecto electroattractor de los Nitrógenos adyacentes haciendo que se desplace la señal del carbono imínico a campos más bajos.

Los desplazamientos del carbono α al carbono imínico confirma que el predominante es el efecto de resonancia, ya que a menor distancia se encuentre el grupo nitro mayor es su efecto electroattractor.

4.5.3.- Análisis comparativo por difracción de rayos X de los compuestos (*E*)-1-(4-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina) y (*E*)-1-(2-nitrobenziliden)-2-fenilhidracina)

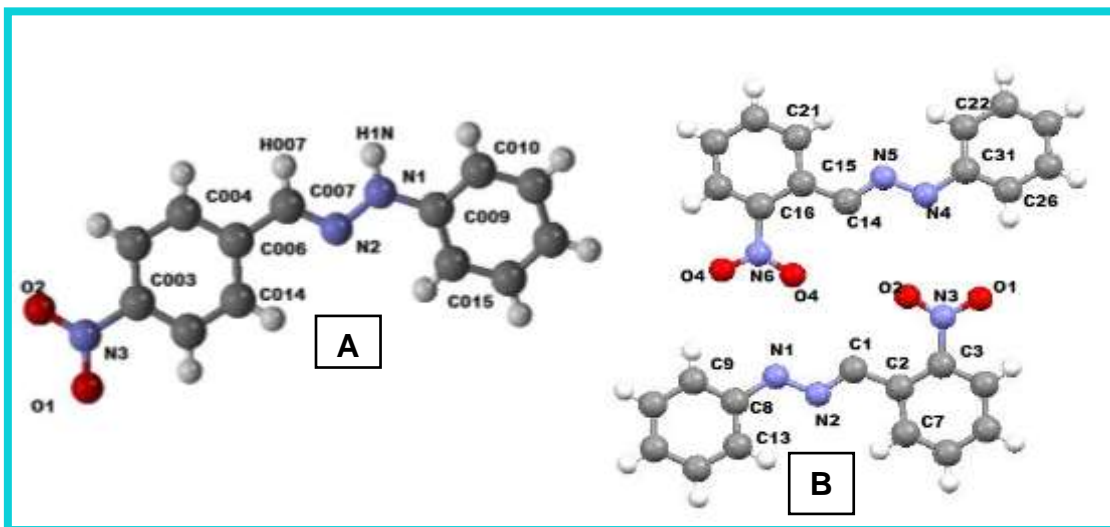


FIGURA 62 ESTRUCTURAS OBTENIDAS POR ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X (A) (*E*)-1-(4-NITROBENZILIDEN)-2-FENILHIDRACINA Y (B) (*E*)-1-(2-NITROBENZILIDEN)-2-FENILHIDRACINA

Distancias de enlace			
<i>(E)</i> -1-(4-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina		<i>(E)</i> -1-(2-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina	
Enlace	(Å)	Enlace	(Å)
N1-N2	1.354(2)	N2-N1	1.330(2)
N2-C007	1.282(3)	C1-N2	1.283(9)
N1-C009	1.381(3)	N1-C8	1.421(9)
C006-C007	1.455(3)	C1-C2	1.46(1)

TABLA 16 COMPARACIÓN DE LAS DISTANCIAS DE ENLACE DE LOS COMPUESTOS B-22 Y B-30

Las longitudes de enlace confirman el efecto de resonancia existente en los compuestos B-22 y B-30, ya que en ambos casos la longitud del enlace N-N es más corta (1.354 Å y 1.330 Å) respectivamente, comparados con el enlace sencillo N-N (1.47 Å), es decir que el enlace oscila entre un sencillo y doble, consecuencia del efecto resonante.

Estos valores denotan que la longitud de enlace N-N es menor en B-30 que en B-22, lo que se explica considerando que en B-30 aparte de existir el efecto de resonancia, existe un efecto inductivo mayor, mientras que en B-22 el efecto inductivo es deficiente, ya que el efecto inductivo decrece conforme aumenta la distancia.

Comparación de ángulos de enlace de los compuestos B-22 y B-30			
<i>(E)</i> -1-(4-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina)		<i>(E)</i> -1-(2-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina)	
Átomos	Ángulo (°)	Átomos	Ángulo (°)
C010-C009-N1	118.17	C13-C8-N1	120.77
C009-N1-N2	122.15	C8-N1-N2	120.62
N1-N2-C007	115.47	N1-N2-C1	118.28
N7-C007-C006	121.56	N2-C1-C2	120.04

TABLA 17 COMPARACIÓN ENTRE LOS ÁNGULOS DE ENLACE MÁS REPRESENTATIVOS DE LOS COMPUESTOS B-22 Y B-30 OBTENIDOS DEL ANÁLISIS POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE MONOCRISTAL.

Los ángulos de enlace del compuesto B-30 indican un mayor carácter plano en la molécula ya que el rango en el cual oscilan los ángulos de enlace del compuesto B-30

es de 118° y 120° , mientras que en B-22 el rango es mayor entre 115° y 123° . El ángulo de enlace en B-22 (C009-N1-N2) de 122.15° muestra un cambio de hibridación de sp^3 a sp^2 , sin embargo el ángulo de enlace en B-30 (C8-N1-N2) es de 120.62° , el cual indica un mayor carácter de hibridación sp^2 , lo cual se alude a su mayor carácter plano. Esto lo podemos observar en las estructuras antes mostradas (ver ilustraciones 38 y 55)

CAPITULO 5

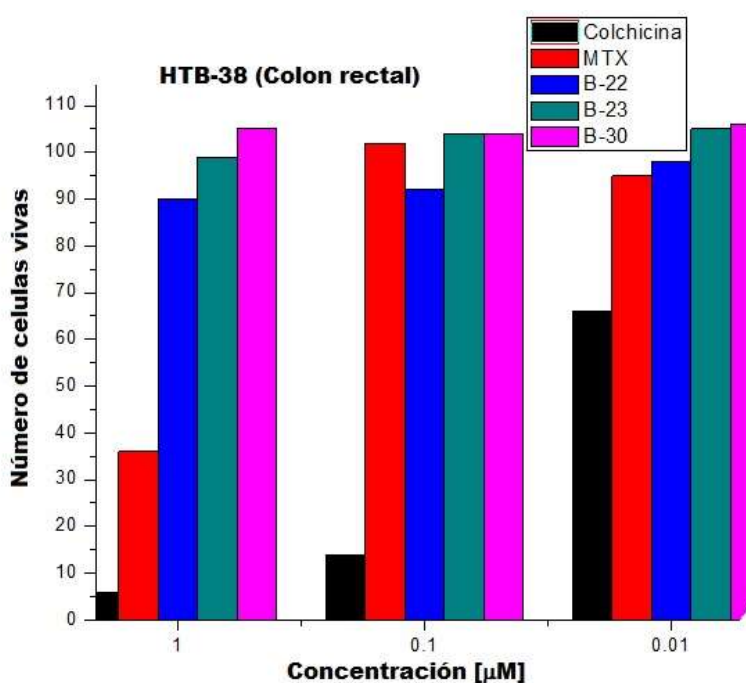
EVALUACIÓN BIOLÓGICA

5.1.- Pruebas de citotoxicidad en líneas celulares cancerosas

Se realizaron pruebas de citotoxicidad de los compuestos sintetizados en líneas celulares cancerosa de HTB-38(Colon rectal), HTB-177 (Pulmón), MOLT-4 (Leucemia linfoblástica) y MCF-7 (Cáncer de mama).

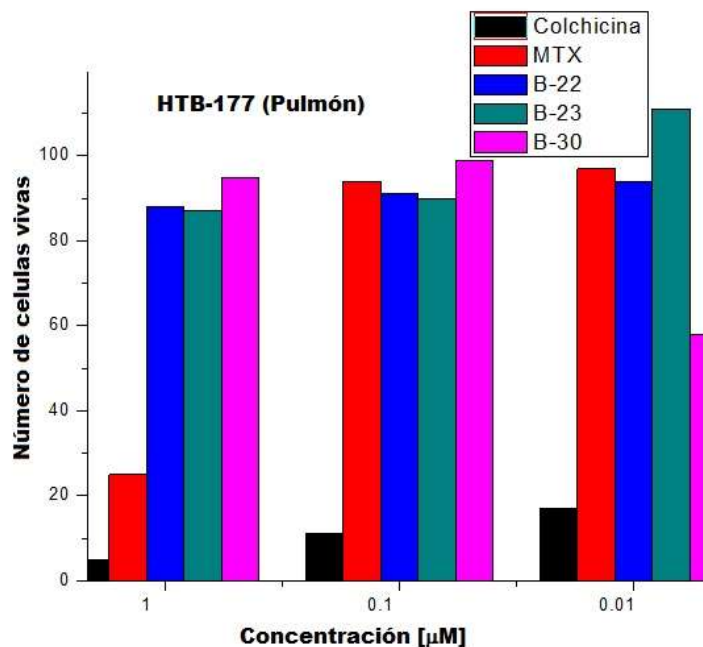
Para las pruebas de actividad biológica, los compuestos se compararon con dos de los medicamentos más usados para este tipo de cánceres.

Los resultados se muestran en las siguientes gráficas.



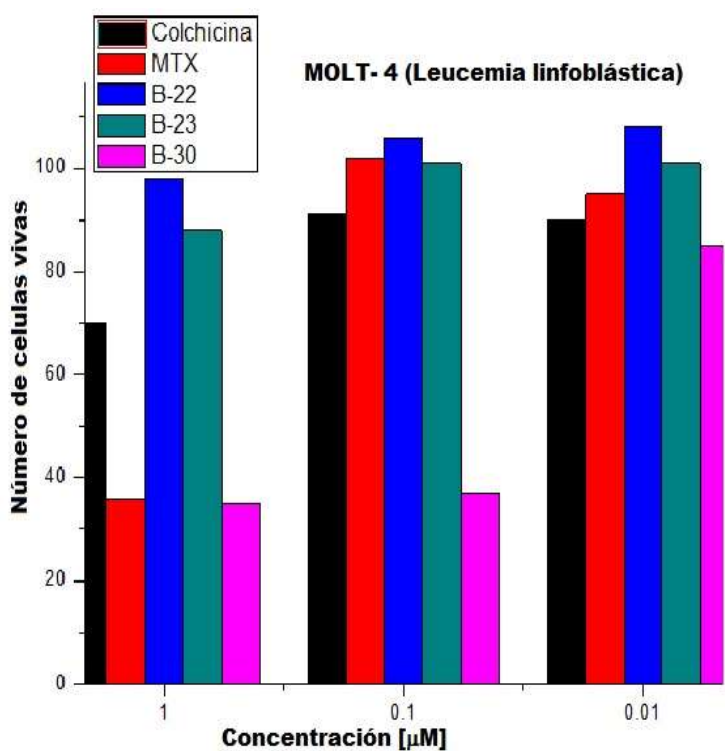
GRÁFICA 1 EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN CÁNCER DE COLON RECTAL

En HTB-38(Colon rectal), la actividad de los compuestos B-22, B-23, B-30 no presentan mejores resultados que los controles de referencia.



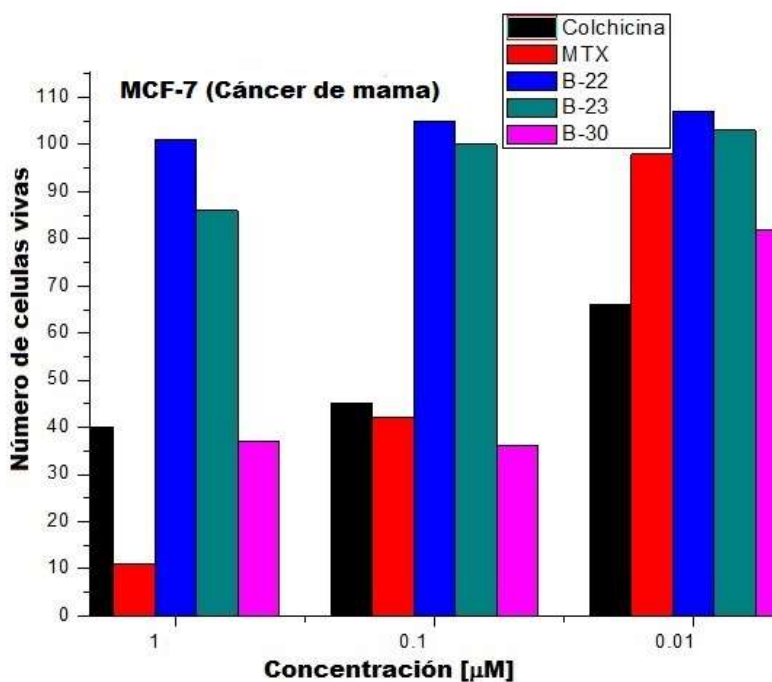
GRÁFICA 2 EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN CÁNCER DE PULMÓN

En HTB-177 (Pulmón), se observa una mejor actividad citotóxica del compuesto B-30 comparado con el MTX, sin embargo, dicha actividad es menos efectiva comparado con la colchicina.



GRÁFICA 3 EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN CÁNCER DE SANGRE

En MOLT-4 (Leucemia linfoblástica), el compuesto B-30 presenta una actividad mucho más eficiente que ambos controles de referencia, a las concentraciones de 1 y 0.1 mM.



GRÁFICA 4 EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN CÁNCER DE MAMA

En MCF-7 (Cáncer de mama).a concentraciones 1 y 0.1 μM, el compuesto B-30 muestra una mejor actividad que MTX y colchicina.

CAPITULO 6

CONCLUSIONES

6.1.- Conclusiones

- Se logró realizar la síntesis de tres compuestos tipo hidrazona mediante los principios de la química verde.
- Se mejoraron los rendimientos en la obtención de los productos:
B-22 (*E*)-1-(4-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina),
B-23 (*E*)-1-(3-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina),
B-30 (*E*)-1-(2-nitrobenciliden)-2-fenilhidracina)
- Se caracterizaron de manera eficiente los tres compuestos por las técnicas espectroscópicas de UV-Vis, Infrarrojo, RMN de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas y difracción de rayos X.
- Se concluye que el compuesto con clave B-30 derivado del 2-nitro benzaldehído con la fenilhidrazina, tienen actividad biológica eficiente en las líneas celulares de MOLT-4 (Leucemia linfoblástica) y MCF-7 (Cáncer de mama) y en HTB-177 (Pulmón) presenta una actividad eficiente solo a la concentración de $0.01 \mu\text{M}$, lo cual es importante de considerar porque al necesitar menor concentración, existe menor daño celular.

CAPITULO 7

ANEXOS

7.1.- Conceptos y términos farmacéuticos y biológicos

SAR: La relación cuantitativa estructura-actividad (en inglés, Quantitative structure-activity relationship, QSAR, o bien, quantitative structure-property relationship, QSPR) es el proceso por el cual la estructura química se correlaciona cuantitativamente con un proceso bien definido, como la actividad biológica (unión de un fármaco con un receptor) o la reactividad química (afinidad de una sustancia por otra para que produzcan una reacción).

Antiplaquetarios: son un grupo de medicamentos que evitan que unas células sanguíneas denominadas «plaquetas» se aglutinen y formen un coágulo sanguíneo.

MES: (test de crisis inducidas por electroshock máximo) consiste en convulsiones tónicas inducidas por estimulación eléctrica corneal bilateral y se considera que un compuesto es efectivo en este modelo cuando evita la extensión de las patas posteriores del animal durante la convulsión.

scPTZ: (test inducido por pentilene tetrazol) evalúa las contracciones mioclónicas y clónicas generalizadas inducidas por la administración subcutánea sistémica de dosis convulsivas del agente PTZ, sugerido como modelo para la ausencia generalizada y convulsiones mioclónicas en humanos.

6Hz: (modelo de la convulsión psicomotora o de baja frecuencia)

Proliferación: multiplicación o aumento del número. En biología, la proliferación celular se presenta por medio de un proceso llamado multiplicación celular.

PBMC: (célula mononuclear de sangre periférica) es una célula sanguínea caracterizada por poseer un único núcleo redondo, como los linfocitos o los monocitos.

Topliss: método utilizado para la síntesis de fármacos aromáticos.

Inotrópicos: son un grupo de medicamentos que aumentan la contracción cardíaca.

HAT: programa de salud después de la terapia.

Tónica: cuando los músculos del cuerpo se ponen rígidos.

Mioclónica: sacudidas cortas en partes del cuerpo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ramos, G. A. M. Síntesis orgánica: *El arte de crear moléculas*. Universidad CEU San Pablo. 2016. pp 4-7.
- [2] Nerlis P., Pájaro C. Jesús T., Olivero V., Química Verde: Un nuevo reto. *Ciencia e ingeniería Neogranadina*, vol. 21. Núm. 2, **2011**, pp. 169-182.
- [3] Sierra, A.; Meléndez, L.; Ramírez-Monroy A.; Arroyo M. La química verde y el desarrollo sustentable. *RIDE*. **2014**. vol. 5, núm. 9.
- [4] Cuesta, S.; Meneses, L. *LA GRANJA Revista de la ciencia de la vida*. **2015**. DOI: 10.17163.
- [5] Wilson Rodríguez, P.; García, R.; Fajardo, O. A. Facultad de Ciencias Básicas. **2016**, ISSN 1900-4699. Volumen 12. Número 2, pp. 228-251.
- [6] Cabrera Vivas, B. M.; Meléndez Balbuena, L; Soto López, I. *Revista Iberoamericana de Ciencias Biológicas y Agropecuarias*. **2017**. ISSN: 2007-9990, vol 6, No 12.
- [7] Flores, P. S. Síntesis y evaluación biológica de nuevos derivados de tipo imidazolina y etanolamina fluorados. Tesis doctoral. Servei de Publicacions Valencia. Enero 2011.
- [8] Muñoz, D. L.; Cardona, Diana P.; Cardona, A.; Carrillo, Lina M.; Quiñones, W.; Echeverri, F.; Vélez, Iván.; Robledo, S. M. *Revista de la facultad de química farmacéutica*. . **2006**, ISSN 0121-4004. Vol. 13, Núm. 2, pp. 5-12.
- [9] Foscolos, L.; Papanastasiou, G. B.; Foscolos, A.; Tsotinis, T. F.; Kellici, T.; Mavromoustakos, M. C.; Taylorc, J. M. *Med. Chem. Comm*. **2016**. 7:1229.
- [10] Le Goff, G.; Ouazzani J. *ELSEVIER*. **2014**. 58:2737-2339 doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.04.086.
- [11] Rollas, S.; Kucukguzel, S. G. *Molecule*. **2007**; 12:1910-1939. doi: 10.3390/12081910.

- [12] Negi, V. J.; Sharma A. K.; Negi, J. S.; Ra V. *Pharm. Chem.* **2012** 4:100-109. doi.org/10.1107/S2414314616008464.
- [13] Verma, G.; Marella, A.; Shaqui Quzzaman, M.; Akhtar, M. R.; Ali, M. M.; Alam, M. *Pharm. J. Bioall. Sci.* **2014**; 6:69-80. doi: 10.4103/0975-7406.129170.
- [14] Padmini, K.; Jaya Preethi, P.; Divya, P.; Rohini, M.; Lohita, M.; Swetha, K. et al. *International J. Pharma. Res. Rev.* **2013**; 2:43-58. DOI: 10.20959/wjpr20167-6499.
- [15] Mandewale, M. C.; Patil, U. C.; Shedge, S. V.; Dappadwad U. R. Yamgar R. S. *Univ. J. Sci.* **2017**; 6:354-361. doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.07.005.
- [16] Rao, S.; Mishra, D.D.; Mourya, R.V.; Nageswara, N. **2018**; 16:1825-1829. doi: 10.1007/s00044-010-9330-5.
- [17] Singh, M.; Raghav, N. *Inter. J. Pharm. Sci.* **2011**; 3:26-32. ISSN- 0975-1491.
- [18] Puralimardan, O.; Chamayou, A.; Janiak, C. C.; Hosseini-Monfared, H. *Inorg. Chimica Acta.* **2007**; 360:1599-1608. doi: 10.1155/2011/270304.
- [19] Hajar, S.; Shahriare, G.; Shaghayegh, D.; Alireza Hemati, M.; Farhod, S. V. *Inorganic Chem.* **2011**. 270:304. doi.org/10.1002/ejic.200900513.
- [20] Xavier, A. J.; Thakur, M.; Marie, J. *Pharm Chem. Res.* **2011**; 4:986-90. doi: 10.4103/0975-7406.129170.
- [21] Dimmock, J. R.; Vashishtha, S. C.; Stables, J. P. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**; 35:241–248. doi: 10.1016/S0223-5234(00)00123-9.
- [22] Ulloora, S.; Shabaraya, R.; Ranganathan, R.; Adhikari, A. V. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**; 70:341–349. 16. doi. 10.1080/15257770.2016.1231321.
- [23] Nasr, T.; Bondock, S.; Youns, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**; 76:539-548. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.02.026.
- [24] Hassan, G. S.; Kadry, H. H.; Abou-Seri, S. M.; Ali, M. M.; Mahmoud, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**; 19:6808-6817. doi: 10.1016/j.bmc.2011.09.036.

- [25] Sriram, D.; Yogeewari, P.; Madhu, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**; 15:4502-4505. doi: 10.1016/j.bmcl.2005.07.011.
- [26] Vavříkova, E.; Polanc, S.; Kocevar, M.; Horvat, K.; Bosze, S.; Stolaríkova, J.; Vavrova, K.; Vinsova, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**; 46:4937-4945. doi: 10.1016/j.ejmech.2016.05.015.
- [27] Walcourt, A.; Loyevsky, M.; Lovejoy, D. B.; Gordeuk, V. R.; Richardson, D. R. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **2004**, 36: 401-407. doi: 10.1002/cmdc.201200503.
- [28] Bernardino, A.; Gomes, A.; Charret, K.; Freitas, A.; Machado, G.; Canto-Cavalheiro, M.; Leon, L.; Amaral, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2006** 41: 80-87. doi.org/10.3390/12081910.
- [29] Silva, A. G.; Zapata-Suto, G.; Kummerle, A. E.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Sudo, R. T. *Bioorg. Med. Chem.* **2005** 13: 3431-3437. doi: 10.1016/j.bmc.2005.03.003.
- [30] Ergenç N, Günay N.S. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33: 143-148