



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA**



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Química Orgánica

“Síntesis, caracterización y evaluación anti-cancerosa de una familia de hidrazonas derivadas de tiofenocarbaldehído y furanocarbaldehído”

Tesis presentada para obtener el título de:

Licenciatura en Química

Presenta:

Zabdi Ahlai Flores Castillo

Directores de tesis:

Dra. Blanca Martha Cabrera Vivas

Dr. Juan Carlos Ramírez García

Asesor de tesis:

Dr. Ángel Palillero Cisneros

Noviembre 2018

Índice

Abreviaturas y símbolos	1
Resumen	3
Lista de nuevos compuestos	4
Introducción	6
Objetivos	7
Capítulo 1: Generalidades	8
1. Grupo carbonilo	9
1.1. Estructura y enlace	9
1.2. Propiedades físicas	10
1.3. Reactividad	11
1.4. Adición nucleofílica de aminas	14
Capítulo 2: Antecedentes	17
2.1. Hidrazonas	18
2.2. Aplicaciones	20
2.2.1. Anticonvulsivante	20
2.2.2. Antidepresiva	21
2.2.3. Analgésica, antiinflamatoria y antiplaquetaria	21
2.2.4. Antimalaria	22
2.2.5. Antimicrobiana	23
2.2.6. Antitumoral	24

2.2.7. Otras aplicaciones	24
Capítulo 3: Resultados	25
3.1. Reacción general	26
3.2. Hidrazona A-32	26
3.2.1. Espectroscopia UV	27
3.2.2. Espectroscopia IR	28
3.2.3. Espectroscopia RMN	30
3.2.4. Espectrometría de masas	34
3.3. Hidrazona A-35	35
3.3.1. Espectroscopia UV	36
3.3.2. Espectroscopia IR	36
3.3.3. Espectroscopia RMN	38
3.3.4. Espectrometría de masas	42
3.4. Hidrazona A-36	43
3.4.1. Espectroscopia UV	43
3.4.2. Espectroscopia IR	44
3.4.3. Espectroscopia RMN	46
3.5. Comparación entre las propiedades espectroscópicas	50
3.6. Evaluación celular	52
Capítulo 4	58
Conclusiones	59

Capítulo 5: Parte experimental	60
5.1. Reactivos	61
5.2. Instrumentación	61
5.3. Síntesis general	62
5.4. Síntesis A-32	63
5.5. Síntesis A-35	65
5.6. Síntesis A-36	67
Bibliografía	69
Anexos	74
Reacciones F: nuevas expectativas	75
1. Reacciones	76
2. Caracterización espectroscópica F-32	77
3. Caracterización espectroscópica F-35	85
4. Caracterización espectroscópica F-36	85

Abreviaturas y Símbolos

°	Grados
°C	Grados Celsius
σ	Sigma
$\delta+$	Carga parcial positiva
$\delta-$	Carga parcial negativa
Π	Pi
Λ	Longitud de onda
pm	Picometros
nm	Nanometros
A-32	(<i>E</i>)-2,2((nitrofurán-2-il)metilén)-1,1-difenilhidrazina
A-35	(<i>E</i>)-2,2((nitrotiofen-2-il)metilén)-1,1-difenilhidrazina
A-36	(<i>E</i>)-1,1-difenil-2-(tiofenilmetilén)hidrazina
EtOH	Etanol
UV-Vis	Ultravioleta Visible
IR	Infrarrojo
p.f	Punto de fusión
G	Gramos
mmol	Milimol
P.M	Peso molecular
^1H RMN	Resonancia Magnética Nuclear de ^1H
^{13}C RMN	Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C
ppm	Partes por millón
Δ	Desplazamiento químico
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
MHz	Megahertz
S	Singulete
D	Doblete

T	Triplete
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de doble de dobles
dt	Doble de triples
I.E	Impacto electrónico
m/z	Relación masa/carga
MTX	Metotrexato
HTB-38	línea celular de cáncer de colon
HTB-177	línea celular de cáncer de pulmón
MOLT-4	línea celular de leucemia
MCF-7	línea celular de cáncer de mama
C	Aldehído
H	Hidrazona
P	Producto
S	Soluble
PS	Parcialmente soluble
I	Insoluble

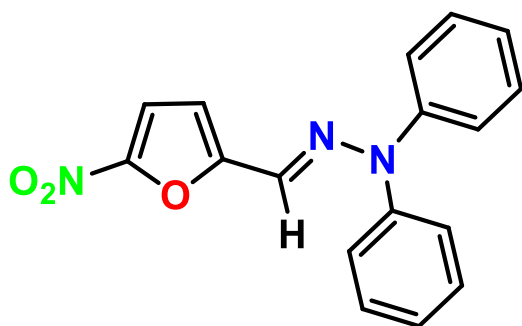
Resumen

En este trabajo se presenta la síntesis y caracterización de 3 compuestos hidrazona derivados de tiofencarbaldehído y furancarbaldehído con difenilhidracina. Las reacciones se llevaron a cabo utilizando las condiciones de química verde. Una vez obtenido los compuestos en forma cristalina se caracterizaron mediante las diferentes técnicas espectroscópicas: UV-VIS, IR, RMN, difracción de rayos X y espectrometría de masas. Posteriormente se llevó a cabo la evaluación anticancerígena en diferentes líneas celulares cancerosas: HTB-38 colon, HTB-177 pulmón, MOLT-4 leucemia, MCF-7 mama.

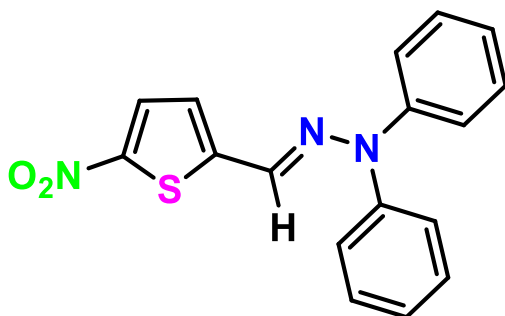
Lista de nuevos compuestos.

Los compuestos sintetizados se denominaron con la serie A y F en función de la hidracina utilizada.

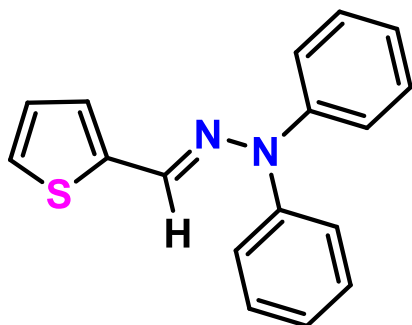
SERIE A



A-32
C₁₇H₁₃N₃O₃

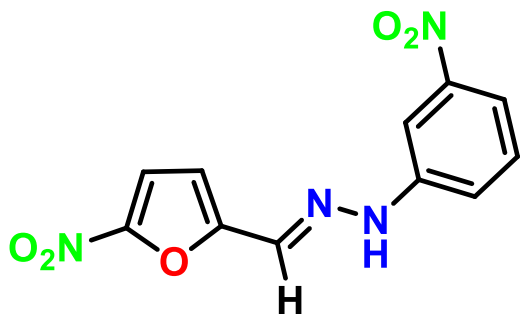


A-35
C₁₇H₁₃N₃O₂S

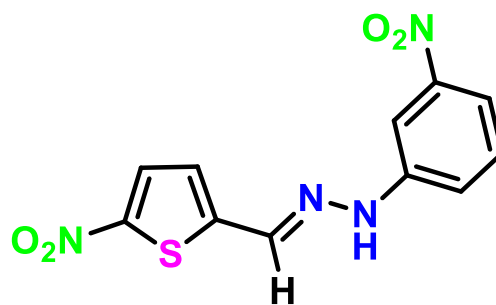


A-36
C₁₇H₁₄N₂S

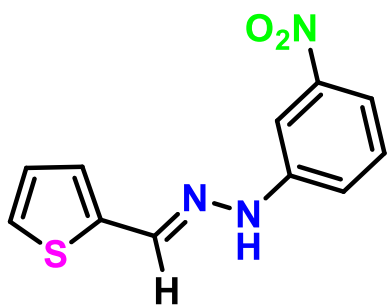
SERIE F



F-32



F-35



F-36



INTRODUCCIÓN

Se sabe que las hidrazonas tienen actividad biológica importante y muy variada gracias al grupo funcional $>C=N-N<$. Además, se ha observado que si la hidrazona contiene un heteroátomo la actividad se potencializa. Por tal motivo, el presente proyecto trata de aprovechar tal reactividad y por eso, se propone la síntesis de compuestos con estructuras nuevas tipo hidrazonas heterocíclicas aromáticas, principalmente con heteroátomos de oxígeno y azufre, con diferentes sustituyentes electroattractores, con la finalidad de realizar un análisis detallado de sus estructuras y poder correlacionarlas con sus propiedades, físicas, químicas y biológicas. A continuación, realizar su separación y purificación a través de técnicas habituales ampliamente conocidas, para posteriormente efectuar su evaluación en varias líneas celulares contra cáncer. Al mismo tiempo, efectuar comparaciones estructurales para lograr determinar otro sitio de reactividad existente en ésta moléculas aparte de la función hidrazona ($C=N-N$), que pudiera convertir tal estructura.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Sintetizar en condiciones verdes, purificar y caracterizar una familia de hidrazonas, así como evaluar su actividad anticancerígena en varias líneas celulares cancerosas.

Objetivos particulares:

- Sintetizar y purificar los compuestos tipo hidrazona derivados del tiofencarbaldehído y furanocarboxialdehído.
- Caracterizar las hidrazonas obtenidas mediante UV-Vis, IR, ^1H RMN, ^{13}C RMN, E. M. y rayos-X.
- Realizar la evaluación biológica de los compuestos obtenidos en las principales líneas celulares cancerosas: HTB-38 colon, HTB-177 pulmón, MOLT-4 leucemia y MCF-7 mama.

CAPITULO 1: GENERALIDADES

Grupo carbonilo

Los aldehídos y cetonas son compuestos que contienen al grupo carbonilo C=O. Cuando hay dos grupos alquilo unidos al carbonilo es una cetona. Cuando se tiene un grupo alquilo y un hidrógeno unido al carbonilo, se tiene un aldehído.

1.1 Estructura y enlace

El átomo de carbono carbonílico tiene una hibridación sp^2 y forma 3 enlaces σ . El cuarto electrón de valencia permanece en un orbital p del carbono y forma un enlace π con el oxígeno por el traslape de un orbital p del oxígeno. El átomo de oxígeno tiene dos pares de electrones libres los cuales ocupan sus orbitales restantes.

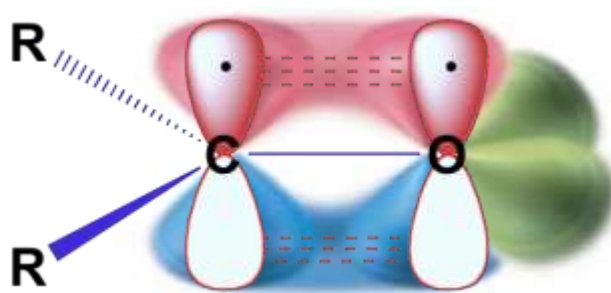


Figura 1. 1 Estructura del grupo carbonilo.

Los ángulos de enlace del grupo carbonilo son de 120° , aproximadamente, pero varían dependiendo del compuesto. La distancia entre el enlace C=O es de 122 pm, mucho menor en comparación a la distancia entre el enlace C-O de alcoholes y éteres.

El grupo carbonilo hace bastante polares a los aldehídos y cetonas, su momento dipolar es mucho mayor que el de los alquenos.

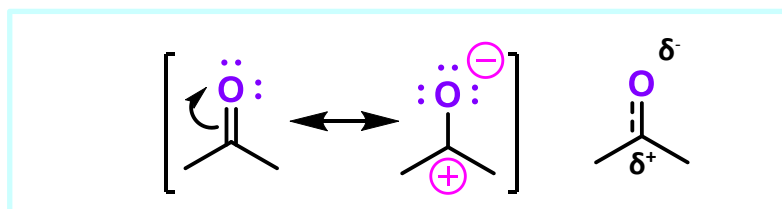


Figura 1. 2 Estructuras de resonancia.

Como se indica en la figura 1.3, el enlace C=O está polarizado debido a la alta electronegatividad del oxígeno en comparación del carbono y a la fácil polarización del enlace pi, por su formación.

El carbono parcialmente positivo del C=O tiene carácter de carbocatión y es electrofílico. El arreglo plano de sus enlaces hace que dicho carbono esté relativamente libre y sea susceptible al ataque por nucleófilos. El oxígeno es parcialmente negativo y débilmente básico.¹

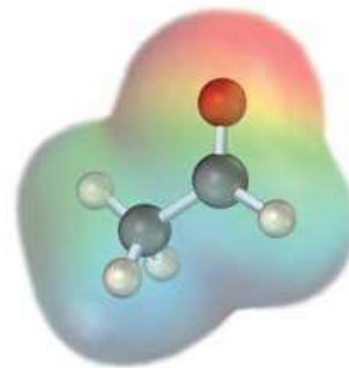


Figura 1. 3 Mapa de potencial electrostático del acetaldehído.

Los sustituyentes alquilo estabilizan al grupo carbonilo, liberando electrones al carbono carbonílico (efecto inductivo). Así una cetona es más estable que un aldehído, por ejemplo, la acetona tiene dos grupos alquilo que aportan electrones, mientras el aldehído solo uno.

1.2 Propiedades físicas

Los compuestos carbonílicos (aldehídos y cetonas) tienen puntos de ebullición más altos que los alquenos debido a su mayor polaridad, y las fuerzas de atracción entre dipolo-dipolo son más intensas. También tienen puntos de ebullición más bajos que los alcoholes debido a que pueden formar puentes de hidrógeno entre ellos.

Las cetonas y aldehídos son buenos disolventes de sustancias hidroxílicas polares como alcoholes y agua, debido a los enlaces de hidrógeno.²

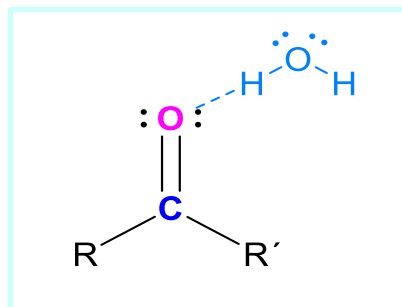


Figura 1. 4 Formación de un puente de hidrógeno entre el oxígeno del grupo carbonilo y el H del agua.

1.3 Síntesis de aldehídos y cetonas

Los aldehídos se pueden preparar por tres métodos de síntesis:

- Oxidación de alcoholes primarios.
- Ruptura oxidativa de alquenos.
- Reducción parcial de ácidos carboxílicos.

Las cetonas se pueden sintetizar por métodos similares a los aldehídos.¹

- Oxidación de alcoholes secundarios.
- Ozonólisis de alquenos.
- Acilación de Friedel-Crafts (para arilcetonas)
- Hidratación de alquinos con Hg^{2+} (metilcetonas).
- A partir de derivados de ácidos carboxílicos.

1.4 Reactividad

Debido a la particular estructura del grupo carbonilo descrita anteriormente, los aldehídos y cetonas pueden experimentar una amplia variedad de derivados útiles para la síntesis orgánica.³

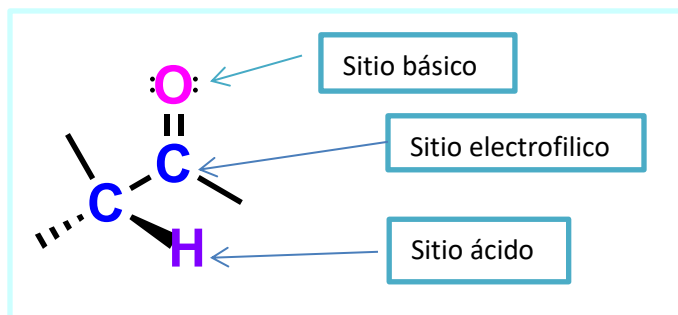


Figura 1. 5 Zonas reactivas del grupo carbonilo.

Sin embargo, la reacción más común que experimentan es la adición nucleofílica, es decir la adición de un nucleófilo y un protón al doble enlace C=O. Debido al poco impedimento que tiene el grupo carbonilo causada por la hibridación sp^2 del carbono carbonílico y a la

geometría plana de este, el carbonilo puede ser fácilmente atacado por el nucleófilo desde en ambos lados del plano.

Al atacar el nucleófilo con su par de electrones al carbono carbonílico sucede un cambio de hibridación de sp^2 a sp^3 , ya que se forma un nuevo enlace y por lo tanto los electrones del enlace π son desplazados hacia el átomo de oxígeno, surgiendo así un anión alcóxido, con geometría tetraédrica.

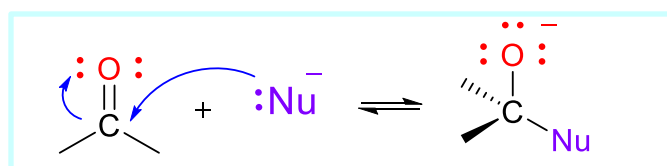


Figura 1. 6 Reacción de adición nucleofílica.

Parte importante de las reacciones de adición nucleofílica es la naturaleza del nucleófilo. Existen dos tipos de nucleófilos: los cargados negativamente y los neutros, que en general llevan un átomo de hidrógeno que se elimina durante la reacción.

Tabla 1.1 Nucleófilos negativos y neutros.

$:\text{Nu}^-$	$:\text{Nu}$
HO^- (ion hidróxido)	H_2O (agua)
H^- (ion hidruro)	ROH (alcohol)
R_3C^- (carbanión)	H_3N (amoníaco)
RO^- (ion alcóxido)	RNH_2 (amina)
$\text{N}\equiv\text{C}^-$ (ion cianuro)	

Dependiendo de la naturaleza del nucleófilo, el intermediario tetraédrico puede experimentar dos situaciones diferentes:

- Protonarse con agua o ácido y dar formación al alcohol.
- Protonarse y eliminar el oxígeno para dar un doble enlace entre el $\text{C}=\text{Nu}$.

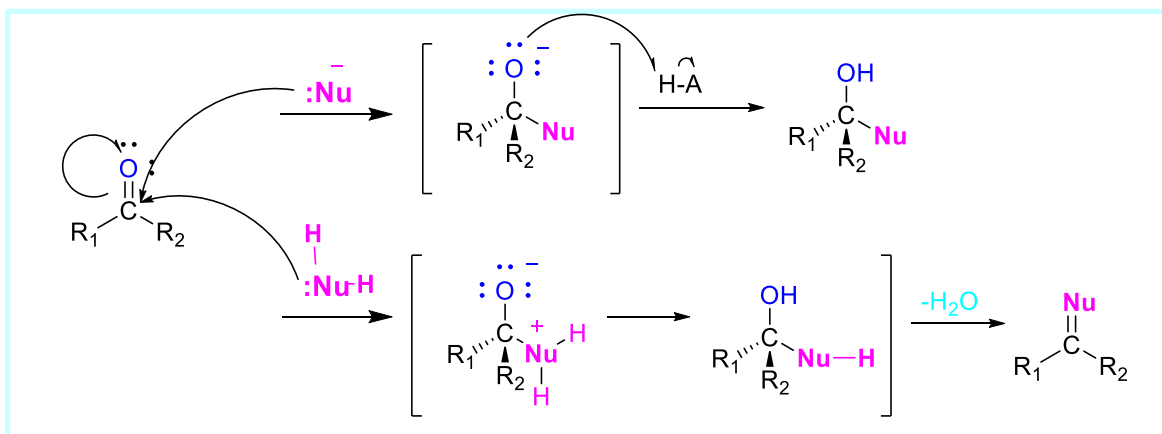


Figura 1. 7 Tipos de reacción generales que siguen la adición o sustitución de un nucleófilo a un grupo carbonilo.

Los aldehídos son más reactivos que las cetonas en las reacciones de A_N por efectos estéricos y electrónicos. Debido a que los aldehídos solo tienen un sustituyente alquilo en comparación con los dos sustituyentes de las cetonas, hace posible que el nucleófilo se aproxime con mayor facilidad al carbono carbonílico, haciendo posible que se forme el intermediario tetraédrico más rápidamente y con un gasto de energía menor en comparación con las cetonas.

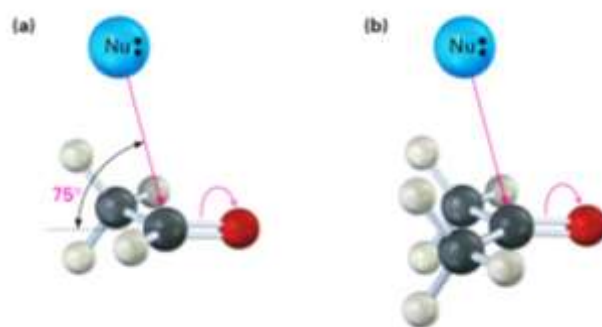


Figura 1. 8 a) Ataque nucleofílico a un aldehído, b) Ataque nucleofílico a una cetona.

Electrónicamente, los aldehídos son más reactivos debido a la mayor polarización entre su enlace $C=O$, en las cetonas el C carbonílico es compensado por los dos sustituyentes alquilo por efecto inductivo, sin embargo, los aldehídos al solo contar con el efecto inductivo de un solo sustituyente alquilo hace que el C carbonílico sea un poco más electrofílico.

Los aldehídos aromáticos son menos reactivos en comparación con los aldehídos alifáticos a las reacciones de A_N debido al efecto de resonancia presente, por ejemplo, en el benzaldehído, el anillo aromático provoca un efecto de resonancia electrodonador, haciendo que el átomo de carbono carbonílico que estabilice y sea menos reactivo.

Entre las principales reacciones de adición nucleofílica se encuentran las siguientes:

- A_N de agua (hidratación).
- A_N de HCN (formación de cianohidrinas)
- A_N de reactivos de Grignard y de hidruros (formación de alcoholes).
- A_N de aminas (formación de iminas y enaminas).
- A_N de hidracina (reacción de Wolff-Kishner).
- A_N de alcoholes (formación de acetales).
- A_N de hidruros de fosforo (reacción de Wittig).
- A_N conjugada a aldehídos y cetonas α , β -insaturados.

1.5 Adición nucleofílica de aminas

El grupo carbonilo de aldehídos y cetona reaccionan con aminas primarias para dar la formación de iminas ($R_2C=NR$). Mientras que si reaccionan con aminas secundarias se produce una enamina ($R_2N-CR=CR_2$).

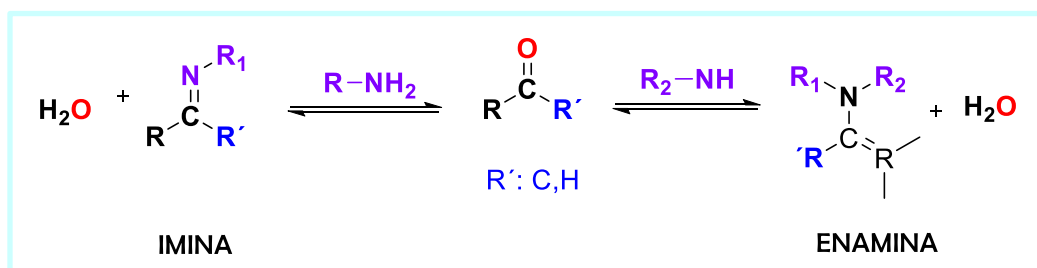


Figura 1. 9 Reacción de adición nucleofílica de aminas a grupo carbonilo.

Aunque ambas reacciones son muy similares, y sean de adición nucleofílica, en la formación de iminas se produce un enlace $C=N$, mientras que en la reacción de aminas secundarias para formar enaminas se produce un enlace $C=C$.

Las iminas se forman en un proceso reversible catalizado por ácidos, primero ocurre la adición nucleofílica de la amina primaria al grupo carbonilo del aldehído o cetona (formación del intermediario tetraédrico), seguida por la transferencia de un protón al oxígeno, posteriormente se vuelve a protonar por la presencia del medio ácido (catalizador), formando así al $-OH$ en un mejor grupo saliente ($^+OH_2$), ya que el grupo que sale es agua produciéndose un ion iminio que se convierte posteriormente en imina por la pérdida de un protón del nitrógeno, regenerándose el medio ácido de la reacción (catalizador).

En este tipo de reacciones, la formación de las iminas y enaminas va a depender del pH, si el pH es muy ácido o básico, la formación será lenta. La formación de iminas y enaminas alcanza una rapidez máxima a un pH débilmente ácido alrededor de 4 a 5.

La dependencia de la rapidez de reacción con el pH se debe a que se necesita un medio ácido (catalizador) para protonar al oxígeno y pueda formarse un buen grupo saliente (agua) para que los posteriores pasos sucedan y se dé la formación del producto. Sin embargo, no puede ser el medio demasiado ácido ya que se protonaría la amina y ya no reaccionaría.

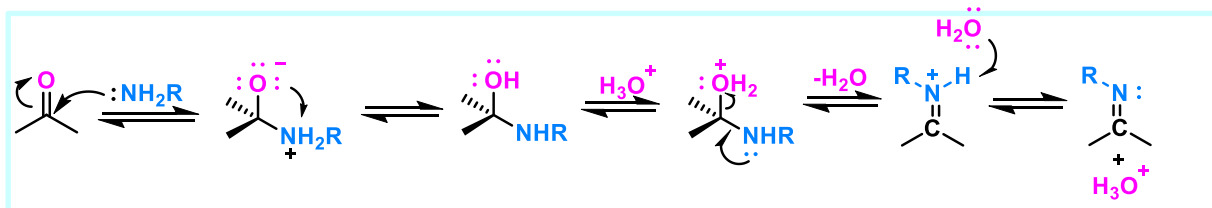
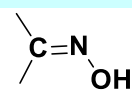
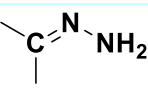
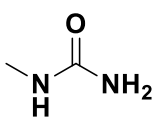
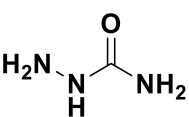
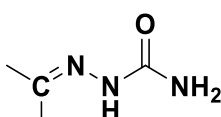


Figura 1. 10 Mecanismo de A_N de aminas.

Además de las aminas primarias, otros compuestos con estructura similar del tipo H_2NZ reaccionan con el grupo carbonilo de aldehídos y cetonas formando así, un enlace $C=NZ$ y una molécula de agua. En la siguiente tabla se muestran ejemplos de este tipo de reacciones.

Tabla 1.2.

Z	REACTIVO	PRODUCTO
-OH	$\text{H}_2\text{N-OH}$ Hidroxilamina	 Oxima
-NH ₂	$\text{H}_2\text{N-NH}_2$ Hidrazina	 Hidrazona
	 Semicarbazida	 Semicarbazona

Los productos de estas reacciones son de gran importancia y muy útiles para reacciones posteriores, ya que suelen ser compuestos sólidos, con punto de fusión característicos, fáciles de sintetizar y porque algunas tienen relevancia en los procesos biológicos. Además, son punto de partida para la identificación y caracterización de compuestos carbonílicos originales.

CAPITULO 2: ANTECEDENTES

2.1 HIDRAZONAS

Las Hidrazonas constituyen una importante clase de moléculas biológicamente activas, las cuales han atraído gran atención por los investigadores debido a su amplia gama de propiedades farmacológicas. Este tipo de compuestos han sido sintetizados como fármacos con el propósito de combatir enfermedades, ya que presentan una mínima toxicidad y un mayor efecto en comparación con otros fármacos. Estas propiedades han incentivado a los investigadores para desarrollar nuevas hidrazonas biológicamente activas.^{4,5}

Las hidrazonas poseen estas propiedades debido a que en su estructura posee un protón azometino $\text{NHN}=\text{CH}$, el cual deriva de un aldehído o cetona en los que el átomo de oxígeno ha sido remplazado por el grupo $=\text{NNH}_2$.⁶

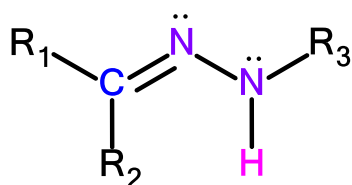


Figura 2.1 Estructura general de una Hidrazona.

Los protones del grupo azometino que contienen las hidrazonas constituyen una clase importante de compuestos para el desarrollo de fármacos.

Las hidrazonas se forman por la reacción de hidracina o hidracida con aldehídos y cetonas.

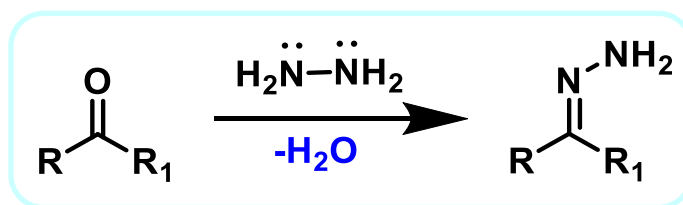


Figura 2.2 Reacción general para la obtención de hidrazonas.

Las hidrazonas son ampliamente usadas en síntesis orgánica. Muchos compuestos efectivos tales como iproniazida e isocarbazida se sintetizan mediante la reducción de hidrazida-hidrazonas.⁶

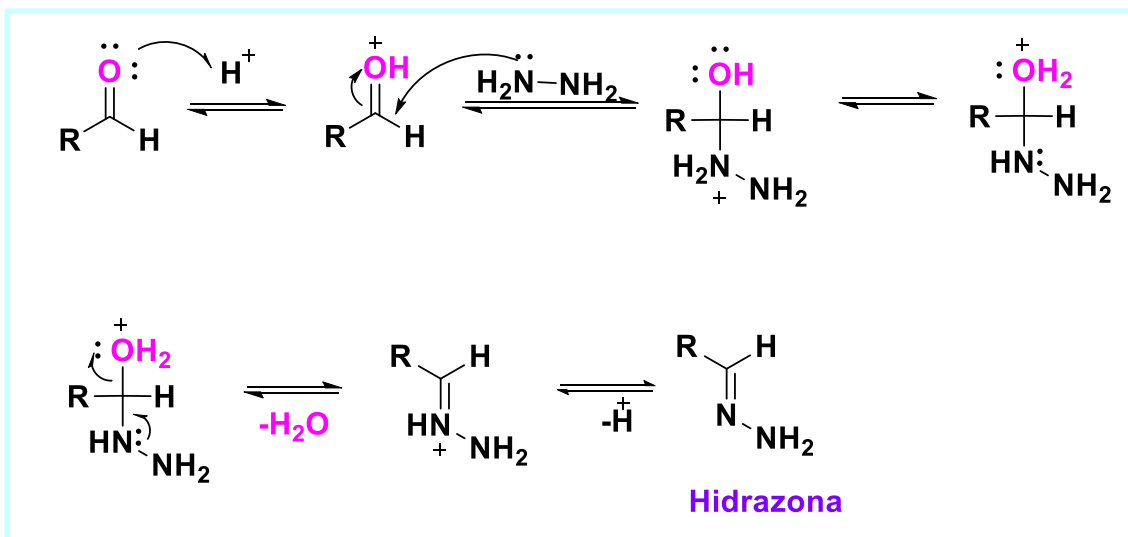


Figura 2.3 Mecanismo de reacción de la síntesis de Hidrazonas.

El hidrógeno alfa de las hidrazonas es más nucleofílico en comparación con el hidrógeno alfa de las cetonas, esto es debido a que el átomo de hidrógeno de las hidrazonas es 10 veces más ácido que el de las cetonas.

La más significativa reactividad de las hidrazonas está en la nucleoficidad del átomo de hidrógeno carbono.

El resultante doble enlace entre los átomos de carbono y nitrógeno de las hidrazonas contribuye a la formación de los isómeros geométricos (sin y anti). El isomerismo geométrico tiene gran importancia en la actividad biológica de éstas.

Las hidrazonas tienen dos átomos de nitrógeno conectados de diferente naturaleza y un doble enlace C-N que está conjugado con un par de electrones libres del átomo de nitrógeno adyacente. Estos fragmentos estructurales son los responsables de las propiedades fisicoquímicas de las hidrazonas. Ambos átomos de nitrógeno de las hidrazonas son nucleofílicos, además el nitrógeno de tipo amino es más reactivo. El átomo de carbono imínico tiene carácter nucleofílico y electrofílico.⁷

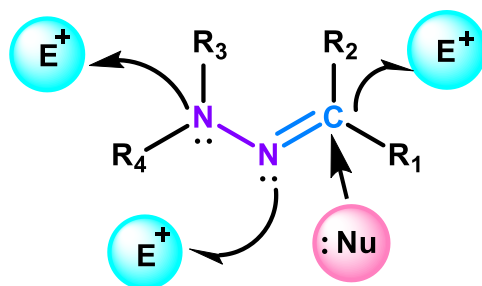


Figura 2.4 Puntos de reactividad en hidrazonas.

2.2 APLICACIONES

Entre sus diversas aplicaciones se encuentran como anticonvulsivantes, antidepresivos, analgésicos, antiinflamatorios, antiplaquetarias, antipalúdicas, antimicrobianas, antimicobacterianas, anticancerígenas, vasodilatadoras, antivirales, anti-VIH, anti-helmínticas, antidiabéticas y tripanocidas.⁸⁻¹³

2.2.1 Actividad anticonvulsivante

La epilepsia ha sido una enfermedad que ha afectado a un gran número de personas, debido a esto, se ha investigado y estudiado nuevos fármacos antiepilépticos. Los estudios biológicos demuestran que en general las acetilhidrazonas (Fig. 2.3 a) proporcionan buena protección contra las convulsiones mientras que las oxamoihidrazonas (Fig.2.5 b) fueron significativamente menos activas.^{14,15}

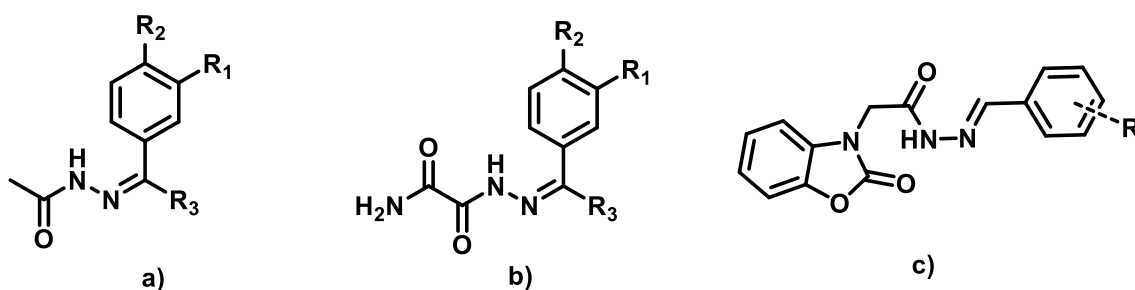


Figura 2.5.

También se han sintetizado alrededor de cincuenta nuevas hidrazonas derivadas de (2-oxobenzoxalin-3-il)acetohidrazida (Fig. 2.5c), y los resultados de su actividad antiepiléptica en la prueba scPTZ demostraron que el derivado 4-fluoro fue más activo en comparación con los demás.¹⁶

2.2.2 Actividad antidepresiva

Algunos derivados de compuestos hidrazida como la iprionazida, isocarboxiazida y nialamida inhiben la enzima monoamina oxidasa (MAO). Esta enzima está asociada con problemas de depresión y otros trastornos neurológicos, debido a que desempeña un papel en la inactivación de neurotransmisores.

Han sido muchas las investigaciones de la actividad antidepresiva y/o inhibitoria (MAO) de hidrazonas son aquellas derivadas de hidrazidas sustituidas y productos de reducción.¹⁷

2.2.3 Actividad analgésica, antiinflamatoria y antiplaquetaria

El antiinflamatorio más importante deriva del 2-(2-formilfuril)piridilhidrazona (fig. 2.6), presenta un 79 % de inhibición de pleuresía en una dosis de 80 $\mu\text{mol/Kg}$. El compuesto fue capaz de formar complejo de Ca^{2+} *in vitro* en experimentos a una concentración de 100 μM , de ahí deriva su actividad.¹⁸

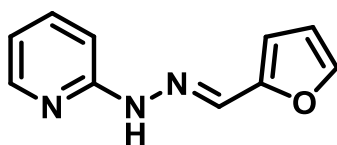


Figura 2. 6.

Se ha estudiado que los derivados de acilhidrazona tricíclica tiene actividad antiplaquetaria, este tipo de compuestos tienen la capacidad de inhibir la agregación plaquetaria del plasma en condiciones establecidas. La evaluación del perfil antiagregante plaquetario permitió identificar un nuevo prototipo potente derivado antiplaquetario (Figura 2.7), es decir bencilideno 10*H*-fenotiazina-1-carbohidrazida ($\text{IC}_{50} = 2.3 \mu\text{M}$).^{19,20}

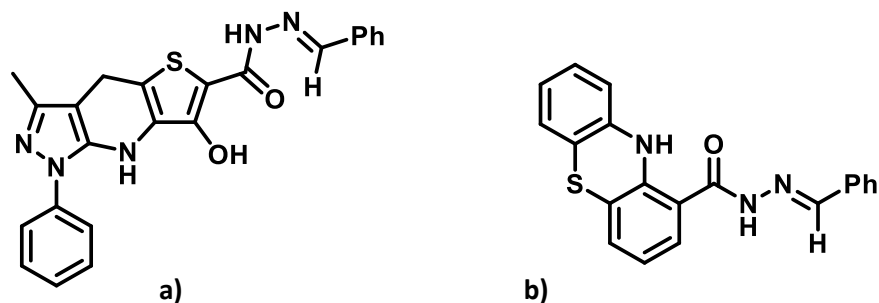


Figura 2. 7.

Gökhan-Kelekçi sintetizó hidrazonas que contienen en su estructura 5-metil-2-benzoxazolina. Los efectos analgésicos de estas hidrazonas 2-[2-(5-metil-2-benzoxazolina-3-il)acetil]-4-cloro- / 4-metil bencilideno hidrazonas (Fig. 2.8) fueron más altas en comparación con la morfina y aspirina.²¹

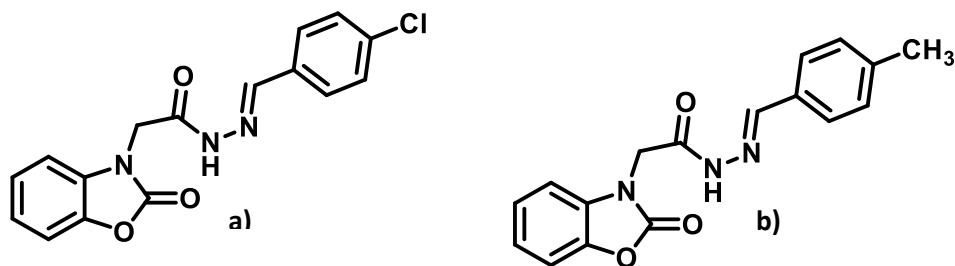


Figura 2. 8.

2.2.4 Actividad antimalaria

Moléculas como el quelante de aroilhidrazona 2-hidroxi-1-naftilaldehído isonicotinoil hidrazona (Fig. 2,9) mostró mayor actividad como agente antimalárico que la deferoxamina contra la resistencia a la cloroquina y la sensibilidad parásitos.²²

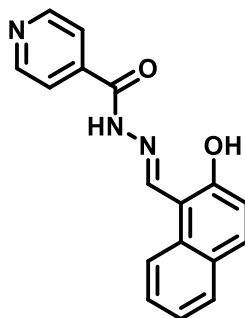


Figura 2. 9.

2.2.5 Actividad antimicrobiana

Rollas et al. sintetizaron una serie de hidrazidas hidrazonas y 1,3,4-oxadiazolinas de 4-fluorobenzoico hidrazida acida como posibles agentes antimicrobianos y probó estos compuestos para sus actividades antibacterianas y antifúngicas contra *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*. De estos compuestos el ácido 4-fluorobenzoico [(5-nitro-2-furil) metileno] hidrazida (Figura 2.10) mostraron igual actividad como la ceftriaxona contra *S. aureus*.²³

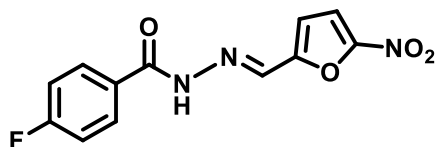


Figura 2. 10.

Una serie de hidrazonas sintetizadas a partir de diversos derivados del colesterol 30, se evaluaron para sus propiedades antimicrobianas in vitro contra patógenos humanos. La actividad era altamente dependiente de la estructura de los diferentes compuestos involucrados. Los mejores resultados se han obtenido con derivados del colesterol de tosilhidrazona que presentan actividades contra *C. albicans* (CIP 1663-80) en una concentración de 1.5 µg / mL.²⁴

2.2.6 Actividad antitumoral

La búsqueda de medicamentos antitumorales condujo al descubrimiento de varias hidrazonas que tienen actividad antitumoral. Algunas de las hidrazonas fenólicas mostraron una inhibición uterotrófica máxima del 70%, mientras que el compuesto exhibió citotoxicidad en el rango de 50-70% contra líneas de células mamarias malignas humanas MCF-7 y ZR-75-1.²⁵

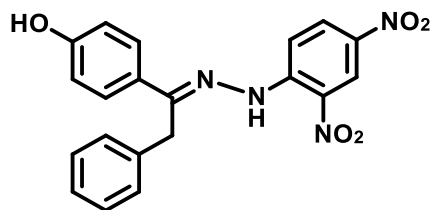


Figura 2. 11.

2.2.7 Otras aplicaciones

Además de las aplicaciones farmacológicas, las hidrazonas se usan como transporte de huecos en fotoconductores, como reactivos analíticos cuantitativos, especialmente en determinaciones fluororimétricas y colorimétricas de iones metálicos.^{27,28}

También algunas hidrazonas han sido utilizadas como herbicidas, insecticidas, nematocidas, rodenticidas y reguladoras de crecimiento de plantas, así como estabilizantes y plastificadores de polímeros.

Los complejos metálicos de hidrazonas tienen aplicaciones potenciales como catalizadores, sondas luminiscentes y sensores moleculares.²⁹

CAPITULO 3: RESULTADOS

Reacción general

Los compuestos tipo hidrazona mostrados en este trabajo se sintetizaron a partir de *N,N*-difenilhidracina con tres diferentes aldehídos derivados del tiofenocarboxialdehído y furanocarboxialdehído. Estas reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente y en agitación constante durante varias horas, dependiendo de los sustratos. Las reacciones fueron monitoreadas periódicamente por cromatografía en capa fina. Para la purificación de estos compuestos se dejaron cristalizar y posteriormente se recrystalizaron por evaporación lenta o por difusión.

Después de haber purificados los productos de las tres reacciones presentadas, se procedió a su respectiva caracterización por determinación de punto de fusión, espectroscopía UV-Vis, IR, espectrometría de masas E.I de alta resolución y RMN. Con estos estudios se pudieron determinar y corroborar las estructuras propuestas de las tres hidrazonas A-32, A-35 y A-36.

Los resultados de las reacciones y la caracterización de las hidrazonas se muestran a continuación.

Reacción A-32

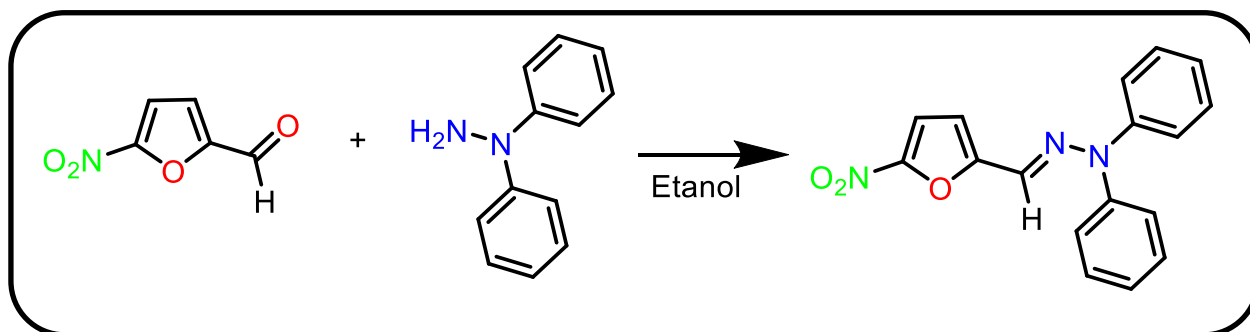


Figura 3. 1 Síntesis de la Hidrazona A-32

Se obtuvieron pequeños cristales de color naranja-rojizo en un 82 % de rendimiento, los cuales fueron caracterizados física y espectroscópicamente para su posterior evaluación biológica.

Tabla 3. 1

Hidrazona	Color	Formula Condensada	Rendimiento	p.f °C	Peso molecular (g/mol)
A-32	Naranja-rojizo	C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₃	78%	132-134	307.3

Espectroscopia UV-vis

El compuesto obtenido se analizó por espectroscopia UV-vis debido a que presenta cromóforos, es decir, sistemas π -conjugados y un heteroátomo (O) con pares de electrones no conjugados, lo que permite observar su espectro como se muestra en la siguiente figura.

La hidrazona se diluyó en acetona, el color de la disolución es amarilla.

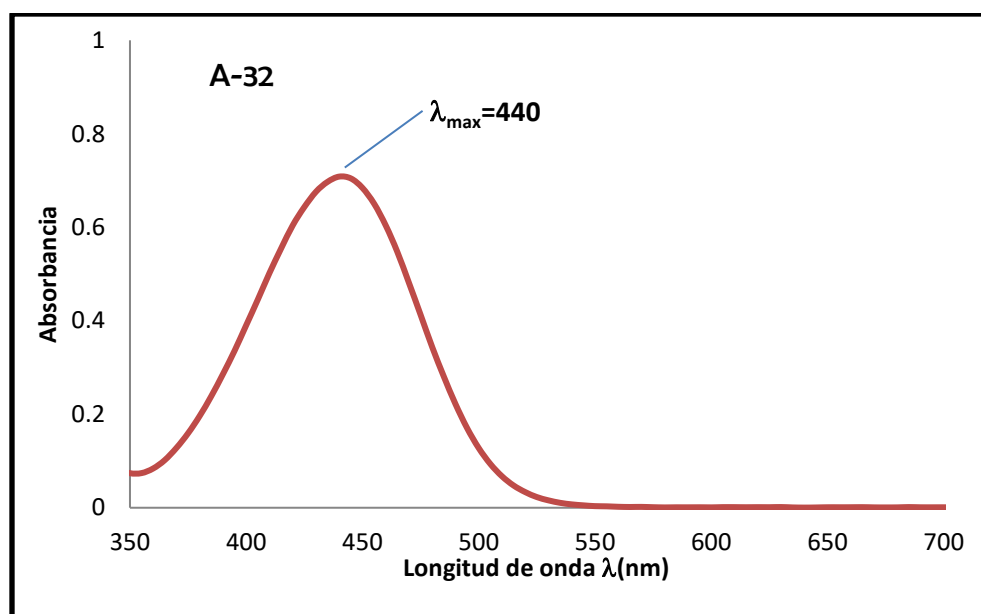


Figura 3. 2 Espectro de UV hidrazona A-32.

El espectro muestra que la hidrazona A-32 presenta una absorbancia máxima a una longitud de onda de 440 nm, por lo tanto, el color que absorbe es el violeta y transmite el color amarillo, este color concuerda con el color de la muestra en acetona. La longitud de onda a la que absorbe determina el color de la hidrazona, es decir la porción de radiación electromagnética que no absorbe y por lo tanto es transmitida a través de ella y puede ser captada por el ojo humano.

Espectroscopía infrarroja

La hidrazona A-32 fue analizada por espectroscopía IR, para poder determinar la presencia del grupo azometino, característico de este tipo de compuestos, así como los demás grupos funcionales que presentan las hidrazonas, esto es gracias a las bandas de absorción de que presentan cada uno de ellos tomando como referencia a materia prima (aldehído) y la hidracina utilizada.

Los espectros se realizaron en pastilla de KBr, en el intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} . En las figuras (3.3 a,b,c) muestran los espectros de la hidrazona A-32 y los espectros de las materias primas como referencia, así como la identificación de las bandas correspondientes. Comparando los espectros se puede observar la presencia del grupo azometino y de los grupos funcionales presentes en la estructura de la hidrazona propuesta.

Se observa que los espectros de las materias primas y el producto (hidrazona), son totalmente diferentes, cada uno muestra bandas de absorción características de los grupos funcionales que tienen en su estructura, en el espectro del nitrofuraldehído, se muestra la banda característica del grupo carbonilo (1691 cm^{-1}), mientras que en el espectro de la hidrazona A-32 podemos observar diversas bandas características; la banda en 1558 cm^{-1} corresponde a la vibración del enlace C=N, la banda a 3136 cm^{-1} corresponde al enlace $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ de los carbonos del nitrofuránil, mientras que el enlace $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ de los sustituyentes fenilos, se encuentra a 3057 cm^{-1} , las señales en 1342 cm^{-1} son características del grupo nitro. En la tabla 3.2 se resumen las bandas señaladas en el espectro IR de la hidrazona A-32.

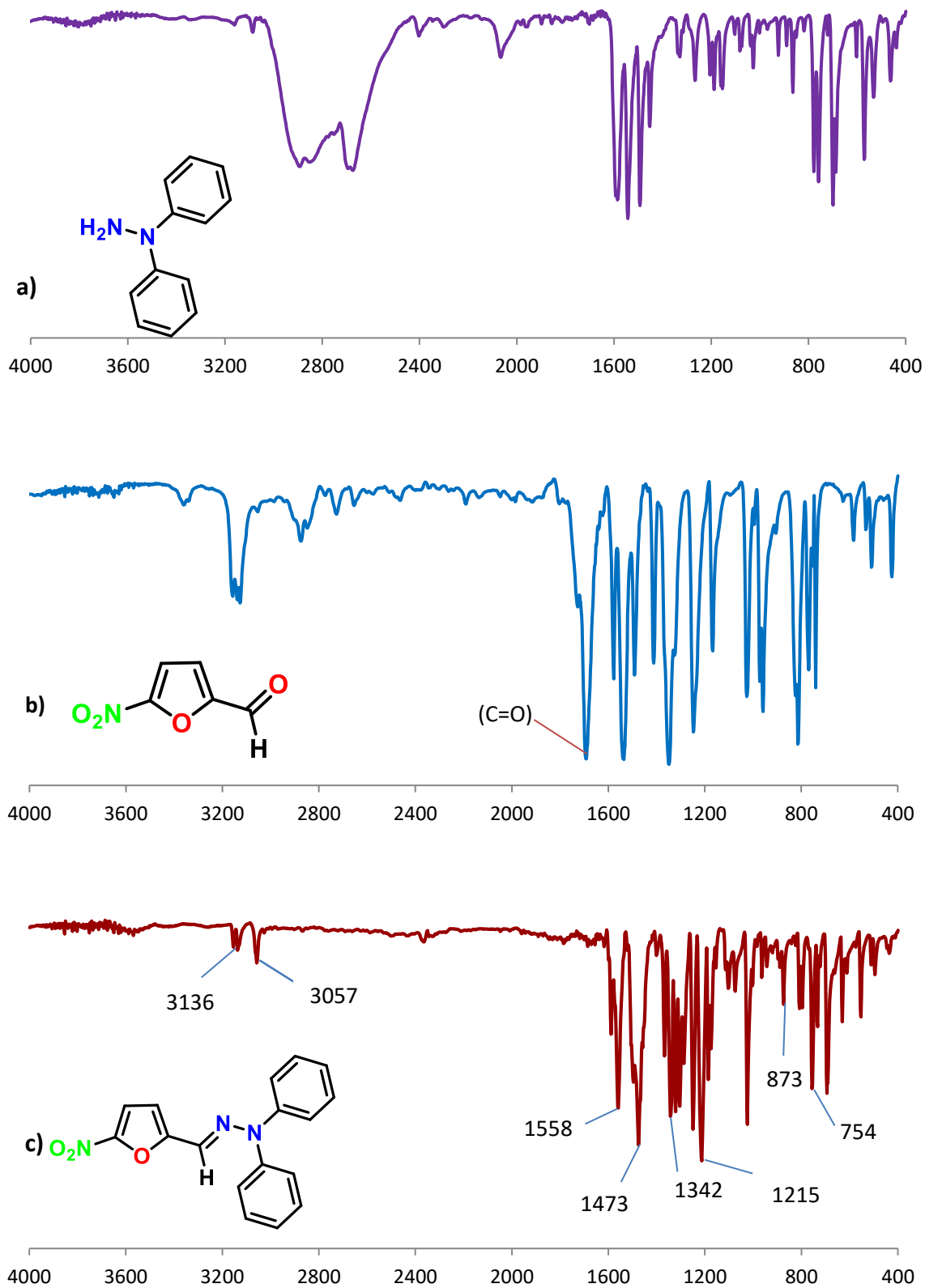


Figura 3. 3 Espectros de IR a) difenilhidracina b) nitrofurancarboxialdehido c) hidrazona A-32 en KBr en cm^{-1} .

Tabla 3. 2 principales bandas de absorción IR de la hidrazona A-32.

Enlace	Numero de onda (cm ⁻¹)
C _{sp2} -H (furano)	3136
C _{sp2} -H (fenilo)	3057
C=N	1558
C=C	1473
NO ₂	1342
C-O (furano)	1215
C-H (aromático monosustituido)	754, 732

Resonancia Magnetica Nuclear

El compuesto se analizó mediante RMN de ¹H y ¹³C, se utilizó como disolvente cloroformo deuterado y se llevo a cabo a temperatura ambiente . El espectro de ¹H se muestra en la figura 3.4.

El espectro de ¹H muestra señales en la zona aromática, debido a que la mayoría de protones en la molécula son aromáticos y uno imínico. La tabla 3.1 resume los datos obtenidos del espectro de ¹H. Como puede observarse, a frecuencias bajas aparecen los H *meta* (tripleto) y a frecuencias un poco más altas aparecen los H *para* y *orto* en forma de tripleto y en multiplete, esto es debido a las interacciones y acoplamientos que tienen entre sí con los protones del anillo aromático.

Los H correspondientes al nitrofurano se encuentran a 7.39 y 6.82 ppm, ambas señales son dobletes, la diferencia en su desplazamiento químico es debido a la presencia de un grupo nitro en la posición 5 del heterociclo aromático, que hace que el protón adyacente a él esté desapantallado y por lo tanto aparezca a frecuencias más bajas, en comparación con el H del carbono 3, el cual está protegido por efecto de resonancia. Finalmente el hidrogeno imínico aparece como un singulete en 7 ppm.

A-32
A-32

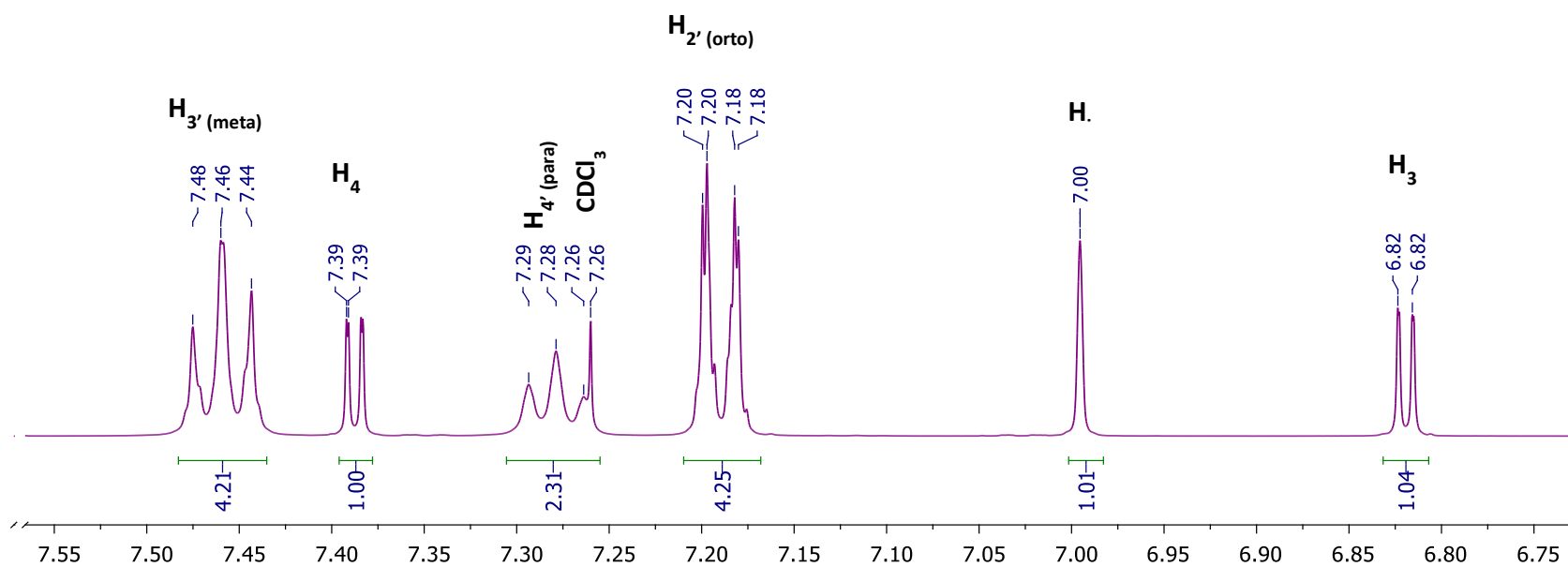
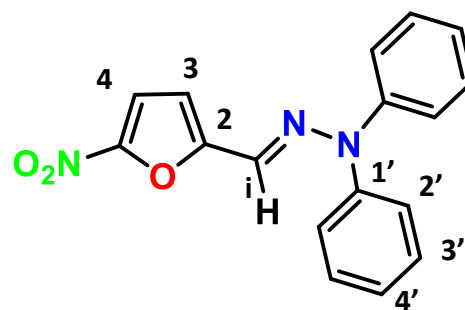
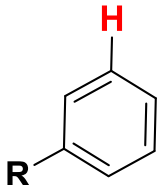
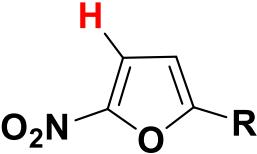
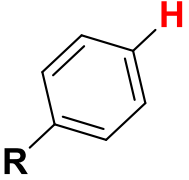

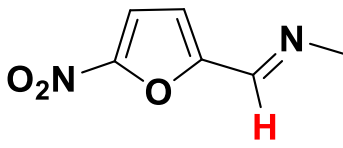
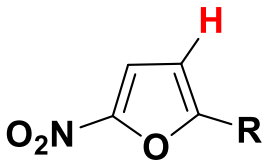


Figura 3. 4 Espectro de RMN ^1H a 500 MHz de A-32 en CDCl_3 .

Tabla 3. 3 Asignación de señales del espectro de RMN 1H del compuesto hidrazona A-32.

Estructura	δ (ppm)	Multiplicidad	Asignación	Integral relativa
	7.48-7.44	Triplete $J=7.9$ Hz	H <i>meta</i> del fenilo	4
	7.39-7.38	dd $J= 3.9,0.5$ Hz	H unido al C ₄	1
	7.29-7.26	triplete $J=7.4$ Hz	H <i>para</i> del fenilo	2
	7.19-7.17	dt $J=8.7, 1.7$ Hz	H <i>orto</i> del fenilo	4
	7.48-7.44	Singlete	H imínico	1
	6.82-6.81	m	H unido al C ₃	1

RMN ¹³ C

El espectro de ¹³C se muestra en la figura 3.5, en el espectro se observan 9 señales, correspondientes a los 9 carbonos diferentes que tiene la hidrazona, los carbonos ipso tienen señales características debido a son picos pequeños y un poco anchos, estos se encuentran a 151.1, 142.15, 125.9 y 122,4 ppm correspondientes a los carbonos C₅, C₂, C_i y C_{1'}.

Los carbonos secundarios presentan señales agudas, los carbonos C₄, C_{3'}, C_{2'}, C₃ y C_{4'}, presentan desplazamientos a 155.4, 130.1, 122.7, 114.6 y 108.6 ppm respectivamente.

A-32
A-32

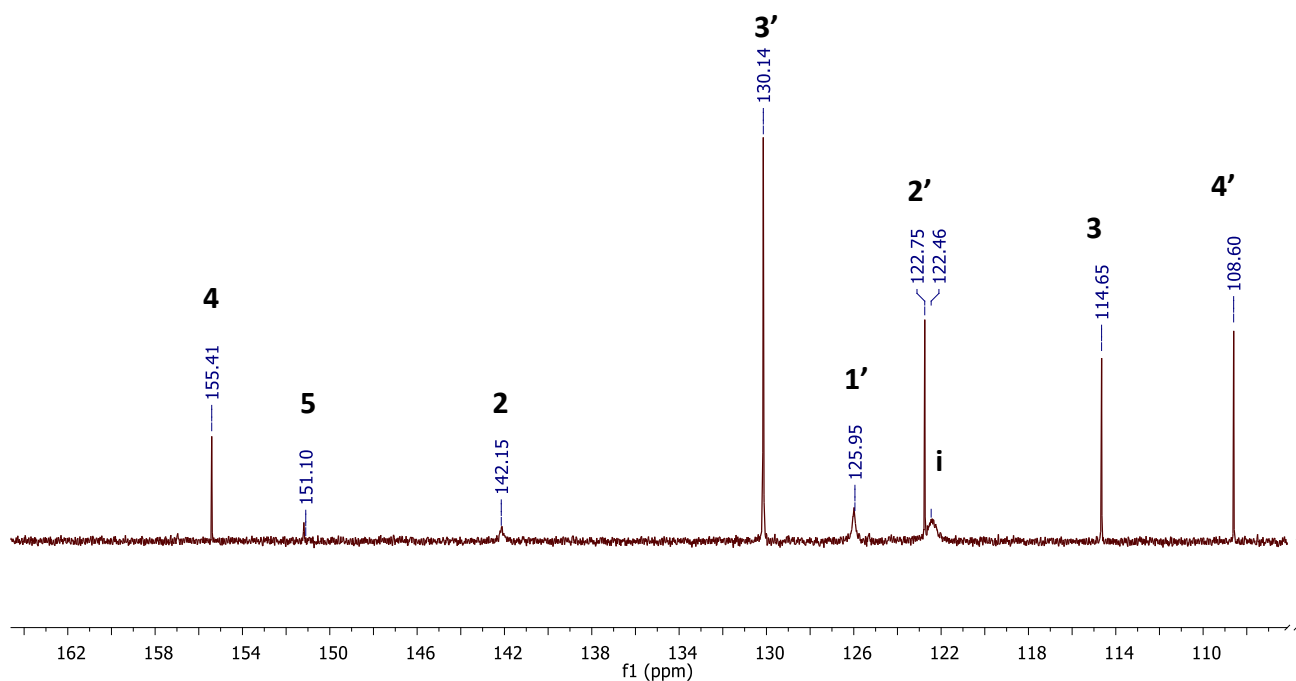


Figura 3. 5 Espectro de ¹³C a 123 MHz de A-32 en CDCl₃.

Espectrometría de masas

En la figura 3.6 se muestra el espectro de masas de la hidrazona A-32. En el fragmento se observa el ion molecular M^+ ($m/z=307$), correspondiente al peso molecular de la muestra y el pico base ($m/z=168$) que corresponde al fragmento $[(C_6H_5)_2N]^+$.

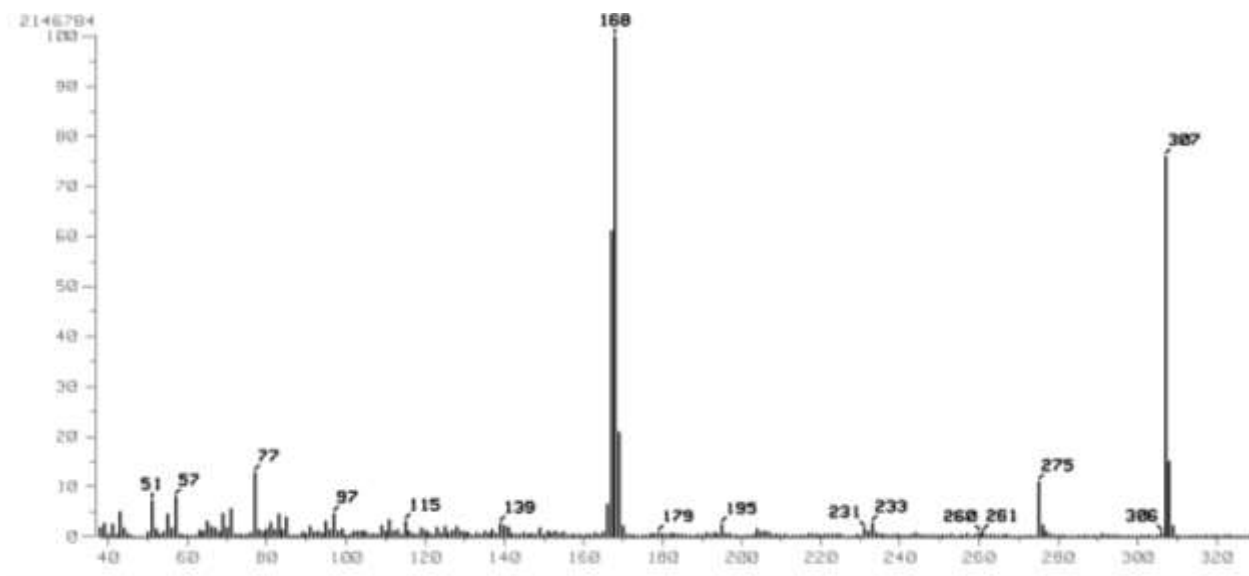


Figura 3. 6 Espectro de masas hidrazona A-32.

Reacción A-35

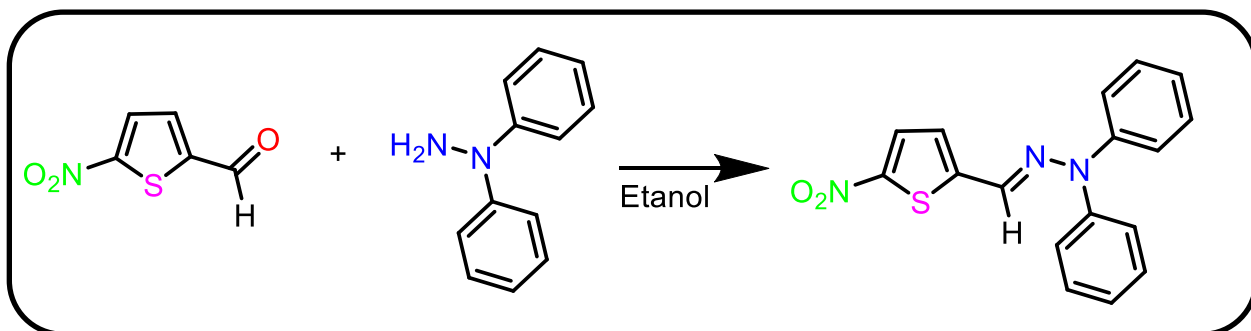


Figura 3. 7 Síntesis de la hidrazona A-35.

Se obtuvieron cristales color rojo cereza en forma de hexágono irregular, los cuales se caracterizaron mediante las técnicas espectroscópicas mencionadas anteriormente para su posterior evaluación en líneas celulares cancerosas.

Tabla 3. 4.

Hidrazona	Color	Formula Condensada	Rendimiento	p.f °C	Peso molecular (g/mol)
A-35	Rojo cereza	C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₂ S	82%	127-129	323

Espectroscopia UV-Vis

La hidrazona se diluyó en acetona para su análisis en espectroscopia UV-Vis, el color de la disolución fue de color naranja tenue. El espectro UV-Vis (figura 3.5) muestra que la hidrazona tiene una absorbancia máxima en 465 nm, esto nos muestra que a esta longitud de onda el color que transmite y es visible al ojo humano es el naranja.

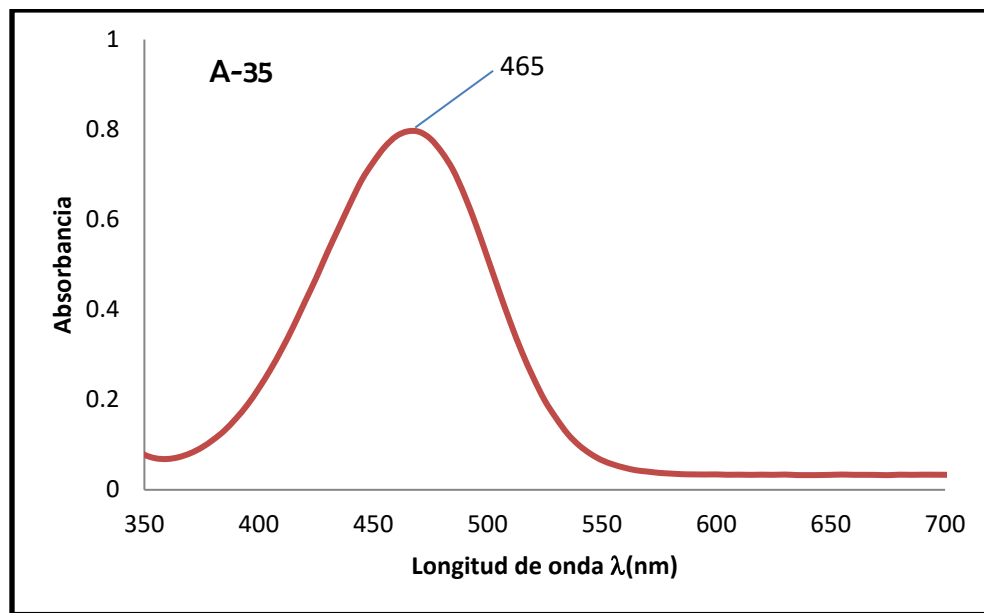


Figura 3. 8 Espectro UV hidrazona A-35.

Espectroscopía infrarroja

En la figura 3.9 se muestran los espectros obtenidos por espectroscopia infrarroja de las materias primas (a y b) y de la hidrazona (c), como se puede observar el espectro de la hidrazona es completamente distinto a los de las materias primas, y por lo tanto las bandas de absorción corresponden a los diferentes grupos funcionales contenidos en la estructura.

En el espectro de la hidrazona (figura 3.6 c) se observan las diferentes señales características ;la señal a 1584 cm^{-1} corresponde a la vibración del enlace C=N, la señal a 2916 cm^{-1} pertenece al enlace $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ de los fenilos, mientras que la señal a 3024 cm^{-1} corresponde al enlace $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ de los carbonos del tiofeno, la bandas a 1483 y 1325 cm^{-1} son características del grupo nitro y finalmente la señal presente a 700 cm^{-1} corresponde a l enlace de carbono aromático monosustituido. En la tabla 3.4 se muestra de manera resumida las bandas de absorción de la hidrazona A-35.

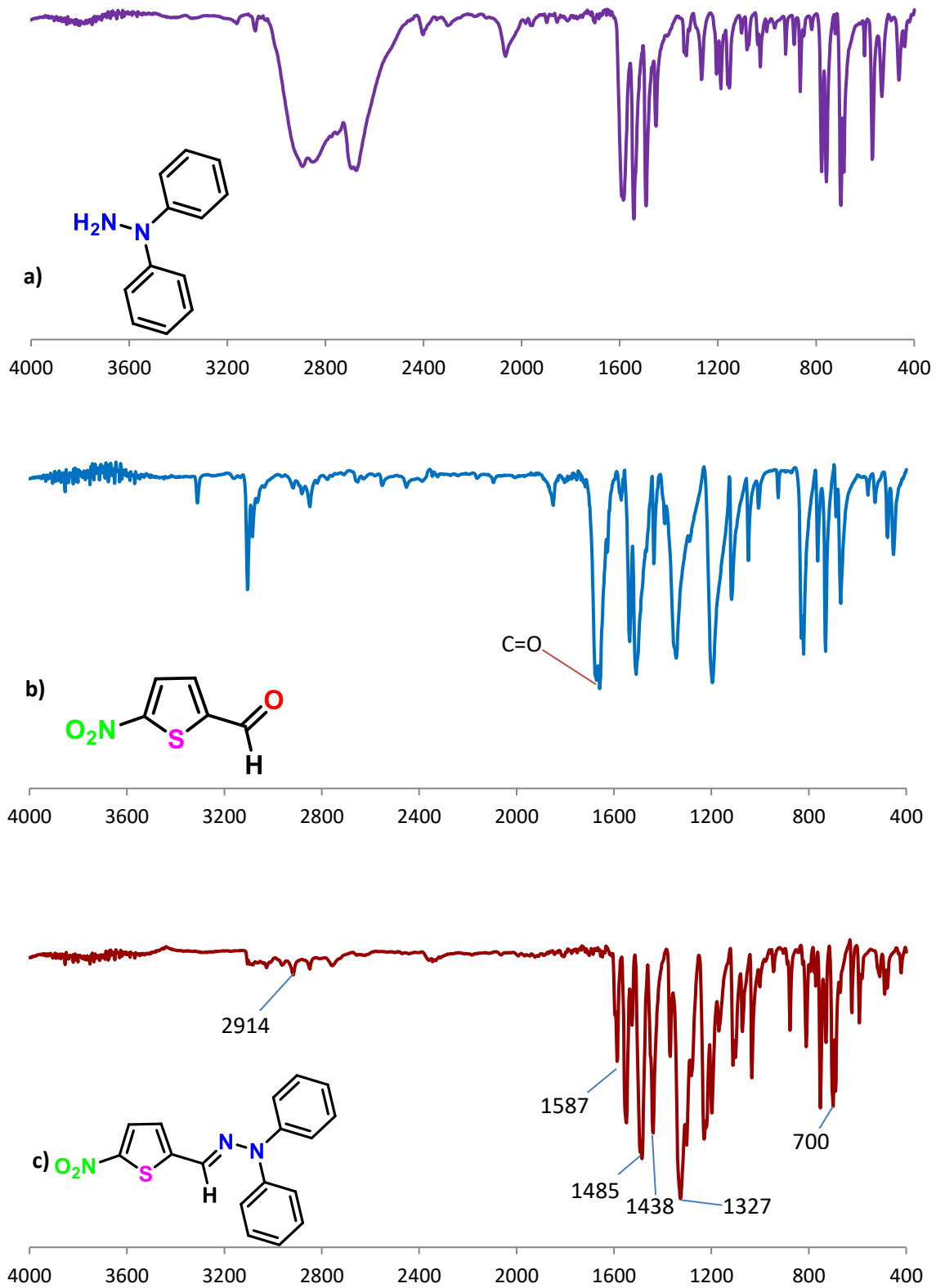


Figura 3. 9 Espectros de IR a) difenilhidracina b) nitrotiofencarboxialdehido c) hidrazona A-32 en KBr en cm⁻¹.

Tabla 3. 4 principales bandas de absorción IR de la hidrazona A-35.

Enlace	Numero de onda (cm ⁻¹)
C _{sp2} -H (tiofeno)	3024
C _{sp2} -H (fenilo)	2916
C=N	1587
C=C	1438
NO ₂	1483, 1325
C-H (aromático monosustituido)	700

Espectroscopía RMN

El espectro correspondiente a la hidrazona A-35 (Fig. 3.10) muestra 6 señales diferentes correspondientes a los 6 protones distintos que contiene la estructura de la hidrazona. El espectro muestra un singulete en 7.12 ppm, esta señal es característica del protón del grupo –CH=N-, posteriormente se observan señales en la zona aromática provenientes H *meta*, *orto* y *para* de los sustituyentes fenilo. La señal H *meta* (triplete) se encuentran a frecuencias un poco más bajas que los H *para* y *orto*. En 7.29 a 7.26 ppm se encuentra un triplete que corresponde a los H *para*, sin embargo, debido a la señal del cloroformo en 7.26 ppm, hace que el último pico se traslape, mientras que para los H *orto* la señal es un doble de dobles (dd), esto es debido a las interacciones que tiene con los H adyacentes en el fenilo. Finalmente, en las regiones de 7.78 y 6.77 ppm se encuentran dos señales, ambas dobletes correspondientes a los protones aromáticos del tiofeno. Integrando las señales obtenidas se obtiene un número total de 13 Hidrógenos, lo que concuerda con la estructura propuesta.

En la tabla 3.5 se resumen los datos obtenidos del espectro de RMN ¹H de la hidrazona A-35

A-35
A-35

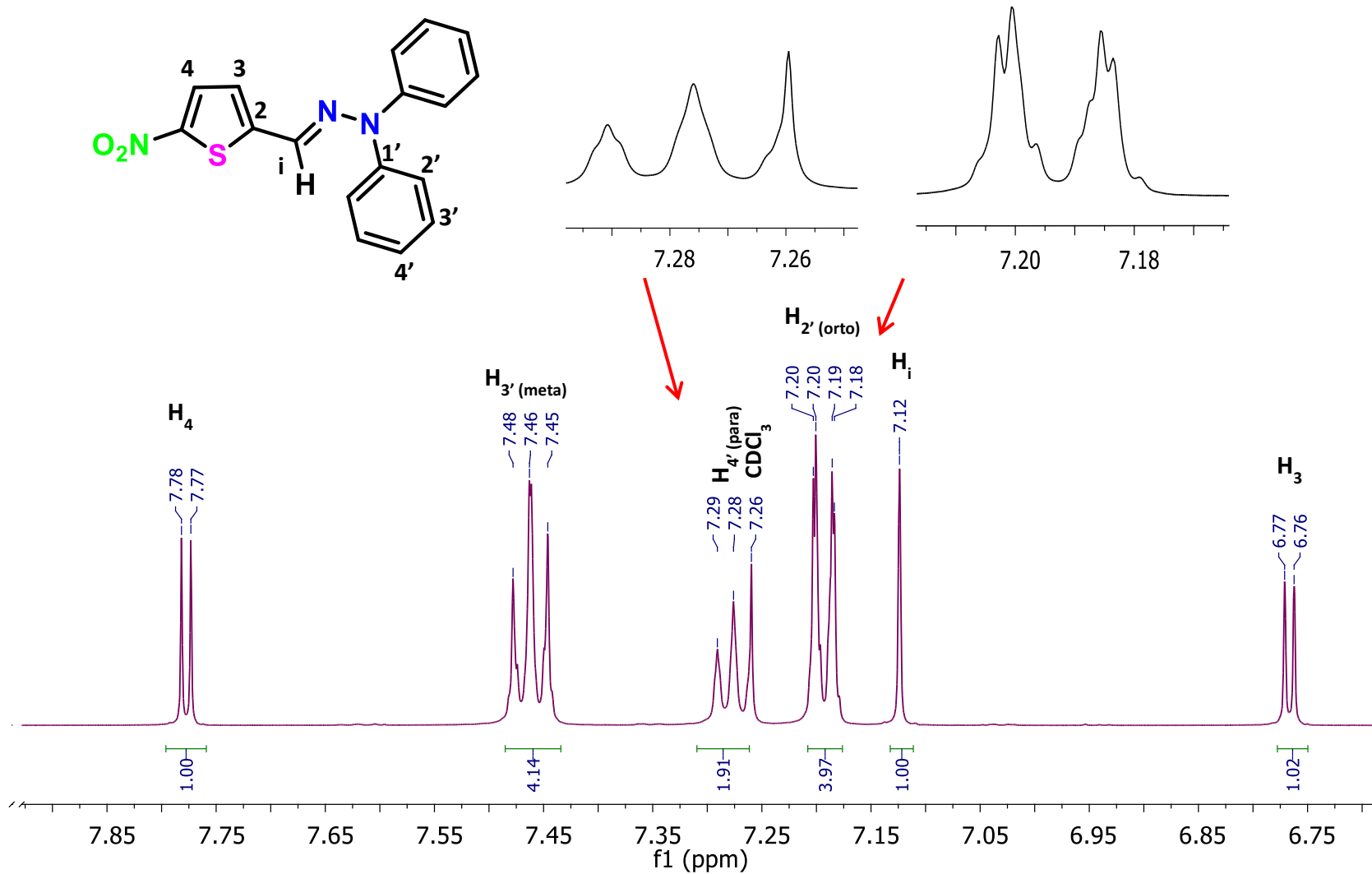
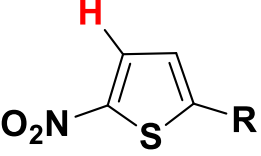
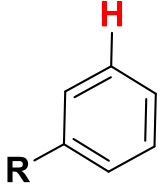
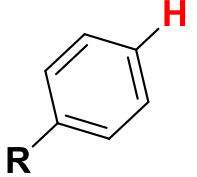
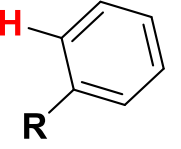
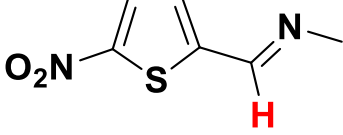
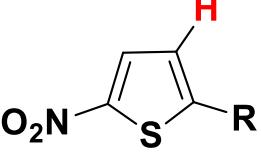


Figura 3. 10 Espectro de RMN ¹H a 500 MHz de A-35 en CDCl₃.

Tabla 3. 5 Asignación de señales del espectro de RMN ¹H del compuesto hidrazona A-35 en acetona-d₆.

Estructura	δ(ppm)	Multiplicidad	Asignación	Integral relativa
	7.78-7.77	Doblete <i>J</i> =4.3 Hz	H unido al C ₄	1
	7.48-7.45	multiplete	H <i>meta</i> del fenilo	4
	7.29-7.26	Triplete <i>J</i> =7.4 Hz	H <i>para</i>	2
	7.20-7.18	dt <i>J</i> =8.7,1.7 Hz	H <i>orto</i>	4
	7.12	Singlete	H imínico	1
	6.77-6.76	Doblete <i>J</i> =4.3 Hz	H unido al C ₃	1

RMN ¹³C

En el espectro de ¹³C se muestra en la siguiente figura, en el espectro se observan 9 señales. Las señales se asignaron de acuerdo con el entorno químico de cada carbono considerando los efectos electrónicos en cada uno de ellos. La señal del Ci (imínico) se encuentra a 122.33 ppm, mientras que las señales correspondientes a los carbonos ipso (C₅, C₂ y C₁) se encuentran a 149.62, 142.20 y 125.83 ppm. Los carbonos del tiofeno C₄ y C₃ se localizan en 150.06 y 129.45 ppm. Finalmente, las señales a 130.1, 127.23 y 123.96 ppm corresponden a los carbonos *meta*, *orto* y *para* en este orden.

A-35
A-35

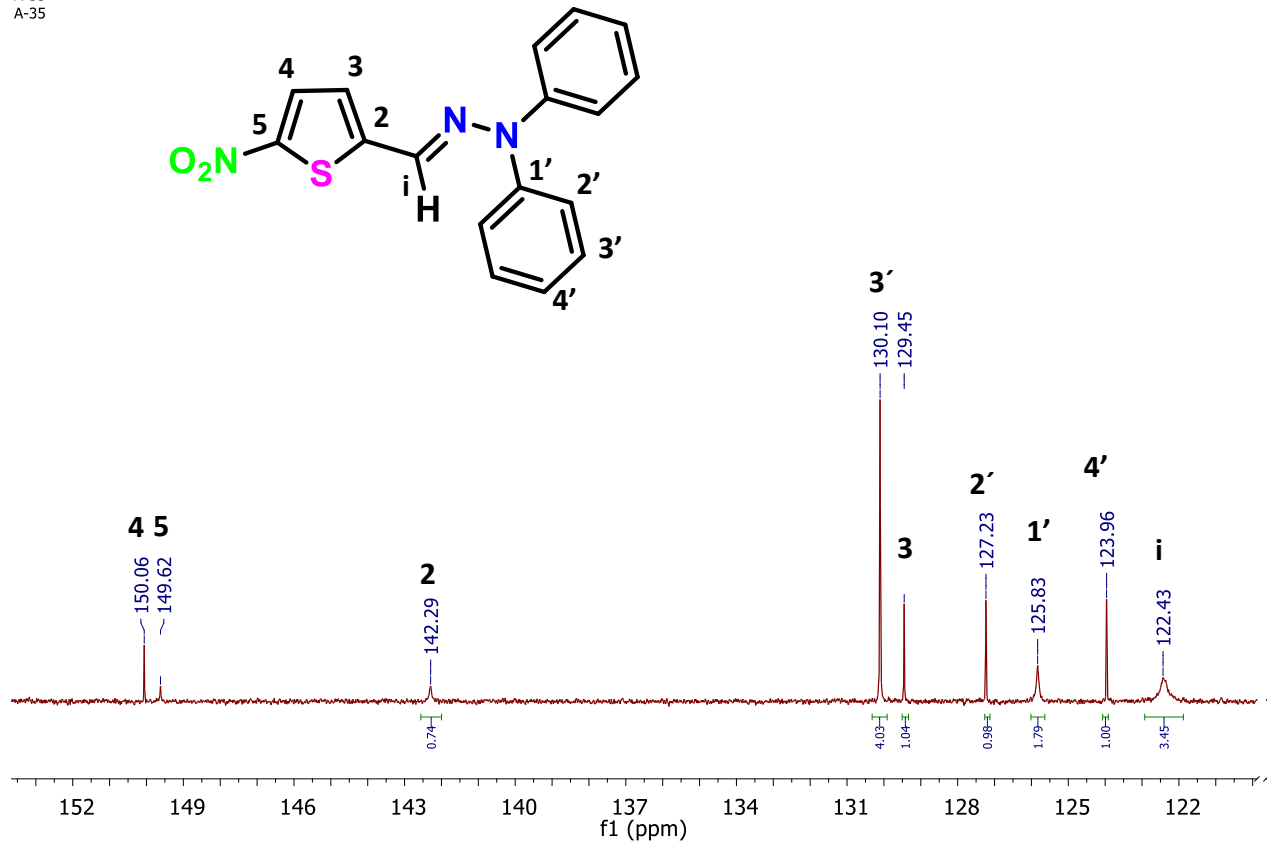


Figura 3. 11 Espectro de ¹³C a 123 MHz de A-32 en CDCl₃.

Espectrometría de masas

Se obtuvieron los espectros de masas E.I., utilizando como disolvente acetona y como matriz alcohol *m*-nitrobencílico.

La siguiente figura muestra el espectro de masas de la hidrazona A-32. se puede observar el pico ion molecular M^+ ($m/z=323$) el cual corresponde al peso molecular de la estructura propuesta, y el pico base ($m/z=168$) que corresponde al fragmento $[(C_6H_5)_2N]^+$.

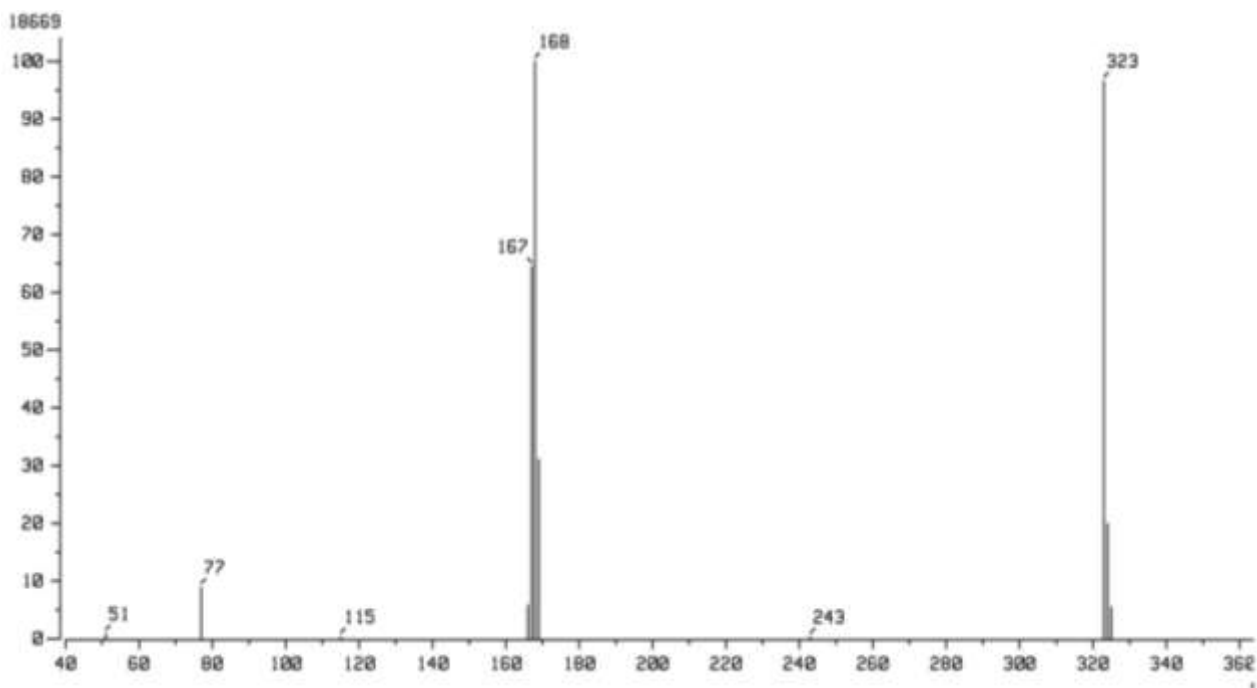


Figura 3. 12 espectro de masas A-35.

Reacción A-36

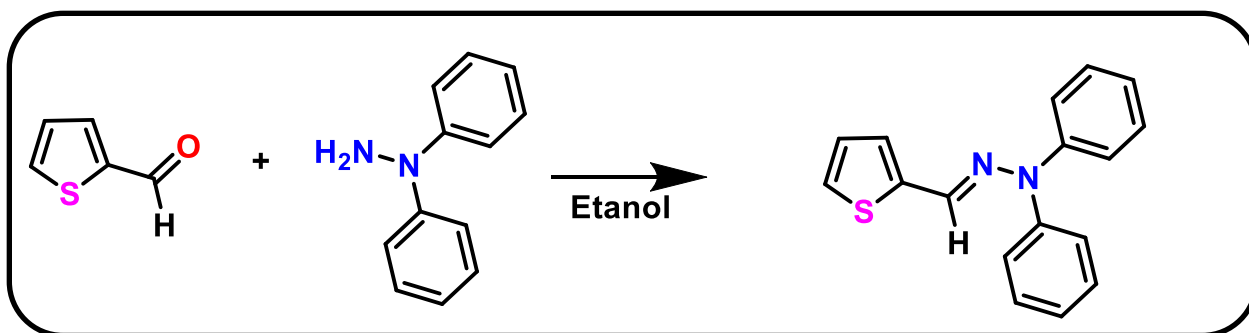


Figura 3. 13 Síntesis de la hidrazona A-36.

Se obtuvieron cristales pequeños de color verde claro, se caracterizaron espectroscópicamente para corroborar su estructura y posteriormente analizar sus propiedades biológicas anticancerígenas.

Tabla 3. 5.

Hidrazona	Color	Formula Condensada	Rendimiento	p.f °C	Peso molecular (g/mol)
A-35	Verde claro	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ S	82%	127-129	278

Espectroscopia UV-vis

La hidrazona se diluyó en acetona para su análisis en espectroscopia Uv-vis, el color de la disolución fue de color amarillo casi transparente. El espectro Uv-VIS (figura 3.5) muestra que la hidrazona tiene una absorbanza máxima en 465 nm, esto nos muestra que a esta longitud de onda el color que transmite y es visible al ojo humano es el amarillo.

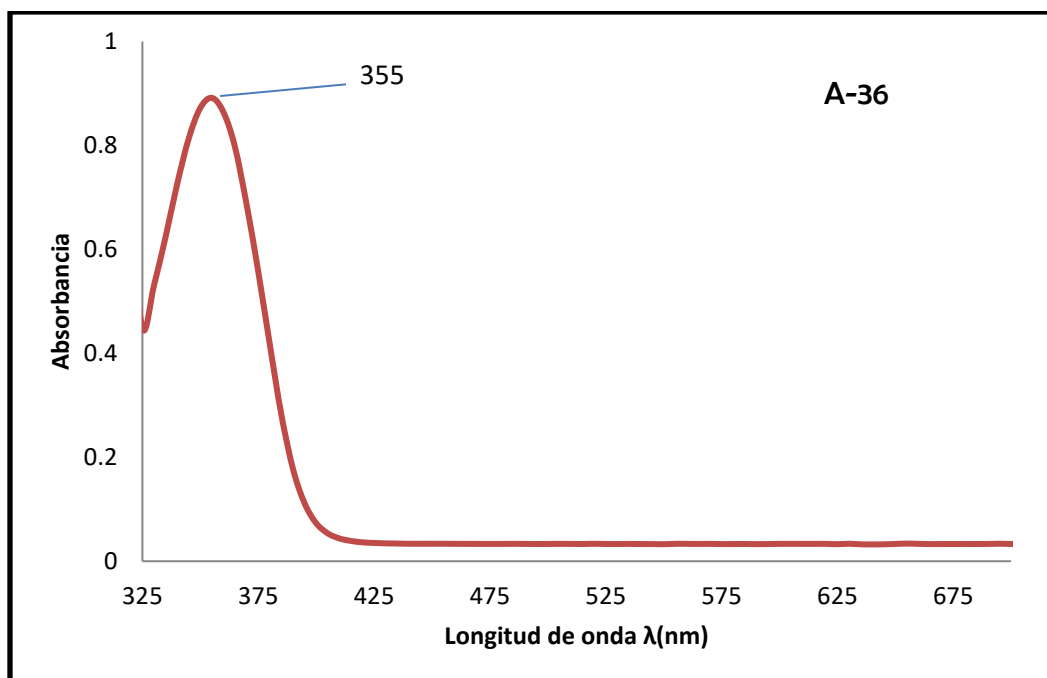


Figura 3. 14 Espectro UV hidrazona A-36.

Espectroscopía infrarroja

En la figura 3.9 se muestran los espectros obtenidos por espectroscopia infrarroja de las materias primas (a y b) y de la hidrazona (c). En el espectro de la hidrazona (figura 3.6 c) se observan las diferentes señales características; la banda a 1584 cm^{-1} corresponde a la vibración del enlace C=N, la señal a 3061 cm^{-1} pertenece al enlace $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ de los fenilos, mientras que la señal a 3099 cm^{-1} corresponde al enlace $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ de los carbonos del tiofeno, finalmente la señal presente a 707 cm^{-1} corresponde al enlace de carbono aromático monosustituido. En la tabla 3.4 se muestra de manera resumida las bandas de absorción de la hidrazona A-35.

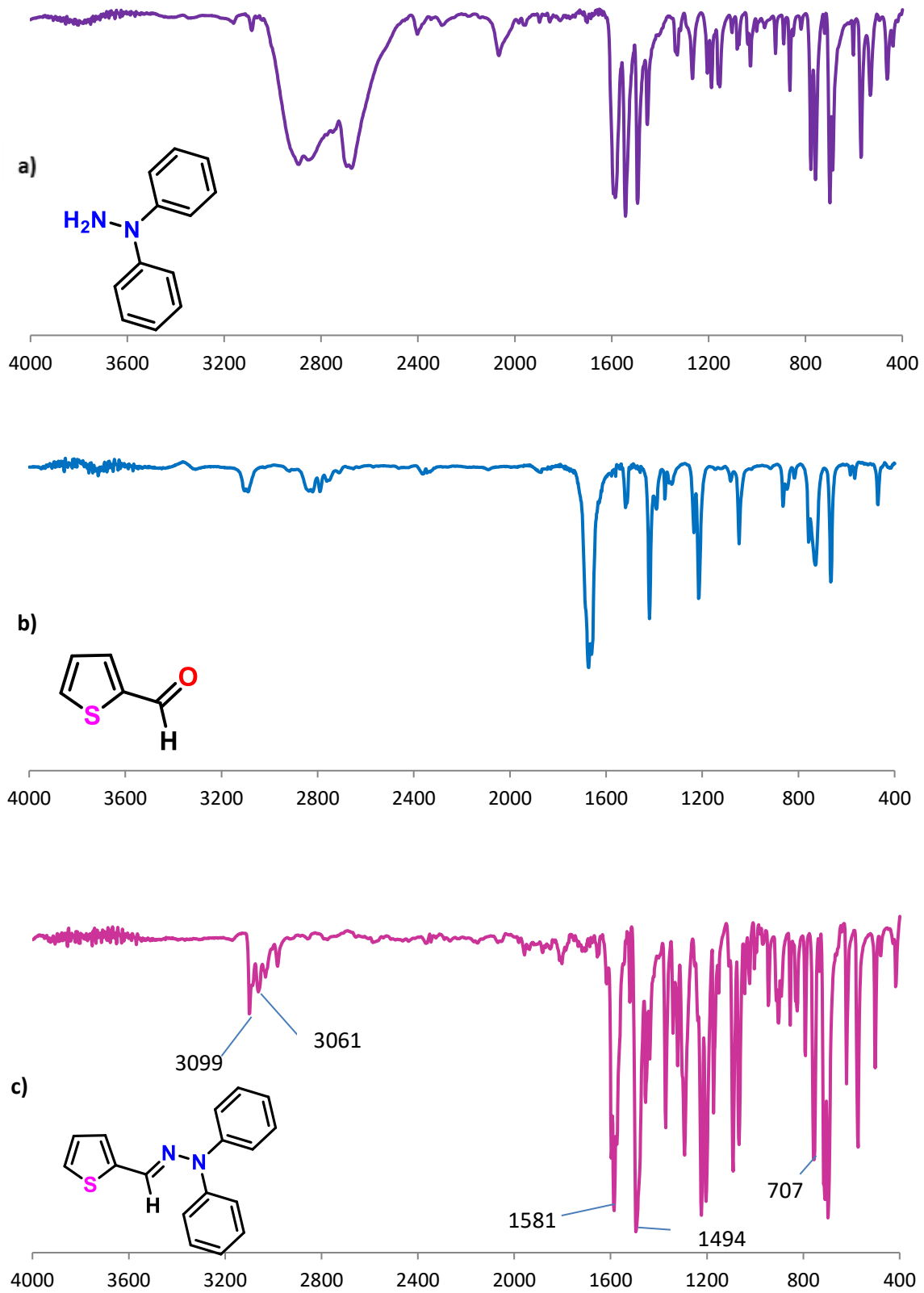


Figura 3. 15 Espectros de IR a)difenilhidracina b)tiofencarboxialdehido c)hidrazona A-32 en KBr en cm^{-1} .

Tabla 3. 6 principales bandas de absorción IR de la hidrazona A-35.

Enlace	Numero de onda (cm ⁻¹)
C _{sp2} -H (tiofeno)	3099
C _{sp2} -H (fenilo)	3061
C=N	1581
C=C	1494
C-H (aromático monosustituido)	707

RMN ¹H

El espectro de ¹H se muestra en la siguiente figura. La señal del H imínico está a 7.29 ppm, mientras que las señales correspondientes a los H aromáticos aparecen entre 7.43 a 7.17 ppm, los H *meta* están a frecuencias más bajas que los protones *para* y *orto*, estos se encuentran a 7.43-7.40 ppm (multiplete), en 7.22 a 7.27 se encuentran las señales correspondientes a los H *para* y *orto* con señales anchas (multiplete). Los H del tiofeno se localizan en 7.22 ppm para los H unidos al C₄, los H unidos al C₃ y C₂ se encuentran en frecuencias más altas, debido a que están más protegidos comparado con el H del C₄, que tiene adyacente un grupo NO₂, estos se ubican a 6.96-6.94 ppm (multiplete) y a 6.91-6.90 ppm (doble de dobles).

Como se observa los H de los fenilos muestran señales múltiples debido a los acoplamientos con los H adyacentes del anillo, de modo que al acoplarse a H con diferente J producen este tipo de señales. La suma de las integrales relativas obtenidas del espectro da un total de 14 H, esto concuerda con el número de H presentes en la estructura de la hidrazona propuesta.

A-36
A-36

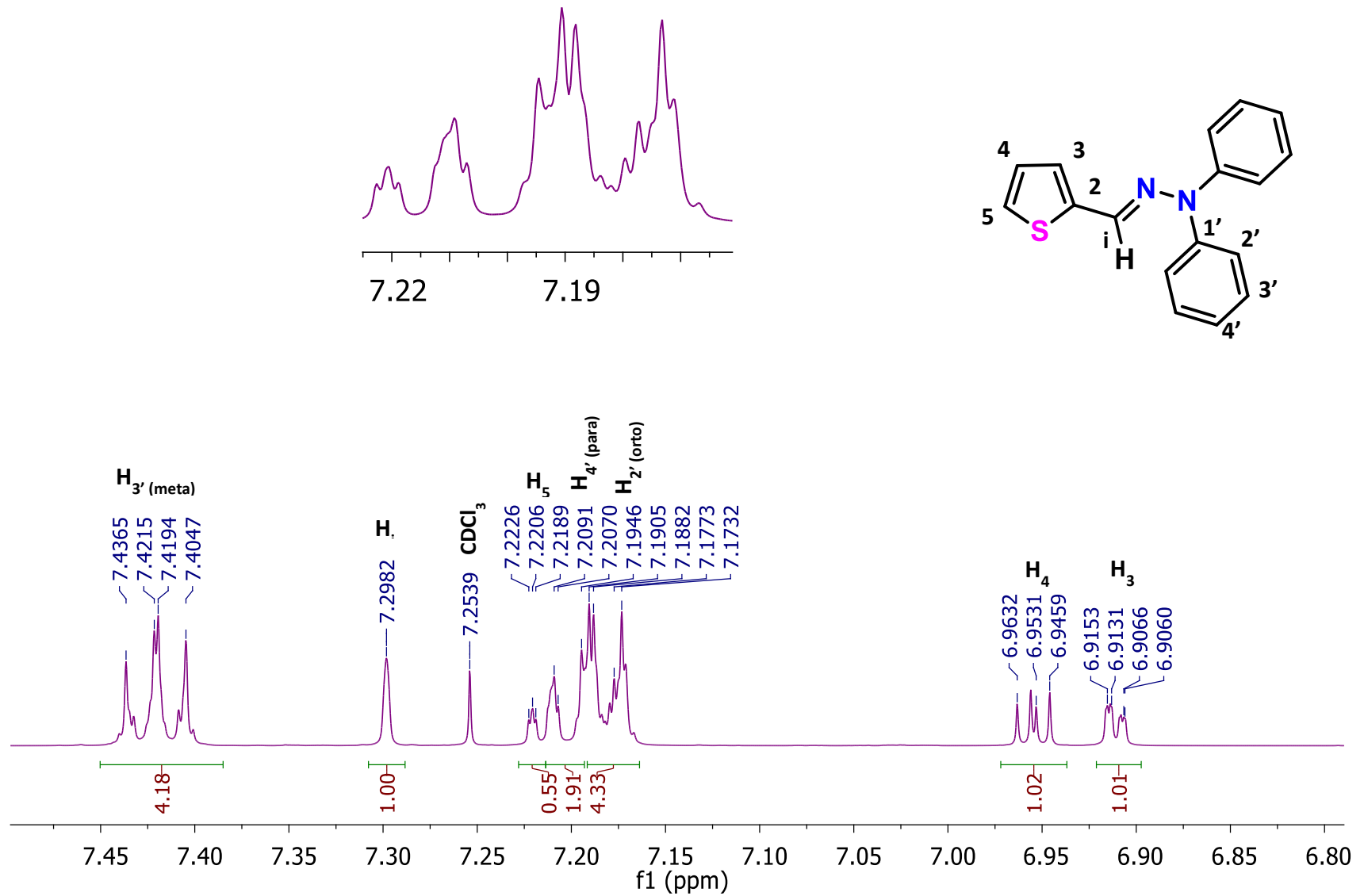
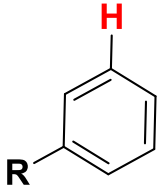
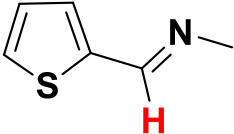
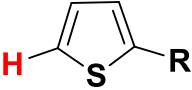
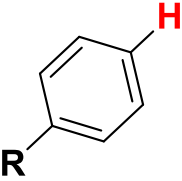
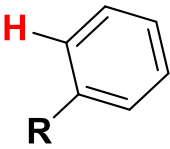
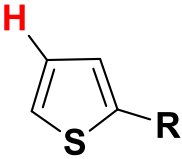
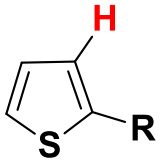


Figura 3. 16 Espectro de ^1H a 500 MHz de A-36 en CDCl_3 .

Tabla 3. 6 Asignación de señales del espectro de RMN 1H del compuesto hidrazona A-36 en acetona-d₆.

Estructura	δ (ppm)	Multiplicidad	Asignación	Integral relativa
	7.43-7.40	Multiplete	H meta	4
	7.29	Singulete	H imínico	1
	7.22-7.21	Doblete	H unido al C ₅	1
	7.21-7.20	Multiplete	H para	2
	7.20-7.17	multiplete	H orto	4
	7.96-7.94	multiplete	H unido al C ₄	1
	7.91-7.90	Doble de doble $J=3.9, 0.7$ Hz	H unido al C ₃	1

RMN ¹³C

La siguiente figura muestra el espectro de ¹³C de la hidrazona A-36. El espectro muestra los 9 C diferentes de la molécula. A frecuencias más altas aparecen dos señales que corresponden a los carbonos ipso C₂ y C_{1'} del heterociclo y del sustituyente fenilo a 143.34 y 141.85 ppm, a una frecuencia mayor aparece la señal del carbono imínico C_i en 130.42 ppm seguido por la señal del C *meta* del fenilo a 129.86 ppm; las señales correspondientes a los C *para* y *orto* se ubican a 124.63 y 122.45 ppm. Las señales pertenecientes a los C del tiofeno se encuentran consecutivamente en los siguientes desplazamientos: 127.22 ppm (C₅), 126.36 ppm (C₃) Y 125.46 ppm (C₄).

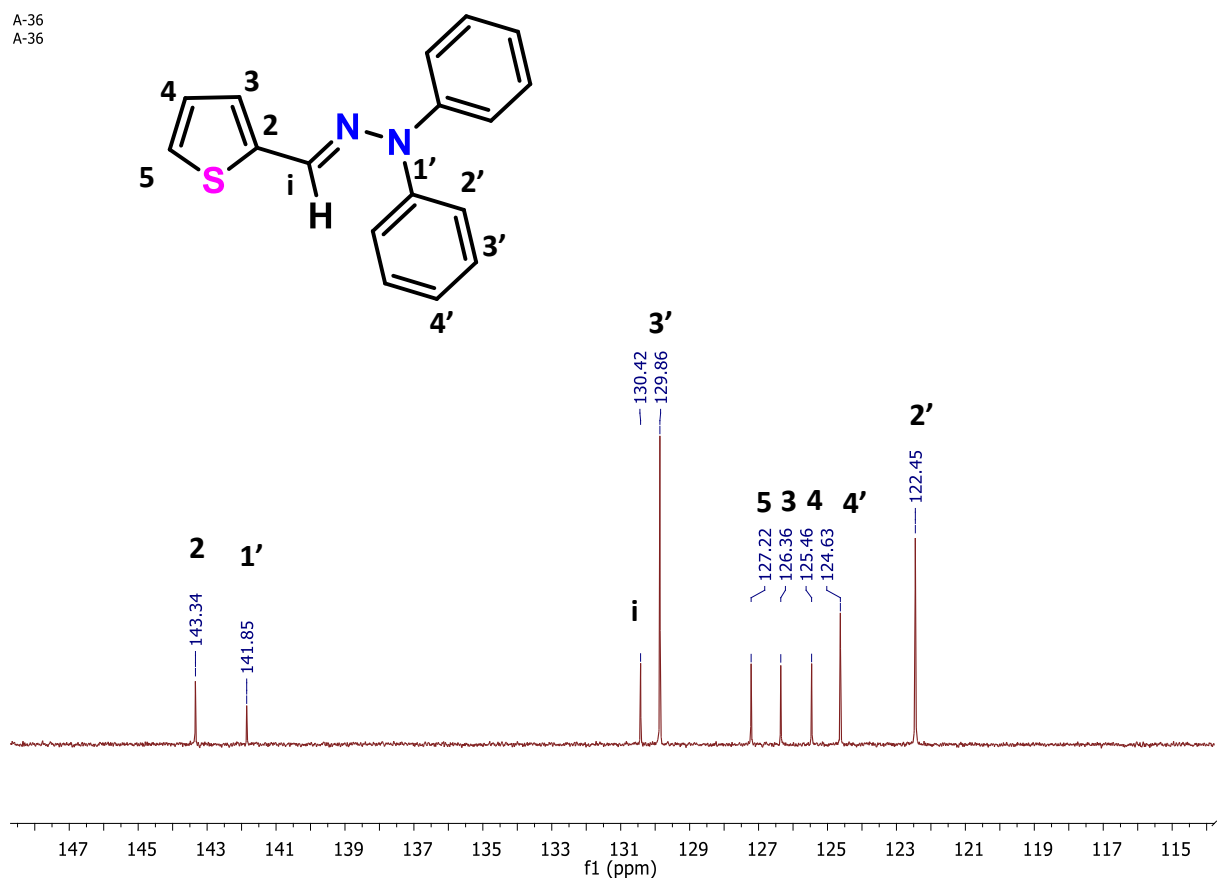


Figura 3. 17 Espectro de ¹³C a 500 MHz de A-36 en CDCl₃.

Comparación espectroscópica.

De acuerdo con la estructura de las hidrazonas sintetizadas en este trabajo, se comparan de acuerdo con dos aspectos:

1. Misma estructura, pero con heteroátomos diferentes (O y S) en las hidrazonas A-32 y A-35.
2. Hidrazonas derivadas del tiofeno con presencia del grupo nitro en C₅ (A-35) y ausencia de este (A-36).

A continuación, se muestran en la tabla 3.7 los datos espectroscópicos más importantes de las hidrazonas sintetizadas.

Tabla 3. 7.

DATOS		A-32		A-35		A-36	
UV-Vis		440 nm		465 nm		355nm	
IR (C=N)		1558 cm ⁻¹		1587 cm ⁻¹		1581 cm ⁻¹	
RMN		¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
δ (ppm)	1	7.0	122.46	7.12	122.43	7.30	130.42
	2	-	142.15	-	142.69	-	143.34
	3	6.82	114.65	6.77	129.45	6.96	126.3
	4	7.39	155.41	7.78	150.06	7.22	125.46
	5	-	151.10	-	149.62	-	127.22
	1'	-	125.95	-	125.83	-	141.85
	2'	7.20	122.75	7.20	127.23	7.17	122.45
	3'	7.48	130.14	7.48	130.10	7.44	129.86
	4'	7.29	108.60	7.29	123.66	7.19	124.63

Comparando los resultados obtenidos de las hidrazonas A-32 y A-35 de acuerdo con el primer punto se tiene los siguiente:

- En UV la hidrazona A-35 posee una absorbancia mayor que A-32 debido al efecto que tiene el azufre (menos electronegativo) en el heterociclo aromático, hace que la conjugación sea mayor, que en el furano.
- En RMN ^1H los desplazamientos de los H de los heterociclos son diferentes (H_3 y H_4). El H_4 de la hidrazona A-35 derivada del tiofeno tiene un δ a campo mas bajo que A-32 (derivada de furano). Respecto al H imínico A-35 tiene un mayor desplazamiento que A-32. Los H de los fenilos se encuentran en los mismos desplazamientos. Con lo anterior podemos observar que el efecto que tiene el heteroátomo en las hidrazonas. Los heterociclos (furano y tiofeno) tienen diferentes características que los distinguen, el azufre en el tiofeno hace que el anillo sea más aromático que el furano, debido a que azufre es menos electronegativo que el oxígeno, esto hace que el par de electrones del azufre esté más disponible para la deslocalización, en tanto el oxígeno en el furano tiene sus electrones con menor disposición.
- En RMN ^{13}C los C_3 y C_4 siguen el mismo patrón que en ^1H al igual que los desplazamientos de los C_2 y C_5 , el desplazamiento del C_1 es muy similar en ambas hidrazonas.
- Respecto al IR la hidrazona A-35 el enlace $\text{C}=\text{N}$ vibra en frecuencias más altas, esto puede explicarse nuevamente por la presencia de S y al papel importante que juega en la conjugación de la molécula, esto hace que el enlace $\text{C}=\text{N}$ sea mas fuerte y por lo tanto vibre a una frecuencia mayor que la hidrazona derivada del furano (A-35).

Comparando los resultados de acuerdo con el segundo punto, se tiene que:

- Las absorbancia máxima de la hidrazona A-36 es más de 100 nm menor que A-35 esto es debido a la ausencia del grupo Nitro que es un grupo electroattractor y que participa en la conjugación de la molécula.
- En RMN ^1H el H unido al C_4 tiene un desplazamiento a campo más alto que A-35. Para el H imínico de A-36 está a campo más bajo que A-35. Finalmente, los H de los fenilos se encuentran a desplazamientos menores que en A-35. Esto se

debe a la presencia del grupo nitro la hidrazona A-35, lo que hace que los desplazamientos de H y C se encuentren más desapantallados, esto se explica por la naturaleza del grupo nitro, que es un grupo fuertemente electroatractor, haciendo que los H tengan un efecto de desapantallamiento. En RMN de ^{13}C el C5 se encuentra a campo más alto debido a la ausencia del sustituyente nitro, al igual que los C₃ y C₄. El C imínico tiene un desplazamiento mayor que A-35.

- En IR los enlaces de la hidrazona A-36 el enlace imínico vibra a una frecuencia similar que A-35.

Evaluación en células cancerosas

Las hidrazonas sintetizadas A-32, A-35 y A-36 fueron evaluadas en células cancerosas de las líneas MCF-7 (cáncer de mama), HTB-38 (cáncer de colon rectal), HTB-177 (cáncer de

pulmón) y MOLT-4 (leucemia linfoblástica). Los resultados del conteo celular se muestran en las figuras (3.18, 3.19, 3.20 y 3.21). Los resultados se compararon con dos de los medicamentos utilizados en el tratamiento de estos tipos de cáncer (colchicina y metotrexato).

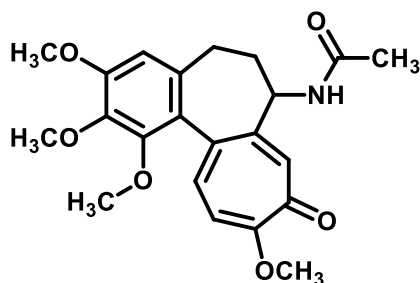


Figura 3. 18 Estructura de la Colchicina

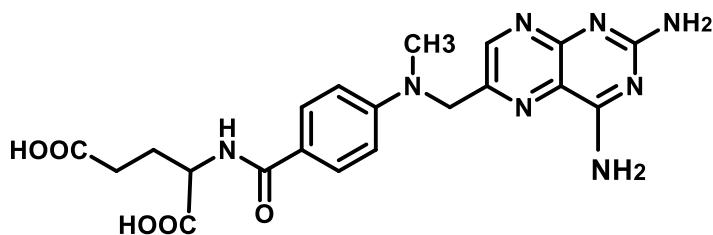


Figura 3. 19 Estructura del MTX

Evaluación en MCF-7 (cáncer de mama)

En la figura 3.20 se observa que la hidrazona A-32 es efectiva en las células de cáncer de mama a una concentración de 1 μ M, su efecto es mucho mejor que la colchicina y muy semejante con el MTX, sin embargo, a concentraciones menores el efecto es mínimo. A una

concentración de 0.1 μM , la hidrazona A-36 tiene un efecto similar al MTX y colchicina, mientras que 0.01 μM , el número de células cancerosas sobrevivientes son casi iguales en las tres hidrazonas y están por arriba comparados con el efecto de la colchicina.

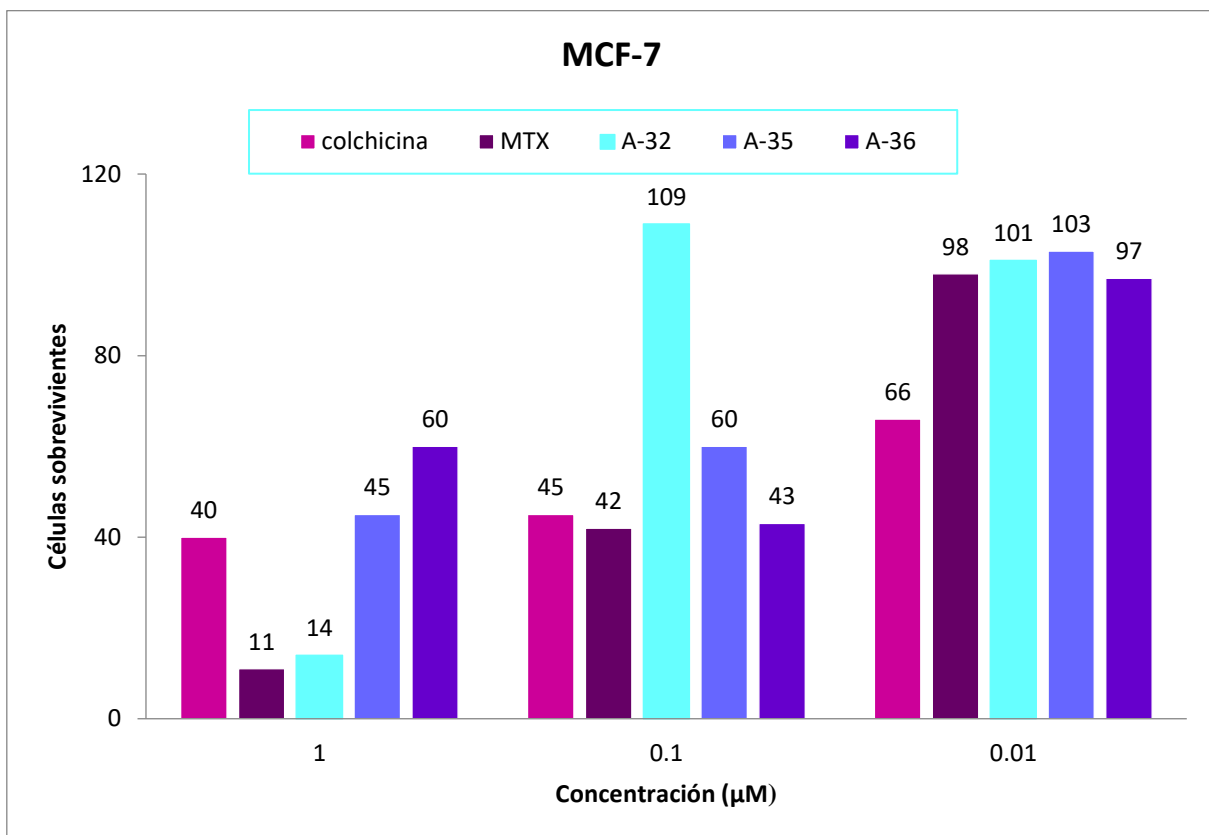


Figura 3. 20 Evaluación biológica en la línea celular MCF-7 (cáncer de mama)

Evaluación en HTB-38 (cáncer de colon)

En la siguiente gráfica (Fig. 3.21) se puede observar los resultados obtenidos de la evaluación en células de cáncer de colon. A una concentración de 1 μM las hidrazonas tienen un efecto mínimo sobre las células comparado con los medicamentos de referencia,

mientras que a una concentración menor (0.1 μM), la hidrazona A-36 se destaca por tener un efecto mucho mayor que el MTX, pero tiene un efecto menor que colchicina.

Por último, la hidrazona A-35 presenta un mejor efecto respecto al MTX a una concentración de 0.01 μM , sin embargo, la colchicina sigue siendo mucho mejor a esta concentración.

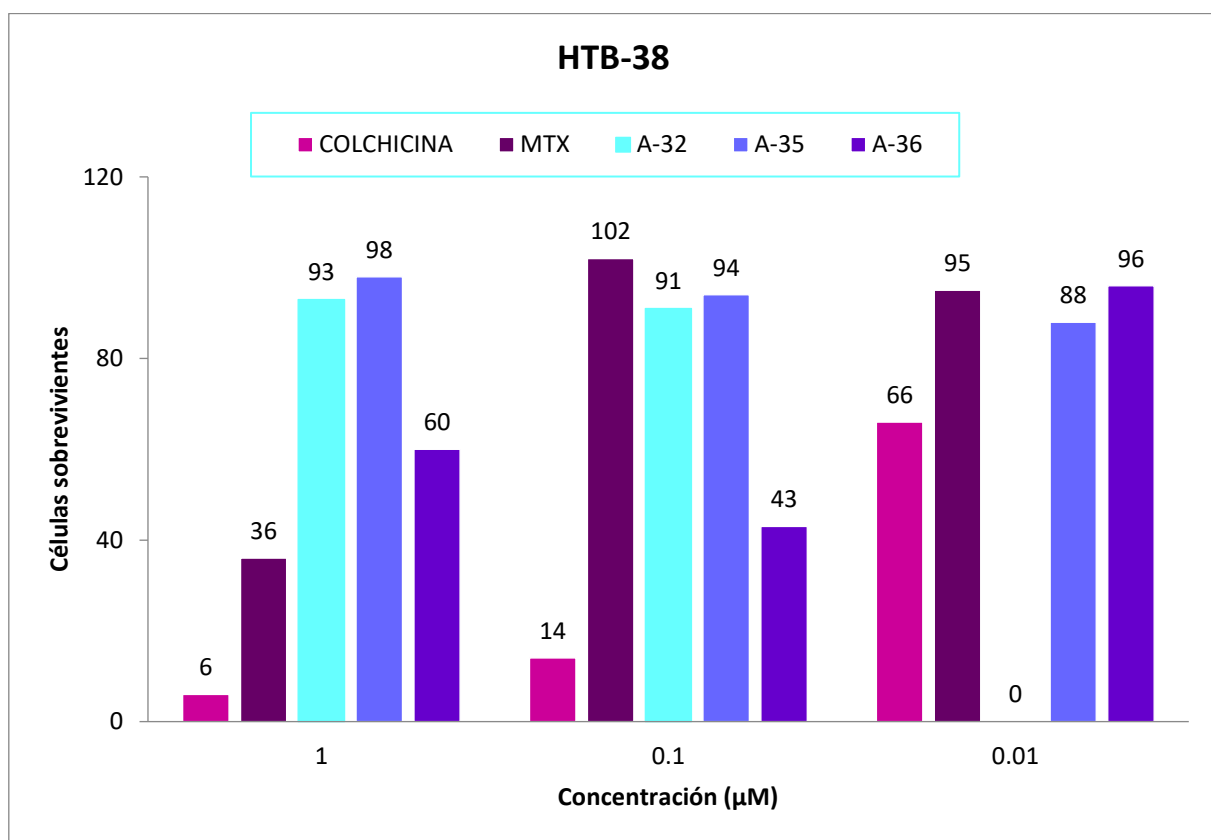


Figura 3. 21 Evaluación biológica en la línea celular HTB-38 (cáncer de colon)

Evaluación en HTB-177 (cáncer de pulmón)

A la concentración de 0.1 μM , el comportamiento de la hidrazona A-36 muestra que es efectivo contra este tipo de cáncer (Fig. 3.22) en comparación con el MTX. A la concentración de 0.01 μM el número de células sobrevivientes en A-36, es un poco menor

que MTX, mientras que a una concentración de 1 μM es mayor, sin embargo, a esta concentración muestra un efecto mejor a comparación de las hidrazonas A-35 y A-36. En el caso de la Hidrazona A-35 presenta un resultado favorable a 0.1 μM contra el MTX y la A-32 en 0.01 μM .

El gráfico nos muestra que la colchicina sigue siendo el medicamento más efectivo, pero que las hidrazonas, en específico la A-36 tiene un efecto mayor que el MTX.

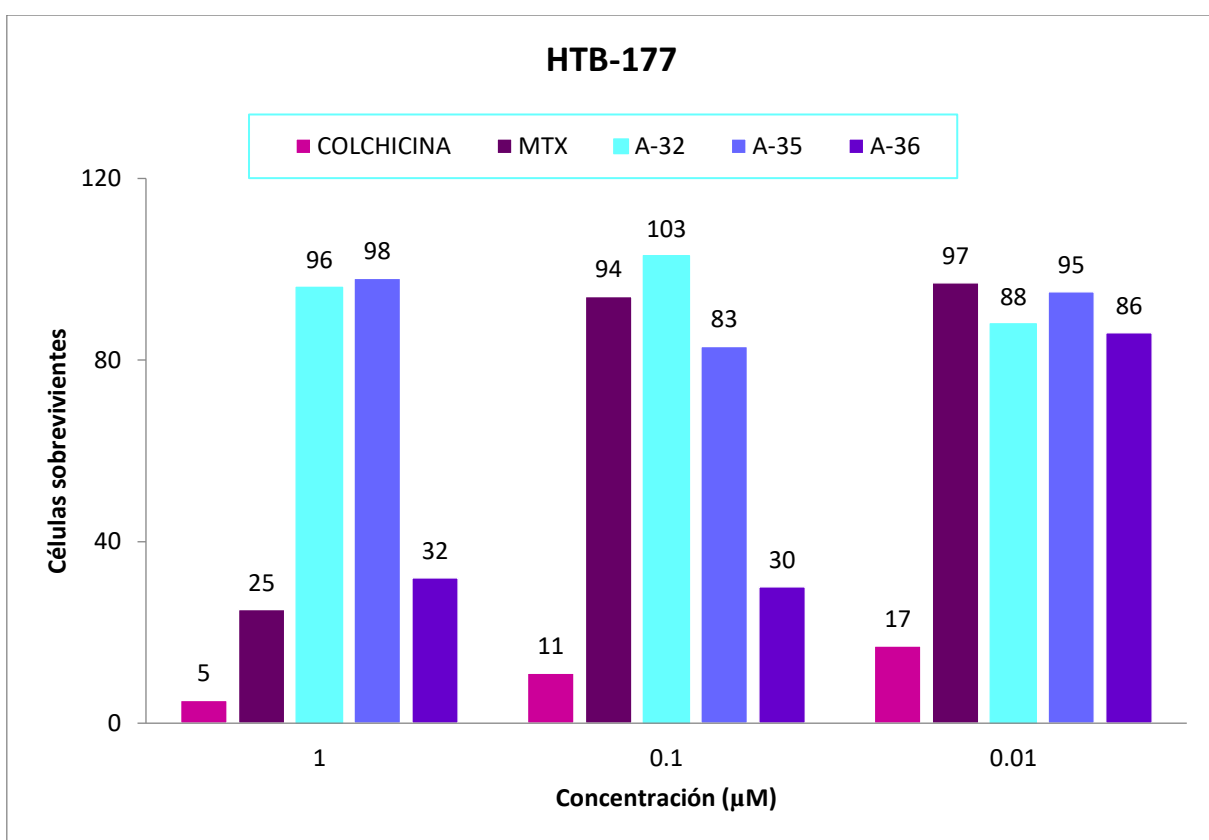


Figura 3. 22 Evaluación biológica en la línea celular HTB-177 (cáncer de pulmón)

Evaluación en MOLT-4 (leucemia linfoblástica)

Con los datos obtenidos (Fig. 3.23), se observa que a una concentración de 1 μM la hidrazona A-32 es efectiva contra las células de leucemia linfoblástica e incluso mejor que los 2 medicamentos de referencia, para las hidrazonas A-35 y A-36 la efectividad es menor,

pero son mejores que la colchicina. A una concentración de 0.01 μM , A-36 muestra un resultado favorable y mejor que MTX y colchicina y finalmente a 0.01 μM , se observa que las hidrazonas tienen un efecto desfavorable y muy similar, ya que el número de células sobrevivientes están por encima de los medicamentos de referencia.

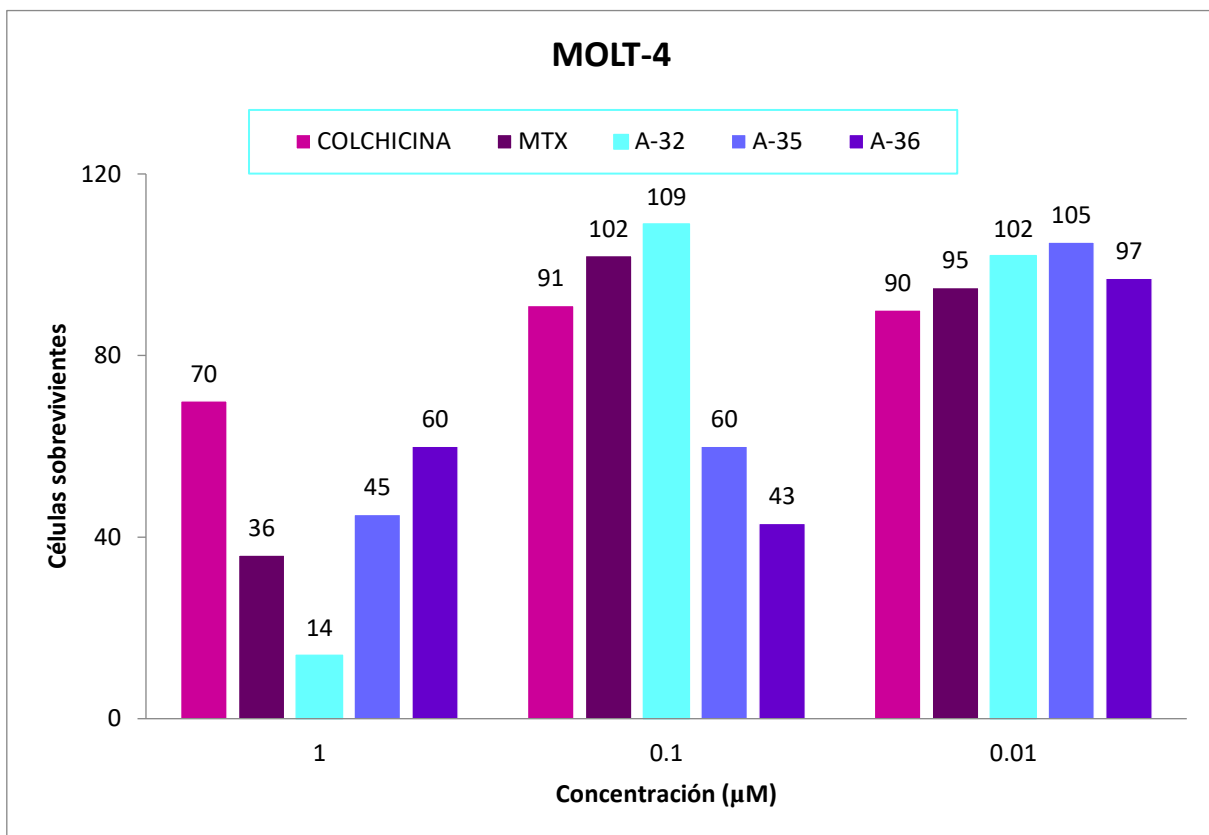


Figura 3. 23 Evaluación biológica en la línea celular MOLT-4 (leucemia linfoblástica)

CAPITULO 4: CONCLUSIONES

Conclusiones

Los resultados obtenidos satisfacen en gran medida los objetivos propuestos para este trabajo de investigación ya que se logró lo siguiente:

- Se sintetizaron y purificaron tres hidrazonas con estructura similar pero que tienen un rasgo distintivo (heteroátomo diferente y presencia de grupo nitro), con un buen rendimiento.
- Las hidrazonas obtenidas se caracterizaron y se compararon sus propiedades espectroscópicas, corroborando la estructura propuesta, así como la naturaleza que las distingue.
- Se evaluó con éxito su actividad biológica en cuatro líneas de células cancerosas: MCF-7 (cáncer de mama), HTB-38 (cáncer de colon rectal), HTB-177 (cáncer de pulmón) y MOLT-4 (leucemia linfoblástica).
- Con los resultados obtenidos de la evaluación biológica se concluyó que la hidrazona A-36 es muy eficaz en la mayoría de las líneas celulares probadas a una concentración de 0.1 μM , mientras que A-32 aumenta su eficacia a 1 μM en las líneas MCF-7 y MOLT-4. La hidrazona A-35 muestra buenos resultados en la línea MOLT-4 a una concentración de 0.1 μM .

CAPITULO 5: PARTE EXPERIMENTAL

Todos los compuestos presentados en este trabajo fueron sintetizados bajo los principios de la química verde: utilizando cantidades 1:1 equivalentes de materia prima, sin calor y como disolvente etanol.

Los métodos de purificación son cristalización por evaporación lenta y por difusión, ya que las reacciones no generan subproductos.

4.1 REACTIVOS

Los reactivos utilizados para la síntesis de los compuestos hidrazonas se utilizaron sin previa purificación y son los siguientes:

Para la serie A se utilizó Hidrocloruro de *N,N*-Difenilhidracina.

Para la serie F se utilizó Hidrocloruro de 3-Nitrofenilhidracina.

Se utilizaron diversos aldehídos denotándolos con la siguiente numeración:

- **32** (5-Nitro-2-furaldehído)
- **35** (5-Nitro-2-tiofenocarboxialdehído)
- **36** (2-tiofenocarboxialdehído)

Los disolventes utilizados fueron etanol y metanol marca J.T BAKER y FERMONT.

4.2 INSTRUMENTACIÓN

- Los puntos de fusión se determinaron en un aparato tipo Fisher-Johns marca Tekno-Lab.
- Los espectros de UV-Vis se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis marca VARIAN, modelo "CARY 50", utilizando acetona como disolvente.

- Los espectros de infrarrojo se realizaron en la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP, en un espectrofotómetro marca DIGILAB modelo Excallibur FTS 3000 la región de 4000 a 400 cm^{-1} en un disco de KBr.
- Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C se realizaron en el Centro de Química del Instituto de Ciencias (ICUAP) en un equipo marca Bruker Avance III 500 MHz usando CDCl_3 como referencia.
- Los espectros de masas fueron realizados en el Centro de Química del Instituto de Ciencias de la BUAP, en un espectrómetro de masas Jeol JMS-SX102A.

Síntesis

Los compuestos de la serie A y F fueron sintetizados en condiciones de química verde, se utilizaron cantidades 1:1 equivalentes de materia prima, como de disolvente, además no se utilizó calor u otra fuente de energía. El disolvente es etanol, un disolvente amigable con el ambiente y fácilmente asequible. Las reacciones no producen subproductos, por lo que no es necesaria la purificación por columna y otras técnicas de separación.

SÍNTESIS DEL COMPUESTO A-32

Se colocaron 469 mg (2.1 mmol) de difenilhidracina hidroclicorada en un matraz de bola de 100 ml y se adicionaron 30 ml de etanol, una vez disuelta la hidracina se adiciona poco a poco 300 mg (2.1 mmol) de nitrofuranocarbaldehído previamente disuelto en un poco de etanol (10 mL). La mezcla se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. El color de la disolución cambio gradualmente de morado a color naranja-rojizo durante el transcurso de la reacción, a los 40 minutos de la reacción se comienza a formar un precipitado de color naranja. La mezcla de reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina. Una vez terminada la reacción se observó la formación del compuesto de color naranja brillante (A-32) en forma de polvo. El producto (precipitado) fue filtrado y secado, posteriormente se recristalizó.

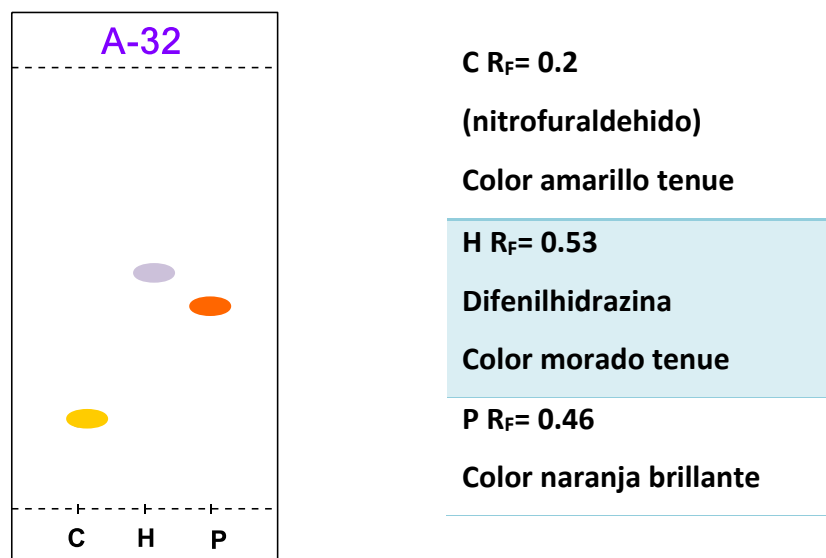


Figura 5. 1 Placa cromatográfica, en gel de sílice eluída en hexano-acetato de etilo 8:2.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (t, J = 7.9 Hz, 4H), 7.39 (dd, J = 3.9, 0.5 Hz, 1H), 7.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.19 (dt, J = 8.7, 1.7 Hz, 4H), 7.00 (s, 1H), 6.83 – 6.81 (m, 1H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 155.41, 151.10, 142.15, 130.14, 125.95, 122.75, 122.46, 114.65, 108.60.

Tabla 5. 1 Propiedades Físicas y solubilidades del compuesto A-32

COMPUESTO	A-32	
COLOR	Naranja	
FORMULA CONDENSADA	$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$	
RENDIMIENTO	78%	
PUNTO DE FUSIÓN	132-134 °C	
SOLUBILIDAD	Etanol	S
	Acetona	S
	Metanol	PS
	Diclorometano	S
	Acetato de etilo	S
	Hexano	PS
	Cloroformo	S
	Acetonitrilo	S
	Agua	I



Figura 5. 2 Hidrazona A-32.

SINTESIS DEL COMPUESTO A-35

Se colocaron 421 mg (1.9 mmol) de difenilhidracina en un matraz de bola de 100 ml y se adicionaron 30 ml de etanol, una vez disuelta la hidracina se adiciona poco a poco 300 mg (1.9 mmol) de nitrofurancarbaldehído previamente disuelto en 10 mL de etanol. La mezcla se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. El color de la disolución cambio gradualmente de morado a color rojo cereza durante el transcurso de la reacción. La mezcla de reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina. Una vez dada la reacción se observó la formación de cristales y polvo color rojo cereza a los 10 días. El producto fue filtrado y secado, posteriormente se recrystalizó en un poco de etanol.

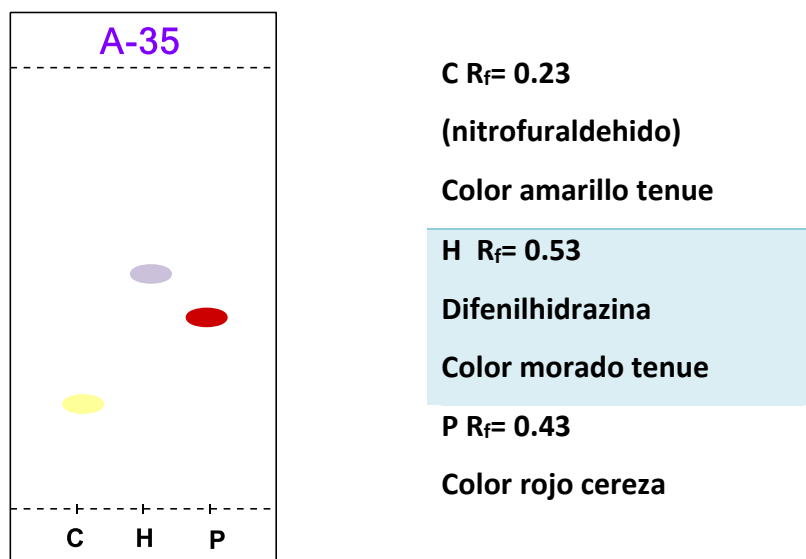


Figura 5. 3 placa cromatografía, en gel de sílice eluída en hexano-acetato de etilo 8:2.

C= aldehído

H=hidracina

P=hidrazona

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.78 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 7.49 – 7.43 (m, 4H), 7.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.19 (dt, J = 8.7, 1.7 Hz, 4H), 7.12 (s, 1H), 6.77 (d, J = 4.3 Hz, 1H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 142.29, 130.10, 129.45, 127.23, 125.83, 123.96, 122.43.

Tabla 5. 2 Propiedades Físicas y solubilidades del compuesto A-35.

COMPUESTO	A-35	
COLOR	ROJO CEREZA	
FORMULA CONDENSADA	$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$	
RENDIMIENTO	82%	
PUNTO DE FUSION	127-129°C	
SOLUBILIDAD	Etanol	S
	Acetona	S
	Metanol	PS
	Diclorometano	S
	Acetato de etilo	S
	Hexano	PS
	Cloroformo	S

SINTESIS DEL
COMPUESTO



A-36

Figura 5. 4 Hidrazona A-35.

Se colocaron 590 mg (2.6mmol) de difenilhidracina en un matraz de bola de 100 ml y se adicionaron 30 ml de etanol, una vez disuelta la hidracina se adiciona poco a poco 0.25 ml (2.6 mmol) de nitrofurancarbaldehido previamente disuelto en un poco de etanol. La mezcla se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente durante 2 h. El color de la disolución cambio gradualmente de morado a color guinda durante el transcurso de la reacción, a los 60 minutos de la reacción se comienza a formar un precipitado de color verde tenue. La mezcla de reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina. Una vez dada la reacción se observó la formación del compuesto de color verde (A-36). El producto (precipitado) fue filtrado y secado, posteriormente se recristalizó con un poco de etanol.

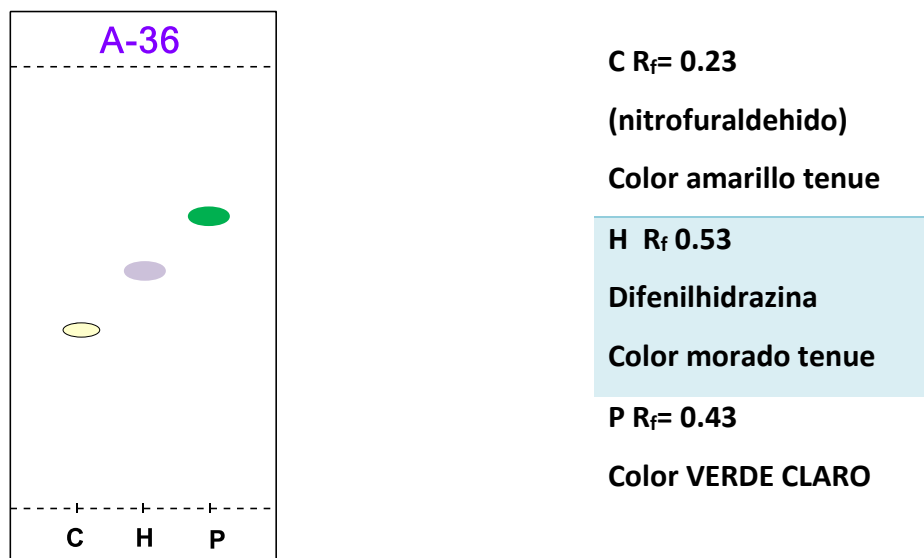


Figura 5. 5 placa cromatografía, en gel de sílice eluída en hexano-acetato de etilo 8:2.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (dd, $J = 8.5, 7.4$ Hz, 9H), 7.30 (s, 2H), 7.23 – 7.21 (m, 1H), 7.21 – 7.19 (m, 4H), 7.18 (dd, $J = 7.1, 1.6$ Hz, 9H), 6.97 – 6.94 (m, 2H), 6.91 (dd, $J = 3.9, 0.7$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 143.34, 141.85, 130.42, 129.86, 127.22, 126.36, 125.46, 124.63, 122.45.

Tabla 6. 3 Propiedades Físicas y solubilidades del compuesto A-36.

COMPUESTO	A-36	
COLOR	Verde claro	
FORMULA CONDENSADA	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}$	
RENDIMIENTO	74%	
PUNTO DE FUSION	114-116 °C	
SOLUBILIDAD	Etanol	S
	Acetona	S
	Metanol	PS
	Diclorometano	S
	Acetato de etilo	S
	Hexano	PS
	Cloroformo	S
	Acetonitrilo	S
	Agua	I



Figura 5. 6 Hidrazona A-36.

REFERENCIAS

- ¹ McMurry, J., Química Orgánica, 7ª. Edición, México, Cengage Learning Editores, S.A., 2008.
- ² Wade, L.G. Jr., Química Orgánica, 5ª. Edición, España, Ed. Pearson Educación, S.A. de C.V., 2004.
- ³ Carey, F.A., Química Orgánica, 6ª. Edición, México, Ed. McGraw-Hill Interaerica, 2006.
- ⁴ Singhand, M., y Raghav, N. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **2011**, 3(4), 26–32.
- ⁵ Seleem, H.S., El-Inany, G.A., El-Shetary, B.A., y Mousa, M.A. *Chemistry Central Journal*. **2011**. 5(2). doi: 10.1186/1752-153X-5-2
- ⁶ Asif, M., y Husain, A. *Journal of Applied Chemistry*. **2013**,1–7. doi:10.1155/2013/247203
- ⁷ Toledano-Magaña, Y., Meléndrez-Luévano, R., Navarro-Olivarria, M., García-Ramos, J. C., Flores-Alamo, M., Ortiz-Frade, L., y Cabrera-Vivas, B. M. *Med. Chem. Commun.* **2014**, 5(7), 989–996. doi:10.1039/c4md00075g
- ⁸ Toledano-Magaña, Y., García-Ramos, J., Navarro-Olivarria, M., Flores-Alamo, M., Manzanera-Estrada, M., Ortiz-Frade, L., y Cabrera-Vivas, B. *Molecules*. **2015**, 20(6), 9929–9948. doi:10.3390/molecules20069929
- ⁹ Ajani, O. O., Obafemi, C. A., Nwinyi, O. C., y Akinpelu, D. A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2010**, 18(1), 214–221. doi:10.1016/j.bmc.2009.10.064
- ¹⁰ Aslam, M. A. S., Mahmood, S., Shahid, M., Saeed, A., y Iqbal, J. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2011**, 46(11), 5473–5479. doi:10.1016/j.ejmech.2011.09.009
- ¹¹ Cui, Z., Li, Y., Ling, Y., Huang, J., Cui, J., Wang, R., y Yang, X. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2010**, 45(12), 5576–5584. doi:10.1016/j.ejmech.2010.09.007
- ¹² Kaushik, D., Khan, S. A., Chawla, G., y Kumar, S. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2010**, 45(9), 3943–3949. doi:10.1016/j.ejmech.2010.05.049

- ¹³ De Oliveira, K. N., Costa, P., Santin, J. R., Mazzambani, L., Bürger, C., Mora, C., y Souza, M. M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2011**, 19(14), 4295–4306. doi:10.1016/j.bmc.2011.05.056
- ¹⁴ Dimmock, J. R., Vashishtha, S. C., y Stables, J. P. (2000). *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2000**, 35(2), 241–248. doi:10.1016/s0223-5234(00)00123-9
- ¹⁵ Shaquiquzaman, M., Khan, S. A., Amir, M., y Alam, M. M. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. **2011**, 27(6), 825–831. doi:10.3109/14756366.2011.618129
- ¹⁶ Ragavendran, J. V., Sriram, D., Patel, S. K., Reddy, I. V., Bharathwajan, N., Stables, J., y Yogeeswari, P. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2007**, 42(2), 146–151. doi:10.1016/j.ejmech.2006.08.010
- ¹⁷ Ergenç, N., Günay, N. S., y Demirdamar, R. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **1998**, 33(2), 143–148. doi:10.1016/s0223-5234(98)80039-1
- ¹⁸ Todeschini, A. R., de Miranda, A. L. P., da Silva, K. C. M., Parrini, S. C., y Barreiro, E. J. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **1998**, 33(3), 189–199. doi:10.1016/s0223-5234(98)80008-1
- ¹⁹ Fraga, A. G., Rodrigues, C. R., de Miranda, A. L., Barreiro, E. J., y Fraga, C. A. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2000**, 11(4), 285–290. doi:10.1016/s0928-0987(00)00102-0
- ²⁰ Silva, G. A., Costa, L. M. M., Brito, F. C. F., Miranda, A. L. P., Barreiro, E. J., y Fraga, C. A. M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2004**, 12(12), 3149–3158. doi:10.1016/j.bmc.2004.04.009
- ²¹ Salgın-Gökşen, U., Gökhan-Kelekçi, N., Göktaş, Ö., Köysal, Y., Kılıç, E., Işık, Ş., ... Özalp, M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2007**, 15(17), 5738–5751. doi:10.1016/j.bmc.2007.06.006

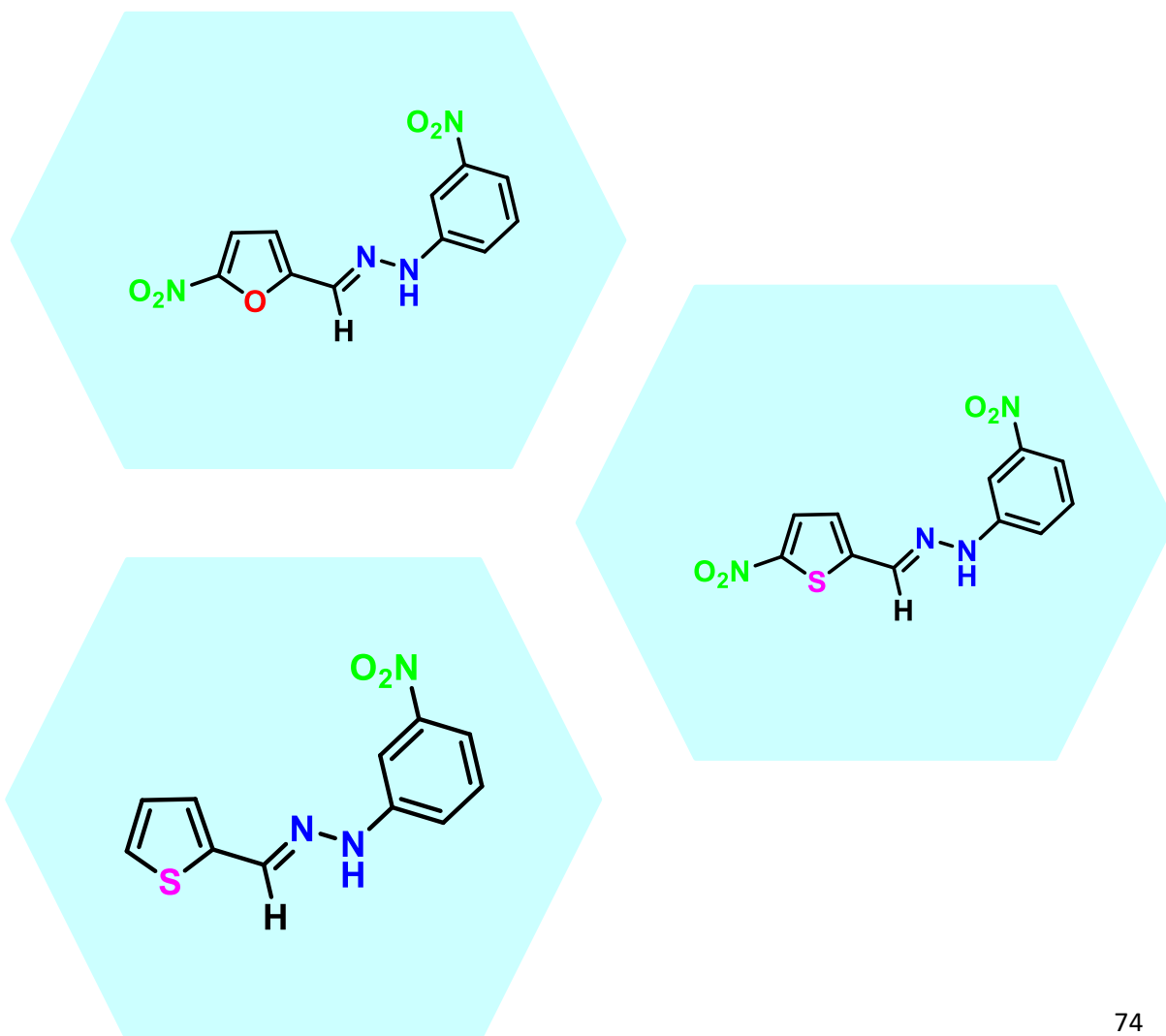
- ²² Walcourt, A., Loyevsky, M., Lovejoy, D. B., Gordeuk, V. R., y Richardson, D. R. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. **2004**, 36(3), 401–407. doi:10.1016/s1357-2725(03)00248-6
- ²³ Rollas, S., Gulerman, N., & Erdeniz, H. *IL Farmaco*. **2002**, 57(2), 171–174. doi:10.1016/s0014-827x(01)01192-2
- ²⁴ Küçükgülzel, S. G., Mazi, A., Sahin, F., Öztürk, S., y Stables, J. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2003**, 38(11-12), 1005–1013. doi:10.1016/j.ejmech.2003.08.004
- ²⁵ Pandey, J., Pal, R., Dwivedi, A., y Hajela, K. *Arzneimittelforschung*. **2011**, 52(01), 39–44. doi:10.1055/s-0031-1299854
- ²⁷ El-Sherif, A. A. *Inorganica Chimica Acta*. **2009**, 362(14), 4991–5000. doi:10.1016/j.ica.2009.08.004
- ²⁸ Pouralimardan, O., Chamayou, A.-C., Janiak, C., y Hosseini-Monfared, H. *Inorganica Chimica Acta*. **2007**, 360(5), 1599–1608. doi:10.1016/j.ica.2006.08.056
- ²⁹ De Gracia Retamosa, M., Matador, E., Monge, D., Lassaletta, J. M., y Fernández, R. *Chemistry - A European Journal*. **2016**, 22(38), 13430–13445. doi:10.1002/chem.201602430

6. ANEXOS

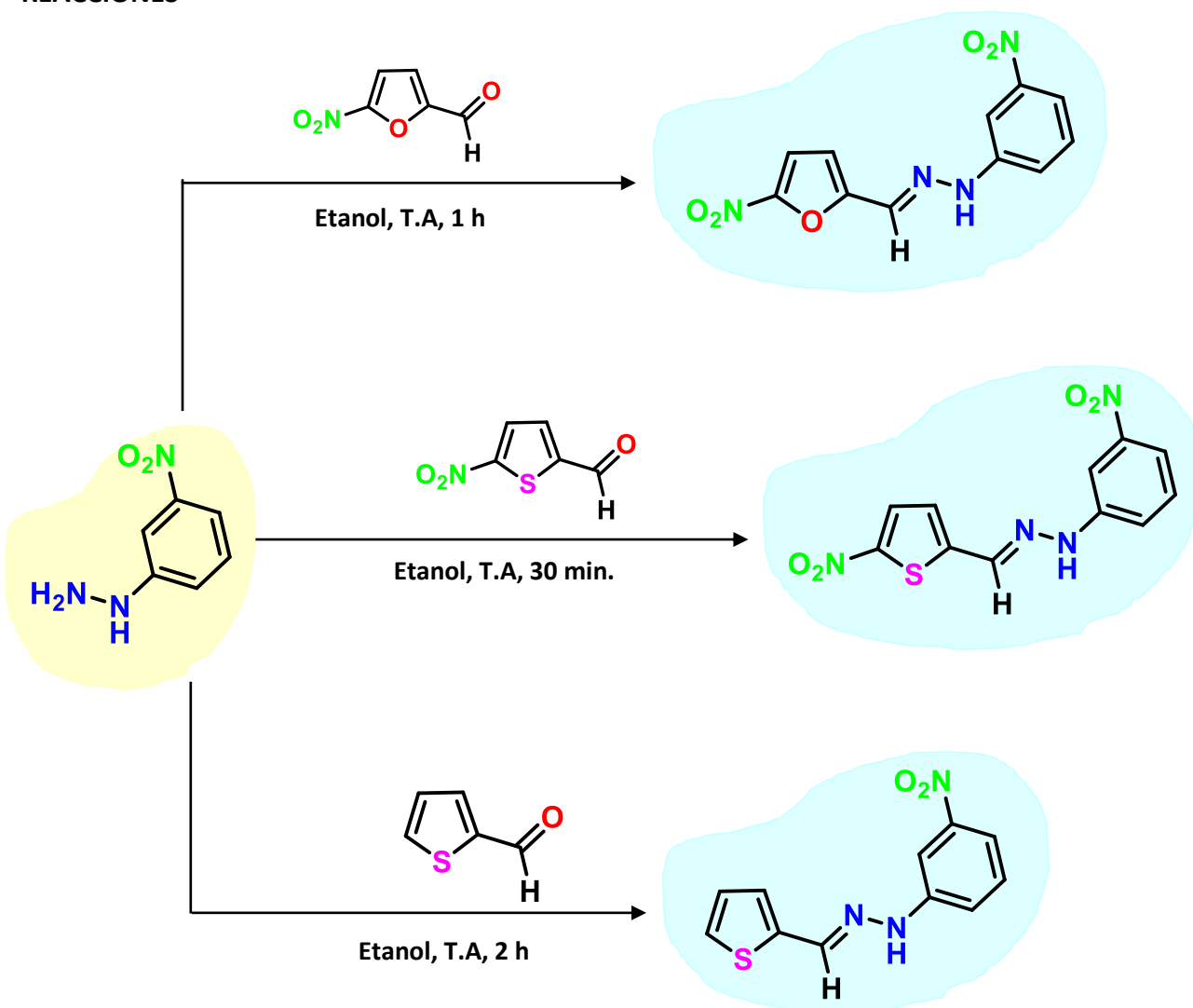
Reacciones F nuevas expectativas

Debido a que las hidrazonas tienen una amplia gama de actividad biológica, y que actualmente son investigados por la variedad de fármacos que pueden sintetizarse, nuestro equipo de trabajo, decidió ampliar su investigación hacia a síntesis de nuevas hidrazonas, por lo que se han sintetizado una familia de hidrazonas utilizando como reactivo la Nitrofenilhidrazina. El propósito de este reactivo es conocer cómo influye el grupo NO_2 en la estructura y la actividad biológica de la hidrazona, ya que en la literatura se encuentra que el grupo Nitro es la diferencia entre tener o no actividad biológica.

En la siguiente figura se muestran 3 estructuras de hidrazonas sintetizadas a partir de la Nitrofenilhidrazina con los 3 aldehídos utilizados entre trabajo. La nueva familia se le denominó con la letra F.



REACCIONES



Las reacciones se llevaron a temperatura ambiente con agitación constante, el tiempo de reacción varía para cada una de ellas. Se utilizó como disolvente etanol. Todos los productos se recrystalizaron en una mezcla de etanol/metanol a evaporación lenta. El tiempo de cristalización varía dependiendo de la hidrazona.

Las hidrazonas purificadas fueron analizadas mediante las técnicas espectroscópicas utilizadas en este trabajo, corroborando las estructuras propuestas. Los resultados se muestran a continuación.

Resultados

Hidrazona F-32

De la reacción se obtuvo un polvo naranja-rojizo, el cual tuvo que ser recristalizado dando como resultado dos productos: uno en forma de pequeños cristales de color rojo y un polvo conglomerado de color naranja. Los siguientes datos corresponden a los cristales. Las propiedades físicas de esta hidrazona se resumen en la siguiente tabla.



Figura 6. 1 Hidrazona F-32.

Tabla 6. 4

Hidrazona	Color	Formula Condensada	Rendimiento	p.f °C	Peso molecular (g/mol)
F-32	Naranja-rojizo	$C_{11}H_8N_4O_5$	65%	196-198°C	276

Caracterización por IR

El espectro de la hidrazona se muestra en la siguiente figura, como se puede observar, la banda correspondiente al enlace C=N se ubica en 1624 cm^{-1} , mientras que en 3278 cm^{-1} se encuentra una señal fuerte correspondiente al enlace N-H. En el espectro se muestran las señales y el tipo de enlace al que corresponde.

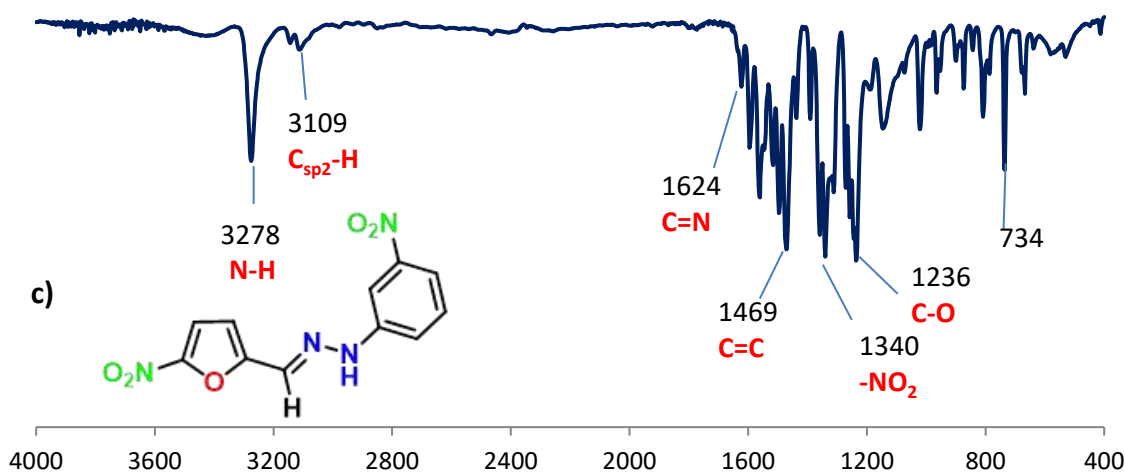


Figura 6. 2 Espectro IR de F-32 en KBr en cm^{-1} .

RMN ^1H y ^{13}C

En la figuras 6.3 y 6.4 se muestran los espectros de RMN ^1H y ^{13}C de la hidrazona A-32, las muestras fueron realizadas en acetronitrilo deuterado. En el espectro de ^1H se puede observar 8 señales correspondientes de los H presentes en la molécula, a campo bajo, alrededor de 9.72 ppm se encuentra la señal del hidrogeno -NH, a campo un poco mas alto, en 7.78 se encuentra una señal simple característica del H imínico de la hidrazona. La hidrazona contiene en su estructura un heterociclo aromático (furano), que en el carbono 5 tiene como un grupo nitro como sustituyente, debido a la presencia de este grupo electroatractor, el H unido en el C_4 está mucho mas desapantallado que el H unido al C_3 , por lo tanto las señales (dobletes) de estos H estan a 7.51 y 6.93 ppm. Las señales correspondientes al fenilo con un grupo nitro en la posicion 3' se localizan en; 7.93ppm (triplete) esta señal corresponde al H unido al C_2' , con $J=2.2$ Hz, esta constanate es característica de las interacciones con otros H en posiciones *meta*. En 7.74-7.72 ppm se encuentra una señal ddd del H para del fenilo debido a que adyacente a el está un grupo nitro, la señal muestra esta multiplicidad por los acoplamiento que tiene con los H *orto* y *meta* del anillo. Posteriormente de 7.52 a 7.50 ppm se encuentra un triplete, sin embargo a ese

mismo desplazamiento se encuentra el doblete del H unido al C₄ por lo que las señales se traslapan, finalmente la señal ddd con un desplazamiento de 7.46 a 7.44 ppm corresponde al H del C₆'. En la tabla 6.1 se reumen los datos obtenidos.

En el espectro de C se observan solo 10 señales en lugar de las 11 que se esperan en total, debido a que la señal del disolvente utilizado (acetonitrilo) aparece alrededor de 117 ppm y a que la mayoría de las señales aparecen en esta zona, se infiere que la señal que falta (H del C₄) esta dentro de la señal del acetonitrilo deuterado.

A campo alto aparecen los C₅ y C₃' que están unidos a los grupos Nitro presentes en la molécula, en 153.7 y 149.8 ppm, posteriormente se localizan los Carbonos ipso y el imínico (C₂, C₁' y C_i) a 145.6, 130.9 y 129.3 ppm. En la zona de 129 a 107 ppm se muestran las señales faltantes provenientes de los H del fenilo.

Tabla 6. 5 Datos obtenidos de RMN de ¹H de F-32.

δ(ppm)	Multiplicidad	Asignación	Integral relativa	J (Hz)
9.72	s	H _N	1	-
7.93	t	H ₂ '	1	2.2
7.78	s	H _i	1	-
7.74-7.72	ddd	H ₄ '	1	8.0, 2.2, 1.0
7.53-7.50	t	H ₅ '	1	8.0
7.51	d	H ₄	1	3.85
7.46-7.44	ddd	H ₆ '	1	8.2, 2.1, 1.0
7.93-9.92	d	H ₃	1	3.9

F-32b
F-32b 10/10/018

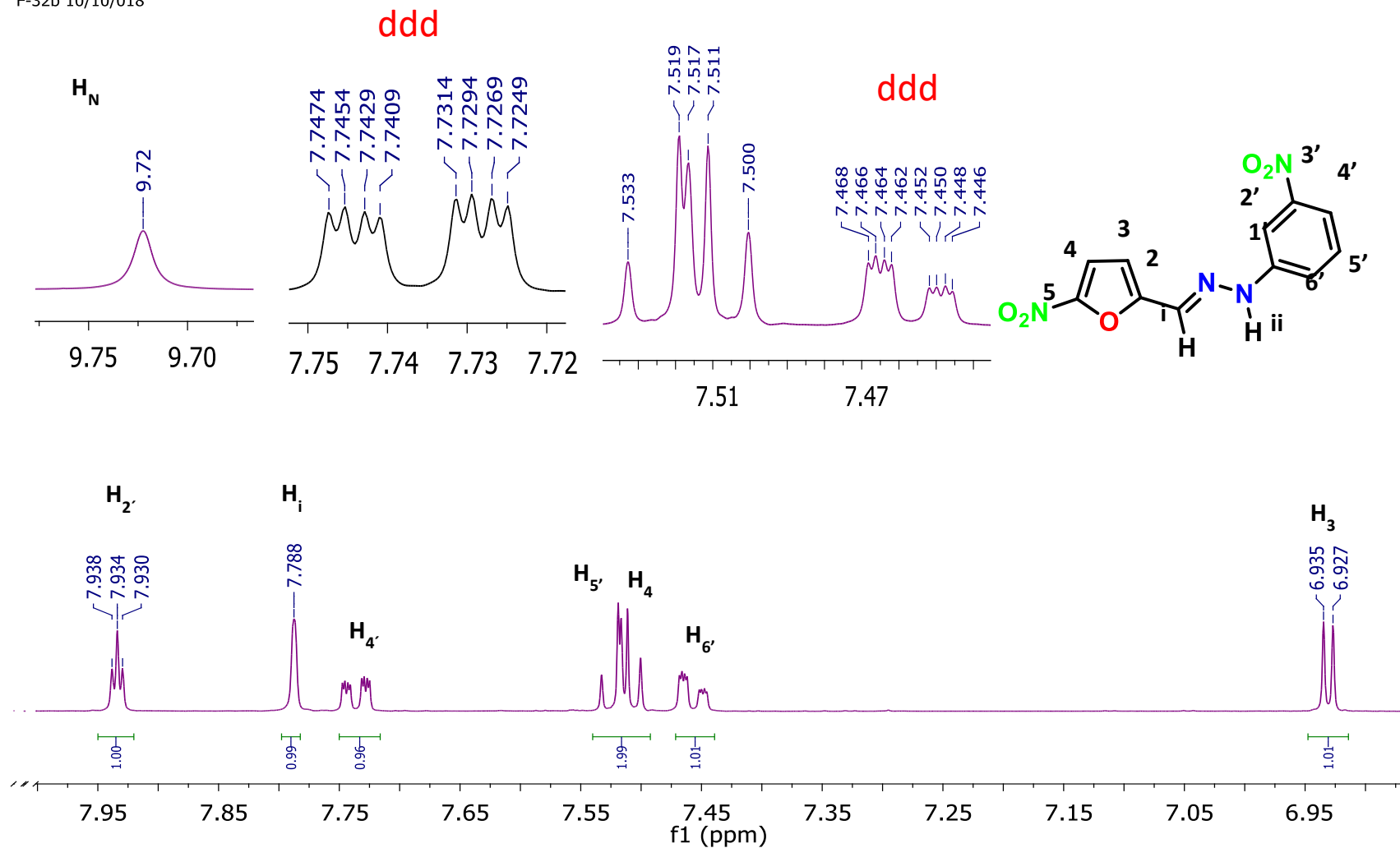
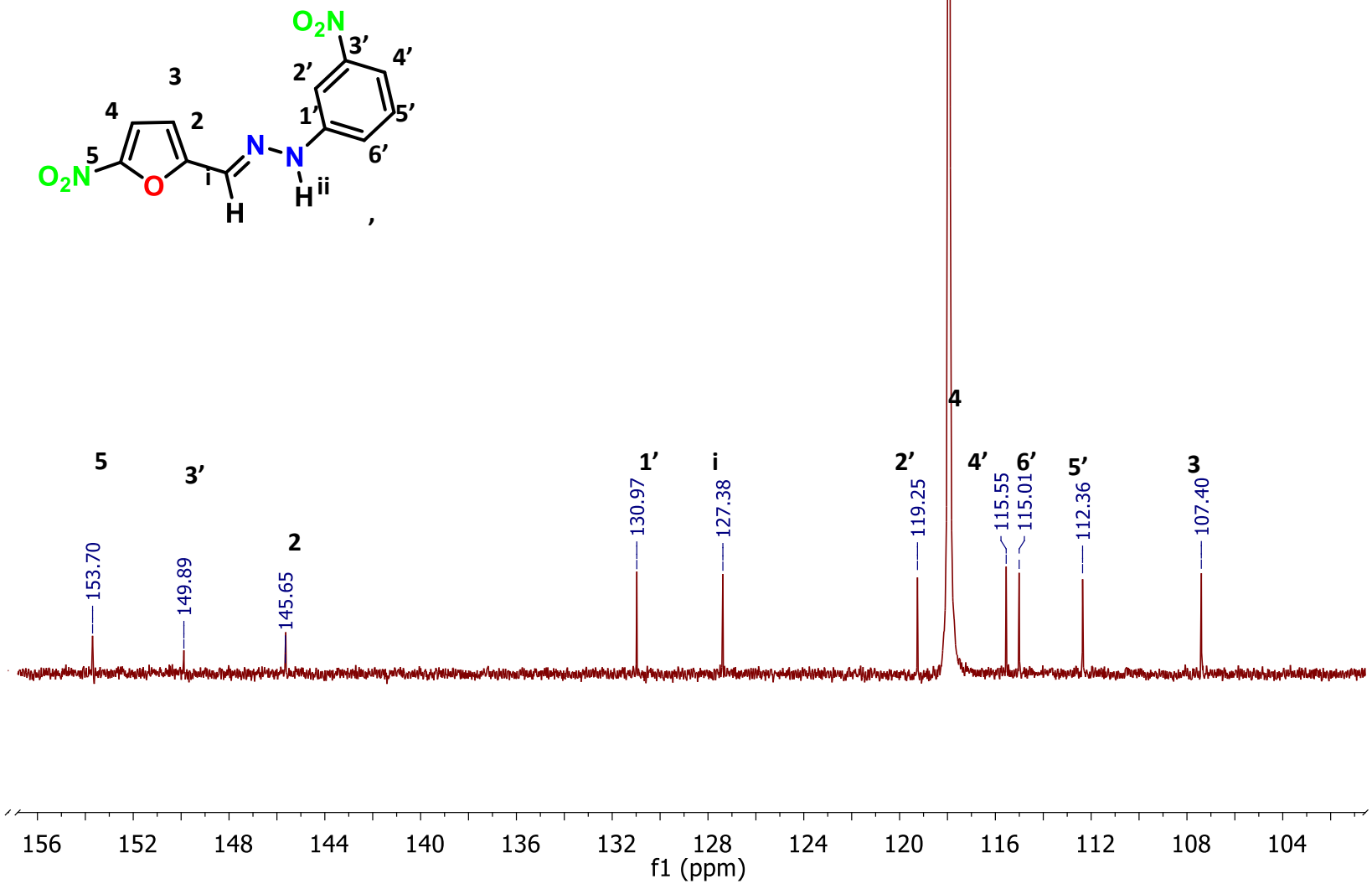


Figura 6. 3 Espectro de RMN de ^1H de F-32 a 500 MHz en CDCl_3 .

^1H NMR (500 MHz, CD_3CN) δ 7.93 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.74 (ddd, $J = 8.0, 2.2, 1.0$ Hz, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 2H), 7.46 (ddd, $J = 8.2, 2.1, 1.0$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H).

F-32 cristales

Figura 6. 4 Espectro de ¹³C de F-32 a 500 MHz en CDCl₃.

Hidrazona F-35

Se obtuvo un polvo de color rojo brillante con un rendimiento del 80%. En la siguiente tabla se muestran algunas propiedades físicas de la misma.

Tabla 6. 6

Hidrazona	Color	Formula Condensada	Rendimiento	p.f °C	Peso molecular (g/mol)
F-35	Rojo brillante	$C_{11}H_8N_4O_4S$	80%	196-198°C	292

Espectroscopía IR

En la figura 6.5 se observa el espectro de IR de la hidrazona A-35, en el cual se observan las bandas correspondientes a los principales enlaces de la hidrazona. A 1618 cm^{-1} se localiza la banda de tensión del enlace C=N, mientras que la banda del enlace N-H se sitúa a 3288 cm^{-1} . La banda fuerte del enlace del nitro se ubica a 1621 cm^{-1} . Finalmente, las bandas correspondientes a los enlaces C=C y C-H aromáticos se encuentran a 1548 y 3105 cm^{-1} .

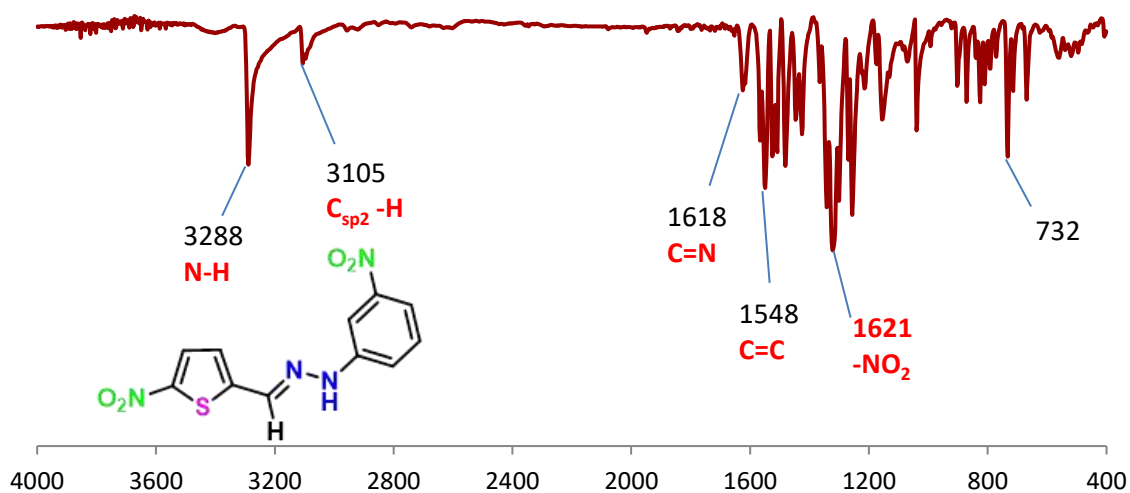


Figura 6. 5 Espectro IR de F-35 en KBr en cm^{-1} .

RMN ^1H y ^{13}C

El espectro de ^1H se muestra en la figura 6.6, en el cual se observan las señales de los ocho H distintos a campo bajo se encuentra la señal del H unido al N (singulete) en 9.78 ppm, a campo un poco mas alto se encuentra un singulete perteneciente al H imínico en 8.02 ppm. Los H del tiofeno se localizan en 7.93 y 7.20 ppm ambos dobletes, la diferencia radica en que el H_4 se encuentra adyacente al grupo nitro por lo que aparece a campo mas bajo. Los H aromáticos del fenilo aparecen en el área de 7.91 a 7.49 ppm, la multiplicidad varía de acuerdo con el H. 7.71 se encuentra un triplete ($\text{H}_{2'}$), en 7.73 ppm se sitúa un doble de triples ($\text{H}_{4'}$) y por último en 7.52 a 7.49 ppm se encuentran traslapadas las señales del $\text{H}_{6'}$ (triplete) y $\text{H}_{5'}$. En la tabla 6.4 se muestra el resumen del espectro de ^1H .

Debido a que la muestra estuvo diluida por ser poco soluble en los disolventes deuterados disponibles, el espectro de ^{13}C no se aprecia para su análisis.

Tabla 6. 7.

$\delta(\text{ppm})$	Multiplicidad	Asignación	Integral relativa	J (Hz)
9.78	s	H_N	1	-
8.02	s	H_i	1	-
7.93	d	H_4	1	4.3
7.91	t	$\text{H}_{2'}$	1	2.1
7.73-7.71	dt	$\text{H}_{4'}$	1	6.9, 2.3
7.51	t	$\text{H}_{5'}$	1	8.0
7.49	m	$\text{H}_{6'}$	1	-
7.20-7.19	d	H_3	1	4.3

^1H NMR (500 MHz, CD_3CN) δ 8.02 (s, 1H), 7.93 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 7.91 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.73 (dt, $J = 6.9, 2.3$ Hz, 1H), 7.51 (dd, $J = 9.1, 5.2$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H).
F-35 15/10/18

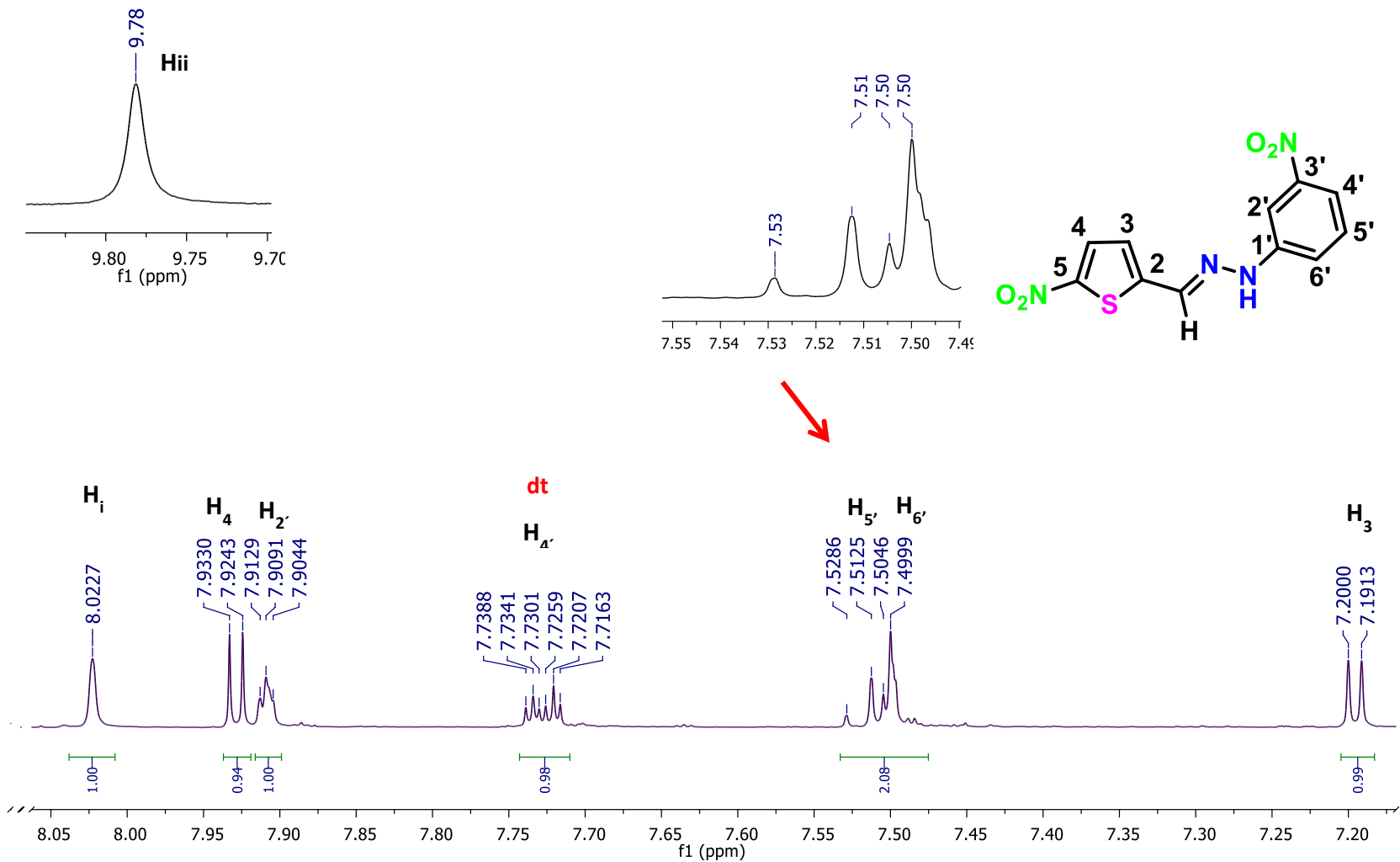


Figura 6. 6 Espectro de ^1H de F-35 a 500 MHz en CDCl_3 .

Hidrazona F-36

Se obtuvo un polvo de color café-naranja brillante, en un rendimiento del 73% algunas de las propiedades físicas de la hidrazona se muestran a continuación:

Tabla 6. 8

Hidrazona	Color	Formula Condensada	Rendimiento	p.f °C	Peso molecular (g/mol)
F-36	Café-naranja	C ₁₁ H ₉ NO ₂ S	73%	127-129	219

Espectroscopia IR

En el espectro de IR se logra apreciar la banda característica del enlace C=N en 1620 cm⁻¹, en 3305 cm⁻¹ se encuentra la banda del N-H, y en 1342 cm⁻¹ hay una señal fuerte que corresponde al grupo nitro. En la figura 6.5 se observa con detalle las bandas y el tipo de enlace al que corresponden.

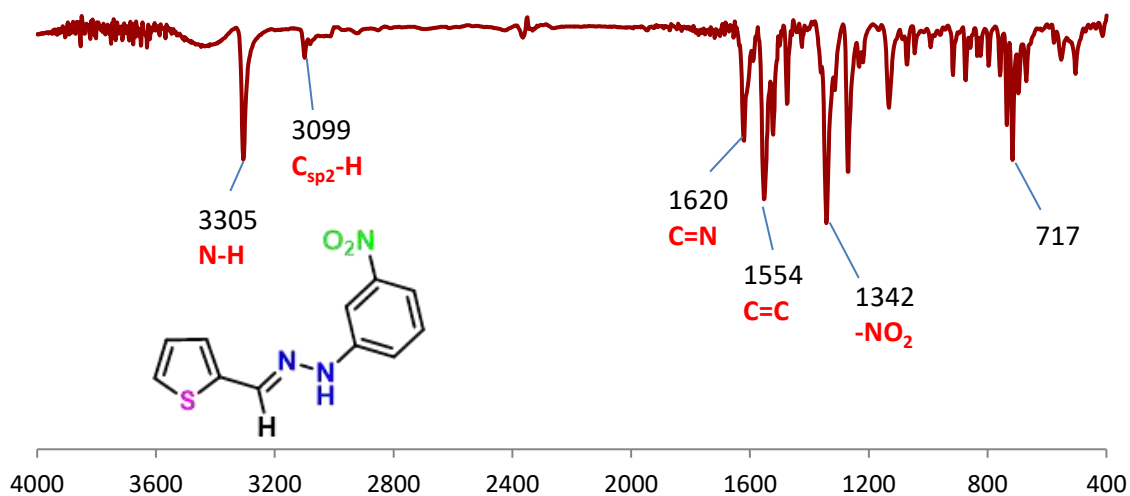


Figura 6. 7 Espectro IR de F-36 en KBr en cm⁻¹.

RMN ¹H y ¹³C

En el espectro de ^1H (Fig. 6.6) se aprecian las señales de los 9 H diferentes de la molécula, en 9.1 ppm se localiza un singulete perteneciente al H del enlace N-H, en campo más alto se encuentra el H imínico alrededor de 8.08 ppm, posteriormente de 7.85 a 7.84 ppm se encuentra un triplete que corresponde al H unido al C_2' del fenilo. Los protones $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{5'}$ y $\text{H}_{6'}$ del fenilo se ubican en 7.64(ddd), 7.46(t) y 7.37(ddd) ppm en el mismo orden, los H del fenilo tienen esta multiplicidad ya que se acoplan entre sí con los H adyacentes y debido a que la molécula es asimétrica. Los H pertenecientes al tiofeno se encuentran en 7.41(m), 7.25(m) y 7.09(dd) para los hidrógenos H_5 , H_4 y H_3 . En la tabla 6.4 se muestran los datos obtenidos en forma de resumen.

En la figura 6.7 se muestra el espectro de ^{13}C de F-36, en el espectro aparecen las señales de los 11 carbonos presentes en la hidrazona. El Ci aparece en 135.29 ppm, los C ipso del fenilo están a 149.92 y 146.73 ppm, mientras que los demás carbonos de este se localizan en la región de 130.74 a 127.17 ppm. Las señales provenientes del tiofeno se encuentran en 140.76(C_2), 118.61(C_5), 114.07(C_4) y 106.59 ppm(C_3). En el espectro se muestran las señales con su asignación respectiva.

Tabla 6. 9 Datos obtenidos de RMN de ^1H de F-36.

$\delta(\text{ppm})$	Multiplicidad	Asignación	Integral relativa	J (Hz)
9.10	s	H_N	1	-
8.08	s	H_i	1	-
7.85-7.84	t	$\text{H}_{2'}$	1	2.2
7.64	ddd	$\text{H}_{4'}$	1	8.0, 2.3, 0.9
7.46	t	$\text{H}_{5'}$	1	8.1
7.41	m	H_5	1	-
7.37	ddd	$\text{H}_{6'}$	1	8.2, 2.2, 0.9
7.25	m	H_4	1	-
7.09	dd	H_3	1	5.1, 3.6

^1H NMR (500 MHz, CD_3CN) δ 9.10 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.85 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.63 (ddd, $J = 8.0, 2.3, 0.9$ Hz, 1H). 7.45 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.43 – 7.40 (m, 1H), 7.37 (ddd, $J = 8.2, 2.2, 0.9$ Hz, 1H), 7.26 – 7.24 (m, 1H), 7.09 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H).

F-36

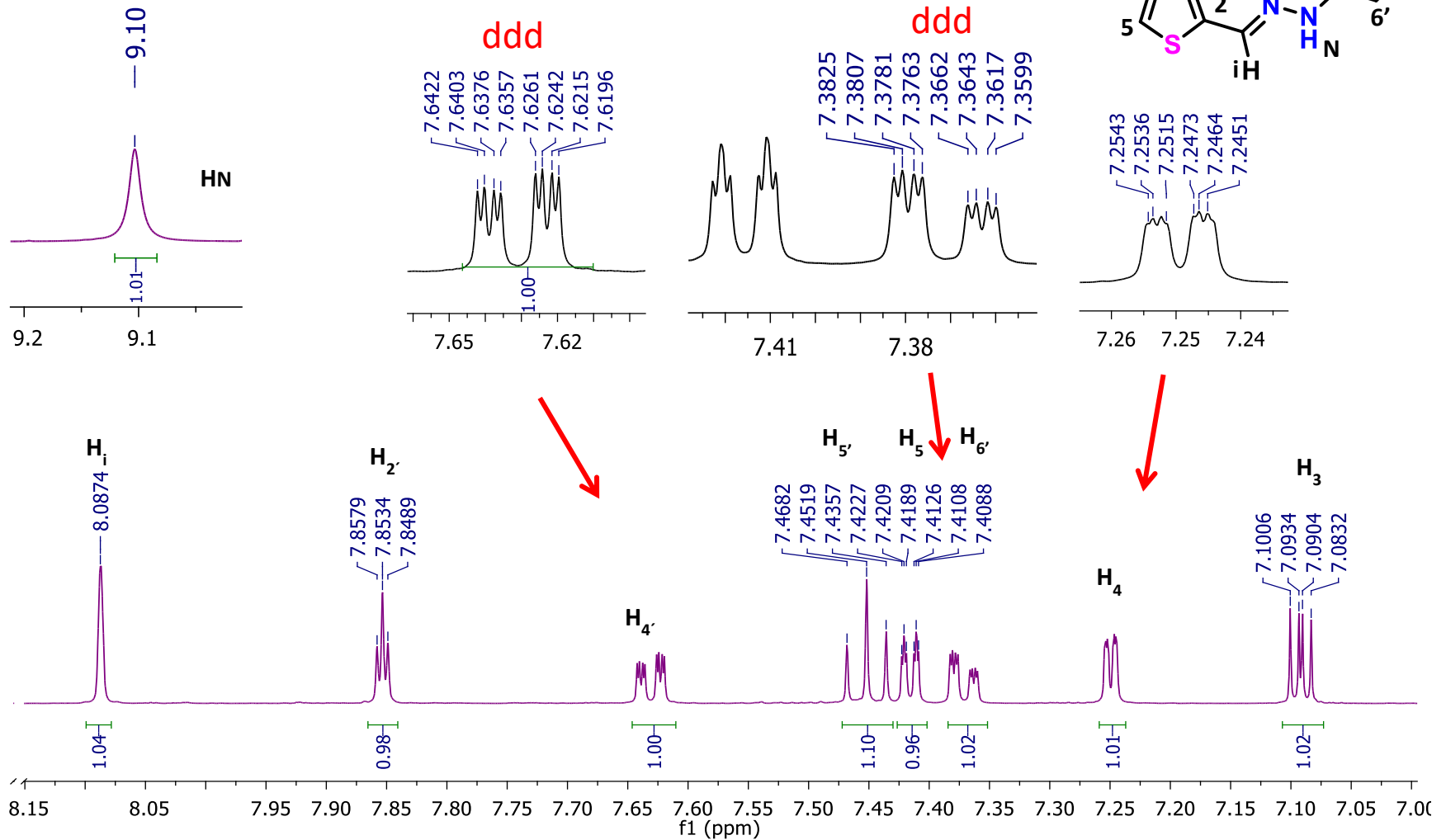
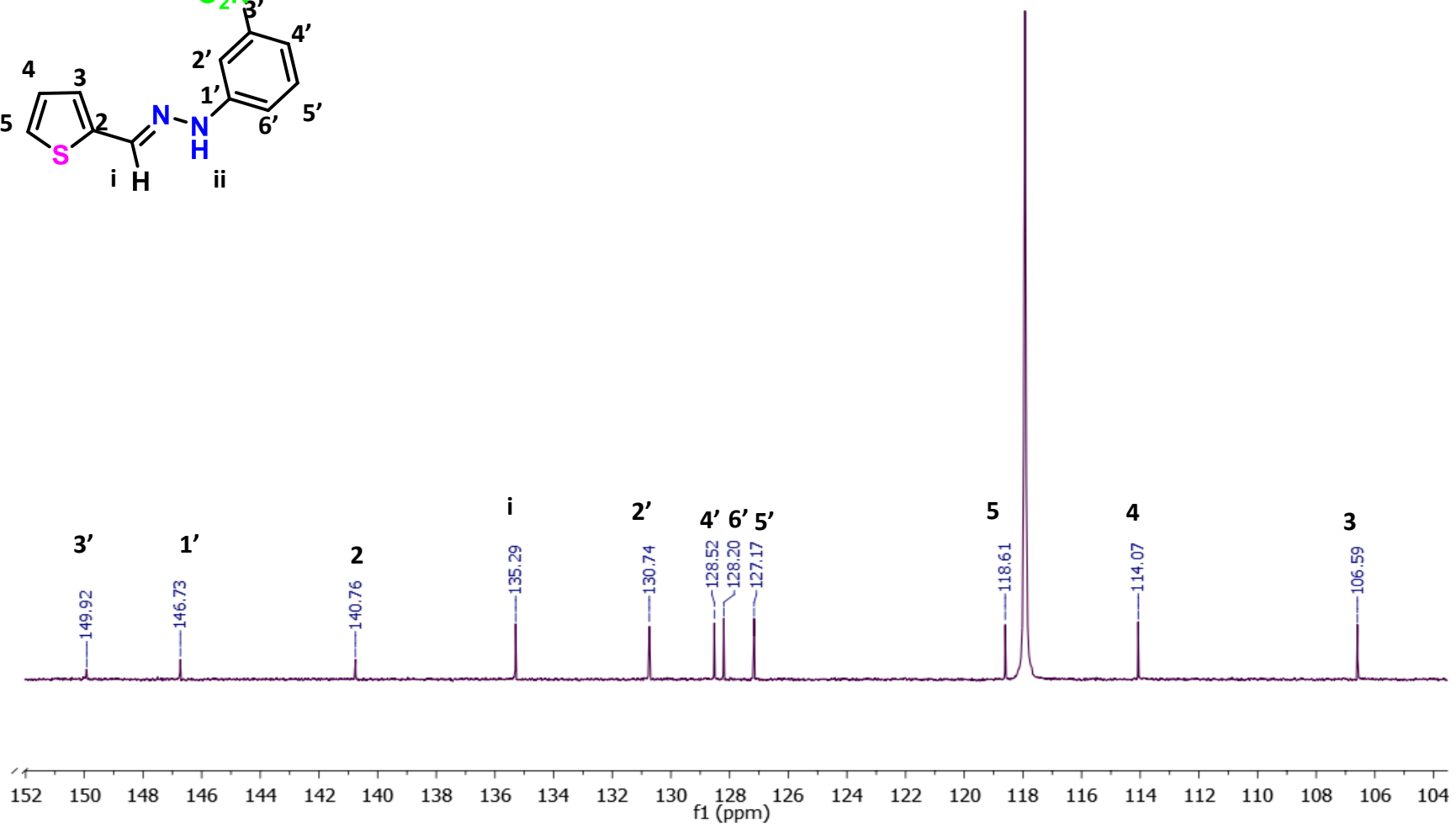
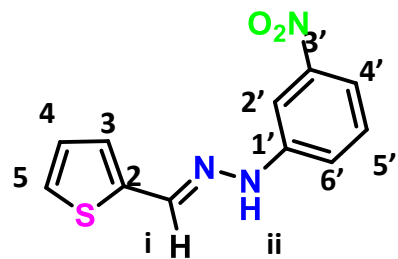


Figura 6. 8 Espectro de ^1H de F-36 a 500 MHz en CDCl_3 .

F-36

Figura 6. 9 Espectro de ^{13}C de F-36 a 500 MHz en CDCl_3 .