

2 G. No. 32



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Síntesis y Relación Estructura-  
Actividad de Fenoles  
Inhibidores de la Fotosíntesis**

**T E S I S**

**ARTURO ZAPIEN MARTINEZ**

**QUÍMICO**

**1984**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO.

	Pág.
I INTRODUCCION _____	3
II ANTECEDENTES	
Fotosíntesis _____	6
Reacción de Hill _____	9
Herbicidas inhibidores de la fotosíntesis _____	12
Inhibidores del transporte de electrones _____	13
Mecanismos de interacción de herbicidas con el fotosistema II _____	14
Relación estructura-actividad de herbicidas inhibidores de la fotosíntesis _____	16
III OBJETIVO _____	23
IV RESULTADOS Y DISCUSION _____	25
Síntesis de fenoles _____	27
Medición de la inhibición del transporte de electrones _____	38
V PARTE EXPERIMENTAL _____	43
VI RESUMEN Y CONCLUSIONES _____	54
VII BIBLIOGRAFIA _____	56

**I N T R O D U C C I O N .**

## I. INTRODUCCION.

Las malezas presentes en los cultivos originan diversos problemas como son: dificultades de labores y recolección y necesidad de mano de obra o de plaguicidas para su eliminación; por ello las malas hierbas disminuyen la producción agrícola y repercuten considerablemente sobre la economía. La disminución originada por el desarrollo de malas hierbas, varía de acuerdo a las zonas climatológicas y pueden ir de 15 a 50 % del valor total, debiéndose principalmente a la competencia que se origina entre las malas hierbas y plantas por espacio, nutrientes, luz y agua.

El hombre desde tiempos muy remotos ha desarrollado métodos mecánicos, biológicos y químicos para combatir a las malas hierbas. Resultando más eficientes y económicos los métodos de control químico, aunque muchas veces se hace necesaria la combinación de varios métodos.

El desarrollo de mejores herbicidas para protección vegetal, se hace cada vez más importante sobre todo en países eminentemente agrícolas; como es el caso de México. Los mejores herbicidas son sustancias con una actividad selectiva hacia las malas hierbas y lo más inocuo posible hacia los cultivos. El diseño de mejores herbicidas se podrá lograr cuando se conozcan mejor el modo de acción de los herbicidas actuales sobre la fisiología vegetal de las plantas.

Sin embargo el uso de herbicidas no solo ha servido para el control de malas hierbas, sino que también se han usado con fines bélicos, tal es el caso de los defoliantes usados en la guerra de Vietnam; y el defoliant más usado fue el ácido 2,4,5-tricloro-fenoxy acético.

El modo de acción de la gran mayoría de los herbicidas no ha sido aún esclarecido y el descubrimiento de los herbicidas se ha hecho en forma empírica.

El estudio de las relaciones estructura - actividad biológica de series de compuestos puede contribuir al conocimiento de los mecanismos de la acción herbicida.

En este trabajo se sintetizaron análogos a bromoxinil (2,6 - dibromo-4-ciano fenol) y se determinó su influencia sobre el transporte de electrones en la fotosíntesis en cloroplastos aislados de espinaca (*Spinacea oleracea*). De los resultados obtenidos se proponen algunos parámetros que confieren actividad a los compuestos y que deben considerarse para el diseño futuro de herbicidas más potentes.

**ANTECEDENTES.**

## II. ANTECEDENTES.

### FOTOSINTESIS.

Toda la energía consumida por los sistemas biológicos, proviene de la energía solar, que es capturada por el proceso de fotosíntesis. La fotosíntesis en las plantas verdes ocurre en los cloroplastos, y da como resultado la formación de carbohidratos a partir del dióxido de carbono del aire y del agua, como se representa en la ecuación general siguiente:



Los cloroplastos, son una de las diversas clases de plastidios de las células eucarióticas; su diámetro varía entre 1 y 10  $\mu\text{m}$ . Generalmente son de forma globular o discoidal; poseen una membrana exterior y otra interior con un espacio intermembranal. La membrana interna rodea al estroma, conteniendo enzimas solubles y estructuras membranosas llamadas tilacoides; una pila de estos tilacoides se llama grana. Diferentes granas se conectan por regiones membranosas llamadas lamelas (fig. 1).

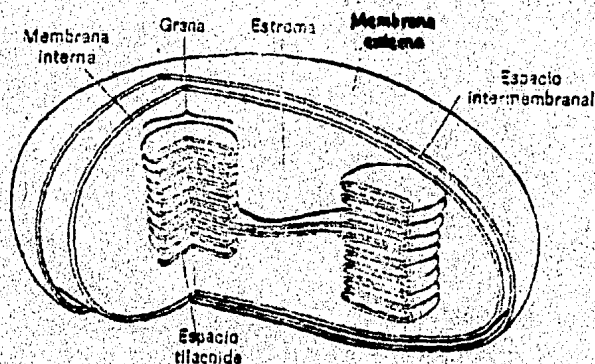


Fig. 1. Diagrama de un cloroplasto.



El proceso global de la fotosíntesis se efectúa en dos etapas: una fase luminosa y otra oscura. La primera fase es la captación de la energía luminosa por los pigmentos (clorofilas, xantofilas y carotenos), que absorben la luz convirtiéndola en la energía química contenida en el ATP y de ciertos agentes reductores, especialmente NADPH. En esta fase, los átomos de hidrógeno se separan de las moléculas de agua y se emplean en la reducción del  $\text{NADP}^+$ , liberándose oxígeno molecular, que es un subproducto de la fotosíntesis en las plantas; simultáneamente, el ADP se fosforila a ATP:



Lo anterior puede resumirse en la ecuación general siguiente:



En la segunda fase (oscura), los productos ricos en energía de la primera fase, el NADPH y el ATP, se emplean como fuentes energéticas para efectuar la reducción del dióxido de carbono y producir glucosa; simultáneamente el NADPH se reoxida a  $\text{NADP}^+$ , y el ATP se escinde de nuevo en ADP y fosfato inorgánico, representando lo anterior la siguiente ecuación:



Debido a que la acción primaria de los herbicidas de interés en este trabajo, se limita a la fase luminosa de la fotosíntesis — sólo se describirá esta fase.

Las plantas verdes poseen un aparato fotosintético localizado en la membrana del tilacoide. Este aparato constituido entre otros por pigmentos fotosintéticos (clorofilas, xantofilas y carotenos), tienen como función suministrar a la planta un sistema eficiente de absorción de luz a través del espectro visible. Esta energía es transferida a los centros de reacción; donde es utilizada para las reacciones fotoquímicas. En la tabla I se muestra la composición aproximada de los fotosistemas I y II.

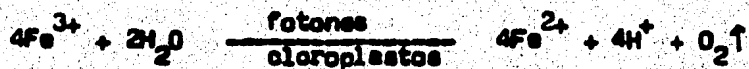
TABLA I.

Composición de los fotosistemas I y II.

Fotosistema I	
Clorofilas antena	~ 200
Carotenoides	~ 50
Centro de reacción P700	1
Citocromo C <sub>552</sub> (f)	1
Plastocianina	1
Citocromo b <sub>553</sub> (b <sub>6</sub> )	2
Unión de ferredoxina	1
Ferredoxina soluble	1
Ferredoxin-NADP reductasa	1
Fotosistema II	
Clorofilas antena	~ 200
Carotenoides	~ 50
Centro de reacción P680	1
Donador de electrones (Z)	1
Aceptor primario de electrones (Q)	1
Plastoquinonas	~ 4
Átomos de manganeso	6
Citocromo b <sub>559</sub>	2

## REACCION DE HILL.

En 1938 Robin Hill estudió las reacciones de la fotosíntesis, observó que los cloroplastos aislados fueron capaces de producir oxígeno fotoquímicamente, en presencia de un agente oxidante adecuado: el oxalato férrico de potasio. En esta reacción el ión férrico sustituye al dióxido de carbono como agente oxidante durante la fotooxidación del agua :



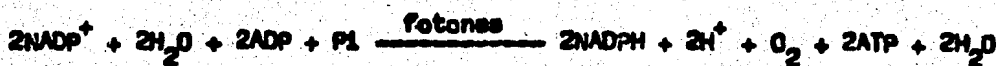
Esto permitió postular que el agua es un agente reductor en la fotosíntesis. La reacción se conoce con el nombre de reacción de Hill, y el oxalato férrico de potasio como reactivo de Hill. Investigaciones posteriores condujeron a la conclusión de que el  $\text{NADP}^+$  y el  $\text{NAD}^+$  pueden actuar como reactivos de Hill en presencia de luz y cloroplastos.



Más tarde, en 1964, Arnon y colaboradores (2) mostraron que los cloroplastos pueden sintetizar ATP en ausencia de mitocondrias, mediante dos tipos de reacciones de fosforilación dependientes de la luz. El primer paso, la fotofosforilación cíclica, produce solamente ATP, sin dar lugar a cambio neto alguno en algún donador o aceptor externo de electrones:



El segundo tipo, fotofosforilación no cíclica, incluye un proceso en el cual la formación de ATP se acopla a una reacción dirigida por la luz, que consiste en la transferencia de electrones del agua al aceptor de electrones terminal; éste puede ser el  $\text{NADP}^+$  y en la reacción se desprende oxígeno:



En este proceso, los electrones que proceden del átomo de oxígeno del agua, fluyen hasta el  $\text{NADP}^+$  para reducirlo a NADPH. Tal movimiento de electrones contra el gradiente de potencial, requiere de energía, y ésta es la función de la luz en la fotosíntesis. Además durante la trayectoria del flujo de electrones, del agua al  $\text{NADP}^+$ , la realizan con la producción de energía como ATP.

Actualmente aún se discute la secuencia precisa de algunos componentes de la cadena transportadora de electrones, así como sus secuencias de encajamiento, sin embargo se está de acuerdo en la secuencia que propone Moreland (3) (fig.2), y la existencia de los componentes siguientes: un sistema enzimático fotolizador del agua (Y); un donador primario de electrones del centro de reacción del fotosistema II (P680); un aceptor primario de electrones del fotosistema II, llamado Q o citocromo 550 o X320; un carrusel de moléculas de plastoquinona (PQ); citocromo  $b_{559}$  (cit.  $b_3$ ); citocromo  $f_{583}$  (cit. f); plastocianina (PC); donador de electrones del centro de reacción del fotosistema I (P700); una sustancia reductora de ferredoxina (FRS); ferredoxin-NADP oxido reductasa (F<sub>o</sub>) y citocromo  $b_{563}$  (cit.  $b_6$ ).

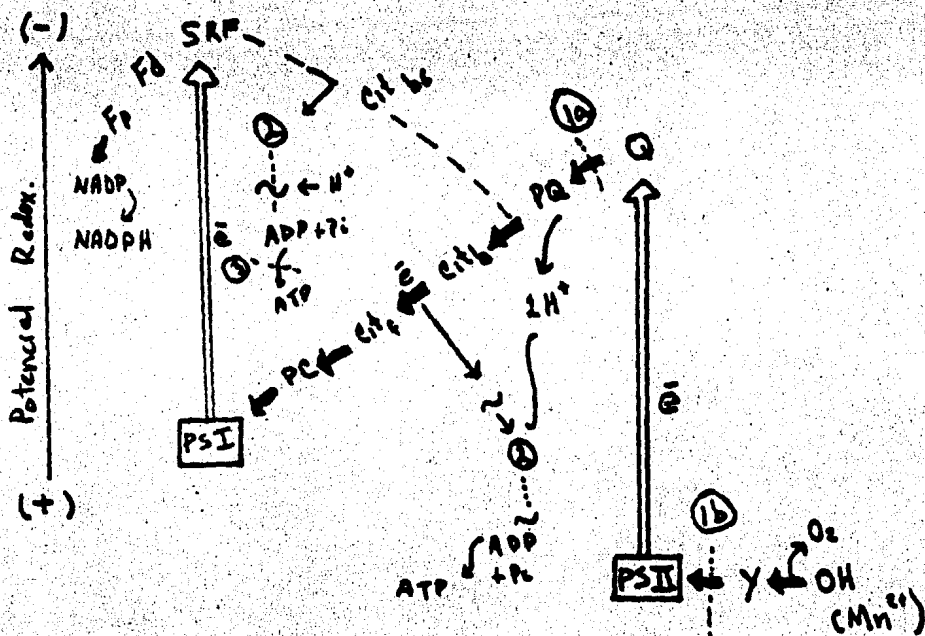


Fig.2. Esquema del transporte de electrones fotoinducido y las reacciones de fosforilación acopladas. Las líneas blancas indican reacciones luminosas, las negras reacciones oscuras y la línea punteada representa el camino cíclico. Abreviaturas usadas: PS I, fotosistema I; PS II fotosistema II; Y donador de electrones postulado para fotosistema II; U aceptor primario de electrones para PS II; PQ, plastoquinonas; cit b, citocromo b; cit f, citocromo f; PC, plastocianina; P700, centro de reacción de PS I; P680, centro de reacción de PS II; SRF, sustancia reductora de ferredoxina; FP, ferredoxin-NADP-oxidoreductasa. Los números indican el sitio de acción de los inhibidores,

## HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA FOTOSINTESIS.

Los herbicidas, sustancias usadas para destruir malezas sin destruir los cultivos, son principalmente de dos clases; los que actúan sobre la fotosíntesis y los de tipo hormonal, que tienen efecto sobre el crecimiento de las plantas. De los herbicidas actuales, aproximadamente el 50 % son herbicidas que actúan sobre la fotosíntesis.

Moreland y Hilton (3), han clasificado los herbicidas que actúan en la fotosíntesis como sigue:

- a) Inhibidores del transporte de electrones
- b) Desacoplantes
- c) Inhibidores de la transferencia de energía
- d) Inhibidores desacoplantes y
- e) Aceptores de electrones.

a) Inhibidores del transporte de electrones. Actúan desplazando o inactivando a uno o varios de los transportadores de electrones. Herbicidas de este tipo son: fenilureas, *s*-triazinas, triazinonas, biscarbamatos, urecilos, acilanilidas y tiodiazoles entre otros.

b) Desacoplantes. Este tipo de compuestos separan el transporte de electrones de la fosforilación (fig. 2, sitio 2), disipan el gradiente electroquímico, evitando así la fosforilación, estimulando el transporte de electrones. Dentro de los desacoplantes, se encuentran: aminas simples, strebin, nigericina, gramicidina y ciertos fenoles.

c) Inhibidores de la transferencia de energía. Actúan directamente sobre la fosforilación; inhiben el flujo de electrones y la formación de ATP en sistemas acoplados. Al adicionar un desacoplante

te que disipe el gradiente electroquímico, libera el flujo de electrones y no inhibe la fosforilación.

d) Inhibidores desacoplantes. Este tipo de herbicidas presentan tanto las propiedades, de inhibir el transporte de electrones como de desacoplarlo; a concentraciones altas inhiben el transporte de electrones y a concentraciones bajas lo desacoplan. Los herbicidas de este tipo son: dinitroanilinas, imidazoles, piridínoles, N-fenilcarbamatos y bencimidazoles entre otros.

e) Aceptores de electrones. Estos compuestos tienen la característica de poseer propiedades oxido-reductoras, con algún potencial redox semejante a algún componente de dicha cadena. Estos compuestos son útiles para efectuar reacciones parciales dentro de la cadena y localizar así el sitio donde actúan. Herbicidas de este tipo son las sales de bipyridilio, como Paraquat y Diquat.

#### INHIBIDORES DEL TRANSPORTE DE ELECTRONES.

Los estudios sobre el sitio de acción de herbicidas inhibidores del transporte de electrones, indican que muchos de ellos inhiben en alguno de los sitios del fotosistema II y por ello se inhiben también las reacciones que están acopladas con el fotosistema II, tales como; el transporte de electrones no cíclico, transporte de electrones desacoplado y fosforilación pseudocíclica. Algunas reacciones parciales que no dependen del fotosistema II, tal como la fosforilación cíclica ensayada en ausencia de oxígeno, o la fotoreducción de NADP con un donador de electrones cercano a fotosistema II (DPIP + ascorbato o DAD) no se inhiben (3).

El Diuron (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea), herbicida que representa este grupo de inhibidores, se ha estudiado más extensamente que cualquier otro herbicida; sin embargo aún existe contro-

versia en la literatura sobre su sitio de acción y éste no ha sido plenamente identificado. Las investigaciones de Duysens y Amez(4), propusieron que el diuron actúa sobre el sitio de reducción del fotosistema II entre Q y PQ (fig. 2, sitio 1a). Trabajos más recientes de Veltheys y Amez sostienen la existencia de un transportador de electrones secundario, localizado entre Q y PQ y que han llamado R o B (5), y se ha postulado que actúa bajando el potencial de media onda de B, relativo al de Q y de ese modo se suspende la transferencia de electrones desde B a Q (6).

Otros investigadores han sugerido que el diuron puede actuar en el sistema enzimático fotolizador del agua (fig. 2, sitio 1b) (7), o directamente sobre P680; la clorofila del centro de reacción del fotosistema II (8).

#### MECANISMOS DE INTERACCION DE HERBICIDAS CON EL FOTOSISTEMA II.

Los estudios de Renger encaminados a dilucidar el sitio de acción del diuron y los herbicidas similares, proponen que el diuron puede actuar sobre ambos sitios del fotosistema II, reduciendo el sitio donde se acelera la desactivación del sitio fotolizador del agua (9). Así mismo se ha postulado un modelo para la organización funcional y estructural del fotosistema II del cloroplasto que supone, que los componentes de oxido-reducción X320 y B están embebidos en un componente protéico (10). Este proteíno, actúa como una protección que evita la reacción entre X320 y los componentes redox externos, dicho componente protéico, contiene el sitio de unión para los herbicidas del tipo del DCMU (fig. 3).

De acuerdo con otros estudios hechos por Renger (11), se han considerado dos modos de acción; a) un efecto cinético y b) un efecto termodinámico. La modificación estructural del componente proté-



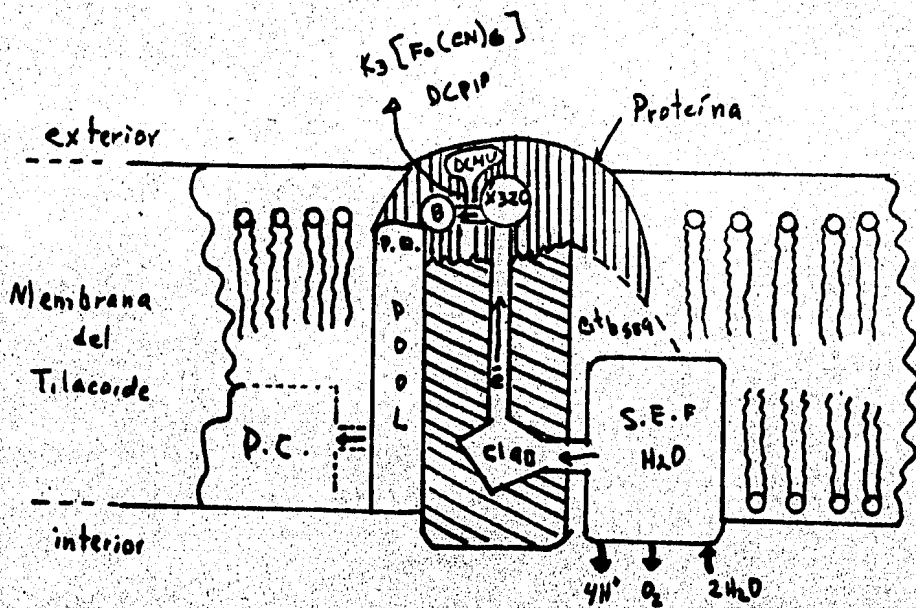


Fig. 3.

Esquema simplificado de la organización funcional y estructural del fotosistema II del cloroplasto.

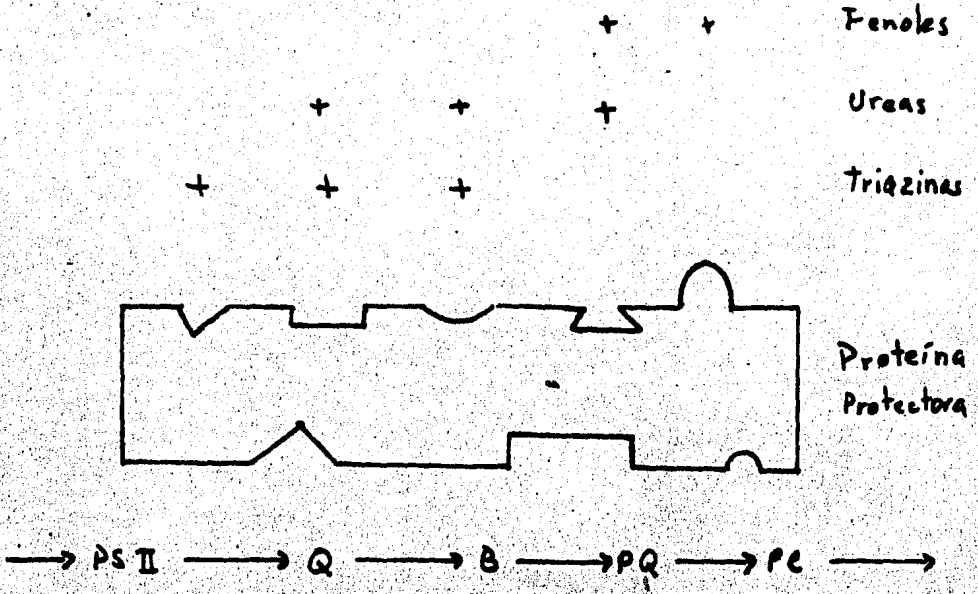
ico que se une a herbicidas del tipo del DCMU puede cambiar la orientación mutua y separación de moléculas de P<sub>680</sub>, X320 y B, de forma tal que la altura de la barrera para la transferencia de electrones entre X320 y B se incrementa significativamente y así cinéticamente, se bloquea la reacción. Por otro lado la transferencia de electrones entre X320 y B puede ser también regulada termodinámicamente, a través de la modificación de los potenciales redox; los cuales a su vez dependen del microambiente existente, al modificarse la proteína, debido a la unión con el inhibidor se producen cambios en los potenciales redox del par B/B<sup>-</sup>, más bajos al del par X320/X320<sup>-</sup>, evitando termodinámicamente así el transporte de electrones.

Otros herbicidas cuya acción es similar a la del DCMU, que han sido ampliamente estudiados son: p-alcuilenilidas, p-alcuiltioenilidas, aminotriazinonas, azido 3-triazinas, bicarbonatos y urecilos. La estructura de estos compuestos tienen en común el grupo N-C-X, (donde X = N u O). Se supone que estos herbicidas se unen a la misma proteína protectora que el DCMU y la figura 4 muestra un esquema en el que se indica que estos herbicidas actuarían alostéricamente en diferentes sitios de una proteína.

Otro grupo de herbicidas, entre los que se encuentra el DNOC (4,6-dinitro o-cresol) (12), 4-nitrofenoles halogenados y 2,4-dinitrofenoles substituidos, no tienen los elementos estructurales que se han propuesto como responsables de la acción herbicida; pero se considere que actúan en el mismo sitio en que lo hace diuron (13).

#### RELACION ESTRUCTURA - ACTIVIDAD DE HERBICIDAS INHIBIDORES DE LA FOTOSINTESIS.

La información sobre las relaciones estructura - actividad de



**Fig. 4.**

Representación esquemática de los sitios de unión de herbicidas sobre una proteína protectora, catalizadora del flujo de electrones de PS II a PQ.

una familia de compuestos contribuyen a elucidar el mecanismo de acción de esos compuestos, sin el conocimiento de los procesos microscópicos que ocurren en vivo.

Las sustancias que tienen actividad biológica interactúan en el sitio de acción con ciertos componentes celulares llamados receptores; sin embargo los sistemas biológicos, están compuestos de un número de fases heterogeneas y el sitio en el cual se aplica la sustancia con actividad, está separado del sitio de acción: de forma tal que debe transportarse a través de varios límites de fases y sufrir procesos de adsorción y desorción con proteínas y membranas, así como también repartirse entre diferentes fases líquidas, antes de llegar a alcanzar el sitio de acción; esto trae consigo perturbaciones en los componentes heterogeneos del medio circundante como son : agua, proteínas, partículas lipídicas y otras (14).

El método de Hansch (15), ha sido ampliamente aceptado y reconocido por su versatilidad para entender la acción de medicamentos, analizando las relaciones estructura- actividad en varios sistemas biológicos. Este método asume que los factores fisicoquímicos gobiernan el transporte y la interacción droga - receptor.

Después de un tratamiento matemático de relaciones de energía libre, Hansch asume que la actividad puede describirse como función de factores electrónicos, lipofílicos y estéricos.

$$A = f(\sigma, \pi, E_s)$$

Donde los factores electrónicos pueden representarse por la constante de Hammett ( $\sigma$  sigma), que indica el efecto atractor o liberador de electrones relativo de un sustituyente determinado.

$\pi$ , representa los factores lipofílicos, que de manera similar a la constante de Hammett puede derivarse de los coeficientes -

de partición; determinado en un sistema octanol - agua, dicha constante se puede calcular de la manera siguiente:

$$\pi = \log \frac{P_x}{P_h}$$

donde  $P_x$  y  $P_h$  son los coeficientes de partición determinados en un sistema octanol - agua de los compuestos substituidos y no substituidos respectivamente.

$E_s$ , es una estimación de los factores estéricos que puede hacerse de diferentes maneras, ya sea con los radios de van der Waals de un grupo, con los parámetros de Verloop, o utilizando las constantes  $\sigma^*$  de Taft.

Uno de los métodos para desarrollar nuevos herbicidas inhibidores de la fotosíntesis, es la síntesis de análogos de sustancias con actividad conocida y la medida de la actividad de los compuestos sintetizados sobre la cadena transportadora de electrones - en la reacción de Hill. Los estudios de relación entre estructura-actividad con las propiedades fisicoquímicas del compuesto, han llevado al desarrollo de nuevos herbicidas más potentes y más selectivos.

Hansch (16), ha propuesto que los requerimientos para herbicidas inhibidores de la fotosíntesis son: cierta lipofilia y un grupo N-H unido a un carbono  $sp^2$  deficiente en electrones; de acuerdo con Hansch, esto permite la formación de un complejo de transferencia de carga reforzado por puentes de hidrógeno, entre el herbicida y una proteína de la membrana del tilacoide, induciéndose así, cambios conformacionales en la proteína de la membrana donde interactúa el herbicida. En la figura 5 se muestran las estructuras de algunos herbicidas inhibidores de la fotosíntesis que tienen esta

característica.

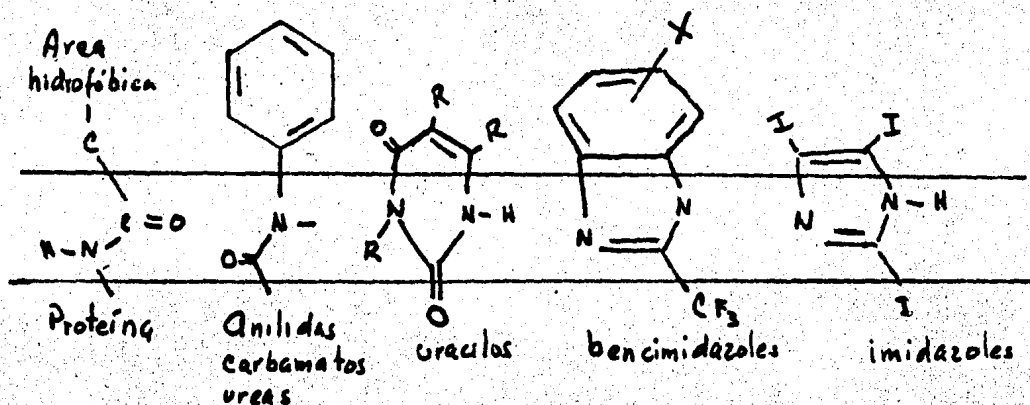
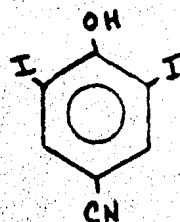
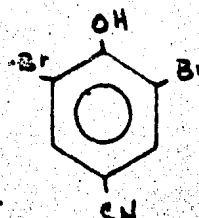


Fig. 5. Representación de los requerimientos estructurales encontrados en diferentes familias de herbicidas.

Sin embargo el ioxinil (2,6-diiodo-4-cianofenol) y el bromoxinil (2,6-dibromo-4-cianofenol), herbicidas descubiertos por Wain- (17), no tienen una estructura química semejante a los mencionados anteriormente. Wain y colaboradores (18), proponen que la actividad que presentan los compuestos, se debe al grupo atractor de electrones que tienen en la posición 4 y a la acidez del fenol.



IOXINIL



BROMOXINIL

Slow y Unrew (19) estudiaron el efecto de alquildinitrofenoles y atribuyen la actividad de los compuestos, a la acidez del grupo -OH del fenol y también a la lipofiliidad del compuesto, cuando se aumenta la cadena alifática; ayudando esto a incrementar la solubilidad de lípidos y penetrar más fácilmente en la membrana del tilacoide. Asimismo estudios hechos por Vater (20), de nitrofenoles, sobre las reacciones de desactivación en el sistema fotolizador del agua, indican que la actividad de los fenoles se debe a la acidez del grupo -OH del fenol, entre otros factores, que deben considerarse como son: efectos electrónicos, lipofílicos y estéricos.

Para contribuir al conocimiento del mecanismo de acción de fenoles en la fotosíntesis, se formuló la siguiente hipótesis para desarrollar en este trabajo: "Si la actividad de los fenoles depende de su acidez será posible establecer una relación directa entre el constante de Hammett del sustituyente atractor de electrones y actividad". Por lo que se planteó el siguiente objetivo:

**OBJETIVO.**



### III. OBJETIVO.

Se propuso como objetivo de este trabajo la síntesis de variaciones estructurales del bromoxinil (2,6-dibromo-4-cianofenol), compuesto que tiene actividad herbicida conocida y el estudio de su actividad como inhibidores de la reacción de Hill en la fotosíntesis. Se pretendió establecer las relaciones estructura - actividad considerando parámetros electrónicos, lipofílicos y estéricos, con el fin de contribuir al conocimiento del mecanismo de acción de los fenoles y al desarrollo de mejores productos para el control de malezas.

## RESULTADOS Y DISCUSION

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

Los compuestos que se sintetizaron en este trabajo son variaciones estructurales del bromoxinil (2,6-dibromo -4-cianofenol). Ya que existe la hipótesis de que la actividad de los fenoles depende de su acidez, se planteó la síntesis de fenoles 2,6-dibromados con sustituyentes diferentes en la posición 4. Se seleccionaron los sustituyentes de tal manera que sus constantes  $\sigma$  de Hammett variaran para tener fenoles con un amplio intervalo de acidez. Las constantes de Hammett junto con las constantes  $\pi$  de Hansch y el radio molecular para los compuestos sintetizados en este trabajo se muestran en la tabla II y fueron tomados de la literatura (21).

Compuestos de estructura general:

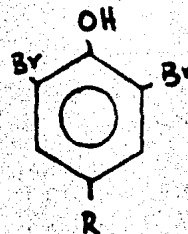


TABLA II

R	$\sigma$	$\pi$	R.M.
-NO	0.91	-1.20	5.20
-CH C(CN) <sub>2</sub>	0.84	0.05	21.20
-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	0.82	-5.96	21.53
-CH C(CN)(CONH <sub>2</sub> )	0.82	0.05	24.0
-NO <sub>2</sub>	0.78	-0.28	7.36
-CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0.45	0.51	17.47
-CH O	0.42	-0.65	6.88
-COOH	0.40	-0.32	6.93
-SO <sub>2</sub> Cl	0.23	0.05	13.76
-SO <sub>3</sub> H	—	—	—
-Br	0.23	0.66	8.88

Los compuestos sintetizados, se pueden clasificar en dos — grupos:

- a) Aquellos compuestos en que la bromación se hace al final y
- b) Aquellos en que primero se hace la bromación y después se hacen reacciones sobre el compuesto ya bromado.

Esta clasificación obedece únicamente a necesidades de síntesis para tener el producto deseado. En el caso en que la bromación se hace al final, se tiene un grupo hidroxilo, que es un fuerte activador y orientador orto, para, además la posición de la bromación no es ambigua ya que la posición para está ocupada y los grupos  $\text{OH}$  presentes son desactivadores y orientadores meta.

#### BROMACION.

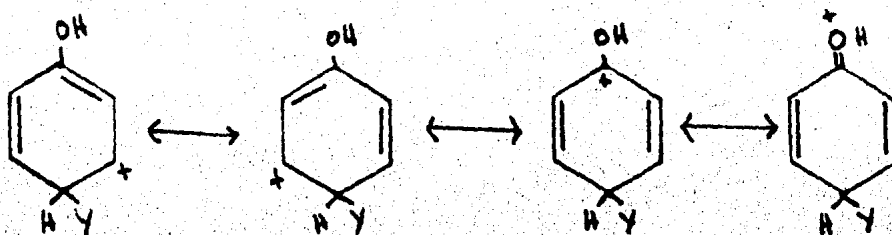
Para la bromación del benceno se requiere de la presencia de un ácido de Lewis, generalmente se usa el tribromuro de hierro. Sin embargo al igual que el grupo amino, el fenólico activa fuertemente los anillos aromáticos en la sustitución electrofílica, de ahí que este tipo de compuestos puedan reaccionar directamente con bromo, — sin la intervención de un ácido de Lewis.

Mediante el tratamiento de fenoles con soluciones acuosas de — bromo, se pueden introducir uno, dos o tres bromos en las posiciones orto, para disponibles mediante la selección adecuada de las — condiciones.

Si se procede a la bromación en un disolvente de polaridad baja, tal como cloroformo, tetracloruro de carbono o sulfuro de carbono la reacción puede limitarse a la monobromación.

En soluciones ácidas, las sustituciones electrofílicas ocurren en el fenol no ionizado. Estas sustituciones se facilitan de

bido a la naturaleza activadora del grupo hidroxilo, que es un orientador orto, para muy fuerte. La reacción en una de estas posiciones produce un catión intermediario que es básicamente un grupo carbonilo protonado:



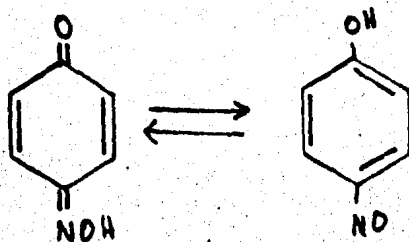
En este trabajo se hizo la bromación en medio de ácido acético de fenoles que en general son más ácidos que el fenol sin sustituyentes, ya que el grupo en posición 4 es un atractor de electrones, por lo que no se consideró necesario tener los fenolatos. La bromación procedió sin problemas, excepto en el caso de la reacción con ácido *p*-hidroxibencensulfónico, en la que se observó que si permanecer cierto tiempo la reacción en solución; el producto se obtenía mezclado con el 2,4,6-tribromofenol. El grupo del ácido sulfónico tiene la tendencia a sufrir este tipo de sustituciones debido a que se pierde como molécula neutra,  $\text{SO}_3$ .

Las materias primas para la bromación se prepararon de la siguiente manera:

Para preparar el 4-nitrosifenol (II), se preparó inicialmente la benzoquinona (I), mediante una oxidación de hidroquinona por clorato de sodio en medio ácido y usando como catalizador el pentó-

xido de vanadio, el producto se obtuvo en 95 % de rendimiento. La -benzoquinona se hizo reaccionar con hidroxilamina en medio acuoso - a temperatura ambiente (22).

Está descrito por Kharasch el equilibrio de nitrosocompuestos con la oxima correspondiente:



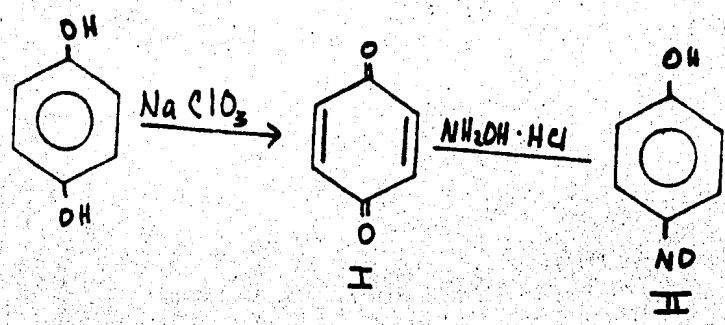
Las constantes físicas del producto son iguales a las descritas en la literatura.

Para la preparación del 4-hidroxibenzoato de etilo (VII), se adaptó la técnica descrita por Vogel (23), para la conversión de ésteres a partir de un ácido carboxílico con exceso de etanol y catalizada por ácido sulfúrico. El producto se obtuvo sin problemas, las constantes físicas y espectroscópicas concuerdan con los datos de la literatura.

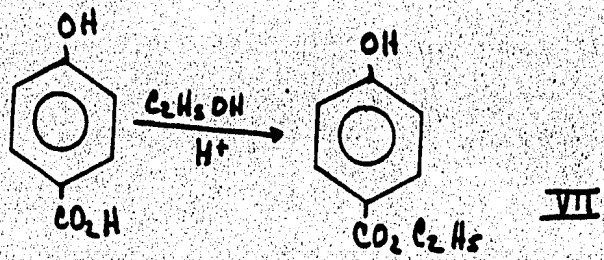
Para la síntesis del ácido 4-hidroxibencensulfónico, hubo que separar la mezcla de ácidos (orto y para) que se obtienen de la sulfonación de fenol con ácido sulfúrico concentrado, esto se logró a través de la formación de las sales de estroncio. La sal del isómero para es insoluble mientras que la sal del ácido o-hidroxibencensulfónico es soluble en agua.

Esquemas de síntesis realizadas.

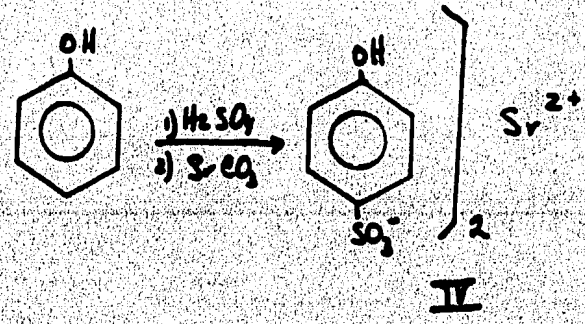
I



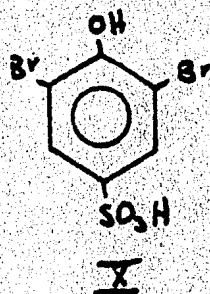
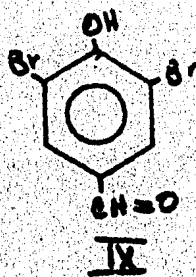
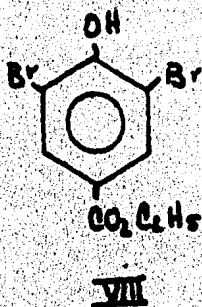
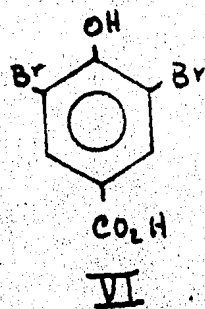
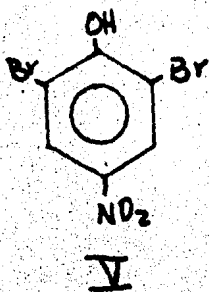
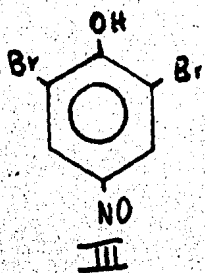
II



III



En el esquema siguiente se muestran los productos obtenidos mediante la bromación de fenoles p-sustituidos en medio de ácido acético:





Los productos bromados obtenidos tienen las siguientes características espectroscópicas:

Para el 2,6-dibromo-4-nitrosfenol (III), en el espectro de infrarrojo aparece una banda a  $1540\text{ cm}^{-1}$  característica para nitrosocompuestos aromáticos y en  $1150\text{ cm}^{-1}$  una banda para la unión C-N, las bandas de oxima a  $1613\text{ cm}^{-1}$  para C=O,  $1560$  para C=N y  $1042\text{ cm}^{-1}$  para N-OH, descritas por Nakanishi no aparecen, de acuerdo con lo reportado por Kharasch (24). Sin embargo en el espectro de resonancia magnética protónica se observó que este compuesto se encuentra como oxima; presentando una señal a 7.7 ppm que integra para un protón y otra señal a 8.2 ppm que integra para el otro protón de aromático, y a 13.6 ppm una señal ancha, que desaparece al ser intercambiada con agua deuterada y que corresponde al protón de la oxima. La presencia de los dos tautómeros es explicable si se considera que los disolventes que se usan para determinar los espectros son diferentes.

El 2,6-dibromo-4-nitrofenol (V), en el infrarrojo mostró una banda de intensidad media a  $3400\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al fenol, en  $1515\text{ cm}^{-1}$  una banda fuerte característica de nitrosocompuestos aromáticos, mientras que en R.M.P. mostró un singulete a 8.4 ppm, que integra para dos protones correspondientes al anillo aromático y en 6.45 ppm una señal ancha que desaparece al intercambiarse con agua deuterada y que corresponde al protón del fenol.

El ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico (VI), en el espectro de infrarrojo presentó una banda ancha en la zona de 3100 a 3500 y otra en  $1700\text{ cm}^{-1}$ ; bandas características de ácidos carboxílicos aromáticos. En R.M.P. presentó un singulete a 7.95 ppm, que integra para dos protones; que corresponden a dos hidrógenos del anillo aromático y en 4.0 ppm una señal ancha que desaparece al intercambiar-

se con agua deuterada.

El 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoato de etilo (VIII), en el espectro de infrarrojo presentó una banda de intensidad media en  $3400\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la unión C-OH del fenol, una banda en  $3000\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a -CH saturado y en  $1710\text{ cm}^{-1}$  una banda fuerte característica de los ésteres, que corresponde a  $-\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ . En R.M.P. presentó un singulete a 8.1 ppm que integra para dos protones que corresponden al anillo aromático, a 6.2 ppm una señal ancha que desaparece al ser intercambiada con agua deuterada; que corresponde al protón del fenol, en 4.75 ppm un cuádruplete, que integra para dos protones y que corresponde a la señal del protón del metileno que interacciona con el metilo, a 1.35 ppm, un triplete que integra para tres protones y que corresponde a un protón del metilo que interacciona con los protones del metileno adyacente.

Acido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzenosulfónico (X), en el infrarrojo mostró una banda en  $1345\text{ cm}^{-1}$ , característica del grupo sulfónico, mientras que en R.M.P. presentó un singulete a 7.7 ppm que integra para dos protones que corresponden al anillo aromático y en 9.5 ppm, una señal ancha que desaparece al ser intercambiada con agua deuterada y que corresponde a los protones del fenol y del grupo sulfónico.

Para la síntesis del segundo grupo de fenoles, se partió de fenoles 3,5-dibromados y se hizo una reacción sobre el grupo en posición 4. Algunos de estos compuestos tienen como materia prima el aldehído dibromado.

Para la síntesis de 3,5-dibromo-4-hidroxibencilidenciamalonitrilo (XII) y 3,5-dibromo-4-hidroxibencilidenciamscilamida (XIII). Se usó una condensación de Knoevenagel, que tiene lugar entre compuestos con metilenos activos y aldehídos o cetonas en una reacción

de adición - eliminación, usando como catalizadores un ácido y una base débiles (ácido acético y aminas). El uso de una base débil permite la formación del enolato bajo condiciones básicas moderadas y la deshidratación se efectúa con un ácido muy débil.

La condensación de Knoevenagel, al igual que la de Perkin, Doebner, Claisen y Dieckmann; guardan estrecha relación con la aldólica, todas ellas implican un ataque nucleofílico de un carbanión a un carbón carbonílico deficiente en electrones. Este carbanión se genera, en cada caso, en prácticamente la misma forma: la abstracción de un hidrógeno en posición alfa con respecto al carbonilo por medio de una base. Pueden emplearse bases diferentes - hidróxido de sodio, óxido de sodio, acetato de sodio, aminas - y también puede variar el grupo carbonilo con respecto al cual el hidrógeno es  $\alpha$  - aldehído, cetona, anhídrido, éster -, pero la química es esencialmente la misma que la condensación aldólica. A diferencia de otras condensaciones en que se requiere la base como un reactivo en cantidad estequiométrica, en el caso de la reacción de Knoevenagel, basta con cantidades catalíticas y, de hecho, la reacción se desarrolla perfectamente con bases catalizadoras tan débiles como las aminas. La reacción general se desarrolla mejor con aldehídos aunque se pueden usar también cetonas.

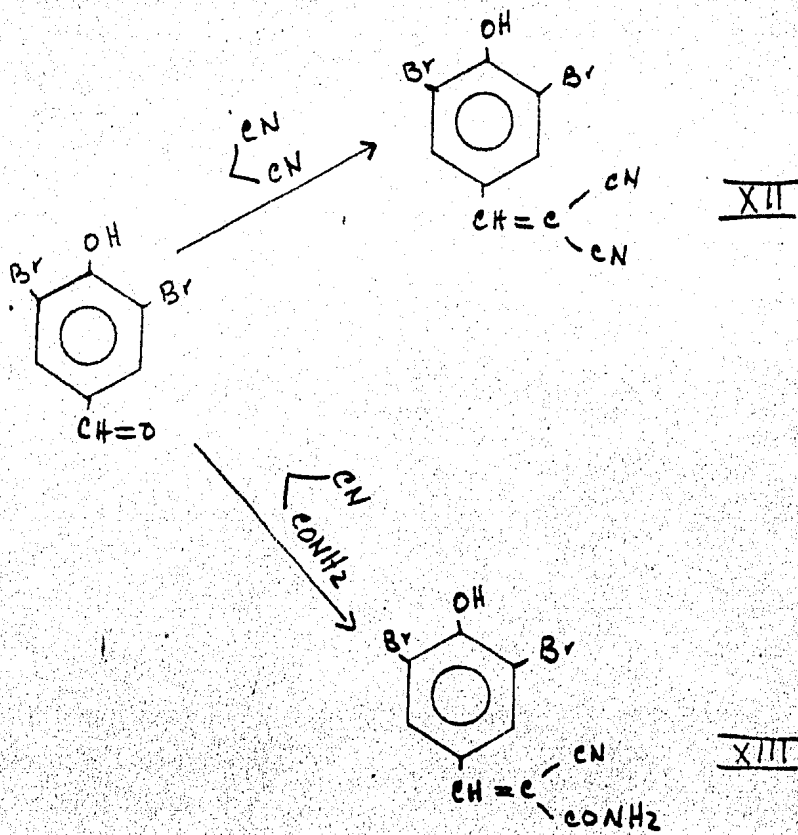
El 3,5-dibromo-4-hidroxi-bencilidenmalononitrilo (XII) (esquema V), que se obtuvo por tratamiento del 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído con malononitrilo, mediante una condensación de Knoevenagel, usando como catalizadores ácido acético y  $\beta$ -alanina, presentó en el espectro de infrarrojo una banda de intensidad media en  $2235 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la unión carbono-nitrilo y en  $1590 \text{ cm}^{-1}$  una banda que corresponde a la doble ligadura  $\text{C}=\text{C}$ . En R.M.P., presentó un singlete a 8.05 ppm, que integra para dos protones correspondientes al anillo aromático; en 7.55 ppm un singlete que integra para un pro-

tón y que corresponde al protón del carbon bencílico y en 5.9 ppm, - una señal ancha, que se intercambia con agua deuterada y que corresponde al protón del fenol.

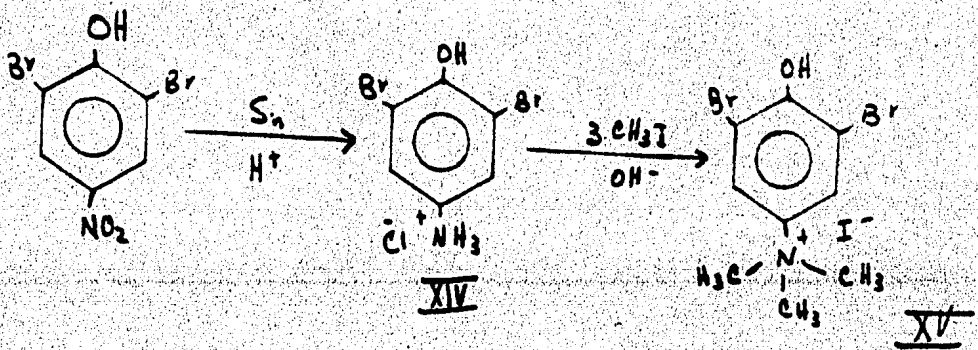
Para la obtención del malononitrilo se efectuó una deshidratación de cianoacetamida con pentacloruro de fósforo. El producto se obtuvo sin problemas y las constantes físicas del malononitrilo concuerdan con lo reportado en la literatura.

El 3,5-dibromo-4-hidroxibencilidencianoacrilamida (XIII, esquema V), que se obtuvo mediante una condensación de Knoevenagel -- por tratamiento de 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído y cianoacetamida, empleando como catalizadores ácido acético y  $\beta$ -alanina, en el infrarrojo mostró dos bandas características para las amidas en 3460 y 1700  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, mientras que en R.M.P. presentó un singulete a 8.15 ppm, que integra para dos protones correspondientes -- al anillo aromático, a 8.0 ppm, un singulete que integra para un protón y que corresponde al del carbon bencílico y en 4.2 ppm una señal ancha que se intercambia con agua deuterada, correspondiente al protón del fenol.

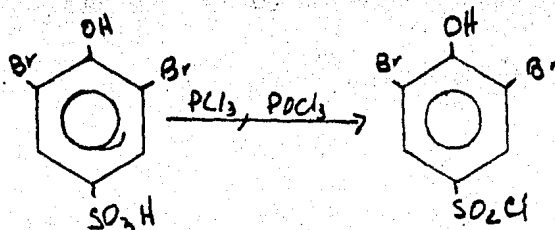
Esquema V.



Esquema VI.



Esquema VII.



Para la síntesis de Ioduro de 3,5-dibromo-4-hidroxifeniltrimetil amonio (XV, esquema VI), se hizo primeramente una reducción con estaño en medio ácido del 2,6-dibromo-4-nitrofenol, obteniéndose así el clorhidrato de 3,5-dibromo-4-hidroxianilina y éste último se hizo reaccionar con hidróxido de sodio y yoduro de metilo simultáneamente. La adición de los reactivos se hizo en forma tal, que el hidróxido de sodio reaccionara con el clorhidrato presente para dejar libre la amina y ésta pudiera reaccionar con el yoduro de metilo y así sucesivamente hasta la obtención del compuesto trimetilado. En el espectro de infrarrojo mostró una banda ancha de intensidad débil en  $3400\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al fenol, una banda en  $3000\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la unión C-H de tipo saturado, en  $1500\text{ cm}^{-1}$  la banda correspondiente a la unión C-N y en  $1430\text{ cm}^{-1}$  la banda correspondiente a los metilos ( $-\text{CH}_3$ ). En R.M.P. presentó un singulete a 8.2 ppm que integra para dos protones correspondientes al anillo aromático y un singulete a 3.55ppm que integra para 9 protones, correspondientes a los nueve hidrógenos de los tres metilos soportados so-

bre el nitrógeno unido a aromático.

Cloruro de 3,5-dibromo-4-hidroxi-bencensulfonilo (XVI, esquema VII), se obtuvo mediante el tratamiento del ácido 3,5-dibromo-4-hidroxi-bencensulfónico con exceso de tricloruro de fósforo y oxiclорuro de fósforo a reflujo. El producto se obtuvo sin problemas, cuando se vertió lentamente la mezcla de reacción en hielo-agua (enfriando con hielo seco); de lo contrario el rendimiento disminuye. En el infrarrojo mostró una banda fuerte característica para cloruros de sulfonilo en  $1405\text{ cm}^{-1}$  y en  $610\text{ cm}^{-1}$  la correspondiente a la unión C-Br. En R.M.P., presentó un singulete a 7.6 ppm, que integra para dos protones que corresponden al anillo aromático y en 5.2 ppm una señal ancha que se intercambia con agua deuterada y que corresponde al protón del fenol.

2,4,6-tribromofenol (XVII). Sus constantes físicas concuerdan con las reportadas en la literatura. En R.M.P., presentó un singulete a 7.6 ppm, que integra para dos protones, correspondientes al anillo aromático y en 9.5 ppm una señal ancha que se intercambia con agua deuterada y que corresponde al protón del fenol.

## MEDICION DE LA INHIBICION DEL TRANSPORTE DE ELECTRONES.

Las gráficas I y II muestran los resultados de la medición del transporte de electrones de agua a metil-viológeno, usando etilamina como desacoplante en el medio de reacción. Estas determinaciones fueron realizadas por el grupo del Dr. Blas Lotina. H., en el departamento de Bioquímica de la DEPg. Se utilizó un oxímetro provisto de un electrodo tipo Clarck. Los tilacoides obtenidos por el método de Takokoi y Col. (25), a partir de cloroplastos de espinaca, se trataron con diferentes concentraciones de los fenoles sintetizados y se midieron cambios de voltaje producidos en el oxímetro contra un control de cloroplastos sin tratar.

De los resultados obtenidos, puede observarse que los compuestos sintetizados se dividen en tres grupos:

El efecto del primer grupo de fenoles se muestra en la gráfica I.

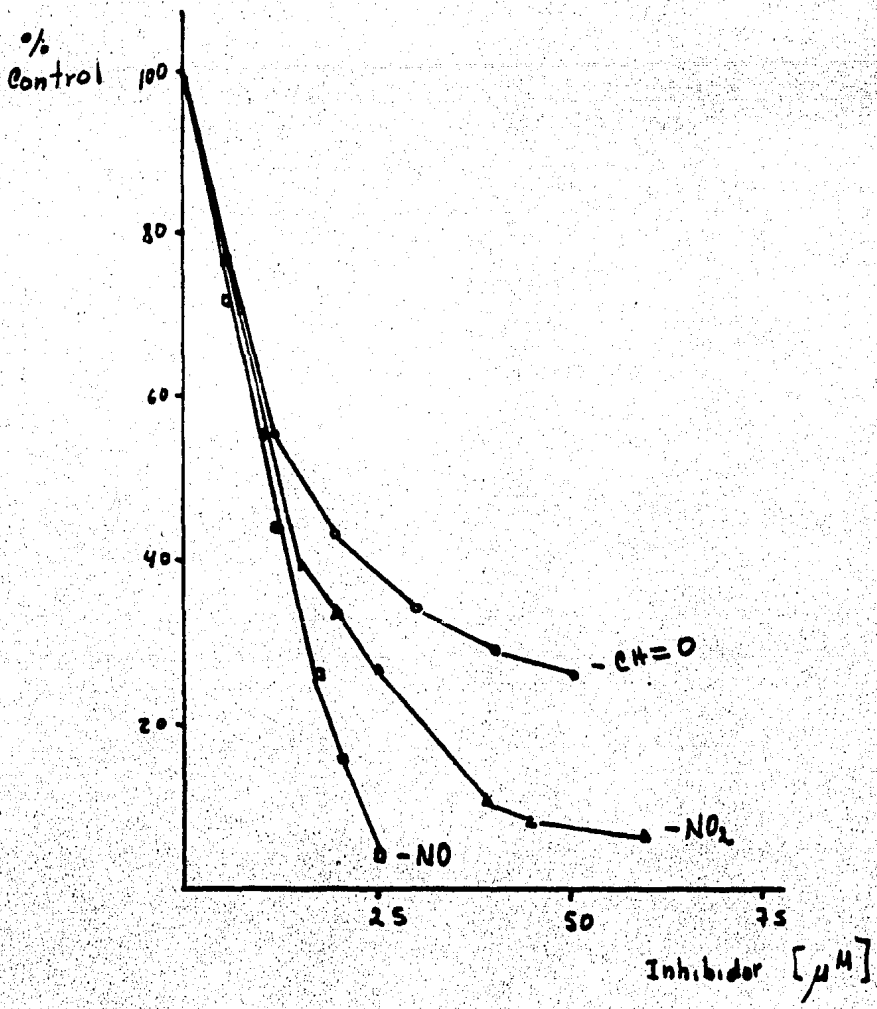
Se puede observar que el orden de actividad sobre el transporte de electrones es:  $-\text{NO}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{CH=O}$  y su capacidad máxima de inhibición es: 7, 9 y 27 % a una concentración de 25, 65 y  $50 \mu\text{M}$  respectivamente.

La tabla III muestra los valores de  $p^{I_{50}}$ , que fueron calculados de la misma gráfica; donde  $p^{I_{50}}$  es igual a  $-\log.$  de la concentración a la cual se inhibe la actividad en un 50 %. De la misma tabla se puede observar que el orden de actividad es paralelo a la constante  $\sigma$  de Hammett.

TABLA III.

R	$p^{I_{50}}$	$\sigma$	RH (A°)
$-\text{NO}$	4.96	0.91	5.20
$-\text{NO}_2$	4.90	0.78	7.35
$-\text{CH=O}$	4.62	0.42	6.66





Gráfica I.

Inhibición del transporte de electrones desacoplado de agua a metilviológeno con concentraciones variables de fenoles 2,6-dibromados. El sustituyente en posición 4 se muestra en la gráfica.

La gráfica II muestra un grupo de fenoles con una acidez semejante y algunos mayor a la del primer grupo, sin embargo la actividad es menor, como puede observarse de los valores de  $p^{I50}$ , mostrados en la tabla IV. El orden de actividad es:  $-\text{CH C(CN)(CONH}_2)$  >  $-\text{N(CH}_3)_3$  >  $-\text{CH C(CN)}_2$ , y su capacidad máxima de inhibición es: 12, 43, y 16 % a una concentración de 250, 275 y  $375 \mu\text{M}$  respectivamente. De la misma tabla se observa que en éste caso el radio molecular del sustituyente en posición 4 es mayor al de los compuestos del primer grupo; estos resultados sugieren que las interacciones inhibidor-receptor requieren de cierto tamaño molecular del compuesto, además de una cierta acidez.

TABLA IV.

R	$p^{I50}$	$\sigma$	RM ( $\text{\AA}$ )
$-\text{CH C(CN)(CONH}_2)$	4.11	0.82	24.0
$-\text{N(CH}_3)_3$	3.87	0.82	21.53
$-\text{CH C(CN)}_2$	3.62	0.84	21.20

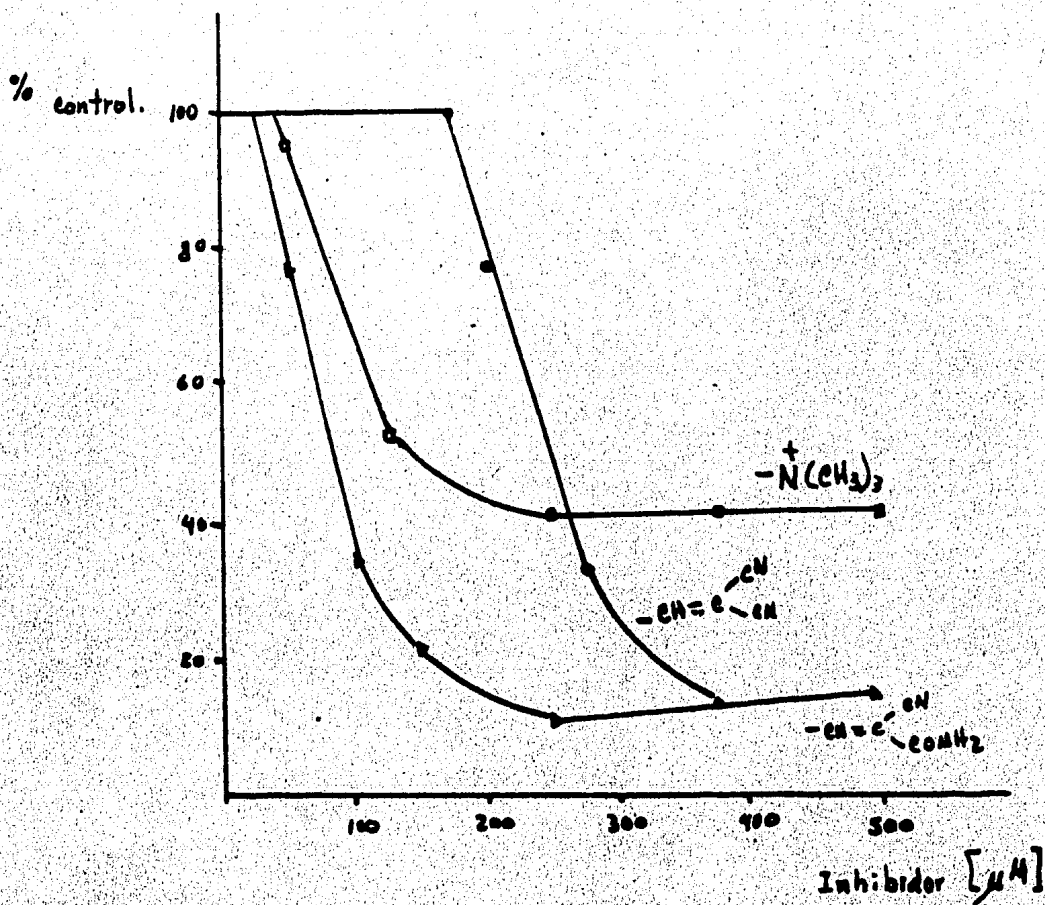
El tercer grupo de fenoles no muestran una actividad apreciable y son los compuestos con sustituyentes:  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{CO}_2\text{Et}$ ,  $-\text{SO}_2\text{Cl}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  y  $-\text{Br}$ , éste grupo de fenoles tienen en general una acidez menor a la de los grupos anteriores, como puede observarse de la tabla V; en este caso los valores de  $p^{I50}$ , no aparecen en la tabla ya que no se pueden calcular de la gráfica; debido a su baja actividad.

TABLA V.

R	$p^{I50}$	$\sigma$	RM ( $\text{\AA}$ )
$-\text{CO}_2\text{H}$	—	0.40	6.93
$-\text{CO}_2\text{Et}$	—	0.45	17.47

TABLA V. (cont.)

R	$\rho^{I_{50}}$	$\sigma$	RM(A°)
-SO <sub>2</sub> Cl	—	0.23	13.76
-SO <sub>3</sub> H	—	—	—
-Br	—	0.23	8.88



Gráfica II.

Inhibición del transporte de electrones desacoplado de agua a metilviológenos con concentraciones variables de fenoles 2,6-dibromados. El sustituyente en posición 4 se muestra en la gráfica.

**PARTE EXPERIMENTAL.**

## V. PARTE EXPERIMENTAL.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y se informan sin corregir.

Los espectros de absorción en el infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 337. Los espectros de resonancia magnética de protones fueron determinados en un espectrómetro analítico Varian A-60, utilizando dimetil sulfoxido deuterado y/o cloroformo deuterado, los protones ácidos se intercambiaron con agua deuterada ( $D_2O$ ), se empleó como referencia interna el tetraetil sileno; el desplazamiento químico está expresado en partes por millón (ppm), utilizando el parámetro  $\delta$ .

Las cromatografías en capa fina se efectuaron usando como adsorbente sílice GF -254 de Merck, utilizando como reveladores luz ultravioleta y yodo.

Preparación de benzoquinona (I). Se siguió la técnica descrita por Giral (26). En un matraz Erlenmeyer de 500 ml. se mezclaron 100 ml. de ácido sulfúrico al 2 %, 11g (0.1 moles) de hidroquinona, 6 g (0.05 moles) de clorato de sodio y aproximadamente 0.2 g de pentóxido de vanadio. La mezcla se agitó con la ayuda de una base magnética: durante 4 hr., al término de las mismas, el producto se filtró al vacío y fue secado a la estufa, obteniéndose 10.2 g (0.094 moles) de benzoquinona, p.f. 110-12°C. Rendimiento 95 %.

#### Síntesis de 4-nitrosofenol (II).

Se siguió la técnica descrita por Goldschmidt (22). En un matraz Erlenmeyer de 500ml. se suspendieron 5 g (0.0462 moles) de benzoquinona en 250 ml. de agua y se adicionaron lentamente 3.2 g (0.046 moles) de clorhidrato de hidroxilamina. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente y con agitación magnética, durante 12 hr. Una vez que transcurrieron las 12 hr, se adicionó carbón activado y se continuó la agitación durante 5 min. más. Posteriormente el producto fue extraído cinco veces con éter y éste último fue evaporado en el rota vapor a sequedad; el producto fue cristalizado con diclorometano, obteniéndose 4.15 g de 4-nitrosofenol. P.f. 123-5°C con descomposición. Rendimiento 73 %.

I. R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>) : 3500 (O-H)<sub>m</sub>; 1540(C=NO)<sub>m</sub> ; 1150 (C-N)<sub>m</sub>.

#### Síntesis de 2,6-dibromo-4-nitrosofenol (III).

De acuerdo con Paal (27), en un matraz bola de 100 ml con dos bocas, adaptado con un refrigerante y un embudo de adición se disolvieron 1.64 g (0.0133 moles) de 4-nitrosofenol en ácido acético-agua en una proporción 1:5 y mediante el embudo de adición se adicionó -

lentamente 1.36 ml (0.0256 moles) de bromo, (previamente disuelto en ácido acético-agua 3:1), al término de la adición, se continuó la agitación durante tres min. más. Posteriormente se vertió el contenido del matraz en un vaso de precipitados con agua-hielo y se filtró el producto al vacío. El producto crudo se cristalizó de acetato de etilo, obteniéndose 2.3 g de 2,6-dibromo-4-nitrosifenol. Rendimiento 61.4 %. P.f. 150°C con descomposición.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>): 3200 (Ar-OH)<sub>m</sub>; 1650 (C-NO)<sub>f</sub>; 720 (C-Br)<sub>d</sub>.

R.M.P.  $\delta$  (ppm): 8.4 (s, 2H, Ar-H); 13.6 (señal ancha, 1H, ArO-H)<sub>10,20</sub>

#### Síntesis del sulfonato de 4-hidroxifenil estroncio (IV).

En un matraz de 250 ml, se pesaron 20 g (0.212 moles) de etanol, se adaptó un refrigerante y se añadieron lentamente 23 g (0.24 moles) de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla de reacción se calentó a 90°C durante 8 hr, posteriormente se dejó enfriar y la mezcla se hizo reaccionar con carbonato de estroncio; al término de la misma, se evaporó un poco de agua en el rotavapor y la sal del sulfonato se filtró al vacío. Se cristalizó el producto crudo de etanol, obteniéndose 15.2 g. Rendimiento 33%.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>): 3500 (Ar-OH)<sub>f</sub>; 1145 (R-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)<sub>f</sub>; 1200 (ArC-OH)<sub>f</sub>.

#### Síntesis de 2,6-dibromo-4-nitrofenol (V).

Se sintetizó adaptando la técnica de bromación en medio ácido (27). En un matraz redondo de 100 ml con dos bocas, adaptado con refrigerante y embudo de adición, se disolvió 1 g (0.00719 moles) de 4-nitrofenol en ácido acético (aproximadamente 5 ml) y con la ayuda del embudo de adición, se adicionaron lentamente 0.76 ml (0.0143 moles) de bromo, previamente disuelto en ácido acético-agua 3:1. La -

bromación se hizo a temperatura ambiente y se continuó agitando durante 5 min. más, una vez terminada la adición del bromo. Después se vertió la mezcla de reacción en un vaso de precipitados sobre hielo-agua, se filtró al vacío y el producto crudo fue cristalizado de diclorometano, obteniéndose 1.8 g del producto. Rendimiento 84.3 %. P.f. 139-40°C.

I.R.  $\bar{\nu}$  max ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3400 (Ar-OH)<sub>m-f</sub>; 1515 (C-NO<sub>2</sub> Ar)<sub>f</sub>; 690 (C-Br)

R.M.P.  $\delta$  (ppm): 8.4 (s, 2H, Ar-H); 6.45 (señal ancha, 1H, ArO-H)<sub>10</sub><sub>2</sub><sup>0</sup>

#### Síntesis del Acido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico (VI).

La bromación se hizo en medio ácido (27). A un matraz de 50 ml Quickfict de 2 bocas, se adaptó un refrigerante y un embudo de adición. Se disolvió 1 g ( $7.24 \cdot 10^{-3}$  moles) de ácido 4-hidroxibenzoico y mediante el embudo de adición, se agregó lentamente y a temperatura ambiente 0.74 ml (0.0145 moles) de bromo (previamente disuelto en ácido acético-agua 3:1). Una vez que se terminó de adicionar el bromo, la mezcla de reacción se continuó agitando durante 15 min más; al término de los mismos, se sacó la reacción, vertiéndola en un vaso de precipitados sobre hielo-agua. El producto, se filtró al vacío y fue lavado con agua. El producto crudo se cristalizó de acetato de estilo, obteniéndose 1.5 g del producto. Rendimiento 70 %. P.f. 253-55°C.

I.R.  $\bar{\nu}$  max ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3100-3500 (banda ancha, ArO-H y ArCOO-H)<sub>m</sub>; 1700- (Ar-COOH); 740 (C-Br)<sub>d</sub>.

R.M.P.  $\delta$  (ppm): 7.95 (s, 2H, Ar-H), 4.0 (señal ancha, 1H, ArO-H)<sub>10</sub><sub>2</sub><sup>0</sup>.

#### Síntesis de 4-hidroxibenzoato de estilo (VII).

Se adaptó la técnica descrita por Vogel (23) para la preparación de ésteres. En un matraz de 100 ml se pusieron 15 g (0.10 moles)



de ácido 4-hidroxibenzoico y 60 ml de etanol destilado, se adaptó un refrigerante y se añadió gota a gota 2,7 ml de ácido sulfúrico concentrado; la mezcla de reacción se calentó y se dejó a reflujo durante 4 hr., al término de las mismas, se evaporó el etanol en el rotavapor y enseguida se adicionó agua y tetracloruro de carbono; precipitando en ese momento el producto, se filtró al vacío y se lavó el precipitado tres veces con una solución de bicarbonato de sodio. De la fase orgánica se evaporó el tetracloruro de carbono y se recuperó parte del producto que se había disuelto en el tetracloruro de carbono. Se obtuvieron 5,1 g de producto. P.f. 117-19°C.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>): 3230 (ArO-H)f; 3000 (C-H sat.)d; 1460 (-CH<sub>2</sub>)f; -  
1700 (-CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>).

#### Síntesis de 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoato de etilo. (VIII).

La bromación se hizo en medio ácido (27). En un matraz de 50 ml se disolvió 1,5 g (0,009 moles) de 4-hidroxibenzoato de etilo en ácido acético. Por otra parte 0,925 ml (0,018 moles) de bromo, se disolvieron en ácido acético-agua 3:1 y mediante un embudo de adición, se adicionó lentamente el bromo a temperatura ambiente sobre el 4-hidroxibenzoato de etilo y la mezcla de reacción se agitó durante 10 min. La reacción se vertió en un vaso de precipitados sobre hielo-agua y ahí precipitó el producto, se filtró al vacío y se lavó con bicarbonato de sodio. El producto se cristalizó de diclorometano-hexano. Se obtuvo 1 g de producto. P.f. 85-7°C.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>): 3400 (ArO-H)m; 3000 (-CH sat.)d; 1710 (-CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)f; -  
1730 (C-Br)m.

R.M.P.  $\delta$  (ppm): 8.1 (s, 2H, Ar-H); 6.2 (señal ancha, 1H, ArO-H)<sub>10<sup>2</sup>D</sub>; -  
4.75 (c, 2H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.35 (T, 3H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

### Síntesis de 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído (IX).

De acuerdo con Paal (27), en un matraz de bola y con la ayuda de una base magnética se disolvió 1 g (0.0082 moles) de 4-hidroxibenzaldehído en 2.35 ml (0.04 moles) de ácido acético, mientras esto sucedía se preparó una solución de bromo, agregando 0.9 ml (0.0086 moles) de bromo a 0.5 ml de ácido acético, la mezcla se agitó hasta que se disolvió el bromo y se colocó en un embudo de adición; por medio del cual se adicionó lentamente al matraz de reacción. Terminada la adición se continuó la agitación 15 min, y la mezcla se vertió en agua precipitando el producto. Se filtró el precipitado y se cristalizó de etanol-agua. Se obtuvieron 1.63 g del producto. Rendimiento - 71 %, p.f. 180-1°C.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>) ; 3150 (O-H)<sub>m</sub>; 2950 (C-H)<sub>d</sub>, aldehído; 1680 (C=O)<sub>f</sub>.  
R.M.P.  $\delta$  (ppm): 9.96 (s, 1H, Ar-H); 8.19 (s, 2H, Ar-H); 6.25 (señal ancha, 1H, ArO-H)<sub>10<sub>2</sub>O</sub>.

### Síntesis del Ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfónico (X).

En un matraz de 100 ml de dos bocas, adaptado con refrigerante y un embudo de adición, se disolvieron en agua 2 g (0.0046 moles) de la sal de sulfonato de estroncio, se adicionó lentamente y con agitación 2.94 g (0.0046 moles), 0.945 ml de bromo (previamente disuelto en ácido acético-agua 3:1). Al término de la adición, se continuó agitando durante 5 min, se filtró al vacío y el producto crudo se cristalizó de etanol. Se obtuvieron 1.1 g de producto. Rendimiento 75.8%, no fundió a 275°C.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>) ; 3500 (ArO-H)<sub>m</sub>; 1345 (Ar-SO<sub>2</sub>-OH); 1200 (ArC-OH); - 720 (C-Br).  
R.M.P.  $\delta$  (ppm) ; 7.7 (s, 2H, Ar-H); 9.5 (señal ancha, 2H, ArSO<sub>2</sub>-H y - ArO-H)<sub>10<sub>2</sub>O</sub>.

### Preparación de malononitrilo (XI).

Se empleó la técnica de Vogel (23). En un mortero se mezclaron 10 g (0.142 moles) de cianoacetamida y 10 g (0.0479 moles) de pentacloruro de fósforo, la mezcla se transfirió rápidamente a un matraz bola de 250 ml de dos bocas; a una de ellas se le adaptó un refrigerante de aire y a éste se adaptó un tubo de salida para llevar el ácido clorhídrico y oxitricloruro de fósforo, productos de la reacción, a un matraz Erlenmeyer conteniendo una solución de sosa al 10 %. En la otra boca del matraz se adaptó un colector con entrada para el vacío y un matraz bola de 100 ml de una boca para coleccionar el producto. Se evacuó el sistema a 30 mm de Hg y se colocó un baño de agua caliente bajo el matraz que contiene la mezcla, se calentó el baño de agua con la ayuda de una parrilla hasta ebullición y una vez que se fundió la mezcla, el baño de agua fue reemplazado por uno de aceite y se calentó a 120 °C. Se colectó el malononitrilo a 110 °C y 18 mm de Hg. Se obtuvieron 6.41 g de malononitrilo. Rendimiento 68 %.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>): 2980 (C-H sat.); 2300 (-CN)<sup>r</sup>.

R.M.P.  $\delta$  (ppm) : 3.25 (s, 2H).

### Síntesis de 3,5-dibromo-4-hidroxibencilidanimalononitrilo (XII).

Se sintetizó por una condensación de Knoevenagel (28) como sigue: en un matraz bola de 100 ml con trampa de Starko y refrigerante, se pusieron 1.39 g (0.005 moles) de 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído con 0.39 g (0.005 moles) de malononitrilo, 0.57 ml de ácido acético y 80 mg de alanina, se empleó como disolvente tolueno. La reacción se calentó hasta la temperatura de ebullición del tolueno, y

se mantuvo a reflujo durante 3 hr. Posteriormente, mediante una destilación simple se destiló el tolueno (no completamente), se enfrió y precipitó ahí mismo el producto; se filtró al vacío y el producto crudo se cristalizó de acetato de etilo-diclorometano. Se obtuvieron 1.15 g. Rendimiento 70.6 %, p.f. 166-7°C.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>) : 3320 (Ar-OH)<sub>m</sub>; 2235 (-CN)<sub>m,f</sub>; 1590 (C=C)<sub>f</sub>; —  
720 (C-Br).

R.M.P.  $\delta$  (ppm): 7.55 (s, 1H, -CHC(CN)<sub>2</sub>); 8.05 (s, 2H, Ar-H); 5.9 —  
(señal ancha, 1H, ArO-H)<sub>10,20</sub>.

Síntesis de 3,5-dibromo-4-hidroxibencilidencianoacrilamida. (XIII).

Para su síntesis se empleó la condensación de Knoevenagel (28). En un matraz bola de 100 ml con trampa de Stark y refrigerante se pusieron 0.3 g (0.0035 moles) de cianoacetamida, 1 g (0.0035 moles) de 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído, 0.57 ml de ácido acético y 80 mg de alanina, usando como disolvente tolueno; la mezcla de reacción se calentó hasta alcanzar la temperatura de ebullición del tolueno, y se mantuvo a reflujo 5 hr, después, se evaporó en el rotavapor parte del tolueno y ahí mismo precipitó el producto, se filtró al vacío y el producto crudo se cristalizó de acetona. Se obtuvieron 0.92 g. del producto. Rendimiento 74.8 %, p.f. 238-9 °C.

I.R.  $\bar{\nu}$  max (cm<sup>-1</sup>) : 3450 (ArO-H); 3460 (NH<sub>2</sub>-CO-)<sub>d</sub>; 2210 (-CN)<sub>d</sub>; —  
1700 (-CONH<sub>2</sub>)<sub>f</sub>; 1590 (-CH=C(CN)-)<sub>m</sub>; 730 (C-Br).

R.M.P.  $\delta$  (ppm) : 8.15 (s, 2H, Ar-H); 8.0 (s, 1H, Ar-CH=C(CN)(CONH<sub>2</sub>));  
4.2 (señal ancha, 1H, ArO-H)<sub>10,20</sub>.

Síntesis del clorhidrato de 3,5-dibromo-4-hidroxianilina (XIV).

Se adoptó la técnica reportada por Vogel (23) para la reduc-

ción de nitroderivados. En un matraz de 100 ml se adicionaron 60 ml de etanol 1.5 g (0.005 moles) de 2,6-dibromo-4-nitrofenol, 4.5 g (0.0379 moles) de estaño metálico (en granalla) y 15 ml de ácido clorhídrico concentrado-agua 1:1 ; se adaptó al matraz un refrigerante y la mezcla de reacción se calentó hasta alcanzar la temperatura de ebullición del sistema; una vez alcanzada ésta, se mantuvo a reflujo durante 2hr. Se filtró el exceso de estaño y se procedió a evaporar el etanol en el rotavapor, se filtró el precipitado, se lavó con agua para eliminar el cloruro de estaño que hubiera precipitado con el producto y finalmente el producto se secó en la estufa. Se obtuvieron 2.8 g de producto. Rendimiento 91.8 %, p.f. 200-5°C con descomposición.

I.R.  $\bar{\nu}$  max ( $\text{cm}^{-1}$ ); 3400 (Ar-OH)s; 2900-3100 (banda ancha  $-\text{NH}_3$ )m; -1500 (C-N)r.

Síntesis de Ioduro de 3,5-dibromo-4-hidroxifenil trimetil amonio (XV).

En un matraz de tres bocas de 100 ml, se adaptaron dos embudos de adición y un refrigerante. En el matraz se puso un gramo (0.0033 moles) del clorhidrato de 3,5-dibromo-4-hidroxil anilina y 50 ml de etanol, por otra parte, se disolvieron 0.395 g (0.0098 moles) de hidróxido de sodio y se pasó esta solución a uno de los embudos, mientras en el otro, se pusieron 2.32 g, 1.02 ml (0.0164 moles) de yoduro de metilo y se inició la adición lenta y simultánea del hidróxido de sodio y del yoduro de metilo, una vez que hubo terminado la adición, la mezcla de reacción se calentó en baño maría a 40-45°C durante 2 hr. Se evaporó el etanol en el rotavapor y enseguida se adicionó acetato de etilo y el producto precipitó, se filtró el vacío y el pro

ducto así obtenido; se cristalizó de etanol. Se obtuvieron 0,62 g -  
del producto. Rendimiento 57,3 %, p.f. 230 °C con descomposición.  
I.R.  $\bar{\nu}$  max ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3400 (Ar-OH, banda ancha)d; 3000 (C-H sat.)d ;  
1500 (C-N)f; 1430 (-CH<sub>3</sub> as.)d; 740 (C-Br).  
R.M.P.  $\delta$  (ppm) : 8.2 (s, 2H, Ar-H); 3.55 (s, 9H, Ar-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> ).

Síntesis del Cloruro de 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfonilo (XVI).

De acuerdo con Zincke (29). En un matraz de 100 ml se pusieron  
1,65 g (0,0049 moles) del ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfónico  
y un exceso de oxitricloruro de fósforo y tricloruro de fósforo, 5 ml  
de cada uno; se adaptó un refrigerante y la mezcla de reacción se ca-  
lentó en un baño maría a 50-60 °C, durante 3 hr. Posteriormente la -  
reacción se vertió muy lentamente en un matraz Erlenmeyer; el cual -  
contenía hielo picado y el matraz enfriado sobre hielo seco. Una vez  
que se terminó de verter la mezcla de reacción se filtró al vacío y -  
se secó. Se obtuvieron 1,3 g del producto. Rendimiento 74,6 %, p.f. -  
125 °C.

I.R.  $\bar{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ); 3450 (ArO-H)f; 1405 (-SO<sub>2</sub>Cl)f; 610 (C-Br)m.

R.M.P.  $\delta$  (ppm) : 7.6 (s, 2H, Ar-H); 5.2 (señal ancha, 1H, ArO-H)<sub>10,20</sub>.

**RESUMEN Y CONCLUSIONES.**

## VI RESUMEN Y CONCLUSIONES.

- 1.- Se sintetizaron once compuestos análogos de bromoxinil con un sustituyente atractor de electrones en posición 4 al grupo fenólico, que se muestran en los esquemas I - VII.
- 2.- Se estudió la relación que existe entre los parámetros fisicoquímicos  $\sigma$ ,  $\pi$  y radio molecular y la actividad de los fenoles sobre el transporte de electrones fotosintético.
- 3.- De los resultados obtenidos puede concluirse que se requiere un grupo en la posición 4 con una  $\sigma$  de Hammett alta y un radio molecular menor de  $10 \text{ \AA}^2$  para una actividad inhibitoria óptima.
- 4.- Aparentemente la constante  $\pi$  de Hansch no influye de manera importante en la actividad de los compuestos.
- 5.- Se propone el estudio de reacciones parciales en la cadena transportadora de electrones, para conocer el sitio de acción de estos compuestos y proponer un posible modo de acción.



**BIBLIOGRAFIA.**

## VII BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Stryer, L. Biochemistry 2a ed. Cap. 19. W. H. Freeman and Company 1975. San Francisco.
- 2.- Lehninger, L.A. Biochemistry, 2a ed. Cap 22. Worth. Publishers., Inc. 1975. New York.
- 3.- Moreland D. E. Ann Rev. Plant. Physiol. 31, 579-638 (1980)
- 4.- Duysens, C.N.W., Amesz, J. Biochem. Biophys. Acta. 64, 243-60 (1962)
- 5.- Bouges - Bocquet, B. Biochem. Biophys. Acta. 314, 250-56 (1973)
- 6.- Valthuis, B.R., Amesz, J. Biochem. Biophys. Acta. 33, 81-94 (1974)
- 7.- Rosenberg, J.L., Sahu, S., Bigat, T.K. Biophys. J. 12, 839-50 (1972)
- 8.- Döring, G., Renger, G., Vater, J., Witt, H.T. Z. Naturforsch. 24, 1139-43 (1969)
- 9.- Renger, G. Biochem. Biophys. Acta. 314, 113-16 (1973)
- 10.- Renger, G. FEBS. Lett. 69, 225-30 (1976)
- 11.- Renger, G. Biochem. Biophys. Acta. 440, 287-300 (1976)
- 12.- Trebst, A., Dreber, W. Pesticide Science 223-34 (1979)
- 13.- Van ranson, J.J.S., Van Der Vet, W., Van Vliet, W.P.A. Photochem. Photobiol. 25, 579-83 (1977)
- 14.- Fujita, T. Advances in Chemistry series 114 Cap. 1
- 15.- Fujita, T. Journal of Medicinal Chemistry. 9, (6), 717-803 (1966)
- 16.- Hensch, C. Progress in Photosynthesis Research. III, 1685-1692 (1969)
- 17.- Wain, R.L. Proc. 7th. Br. Weed Control Conf. I. pl-2 (1964a)
- 18.- Wain, R.L. Proc. 11th. Br. Weed Control Conf. (1972)
- 19.- Slow, K.S and Unrau, A.M. Biochemistry 7, (10), 3507-12 (1968)
- 20.- Vater, J. Biochem. Biophys. Acta, 292, 789-95 (1973)
- 21.- Horryngton, F.E., Hyde, R.M. Williams, S.B, Weston, R. J. Med. -

Chem. 18, 604-7 (1975)

22.- Goldschmidt, H. Berichte, 17, 213 (1938)

23.- Vogel, A.I. A Text-Book of Practical Organic Chemistry. 3rd. ed.  
Longmans 1961. Great Britain.

24.-Kharash, M.S and Joshi, B.S. J. Org. Chem. 27, 651-53 (1962)

25.- Takokoi, T., Torres Pereira y Pecker. Biochem. Biophys. Acta,  
352, 160 (1974)

26.- Giral, F. Productos Químicos y Farmacéuticos. Vol. II. Ed. Atlanti-  
ca. S.A. 1946 México.

27.- Peal, C. Berichte, 28, 2408 (1895)

28.- Schwetlick, K. Organikum Veb Deutscher Verlag Der. Wissenschaften  
. 1981 Berlin.

29.- Zincke Th. und Glahn, W. Berichte, 40, 3039 (1907)