

00523
47

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE NIFURTIMOX[®] CON POSIBLE ACTIVIDAD
LEISHMANICIDA Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD
LARVICIDA EN ARTEMIA SALINA.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Q U I M I C A

P R E S E N T A :

EVA MARIA RODRIGUEZ LÓPEZ



EXÁMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO, D.F.

2003.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Jurado asignado:

Presidente
Vocal
Secretario
1er suplente
2do suplente

Prof. Rocio Pozas Horcasitas
Prof. Ernestina Cervera Flores
Prof. Alejandrina Acosta Huerta
Prof. Fernando León Cedeño
Prof. José Alfredo Vázquez Martínez

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 208, Departamento de Química Orgánica
División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

Asesor del tema:



Dra. Rocio Pozas Horcasitas

Sustentante



Eva Maria Rodriguez López

AUTENTICADO en la Dirección General de Asesoría y
UNAM a difundir en formato electrónico
contenido de la tesis.
NOMBRE: Eva Maria Rodriguez
Lopez
FECHA: 14-Mayo-03
FIRMA: [Signature]

Muere lentamente

Muere lentamente quien se transforma en esclavo del hábito, repitiendo todos los días los mismos trayectos, quien no cambia de marca, no arriesga a vestir un nuevo color y no le habla a quien no conoce.

Muere lentamente quien hace de la televisión su gurú, quien evita una pasión, quien prefiere el negro sobre el blanco y los puntos sobre las íes, a un remolino de emociones, justamente las que rescatan el brillo de los ojos, sonrisa de los bostezos, corazones a los tropiezos y sentimientos.

Muere lentamente quien no voltea la mesa cuando está infeliz en el trabajo, quien no arriesga lo cierto por lo incierto, para ir detrás de un sueño, quien no se permite por lo menos una vez en la vida, huir de los consejos sensatos.

Muere lentamente quien no viaja, quien no lee, quien no oye música, quien no encuentra gracia en sí mismo, quien destruye su amor propio, quien no se deja ayudar.

Muere lentamente quien pasa los días quejándose de su mala suerte y de la lluvia incesante.

Muere lentamente quien abandona un proyecto antes de iniciarlo, no pregunta de un asunto que desconoce o no responde cuando le indagan de algo que sabe.

Evitemos la muerte en suaves cuotas, recordando siempre que estar vivo exige un esfuerzo mucho mayor que el simple hecho de respirar.

Todo depende de cómo vivamos:

si te vas a calentar, que sea al sol,
si vas a engañar, que sea a tu estómago,
si vas a llorar que sea de alegría,
si vas a mentir, que sea la edad,
si vas a robar, que sea un beso,
si vas a perder, que sea el miedo,
si existe hambre, que sea de amor,
si es para ser feliz ...que sea todo el tiempo !!!

Pablo Neruda

Agradecimientos

A mi asesora, maestra y amiga la Dra. Rocio Pozas Horcasitas por toda su paciencia, amistad y sabiduría.

Al Dr. Alfredo Vásquez Martínez por todos los consejos y sugerencias para mejorar este trabajo así como su amistad y sinceridad.

A la maestra Ernestina Cervera Flores por su orientación para resolver los espectros.

A la maestra Alejandrina Acosta Huerta, Q. Marisela Gutiérrez, Q.F.B. Rosa I. del Villar, Q.F.B. Oscar Yáñez, Q. Georgina Duarte. Gracias por haber realizado los espectros de resonancia, masas e IR.

**TESIS CON
FALLA DE
ORIGEN**

Dedicatorias

A mis padres de quiénes he aprendido lo mejor de cada uno de ellos.

A Ricardo porque significa mucho para mí.

A mi contaquímico porque me acompaña en los momentos difíciles y siempre lo toma con diversión.

A Soco para que no olvides que te quiero

A mi familia.

A Maribel que me conquistó con un mazapán.

A mis amigos.

Indice

ÍNDICE

I	Resumen	4
II	Introducción	6
III	Antecedentes	
	A Leishmaniasis	9
	1 Historia de la enfermedad	9
	2 Clasificación de las leishmaniasis	10
	3 Agente etiológico	12
	4 Transmisores	13
	5 Ciclo biológico	13
	6 Distribución geográfica	16
	7 Impacto social y económico	18
	8 Tratamiento de las leishmaniasis	20
	a. Antimoniales	20
	b. Antibióticos y diaminas	21
	9 Búsqueda de nuevos fármacos	21
	a. Amidinas y compuestos relacionados	22
	b. Acridinas y quinolinas	24
	c. Hidroxinaftoquinonas	24
	d. Productos naturales	25
	e. Otras alternativas	27
	10 Susceptibilidad de las leishmaniasis a especies oxigenadas	29
	a. Nifurtimox®	29
	b. Mecanismo de acción del Nifurtimox®	30
	B Sustitución electrofílica de furanos	33
	1 Nitración de furanos	34
	C Síntesis de amidas	35
	1 Reacción de aminas con monóxido de carbono	38
	2 Acilación de aminas por halogenuros de acilo	38
	3 Acilación de aminas por anhídridos	39
	4 Acilación de aminas por ésteres carboxílicos	39
	5 Acilación de aminas con ácidos carboxílicos	40
	6 Hidrólisis de nitrilos	41
	7 La transposición de Beckmann	41
	D Síntesis de cloruros de acilo	42
	1 A partir de ácidos carboxílicos y pentacloruro de fósforo (PCl ₅)	42
	2 A partir de cloruro de oxalilo y DMF	42
	3 A partir de ácidos carboxílicos y cloruro de tionilo	42
	E Importancia de las pruebas <i>in vivo</i> para determinar toxicidad	44
	1 Pruebas de toxicidad utilizando <i>Artemia salina</i>	44
IV	Objetivos	47
V	Método	49
	A Síntesis orgánica	50

	1	Obtención del ácido 5-nitro-2-furilacrílico	50
	2	Obtención de amidas	51
B		Bioensayo con <i>Artemia salina</i>	53
	1	Producción de <i>Artemia salina</i>	53
	2	Preparación de disoluciones	53
	3	Cálculo de la concentración letal (CL ₅₀)	54
	4	Diagrama del bioensayo	55
VI		Resultados y discusión	57
	A	Caracterización de los compuestos sintetizados	57
	B	Tablas de IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C, Masas	58
	C	Discusión	72
	1	Espectroscopía IR	72
	2	Espectrometría de masas	73
	3	RMN ¹ H	73
	4	RMN ¹³ C	75
	5	HETCOR	76
	6	Síntesis orgánica	76
	7	Bioensayo con <i>Artemia salina</i>	79
VII		Conclusiones	91
VIII		Referencias	93
IX		Apéndices	98

Resumen



I. Resumen.

Las leishmaniasis son enfermedades causadas por diferentes protozoarios del género *Leishmania* que afectan a piel, mucosas y vísceras. Estos padecimientos se encuentran ampliamente distribuidos en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo. Las consecuencias en salud pública son muy variadas y van desde lesiones desfigurativas, hasta severas epidemias del tipo visceral que involucran altos índices de mortalidad.¹⁰

Se realizó la síntesis y caracterización de siete nuevos compuestos análogos al Nifurtimox® (27, figura 19), que tiene actividad leishmanicida, con el objeto de buscar moléculas con una mayor actividad que éste. La actividad de los compuestos se evaluó utilizando *A. salina*, observándose que la *N*-(3-nitrobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (63) es el compuesto que presentó la mayor actividad larvicida, con una efectividad doce más grande que el Nifurtimox®.

Introducción



I. Introducción.

Las leishmaniasis son enfermedades parasitarias causadas por diferentes protozoarios del género *Leishmania* que afectan a piel, mucosas y vísceras.¹ Son transmitidas por la picadura de la hembra de un pequeño mosquito perteneciente a la familia *Psichodidae*. Estos padecimientos se encuentran ampliamente distribuidos en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a la leishmaniasis como una de las seis enfermedades de mayor importancia en salud pública.² Esta enfermedad amenaza a 350 millones de personas en 88 países, de los cuales 72 son países en desarrollo. Se estima que hay alrededor de doce millones de personas infectadas, de las cuales tres millones manifiestan síntomas clínicos. Cada año aparecen 1.5 millones de nuevos casos y una tercera parte de ellos tiene la enfermedad visceral.^{2, 10}

Actualmente se cuenta con pocos medicamentos clínicamente efectivos que, desafortunadamente, tienen efectos tóxicos colaterales y requieren de largos periodos de administración, por lo que es necesario desarrollar medicamentos más eficaces y que no tengan efectos secundarios.

Algunos autores han hecho notar que varias especies de *Leshmania* carecen de enzimas capaces de consumir especies de oxígeno como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales hidroxilo ($HO\cdot$), y que estos protozoarios son susceptibles a bajos flujos de peróxido de hidrógeno.²⁴

Docampo y Stopani³¹ han propuesto un mecanismo de acción para el Nifurtimox® (3-metil-4(5'-nitrofurfurilideneamino)-tetrahidro-4H-1,4-tiazina-1,1-dióxido (27, figura 19) en el que el grupo $-NO_2$ del nitrofurano actúa como transportador de electrones, favoreciendo la formación de agua oxigenada y otras



especies oxidantes que resultan nocivas para el protozoario, causando su muerte y la curación de la enfermedad.

Con base en esta susceptibilidad y el hecho de que Nifurtimox®, un nitrofurano, tiene actividad leishmanicida, en este trabajo se reporta la síntesis de siete diferentes propenamidas análogas de éste, en las que se conservó el grupo 5-nitrofurano (parte farmacofórica del Nifurtimox®), combinada con otra molécula, con la intención de modificar su capacidad para reducirse. Se evaluó la actividad larvicida de estos compuestos en *Artemia salina*, pues se sabe que existe relación entre la toxicidad provocada por las sustancias químicas y el efecto antiparasitario. De las amidas sintetizadas, la *N*-(3-nitrobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (63) mostró la mayor actividad larvicida frente a *A. salina*, resultando ser doce más efectiva que Nifurtimox®.

Antecedentes



III. Antecedentes.

A. Leishmaniasis.

Las leishmaniasis son enfermedades parasitarias causadas por varias especies de protozoarios hemoflagelados del género *Leishmania* que atacan a piel y a visceras tanto del hombre como de algunos animales. Los animales son los reservorios de estas infecciones, que son transmitidas al hombre por la picadura de un mosquito hembra perteneciente a los géneros *Phlebotomus* (Viejo Mundo) o *Lutzomyia* (Nuevo Mundo).¹ La taxonomía del protozoario es:

Phyllum: *Sarcomastigophora*.

Subphyllum: *Mastigophora*.

Clase: *Zoomastigophorea*.

Familia: *Trypanosomatidae*.

Género: *Leishmania*.

Algunas de las especies son: *Leishmania donovani*, *L. mexicana*, *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. chagasi*, *L. major*, *L. aethiopica* y *L. peruviana*.



Figura 1.

1. Historia de la enfermedad.

Las leishmaniasis han sido la causa de mucho sufrimiento y muerte durante miles de años. Existe evidencia de que desde la época precolombina ya se conocían algunos tipos de esta enfermedad, pues se han encontrado piezas cerámicas en el Perú y Ecuador que datan de estas fechas y muestran mutilaciones en

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Fig 2



Asimismo los cronistas llegados con los conquistadores, y más tarde los religiosos, relataron en sus escritos que habían encontrado numerosos indígenas con las orejas mutiladas en la región de Yucatán.¹ No obstante, la primera descripción hecha de leishmaniasis cutánea se le atribuye al iraquí El-Razi, alrededor del año 1500 d.C, y es hasta 1778 que se describe en el Nuevo Mundo un padecimiento peruano caracterizado por "llagas corrosivas" en la cara y al que atribuían como origen la picadura de un pequeño insecto llamado "uta".³

En México la leishmaniasis cutánea fue descrita en 1912 y se le denominó úlcera de los chicleros, por la gran frecuencia con que se presentaba este padecimiento en los trabajadores dedicados a la extracción de la resina del chicle en la península de Yucatán.^{1, 3} En 1970 se presentaron otros casos de leishmaniasis visceral (Kala-azar) en la región carbonífera de Coahuila. Este tipo de leishmaniasis es causada por la especie *L. chagasi*. En 1990 se presentaron casos de leishmaniasis mucocutánea (espundia) causada por *L. braziliensis* en Villahermosa, Tabasco.³ A pesar de que se tenía conocimiento de las leishmaniasis en diferentes partes del mundo, es hasta principios del siglo XX cuando se inician las investigaciones acerca de estos padecimientos.

2. Clasificación de las leishmaniasis.

El tipo de leishmaniasis depende de la especie del parásito que causa la infección, la distribución de macrófagos infectados y especialmente de la respuesta inmune del anfitrión.⁴ Así, dependiendo de las manifestaciones clínicas, las leishmaniasis se clasifican en visceral, cutánea, difusocutánea y mucocutánea. Las leishmaniasis cutáneas, pueden ser producidas por varias especies de *Leishmania*, son las más prevalentes, y provocan úlceras en la piel, que pueden tardar más de un año en sanar. Las leishmaniasis mucocutáneas inicialmente causan lesiones similares que se pueden curar, pero reaparecen, principalmente en la nariz y la boca. La leishmaniasis visceral es una enfermedad sistémica muy severa, que siempre es fatal si no es tratada correctamente.⁵⁻⁹

Cuadro de clasificación de las leishmaniasis,
especies causantes y lesiones.

Tipo	Nombre	Especie causante	Lesiones
Leishmaniasis visceral	Kala-azar	<i>L. donovani</i> (en el viejo mundo)	En el sitio de la picadura del mosquito los parásitos flagelados son ingeridos por los macrófagos. El parásito se multiplica y al cabo de unas semanas o meses llega con estas células al bazo, hígado, médula ósea y ganglios linfáticos. Al morir las células infestadas, se liberan grandes cantidades de leishmania que invaden nuevas células. La infección suele ser benigna, pero en algunos casos graves se produce el fallecimiento. ^{5, 6} El oscurecimiento en la piel de las manos, cara, pies, abdomen es común en la India (kala-azar, significa enfermedad negra). ⁷
		<i>L. chagasi</i> (en el nuevo mundo)	
Leishmaniasis cutánea	Botón de oriente	<i>L. tropica</i> , <i>L. major</i> , <i>L. aethiopica</i>	Lesiones ulcerosas. De tres a cuarenta días después de la infección aparece una pápula cutánea roja en el lugar de la picadura en el caso de <i>L. tropica</i> . ⁵ La recidiva de la leishmaniasis puede presentarse de dos a diez años después de la lesión inicial. ⁸ Las dos primeras especies causan una úlcera benigna mientras que <i>L. aethiopica</i> produce una infección más agresiva. ⁶
	Úlcera de los chichleros	<i>L. mexicana</i>	Lesiones mutilantes en el cartilago de las orejas. ^{3, 8}
	Uta	<i>L. peruviana</i>	Lesión cutánea benigna que se observa especialmente en los niños. ⁶

**Antecedentes:**

Tipo	Nombre	Especie causante	Lesiones
Leishmaniasis difusocutánea	---	<i>L. aethiopica</i> y subespecies de <i>L. mexicana</i>	Esta manifestación inicia como una ulceración cutánea regular, pero progresa abarcando simultáneamente varias partes del cuerpo como mejillas, labios, barba, oídos, hombros, espalda, manos, en forma de nódulos no ulcerados o tubérculos parecidos a los de la lepra. ^{7, 9}
Leishmaniasis mucocutánea	Espundia	<i>L. braziliensis</i>	Se desarrollan lesiones metastásicas cinco años después de la infección y la úlcera inicial es grande, persistente y desfigurante. Son atacados y destruidos el cartilago nasal y otros tejidos nasofaríngeos por esta ulceración masiva subsecuente, que puede erosionar gran parte de la cara y provocar la muerte por bronconeumonía séptica, asfisia o falta de alimentación. ⁸ Las consecuencias estéticas y psicológicas son muy graves. ^{5, 6}

3. Agente etiológico.

Los agentes etiológicos de las leishmaniasis son protozoarios intracelulares del género *Leishmania* y desde el punto de vista morfológico todas las especies son idénticas entre sí. Estos parásitos pasan por dos estadios:

- a) Amastigote. Es de forma redondeada u oval, mide de 2 a 7 μ de diámetro. Esta forma se encuentra presente en los mamíferos (huésped).
- b) Promastigote. Es fusiforme de 16-18 μ de longitud. Esta fase se encuentra en el mosquito.



4. Transmisores.



Fig. 3

Los transmisores de las leishmanias son mosquitos pertenecientes a la subfamilia Phlebotominae, que se caracterizan por ser pequeños (3 - 5 mm de longitud) y muy pilosos. En la península de Yucatán se les conoce con el nombre de papalotillas o huétl. El género responsable de las leishmanias en América es *Lutzomyia* y para el Viejo Mundo lo es el género *Phlebotomus*.

5. Ciclo biológico.^{3, 9}

El ciclo biológico (fig. 4 y 5) de las leishmanias es sencillo, y se inicia en el momento en que el mosquito transmisor adquiere los parásitos (amastigotes) al alimentarse de la sangre de algún reservorio, que evolucionan a la forma promastigote, se multiplican y acumulan en la proboscis del mosquito, de tal manera que al alimentarse nuevamente inoculan estas formas a los mamíferos, penetran células del sistema de respuesta inmune, se redondean y reproducen, cerrándose en esta forma el ciclo biológico. En las formas cutáneas el mosquito transmisor adquiere los parásitos (amastigotes) al alimentarse directamente de la lesión ulcerosa de los mamíferos, en cambio en la leishmaniasis visceral o Kala-azar, la hematofagia puede adquirir estos parásitos aunque el piquete sea en piel o mucosas aparentemente sanas.³



Ciclo biológico de las leishmaniasis.

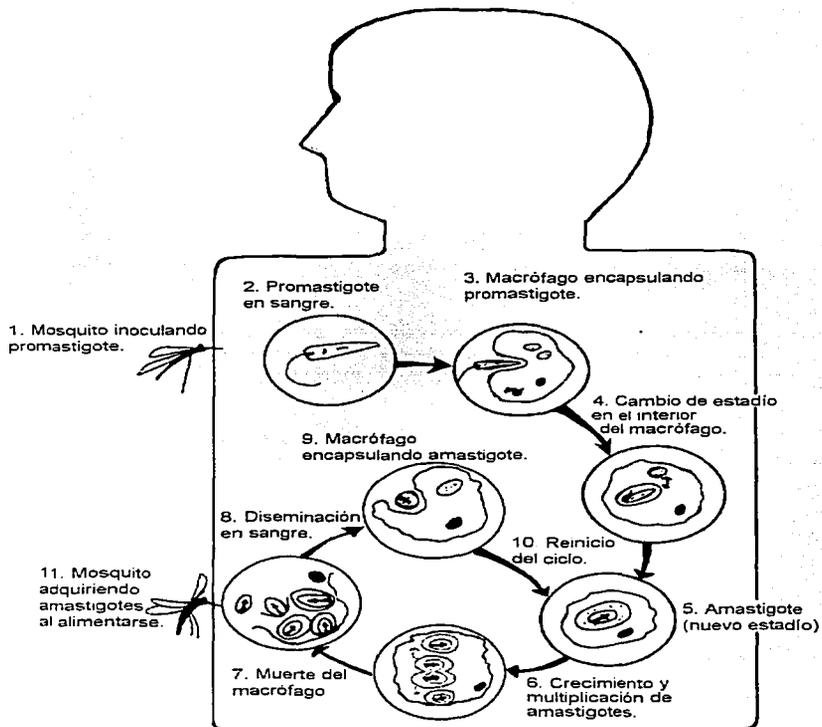


Figura 4.

TEJIS CON
FALLA DE ORIGEN



Ciclo de infección de las leishmaniasis.

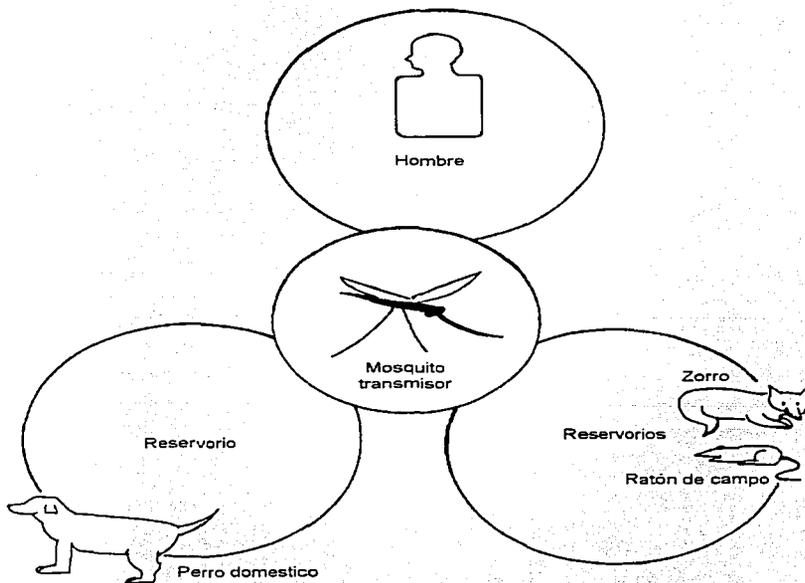


Figura 5. El mosquito puede adquirir las leishmaniasis de cualquiera de los reservorios y contagiar de este modo a especies sanas.



6. Distribución geográfica.

En general, las leishmaniasis son enfermedades de distribución cosmopolita y se presentan en las regiones tropicales de América, África, India, en el sudoeste de Asia y en el Mediterráneo. Por otra parte, es interesante notar la distribución de los diferentes tipos de leishmaniasis en el mundo:

- 90% de los casos de leishmaniasis visceral ocurre en Bangladesh, Brasil, India y el Sudán.
- 90% de las leishmaniasis mucocutáneas ocurre en Bolivia, Brasil y Perú.
- 90% de las leishmaniasis cutáneas ocurre en Afganistán, Brasil, Irán, Perú, Arabia Saudita y Siria

Tipo	Nombre	Distribución	Tratamiento
Leishmaniasis visceral	Kala-azar	Países ribereños del Mediterráneo, Irak, Irán, Afganistán, Pakistán, India, China, alrededor del mar Caspio. ^{5,6}	Los antimoniales pentavalentes como antimonio de meglumina y estibogluconato de sodio son la primera opción de tratamiento. Alternativamente se usa anfotericina, pentamidina, ketoconazol, metronidazol, sales de oro, paramomicina con o sin un antimonial, etc. ⁷
Leishmaniasis mucocutánea	Espundia	América Central y Sudamérica. ⁶	Con frecuencia esta manifestación no responde a tratamiento. ⁸ El tratamiento inicial es con antimonio pentavalente; si no tiene éxito se emplea anfotericina o pentamidina. Se ha reportado que el Nifurtimox es efectivo en algunos casos de leishmaniasis mucocutánea. Tratamiento con corticosteroides puede ser requerido para controlar severas inflamaciones. ⁷

Tipo	Nombre	Distribución	Tratamiento
Leishmaniasis cutánea	Botón de oriente	Sudeste de europa, norte de África, Oriente Medio, Irán, Afganistán, sur de Rusia, Sudán, Etiopía y Kenia. ⁵	La vacunación es táctica común para la protección en áreas muy endémicas, como el sur de Rusia e Israel. ⁶ En general, este tipo de infecciones no tiene tratamiento específico. La OMS sugiere que para lesiones debido a cualquiera de las especies cutáneas pueden ser tratadas con mepacrine, Pentostam® o Glucantime®. Tratamiento combinado de sulfato de paramomicina con cloruro de metilbencetonio o urea han dado respuestas prometedoras. En este tipo de leishmania se han intentado otros fármacos como alopurinol, berberine, dapson, itraconazol, ketoconazol y metronidazol. ⁷
	Úlcera de los chicleros	América Central, Sudamérica y sur de Texas. ⁵	
	Uta	En las laderas occidentales de los Andes. ⁶	
Leishmaniasis difusocutánea	---	Etiopía, Venezuela, Brasil, República Dominicana y México. ⁹	La OMS sugiere para lesiones nodulares remoción por cirugía o calor; sin embargo esto puede ser difícil y doloroso. Los antimoniales no son efectivos para este tipo de leishmaniasis, pero se ha reportado que los antimoniales pueden ser efectivos si se combinan con paramomycin. ⁷ Aunque con una terapia exhaustiva pueden mejorar las lesiones, los pacientes recaen. ⁹



En México la leishmaniasis cutánea se distribuye en los estados de Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco, Veracruz, San Luis Potosí, Tamaulipas, Nuevo León, Coahuila, Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Jalisco y Nayarit. La leishmaniasis visceral se ha observado en la cuenca del Balsas. La leishmaniasis cutánea difusocutánea se ha encontrado principalmente en Tabasco, Campeche y el norte de Coahuila. La leishmaniasis mucocutánea recientemente se ha observado en las cercanías de Villahermosa, Tabasco.

7. Impacto social y económico.

Las leishmaniasis comprenden manifestaciones clínicas y consecuencias en salud pública muy variadas, que van desde su autocuración, pero con lesiones desfigurativas en una minoría de personas infectadas con las especies cutáneas, hasta severas epidemias del tipo visceral que involucran altos índices de mortalidad.¹⁰

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a las leishmaniasis como una de las seis enfermedades de mayor importancia en salud pública. Esta enfermedad amenaza a 350 millones de personas en 88 países, de los cuales 72 son países en desarrollo.² Se estima que hay alrededor de doce millones de personas infectadas, de las cuales tres millones manifiestan síntomas clínicos. Cada año aparecen 1.5 millones de nuevos casos y una tercera parte de ellos tiene la enfermedad visceral.¹⁰

Esta enfermedad tiene graves consecuencias económicas y psicológicas. Por una parte, afecta las actividades económicas que se desarrollan en la zona endémica, incluyendo al turismo; sume al campesino en la miseria, al quedar debilitado e incapacitado por esta enfermedad¹ perdiendo de este modo sus cosechas. Además, afecta severamente en algunos casos, el aspecto físico de las personas al causar mutilaciones provocando el suicidio de algunos de ellos.



Asimismo las leishmaniasis se está propagando en varias partes del mundo como resultado de cambios epidemiológicos, reportándose casos de co-infecciones de SIDA y leishmaniasis visceral.^{2,11}

Existen reportes de epidemias de leishmaniasis visceral causada por *L. donovani*, durante la década de los 80 en la India, Bangladesh y en el Sudán. Por otra parte, se observó un síndrome viscerotrópico causado por *L. tropica*, especie asociada con leishmaniasis cutánea, en una tropa de EUA que operaba en el medio oriente. Esto provocó la prohibición de la donación de órganos y sangre proveniente de los veteranos de esa tropa.¹¹ Este ejemplo nos muestra que el desconocimiento de estos padecimientos puede provocar infecciones en personas sanas debido a transfusiones de sangre y transplante de órganos, ya que no se llevan a cabo pruebas clínicas que determinen la presencia de estos parásitos en órganos y en sangre.

8. Tratamiento de las leishmaniasis.

La quimioterapia de las leishmaniasis aún se encuentra en etapa de investigación de los mecanismo de acción, así como de los objetivos bioquímicos de medicamentos que pudieran ser utilizados para tratar estas enfermedades. Actualmente se cuenta con pocos medicamentos clínicamente efectivos que, además, tienen efectos tóxicos colaterales y requieren de largos periodos de administración.^{1,3}

a. Antimoniales.

Las sustancias que comúnmente se recomiendan para la terapia de todos los tipos de leishmaniasis, a pesar de su toxicidad renal y cardíaca, son sales de antimonio pentavalente como el estibogluconato de sodio (Pentostam® (1), figura 6), antimoniato de *N*-metilglucamina (Glucantima® (2), figura 6) y etilestibamina (Neo-estibosán (3), figura 6)¹² La variabilidad de la eficacia de estos compuestos se debe a que la concentración de Sb^5 en cada lote no es constante y además el tratamiento es muy caro.¹² Cabe señalar que la toxicidad de estas sustancias es menor a las usadas anteriormente que contenían antimonio trivalente.¹³

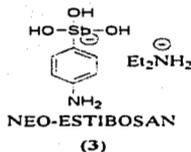
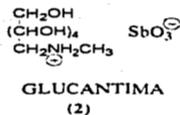
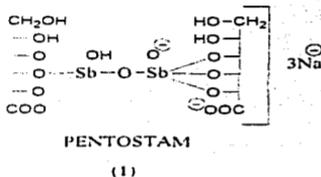


Figura 6

b. Antibióticos y diaminas.

En los casos en los que los medicamentos anteriores son ineficaces o presentan contraindicaciones se emplea pentamidina (diamina aromática (4), figura 7) o anfotericina B (antibiótico (5), figura 7) aunque su toxicidad también ha limitado su uso.^{11, 13}

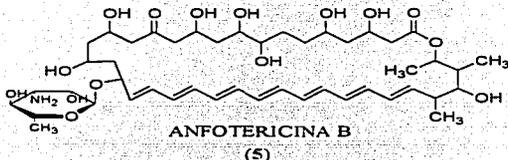
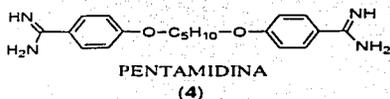


Figura 7

Varios antibióticos han demostrado ser útiles en el tratamiento de infecciones causadas por protozoarios por muchos años. Por ejemplo, diferentes formulaciones de paramomicin (aminosidina) se encuentran en pruebas clínicas para el tratamiento de leishmaniasis cutánea y visceral.¹⁰

9. Búsqueda de nuevos fármacos.

Para encontrar nuevos medicamentos se requiere de un compuesto prototipo, que en química farmacéutica¹⁴ es denominado compuesto líder, el cual tiene una actividad biológica o farmacológica deseada, pero puede tener características indeseables como alta toxicidad, insolubilidad u otros problemas



metabólicos; por consiguiente es necesario modificar su estructura por medio de síntesis química para aumentar su actividad y eliminar o minimizar los efectos secundarios.^{14, 15}

La ausencia de un compuesto líder ha limitado el progreso en la identificación de drogas más activas y menos tóxicas como sucedió en la quimioterapia de la malaria,¹⁰ enfermedad también ocasionada por un protozoario, pues aunque desde 1891 se conocían las propiedades antimalariales del azul de metileno, no fue sino hasta 1925 que se pudo incrementar su actividad antimalarial al modificar su estructura, guiando paulatinamente a compuestos más eficaces, como la primaquina (6, figura 8) que aún se usa en la actualidad.

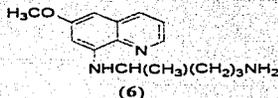


Figura 8. Primaquina.

En la búsqueda de un compuesto líder para diseñar medicamentos más eficaces en el tratamiento de las leishmaniasis, se ha probado la actividad leishmanicida de medicamentos usados para el tratamiento de otras enfermedades causadas también por protozoarios como la malaria y la enfermedad de Chagas.¹⁰

a. Amidinas y compuestos relacionados.

Canto-Cavalherio y colaboradores¹² en la búsqueda de nuevas drogas para reemplazar los antimoniales, probaron la actividad de diferentes amidinas (7, figura 9) contra *L. amazonensis*, especie asociada con las leishmaniasis cutánea, mucocutánea y difusocutánea, y *Trypanosoma cruzi*, especie causante de la



enfermedad de Chagas, encontrando que las amidinas tenían mayor actividad contra *L. amazonensis* que contra *T. cruzi*. Sin embargo, ninguna presentó mayor actividad que la pentamidina (4, figura 7). Los compuestos más activos en ambos casos, fueron los derivados sustituidos con los grupos metoxi y bromo.

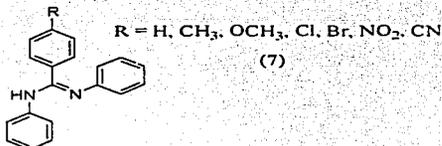


Figura 9. Amidinas.

Algunos derivados de fenotiazina han mostrado actividad antiprotozoaria¹⁰, como la cloropromazina (8, figura 10), neuroléptico comercial, que tiene actividad contra *Leishmania donovani*, *Plasmodium* (especie causante de la malaria), *Trypanosoma brucei* (especie causante de la enfermedad del sueño en África) y *T. cruzi*.

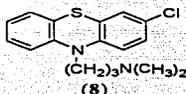


Figura 10. Cloropromazina.

También clomipramina y amitriptilina, derivados del anillo de iminodibencilo tienen concordante actividad contra tripanosomas y leishmanias. Varios agentes tripanocidas también son significativamente leishmanicidas. Sin embargo, estos compuestos muestran diferentes niveles de actividad contra las especies de leishmania.¹⁶ Asimismo, se sabe ahora que muchos compuestos que son activos *in vivo* contra *L. donovani*, especie causante de la leishmaniasis visceral, han tenido poca o nula actividad tripanocida. Ante esta perspectiva parece probable que existen muchos compuestos leishmanicidas potencialmente activos de los cuales



nunca se ha intentado su investigación clínica debido a la ausencia de actividad tripanocida.¹⁷

b. Acridinas y quinolinas.

Los núcleos de acridina y quinolina han aparecido en compuestos activos contra la malaria, por lo que estas estructuras se utilizan como compuestos líder en el diseño y síntesis de nuevos antimalarials. Tal es el caso de la mepacrina (9), figura 11) que es recomendada para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea.

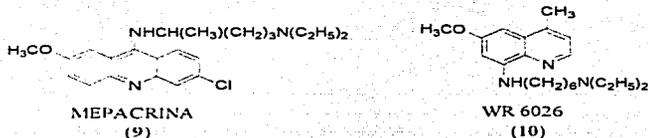


Figura 11

Una serie de 9-anilinoacridinas es activa contra *Leishmania*, *Plasmodium* y *Trypanosoma*. Peters¹⁸ reportó la actividad leishmanicida de varias 8-aminoquinolinas contra *L. major* y *L. m. amazonensis*, entre las cuales se encuentra el compuesto WR 6026 (10, figura 11) que está en pruebas clínicas para el tratamiento de la leishmaniasis visceral.

c. Hidroxinaftoquinonas.

Aunque la actividad antiprotozoaria de una hidroxinaftoquinona, hidrolapachol, fue identificada en 1938, el potencial de este grupo ha sido relevante sólo hasta la década pasada, principalmente por las propiedades antimalarials de la atavaquona, una hidroxinaftoquinona. Estos compuestos



juegan un papel importante en el diseño de fármacos debido a su capacidad para inhibir la ruta biosintética de las pirimidinas y su capacidad como transportadores de electrones.¹⁸ La buparvaquona (11, figura 12) es altamente activa contra *L. donovani*, una de las especies causantes de la leishmaniasis visceral.

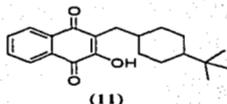


Figura 12. Buparvaquona

d. Productos naturales.

Los productos naturales tienen muchos usos en la medicina tradicional y aún tienen impacto en la quimioterapia antiprotozoaria. La quinina y la emetina, aisladas en 1820, se usan en el tratamiento de la malaria y amibiasis respectivamente.¹⁴ El renovado interés en productos obtenidos de plantas ha sido estimulado por la identificación de la actividad antimalarial, en 1970, de la artemisina (12, figura 13) que fue usado en la medicina tradicional china para el tratamiento de la fiebre y la malaria.¹⁴ La artemisina y otros trioxanos muestran actividad contra *L. major*,¹¹ especie causante de leishmaniasis cutánea, pero no contra *L. donovani*. La actividad de estos compuestos parece estar relacionada con la generación de radicales libres.^{10, 11}

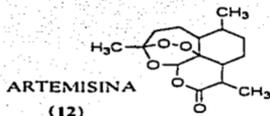


Figura 13



Otros compuestos derivados de plantas con notable actividad antiprotozoaria incluyen a las naftoquinonas plumbagina (13, figura 14) y β -lapachona (14, figura 14) que tienen actividad leishmanicida y antitripanosomal.^{10, 19} Además, se reporta que el β -lapachona al reducirse genera especies de oxígeno que son tóxicas para *T. cruzi*.²⁰

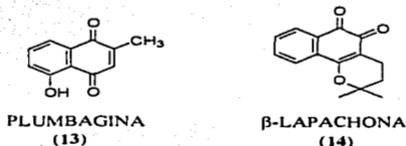


Figura 14

Ribeiro-Rodrigues y colaboradores²¹ evaluaron la actividad *in vivo* contra *T. cruzi* de varias naftofuranquinonas naturales y sintéticas. En las figuras 15 y 16 se muestran los compuestos que exhibieron la mayor actividad tripanocida en el estudio de Ribeiro-Rodrigues y que además fueron más activos que el Nifurtimox® (27, figura 19).

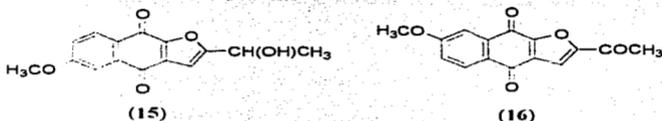


Figura 15. Naftofuranquinonas naturales.

Estos compuestos son capaces de reducir el oxígeno molecular a peróxido de hidrógeno y aniones superóxido, formando radicales hidroxilo, que causan daños al parásito de *T. cruzi*.²¹

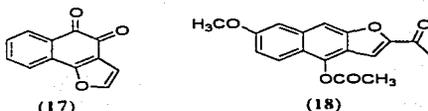


Figura 16. Naftofuranos sintéticos.

e. Otras alternativas.

Actualmente, a través de estudios farmacocinéticos se investigan nuevas alternativas para mejorar la eficacia y reducir la toxicidad de los medicamentos antimoniales (figura 6), así como la actividad leishmanicida en medicamentos comerciales (19-22, figura 17) como miconazol (19), ketoconazol (20), alopurinol (21) y furazolidona (22), ya que estos medicamentos afectan rutas metabólicas del protozoario, a través de la inhibición de enzimas específicas dificultando el aprovechamiento o síntesis de metabolitos importantes como purinas, esteróles, proteínas y poliaminas que son esenciales para la síntesis de macromoléculas y para la multiplicación de los protozoarios.^{10, 11}

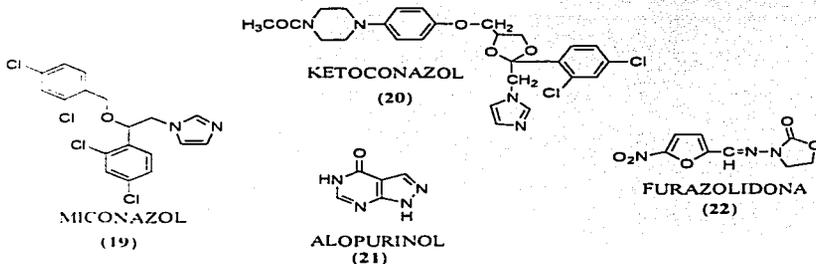


Figura 17



El ketoconazol es más efectivo contra lesiones cutáneas causadas por *L. mexicana* que las causadas por *L. braziliensis*. Cabe señalar, que la selectiva toxicidad de los antibióticos y azoles a *Leishmania* y *Trypanosoma cruzi* se debe a su capacidad para inhibir la biosíntesis de esteroides y lípidos.¹⁰ Otro intento en el diseño de medicamentos es formar complejos de anfotericina B (**5**, figura 7) con lípidos, teniendo así fármacos que son específicos para los macrófagos.¹¹

Bressi y colaboradores²² sintetizaron análogos de adenosina (**23-26**, figura 18), encontrando que tienen actividad leishmanicida y antitripanosomal ya que, inhiben la glicólisis de los tripanosomas dificultando así una de las principales fuentes de energía para estos parásitos.

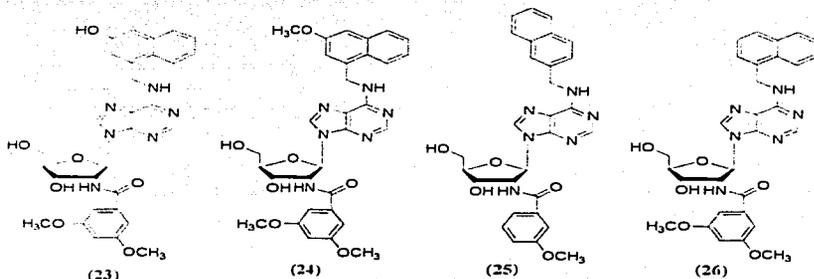


Figura 18. Análogos de adenosina.

Estos análogos de adenosina fueron probados contra *L. mexicana*, especie causante de la úlcera de los chicleiros, y mostraron una mayor actividad con respecto a la adenosina.²² Aunque aquí sólo se mencionan algunos de los compuestos que muestran cierta actividad contra *Leishmania*, hay más de cien tipos de estructuras químicas que muestran actividad contra estos parásitos.^{11, 16, 23} No obstante, existen pocos fármacos a nivel comercial contra este



padecimiento, por lo que es necesario desarrollar nuevos productos para atacar este problema.

10. Susceptibilidad de las leishmaniasis a especies oxigenadas

Este trabajo toma como punto de partida las investigaciones realizadas por varios autores como Murray H.,²⁴ que menciona que los promastigotes de varias especies de *Leishmania* son susceptibles a bajas concentraciones de H_2O_2 . Este autor encontró que los promastigotes de *L. tropica* y *L. donovani* fueron inmovilizados y lisiados en una hora de exposición a un medio que genera 5 nmol / min de H_2O_2 por la reacción de glucosa y glucosa oxidasa (GO). La marcada susceptibilidad de *Leishmania* a H_2O_2 es una indicación de que estos parásitos contienen bajos niveles de consumidores endógenos como catalasa y glutatión peroxidasa (GPO), enzimas que se encontraron en concentraciones bajas en *L. tropica* y *L. donovani* comparativamente con *T. gondii*, microorganismo resistente a H_2O_2 .²⁴ Esto se ve reforzado por el hecho de que la adición de catalasa en el medio productor de agua oxigenada evita la muerte de *Leishmania*.

Por su parte Rabinovich¹⁸ encontró que algunos transportadores de electrones como metilsulfato de 5-metilfenazina (PMS), cristal violeta y otros, destruyen amastigotes de *Leishmania* en macrófagos sin dañar a este último. Aunado a estos reportes, se encuentra el de Peter W.¹⁶ quien examinó la actividad de varios compuestos contra infecciones con *L. mayor* y *L. mexicana amazonensis* en ratones. Sus resultados muestran que el Nifurtimox® (27, figura 19) presentó actividad contra *L. mayor*.

a. Nifurtimox®

El Nifurtimox® (3-metil-4(5'-nitrofurilideneamino)-tetrahydro-4H-1,4-tiazina-1.1-dióxido (27, figura 19) es un derivado del nitrofurano con actividad antiprotozoaria. Es de valor en el tratamiento de la enfermedad de Chagas



ocasionada por *T. cruzi* y ha sido probado como tratamiento de segunda opción para la leishmaniasis cutánea.⁷

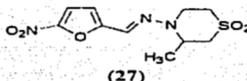
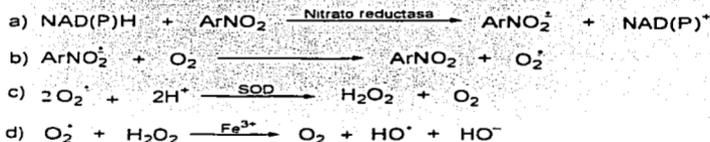


Figura 19. Nifurtimox®.

Berman y Lee²⁵ encontraron que el Nifurtimox® tuvo una efectividad del 50% contra *L. tropica* en macrófagos "in vitro" y que la furazolidona (21, figura 16), otro nitrofurano empleado como antimicrobiano, eliminó el 92% de los parásitos. Por su parte, Moskalenko y Pershin²⁶ reportaron la actividad leishmanicida de cinco diferentes nitrofuranos frente a *L. tropica major* y algunos de ellos mostraron una excelente profilaxis contra la infección, al ser probados en ratones. Asimismo, existen trabajos²⁷⁻²⁹ que reportan varios análogos del Nifurtimox®, los cuales presentan una mayor actividad contra *T. cruzi* con respecto al Nifurtimox®. Sin embargo, estos análogos aún no han sido probados contra *Leishmania*.

b. Mecanismo de acción del Nifurtimox®

Docampo y Stoppani³¹ proponen que el Nifurtimox®, induce en *T. cruzi* un incremento en la velocidad respiratoria y una liberación de H₂O₂ en las células por medio del siguiente mecanismo de acción:





La primera reacción **(a)** que se presenta en este mecanismo, es la reducción del grupo nitro de los nitrofuranos por NADPH (transportador biológico de electrones **(28)**, figura 20) como donador de electrones en presencia de nitrato reductasa formando como primer producto, el anión radical nitrofurano $\text{ArNO}_2^{\cdot-}$. Bajo condiciones aeróbicas **(b)**, el ión radical nitrofurano se oxida rápidamente por medio de oxígeno molecular para formar el anión radical superóxido $\text{O}_2^{\cdot-}$. En la reacción **(c)** se ilustra la producción de peróxido de hidrógeno H_2O_2 , a partir de dos aniones radical superóxido en presencia de protones y superóxido dismutasa (SOD). A través de la reacción de un anión radical superóxido $\text{O}_2^{\cdot-}$ con peróxido de hidrógeno catalizada con Fe^{3+} **(d)** se produce el radical libre hidroxilo HO^{\cdot} , especie reactiva sumamente tóxica.

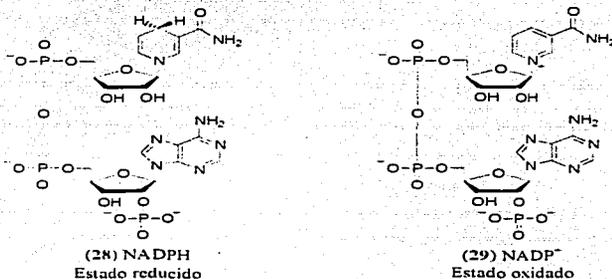
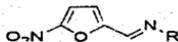


Figura 20. Formas reducida y oxidada de la coenzima Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH / NADP⁺).

Cerecetto y colaboradores^{31, 32} llevaron a cabo estudios electroquímicos de ocho análogos del Nifurtimox® (**30**, figura 21) a los que se determinó los potenciales formales de reducción, encontrando datos relevantes acerca de la transferencia de electrones. Con estos datos se pudo establecer una buena correlación entre la actividad tripanocida de estos compuestos *in vitro* y sus potenciales formales de reducción.

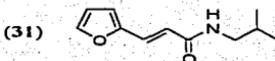


(30) R= heterociclo aromático

Figura 21. Análogos de Nifurtimox® estudiados por Cerecetto.

Todos los análogos probados contenían el grupo nitrofurano, siendo el grupo nitro el más fácilmente reducible; de este trabajo se hace evidente que el resto de la molécula determina en buena medida la facilidad con que el grupo nitro del furano se reduce, participando así en la transferencia de electrones en sistemas biológicos y generando, a través del mecanismo mencionado, los intermediarios de oxígeno responsables de la actividad.²⁴

Con estos antecedentes, es posible alentar otros estudios acerca de la acción de los nitrofuranos sobre *Leishmania*, además de los que ya se han realizado. También resulta de interés probar la actividad de moléculas en las que se conserve el 5-nitrofurano, parte farmacofórica del Nifurtimox®, responsable de la producción de derivados reactivos de oxígeno, tóxicos a *Leishmania*, combinada con otra parte de la molécula de la cual se tenga conocimiento que posee una actividad antiprotozoaria. Por otra parte, se tiene conocimiento de que algunas amidas α,β -insaturadas poseen una variedad de actividades biológicas,³³⁻³⁷ dentro de las cuales se encuentran la actividad bactericida y esquistosomicida como las que presenta la *N*-(2-metilpropil)-3-(2-furil)-2E-propenamida (31, figura 22).³⁸

Figura 22. *N*-(2-metilpropil)-3-(2-furil)-2E-propenamida.



B. Sustitución electrofílica en furanos

El furano (32, figura 23) es un heterociclo aromático de cinco miembros, en el que el heteroátomo es el oxígeno. Desde el punto de vista de la teoría de enlace valencia se considera al furano como un híbrido de resonancia en el que hay una deslocalización del par de electrones no compartido del oxígeno como se ilustra en las siguientes estructuras:³⁹

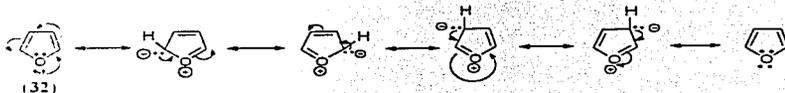


Figura 23.

Aunque hay una distribución de la carga negativa en todos los átomos de carbono del anillo, los furanos sufren sustituciones electrofílicas preferentemente en las posiciones 2 y 5 (posiciones equivalentes), como se ilustra en las estructuras de resonancia, figura 24, donde el furano ataca a un electrófilo (E^+) en las posiciones 2 y 3.

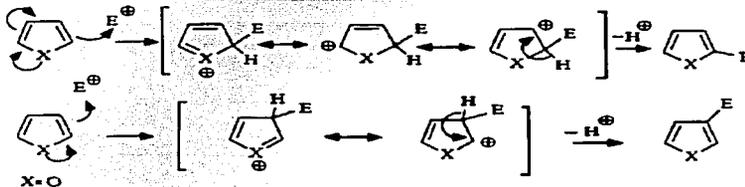


Figura 24.

Así, cuando el ataque es en el C-2 hay una mayor deslocalización de la carga positiva, teniéndose un intermediario de menor energía, lo que implica una menor energía de activación y por tanto una selectividad para la sustitución



electrofílica en la posición C-2 sobre la C-3. Por ejemplo, cuando el furano sufre trifluoroacetilación ($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{COMe}$) la proporción de productos sustituidos en C-2 y C-3 es de 6000:1.⁴⁰

En el caso de la sustitución electrofílica aromática sobre compuestos heterocíclicos, la proporción real de isómeros depende del heterociclo en particular, el electrófilo y las condiciones de reacción, aunque en muchos casos tales reacciones son altamente regioselectivas y sólo el producto sustituido en C-2 se aísla.⁴¹

1. Nitración de furanos

Dado que el furano es susceptible de polimerización en ácido sulfúrico concentrado e inclusive con cloruro de aluminio (ácido de Lewis)^{40, 41} no es estable en condiciones ácidas fuertes. Por esta razón, a diferencia de las reacciones de nitración sobre el benceno, el furano requiere de condiciones de nitración muy suaves. La ruptura del anillo por hidrólisis (figura 25) también es posible cuando se calientan los furanos o alquifuranos con ácidos minerales acuosos, en una forma que es característica de los éteres de enol,⁴⁰ dando como resultado los derivados 1,4-dicarbonílicos.

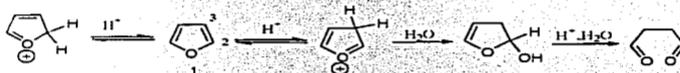


Figura 25.

Así, la protonación en C-3 conduce al compuesto dicarbonílico por hidrólisis. Dada la sensibilidad del anillo de furano se evita el uso de mezclas nitrantes con ácido concentrado. Para llevar a cabo reacciones de nitración en los furanos se utiliza el nitrato de acetilo, el cual se forma *in situ* al mezclar ácido



iónitrato (33) y anhídrido acético (34). Es el nitrato de acetilo (35) el que provee el ion nitronio necesario para la reacción de nitración.

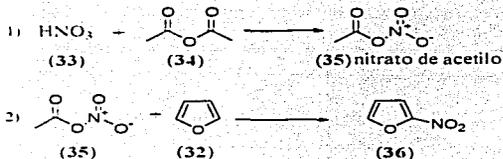


Figura 26.

También es importante señalar que la posición de sustitución electrofílica puede verse modificada por efecto de los sustituyentes. Así, cuando los furanos tienen grupos electroattractores (e.g. $-\text{CHO}$) en C-2, reaccionan preferentemente en C-5. Cabe destacar que estos compuestos son mucho más resistentes que el furano a la descomposición catalizada por ácidos.⁴⁰

C. Síntesis de amidas

Las amidas son compuestos que tienen un grupo carbonilo unido a una amina que puede o no estar sustituida. Formalmente las amidas se derivan de los ácidos carboxílicos al sustituir el grupo $-\text{OH}$ de éstos por el grupo $-\text{NH}_2$ y tienen la fórmula general:

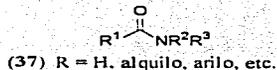


Figura 27.

La síntesis industrial más común de las amidas implica el calentamiento de un ácido carboxílico (38) con una amina (39) para eliminar el agua y promover la condensación.⁴²

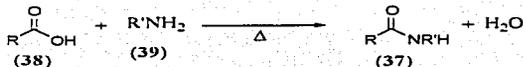


Figura 28.

También cuando las sales de amonio de ácidos carboxílicos (40) se calientan, pierden agua para dar amidas, por ejemplo:⁴³

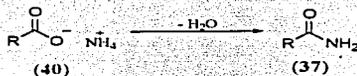


Figura 29.

Puesto que el $-\text{OH}^-$ es un mal grupo saliente se requiere de condiciones muy severas para llevar a cabo la formación de la amida. Por ejemplo, el empleo de ácidos fuertes protona al grupo hidroxilo conduciendo al grupo saliente H_2O , favoreciendo así la sustitución nucleofílica necesaria para formar la amida. Una alternativa para la síntesis de amidas es el empleo de derivados de ácidos carboxílicos (41, 42, 43) como se esquematiza en la figura 30.

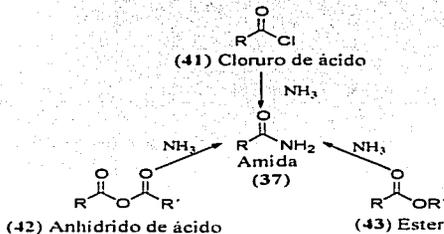


Figura 30



Antecedentes

Aunque las amidas también son derivados de ácidos carboxílicos, éstas pueden sintetizarse por cualesquiera de los derivados de ácidos carboxílicos antes indicados. La reactividad de estos derivados hacia el ataque nucleofílico es el siguiente:

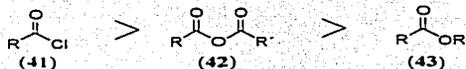


Figura 31.

De todos los derivados mostrados en la figura 31 el más reactivo hacia el ataque nucleofílico es el cloruro de acilo (41). Esto se debe a que el Cl⁻, que es la base conjugada del HCl cuyo valor de pK_a es el menor, es el mejor grupo saliente. Si se comparan los pK_a de los ácidos conjugados de los correspondientes grupos salientes de cada derivado de carboxilo, es posible observar la concordancia de cada uno de estos valores con su reactividad, tal como se ilustra en el siguiente cuadro:

	Grupo Saliente	pK _a	
Aumenta el pK _a .	RH	50	Aumenta la capacidad del grupo saliente.
	NH ₃	35	
	ROH	16	
	RCO ₂ H	5	
	HCl	-7	

De aquí que el pK_a del ácido conjugado sea una buena guía para comparar la capacidad de un grupo saliente.⁴⁴ Es por esto que los cloruros de acilo son los reactivos más adecuados para la síntesis de amidas. A continuación se citan algunas reacciones comúnmente usadas para la síntesis de amidas.⁴⁵



1. Reacción de aminas con monóxido de carbono

De la reacción de aminas con monóxido de carbono se pueden obtener tres tipos de productos, dependiendo de la catálisis: formamidas, ureas simétricas o isocianatos. Así, cuando se hacen reaccionar aminas primarias o secundarias con CO en presencia de varios catalizadores como $\text{Cu}(\text{CN})_2$, $\text{Me}_3\text{N-H}_2\text{Se}$ y complejos de rodio o rutenio, se obtienen formamidas *N*-sustituidas y *N,N*-disustituidas respectivamente. Un ejemplo de lo anterior es la síntesis de la formamida⁴³ que se obtiene bajo condiciones de presión y en presencia de metóxido de sodio en metanol como catalizador.

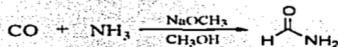


Figura 32.

2. Acilación de aminas por halogenuros de acilo.^{44, 45}



El tratamiento de halogenuros de acilo con amoníaco o aminas es una reacción muy general para la preparación de amidas. La reacción es altamente exotérmica y debe controlarse cuidadosamente usando enfriamiento o dilución.

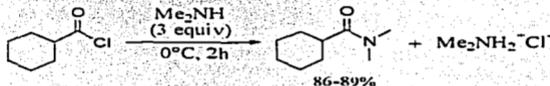


Figura 33.

Aunque en realidad sólo se requieren dos equivalentes de dimetilamina, se emplea un exceso para mejorar el rendimiento.⁴⁴ La segunda molécula de amina participa en la remoción de un protón del intermediario dando como subproducto el cloruro de la amina correspondiente (figura 34).

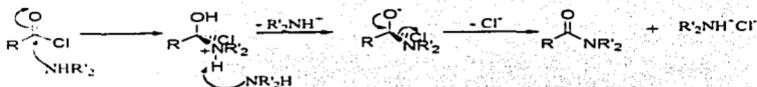


Figura 34.

En algunos casos se adiciona álcali acuoso para neutralizar el HCl liberado. Esto se conoce como el método de Schotten-Baumann. También es posible emplear zinc activado para incrementar la velocidad de formación de la amida cuando las aminas están impedidas y/o se usa cloruro de ácido.

3. Acilación de aminas por anhídridos.⁴⁵



Esta reacción es similar en alcance a la de halogenuros de acilo y puede llevarse a cabo con amoniaco o aminas primarias o secundarias. Sin embargo, el amoniaco y las aminas primarias pueden producir imidas, en las cuales dos grupos acilo están unidos al nitrógeno. Cabe señalar que el uso de anhídridos cíclicos también puede conducir a la formación de imidas cíclicas, aunque ocasionalmente se requieren temperaturas elevadas.

4. Acilación de aminas por ésteres carboxílicos.⁴⁵



Esta reacción también es útil para la síntesis de amidas. Tanto R como R' pueden ser alquilo o arilo. Un grupo saliente especialmente bueno es el *p*-nitrofenilo. Muchos ésteres (R = Me, Et, etc) no son muy reactivos y se requiere de condiciones básicas.



5. Acilación de aminas con ácidos carboxílicos.



Cuando los ácidos carboxílicos se tratan con amoníaco o aminas, se obtienen las correspondientes sales. La sal de amoníaco o de amina primaria o secundaria se puede pirolizar para dar amidas, pero este método es menos conveniente que la acilación con cloruros de ácido, anhídridos y ésteres, y raramente tiene valor preparativo.⁴²

Aunque el tratamiento de ácidos carboxílicos con aminas no da directamente las amidas, la reacción puede proceder con buen rendimiento a temperatura ambiente con el uso de agentes acoplantes, de los cuales, el diciohexilcarbodiimida (DCC (46), figura 35), es el más utilizado.⁴⁵

El DCC reacciona con el ácido carboxílico para generar un intermediario que es susceptible al ataque nucleofílico, activando de este modo al ácido carboxílico para reaccionar con la amina y formar la amida. Durante el proceso el DCC se transforma en diciohexilurea (DCU (47), figura 35).

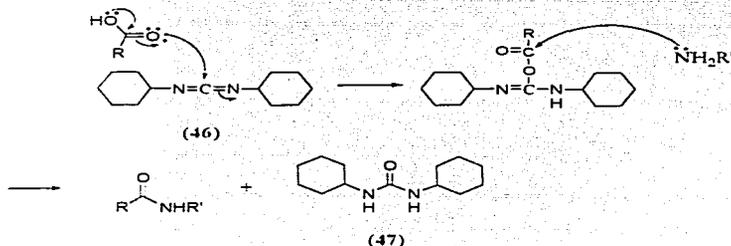


Figura 35.

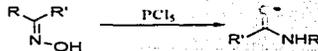


6. Hidrólisis de nitrilos.



Los nitrilos pueden hidrolizarse para dar tanto amidas como ácidos carboxílicos. La amida se forma inicialmente, y con hidrólisis ácida o básica se obtiene el ácido carboxílico. Sin embargo, hay numerosos métodos para detener la reacción en la amida, entre ellos el uso de H_2SO_4 ; ácido acético y BF_3 ; H_2O_2 y OH^- ; calentamiento en alumina neutra, iones o complejos metálicos; y $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ en HOAc .⁴⁵

7. La transposición de Beckmann.



La reacción conocida como transposición de Beckman es aquella en la que las oximas se transponen al ser tratadas con PCl_5 para dar amidas sustituidas. Entre otros reactivos utilizados para esta reacción, se encuentran H_2SO_4 concentrado, ácido fórmico, SO_2 líquido, SOCl_2 , sílica gel, POCl_3 y ácido polifosfórico.⁴⁵ El grupo que migra generalmente es el *anti* al hidroxilo y éste es un método frecuentemente usado para determinar la configuración de la oxima. Sin embargo, esto no siempre es así. Se sabe que en algunas oximas migra el grupo *sin*, especialmente cuando ambas R y R' son alquilo, y se obtienen mezclas de las dos amidas posibles. El alcance de la reacción es bastante amplio. Tanto R como R' pueden ser arilo, alquilo o hidrógeno. Aunque muy raras veces llega a migrar el hidrógeno de una aldooxima, la reacción puede ser llevada a cabo con acetato de níquel bajo condiciones neutras o con calentamiento de la aldooxima por 60 h a 100°C después de que ha sido adsorbida en sílica gel.



D. Síntesis de cloruros de acilo.

1. A partir de ácidos carboxílicos y pentacloruro de fósforo (PCl_5).⁴⁴

Para sintetizar los cloruros de ácido a partir del ácido carboxílico correspondiente es necesario tener un compuesto que sea capaz de remover el oxígeno. Una de las alternativas es el pentacloruro de fósforo (PCl_5) ya que reacciona con el hidroxilo del ácido carboxílico y lo intercambia por un buen grupo saliente (Cl^-) para dar el correspondiente cloruro de acilo, más tricloruro de fósforo y ácido clorhídrico.

2. A partir de cloruro de oxalilo más DMF.⁴⁴

Este método se usa para producir pequeñas cantidades de cloruros de ácido valiosos. El cloruro de oxalilo (COCl_2) es mucho más caro que el cloruro de tionilo (SOCl_2 (**48**), figura 36). El (COCl_2) reacciona con la dimetilformamida (DMF (**49**), figura 36) para producir un intermediario catiónico altamente electrofílico, más CO y CO_2 . Estos subproductos son gases. La DMF se emplea para catalizar la reacción.

3. A partir de ácidos carboxílicos y cloruro de tionilo.⁴⁴

Al igual que los reactivos anteriores el cloruro de tionilo (SOCl_2) también reacciona con el hidroxilo del ácido carboxílico y lo intercambia por $-\text{Cl}$ para dar el correspondiente cloruro de acilo.

La dimetilformamida (DMF) también cataliza la formación del cloruro de acilo con cloruro de tionilo. La DMF (**49**) reacciona con el cloruro de tionilo (**48**) para dar dióxido de sulfuro (**51**), cloruro (Cl^-) y un intermediario inestable (**50**) altamente electrofílico que reacciona rápidamente con el ácido carboxílico



Antecedentes:

produciendo otro intermediario (52) que reacciona con el Cl^- para dar el cloruro de ácido (53) y regenerar la DMF (49), tal como se ilustra en el siguiente mecanismo:

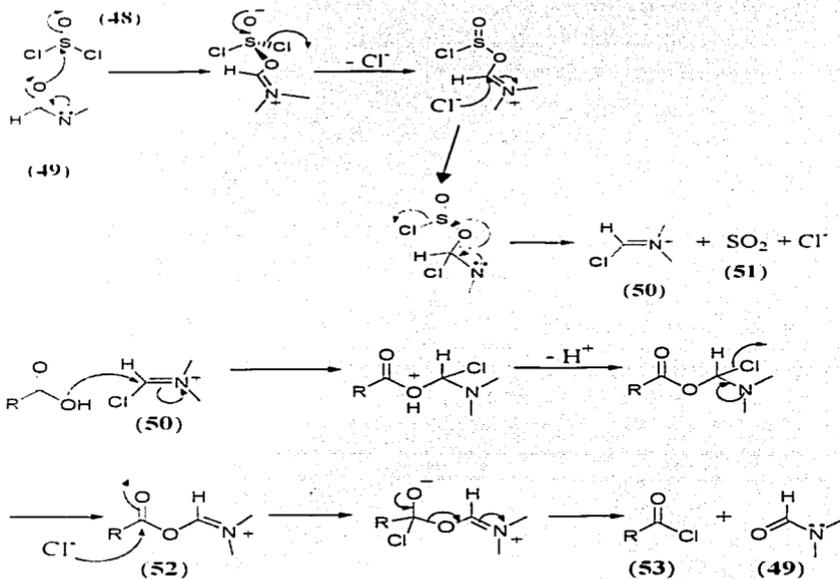


Figura 36.



E. Importancia de las pruebas *in vivo* para determinar toxicidad.⁴⁶

Muchas sustancias químicas pueden provocar citotoxicidad produciendo desde daños débiles hasta letales a la célula. Los experimentos para poder evaluar estos efectos llegan a ser complejos y prolongados ya que implican el uso de animales completos. Ante tal consideración, se ha hecho necesario dentro del campo de la toxicología, desarrollar pruebas *in vitro* que no consuman tiempos largos de operación utilizando microorganismos, plantas, insectos, cultivos celulares de mamíferos o incluso organismos de vida libre como el crustáceo *Artemia salina*. Tales pruebas permiten la evaluación rápida de un gran número de compuestos en un período corto de tiempo.

1. Pruebas de toxicidad utilizando *Artemia salina*.⁴⁶⁻⁴⁸

El camarón *Artemia salina* (figuras 37 y 38) es un crustáceo perteneciente a la subclase *Branchiopoda* del orden *Anostraca* y el primer reporte en que se emplea como organismo de prueba apareció en 1956. Desde entonces se han tenido numerosos reportes del uso de este animal en estudios ambientales, búsqueda de toxinas naturales y en general para la búsqueda de nuevas sustancias bioactivas.

El crustáceo *Artemia salina* es un animal de prueba sencillo y efectivo en las ciencias biológicas y en la toxicología debido a la disponibilidad de sus huevecillos, lo fácil que éstos eclosionan a larvas, el rápido crecimiento que presentan y lo relativamente fácil que resulta mantener una población bajo las condiciones de prueba. Una característica particular de este crustáceo es su resistencia a una gran concentración de sal (desde 10 hasta 200g/L). Esto le da la ventaja de tener pocos organismos competidores.



Todos los estadios de vida del crustáceo se han usado en estudios de toxicología. El estadio de la larva comúnmente usado para las pruebas toxicológicas, es *nauplii* (figura 37), estadio que se alcanza de 24 a 48 horas después de haber eclosionado. La mortalidad de los camarones en varios estados de su desarrollo se ha utilizado para evaluar toxicidad, teniendo un solo criterio: vivo o muerto. Ésta es una respuesta cuantitativa y el tratamiento estadístico es relativamente sencillo.



Figura 37. *A. salina* (nauplii)



Figura 38. *A. salina* (adulto)

En general los compuestos bioactivos son tóxicos a bajas dosis, de aquí que la toxicidad para este organismo ante las sustancias a probar, pueda ser una guía para evaluar compuestos a los que se desea determinar su actividad farmacológica.

Objetivos

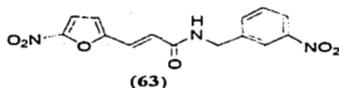
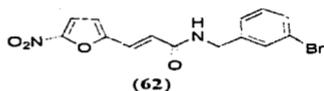
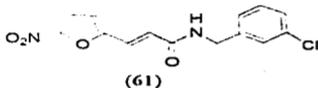
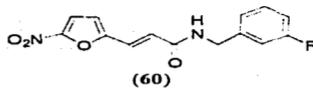
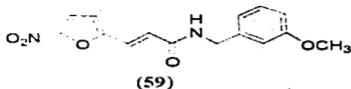
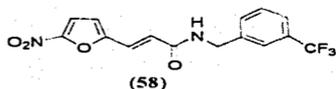
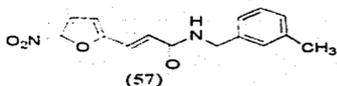


A. Objetivo general.

El objetivo de este trabajo es sintetizar compuestos análogos al Nifurtimox® (27, figura 19) conservando el anillo 5-nitrofurano y combinándolo con diferentes tipos de amidas α,β -insaturadas y probar su actividad larvícida en *Artemia salina*, para en trabajos posteriores, establecer una relación estructura actividad y evaluar su actividad leishmanicida.

B. Objetivos particulares.

⊕ Sintetizar y caracterizar por métodos espectroscópicos los siguientes compuestos:



⊕ Evaluar la actividad larvícida de los compuestos antes mencionados en *Artemia salina*.

Método



IV. Método.

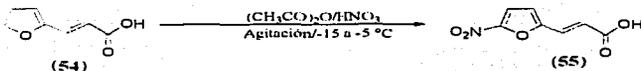
Reactivos. Los siguientes reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich y se utilizaron directamente, a menos que se indique lo contrario: 3-metilbencilamina, 3-metoxibencilamina, 3-trifluorobencilamina, 3-fluorobencilamina, 3-clorobencilamina, clorhidrato de 3-bromobencilamina, clorhidrato de 3-nitrobencilamina, ácido 5-nitro-2-furilacrilico, benceno anhidro, anhídrido acético, ácido nítrico fumante, ácido clorhídrico, cloruro de tionilo, hidróxido de sodio y sulfato de sodio anhidro. Los disolventes *N,N*-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, acetona, acetato de etilo y hexano, se destilaron antes de usarse.

Los huevecillos de *Artemia salina*, utilizados en el bio-ensayo, son de fuente comercial Ohuira-Tecnica Acuamarina.

Equipos. Los puntos de fusión de todos los compuestos sintetizados se determinaron en un aparato de Fischer-Johns y no están corregidos. Los espectros de IR se registraron en un espectrofotómetro FTIR marca Perkin-Elmer modelo 1605 utilizando pastilla de KBr y sólo se reportan las bandas características. Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro marca JOEL modelo SX-102A empleando la técnica de impacto electrónico, reportando únicamente el ion molecular (*m/z*). Los espectros de RMN ¹H y de RMN ¹³C se determinaron en un espectrómetro marca Varian a 300 MHz y 75 MHz respectivamente, usando TMS como referencia interna y DMSO-d₆ como disolvente. El desplazamiento químico (δ) está dado en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en Hertz (*Hz*). La multiplicidad está dada por uno o más de los siguientes símbolos: **s** (singulete), **d** (doblete), **t** (triplete), **m** (multiplete).



A. Síntesis orgánica

1. Obtención del ácido-5-nitro-2-furilacrílico (61).⁴⁹

En un matraz redondo de 50mL de tres bocas provisto con un refrigerante en posición de reflujo con trampa de humedad, adaptador con termómetro y agitación magnética, se colocan 11.6 mL (122 mmol) de anhídrido acético y se sumerge en un baño de metanol-hielo seco ($T = -10^{\circ}\text{C}$). Posteriormente se gotea lentamente 5.7 mL (122 mmol) de ácido nítrico fumante, en seguida se adiciona poco a poco 3 g de ácido furilacrílico (2.2 mol, 60), procurando que la adición dure aproximadamente 20 minutos y manteniendo durante toda la reacción una temperatura entre -15°C y -5°C . Al terminar la adición se agregan 4.1 mL (0.043 mol) de anhídrido acético y se deja agitar otros 20 minutos la mezcla de reacción, conservando la temperatura en el intervalo antes mencionado. El sólido que se forma en el matraz de reacción se filtra, vertiendo la mezcla de reacción sobre un embudo Buchner que contenga hielo y se lava con agua destilada hasta pH neutro. El producto se deja secar al vacío y se determina su punto de fusión.

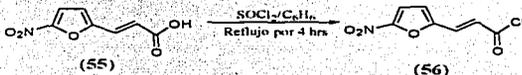
Rendimiento:	47%
Punto de fusión:	Funde con descomposición a partir de los 229°C
Aspecto físico:	Polvillo de color marrón.



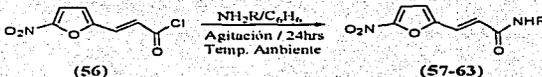
2. Obtención de amidas.⁵⁰

La síntesis de las amidas propuestas se llevó a cabo mediante la siguiente secuencia de reacciones:

1) Formación del cloruro de ácido.



2) Adición / eliminación.



R = bencil *meta*-sustituido.

En un matraz bola de 50 mL equipado con un refrigerante en posición de reflujo con trampa de humedad y agitación, todo en condiciones anhidras, se colocan 0.5 g (2.7 mmol) de ácido 5-nitro-2-furilacrilico, 15 mL de benceno anhidro, 0.4 mL (5.4 mmol) de cloruro de tionilo (SOCl_2) y dos gotas de *N,N*-dimetilformamida (DMF) y se calienta a reflujo durante 4 horas. Al terminar el reflujo se destila a presión reducida el disolvente casi hasta sequedad. El residuo se redisuelve en 5 mL de benceno y se evapora a sequedad. Esta operación se repite cinco veces adicionando 5 mL de benceno anhidro cada vez. Después, el matraz de reacción se sumerge en un baño de hielo-agua y se adicionan 8.1 mmol de la amina correspondiente (3 mol de amina por cada mol del cloruro de ácido), disuelta previamente en 10 mL de benceno seco. El matraz de reacción se deja agitando a temperatura ambiente durante 24 horas con una trampa de humedad.

En el caso de tener el clorhidrato de la amina, éste se disuelve en la mínima cantidad de agua y se lleva a pH 9 con NaOH 5%. La amina libre



obtenida de esta forma se extrae con 10mL benceno. Una vez separadas las fases, la fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro y se adiciona al medio de reacción para continuar con el procedimiento. Una vez que transcurren las 24 horas se evapora el disolvente en el rotavapor. El sólido obtenido se disuelve en acetato de etilo y en un embudo de separación se lava con una solución de HCl 10% y luego con una solución de NaOH 5%, finalizando con lavados de agua hasta pH neutro. Posteriormente se seca con sulfato de sodio y se evapora el disolvente. La amida se purifica a través de una recristalización por par de disolventes y se caracteriza por espectroscopia.



B. Bioensayo con *Artemia salina*.

1. Producción de *Artemia salina*.

A un recipiente de forma rectangular con capacidad de 500mL se le adapta una pared transversal que no llegue al fondo del mismo, de tal forma que queden los dos compartimientos interconectados. Posteriormente a este recipiente se le vierten 250 mL de agua de mar artificial¹, se le colocan 30mg de huevecillos de *Artemia salina* en uno de los compartimientos y se cubre. Se dejan eclosionar los huevecillos por 48 horas bajo una fuente de luz blanca. Cuando nacen las larvas, éstas se desplazan hacia el compartimiento con luz.

2. Preparación de soluciones.

Paralelamente se preparan disoluciones de cada compuesto a diferentes concentraciones ($C_1 = 10$ mg/mL, $C_2 = 1$ mg/mL, $C_3 = 0.1$ mg/mL, $C_4 = 0.01$ mg/mL) como se describe a continuación. Se disuelven 50 mg de compuesto en 5 mL de acetona a la que se denomina (C_1). A partir de esta solución se realizan diluciones 1:10 (C_2), 1:100 (C_3) y 1:1000 (C_4) usando como diluyente acetona. También se dispone en otro tubo de 15mL de acetona pura ($C_5 = 0$ mg/mL, blanco). De cada disolución se toman 0.5 mL y se vierte cada una en un vial. Esta operación se realiza por triplicado para cada solución. Después se dejan los viales durante 24 horas a temperatura ambiente a fin de evaporar el disolvente.

Transcurridas las 48 horas necesarias para que eclosionen los huevecillos de *A. salina*, se adicionan 50 μ L de dimetilsulfoxido a cada uno de los viales que contienen los compuestos, 2 mL de agua de mar artificial y se agitan. En seguida se adicionan 10 larvas de *Artemia salina* a cada vial y se

¹ Para preparar el agua de mar artificial se pesan 39g de sal marina comercial (Instant Ocean®) y se disuelven en un litro de agua destilada.



aforan a 5 mL con agua de mar artificial. Al terminar lo anterior se dejan los viales reposando por 24 horas y expuestos a una lámpara de luz blanca. Después de las 24 horas se cuenta el número de larvas vivas y por diferencia se calcula el número de muertas. Finalmente se calcula la dosis letal 50% CL₅₀.

3. Cálculo de la concentración letal (CL₅₀).

La CL₅₀ es determinada por el método Reed-Muench.^{46, 51, 52}

Las concentraciones se convierten a partes por millón (ppm).

$$1 \text{ mg} = 1\,000 \mu\text{g}$$

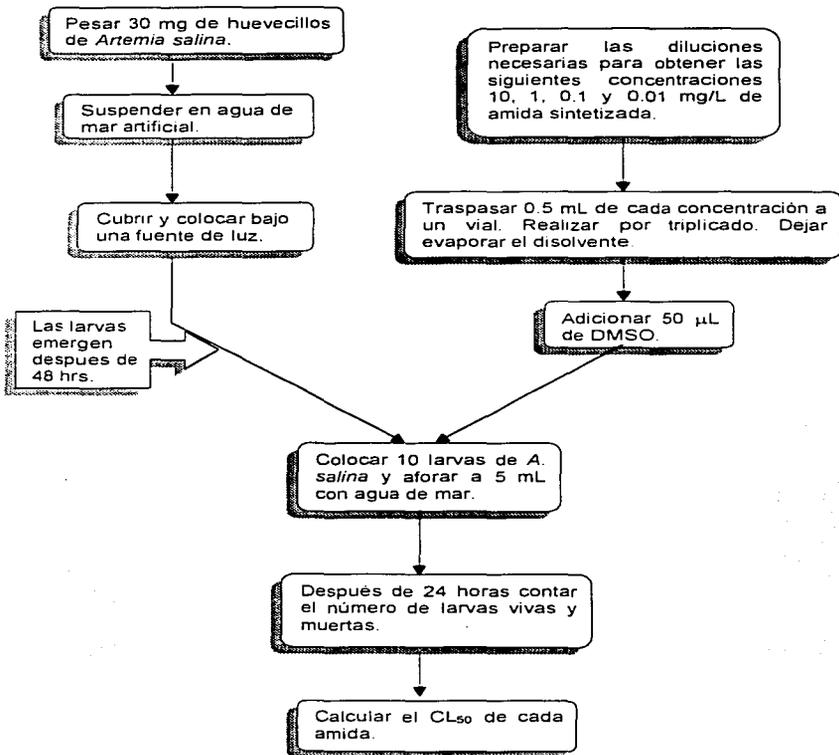
así,

$$10 \text{ mg / mL} = 10\,000 \mu\text{g / mL} = 10\,000 \text{ ppm}$$

Los datos se registran como se muestra en la siguiente tabla general:

Dosis (ppm)	Log dosis	No. Muertas	No. vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción muertas/total	% Mortalidad
10000	4	A	E	I=A+B+C+D	M=E	Q=I/(E+I)	Q*100
1000	3	B	F	J=B+C+D	N=F+E	R= J/(N+J)	R*100
100	2	C	G	K=C+D	O=G+F+E	S= K/(O+K)	S*100
10	1	D	H	L=D	P=H+G+F+E	T= L/(P+L)	T*100

La dosis que causará 50% de larvas muertas (CL₅₀) se puede obtener al graficar el número de sobrevivientes acumulados y el número de muertas acumulados contra el logaritmo de la dosis. El punto (log dosis) donde se cruzan las curvas es igual al número de sobrevivientes y al número de muertas. La CL₅₀ se obtiene al convertir el logaritmo de la dosis a ppm y esta a su vez se convierte en mg/mL. Este método sirve para estimar rápidamente la tolerancia media.

4. Diagrama del bioensayo con *Artemia salina*.

Resultados y discusión



A. Caracterización de los compuestos sintetizados.

Se sintetizaron siete diferentes compuestos en los que se varió el sustituyente R del anillo aromático (figura 39). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla.

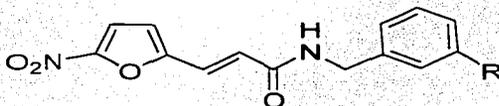
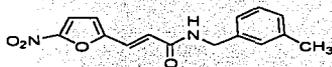


Figura 39.

Características físicas y rendimiento de los compuestos sintetizados

	—R	Aspecto físico	Fórmula molecular	PM	Punto de fusión (°C)	Rendimiento
57	CH ₃	Escamas amarillas	C ₁₅ H ₁₄ O ₄ N ₂	286	196-198	45.0%
58	CF ₃	Cristales amarillos	C ₁₅ H ₁₁ O ₄ N ₂ F ₃	340	158-160	46.3%
59	OCH ₃	Polvo granular amarillo	C ₁₅ H ₁₄ O ₅ N ₂	302	118-120	78.8%
60	F	Agujas amarillo pálido	C ₁₄ H ₁₁ O ₄ N ₂ F	290	202-204	38.0%
61	Cl	Polvo amarillo	C ₁₄ H ₁₁ O ₄ N ₂ Cl	306	161-162	68.2%
62	Br	Agujas ocre	C ₁₄ H ₁₁ O ₄ N ₂ Br	351	182-184	55.2%
63	NO ₂	Cristales café	C ₁₄ H ₁₁ O ₆ N ₃	317	167-168	53.1%

B. Tablas de IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , Masas.

Nombre: *N*-(3-metilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

IR

Metilo y metileno.

ν C(sp 3)-H: De 3000 – 2960 cm $^{-1}$ varias bandas de escasa intensidad.

δ -CH $_2$ - : 1416cm $^{-1}$.

Dobles ligaduras.

ν C(sp 2)-H: 3150-3000cm $^{-1}$ varias bandas de poca intensidad debidas al alqueno y los compuestos aromáticos.

ν C=C: 1617cm $^{-1}$. Debida al grupo alqueno.

ν C=C : 1600-1450cm $^{-1}$. Varias bandas de mediana intensidad, producidas por el fenilo y el furano.

Grupo amida.

ν N-H: 3257 cm $^{-1}$.

ν -CO-: 1664 cm $^{-1}$. (Banda I)

ν C-N: 1248 cm $^{-1}$. (Banda III)

Grupo nitro.

ν_{as} NO $_2$: 1511 cm $^{-1}$. Banda de mediana intensidad.

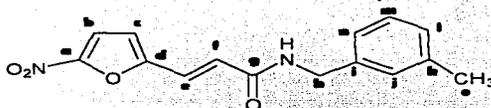
ν_{s} NO $_2$: 1353 cm $^{-1}$. Banda intensa.

Furano.

ν C-O :1034 cm $^{-1}$.

Grupo arilo.

δ C(sp 2)-H: 788 y 694 cm $^{-1}$. Bandas de mediana intensidad que indican vibraciones fuera del plano en el anillo de fenilo así como la sustitución *meta*-. No se aprecian sobretonos en el espectro.

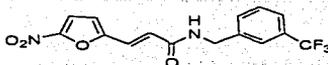
Nombre: *N*-(3-metilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamidaRMN ¹H. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Multiplicidad	No. de Hidrógenos	J (Hz)	Asignación. Hidrógeno sobre:
8.85	t	1	6	N
7.74	d	1	4	C _b
7.37	d	1	16	C _e
7.22	dd	1	8 y 8	C _m
7.14	d	1	4	C _e
7.08	m	3	-	C _j , C _i , C _a
6.85	d	1	16	C _f
4.37	d	2	6	C _h
2.29	s	3	-	C _g

RMN ¹³C. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Asignación
163.5	C _g
153.3	C _d
151.5	C _a
138.8	C _f
137.4	C _k
128.2	C _m
127.9	C _j
127.5	C _i
125.8	C _f
124.7	C _e
124.4	C _a
116.0	C _e
114.7	C _b
42.4	C _h
20.9	C _g

Masas-IE.*m/z*: 286



Nombre: *N*-(3-trifluorometilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

IR

Metileno del bencilo.

δ -CH₂- : 1416 cm⁻¹.

Dobles ligaduras.

ν C(sp²)-H: 3150-3000 cm⁻¹ varias bandas de poca intensidad debidas al alqueno y los compuestos aromáticos.

ν C=C 1621 cm⁻¹ Debida al grupo alqueno.

ν C=C 1600-1450 cm⁻¹. Varias bandas de mediana intensidad, producidas por el fenilo y el furano.

Grupo amida

ν N-H 3254 cm⁻¹.

ν -CO- 1658 cm⁻¹. (Banda I)

ν C-N 1249 cm⁻¹. (Banda III)

Grupo nitro

ν_{as} NO₂ : 1507 cm⁻¹. Banda de mediana intensidad.

ν_s NO₂ : 1354 cm⁻¹. Banda intensa.

Furano

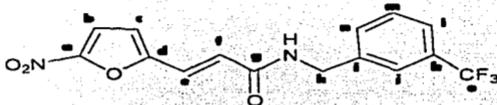
ν C-O : 1031 cm⁻¹.

Grupo bencilo.

δ C(sp²)-H: 798 y 702 cm⁻¹. Bandas de mediana intensidad que indican vibraciones fuera del plano en el anillo de fenilo así como la sustitución *meta*-. No se aprecian sobretonos en el espectro.

CF₃

ν C-F 739 cm⁻¹. Banda débil, la asignación del tipo de vibración es insegura.

Nombre: *N*-(3-trifluorometilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamidaRMN ¹H. (DMSO, 300 MHz)

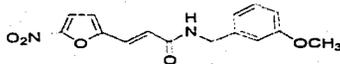
δ (ppm)	Multiplicidad	No. de Hidrógenos	J (Hz)	Asignación. Hidrógeno sobre:
9.01	t	1	6	N
7.73	d	1	4	C _b
7.59	m	4	-	C _j , C _i , C _m , C _n
7.38	d	1	16	C _e
7.14	d	1	4	C _c
6.84	d	1	16	C _f
4.50	d	2	6	C _b

RMN ¹³C. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Asignación
163.9	C _g
153.2	C _d
151.6	C _n
140.6	C _i
131.5	C _m
129.5	C _m
129.1	C _k
125.4	C _f
125.1	C _e
124.2	C _o
123.7	C _j y C _i
116.3	C _c
114.7	C _b
42.0	C _b

Masas-IE.

(m/z): 340



Nombre: *N*-(3-metoxibencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

IR

Metileno del bencilo.

ν C(sp³)-H: 3000 – 2960 cm⁻¹ varias bandas de escasa intensidad.

δ -CH₂- : 1398 cm⁻¹.

Dobles ligaduras.

ν C(sp²)-H: 3150-3000cm⁻¹ varias bandas de poca intensidad debidas al alqueno y los compuestos aromáticos.

ν C=C: 1621 cm⁻¹. Debida al grupo alqueno.

ν C=C : 1600-1450cm-1. Varias bandas de mediana intensidad, producidas por el fenilo y el furano.

Grupo amida

ν N-H 3249 cm⁻¹

ν -CO- 1656 cm⁻¹. (Banda I)

ν C-N. 1256 cm⁻¹. (Banda I)

Grupo nitro.

ν_{as} NO₂: 1514 cm⁻¹. Banda de mediana intensidad.

ν_s NO₂: 1353cm⁻¹. Banda intensa.

Furano.

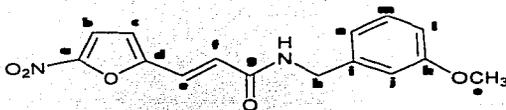
ν C-O :1034cm⁻¹.

Grupo arilo.

δ C (sp²)-H: 773 y 694 cm⁻¹. Bandas de mediana intensidad que indican vibraciones fuera del plano en el anillo de fenilo así como la sustitución *meta*-. No se aprecian sobretonos en el espectro.

Grupo metoxi.

ν C-H. 2837 cm⁻¹.

Nombre: *N*-(3-metoxibencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida**RMN ¹H.** (DMSO, 300 MHz)

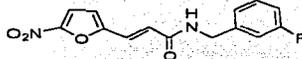
δ (ppm)	Multiplicidad	No. de Hidrógenos	J (Hz)	Asignación. Hidrógeno sobre:
8.88	t	1	6	N
7.73	d	1	4	C _b
7.38	d	1	16	C _e
7.24	dd	1	8,8	C _m
7.13	d	1	4	C _c
6.86	d	1	16	C _f
6.84	m	3	-	C _j , C _i , C _n
4.38	d	2	6	C _h
3.69	s	3	-	C _o

RMN ¹³C. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Asignación
163.6	C _g
159.3	C _k
153.3	C _d
151.5	C _a
140.5	C _i
129.4	C _m
125.6	C _f
124.5	C _e
119.4	C _n
116.0	C _c
114.7	C _b
112.9	C _j
112.3	C _i
55.0	C _o
42.4	C _h

Masas-IE:

(m/z): 302



Nombre: *N*-(3-fluorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

IR

Metileno del bencilo.

ν C(sp³)-H: 3000 – 2960 cm⁻¹ varias bandas de escasa intensidad.

δ -CH₂ : 1417 cm⁻¹.

Dobles ligaduras.

ν C(sp²)-H: 3150-3000cm⁻¹ varias bandas de poca intensidad debidas al alqueno y los compuestos aromáticos.

ν C=C: 1617cm⁻¹. Debida al grupo alqueno.

ν C=C : 1600-1450cm⁻¹. Varias bandas de mediana intensidad, producidas por el fenilo y el furano.

Grupo amida

ν N-H 3250cm⁻¹

ν -CO- 1668cm⁻¹. (Banda I)

ν C-N 1248cm⁻¹. (Banda III)

Grupo nitro

ν_{as} NO₂: 1510 cm⁻¹. Banda de mediana intensidad.

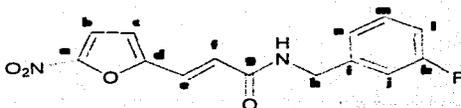
ν_s NO₂: 1356cm⁻¹. Banda intensa.

Furano

ν C-O 1036cm⁻¹.

Grupo arilo

ν C(sp²)-H 790 y 689cm⁻¹. Bandas de mediana intensidad que indican vibraciones fuera del plano en el anillo de fenilo así como la sustitución *meta*-. No se aprecian sobretonos en el espectro.

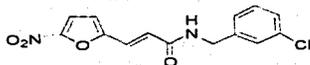
Nombre: *N*-(3-fluorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida**RMN ¹H.** (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Multiplicidad	No. de Hidrógenos	J (Hz)	Asignación. Hidrógeno sobre:
8.94	t	1	6	N
7.73	d	1	4	C _b
7.38	d	1	16	C _e
7.36	m	1	-	C _g
7.14	d	1	4	C _c
7.08	m	3	-	C _j , C _i , C _a
6.85	d	1	16	C _f
4.43	d	2	6	C _h

RMN ¹³C. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Asignación
163.8	C _g
160.6	C _k
153.2	C _d
151.5	C _m
142.0	C _l
130.3	C _h
125.5	C _f
124.9	C _e
123.2	C _a
116.0	C _c
114.0	C _b
113.9	C _j
113.6	C _i
41.9	C _n

Masas-IE:*(m/z)*: 290



Nombre: *N*-(3-clorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

IR

Metileno

ν C(sp³)-H: 3000 – 2960 cm⁻¹ varias bandas de escasa intensidad.

δ -CH₂- : 1416 cm⁻¹.

Dobles ligaduras.

ν C(sp²)-H: 3150-3000cm⁻¹ varias bandas de poca intensidad debidas a la presencia del alqueno y los compuestos aromáticos.

ν C=C: 1617cm⁻¹. Debida al grupo alqueno.

ν C=C : 1600-1450cm-1. Varias bandas de mediana intensidad, producidas por el fenilo y el furano.

Grupo amida.

ν N-H: 3246cm⁻¹.

ν -CO-: 1665 cm⁻¹. (Banda I)

ν C-N: 1249 cm⁻¹. (Banda III)

Grupo nitro

ν_{as} NO₂: 1509 cm⁻¹. Banda de mediana intensidad.

ν_s NO₂: 1355 cm⁻¹. Banda intensa.

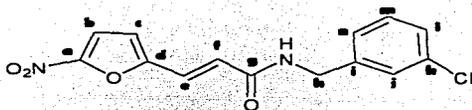
Furano

ν C-O :1037 cm⁻¹.

Grupo arilo.

δ C(sp²)-H: 789 y 691cm⁻¹ Bandas de mediana intensidad que indican vibraciones fuera del plano en el anillo de fenilo así como la sustitución *meta*-. No se aprecian sobretonos en el espectro.

ν C-Cl: 1077cm⁻¹.



Nombre: N-(3-clorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(E)-propenamida

RMN ¹H. (DMSO, 300 MHz)

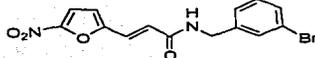
δ (ppm)	Multiplicidad	No. de Hidrógenos	J (Hz)	Asignación. Hidrógeno sobre:
8.94	t	1	6	N
7.74	d	1	4	C _b
7.38	d	1	16	C _e
7.31	m	4	-	C _j , C _i , C _m , C _n
7.14	d	1	4	C _c
6.83	d	1	16	C _f
4.41	d	2	c*	C _h

RMN ¹³C. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Asignación
163.8	C _g
153.2	C _d
151.6	C _a
141.6	C _i
133.0	C _k
130.3	C _m
127.1	C _j
126.9	C _l
126.0	C _n
125.4	C _o
124.9	C _e
116.2	C _b
114.7	C _c
41.9	C _h

Masas-IE:

(m/z): 306



Nombre: *N*-(3-bromobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

IR

Metileno del bencilo.

ν C(sp³)-H: 3000 – 2960 cm⁻¹ varias bandas de escasa intensidad.

δ -CH₂-: 1416cm⁻¹.

Dobles ligaduras.

ν C(sp²)-H: 3150-3000cm⁻¹ varias bandas de poca intensidad debidas al alqueno y los compuestos aromáticos.

ν C=C: 1616cm⁻¹. Debida al grupo alqueno.

ν C=C: 1600-1450cm⁻¹. Varias bandas de mediana intensidad, producidas por el fenilo y el furano.

Grupo amida.

ν N-H: 3239cm⁻¹.

ν -CO-. 1661cm⁻¹. (Banda I)

ν C-N. 1248cm⁻¹. (Banda III)

Grupo nitro.

ν_{as} NO₂: 1508 cm⁻¹. Banda de mediana intensidad.

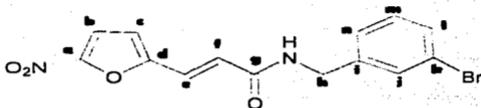
ν_s NO₂: 1353cm⁻¹. Banda intensa.

Furano.

ν C-O :1034cm⁻¹.

Grupo arilo.

δ C(sp²)-H: 787 y 690cm⁻¹. Bandas de mediana intensidad que indican vibraciones fuera del plano en el anillo de fenilo así como la sustitución *meta*-. No se aprecian sobretonos en el espectro.

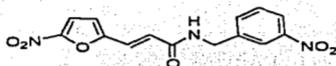
Nombre: *N*-(3-bromobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamidaRMN ¹H. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Multiplicidad	No. de Hidrógenos	J (Hz)	Asignación. Hidrógeno sobre:
8.93	t	1	6	N
7.73	d	1	4	C _b
7.44	m	2	-	C _j , C _m
7.35	d	1	16	C _e
7.29	m	2	-	C _i , C _a
7.13	d	1	4	C _e
6.83	d	1	16	C _r
4.40	d	2	6	C _b

RMN ¹³C. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Asignación
163.7	C _g
153.2	C _d
151.6	C _a
141.8	C _i
130.5	C _b
130.0	C _j
129.7	C _i
126.4	C _a
125.4	C _r
124.9	C _e
121.6	C _r
116.1	C _e
114.7	C _b
41.9	C _b

Masas-IE: (m/z) : 351



Nombre: *N*-(3-nitrobenzyl)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

IR

Metileno del bencilo.

ν C(sp³)-H: ausencia de bandas de 3000 – 2960 cm⁻¹.

δ -CH₂- : 1415 cm⁻¹.

Dobles ligaduras.

ν C(sp²)-H: 3100-3000cm⁻¹ varias bandas de poca intensidad debidas a la presencia del alqueno y los compuestos aromáticos.

ν C=C 1617cm⁻¹. Debida al grupo alqueno.

ν C=C : 1600-1450cm⁻¹. Varias bandas de mediana intensidad, producidas por el fenilo y el furano.

Grupo amida.

ν N-H 3268 cm⁻¹.

ν -CO- 1665 cm⁻¹. (Banda I)

ν C-N 1248 cm⁻¹. (Banda III)

Grupo nitro

ν_{as} NO₂: 1353 cm⁻¹. Banda de mediana intensidad.

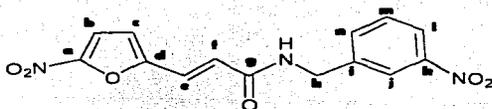
ν_s NO₂: 1530 cm⁻¹. Banda intensa.

Furano.

ν C-O :1030cm⁻¹.

Grupo arilo.

δ C(sp²)-H: 802 y 729 cm⁻¹. Bandas de mediana intensidad que indican vibraciones fuera del plano en el anillo de fenilo así como la sustitución *meta*-. No se aprecian sobretonos en el espectro.

Nombre: *N*-(3-nitrobenzyl)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamidaRMN ¹H. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Multiplicidad	No. de Hidrógenos	J (Hz)	Asignación. Hidrógeno sobre:
9.06	t	1	6	N
8.13	m	2	-	C _j , C ₁
7.76	m	1	-	C _b
7.74	d	1	4	C _b
7.63	dd	1	8, 8	C _m
7.39	d	1	16	C _e
7.15	d	1	4	C _e
6.84	d	1	16	C _f
4.54	d	2	6	C _b

RMN ¹³C. (DMSO, 300 MHz)

δ (ppm)	Asignación
164.0	C _g
153.2	C _d
151.6	C _a
147.8	C _k
141.5	C ₁
134.1	C _a
129.9	C _m
125.2	C _f
125.1	C _e
122.0	C ₁
121.8	C ₁
116.3	C _e
114.7	C _b
41.8	C _b

Masas-IE: (m/z) : 317



C. Discusión.

1. Espectroscopia de infrarojo (IR).

El análisis de los espectros de IR permitió identificar los grupos funcionales presentes en los compuestos sintetizados. Así, en la región de $3000-2960\text{ cm}^{-1}$, se tienen bandas de escasa intensidad correspondientes a la vibración longitudinal $\nu(\text{sp}^3)\text{-H}$ que sólo se aprecian bien en los espectros de los compuestos **57**, **59** ya que en estas estructuras se tiene un grupo metilo y un grupo metoxi sobre el anillo aromático respectivamente, además del metileno del bencilo.

También es posible apreciar el efecto de la conjugación del furano con la doble ligadura, ya que normalmente los enlaces vinílicos aparecen en un intervalo de $1670-1640\text{ cm}^{-1}$, pero al estar conjugados se desplazan hasta 1600 . Tal como se aprecia en los espectros de todos los compuestos la banda correspondiente a esta vibración aparece entre 1621 y 1617 cm^{-1} .

La absorción debida a la vibración $\nu\text{ N-H}$ de la amida se encuentra entre 3268 y 3240 cm^{-1} , mientras que las bandas de absorción del carbonilo $\nu\text{ CO}$ (banda I de amida) aparecen entre 1668 y 1656 cm^{-1} . La absorción correspondiente a la vibración $\delta\text{ N-H}$ (banda II de amida) que se presenta entre 1550 y 1530 cm^{-1} no se aprecia en los espectros debido a que en esta región aparecen también las bandas de vibración de los núcleos de los anillos de fenilo y furano. La banda III de amida, que de acuerdo con la literatura²² está entre 1300 y 1260 cm^{-1} es una mezcla de las vibraciones $\delta\text{ N-H}$ y $\nu\text{ C-N}$, en la cual predomina la última. En el caso de los espectros de todos los espectros ésta absorción varía entre 1256 y 1247 cm^{-1} .

Las bandas de absorción para el grupo nitro se encuentran en: $1356-1353\text{ cm}^{-1}$ para la vibración simétrica, mientras que la vibración asimétrica está entre $1514-1504\text{ cm}^{-1}$. Cuando se tiene el sustituyente NO_2 en el anillo aromático



(compuesto 63) la banda aparece en 1530 cm^{-1} , absorción que no está presente en ninguno de los otros espectros.

En la región de $1600 - 1450\text{ cm}^{-1}$ se encuentran varias bandas debidas a las vibraciones de $\nu\text{ C=C}$ tanto del benceno como del furano. Para el caso del furano se aprecia la absorción de $\nu\text{ C-O}$ entre 1037 y 1030 cm^{-1} . Finalmente las bandas de la región 1000 a 600 cm^{-1} permiten identificar el tipo de sustitución en el benceno, que en todos los compuestos es *meta*. Desafortunadamente no se aprecian los sobretonos correspondientes.

Las bandas correspondientes a los halógenos son difíciles de asignar dado que, por una parte, el intervalo que se reporta en la literatura para las absorciones es muy amplio y por otra la naturaleza de las celdas interfiere con la banda debida a las vibraciones entre carbono y halógeno, por lo que no es posible identificar las bandas correspondientes para los compuestos **58**, **60**, **61** y **62** en los que el anillo aromático está sustituido con un halógeno.

2. Espectrometría de masas.

Por medio de la espectrometría de masas se determinó el peso molecular de los compuestos, por medio de la identificación del ion molecular.

3. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN ^1H).

Los siguientes datos de resonancia prácticamente son iguales para los espectros de todos los compuestos:

- La señal en 8.9δ (t, 1H, $J = 6\text{ Hz}$) corresponde al hidrógeno sobre nitrógeno, señal que desaparece cuando el espectro se determina en presencia de D_2O .



- Las señales 7.7δ (d, 1H, $J \approx 4$ Hz) y 7.1δ (d, 1H, $J \approx 4$ Hz) corresponden a los hidrógenos del furano.
- Las señales 7.4δ (d, 1H, $J = 16$ Hz) y 6.8δ (d, 1H, $J = 16$ Hz) corresponden a los hidrógenos del doble enlace. El valor de la constante de acoplamiento indica que los hidrógenos están en posición *trans*.
- La señal en 4.4δ (d, 2H, $J = 6$ Hz) corresponde a los hidrógenos del metileno.
- Señal compleja que varía de 8.1δ a 6.8δ, (dependiendo del sustituyente en el anillo aromático) corresponde a los hidrógenos del anillo aromático.

Cabe señalar que el hidrógeno sobre el nitrógeno de la amida (8.8δ, t, $J = 6$ Hz) se acopla con los dos hidrógenos del metileno (4.4δ, d, $J = 6$ Hz) del bencilo. Al intercambiar con agua deuterada, la señal del hidrógeno de la amida desaparece mientras que el doblete del metileno se transforma en singulete. Este intercambio es lento, por lo que se requieren al menos de 24 horas para que se pueda apreciar el intercambio del deuterio y la desaparición de la señal correspondiente al hidrógeno de la amida. Asimismo el acoplamiento entre estos hidrógenos se presenta en los espectros de todos los compuestos.

Por otro lado, en todos los espectros aparece una señal compleja correspondiente a los hidrógenos aromáticos, pero en algunos casos se separa una señal debida a uno de los hidrógenos (posición *meta* con respecto al sustituyente) y se aprecia el acoplamiento entre los hidrógenos del anillo aromático como es el caso de los espectros donde los sustituyentes son: $-CH_3$, OCH_3 , $-NO_2$ (compuestos 57, 59, 63 respectivamente) y se aprecia un doble de dobles (dd, 1H, $J = 8$ Hz, $J = 8$ Hz) para el hidrógeno que se encuentra en posición *meta* con respecto al sustituyente (ver tablas en páginas 59, 63 y 71). Asimismo, la señal correspondiente a este hidrógeno aparece en 7.2δ para el caso de los compuestos 57 y 59; en 7.6δ para el compuesto 63. Este ligero desplazamiento hacia campo bajo refleja la capacidad del grupo nitro para atraer densidad electrónica del anillo aromático y en consecuencia causar una desprotección en



los hidrógenos del anillo. Este efecto es más notable para los hidrógenos en posición *orto* (8.1 δ , 2H, m) y el hidrógeno en posición *para* (7.8 δ , 1H, m) con respecto al sustituyente.

También es notable el efecto que ejercen los sustituyentes sobre el desplazamiento de la múltiple (m) correspondiente al resto de los hidrógenos del anillo aromático, pues esta señal se desplaza de 8.1 δ (campo bajo) a 6.8 δ (campo alto) dependiendo del sustituyente. Así en orden de desplazamiento de la señal hacia campo alto queda: $-\text{NO}_2$ (8.1 δ , 7.8 δ , 7.6 δ), $-\text{CF}_3$ (7.6 δ - 7.5 δ), $-\text{Cl}$ (7.4 δ - 7.2 δ), $-\text{Br}$ (7.4 δ - 7.2 δ), $-\text{F}$ (7.3 δ , 7.1 δ - 7.0 δ), $-\text{CH}_3$ (7.2 δ , 7.1 δ), $-\text{OCH}_3$ (7.2 δ , 6.8 δ). El orden de estos sustituyentes está en concordancia con su capacidad de donar o quitar densidad electrónica al anillo.

4. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de carbono (RMN ^{13}C).

Se asignaron cada uno de los carbonos a las señales presentes en los espectros comparando los desplazamientos con los valores calculados por medio de tablas reportadas en la literatura⁵⁴ y con las correlaciones obtenidas a través de HETCOR. En los espectros de los compuestos fluorados (**58**, **60**) se observa desdoblamiento de las algunas señales debido a los acoplamientos entre los núcleos de ^{13}C y ^{19}F . Para el caso del compuesto **58**, en el que el anillo de benceno está sustituido con un grupo $-\text{CF}_3$, las señales se desdoblan en cuartetos con las siguientes constantes de acoplamiento: $J_1 = 272$ Hz (124.2 δ), $J_2 = 31$ Hz (129.1 δ), $J_3 = 4$ Hz (123.7 δ) donde el subíndice de J indica el número de enlaces de distancia a los que se presentan estos acoplamientos. En el espectro del compuesto **60**, donde el anillo de benceno está sustituido con un grupo $-\text{F}$, sólo se aprecia el acoplamiento $^{13}\text{C}-^{19}\text{F}$ a dos enlaces de distancia: $J_2 = 21$ Hz (113.9 δ) y $J_2 = 22$ Hz (113.6 δ) observándose un triplete que es resultado de la sobreposición de dos dobles.



5. Correlación de desplazamiento químico heteronuclear (HETCOR)^a.

Para cada uno de los compuestos sintetizados en este trabajo, se relacionó cada hidrógeno con su correspondiente carbono, por medio de los correspondientes espectros HETCOR, lo que facilitó la elucidación de la estructura de cada compuesto.

6. Síntesis Orgánica.

Nitración del anillo de furano.

La nitración del furano requiere condiciones suaves, como ya se indicó en los antecedentes (pág. 34). Así, la nitración del anillo se llevó a cabo con una mezcla de anhídrido acético y ácido nítrico, lo que genera al intermediario nitrato de acetilo (35, figura 26) que es el que proporciona el ion nitronio "+NO₂" necesario para la nitración. Puesto que la reacción entre el anhídrido acético y el ácido nítrico es muy exotérmica, ésta se controla con un baño de enfriamiento (-15° a -5° C). Con el baño también se evita que se generen los productos de oxidación debidos al ácido nítrico (agente sumamente oxidante).

El ácido furilacrílico se adiciona poco a poco para evitar que se formen grumos de este sólido, permitiendo de esta forma que haya una mayor área de contacto entre los reactivos, lo que a su vez favorece la reacción de nitración. El rendimiento de la reacción resultó ser ligeramente más alto que el reportado,⁴⁶ ya que en el experimento de la literatura la reacción concluye al adicionar todos los reactivos mientras que en este experimento se dejan reaccionar todos los reactivos durante 20 minutos más después de adicionarlos todos.

^a HETCOR del inglés Heteronuclear chemical shift correlation.



Síntesis de las amidas.

La formación del cloruro de ácido requiere de condiciones anhidras ya que este tipo de compuestos se hidrolizan con gran facilidad a temperatura ambiente y genera nuevamente el ácido carboxílico del que proviene.

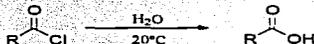


Figura 40.

El cloruro de tionilo, SOCl_2 , es un agente halogenante por sí solo y no requiere de otros reactivos para halogenar ácidos carboxílicos, pero en este experimento se adicionó DMF como catalizador para formar un intermediario altamente electrofílico (50, figura 36) que reacciona rápidamente con el ácido 5-nitro-2-furilacrílico, para dar el cloruro del ácido correspondiente tal como se ilustra en el mecanismo de la página 43. El último paso del mecanismo es irreversible porque el SO_2 y el HCl son gases que se escapan de la mezcla de reacción.

Una vez que se termina el reflujo se elimina el exceso de SOCl_2 destilando a presión reducida. Esta operación se repite cinco veces adicionando cada vez 5mL de benceno anhidro para asegurar que todo el SOCl_2 ha sido eliminado. Es posible eliminar el SOCl_2 de esta forma porque éste tiene un punto ebullición similar al del benceno y codestila con éste. El cloruro de ácido no se aísla del medio de reacción, por ser un intermediario altamente reactivo y, como ya se mencionó, susceptible de hidrolizarse.

Antes de adicionar la amina a la reacción es necesario sumergir el sistema en un baño de hielo, pues la reacción entre el cloruro de ácido y la amina es exotérmica.⁴⁵ Por otra parte, la destilación del SOCl_2 se hace a presión reducida porque las amidas son susceptibles a la hidrólisis en condiciones ácidas fuertes y con calentamiento, lo que afecta el rendimiento de la reacción.

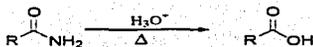


Figura 41.

Cabe mencionar que las amidas son los derivados de ácidos carboxílicos menos reactivos hacia los nucleófilos, como el agua, debido a la deslocalización del par electrónico del nitrógeno con el carbonilo.

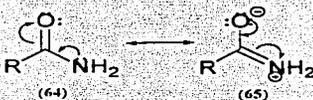


Figura 42.

Así, en medio ácido, el oxígeno del carbonilo es el que se protona (estructura 65), y se forma un intermediario susceptible al ataque nucleofílico, pues de esta forma el nitrógeno recupera su par electrónico. Una segunda protonación puede formar un grupo NH_3^+ , provocando la hidrólisis de la amida.

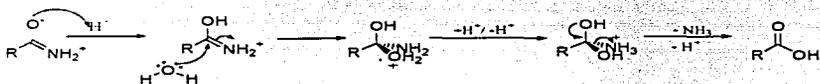


Figura 43.

Extracción y purificación de la amidas.

Una vez eliminado el SOCl_2 por destilación con benceno se evapora este disolvente y se redisuelve la mezcla de reacción con acetato de etilo (AcOEt). Se lava la fase orgánica con HCl al 10% para eliminar el exceso de amina, pues al ser protonada se solubiliza en la fase acuosa y de este modo se separa de la fase orgánica.



Después se lava con NaOH 5% para neutralizar el HCl remanente en la fase orgánica, cuidando que el pH no pase de 7 - 8. Se elimina la fase acuosa y se lava con agua hasta pH neutro. Si se forma una emulsión se adiciona NaCl para romperla, pues el cloruro de sodio aumenta la fuerza iónica de la fase acuosa, facilitando así la separación de las fases.

La fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua que permanece atrapada en la fase orgánica. Finalmente se evapora el disolvente y el sólido se recristaliza por par de disolventes. Para ello se hacen pruebas de solubilidad en frío y en caliente. El primer disolvente seleccionado es aquel en el que el producto no es soluble en frío pero al calentar lo disuelve y el segundo disolvente es aquel en el cual el producto no es soluble ni en frío ni en caliente.

7. Bioensayo con *Artemia salina*.

Para que el compuesto a probar pueda ejercer su efecto tóxico (si es que lo tiene) en *Artemia salina*, debe estar disuelto. Por esta razón se emplea acetona para disolver los compuestos, ya que son solubles en este disolvente. Posteriormente es necesario evaporar todo el disolvente, ya que éste puede llegar a ser tóxico para las larvas y dar falsos positivos interfiriendo de este modo en los resultados. El control negativo o blanco se utiliza para comprobar que las larvas no tengan otra causa de muerte, que la sustancia a probar.



Tabla 1.
Mortalidad de la larva de *Artemia salina*
después de 24 h de exposición a varias concentraciones de
Nifurtimox (27).

Dosis (ppm)	log dosis	No. muertos	No. vivos	muer-tos acumulados	vivos acumulados	proporción muerte/total	% mortalidad
10000	4	7	23	15	23	0.3947	39.47%
1000	3	5	25	8	48	0.1429	14.29%
100	2	3	27	3	75	0.0385	3.85%
10	1	0	30	0	105	0.0000	0.00%

Tabla 2.
Mortalidad de la larva de *Artemia salina*
después de 24 h de exposición a varias concentraciones de
N-(3-metilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(E)-propenamida (57).

Dosis (ppm)	log dosis	No. muertos	No. vivos	muer-tos acumulados	vivos acumulados	proporción muerte/ total	% Mortalidad
10000	4	17	13	30	13	0.6977	69.77%
1000	3	9	21	13	34	0.2766	27.66%
100	2	2	28	4	62	0.0606	6.06%
10	1	2	28	2	90	0.0217	2.17%



Tabla 3.
Mortalidad de la larva de *Artemia salina*
después de 24 h de exposición a varias concentraciones de
N-(3-trifluorometilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(E)-propenamida (58).

Dosis (ppm)	log dosis	No. muertos	No. vivos	mueros acumulados	vivos acumulados	proporción muertes/total	% Mortalidad
10000	4	8	22	8	22	0.2667	26.67%
1000	3	0	30	0	52	-	0.00%
100	2	0	30	0	82	-	0.00%
10	1	0	30	0	112	-	0.00%

Tabla 4.
Mortalidad de la larva de *Artemia salina*
después de 24 h de exposición a varias concentraciones de
N-(3-metoxibencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(E)-propenamida (59).

Dosis (ppm)	log dosis	No. muertos	No. vivos	mueros acumulados	vivos acumulados	proporción muerte/total	% Mortalidad
10000	4	4	26	13	26	0.3333	33.33%
1000	3	4	26	9	52	0.1475	14.75%
100	2	2	28	5	80	0.0588	5.88%
10	1	3	27	3	107	0.0273	2.73%

**Tabla 5.**

Mortalidad de la larva de *Artemia salina* después de 24 h de exposición a varias concentraciones de N-(3-fluorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(E)-propenamida (**60**).

Dosis (ppm)	log dosis	No. muertos	No. vivos	muer-tos acumulados	vivos acumulados	proporción muerte/total	% Mortalidad
10000	4	3	27	5	27	0.1563	15.63%
1000	3	1	29	2	56	0.0345	3.45%
100	2	0	30	1	86	0.0115	1.15%
10	1	1	29	1	115	0.0086	0.86%

Tabla 6.

Mortalidad de la larva de *Artemia salina* después de 24 h de exposición a varias concentraciones de N-(3-clorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(E)-propenamida (**61**).

Dosis (ppm)	log dosis	No. muertos	No. vivos	muer-tos acumulados	vivos acumulados	proporción muerte/ total	% Mortalidad
10000	4	17	13	27	13	0.6750	67.50%
1000	3	10	20	10	33	0.2326	23.26%
100	2	0	30	0	63	-	0.00%
10	1	0	30	0	93	-	0.00%

**Tabla 7.**

Mortalidad de la larva de *Artemia salina* después de 24 h de exposición a varias concentraciones de N-(3-bromobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(E)-propenamida (62).

Dosis (ppm)	log dosis	No. muertos	No. vivos	mueartos acumulados	vivos acumulados	proporción muerte/total	% Mortalidad
10000	4	8	22	18	22	0.4500	45.00%
1000	3	5	25	10	47	0.1754	17.54%
100	2	4	26	5	73	0.0641	6.41%
10	1	1	29	1	102	0.0097	0.97%

Tabla 8.

Mortalidad de la larva de *Artemia salina* después de 24 h de exposición a varias concentraciones de N-(3-nitrobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(E)-propenamida (63).

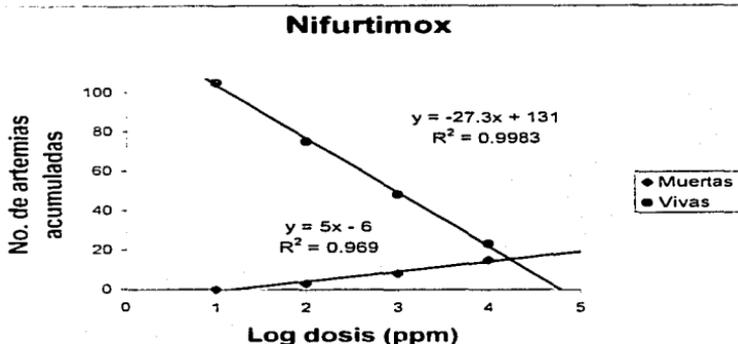
Dosis (ppm)	log dosis	No. muertos	No. vivos	mueartos acumulados	vivos acumulados	proporción muerte/ total	% Mortalidad
10000	4	24	6	39	6	0.8667	86.67%
1000	3	11	19	15	25	0.3750	37.50%
100	2	2	28	4	53	0.0702	7.02%
10	1	2	28	2	81	0.0241	2.41%

A partir de los datos recopilados en las tablas 1 a 8 se hicieron las gráficas, para cada uno de los compuestos, que se muestran en las siguientes figuras.



Gráfica 1

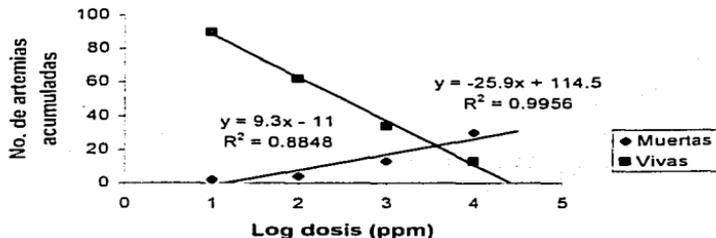
Estimación de CL_{50} por el método de Reed-Muench. Las dos curvas se intersectan al 50% de la dosis letal requerida para la *Artemia salina*.



Gráfica 2

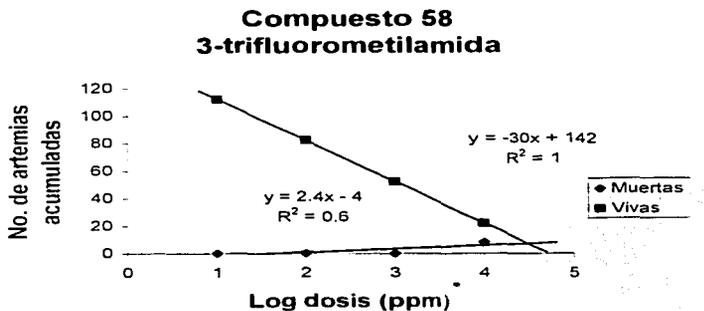
Estimación de CL_{50} por el método de Reed-Muench.

Compuesto 57 3-metilbencilamida

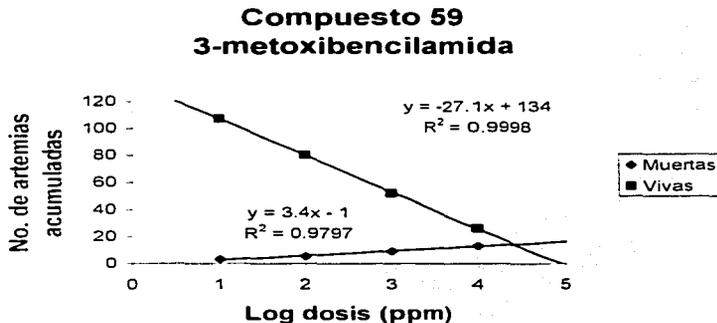




Gráfica 3
Estimación de CL₅₀ por el método de Reed-Muench.



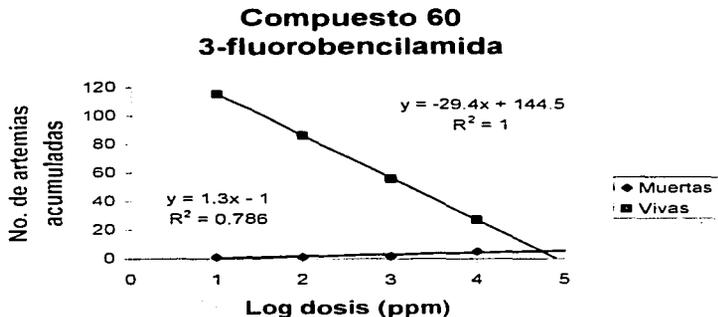
Gráfica 4.
Estimación de CL₅₀ por el método de Reed-Muench.





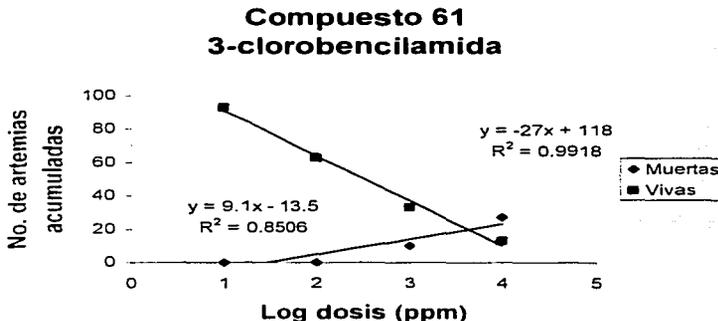
Gráfica 5

Estimación de CL_{50} por el método de Reed-Muench. Las dos curvas se intersectan al 50% de la dosis letal requerida para la *Artemia salina*.



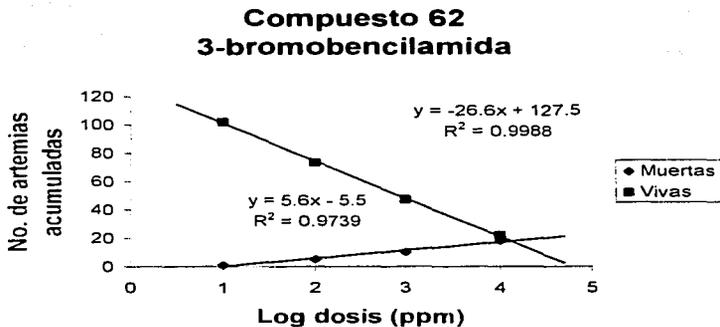
Gráfica 6

Estimación de CL_{50} por el método de Reed-Muench.





Gráfica 7.
Estimación de CL_{50} por el método de Reed-Muench.



Gráfica 8.
Estimación de CL_{50} por el método de Reed-Muench.

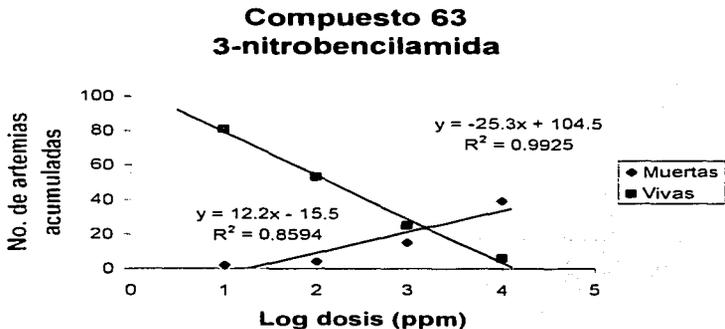




Tabla 9.
Concentraciones letales de los compuestos
para la larva de *Artemia salina*.

	Compuesto	CL ₅₀ (mg/mL)	% Potencia relativa
27*	Nifurtimox	18.20	100
57	<i>N</i> -(3-metilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(<i>E</i>)-propenamida.	3.72	490
58	<i>N</i> -(3-trifluorometilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(<i>E</i>)-propenamida.	32.36	56
59	<i>N</i> -(3-metoxibencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(<i>E</i>)-propenamida.	26.92	68
60	<i>N</i> -(3-fluorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(<i>E</i>)-propenamida.	54.95	33
61	<i>N</i> -(3-clorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(<i>E</i>)-propenamida.	4.37	417
62	<i>N</i> -(3-bromobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(<i>E</i>)-propenamida.	13.49	135
63	<i>N</i> -(3-nitrobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(<i>E</i>)-propenamida.	1.48	1,230

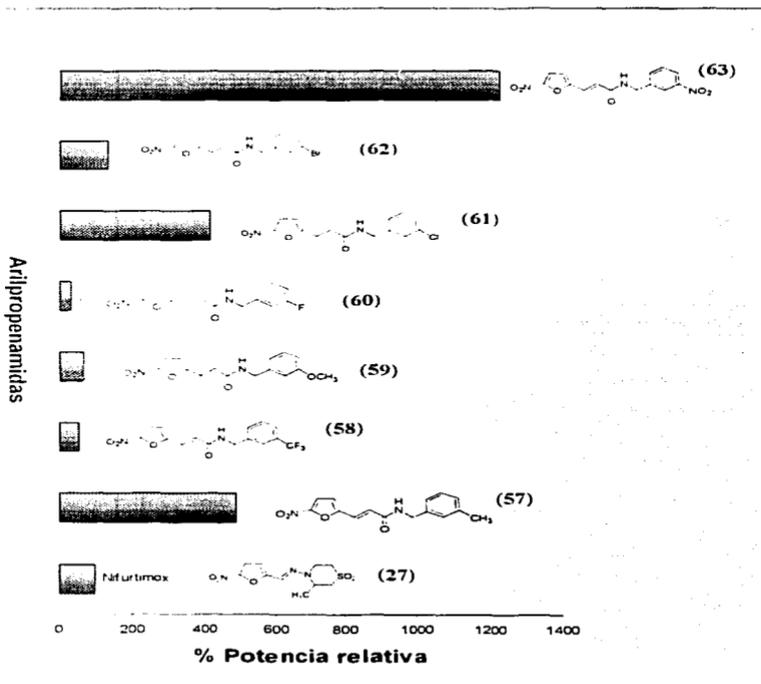
En la gráfica 9 se presentan las potencias larvicidas relativas al Nifurtimox®, que presentaron cada uno de los compuestos sintetizados, las cuales fueron determinadas mediante la siguiente relación:

$$\% \text{ Potencia relativa} = B / C$$

donde B es el valor de CL₅₀ correspondiente a cada uno de los compuestos sintetizados (57-63) y C es el valor de CL₅₀ correspondiente al Nifurtimox® (tabla 9).



Gráfica 9.
Potencias relativas de cada uno de los compuestos
frente a *Artemia salina*.



Conclusiones



Conclusiones

↓ Se sintetizaron siete diferentes amidas, que aun no se encuentran reportadas en la literatura:

- N*-(3-metilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (57).
- N*-(3-trifluorometilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (58).
- N*-(3-metoxibencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (59).
- N*-(3-fluorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (60).
- N*-(3-clorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (61).
- N*-(3-bromobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (62).
- N*-(3-nitrobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (63).

↓ Todos los compuestos sintetizados fueron caracterizados por las espectroscopias IR, Masas, RMN¹H, RMN¹³C y HETCOR.

↓ Se determinó la actividad larvicida de todos los compuestos frente a *A. salina* utilizando como referencia al Nifurtimox®.

↓ Las cuatro amidas que mostraron mayor actividad larvicida con respecto al Nifurtimox® fueron:

- N*-(3-bromobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (62).
- N*-(3-clorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (61).
- N*-(3-metilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (57).
- N*-(3-nitrobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (63).

De estas amidas, la *N*-(3-nitrobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida (59) mostró la mayor actividad larvicida frente a *A. salina*, la cual resultó ser doce veces más potente que el Nifurtimox® (27).

Referencias



1. Velasco Castrejón, Oscar. *Las leishmaniasis, con especial referencia a México*. Secretaría de Salud: México. **1991**; pp 1-48.
2. Communicable disease surveillance and control of leishmaniasis. <http://www.who.int/emc/diseases/leish/index.html> (Octubre 2002).
3. Tay, J.; Lara; et. al. Leishmaniasis. En *Parasitología Médica*, 5ª ed.; Méndez Editores: México. **1995**; pp 135-155.
4. Webster, L. T. Drugs used, in the chemotherapy of protozoal infections. En *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9ª ed; Hardman, J.G., Limbird, L.E., et al., Eds.; McGraw-Hill: EUA. **1996**; p 987-1004.
5. Matthew. J. L., Stanley, S. R., et al. Parásitos en sangre. En *Métodos de laboratorio*. 2ª ed.; Nueva Editorial Iberoamericana: México, **1997**; 1072-1073.
6. Smith, J.; Gutiérrez, Y. Parasitología Médica. En *Diagnóstico y tratamientos clínicos por el laboratorio*. Henry, J.B. Ed. 9ª ed.; Salvat: México. **1993**; pp 1213-1215.
7. Martindale. Antiprotozoal Agentes. En *The Extra Pharmacopoeia*. 31ª ed.; Reynolds, J., Ed.; Royal Pharmaceutical Society: Inglaterra. **1996**; pp 611, 612, 623, 1626.
8. Heyeman, D.; McKerrow, H. Enfermedades parasitarias. En *Inmunología básica y clínica*. 7ª ed.; Stites, D., Terr, A.I., Eds.; El Manual Moderno: México, **1997**; 795-802.
9. Sacks, D.; Nueva, F. Leishmaniasis. En *Tropical and Geographical Medicine*. 2ª ed.; Warren, K., Mahmoud A., Eds.; McGraw-Hill: EUA. **1990**; pp 296-308.
10. Croft, S. L. Antiprotozoal Drugs: some echoes, some shadows. En *Fifty years of antimicrobials: Past perspectives and future trends*. Hunter, P.A., Darby, G.K., Russell, N.J., Eds.; Society for General Microbiology: Inglaterra. **1995**; pp 299-317.
11. Jernigan, J.; Pearson, R. Chemotherapy of leishmaniasis, Chagas' disease and African trypanosomiasis. *Current Opinion in Infectious Diseases*. **1993**, 6, 794-802.



12. Canto-Cavalherio, M.; Echevarria, A.; et. al. The potencial effects of new synthetic drugs against *Leishmania amazonensis* y *Trypanosoma cruzi*. *Microbios*, **1997**, 90, 51-60.
13. Mutschler, E.; Derendorf, H. Anti-infectives. En *Drug actions: Principles and therapeutic aspects*. Medpharm Scientific Publishers: Alemania, **1995**; pp 564, 570.
14. Avendaño, Evolución de los métodos de búsqueda y descubrimiento de fármacos. *Química Farmacéutica*, ed., Editorial: País, **1993**, pp 31-35
15. Silverman, R. Drug Discovery, Design and Development. *The organic chemistry of drug design and drug action*. Academic Press: EUA, **1992**, 4-23.
16. Peters, W; Trotter, E.R.; Robinson, B.L. La quimioterapia experimental de leishmaniasis, VII. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **1980**, 74, 321-335.
17. Beveridge, E. Chemotherapy of Leishmania. En *Experimental Chemotherapy*; Schnitzler, R.J. Hawking, F., Eds.: Academic Press: EUA, **1963**; 257-279, 460-463.
18. Rabinovich, M.; Dedet, J. Destruction of *Leishmania mexicana amazonensis* amastigotes within macrophages in culture by phenazine methosulfate and other electron carriers. *J. Exp. Med.*, **1982**, 155, 415-431.
19. Neves-Pinto, C.; Malta, V.; et. al. A trypanocidal phenazine derived from β -lapachone. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 2112-2115.
20. Docampo, R.; Cruz, F.; et al. Lipid Peroxidation and the generation of free radicals, superoxide anion, and hydrogen peroxide in β -lapachone-treated *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Arch. Biochem. Biophys.* **1978**, 186, 292-297.
21. Ribeiro-Rodrigues, R.; dos Santos, W.G.; et. al. Growth inhibitory effect of naphthofuran and naphthofuranquinone derivates on *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Biorganic & Medicinal Chemistry*, **1995**, 5, 1509-1512.



22. Bressi, J.C.; Verlinde, C.; Aronov, A.M.; *et al.* Adenosine analogues as selective inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of trypanosomatidae via structure-based drug design. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2080-2093.
23. Peters, W; Trotter, E.R.; Robinson, B.L. The experimental chemotherapy of leishmaniasis. *V. Ann. Trop. Med. Parasitol.* **1980**, *74*, 289-298.
24. Murray, H. Susceptibility of Leishmania to oxygen intermediates and killing by normal macrophages. *J. Exp. Med.* **1981**, *153*, 1302-1315.
25. Berman, J. D.; Lee L. S. Activity of oral drugs against leishmania tropica in human macrophages in vitro. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1993**, *2*, 947-951.
26. Moskalenko N.; Pershin G. *Chemical Abstracts.* **1973**, *79*, 100465e.
27. Mester, B.; Elguero, J. Activity against *Trypanosoma cruzi* of new analogues of Nifurtimox. *Arch. Pharm.* **1987**, *320*, 115-120.
28. Mester, B.; Hikichi, N.; *et. al.* Quantitative structure activity relationships of 5-nitrofurans derivatives. *Chromatographia.* **1990**, *30*, 191-194.
29. Kinnamon, K.; Poon B.; *et. al.* *Trypanosoma cruzi*: A novel Chemical class (nitrobenzofuranos) activos contra infection of mice (*Mus musculus*) Experimental Parasitology. **1998**, *89*, 251-256.
30. Docampo, R.; Stoppani, A. Generation of superoxide anion and hydrogen peroxide induced by nifurtimox in *Trypanosoma cruzi*. *Arch. Biochem. Biophys.* **1979**, *197*, 317-321.
31. Cerecetto, H.; Mester, B; Onetto, S.; Seoane G. Formal Potentials of new analogues of Nifurtimox: Relationship to activity. *II Farmaco.* **1992**, *47*, 1207-1215.
32. Cerecetto, H.; Di Maio, R.; *et. al.* 1,2,5-Oxadiazole N-oxide derivatives and related compounds as potential antitripanosomal drugs: structure-activity relationships. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1941-1950.

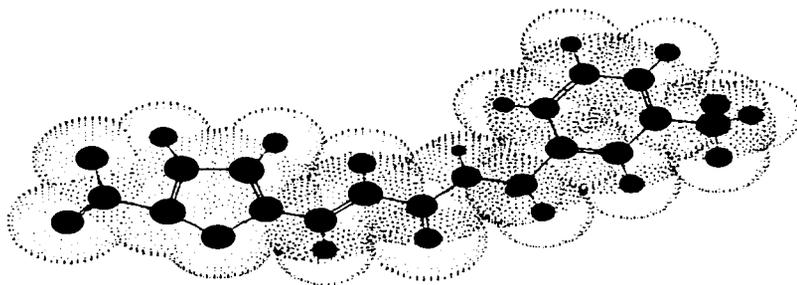


33. Shuyu, W.: Renlí, L. *Chemical Abstracts*. **1986**, 105, 218297k.
34. Xiao-Hui, Z.; Renlí, L. *Chemical Abstracts*. **1980**, 93, 142676u.
35. Grivsky, E. *Chemical Abstracts*. **1983**, 98, 16431a.
36. Kamikawa, T. *Chemical Abstracts*. **1980**, 93, 46396g.
37. Kubo, I. *Experientia*. **1984**, 40, 340.
38. Abdel-Rahman, M. O. *Chemical Abstracts*. **1969**, 70, 114894v.
39. Paquete. Furano, Tiofeno y Pirrol. *Fundamentos de Química Heterocíclica*. Limusa: México, **1987**; pp 113-117, 125-135.
40. Gilchrist, T.L. Compuestos anulares de cinco miembros con un heteroátomo. *Química heterocíclica*, 2ª ed.; Addison Wesley Iberoamericana: EUA, **1995**, pp 205-210.
41. Davies, D. T. Pyrroles, thiophenes and furans. En *Aromatic Heterocyclic Chemistry*. Oxford: Inglaterra, **1992**, pp 10-19.
42. Wade, L.G. Derivados de los ácidos carboxílicos. *Química Orgánica*, 2ª ed.: Prentice Hall: México, **1993**; pp 1005, 1029-1030.
43. Walter, W. Aliphatic Compounds. *Handbook of organic chemistry*. Prentice Hall: Gran Bretaña, **1996**, 260-263.
44. Warren; Clayden; Greeves; y Wothers. Nucleophilic substitution at the carbonyl group. En *Organic Chemistry*. Oxford: EUA, **2001**; pp 279-295.
45. March, J.; Smith, M. Capítulos: 10, 16, 18. En *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, mechanisms, and structure*, 5ª ed.; John Wiley & Sons: EUA, **2001**; pp 506-512, 1179, 1415-1416.
46. Teng Wah S. Toxicity testing using the brine shrimp: *Artemia salina*. En *Bioactive natural products: detection, isolation and structural determination*. Colegate, S.M., Molyneux; R.J., Eds.; CRC Press: EUA, **1993**; pp 441-454.
47. Anderson, J.E.; Goetz; McLaughlin, J.L. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Phytochemical Analysis*, **1991**, 2, 107-111.

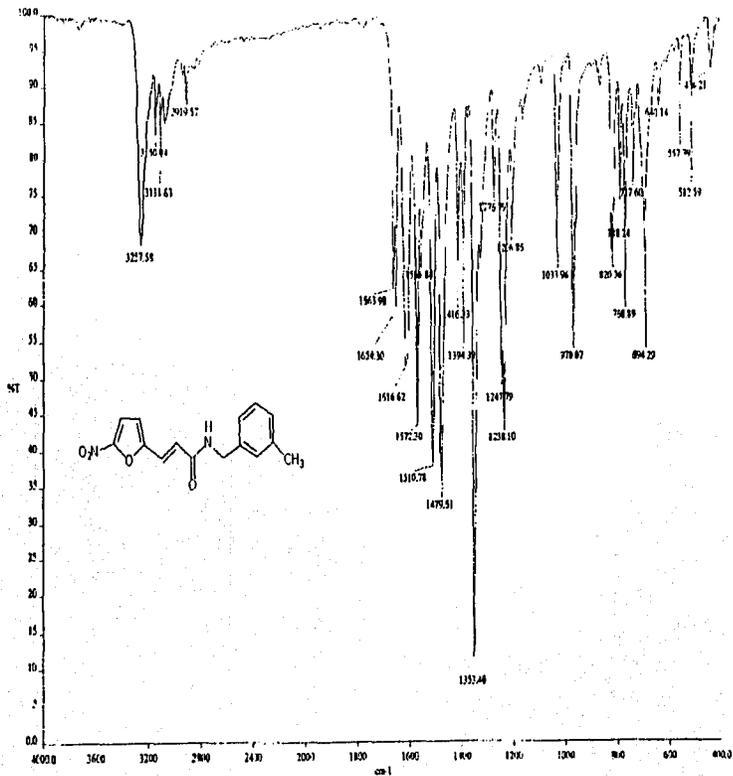


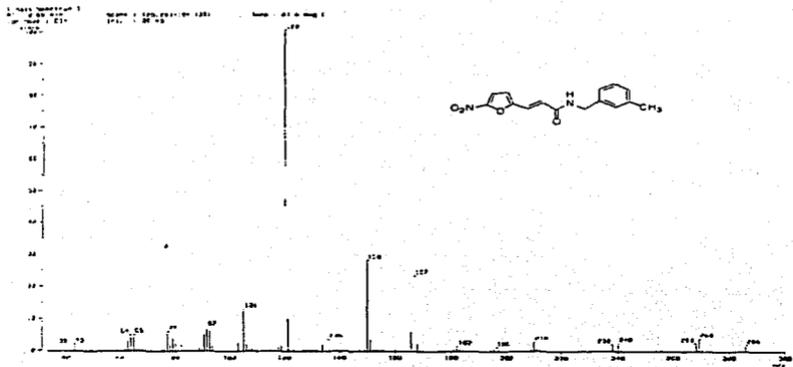
48. Lewan, L.; Andersson, M.; Morales-Gomez, P. The Use of *Artemia Salina* in Toxicity Testing. *ATLA*. **1992**, 20, 297-301.
49. Gilman, H.; Wright, G. J. *Am. Chem. Soc.* **1933**, 52, 2550-2553.
50. Elliott, M.; Farnhman, A. W. *Pestic. Sci.* **1987**, 18, 191-244.
51. Miya, T. S. Apéndice C: Introducción al bioensayo. En *Laboratory guide in pharmacology*. 4ª ed.; Burgess Publishing: EUA, **1973**, pp 127-136.
52. Bancroft, H. Pruebas biológicas. En *Introducción a la bioestadística*. 7ª ed.; EUDEBA: Argentina, **1971**, pp 233-239.
53. Nakanishi, K. *Infrared Absorption Spectroscopy*. Holden-Day: Japón, 1962; pp 20-57.
54. Pretsch, E.; Clerc, T.; et. al. Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos. 2ª ed.; Alhambra: España, **1985**.

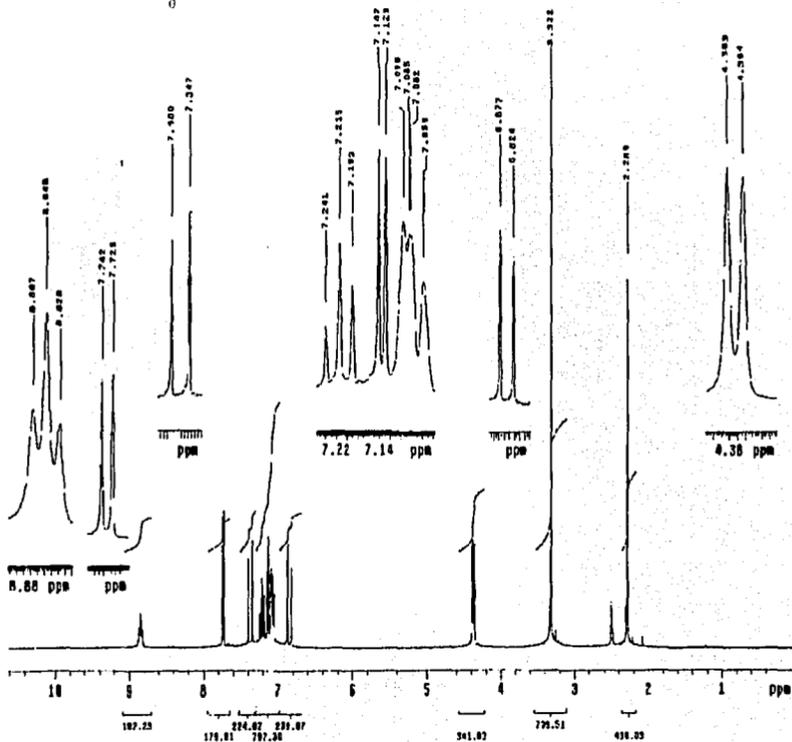
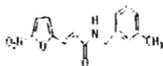
Apéndice



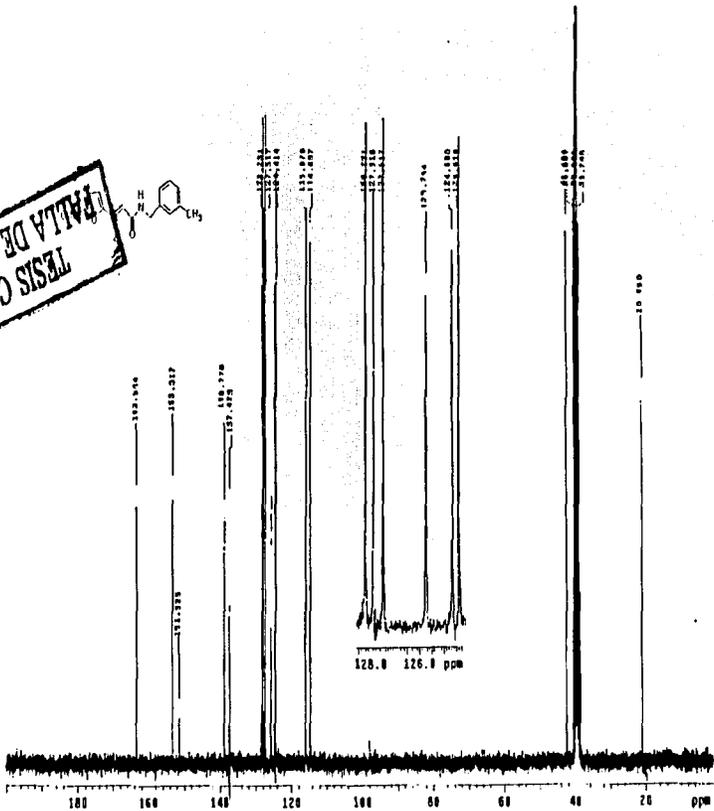
***N*-(3-metilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida
(57)**



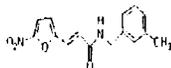




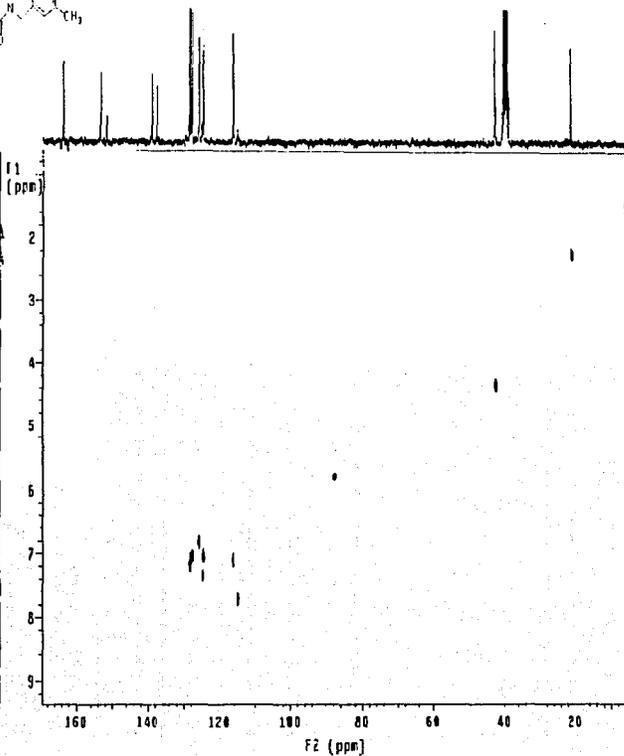
1.02

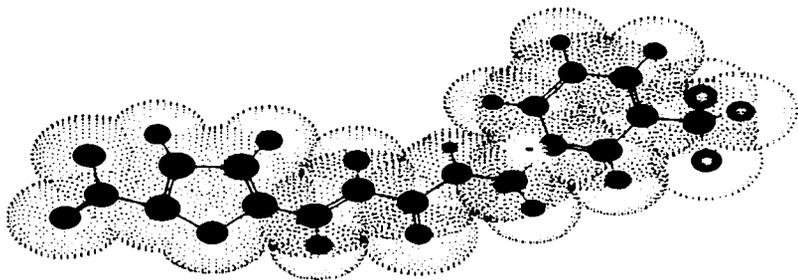


TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



104
FALTA DE ORIGEN
NO SISST.



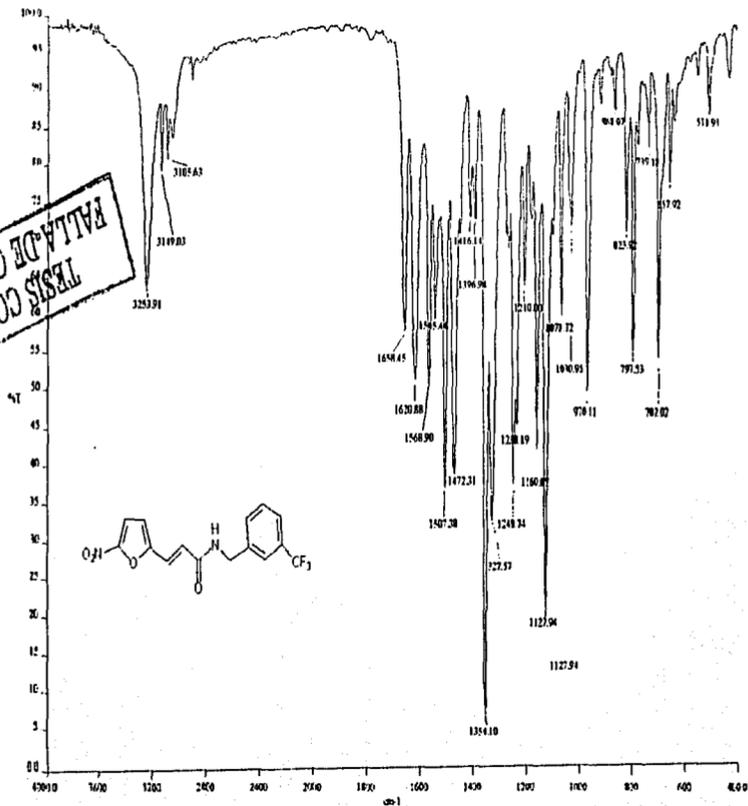


N-(3-trifluorometilbencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-
propenamida
(58)

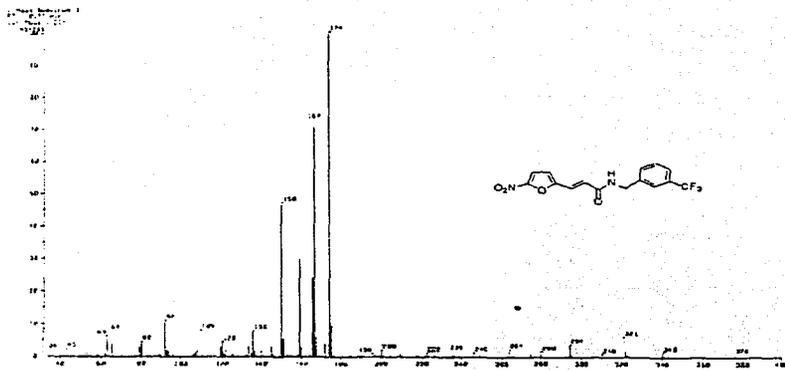
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

100

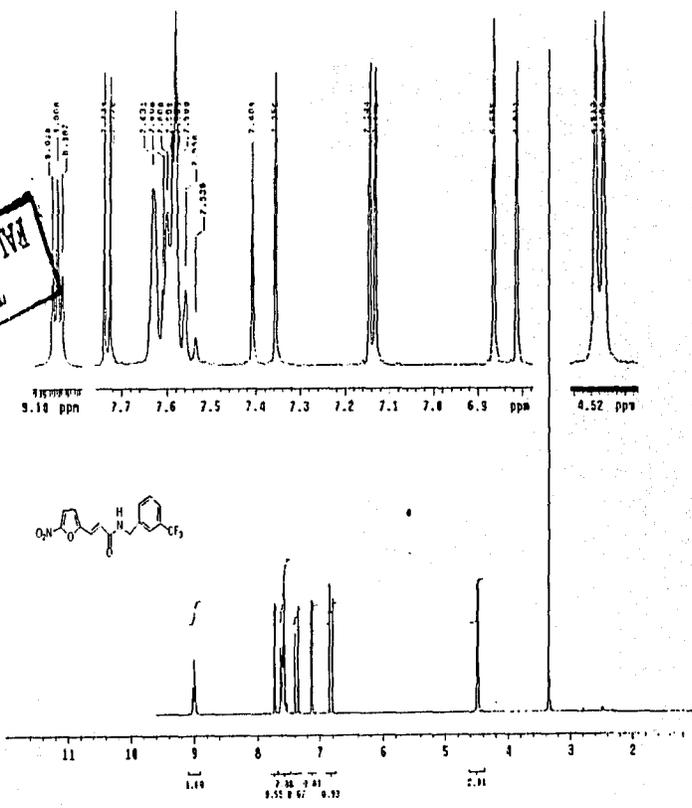


TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



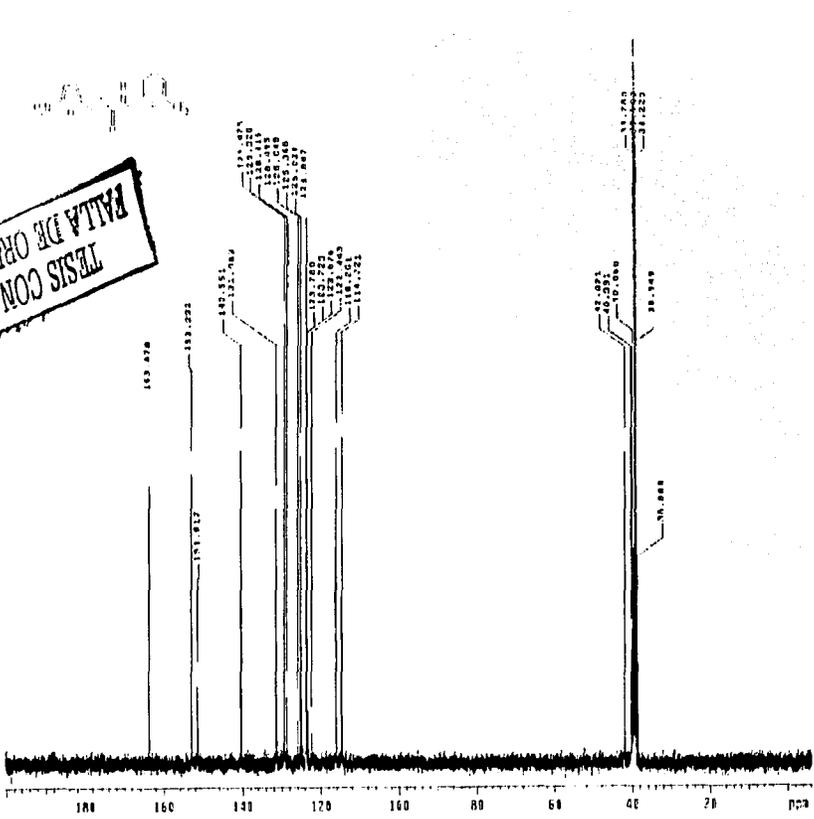
TESIS CON
SALA DE ORIGEN

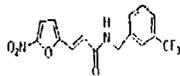
TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

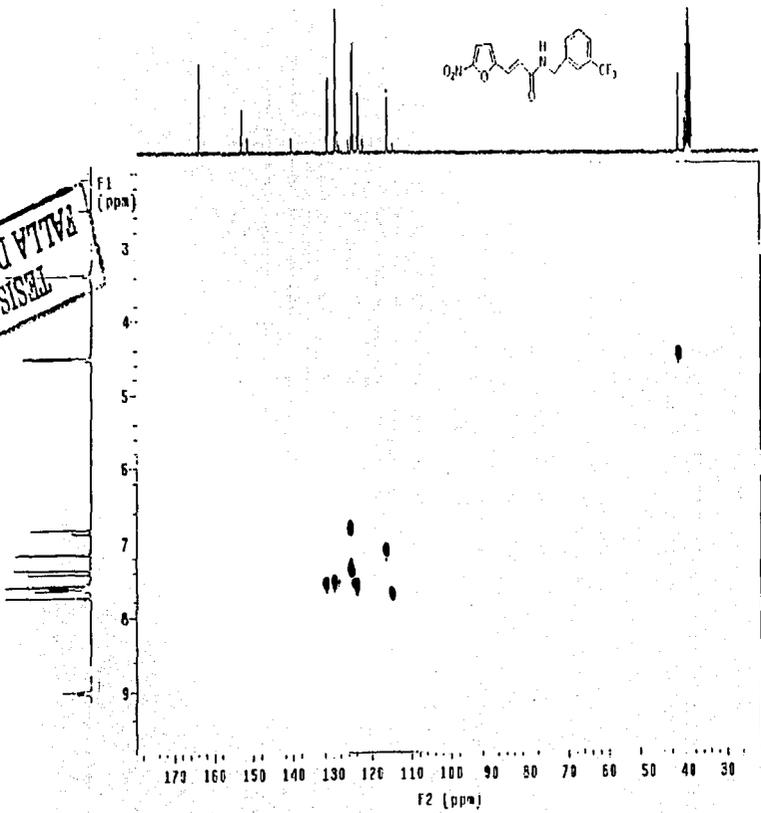
109

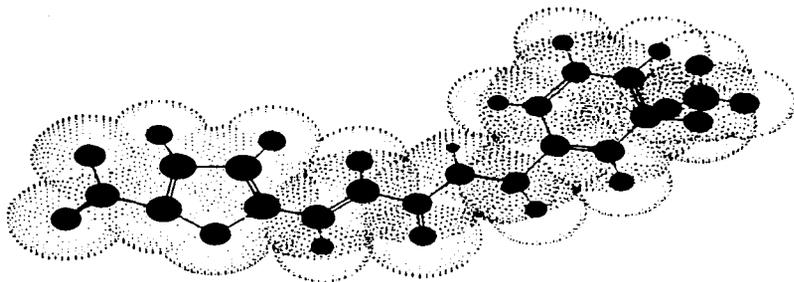




TESIS CON
BATA DE ORIGEN

110





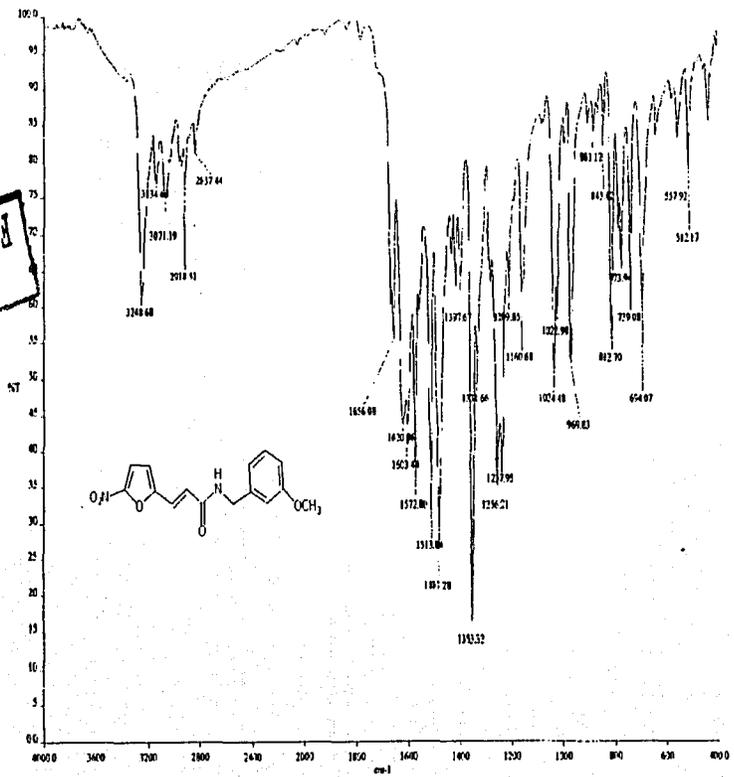
N-(3-metoxibencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida
(59)

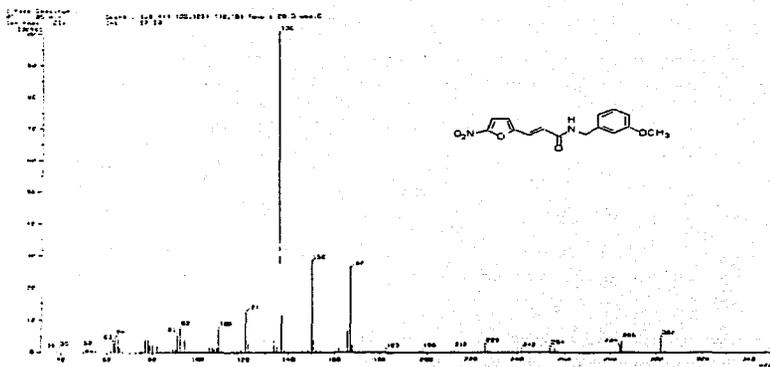
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

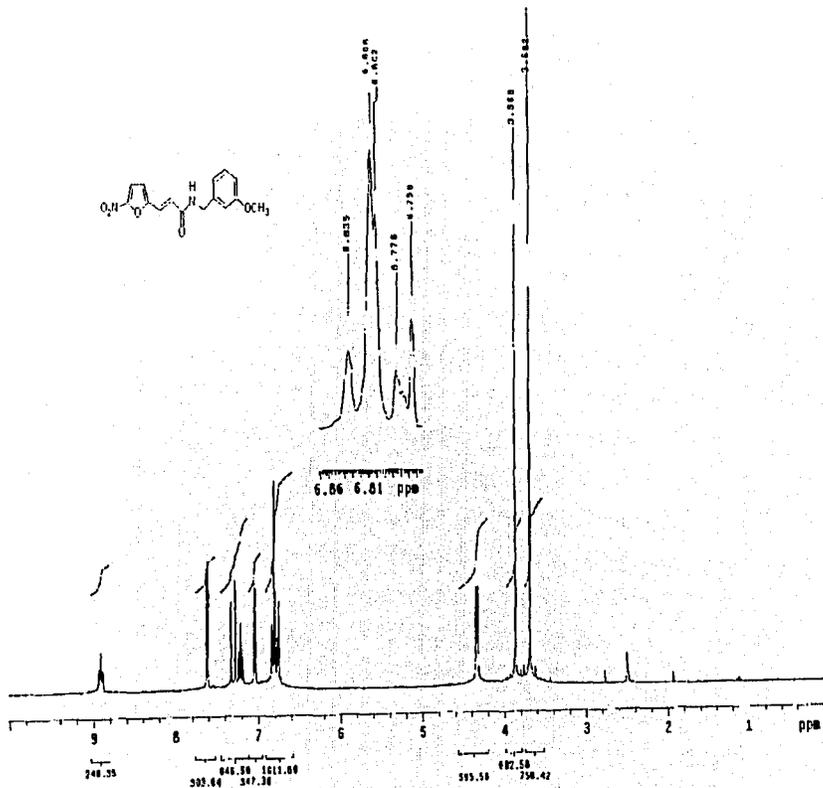
TRABAJOS CON
BALATA DE ORIGEN

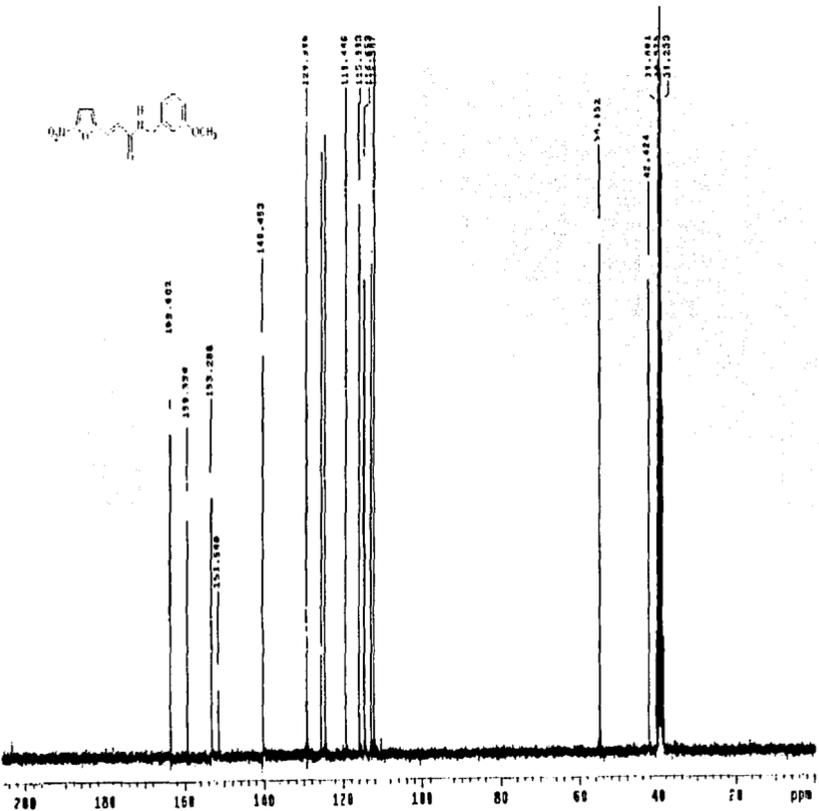
112



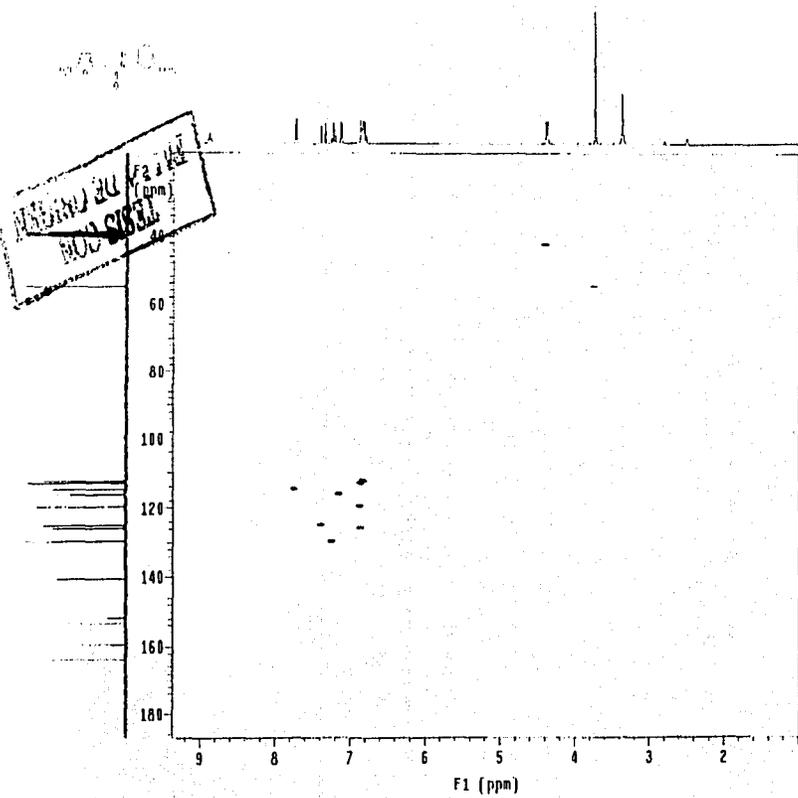


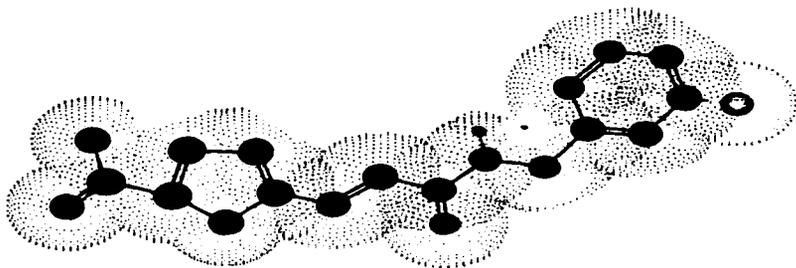
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN





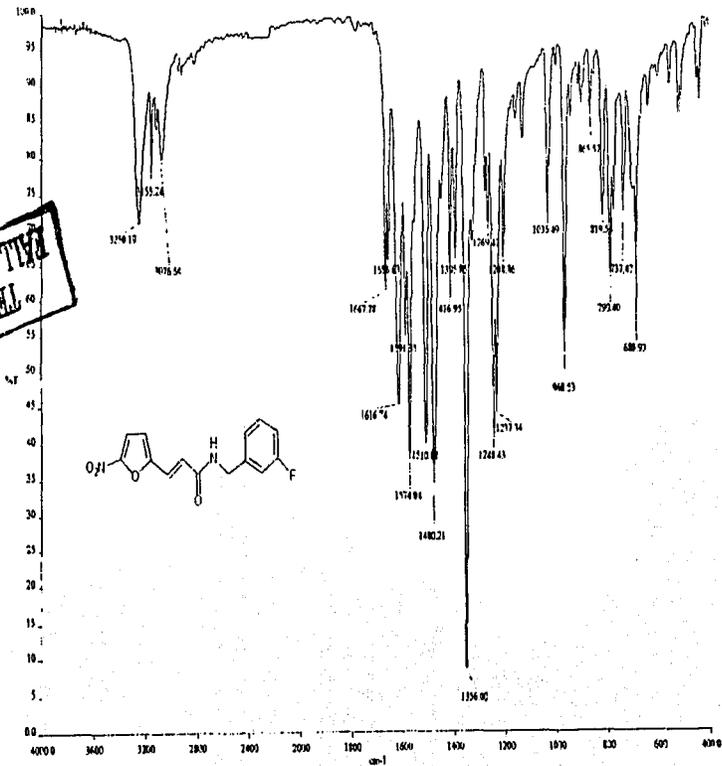
115

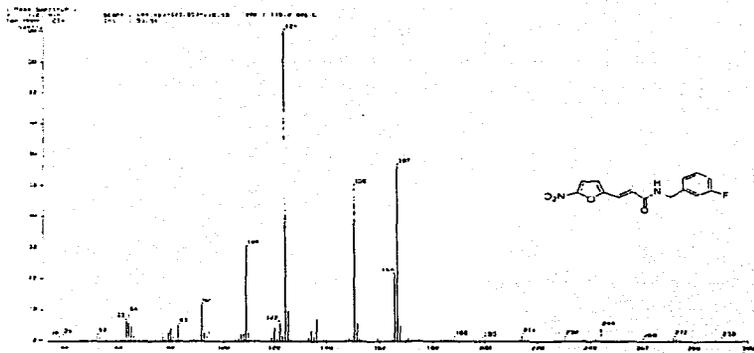




***N*-(3-fluorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida
(60)**

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

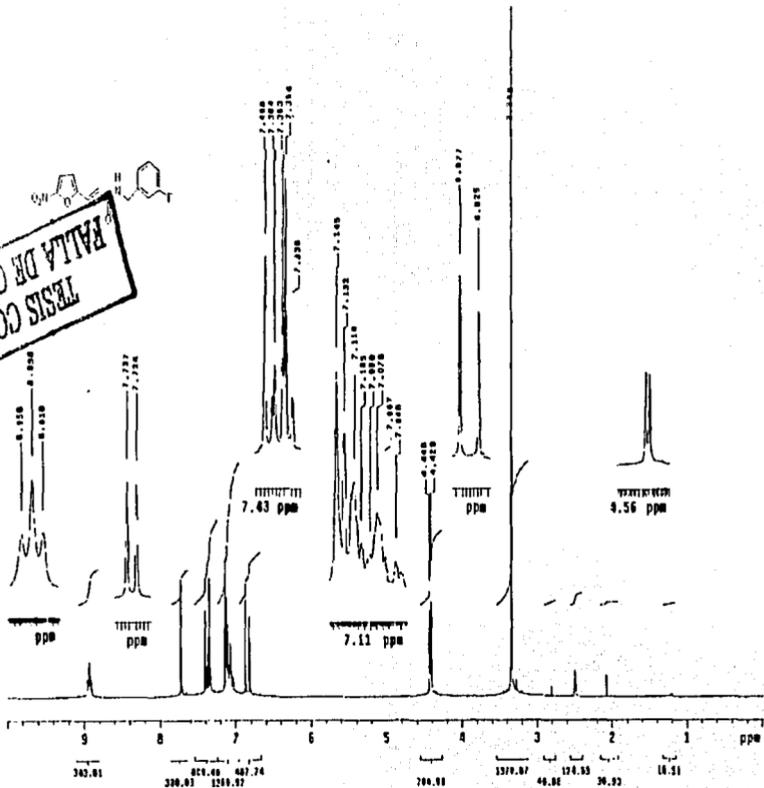


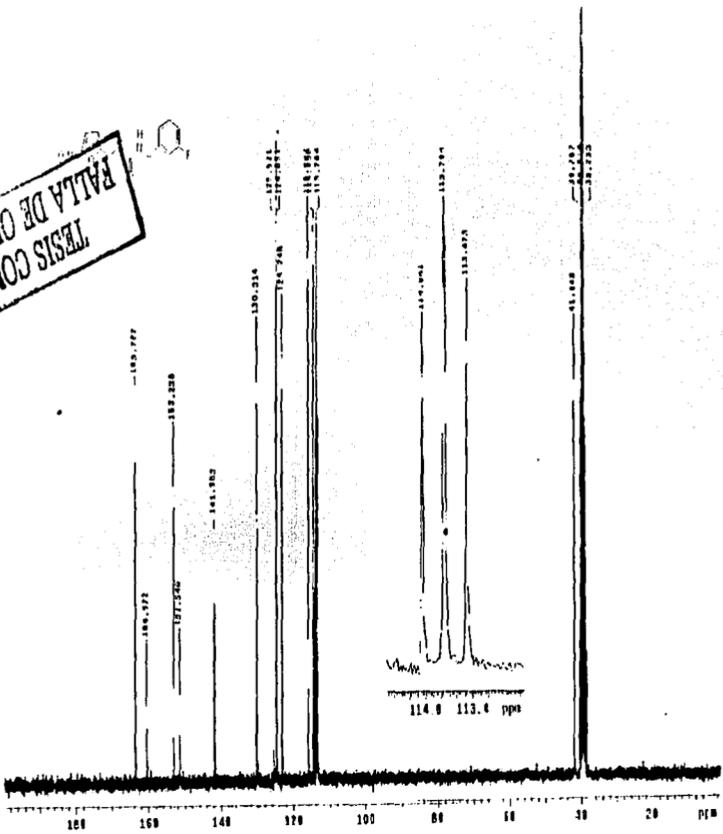


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

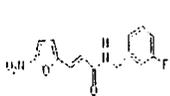


 TESIS CON
 FALTA DE CHEMIA

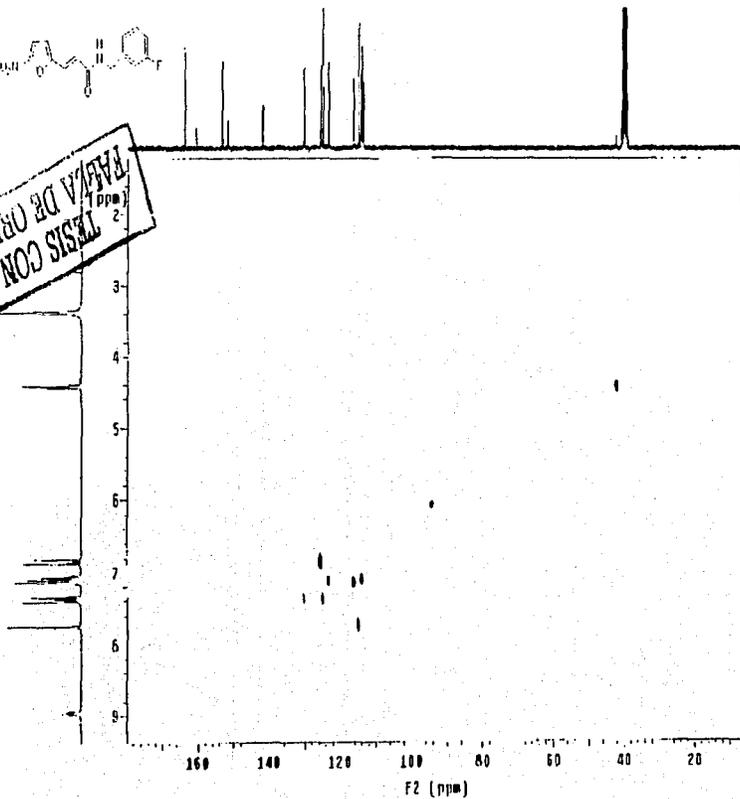


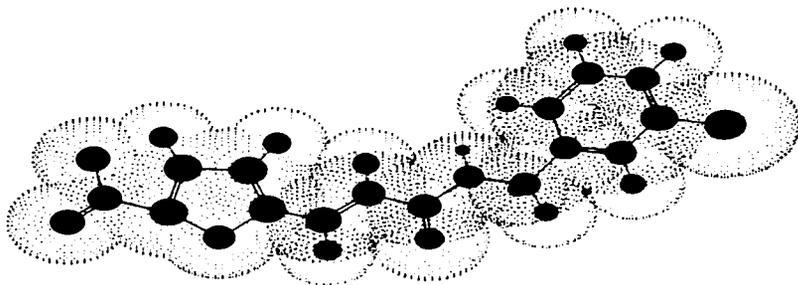


FALTA DE ORIGEN
TESIS CON



TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

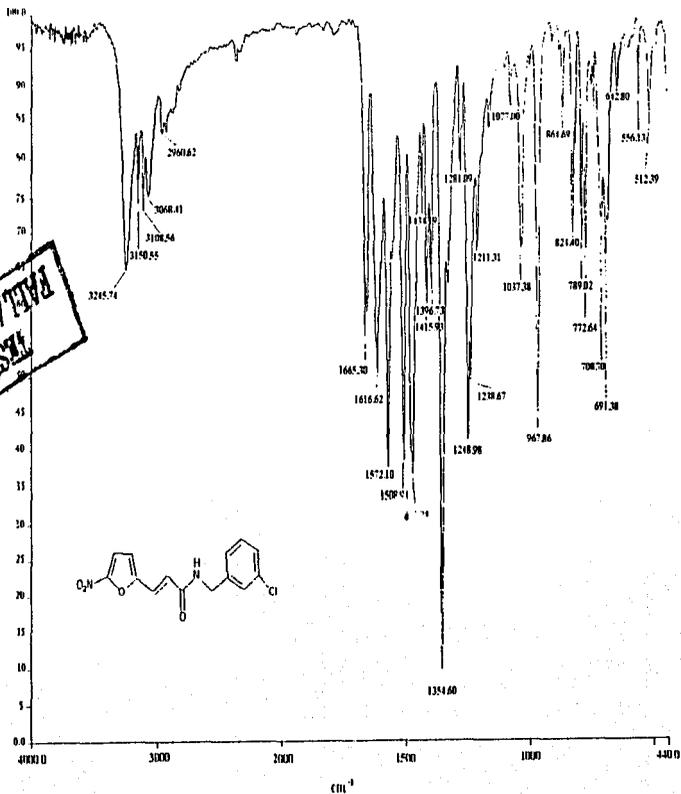


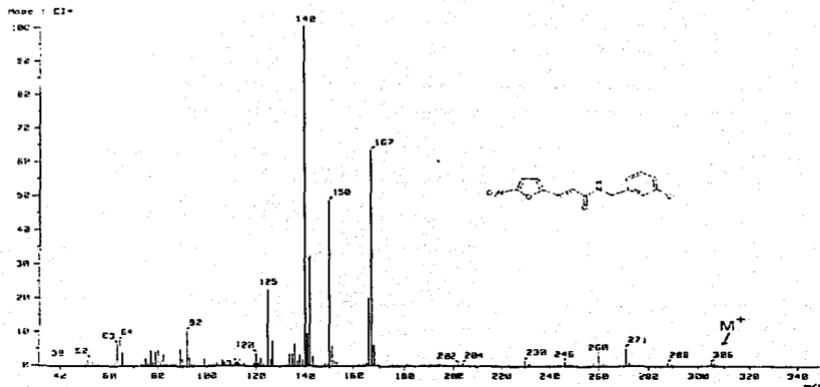


N-(3-clorobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida
(61)

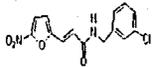
ENCLOSURE
FALL 1978
TESIS CON
NITRO

TESTES CON
PATA DE CHIRRIEN

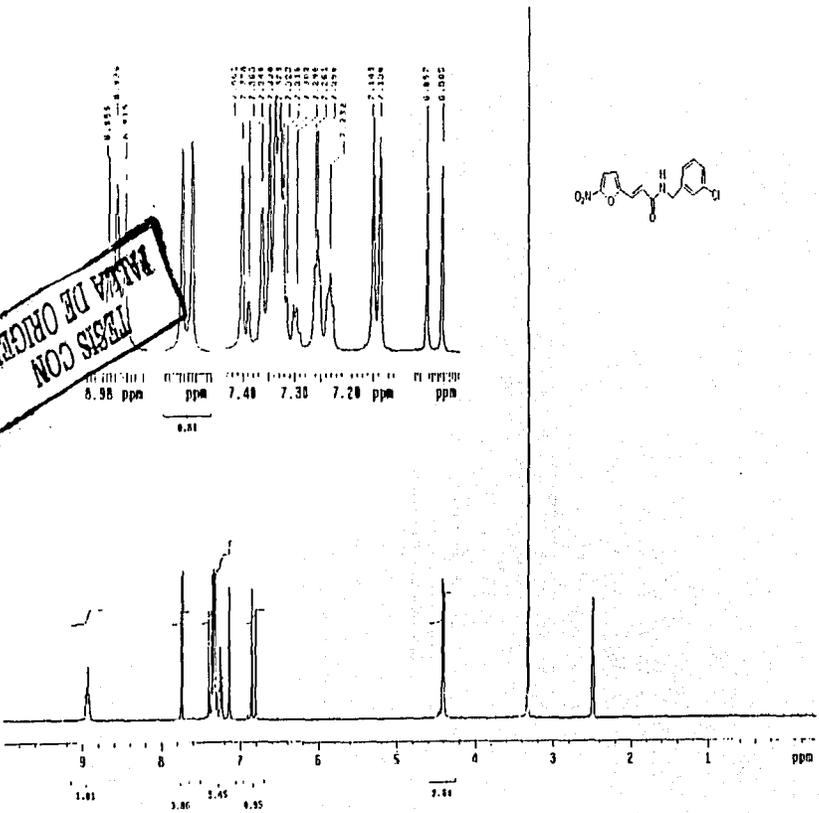




TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

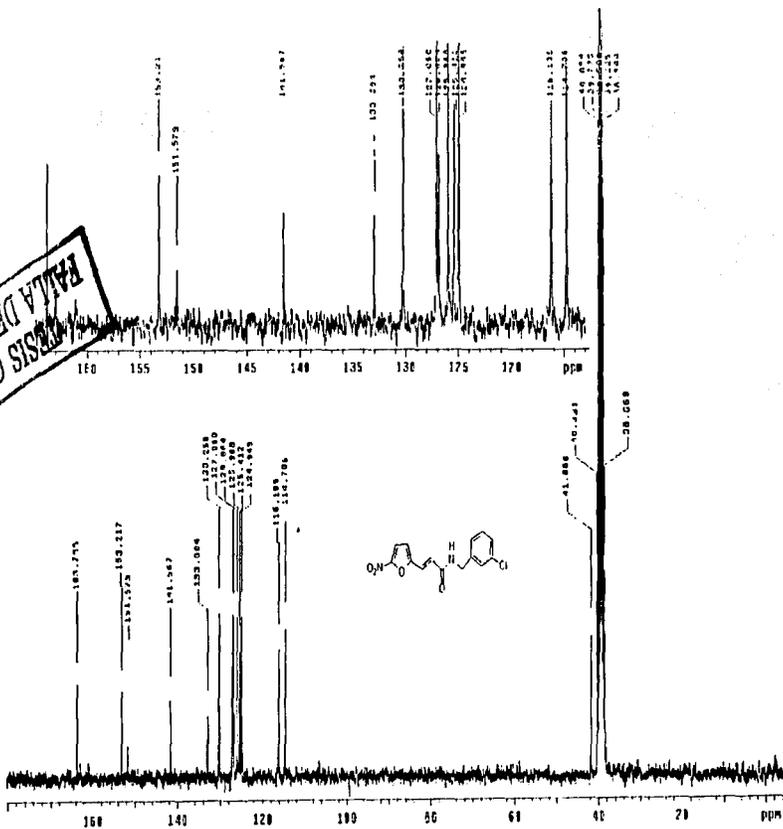


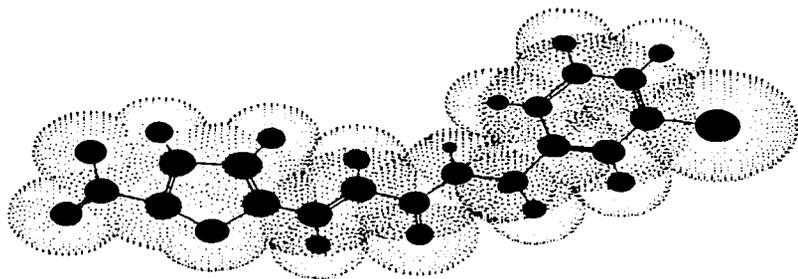
Apéndice



RESERVA
CON
DE ORIGEN

ESTRUC. DE CROMEN
NO SIS. CON
127





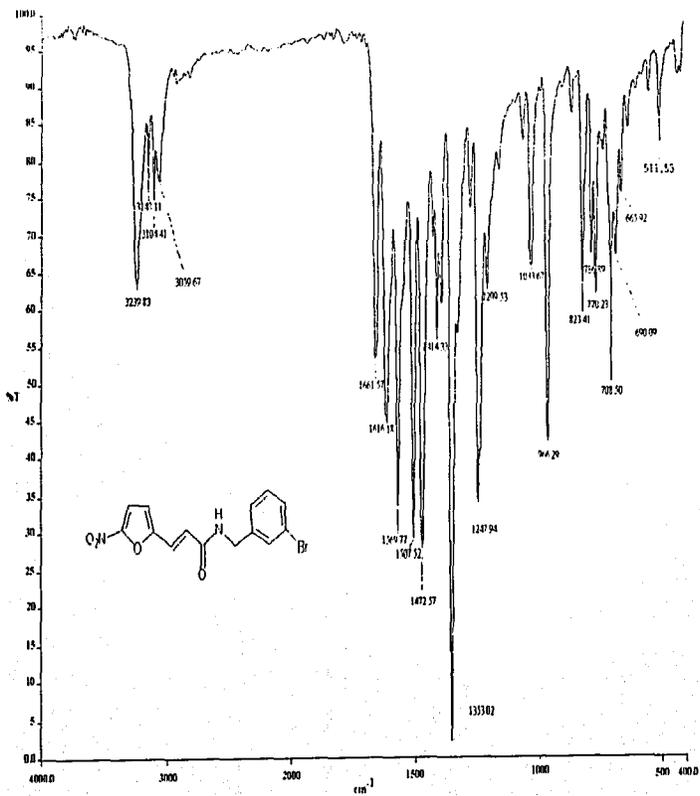
N-(3-bromobencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

(62)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

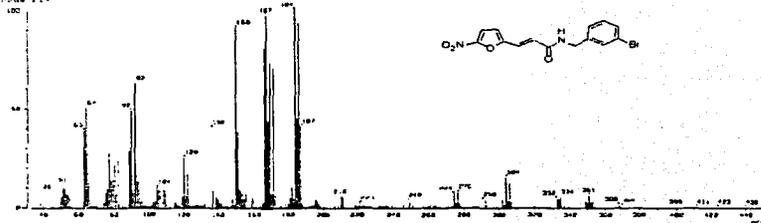
170



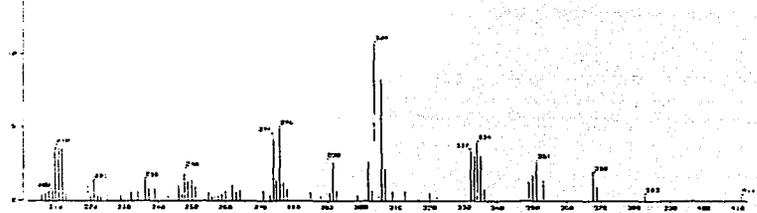
Appendix



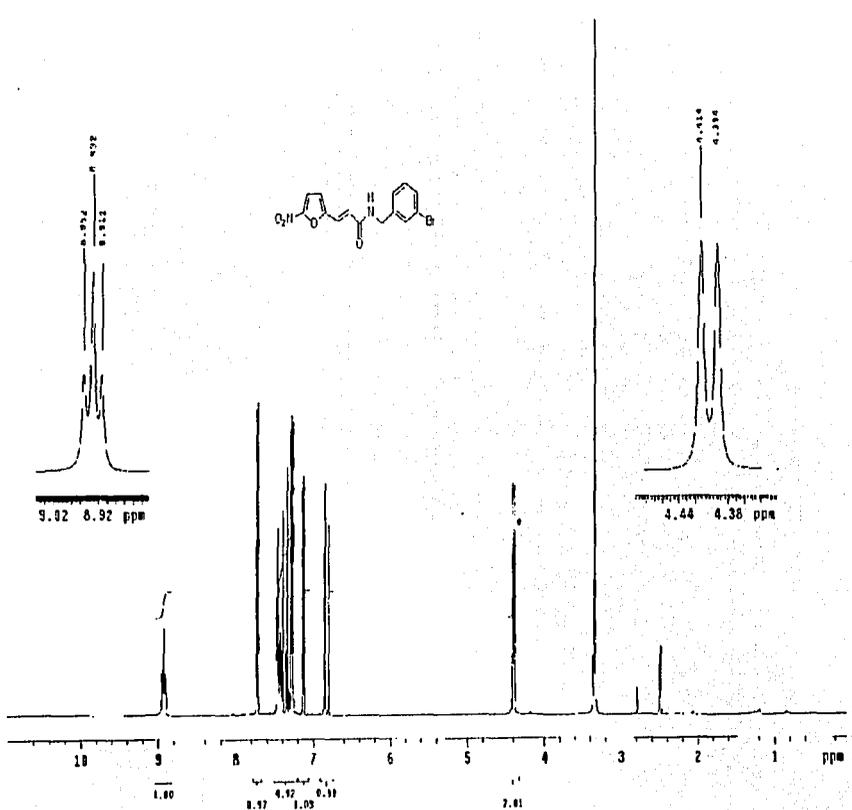
1. Mass Spectrum
2. Peak List

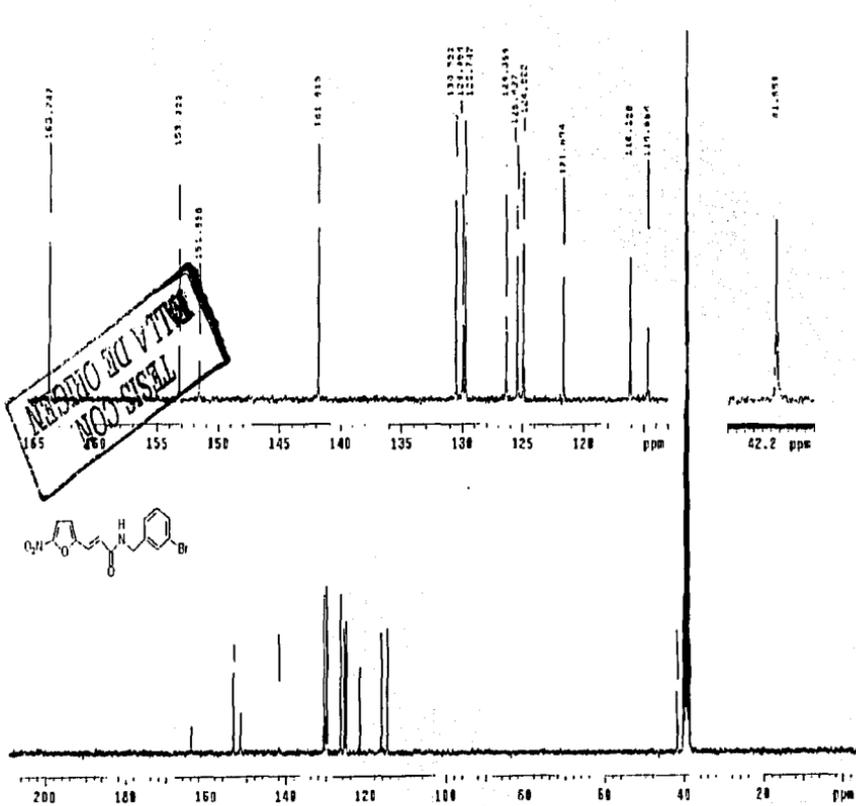


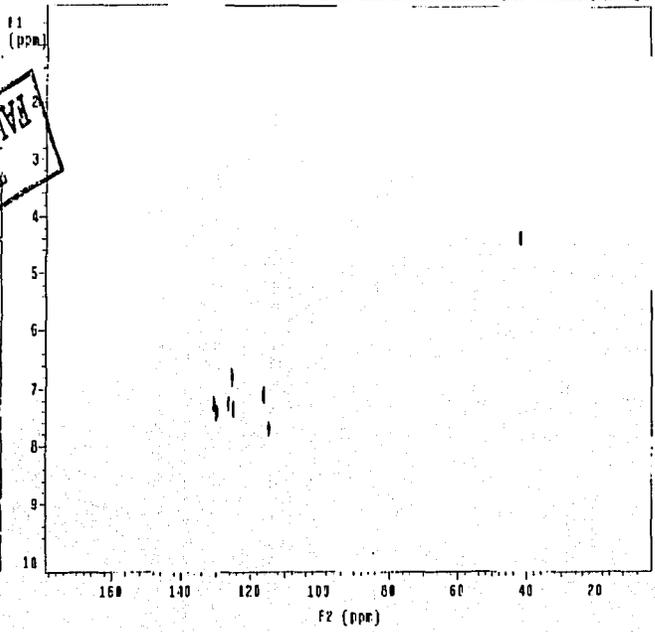
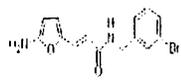
3. Mass Spectrum
4. Peak List



TESIS CON
BARRA DE ORIGEN

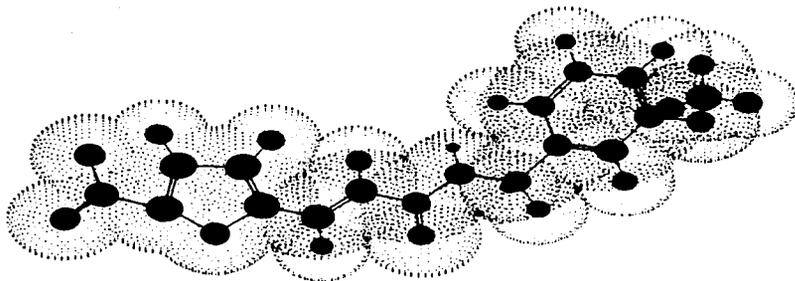






TESIS CON
 RAJA DE ORIGEN

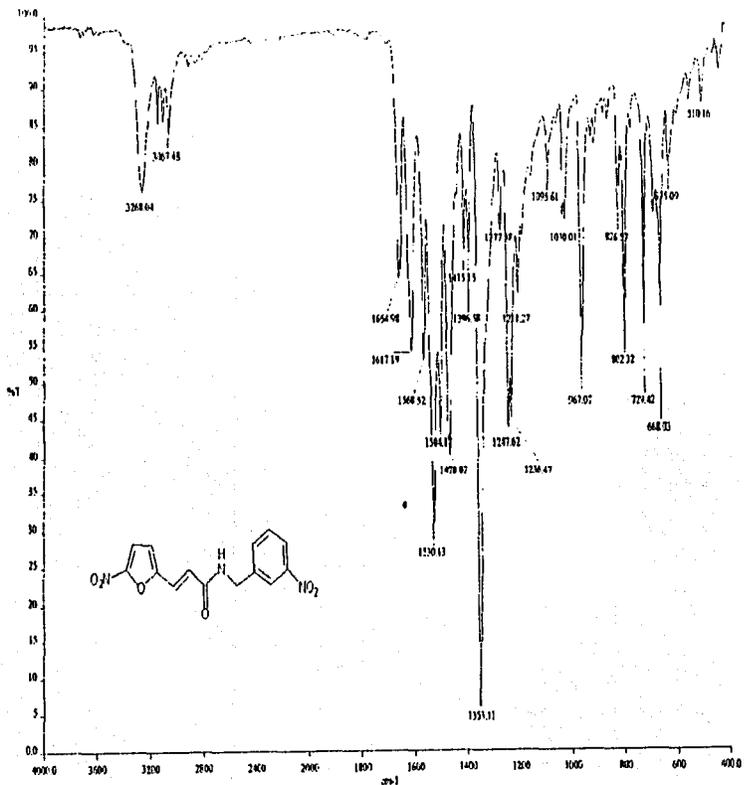
134

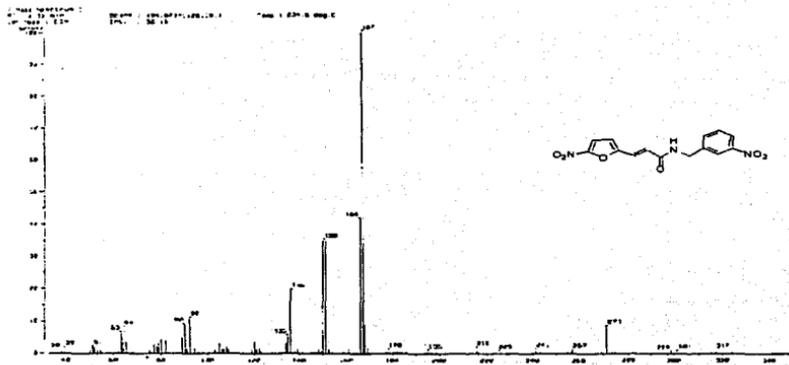


N-(3-metoxibencil)-3-(5-nitro-2-furil)-2-(*E*)-propenamida

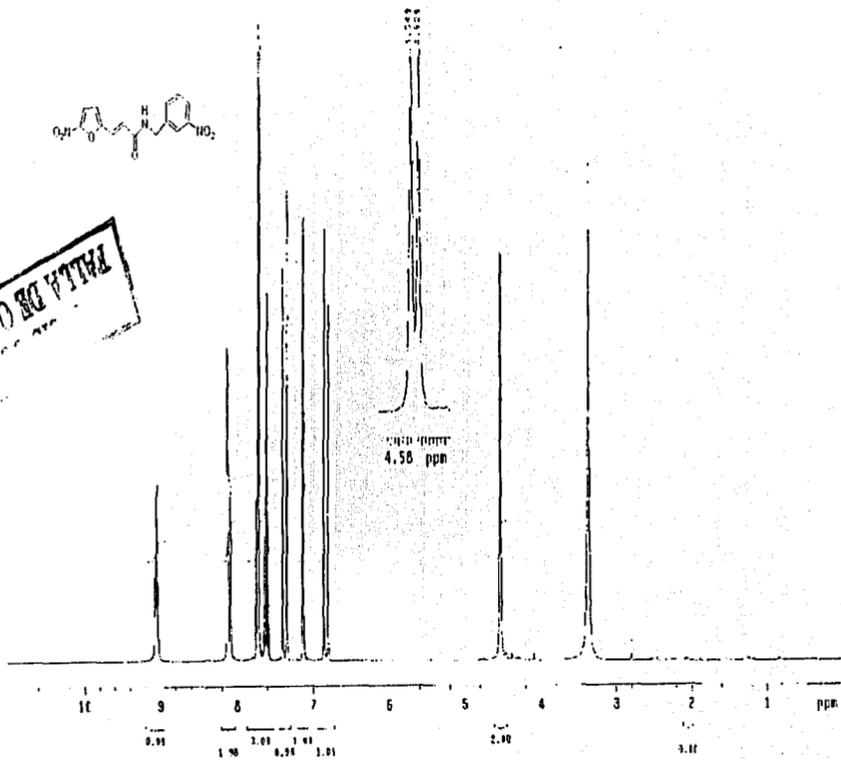
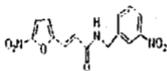
63

TESIS CON
FALTA DE PAGEN

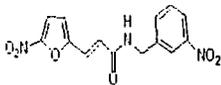




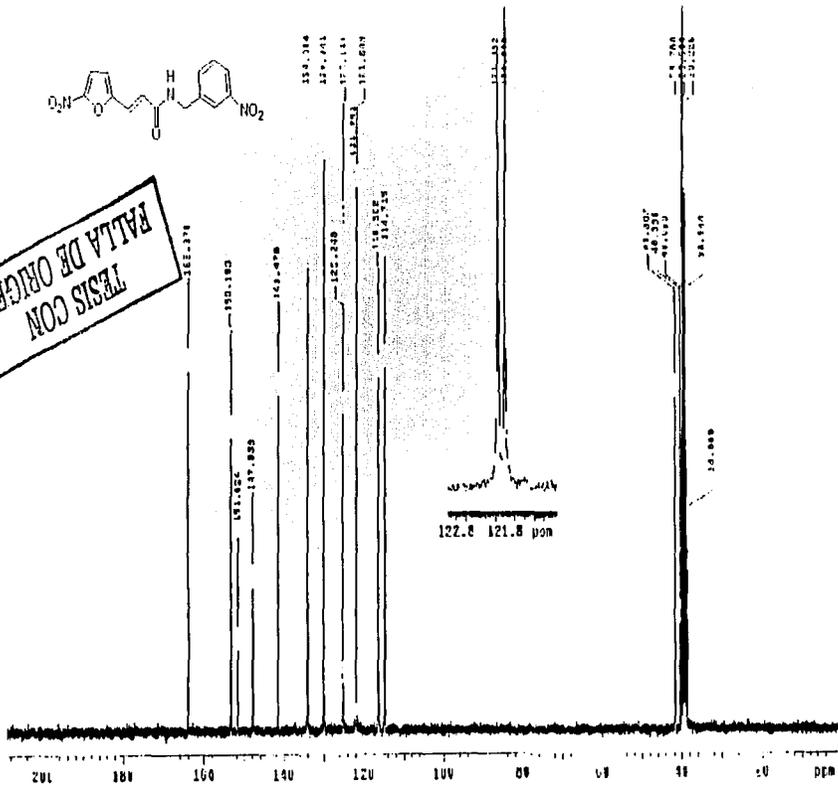
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



LABORATÓRIO DE QUÍMICA
FARMACIA DE QUÍMICA



TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



TESIS CON
FALTA DE ORDEN

140

