



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

“SINTESIS DE AMINAS DERIVADAS DE 2-METIL-1,4-  
NAFTOQUINONA CON POSIBLE ACTIVIDAD  
LEISHMANICIDA Y DETERMINACION DE SU  
ACTIVIDAD LARVICIDA EN *Artemia salina*”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**Q U I M I C A**

**P R E S E N T A**

**ELSA UGALDE MORA**



MEXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

2004



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.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

NOMBRE: Ugalde Mora Elsa

FECHA: 31 - Mayo - 04

SIGNA: [Firma]

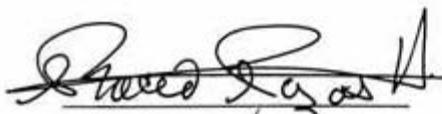
Jurado asignado:

- |                          |        |                                |
|--------------------------|--------|--------------------------------|
| Presidente               | Prof.  | Ángel Guzmán Sánchez           |
| Vocal                    | Profa. | Rocío Pozas Horcasitas         |
| Secretario               | Prof.  | José Federico Del Río Portilla |
| 1 <sup>er</sup> Suplente | Prof.  | Blas Flores Pérez              |
| 2 <sup>do</sup> Suplente | Profa. | Rosa Isela Del Villar Morales  |

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 208  
Departamento de Química Orgánica.  
División de Estudios de Posgrado.  
Facultad de Química UNAM

Asesor del tema



Dra. Rocío Pozas Horcasitas

Sustentante



Elsa Ugalde Mora

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por haber tenido en mi vida la oportunidad de recibir la educación necesaria para seguir el largo camino que por ahora concluye con este trabajo.

A mis padres por todo su esfuerzo y sacrificios hechos para darme todo lo que he necesitado en mi vida, tanto en apoyo material como espiritual pero sobre todo les agradezco la educación que me dieron en casa ya que gracias a ella pude valorar y aprovechar mi formación profesional.

A la Dra. Rocío Pozas Horcasitas por la gran oportunidad que me dio al permitirme trabajar en su equipo, por dejarme aprender de su experiencia profesional y por creer en mi para realizar este trabajo.

A la Q. Marisela Gutiérrez F., a la Q. Georgina Duarte, al Q.F.B. Oscar Yáñez y a la Q.F.B. Rosa Isela Del Villar por haber realizado los espectros de IR, Masas y Resonancia Magnética Nuclear, respectivamente, que incluye este trabajo.

A la UNAM por el lugar que ocupé en sus instalaciones en los niveles medio y superior ya que de otro modo no creo que hubiera llegado hasta aquí.

## DEDICATORIAS

A mis papás Lino y Enriqueta con todo mi corazón ya que por ellos, por su amor, comprensión y paciencia pude lograrlo.

A mis hermanas Juanita, Adriana y Liliana por haberme aguantado durante todos mis años de estudiante y a mi cuñado Porfirio por arreglar "n" veces la computadora.

A mis sobrinos Leo y Ricky por ser los regalos más valiosos que han llegado a mi familia.

A la Dra. Rocío Pozas Horcasitas por ser más que mi asesora, una gran amiga y porque este trabajo, también es fruto de su esfuerzo.

A mi amiga Nancy por el amor, el apoyo y la gran amistad que siempre me ha dado.

A mis amigas y compañeras de laboratorio Vero, Mabe, Eva, Elena y Amalia por todas las emociones y sentimientos, triunfos y fracasos, alegrías y tristezas que hemos compartido.

## ÍNDICE

	Página
GLOSARIO DE ABREVIATURAS.	i
<b>1 RESUMEN.</b>	1
<b>2 INTRODUCCIÓN.</b>	2
<b>3 IMPORTANCIA DEL TEMA.</b>	4
<b>4 ANTECEDENTES.</b>	6
4.1 Leishmaniasis.	6
4.2 Historia de las Leishmaniasis.	6
4.2.1 Leishmaniasis en el Viejo Mundo.	6
4.2.2 Leishmaniasis en el Nuevo Mundo.	6
4.2.3 Leishmaniasis en México.	7
4.3 Distribución geográfica de las <i>Leishmania</i> en México.	7
4.4 Distribución geográfica de las <i>Leishmania</i> en el mundo.	8
4.5 Formas clínicas de las leishmaniasis.	9
4.5.1 Leishmaniasis Visceral.	10
4.5.2 Leishmaniasis Cutánea.	11
4.6 Clasificación taxonómica de <i>Leishmania</i> .	13
4.7 Sistema ecológico.	15
4.8 Reservorios.	15
4.9 Vector.	16
4.10 Ciclo Biológico de <i>Leishmania</i> .	17

4.11	Diagnóstico.	19
4.12	Tratamiento.	21
4.13	Importancia Biológica de las naftoquinonas.	26
4.13.1	Acción de las quinonas y naftoquinonas en el metabolismo de células vivas.	26
4.13.2	Cofactores: reactivos químicos para las transformaciones Biológicas [NAD(P)H].	28
4.14	Mecanismo de acción de las 1,4-naftoquinonas en Sistemas Biológicos.	30
4.15	Actividad tripanocida de las naftoquinonas.	32
4.16	Susceptibilidad de <i>Leishmania</i> a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .	33
4.17	Reacción de adición conjugada a grupos carbonilo.	34
4.17.1	Adición conjugada de aminas.	35
4.18	Síntesis de derivados de 2-metil-1,4-naftoquinona.	36
4.19	Mecanismo de reacción.	36
4.20	Pruebas Biológicas.	38
4.21	<i>Artemia salina</i> .	39
<b>5</b>	<b>HIPÓTESIS.</b>	40
<b>6</b>	<b>OBJETIVOS.</b>	42
<b>7</b>	<b>MÉTODO.</b>	45
7.1	Sección experimental: Parte Química.	45
7.1.1	Síntesis orgánica.	45
7.1.2	Purificación.	45
7.1.3	Equipo.	46

7.2	Sección experimental: Parte Biológica.	47
7.2.1	Producción de <i>Artemia salina</i> .	47
7.2.2	Preparación de las soluciones.	48
7.2.3	Determinación de la CL <sub>50</sub> .	49
7.3	Reactivos y material.	50
<b>8</b>	<b>RESULTADOS.</b>	52
8.1	Caracterización física de los compuestos sintetizados.	52
8.2	Caracterización espectroscópica.	53
	Menadiona.	53
	Compuesto 1.	56
	Compuesto 2.	59
	Compuesto 3.	62
	Compuesto 4.	65
	Compuesto 5.	68
	Compuesto 6.	71
	Compuesto 7.	74
	Compuesto 8.	77
8.3	Cálculo de la Concentración Letal Media (CL <sub>50</sub> ).	80
<b>9</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS.</b>	91
<b>10</b>	<b>CONCLUSIONES.</b>	106
<b>11</b>	<b>GLOSARIO.</b>	108
<b>12</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b>	114

<b>13 APÉNDICE.</b>	118
Espectroscopía de IR.	118
Espectrometría de masas.	127
RMN <sup>1</sup> H.	136
RMN <sup>13</sup> C.	145
HETCOR.	154
FLOCK.	163
COSY.	164

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

CL <sub>50</sub>	Concentración Letal media.
COSY	Espectroscopía de correlación a 2 y 3 enlaces de distancia entre núcleos iguales. (2D)
DCM	Diclorometano.
DMSO	Dimetilsulfóxido.
EM	Espectrometría de masas.
EtOH	Etanol.
FLOCK	Espectroscopía de Correlación Múltiple. (2D) (A 2 y 3 enlaces de distancia entre núcleos diferentes).
GPO	Glutación peroxidasa.
HETCOR	Espectroscopía de Correlación Heteronuclear. (2D)
INDRE	Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
IR	Infrarrojo.
<i>L.</i>	<i>Leishmania</i> .
LC	Leishmaniasis Cutánea.
LCA	Leishmaniasis Cutánea Antroponótica.
LCD	Leishmaniasis Cutánea Difusa.
LCNM	Leishmaniasis Cutánea del Nuevo Mundo.
LCVM	Leishmaniasis Cutánea del Viejo Mundo.
LCZ	Leishmaniasis Cutánea Zoonótica.
LMC	Leishmaniasis Muco-Cutánea.

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

LV	Leishmaniasis Visceral.
NADP <sup>+</sup> /NADPH	Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina.
NQ's	Naftoquinonas.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
o-NQ's	orto-Naftoquinonas.
ppm	partes por millón.
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de <sup>13</sup> Carbono.
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup> Hidrógeno.
<i>sp.</i>	especie.
SOD	Superóxidodismutasa.
TMS	Trimetilsilano.
TRTc	Tripanotiona reductasa de <i>Tripanozoma cruzi</i> .

1

*RESUMEN*



## 1 RESUMEN

---

---

Las Leishmaniasis son enfermedades parasitarias producidas por el protozooario\* *Leishmania sp.* Son transmitidas por un insecto del género\* *Phlebotomus* (*Lutzomya* en América) que actúa como vector\*, ataca al hombre y a otros animales mamíferos afectando mucosas, vísceras y piel.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta hasta el año 1999 siete especies y once subespecies de este parásito y cada una de ellas provoca un cuadro clínico específico en los enfermos, por ello no existe un tratamiento general y eficaz para las Leishmaniasis. Las lesiones producidas son graves y en muchos casos llevan a la muerte.

Las regiones tropicales de todo el mundo son las principales zonas endémicas\* de Leishmaniasis.

Actualmente el tratamiento médico consiste en elevadas dosis de compuestos de antimonio pentavalente ( $Sb^V$ ) por períodos prolongados y en la mayoría de los casos no son efectivas.

Teniendo como antecedentes la actividad biológica de las quinonas, su efectividad como agentes antimicrobianos y su capacidad de presentar ciclos redox que pueden modificar el metabolismo en las células vivas, hemos propuesto una serie de ocho aminas derivadas de 2-metil-1,4-naftoquinona que han sido sintetizadas y caracterizadas por técnicas espectroscópicas con el propósito de crear posibles alternativas en el tratamiento de las Leishmaniasis.

Se ha realizando también un bioensayo frente *Artemia salina* el cual nos ha permitido determinar la Concentración Letal media de cada uno de los compuestos sintetizados.

---

\* Consultar Glosario

---

---

2

*INTRODUCCIÓN*



## 2 INTRODUCCIÓN

---

---

Las Leishmaniasis son enfermedades parasitarias provocadas por el protozoo *Leishmania sp.* y afectan principalmente al hombre. Se manifiestan con lesiones de tipo ulceroso en cara, orejas, manos e incluso todo el cuerpo.

Se tienen antecedentes que indican que *Leishmania* ha afectado al humano desde hace mucho tiempo. El primer caso reportado en la literatura data del año 1500 y actualmente se considera una enfermedad tropical grave a nivel mundial.

Las principales formas clínicas de esta enfermedad son Leishmaniasis Cutánea y Leishmaniasis Visceral, de las cuales se derivan una serie de cuadros clínicos diferentes dependiendo de la especie de *Leishmania* que la causa.

Las Leishmaniasis en México están distribuidas en 17 estados y están presentes en toda América Latina.

Los medicamentos que se administran para su tratamiento en elevadas dosis y por períodos prolongados son:

Estibogluconato de sodio (Pentostam®) y

Antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®)

Ante las recaídas y la falta de respuesta a los medicamentos antimoniales, se utilizan: Pentamidina, Anfotericina B y Alopurinol.

Existen compuestos como las quinonas, con propiedades redox que intervienen en el proceso de respiración en sistemas biológicos actuando como "transportadoras de electrones" y que conducen a la formación de radicales tóxicos de oxígeno, por este comportamiento, tales estructuras han demostrado cierta actividad biológica antiparasitaria.

---

---



## 2 INTRODUCCIÓN

---

---

Los ocho compuestos sintetizados y caracterizados que aquí se presentan pertenecen al grupo de 1,4 -naftoquinonas cuyo mecanismo de acción puede conducir a la producción de  $H_2O_2$ .

Estudios recientes han demostrado que el protozooario *Leishmania sp.* es deficiente en enzimas<sup>\*</sup> reductoras tales como catalasa y peroxidasa que son responsables de la eliminación de  $H_2O_2$  para producir  $O_2$  y  $H_2O$ . La baja concentración de estas enzimas tiene como consecuencia la acumulación de  $H_2O_2$  en el parásito provocando su muerte.

También se ha efectuado en este trabajo un estudio para la determinación de la Concentración Letal media ( $CL_{50}$ ) frente *Artemia salina*.

Este tipo de pruebas biológicas es la primera etapa por la cual debe pasar todo compuesto biológicamente activo para considerar qué toxicidad presenta en un sistema vivo en general y la *Artemia salina* ha sido utilizada para este fin desde 1956 por lo que ya se han estandarizado varios ensayos de este tipo.

Se efectuó el bioensayo con 2-metil-1,4-naftoquinona así como con sus ocho derivados que aquí hemos sintetizado.

Se encontró que todos los compuestos probados excepto uno, la 3-(p-nitrobenzilamino)menadiona, presentaron actividad biológica contra *Artemia salina*.

El compuesto más tóxico para la larva fue 2-metil-1,4-naftoquinona y el menos tóxico fue 3-(p-(trifluorometil)benzilamino) menadiona.

3

*IMPORTANCIA  
DEL TEMA*



### 3 IMPORTANCIA DEL TEMA

---

---

Las Leishmaniasis son enfermedades que han causado la muerte de millones de seres humanos ya que existen en todo el mundo; la OMS considera a este grupo de parasitosis como una de las seis enfermedades tropicales de mayor importancia y establece que es un problema grave de salud pública, reconociendo que en muchos países no se le da la importancia debida y es considerada una enfermedad de la pobreza.

Dentro de las principales causas que incrementan el número de enfermos están la deforestación y el asentamiento de poblaciones en zonas consideradas hábitat natural del vector que transmite esta enfermedad.

En gran medida, las Leishmaniasis se propagan debido a la migración.

Las actividades relacionadas con la transmisión de la enfermedad son: el corte de madera, la recolección de quina y chicle, la construcción de caminos y la exploración petrolera.

Las lesiones que provoca la *Leishmania* duran mucho tiempo y, además de la infección en sí misma, en condiciones tropicales es imposible evitar las infecciones secundarias por bacterias y hongos lo que puede mermar seriamente la capacidad de trabajo en los individuos afectados.

Los tratamientos médicos actuales no solo son costosos sino demasiado prolongados y en la mayoría de los casos resultan ineficaces requiriendo dosis muy elevadas de compuestos de antimonio pentavalente ( $Sb^V$ ); se agrega a lo anterior una gran lista de efectos secundarios como respuesta a tratamientos tan largos.

Las Leishmaniasis que se padecen en América Latina son: Leishmaniasis Visceral (LV), Leishmaniasis Cutánea (LC), Leishmaniasis Muco-Cutánea (LMC) y Leishmaniasis Cutánea Difusa (LCD).



### 3 IMPORTANCIA DEL TEMA

---

---

Desgraciadamente en México existen casos de todas ellas según reportes del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE).

La población afectada es la de más bajos recursos y por ello un número impresionante de individuos infectados no se atienden médicamente y lo que resulta más grave es que muchos de ellos no están enterados de que padecen esta enfermedad.

Es por ello que en el presente trabajo se sintetizaron ocho nuevos compuestos derivados de 2-metil-1,4-naftoquinona, que por sus propiedades redox esperamos que resulten tóxicos para el parásito de *Leishmania*, con el propósito de crear nuevas alternativas de tratamiento médico para combatir las Leishmaniasis.

4

*ANTECEDENTES*



### 4.1 LEISHMANIASIS

Es una enfermedad parasitaria producida por varias especies\* de protozoarios flagelados\* del género *Leishmania sp.* que afecta piel, mucosas y vísceras<sup>1</sup>, ataca principalmente al hombre y a otros animales mamíferos domesticados y silvestres. Se transmite por la picadura de la hembra de un insecto vector durante su hematofagia\*<sup>2</sup>.

### 4.2 HISTORIA

#### 4.2.1 EN EL VIEJO MUNDO<sup>2</sup>

- La primera descripción de Leishmaniasis data del año 1500 en Irak.
- En 1885 Altounyan publicó un trabajo sobre el padecimiento de esta enfermedad en Siria.
- En 1898, Piotr F. descubrió el agente causal de Leishmaniasis Cutánea.
- En 1903 Leishman describió los parásitos causantes de Leishmaniasis Visceral, y en su honor se creó el género *Leishmania*.
- En 1904 se descubrió la forma flagelada (promastigote) mediante un cultivo del parásito en sangre humana.
- En 1911 se estableció que el flebótomo\* es el transmisor de las Leishmaniasis.

#### 4.2.2 EN EL NUEVO MUNDO<sup>2</sup>

- Se tienen reportes desde 1788 en Perú, que describen las lesiones características de Leishmaniasis.
  - En 1885, se determinó que era la misma enfermedad que se padecía en el oriente y en 1909 se encontraron parásitos en las lesiones de los pacientes, todo esto sucedió en Brasil.
- 
-



- En 1911, Vianna G. Denota las diferencias clínicas entre las Leishmaniasis americanas y las de oriente para así definir el agente etiológico\* que las causa en América.

#### 4.2.3 LEISHMANIASIS EN MÉXICO <sup>2</sup>

Según escritos de los primeros franciscanos que llegaron a Yucatán, encontraron numerosos indígenas con "las orejas podridas", sin embargo, fue hasta 1912 que las Leishmaniasis fueron descritas en México y desde entonces se les ha llamado "úlceras de los chicleros".

En 1942 se hizo el primer estudio epidemiológico mexicano y desde entonces un sin fin de casos han sido reportados año con año en gran parte de la República Mexicana.

#### 4.3 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *Leishmania* EN MÉXICO <sup>3,4</sup>

Fig.1



Las Leishmaniasis en México están distribuidas en al menos 17 estados: Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Yucatán, Chiapas, Veracruz, Tabasco, Campeche, Quintana Roo, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco, Nayarit, San Luis Potosí, Morelos y Puebla.

- *Leishmania mexicana mexicana.*
- *Leishmania brasiliensis brasiliensis.*
- *Leishmania donovani.*



El mapa en la **fig. 1** representa la distribución geográfica de las especies de *Leishmania* en México.

**Fig. 2**

- *Leishmaniasis Cutánea*
- *Leishmaniasis Cutánea Difusa*
- *Leishmaniasis Visceral*
- *Leishmaniasis Mucocutánea*
- *Leishmaniasis causada por L. braziliensis*



El mapa en la **fig. 2** representa la distribución geográfica de las especies de las Leishmaniasis en México.

#### 4.4 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *Leishmania* EN EL MUNDO <sup>3,4</sup>

**Fig. 3**

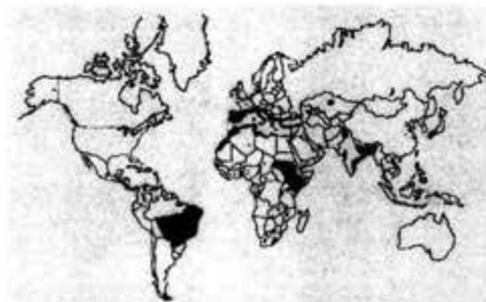


**En América:** Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, E.U.A. (Texas), Guatemala, Guyana Francesa, Guyana, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, República Dominicana, Trinidad y Tobago y Venezuela.



El mapa en la **fig. 3** representa la distribución geográfica de las Leishmaniasis Cutánea y Muco-cutánea en el mundo.

**Fig. 4**



**En el resto del mundo:** Afganistán, Albania, Angola, Arabia Saudita, Argelia, Bangladesh, Birmania, Botswana, Bulgaria, China, Chipre, Egipto, España, Etiopía, Francia, Gambia, Grecia, Guinea, India, Indonesia, Irán, Iraq, Israel, Italia, Japón, Jordania, Kenya, Kuwait,

Libano, Malta, Marruecos, Mauritania, Mongolia, Mozambique, Namibia, Nepal, Niger, Nigeria, Omán, Pakistán, Portugal, Siria, República del Camerún, República Popular Democrática de Corea, Tanzania, Rumania, Rwanda, Senegal, Somalia, Sudáfrica, Sudán, Tongo, Túnez, Turquía, Uganda, Yugoslavia, Zaire, Zambia y Zimbawe.

El mapa en la **fig. 4** representa la distribución geográfica de Leishmaniasis Visceral en el mundo.

#### **4.5 FORMAS CLÍNICAS DE LAS LEISHMANIASIS <sup>3,4</sup>**

Las Leishmaniasis se dividen principalmente en dos grupos que son:

*LEISHMANIASIS VISCERAL (LV) y LEISHMANIASIS CUTANEA (LC); a*

---



partir de estos se derivan formas clínicas de la enfermedad que dependen de la especie del parásito que la causa.

### 4.5.1 LEISHMANIASIS VISCERAL (LV).

La LV es causada por *Leishmania donovani* y subespecies y se clasifica en: LV endémica, LV esporádica y LV epidémica.

LV endémica: esta enfermedad afecta principalmente a niños de 1 a 9 años de edad en la zona del Mediterráneo, Asia sudoriental, China, América Latina, África oriental y la India. El número de hombres infectados es el doble que de mujeres. El período de incubación del protozoo oscila entre 10 días y más de un año.

Los síntomas más frecuentes son: fiebre, pérdida de peso, anorexia\*, esplenomegalia\* indolora a la presión, hepatomegalia\* y linfadenopatía\*. Todo esto da por resultado malnutrición, edema\* y alteraciones de piel y cabello e infecciones oportunistas como neumonía, disentería y tuberculosis pulmonar. En la India es frecuente el oscurecimiento de la piel de cara, manos, pies y abdomen, por ello es conocida como **kala-azar** que significa enfermedad negra.

LV esporádica: Puede ser contraída por toda persona no nativa y de cualquier edad que penetre en una zona endémica. Los síntomas pueden ser escalofríos, fiebre alta, sudoraciones y rápida pérdida de peso, anemia\* hemolítica\* aguda grave, lesión renal aguda y hemorragia intensa de las mucosas.

LV epidémica: Son susceptibles a esta enfermedad personas de cualquier edad excepto quienes ya hayan sido infectados en una epidemia

---



anterior. En hombres la infección es más frecuente que en mujeres en una proporción 4:3.

### 4.5.2 LEISHMANIASIS CUTANEA (LC).

La LC se divide en dos grupos que son: Leishmaniasis Cutánea del Viejo Mundo (**LCVM**) y Leishmaniasis Cutánea del Nuevo Mundo (**LCNM**).

La **LCVM** es causada principalmente por tres especies de *Leishmania*: *L.trópica*, *L. major* y *L.aethiopica*.

*Leishmania trópica*: Esta especie da origen a la Leishmaniasis Cutánea Antroponótica\* o urbana (LCA), sus principales síntomas son ulceraciones indoloras de la piel que con frecuencia dejan cicatrices desfigurantes. Las úlceras secas suelen curarse espontáneamente en un año. El período de incubación de esta especie en el individuo infectado es de 2 a 8 meses.

*Leishmania major*: Produce la Leishmaniasis Cutánea Zoonótica\* o rural (LCZ). Los síntomas son lesiones indoloras que se inflaman y ulceran intensamente y dejan grandes cicatrices que no solo son desfigurantes sino que en muchos de los casos son incapacitantes. El período de incubación de esta especie en el individuo infectado es de 4 meses.

*Leishmania aethiopica*: Esta especie es responsable de Leishmaniasis Cutánea Difusa (LCD) que se caracteriza por un engrosamiento de la piel, pápulas o nódulos\* múltiples en la cara y superficies exteriores de los miembros (**fig. 5**) que se asemejan a la lepra lepromatosa, no hay ulceración ni afecta a las mucosas. No cura espontáneamente y por lo general suele haber recaída después del tratamiento.



**Fig. 5** Leishmania Cutánea Difusa en cara y cuerpo.



La **LCNM** es causada por ocho complejos de diferente especie de *Leishmania* y como su nombre lo indica, se presentan solo en América: *L. brasiliensis brasiliensis*, *L. brasiliensis guyanensis*, *L. brasiliensis panamensis*, *L. mexicana mexicana*, *L. mexicana amazonensis*, *L. mexicana venezuelensis*, *L. mexicana garnhami* y *L. peruviana*. Las leishmaniasis que causan estos complejos, presentan una serie de ulceraciones que pueden ser únicas o múltiples, en algunos caso indoloras durante las primeras etapas de la enfermedad, en otros, se vuelven lesiones tumorales que forman metástasis\* a lo largo del sistema linfático\* y muy raras veces, curan espontáneamente.

En un 80% de los casos originados por *L. brasiliensis brasiliensis*, *L. brasiliensis guyanensis* y *L. brasiliensis panamensis* aparece otra variante de la enfermedad llamada Leishmaniasis Muco-Cutánea (LMC) o espundia (**fig. 6**) debido a que después de las lesiones cutáneas primarias hay



**Fig. 6**

propagación metastática a la mucosa oronasal/faríngea de la cual se destruye progresivamente el tejido blando y el cartilago debido a la ulceración y erosión, hinchando nariz y labios durante todo el proceso.

Las lesiones no curan espontáneamente y son muy dolorosas, se presentan infecciones secundarias en todos los casos y finalmente la muerte se produce por bronconeumonía y/o malnutrición.

Las Leishmaniasis son infecciones oportunistas en sujetos con supresión de la inmunidad celular\*.

Es importante mencionar que *Leishmania sp.* se encuentra dentro de las células del huésped y de este modo tiene un mecanismo de defensa ante la respuesta inmunitaria\*<sup>5</sup>.

La OMS considera que las Leishmaniasis son endémicas en las regiones tropicales y subtropicales de 88 países.

Se calcula una prevalencia mundial de 12 millones de casos y se cree que la incidencia anual oscila entre 1.5 - 2 millones de nuevos casos para la LC y 500,000 nuevos casos para la LV. Sin embargo, es solo una estimación ya que desgraciadamente las Leishmaniasis son de declaración obligatoria en tan sólo 40 de los 88 países endémicos<sup>6</sup>.

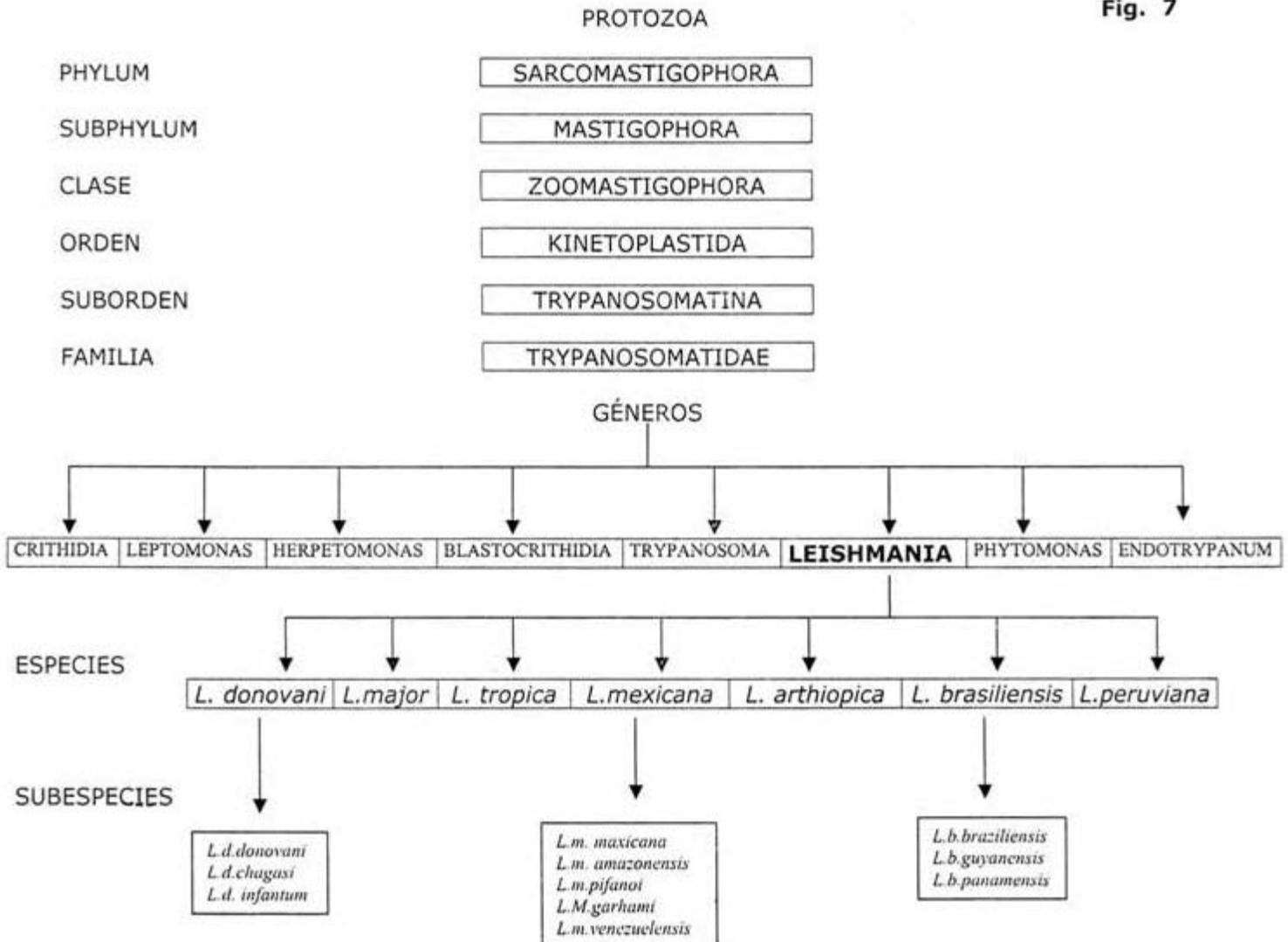
#### **4.6 TAXONOMÍA\* DE LEISHMANIA<sup>2</sup>**

La **fig. 7** esquematiza la clasificación taxonómica del protozoario *Leishmania*.

Taxonomía de las especies conocidas de *Leishmania* que parasitan al hombre.

Fig. 7

14





### 4.7 SISTEMA ECOLÓGICO <sup>3,4</sup>

El sistema ecológico que mantiene indefinidamente las especies de *Leishmania* se compone por huéspedes reservorios en los que, generalmente, no se expresa la enfermedad y los vectores (*phlebotomus* y *lutzomya*) que diseminan\* la enfermedad.

### 4.8 RESERVORIOS <sup>3,4</sup>

Las Leishmaniasis han sido clasificadas en dos grandes grupos considerando los huéspedes reservorios que ocupan:

- 1) Leishmaniasis zoonóticas cuyos huéspedes reservorios son animales salvajes, comensales\* o domésticos.
- 2) Leishmaniasis antroponóticas en las que el huésped reservorio es el humano.

Los mamíferos domésticos o selváticos infectados por *Leishmania* pueden o no mostrar signos evidentes de la infección, esto se debe a que los parásitos presentes en la piel y vísceras son escasos y la respuesta del huésped es muy poca o nula; la excepción son los perros que son considerados huéspedes reservorios naturales de LV y generalmente mueren por la infección.

Para que un animal actúe como reservorio debe ser muy abundante y longevo\* para construir una fuente apreciable de alimento para los vectores y debe haber un intenso contacto entre ambos reservorio y vector.

En el caso del hombre, éste interviene directamente como reservorio en dos formas de la enfermedad: LV causada por *L. donovani* y LC causada por *L. tropica*.



Animales reservorios más comunes: Los principales son una amplia variedad de roedores que incluyen a la rata doméstica, y se ha demostrado que es reservorio de cuando menos tres especies diferentes de *Leishmania*, también son reservorios los perros y frecuentemente zorros, chacales, tejones, lobos, mapaches, perezosos, hormiguero y zarigüeya.

### 4.9 VECTORES <sup>3,4</sup>

Los vectores de *Leishmania* son unos pequeños mosquitos pilosos, miden [3-5] mm de longitud y son clasificados dentro del género *Phlebotomus* en el viejo mundo y *Lutzomya* en el nuevo mundo, de ambos se han encontrado casi 500 especies en todo el mundo.



En México, estos mosquitos son conocidos como "jejenes" o "papalotillas" (**Fig. 8**).

Para proliferar estos insectos necesitan un clima con humedad no excesiva; sobreviven en temperaturas frías; son capaces de satisfacer sus necesidades básicas en casi todo el mundo ya que su alimentación consiste en líquidos con azúcares vegetales.

**Fig. 8**

Las hembras adultas, pero no los machos, necesitan ingerir sangre de vertebrados (hematofagia).

Cada hembra del flebotomo pone de 50 a 100 huevos en cada oviposición, desde este momento transcurren de 35 a 60 días para que los adultos puedan emerger.

Las hembras que se alimentan de sangre son activas día y noche.

---

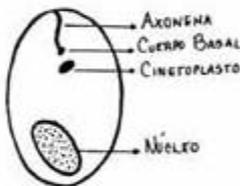


Todas las formas de Leishmaniasis humanas son transmitidas por la picadura del insecto hembra, aplastando los insectos contra la piel, tragándolos accidentalmente o bien, por trasplantes y transfusiones sanguíneas.

#### 4.10 CICLO BIOLÓGICO DE *Leishmania sp.*

En su ciclo biológico, *Leishmania sp.* pasa por dos estadios\* que son **amastigote y promastigote**.

El primer estadio es el **amastigote (fig. 9)**.



**Fig. 9**

En esta etapa el parásito es intracelular, no tiene flagelo, es redondo con un diámetro aproximado de [2-5]  $\mu\text{m}$  y posee un núcleo excéntrico; esta forma se observa en el huésped reservorio y en el individuo infectado pero muy raras veces en medios de cultivo\*.

El segundo estadio es el **promastigote (fig. 10)**.

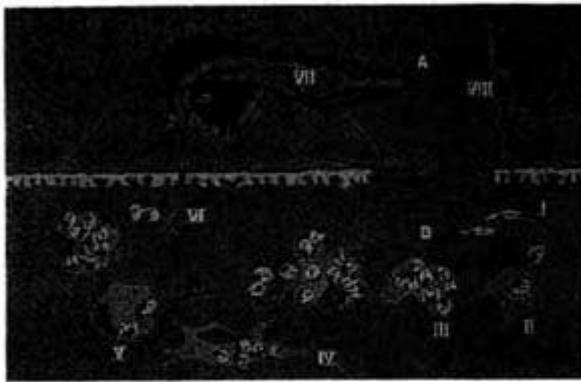


**Fig. 10**

En esta etapa el parásito es extracelular, ovalado, con un diámetro aproximado de [15-20]  $\mu\text{m}$ , es flagelado y su núcleo se haya en el centro de la célula. Solo se observa en los insectos vectores y en medios de cultivo ya que en el ser humano no se encuentran en forma significativa. Los promastigotes son la forma infectiva del protozooario para los animales vertebrados <sup>7,8</sup>.



El ciclo comienza cuando el flebótomo hembra se alimenta de la sangre de un huésped reservorio de *Leishmania sp.* y los amastigotes ingeridos con la sangre se dirigen al sistema digestivo del insecto, la transformación en promastigotes se lleva a cabo en el intestino del mosquito y es ahí donde comienza la división celular intensa del parásito (**Fig. 11**).



**Fig. 11**

Los promastigotes migran después a la cabeza del flebótomo y colonizan la faringe, y debido a que poseen un sistema motriz son capaces de invadir también la boca y por lo tanto, los parásitos son depositados en la piel del

siguiente individuo del cual el flebótomo se alimenta. También el flebótomo puede transmitir los parásitos por sus heces fecales debido a que cuando se alimenta invariablemente defeca sobre la piel del individuo y este, al rascarse, ayuda a que los protozoarios se introduzcan por la picadura.

Una vez que los promastigotes entran al torrente sanguíneo del nuevo individuo infectado, invaden los macrófagos\* perdiendo el flagelo y transformándose de nuevo en amastigotes, ahí se dividen hasta romper la célula y contaminar la sangre, dejando en libertad microorganismos que serán fagocitados\* por otras células diseminando la infección a diferentes



órganos. El ciclo se cierra cuando este individuo es picado por el flebótomo hembra <sup>2,3,4</sup>.

### 4.11 DIAGNÓSTICO <sup>2,3,4</sup>

El diagnóstico se establece mediante la demostración de la existencia de los parásitos, los amastigotes logran visualizarse en *frotis*<sup>\*</sup>, *improntas*<sup>\*</sup> o *biopsias*<sup>\*</sup> y los promastigotes por crecimiento en cultivos.

El diagnóstico de laboratorio de las leishmaniasis se basa en la aplicación conjunta de métodos de diagnóstico directos e indirectos.

El método directo comprende **la observación del parásito**, es el mejor sistema para proceder al diagnóstico de la leishmaniasis. Para ello debe efectuarse la obtención de muestras y, posteriormente, su observación al microscopio aplicando previa tinción con los colorantes habitualmente empleados en hematología<sup>\*</sup>.

La toma de muestras puede realizarse por varios métodos:

- Mediante un simple raspado de la lesión.
- Efectuando incisiones de algunos milímetros sobre la lesión hasta alcanzar la dermis<sup>\*</sup> y efectuar un raspado.
- Biopsia con aguja.

**Punción esplénica:** consiste en realizar una biopsia en el bazo<sup>\*</sup> dada la localización preferencial de los parásitos en este lugar, suele dejarse como último recurso por los riesgos asociados.

**Aspirado de médula osea:** Es el método más utilizado, tanto por su facilidad y seguridad de ejecución como por su sensibilidad realizado por punción esternal en los adultos y de cresta ilíaca en los niños.

---

---



## 4 ANTECEDENTES

---

---

El parásito también puede buscarse en la sangre periférica o en la capa de leucocitos\*, hígado, tracto gastrointestinal, nódulos linfáticos, líquido pleural\*, etc.

**Frotis de sangre periférica:** efectuando un frotis de sangre periférica a las lesiones o úlceras, éste es positivo en un 50% de los casos.

El **cultivo** de las leishmanias es una técnica auxiliar para el diagnóstico directo, ya que permite el aislamiento del parásito y facilita su detección.

La **inoculación\*** en animales de experimentación, realizada habitualmente en el hámster dorado y por vía intraperitoneal\*, puede ser de gran utilidad en el caso de cepas de difícil crecimiento o de inóculos contaminados. Esta técnica presenta, sin embargo, el grave inconveniente de su tardía positivización, ya que la investigación de los parásitos, generalmente en el bazo del animal, requiere unos 2-3 meses desde la inoculación.

**Xenodiagnóstico\*:** Esta técnica consiste en dejar que insectos procedentes de una colonia de laboratorio piquen e ingieran sangre de un posible paciente para, al cabo de unos días, proceder a su disección y observar la posible presencia de *Leishmania* en su tubo digestivo; debido a que presenta algunos inconvenientes, es una técnica aplicable únicamente en centros de referencia capacitados.

El diagnóstico indirecto de las Leishmaniasis se basa en la puesta en evidencia de la respuesta inmune del hospedador, de tipo celular.

La prueba indirecta más utilizada para el diagnóstico de la leishmaniasis cutánea es la **intradermorreacción de Montenegro**, la cual consiste en la inoculación intradérmica de la solución de *Leishmania* que es una suspensión estéril de promastigotes lisados\*, fenicada y tamponada.



## 4 ANTECEDENTES

---

La lectura, por la técnica del bolígrafo, se realiza a las 48-72 h de la inoculación y se considera positiva cuando aparece una induración\* de un diámetro igual o superior a los 5 mm. La interpretación de los resultados debe efectuarse teniendo en cuenta que, en una zona endémica, esta prueba resulta positiva en aquellas personas que han tenido un contacto con el parásito, resultara del mismo un cuadro clínico o una infección inexistente. Por otro lado, se han detectado reacciones falsamente positivas en casos de lepra, tuberculosis, epiteloma\* maligno o *larva migrans*.

Para el **diagnóstico serológico\* de la leishmaniosis visceral** se dispone de una amplia gama de técnicas en las que el antígeno\* utilizado procede casi siempre de promastigotes de *Leishmania* obtenidos de cultivos. Debe tenerse en cuenta que las leishmanias presentan fracciones antigénicas compartidas con otros parásitos kinetoplástidos, pudiendo existir reacciones cruzadas entre ambos dando positivo para enfermos de amebiosis\*, paludismo\*, tuberculosis, toxoplasmosis\*, lepra y otras enfermedades infecciosas.

La OMS recomienda la utilización conjunta de dos o más pruebas para incrementar la sensibilidad.

### 4.12 TRATAMIENTO <sup>9</sup>

En 1908 fue demostrado el efecto tripanocida del tártaro emético y comenzó a utilizarse en el tratamiento de LC en Brasil en 1912 y para LV en Italia en 1915, sin embargo, resultó ser muy tóxico y de difícil administración terapéutica. En 1948 comenzaron a utilizarse los compuestos de antimonio pentavalente como tratamiento contra *Leishmania sp* .



## 4 ANTECEDENTES

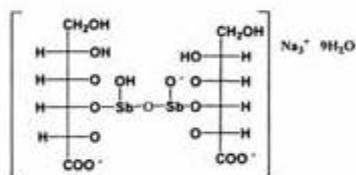
---

La OMS <sup>3,4</sup> reporta que en todas las formas de Leishmaniasis, excepto en los casos de LCD, el medicamento de elección es el antimonio pentavalente y es imprescindible un tratamiento sistémico\* prolongado. Sin embargo, se recomienda que antes de efectuar cualquier tratamiento se disponga de la confirmación parasitológica.

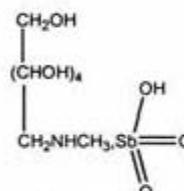
Las principales presentaciones del antimonio pentavalente son:

Estibogluconato de sodio (Pentostam®)

Antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®)



**Estibogluconato de sodio**



**Antimoniato de N-metilglucamina**

Debido a que el Sb<sup>V</sup> tiene una rápida excreción\* renal los tratamientos suelen ser prolongados y sin períodos de descanso.

Leishmania visceral (LV).

La dosis general recomendada oscila entre 10-20 mg/Kg de peso corporal de Sb<sup>V</sup> aplicadas mínimo por 20 días.

Para estos casos, los efectos secundarios que se presentan como respuesta al tratamiento son: anorexia, vómito, náuseas, mialgia\*, dolor de cabeza, letargia\*.

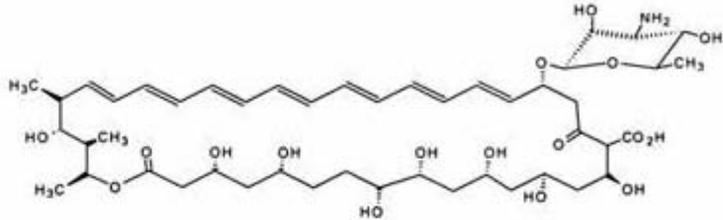


## 4 ANTECEDENTES

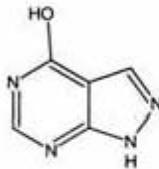
---

---

Ante las recaídas y la falta de respuesta a los medicamentos antimoniales, se utilizan: Pentamidina, Anfotericina B y Alopurinol <sup>10,11</sup>



**Anfotericina B**



**Alopurinol**

Dada su toxicidad y menor eficacia solo deben emplearse cuando no hay otra posibilidad.

Dosis aplicada y efectos secundarios:

**Pentamidina.-** Se administra en dosis de 4 mg/Kg de peso corporal por un período de [5-25] semanas. Efectos secundarios: dolores localizados, abscesos estériles, náuseas, vómito, dolor abdominal, hipotensión\*, síncope\*, hipoglucemia\* y diabetes mellitus\*.

**Anfotericina B.-** Se administra diariamente por infusión intravenosa. La dosis oscila entre [0.5-1] mg/Kg de peso corporal/día. Efectos secundarios: anorexia, náuseas, vómito, tromboflebitis\* localizada, fiebre y escalofríos, aumento de urea y creatina\* en la sangre y anemia.

---

---



## 4 ANTECEDENTES

---

**Alopurinol.-** Se administran de [6-10] mg/Kg de peso corporal 3 veces al día durante 6 semanas.

Causa erupción cutánea, fiebre, leucopenia\* y hepatitis.

### Leishmaniasis Cutánea

Es necesaria la confirmación parasitológica en el diagnóstico.

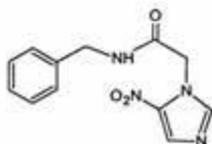
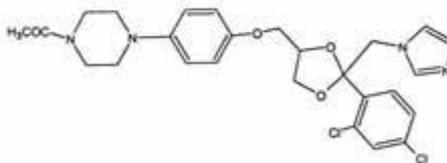
Una vez confirmado, se administra estibogluconato de sodio o antimonio de N-metilglucamina ya que LC responde con rapidez a los compuestos antimoniales <sup>3,4</sup>.

Esporádicamente han dado buenos resultados la rifampicina y la isoniazida.

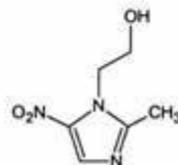
Se ha demostrado que miconazol y lovastatin inhiben la proliferación de promastigotes *in vitro* de *L.amazonensis* y *L.donovani*<sup>12</sup>.

Se han empleado también Ketoconazol, Benznidazol y Metronidazol; pero solo han funcionado en casos muy específicos <sup>12</sup>.

### Ketoconazol



**Benznidazol**



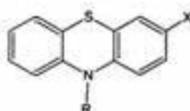
**Metronidazol**



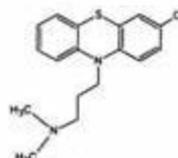
## 4 ANTECEDENTES

---

La clorpromazina y otras fenotiazinas también han demostrado cierta actividad contra casos específicos de *Leishmania* <sup>12</sup>.



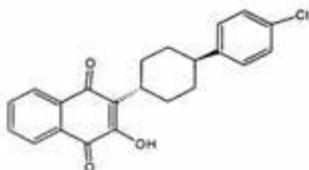
**Fenotiazina**



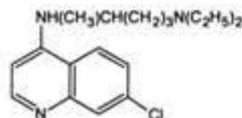
**Clorpromazina**

La Atovaquona que es una hidroxinaftoquinona, la Cloroquina y la Mepacrina son antimalaricales que han mostrado una actividad biológica mayor a la que presenta la quinina, han sido recomendados para tratamiento de leishmania <sup>12</sup>.

Otros compuestos que han demostrado actividad tripanocida contra *Trypanosoma cruzi* son la  $\beta$ - lapachona y los nitrofuranos derivados de Nifurtimox y se presume que también serán activos contra leishmania <sup>12</sup>.

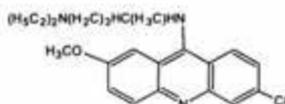


**Atovaquona**



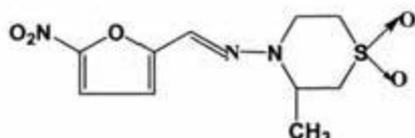
**Cloroquina**

### **Mepacrina**

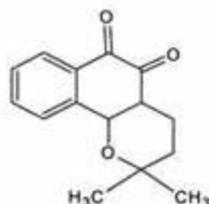




### Nifurtimox



### $\beta$ -Lapachona



Peters y colaboradores <sup>13</sup> establecen que, en general, los principales fármacos con actividad tripanocida presentarán una significativa actividad leishmanicida y solo mostrarán una variación en los niveles de actividad según cada especie individual que cause la infección.

### 4.13 IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE LAS NQ's

#### 4.13.1 ACCIÓN DE LAS QUINONAS Y NQ's EN EL METABOLISMO\* DE CÉLULAS VIVAS.

Las NQ's son una valiosa clase de compuestos que han sido utilizados como agentes antimaláricos, antituberculosis, antibacterianos, antitumorales, larvicidas, molusquicidas, hervicidas, fungicidas y también inhiben el crecimiento y la síntesis de proteínas, DNA y RNA de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas; tienen utilidad clínica en el tratamiento de leucemia\* y cáncer de próstata <sup>14</sup>. Dicha actividad biológica se ha explicado gracias a sus propiedades redox, ya que las NQ's se reducen con facilidad a naftohidroquinonas y éstas, a su vez, se reoxidan de nuevo a NQ's (**fig. 11**).

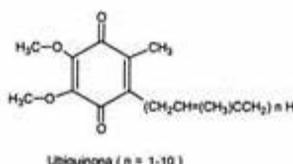


**Fig. 11**



## 4 ANTECEDENTES

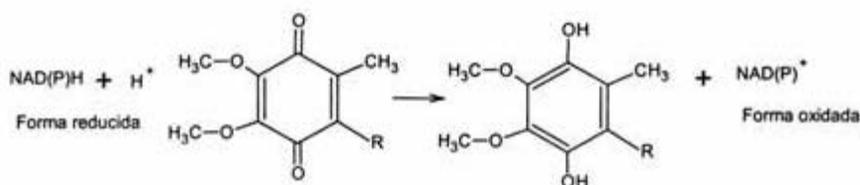
Las propiedades redox de las Quinonas son importantes para el funcionamiento de las células vivas, donde ciertos compuestos llamados *ubiquinonas* (**fig. 12**) actúan como agentes oxidantes bioquímicos para mediar en los procesos de transferencia de electrones que participan en la producción de energía. Las *ubiquinonas* llamadas también *coenzimas Q* son componentes de las células de todos los organismos aerobios, desde la bacteria más simple hasta los humanos <sup>15</sup>.



**Fig. 12**

La función de las ubiquinonas dentro de las mitocondrias\* de las células es mediar el proceso de respiración\* en que se transporta a los electrones del agente reductor biológico NAD(P)H al oxígeno molecular. Aunque el proceso general comprende una serie compleja de etapas, el resultado es un ciclo donde NAD(P)H se oxida a NAD(P)<sup>+</sup>, el O<sub>2</sub> se reduce a agua y se produce energía. La ubiquinona solo actúa como intermediario y permanece inalterada <sup>15</sup> como se muestra en el siguiente proceso.

### Paso 1

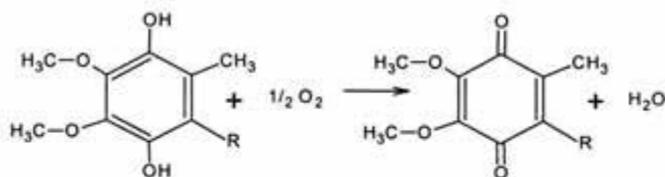




## 4 ANTECEDENTES

---

Paso 2



Cambio neto:



### 4.13.2 COFACTORES\*: REACTIVOS QUÍMICOS PARA LAS TRANSFORMACIONES BIOLÓGICAS

#### **NAD(P)H**

Los cofactores son los equivalentes biológicos de los reactivos de laboratorio, excepto que los primeros siempre se reciclan. Los cofactores son moléculas complejas que funcionan en combinación con enzimas. Las enzimas actúan como catalizadores para controlar la velocidad de las transformaciones biológicas y, como tales, permanecen intactas como resultado de una reacción y al final de las transformaciones se debe regenerar de nuevo el cofactor original.

Uno de los cofactores más comunes que funcionan como agentes reductores bioquímicos es el NAD(P)H **Fosfato de Dinucleótido de nicotinamida y adenina, (Fig.13)** cuando se haya en su forma reducida actúa de manera formal como agente de transferencia de hidruro. No obstante su complejidad estructural, este cofactor se comporta químicamente como los hidruros metálicos complejos <sup>16</sup>.



## 4 ANTECEDENTES

Los dos procesos principales en el metabolismo de una célula viva son la degradación y la síntesis de macromoléculas tales como: proteínas, carbohidratos y lípidos. El primero, es un proceso exotérmico puesto que se transforman moléculas complejas en sencillas; un claro ejemplo es la **vía glucolítica** que consiste en la oxidación de glucosa a piruvato. El segundo es endotérmico ya que parte de moléculas simples hasta sintetizar macromoléculas, por ejemplo, **la glucoogénesis** vía en la que se sintetiza glucógeno\* a partir de glucosa. En ambos procesos se requiere del almacenamiento y transferencia de energía respectivamente, energía que debe estar disponible en todo momento que la célula así lo requiera. Como ya se ha dicho, la pareja de oxidación reducción  $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$  se encarga de dicho almacenamiento temporal y de la transferencia de energía, aceptando energía cuando la molécula reducida se forma y liberándola cuando esa misma forma se utiliza para reducir otros compuestos <sup>17,18</sup>.

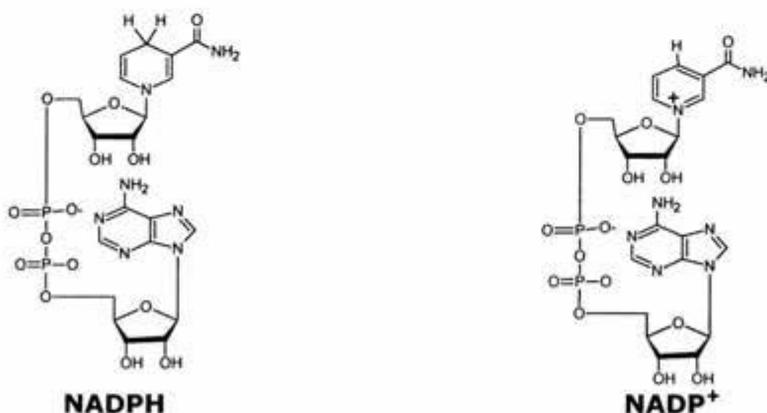


Fig. 13



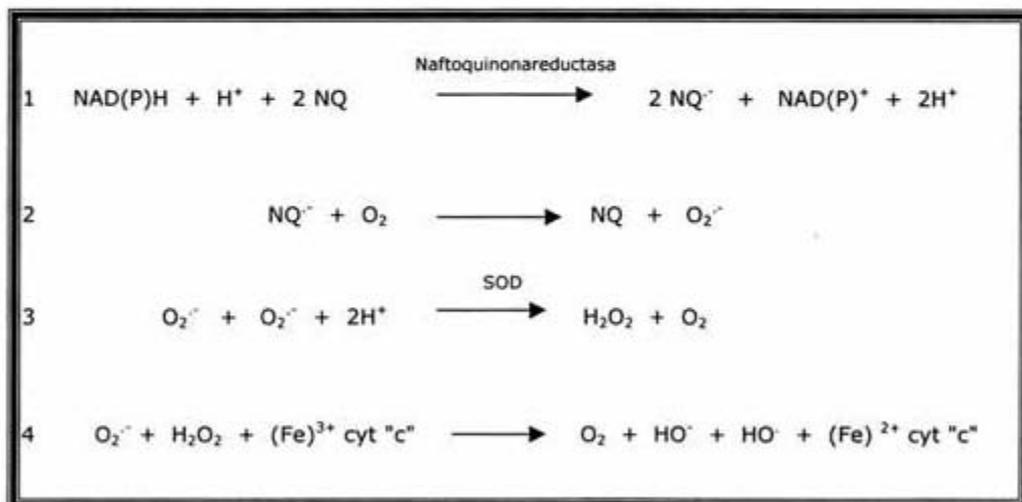
## 4 ANTECEDENTES

Todo lo anterior aplica a *Leishmania sp.* y *Trypanosoma sp.* ya que ambos géneros son protozoarios, células eucariontes\* y aerobias<sup>17,18</sup>.

Ya que una serie de NQ's han sido probadas contra el género *Trypanosoma* mostrando efectividad, se proponen como agentes leishmanicidas debido a la similitud metabólica y utilizando como una ventaja la deficiencia de enzimas reductoras en ambos parásitos<sup>19,20</sup>.

Con tales antecedentes, se propone un mecanismo de acción de las NQ's en el metabolismo de *Leishmania sp.*

### 4.14 MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS 1,4-NAFTOQUINONAS EN SISTEMAS BIOLÓGICOS



El paso 1 del mecanismo de acción consiste en la formación del radical  $\text{NQ}^{\cdot -}$  por acción del  $\text{NAD(P)H}$  que actúa como agente reductor oxidándose a  $\text{NAD(P)}^+$ .



## 4 ANTECEDENTES

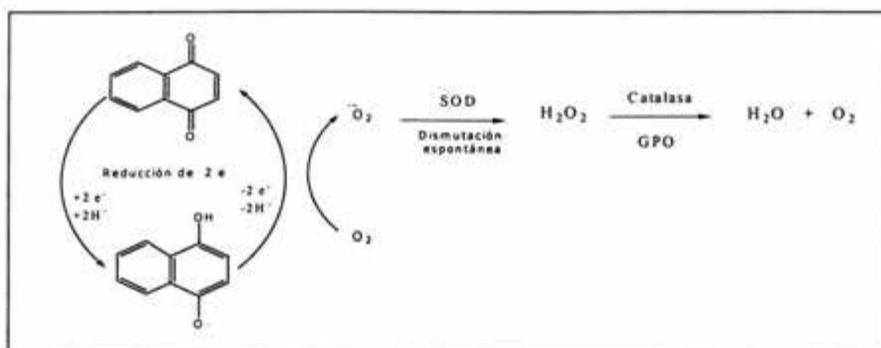
En el paso 2 en sistemas biológicos aerobios, el radical  $NQ^{\cdot-}$  se oxida rápidamente para regenerar la  $NQ$ , dando paso a la formación del radical anión superóxido.

Como mecanismo de autodefensa, el sistema biológico libera la enzima (SOD) que cataliza la reacción entre radicales superóxido que son altamente reactivos, para producir  $H_2O_2$  como lo muestra el paso 3.

Finalmente, en el paso 4 de este mecanismo, el citocromo "c" ubicado en la cadena de transporte de electrones del proceso de respiración <sup>17</sup>, actúa como agente oxidante al pasar de  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  provocando la formación del radical oxhidrilo  $HO^{\cdot}$

El punto crítico de este mecanismo de acción para *Leishmania sp.* es el paso N° 3 donde se produce  $H_2O_2$  ya que este no puede ser degradado eficientemente a  $O_2$  y  $H_2O$  (**Fig. 14**), puesto que el parásito mantiene en su organismo muy bajas concentraciones de las enzimas catalasa y GPO que son las responsables de catalizar esta reacción <sup>13</sup>.

### MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS $NQ$ 's EN LAS CÉLULAS VIVAS



**Fig. 14**



### 4.15 ACTIVIDAD TRIPANOCIDA DE LAS NQ's

Stoppani y colaboradores <sup>21</sup> demostraron los ciclos redox de una serie de NQ's apoyados en sistemas enzimáticos, midiendo la producción del radical semiquinona, del anión superóxido y de peróxido de hidrógeno. Sustentados en lo anterior, determinan la actividad tripanocida de o-NQ's como la  $\beta$ -lapacona en *Crithidia fasciculata* y *Leptomonas seymouri*.

Los resultados indican que la enzima SOD se encuentra a concentraciones muy elevadas en comparación con la enzima catalasa en ambas especies y por esta razón cuando son administradas las NQ's, la reacción de producción de  $H_2O_2$  supera en mucho a la reacción de degradación del mismo, aumentando su concentración en el organismo del parásito inhibiendo así su crecimiento e incluso causándole la muerte.

Laurence y colaboradores <sup>22</sup> sintetizan poliaminas y poliamidas derivadas de 1,4-NQ's demostrando que tales compuestos pueden actuar como inhibidores de la tripanotiona reductasa de *Tripanosoma cruzi* (TRTc).

Para medir el efecto de inhibición que causan las NQ's sobre dicha enzima, se emplea como prueba un inhibidor competitivo\* de TRTc, este es comparado con el comportamiento de las NQ's probadas obteniendo que la mayoría de estos compuestos presenta una inhibición no competitiva\* la cual es más representativa que la del inhibidor de prueba.

Las NQ's que presentaron la inhibición más efectiva de TRTc, exhibieron una potente actividad tripanocida *in vitro* en cultivos de *Tripanosoma brucei* y *Tripanosoma cruzi*.

Así se determina que no solo los ciclos redox de las NQ's sino también su capacidad de inhibición sobre TRTc permitirán el desarrollo de nuevos compuestos con actividad tripanocida.

---

---



### 4.16 SUSCEPTIBILIDAD DE LEISHMANIA A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

En un experimento realizado por Murray<sup>23</sup>, se analizó la susceptibilidad de promastigotes de *Leishmania tropica* y *Leishmania donovani* a flujos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Los parásitos se expusieron a una reacción enzimática entre glucosa y glucosa oxidasa la cual genera como único intermediario de oxígeno al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; se encontró que todos los promastigotes de *L.tropica* y la mayoría de *L.donovani* fueron completamente inmovilizados o lisados por exposición de 5 mmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min durante 1 hora.

En ambas cepas se abatió la muerte por la adición de la enzima catalasa.

También se efectuaron pruebas para determinar la susceptibilidad de *Leishmania tropica* y *L. donovani* a otros intermediarios de oxígeno como O<sub>2</sub><sup>-</sup> y OH<sup>-</sup> mediante un sistema enzimático de Xanthine y Xanthine oxidasa que también produce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> determinando que este último es responsable de la muerte de los parásitos, pero sin descartar la posibilidad de que O<sub>2</sub><sup>-</sup> y OH<sup>-</sup> también puedan provocar tal efecto a mayores concentraciones. De igual manera la muerte se abatió con la adición de catalasa, esto llevó a la conclusión de que el protozooario *Leishmania* (las especies *tropica* y *donovani*) son deficientes de las enzimas reductoras Catalasa y GPO encargadas de completar el proceso de desintoxicación del radical oxígeno, desproporcionando el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O y O<sub>2</sub> como lo muestra la siguiente reacción:





## 4 ANTECEDENTES

---

---

Otro estudio, efectuado por Rabinovitch y colaboradores <sup>24</sup>, demuestra la susceptibilidad de *Leishmania mexicana* a  $H_2O_2$  mediante la exposición de los parásitos a moléculas acarreadoras de electrones como fenazinas, tiazinas y quinonas, estructuras que pueden ser reducidas a intermediarios auto-oxidables y en el proceso dan paso a la formación del anión superóxido  $O_2^{\cdot-}$  el cual, se forma por la reducción univalente del  $O_2$ , también se forman radicales tóxicos de hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ).

Se logró la muerte de amastigotes de *Leishmania mexicana* a concentraciones tales de este tipo de compuestos que no dañan a la célula del huésped; de la misma manera se demostró que estos compuestos también inhiben el crecimiento o matan al promastigote de *Leishmania mexicana* en cultivos.

Este estudio permitió determinar la concentración de compuestos como el bisulfito de menadiona a la cual se reduce en un 95% la infección causada por *Leishmania mexicana* en macrófagos de hámster, establecida en  $24 \mu M$ , así como la mínima concentración del mismo compuesto a la cual se reduce el crecimiento de promastigotes en cultivo de *L. mexicana*, establecida en  $5 \mu M$ .

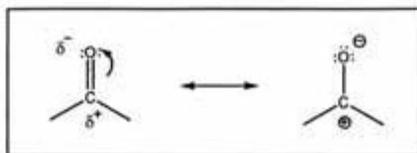
### 4.17 REACCIÓN DE ADICIÓN CONJUGADA A GRUPOS CARBONILO

Una reacción muy importante que sufren los grupos carbonilo es la **adición conjugada** <sup>15</sup> de nucleófilos.

Un grupo carbonilo se polariza de tal manera que el carbono del carbonilo es electropositivo y es posible trazar estructuras de resonancia dipolares para representar este comportamiento (**Fig. 15**).

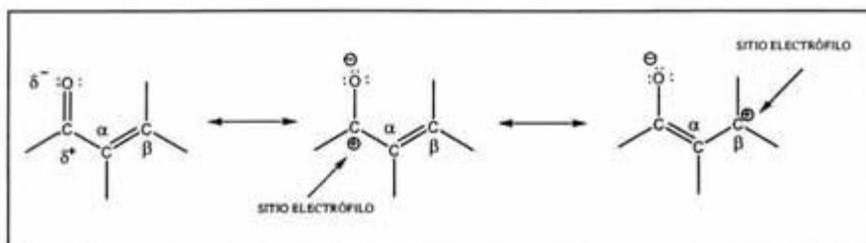


## 4 ANTECEDENTES



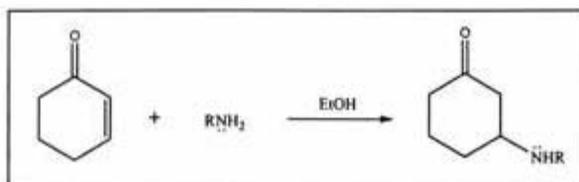
**Fig.15**

Cuando se traza una estructura de resonancia similar para compuestos carbonílicos  $\alpha,\beta$  insaturados, la carga positiva es parte de un catión alílico y es compartida por el carbono  $\beta$ , por tanto, este carbono en una cetona  $\alpha,\beta$  insaturada es un sitio electrófilo y puede reaccionar con nucleófilos (**Fig.16**).



**Fig. 16**

4.17.1 **ADICIÓN CONJUGADA DE AMINAS:** Las aminas primarias y secundarias se unen a los compuestos carbonílicos  $\alpha,\beta$  insaturados para formar  $\beta$ -aminocetonas y  $\beta$ -aminoaldehídos (**Fig. 17**).



**Fig. 17**



### 4.18 SÍNTESIS DE DERIVADOS DE 2-metil-1,4-naftoquinona.

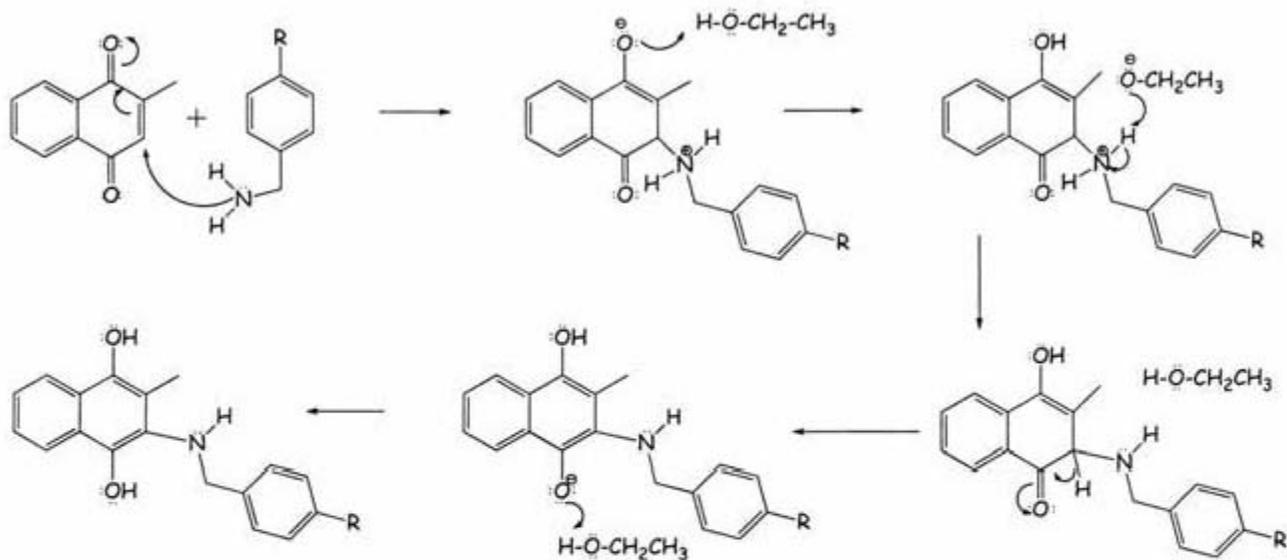
La síntesis de los derivados de 2-metil-1,4-naftoquinona se efectúa según la técnica descrita por Laurence <sup>22</sup> y colaboradores mediante la adición directa de las bencilaminas correspondientes sobre la naftoquinona en una mezcla de EtOH/DCM.

### 4.19 MECANISMO DE REACCIÓN

Se propone el siguiente mecanismo de reacción <sup>25</sup>:

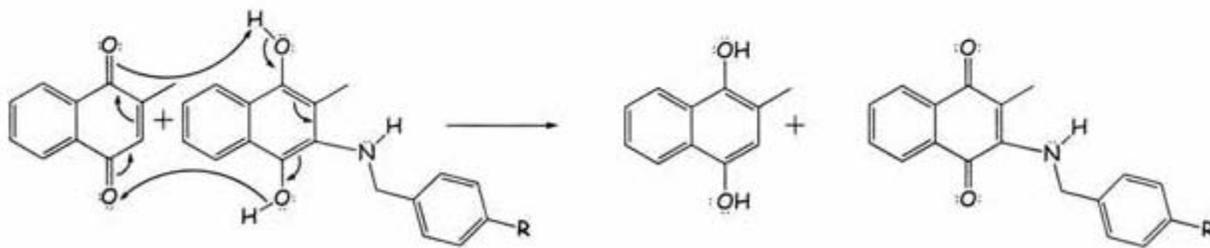
Adición conjugada (1,4)

R = -H, -OCH<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, -Cl, -Br, -CH<sub>3</sub>, -F y -CF<sub>3</sub>



37

Oxidación de la naftohidroquinona



Mecanismo para la reacción de sustitución (1,4) de bencilaminas a la 2-metil-1,4-naftoquinona en EtOH



### 4.20 PRUEBAS BIOLÓGICAS

Las pruebas biológicas, también conocidas como Bioensayos, son la medida de una respuesta en la materia viva a un estímulo determinado.

El estudio de compuestos bioactivos, ya sea que provengan de fuentes naturales o que hayan sido sintetizados en un laboratorio, incluye la realización de pruebas biológicas en donde dichos compuestos representan el estímulo aplicado a la materia viva.

En general, las pruebas biológicas se clasifican en dos tipos:

1. Aquellas en donde la medida puede ser el peso en gramos de los animales de prueba antes y después del ensayo o bien, concentración de proteínas, grasas o carbohidratos según la dieta.
2. En estas pruebas se mide una respuesta de "todo o nada" después de haber aplicado una dosis variable de algún compuesto, se registra la muerte o supervivencia de los animales de prueba después de un período.

Para este trabajo resultan de mayor utilidad las pruebas biológicas del segundo tipo ya que permiten determinar parámetros como la Concentración Letal media  $CL_{50}$  que es aquella concentración del compuesto en estudio que provoca la muerte del 50% de los animales de prueba que en este caso serán larvas de *Artemia salina* <sup>26</sup>.

Existen muchos procedimientos para efectuar bioensayos, sin embargo, algunos requieren de un gran número de animales de prueba, tejidos que deben aislarse previamente o sistemas bioquímicos que suelen



ser complicados y de alto costo; a diferencia, el uso de *Artemia salina* para probar compuestos bioactivos es sencillo y rápido, de bajo costo, se adapta perfectamente a las condiciones de un laboratorio y se ha empleado para este fin desde 1956 por lo que ya se tienen estándares de referencia. Estas son las principales razones por las que en este trabajo se ha determinado la concentración letal media de los compuestos sintetizados con esta especie <sup>27</sup>.

### 4.21 *Artemia salina*

La *Artemia salina* es un pequeño crustáceo\* perteneciente a la subclase Branchiopoda orden Anostraca, vive en las aguas salobres\* e hipersalinas de todo el mundo. Su gran tolerancia a amplios intervalos de salinidad que varía entre 10 - 220 g/L facilita su cultivo y estudio.

Los huevos de *Artemia salina* son colectados cuando se evapora el agua de los lagos o depósitos salados, al estar deshidratados son muy resistentes y pueden ser almacenados por largos períodos de tiempo y por esta razón están disponibles comercialmente manteniéndolos en refrigeración a 5°C.

Los huevecillos eclosionan\* al estar en contacto con agua salada y pasando las primeras 48 horas de vida es el momento óptimo para efectuar un bioensayo como el que requerimos en este trabajo.

5

*HIPÓTESIS*

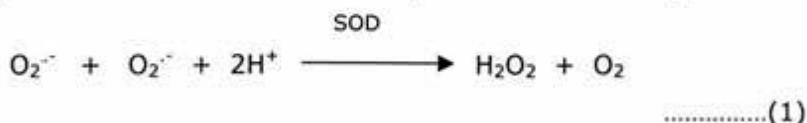


## 5 HIPÓTESIS

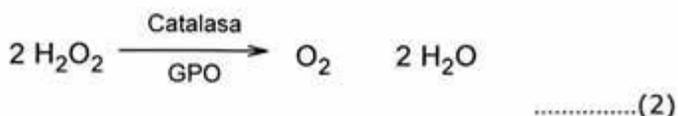
---

Considerando lo siguiente:

1. En la literatura existen reportes que indican que las NQ's tienen efectividad como antimaláricos, antituberculosis, antibacterianos, antitumorales, larvicidas, molusquicidas, hervicidas, fungicidas y también como inhibidores del crecimiento y la síntesis de proteínas, DNA y RNA de *Tripanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas.
2. Las NQ's presentan ciclos redox reduciéndose a las naftohidroquinonas correspondientes y reoxidándose con facilidad a NQ's, actuando solo como transportadoras de electrones en sistemas biológicos generando, en este proceso, al radical superóxido.
3. El radical superóxido en sistemas biológicos se transforma a peróxido de hidrógeno en una reacción catalizada por la enzima SOD (1).



El peróxido de hidrógeno se transforma en agua y oxígeno molecular en una reacción catalizada por las enzimas Catalasa y GPO (2).





## 5 HIPÓTESIS

---

---

4. Los ciclos redox de las NQ's pueden desencadenarse por la presencia del cofactor NAD(P)H/NAD(P)<sup>+</sup>
  
5. El cofactor NAD(P)H/NAD(P)<sup>+</sup> actúa almacenando y transfiriendo energía en el metabolismo del protozooario *Leishmania sp.*, al igual que en todas las células.
  
6. El protozooario *Leishmania sp.* es deficiente de las enzimas reductoras Catalasa y GPO.

Por todo lo anterior podemos pensar que al aplicar dosis específicas de los derivados de 2-metil-1,4-NQ's que hemos sintetizado al protozooario *Leishmania sp.* se desencadenará la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que conducirá a la inhibición del crecimiento e incluso la muerte del parásito.

6

*OBJETIVOS*



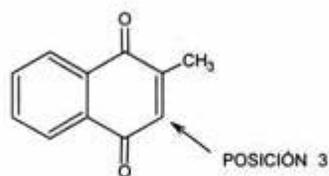
## 6 OBJETIVOS

---

---

General:

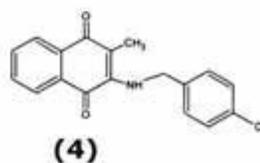
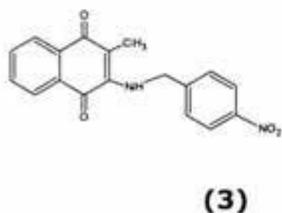
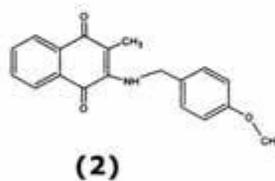
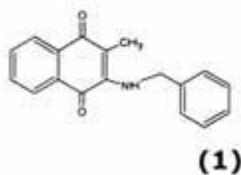
- Sintetizar una serie de compuestos derivados de 2-metil-1,4-naftoquinona con sustituyentes en la posición 3, los cuales son bencilaminas para-sustituídas.



2-metil-1,4-naftoquinona

Particular:

- Sintetizar los siguientes compuestos:

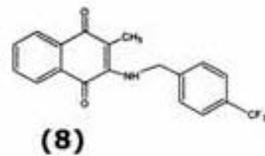
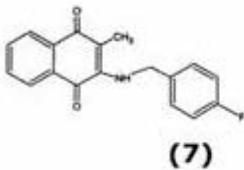
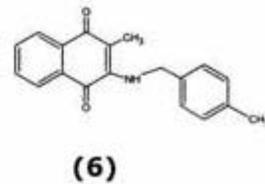
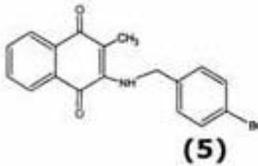




## 6 OBJETIVOS

---

---



- 
- 1 3-(bencilamino)menadiona
  - 2 3-(p-metoxibencilamino)menadiona
  - 3 3-(p -nitrobencilamino)menadiona
  - 4 3-(p -clorobencilamino)menadiona
  - 5 3-(p -bromobencilamino)menadiona
  - 6 3-(p -metilbencilamino)menadiona
  - 7 3-(p -fluorobencilamino)menadiona
  - 8 3-(p -(trifluorometil)bencilamino)menadiona
-



## 6 OBJETIVOS

---

---

- Purificar dichos compuestos y realizar su correspondiente caracterización mediante técnicas espectroscópicas (IR, EM, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, HETCOR, FLOCK Y COSY).
- Evaluar la actividad larvícida de los compuestos sintetizados frente a *Artemia salina*.

7

# MÉTODOS



### 7.1 SECCIÓN EXPERIMENTAL: PARTE QUÍMICA

#### 7.1.1 SÍNTESIS ORGÁNICA

En un matraz bola de tres bocas provisto con agitador magnético y protegido de la luz con papel carbón, se adicionan 0.5 g (2.9 mmol) de 2-metil-1,4-naftoquinona, 11.6 mL de etanol (EtOH) y 2.9 mL de diclorometano (DCM).

Dos bocas del matraz se tapan con septum, se inicia la agitación magnética y enseguida se adicionan gota a gota 5.8 mmol de la bencilamina para-sustituída correspondiente.

Por un septum, se inyecta  $N_2$ , el sistema es purgado por la tercera boca del matraz y enseguida se sella con parafilm. Se mantiene en agitación por un período entre 60 y 75 horas según la bencilamina utilizada.

Para los casos en los que la amina está como clorhidrato, este se disuelve en una cantidad mínima de agua y se lleva a  $pH > 9$  con NaOH al 5%. La amina libre es extraída con tres fracciones de 5 mL cada una de DCM, el volumen total del mismo se seca con  $Na_2SO_4$  anhidro y se separa por decantación, el exceso de DCM es evaporado en el rotavapor hasta un volumen de aproximadamente 3 mL los cuales son adicionados al matraz bola de tres bocas como ya se ha explicado.

#### 7.1.2 PURIFICACIÓN <sup>29</sup>

Transcurridas las 60-75 horas de reacción, en cada una de las reacciones se forma un sólido colorido (a excepción de los compuestos 1 y 2), el cual es filtrado bajo vacío y lavado con hexano, se deja secar, se registra el punto de fusión y se determina el rendimiento.



## 7 MÉTODO

---

Para los compuestos 1 y 2, es necesario purificar por cromatografía en columna. Se utiliza una columna de vidrio de 20 cm de alto y 4 cm de diámetro conectada a una bomba de aire, el flujo de aire se regula colocando una pinza Mohor en una "T" de la manguera de la conexión. La columna se empaca con 60g de sílica gel utilizando como disolvente una mezcla de hexano con trietilamina al 1%. Se adiciona una fina capa de arena de mar seca (previamente lavada con HCl al 5% y abundante agua hasta obtener pH neutro) sobre la sílica.

A la mezcla de reacción, se le evapora el disolvente en el rotavapor hasta llegar a un volumen aproximado de 5 mL, esta cantidad de muestra es adicionada a la columna con ayuda de una pipeta Pasteur, al encender la bomba la muestra eluye con una mezcla de disolvente hexano-acetato de etilo 70:30. Se colectan fracciones de 10 mL cada una. Para cada fracción se aplica la técnica de cromatografía en capa fina y de este modo se determina en cual o cuales está presente el producto, aquellas que son seleccionadas se mantiene a temperatura ambiente y se permite la evaporación lenta del disolvente (aproximadamente 24 horas) observándose la formación de cristales coloridos los cuales, se filtran y lavan con hexano; se dejan secar, se registra punto de fusión y se determina rendimiento.

### 7.1.3 EQUIPO

La evaporación de los disolventes en las mezclas de reacción se llevó a cabo en un rotavapor BÜCHI R-124. Para el revelado de las placas de cromatografía en capa fina, se utilizó una lámpara de luz ultravioleta SPECTROLINE UL 977C.

---



## 7 MÉTODO

---

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrofotómetro FT-IR Perkin-Elmer modelo 1605. Todos los compuestos fueron sólidos y para aplicar la muestra se utilizó la técnica de pastilla de KBr.

Los espectros de masas (EM) se realizaron en un espectrómetro marca JOEL modelo JSM-SX 102A. Se utilizó como técnica de ionización el impacto electrónico.

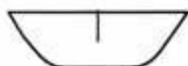
Los espectros de RMN<sup>1</sup>H se determinaron en un espectrómetro VARIAN INOVA 300 a 300 MHz empleando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) y como patrón de referencia tetrametilsilano (TMS). Para cada compuesto se realizó intercambio con agua deuterada (D<sub>2</sub>O).

Los espectros de RMN<sup>13</sup>C, HETCOR y FLOCK se determinaron en un espectrómetro VARIAN INOVA 300 a 75 MHz empleando como disolvente CDCl<sub>3</sub> y como patrón de referencia (TMS). Los espectros de COSY se determinaron en un espectrómetro GEMINI a 200 MHz disolviendo la muestra en CDCl<sub>3</sub>.

### 7.2 PARTE BIOLÓGICA

#### 7.2.1 PRODUCCIÓN DE *Artemia salina*

**Fig.18**



En un recipiente de plástico de 6cm de alto por 10cm de ancho por 18.5cm de largo con una separación en el centro formando dos compartimentos conectados entre sí por el fondo del mismo (**Fig. 18**), se adicionan 300mL de agua de mar artificial la cual fue preparada disolviendo 38 g de sal de mar artificial en 1L de agua destilada.



## 7 MÉTODO

---

---

En un compartimento se colocan 15 mg de quistes de *Artemia salina* evitando que se peguen en las paredes del recipiente y se tapa para proteger de la luz, el otro compartimento se mantiene abierto.

El recipiente es colocado bajo una lámpara de luz blanca durante 48 horas hasta que los quistes eclosionen liberando las larvas de *A.salina*.

### 7.2.2 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES

Se preparan 7 soluciones del compuesto de prueba cuyas concentraciones requeridas son las siguientes:

SOLUCIÓN	CONCENTRACIÓN (mg/mL)
Blanco	0
A	10
B	1
C	0.5
D	0.1
E	0.05
F	0.01
G	0.005
H	0.001

Para preparar la solución A, se pesan 10 mg del compuesto de prueba y se disuelven en 10 mL de acetona.

B: Se toman 5 mL de A y se afora a 10 mL con acetona.

C: Se toma 1 mL de A y se afora a 10 mL con acetona.

D: Se toman 5 mL de C y se afora a 10 mL con acetona.

E: Se toma 1 mL de C y se afora a 10 mL con acetona.

F: Se toman 5 mL de E y se afora a 10 mL con acetona.

G: Se toma 1 mL de E y se afora a 10 mL con acetona.

---

---

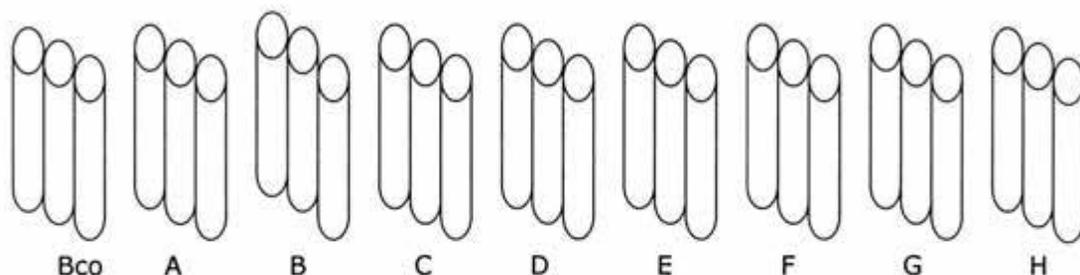


## 7 MÉTODO

---

---

De cada solución se tomaron 0.5 mL y se colocaron en un tubo de ensayo, por triplicado como se muestra en la **Fig. 19**.



**Fig. 19**

El blanco solo contiene acetona.

Se dejan por 24 horas hasta que se evapore el disolvente por completo. Pasando este tiempo se adicionan 50  $\mu$ L de DMSO, 2 mL de agua de mar artificial, 10 larvas de *Artemia salina* vivas y se afora a 5 mL con agua de mar artificial, esto se repite en ese orden para cada tubo.

Después de un período de 24 horas, se hace un conteo de larvas vivas y muertas en cada tubo de ensayo.

### 7.2.3 DETERMINACIÓN DE CL<sub>50</sub>

Para determinar la CL<sub>50</sub> se utilizó el método de Reed-Muench <sup>30</sup>.

Los datos deben ser registrados como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla de registro

1	2	3	4	5	6
Dosis	Animales Vivos	Animales Muertos	Animales vivos acumulados	Animales muertos acumulados	% de mortalidad

---

---



## 7 MÉTODO

---

---

La columna 1 se llena con los datos de las concentraciones utilizadas del compuesto de prueba en unidades de partes por millón (ppm).

En la columna 2 se registra el número de *Artemias* que sobrevivieron después de 24 horas de estar expuestas a cada concentración. De igual manera, la columna 3 registra las *Artemias* muertas en cada caso.

En la columna 4, el número de *Artemias* vivas acumuladas se calculará tomando en cuenta que si a la concentración D, por mencionar un ejemplo, sobreviven 11 *Artemias*, estas sobrevivirán en todas las concentraciones menores a D y por tanto se suman todas las sobrevivientes en dichas concentraciones. Con el mismo razonamiento se llena la columna 5 pero ahora con las *Artemias* muertas.

En la columna 6 se calcula el porcentaje de mortalidad con base en un total de *Artemias* vivas expuestas en cada concentración.

En este método es importante incluir las concentraciones límite, es decir, aquella en la que no muere ninguna *Artemia* y aquella en la que mueren todas.

El valor de la  $CL_{50}$  se obtiene gráficamente representando las columnas 4 y 5 de la tabla de registro en un mismo sistema de ejes. El punto donde las curvas se crucen representará la dosis en la cual el número de animales que mueren con esta o cualquier dosis mayor es igual al número de animales que viven con esta o cualquier dosis menor, esto es la concentración letal media.

### 7.3 REACTIVOS Y MATERIAL

Todos los reactivos químicos y el material necesario para la parte biológica utilizados en este trabajo se presentan en la siguiente tabla.

---

---

**REACTIVOS**

<b>Nombre</b>	<b>Aspecto Físico</b>	<b><math>\rho</math>(g/mL)</b>	<b>PM (g/mol)</b>	<b>P.f (°c)</b>	<b>P.e (°c)</b>	<b>Marca</b>
2-metil-1,4-naftoquinona	Sólido. Polvo amarillo	-	172.18	105-107	-	ALDRICH
Bencilamina	Líquido, incoloro, mal olor	0.981	107.15	10	184-185	ALDRICH
4-metoxibencilamina	Líquido, incoloro, mal olor	1.050	137.17	-	236-237	ALDRICH
4-nitrobencilamina, clorhidrato de	Sólido color blanco	-	188.62	-	-	ALDRICH
4-clorobencilamina	Líquido, incoloro, mal olor	1.164	141.598	-	215	ALDRICH
4-bromobencilamina, clorhidrato de	Sólido color blanco	-	222.52	-	274-276	ALDRICH
4-metilbencilamina	Líquido, incoloro, mal olor	0.952	121.18	12-13	195	ALDRICH
4-fluorobencilamina	Líquido, incoloro, mal olor	1.095	125.14	-	183	ALDRICH
4-(trifluorometil)bencilamina	Líquido, incoloro, mal olor	1.229	175.15	-		
Trietilamina	Líquido, incoloro, mal olor	0.835	116.32	-	88.8	MERCK
NaOH R.A.	Se preparó solución al 5%	-	40	-	-	Mallinckrodt AR
HCl	Se preparó solución al 5%	-	36.46	-	-	Mallinckrodt AR
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sólido blanco	-	142.04	884	-	ALDRICH
Etanol absoluto	Líquido incoloro	0.801	47.08	-	78-79	J.T.BAKER
Dimetilsulfóxido	Líquido incoloro	1.10	78.13	18.45	189	MERCK
Diclorometano R.A.	Líquido incoloro	1.315	84.94	-	39.75	REASOL
Acetato de Etilo	Líquido incoloro	FUERON DESTILADOS ANTES DE USARSE				
Hexano	Líquido incoloro					
Acetona	Líquido incoloro					
Nitrógeno	Gas	Seco y libre de oxígeno				AGA GAS
Sílica gel	70-230 $\mu$ m maya de 60 Å					ALDRICH
Sal de mar artificial	Instant Ocean Libre de fosfatos y nitratos					AQUARIUM SYSTEMS
Quistes de <i>Artemia salina</i>	Técnica Acuamarina S.A de C.V. Sinaloa México					OHUIRA

8

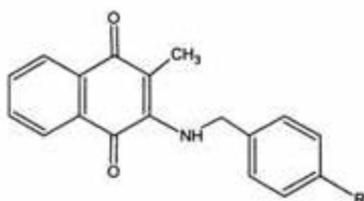
*RESULTADOS*



## 8 RESULTADOS

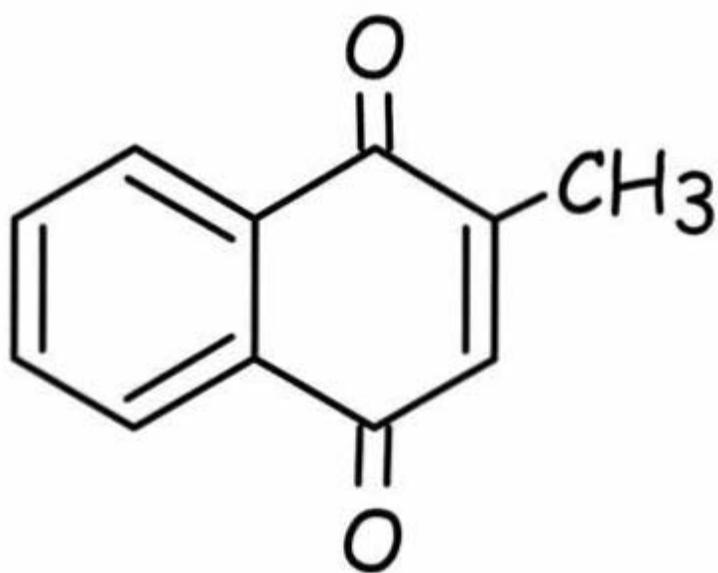
### 8.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS.

Se sintetizaron ocho aminas derivadas de 2-metil-1,4-naftoquinona utilizando una serie de bencilaminas con diferentes sustituyentes en la posición "para", los cuales, están representados con la letra "R".

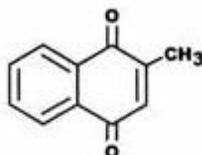


Propiedades físicas y rendimiento de los compuestos sintetizados.

Compuesto	R	Formula molecular	Apariencia física	P.M. (g/mol)	Punto de fusión (°c)	Rendimiento (%)
1	H	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	Agujas vino	277	[84-86]	38.24
2	OCH <sub>3</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>3</sub>	Agujas rojo-vino	307	[94-96]	49.82
3	NO <sub>2</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Polvo rosa	322	[204-205]	63.55
4	Cl	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> ClNO <sub>2</sub>	Polvo rojo	311	[134-135]	99.05
5	Br	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> BrNO <sub>2</sub>	Polvo café cobrizo	356	[131-132]	71.63
6	CH <sub>3</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	Polvo rojo quemado	291	[114-115]	80.39
7	F	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> FNO <sub>2</sub>	Polvo anaranjado	295	[109-110]	81.21
8	CF <sub>3</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>	Polvo naranja-rojo	345	[138-139]	95.96



2-metil-1,4-naftoquinona  
(menadiona)

**8.2 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA****2-metil-1,4-naftoquinona (menadiona)**Fórmula:  $C_{11}H_8O_2$ 

Peso molecular: 172 g/mol

Punto de fusión: [ 105-107 ] °C

Apariencia física: Sólido, polvo fino color amarillo intenso.

**ESPECTROSCOPIA DE IR**

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1664.59$	Banda fina de intensidad fuerte.
Aromático	$\nu = 1592.79$	Banda fina de intensidad media.
-CH <sub>2</sub> -	$\nu = 2919.17$	Banda fina de intensidad débil.
-CH <sub>3</sub>	$\nu = 2957.22$	Banda fina de intensidad débil.
	$\delta_s = 1378.70$	Banda fina de intensidad débil.

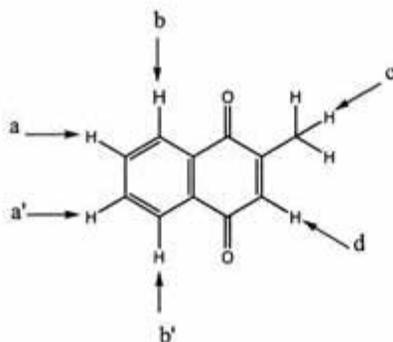
**ESPECTROMETRÍA DE MASAS**Ion molecular  $m/z = 172$ Pico base  $m/z = 172$



## 8 RESULTADOS

RMN  $^1\text{H}$

Referencia: **TMS** Disolvente:  **$\text{CDCl}_3$**  Rf: **300 MHz**



Se observan cuatro señales que corresponden a cuatro tipos de protón.

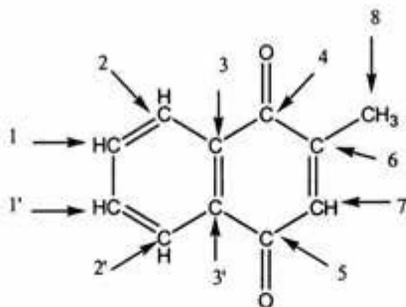
Posición	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a, a'	7.719 (2 H)	Señal múltiple	La multiplicidad presente no permite calcular las constantes.
b, b'	8.057 (2 H)	Señal múltiple	
c	2.195 (3 H)	Singulete	
d	6.834 (1 H)	Singulete	



RMN  $^{13}\text{C}$

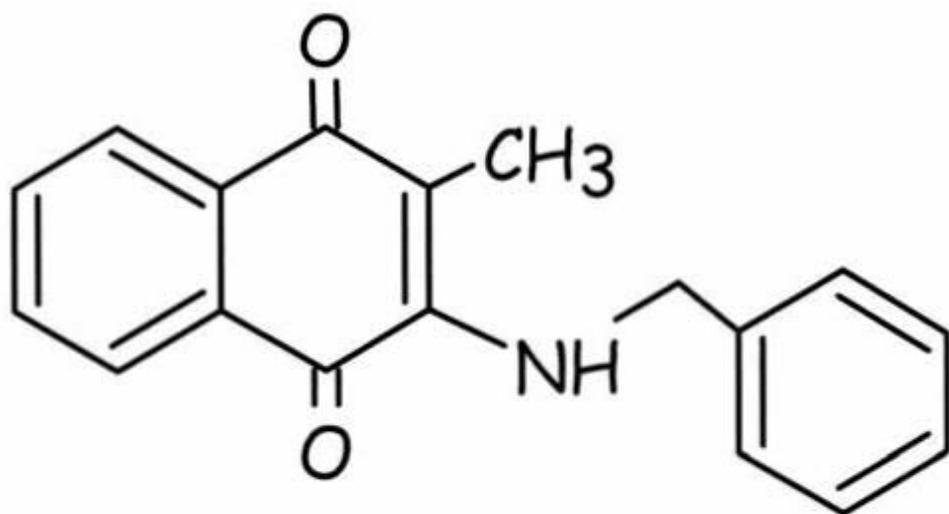
## 8 RESULTADOS

Disolvente:  $\text{CDCl}_3$  Rf: 75 MHz



Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	133.541
1'	133.477
2	126.399
2'	125.966
3	132.147
3'	132.061
4	185.404
5	184.835
6	148.058
7	135.564
8	16.373

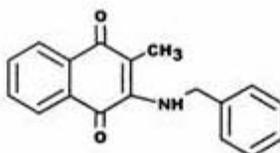
(1)



3-(p-bencilamino)menadiona



### 3 -(bencilamino)menadiona



Fórmula:  $C_{18}H_{15}NO_2$

Peso molecular: 277 g/mol

Punto de fusión: [ 84-86 ] °C

Apariencia física: Sólido cristalino en forma de agujas color rojo vino intenso.

#### ESPECTROSCOPIA DE IR

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
N-H	$\nu = 3325.10$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1669.46$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=C (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1604.87$	Banda fina de intensidad fuerte.
C-H (insaturado)	$\nu = 3021.20$	Banda fina de intensidad muy débil.
Aromático	$\nu = 1526.81, 1568.13$	Bandas finas de intensidad fuerte.
Monosustitución	$\nu = 697.98, 723.68$	Bandas finas de intensidad débil y media.
CH <sub>3</sub>	$\delta_s = 1372.41$	Banda fina de intensidad muy débil.

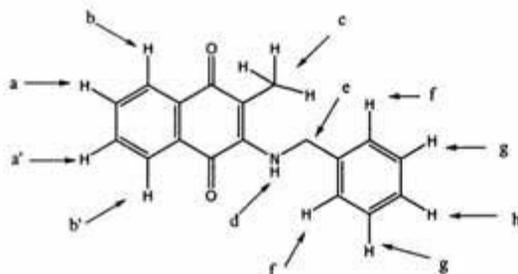
#### ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Ion molecular  $m/z = 277$

Pico base  $m/z = 277$

RMN <sup>1</sup>H

## 8 RESULTADOS

Referencia: TMS Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 300 MHz

Se observan ocho señales que corresponden a ocho tipos de protón.

Posición	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a	Centrado en 7.678 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{ab}$ (orto) = 7.5 $J_{ab'}$ (meta) = 1.5
a'	Centrado en 7.58 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{a'b'}$ (orto) = 7.5 $J_{a'b}$ (meta) = 1.5
b	Centrado en 8.044 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{ba}$ (orto) = 7.8 $J_{ba'}$ (meta) = 1.5 $J_{bb'}$ (para) = 0.6
b'	Centrado en 8.006 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{b'a'}$ (orto) = 7.8 $J_{b'a}$ (meta) = 1.5 $J_{b'b}$ (para) = 0.6
c	2.225 (3 H)	Singulete	
d	5.56 (1 H)	Singulete	
e	4.742 (2 H)	Singulete	
f	Centrado en 7.3 (2 H)	Señal múltiple	La multiplicidad de las señales no permite medir las constantes de acoplamiento.
g	Centrado en 7.3 (2 H)	Señal múltiple	
h	Centrado en 7.3 (1 H)	Señal múltiple	

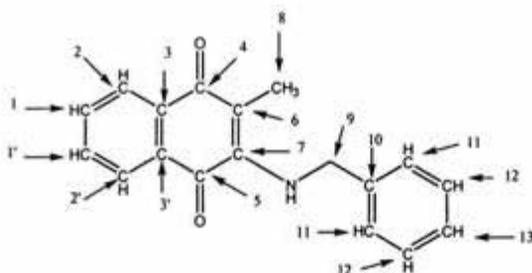
La señal de  $\delta = 5.56$  ppm desaparece en el espectro de intercambio con D<sub>2</sub>O.



RMN <sup>13</sup>C

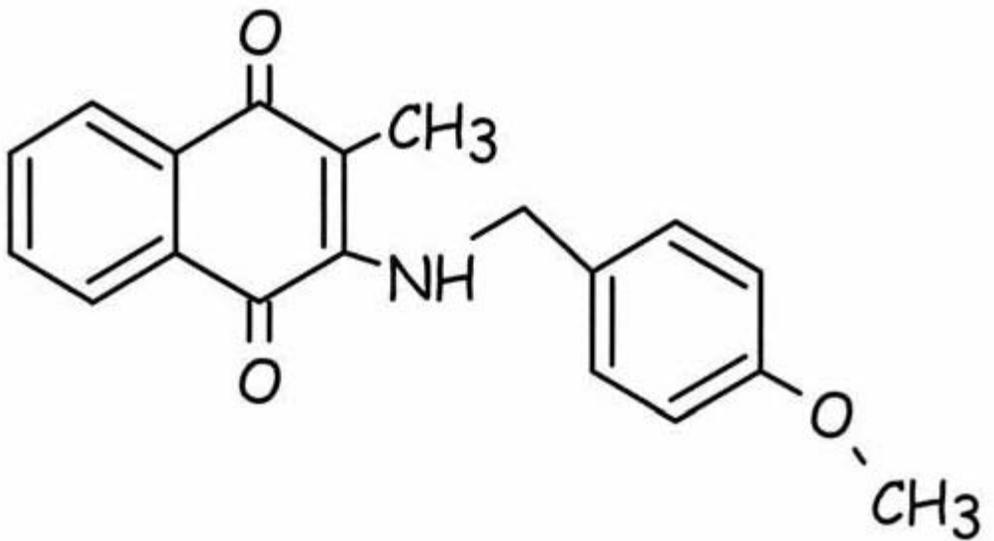
## 8 RESULTADOS

Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 75 MHz

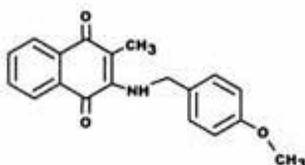


Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	134.293
1'	131.912
2	126.206
2'	126.010
3	133.350
3'	130.287
4	183.681
5	182.383
6	113.063
7	145.984
8	11.181
9	49.332
10	138.644
11	127.070
12	128.956
13	127.794

(2)



3-(p-metoxibencilamino)menadiona

**3 - (p -metoxibencilamino) menadiona**Fórmula:  $C_{19}H_{17}NO_3$ 

Peso molecular: 307 g/mol

Punto de fusión: [ 94-96 ] °C

Apariencia física: Sólido cristalino en forma de agujas color rojo-vino

**ESPECTROSCOPIA DE IR**

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
N-H	$\nu = 3329.78$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1669.98$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=C (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1603.23$	Banda fina de intensidad fuerte.
C-H (insaturado)	$\nu = 2994.27$	Banda fina de intensidad muy débil.
Aromático	$\nu = 1526.83, 1565.95$	Bandas finas de intensidad fuerte.
-OCH <sub>3</sub>	$\nu = 2833.77$	Banda fina de intensidad muy débil.
-CH <sub>2</sub> -	$\nu = 2926.20$	Banda fina de intensidad muy débil.
-CH <sub>3</sub>	$\delta_s = 1375.40$	Banda fina de intensidad muy débil.

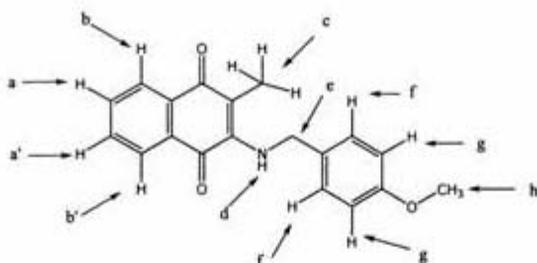
**ESPECTROMETRÍA DE MASAS**Ion molecular  $m/z = 307$ Pico base  $m/z = 121$



## 8 RESULTADOS

RMN  $^1\text{H}$

Referencia: TMS Disolvente:  $\text{CDCl}_3$  Rf: 300 MHz



Se observan ocho señales que corresponden a ocho tipos de protón.

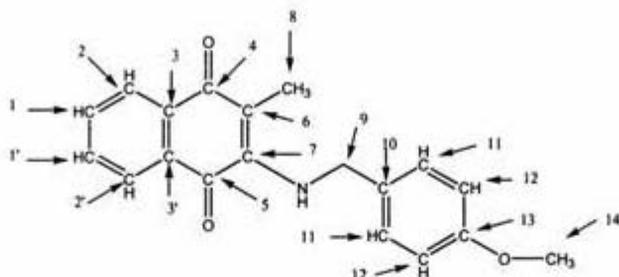
Posición	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a	Centrado en 7.683 (1 H)	Doble de doble de doble. (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{ab}$ (orto) = 7.65 $J_{ab'}$ (meta) = 1.5
a'	Centrado en 7.583 (1 H)	Doble de doble de doble. (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{a'b'}$ (orto) = 7.65 $J_{a'b}$ (meta) = 1.2
b	Centrado en 8.089 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{ba}$ (orto) = 7.65 $J_{ba'}$ (meta) = 1.5 $J_{bb'}$ (para) = no se observa
b'	Centrado en 8.004 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{b'a'}$ (orto) = 7.35 $J_{b'a}$ (meta) = 1.5 $J_{b'b}$ (para) = no se observa
c	2.247 (3 H)	Singulete	
d	No se observa		
e	4.675 (2 H)	Singulete	
f	Centrado en 7.223 (2 H)	Doblete	$J_{(orto)}$ = 8.7
g	Centrado en 6.898 (2 H)	Doblete	$J_{(orto)}$ = 6.6 $J_{(meta)}$ = 2.1
h	3.812 (3 H)	Singulete	



RMN <sup>13</sup>C

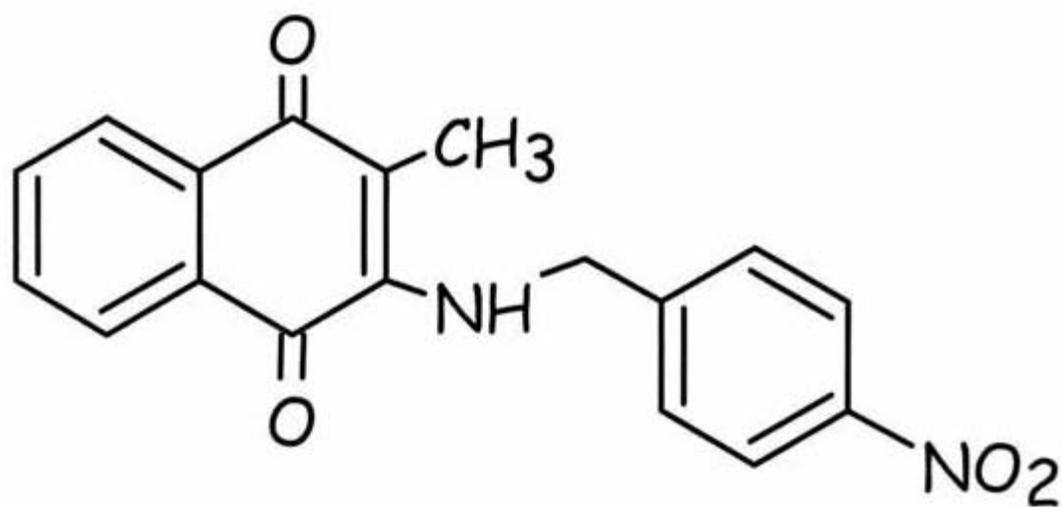
## 8 RESULTADOS

Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 75 MHz



Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	134.312
1'	131.926
2	126.230
2'	126.034
3	133.401
3'	131.926
4	183.714
5	182.411
6	114.072
7	145.956
8	11.303
9	49.066
10	130.315
11	128.592
12	114.361
13	159.272
14	55.322

(3)

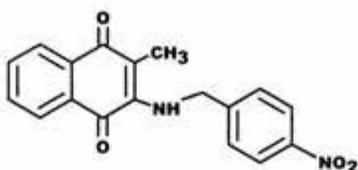


3-(p-nitrobenzylamino)menadiona



## 8 RESULTADOS

### 3 - ( p - nitrobenilamino) menadiona



Fórmula:  $C_{18}H_{14}N_2O_4$

Peso molecular: 322 g/mol

Punto de fusión: [ 204-205 ] °C

Apariencia física: Sólido, polvo fino color rosa mexicano.

#### ESPECTROSCOPIA DE IR

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
N-H	$\nu = 3329.11$	Banda fina de intensidad media.
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1669.31$	Banda fina de intensidad medial.
C=C (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1602.33$	Banda fina de intensidad media.
Aromático	$\nu = 1570.01$	Banda fina de intensidad media.
-CH <sub>2</sub> -	$\nu = 2929.33$	Banda fina de intensidad muy débil.
-NO <sub>2</sub>	$\nu_s = 1341.10$ $\nu_{as} = 1512.09$	Bandas finas de intensidad fuerte.

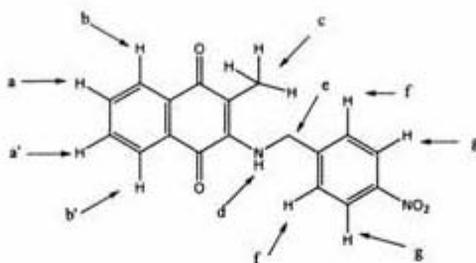
#### ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Ion molecular  $m/z = 322$

Pico base  $m/z = 322$

RMN <sup>1</sup>H

## 8 RESULTADOS

Referencia: TMS Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 300 MHz

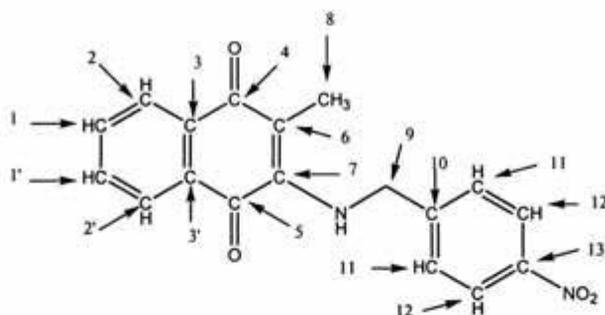
Se observan siete señales que corresponden a siete tipos de protón.

Posición	Desplazamiento Químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a	Centrado en 7.705 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{ab}$ (orto) = 7.5 $J_{ab'}$ (meta) = 1.5
a'	Centrado en 7.620 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{a'b}$ (orto) = 7.5 $J_{a'b'}$ (meta) = 1.5
b	Centrado en 8.059 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{ba}$ (orto) = 7.65 $J_{ba'}$ (meta) = 1.35 $J_{bb'}$ (para) = 0.6
b'	Centrado en 8.019 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{b'a}$ (orto) = 7.5 $J_{b'a'}$ (meta) = 1.35 $J_{b'b}$ (para) = 0.6
c	2.123 (3 H)	Singulete	
d	6.393 (1 H)	Singulete	
e	4.882 (2 H)	Singulete	
f	Centrado en 7.505 (2 H)	Señal múltiple	$J_{(orto)}$ = 6.9
g	Centrado en 8.224 (2 H)	Señal múltiple	$J_{(orto)}$ = 8.7

La señal de  $\delta=6.393$  ppm desaparece en el espectro de intercambio con D<sub>2</sub>O.

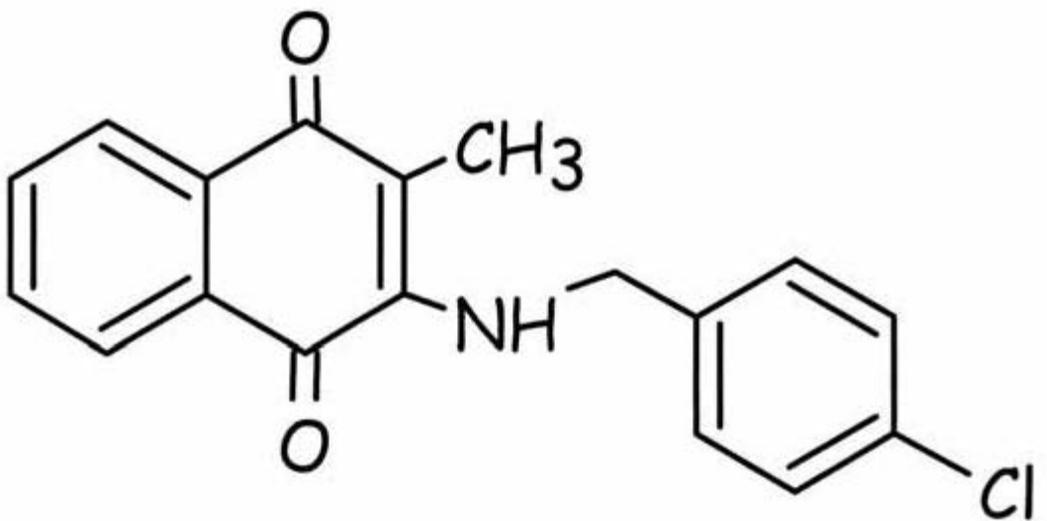
RMN  $^{13}\text{C}$ 

## 8 RESULTADOS

Disolvente:  $\text{CDCl}_3$  Rf: 75 MHz

Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	133.994
1'	131.790
2	125.772
2'	125.702
3	132.701
3'	129.984
4	183.088
5	181.888
6	113.507
7	146.927
8	10.612
9	47.847
10	146.680
11	127.121
12	123.685
13	145.419

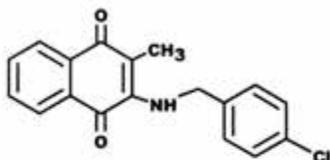
(4)



3-(p-clorobencilamino)menadiona



### 3-(p-clorobencilamino)menadiona



Fórmula:  $C_{18}H_{14}ClNO_2$

Peso molecular: 311 g/mol

Punto de fusión: 134 °C

Apariencia física: Sólido, polvo fino color rojo.

#### ESPECTROSCOPIA DE IR

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
N-H	$\nu = 3329.28$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1668.64$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=C (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1602.40$	Banda fina de intensidad fuerte.
Aromático	$\nu = 1501.70, 1566.87$	Bandas finas de intensidad fuerte.

#### ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Ion molecular  $m/z = 311$

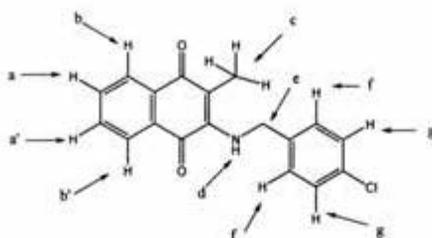
Pico base  $m/z = 311$



## 8 RESULTADOS

RMN  $^1\text{H}$

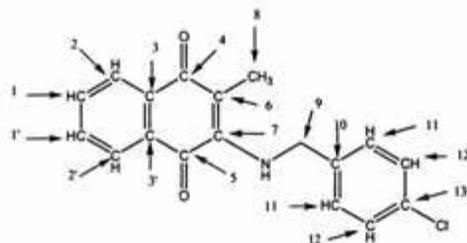
Referencia: **TMS** Disolvente:  **$\text{CDCl}_3$**  Rf: **300 MHz**



Se observan siete señales que corresponden a siete tipos de protón.

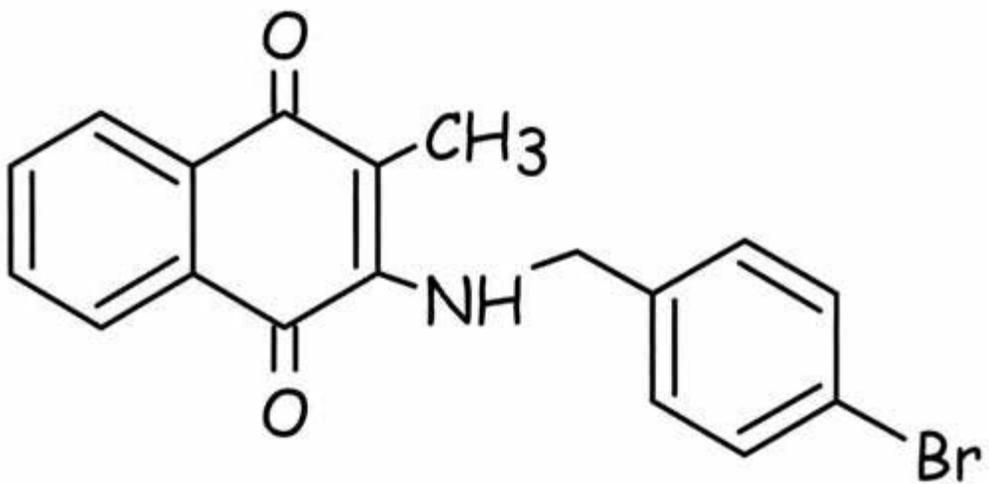
Posición	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a	Centrado en 7.684 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{ab}$ (orto) = 7.5 $J_{ab'}$ (meta) = 1.2
a'	Centrado en 7.588 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{a'b'}$ (orto) = 7.5 $J_{a'b}$ (meta) = 1.5
b	Centrado en 8.078 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{ba}$ (orto) = 7.8 $J_{ba'}$ (meta) = 1.35 $J_{bb'}$ (para) = 0.6
b'	Centrado en 8.005 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{b'a'}$ (orto) = 7.5 $J_{b'a}$ (meta) = 1.5 $J_{b'b}$ (para) = 0.6
c	2.188 (3 H)	Singulete	
d	5.990 (1 H)	Singulete	
e	Centrado en 4.702 (2 H)	Doblete	
f	Centrado en 7.230 (2 H)	Señal múltiple	$J_{(orto)} = 6.6$
g	Centrado en 7.333 (2 H)	Señal múltiple	$J_{(orto)} = 6.45$

La señal de  $\delta = 5.990$  ppm desaparece en el espectro de intercambio con  $\text{D}_2\text{O}$ .



Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	134.338
1'	132.006
2	126.230
2'	126.034
3	133.591
3'	130.239
4	183.655
5	182.302
6	113.476
7	145.794
8	11.144
9	48.595
10	137.240
11	128.353
12	129.100
13	133.240

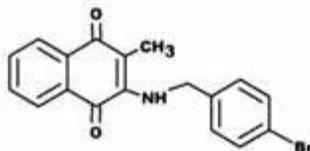
(5)



3-(p-bromobencilamino)menadiona



### 3-(p-bromobencilamino)menadiona.



Fórmula:  $C_{18}H_{14} Br NO_2$

Peso molecular: 356 g/mol

Punto de fusión: [131-132] °C

Apariencia física: Sólido, polvo fino color café cobrizo brillante.

#### ESPECTROSCOPIA DE IR

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
N-H	$\nu = 3324.90$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1667.34$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=C (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1602.34$	Banda fina de intensidad fuerte.
C-H (insaturado)	$\nu = 3065.61$	Banda fina de intensidad muy débil.
Aromático	$\nu = 1516.64, 1569.18$	Bandas finas de intensidad fuerte.
CH <sub>3</sub>	$\delta_s = 1365.78$	Banda fina de intensidad muy débil.

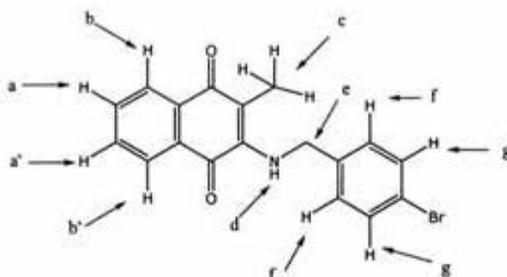
#### ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Ion molecular  $m/z = 355$

Pico base  $m/z = 355$

RMN <sup>1</sup>H

## 8 RESULTADOS

Referencia: TMS Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 300 MHz

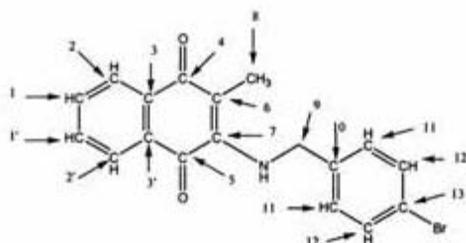
Se observan siete señales que corresponden a siete tipos de protón.

Posición	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a	Centrado en 7.688 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{ab}$ (orto) = 7.5 $J_{ab'}$ (meta) = 1.5
a'	Centrado en 7.594 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{a'b'}$ (orto) = 7.5 $J_{a'b}$ (meta) = 1.2
b	Centrado en 8.082 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{ba}$ (orto) = 7.8 $J_{ba'}$ (meta) = 1.35 $J_{bb'}$ (para) = 0.6
b'	Centrado en 8.011 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{b'a'}$ (orto) = 7.65 $J_{b'a}$ (meta) = 1.35 $J_{b'b}$ (para) = 0.6
c	2.187 (3 H)	Singulete	
d	5.992 (1 H)	Singulete	
e	4.688 (2 H)	Singulete	
f	Centrado en 7.175 (2 H)	Señal múltiple	$J_{(orto)}$ = 8.7
g	Centrado en 7.492 (2 H)	Señal múltiple	$J_{(orto)}$ = 8.7

La señal de  $\delta = 5.992$  ppm desaparece en el espectro de intercambio con D<sub>2</sub>O.

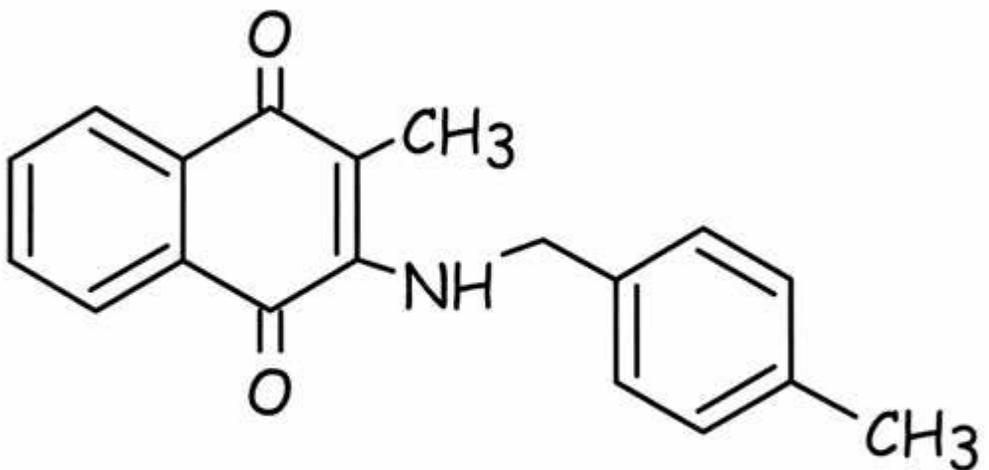
RMN <sup>13</sup>C

## 8 RESULTADOS

Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 75 MHz

Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	134.370
1'	134.370
2	126.267
2'	126.066
3	133.259
3'	130.261
4	183.692
5	182.330
6	113.549
7	145.803
8	11.167
9	48.659
10	137.786
11	128.685
12	132.079
13	121.675

(6)

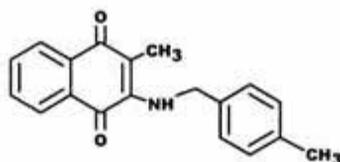


3-(p-metilbencilamino)menadiona



## 8 RESULTADOS

### 3-(p-metilbencilamino)menadiona.



Fórmula:  $C_{19}H_{17}NO_2$

Peso molecular: 291 g/mol

Punto de fusión: [ 114-115 ] °C

Apariencia física: Sólido, polvo fino color rojo oscuro.

#### ESPECTROSCOPIA DE IR

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
N-H	$\nu = 3322.53$	Banda fina de intensidad media.
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1667.37$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=C (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1606.71$	Banda fina de intensidad fuerte.
Aromático	$\nu = 1498.19, 1571.03$	Banda fina de intensidad fuerte.
-CH <sub>2</sub> -	$\nu = 2919.80$	Banda fina de intensidad muy débil.
CH <sub>3</sub>	$\delta_s = 1372.31$	Banda fina de intensidad muy débil.

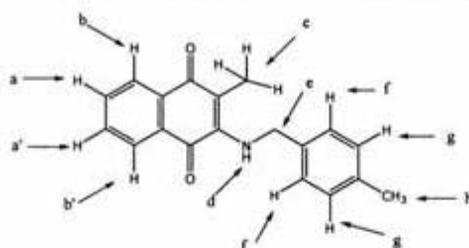
#### ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Ion molecular  $m/z = 291$

Pico base  $m/z = 291$

RMN  $^1\text{H}$ 

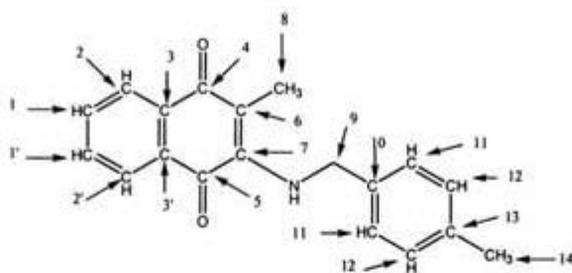
## 8 RESULTADOS

Referencia: TMS Disolvente:  $\text{CDCl}_3$  Rf: 300 MHz

Se observan ocho señales que corresponden a ocho tipos de protón.

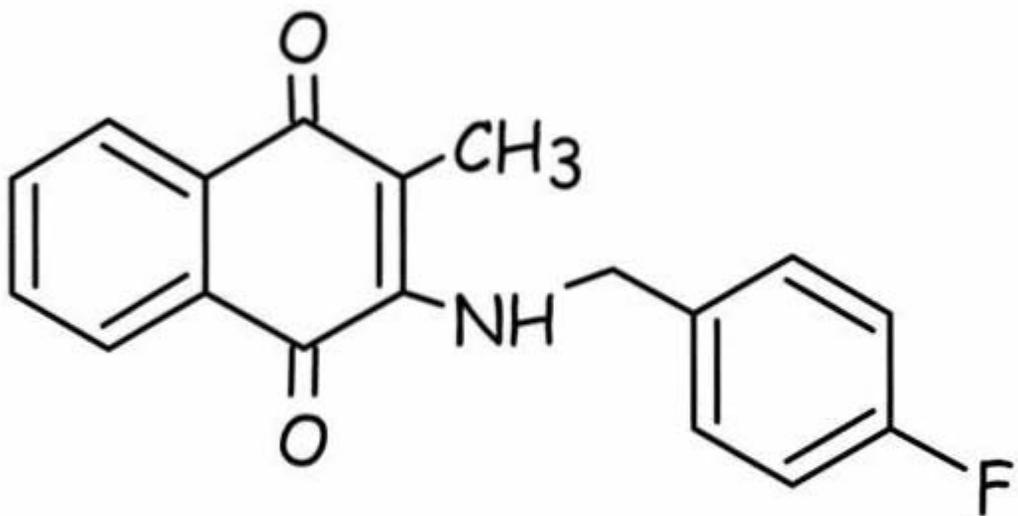
Posición	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a	Centrado en 7.669 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{ab}$ (orto) = 7.35 $J_{ab'}$ (meta) = 1.5
a'	Centrado en 7.569 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante un triplete dobleteado)	$J_{a'b'}$ (orto) = 7.5 $J_{a'b}$ (meta) = 1.5
b	Centrado en 8.076 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{ba}$ (orto) = 7.65 $J_{ba'}$ (meta) = 1.5 $J_{bb'}$ (para) = 0.6
b'	Centrado en 7.994 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{b'a'}$ (orto) = 7.65 $J_{b'a}$ (meta) = 1.5 $J_{b'b}$ (para) = 0.6
c	2.226 (3 H)	Singulete	
d	5.988 (1 H)	Singulete	
e	4.691 (2 H)	Singulete	
f	7.173 (2 H)	Singulete	
g	7.173 (2 H)	Singulete	
h	2.344 (3 H)	Singulete	

La señal de  $\delta = 5.988$  ppm desaparece en el espectro de intercambio con  $\text{D}_2\text{O}$ .



Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	134.247
1'	131.851
2	126.171
2'	125.980
3	133.377
3'	130.293
4	183.646
5	182.380
6	112.912
7	146.017
8	11.194
9	49.155
10	137.522
11	127.078
12	129.596
13	135.582
14	21.069

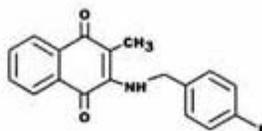
(7)



3-(p-fluorobencilamino)menadiona



### 3-(p-fluorobencilamino)menadiona.



Fórmula:  $C_{18}H_{14}FNO_2$

Peso molecular: 295 g/mol

Punto de fusión: [ 109-110 ] °C

Apariencia física: Polvo fino color anaranjado

#### ESPECTROSCOPIA DE IR

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
N-H	$\nu = 3328.88$	Banda fina de intensidad media.
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1670.57$	Banda fina de intensidad media.
C=C (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1602.42$	Banda fina de intensidad media.
Aromático	$\nu = 1506.59, 1566.23$	Bandas finas de intensidad fuerte y media.

#### ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Ion molecular  $m/z = 295$

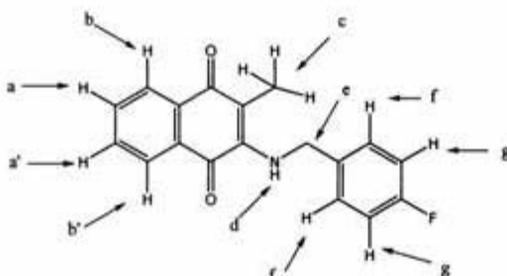
Pico base  $m/z = 295$



## 8 RESULTADOS

RMN  $^1\text{H}$

Referencia: **TMS** Disolvente:  **$\text{CDCl}_3$**  Rf: **300 MHz**



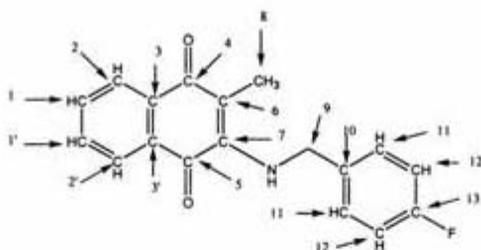
Se observan siete señales que corresponden a siete tipos de protón.

Posición	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a	Centrado en 7.687 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{ab}$ (orto) = 7.5 $J_{ab'}$ (meta) = 1.5
a'	Centrado en 7.591 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{a'b}$ (orto) = 7.5 $J_{a'b'}$ (meta) = 1.5
b	Centrado en 8.085 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{ba}$ (orto) = 7.5 $J_{ba'}$ (meta) = 1.35 $J_{bb'}$ (para) = 0.6
b'	Centrado en 8.009 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{b'a}$ (orto) = 7.5 $J_{b'a'}$ (meta) = 1.35 $J_{b'b}$ (para) = 0.6
c	2.214 (3 H)	Singulete	
d	5.948 (1 H)	Singulete	
e	4.706 (2 H)	Singulete	
f	Centrado en 7.273 (2 H)	Señal múltiple	$J_{f-f} = 5.7$
g	Centrado en 7.063 (2 H)	Señal múltiple	No se observa

La señal de  $\delta = 5.948$  ppm desaparece en el espectro de intercambio con  $\text{D}_2\text{O}$ .

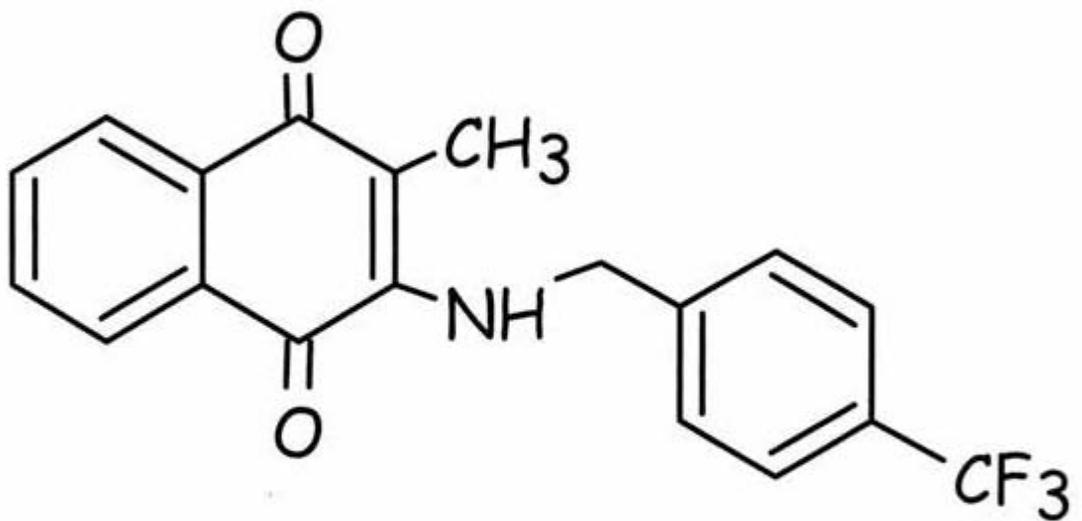
RMN <sup>13</sup>C

## 8 RESULTADOS

Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 75 MHz

Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	134.354
1'	132.010
2	126.262
2'	126.057
3	133.313
3'	130.292
4	183.719
5	182.365
6	113.451
7	145.872
8	11.209
9	48.711
10	
11	Doblete centrado en 128.818 $J_{CF} = 8.025$ Hz
12	Doblete centrado en 115.890 $J_{CF} = 21.375$ Hz
13	Doblete centrado en 162.328 $J_{CF} = 244.8$ Hz

(8)

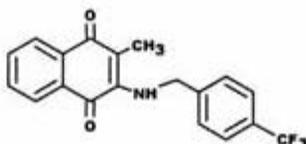


3-((p-trifluorometil)bencilamino)menadiona



## 8 RESULTADOS

### 3-(p-(trifluorometil)bencilamino)menadiona.



Fórmula:  $C_{19}H_{14}F_3NO_2$

Peso molecular: 345 g/mol

Punto de fusión: [ 138-139 ] ° C

Apariencia física: Polvo fino color naranja-rojo

#### ESPECTROSCOPIA DE IR

Grupo Funcional	Frecuencia ( $cm^{-1}$ )	Observaciones
N-H	$\nu = 3332.92$	Banda fina de intensidad fuerte.
C=O (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1670.31$	Banda fina de intensidad media.
C=C (cetona $\alpha,\beta$ insaturada)	$\nu = 1604.41$	Banda fina de intensidad fuerte.
Aromático	$\nu = 1529.91, 1568.69$	Bandas finas de intensidad fuerte.
C-H (insaturado)	$\nu = 3042.26$	Banda fina de intensidad muy débil.
-CH <sub>2</sub> -	$\nu = 2923.07$	Banda fina de intensidad muy débil.
CH <sub>3</sub>	$\delta_s = 1376.49$	Banda fina de intensidad muy débil.

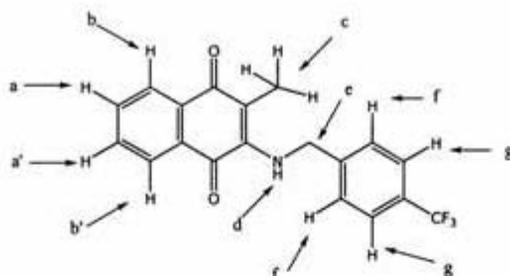
#### ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Ion molecular  $m/z = 345$

Pico base  $m/z = 345$

RMN <sup>1</sup>H

## 8 RESULTADOS

Referencia: TMS Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 300 MHz

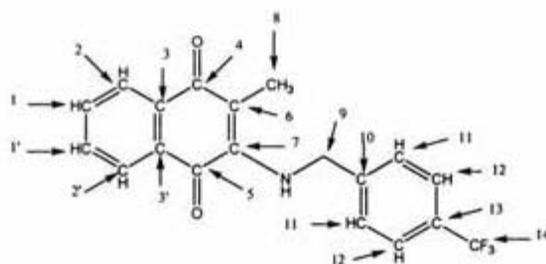
Se observan siete señales que corresponden a siete tipos de protón.

Posición	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz)
a	Centrado en 7.695 (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{ab}$ (orto) = 7.65 $J_{ab'}$ (meta) = 1.2
a'	Centrado en (1 H)	Doble de doble de doble (semejante a un triplete dobleteado)	$J_{a'b'}$ (orto) = 7.5 $J_{a'b}$ (meta) = 1.5
b	Centrado en 8.084 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{ba}$ (orto) = 7.5 $J_{ba'}$ (meta) = 1.5 $J_{bb'}$ (para) = no se observa
b'	Centrado en 8.023 (1 H)	Doblete dobleteado	$J_{b'a'}$ (orto) = 7.65 $J_{b'a}$ (meta) = 1.2 $J_{b'b}$ (para) = no se observa
c	2.147 (3 H)	Singulete	
d	6.060 (1 H)	Singulete	
e	4.804 (2 H)	Singulete	
f	Centrado en 7.424 (2 H)	Señal múltiple	La multiplicidad de las señales no
g	Centrado en 7.631 (2 H)	Señal múltiple	Permite calcular las constantes.

La señal de  $\delta = 6.060$  ppm desaparece en el espectro de intercambio con D<sub>2</sub>O.

RMN <sup>13</sup>C

## 8 RESULTADOS

Disolvente: CDCl<sub>3</sub> Rf: 75 MHz

Posición del átomo de C	Desplazamiento químico $\delta$ (ppm)
1	134.352
1'	132.052
2	126.226
2'	126.039
3	133.154
3'	130.211
4	183.619
5	182.234
6	113.700
7	145.707
8	11.053
9	48.627
10	142.924
11	127.123
12	Cuarteto centrado en 125.873 $J_{CF} = 3.75$ Hz
13	Cuarteto centrado en 129.999 $J_{CF} = 32.4$ Hz
14	Cuarteto centrado en 123.941 $J_{CF} = 270.5$ Hz



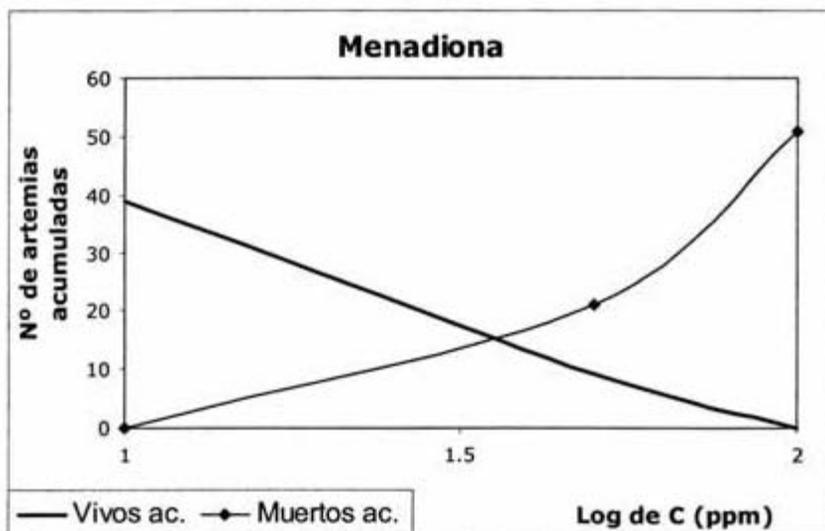
## 8 RESULTADOS

### 8.3 CÁLCULO DE LA CL<sub>50</sub>

**Tabla 1**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**Menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	-	-	-
5	0.6989	30	0	-	-	-
10	1	30	0	39	0	0
50	1.6989	9	21	9	21	70
100	2	0	30	0	51	100
500	2.6989	0	30	-	-	-
1000	3	0	30	-	-	-

**Gráfica 1**  
Determinación de CL<sub>50</sub>



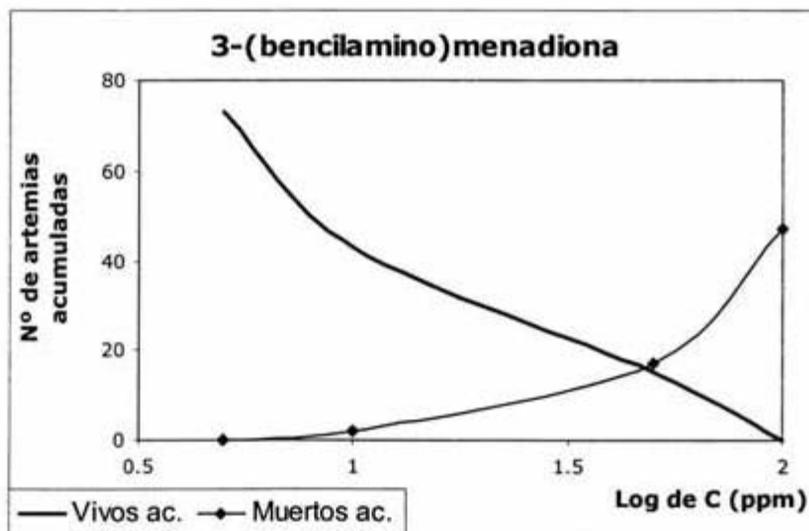


## 8 RESULTADOS

**Tabla 2**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**3 - (bencilamino) menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	-	-	-
5	0.6989	30	0	73	0	0
10	1	28	2	43	2	4,44
50	1.6989	15	15	15	17	53.12
100	2	0	30	0	47	100
500	2.6989	0	30	-	-	-
1000	3	0	30	-	-	-

**Gráfica 2**  
Determinación de CL<sub>50</sub>



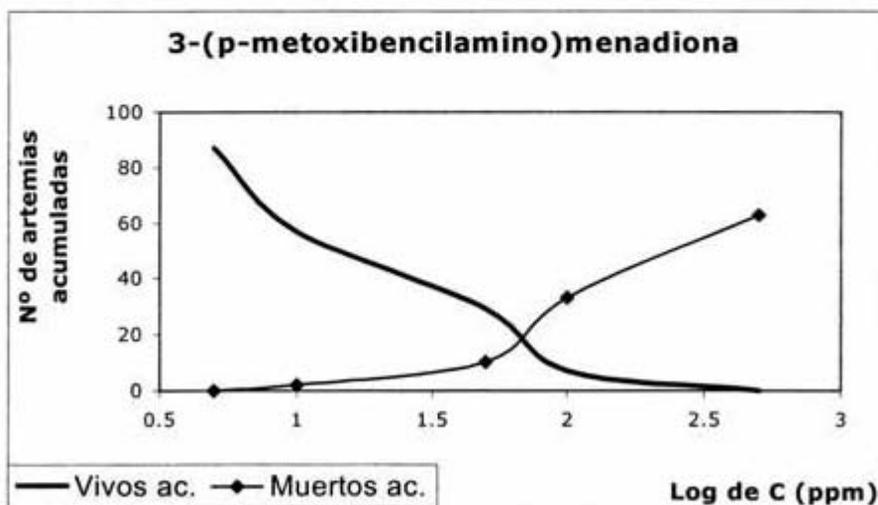


## 8 RESULTADOS

**Tabla 3**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**3 - (p -metoxibencilamino) menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	-	-	-
5	0.6989	30	0	87	0	0
10	1	28	2	57	2	3.38
50	1.6989	22	8	29	10	25.64
100	2	7	23	7	33	82.5
500	2.6989	0	30	0	63	100
1000	3	0	30	-	-	-

**Gráfica 3**  
Determinación de  $CL_{50}$



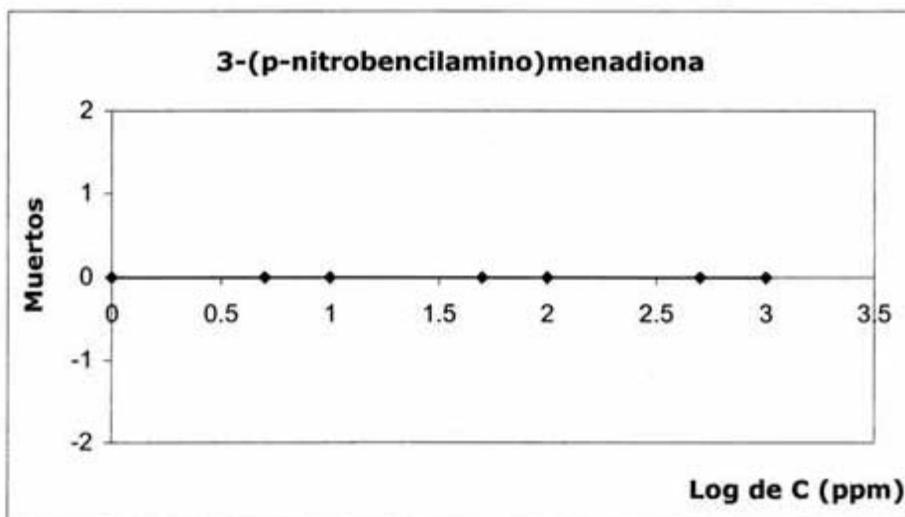


## 8 RESULTADOS

**Tabla 4**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**3 - (p -nitrobencilamino) menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	-	0	0
5	0.6989	30	0	-	0	0
10	1	30	0	-	0	0
50	1.6989	30	0	-	0	0
100	2	30	0	-	0	0
500	2.6989	30	0	-	0	0
1000	3	30	0	-	0	0

**Gráfica 4**  
Determinación de  $CL_{50}$



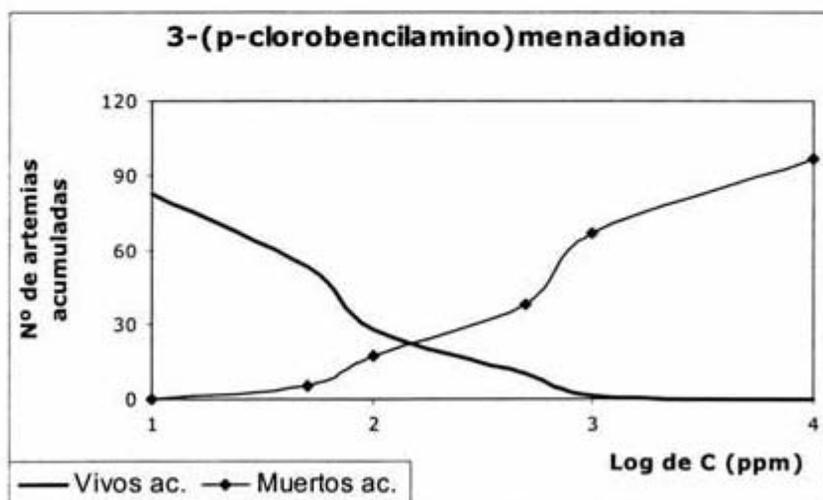


## 8 RESULTADOS

**Tabla 5**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**3 - (p -clorobencilamino) menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	-	-	-
5	0.6989	30	0	-	-	-
10	1	30	0	83	0	0
50	1.6989	25	5	53	5	8.62
100	2	18	12	28	17	37.77
500	2.6989	9	21	10	38	79.16
1000	3	1	29	1	67	98.52
10000	4	0	30	0	97	100

**Gráfica 5**  
Determinación de CL<sub>50</sub>



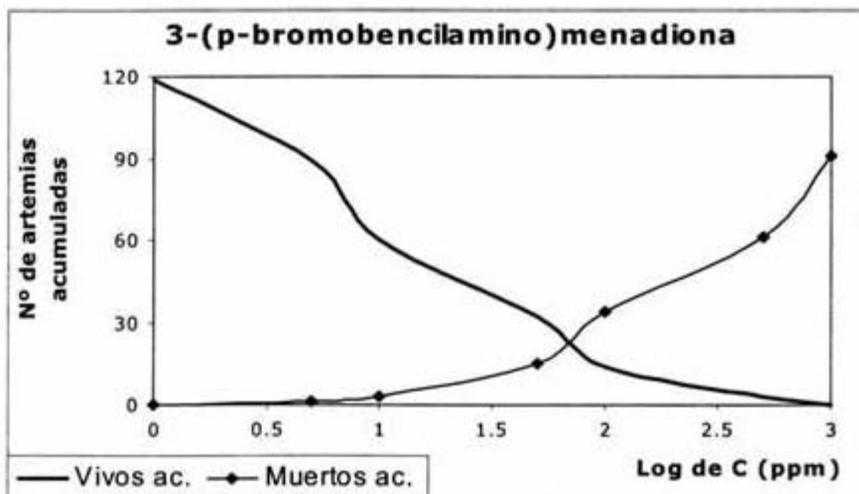


## 8 RESULTADOS

**Tabla 6**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**3 - (p -bromobencilamino) menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	119	0	0
5	0.6989	29	1	89	1	1.11
10	1	28	2	60	3	4.76
50	1.6989	18	12	32	15	31.91
100	2	11	19	14	34	70.83
500	2.6989	3	27	3	61	96.31
1000	3	0	30	0	91	100

**Gráfica 6**  
Determinación de CL<sub>50</sub>



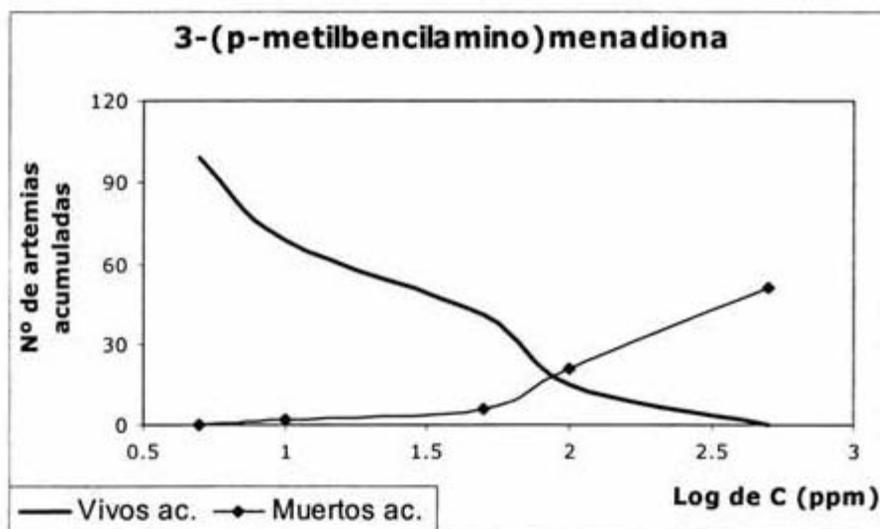


## 8 RESULTADOS

**Tabla 7**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**3 - (p-metilbencilamino) menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	-	-	-
5	0.6989	30	0	99	0	0
10	1	28	2	69	2	2.81
50	1.6989	26	4	41	6	12.76
100	2	15	15	15	21	58.33
500	2.6989	0	30	0	51	100
1000	3	0	30	-	-	-

**Gráfica 7**  
Determinación de CL<sub>50</sub>



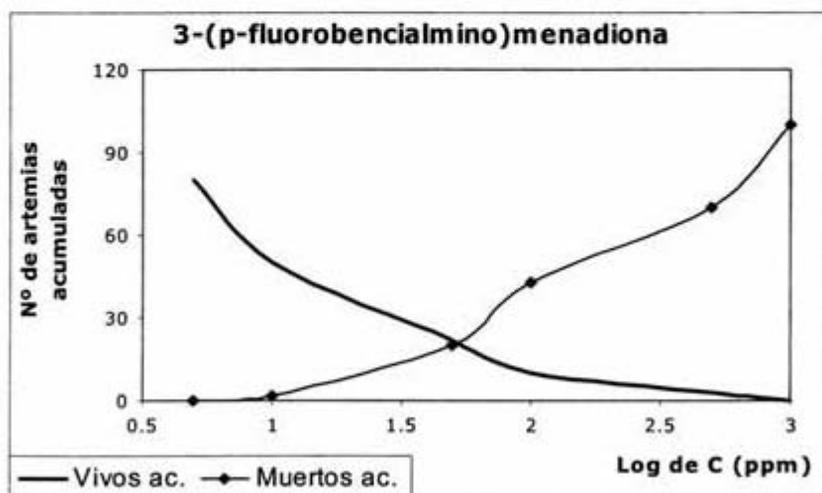


## 8 RESULTADOS

**Tabla 8**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**3 - (p - fluorobencilamino) menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	-	-	-
5	0.6989	30	0	80	0	0
10	1	28	2	50	2	3.84
50	1.6989	12	18	22	20	47.61
100	2	7	23	10	43	81.13
500	2.6989	3	27	3	70	95.89
1000	3	0	30	0	100	100

**Gráfica 8**  
Determinación de  $CL_{50}$



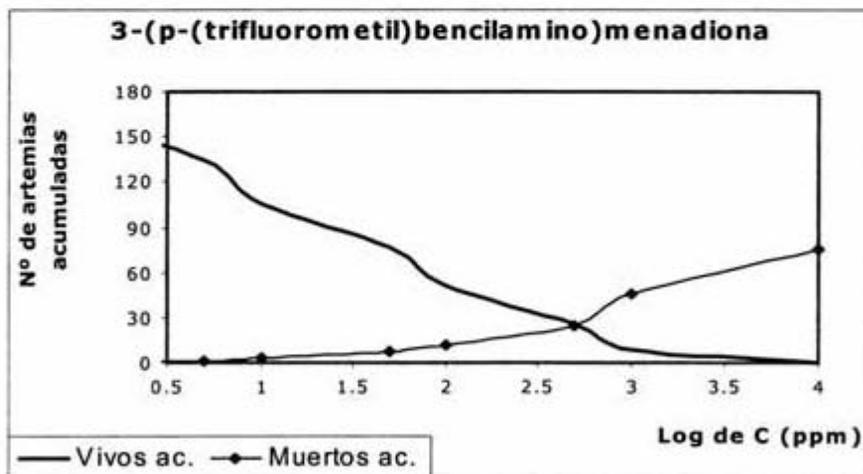


## 8 RESULTADOS

**Tabla 9**  
Mortalidad de *Artemia salina* expuesta a  
**3 - (p -(trifluorometil)bencilamino) menadiona**

Concentración (ppm)	Log de la concentración	# vivos	# muertos	Vivos acumulados	Muertos acumulados	% de mortalidad
1	0	30	0	164	0	0
5	0.6989	29	1	134	1	0.74
10	1	28	2	105	3	1.66
50	1.6989	26	4	77	7	8.33
100	2	25	5	51	12	19.04
500	2.6989	17	13	26	25	49.01
1000	3	9	21	9	46	83.63
10000	4	0	30	0	76	100

**Gráfica 9**  
Determinación de CL<sub>50</sub>





## 8 RESULTADOS

En la **tabla 10** se presentan los valores de  $CL_{50}$  obtenidos para cada uno de los compuestos probados.

**Tabla 10**  
 $CL_{50}$

	<b>COMPUESTO</b>	<b><math>CL_{50}</math> (mg/mL)</b>
	Menadiona	0.03156
<b>1</b>	3-(bencilamino)menadiona	0.04509
<b>2</b>	3-(p-metoxibencilamino)menadiona	0.06728
<b>3</b>	3-(p-nitrobencilamino)menadiona	No activa
<b>4</b>	3-(p-clorobencilamino)menadiona	0.12272
<b>5</b>	3-(p-bromobencilamino)menadiona	0.069
<b>6</b>	3-(p-metilbencilamino)menadiona	0.08759
<b>7</b>	3-(p-fluorobencilamino)menadiona	0.05253
<b>8</b>	3-(p-(trifluorometil)bencilamino)menadiona	0.51

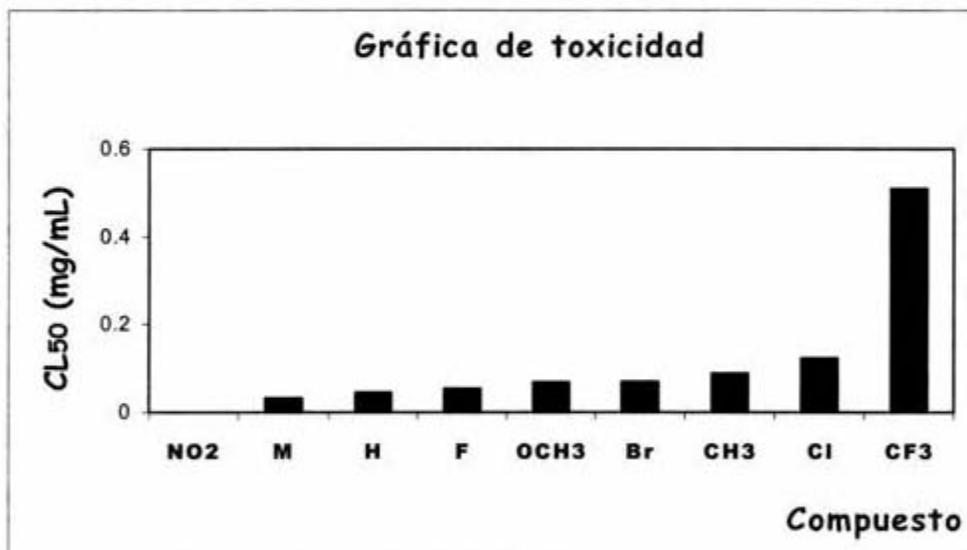


## 8 RESULTADOS

---

La **gráfica 10** presenta la  $CL_{50}$  de todos los compuestos probados frente a *Artemia salina*, se observa que el compuesto nitrado no presenta actividad biológica, la menadiona tiene la  $CL_{50}$  más baja y por tanto es la más tóxica para la larva y finalmente el compuesto cuyo sustituyente es el trifluorometil, presenta la  $CL_{50}$  mayor y por tanto es el compuesto menos tóxico.

**Gráfica 10**



9  
*ANÁLISIS  
DE  
RESULTADOS*



### **SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS DE 2-metil-1,4-Naftoquinona.**

- La síntesis de los derivados de 2-metil-1,4-NQ se realizó según el método descrito por Laurence y colaboradores, sustentado con el mecanismo de reacción propuesto por Mohammed.
- Sobre la síntesis de dichos compuestos, podemos decir que cuenta con las siguientes ventajas: No requiere de un sistema complejo en cuanto a material de vidrio se refiere, solo se mantiene en agitación sin calentamiento por lo que tampoco necesita de agua corriente y esto representa un ahorro tanto de fuente energética como de agua. Como desventajas es importante considerar que estas síntesis requieren de un largo tiempo de reacción (60-75 hrs.) además, la purificación requiere de varios pasos para algunos derivados y ello se ve reflejado en bajos rendimientos, sin embargo, se puede decir que en general estos son buenos, sólo en dos compuestos (el N° 1 y el N° 2) se obtiene un rendimiento menor al 50 %, esto se debe justamente a que dichos compuestos fueron purificados por columna cromatográfica y eso causó el decremento.
- Los puntos de fusión, son muy variables, no se aprecia una tendencia que indique que estos aumenten conforme aumenta el peso molecular de las NQ's sintetizadas, sin embargo, lo anterior no siempre debe cumplirse como sucede en este caso.



### ESPECTROSCOPIA DE IR

- Por medio de ésta técnica fue posible determinar los grupos funcionales presentes en las moléculas sintetizadas <sup>32</sup>.
- Para los ocho derivados de 2-metil-1,4-NQ se observa la vibración del enlace **N-H** correspondiente a amina secundaria como una banda fina que, en general, es de intensidad fuerte en un intervalo de frecuencia que oscila entre  $\nu=3322.53 \text{ cm}^{-1}$  y  $\nu=3332.92 \text{ cm}^{-1}$ . Como referencia se han incluido los espectros correspondientes a la 2-metil-1,4-NQ que es la materia de partida y esta banda no se observa.
- El grupo carbonilo (C=O) de cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada correspondiente a la 1,4-NQ di-sustituida, está representado por una banda fina de intensidad fuerte en frecuencias entre  $\nu=1664.59 \text{ cm}^{-1}$  y  $\nu=1670.57 \text{ cm}^{-1}$ . Esta señal se observa tanto en los ocho derivados como en la materia prima.
- Para la vibración C=C de cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada, en todos los casos, se presenta una banda fina de mayor intensidad que la correspondiente al grupo C=O en frecuencias entre  $\nu=1602.33 \text{ cm}^{-1}$  y  $\nu=1606.71 \text{ cm}^{-1}$ .
- Los derivados de 2-metil-1,4-NQ contienen en su estructura dos anillos aromáticos, uno corresponde a la NQ y el otro, a la bencilamina. Representando ambos anillo, se presentan en general dos bandas finas de intensidad fuerte, la primera oscila entre  $\nu=1498.19 \text{ cm}^{-1}$  y  $\nu=1529.91 \text{ cm}^{-1}$ .



## 9 ANÁLISIS DE RESULTADOS

---

La segunda está entre  $\nu=1565.95\text{ cm}^{-1}$  y  $\nu=1571.03\text{ cm}^{-1}$ . Para la materia prima solo se observa una banda fina de intensidad fuerte en  $1592.79\text{ cm}^{-1}$ .

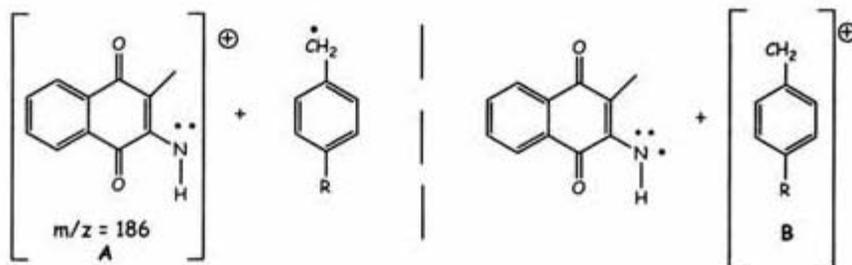
- Una banda fina de intensidad muy débil en frecuencias entre  $\nu=1365.78\text{ cm}^{-1}$  y  $\nu=1376.49\text{ cm}^{-1}$  se registra como la torsión simétrica del grupo  $\text{CH}_3$ .
- El derivado que contiene al grupo  $-\text{NO}_2$  está representado por dos bandas finas de intensidad fuerte, una en  $\nu_s=1341.10\text{ cm}^{-1}$  debida a la vibración simétrica y otra en  $\nu_{as}=1512.09\text{ cm}^{-1}$  por la vibración asimétrica.
- No se han presentado las bandas correspondientes a los halógenos, debido a que los intervalos de referencia reportados en la literatura son muy amplios para asignar una sola banda, se ha considerando también que al utilizar la técnica de pastilla de KBr causa alguna interferencia, complicando la asignación de las señales.

### ESPECTROMETRÍA DE MASAS

- El valor de  $M^+$  se registra como un número impar en todos los compuestos que tienen un solo átomo de nitrógeno. Sólo en el compuesto 3, que tiene dos átomos de nitrógeno se registra  $M^+$  en número par.
- La fragmentación principal que presentan los ocho compuestos, corresponde a la ruptura del enlace N-C de la bencilamina, el siguiente esquema muestra los dos posibles iones que se forman: A y B



## 9 ANÁLISIS DE RESULTADOS

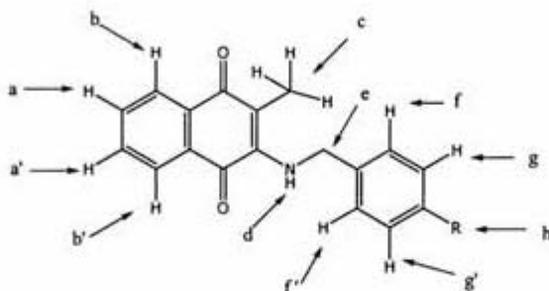


- En todos los espectros aparece un pico con  $m/z=186$  correspondiente al ion **A**, también está presente, en todos los casos, un pico representativo del ion **B** con un valor de  $m/z$  que varía según el sustituyente  $\text{R}$  de la posición "para" del bencilo.
- En el caso del derivado cuyo sustituyente es  $\text{Br}$  se observa  $\text{M}^+$  en  $m/z=355$  y  $\text{M}+2$  en  $m/z=357$  ambas señales con la misma intensidad, esto se debe a que el  $^{79}\text{Br}$  y el isótopo  $^{81}\text{Br}$  tienen una abundancia natural de 100 a 97.9 % respectivamente.
- En el caso del derivado cuyo sustituyente es  $\text{Cl}$  se observa  $\text{M}^+$  en  $m/z=311$  y  $\text{M}+2$  en  $m/z=313$  en donde la señal de  $\text{M}+2$  corresponde a 1/3 de la intensidad de  $\text{M}^+$ , esto se debe a que el  $^{35}\text{Cl}$  y el isótopo  $^{37}\text{Cl}$  tienen una abundancia natural de 100 a 32.6 % respectivamente <sup>33</sup>.



## ESPECTROSCOPIA DE RMN<sup>1</sup>H

La asignación de protones se hizo como muestra la siguiente estructura:



- Los protones de la posición **a** están representados para todos los casos como un doble de doble de doble (ddd) que asemeja un triplete dobleteado y el desplazamiento químico oscila entre  $\delta=7.669$  y  $\delta=7.705$  ppm. Una señal igual representa a los protones **a'** con desplazamiento entre  $\delta=7.569$  y  $\delta=7.620$  ppm. Para estos dos tipos de protón fue posible medir las constantes de acoplamiento en la posición **orto** (<sup>1</sup>J) que tiene valores entre  $J=7.35$  y  $J=7.8$  Hz y en la posición **meta** (<sup>2</sup>J) con valores entre  $J=1.2$  y  $J=1.5$  Hz. Para la asignación exacta de cada protón fue necesario realizar un experimento de RMN en dos dimensiones llamado COSY.

- Los protones de la posición **b** están representados para todos los casos con un doblete dobleteado y el desplazamiento químico oscila entre  $\delta=8.044$  y  $\delta=8.089$  ppm. Una señal igual representa a los protones **b'** con desplazamiento entre  $\delta=7.994$  y  $\delta=8.023$  ppm. Para estos dos tipos de protón fue posible medir las constantes de acoplamiento en la posición **orto** (<sup>1</sup>J) con valores entre  $J=7.5$  y  $J=7.8$  Hz, en la posición **meta** (<sup>2</sup>J) con



## 9 ANÁLISIS DE RESULTADOS

---

---

valores entre  $J=1.2$  y  $J=1.5$  Hz y en la posición **para** ( $^3J$ ) con valores entre  $J=0.3$  y  $J=0.6$  Hz. Fue posible identificar con certeza al protón **b** del **b'** con la ayuda de la técnica FLOCK (RMN en 2D) que correlaciona a tres enlaces de distancia a cada uno de estos protones con los carbonos carbonílicos.

- Los protones identificados como **c** que corresponden a un metilo en la posición 2 de la NQ, en todos los casos son representados por un singulete con desplazamientos que oscilan entre  $\delta=2.123$  y  $\delta=2.247$  ppm. Se encuentran un poco desplazados a campo bajo debido a la presencia de un C=O en la posición 1 de la NQ.
- Los protones **d** están representados por un singulete de intensidad muy débil en desplazamientos entre  $\delta=5.56$  y  $6.393$  ppm. Estos protones están unidos a un átomo de nitrógeno y por tal motivo se encuentran desplazados a campo bajo. La señal correspondiente a este tipo de protón desaparece al realizar intercambio con  $D_2O$  en todos los casos.
- Los protones identificados con **e** corresponden al metileno de la bencilamina y por tal razón son desplazados a campo bajo entre  $\delta=4.675$  y  $\delta=4.882$  ppm.
- Los protones **f** y **g** que corresponden al anillo aromático **para**-sustituído de la bencilamina, presentan en general señales con multiplicidad compleja que en muy pocos casos permiten medir las constantes de acoplamiento, su asignación se hizo con la ayuda de las técnicas HETCOR y FLOCK y también se consideró que la integración de las señales corresponde

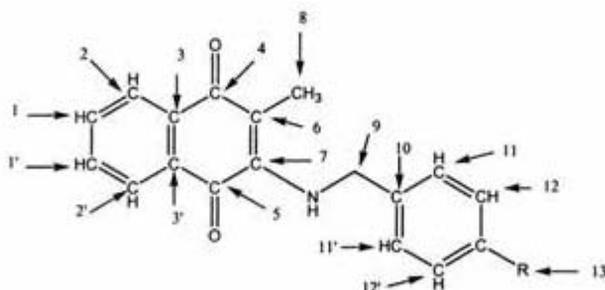


al número de protones asignados. Para los casos en los que el sustituyente es **F** y **CF<sub>3</sub>** no es posible observar la multiplicidad claramente para medir las constantes de acoplamiento H-F.

- Para los compuestos en los que el sustituyente en la posición **para** de la bencilamina tiene protones, se identifican con la letra **h**, como el caso donde el sustituyente es **-OCH<sub>3</sub>**, estos protones aparecen como un singulete en  $\delta=3.812$  ppm, su desplazamiento hacia campo bajo es debido a la presencia del oxígeno. Cuando el sustituyente es **-CH<sub>3</sub>** se observa un singulete en  $\delta=2.344$  ppm, también desplazados a campo bajo ya que el metilo está unido a un anillo aromático y actúa como un grupo electrodonador.

### ESPECTROSCOPÍA DE RMN<sup>13</sup>C

La asignación de átomos de carbono se hizo como muestra la siguiente estructura:



- Los átomos de carbono **1** y **1'** están representados por dos señales, una de ellas está en desplazamientos químicos que oscilan entre  $\delta=133.994$



## 9 ANÁLISIS DE RESULTADOS

---

---

y  $\delta=134.352$  ppm y la otra entre  $\delta=131.790$  y  $\delta=132.052$  ppm, para **1** a campo más bajo que para **1'**.

- De la misma forma, los carbonos asignados como **2** y **2'** se representan con dos señales muy cercanas, los desplazamientos químicos para **2** varían entre  $\delta=125.772$  y  $\delta=126.267$  ppm y para **2'** entre  $\delta=125.702$  y  $\delta=126.066$  ppm. Para **2** a campo más bajo que para **2'**.

- Para **3** y **3'**,  $\delta=132.701$  y  $\delta=133.591$  ppm y  $\delta=129.984$  y  $\delta=131.926$  ppm, para **3** a campo más bajo que para **3'**.

- Como no fue posible calcular de tablas los desplazamientos químicos de los átomos de carbono identificados como **4** y **5** y dado que ninguno de ellos tiene protones, para la asignación exacta de cada uno, fue necesario recurrir a la técnica de RMN conocida como FLOCK y por tanto se determinó que el carbono **4** es el que se encuentra desplazado a campo más bajo en un intervalo de  $\delta=183-184$  ppm y un poco hacia campo más alto está el carbono **5** entre  $\delta=182-183$  ppm.

- Los desplazamientos para el carbono **6** están entre  $\delta=112.912$  y  $\delta=114.072$  ppm y para **7** entre  $\delta=145.707$  y  $\delta=146.927$  ppm.

- Los carbonos **8** y **9** son los que aparecen a campo más alto que lo demás, el primero entre  $\delta=10.6$  y  $\delta=11.30$  ppm y el segundo entre  $\delta=47.847$  y  $\delta=49.115$  ppm.



## 9 ANÁLISIS DE RESULTADOS

---

---

- Para **11** se presenta una sola señal entre  $\delta=127.070$  y  $\delta=128.872$  ppm. La excepción es la molécula cuyo sustituyente es **F** ya que este carbono está representado por un doblete debido al acoplamiento C-F con un valor de  $^3J = 8.025$  Hz.
- Para los carbonos marcados como **12** los desplazamientos químicos son muy variables debido a la influencia del grupo sustituyente de la bencilamina. En el caso particular donde el sustituyente es **F** se observa un doblete con un valor de  $^2J = 21.375$  Hz y cuando el sustituyente es **CF<sub>3</sub>** se observa un cuadruplete con valor de  $^3J = 3.75$  Hz, lo anterior se debe al acoplamiento C-F.
- Los átomos de carbono representados con **13** también presentan desplazamientos químicos muy variables ya que son los que están unidos directamente al grupo sustituyente de la bencilamina, los casos particulares son cuando el sustituyente es **F** cuya señal es un doblete con  $^1J = 244.8$  Hz y cuando se trata de **CF<sub>3</sub>** la señal es un cuadruplete con  $^2J = 32.4$  Hz.
- Para los casos que cuentan con un carbono marcado como **14** solo es relevante mencionar al que tiene por sustituyente el grupo **CF<sub>3</sub>** ya que se representa por un cuarteto cuya constante de acoplamiento es  $^1J=270.5$  Hz.



### HETCOR <sup>40</sup>

- Se trató de identificar cada átomo o grupo de átomos de **C** e **H** calculando su desplazamiento químico con las tablas reportadas en la literatura<sup>33-37</sup>, sin embargo, el cálculo no fue posible para todos y en dichos casos la técnica de HETCOR fue de gran ayuda para su identificación ya que es una técnica de RMN en 2D en la que se muestra la correlación a un enlace de distancia entre núcleos distintos (<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C) por detección del núcleo menos sensible, que resulta ser el protón, lo anterior nos permite asegurar qué protón o protones corresponden a cada carbono.

### FLOCK <sup>40</sup>

- FLOCK es una técnica de RMN heteronuclear en 2D de detección directa que muestra la correlación a dos y/o a tres enlaces de distancia entre núcleos diferentes, en nuestro caso se trata de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, nos permitió identificar los carbonos carbonílicos de los compuestos sintetizados en este trabajo, también fue posible dar la asignación exacta a los protones **b** y **b'**, y a los carbonos **1** y **1'**, **2** y **2'** y **3** y **3'**.

### COSY <sup>40</sup>

- COSY es una técnica de RMN homonuclear en 2D que detecta la correlación a 2 y/o 3 enlaces de distancia entre <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H y que nos permitió distinguir el protón **a** de **a'**.



### PRUEBAS BIOLÓGICAS

- Con los resultados del Bioensayo frente a *Artemia salina* se determinó que siete de los ocho compuestos sintetizados presentan actividad larvicida, el compuesto que no resultó activo es el N° 3 que contiene al grupo  $-NO_2$  en su estructura. También se encontró que la menadiona presenta actividad biológica.
- La  $CL_{50}$  determinada para los ocho compuestos sintetizados y para la materia prima oscila entre 0.03-0.5 mg/mL.
- El compuesto que presentó la mayor actividad larvicida fue la menadiona y el caso contrario le corresponde al compuesto N° 8, la 3-(p-(trifluorometil)bencilamino)menadiona.

Ahora se presentan las tablas generales de cada espectroscopía con el objetivo de comparar los valores obtenidos para un determinado átomo o grupo de átomos de todos los compuestos sintetizados.

## MASAS

COMPUESTO	1	2	3	4	5	6	7	8
ION MOLECULAR	277	307	322	311	355	291	295	345
PICO BASE	277	121	322	311	355	291	295	345

## IR

## C O M P U E S T O

	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>GRUPO FUNCIONAL</b>	<b><math>\nu</math> (cm<sup>-1</sup>)</b>							
<b>N-H</b>	3325.10	3329.78	3329.11	3329.28	3324.90	3322.53	3328.88	3332.92
<b>C=O</b>	1669.46	1669.98	1669.31	1668.64	1667.34	1667.37	1670.57	1670.31
<b>C=C</b>	1604.87	1603.23	1602.33	1602.40	1602.34	1606.71	1602.42	1604.41
<b>Aromático</b>	1556.81 1568.13	1526.83 1565.95	1570.01	1501.70 1566.87	1516.64 1569.18	1498.19 1571.03	1506.59 1566.23	1529.91 1568.69
<b>CH<sub>3</sub> (<math>\delta</math>)</b>	1372.41	1375.40	X	X	1365.78	1372.31	X	1376.49
<b>Monosustitución</b>	697.98 723.68	X	X	X	X	X	X	X
<b>-OCH<sub>3</sub></b>	X	2833.77	X	X	X	X	X	X
<b>-NO<sub>2</sub></b>	X	X	s 1341.10 as 1512.09	X	X	X	X	X

C O M P U E S T O

RMN <sup>1</sup> H	1	2	3	4	5	6	7	8
Posición del átomo de H	$\delta$ (ppm)							
<b>a</b>	7.678	7.683	7.705	7.684	7.688	7.669	7.687	7.695
<b>a'</b>	7.58	7.583	7.620	7.588	7.594	7.569	7.591	X
<b>b</b>	8.044	8.089	8.059	8.078	8.082	8.076	8.085	8.084
<b>b'</b>	8.006	8.004	8.019	8.005	8.011	7.994	8.009	8.023
<b>c</b>	2.225	2.247	2.123	2.188	2.187	2.226	2.214	2.147
<b>d</b>	5.56	--	6.393	5.990	5.992	5.988	5.948	6.060
<b>e</b>	4.742	4.675	4.882	4.702	4.688	4.691	4.706	4.804
<b>f</b>	7.3	7.223	7.505	7.230	7.175	7.173	7.273	7.424
<b>g</b>	7.3	6.898	8.224	7.333	7.492	7.173	7.063	7.631
<b>h</b>	7.3	3.812	X	X	X	2.344	X	X

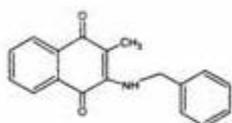
C O M P U E S T O

RMN <sup>13</sup> C	1	2	3	4	5	6	7	8
átomo de C	δ (ppm)							
<b>1</b>	134.293	134.312	133.994	134.338	134.370	134.247	134.354	134.352
<b>1'</b>	131.912	131.926	131.790	132.006	X	131.851	132.010	132.052
<b>2</b>	126.206	126.230	125.772	126.230	126.267	126.171	126.262	126.226
<b>2'</b>	126.010	126.034	125.702	126.034	126.066	125.980	126.057	126.039
<b>3</b>	133.350	133.401	132.701	133.591	133.259	133.377	133.313	133.154
<b>3'</b>	130.287	131.926	129.984	130.239	130.261	130.293	130.292	130.211
<b>4</b>	183.681	183.714	183.088	183.655	183.692	183.646	183.719	183.619
<b>5</b>	182.383	182.411	181.888	182.302	182.330	182.380	182.365	182.234
<b>6</b>	113.063	114.072	113.507	113.476	113.549	112.912	113.451	113.700
<b>7</b>	145.984	145.956	146.927	145.794	145.803	146.017	145.872	145.707
<b>8</b>	11.181	11.303	10.612	11.144	11.167	11.194	11.209	11.053
<b>9</b>	49.332	49.066	47.847	48.595	48.659	49.155	48.711	48.627
<b>10</b>	138.644	130.315	146.680	137.240	137.786	137.522	X	142.924
<b>11</b>	127.070	128.592	127.121	128.353	128.685	127.078	d 128.818	127.123
<b>12</b>	128.956	114.361	123.685	129.100	132.079	129.596	d 115.890	Cuarteto 125.873
<b>13</b>	127.794	159.272	145.419	133.240	121.675	135.582	d 162.328	Cuarteto 129.999
<b>14</b>	X	55.322	X	X	X	21.069	X	Cuarteto 123.941

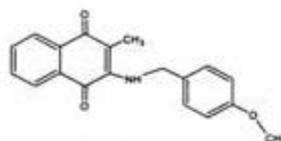
*10*  
*CONCLUSIONES*



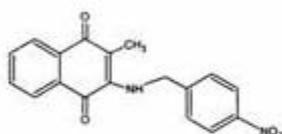
- Se sintetizaron los siguientes compuestos:



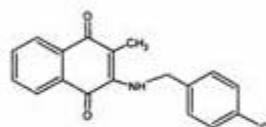
(1)



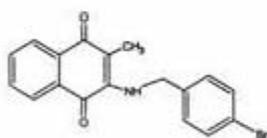
(2)



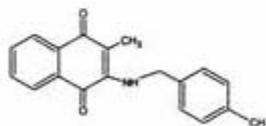
(3)



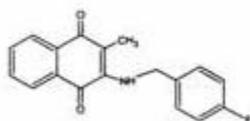
(4)



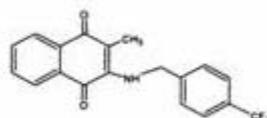
(5)



(6)



(7)



(8)



## 10 CONCLUSIONES

---

---

COMPUESTOS SINTETIZADOS	
1	3-(bencilamino)menadiona
2	3-(p-metoxibencilamino)menadiona
3	3-(p-nitrobencilamino)menadiona
4	3-(p-clorobencilamino)menadiona
5	3-(p-bromobencilamino)menadiona
6	3-(p-metilbencilamino)menadiona
7	3-(p-fluorobencilamino)menadiona
8	3-(p-(trifluorometil)bencilamino)menadiona

Todos ellos son nuevos ya que su síntesis no ha sido reportada en la literatura, igualmente ninguno ha sido propuesto como agente leishmanicida con anterioridad.

- Todos los compuestos sintetizados fueron caracterizados por las técnicas espectroscópicas de IR, EM, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, HETCOR, FLOCK Y COSY.
  - Se determinó que siete de los ocho compuestos sintetizados presentan actividad Biológica contra *Artemia salina*. El compuesto N° 3, la 3-(p-nitrobencilamino)menadiona no presentó actividad.
  - La 2-metil-1,4-NQ (menadiona) presentó la mayor actividad larvicida contra *Artemia salina*.
  - La 3-(p-(trifluorometil)bencilamino)menadiona (compuesto N° 8) presentó la menor actividad larvicida contra *Artemia salina*.
- 
-

*11*  
*GLOSARIO*



**Amebiosis:** Enfermedad del hombre y de los animales producida por protozoarios del tipo de las amebas.

**Anemia :** Empobrecimiento de la sangre por disminución de su cantidad total.

**Anemia hemolítica:** Disminución del número de hematíes por su destrucción excesiva en el organismo.

**Anorexia:** Falta anormal de ganas de comer dentro de un cuadro depresivo.

**Anticuerpo:** Proteína soluble que interacciona con el antígeno.

**Antígeno:** Sustancia que introducida en un organismo animal da lugar a reacciones de defensa tal como la formación de anticuerpos.

**Antroponótica:** Enfermedad que ocurre principalmente en los humanos y es transmitida por ellos mismos.

**Bazo:** Viscera propia de los vertebrados situado casi siempre del lado izquierdo del estómago que destruye los hematíes caducos y participa en la formación de los linfocitos.

**Biopsia:** Resultado del examen de una muestra de tejido tomada de un ser vivo con fines de diagnóstico.

**Comensal:** Persona o animal que vive a expensas de otra.

**Cofactor:** Es una pequeña molécula no proteica que participa en una reacción catalítica como parte de una enzima.

**Creatina:** Ácido  $\alpha$ -metil-guanidinacético.

**Crustáceo:** Clase de animales artrópodos de respiración branquial con dos pares de antenas, cubiertos por un caparazón calcificado y que tienen un número variable de apéndices.

**Dermis:** Capa conjuntiva que forma parte de la piel de los vertebrados, más gruesa que la epidermis y situada debajo de esta.

---

---



**Diabetes mellitus:** Enfermedad metabólica producida por deficiencias en la cantidad o en la utilización de la insulina, lo que produce un exceso de glucosa en la sangre.

**Diseminar:** Esparcir

**Eclosionar:** En un huevo, romper su envoltura para permitir la salida o nacimiento del animal.

**Edema:** Hinchazón blanda de una parte del cuerpo, que cede a la presión y es ocasionada por la serosidad infiltrada en el tejido celular.

**Endémico:** Propio y exclusivo de determinadas localidades o regiones.

**Enzima:** Proteína que cataliza específicamente cada una de las reacciones bioquímicas del metabolismo.

**Epitelioma:** Cáncer formado por células epiteliales, derivadas de la piel y del revestimiento mucoso.

**Especie:** En microbiología, colección de cepas que comparten las mismas propiedades principales, pero se diferencian de otras en una o más propiedades significativas.

**Esplenomegalia:** Inflamación del bazo.

**Estadio:** Etapa o fase de un proceso, desarrollo o transformación.

**Etiología:** Estudio de las causas de las enfermedades.

**Eucarionte:** Se les llama así a las células con núcleo diferenciado, envuelto por una membrana y con citoplasma organizado y de los organismos constituidos por ellas.

**Excreción:** Expulsar los residuos metabólicos, como la orina o el anhídrido carbónico de la respiración.

**Fagocitosis:** Mecanismo de ingestión de alimentos particulados en el que la membrana citoplasmática rodea a la partícula y la lleva dentro de la célula



**Flagelados:** Un grupo de protozoarios cuyo movimiento se origina por apéndices largos y finos que se llaman flagelos y que se mueven en forma de látigos.

**Flebótomo:** Animal que provoca sangrado.

**Frotis:** extensión, preparación microscópica.

**Género:** Colección de diferentes especies que comparten una o más propiedades principales.

**Glucógeno:** Polisacárido de reserva como almacenamiento de energía en las células, formado por monómeros de glucosa.

**Hematíe:** Glóbulo rojo de la sangre.

**Hematófago:** Dicho de un animal que se alimenta de sangre como los insectos chupadores.

**Hematología:** Estudio de la sangre y de los órganos que la producen.

**Hepatomegalia:** Tamaño anormalmente grande del hígado.

**Hipoglucemia:** Cuando en la sangre se tienen niveles de azúcar que están por abajo del nivel normal.

**Hipotensión:** Presión excesivamente baja de la sangre.

**Impronta:**Técnica para aplicar muestra en portaobjetos para ser observada en un microscopio.

**Induración:** Acción y efecto de endurecer.

**Inhibición competitiva:** Cuando un inhibidor tiene la misma forma espacial que el sustrato de una enzima, compiten ambos por unirse al sitio activo de la misma.

**Inhibición no competitiva:** Cuando un inhibidor no tiene la misma forma espacial que el sustrato de una enzima y no compiten por unirse a ella ya



que el inhibidor no competitivo se une a un sitio diferente al sitio activo de la enzima.

**Inmunidad celular:** Capacidad de un organismo para combatir, de forma específica, una infección. Estado de resistencia natural o adquirida que poseen los individuos o especies frente a determinadas acciones patógenas de microorganismos o sustancias extrañas.

**Inmunología:** Estudio de la inmunidad biológica y sus aplicaciones.

**Inocular:** introducir en un organismo una sustancia que contiene los gérmenes de una enfermedad.

**Inóculo:** Pequeña cantidad de la sustancia que se inocula.

**Intraperitoneal:** entre el peritoneo. (ver peritoneo).

**Letargia:** Síntoma de varias enfermedades nerviosas, infecciosas o tóxicas, caracterizado por un estado de somnolencia profunda y prolongada.

**Leucemia:** Enfermedad neoplásica de los órganos formadores de células sanguíneas, caracterizada por la proliferación maligna de leucocitos.

**Leucocitos:** Células nucleadas que se hallan en la sangre. Glóbulos blancos.

**Leucopenia:** número de leucocitos en la sangre inferior al normal.

**Linfadenopatía:** Ganglios linfáticos anómalos.

**Linfocitos:** Una subpoblación de células nucleadas de la sangre que participan en una respuesta inmune.

**Líquido pleural:** ver pleura.

**Lisis:** Pérdida de integridad celular con liberación de constituyentes citoplasmáticos.

**Longevo:** De larga vida.

**Macrófagos:** Una clase de leucocitos de tamaño grande con capacidad fagocítica.



**Medio de cultivo:** Sustancia nutritiva que permite el crecimiento de microorganismos, pueden ser sólidos, líquidos o semisólidos,

**Metabolismo:** Conjunto de reacciones químicas que efectúan constantemente las células de los seres vivos con el fin de sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples o degradar aquellas para obtener estas.

**Metástasis:** Propagación de un foco canceroso en un órgano distinto de aquel en que se inició.

**Mialgia:** Dolor de los músculos.

**Mitocondrias:** Orgánulo de las células eucariontes en el que tiene lugar la respiración celular.

**Nódulo:** Abultamiento de tejido que puede ser duro o blando.

**Paludismo:** Enfermedad febril producida por un protozoo y transmitida al hombre por la picadura del mosquito *anofeles*.

**Peritoneo:** Membrana serosa propia de los vertebrados que reviste la cavidad abdominal y forma pliegues que envuelven las vísceras situadas en esta cavidad.

**Pleura:** Cada una de las membranas serosas que en ambos lados del pecho de los mamíferos cubren las paredes de la cavidad torácica y la superficie de los pulmones.

**Protozoario:** Microorganismos eucarióticos unicelulares que carecen de pared celular.

**Respiración:** Proceso en el que un compuesto es oxidado con  $O_2$  o un sustituto de  $O_2$  funciona como aceptor terminal de electrones, usualmente acompañado de producción de ATP vía fosforilación oxidativa.



**Respuesta inmunitaria:** Capacidad de un organismo para combatir, de forma específica, una infección.

**Salobre:** Que contiene en abundancia alguna sal.

**Serología:** Estudio *in vitro* de las reacciones antígeno-anticuerpo.

**Síncope:** Pérdida súbita de la conciencia.

**Sistema linfático:** Conjunto de linfocitos.

**Sistémico:** Perteneciente o relativo a la circulación de la sangre.

**\*Taxonomía:** Ciencia que estudia la clasificación, identificación y nomenclatura de los organismos.

**Toxoplasmosis:** Enfermedad producida por protozoarios del género *toxoplasma*, que contraída durante la gestación, puede ocasionar anomalías fetales.

**Tromboflebitis:** Inflamación de las venas con formación de trombos.

**Vector:** Es un agente vivo que transfiere un patógeno.

**Xenodiagnóstico:** Prueba de laboratorio para detectar una enfermedad, empleando al animal vector para el diagnóstico.

**Zoonosis:** Enfermedad que ocurre principalmente en los animales pero puede ser transmitida a las personas.

---

\* Citas 38 y 39

---

---

12

*REFERENCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS*



**REFERENCIAS**

- (1) Tay, Z. Jorge, Lara A. Ramón, Velasco C. Oscar. *Parasitología médica*. Mendez Editores. 6ª edición. México 1996. pp 130-150
- (2) Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. *Las Leishmaniasis*. Publicación Técnica del INDRE N° 7. México 1991.
- (3) Organización Mundial de la Salud. Ginebra 1984. *Las Leishmaniasis*. Serie de Informes Técnicos N° 701
- (4) Organización Mundial de la Salud. Ginebra 1990. *Lucha contra las Leishmaniasis*. Serie de Informes Técnicos N° 793
- (5) P. Stites Daniel, Abba I Terr. *Inmunología básica y clínica* Séptima edición. El manual moderno. México 1997.
- (6) Gállego Montserrat y Riera Cristina. Unidad de Parasitología. Departamento de Microbiología y Parasitología sanitarias, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, España.
- (7) J. Lynch Matthew, Stanley S. Raphael. *Métodos de laboratorio* Segunda edición. Editorial Interamericana. México 1977. pp. 1072-1073
- (8) James W. Smith, Yezid Gutiérrez. *Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio*. Novena edición. Salvat ciencia y cultura Latinoamericana. México 1993. pp.1213-1215
- (9) R.J. Schnitzer, Hawking Frank. *Experimental Chemotherapy*. Academic press. Vol. 1 U.S.A. 1963
- (10) A. Jernigan John, Pearson D. Richard. *Chemotherapy of leishmaniasis, Chaga's disease and African trypanosomiasis*. Current opinion in infectious diseases. **6**: 6 794-802 1993.
- (11) Mutschler Ernest, Hartmut Derendork. *Drug actions. Principles and therapeutic aspects*. Medpharm scientific publishers. Germany 1995. pp. 570-71



- (12) Hunter, P.A., Darby, G. K., Russell, N. J. *Fifty years of antimicrobials: past perspectives and future trends*. Primera edición. Cambridge University Press. Great Britain 1995
- (13) Peters W.; Trotter E.R. and Robinson B.L. *Drugs responses of L.major and L.mexicana amazonensis with an analysis of promising chemical leads to new antileishmanial agents*. Annals of Tropical Medicine and Parasitology **74**: (3) 321-335 1980.
- (14) Norma Angélica Macías Ruvalcaba. Tesis *Correlación entre la estructura molecular y los sitios de aceptación de electrones en la electro-reducción de aminoquinonas en acetonitrilo e influencia de los puentes de hidrógeno y la protonación sobre los mecanismos de reducción*. Facultad de Química. UNAM. México 2002.
- (15) Mc Murry John, *Química Orgánica*. Grupo Editorial Iberoamérica. 5<sup>ta</sup> Edición. E.U.A. 1994 pp. 996-97.
- (16) Fox Marye Ann y Whitesell James K. *Química Orgánica*. Pearson Educación. 2da edición.
- (17) Voet, Donald y Voet, G. Judith. *Bioquímica*. Ediciones Omega. 1<sup>ra</sup> edición en español. Barcelona 1992. pp. 628-649
- (18) Lehninger, Albert L. *Bioquímica*. Segunda edición. Ediciones Omega. Barcelona 1995
- (19) Docampo, R., Stoppani O.M. Andres. *Generación of superoxide anion and hydrogen peroxide induced by Nifurtimox in Trypanosoma cruzi*. Arch. Biochem. Biophys. **197**: 1 317-321 1979
- (20) Ribeiro-Rodríguez, R. Dos Santos, W.G: Oliviera, A.B. Snieckus, V. Zani, C.L. and Romanha A.J. *Growth inhibitory effect of naphthofuran and naphthoquinone derivatives on Trypanosoma cruzi epimastigotes*. Boorganic and Medicinal Chemistry Letters **5**: (14) 1509-1512 1995
- (21) Portela Molina M.P., Villamil Fernández S. H., Perissinotti J.Luis. *Redox cycling of o-Naphthoquinones in Trypanosomids*. Superoxide and hydrogen peroxide production. Biochemical Pharmacology **52**: 1875-1882. 1996.
-

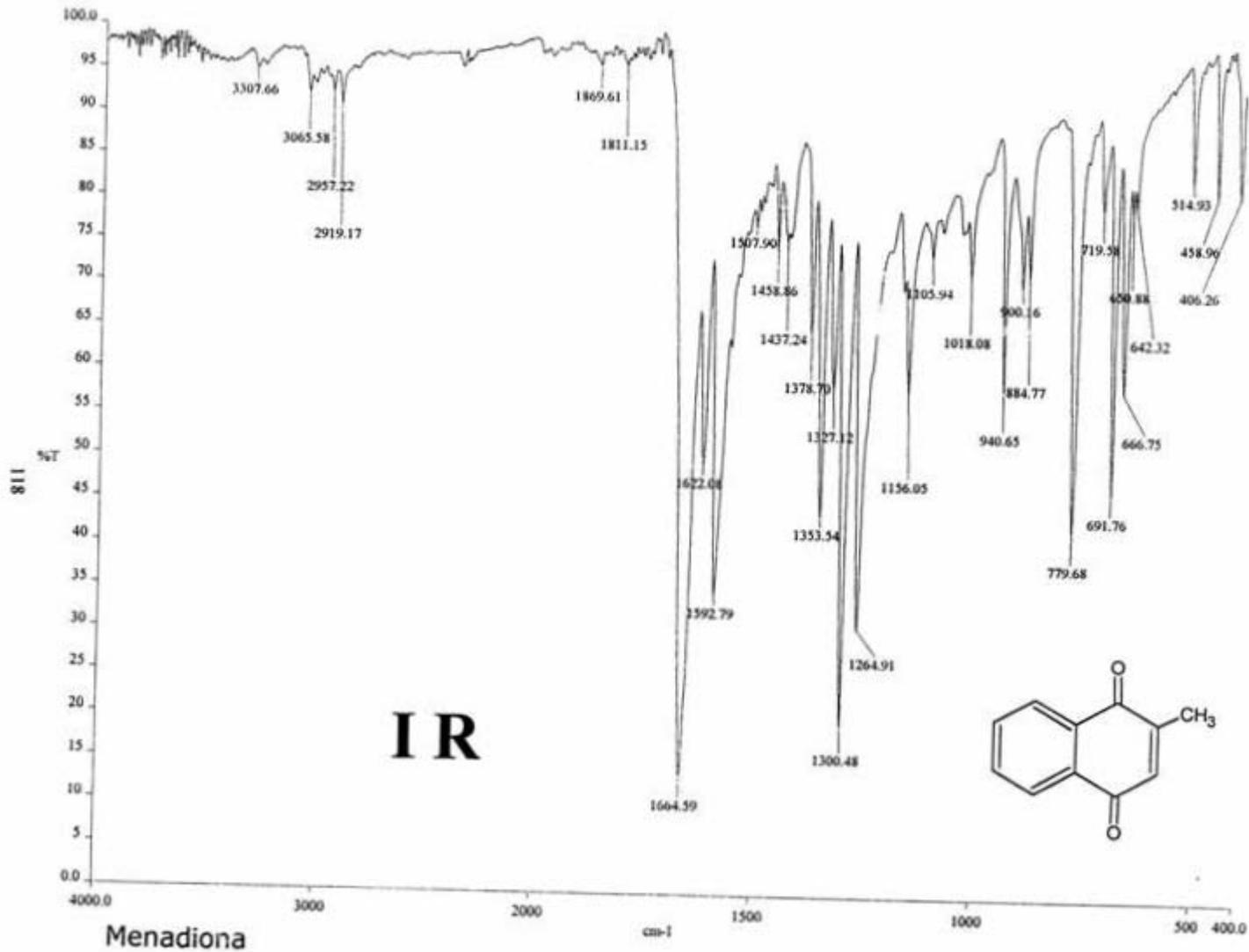


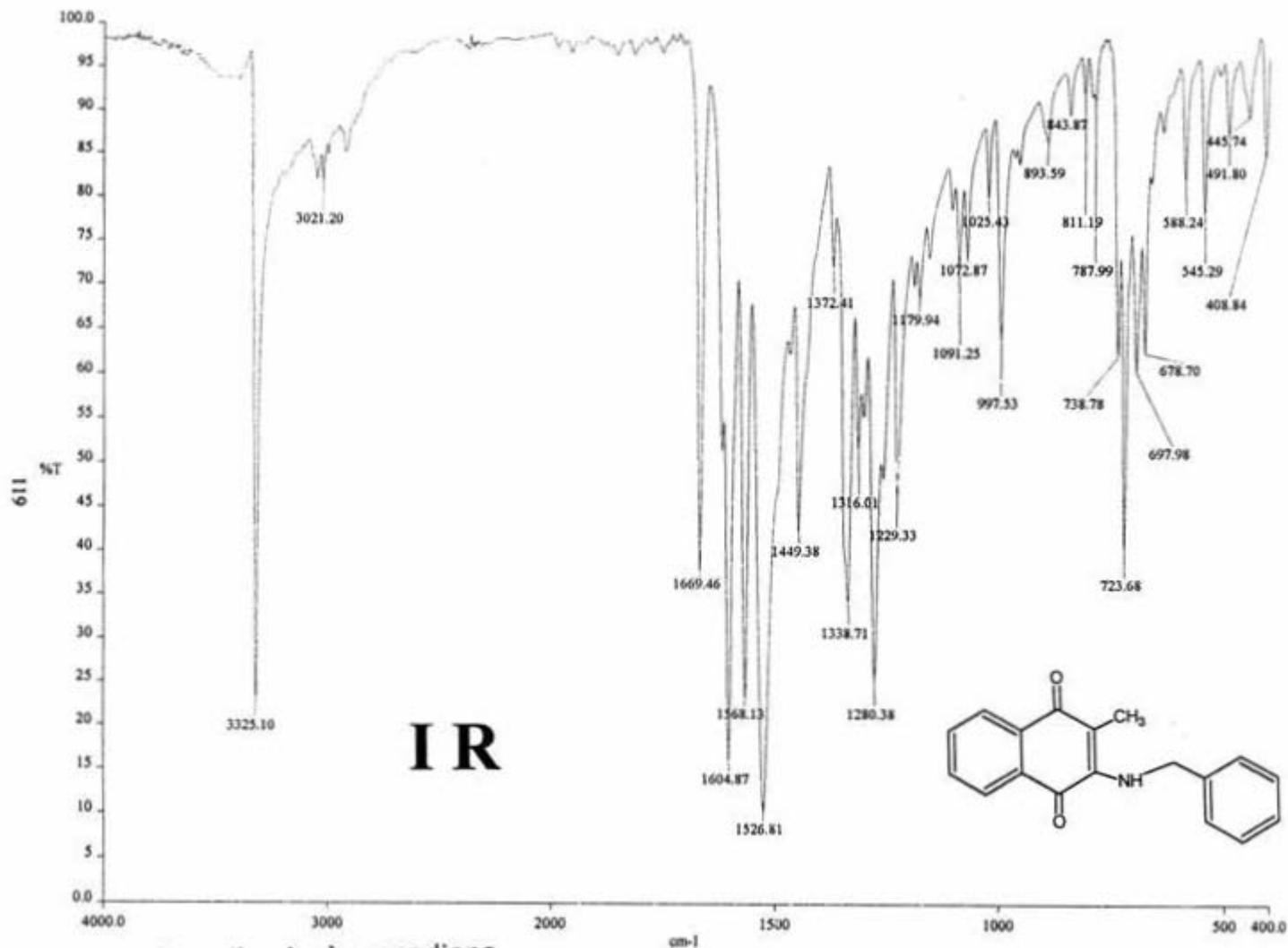
- (22) Salmon-Chemin Laurence, Buisine Eric, Yardley Vanessa, Kohler Sven, Debreu Marie-Ange Landry Valérie, Sergheraert Christian, Croft L. Simon, Siegel-Krauth Luise R and Charvet-Davioud Elisabeth. *2-and3- substituted 1,4.-naphthoquinone derivatives as subversive substrates of Trypanothione Reductase and Lipoamide Dehydrogenase from Trypanosoma cruzi: Synthesis and correlation between Redox cycling activities and in vitro cytotoxicity.* Journal Med. Chem. **44**: 548-565. 2001.
- (23) Henry W. Murray. *Susceptibility of Leishmania to oxygen intermediates and killing by normal macrophages.* J. Exp. Med. **153**: 1302-1315 1981
- (24) Rabinovitch Michel, Dedet Jean-Pierre, Ryter Antoinette, Robineaux Roger, Topper Gail and Brunet Evelyne. *Destruction of Leishmania mexicana amazonensis amastigotes within macrophages in culture by phenazine methosulfate and other electron carriers.* Journal Exp. Med. **155**: 415-431 Feb. 1982.
- (25) Mohammed Roushdi Ibrahim, Mikhail Ayad Adel, Ahmed Chaaban Ibrahim. *Synthesis of some quinones of potential therapeutic interest.* Acta Pharm. Jugoslav **26**: 287-294. 1976.
- (26) Bancro Huldán. *Introducción a la bioestadística.* Séptima edición. Cap. XVII Pruebas biológicas. EUDEBA. Argentina 1971. pp. 233-239
- (27) L. Lewan, M. Andersson and P. Morales. *The use of Artemia salina in toxicity testing.* ATLA **20**: 297-301 1992
- (28) M. Colegate Steven, J. Molyneux Russell. *Bioactive natural products.* Cap. 18 Teng Wah Sam. Toxicity testing using the brine shrimp: *Artemia salina*. CRC. Press. U.S.A. 1993 pp. 441-454
- (29) B. Lygo, J. Leonard, M. Casey. *Advanced Practical Organic Chemistry.* Blackie Academic and Profesional. Segunda edición. Chapman and Hall. Great Britain 1995.
- (30) L. J. Reed, H. Muench. *A simple method of estimating fifty per cent endpoints.* The American Journal of Hygiene **27**: 3 493-496 1938.
- (31) B. Smith Michael and March Jerry. "March's advanced organic chemistry". Reactions, Mechanisms and structure. 5<sup>ta</sup> edición. John Wiley and sons. New York 2001. pp. 1510-1511, 1571-1518.
- 
-



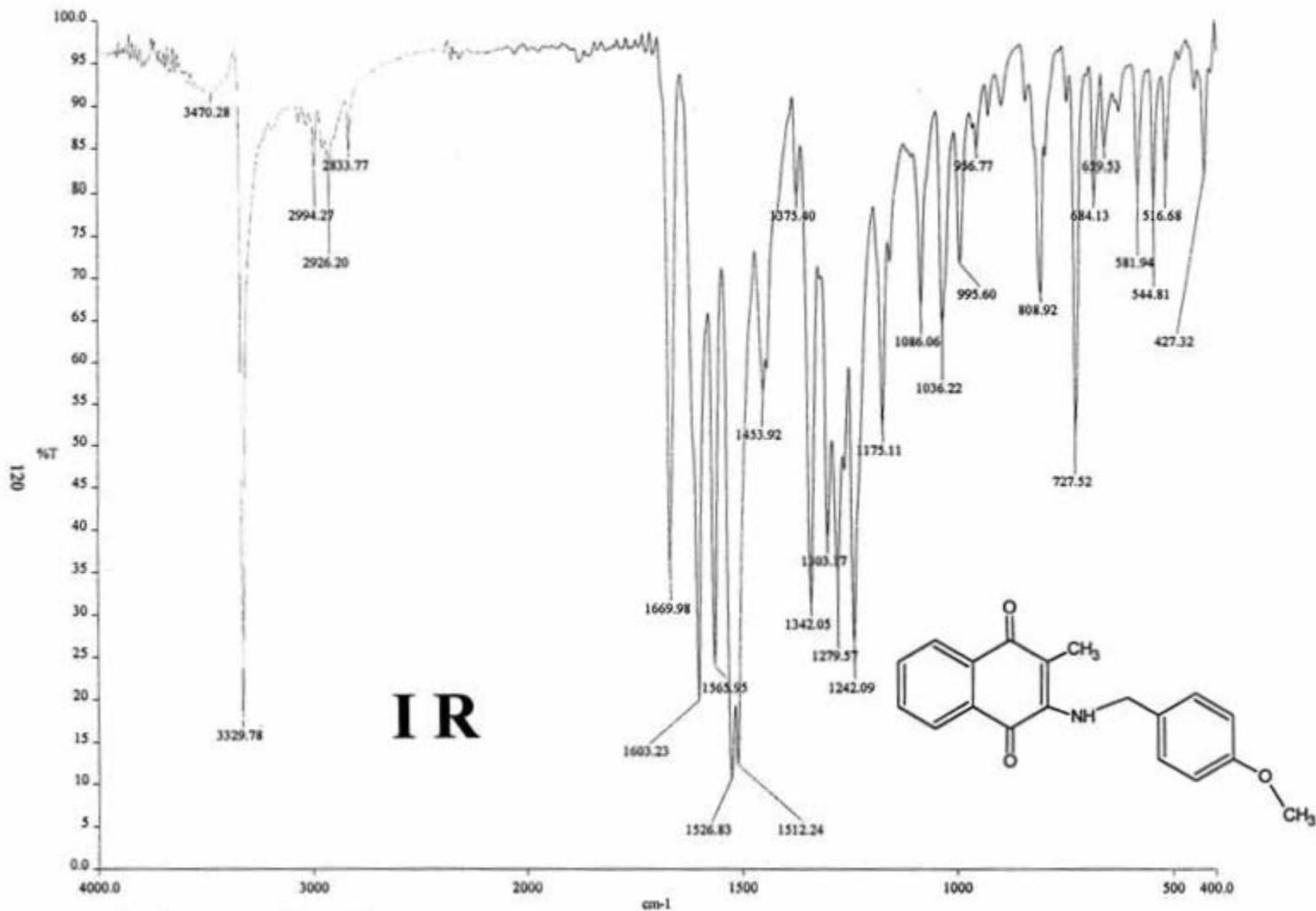
- (32) Nakanishi Koji. *Infrared absorption spectroscopy*. 1<sup>era</sup> edición. Nankodo Company Limited. Japón 1962.
- (33) Pretsch, E. Buhlmann, P. *Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data*. Springer, Alemania 2000.
- (34) Pierre Lazlo, Peter J. Stang. *Organic Spectroscopy*. Principles and applications. Harper and Row publishers. New York 1971. pp. 3, 134-140.
- (35) Crews, P. Rodríguez, J. and Jaspars Marcel. *Organic structure analysis*. Oxford University Press. New York 1988.
- (36) Joseph-Nathan P., Díaz T. E. *Introducción a la Resonancia Magnética Nuclear*. 1<sup>era</sup> edición. Editorial Limusa. México 1970.
- (37) Silverstein R.M., Clayton B. G., Morrill C. T. *Spectrometric identification of organic compounds*. 5<sup>ta</sup> edición. John Wiley and sons. New York 1991.
- (38) Real Academia Española. *Diccionario de la lengua española*. Vigésima segunda edición. España 2001, Tomos I y II.
- (39) Dr. Tony Smith. Academia Nacional de Medicina. *Enciclopedia de la salud familiar*. McGraw-Hill. Londres 1990. Tomos I, II, III y IV.
- (40) Del Río Portilla José Federico. *Determinación de la estructura de proteínas por Resonancia Magnética Nuclear*. Mensaje Bioquímico Vol. XXVII. México D.F. 2003.

13  
*APÉNDICE*

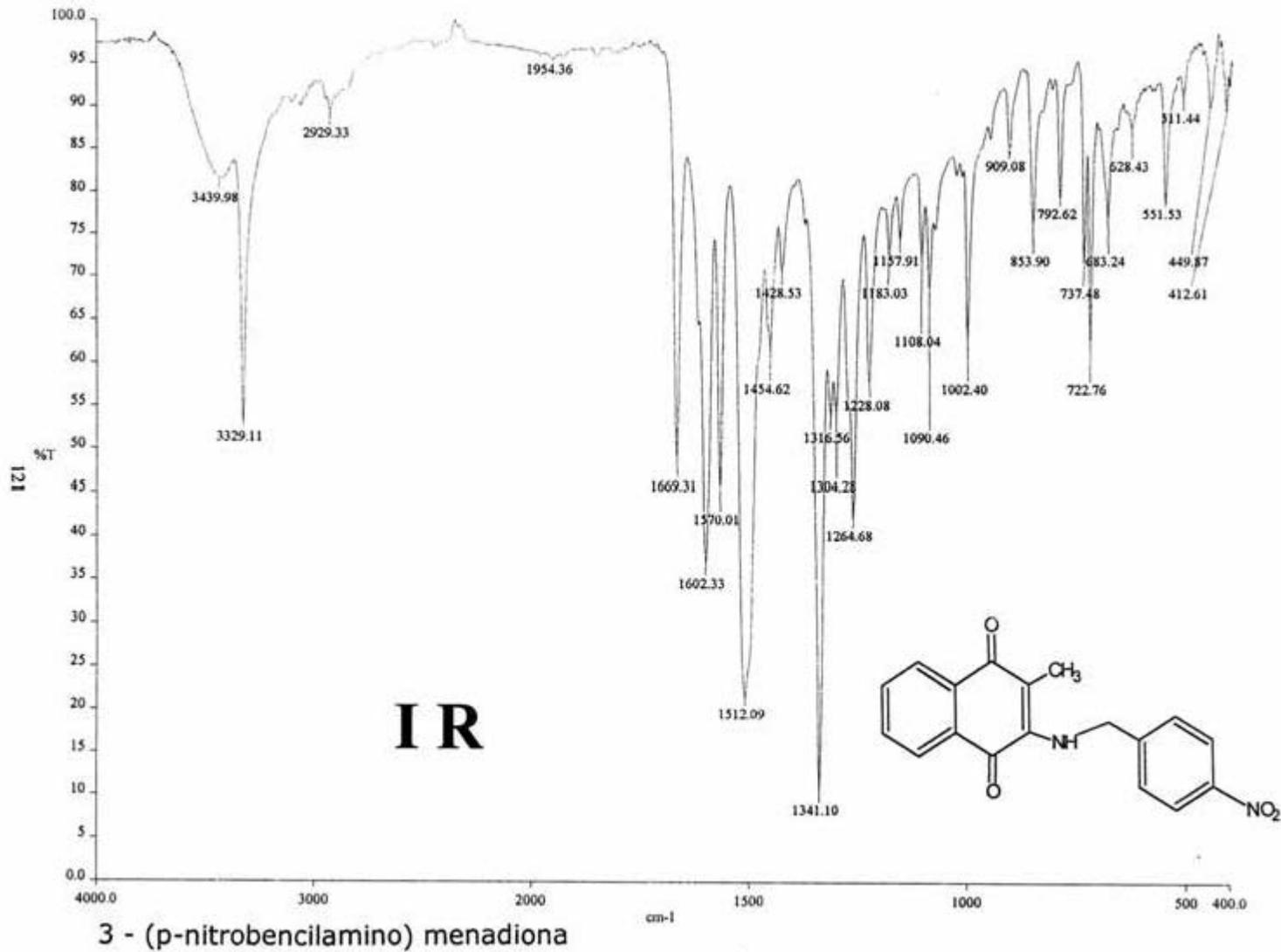


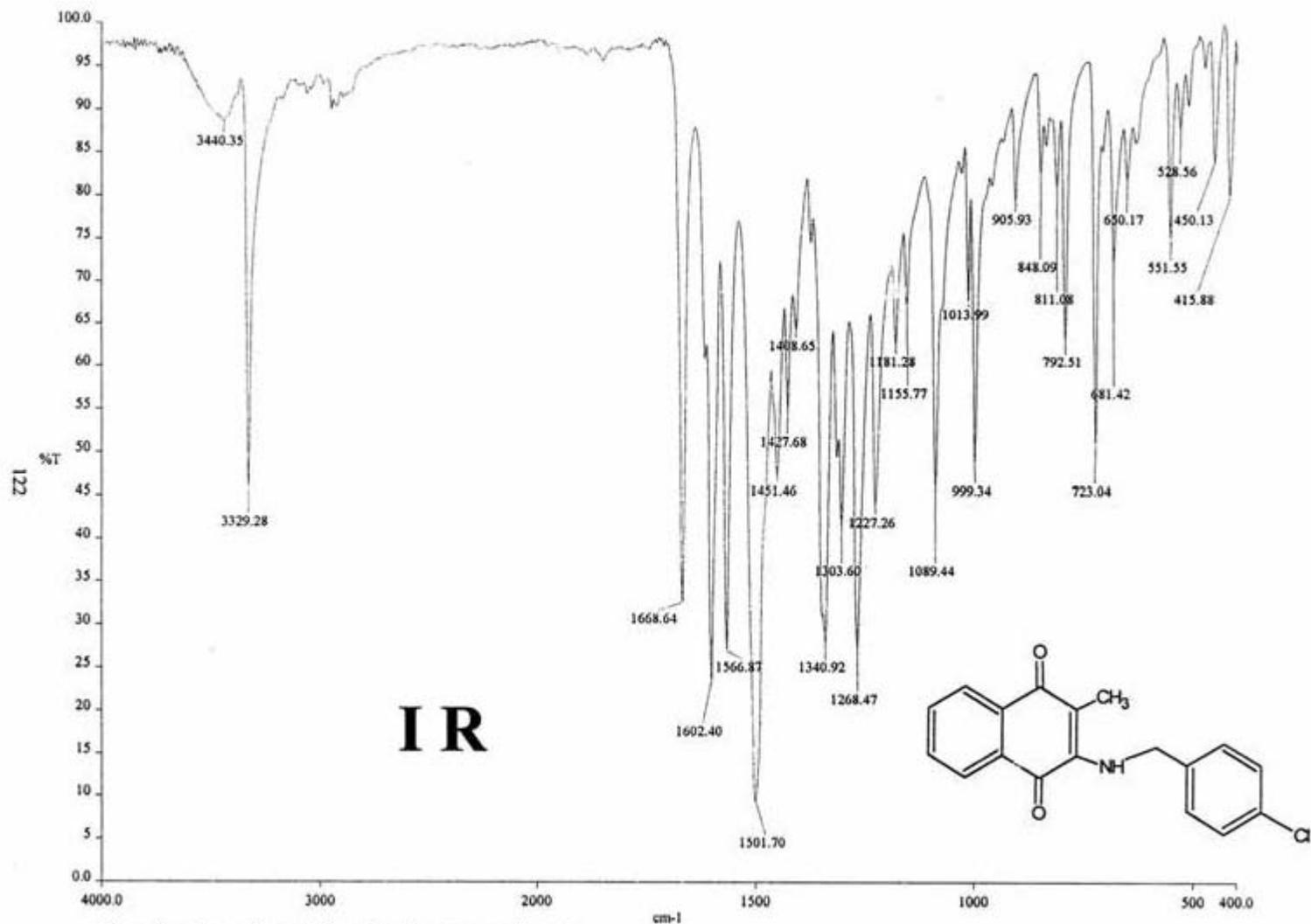


3 - (benzilamino) menadiona

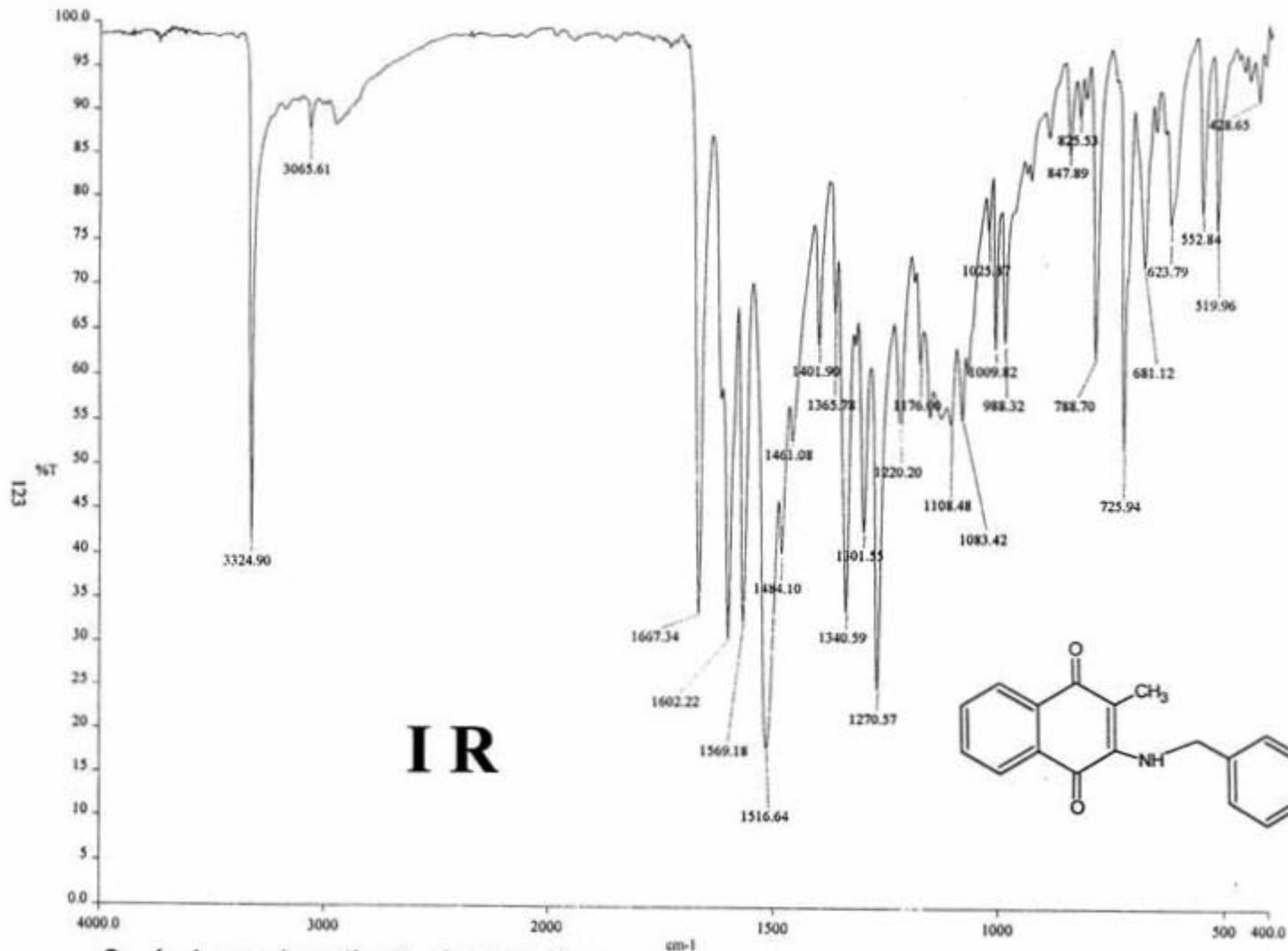


3 - (p-metoxibencilamino) menadiona

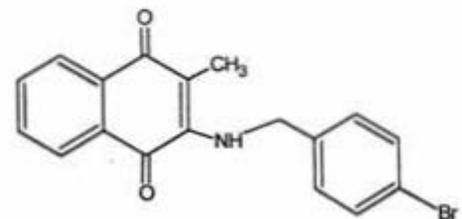


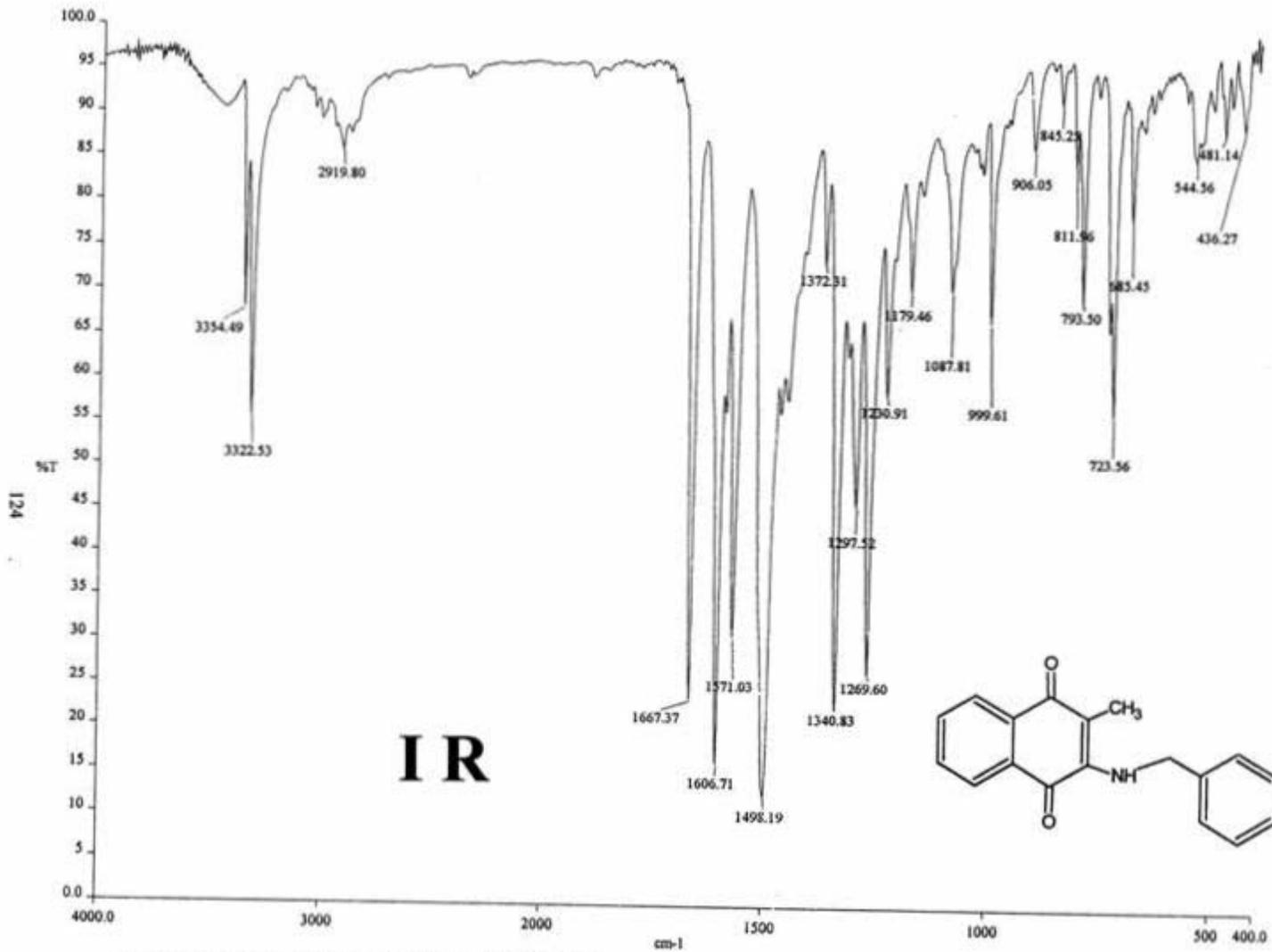


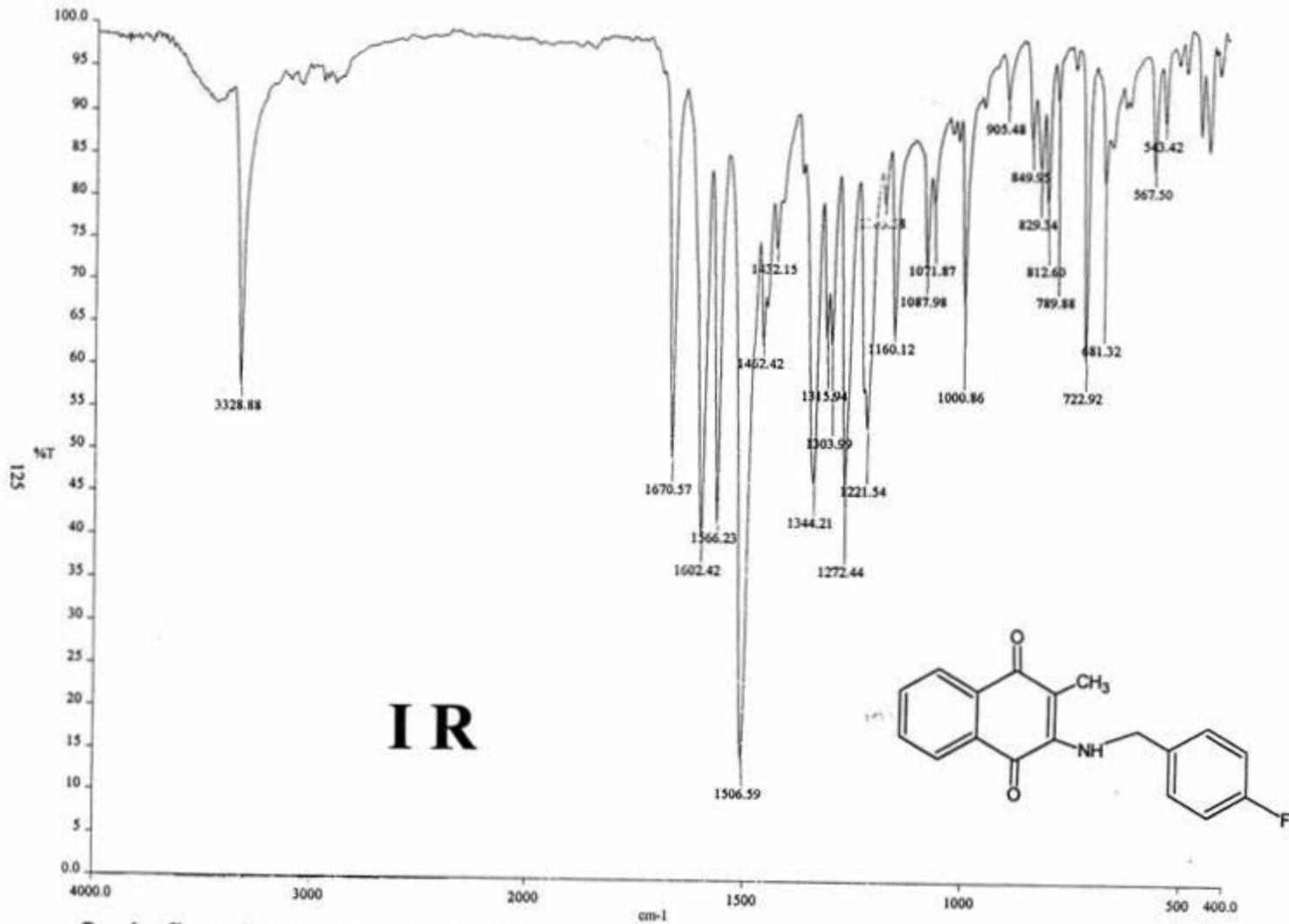
3 - (p-chlorobencilamino) menadiona



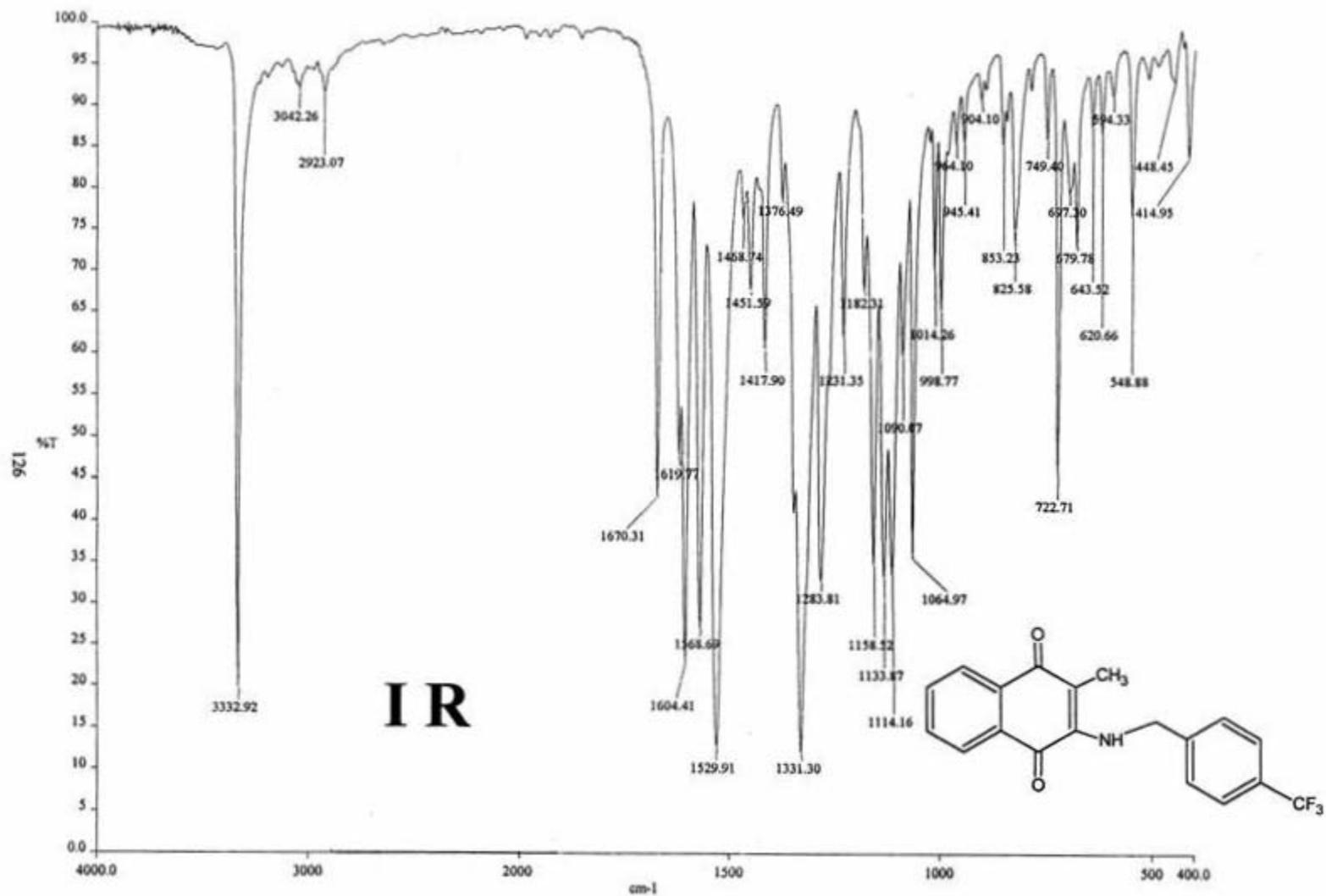
3 - (p-bromobencilamino) menadiona





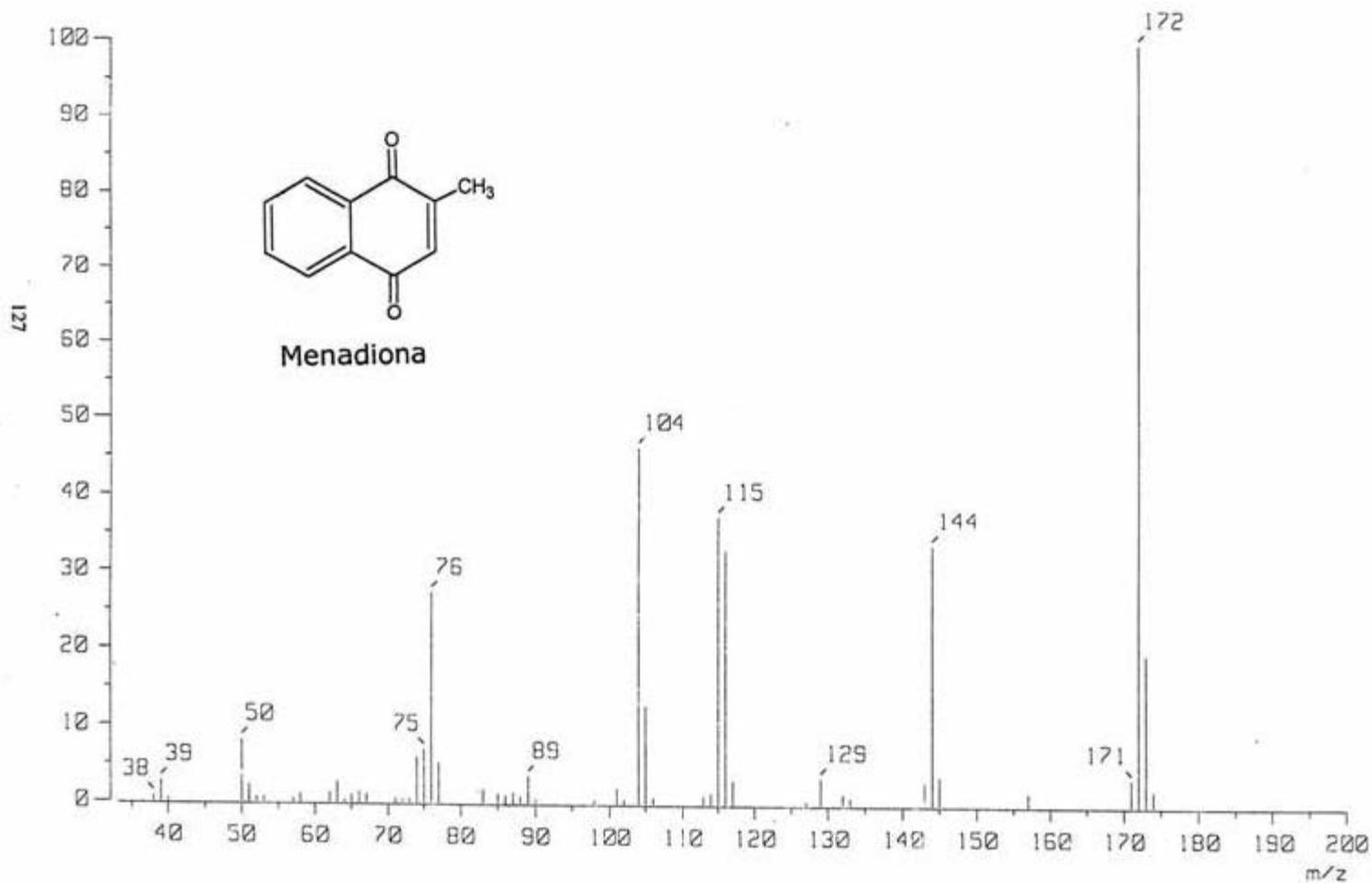


3 - (p-fluorobencilamino) menadiona

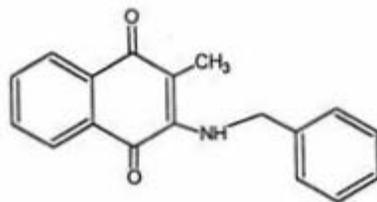


3 - (p-(trifluorometil)bencilamino) menadiona

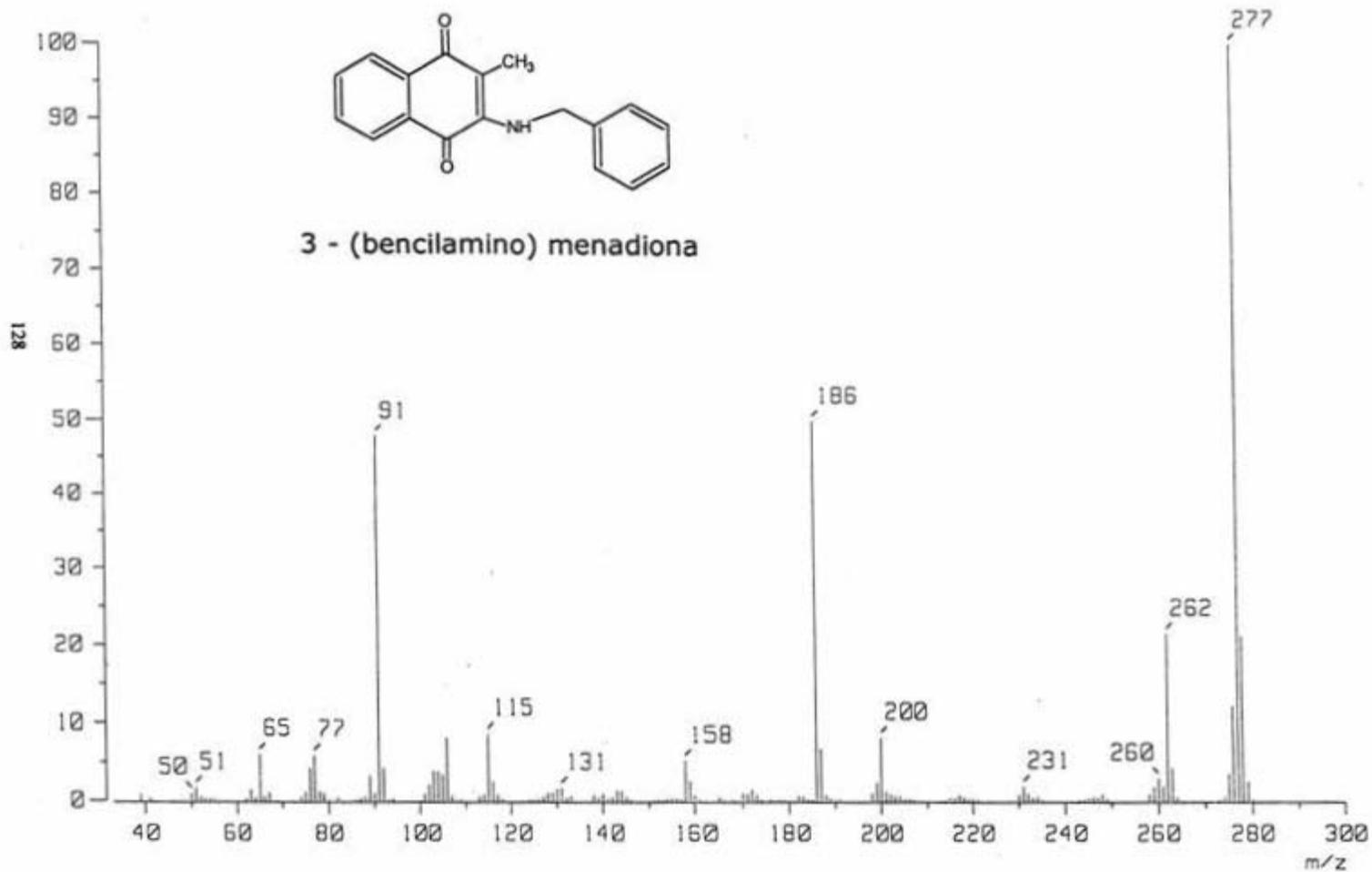
# EM

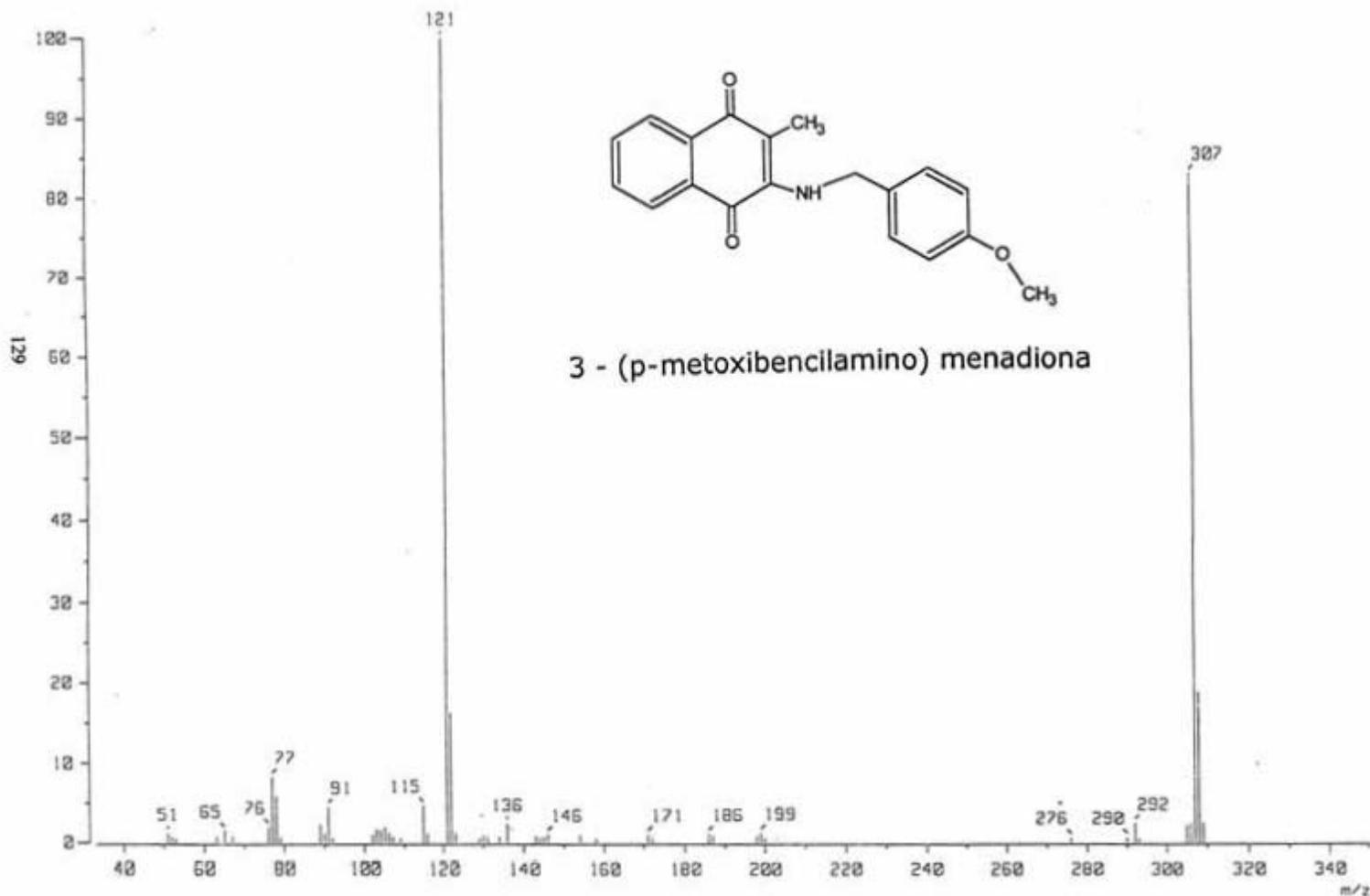


# EM

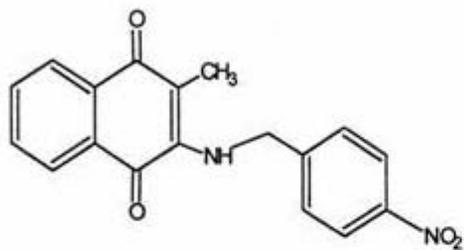


3 - (benzilamino) menadiona

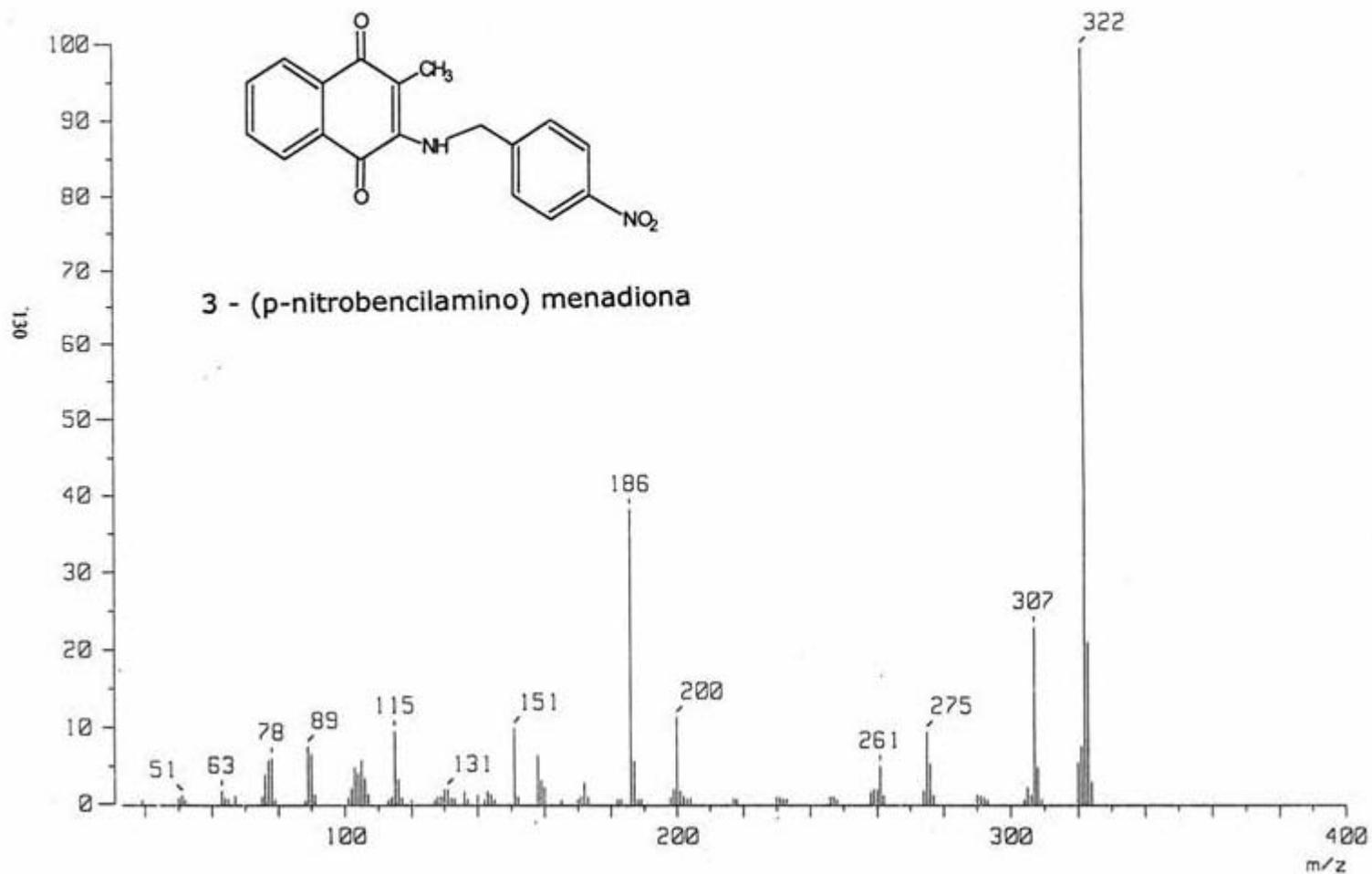


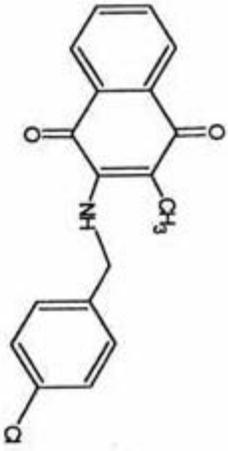
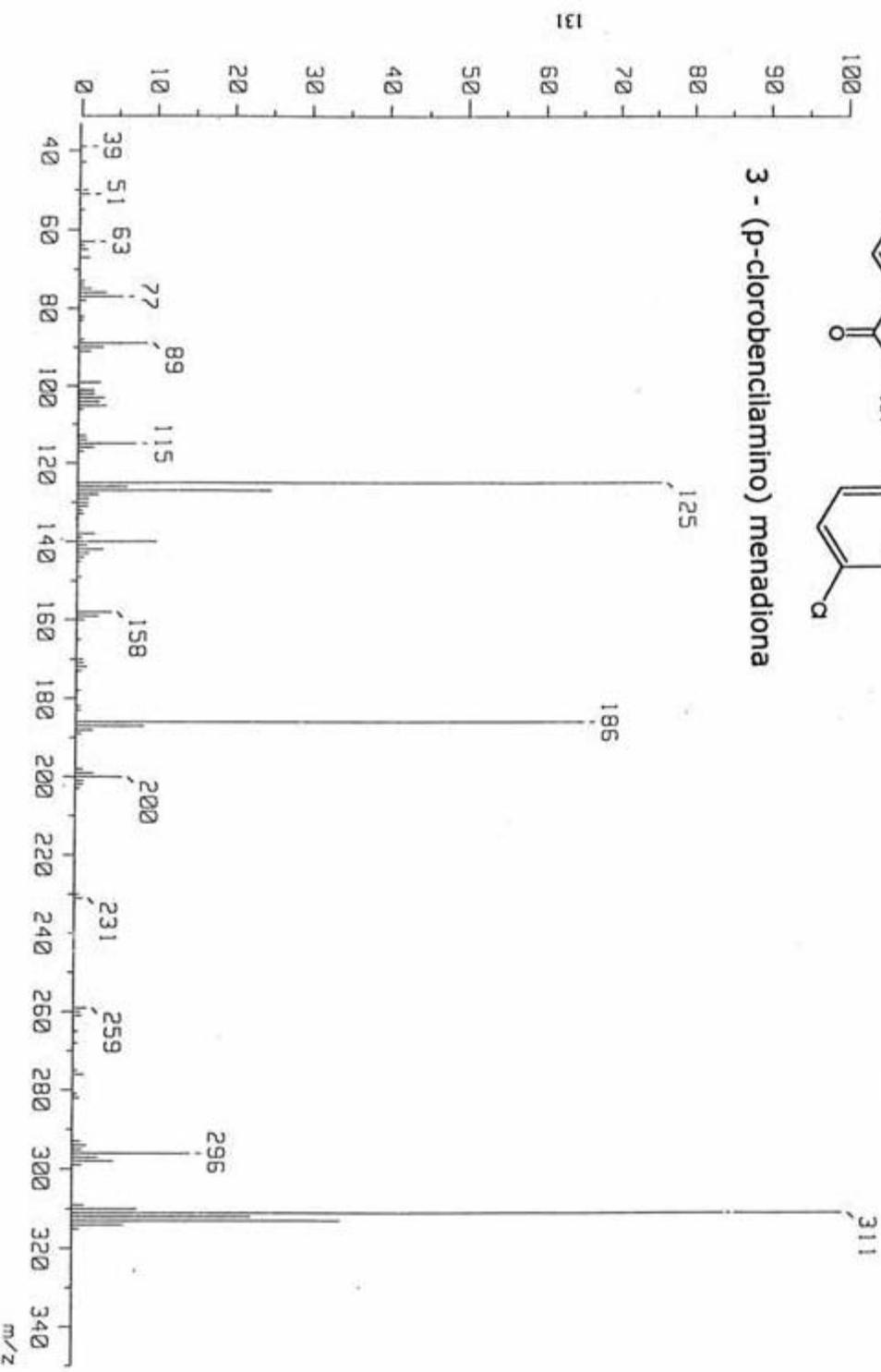


**EM**

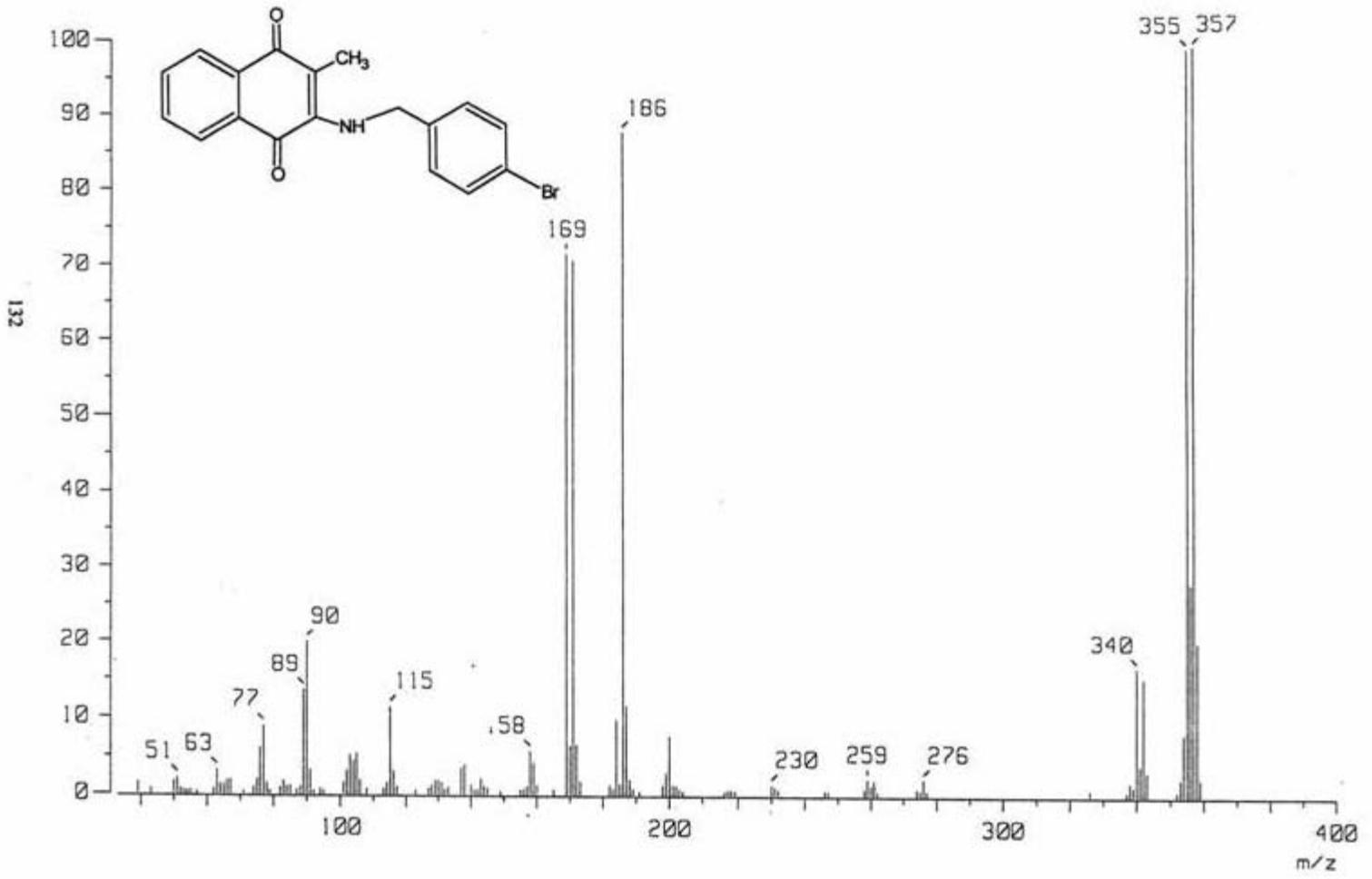


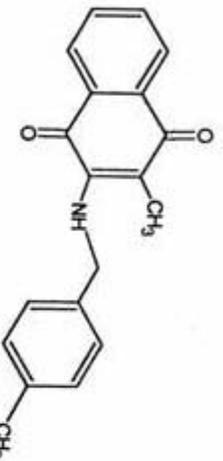
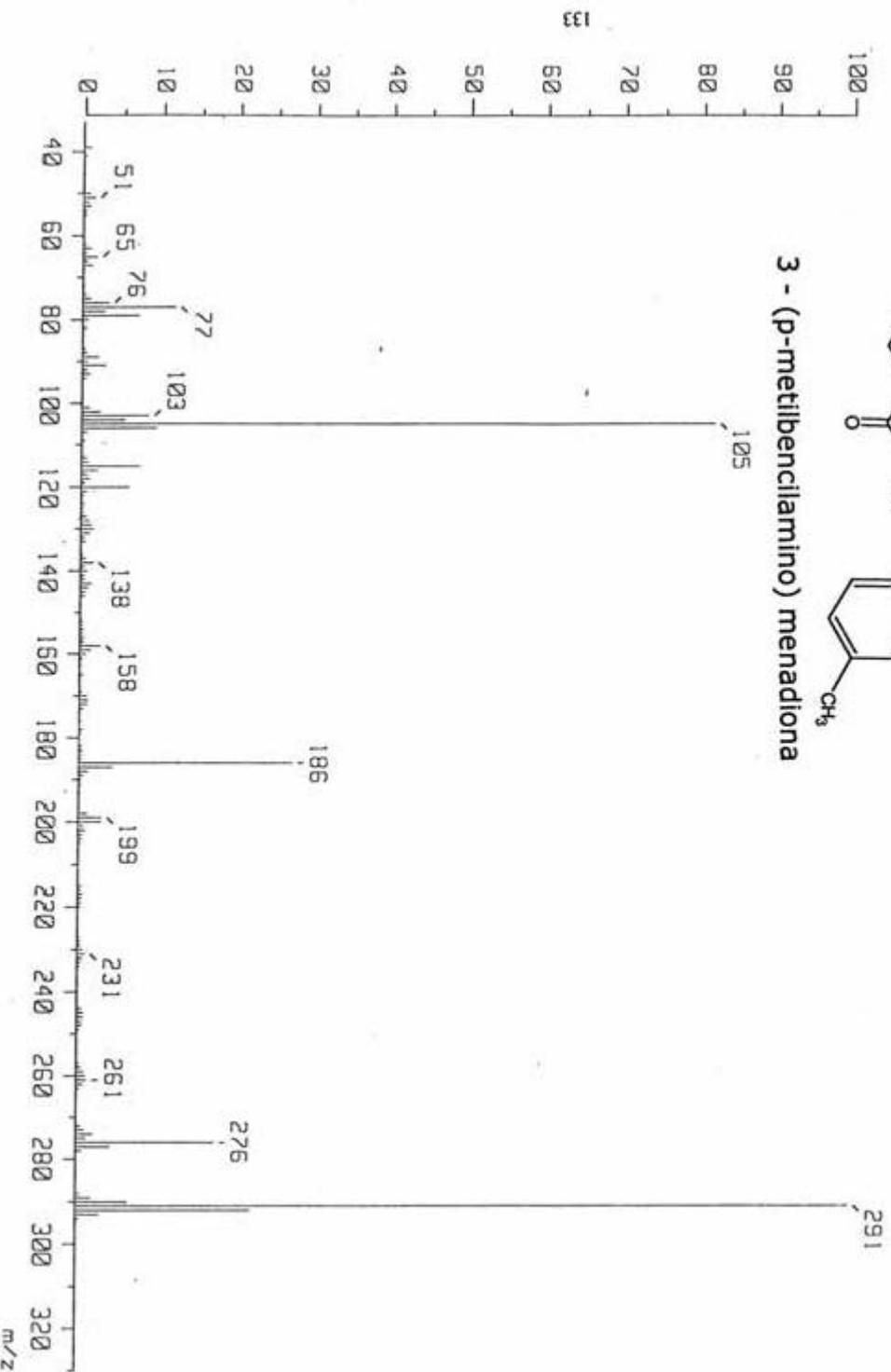
**3 - (p-nitrobenzilamino) menadiona**



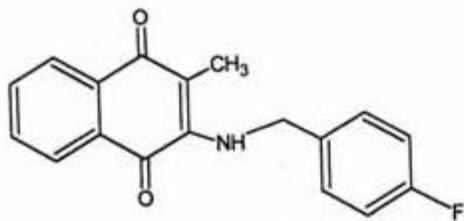
**3 - (p-chlorobenzylamino) menadiona**

## 3 - (p-bromobencilamino) menadiona

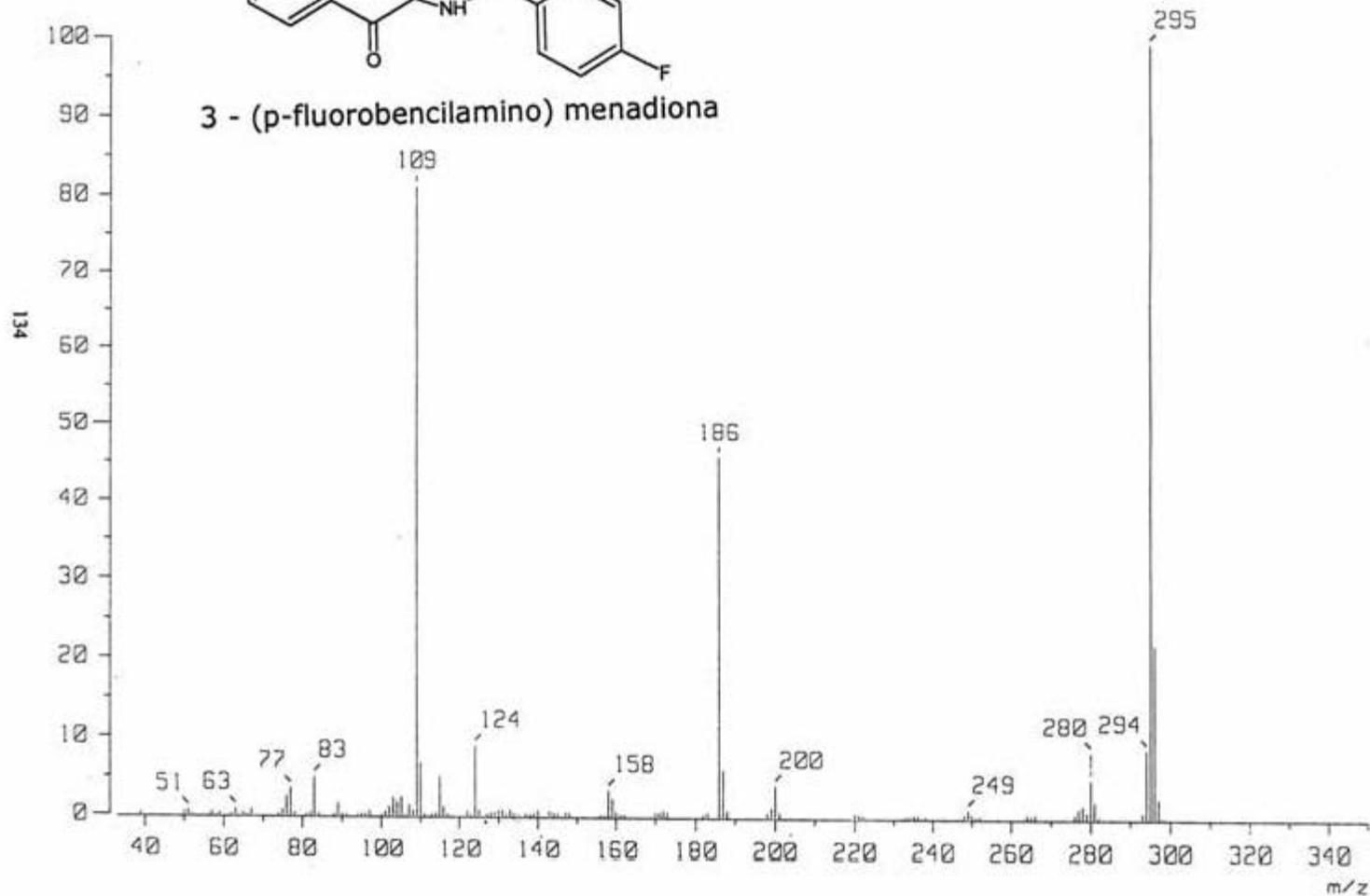


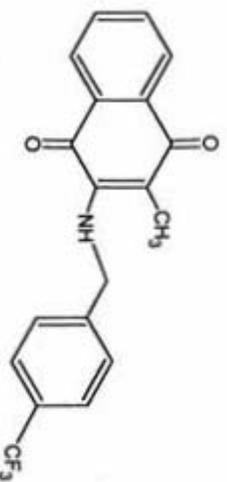
**3 - (p-metilbencilamino) menadiona**

# EM

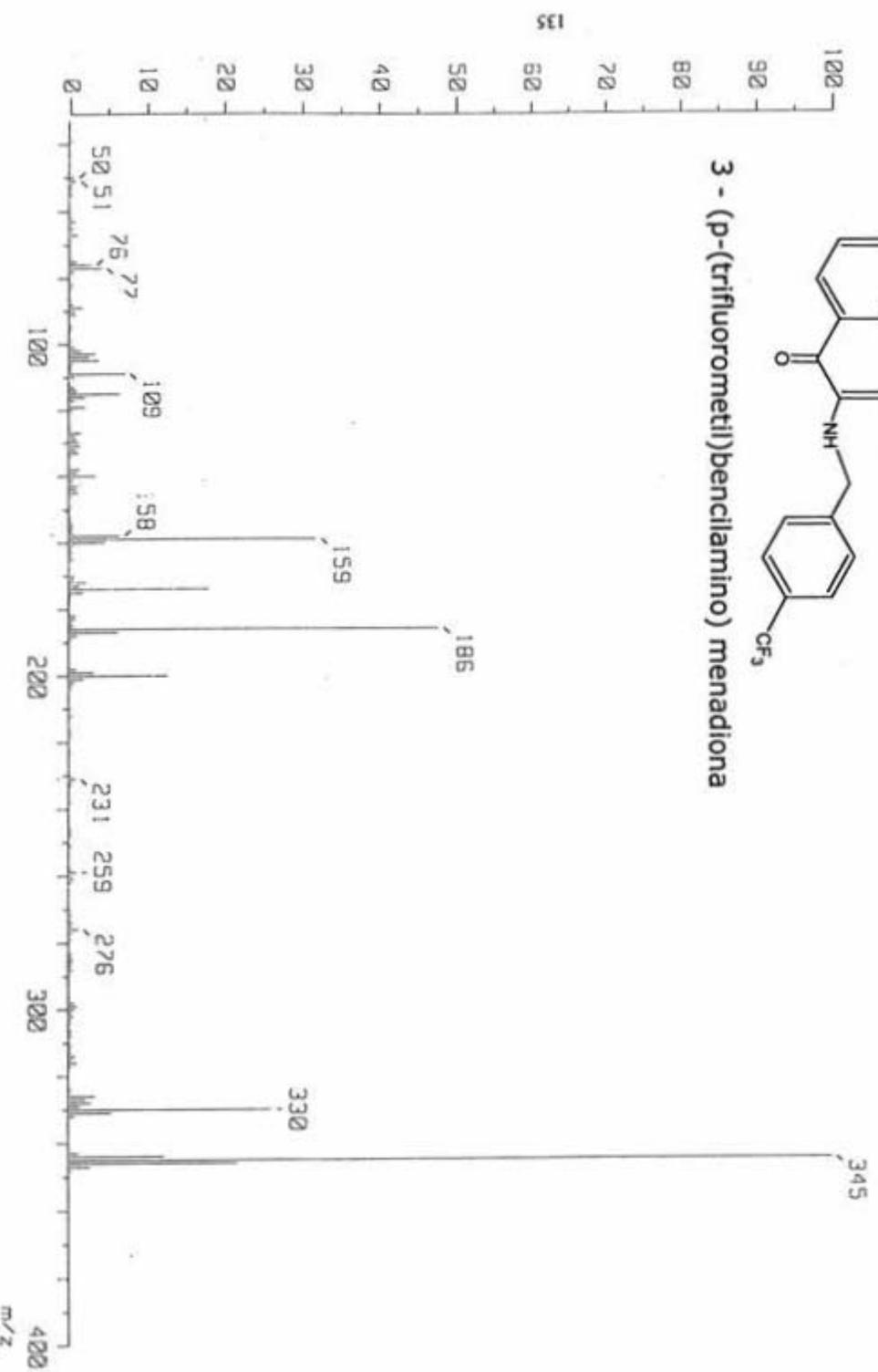


3 - (p-fluorobencilamino) menadiona

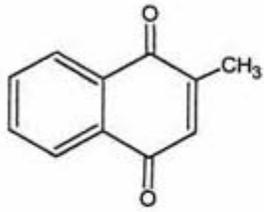




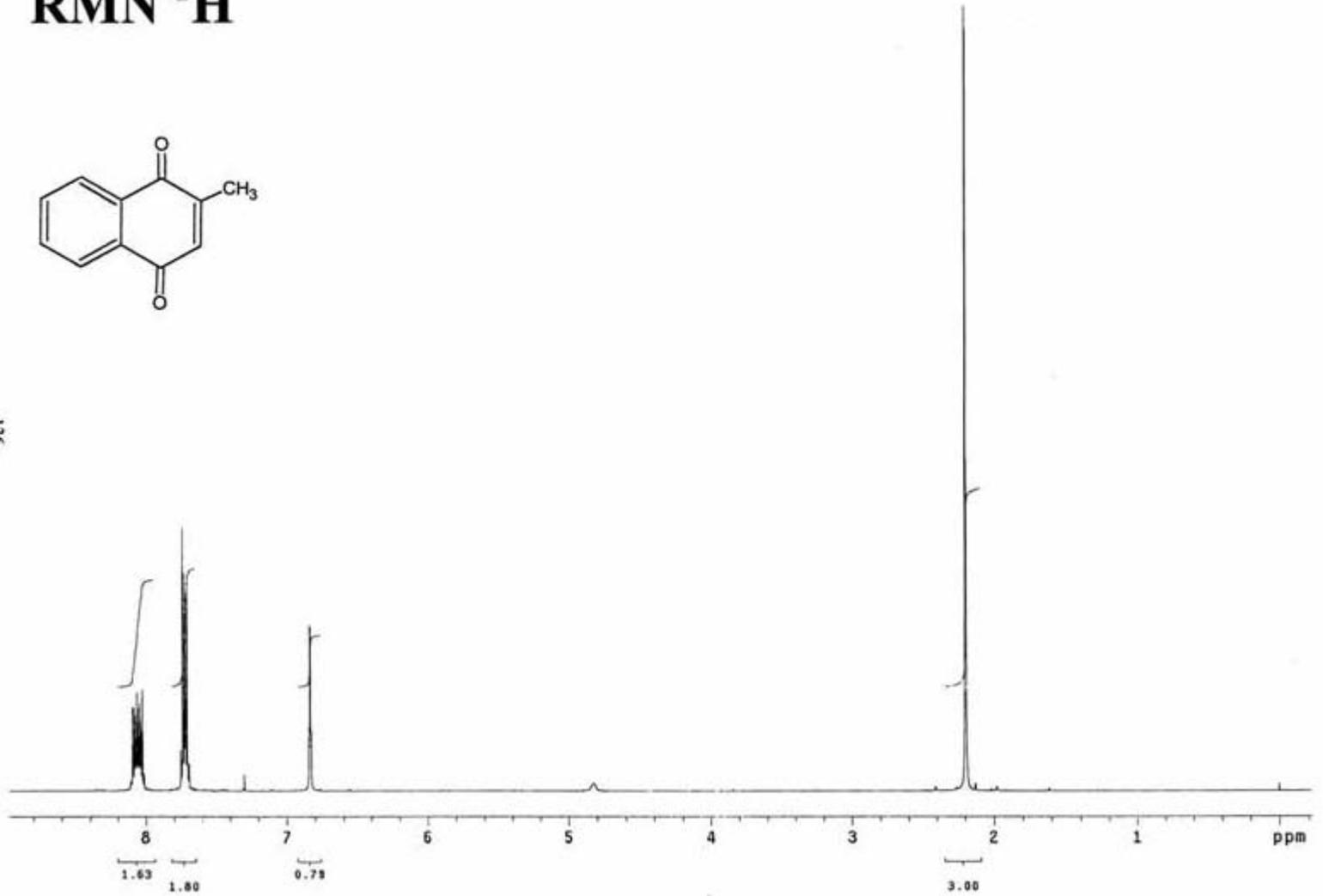
3 - (p-(trifluorometil)benzilamino) menadiona



# RMN $^1\text{H}$

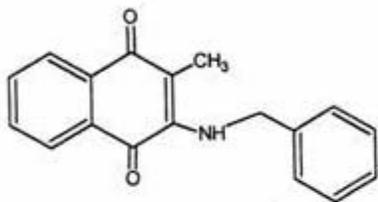


136

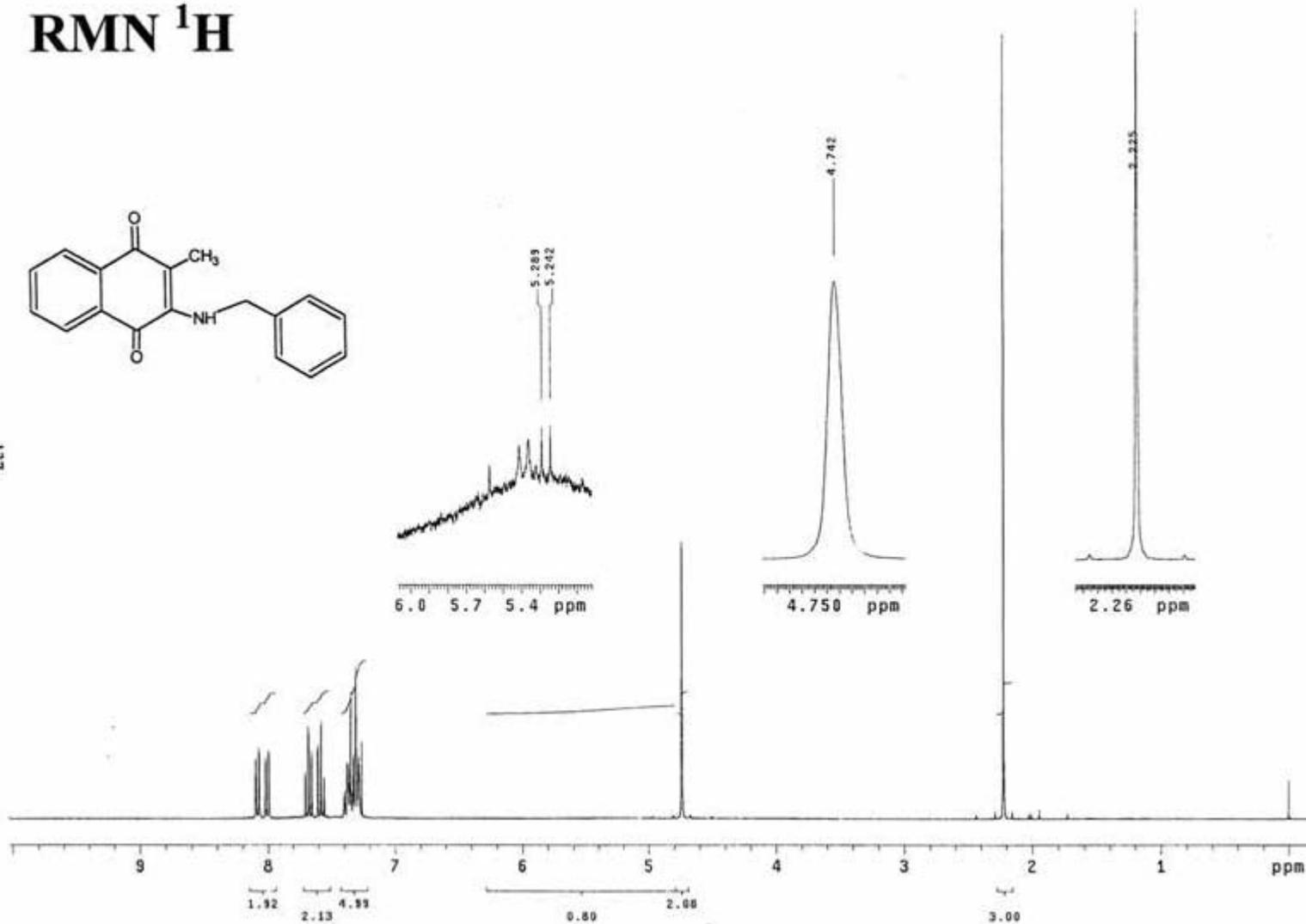


Menadiona

# RMN $^1\text{H}$

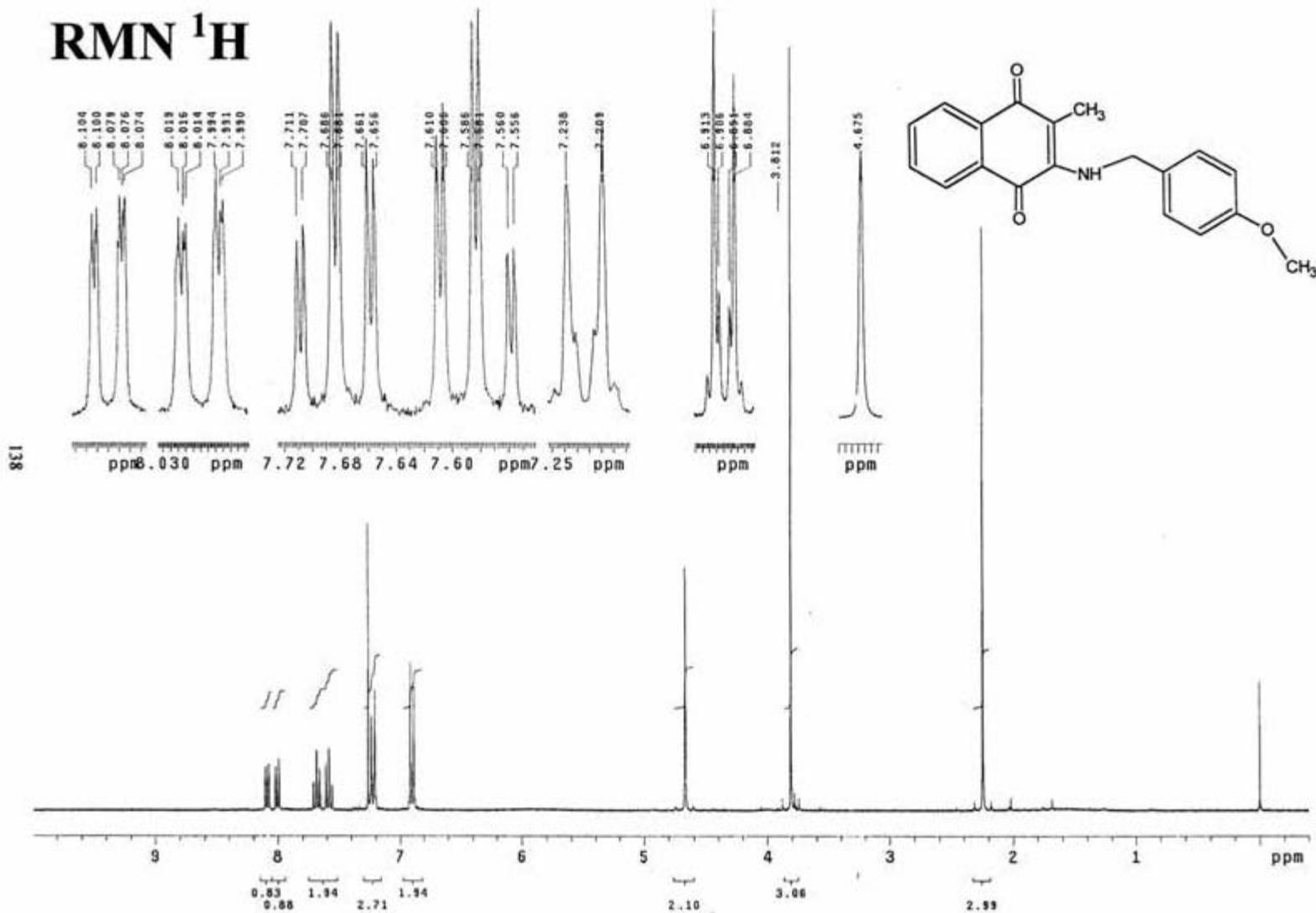


137



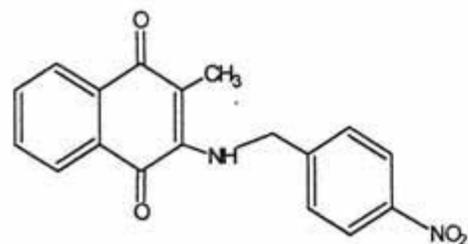
3 - (bencilamino) menadiona

# RMN <sup>1</sup>H

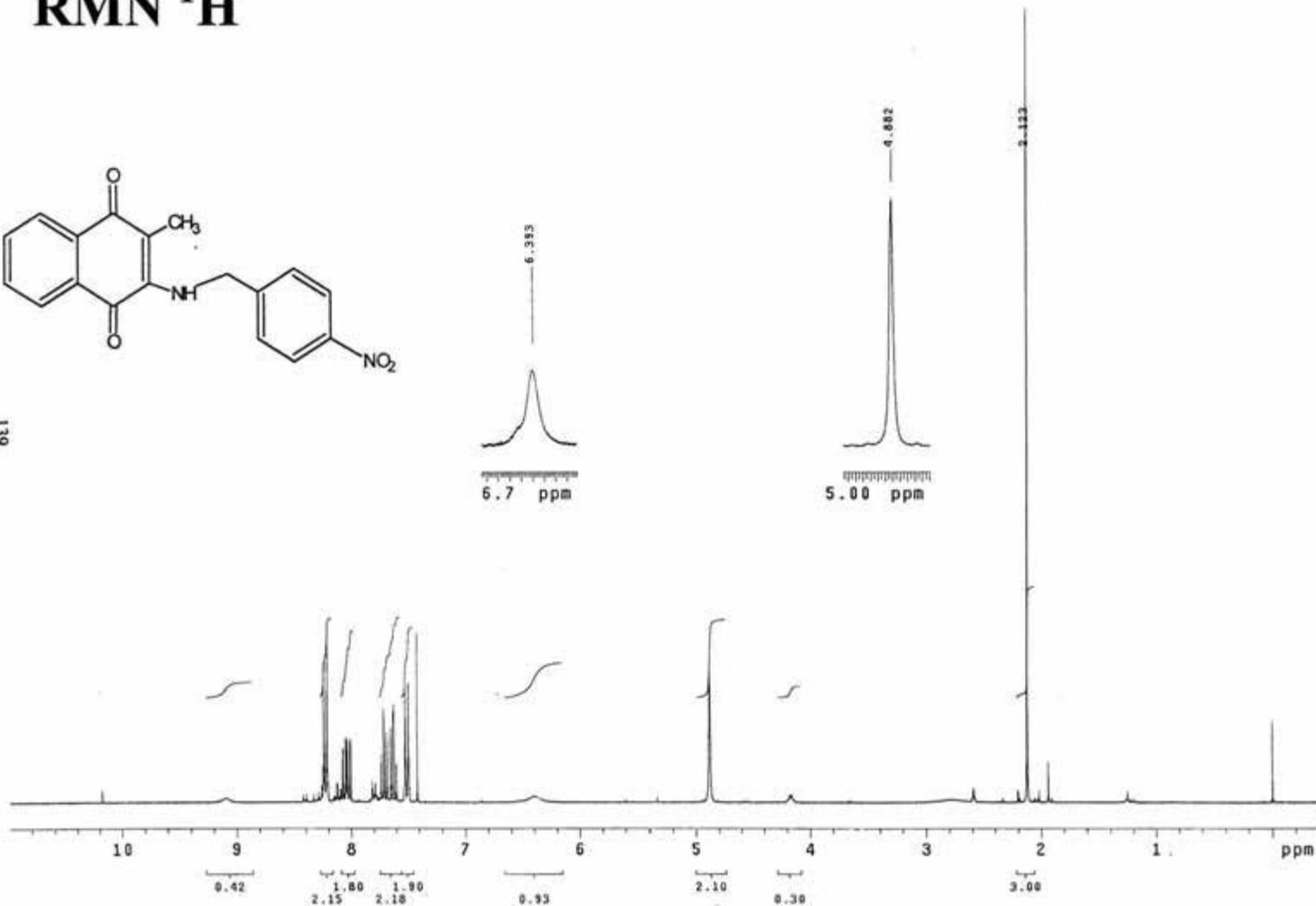


3 - (p-metoxibencilamino) menadiona

# RMN $^1\text{H}$

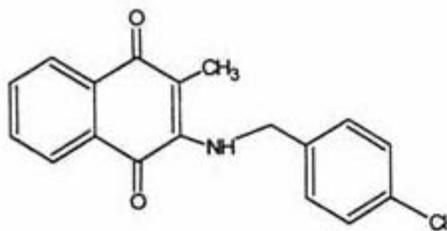


139

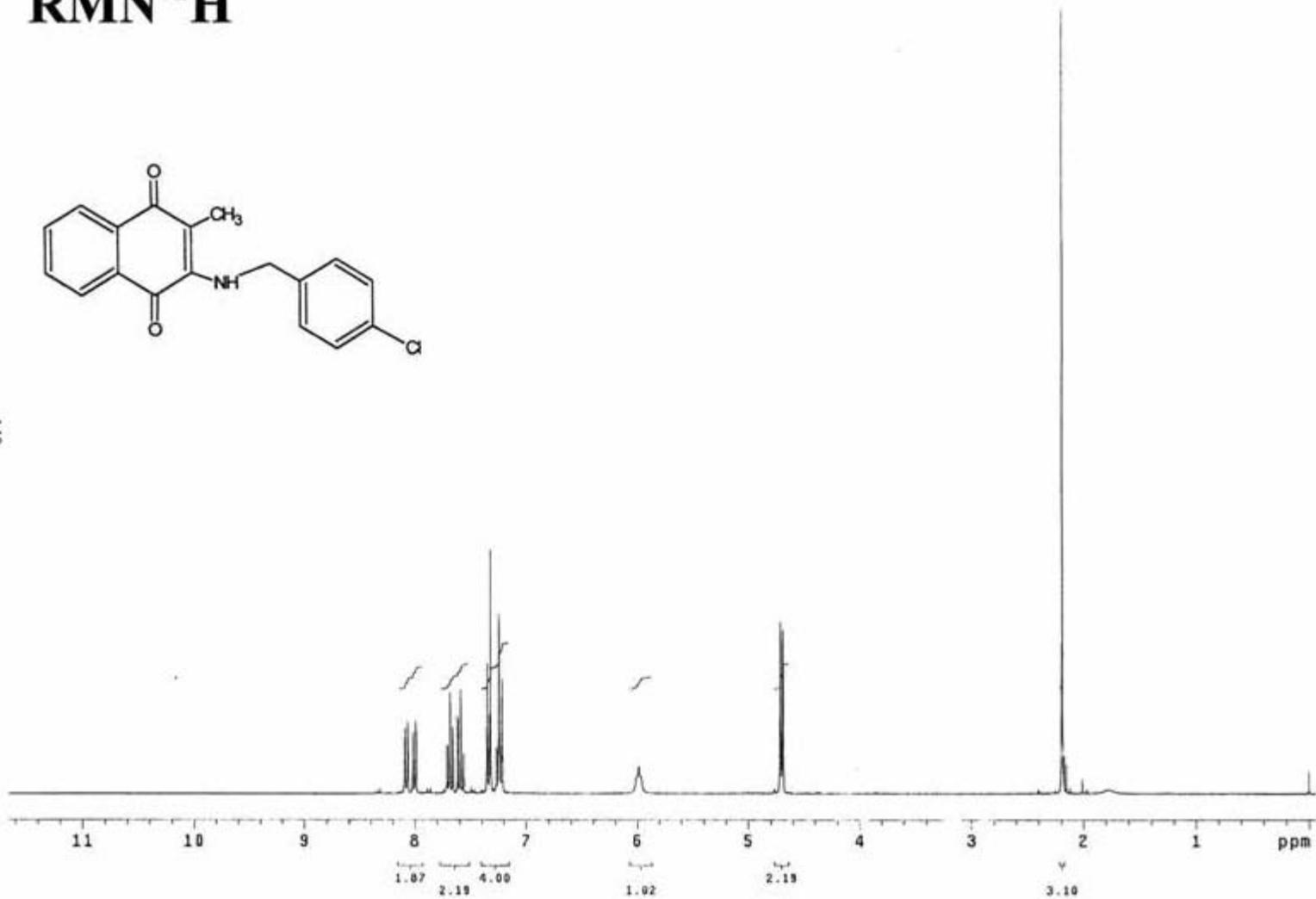


3 - (p-nitrobenzilamino) menadiona

# RMN $^1\text{H}$

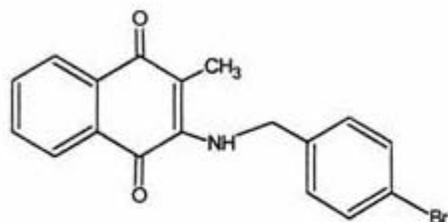


140

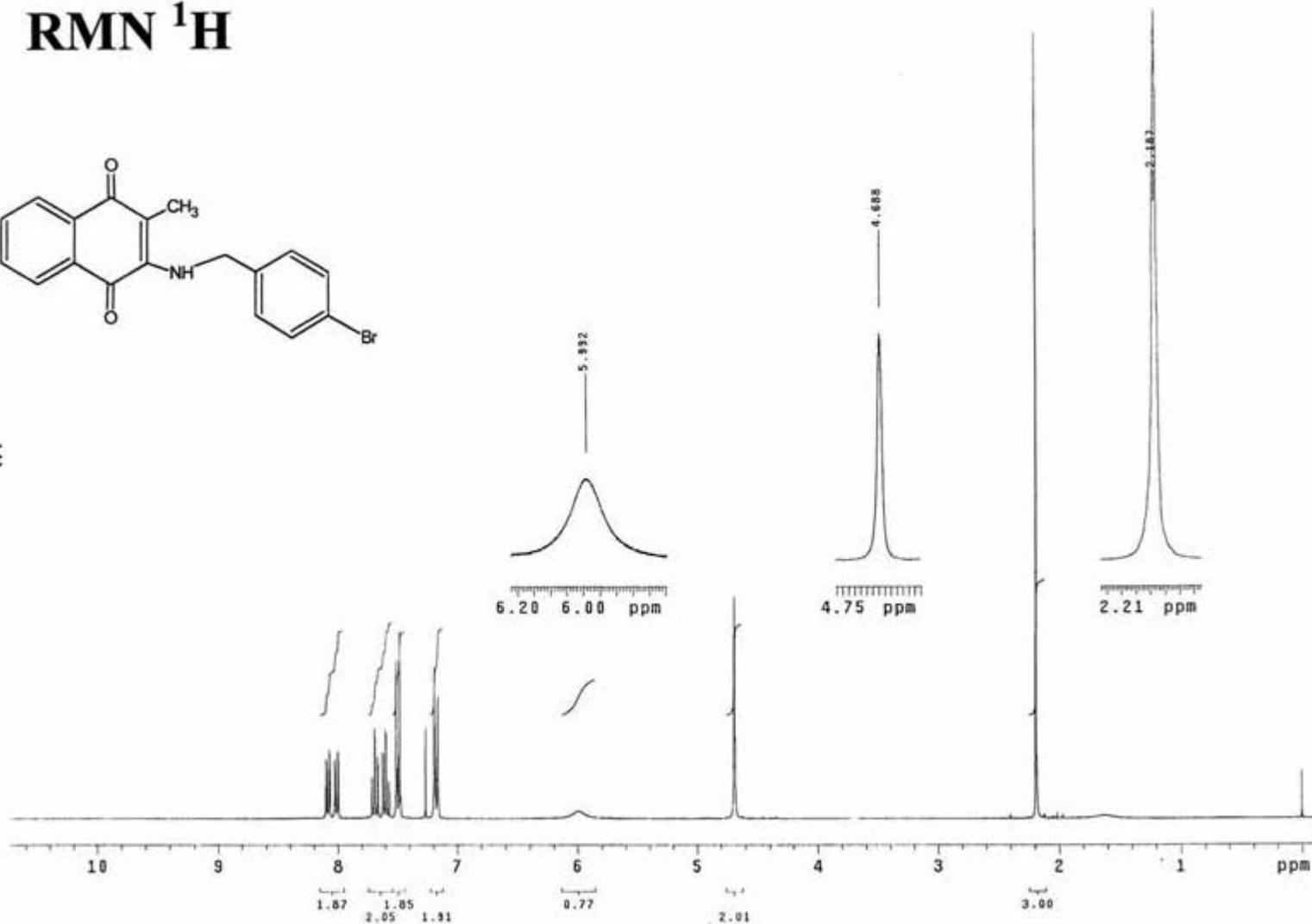


3 - (p-chlorobencilamino) menadiona

# RMN <sup>1</sup>H



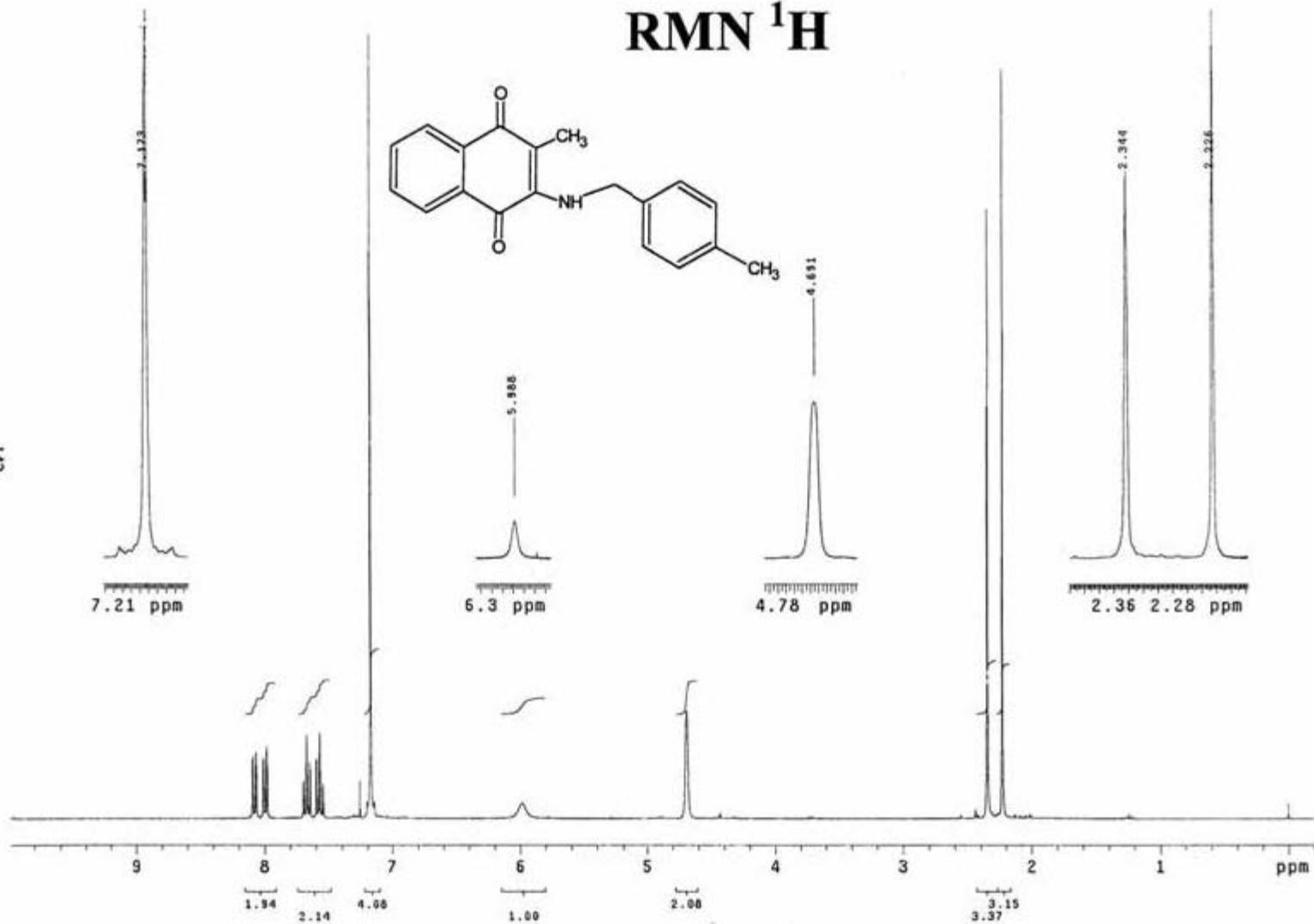
141



3 - (p-bromobencilamino) menadiona

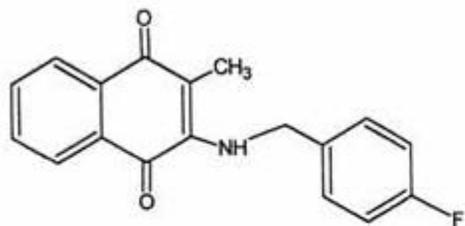
# RMN <sup>1</sup>H

142

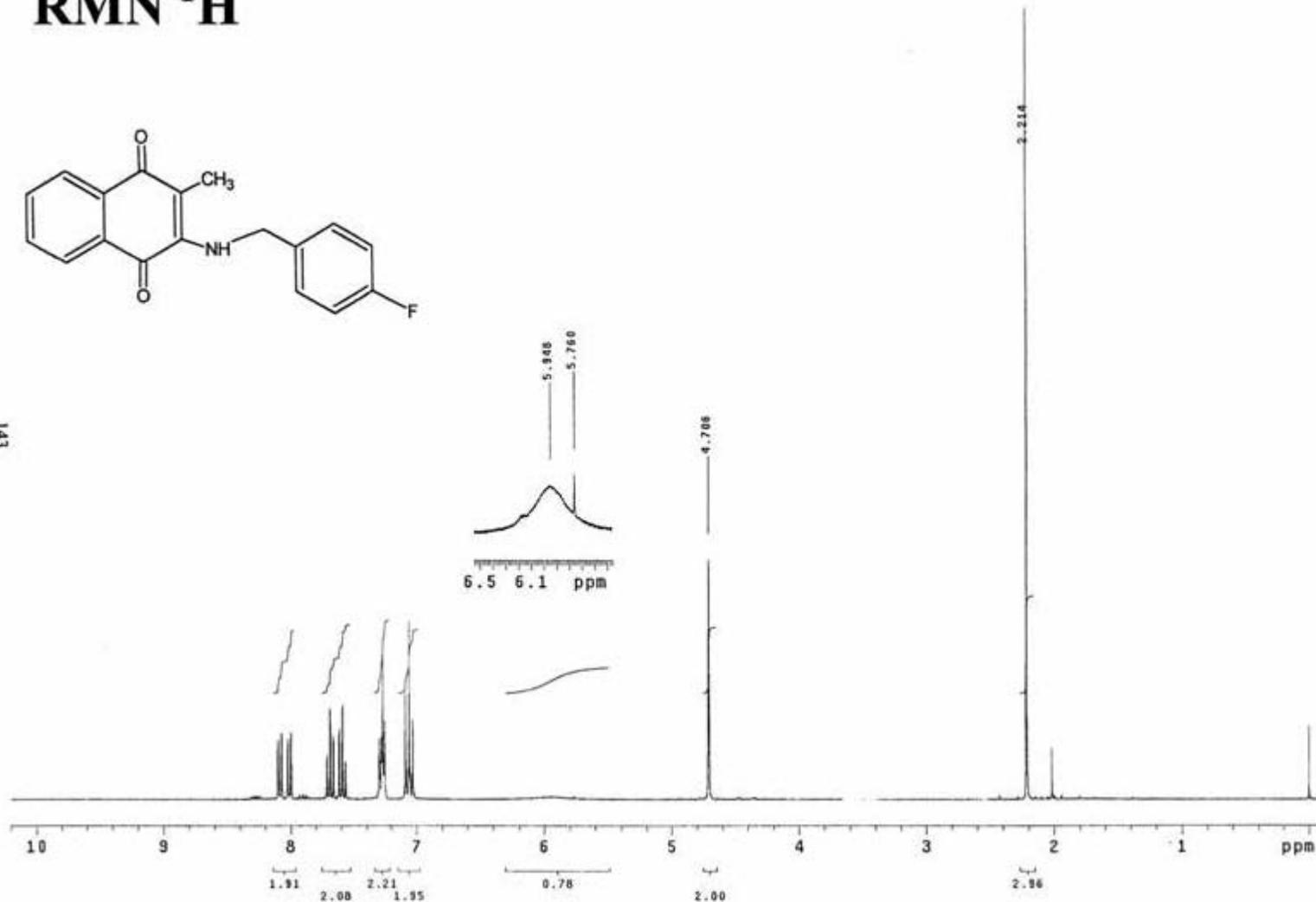


3 - (p-metilbenzilamino) menadiona

# RMN $^1\text{H}$

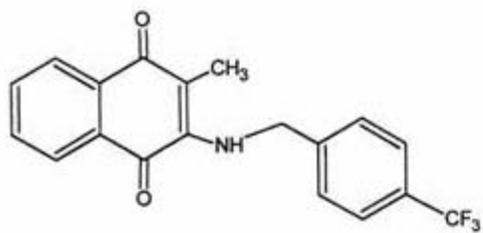


143

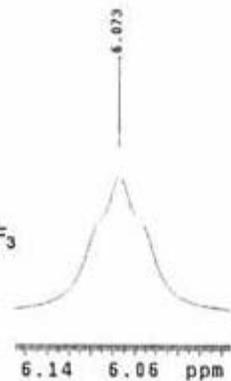


3 - (p-fluorobencilamino) menadiona

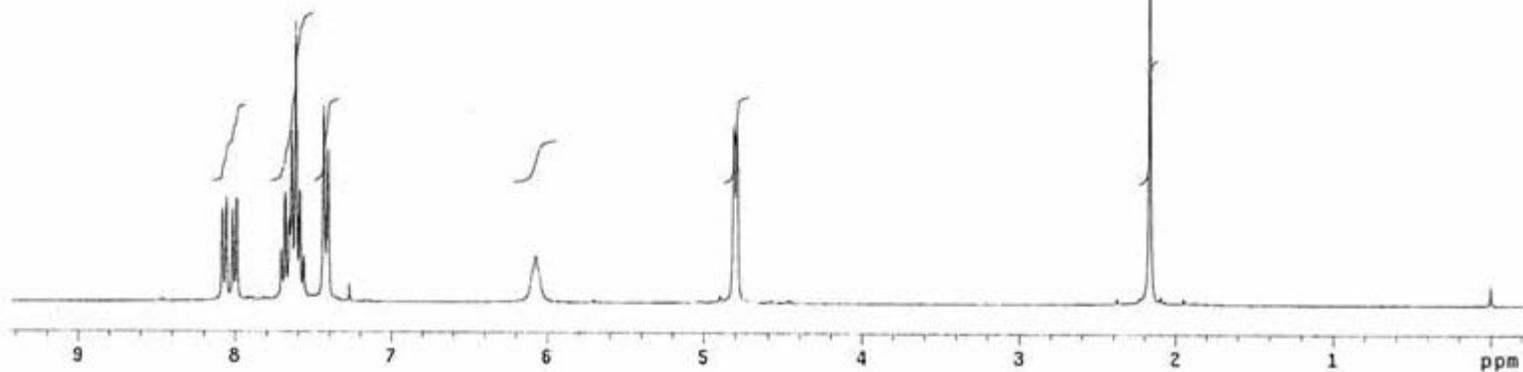
# RMN $^1\text{H}$



144

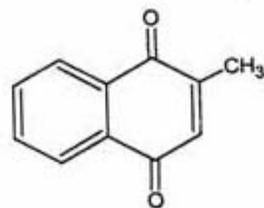


2.162



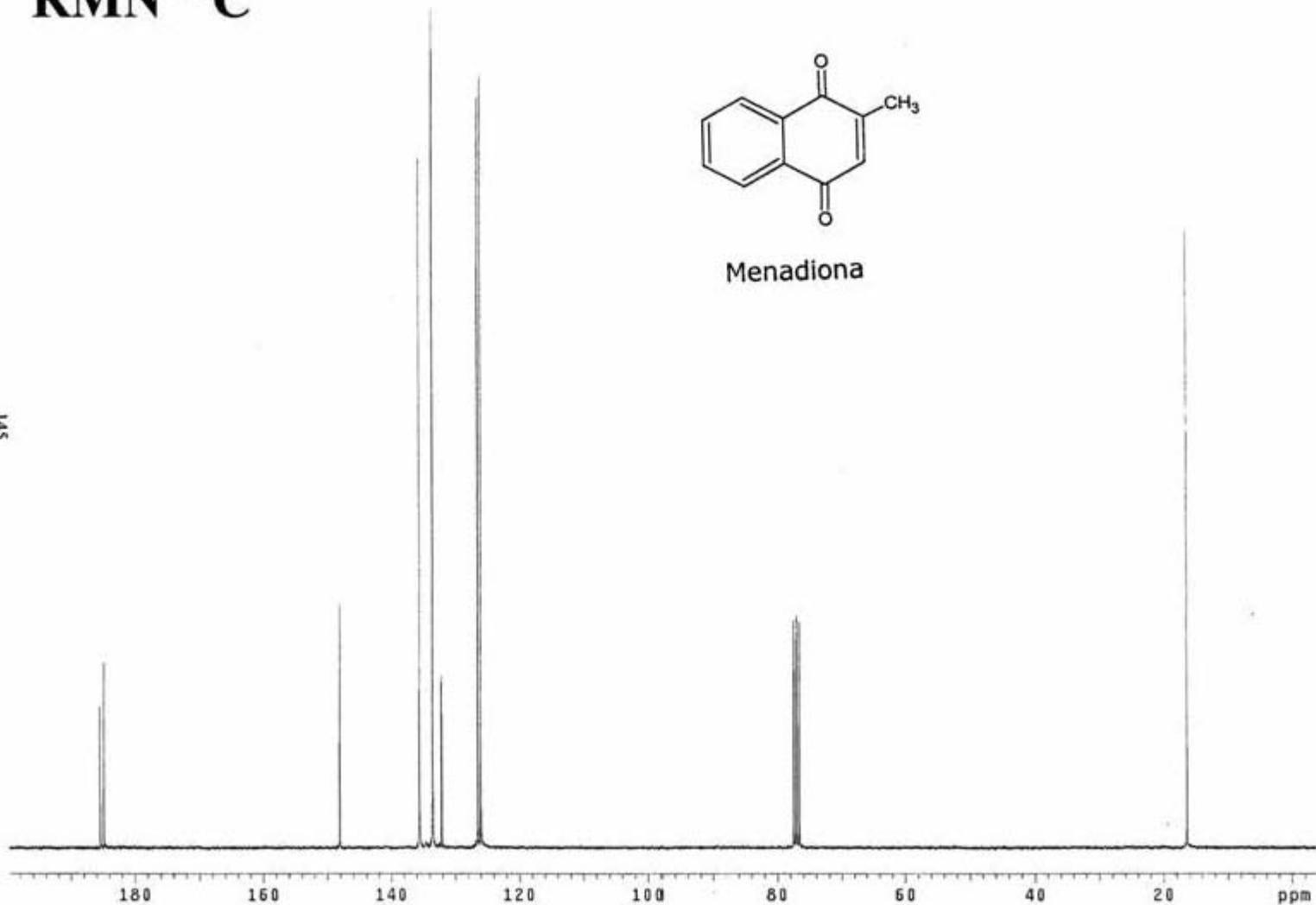
3 - (p-(trifluorometil)bencilamino) menadiona

# RMN $^{13}\text{C}$

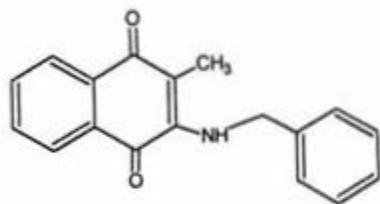


Menadiona

145

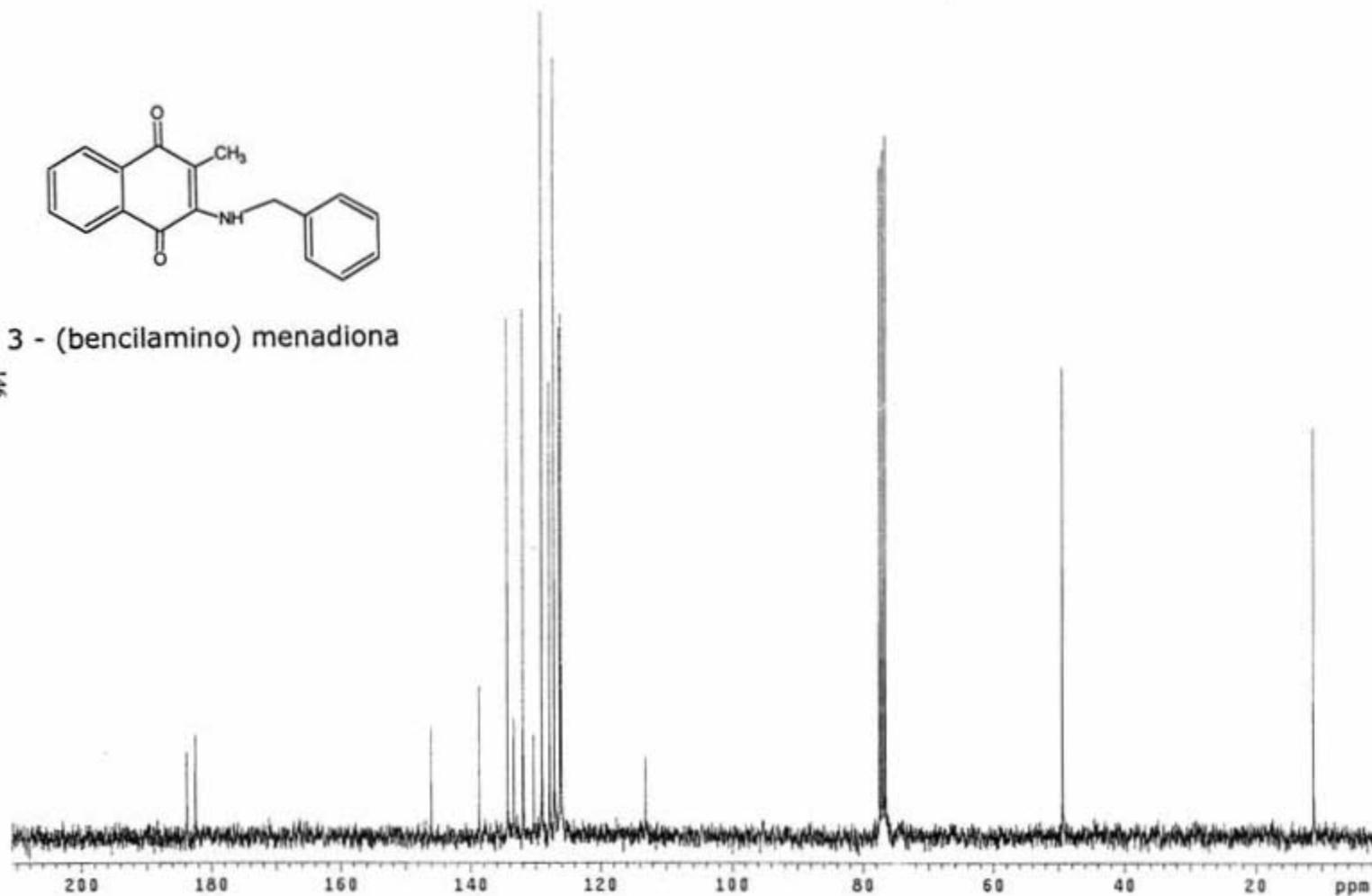


# RMN $^{13}\text{C}$

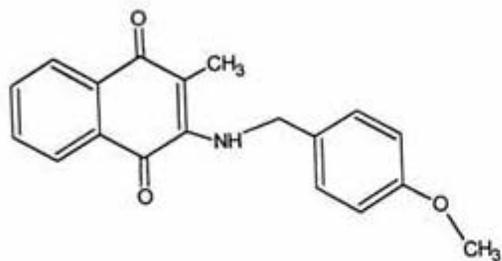


3 - (bencilamino) menadiona

146

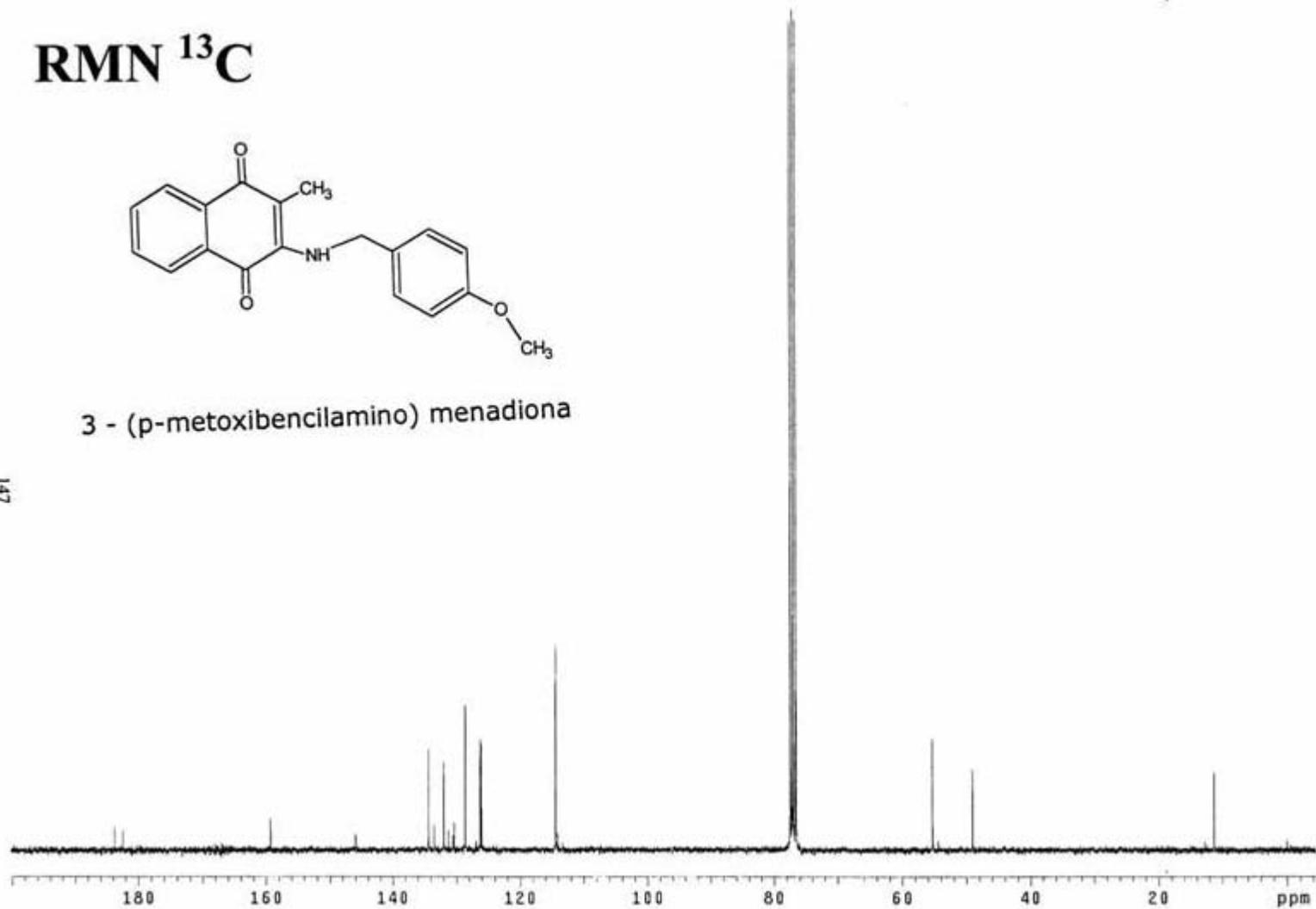


# RMN $^{13}\text{C}$

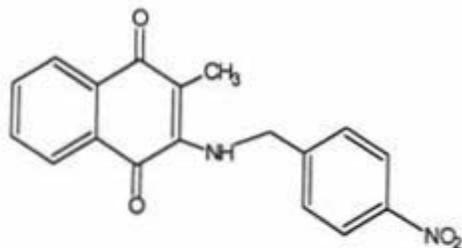


3 - (p-metoxibencilamino) menadiona

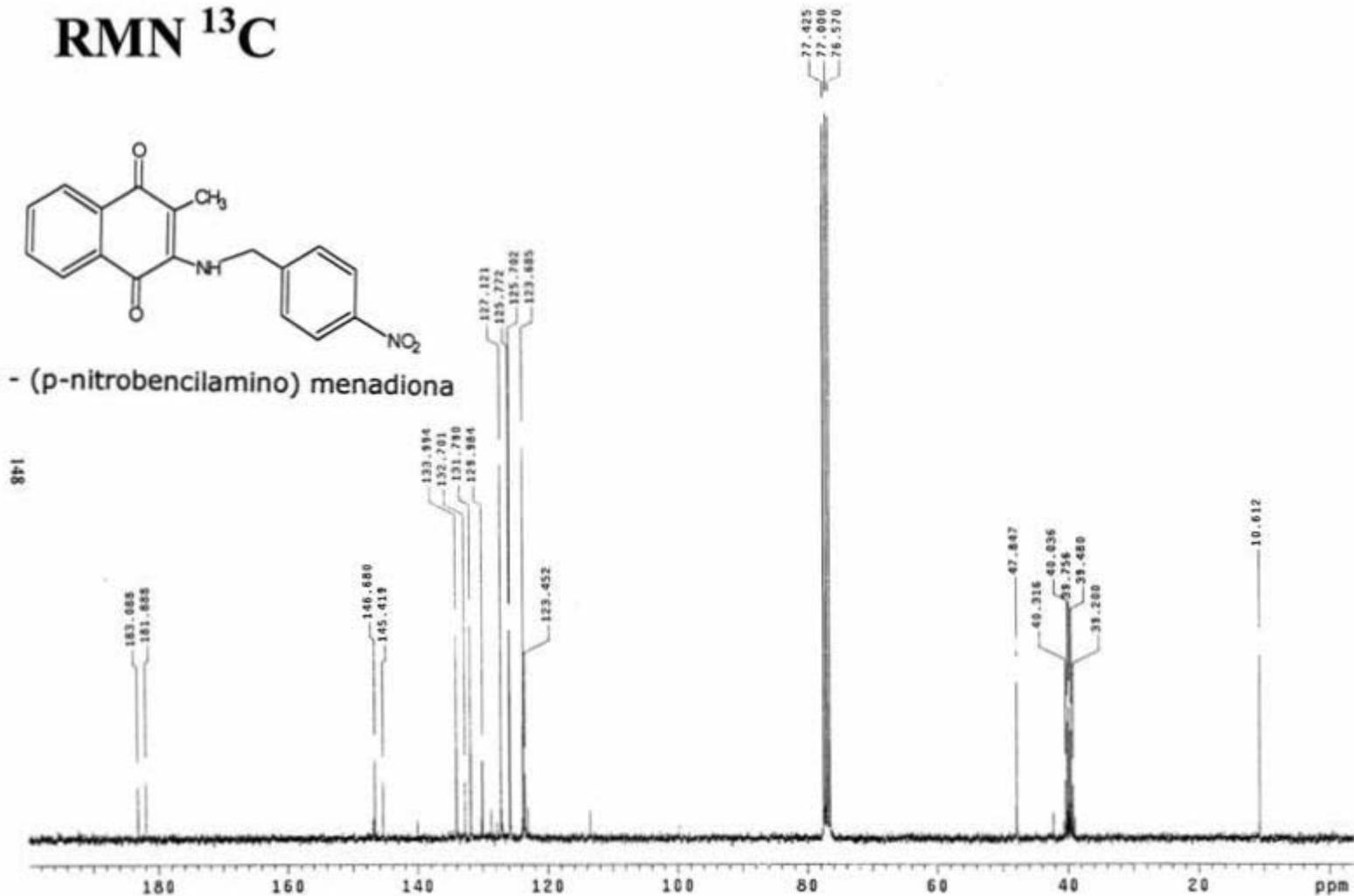
147



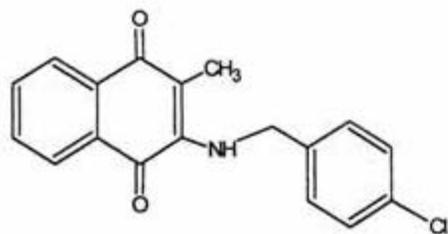
# RMN $^{13}\text{C}$



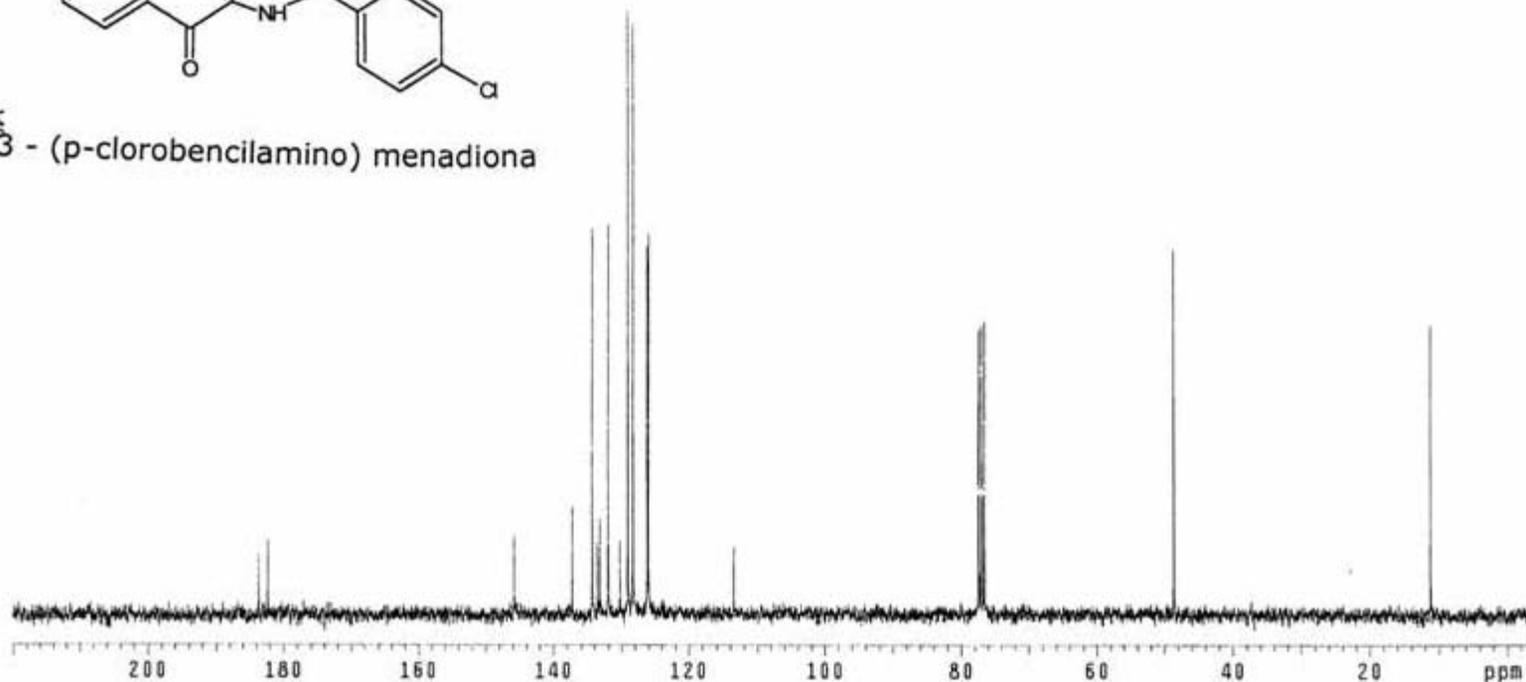
3 - (p-nitrobenzilamino) menadiona



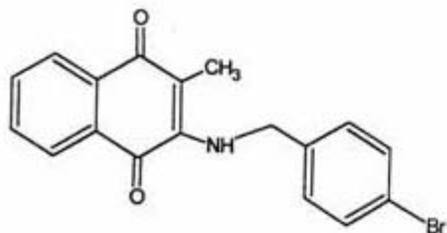
# RMN $^{13}\text{C}$



$\delta$  - (p-chlorobencilamino) menadiona

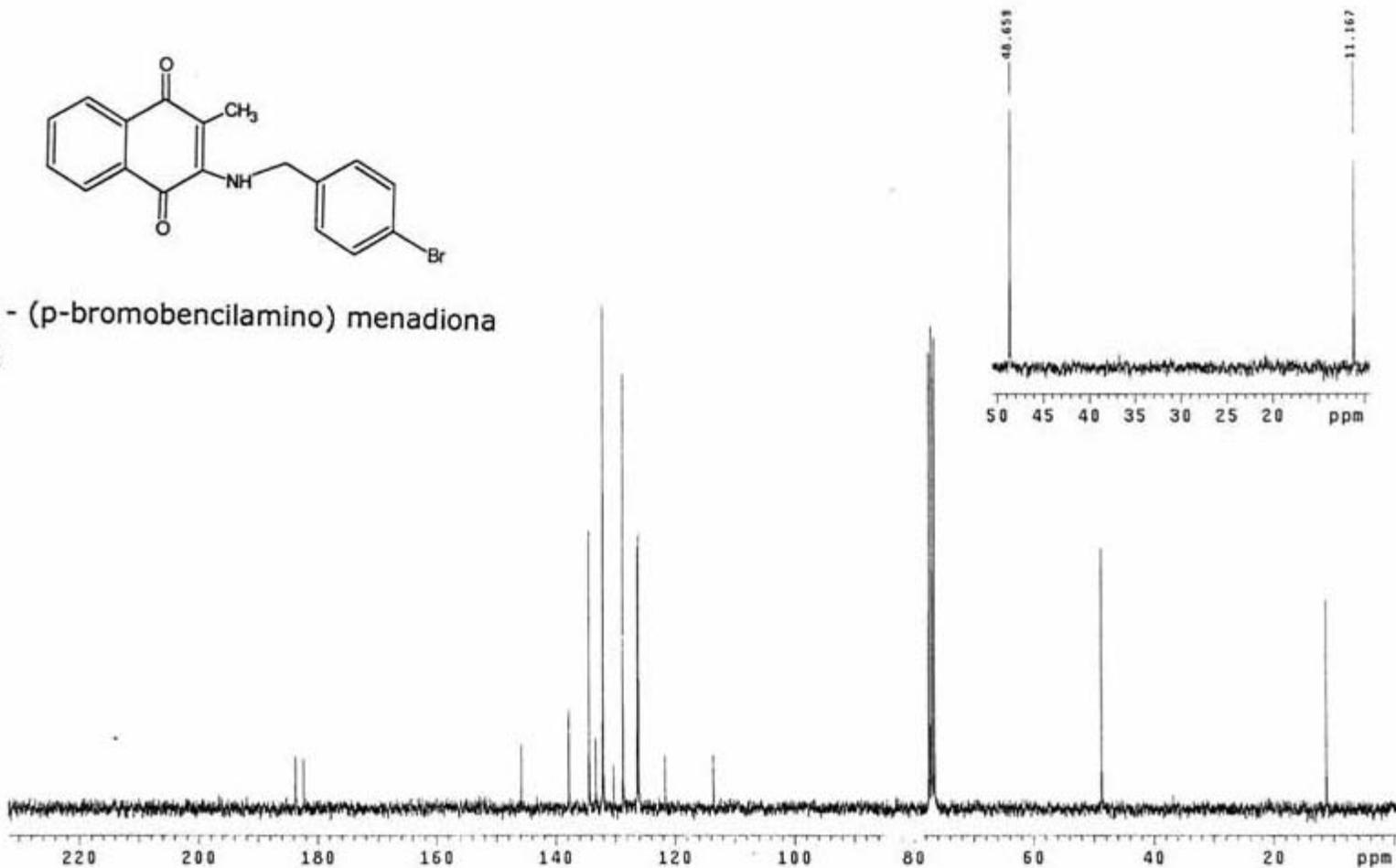


# RMN $^{13}\text{C}$

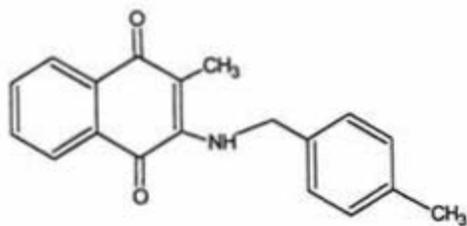


3 - (p-bromobencilamino) menadiona

150

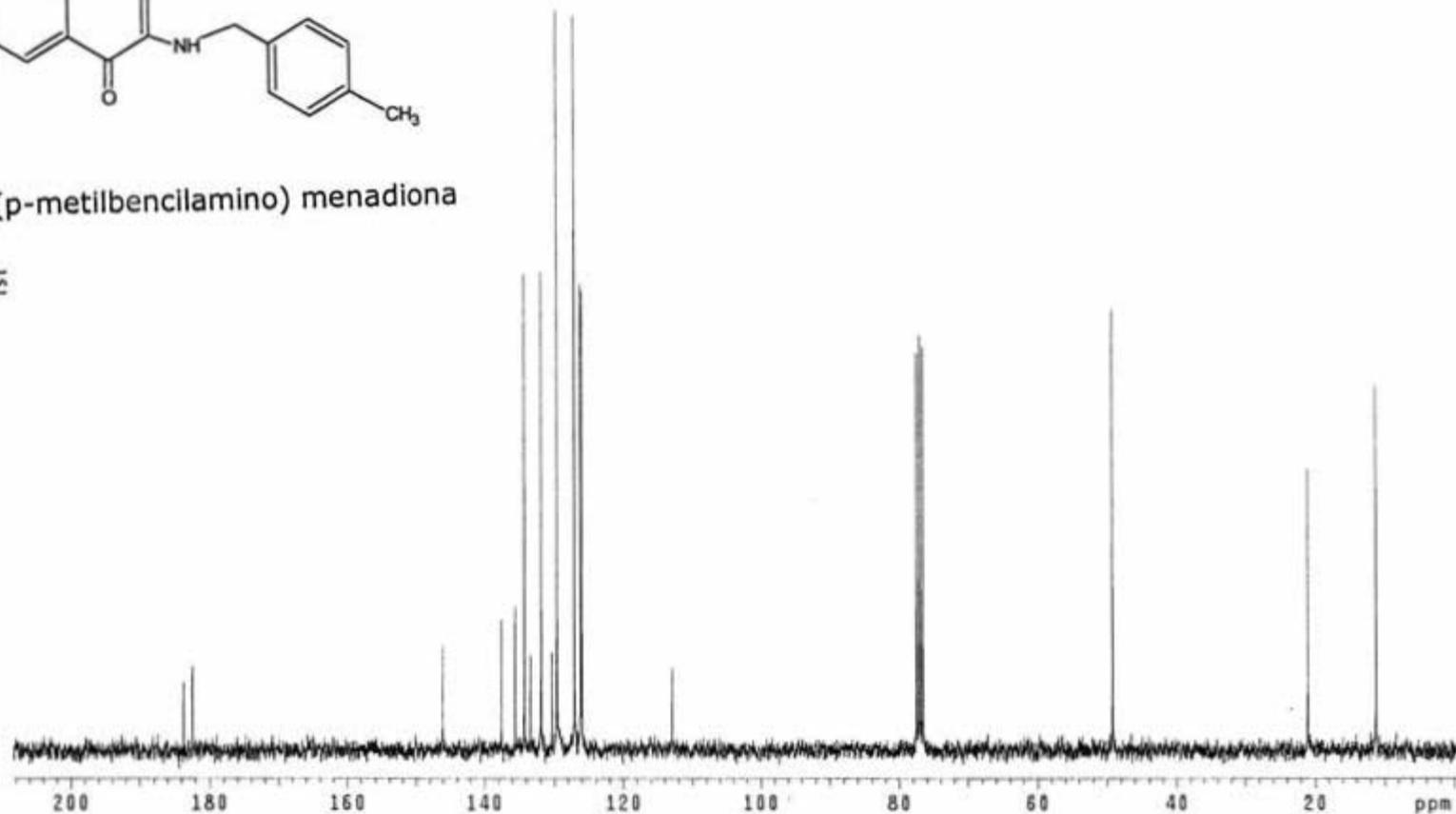


# RMN $^{13}\text{C}$

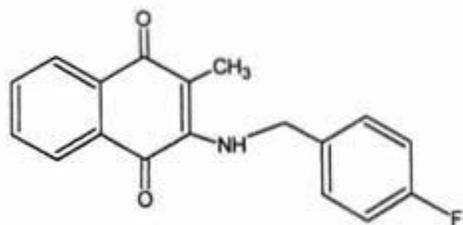


3 - (p-metilbencilamino) menadiona

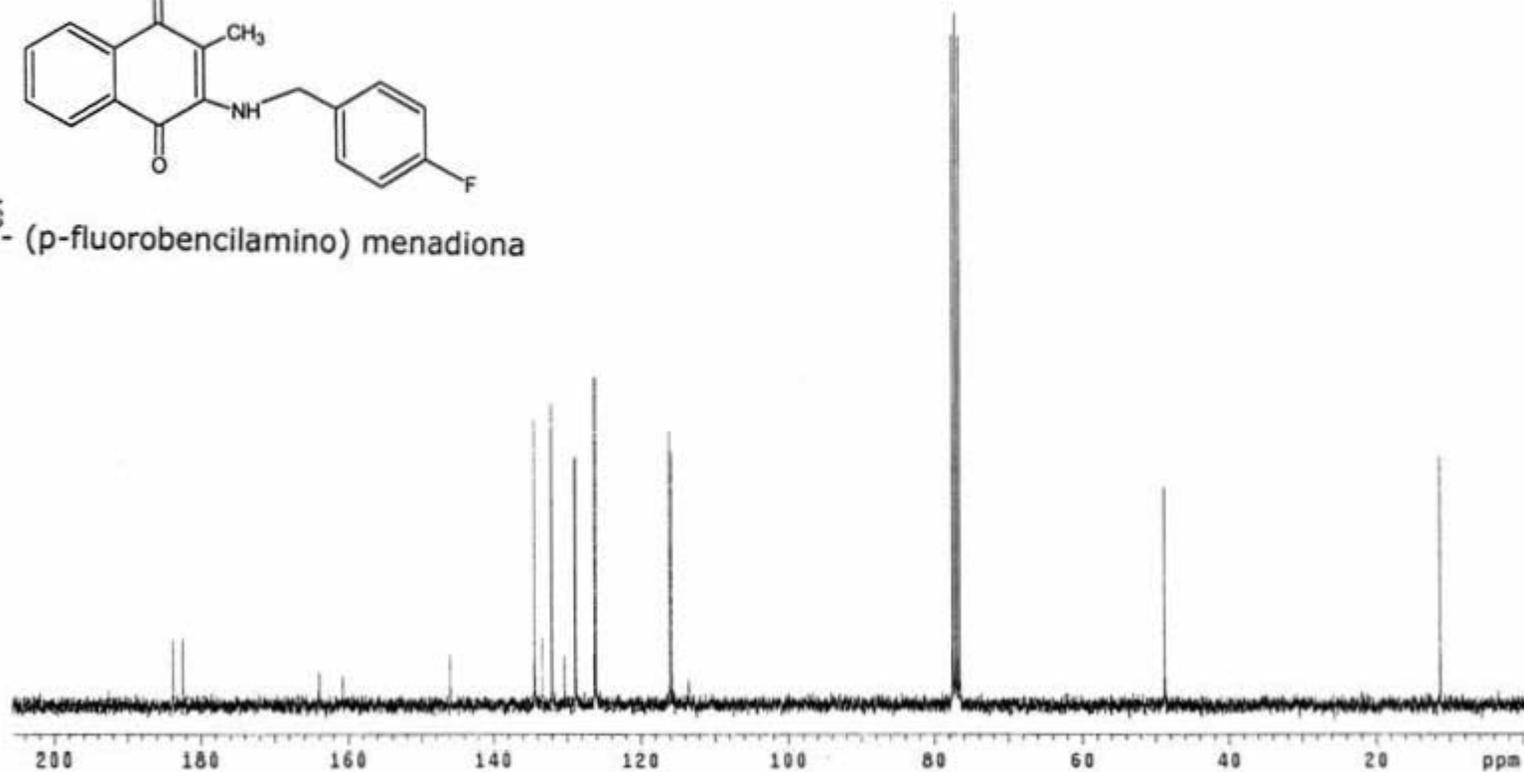
151



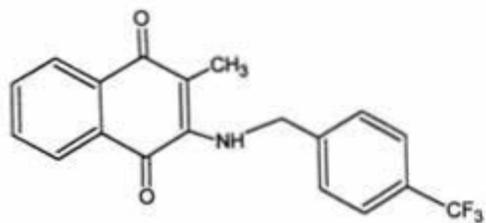
# RMN $^{13}\text{C}$



$^{15}\text{N}$  - (p-fluorobenzilamino) menadiona

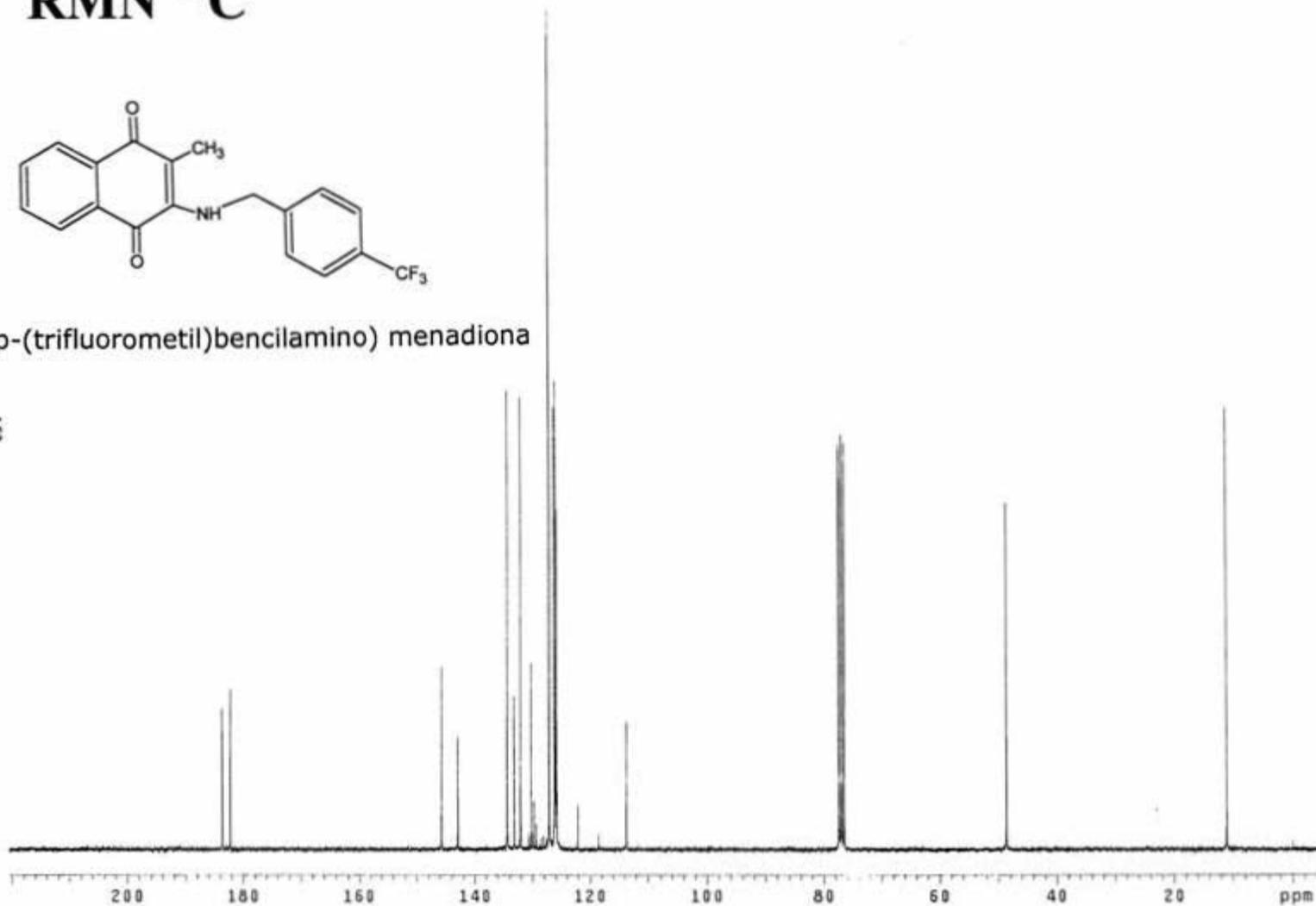


# RMN $^{13}\text{C}$



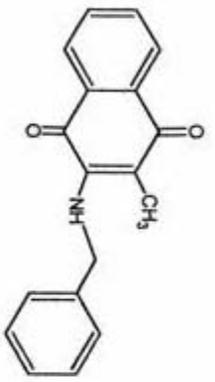
3 - (p-(trifluorometil)bencilamino) menadiona

153

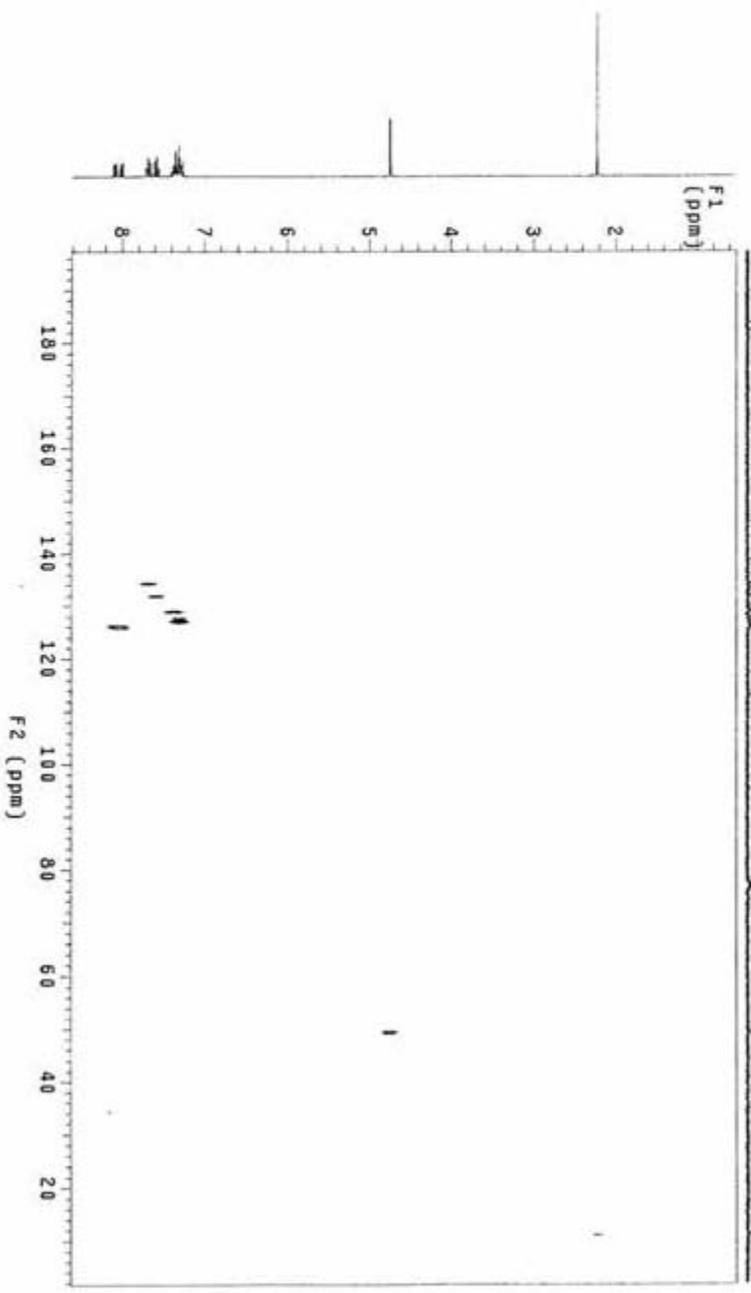




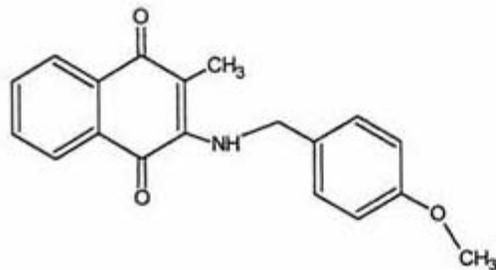
3 - (bencliamino) menadiona



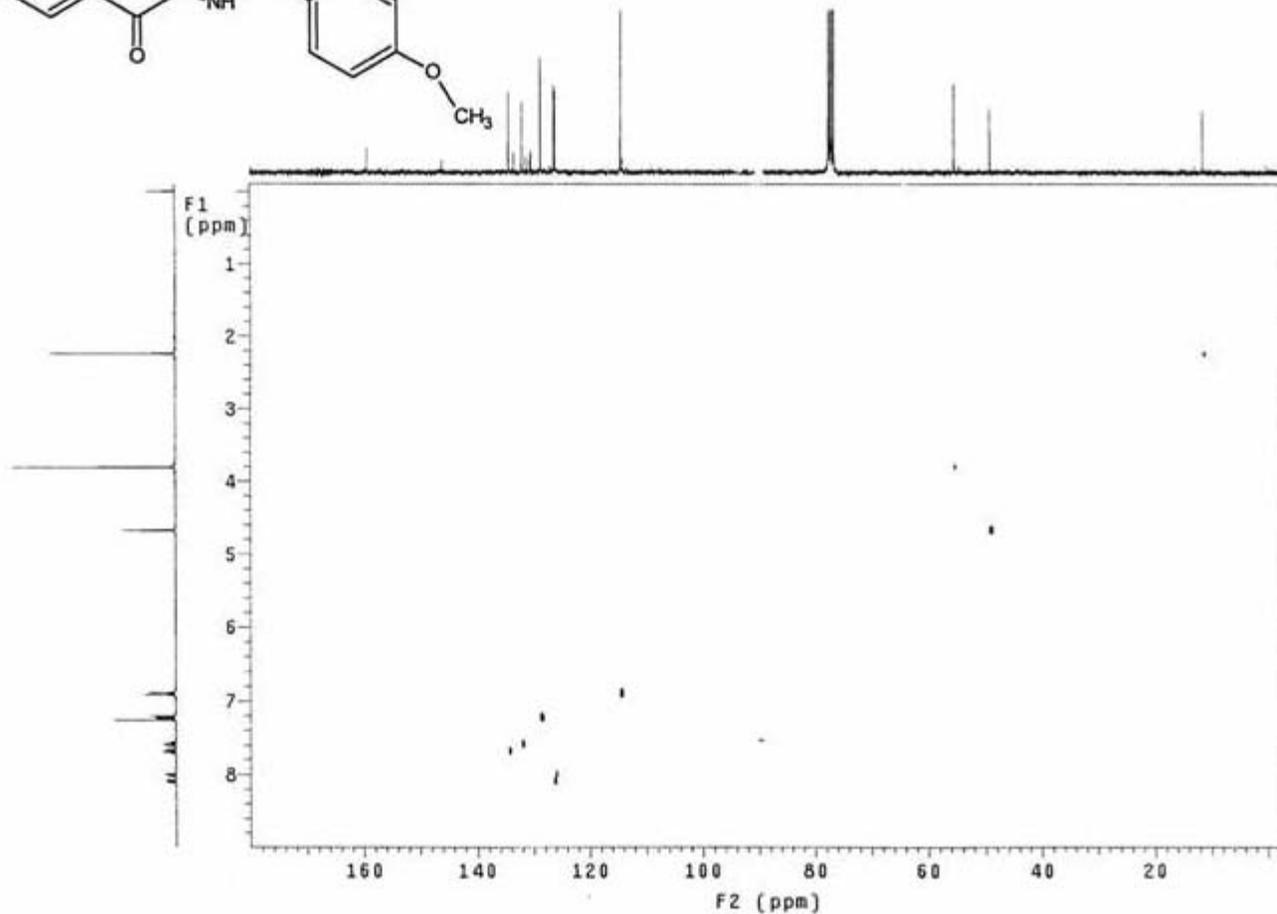
**HETCOR**



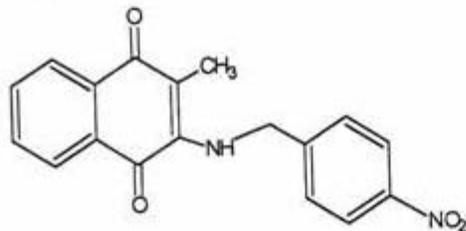
3 - (p-metoxibencilamino) menadiona



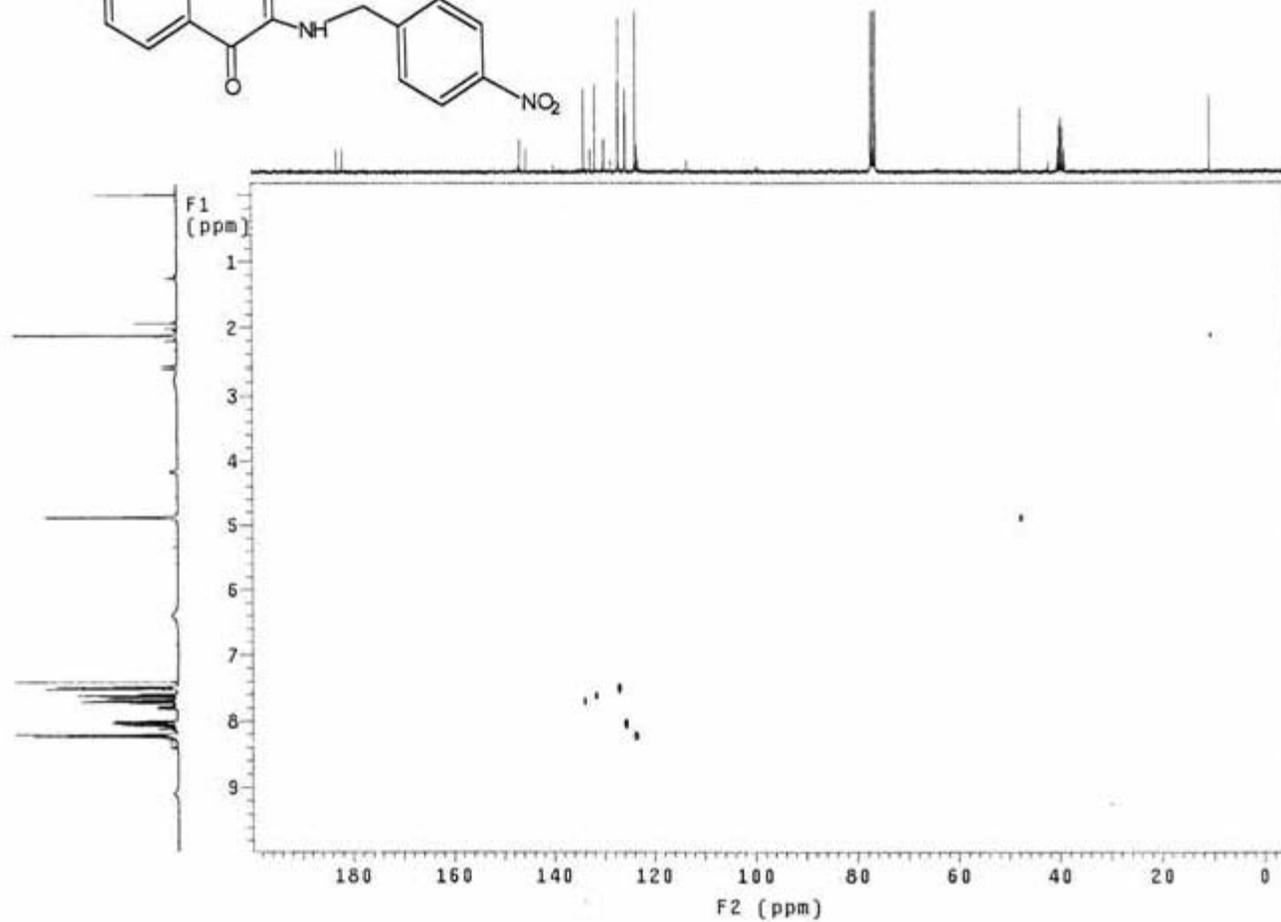
**HETCOR**



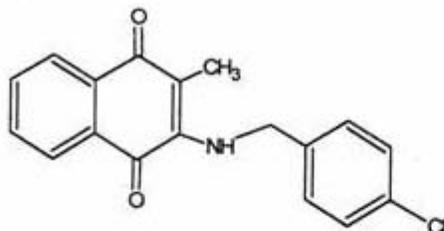
3 - (p-nitrobenzilamino) menadiona



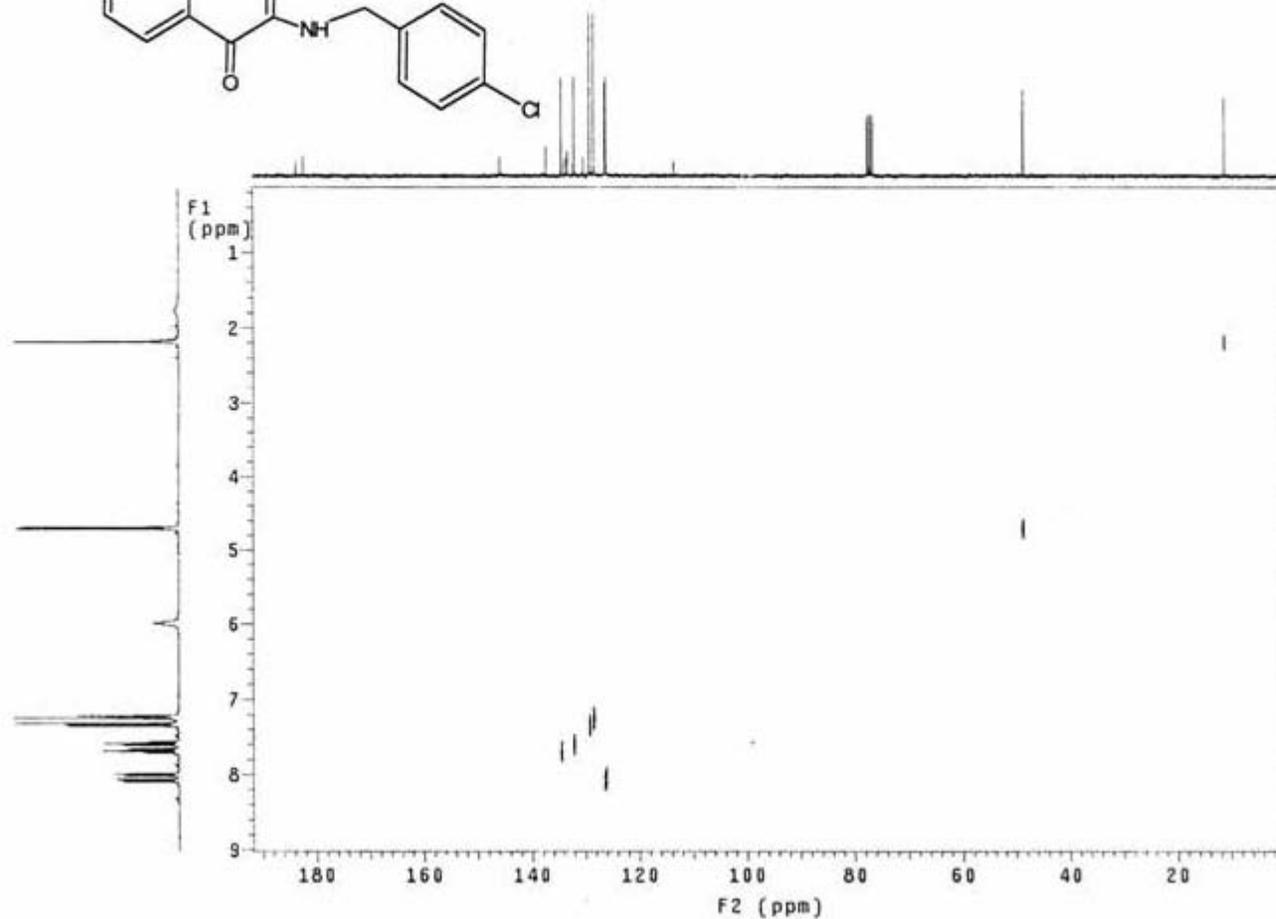
# HETCOR



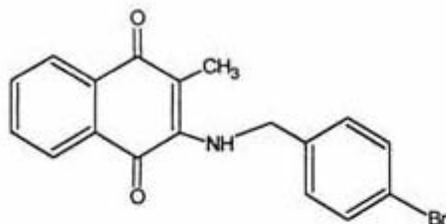
3 - (p-clorobencilamino) menadiona



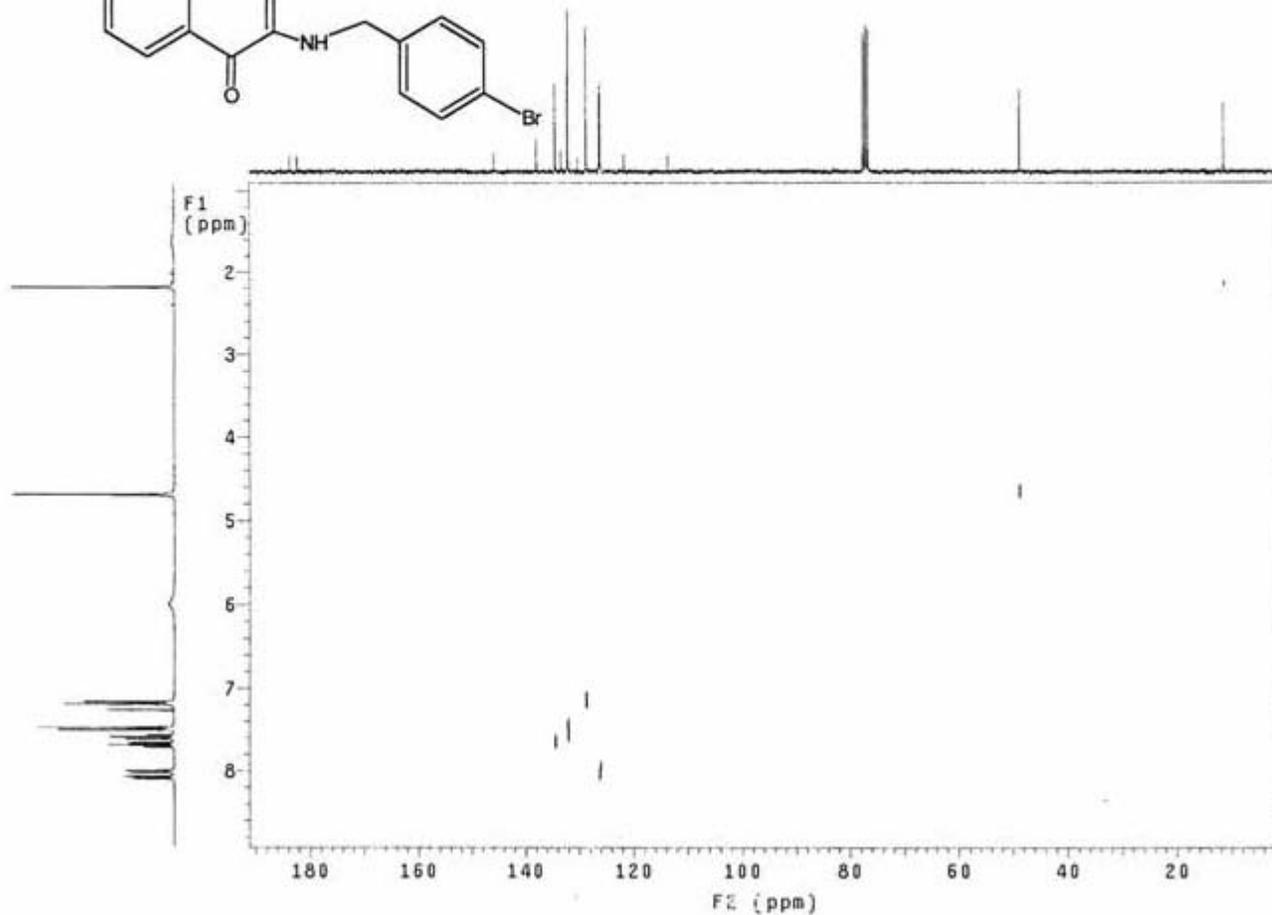
**HETCOR**



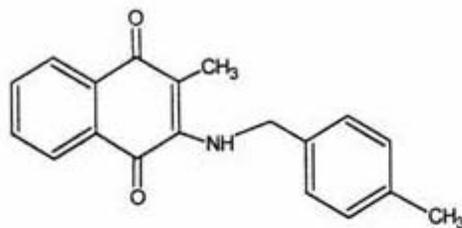
### 3 - (p-bromobencilamino) menadiona



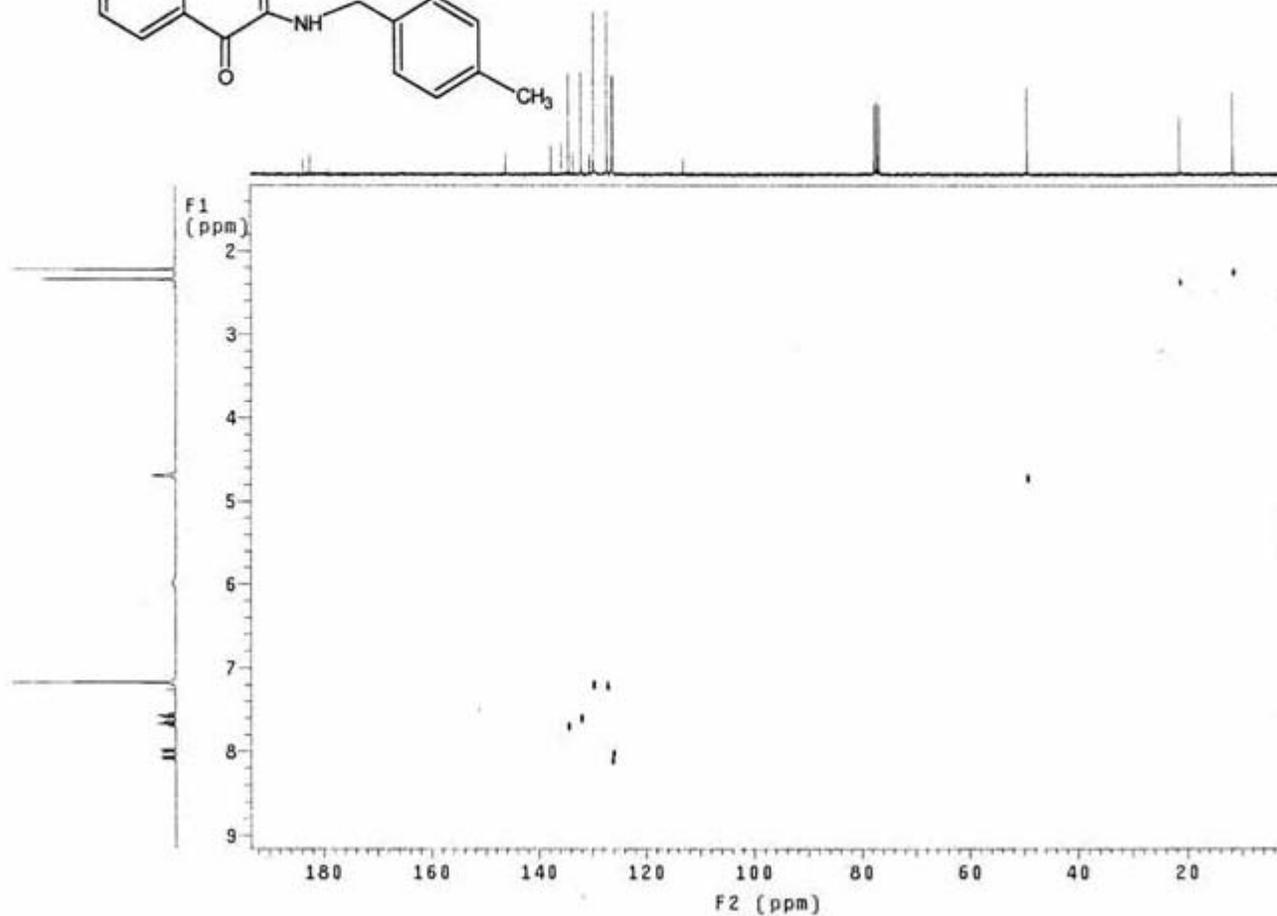
## HETCOR



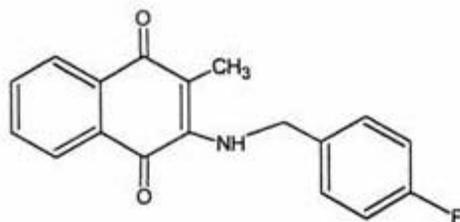
3 - (p-metilbencilamino) menadiona



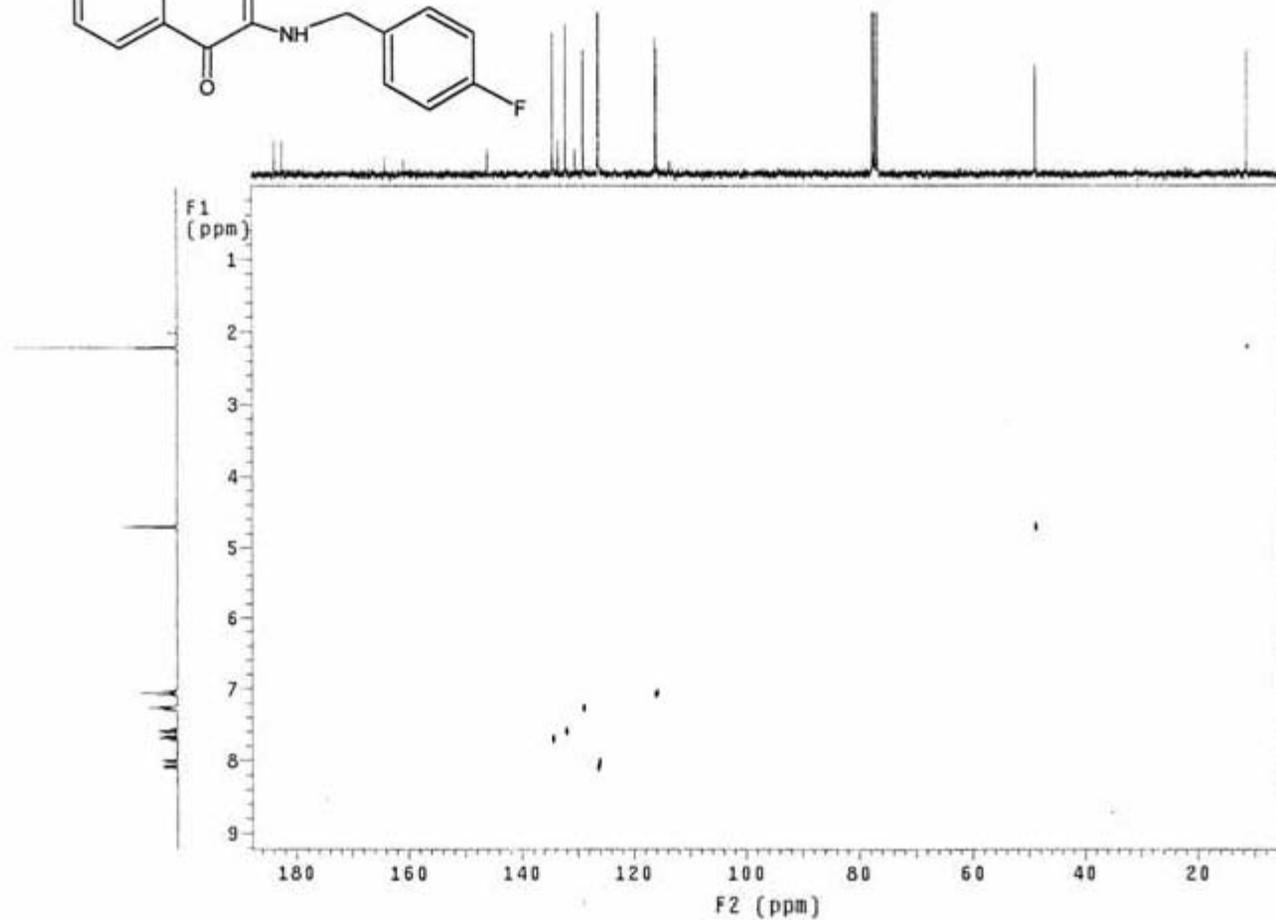
**HETCOR**



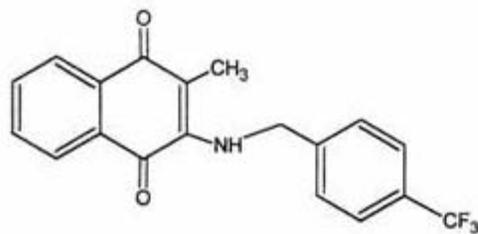
3 - (p-fluorobencilamino) menadiona



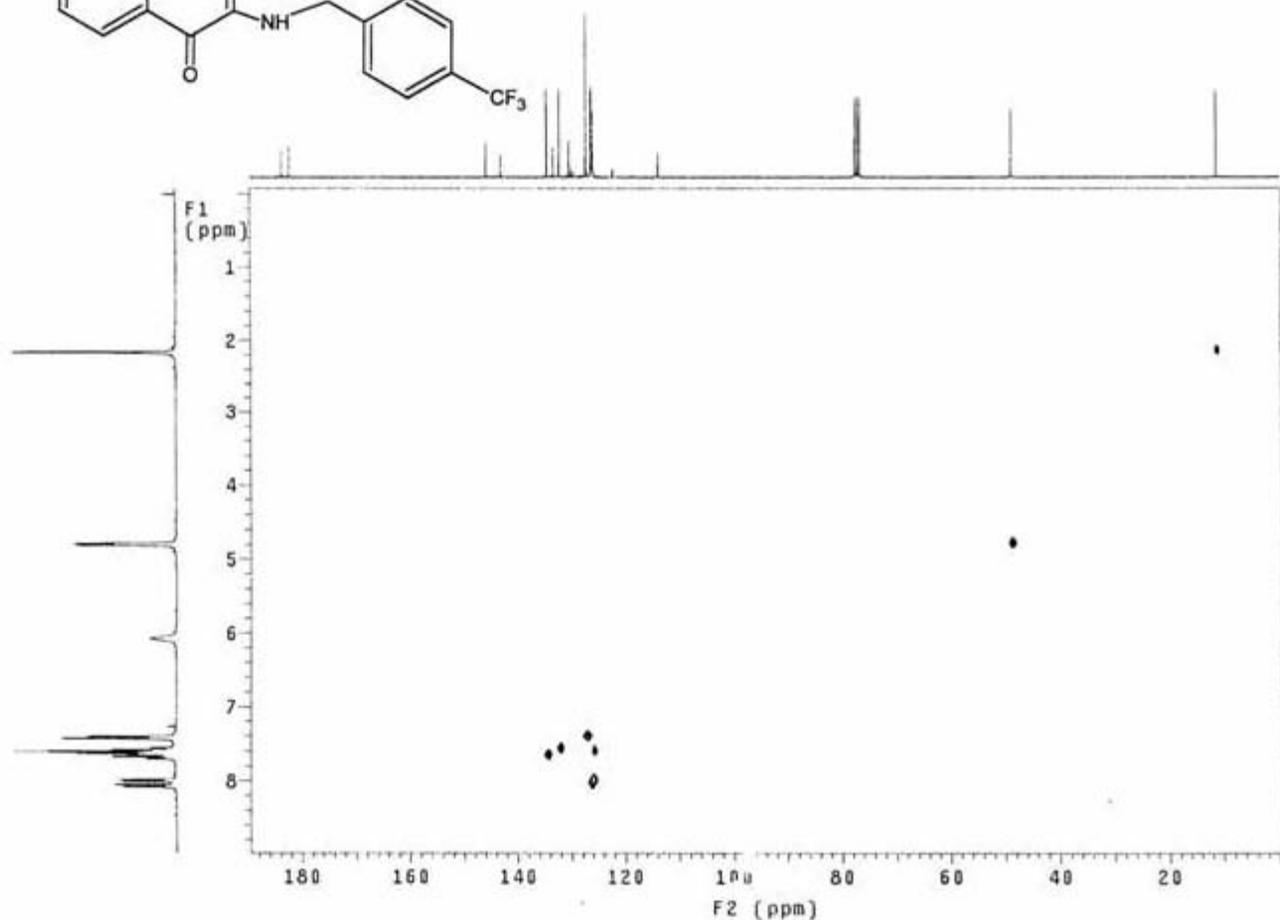
**HETCOR**



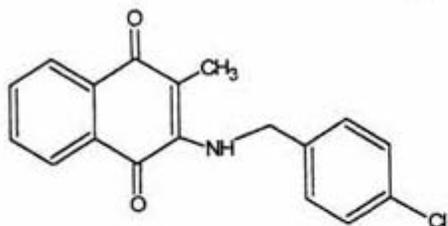
3 - (p-(trifluorometil)bencilamino) menadiona



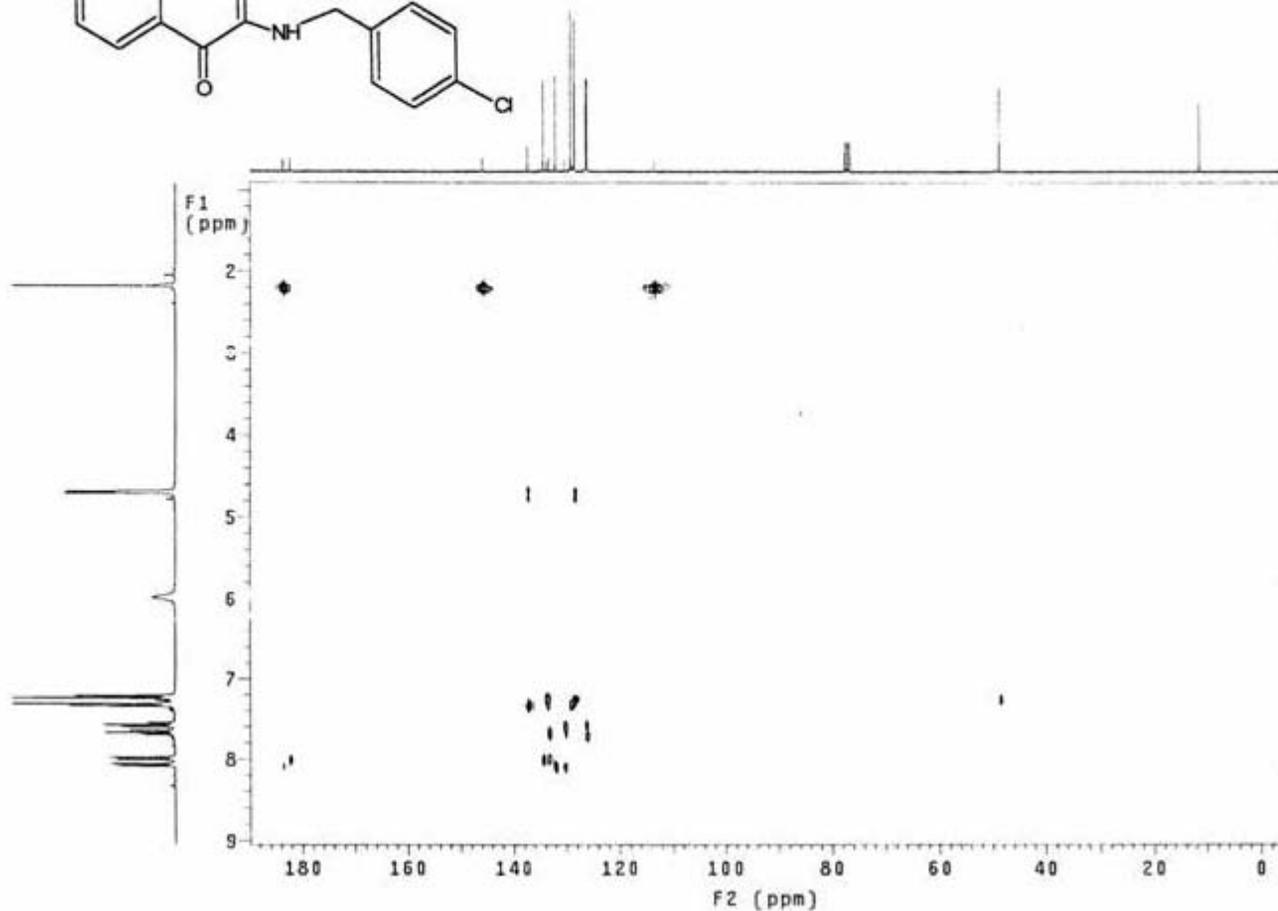
# HETCOR



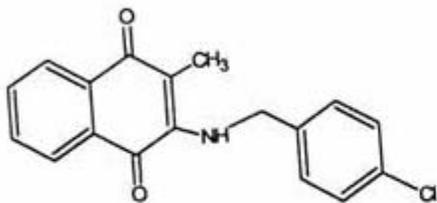
3 - (p-clorobencilamino) menadiona



**FLOCK**



# COSY



3 - (p-clorobencilamino) menadiona

104

