



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS DE 2-METIL-3-(3-R-BENCILAMINAS)-1,4-
NAFTOQUINONAS CON POSIBLE ACTIVIDAD LEISHMANICIDA Y
LA 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 :

VERONICA MORELOS CRUZ



MEXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2005

m342182



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

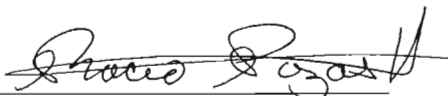
Jurado asignado:

Presidente	Prof. Helio Flores Ramírez
Vocal	Prof. Rocío Pozas Horcasitas
Secretario	Prof. Ernestina Cervera Flores
1er. Suplente	Prof. José Manuel Méndez Stivalet
2do. Suplente	Prof. Alejandrina Acosta Huerta

Sitio en donde se desarrollo el tema:

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

Asesor del tema:



Dra. Rocío Pozas Horcasitas

Sustentante:



Verónica Morelos Cruz

DEDICATORIAS:

- ❖ A la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de ser parte de su equipo.
 - ❖ A mi mamá: Eva Cruz por ser la persona que me ha guiado, y me ha dado la oportunidad de crecer a su lado, por que la voluntad es muy importante.
 - ❖ A mi papá: Abdón Morelos por ser la persona que me ha enseñado los valores de la vida y además por que siempre me echa porras.
 - ❖ A mis hermanos: Armando, Eva y Olga, por que crecimos juntos como hermanos, aprendiendo de las circunstancias de la vida.
 - ❖ A mis sobrinos: Karen y Ale porque son una nueva oportunidad de seguir adelante.
 - ❖ A mis cuñados: Rigo y Ricardo, porque la familia sigue creciendo.
 - ❖ A la Dra. Rocío Pozas Horcasitas, porque es un SOL que me guía en la vida académica y por que he aprendido mucho desde que la conocí.
 - ❖ A la IQ. Rosa Silvia Fuentes Díaz, por creer en mí y por iniciarme en la Química.
-

AGRADECIMIENTOS:

- ❖ A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de estudiar.
 - ❖ A la Sociedad Mexicana, por que con sus aportaciones logre terminar esta carrera.
 - ❖ A mi familia: Geno, Abdón, Armando, Eva y Olga por las enseñanzas diarias, por que hemos crecido juntos como familia y por estar apoyándome siempre en el momento de necesitarlos.
 - ❖ A la Dra. Rocio Pozas Horcasitas, por la amistad sincera, la oportunidad de escucharme y aconsejarme y por creer en mí.
 - ❖ A mis Señores Profesores que me enseñaron y se dieron tiempo para guiarme.
 - ❖ A las personas amistosas con las que he crecido y compartido excelentes momentos: Alma L., Amalia N., Betzabe Z., Claudia M., Delia O., Elena H., Elsa U., Eva María R., Gustavo, Israel A., Karina U., Magda E., María Eugenia, Maribel E., Martha E., Paola M., Raúl M., Sibila C. y Victor I. Gracias a todos por permitirme aprender de ustedes y por ayudarme a crecer como persona.
 - ❖ A los siguientes investigadores: Q. Marisela Gutiérrez, Q. Georgina Duarte, Q. F. B. Rosa I. Del Villar, Q. F. B. Oscar Yáñez, por haber realizado los espectros de IR, UV, EM, RMN ¹H y ¹³C para este trabajo.
 - ❖ A los profesores Ernestina Cervera y Helio Flores por su tiempo para revisar este trabajo.
 - ❖ A la Dra. Rocio Pozas Horcasitas, Q. Elsa Ugalde Mora, Q. Eva María Rodríguez López, Q. Magdalena Escuadra Gallegos, QFB: María Amalia Nava Ruiz, QA. María Elena Jiménez Hernández, Q. Maribel Eluani Cabrera, a todas ustedes muchas gracias por sus conocimientos y aportaciones para mejorar este trabajo.
-

ÍNDICE

RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN	ii
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Fases del género <i>Leishmania</i>	2
1.2 Ciclo de vida de <i>Leishmania</i>	2
1.3 Taxonomía de <i>Leishmania</i>	4
1.4 Vectores	4
1.5 Huéspedes reservorios	6
1.6 Tipos de Leishmaniasis	7
1.6.1 Leishmaniasis Cutánea	7
1.6.1.1 Distribución geográfica	7

1.6.1.2	Especies	8
1.6.1.3	Vectores	8
1.6.1.4	Huéspedes reservorios	8
1.6.1.5	Síntomas más frecuentes	9
1.6.1.6	Diagnóstico	9
1.6.1.7	Tratamiento	11
1.6.2	Leishmaniasis Mucocutánea	12
1.6.2.1	Distribución geográfica	12
1.6.2.2	Especies	13
1.6.2.3	Vectores	13
1.6.2.4	Huéspedes reservorios	14
1.6.2.5	Síntomas más frecuentes	14
1.6.2.6	Diagnóstico	15
1.6.2.7	Tratamiento	15
1.6.3	Leishmaniasis Visceral	17
1.6.3.1	Distribución geográfica	17
1.6.3.2	Especies	17
1.6.3.3	Vectores	17
1.6.3.4	Huéspedes reservorios	18
1.6.3.5	Síntomas más frecuentes	18
1.6.3.6	Diagnóstico	19
1.6.3.7	Tratamiento	20
1.7	Fármacos alternativos usados para el tratamiento de los diferentes tipos de Leishmaniasis	21
1.8	Las quinonas	22
1.8.1	Las quinonas en la naturaleza	22
1.8.2	Las quinonas en los procesos oxidativos de la célula	25

1.8.3	Deficiencia de enzimas de <i>Leishmania</i>	28
1.8.4	Mecanismo de acción de las quinonas	29
1.8.5	Quinonas con actividad leishmanicida	31
1.9	Mecanismo de reacción	35
1.9.1	Adición conjugada	35
1.9.2	Propuesta de mecanismo de reacción	36
1.10	Determinación de toxicidad mediante una prueba biológica	38
1.10.1	<i>Artemia salina</i>	38
1.10.2	Prueba biológica frente a <i>Artemia salina</i>	39
2.	HIPÓTESIS	40
3.	OBJETIVOS	41
4.	DESARROLLO EXPERIMENTAL	44
4.1	Reactivos y material utilizados en la síntesis química	44
4.1.1	Reactivos y disolventes utilizados en la síntesis y purificación de los compuestos sintetizados	44
4.2	Equipo utilizado en la caracterización de los compuestos sintetizados	45
4.3	Síntesis de las R-bencilaminas propuestas	45
4.4	Prueba biológica frente a <i>Artemia salina</i>	47
4.4.1	Material empleado para el ensayo biológico frente a <i>Artemia salina</i>	47
4.4.2	Obtención de la larva <i>Artemia salina</i>	47
4.4.3	Preparación de las diluciones de los compuestos sintetizados	48
4.4.4	Preparación de tubos de ensayo	48
4.4.5	Preparación de <i>Artemia salina</i> y el compuesto sintetizado	48
4.4.6	Determinación de la concentración letal media	49
5.	RESULTADOS	51
5.1	Propiedades físicas	52
5.2	Resultados de las técnicas espectroscópicas de IR, EM, UV, RMN ¹ H y ¹³ C	53

5.3	Resumen de las técnicas espectroscópicas	77
5.4	Resultados del bioensayo frente a <i>Artemia salina</i>	82
5.5	Resumen del bioensayo frente a <i>Artemia salina</i>	89
6.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	90
6.1	Espectroscopía de Infrarrojo	91
6.2	Espectrometría de Masas	92
6.3	Espectroscopía Ultravioleta	93
6.4	Resonancia Magnética de protón ^1H	95
6.5	Resonancia Magnética de Carbono ^{13}C	99
6.6	Análisis del espectro COSY	102
6.7	Análisis del espectro FLOCK	103
6.8	Análisis de la prueba biológica frente a <i>Artemia salina</i>	104
7.	CONCLUSIONES	106
	REFERENCIAS	108
	GLOSARIO	115
	ANEXO	122

RESUMEN

En el presente trabajo se sintetizaron siete compuestos derivados de 2-metil-1,4-naftoquinona como una propuesta de alternativas para combatir las leishmaniasis. Dicho compuesto se sustituyó en la posición 3 por el grupo 3-R-bencilamino, en donde R es el sustituyente bromo, cloro, flúor, metil, metoxi, nitro y trifluorometil. Los compuestos se obtuvieron con rendimientos de 60 % a 80.14 % y se caracterizaron mediante las técnicas espectroscópicas de IR, EM, UV, RMN ^1H , RMN ^{13}C y HETCOR.

Posteriormente se evaluó la actividad larvicida de cada uno de los compuestos sintetizados frente a *Artemia salina*, mediante la determinación de la concentración letal media (CL_{50}), como una primera aproximación del efecto tóxico de tales compuestos frente a un sistema vivo. Se encontró que de los siete compuestos sintetizados, cinco son bioactivos, de los cuales el derivado 3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona fue el más bioactivo y el menos activo fue el compuesto 2-metil-3-(3-nitrobencilamino)-1,4-naftoquinona.

INTRODUCCIÓN

Las leishmaniasis son enfermedades parasitarias del hombre, roedores y aves que causan daños a la piel, mucosas y vísceras provocadas por un protozooario del género *Leishmania*, son transmitidas por la picadura de los insectos *Phlebotomus* y *Lutzomyia*, y se desarrollan principalmente en lugares tropicales y subtropicales.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado a estas enfermedades dentro de las seis más importantes del trópico. La OMS ha declarado que las leishmaniasis son endémicas* en al menos 82 países, donde actualmente existen 12 millones de enfermos y se generan 600000 nuevos casos al año, al mismo tiempo que mueren 75000 enfermos. La población en riesgo es de 350 millones de personas en el mundo; sin embargo estos datos no son comprobables en su totalidad debido a la falta de vigilancia o de informes activos, al número de enfermos sin síntomas y subclínicos o al desafío que representa la confirmación diagnóstica.

Los antimoniales pentavalentes (Sb^V) se han utilizado por muchos años para combatir estas enfermedades. El estibogluconato de sodio (gluconato de sodio y antimonio PENTOSTAM[®]) ha sido el fármaco de primera elección para curar todos los tipos de leishmaniasis, sin embargo se requiere de grandes periodos de tiempo, el costo es relativamente alto y se ha reportado un incremento en la resistencia a dicho medicamento. Los fármacos de segunda elección, son la pentamidina y anfotericina B, que son menos satisfactorios por su alta toxicidad a dosis terapéuticas eficaces.

Existen antecedentes de que los compuestos derivados de las naftoquinonas tienen actividad biológica antiparasitaria, esto se debe a que presentan propiedades redox. En los procesos de respiración celular participan como acarreadores de electrones generando especies tóxicas de oxígeno que dañan a cualquier sistema celular. Una de estas especies tóxicas es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que acumulado en el protozoario puede provocar su muerte, ya que este parásito no tiene la suficiente capacidad de generar enzimas degradadoras de tal especie. Se sabe que las enzimas catalasa y glutatión peroxidasa son las encargadas de convertir el H_2O_2 en H_2O y O_2 . Los seres humanos pueden generar tales enzimas, teniendo ventaja en este aspecto sobre el protozoario *Leishmania*.

En este trabajo se sintetizaron siete compuestos derivados de 2-metil-1,4-naftoquinona como una propuesta alternativa para combatir tal enfermedad. Estos compuestos se caracterizaron por las técnicas espectroscópicas de IR, EM, UV, RMN 1H , RMN ^{13}C y HETCOR; se encontró que todos los derivados presentan el mismo patrón en los espectros, con la variación debida al sustituyente en posición meta del grupo bencilamino.

Así mismo se determinó la actividad larvicida de cada uno de los compuestos sintetizados frente a *Artemia salina*, mediante la estimación de la concentración letal media como resultado de la toxicidad de dichos compuestos, como una primera aproximación de su comportamiento frente a un organismo vivo.

1. ANTECEDENTES

Los seres humanos padecen diversas enfermedades causadas por parásitos protozoarios y que son transmitidos por insectos vectores en forma directa de animales mamíferos o de personas infectadas que actúan como reservorios.^[1]

Las leishmaniasis humanas son enfermedades de la piel, mucosas y vísceras, causadas por especies de protozoarios y subespecies del género *Leishmania*, y son transmitidas por ciertas especies de moscas de suelo, *Phlebotomus* y *Lutzomyia*, en regiones tropicales y subtropicales.^[2]

La Organización Mundial de la Salud las ha incluido entre las seis enfermedades tropicales más importantes.^[3]

1.1 FASES DEL GÉNERO *Leishmania*



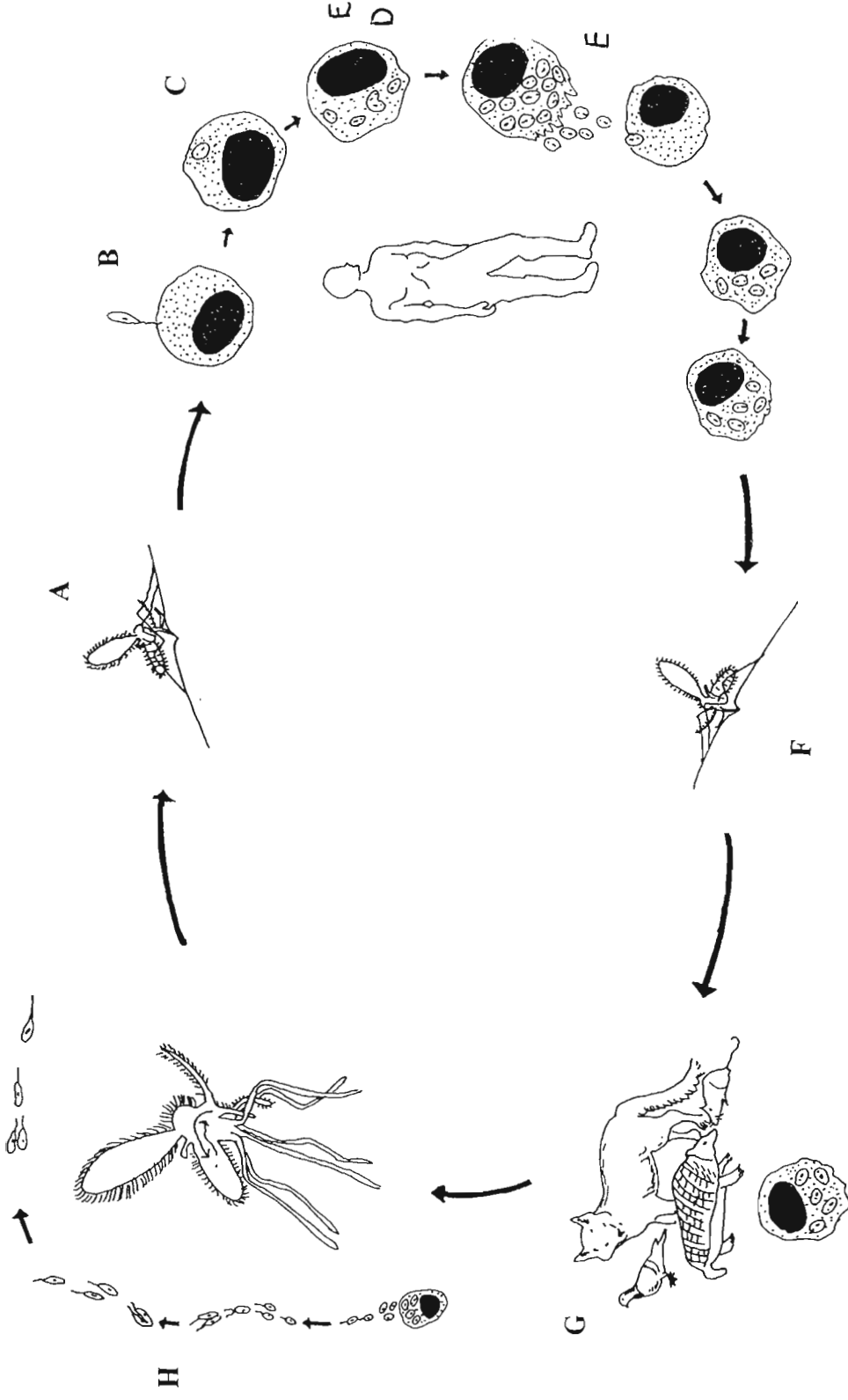
Fig. 1 Izquierda Promastigotes de *Leishmania* y derecha amastigotes de *Leishmania*

La *Leishmania* (Fig. 1) presenta dos fases: una de ellas es el amastigote que se encuentra en tejidos de huéspedes vertebrados (hombre, mamíferos y aves), presentando las características morfológicas* siguientes: tiene una forma redonda u oval, mide de 2-7 micras de diámetro, tiene un núcleo esférico compacto con cromatina gelatinosa, así como un

cinetoplasto* de forma bacilar y un axonema* que se convertirá en flagelo* en la siguiente etapa; la otra fase es la forma flagelada llamada promastigote (observada en transmisores y en medios de cultivo). El promastigote es alargado, mide de 16-18 micras de diámetro mayor, un núcleo central, un cinetoplasto, un axonema y un flagelo que sobresale de su extremo que mide de 22 a 25 micras de longitud.^[4, 5, 6]

1.2 CICLO DE VIDA DE *Leishmania*

El ciclo biológico de *Leishmania* (Fig. 2) se inicia cuando un mosquito hembra infectado se alimenta de la sangre de un humano (A) y al picar inyecta en la piel los promastigotes de *Leishmania*, que una vez dentro del huésped humano, son transportados por el torrente sanguíneo introduciéndose en los macrófagos* (B), algunos de estos promastigotes son dañados por la fagocitosis* que genera el mismo macrófago como mecanismo de defensa; sin embargo los promastigotes que sobreviven pierden su flagelo y se transforman en amastigotes (C), multiplicándose por división binaria rápidamente (D).^[7] Cuando los amastigotes de *Leishmania* saturan la célula huésped, la lisan e invaden otras células nuevas, repitiendo el mismo proceso (E).



A. Mosquito infectado B. Promastigote introduciéndose en macrófago C. Transformación en amastigote D. Multiplicación de amastigotes E. Invasión a otras células F. Hembra del mosquito no infectada G. Hospedero infectado H. Transformación a promastigotes dentro del mosquito

Fig. 2 Ciclo de vida de *Leishmania*

El ciclo continúa cuando otra hembra del mosquito no infectado (F) adquiere los amastigotes infecciosos por la picadura a un hospedero* infectado (G); cuando estos amastigotes llegan al intestino medio del insecto se multiplican con rapidez y se transforman en promastigotes, después migran hacia la faringe y partes de la boca del insecto donde están listos para ser inyectados en la piel del siguiente individuo, cuando la mosca se alimenta nuevamente (H).^[8]

1.3 TAXONOMÍA DE *Leishmania*

La taxonomía* del género *Leishmania* ha sido difícil de establecer, ya que desde el punto de vista morfológico todas las especies son indistinguibles,^[8] estas especies (también llamadas agentes etiológicos), son protozoarios intracelulares del género *Leishmania*, pertenecientes a diversos grupos que se denominan complejos, que causan al hombre cuadros clínicos más o menos característicos. El esquema de taxonomía de *Leishmania* (Fig. 3) se tomó del Informe de un Comité de Expertos de la OMS, 1990.^[9]

1.4 VECTORES



Fig. 4 *Lutzomyia*

Los vectores son los transmisores de la enfermedad, y son pequeños mosquitos pilosos que pertenecen a la familia *Psychodidae*.^[5]

Aunque existen más de 600 especies de flebótomos*, solo el 10% transmite las leishmaniasis. Sin embargo los dos géneros más conocidos como transmisores de la enfermedad son: *Phlebotomus* (encontradas en las regiones del Mediterráneo y el

Oriente Medio), y *Lutzomyia* (presente en el continente Americano). Estos mosquitos son pequeños y pilosos y tienen alas en forma de V. Solamente las hembras intervienen en la transmisión.^[10]

Enfermedad que se produce:

a: Leishmaniasis cutánea

a1: Leishmaniasis cutánea diseminada

b: Leishmaniasis mucocutánea

b1: Úlcera del chiclero

b2: La espundia

b3: El pian de los bosques

b4: Úlcera del bejuco

b5: La uta

c: Leishmaniasis visceral

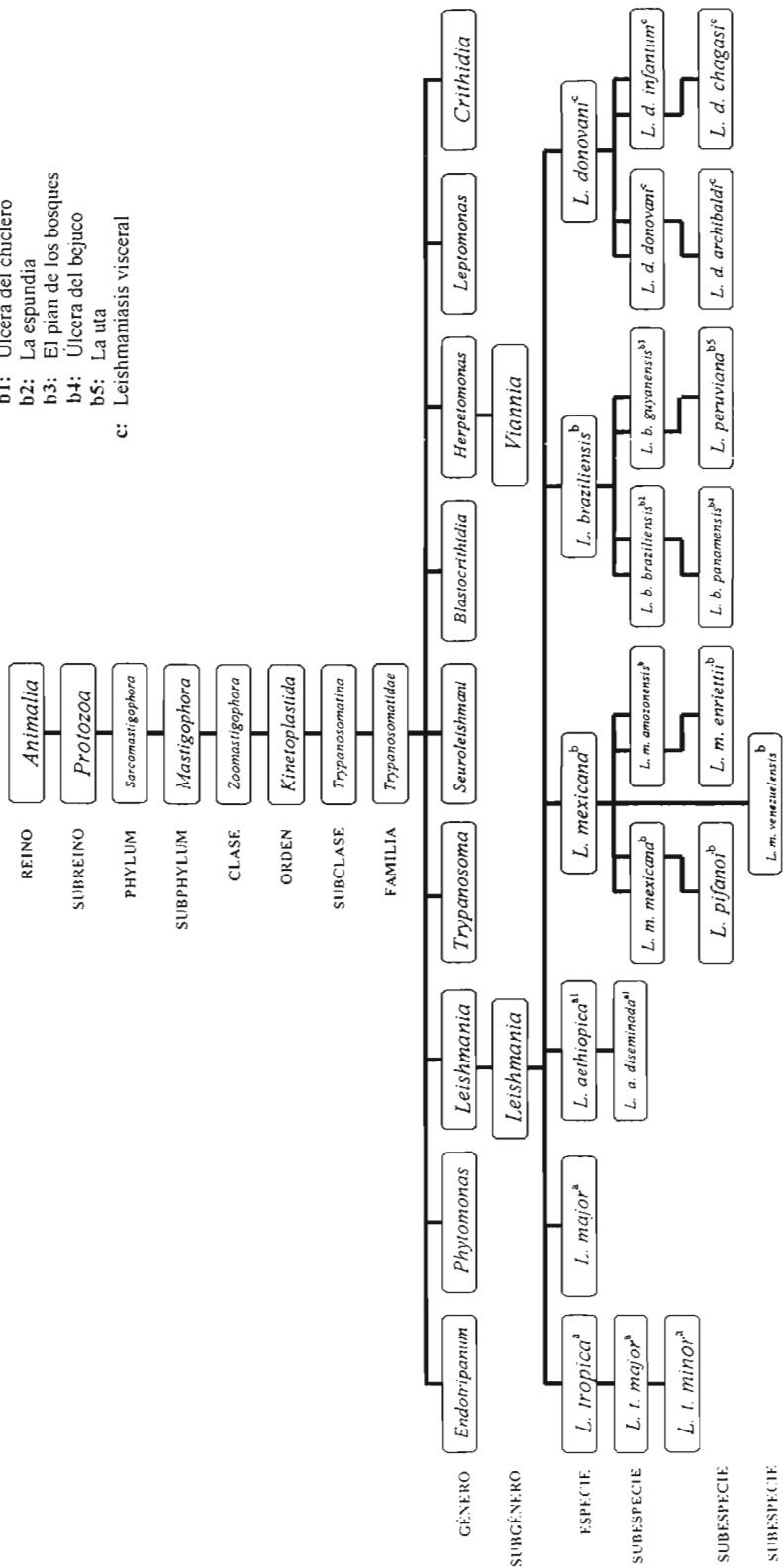


Fig. 3 Taxonomía de Leishmania

El género *Lutzomyia* (Fig. 4) se diferencia de *Phlebotomus* por poseer espículas* en el intestino medio. Este género es el único que transmite leishmaniasis al hombre en América y al que pertenecen al menos 16 especies involucradas en la transmisión.^[5]

En el ciclo de vida del vector, la hembra adulta del flebótomo pone de 40 a 70 huevos en cada ciclo de oviposición*. La larva pasa por diferentes fases de crecimiento hasta llegar a la pupa y finalmente a adulto. La duración del ciclo varía según la especie y la temperatura, por lo general es inferior a 45 días.^[9]

La mayoría de los flebótomos hembras necesitan una ingestión de sangre para producir huevos, aunque un número pequeño de vectores muestran un comportamiento autógeno*.^[9]

1.5 HUÉSPEDES RESERVORIOS

Los huéspedes reservorios son los animales (hombre, mamíferos y aves) que sirven de alojamiento al protozooario *Leishmania*, y le proporcionan nutrientes y reservas para poderse desarrollar.

Los huéspedes reservorios se clasifican en dos grandes grupos:

- ❖ De origen antroponótico: En donde el reservorio es el ser humano y el agente transmisor es el flebótomo; es una infección de transmisión interhumana sin la necesidad de la intervención de un reservorio animal.
- ❖ De origen zoonótico: En este caso el reservorio es un animal vertebrado de la selva, el agente transmisor es un flebótomo, el hombre es un huésped accidental, pues adquiere la infección cuando entra en las áreas de la selva por motivos de trabajo.^[3,9]

1.6.1.2 Especies

Como causantes de leishmaniasis cutánea se encuentran tres tipos de especies de *Leishmania*:

1. *L. tropica*
2. *L. major*
3. *L. aethiopica*

Las especies 1 y 2 causan una úlcera benigna que cura espontáneamente produciendo inmunidad prolongada. La especie 3 produce una infección más agresiva, en algunos individuos se observa metástasis provocando lesiones en las mucosas o pueden producir diseminación caracterizada por múltiples nódulos cutáneos que no ulceran.^[4]

1.6.1.3 Vectores.

Los transmisores más comunes para la especie *L. tropica* son: *Phlebotomus papatasi* (encontrado en las Antillas, Pakistán Occidental, Afganistán, los países mediterráneos, Etiopía y África Occidental), y *P. sergenti* (encontrado en Irán, Irak, Creta, Portugal, Argelia, Israel, Líbano, Siria, Turquía y Grecia). En Italia y Sicilia, el vector es *P. perfiliewi*; en Asia central, *P. caucasicus*, *P. longipes*, y *P. pedifer*.^[13]

1.6.1.4 Huéspedes reservorios.

El humano es el huésped reservorio de leishmaniasis cutánea que comúnmente se transmite de hombre a hombre a través del vector, pero también es posible la infección por contacto.

Entre los animales reservorios más comunes son: rata de arena, gerbil*, perro, hirácido*, tejón, ratas canguro, ardillas, lirones, puerco espines y el gran jerbo*.^[13]

1.6.1.5 Síntomas más frecuentes.



**Fig.6 Leishmaniasis cutánea,
Úlcera en una mano**

Para leishmaniasis cutánea el período de incubación oscila entre unos cuatro días y hasta seis meses. Al inicio aparecen pápulas superficiales de color púrpura, que evolucionan hasta una úlcera (Fig. 6), en la base de ésta aparece granulación.^[13]

Comúnmente la úlcera es sitio de infección bacteriana secundaria; después de un período de varias semanas se convierten en costras que secretan pus, al despegarse la costra, la superficie sangra con facilidad; la lesión suele sanar en un año aproximadamente dejando una cicatriz sin color y deformante.^[12,14]

En el caso de leishmaniasis cutánea diseminada se presentan los siguientes síntomas: la enfermedad comienza con la aparición de pápulas bien definidas que evolucionan lentamente hasta llegar a la formación de placas y nódulos, estas lesiones son al principio lisas, de consistencia firme y de color azulado, pero adquieren luego un aspecto descamativo y rugoso que no ulcera. Se presenta sobretodo en cara y piernas^[13]

En los animales las lesiones de la piel pueden ser múltiples y encontrarse en orejas, nuca y la base de la cola. Las lesiones se inician como nódulos y pueden carcomer parte de las orejas. La infección en estos animales incluye periodos de tiempo prolongados.^[3]

1.6.1.6. Diagnóstico

Cuando se sospecha de que una persona está infectada, se obtiene una muestra a partir de las lesiones activas de la piel. Existen varios métodos para lograrlo: mediante un simple raspado de la lesión con un pequeño escalpelo*, efectuando incisiones* de algunos milímetros, atravesando la epidermis hasta alcanzar la dermis y efectuar un raspado, obteniendo líquido tisular con células del tejido, aspirando con aguja o una biopsia* con aguja.^[9]

Con el material obtenido se preparan frotis* que se tiñen con colorante de Giemsa*. Al microscopio se observan los cinetoplastos distintivos con forma de bastón de las especies de *Leishmania*. Si la muestra se tiñe con Wright*-Giemsa el cinetoplasma se tiñe de azul, con un núcleo rojo grande excéntrico. La presencia de cinetoplastos rojos y pequeños es característica de las especies de *Leishmania*, que las distingue de otros agentes patológicos intracelulares con aspecto parecido.^[10]

Otra técnica útil para diagnosticar leishmaniasis cutánea es el cultivo, que permite el aislamiento e identificación del parásito y facilita su detección. Para este procedimiento debe obtenerse una cantidad de muestra suficiente, que se homogeniza en un solución salina y se siembra en un medio de cultivo en condiciones estériles. Los medios frecuentemente utilizados son los medios difásicos de agar sangre (medio de Novy, Nicolle y McNeal o NNN). El cultivo debe mantenerse a unos 25 °C. Cuando se efectúa el cultivo en el medio NNN hay que realizar resiembras cada 7 días, practicando al menos cuatro resiembras sucesivas antes de dar los resultados como negativos.^[3,13]

La inoculación* en animales de experimentación, realizados en hámsters dorados es de gran utilidad en el caso de cepas de difícil crecimiento o de inóculos contaminados, sin embargo, esta técnica requiere alrededor de 2 a 3 meses desde la inoculación para observar algún resultado positivo.^[3]

Así mismo se utiliza la prueba intradérmica de Montenegro que también es conocida como prueba de leishmanina, en la que se emplea una suspensión de promastigotes muertos de *Leishmania* con antígeno*, ésta se inyecta al paciente y resulta positiva cuando se produce una induración mayor a 5 mm de diámetro, en el sitio de la inyección de las 48 a las 72 horas.^[5]

1.6.1.7 Tratamiento

El fármaco de elección es el estibogluconato de sodio pentavalente (Fig. 7), en su presentación de Pentostam[®] y Solustibosan[®] que se administra a dosis de 600 mg/día hasta un total de 10 inyecciones.^[13]

Otro tratamiento posible es la inyección de 200 mg de clorhidrato de quinacrina (Fig. 7) (Atabrine[®]), disueltos en 5 mL de agua, alrededor de los bordes de la úlcera.^[13]

En Arabia Saudita se comprobó que la cicatrización de leishmaniasis cutánea se aceleraba con levamisol (Fig. 7), en dosis de 150 mg/día por vía oral, dos días por semana durante un periodo de 37 semanas.^[13]

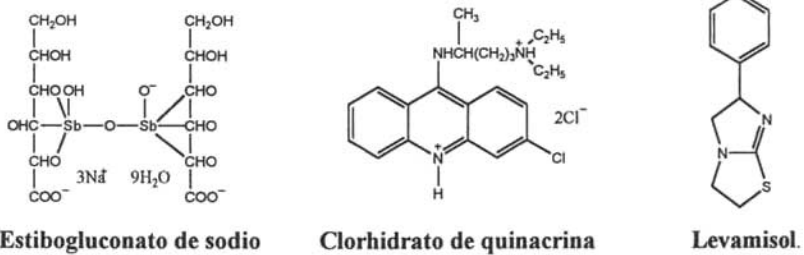


Fig. 7 Fármacos utilizados en el tratamiento de leishmaniasis cutánea

La leishmaniasis cutánea diseminada es resistente al tratamiento con antimoniales; el fármaco de elección es la anfotericina B (Fungizane, Fig. 8), si el paciente lo tolera, se administra en una solución de dextrosa al 5 % en concentración (1mg/10 mL), cada dosis se administra en un periodo de 6 horas. La tolerancia varía en cada persona. Son frecuentes las reacciones adversas en forma de fiebre, náuseas, anorexia, vómitos, dolor abdominal, cefalea*, diarrea y alteraciones renales, por tanto debe controlarse a diario los niveles de nitrógeno ureico y creatina en sangre y orina. Otra alternativa es administrar pentamidina (Fig. 8), con dosis de 200 mg/día en un total de 10 dosis.^[13]

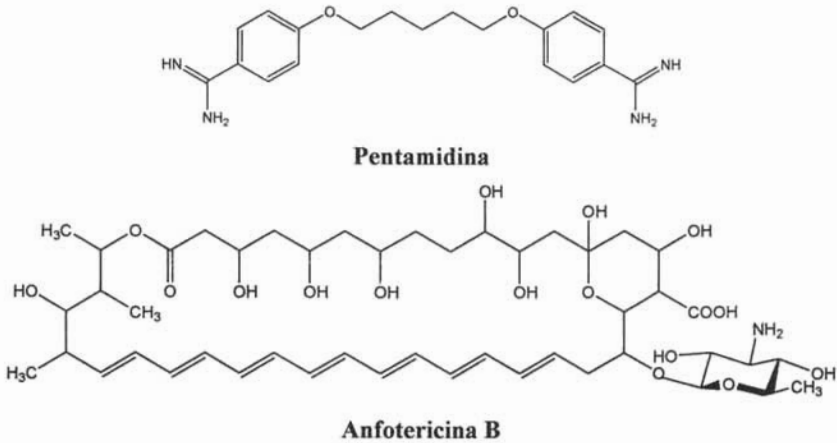


Fig. 8 Fármacos utilizados en leishmaniasis cutánea diseminada

1.6.2 LEISHMANIASIS MUCOCÚTANEA



Fig. 9 Distribución geográfica de leishmaniasis mucocutánea

1.6.2.1 Distribución geográfica.

La leishmaniasis mucocutánea se ha encontrado en varios países de América (Fig. 9): en Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Estados Unidos de América (Texas), Guatemala, Guayana Francesa, Guyana, Honduras, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam,

Venezuela y México en los estados de Veracruz, Tabasco, Oaxaca, Chiapas y Yucatán.^[9]

Los residentes en las zonas endémicas tienen nombres locales^[13] para algunas formas de la enfermedad.

1. Úlcera de los chicleros.
2. La Uta.
3. Pian de los bosques o Pian-bois.
4. Úlcera del Bejuco.
5. Espundia.

1.6.2.2 Especies

Las especies causantes de esta enfermedad son:

1. *L. mexicana*. Esta especie tiene a su vez varias subespecies: *L. m. mexicana* (responsable de la úlcera de los chicleros), *L. m. amazonensis*, *L. m. pifonai*, *L. enriettii*, *L. m. venezuelensis*.
2. *L. braziliensis*. Tiene cuatro subespecies: *L. b. braziliensis* (causante de la espundia), *L. b. guyanensis* (produce el pian de los bosques), *L. b. panamensis* (genera la úlcera del bejuco), *L. b. peruviana* (causante de la uta).^[13]

1.6.2.3 Vectores^[13]

Los vectores responsables de la transmisión de la leishmaniasis mucocutánea son las especies de *Lutzomyia* (*Lu*) particulares que se mencionan a continuación:

1. El vector habitual de la **úlcera de los chicleros** es *Lu. olmeca*, que se encuentra desde el sur de México (especialmente en Yucatán) hasta Guatemala y Belice.
 2. Los vectores de la **uta** son *Lu. verrucarum* y probablemente *Lu. peruensis*.
 3. El vector del **pian de los bosques** es *Lu. anduzei*.
 4. **Úlcera del bejuco**: la Leishmaniasis cutánea de Panamá es transmitida por *Lu. trapidoi*, *Lu. ylephiletor*, *Lu. gomezi* y *Lu. panamensis*.
 5. **La espundia** es transmitida en el norte de Brasil por *Lu. paraensis*, y en Venezuela y el sur de Brasil por *Lu. migonei*, *Lu. whitmani* y *Lu. anduzei*.
-

1.6.2.4 Huéspedes reservorios

El hombre se infecta de modo accidental por picadura de los flebótomos al penetrar en las áreas de la selva, habitat de los insectos.^[3]

En los animales los principales reservorios de infestación son un gran número de roedores que habitan en las regiones forestales de América del Sur, aunque también se han observado perros y zarigüeyas^[14]

1.6.2.5 Síntomas más frecuentes.^[3, 13]

Úlcera del chiclero. Esta enfermedad suele caracterizarse por la aparición de una sola lesión cutánea autolimitada, que puede ser pápula, un nódulo o una úlcera. Su evolución es lenta pero no supera los seis meses; sin embargo si la lesión es en la oreja se produce una destrucción importante del pabellón.



Fig. 10 Rostro desfigurado, frecuente en leishmaniasis mucocutánea

En el caso de la **espundia** los pacientes tienen problemas para alimentarse y sufren dolor al deglutir. Además aparecen metástasis en nasofaringe y laringe. Como este tipo de leishmaniasis es mutilante pueden destruirse el cartílago de la nariz y la laringe, pero no el hueso. Pueden afectarse los labios, faringe, tráquea, bronquios y esófago. La causa de muerte más frecuente es la neumonía* intercurrente debido al paso de secreciones infectadas al tracto respiratorio.

La **uta** produce lesiones ulcerosas cutáneas únicas, limitadas, no afectan mucosas y son de curación espontánea.

El **pian de los bosques** produce una lesión ulcerativa aislada que puede sufrir metástasis para producir varias úlceras localizadas sobre el torso y las extremidades. Si la picadura del flebótomo es cerca de la nariz aparecen lesiones nasofaríngeas. La curación espontánea es muy rara y las recaídas son frecuentes.

La **úlceras del bejuco** produce una o algunas úlceras profundas que pueden sufrir metástasis a través de los canales linfáticos hasta formar nódulos secundarios que no curan espontáneamente.

En los animales selváticos y los roedores se producen alteraciones en la piel, sobre todo en la base de la cola y en ocasiones en orejas y dedos; en otros animales, en la cuenca del Amazonas, la piel tiene apariencia normal y los parásitos están dispersos en la dermis.

En Venezuela se examinaron 22 perros, de los cuales 9 tenían lesiones ubicadas en el escroto*, nariz, oreja y extremidades. En esta región se examinaron 116 burros de los cuales 28 tenían una o más lesiones ulcerosas.

1.6.2.6 Diagnóstico

Las técnicas usadas para diagnosticar las especies de leishmaniasis mucocutánea son las mismas que se emplean para el caso de leishmaniasis cutánea (Ver sección 1.6.1.6) entre ellas se encuentran: la obtención de muestra de los bordes de la lesión y después la realización de frotis teñidos con Wright, la inoculación de animales de laboratorio y la prueba intradérmica de Montenegro.^[3, 5, 9, 10, 13]

1.6.2.7 Tratamiento^[13]

La **úlceras del chiclero** no suele necesitar tratamiento, ya que aparece por un corto plazo y es benigna, salvo cuando se localiza en el pabellón de la oreja, ya que si las lesiones son más persistentes y destructivas, deben tratarse con el pamoato de cicloguanilo (Camolar[®]), a dosis de 5 mg/Kg de peso corporal, en una suspensión de benzoato de bencilo (Fig. 11) al 40% y aceite de ricino al 60%, se inyecta al paciente y generalmente basta con una inyección.

1.6.3 LEISHMANIASIS VISCERAL



Fig. 12 Distribución geográfica de Leishmaniasis visceral.

1.6.3.1 Distribución geográfica.

La leishmaniasis visceral (Fig. 12) se encuentra en Arabia Saudita, Argelia, Argentina, Bangladesh, Bolivia, Brasil, Camerún, Colombia, Chad, China, Egipto, El Salvador, España, Francia, Gambia, Grecia, Guatemala, Honduras, Iraq, Israel,

Italia, Jordania, Líbano, Malta, Marruecos, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Portugal, República Árabe Siria, Irán, Senegal, Túnez, Turquía, URSS, Venezuela, Yemen y Yugoslavia. [9]

1.6.3.2 Especies

El agente etiológico es *L. donovani* y existen cuatro subespecies: *L. d. donovani*, *L. d. infantum*, *L. d. archibaldi*, *L. d. chagasi*. [4]

1.6.3.3 Vectores. [13]

Los vectores de la leishmaniasis visceral son los siguientes:

- ❖ **Asia:** *Phlebotomus argentipes*, *P. chinensis*, *P. chinensis longiductus*, *P. major syriacus* y *P. saheli*.
- ❖ **Oriente medio:** *P. papatasi*, *P. alexandri*, *P. perniciosus*, *P. sergenti*.
- ❖ **África:** *P. sergenti*, *P. longirioni orientalis*, *P. martini*, *P. longicuspis* y *P. longipes*.
- ❖ **Europa:** *P. perniciosus*, *P. major*, *P. papatasi*, *P. tobbi*, y *P. ariasi*.
- ❖ **Sudamérica:** *Lutzomyia intermedia*, *Lu. longipulpis* y *Lu. paraensis*.
- ❖ **América central.** *Lutzomyia cruciatus*.
- ❖ **México:** *Lutzomyia cruciatus*.

1.6.3.4 Huéspedes reservorios.

En la India el hombre es el principal reservorio, siendo más frecuente en ellos que en mujeres. La transmisión ocurre de uno a otro hombre a través del mosquito vector, y se realiza dentro de las casas, que constituyen microfocos de infección.

En América los reservorios animales son el perro, la rata, la ardilla terrestre y los cánidos silvestres. La infección se propaga entre los cánidos y de éstos al hombre por picaduras de insectos *Lutzomyia cruciatus*.

En el nordeste brasileño se conoce al zorro como huésped silvestre de leishmaniasis visceral. En el Medio Oriente, el chacal y el perro son los huéspedes y fuentes principales de infección para los flebótomos. [3]

1.6.3.5 Síntomas más frecuentes

Los parásitos que causan la leishmaniasis visceral tienen la capacidad de invadir el sistema reticuloendotelial de todo el cuerpo invadiendo el torrente sanguíneo, llegando a las vísceras, donde la *Leishmania* se multiplica con rapidez. [12]



Fig.13 Crecimiento de hígado, frecuente en leishmaniasis visceral

El periodo de incubación puede ser de apenas 10 días o prolongarse a más de un año, pero por lo general se limita de 2 a 4 meses. [13]

El comienzo de la leishmaniasis visceral puede ser inesperado, produciéndose diarrea y fiebre, así como tos, es posible que se observe oscurecimiento de la piel y otras alteraciones de la pigmentación cutánea en la frente, la boca, el tórax y las piernas. [8] También se presenta el aumento del bazo (esplenomegalia progresiva), y en algunas ocasiones dolor abdominal. Así mismo puede crecer el hígado (hepatomegalia, Fig. 13). [5]

Por su debilidad el paciente está expuesto a infecciones secundarias como estomatitis, infecciones pulmonares, complicaciones gastrointestinales.^[12]

En las infecciones más agudas, el paciente puede morir en un período de pocas semanas, en los casos no muy agudos en un año y en los crónicos en 2 o 3 años.^[5]

En algunos animales la evolución es crónica y muchos manifiestan anorexia, fiebre irregular, apatía, palidez de las mucosas. En algunos casos hay edemas* en distintas partes del cuerpo y hemorragias por las fosas nasales. En Brasil se ha observado perros muy parasitados con una sintomatología muy leve. Se puede encontrar animales con infecciones clínicamente inaparentes y otros casos muy graves y mortales.^[3]

1.6.3.6 Diagnóstico

En las zonas endémicas de la enfermedad puede sospecharse de una persona con fiebre persistente, irregular y a menudo con esplenomegalia*.^[12]

El diagnóstico consiste en hallar al parásito en sangre y tejidos periféricos como el hígado, bazo o médula ósea a través de biopsias.^[10]

El método más utilizado por su facilidad, seguridad de ejecución y sensibilidad es el aspirado de médula ósea* esternal, ya que se puede comprobar la presencia del parásito en 54 a 86 % de los casos. Otro método es la punción esplénica* que presenta resultados positivos (98 %), dada la localización preferencial de los parásitos en el bazo, sin embargo, se recurre a este procedimiento como último recurso por ser muy riesgoso, ya que para afectarse se requiere de personal especializado, para actuar con rapidez al introducir la aguja, haciendo que el eje de entrada sea el mismo que el de salida, con el fin de no desgarrar ningún órgano.^[3,9]

La prueba de gel con formol, es una técnica que consiste en añadir una o dos gotas de formol al 40 % en 0.5 o 1 mL de suero del paciente, después de mezclar se deja reposar durante 20 minutos, si la persona está enferma, el suero se forma en gel y se vuelve opaco (la prueba se basa en la formación de gel de una cantidad aumentada de globulinas*).^[15]

También para este tipo de leishmaniasis se utiliza el xenodiagnóstico, que consiste en dejar que flebótomos no contaminados procedentes de una colonia de laboratorio piquen e ingieran sangre de un paciente; después de unos días se disecciona el mosquito y se observa la posible presencia de *Leishmania* en el tubo digestivo, esta prueba tiene alta sensibilidad, aunque es difícil conseguir las colonias de laboratorio de especies de flebótomos susceptibles a la especie de *Leishmania* que se encuentre en esa zona geográfica.^[16]

1.6.3.7 Tratamiento

Los pacientes deben descansar en cama durante la fase aguda, recibiendo una alimentación equilibrada, rica en proteínas y vitaminas, se administra tratamiento auxiliar con sulfas y antibióticos en caso de infecciones secundarias (bronconeumonía, diarrea).

La quimioterapia general es a base de antimonio y diamidinas aromáticas. Los compuestos de antimonio pentavalente como estibogluconato de sodio (Fig. 7) 600 mg diarios durante 6 o 10 días por vía intramuscular o intravenosa. Si fracasa en antimonio se prefiere pentamidina (Fig. 8) a razón de 2 a 4 mg/Kg por vía intramuscular cada día, hasta un máximo de 15 dosis.^[12]

1.7 FÁRMACOS ALTERNATIVOS USADOS PARA EL TRATAMIENTO DE LOS DIFERENTES TIPOS DE LEISHMANIASIS.

Otros fármacos alternativos empleados en la terapia sistemática de la leishmaniasis visceral y/o cutánea incluyen la hidroxistilbamina, el alupirinol, el ketoconazol y el itraconazol.^[111] a continuación se presentan las estructuras químicas de cada uno de ellos:

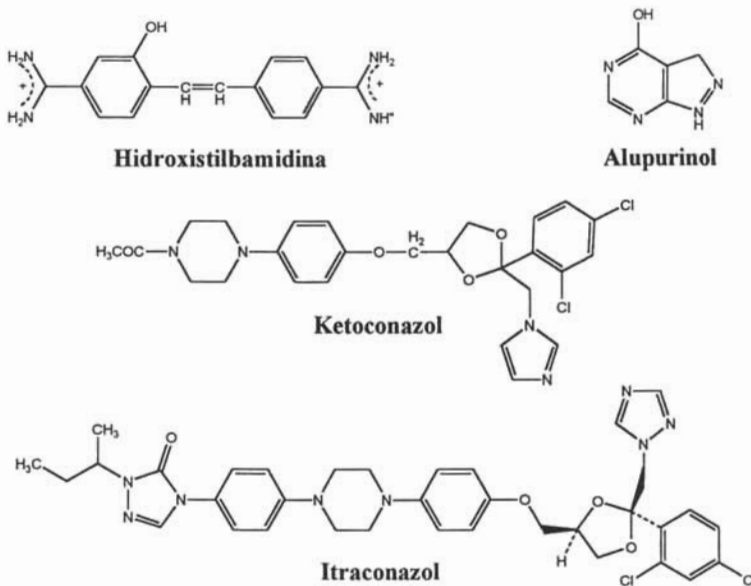


Fig. 14 Fármacos alternativos de leishmaniasis visceral y leishmaniasis cutánea

Además en la leishmaniasis cutánea también se ha utilizado la administración sistemática de nifurtimox, dehidroemetina, rifampicina junto con isoniazida, metronidazol, cotrimazol y dapsona; sin embargo la eficacia de estos fármacos no está del todo probada.^[111] En la Fig. 15 se muestran las estructuras de algunos de estos fármacos:

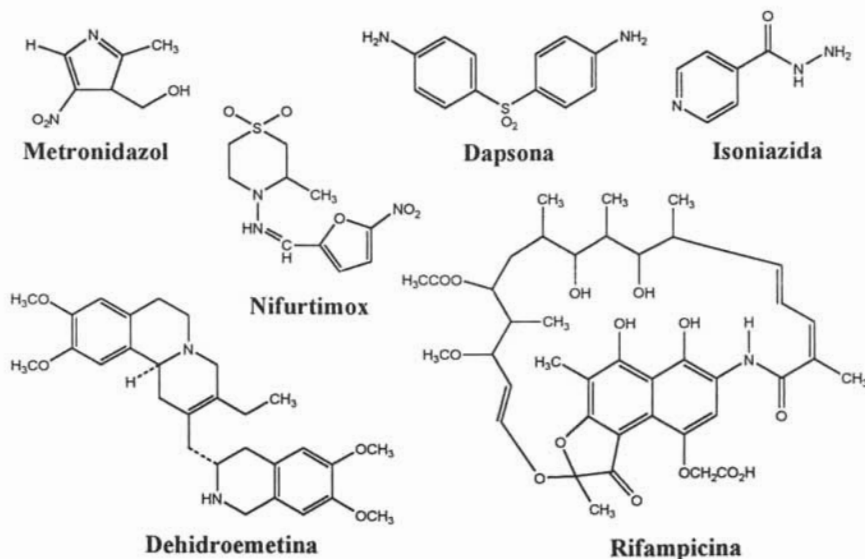


Fig. 15 Algunos fármacos usados en el tratamiento de Leishmaniasis cutánea.

1.8 LAS QUINONAS

1.8.1 LAS QUINONAS EN LA NATURALEZA

Para el tratamiento de los diferentes tipos de leishmaniasis en los últimos 50 años se han usado compuestos como el estibogluconato de sodio, la pentamidina y la anfotericina B (Fig. 7 y 8). Estos medicamentos son efectivos, pero tienen varias desventajas: la administración de dosis altas, una duración larga de la terapia (varias semanas), una eficacia variable,^[17] los altos precios que las hacen inasequibles para la población que padece la enfermedad,^[18] los efectos secundarios renales, cardíacos, y que en algunos pacientes producen shock, pancreatitis y riesgo de diabetes.^[19]

En la lucha por encontrar otras alternativas para mejorar tales resultados se han propuesto varias opciones, entre ellas las quinonas.

Las quinonas son compuestos que tienen dos grupos cetona conjugadas en un ciclo (Fig. 16). Una quinona se caracteriza por la presencia de dobles enlaces en el anillo en lugar del sistema conjugado de enlaces dobles y sencillos, entre los carbonos.

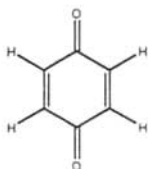
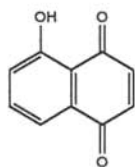
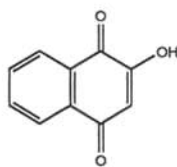


Fig. 16 Estructura general de quinona

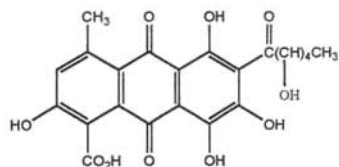
En la naturaleza se encuentran varias quinonas coloridas presentes en diferentes familias de plantas, tal como la juglona, la lawsona o el ácido carmínico.^[20]



Juglona



Lawsona



Ácido carmínico

Fig. 17 Algunas de las quinonas encontradas en la naturaleza

También se puede encontrar a la vitamina K, que es útil par la coagulación de la sangre. Su acción previene las hemorragias internas. Existen dos variantes naturales, la K₁ (Fig. 18), proviene de vegetales de hoja verde oscura (espinacas, lechuga, coliflor), el hígado y los aceites vegetales (maíz y girasol), también en alfalfa, jitomates, cereales integrales (germen de trigo) y el hígado de cerdo. La K₂ es producida por las bacterias intestinales (Fig. 18).^[21, 22]

La K_3 o menadiona (Fig. 18) es una variante sintética de las K_1 y K_2 que carece de una cadena larga lateral, pero que duplica el poder de las anteriores, la K_3 se receta a personas que no pueden metabolizar adecuadamente las naturales.^[21, 22]

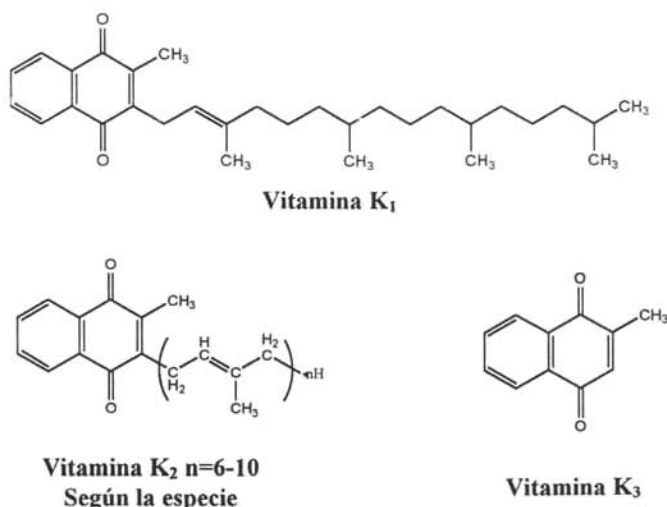


Fig. 18 Estructuras de la vitamina K

Las cáscaras de la nuez contienen un derivado naftalénico trihidroxilado, el cual sufre una oxidación al aire para dar una naftoquinona similar, llamada juglona.^[23]



Fig. 19 Quinona encontrada en la cáscara de la nuez

1.8.2 Las quinonas en los procesos oxidativos de la célula

En las mitocondrias de los organismos vivos se llevan a cabo procesos oxidativos que son útiles a la célula y en los que intervienen sustancias que transportan iones hidrógeno y electrones entre un sustrato y el oxígeno, pasando alternativamente de la forma oxidada a la reducida y viceversa, recuperando la estructura inicial y pudiendo reaccionar otra vez. Así mismo en estos procesos participan ciertas enzimas que catalizan las reacciones bioquímicas del organismo, que para ser activas necesitan de una coenzima que actúe como transportadora intermediaria de grupos funcionales, de átomos específicos o de electrones. Cuando una enzima está ligada a una coenzima nucleótido de nicotinamida como NAD^+ se le llama deshidrogenasa que tiene la capacidad de oxidar sustratos, mientras que una enzima unida a la coenzima NADPH^* reduce sustratos y se le llama reductasa.^[21, 24]

Las anteriores enzimas están presentes en los procesos de glucólisis* y el ciclo de Krebs* de donde se producen electrones y protones que son transferidos a la coenzima NAD^+ (Fig. 20), generando NADH reducido, que se encarga de transportar los e^- y H^+ a la mitocondria; los e^- son llevados hasta los complejos enzimáticos unidos a la membrana de la mitocondria, que son una serie de transportadores de electrones con un potencial de reducción sucesivamente creciente.^[21, 25]

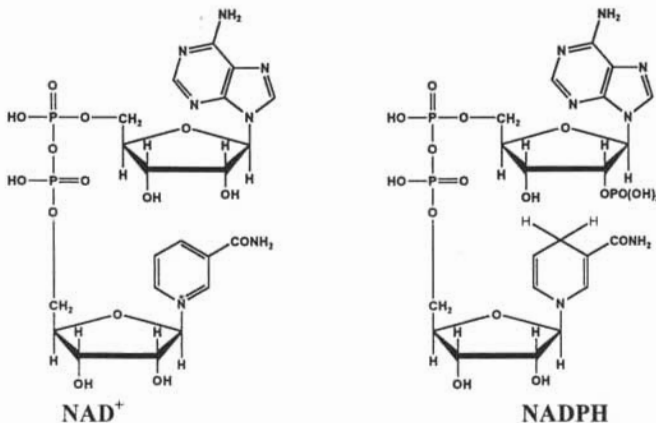


Fig. 20 Coenzimas que actúan en los procesos oxidativos.

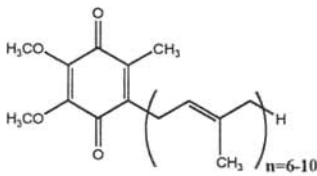


Fig. 21 Coenzima Q o Ubiquinona

Uno de estos transportadores de electrones es la coenzima Q conocida también como ubiquinona (Fig. 21),^[17] que contiene una larga cadena lateral isoprenoide que la hace liposoluble, con la facilidad de transportarse en el interior de la membrana.^[21]

La ubiquinona puede aceptar un e^- transformándose en el anión radical ubisemiquinona, o dos e^- formando ubiquinol, de esta manera la reducción completa de la ubiquinona requiere dos electrones y dos protones produciéndose en dos pasos.^[21, 25]

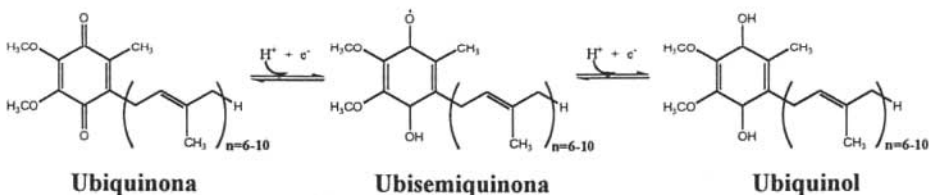


Fig. 22 Reducción de la ubiquinona

La coenzima Q se considera como un punto que concentra electrones y los transfiere a los siguientes complejos a través de reacciones de oxido-reducción hasta el O_2 como último aceptor de estos electrones que al recibirlos se combina con los protones del medio para formar agua.^[25]

Sin embargo, durante el metabolismo oxidativo se pueden generar especies de oxígeno que son muy reactivas y por tanto, pueden ser tóxicas. El oxígeno molecular no puede aceptar más de un electrón cada vez, por lo que la transferencia de electrones se produce en pasos sucesivos; así la reducción de O_2 por un electrón produce un anión radical superóxido (O_2^- Fig. 23), la adición de un segundo electrón produce peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y un tercer electrón genera un anión radical hidróxilo (OH^-) y un ion hidróxido (OH^-).^[25]

A continuación se presentan las especies formadas:

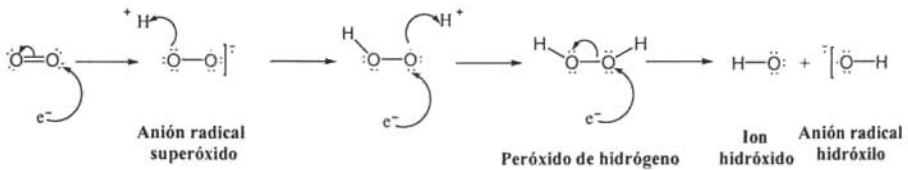


Fig. 23 Especies tóxicas formadas a partir del oxígeno

La producción de especies reactivas de oxígeno pueden conducir a la muerte de la célula, ya que las membranas pueden sufrir daños que consisten en una oxidación de lípidos, se cree que las proteínas con una lesión oxidativa contribuyen a producir un envejecimiento celular.^[25]

Las células tienen varios mecanismos de defensa para protegerse del daño oxidativo; entre ellos se cuenta con la producción de enzimas con capacidad antioxidante como la superóxido dismutasa*, la catalasa* y la glutatión peroxidasa*, como una primera barrera frente a la producción de radicales libres.^[21, 25]

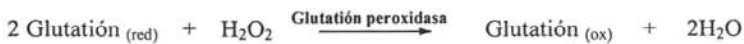
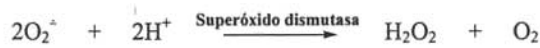


Fig. 24 Reacciones en las que intervienen las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa

Otro mecanismo de defensa con capacidad antioxidante son los elementos que provienen de la dieta como la vitamina E (Fig. 25), la vitamina C, los betacarotenos, los polifenoles y los oligoelementos.^[25]

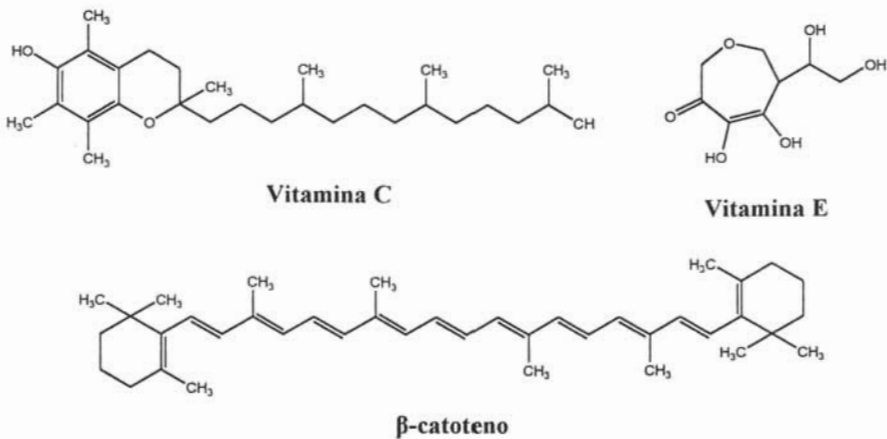


Fig. 25 Algunos antioxidantes obtenidos de los alimentos.

1.8.3 Deficiencia de enzimas de *Leishmania*

Se ha comprobado que *Leishmania* tiene deficiencia en las enzimas catalasa y glutatión peroxidasa como lo demostró el experimento realizado por Murray y sus colaboradores^[26], quienes encontraron que los promastigotes de *Leishmania tropica* y *Leishmania donovani* son muy sensibles a bajas concentraciones de H_2O_2 , al punto de inhibir su crecimiento o causarles la muerte; dicha susceptibilidad se debe a los bajos niveles de enzimas catalasa y glutatión peroxidasa que tienen las especies de *Leishmania*.

Por su parte, Docampo, R. y Stoppani, A. O. M.^[27], hicieron un estudio acerca del efecto que tiene Nifurtimox en presencia de la forma epimastigote* de *Trypanosoma cruzi* (agente causal de la enfermedad de Chagas).

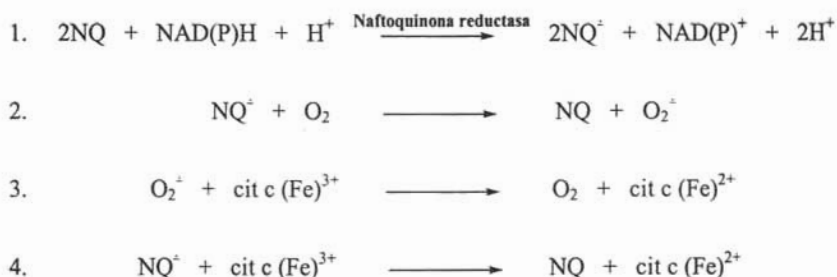
Ellos encontraron que cuando se adiciona Nifurtimox a los epimastigotes de *T. cruzi*, hay un incremento en la producción de O_2^+ y H_2O_2 . Esto se debe a que el Nifurtimox acelera el consumo de oxígeno provocando un desequilibrio en la cadena oxidativa, llegando así a la formación de H_2O_2 que se libera al medio.

Así mismo, estos investigadores mencionan que la adición de Nifurtimox y NADPH a un medio donde hay epimastigotes de *T. cruzi* estimula doblemente la producción de $O_2^{\cdot -}$, inhibiendo el crecimiento del parásito.

1.8.4 Mecanismo de acción de las quinonas

Goulart, M. O. F. *et. al.*^[28] menciona que la generación de especies de oxígeno activas a través del ciclo redox es el mecanismo por el que varias naftoquinonas naturales y sintéticas exhiben actividad antiprotozoaria. Este mecanismo de acción requiere la bio-reducción de las quinonas como el primer paso de activación, aunque es aún una materia en debate si la especie activa es el anión radical semiquinona o la hidroquinona formada por uno o dos electrones transferidos respectivamente.

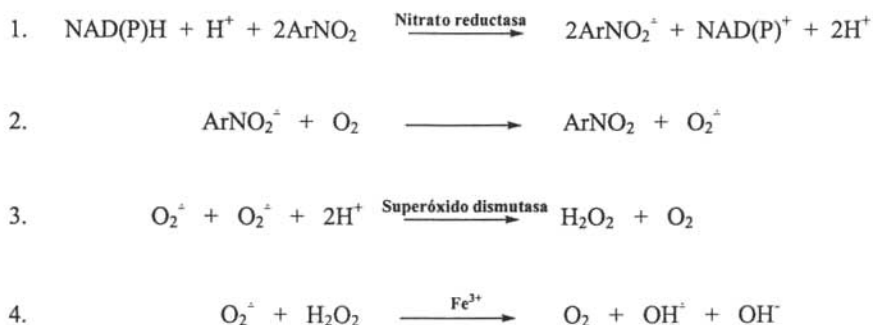
Laurence, S.-C.^[30] y sus colaboradores propusieron el siguiente mecanismo de acción de las naftoquinonas dentro de un organismo vivo.



En el anterior mecanismo se propone que la enzima naftoquinona reductasa ligada a la coenzima NAD(P)H reduce a la naftoquinona al anión radical semiquinona, que después reacciona con el oxígeno del medio, para producir el anión radical superóxido. Posteriormente se muestra que a través de reacciones oxido-reducción se regenera el oxígeno molecular y la naftoquinona. En esta propuesta se observa únicamente la producción de la especie tóxica anión radical superóxido.

Por su lado, Ribeiro-Rodrigues *et. al.*^[29] propone que el mecanismo de acción de los derivados de las naftoquinonas implica que el parásito absorba tales compuestos y que ya dentro de ellos se lleve a cabo una reducción a semiquinonas, que son capaces de reducir el oxígeno molecular al anión radical superóxido y a peróxido de hidrógeno formando radicales hidróxilo que son causantes del daño a la membrana plasmática y la inhibición de caminos biosintéticos de las células del parásito.

Docampo, R. y Stoppani, A. O. M.^[27] presentan un mecanismo de acción en el que se propone cómo se generan otras especies tóxicas de oxígeno cuando a un cultivo de epimastigotes de *T. cruzi* se adiciona un compuesto derivado del nitrofurano. A continuación se presenta este mecanismo:



En este mecanismo además de formarse el anión superóxido $\text{O}_2^{\cdot -}$, también se forman otras especies tóxicas como H_2O_2 , OH^{\cdot} y OH^- , Murray H. W.^[26] menciona que H_2O_2 es la especie que puede causar mayor daño al protozooario *Leishmania* por no tener las suficientes enzimas degradadoras de tal especie tóxica.

El mecanismo propuesto por Laurence S.-C.^[30] fue para el caso del protozooario *Leishmania* y el presentado por Docampo R. y Stoppani A. O. M.^[27] para el protozooario *T. cruzi*; ambos parásitos pertenecen a la misma familia: *Trypanosomatidae* (Fig. 3), y que tienen metabolitos parecidos; por lo tanto la inhibición de su crecimiento es parecida

cuando se aplican compuestos como las naftoquinonas y los nitrofuranos, que presentan propiedades redox que los hace capaces de aceptar electrones y generar especies reactivas de oxígeno dentro de la cadena respiratoria.^[31]

Con estos antecedentes se puede decir que la célula humana tiene ventajas en comparación con el protozooario *Leishmania*, ya que durante el proceso oxidativo se producen especies tóxicas de oxígeno, que el organismo humano es capaz de combatir produciendo especies antioxidantes tales como las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, como mecanismo de defensa para evitar el daño oxidativo de tales especies.

1.8.5 Quinonas con actividad leishmanicida

En los últimos años se ha encontrado algunos reportes^[31,32,33,34] en los que las quinonas han tenido buena actividad contra los protozoarios *Leishmania* y *T. cruzi*. A continuación se presentan algunas referencias en las que se mencionan experimentos *in vitro* que resultan una buena vía para proponer a estos compuestos como posibles leishmanicidas:

Aldunate, J. *et. al.*^[35] estudiaron la actividad de algunos compuestos fenólicos de los grupos hidroquinonas (hidroquinona, t-butilhidroquinona, 2,5-di-t-butilhidroquinona) en epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*. Ellos encontraron que todas las hidroquinonas estudiadas bloquean la cadena transportadora de electrones mitocondrial antes del citocromo b, inhibiendo el crecimiento del cultivo así como el consumo de oxígeno.

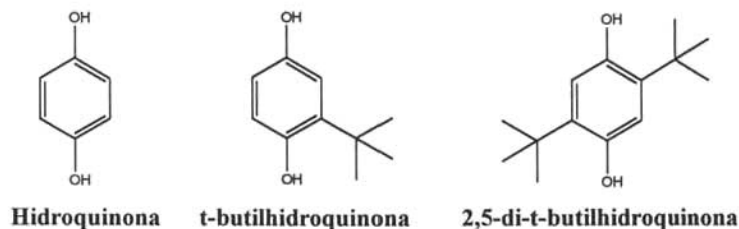
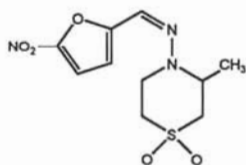


Fig. 26 Compuestos estudiados por Aldunete

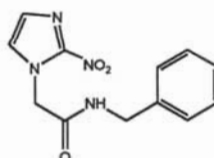
Por su parte Ribeiro-Rodrigues, R. *et. al.* ^[29] hacen un estudio de actividades *in vitro* de varias naftoquinonas naturales y sintéticas en presencia de tres especies de *T. cruzi* comparando contra los medicamentos Nifurtimox y Beznidazol, que manifiestan alta eficiencia contra *T. cruzi* aunque presentan varios efectos colaterales.

De esta comparación se encontró que tres compuestos derivados de las quinonas (2-(1-hidroxi-etil)-6-metoxi-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-metoxi-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona y nafto[1,2-b]furan-4,5-diona) inhiben el crecimiento al 100%, al igual que los compuestos de referencia Nifurtimox y Beznidazol.

Compuestos de referencia:

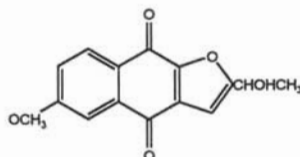


Nifurtimox

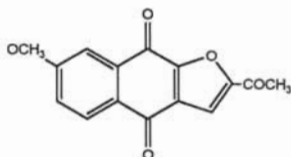


Beznidazol

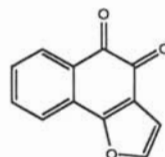
Compuestos derivados de quinonas:



2-(1-hidroxi-etil)-6-metoxi-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona



2-acetil-7-metoxi-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona



Nafto[1,2-b]furan-4,5-diona

Fig. 27 Quinonas que inhiben el crecimiento de *T. cruzi*, propuestas por Ribeiro-Rodrigues.

Croft S. L. y sus colaboradores^[31] examinaron una serie de compuestos (entre ellos algunas quinonas) contra amastigotes de *L. donovani* y *L. mexicana amazonensis in vitro*.

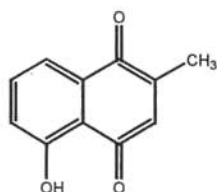


Fig. 28 Plumbagina

Los resultados mostraron que de las naftoquinonas analizadas solo la plumbagina mostró marcada actividad contra los amastigotes de ambas especies de *Leishmania*. Estos resultados dieron pie a que se realizara un experimento *in vivo* tratando algunos ratones infectados con *L. donovani* y *L. m. amazonensis*, aplicando una dosis de 16 mg/Kg peso de plumbagina, inyectada subcutáneamente durante 5 días. Los amastigotes de *L. m. amazonensis* disminuyeron 24%; sin embargo, a ese mismo lote de ratones les aplicaron una dosis de plumbagina por 15 días y se observó que los amastigotes disminuyeron hasta 81%, además algunas ulceraciones desaparecieron completamente.

Teixeira, M. J. *et al.*^[19] evaluaron *in vitro* la actividad antileishmanicida de 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona (Lapachol) y de Pentostam[®] contra amastigotes de

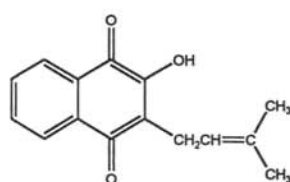


Fig. 29 Lapachol

Leishmania (Vannia) braziliensis (LVb) y también infectaron 32 hamsters con promastigotes de LVb. A un grupo de 8 hámsters se les administró Lapachol, de forma oral. A otro grupo de 8 ratones se les suministró Pentostam[®] intramuscularmente; a un tercer grupo también de 8 ratones se administró intramuscularmente Lapachol + Pentostam[®] y el cuarto grupo de 8 ratones fue el de control, al que no se le administró ningún fármaco.

Los autores determinaron que Lapachol mostró actividad anti-amastigote *in vitro* 79-89% contra LVb, mientras que Pentostam[®] muestra una actividad inhibitoria solo de 60-74% contra LVb. Mientras que en el experimento *in vivo* el grupo de Lapachol + Pentostam[®] presenta el 98.9% de reducción en la medida de la lesión, el grupo de Pentostam[®] redujo 83.2% y el grupo de Lapachol solo el 6%. Ellos también encontraron que las naftoquinonas (Lapachol y β -lapachol) bloquean la respiración celular, generando radicales libres que interfieren en el metabolismo del oxígeno de la célula del protozoo.

En la región tropical de Bolivia, la leishmaniasis cutánea es conocida como espundia, los indígenas Chimanos de este lugar aplicaron empíricamente el cataplasma de tallo fresco de *Pera benensis* directamente sobre la lesión, después ellos observaron que se produce una inflamación y la herida desaparece lentamente.

Con estas observaciones Fournet, A. y sus colaboradores^[18] se dieron a la tarea de aislar del tallo de la raíz de *Pera benensis* compuestos activos contra *Leishmania* y *T. cruzi*. Ellos encontraron los siguientes compuestos: plumbagina, 3,3'-biplumbagina, 8,8'-biplumbagina, que fueron analizados por técnicas espectroscópicas.

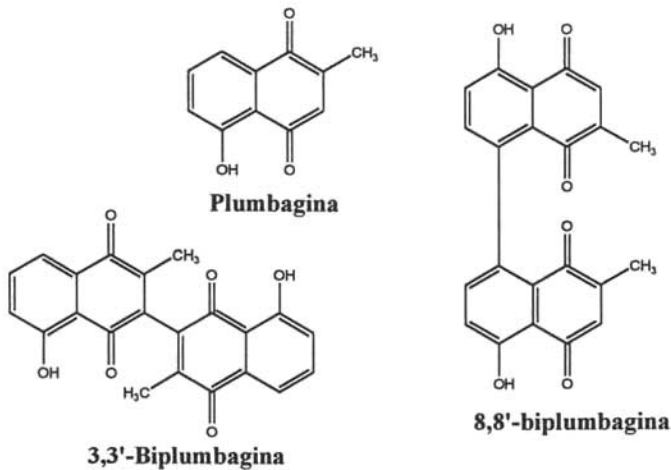


Fig. 30 Compuestos que tienen actividad leishmanicida, propuestos por Fournet, A.

Estos compuestos presentan actividad antileishmanicida contra amastigotes de *L. amazonensis*: con plumbagina sobrevive solo el 16.5 % de los parásitos a una concentración de 10 µg/mL; además la plumbagina presenta un CL₉₀ de 5 µg/mL. Por su parte con 3,3'-biplumbagina sobrevive el 85 % de los parásitos a una concentración de 50 µg/mL y con el compuesto 8,8'-biplumbagina sobrevive el 82 %, a una concentración de 5 µg/mL.

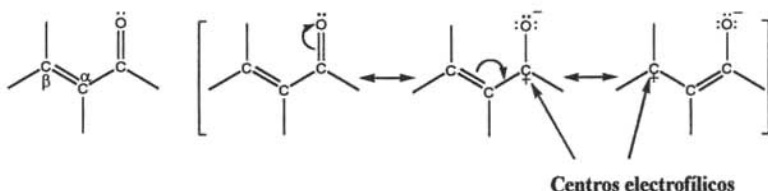
Con las anteriores investigaciones, se propone continuar con el estudio de los compuestos derivados de las quinonas ya que pueden representar alternativas como fármacos leishmanicidas.

A continuación se plantean las reacciones químicas que se emplearon en las síntesis de los compuestos llevados a cabo en este trabajo:

1.9 MECANISMO DE REACCIÓN

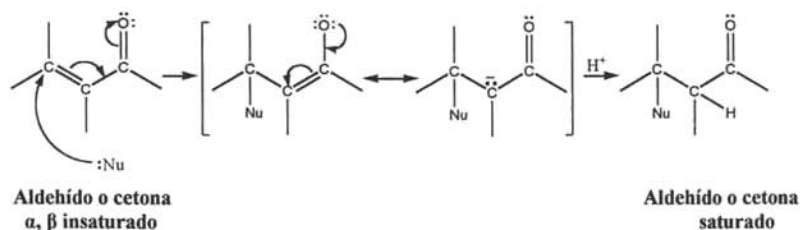
1.9.1 Adición conjugada

Los compuestos carbonílicos α , β -insaturados tienen dos centros electrofílicos: el carbono del carbonilo y el átomo de carbono β con respecto a él. ^[36]

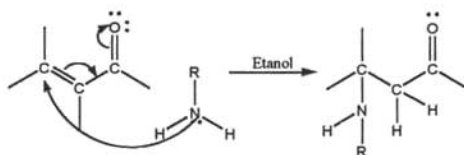


El átomo de oxígeno del carbonilo α , β -insaturado atrae electrones del doble enlace, lo que hace al carbono β más pobre en electrones y considerablemente más electrofílico que un carbono típico de alqueno. ^[37]

La adición 1,2 ocurre directamente sobre el grupo carbonilo. La adición 1,4 (también llamada adición conjugada) tiene lugar en un primer paso en el doble enlace $C=C$ donde el nucleófilo queda unido al carbono β , dando lugar a un ión enolato como intermediario, que se protona en el carbono α para dar el producto saturado. ^[37]



Si se emplean como nucleófilos aminas primarias y secundarias, se adicionan a los aldehídos y las cetonas α,β -insaturadas. La reacción procede bajo control termodinámico.^[37]



1.9.2 Propuesta de mecanismo de reacción

Con esta información, se propone el siguiente mecanismo de reacción, en el que se lleva a cabo una adición 1,4 del grupo R-bencilamino en la posición 3 del compuesto 2-metil-1,4-naftoquinona.

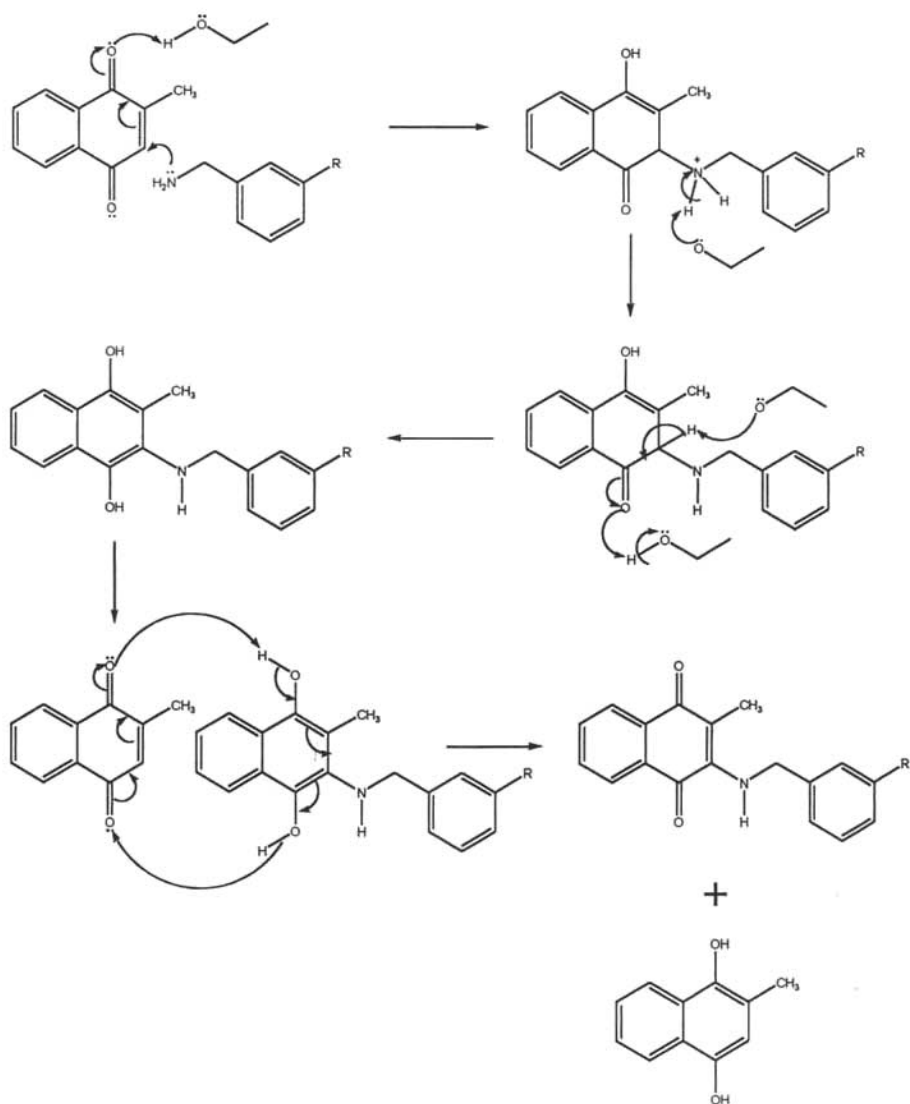


Fig.31 Mecanismo de acción propuesto para la formación de los compuestos 2-metil-3-(3-R-bencilamino)-1,4-naftoquinona

Este mecanismo propone la formación de una hidroquinona sustituida que después reacciona con otra molécula de 2-metil-1,4-naftoquinona, para reoxidarse generando una molécula 2-metil-3-(R-bencilamino)-1,4-naftoquinona y otra naftohidroquinona como subproducto.^[38]

1.10 DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD MEDIANTE UN PRUEBA BIOLÓGICA

1.10.1 *Artemia salina* ^[39, 40]



Fig. 32 *Artemia salina*

Artemia salina (Fig. 32) es un crustáceo primitivo que pertenece al orden *Anostraca*, subclase *Bronchiopoda*, y se encuentra distribuido en los depósitos de aguas salinas del mundo, de donde se obtienen los huevos, que son colectados y deshidratados para un posterior almacenamiento.

Cuando son necesarias las larvas basta con ponerlos en condiciones favorables de salinidad, temperatura, oxigenación, pH e iluminación para que en unas cuantas horas continúe el crecimiento y desarrollo del organismo.

El embrión emerge de la cáscara del huevo, muy pronto se desarrollan antenas y mandíbulas que rompen la membrana de incubación y se convierte en una larva de libre movimiento, ésta es de color rojizo, con tres pares de apéndices, antena y mandíbulas. Se conocen cerca de 15 estados de crecimiento de la larva.

En estudios toxicológicos se han utilizado todos los estados de vida del crustáceo, siendo el más común el de 24 a 48 horas de incubación que se conoce como la fase nauplii.

1.10.2 Prueba biológica frente a *Artemia salina*

Muchas sustancias químicas pueden dañar débil o severamente a la célula o producir efectos letales a algunas funciones celulares.

En el campo de la investigación se han desarrollado experimentos *in vitro* que permiten evaluar estos efectos tóxicos.

Una alternativa para determinar la toxicidad de sustancias químicas es el uso de la prueba sobre *Artemia salina*. Este experimento es rápido, simple, barato y reproducible; estas propiedades del ensayo se deben a que los huevecillos son fáciles de conseguir; el crecimiento de la larva es rápido y el manejo de la población de larvas en condiciones de laboratorio son relativamente sencillos. Todo esto hace que el ensayo biológico de *Artemia salina* sea una buena opción para la evaluación rápida de la toxicidad de un gran número de compuestos en un periodo de tiempo corto.^[40]

Apoyándonos en la técnica de Reed-Muench^[40] quien asume que un animal de prueba que sobrevive a ciertas dosis debería también sobrevivir a dosis más bajas e inversamente que el animal de prueba que muere a cierta dosis debe morir a dosis más altas en este experimento se hace la evaluación de la toxicidad de una sustancia dada a cierta concentración, determinando la cantidad de *Artemias* (fase nauplii) que sobreviven y mueren después de estar en contacto 24 horas con el compuesto, usando como criterio la cantidad de *Artemias* vivas y muertas.

Posteriormente se hace un tratamiento estadístico donde se determina la concentración letal media CL_{50} , que indica la cantidad de sustancia que matará al 50 % de los crustáceos, mientras que el otro 50 % sobrevivirá.^[41]

2. HIPÓTESIS

Existe en la literatura diversos reportes ^[17, 19, 42] que describen que el grupo quinona presentan varias actividades biológicas; así, se han descrito como antiinflamatorios, bactericidas, fungicidas, antivirales, antitumorales, antimicrobiales, antimalariales y antimicrobianas.

Varios autores^[17, 19, 31] consideran que esta actividad está relacionada con sus propiedades redox, dado que se ha encontrado que las quinonas pueden funcionar como acarreadores de electrones en los procesos oxidativos celulares, ya que éstas al aceptar un electrón dan lugar al anión radical semiquinona que es un intermediario inestable que reacciona rápidamente con el oxígeno molecular generando radicales libres en forma sucesiva $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot} , estas especies causan daños a la membranas de la células.

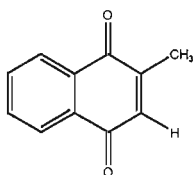
Se ha demostrado que las quinonas pueden inhibir el crecimiento del protozooario *Leishmania*, ya que dicho parásito es deficiente en enzimas reductoras que degradan tales especies, como la catalasa y glutatión peroxidasa.

Con esta información se propone la hipótesis siguiente: si las quinonas tienen la capacidad de producir especies reactivas de oxígeno que pueden afectar a la membrana de la célula, llegando a provocar su muerte, entonces se espera que tales especies tóxicas dañen preferentemente al protozooario, dada su deficiencia en enzimas reductoras, mientras que el sistema inmunológico de los humanos tiene la ventaja de producirlas y combatir así los efectos dañinos de dichas especies tóxicas de oxígeno.

La finalidad de este trabajo consiste en realizar la síntesis de compuestos derivados de la quinona 2-metil-1,4-naftoquinona y se espera que en un futuro muy próximo se evalúen frente alguna especie de *Leishmania* para determinar su actividad leishmanicida, si es que la tienen.

3. OBJETIVOS

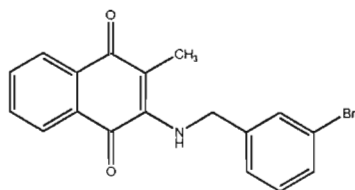
- ❖ Sintetizar siete compuestos derivados de 2-metil-1,4-naftoquinona, sustituyendo en la posición tres el grupo 3-R-bencilamino. Los compuestos propuestos se mencionan a continuación:



2-metil-1,4-naftoquinona

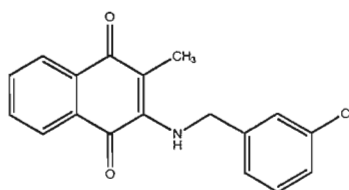
Materia prima.

3. Objetivos



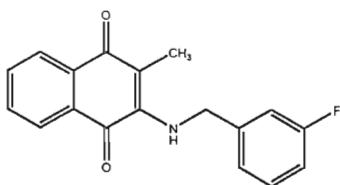
I

3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



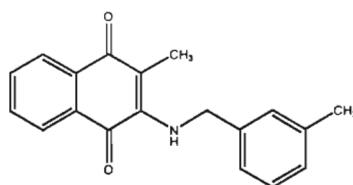
II

3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



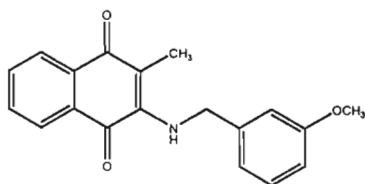
III

3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



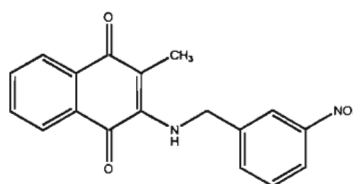
IV

2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona



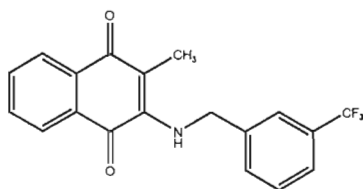
V

2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona



VI

2-metil-3-(3-nitrobencilamino)-1,4-naftoquinona



VII

2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona

- ❖ Caracterizar cada uno de los compuestos sintetizados, por las técnicas espectroscópicas de infrarrojo, masas, ultravioleta, resonancia magnética de protón y de carbono 13.
- ❖ Estimar la actividad larvicida de los siete compuestos sintetizados frente a *Artemia salina*.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 REACTIVOS Y MATERIAL UTILIZADOS EN LA SÍNTESIS QUÍMICA

4.1.1 Reactivos y disolventes utilizados en la síntesis y purificación de los compuestos sintetizados

El compuesto 2-metil-1,4-naftoquinona y las diferentes bencilaminas sustituidas en posición meta (-bromo, -cloro, -fluro, -metil, -metoxi, -nitro, -trifluoro), se obtuvieron de Sigma-Aldrich, así mismo los disolventes diclorometano y etanol se consiguieron de la misma fuente comercial; todos ellos se utilizaron sin purificación posterior.

Se utilizó sílica-gel con poro 70-230 y malla de 60 Å. Los disolventes acetato de etilo, acetona y hexano fueron proporcionados por el Departamento de Química Orgánica y fueron destilados antes de usarse.

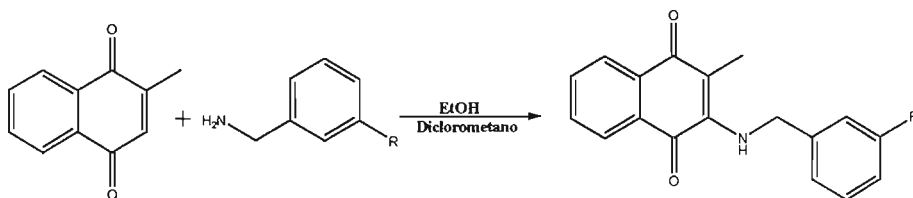
4.2 EQUIPO UTILIZADO EN LA CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS

- ❖ La determinación de los puntos de fusión de los siete compuestos sintetizados se realizó en un equipo de Fisher-Jones, éstos no están corregidos.
- ❖ Los espectros de Infrarrojo se determinaron en el espectrofotómetro FT-IR Perkin-Elmer modelo 1605, la muestra fue aplicada en pastilla de KBr.
- ❖ Los espectros de Masas se obtuvieron en un espectrómetro marca JEOL modelo JSM-SX 102^a, la técnica de ionización fue impacto electrónico.
- ❖ Los espectros de Ultravioleta se determinaron en un Espectrofotómetro de UV-Visible Perkin-Elmer, modelo Lambda 2, usando como disolvente diclorometano.
- ❖ Los espectros de Resonancia Magnética de Protón se obtuvieron en un espectrómetro marca VARIAN INOVA 300 a 300 MHz y 400 MHz, utilizando como referencia interna TMS y como disolvente CDCl₃.
- ❖ Los espectros de Resonancia Magnética de Carbono, HETCOR y FLOCK, se determinaron en un espectrómetro marca VARIAN INOVA 300 a 75.5 y 100 MHz, usando como referencia interna TMS y como disolvente CDCl₃.
- ❖ El espectro COSY se determinó en un espectrómetro GEMINI a 200 MHz, utilizando como disolvente CDCl₃.

4.3 SÍNTESIS DE LAS R-BENCILAMINAS PROPUESTAS

Se sintetizaron siete R-bencilaminas derivadas de la 2-metil-1,4-naftoquinona, siguiendo la técnica propuesta por Laurence, S.-C. *et. al.* ^[30]

La síntesis de éstos derivados se llevo a cabo mediante una reacción de sustitución. En la figura 33 se presenta la reacción general:



2-metil-1,4-naftoquinona R-bencilamino 2-metil-3-(3-R-bencilamino)-1,4-naftoquinon

Fig. 33 Reacción propuesta para la síntesis química.

El procedimiento para efectuar la síntesis se describe a continuación:

A un matraz bola de 100 mL de tres bocas, provisto con un agitador magnético, completamente forrado con papel carbón para evitar el paso de la luz, se adicionaron 0.5 g ($2.9041 \cdot 10^{-3}$ mol) de 2-metil-1,4-naftoquinona (menadiona), después se adicionó la R-bencilamina correspondiente ($5.8082 \cdot 10^{-3}$ mol) y finalmente se agregaron 4.25 mL de etanol y 1.1 mL diclorometano. (Tabla 1)

Tabla 1. Condiciones de reacción.

Compuesto	Sustituyente R	2-metil-1,4-naftoquinona (moles)	R-bencilamina (moles)	Etanol (mL)	Diclorometano (mL)	Tiempo (horas)
I	-Br	$2.9041 \cdot 10^{-3}$	$5.8082 \cdot 10^{-3}$	4.25	1.1	120
II	-Cl	$2.9041 \cdot 10^{-3}$	$5.8082 \cdot 10^{-3}$	4.25	1.1	120
III	-F	$2.9041 \cdot 10^{-3}$	$5.8082 \cdot 10^{-3}$	4.25	1.1	165.5
IV	-CH ₃	$2.9041 \cdot 10^{-3}$	$5.8082 \cdot 10^{-3}$	4.25	1.1	120
V	-OCH ₃	$2.9041 \cdot 10^{-3}$	$5.8082 \cdot 10^{-3}$	4.25	1.1	120
VI	-NO ₂	$2.9041 \cdot 10^{-3}$	$5.8082 \cdot 10^{-3}$	4.25	1.1	216
VII	-CF ₃	$2.9041 \cdot 10^{-3}$	$5.8082 \cdot 10^{-3}$	4.25	1.1	168

Las R-bencilaminas I (R=-Br) y VI (R=-NO₂) se adquirieron como el clorhidrato correspondiente; para extraerlas se pesó la cantidad en gramos, se adicionó NaOH al 5 % para disolver la sal, se extrajo con 5 mL de diclorometano tres veces, se secó con sulfato de sodio anhidro, se evaporó parte de este diclorometano en un baño María para no poner un exceso y finalmente se adicionó la R-bencilamina líquida en el matraz de reacción.

Por una de las bocas selladas se puso un globo con nitrógeno y la reacción transcurrió con agitación a temperatura ambiente, por el periodo de tiempo que se indica en la Tabla 1.

Se siguió la reacción por cromatografía en capa fina, tomando muestras en tiempos distintos después de iniciada la reacción, se comparó con la 2-metil-1,4-naftoquinona. Al final se observó una mancha roja con un R_f diferente a la materia prima.

El producto se recristalizó por la técnica de par de disolventes utilizando una mezcla acetona-hexano.

4.4 PRUEBA BIOLÓGICA FRENTE A *Artemia salina* ^[40]

4.4.1 Material empleado para el ensayo biológico frente a *Artemia salina*

El agua destilada se adquirió del almacén de la Facultad de Química. Los huevecillos ocupados en la prueba biológica se obtuvieron de la marca comercial Istant Ocean. El disolvente dimetilsulfóxido (DMSO) se obtuvo de la empresa Sigma Aldrich.

4.4.2 Obtención de la larva *Artemia salina*.

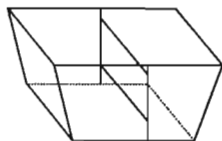


Fig. 34 Recipiente usado para la eclosión de *Artemia salina*

Se preparó agua de mar artificial mezclando 38 g de sal de mar sintética en 1 L de agua destilada.

En un recipiente rectangular de plástico (Fig. 34) con medidas de 8.5 cm de ancho * 10 cm de largo * 6 cm de altura, dividido con una separación central interconectada con una entrada basal, se adicionó agua de mar artificial hasta cubrir tres cuartas partes del recipiente. En uno de los compartimentos se colocan 30 mg de huevecillos de *Artemia salina* y

se cubrió con papel aluminio, evitando la entrada de luz, el otro compartimiento se dejó a la exposición de la luz blanca, permanentemente durante 48 horas. En este tiempo los huevecillos eclosionan y pasan a la fase de larvas (nauplii).^[40]

4.4.3 Preparación de diluciones de los compuestos sintetizados

Por otro lado se prepara una dilución para cada compuesto sintetizado. Se pesan 50 mg del compuesto y se disuelven en 5 mL de acetona ($C_1=10$ mg/mL), de esta dilución se toma 0.5 mL, que se vierten en un matraz y se adicionan 4.5 mL de acetona ($C_2=1$ mg/mL), este procedimiento se repite en forma sucesiva para obtener las concentraciones $C_3=0.1$ mg/mL, $C_4=0.01$ mg/mL y $C_5=0.001$ mg/mL.

4.4.4 Preparación de tubos de ensayo

Se lavaron, secaron y rotularon 18 tubos de ensayo, se ocuparon tres tubos para cada concentración, y tres tubos más para el blanco del experimento. A cada tubo se adicionó 0.5 mL de cada dilución preparada, (Ver sección 4.4.3) verificando que cada rótulo correspondiera con su respectiva concentración. En el caso de los tubos control se adicionó 0.5 mL de acetona, después se dejaron reposar todos los tubos durante 24 horas para que la acetona se evaporará.

4.4.5 Preparación de *Artemia salina* y el compuesto sintetizado

Cumplidas las 48 horas de incubación de *Artemia salina*, se observó a las larvas nadando (fase nauplii) en el compartimiento expuesto a la luz. En este momento se vierten a cada uno de los tubos 50 μ L de dimetilsulfóxido, en seguida 2 mL de agua de mar, se colocan 10 larvas de *Artemia salina* y finalmente se afora hasta 5 mL con agua de mar artificial. Después de este procedimiento, todos los tubos de ensayo se dejan bajo la exposición de luz blanca por 24 horas.

Transcurrido este tiempo se hizo un conteo de las *Artemias* vivas y muertas de cada uno de los tubos de ensayo. Se llevo un registro para su posterior análisis estadístico mediante el método de Reed-Muench para determinar la CL_{50} .^[40]

4.4.6 Determinación de la concentración letal media CL_{50}

Los datos obtenidos se registraron en una tabla como la siguiente:

Tabla 2. Representación de llenado de datos, para obtener la concentración letal media CL_{50} .

Concentración ppm	Vivos	Muertos	Log conc	A Vivos acumulados	B Muertos Acumulados	A + B	B / (A + B)	% Mortalidad
10000								
1000								
100								
10								
1								

- ❖ En la columna de “**Concentración**” se registraron cada una de las concentraciones empleadas, se inició con la más concentrada y se terminó con la más diluida.
- ❖ En la columna de **Vivos** se sumaron todas las *Artemias* que sobrevivieron con la misma concentración en los tres tubos, después de su exposición con el compuesto sintetizado. El resultado obtenido de la suma fue anotado
- ❖ En la columna de **Muertos** se registró el número de *Artemias* que resultaron muertas durante el experimento tomando en cuenta los tres tubos correspondientes a cada concentración, el dato resultante fue anexado a la tabla.
- ❖ En la siguiente columna **Log conc** se registró el logaritmo base 10 de la concentración.
- ❖ En la columna de **A Vivos acumulados** se anotó en el primer renglón el valor correspondiente de los vivos obtenidos a esa concentración, en el segundo renglón se registró el valor de la suma de vivos de la primera y segunda concentración, para el tercer renglón, se sumo el valor de vivos de la primera, segunda y tercera concentración, este mismo procedimiento se realizó en los dos siguientes renglones.
- ❖ Por otro lado en la siguiente columna **B Muertos acumulados** se registran en la fila de la mayor concentración la suma de todas las *Artemias* muertas, en la siguiente fila se resta el valor de la mayor concentración, en la siguiente fila se vuelve a restar pero ahora se sustraen los valores de la primera y segunda concentración esta operación se hace sucesivamente.

- ❖ La columna siguiente **A + B**, representa la suma de la columna Vivos acumulados y Muertos acumulados.
- ❖ En la penúltima columna se efectúa una división en donde se obtiene el cociente de los valores respectivos de las columnas: $B / (A + B)$.
- ❖ Por último, en la columna final se registra el % de Mortalidad, en donde el resultado de la columna anterior se multiplica por 100.

Finalmente se realizó una gráfica en donde el eje **X** representa el logaritmo de la concentración y en el eje de las **Y** el Número de *Artemias*. En esta gráfica se observan dos curvas logarítmicas, una es de las Vivos acumulados y la otra de los Muertos acumulados, el punto en donde se interceptan estas dos curvas es el valor de CL_{50} .

Para determinar cuantitativamente el valor de CL_{50} Bancroft, H. ^[41] propone las siguientes ecuaciones:

a) $(0.5-M)/(N-O)=R$

Donde **M**=Valor menor al 50 % de mortalidad (encontrado en la columna **B / (A + B)**)

N=Valor mayor al 50 % de mortalidad (encontrado en la columna **B / (A + B)**)

O=Valor mayor al 50 % de mortalidad (encontrado en la columna **B / (A + B)**)

R= Resultado

b) $\text{Log } S+R (\log 10)=T$

Donde **S**=Concentración usada correspondiente al valor menor al 50 % de mortalidad

T=Valor de la concentración media en ppm

c) $10^T=U$

$U*0.001=V$

Donde **V**=Valor de la concentración letal media en mg/mL

5. RESULTADOS

Se sintetizaron una serie de siete bencilaminas derivadas de la 2-metil-1,4-naftoquinona siguiendo la técnica propuesta por Laurence, *et. al.*^[30]

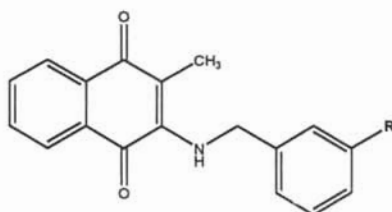
Se presenta primero una tabla de propiedades físicas de los compuestos sintetizados y después se mencionan los datos espectroscópicos obtenidos de los espectros correspondientes. (Los espectros se encuentran en el Anexo 1). En algunos casos los datos se compararon con tablas teóricas.^[43, 44, 45]

Posteriormente se hacen diferentes tablas en donde se resume y se pueden visualizar más fácilmente los datos de cada una de las técnicas espectroscópicas, mencionando a todos los compuestos sintetizados.

Se continúa con los datos obtenidos de la prueba biológica contra *Artemia salina* para cada uno de los derivados, así mismo se muestra la gráfica que representa la concentración letal media CL₅₀.

Finalmente en una tabla se resume los datos que se obtuvieron de la toxicidad del bioensayo frente a *Artemia salina*.

5.1 PROPIEDADES FÍSICAS



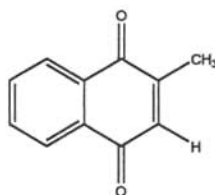
2-metil-3-(3-R-bencilamino)-1,4-naftoquinona

Tabla 3. Propiedades físicas de los siete compuestos sintetizados.

Com- puesto	R	Fórmula molecular	Peso molecular (g/mol)	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)	Aspecto físico
I	-Br	C ₁₈ H ₁₄ O ₂ NBr	355.9	68.46	105-108	Polvo guinda
II	-Cl	C ₁₈ H ₁₄ O ₂ NCl	311.5	67.99	100-102	Polvo rojo
III	-F	C ₁₈ H ₁₄ O ₂ NF	294.9	80.14	113-115	Polvo rojo
IV	-CH ₃	C ₁₉ H ₁₇ O ₂ N	291	71.002	97-98	Agujas rojas
V	-OCH ₃	C ₁₉ H ₁₇ O ₃ N	307	60	111-112	Hojuelas rojas
VI	-NO ₂	C ₁₈ H ₁₄ O ₄ N ₂	322	63.216	160-163	Polvo guinda
VII	-CF ₃	C ₁₉ H ₁₄ O ₂ NF ₃	344.97	69.71	110-112	Polvo guinda

5.2 RESULTADOS DE LAS TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS DE IR, EM, UV, RMN DE ^1H y ^{13}C

MATERIA PRIMA



2-metil-1,4-naftoquinona

Espectroscopía de Infrarrojo

Tabla 4. Frecuencias encontradas en el espectro 1.

Grupo	Frecuencia (cm^{-1})	Intensidad
Cetona α,β insaturada (quinona)	1664.59	Alta
Enlace C = C conjugado al C = O	1622.08	Media
Aromático	1592.79	Media
Grupo CH_3 y CH_2	2919.17	Pequeña
	δ_{as} 1458.86	Pequeña
	δ_{s} 1378.70	Pequeña

Espectrometría de Masas

Espectro 2: Ion Molecular m/z : 172
 Pico base: m/z : 172

Espectroscopía Ultravioleta

Espectro 3: λ_{max} = 332.94 nm
 ϵ = 2424.8118 ($\text{L/mol}\cdot\text{cm}$)

MATERIA PRIMA

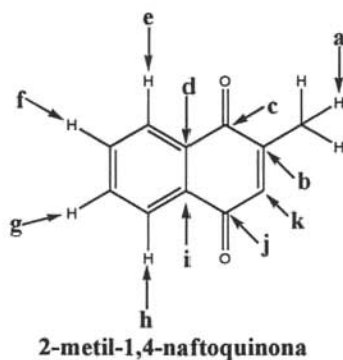
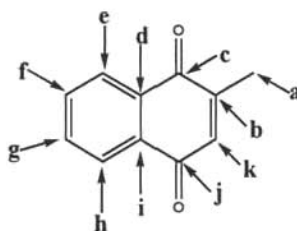
Resonancia Magnética de ^1H

Tabla 5. Señales del espectro 4 de 2-metil-1,4-naftoquinona.

Protón	Desplazamiento Químico (cm^{-1})	Señal centrada (cm^{-1})	Integración	Multiplicidad	J (Hz)
H_a	2.194	2.194	3 protones	Doblete	Jalílica _(ak) =1.8
H_e y H_h	8.107-8.012	8.0595	2 protones	Señal compleja	Difícil medir J
H_f y H_g	7.748-7.690	7.719	2 protones	Sextuplete	Jorto _(fe y gh) =8.7
H_k	6.842-6.827	6.8345	1 protón	Cuadruplete	Jalílica _(ka) =1.5

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 ,
Frecuencia 300 MHz.

MATERIA PRIMA



2-metil-1,4-naftoquinona

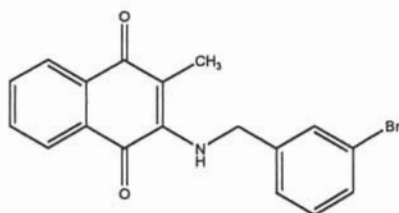
Resonancia Magnética de ^{13}C

Tabla 6. Señales observadas en el espectro 5.

Carbono	Desplazamiento químico (δ en ppm)
C_a	16.373
C_b	148.058
C_c	185.404
C_d	132.147
C_e	126.399
C_f	133.541
C_g	133.477
C_h	125.966
C_i	132.061
C_j	184.835
C_k	135.564

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 75 MHz.

COMPUESTO I



3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

Espectroscopía de Infrarrojo

Tabla 7. Frecuencias e intensidades de las señales del espectro 7 para este compuesto.

Grupo	Frecuencia (cm ⁻¹)	Intensidad
Amina secundaria	3314.35	Mediana
Cetona α,β insaturada (quinona)	1664.73	Alta
Enlace C = C conjugado al C = O	1603.85	Alta
Aromático	1572.54	Mediana
	1502.76	Alta
Grupo CH ₃ y CH ₂	δ_{as} 1452.33	Mediana
	δ_s 1370.72	Pequeña

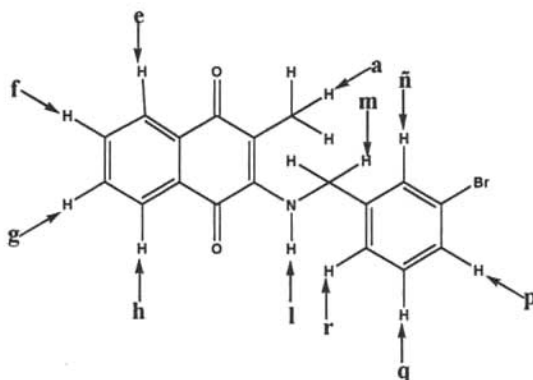
Espectrometría de Masas

Espectro 8: Ion molecular $m/z = 355$
 Pico base $m/z = 355$

Espectroscopía Ultravioleta

Espectro 9: $\lambda_{max} = 457.73$ nm
 $\epsilon = 4204.0859$ (L/mol*cm)

COMPUESTO I



3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

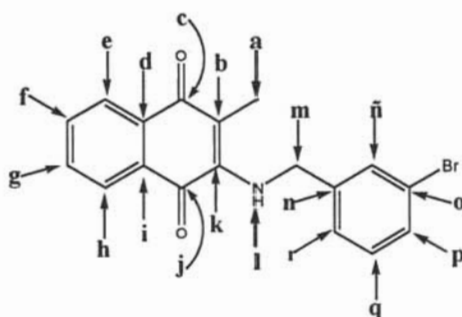
Resonancia Magnética de ^1H

Tabla 8. Asignación de señales del espectro 10 para este compuesto.

Protón	Desplazamiento químico (cm^{-1})	Señal centrada (cm^{-1})	Integración	Multiplicidad	J (Hz)
H_a	2.184	2.184	3 protones	Singlete	-----
H_c	8.094-8.063	8.0785	1 protón	Doble de doble de doble	Jorto _(ef) =7.5 Jmeta _(eg) =1.35 Jpara _(eh) =0.6
H_f	7.713-7.658	7.6855	1 protón	Doble de doble de doble	Jorto _(fg) =7.5 Jmeta _(fh) =1.5
H_g	7.619-7.564	7.5915	1 protón	Doble de doble de doble	Jorto _(gh) =7.5 Jmeta _(ge) =1.5
H_h	8.026-7.995	8.0105	1 protón	Doble de doble de doble	Jorto _(hg) =7.65 Jmeta _(hf) =1.35 Jpara _(he) =0.3
H_i	6.015	6.015	1 protón	Singlete	-----
H_m	4.711	4.711	2 protones	Singlete	-----
H_n y H_r	7.269-7.206	7.2375	2 protones	Señal compleja	Difícil medir J
H_p y H_q	7.461-7.417	7.439	2 protones	Señal compleja	Difícil medir J

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 300 MHz.

COMPUESTO I



3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

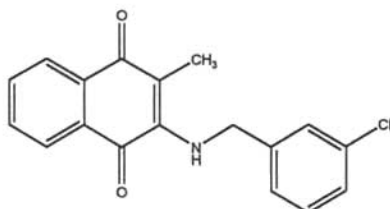
Resonancia Magnética de ^{13}C

Tabla 9. Asignación de señales del espectro 11.

Carbono	Desplazamiento químico (δ en ppm)
C _a	11.144
C _b	113.474
C _c	183.681
C _d	133.219
C _e	126.244
C _f	134.349
C _g	132.029
C _h	126.062
C _i	130.240
C _j	182.262
C _k	145.727
C _m	48.552
C _n	141.100
C _ñ	130.506
C _o	123.022
C _p	130.044
C _q	130.894
C _r	125.506

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS,
y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 75.5 MHz.

COMPUESTO II



3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

Espectroscopía de Infrarrojo

Tabla 10. Frecuencias encontradas en el espectro 13 para el compuesto II.

Grupo	Frecuencia (cm^{-1})	Intensidad
Amina secundaria	3329.43	Alta
Cetona α,β insaturada (quinona)	1669.83	Mediana
Enlace C = C conjugado al C = O	1604.92	Alta
Aromático	1568.23	Alta
	1525.97	Alta
Grupo CH_3 y CH_2	2923.39	Baja
	δ_{as} 1450.87	Baja
	δ_s 1373.65	Baja

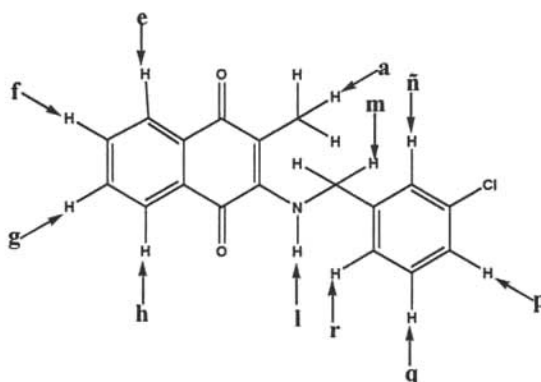
Espectrometría de Masas

Espectro 14: Ion molecular $m/z = 311$
 Pico base $m/z = 311$

Espectroscopía Ultravioleta

Espectro 15: $\lambda_{\text{max}} = 458.32 \text{ nm}$
 $\epsilon = 4283.2333 \text{ (L/mol*cm)}$

COMPUESTO II



3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

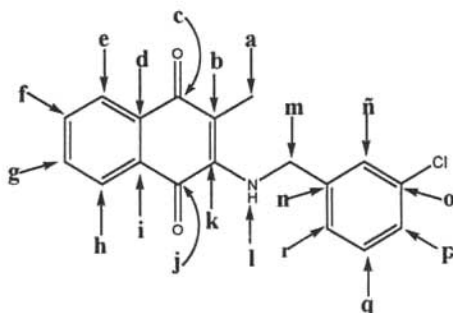
Resonancia Magnética de ^1H

Tabla 11. Asignación de señales encontradas en el espectro 16.

Protón	Desplazamiento químico (cm^{-1})	Señal centrada (cm^{-1})	Integración	Multiplicidad	J (Hz)
H_a	2.185	2.185	3 protones	Singulete	-----
H_e	8.090-8.069	8.0795	1 protón	Doble de doble	Jorto _(ef) =7.6 Jmeta _(eg) =0.8
H_f	7.707-7.666	7.6865	1 protón	Doble de doble de doble	Jorto _(fg) =7.6 Jmeta _(fh) =1.2
H_g	7.615-7.574	7.5945	1 protón	Doble de doble de doble	Jorto _(gh) =7.4 Jmeta _(ge) =1.2
H_h	8.023-8.002	8.0125	1 protón	Doble de doble	Jorto _(hg) =7.6 Jmeta _(hf) =0.8
H_i	6.009	6.009	1 protón	Singulete	-----
H_m	4.717	4.717	2 protones	Singulete	Difícil medir J
H_n , H_p y H_q	7.322-7.266	7.294	3 protones	Señal Compleja	Difícil medir J
H_r	7.185-7.169	7.177	1 protón	Señal compleja	Difícil medir J

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 400 MHz.

COMPUESTO II



3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

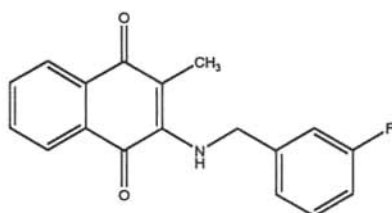
Resonancia Magnética de ^{13}C

Tabla 12. Asignación de señales observadas en el espectro 17.

Carbono	Desplazamiento químico (δ en ppm)
C _a	11.134
C _b	113.415
C _c	183.712
C _d	132.216
C _e	126.252
C _f	134.369
C _g	132.040
C _h	126.070
C _i	132.216
C _j	182.286
C _k	145.726
C _m	48.70
C _n	140.841
C _{n̄}	127.959
C _o	134.840
C _p	127.101
C _q	130.235
C _r	125.023

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS,
y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 100 MHz.

COMPUESTO III



3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

Espectroscopía de Infrarrojo

Tabla 13. Principales frecuencias del espectro 19 para el compuesto III.

Grupo	Frecuencia (cm ⁻¹)	Intensidad
Amina secundaria	3326.16	Alta
Cetona α,β insaturada (quinona)	1668.78	Media
Enlace C = C conjugado al C = O	1604.34	Alta
Aromático	1569.65	Mediana
	1528.92	Alta
Grupo CH ₃ y CH ₂	2923.34	Baja
	δ_{as} 1467.98	Baja
	δ_s 1375.27	Baja

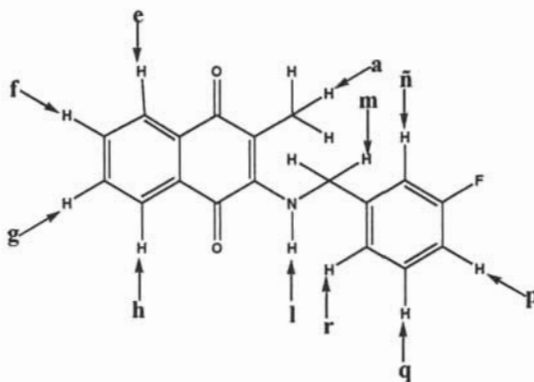
Espectrometría de Masas

Espectro 20: Ion molecular $m/z = 295$
 Pico base $m/z = 295$

Espectroscopía Ultravioleta

Espectro 21: $\lambda_{max} = 456.47$ nm
 $\epsilon = 4114.2077$ (L/mol*cm)

COMPUESTO III



3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

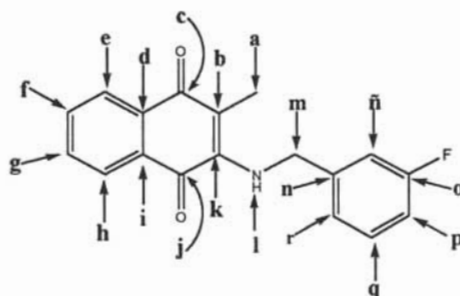
Resonancia Magnética de ^1H

Tabla 14. Asignación de señales para el espectro 22.

Protón	Desplazamiento químico (cm^{-1})	Señal centrada (cm^{-1})	Integración	Multiplicidad	J (Hz)
H_a	2.189	2.189	3 protones	Singulete	-----
H_e	8.095-8.074	8.0845	1 protón	Doble de doble	Jorto _(ef) =7.6 Jmeta _(eg) =0.8
H_f	7.711-7.670	7.6905	1 protón	Doble de doble de doble	Jorto _(fg) =7.6 Jmeta _(fh) =1.2
H_g	7.619-7.578	7.5985	1 protón	Doble de doble de doble	Jorto _(gh) =7.4 Jmeta _(ge) =1.2
H_h	8.031-8.009	8.01975	1 protón	Doble de doble	Jorto _(hg) =7.8 Jmeta _(hf) =0.8
H_i	6.048	6.048	1 protón	Singulete	-----
H_m	4.739	4.739	2 protones	Singulete	-----
H_n , H_p y H_r	7.087-6.974	7.0305	3 protones	Señal compleja	Difícil medir J
H_q	7.375-7.309	7.342	1 protón	Señal compleja	Difícil medir J

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 400 MHz.

COMPUESTO III



3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

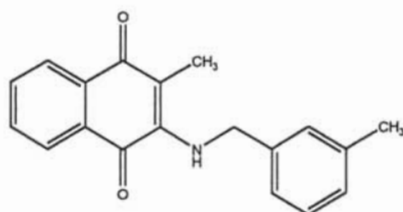
Resonancia Magnética de ^{13}C

Tabla 15. Asignación de señales observadas en el espectro 23.

Carbono	Desplazamiento químico (δ en ppm)
C _a	11.103
C _b	113.423
C _c	183.727
C _d	133.239
C _e	126.259
C _f	134.384
C _g	132.048
C _h	126.077
C _i	130.235
C _j	182.324
C _k	145.757
C _m	48.642
C _n	Doblete centrado en 141.406, con $^3J_{\text{C}_n\text{-F}}=6.8$ Hz
C _{n̄}	Doblete centrado en 114.705, con $^2J_{\text{C}_n\text{-F}}=21.2$ Hz
C _o	Doblete centrado en 163.115, con $^1J_{\text{C}_o\text{-F}}=245.8$ Hz
C _p	Doblete centrado en 113.905, con $^2J_{\text{C}_p\text{-F}}=22$ Hz
C _q	Doblete centrado en 130.553, con $^3J_{\text{C}_q\text{-F}}=7.6$ Hz
C _r	Doblete centrado en 122.4505, con $^4J_{\text{C}_r\text{-F}}=3.1$ Hz

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 100 MHz.

COMPUESTO IV



2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona

Espectroscopía de Infrarrojo

Tabla 16. Frecuencias encontradas en el espectro 25.

Grupo	Frecuencia (cm ⁻¹)	Intensidad
Amina secundaria	3329.71	Ligeramente alta
Cetona α,β insaturada (quinona)	1669.13	Mediana
Enlace C = C conjugado al C = O	1604.55	Gran intensidad
Aromático	1567.70	Gran intensidad
	1527.63	Alta
Grupo CH ₃ y CH ₂	2922.07	Baja
	δ_{as} 1450.31	Mediana

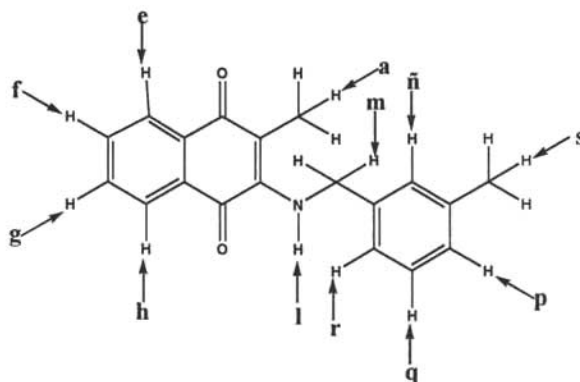
Espectrometría de Masas

Espectro 26: Ion molecular $m/z = 291$
 Pico base $m/z = 291$

Espectroscopía Ultravioleta

Espectro 27: $\lambda_{max} = 463.72$ nm
 $\epsilon = 2730.453$ (L/mol*cm)

COMPUESTO IV



2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona

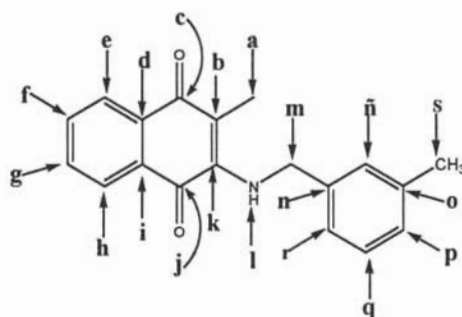
Resonancia Magnética de ^1H

Tabla 17. Asignación de señales encontradas en el espectro 28.

Protón	Desplazamiento químico (cm^{-1})	Señal centrada (cm^{-1})	Integración	Multiplicidad	J (Hz)
H_a	2.224	2.224	3 protones	Singulete	-----
H_e	8.088-8.059	8.07325	1 protón	Doble de doble	$J_{\text{orto}(\text{ef})}=7.65$ $J_{\text{meta}(\text{eg})}=1.2$
H_f	7.692-7.637	7.665	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(\text{fg})}=7.5$ $J_{\text{meta}(\text{m})}=1.2$
H_g	7.592-7.538	7.5645	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(\text{gh})}=7.425$ $J_{\text{meta}(\text{ge})}=1.5$
H_h	8.004-7.975	7.98975	1 protón	Doble de doble	$J_{\text{orto}(\text{hg})}=7.65$ $J_{\text{meta}(\text{hf})}=1.2$
H_i	5.997	5.997	1 protón	Singulete	-----
H_m	4.692	4.692	2 protones	Singulete	-----
H_n, H_p y H_r	7.121-7.074	7.0975	3 protones	Señal compleja	Difícil medir J
H_q	7.275-7.223	7.249	1 protón	Señal compleja	Difícil medir J
H_s	2.347	2.347	3 protones	Singulete	-----

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 300 MHz.

COMPUESTO IV



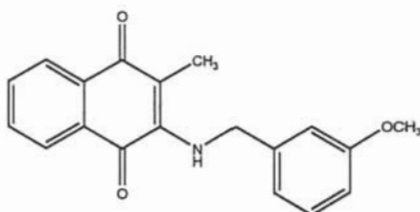
2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona

Resonancia Magnética de ^{13}C Tabla 18. Asignación de señales del espectro 29 de RMN ^{13}C .

Carbono	Desplazamiento químico (δ en ppm)
C _a	11.164
C _b	112.824
C _c	183.613
C _d	133.330
C _e	126.153
C _f	134.248
C _g	131.848
C _h	126.956
C _i	130.242
C _j	182.339
C _k	145.939
C _m	49.279
C _n	138.656
C _{n̄}	128.520
C _o	138.519
C _p	127.807
C _q	128.808
C _r	124.127
C _s	21.368

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS,
y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 100 MHz.

COMPUESTO V



2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona

Espectroscopía de Infrarrojo

Tabla 19. Frecuencias observadas en el espectro 31.

Grupo	Frecuencia (cm ⁻¹)	Intensidad
Amina secundaria	3311.63	Alta
Cetona α,β insaturada (quinona)	1668.76	Alta
Enlace C = C conjugado al C = O	1603.75	Alta
Aromático	1572.34	Mediana
	1509.42	Alta
Éter	2835.49	Pequeña
	1271.04	Alta
	1050.89	Mediana
Grupo CH ₃ y CH ₂	2947.88	Pequeña
	δ_{as} 1454.66	Mediana

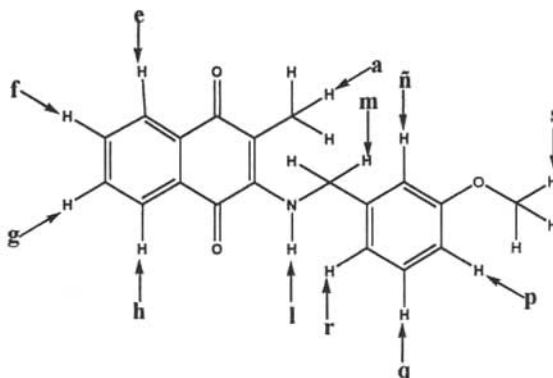
Espectrometría de Masas

Espectro 32: Ion molecular $m/z = 307$
 Pico base $m/z = 307$

Espectroscopía Ultravioleta

Espectro 33: $\lambda_{max} = 462.33$ nm
 $\epsilon = 2657.8525$ (L/mol*cm)

COMPUESTO V



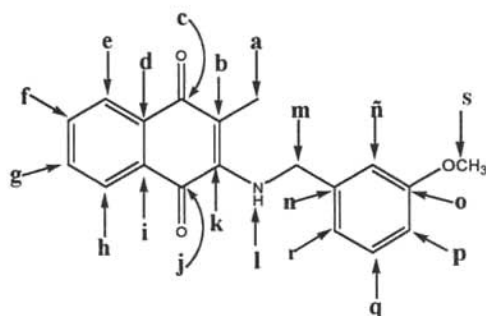
2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona

Resonancia Magnética de ^1H Tabla 20. Señales del espectro ^1H correspondientes al compuesto V.

Protón	Desplazamiento Químico (cm^{-1})	Señal centrada (cm^{-1})	Integración	Multiplicidad	J (Hz)
H_a	2.212	2.212	3 protones	Singlete	-----
H_c	8.090-8.060	8.075	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(\text{ef})}=7.5$ $J_{\text{meta}(\text{eg})}=1.2$ $J_{\text{para}(\text{fg})}=0.6$
H_f	7.699-7.644	7.6715	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(\text{fg})}=7.5$ $J_{\text{meta}(\text{fh})}=1.5$
H_g	7.601-7.546	7.5735	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(\text{gh})}=7.5$ $J_{\text{meta}(\text{ge})}=1.5$
H_h	8.013-7.983	7.997	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(\text{hg})}=7.5$ $J_{\text{meta}(\text{hf})}=1.35$ $J_{\text{para}(\text{he})}=0.3$
H_i	5.624	5.624	1 protón	Singlete	-----
H_m	4.707	4.707	2 protones	Singlete	-----
H_n, H_p y H_r	6.890-6.824	6.857	3 protones	Señal múltiple	Difícil medir J
H_q	7.306-7.251	7.2785	1 protón	Señal múltiple	Difícil medir J
H_s	3.794	3.794	1 protón	Singlete	-----

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 300 MHz.

COMPUESTO V



2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona

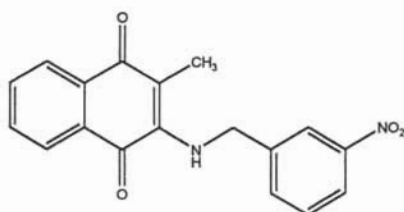
Resonancia Magnética de ^{13}C

Tabla 21. Asignación de señales del espectro 35.

Carbono	Desplazamiento químico (δ en ppm)
C _a	11.149
C _b	112.811
C _c	183.621
C _d	133.303
C _e	126.183
C _f	134.260
C _g	131.907
C _h	125.992
C _i	130.294
C _j	182.281
C _k	145.835
C _m	49.248
C _n	140.190
C _ñ	112.998
C _o	160.038
C _p	112.811
C _q	129.998
C _r	119.231
C _s	55.201

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 75.5 MHz.

COMPUESTO VI



2-metil-3-(3-nitrobenzilamino)-1,4-naftoquinona

Espectroscopía de Infrarrojo

Tabla 22. Frecuencias observadas en el espectro 37.

Grupo	Frecuencia (cm ⁻¹)	Intensidad
Amina secundaria	3309.16	Media
Cetona α,β insaturada (quinona)	1670.03	Media
Enlace C = C conjugado al C = O	1606.64	Media
Aromático	1572.44	Alta
Nitro	1527.42	Alta
	1346.70	Alta
Grupo CH ₃	δ_{as} 1453.91	Mediana

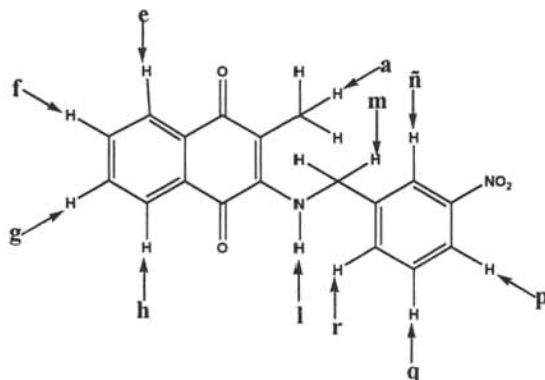
Espectrometría de Masas

Espectro 38: Ion molecular $m/z = 322$
 Pico base $m/z = 322$

Espectroscopía Ultravioleta

Espectro 39: $\lambda_{max} = 452.34$ nm
 $\epsilon = 2308.74$ (L/mol*cm)

COMPUESTO VI



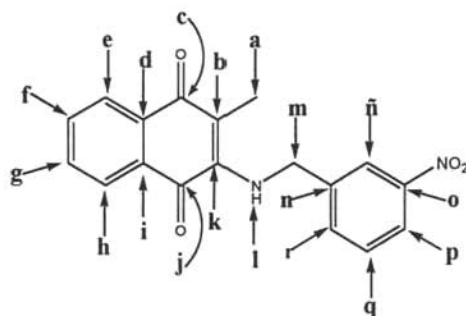
2-metil-3-(3-nitrobenzilamino)-1,4-naftoquinona

Resonancia Magnética de ^1H Tabla 23. Asignación de señales del espectro RMN ^1H . Espectro 40.

Protón	Desplazamiento Químico (cm^{-1})	Señal centrada (cm^{-1})	Integración	Multiplicidad	J (Hz)
H_a	2.167	2.167	3 protones	Singulete	-----
H_c	8.103-8.071	8.087	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(ef)}=7.8$ $J_{\text{meta}(eg)}=1.5$ $J_{\text{para}(fg)}=0.6$
H_f	7.731-7.676	7.7035	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(fg)}=7.5$ $J_{\text{meta}(fh)}=1.5$
H_g	7.665-7.613	7.639	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(gh)}=7.5$ $J_{\text{meta}(ge)}=1.5$
H_h	8.049-8.017	8.033	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(hg)}=7.65$ $J_{\text{meta}(hf)}=1.5$ $J_{\text{para}(he)}=0.6$
H_i	6.057	6.057	1 protón	Singulete	-----
H_m	4.850	4.850	2 protones	Singulete	-----
H_n y H_p	8.205-8.157	8.181	2 protones	Señal compleja	Difícil medir J
H_q	7.593-7.539	7.5665	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(qp)}=7.575$ $J_{\text{para}(qn)}=0.9$
H_r	7.618-7.565	7.591	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(rq)}=7.35$ $J_{\text{meta}(rp)}=1.2$

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 ,
Frecuencia 300 MHz.

COMPUESTO VI



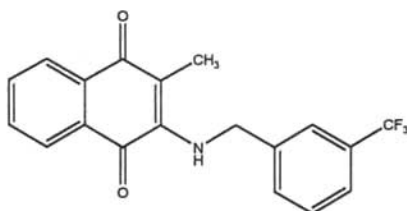
2-metil-3-(3-nitrobenzilamino)-1,4-naftoquinona

Resonancia Magnética de ^{13}C Tabla 24. Asignación de señales en el espectro 41 de RMN ^{13}C .

Carbono	Desplazamiento químico (δ en ppm)
C _a	11.163
C _b	114.319
C _c	183.705
C _d	133.140
C _e	126.332
C _f	134.438
C _g	132.808
C _h	126.164
C _i	130.287
C _j	182.229
C _k	145.634
C _m	48.426
C _n	141.189
C _{n̄}	122.817
C _o	148.697
C _p	121.883
C _q	130.002
C _r	132.211

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS,
y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 75.5 MHz.

COMPUESTO VII



2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona

Espectroscopía de Infrarrojo

Tabla 25. Principales frecuencias observadas en el espectro 43.

Grupo	Frecuencia (cm^{-1})	Intensidad
Amina secundaria	3337.23	Alta
Cetona α, β insaturada (quinona)	1668.97	Media
Enlace C = C conjugado al C = O	1605.90	Alta
Aromático	1569.99	Media
	1523.82	Alta
Grupo CH_3 y CH_2	2927.12	Baja
	δ_{as} 1467.46	Baja
	δ_{s} 1376.07	Baja

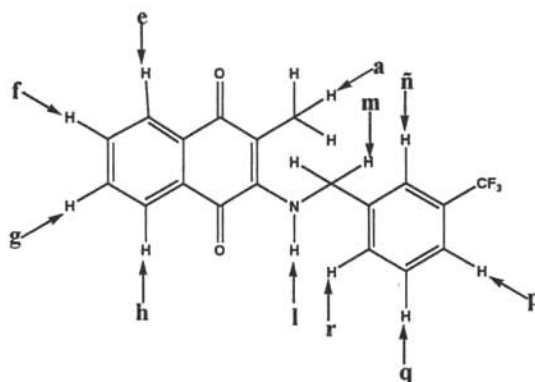
Espectrometría de Masas

Espectro 44: Ion molecular $m/z = 345$
 Pico base $m/z = 345$

Espectroscopía Ultravioleta

Espectro 45: $\lambda_{\text{max}} = 455.67 \text{ nm}$
 $\epsilon = 3683.2242 \text{ (L/mol*cm)}$

COMPUESTO VII



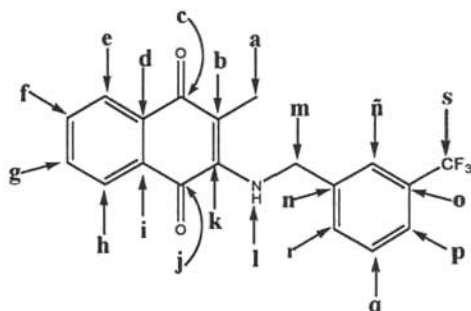
2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona

Resonancia Magnética de ^1H Tabla 26. Señales del espectro 46 de RMN ^1H para el compuesto VII.

Protón	Desplazamiento químico (cm^{-1})	Señal centrada (cm^{-1})	Integración	Multiplicidad	J (Hz)
H_a	2.189	2.189	3 protones	Singlete	-----
H_e	8.094-8.075	8.0845	1 protón	Doblete	$J_{\text{orto}(ef)}=7.6$
H_f	7.714-7.674	7.6945	1 protón	Doble de doble de doble	$J_{\text{orto}(fg)}=7.6$ $J_{\text{meta}(fh)}=1.2$
H_h	8.029-8.010	8.0195	1 protón	Doblete	$J_{\text{orto}(hg)}=7.6$
H_i	6.023	6.023	1 protón	Singlete	-----
H_m	4.802	4.802	2 protones	Singlete	-----
H_g, H_n y H_p	7.624-7.573	7.5985	3 protones	H_g : Doble de doble de doble encimado con Señal compleja	$J_{\text{orto}(gh)}=7.6$ $J_{\text{meta}(ge)}=1.2$ H_n, H_p Difícil medir J
H_q, H_r	7.512-7.498	7.505	2 protones	Señal compleja	Difícil medir J

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS, y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 400 MHz.

COMPUESTO VII



2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona

Resonancia Magnética de ^{13}C

Tabla 27. Asignación de señales del espectro 47.

Carbono	Desplazamiento químico (δ en ppm)
C _a	11.149
C _b	113.650
C _c	183.742
C _d	133.155
C _e	126.259
C _f	134.400
C _g	132.093
C _h	126.092
C _i	133.155
C _j	182.263
C _k	145.749
C _m	48.725
C _n	139.809
C _ñ	Cuadruplete centrado en 124.655 con $^3J_{\text{Cñ-F}}=3.8$ Hz
C _o	Cuadruplete centrado en 131.2815 con $^2J_{\text{Co-F}}=32.6$ Hz
C _p	Cuadruplete centrado en 123.782 con $^3J_{\text{Cp-F}}=3.8$ Hz
C _q	129.491
C _r	130.204
C _s	Cuadruplete centrado en 123.8655 con $^1J_{\text{Cs-F}}=270.8$ Hz

Desplazamientos químicos utilizando como referencia interna TMS,
y como disolvente CDCl_3 , Frecuencia 100 MHz.

5.3 RESUMEN DE LAS TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

En esta sección se hace un resumen en forma de tablas de las señales observadas en cada una de las técnicas espectroscópicas para los siete compuestos sintetizados. Se presenta primero con una tabla que resume las principales señales de Infrarrojo, después se continúa con un resumen de Espectrometría de Masas, luego con Ultravioleta, después con Resonancia Magnética Nuclear de protón y de carbono y finalmente se pone en una tabla las constantes de acoplamiento que se determinaron en los espectros de RMN ¹H.

Espectroscopía de Infrarrojo.

Tabla 28. Resumen de las señales de los grupos funcionales encontradas en los espectros de IR para los siete compuestos sintetizados.

Grupo	2-metil-1,4-naftoquinona	I -Br (cm ⁻¹)	II -Cl (cm ⁻¹)	III -F (cm ⁻¹)	IV -CH ₃ (cm ⁻¹)	V -OCH ₃ (cm ⁻¹)	VI -NO ₂ (cm ⁻¹)	VII -CF ₃ (cm ⁻¹)
Amina secundaria	-----	3314.35	3329.43	3326.16	3329.71	3311.63	3309.16	3337.23
Cetona α, β insaturada (quinona)	1664.59	1664.73	1669.83	1668.78	1669.13	1668.76	1670.03	1668.97
Enlace C = C conjugado al C = O	1622.08	1603.85	1604.92	1604.34	1604.55	1603.75	1606.64	1605.90
Aromático	1592.79	1572.54 1502.76	1568.23 1525.97	1569.65 1528.92	1567.70 1527.63	1572.34 1509.42	1572.44 -----	1569.99 1523.82
Grupo CH ₃ y CH ₂	2919.17 δ _{as} 1458.86 δ _s 1378.70	----- δ _{as} 1452.33 δ _s 1370.72	2923.39 δ _{as} 1450.87 δ _s 1373.65	2923.34 δ _{as} 1467.98 δ _s 1375.27	2922.07 δ _{as} 1450.31 -----	2947.88 δ _{as} 1454.66 -----	----- δ _{as} 1453.91 -----	2927.12 δ _{as} 1467.46 δ _s 1376.07
Grupo OCH ₃	-----	-----	-----	-----	-----	2835.49 1271.04 1050.89	-----	-----
Grupo NO ₂	-----	-----	-----	-----	-----	-----	v _{as} 1527.42 v _s 1346.70	-----

Espectrometría de Masas.

Tabla 29. Resumen de Pico base y Ion molecular de los compuestos sintetizados.

	I -Br	II -Cl	III -F	IV -CH₃	V -OCH₃	VI -NO₂	VII -CF₃
2-metil-1,4-naftoquinona							
Pico base (m/z)	355	311	295	291	307	322	345
Ion molecular (m/z)	355	311	295	291	307	322	345

Espectroscopia Ultravioleta-Visible.

Tabla 30. Longitud de onda de los siete compuestos sintetizados comparados con la materia prima, y los descriptores electrónicos σ , Σ y \mathcal{R} para los sustituyentes en posición meta del grupo R-bencilamino.

Compuesto	Sustituyente	λ_{max} (nm)	ϵ (L/mol*cm)	σ (meta) ^[46]	Σ ^[46]	\mathcal{R} ^[46]
2-metil-1,4-naftoquinona						
VI	-----	332.94	2424.8118	-----	-----	-----
VII	-NO₂	452.34	2308.74	0.71	0.67	0.16
III	-CF₃	455.67	3683.2242	0.42	0.38	0.19
I	-F	456.47	4114.2077	0.34	0.43	-0.34
II	-Br	457.73	4204.0859	0.39	0.44	-0.17
V	-Cl	458.32	4283.2333	0.37	0.41	-0.15
IV	-OCH₃	462.33	2657.8525	0.12	0.26	-0.51
	-CH₃	463.72	2730.453	-0.07	-0.04	-0.13

Resonancia Magnética de Protón ¹H

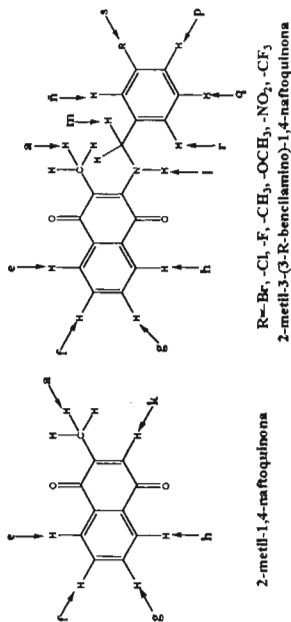
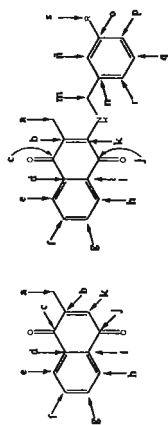


Tabla 31. Señales encontradas en los espectros 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40 y 46 de RMN ¹H.

Protón	2-metil-1,4-naftoquinona	I -Br (ppm)	II -Cl (ppm)	III -F (ppm)	IV -CH ₃ (ppm)	V -OCH ₃ (ppm)	VI -NO ₂ (ppm)	VII -CF ₃ (ppm)
H _a	2.194	2.184	2.185	2.189	2.224	2.212	2.167	2.189
H _c	8.0595	8.0785	8.0795	8.0845	8.07325	8.075	8.087	8.0845
H _r	7.719	7.6855	7.6865	7.6905	7.665	7.6715	7.7035	7.6945
H _g	7.719	7.5915	7.5945	7.5985	7.5645	7.5735	7.639	7.5985
H _h	8.0595	8.0105	8.0125	8.01975	7.98975	7.997	8.033	8.0195
H _k	6.8345	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
H _j	-----	6.015	6.009	6.048	5.997	5.624	6.057	6.023
H _m	-----	4.711	4.717	4.739	4.692	4.707	4.850	4.802
H _n	-----	7.2375	7.294	7.0305	7.0975	6.857	8.181	7.5985
H _p	-----	7.439	7.294	7.0305	7.0975	6.857	8.181	7.5985
H _q	-----	7.439	7.294	7.142	7.249	7.2785	7.5665	7.505
H _r	-----	7.2375	7.177	7.0305	7.0975	6.857	7.591	7.505
H _s	-----	-----	-----	-----	2.347	3.794	-----	-----

Resonancia Magnética de Carbono ¹³C



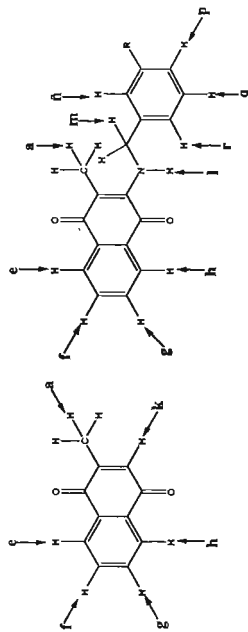
2-metil-1,4-naftoquinona

R=Br,-Cl,-F,-CH₃,-OCH₃,-NO₂,-CF₃
2-metil-3-G-R-benzilamino-1,4-naftoquinona

Tabla 32. Señales que aparecen en los espectros de RMN ¹³C: 5, 11, 17, 23, 29, 35, 41 y 47.

Carbono	I 2-metil-1,4- naftoquinona	II -Cl (ppm)	III -F (ppm)	IV -CH ₃ (ppm)	V -OCH ₃ (ppm)	VI -NO ₂ (ppm)	VII -CF ₃ (ppm)
C _a	16.373	11.134	11.103	11.164	11.149	11.163	11.149
C _b	148.058	113.415	113.423	112.824	112.811	114.319	113.650
C _c	185.404	183.712	183.727	183.613	183.621	183.705	183.742
C _d	132.147	132.216	133.239	133.330	133.303	133.140	133.155
C _e	126.399	126.252	126.259	126.153	126.183	126.332	126.259
C _f	133.541	134.369	134.384	134.248	134.260	134.438	134.400
C _g	133.477	132.029	132.048	131.848	131.907	132.808	132.093
C _h	125.966	126.062	126.077	126.956	125.992	126.164	126.092
C _i	132.061	130.240	130.240	130.242	130.294	130.287	133.155
C _j	184.835	182.262	182.324	182.339	182.281	182.229	182.263
C _k	135.564	145.727	145.726	145.939	145.835	145.634	145.749
C _m	-----	48.552	48.642	49.279	49.248	48.426	48.725
C _n	-----	141.100	141.406	138.656	140.190	141.189	139.809
C _o	-----	130.506	114.705	128.520	112.998	122.817	124.655
C _p	-----	123.022	134.840	163.115	138.519	148.697	131.2815
C _q	-----	130.044	127.101	113.905	127.807	121.883	123.782
C _r	-----	130.894	130.235	130.553	128.808	130.002	129.491
C _r	-----	125.506	125.023	122.4505	124.127	132.211	130.204
C _s	-----	-----	-----	21.368	55.201	-----	123.8655

Constantes de acoplamiento de protón



2-metil-1,4-naftoquinona

R= -Br, -Cl, -F, -CH₃, -OCH₃, -NO₂, -CF₃
2-metil-3-(3-R-benzilamino)-1,4-naftoquinona

Tabla 33. Intensidad de las constantes de acoplamiento de protón, para cada uno de los compuestos sintetizados.

Protón	I -Br (Hz)	II -Cl (Hz)	III -F (Hz)	IV -CH ₃ (Hz)	V -OCH ₃ (Hz)	VI -NO ₂ (Hz)	VII -CF ₃ (Hz)
H _a	Jorto _(ef) =7.5 Jmeta _(eg) =1.35 Jpara _(eh) =0.6	Jorto _(ef) =7.6 Jmeta _(eg) =0.8	Jorto _(ef) =7.65 Jmeta _(eg) =0.8	Jorto _(ef) =7.65 Jmeta _(eg) =1.2	Jorto _(ef) =7.5 Jmeta _(eg) =1.2 Jpara _(fg) =0.6	Jorto _(ef) =7.8 Jmeta _(eg) =1.5 Jpara _(fg) =0.6	Jorto _(ef) =7.6
H _c	Jorto _(fg) =7.5 Jmeta _(hf) =1.5 Jpara _(gh) =0.6	Jorto _(fg) =7.6 Jmeta _(hf) =1.2	Jorto _(fg) =7.6 Jmeta _(hf) =1.2	Jorto _(fg) =7.5 Jmeta _(hf) =1.2	Jorto _(fg) =7.5 Jmeta _(hf) =1.5	Jorto _(fg) =7.5 Jmeta _(hf) =1.5 Jpara _(fg) =0.6	Jorto _(fg) =7.6 Jmeta _(hf) =1.2
H _f	Jorto _(gh) =7.5 Jmeta _(gf) =1.5	Jorto _(gh) =7.4 Jmeta _(gf) =1.2	Jorto _(gh) =7.4 Jmeta _(gf) =1.2	Jorto _(gh) =7.425 Jmeta _(gf) =1.5	Jorto _(gh) =7.5 Jmeta _(gf) =1.5	Jorto _(gh) =7.5 Jmeta _(gf) =1.5	Jorto _(gh) =7.6 Jmeta _(gf) =1.2
H _g	Jorto _(hg) =7.65 Jmeta _(hf) =1.35 Jpara _(he) =0.3	Jorto _(hg) =7.8 Jmeta _(hf) =0.8	Jorto _(hg) =7.8 Jmeta _(hf) =0.8	Jorto _(hg) =7.65 Jmeta _(hf) =1.2	Jorto _(hg) =7.5 Jmeta _(hf) =1.35 Jpara _(he) =0.3	Jorto _(hg) =7.65 Jmeta _(hf) =1.5 Jpara _(he) =0.6	Jorto _(hg) =7.6
H _k	Jalifica _(ak) =1.5						

5.4 RESULTADOS DEL BIOENSAYO FRENTE A *Artemia salina*

A continuación se muestran los resultados que se obtuvieron durante el experimento biológico frente a *Artemia salina*.

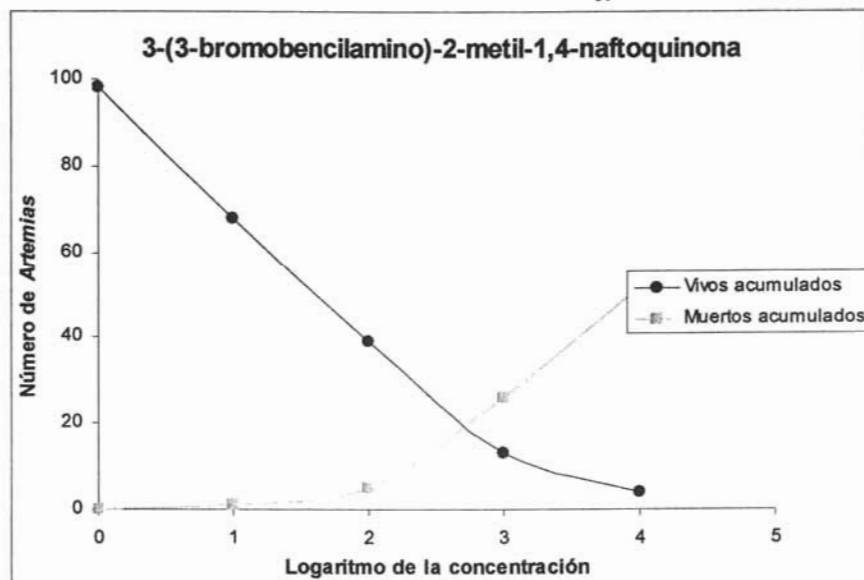
COMPUESTO I

3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona.

Tabla 34. Supervivencia y mortalidad de *Artemia salina* después de 24 horas de exposición a varias concentraciones de 3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona en 50 μ L de DMSO.

Concentración (ppm)	Vivos	Muertos	Log Conc.	A Vivos Acumulados	B Muertos Acumulados	A + B	B / (A + B)	% Mortalidad
10000	4	26	4	4	52	56	0.92857143	92.8571429
1000	9	21	3	13	26	39	0.66666667	66.6666667
100	26	4	2	39	5	44	0.11363636	11.3636364
10	29	1	1	68	1	69	0.01449275	1.44927536
1	30	0	0	98	0	98	0	0

Gráfica 1: Determinación de CL_{50} .



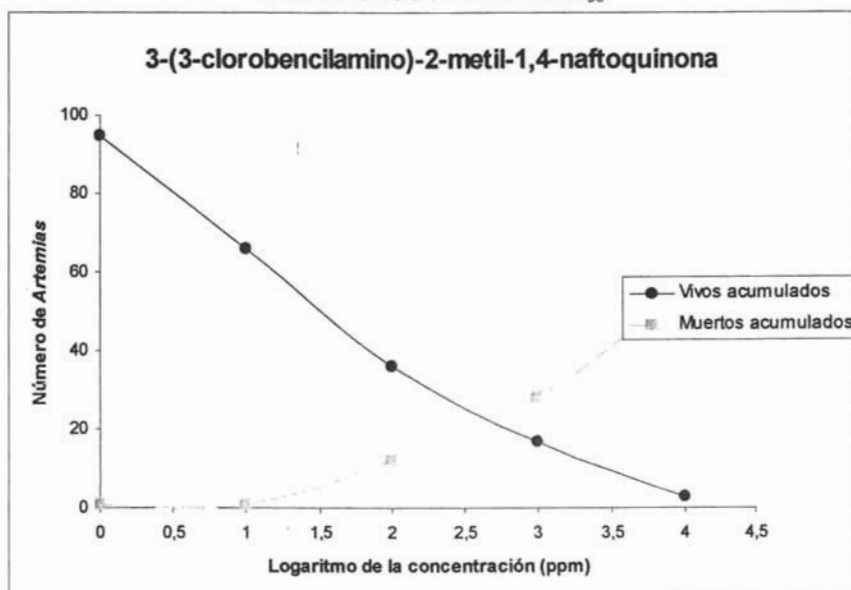
COMPUESTO II

3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona.

Tabla 35. Supervivencia y mortalidad de *Artemia salina* después de 24 horas de exposición a varias concentraciones de 3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona en 50 μ L de DMSO.

Concentración (ppm)	Vivos	Muertos	Log Conc.	A Vivos Acumulados	B Muertos Acumulados	A + B	B / (A + B)	% Mortalidad
10000	3	27	4	3	55	58	0.94827586	94.8275862
1000	14	16	3	17	28	45	0.622222222	62.2222222
100	19	11	2	36	12	48	0.25	25
10	30	0	1	66	1	64	0.015625	1.5625
1	29	1	0	95	1	96	0.01041667	1.04166667

Gráfica 2: Determinación de CL_{50} .



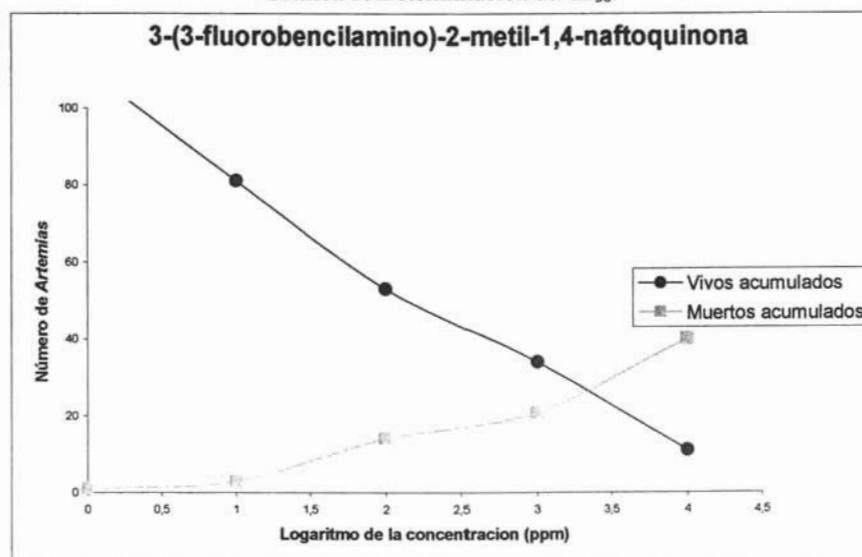
COMPUESTO III

3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona.

Tabla 36. Supervivencia y mortalidad de *Artemia salina* después de 24 horas de exposición a varias concentraciones de 3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona en 50 μ L de DMSO.

Concentración (ppm)	Vivos	Muertos	Log Conc.	A Vivos Acumulados	B Muertos Acumulados	A + B	B / (A + B)	% Mortalidad
10000	11	19	4	11	40	51	0,78431373	78,43137255
1000	23	7	3	34	21	55	0,38181818	38,18181818
100	19	11	2	53	14	67	0,20895522	20,89552239
10	28	2	1	81	3	84	0,03571429	3,57142857
1	29	1	0	110	1	111	0,00900901	0,90090090

Gráfica 3: Determinación de CL_{50} .



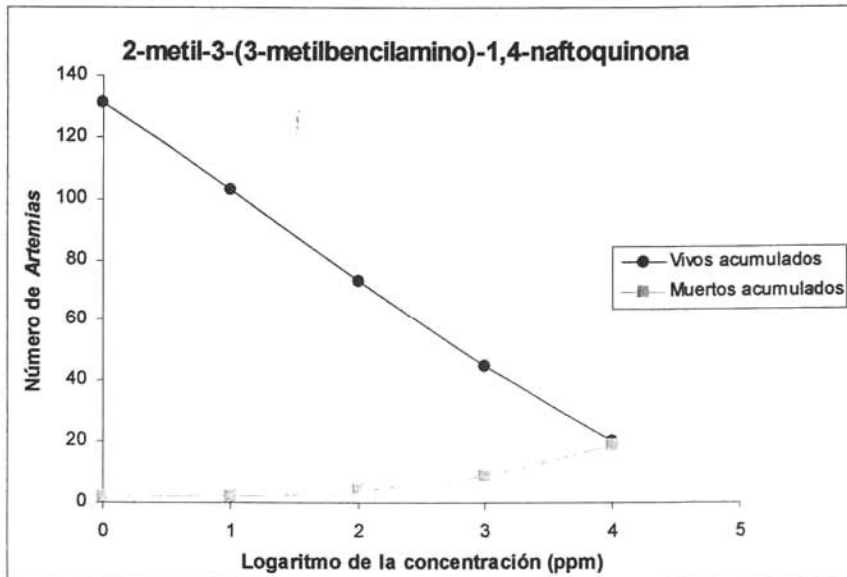
COMPUESTO IV

2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona.

Tabla 37. Supervivencia y mortalidad de *Artemia salina* después de 24 horas de exposición a varias concentraciones de 2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona en 50 μ L de DMSO.

Concentración (ppm)	Vivos	Muertos	Log Conc.	A Vivos Acumulados	B Muertos Acumulados	A + B	B / (A + B)	% Mortalidad
10000	10	20	4	19	20	39	0.51282051	51.2820513
1000	5	25	3	9	45	54	0.833333333	83.3333333
100	2	28	2	4	73	77	0.94805195	94.8051948
10	0	30	1	2	103	105	0.98095238	98.0952381
1	2	28	0	2	131	133	0.98496241	98.4962406

Gráfica 4: Determinación de CL_{50} .



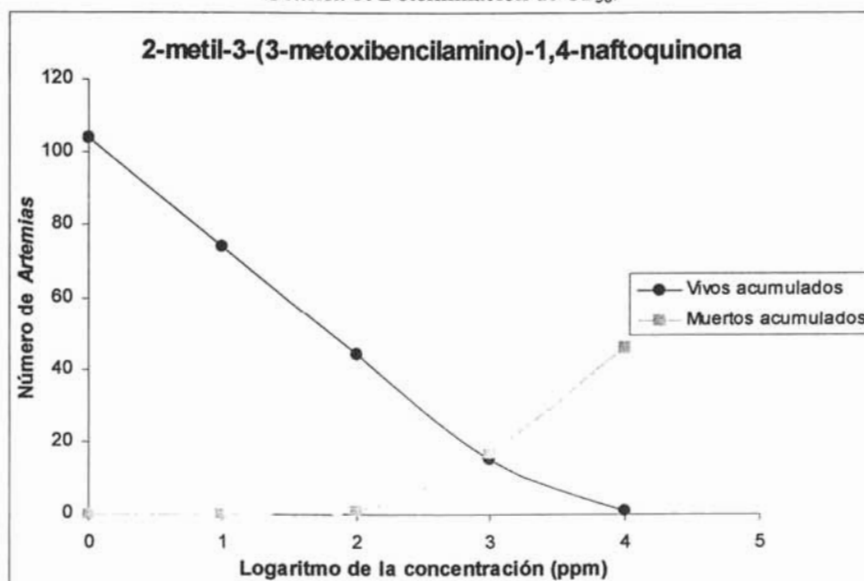
COMPUESTO V

2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona.

Tabla 38. Supervivencia y mortalidad de *Artemia salina* después de 24 horas de exposición a varias concentraciones de 2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona en 50 μL de DMSO.

Concentración (ppm)	Vivos	Muertos	Log Conc.	A Vivos Acumulados	B Muertos Acumulados	A + B	B / (A + B)	% Mortalidad
10000	1	29	4	1	46	47	0.9787234	97.8723404
1000	14	16	3	15	17	32	0.53125	53.125
100	29	1	2	44	1	45	0.02222222	2.22222222
10	30	0	1	74	0	74	0	0
1	30	0	0	104	0	104	0	0

Gráfica 5: Determinación de CL_{50} .



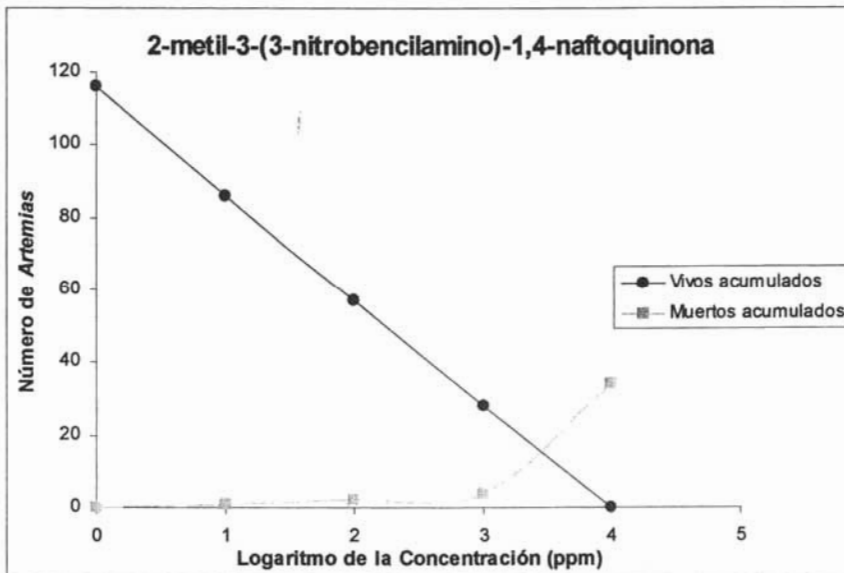
COMPUESTO VI

2-metil-3-(3-nitroencilamino)-1,4-naftoquinona.

Tabla 39. Supervivencia y mortalidad de *Artemia salina* después de 24 horas de exposición a varias concentraciones de 2-metil-3-(3-nitroencilamino)-1,4-naftoquinona en 50 μL de DMSO.

Concentración (ppm)	Vivos	Muertos	Log Conc.	A Vivos Acumulados	B Muertos Acumulados	A + B	B / (A + B)	% Mortalidad
10000	0	30	4	0	34	34	1	100
1000	28	2	3	28	4	32	0.125	12.5
100	29	1	2	57	2	59	0.03389831	3.38983051
10	29	1	1	86	1	87	0.01149425	1.14942529
1	30	0	0	116	0	116	0	0

Gráfica 6: Determinación de CL_{50} .

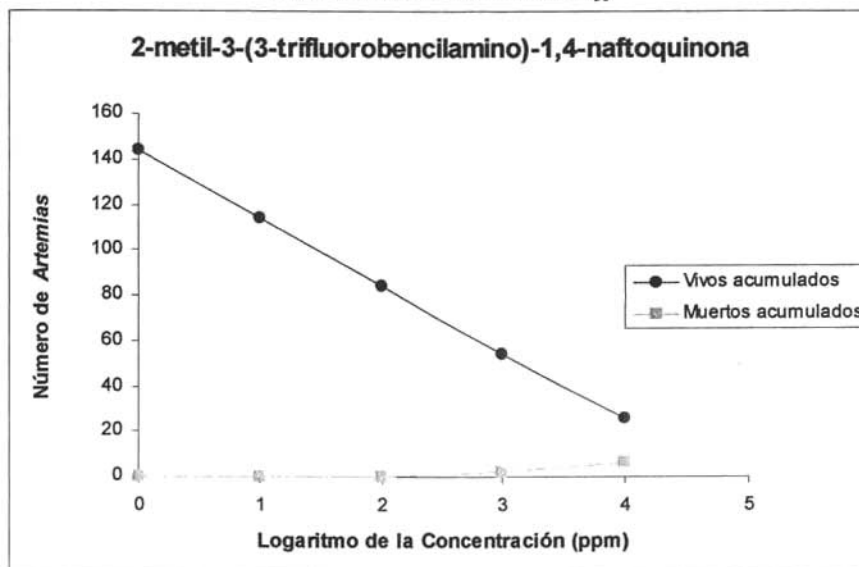


COMPUESTO VII

2-metil-3-(3-trifluorometilamino)-1,4-naftoquinona.

Tabla 40. Supervivencia y mortalidad de *Artemia salina* después de 24 horas de exposición a varias concentraciones de 2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona en 50 μ L de DMSO.

Concentración (ppm)	Vivos	Muertos	Log Conc.	A Vivos Acumulados	B Muertos Acumulados	A + B	B / (A + B)	% Mortalidad
10000	26	4	4	26	6	32	0.1875	18.75
1000	28	2	3	54	2	56	0.03571429	3.57142857
100	30	0	2	84	0	84	0	0
10	30	0	1	114	0	114	0	0
1	30	0	0	144	0	144	0	0

Gráfica 7: Determinación de CL₅₀.

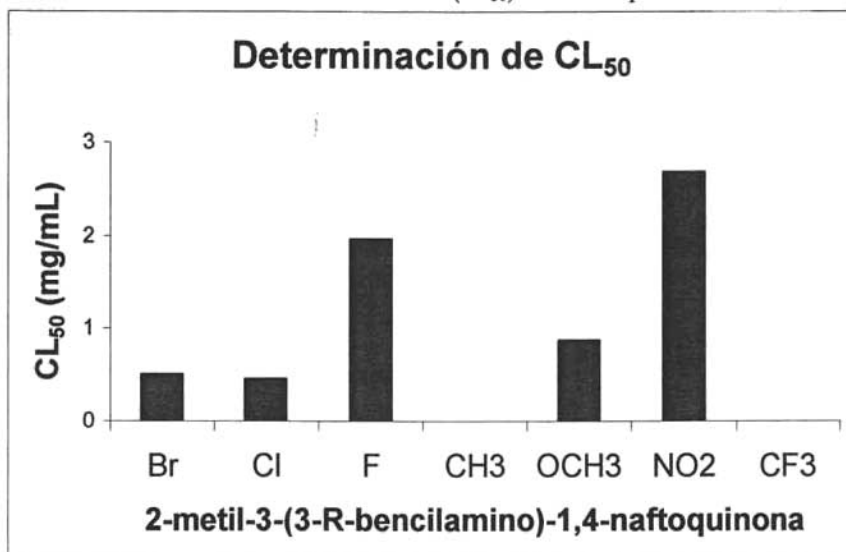
5.5 RESUMEN DEL BIOENSAYO FRENTE A *Artemia salina*

A continuación se presenta una tabla y una gráfica, en donde se resume el valor de la concentración letal media que se obtuvo para cada compuesto, del bioensayo frente a *Artemia salina*.

Tabla 41. CL₅₀ para cada uno de los compuestos sintetizados.

Compuesto	Sustituyente	CL ₅₀ ppm	CL ₅₀ mg/mL
I	-Br	2.6986	0.4995
II	-Cl	2.6556	0.452
III	-F	3.2939	1.967
IV	-CH ₃	-----	-----
V	-OCH ₃	2.9386	0.8682
VI	-NO ₂	3.4287	2.683
VII	-CF ₃	-----	-----

Gráfica 8. Concentración letal media (CL₅₀) de los compuestos sintetizados.

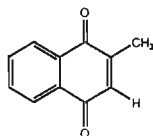


6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Por lo que se refiere a las características físicas de los compuestos sintetizados todos son sólidos cristalinos y coloridos, de tonalidades rojas, sus propiedades físicas se muestran en la Tabla 3 (Página 52). Los rendimientos de los compuestos sintetizados oscilan entre 60 % para el compuesto **V** (R=-OCH₃) y 80.14 % para el compuesto **III** (R=-F), estas reacciones son lentas y el mecanismo para obtener estos compuestos (Fig. 31, Página 37) propone que son necesarias dos moléculas de 2-metil-1,4-naftoquinona para producir una molécula de amina.

Se inicia haciendo el análisis de la técnica espectroscópica de infrarrojo, después de masas, luego de ultravioleta, posteriormente de resonancia magnética de protón y carbono, los datos que se registraron en la sección de resultados se corroboraron con tablas teóricas espectroscópicas ^[43, 44, 45], finalmente se evalúa el bioensayo frente a *Artemia salina*.

6.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO

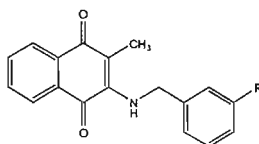


2-metil-1,4-naftoquinona

En el espectro No. 1, que corresponde al compuesto 2-metil-1,4-naftoquinona las absorciones de los grupos funcionales $C=O$, $C=C$ y aromático, se presentan a menores frecuencias de las esperadas, debido a que en la molécula se tiene un sistema conjugado. Así, las absorciones características de la vibración de tensión del grupo cetona α - β insaturada aparecen en 1664.59 cm^{-1} y el doble enlace en 1622.08 cm^{-1} .

Por otra parte, se encuentra una señal de mediana intensidad a 1592.79 cm^{-1} que corresponde a la vibración de tensión de los enlaces en el anillo aromático, aparece a menor frecuencia que la absorción del doble enlace $C=C$ del anillo de la quinona; debido a que los dobles enlaces del anillo aromático están conjugados.

Finalmente, el grupo CH_3 , presenta una banda pequeña en 2919.17 cm^{-1} que corresponde a la vibración de tensión; además hay dos señales pequeñas en 1458.86 cm^{-1} y 1378.70 cm^{-1} debidas a la vibración de flexión de este grupo.



2-metil-3-(3-R-bencilamino)-1,4-naftoquinona
 $R = -Br, -Cl, -F, -CH_3, -OCH_3, -NO_2$ y CF_3

En los espectros de infrarrojo de los siete compuestos sintetizados (7, 13, 19, 25, 31, 37 y 43), se observa una señal fina de mediana intensidad entre $[3309.16\text{ cm}^{-1}-3337.23\text{ cm}^{-1}]$ correspondiente a la vibración de tensión del enlace $N-H$.

Así mismo, para todos los compuestos sintetizados se observa lo siguiente: la absorción para el grupo $C=O$ de la quinona se encuentra en el intervalo de 1664.73 cm^{-1} a 1670.03 cm^{-1} ; para el doble enlace de 1603.75 cm^{-1} a 1606.64 cm^{-1} , y para el grupo aromático se presentan dos bandas intensas una entre 1567.70 cm^{-1} y 1572.54 cm^{-1} y la otra entre 1502.76 cm^{-1} a 1528.92 cm^{-1} .

Comparando el espectro de 2-metil-1,4-naftoquinona con los correspondientes espectros de los siete derivados de este compuesto, se observa que para los segundos todas las bandas de los grupos $C=O$ y aromático de la naftoquinona están a frecuencias más bajas; esto se debe a que en los derivados sintetizados, el sistema quinona tiene una conjugación extra con el grupo $N-H$ de la amina.

En el espectro del derivado **V** ($R=-OCH_3$), se observa la banda característica del grupo éter $Ar-O-CH_3$ en 2835.49 cm^{-1} y con respecto al espectro del compuesto **VI** ($R=-NO_2$) se aprecia dos bandas de gran intensidad debida a las vibraciones de tensión de el grupo NO_2 en 1527.42 cm^{-1} y 1346.70 cm^{-1} .

6.2 ESPECTROMETRÍA DE MASAS

En los espectros de los siete compuestos sintetizados (8, 14, 20, 26, 32, 38 y 44) se puede observar la siguiente información:

- ❖ En todos los casos, el peso molecular corresponde con el pico base en cada espectro.
- ❖ En los espectros aparece el pico $m/z = 186$, que probablemente corresponde a la naftoquinona con el nitrógeno unido a ella sin el grupo R-bencilo, así como lo muestra la siguiente figura:

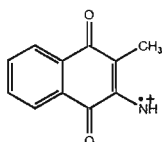


Fig. 35 Pico $m/z=186$

Particularidades:

- ❖ El espectro del compuesto **I** (R=-Br, Espectro 8) tiene el ion molecular M^+ en 355 m/z y un pico $M + 2$ en 357 m/z, ambos picos tienen intensidades aproximadamente iguales, debido a la composición isotópica del Br (^{79}Br 50.5% y ^{81}Br 49.5%).
- ❖ El espectro del compuesto **II** (R=-Cl, Espectro 14) presenta el pico M^+ en 311 y un pico $M + 2$ en 313 m/z aproximadamente la tercera parte del pico M^+ , debido a la proporción de los isótopos del cloro ^{35}Cl 75.5% y ^{37}Cl 24.5%.
- ❖ La estructura molecular del compuesto **VI** (R=-NO₂, Espectro 38) contiene dos nitrógenos, por lo que su peso molecular es par (322 g/mol), que corresponde con el ion molecular par, que se observa en tal espectro (322 m/z). En los espectros de los restantes compuestos el Ion molecular es impar, los cuales contienen un solo nitrógeno.

6.3 ESPECTROSCOPIA DE ULTRAVIOLETA

Se determinaron los espectros en el ultravioleta de los siete compuestos sintetizados. En la Tabla 30 (Página 78) se registran la λ_{max} (longitud de onda máxima, ϵ (coeficiente de extinción molar), el valor de $\sigma_{(\text{meta})}$ Hammett y el valor de \mathfrak{J} y \mathfrak{R} (parámetros de la escala de Swain y Lupton, que corresponden a los efectos inductivo y de resonancia^[46]), los compuestos están ordenados de acuerdo al valor de λ_{max} .

El compuesto 2-metil-1,4-naftoquinona absorbe en la región del ultravioleta en (332.94 nm); para el caso de todos los compuestos sintetizados presentan un hombro en la región del ultravioleta comprendido entre 300 nm y 350 nm y además una banda ancha de baja energía en la región del visible entre 452.34 nm y 463.72 nm.

También se observa que existe relación entre la λ_{max} y la capacidad donadora o atrayente de electrones del sustituyente R, los compuestos que aparecen en los primeros renglones (NO₂, CF₃, -F, -Br, -Cl) tienen sustituyentes electroattractores, mientras que los que se encuentran en los últimos renglones (OCH₃ y CH₃) tienen sustituyentes electrodonadores.

Más aún, el desplazamiento de la λ_{\max} está relacionado con la constante de Hammett $\sigma_{(\text{meta})}^{[46]}$ para cada grupo R de la bencilamino, esta columna representa el efecto electrónico o polar de los sustituyentes, así cuanto más positivo es el valor de σ mayor es su carácter atractor (como en el caso de los compuestos **VI** (R=-NO₂) y **VII** (R=-CF₃)) y cuando tienen un valor de σ negativo entonces se trata de un grupo donador (para el compuesto **IV** (R=-CH₃))

Las absorciones observadas (entre 452.34 nm y 463.72) para estos compuestos sintetizados se deben a las transiciones electrónicas $\pi \rightarrow \pi^*$ del anillo aromático del grupo bencilamino presente en estos compuestos.

En la Tabla 30 (Página 78) se observa que a medida que disminuye la σ de Hammett del sustituyente, es decir su capacidad atrayente de electrones, la longitud de onda de absorción crece (Renglones dos a siete, compuestos **VI** R=-NO₂, **VII** R=-CF₃, **III** R=-F, **I** R=Br, **II** R=-Cl, **V** R=-OCH₃), observándose la máxima λ para el renglón 8 (compuesto **IV** R=-CH₃).

Esto se puede interpretar como debido a que la transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ del anillo, responsable de la absorción de la λ_{\max} citada se ve más favorecida a medida que el sustituyente de la bencilamino se vuelve menos atrayente.

Los valores de coeficiente de extinción para los compuestos que se presentan en la tabla no muestran una correlación con la longitud de onda.

El parámetro \mathfrak{I} representa el efecto inductivo del sustituyente y el parámetro \mathfrak{R} el efecto de resonancia del mismo. En nuestro caso, dado que el sustituyente aparece siempre en posición meta, solo se manifestará el efecto inductivo \mathfrak{I} , medido este caso también por la constante de Hammett σ para el sustituyente.

Así se observa una mayor correlación de λ_{\max} con σ que con \mathfrak{I} , e incluso un trazo λ_{\max} vs $\sigma_{(\text{meta})}$ muestra una tendencia clara y un coeficiente de correlación aceptable. (Fig. 36, Página 95)

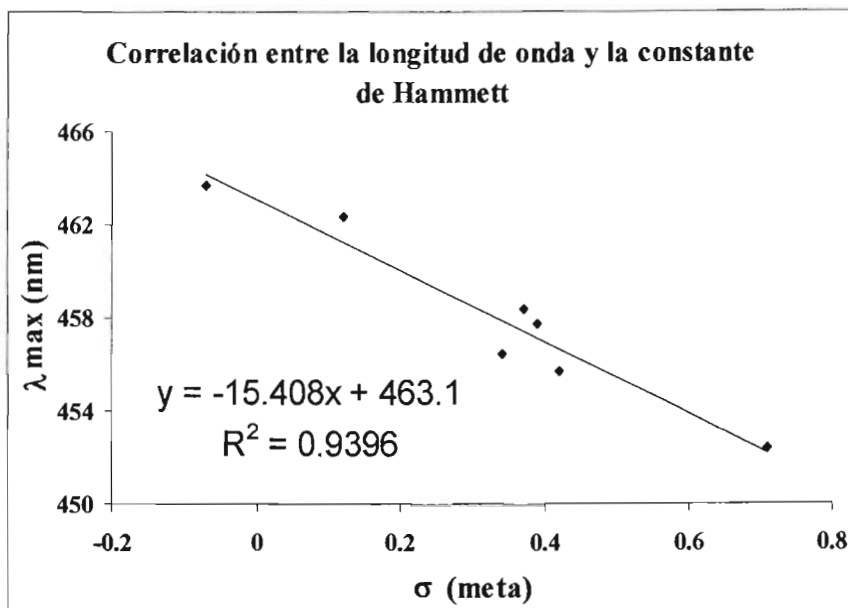
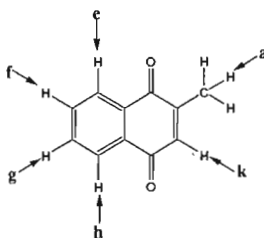


Fig. 36 Relación entre λ_{max} vs $\sigma_{(meta)}$ para los compuestos sintetizados.

6.4 RESONANCIA MAGNÉTICA DE PROTÓN ^1H

Para el análisis de los espectros de RMN ^1H , se inicia con el espectro del compuesto 2-metil-1,4-naftoquinona y posteriormente se hace el análisis de los espectros de ^1H de cada uno de los protones de los siete compuestos sintetizados. (Todos los espectros se encuentran en el anexo).



2-metil-1,4-naftoquinona

H_a: En el espectro de RMN ¹H de este compuesto (Espectro 4), la señal para estos tres protones absorbe en δ2.194 ppm como un doblete que se debe a un acoplamiento alílico (J=1.5 Hz) con el protón **H_k**. El oxígeno del grupo carbonilo desprotege a estos protones llevándolos a campo más bajo del esperado (~2.0).

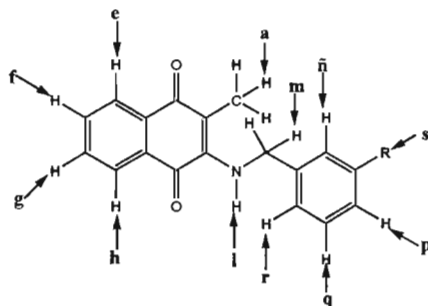
H_e y **H_h**: En el espectro 4, la señal para estos dos protones es compleja, y fue difícil la asignación del desplazamiento químico para cada uno de ellos, sin embargo, el experimento HETCOR (proporciona la correlación entre C y H a un enlace de distancia) indica que **H_e** se encuentra a campo más bajo que **H_h**. Se asignó el desplazamiento químico de la señal centrada en δ8.0595 ppm para los dos protones. Debido a esta señal compleja no es posible determinar la magnitud de la J.

H_f y **H_g**: En el espectro del experimento HETCOR (Espectro 6) se observa una sola señal para ambos protones lo que indica que son químicamente equivalentes. Se asignó el desplazamiento químico centrado en la señal compleja para ambos protones en δ7.719 ppm (Espectro 4), para determinar la constante de acoplamiento se recurrió a un análisis detallado de los acoplamientos esperados para estos protones con relación a los que se encuentran en las posiciones orto, meta y para, encontrando que la señal estaba encimada, J=8.7 Hz

Estos protones absorben a campo más alto que **H_e** y **H_h**, debido a que los oxígenos de los grupos carbonilos están más alejados y les afectan en menor proporción.

H_k: La señal de este protón aparece en 6.8345 ppm, es un cuádruplete que presenta un acoplamiento alílico (J=1.8 Hz) con el metilo de la posición dos de la anftoquinona.

A continuación se hace el análisis de los espectros de cada uno de los protones que conforman las moléculas de los siete compuestos sintetizados. (Ver Espectros de RMN de ^1H : 10, 16, 22, 28, 34, 40 y 46).



2-metil-3-(3-R-bencilamino)-1,4-naftoquinona
R=Br, -Cl, -F, -CH₃, -OCH₃, -NO₂, -CF₃

H_a: La señal para estos tres protones aparece en el intervalo de δ 2.184-2.347 ppm en los espectros de los siete compuestos (Tabla 31, Página 79). Dentro de éste intervalo se encuentra **H_a** del compuesto de 2-metil-1,4-naftoquinona, por lo tanto estos protones no son modificados por el efecto del sustituyente 3-R-bencilamino.

H_e y **H_h**: Para asignar el desplazamiento químico de cada uno de estos protones se recurrió al espectro HÉCTOR (Espectros: 12, 18, 24, 30, 36, 42 y 48), en todos los casos se observa que **H_e** aparece a campo más bajo que **H_h**.

H_e: La señal de este protón aparece en un intervalo de δ 8.07325-8.0845 ppm en los espectros. **H_e** presenta una constante de acoplamiento **orto** con el protón **H_f** con un valor de $J_{\text{orto}(ef)}$ =7.6 a 7.8 Hz (Ver Tabla 33, Página 81), también una constante de acoplamiento **meta** con el protón **H_g** de $J_{\text{meta}(eg)}$ =0.8-1.5 Hz, que no se pudo medir para el compuesto **VII** (R=-CF₃), la constante de acoplamiento **para** con respecto al protón **H_h** solo fue posible medirla en los espectros de los compuestos **I** (R=-Br), **V** (R=-OCH₃) y **VI** (R=-NO₂) cuyo valor es de $J_{\text{para}(eh)}$ =0.6 Hz en los tres casos.

H_h: Para este protón, la señal se encuentra en el intervalo de $\delta 7.98975$ - $\delta 8.01975$ ppm en los espectros de los compuestos sintetizados. En general la constante de acoplamiento **orto** con respecto al protón **H_g** es de $J_{\text{orto}(\text{H}_g)}=7.5$ - 7.8 Hz. El acoplamiento con el protón **H_f** en **meta** oscila de $J_{\text{meta}(\text{H}_f)}=0.8$ a 1.5 Hz, excepto en el caso del compuesto **VII** (R=-CF₃) donde no se pudo medir. La constante de acoplamiento **para** de los compuestos **I** (R=-Br), **V** (R=-OCH₃) y **VI** (R=-NO₂), tienen un valor de $J_{\text{para}(\text{H}_e)}=0.3$ - 0.6 Hz.

H_f y **H_g**: Aunque en un principio se pensó que estos protones absorberían en una misma señal como en el caso del compuesto 2-metil-1,4-naftoquinona, los espectros muestran dos señales como un doble de doble de doble que representa a cada uno de ellos. El espectro HETCOR de cada uno de los compuestos sintetizados, confirmó que se trata de dos señales que corresponden a cada uno de estos carbonos, también en estos espectros se determinó que **H_f** absorbe a campo más bajo que **H_g**.

H_f: En general la señal para este protón aparece en $\delta 7.665$ a $\delta 7.7035$ ppm. Para todos los compuestos derivados fue posible medir las constantes de acoplamiento **orto** con el protón **H_g** y **meta** con el protón **H_h**. ($J_{\text{orto}(\text{H}_g)}=7.5$ - 7.6 Hz; $J_{\text{meta}(\text{H}_h)}=1.2$ - 1.5 Hz).

H_g: Este protón absorbe entre $\delta 7.5645$ a $\delta 7.639$ ppm. La constante de acoplamiento **orto** con **H_h** oscila entre $J=7.425$ - 7.6 Hz y la constante de acoplamiento con **meta** entre $J=1.2$ - 1.5 Hz.

H_i: El intervalo donde aparece este protón en los espectros de los derivados está comprendido entre $\delta 5.624$ ppm y $\delta 6.048$ ppm, este protón unido al nitrógeno de la amina desaparece cuando se hace el experimento de intercambio con D₂O; esta señal integra para un protón y en todos los espectros es un singulete ancho.

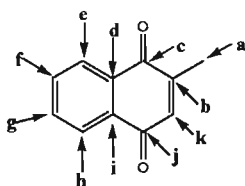
H_m: El desplazamiento químico de estos dos protones oscila entre $\delta 4.692$ - 4.739 ppm en los espectros de los compuestos, la señal integra para dos protones y es un singulete.

H_n, **H_p**, **H_q** y **H_r**: Estos protones aparecen en los espectros como señales complejas, por lo tanto fue difícil la determinación de cada uno de ellos, para identificarlos se recurrió a el experimento HETCOR. Para ningún compuesto fue posible la determinación de las J para estos protones.

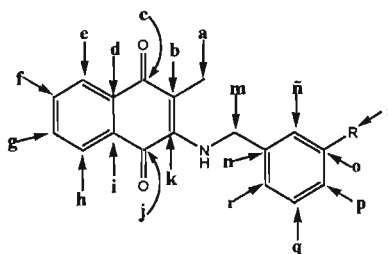
H_s: Este protón solo aparece en dos espectros, en el del compuesto **IV** (R=-CH₃, Espectro 28), en δ 2.224 ppm, integra para tres protones y es un singulete y para el derivado **V** (R=-OCH₃, Espectro 34), se observa una señal en δ 3.794 ppm que integra para tres protones y es un singulete; estos protones están desprotegidos por el efecto del oxígeno en el éter.

6.5 RESONANCIA MAGNÉTICA DE CARBONO ¹³C

A continuación se hace el análisis de cada uno de los espectros de los siete compuestos sintetizados (Espectros 11, 17, 23, 29, 35, 41 y 47), se hace una comparación con el espectro del compuesto 2-metil-1,4-naftoquinona (Espectro 5). Se presenta un resumen en una tabla para una rápida visualización de las señales de los carbonos. (Tabla 32, Página 80)



2-metil-1,4-naftoquinona



2-metil-3-(3-R-bencilamino)-1,4-naftoquinona
R=Br, -Cl, -F, -CH₃, -OCH₃, -NO₂, -CF₃

C_a: En todos los espectros de los compuestos sintetizados aparece la señal de este carbono, en un intervalo comprendido entre δ 11.103-11.164 ppm. El desplazamiento químico de este carbono se presenta a campo más alto que el respectivo **C_a** de la 2-metil-1,4-naftoquinona (16.373 ppm), se propone que éste último está desprotegido por el oxígeno del grupo carbonilo cercano a él, mientras que en el caso de los compuestos derivados la presencia del nitrógeno de la amina contrarresta el efecto del oxígeno.

En la estructura de los compuestos sintetizados se observa cierta simetría en los dos anillos de la naftoquinona, así para las parejas de carbonos: C_b y C_k ; C_c y C_j ; C_d y C_i ; C_e y C_h ; C_f y C_g en un inicio se pensó que podían absorber en desplazamientos químicos iguales, sin embargo, los sustituyentes metilo (C_a) y el grupo R-bencilamino afectan tal simetría.

La asignación para estos carbonos fue difícil, pues no se sabía diferenciar de cada una de las parejas de carbonos quién se encuentra a campo más alto y cuál a campo más bajo. Para poder asignar cada señal con su respectivo carbono se realizaron dos experimentos extras, el primero es COSY y el segundo es FLOCK (estos espectros se analizarán más adelante).

Con los resultados que proporcionan tales espectros y con la ayuda del experimento HETCOR se determinó que los carbonos: C_b , C_c , C_d , C_e y C_f absorben a desplazamientos químicos ligeramente más abajo que los carbonos: C_k , C_j , C_i , C_h y C_g . Se piensa que los primeros están desprotegidos por el oxígeno del grupo carbonilo unido a C_c , mientras que los segundos, aunque también están desprotegidos por el oxígeno carbonílico en C_j , el nitrógeno de la amina en los derivados produce un efecto que contrarresta, desplazándolos a campo más alto.

C_b : La señal de este carbono aparece en los espectros de los siete derivados entre $\delta 112.811$ ppm y $\delta 114.599$ ppm. Este desplazamiento químico está a campo más alto que el correspondiente C_b del compuesto 2-metil-1,4-naftoquinona ($\delta 148.058$ ppm). Se propone que C_b de los siete compuestos sintetizados está afectado por el oxígeno del carbonilo pero está desprotección es compensada por el nitrógeno presente en los derivados.

C_c y C_j : Estos dos carbonos unidos con un doble enlace a un oxígeno, forman un grupo carbonilo, lo que los lleva a campo bajo. Para poder asignar la señal de cada uno de estos carbonos se recurrió a los espectros de HETCOR donde se observan dos señales que corresponden a cada uno de ellos. Estos carbonos tienen desplazamientos químicos diferentes por el efecto del sustituyente que está a dos enlaces de distancia (para C_c el grupo metilo y para C_j el N de la amina).

C_c oscila en un intervalo de $\delta 183.613$ - $\delta 183.742$ ppm en los espectros de los derivados, a un campo más bajo (efecto de desprotección del oxígeno) que C_j quien aparece entre $\delta 182.229$ y $\delta 182.339$ ppm (el nitrógeno contrarresta la desprotección del oxígeno).

C_d y C_i: Estos dos carbonos son comunes a dos anillos, y son adyacentes a un grupo carbonilo. Para determinar el desplazamiento químico de cada uno de ellos se recurrió al espectro HETCOR. Así en los espectros de los compuestos **II** (R=-Cl) y **III** (R=-F) se observa el mismo desplazamiento químico para ambos carbonos.

En los espectros de los cinco compuestos restantes (R=-Br, CH₃, -OCH₃, -NO₂, -CF₃), se observan dos señales con desplazamiento químicos diferentes entre estos dos carbonos; **C_d** se encuentra a campo más bajo entre δ 132.216- δ 133.330 ppm, y **C_i** se observa de δ 130.235 a δ 133.155 ppm, a campo más alto.

C_e y C_h: Con el experimento HETCOR se determinó el desplazamiento químico de estos dos carbonos. **C_e** aparece de δ 126.153 a δ 126.332 y por su parte **C_h** de δ 125.992 ppm a δ 126.956 ppm.

C_f y C_g: Estos carbonos son adyacentes y forman parte de un anillo aromático y se encuentran a tres enlaces de distancia del carbonilo. En general en los espectros de los compuestos sintetizados la señal para **C_f** está a campo más bajo entre δ 134.248-134.438 ppm; por su parte **C_g** aparece desplazado a campo más alto δ 131.848-132.808 ppm.

C_k: Este carbono es parte de un anillo de quinona y es integrante de un doble enlace que tiene por un lado un sustituyente carbono carbonílico y por el otro un nitrógeno de amina. El intervalo donde se encuentra este carbono en todos los espectros es δ 145.634- δ 145.939 ppm.

C_m: En general en los espectros de los siete derivados, la señal para este carbono se presenta en el intervalo de δ 48.426 ppm a δ 49.249 ppm (Ver Tabla 34), por un lado tiene unido un nitrógeno de amina y por el otro un anillo aromático.

C_n, C_ñ, C_o, C_p, C_q y C_r

Estos Carbonos forman parte del anillo aromático de la bencilamina. Para asignar la señal correspondiente a cada uno de estos carbonos se hizo un cálculo teórico basado en tablas,^[43] después se identificaron esos cálculos en los espectros HETCOR de cada uno de los compuestos sintetizados. (Espectros: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 y 48).

En el espectro 23 correspondiente del compuesto **III** (R=-F) se observa el acoplamiento ^{13}C - ^{19}F como un doblete con una $^1J_{\text{C}_\text{o}-\text{F}}=245.8$ Hz, también como un doblete se observan las siguientes $^2J_{\text{C}_\text{p}-\text{F}}=22$ Hz, un tercer doblete $^2J_{\text{C}_\text{n}-\text{F}}=21.2$ Hz, un cuarto doblete $^3J_{\text{C}_\text{q}-\text{F}}=7.6$ Hz, y $^4J_{\text{C}_\text{r}-\text{F}}=3.1$ Hz.

Para el compuesto **VII** (R=-CF₃), el espectro 47 se observan cuatro señales como cuadrupletes tienen la siguiente magnitud: $^1J_{\text{C}_\text{s}-\text{F}}=270.8$ Hz, $^2J_{\text{C}_\text{o}-\text{F}}=32.6$ Hz, $^3J_{\text{C}_\text{n}-\text{F}}=3.8$ Hz y otra con el mismo valor $^3J_{\text{C}_\text{p}-\text{F}}=3.8$ Hz.

C_s, La señal para este carbono aparece solo en tres espectros (No. 29, 35 y 47), para el compuesto **IV** (R=-CH₃) δ 21.368 ppm, para el derivado **V** (R=-OCH₃) δ 55.201 ppm y para el compuesto **VII** (R=-CF₃) δ 123.8655 ppm.

6.6 ANÁLISIS DEL ESPECTRO COSY

El espectro COSY (Espectro 49) es un experimento en dos dimensiones que correlaciona a dos protones acoplados entre sí, a dos y tres enlaces de distancia.^[47] Este experimento fue realizado para poder distinguir cada uno de los protones presentes en la estructura de la naftoquinona, ya que por la estructura casi simétrica fue difícil en un principio asignar cada señal a cada protón. El espectro se realizó para el compuesto 3-(p-clorobencilamino)menadiona, que se encuentra reportado en la Tesis de Licenciatura de Ugalde, M. E.,^[48] este compuesto es muy parecido a los compuestos sintetizados en este trabajo, solo que aquél el sustituyente está en la posición **para** del grupoencilamino.

En el espectro se puede observar la siguiente información:

- ❖ El protón **H_a** está correlacionado con los protones **H_m**.
- ❖ El protón **H_e** está relacionado con el protón **H_f**, estos protones se encuentran a tres enlaces de distancia.
- ❖ El protón **H_h** tiene correlación con el protón **H_g**, ambos protones están a tres enlaces de distancia.

- ❖ El protón H_I está correlacionado con los protones H_m , que se encuentran a tres enlaces de distancia.
- ❖ En el espectro se observa que los protones H_m están correlacionados con los protones H_a , H_l , H_n y H_r .
- ❖ Los protones H_a y H_r se relacionan con los protones H_o y H_q .

Con estos resultados se ve que las asignaciones hechas con anterioridad en los espectros de protón para los compuestos sintetizados son los correctos, pues el espectro COSY muestra la relación de protones a tres enlaces de distancia que corresponde con aquellos resultados.

6.7 ANÁLISIS DEL ESPECTRO FLOCK

Este experimento en dos dimensiones permite ver la correlación entre H-C a dos y tres enlaces de distancia, suprimiendo las correlaciones que existen a un enlace de distancia [47]; este espectro (No. 50 del Anexo) también se obtuvo del compuesto 3-(p-clorobencilamino)menadiona, y se determinó para distinguir cada uno de los Carbonos del grupo carbonilo.

En el espectro se observan varias señales:

- ❖ Aparecen tres señales que correlacionan al protón H_a δ 20188 ppm con tres carbonos. La primera señal es la relación con el carbono C_b δ 113.476 ppm que está en la estructura de la molécula a tres enlaces de distancia de dicho protón. La segunda señal es la correlación con C_c δ 183.655 ppm que está a tres enlaces de distancia con respecto al protón H_a , y la tercera señal indica la relación con C_k δ 145.794 ppm que están alejados a tres enlaces de distancia.
- ❖ Dos señales están relacionadas con el protón H_m δ 4.702 ppm, la primera es la correlación con los carbonos C_n y C_r δ 128.553 ppm éstos están alejados de H_m a tres enlaces de distancia respectivamente de ese protón. La segunda señal correlaciona con el carbono C_n δ 137.240 ppm que se encuentra a dos enlaces de distancia del protón H_m .

- ❖ La señal compleja de los protones H_n y H_r $\delta 7.230$ ppm está correlacionada con varios carbonos: C_p $\delta 113.240$ ppm a tres enlaces de distancia de esos protones, C_n y C_r $\delta 128.353$ ppm a tres enlaces de distancia de los protones H_n y H_r , C_o y C_q $\delta 129.100$ ppm a dos enlaces de distancia de dichos protones, C_n $\delta 137.240$ ppm a dos enlaces de distancia de esos protones.
- ❖ La señal compleja de los protones H_o y H_q $\delta 7.333$ ppm está correlacionada con el carbono C_p $\delta 113.240$ ppm a dos enlaces de distancia, C_n y C_r $\delta 128.353$ ppm, estos protones y carbonos están a dos enlaces de distancia, C_o y C_q $\delta 129.100$ ppm están a tres enlaces de distancia de dichos protones, y C_n $\delta 137.240$ ppm a dos enlaces de distancia de tales protones.
- ❖ La señal para el protón H_g $\delta 7.588$ ppm está correlacionada con tres carbonos: con C_e $\delta 126.230$ ppm a tres enlaces de distancia, con C_h $\delta 126.034$ ppm a dos enlaces de distancia y con C_i $\delta 130.239$ ppm a tres enlaces de distancia.
- ❖ La señal del protón H_f $\delta 7.684$ ppm está relacionada con los carbonos C_h $\delta 126.034$ ppm que están a tres enlaces de distancia y con C_d $\delta 133.591$ ppm a tres enlaces de distancia.
- ❖ El protón H_n $\delta 8.005$ ppm se relaciona con el carbono C_d $\delta 133.591$ ppm a tres enlaces y con C_f $\delta 130.239$ ppm a tres enlaces de distancia entre ellos.
- ❖ Para el protón H_e $\delta 8.078$ ppm se correlaciona con C_i $\delta 130.239$ ppm a tres enlaces de distancia.

Así pues, con la información que muestra el espectro de FLOCK se corroboran las asignaciones de protón y carbono en este trabajo.

6.8 ANÁLISIS DE LA PRUEBA BIOLÓGICA FRENTE A *Artemia salina*

Se evaluó la toxicidad de los siete compuestos 2-metil-3-(3-R-bencilamino)-1,4-naftoquinona frente a *Artemia salina*, determinando la concentración letal media (CL_{50}).

En las gráficas 4 y 7 que corresponden a los compuestos IV ($R=-CH_3$) y VII ($R=-CF_3$) no fue posible determinar la CL_{50} frente a *Artemia salina* con las concentraciones usadas; tal vez

al emplear una concentración mayor de la utilizada se obtendría el valor buscado de CL_{50} , sin embargo esta situación, implicaría una bioactividad muy pequeña comparada con los compuestos restantes, por lo que carece de interés.

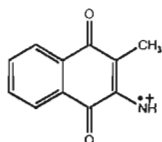
La actividad larvícida de los derivados sintetizados en este trabajo frente a *Artemia salina* mostró el siguiente orden de actividad: el compuesto más bioactivo es el compuesto **II** (R=Cl), el que le sigue en orden de actividad es el derivado **I** (R=-Br), después el compuesto **V** (R=-OCH₃), luego el derivado **III** (R=-F) y el menos bioactivo es el compuesto **VI** (R=-NO₂). En la Tabla 41 y Gráfica 8 se pueden observar estos resultados (Página 89).

7. CONCLUSIONES

- ❖ Se sintetizaron siete compuestos derivados de la 2-metil-1,4-naftoquinona sustituidos en la posición 3 por el grupo 3-R-bencilamino, ninguno de estos compuestos se encuentra reportado en la literatura, es decir, son compuestos nuevos.
 - ❖ Todos los compuestos sintetizados son de color rojo y los rendimientos de las síntesis oscilan entre 60-80.14%.
 - ❖ Los siete compuestos sintetizados fueron caracterizados por las técnicas de espectroscopía de IR, EM, UV, RMN ^1H , RMN ^{13}C y HETCOR.
 - ❖ Dado que los siete compuestos difieren solamente en el sustituyente en posición meta del anillo de la bencilamino, para todos ellos se observa un patrón general en los espectros de IR, EM, UV, RMN de ^1H y ^{13}C así como en HETCOR, y solo se observan modificaciones en la parte debida al sustituyente o a las posiciones cercanas.
-

❖ Por la técnica espectroscópica de IR se observa que la señal para el enlace C=C conjugado al C=O de los compuestos sintetizados aparece a frecuencias más bajas que para la 2-metil-1,4-naftoquinona.

❖ Espectrometría de Masas: Para todos los compuestos se observa el pico $m/z=186$ que corresponde al fragmento de la quinona unida al nitrógeno como lo muestra la siguiente figura:



❖ Espectroscopía Ultravioleta: Se observa una correlación entre λ_{\max} de absorción de los compuestos y σ de Hammett del sustituyente en posición meta del anillo aromático.

❖ Se efectuó un bioensayo frente *Artemia salina* para evaluar la toxicidad de los compuestos. El compuesto más bioactivo es el **II** (R=-Cl) y el menos bioactivo es el **VI** (R=-NO₂). Los compuestos **IV** (R=-CH₃) y **VII** (R=-CF₃) no presentan bioactividad.

REFERENCIAS

[1] *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.* Novena edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México, D. F. 1996. p. 1049.

[2] Velasco C. O. *Las leishmaniasis, con especial referencia a México.* Secretaría de Salud: México, D. F. 1991. pp. 1-48.

[3] Acha. P. N. y Szyfres, B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales.* Segunda edición. Publicación científica No. 503, Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina regional de la Organización Mundial de la Salud. México, D. F. 1989. pp. 615-634.

[4] Smith, J. W. y Gutiérrez Y. *Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio.* Novena edición. Editorial Salvat Ciencia y Cultura Latinoamérica. México, D. F. 1993. pp. 1213-1215.

- [5] Tay, Z. J., Lara, A. R., Velasco, C. O. y Gutiérrez, Q. M. *Parasitología médica*. Sexta edición. Editorial Méndez Editores. México, D. F. 1990. pp. 129-150.
- [6] Canales, F. Y. *Leishmania cutánea* en Santiago Jalahui, Oaxaca, Tesis de Posgrado en Dermatoleprología. Centro dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua, Facultad de Medicina, UNAM, México, D. F. 1979-1981.
- [7] Zaman, V. *Atlas color de parasitología clínica, un atlas de protozoarios helmintos y artrópodos más importantes*. Editorial Médica Panamericana. Argentina 1988. p. 60.
- [8] Joklik, W. K., Willett, H. P., Amos, D. B. y Wilfert, C. M. *Zinsser Microbiología*. Vigésima edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina 1996. p. 1563.
- [9] *Lucha contra la Leishmaniasis*. Informe de un Comité de Expertos de la OMS. Organización Mundial de la Salud, Serie de informes Técnicos 93. Ginebra 1990. pp. 177.
- [10] Wilson, W. R., Drew, W. L., Henry, N. K., Relman, D. A., Sande, M. A., Steckelberg, J. M. y Gerberding, J. L. *Diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas*. Editorial El Manual Moderno. México, D. F. 2002. pp. 997-982.
- [11] Velasco, M. A. y Lorenzo, F. P., Serrano, M. J. S. y Andres-Trelles, F. *Velásquez Farmacología*. Decimosexta edición. Editorial Interamericana-McGraw-Hill. España 1996. pp. 1026-1034.
- [12] Harold, W. B. y Neva, F. A. *Parasitología clínica*. Quinta edición. Editorial Interamericana. México, D. F. 1992. pp. 72-81.
-

-
- [13] Beaver, P. C., Jung, R. C. y Cupp, E. W. *Parasitología Clínica*. Segunda edición. Editorial Salvat Editores. México, D. F. 1992. pp. 65-88.
- [14] Volk, W. A. *Microbiología Médica*. Tercera edición. Editorial Interamericana, McGraw-Hill. México, D. F. pp. 771-773.
- [15] Matthew, J. L. y Stanley, S. R. *Métodos de laboratorio*. Segunda edición. Editorial Nueva editorial Interamericana. México, D. F. 1977. pp. 1072-1073.
- [16] *Diccionario MOSBY, Medicina, Enfermería y Ciencias de la Salud*. Quinta edición. Editorial Harcourt. España 2001. p 1340.
- [17] Mäntylä, A., Rautio, J., Nevalainen, T., Vepsäläinen, J., Juvonen, R., Kendrick, H., Garnier, T., Croft, S. L. and Järvinen, T. Synthesis, in vitro Evaluation, and Antileishmanial Activity of Novel buparvaquone oxime derivatives. *Bioorg. & Med. Chem.* 12, 3497-3502 (2004).
- [18] Fournet, A., Angelo, A., Muñoz, V., Roblot, F., Hocquemiller, R. and Cave, A. Biological and chemical studies of *Pera benensis*, a Bolivian plant used in folk medicine as a treatment of cutaneous leishmaniasis. *J. Ethnopharmacol.* 37, 159-164 (1992).
- [19] Teixeira, M. J., De Almeida, Y. M., Viana, J. R., Filha, J. G. H., Rodrigues, T. P., Prata, J. R. C., Coêlho, I. C. B., Rao, V. S. and Pompeu, M. M. L. *In vitro* and *in vivo* Leishmanicidal Activity of 2-hidroxy-3-(3-metyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (Lapachol). *Phytother. Res.* 15, 44-48 (2001).
- [20] Fessenden, R. J. y Fessenden, J. S. *Química Orgánica*. Segunda edición. Editorial Grupo Editorial Iberoamérica. México, D. F. 1983.
-

- [21] Lenhinger, A. L. *Bioquímica, Las bases moleculares de la estructura y función celular*. Segunda edición. Ediciones Omega. Barcelona 1995.
- [22] Devlin, T. M. *Bioquímica, Libro de texto con aplicaciones clínicas*. Tomo II. Segunda edición. Editorial Reverté, S. A. España 1988. pp.1235-1236.
- [23] Reusch, W. H. *Química Orgánica*. Editorial McGraw-Hill, México, D. F. 1979. pp. 317-318.
- [24] Toporek, M. *Bioquímica*. Segunda edición. Editorial Interamericana. México, D. F. 1975. pp. 136-139
- [25] Mathews, C. K. y Van Holde, K. E. V. *Bioquímica*. Segunda edición. Editorial McGraw-Hill. Interamericana. España 1996.
- [26] Murray, H. W. Susceptibility of *Leishmania* to oxygen intermediates and killing by normal macrophages. *J. Exp. Med.* 153, 1302-1315 (1981).
- [27] Docampo, R. and Stoppani, A. O. M. Generation of Superoxide Anion and Hydrogen Peroxide Induced by Nifurtimox in *Trypanosoma cruzi*. *Arch. Biochem. Biophys.* 197, 317-321 (1979).
- [28] Goulart, M. O. F., Zani, C. L., Tonholo, J., Freitas, L. R., de Abreu, F. C., Oliveira, A. B., Raslan, D. S., Starling, S. and Chiari, E. Trypanocidal activity and redox potential of Heterocyclic and 2-Hydroxy-Naphthoquinones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 7, 2043-2048 (1997).
-

-
- [29] Ribeiro-Rodrigues, R., Dos Santos, W. G., Oliveira, A. B., Snieckus, V., Zani, C. L. and Romanha, A. J. Growth inhibitory effect of naphthofuran and Naphthofuranquinone derivatives on *Trypanosoma cruzi* Epimastigotes, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 5, 1509-1512 (1996).
- [30] Laurence, S.-C., Buisine, E., Yardley, V., Kohler, S., Debreu, M.-A., Landry, V., Sergheraert, C., Croft, S. L., Krauth-Siegel, R. L. and Davioud-Charvet, E. 2- and 3-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. *J. Med. Chem.* 44, 548-565 (2001).
- [31] Croft, S. L., Evans, A. T. and Neal, R. A. Short Communications, The activity of plumbagin and other electron carriers against *Leishmania donovani* and *Leishmania mexicana amazonensis*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 79, 651-653 (1985).
- [32] Croft, S. L. Hogg, J. Gutteridge W. E., Hudson A. T., Randa, H. A. W. The activity of hydroxynaphthoquinones against *Leishmania donovani*. *J. Antimicrob. Chemother.* 30, 827-832 (1992).
- [33] Tapia, R. A., Alegria, L., Pessoa, C. D., Salas, C., Cortés, M. J., Valderrama, J. A., Sarciron, M., Pautet M. F., Walchshofer, N. and Fillion H. Synthesis and Antiprotozoal Activity of Naphthofuranquinones and Naphthothiophenequinones Containing A Fused Thiazole Ring. *Bioorg. Med. Chem.* 11, 2174-2182 (2003).
- [34] Hazra, B., Sarkar, R., Battacharyya, S., Ghosh, P. K., Chel, G. and Dinda, B. Synthesis of Plumbagin Derivatives and their Inhibitory Activities against Ehrlich Ascites Carcinoma in vitro and *Leishmania donovani* Promastigotes in vitro. *Phytother. Res.* 16, 133-137 (2002).
-

- [35] Aldunate, J., Traipe, L., Spencer, P., Morello, A. and Repetto, Y., Effects of Hydroquinones on intact *Trypanosoma Cruzi* epimastigotes. *Comp. Biochem. Physiol.* 103C, 96-100 (1992).
- [36] Carey, F. A. Química Orgánica. Tercera edición. Editorial McGraw-Hill. España 1999.
- [37] McMurry, J. *Química Orgánica*. Sexta edición. Editorial Thomson. México, D. F. 2004.
- [38] Macías, R. N. A. Correlación entre la estructura molecular y los sitios de aceptación de electrones en la electroreducción de aminoquinonas en acetonitrilo e influencia de los puentes de hidrógeno y la protonación sobre los mecanismos de reducción. Tesis de Doctorado. Facultad de Química. UNAM, México 2002.
- [39] Castro, B. T. y Gallardo, R. C. *Artemia sp.* Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. México, D. F. 1993.
- [40] Colegate, S. M., and Molyneux, R. J. *Bioactive Natural Products*, Cap. 18, Teng, W. S. Toxicity testing using the brine shrimp: *Artemia salina*. Ed. CRS Press, USA, 1993. pp. 441-453.
- [41] Bancroft, H. *Introducción a la bioestadística*. Séptima edición. Editorial EUDEBA. Argentina 1971. pp. 233-239.
- [42] Oliveira, M. F., Lemos, T. L. G., Mattos, M. C., Segundo, T. A., Santiago, G. M. P. and Braz-Filho, R. New enamine derivatives of lapachol and biological activity. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. 74, 211-221, (2002).
-

- [43] Nakanishi K. *Infrared absorption spectroscopy*. Nankodo Company Limited. Japón 1962.
- [44] Pretsch, E. B. P. *Structure determination of organic compounds. Tables of Spectral data*. Springer, Alemania 2000.
- [45] Silverstein, R. M., Clayton, B. G. and Morill, C. T. *Spectrometric identification of organic compounds*. Quinta edición. John Wiley and Sons. New York 1991.
- [46] Avendaño, L. M. C. *Introducción a la Química Farmacéutica*. Editorial Interamericana McGraw-Hill. España 1993. pp. 74-78.
- [47] Del Río P. J. F. Determinación de la estructura de proteínas por Resonancia Magnética Nuclear. Mensaje Bioquímico Vol. XXVII. México D. F. 2003.
- [48] Ugalde M. E. Síntesis de aminas derivadas de 2-metil-1,4-naftoquinona con posible actividad leishmanicida y determinación de su actividad larvicida en *Artemia salina*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM, México, D. F. 2004.
- [49] *Diccionario enciclopédico ilustrado de Medicina Dorland*. Vigésimo séptima edición. Ed. Interamericana. Mc-Graw-Hill. España 1988.
- [50] Diccionario de la Lengua Española, Vigésima segunda edición. Tomo I y II. Real Academia Española. España 2001.
-

GLOSARIO

Antígeno: Moléculas que introducidas en un animal, inducen una respuesta inmunitaria, es decir, inician un proceso biológico que implica en particular la proliferación de células linfoides y que determina la síntesis por esas últimas de moléculas de reconocimiento (anticuerpos o receptores celulares) que tienen la propiedad de combinarse específicamente *in vitro* o *in vivo* con un antígeno inductor. ^[49]

Autógeno: Capacidad de producir huevos sin ingestión de sangre.^[9]

Axonema: Núcleo central del cilio o flagelo, compuesto por un par central de filamentos rodeados por otros nueve pares. ^[49]

Biopsia: Extirpación y examen, normalmente al microscopio, de tejidos al cuerpo vivo para establecer un diagnóstico preciso. Por aguja: Método de obtención de una muestra de un tejido profundo por inserción percutánea de una aguja especialmente diseñada, que puede llevar en su interior, para extraer la muestra de su lumen. ^[49]



Catalasa: Enzima del tipo de las oxidorreductasas que cataliza la descomposición muy rápida del peróxido de hidrógeno, en agua y oxígeno. Se encuentra en casi todas las células, excepto en ciertas bacterias anaerobias y acidolácticas.^[49]

Cefálea: Dolor de cabeza por cualquier causa.^[16]

Ciclo de Krebs: Ciclo de reacciones que tiene lugar en la matriz mitocondrial y que conlleva la oxidación de unidades acetilo a CO₂ con la producción de equivalentes reductores y ATP. Es una ruta central de la respiración oxidativa.^[25]

Cinetoplasto: Organelo cinetoplasmático de tamaño considerable, con forma de bastoncillo o cilíndrico, rico en ADN, que se duplica de manera independiente y se encuentra dentro de la mitocondria alargado de los protozoos del orden *Kinetoplastida*.^[49]

Colorante de Giemsa: Solución que contiene azur II-eosina, azur II, glicerina y metanol; se emplea para teñir protozoarios como tripanosomas, *Leishmania*, etc.^[49]

Colorante de Wright: Mezcla de eosina y azul de metilo que se emplea para demostrar corpúsculos sanguíneos y parásitos del paludismo.^[49]

Cromatina: La porción más fácilmente tingible del núcleo celular, que forma una red de fibrillas nucleares dentro de la acromatina de una célula. Es un ácido desoxirribonucleico unido a una base de estructura proteica (principalmente histona) y es portador de los genes de herencia.^[49]

Edema: Acumulación anormal de líquido en el espacio intersticial de los tejidos. El edema puede ser localizado, por obstrucción venosa o linfática, o por aumento de la impermeabilidad vascular, o generalizado debido a insuficiencia cardíaca o nefropatía. La acumulación de líquido de edema se designa según el sitio. El edema generalizado se llama anasarca.^[49]

Endémico: Una enfermedad o agente etiológico que se presenta de forma constante o que suele prevalecer en una población o zona geográfica.^[49]

Enzoótico: Enfermedad de morbilidad baja que se presenta constantemente en una comunidad animal.^[49]

Epimastigote: Etapa morfológica del desarrollo de algunos protozoarios de la familia *Trypanosomatidae* y que se caracteriza por ser una célula alargada con núcleo vesicular central y tener un flagelo cuyo cinetoplasto y cuerpo basal ocupan una posición delantera al núcleo: el flagelo permanece unida al cuerpo celular por una membrana ondulante antes de emerger.^[49]

Escalpe: Instrumento en forma de cuchillo pequeño, de hoja fina, puntiaguda, de uno o dos cortes, que se usa en las disecciones anatómicas, autopsias y vivisecciones.^[50]

Escroto: Bolsa que contiene los testículos y órganos accesorios.^[49]

Espícula: Cuerpo o segmento en forma de agujas.^[50]

Esplenomegalia: Aumento anormal del tamaño del bazo.^[16]

Fagocito: Célula capaz de rodear, engullir y digerir microorganismos y restos celulares. Los fagocitos fijos que no circulan, son los macrófagos fijos y las células del sistema reticuloendotelial. Los fagocitos que circulan por el torrente sanguíneo, son los leucocitos y los macrófagos libres.^[16]

Fagocitosis: Proceso por el que ciertas células engloban y eliminan microorganismos y restos celulares.^[16]

Flagelo: Prolongación larga, móvil y similar a un látigo, de la superficie de una célula, que actúa como un organelo locomotor. Los flagelos, que nacen de los cuerpos basales son comunes en todos los protozoos mastigóforos.^[49]

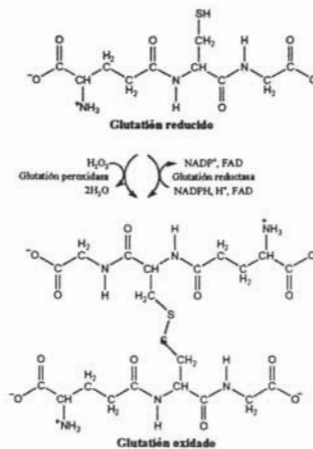
Frotis: Muestra de laboratorio para estudio microscópico que se prepara mediante extensión de una fina película de tejido sobre un portaobjetos de vidrio. Puede tratarse la muestra con un colorante, un tinte, un reactivo, un disolvente o un agente que favorece la lisis celular. [16]

Gerbil: Pequeño roedor subterráneo nativo de las partes más áridas de África y la parte sudoccidental de Asia, también se le conoce como gerbo. [49]

Globulina: Categoría extensa de proteínas simples clasificadas por sus solubilidad, movilidad electroforética y tamaño. [16]

Glucólisis: Ruta inicial del catabolismo de los hidratos de carbono, en la que una molécula de glucosa se degrada a dos moléculas de piruvato, con la producción neta de moléculas de ATP y la reducción de dos moléculas de NAD^+ a NADH. En condiciones aerobias, estas moléculas de NADH se reoxidan por la cadena de transporte de electrones. En condiciones anaerobias, se utiliza un aceptor de electrones diferente. [25]

Glutación peroxidasa: Enzima oxidorreductasa que convierte el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que puedan formar radicales libres. [49]



Gran gerbo: Roedores que tienen tres dedos en las extremidades posteriores, son animales con cuerpo recogido, cabeza voluminosa, ojos grandes, narices abiertas, un hocico truncado, patas anteriores muy cortas, patas posteriores extraordinariamente largas y con tres dedos casi iguales, cubiertos con largos pelos tiesos y duros, tiene cola muy larga.^[50]

Hirácido: Son animales de reducido tamaño, con las orejas muy cortas, la cola rudimentaria, cuatro dedos anteriores y tres posteriores provistos de pesuñas muy pequeñas, son animales de la región etiópica.^[50]

Hospedero: Vegetal o animal en el que se hospeda un parásito.^[50]

Incisión: Abrir cortando o cortar con un instrumento afilado.^[49]

Inoculación: Introducción de microorganismos, material infeccioso, suero y otras sustancias en los tejidos de plantas y animales vivientes, o en medios de cultivo; introducción de un agente de enfermedad (virus de la vacuna) en un individuo sano para producir una forma leve de enfermedad a lo que sigue inmunidad.^[49]

Leucocitos: Célula o corpúsculo blanco de la sangre.^[49]

Macrófago: Célula fagocítica ubicua que se halla en los tejidos y en la sangre. Cualquiera de las muchas formas de fagocitos mononucleares encontradas en los tejidos. Los fagocitos mononucleares producen de las células madre pluripotenciales de la médula ósea, tras pasar por los estados de monoblasto y promonocito al de monocito, entran en la sangre, circulando unas 40 horas. A continuación, entran en los tejidos aumentando su tamaño, actividad fagocitaria y contenido enzimático lisosómico, convirtiéndose en macrófago. La mayoría de los macrófagos tienen un núcleo redondo, un aparato de Golgi bien desarrollado, abundantes vacuolas endocitósicas, lisosomas y fagolisosomas y una membrana plasmática cubierta con estriaciones o microvellosidades.^[49]

Médula ósea: Tejido blando especializado lleno de espacios en el hueso esponjoso de las epífisis. La médula amarilla grasa se encuentra en el hueso compacto de la mayoría de las epífisis de los adultos. La médula roja se encuentra en muchos huesos de lactantes y niños y en el hueso esponjoso de la epífisis proximal del húmero y el fémur y en el esternón, las costillas y los cuerpos vertebrales de los adultos.^[16]

Metástasis: Transferencia de enfermedad de un órgano a una parte hacia otro sitio no directamente relacionado. Puede ser causada por transferencia de microorganismos patógenos (por ejemplo: bacilos tuberculosos) o por transferencia de células, como sucede en los tumores malignos. La capacidad de hacer metástasis es una característica de todos los tumores malignos.^[49]

Morfología: Estudio de la forma física y del tamaño de una muestra, planta o animal.^[16]

NADPH: Fosfato del nicotinamida adenina dinucleótido, una coenzima reductora, relacionada estrechamente con NADH. Es la forma reducida de NADP⁺.^[49]

Neumonía: Inflamación aguda de los pulmones, habitualmente producida por la inhalación de neumococos.^[16] **Intercurrente:** Que interfiere en el curso de una enfermedad ya existente y lo modifica.^[49]

Oviposición: Acción de poner o depositar huevos.^[49]

Punción esplénica: Perforación del parénquima del bazo para obtener datos de presión o inyectar material.^[16]

Sistema reticuloendotelial: Sistema funcional del cuerpo que participa principalmente en la defensa de las infecciones y en la eliminación de los productos de degradación de las células. Está formado por los macrófagos, las células de Kupffer del hígado y las células reticulares de los pulmones, de la médula ósea, del bazo y los ganglios linfáticos.^[16]

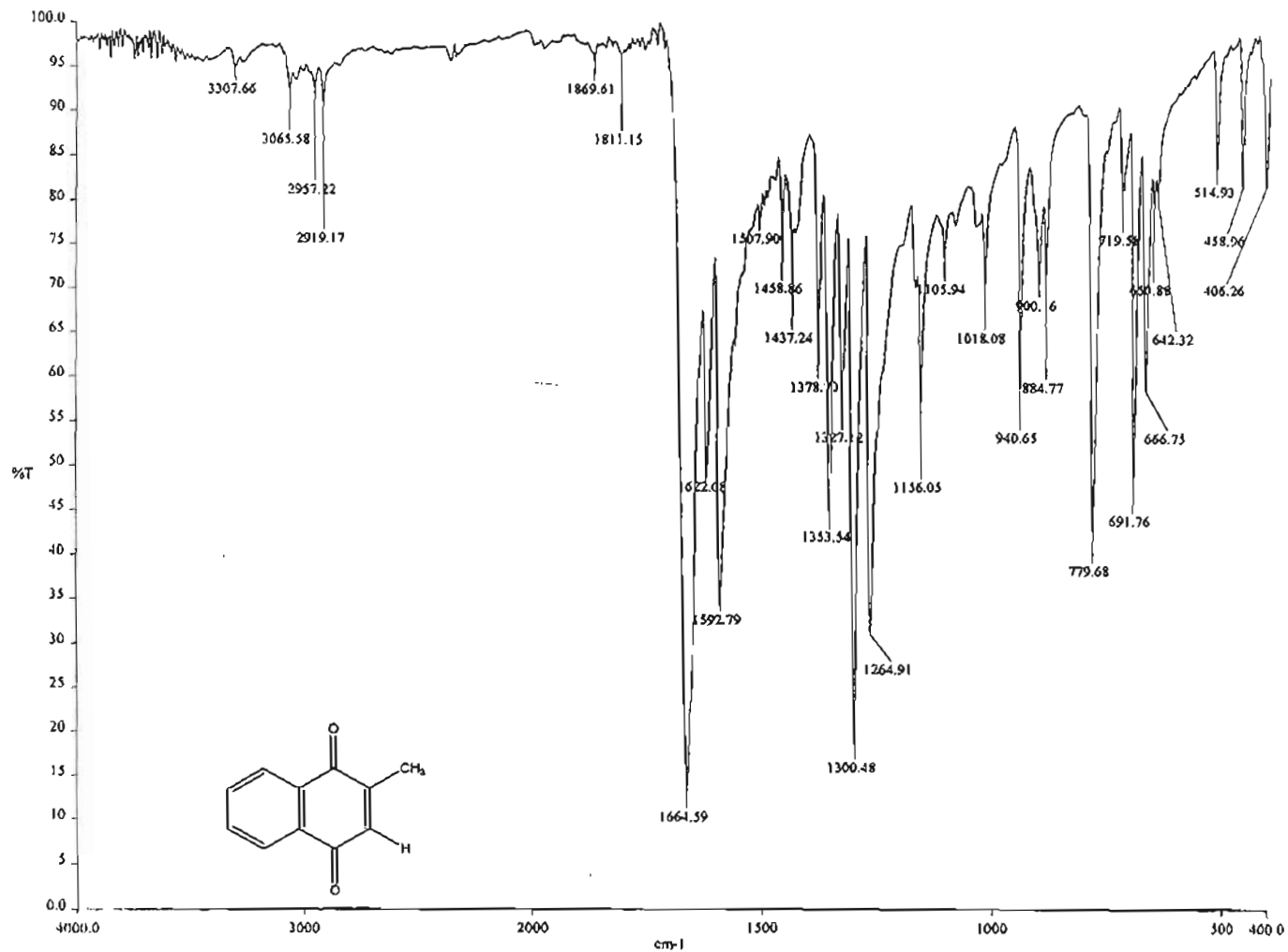
Superóxido dismutasa: Enzima de la clase oxidoreductasa que cataliza la reacción entre el ion superóxido y los protones del medio para producir oxígeno y peróxido de hidrógeno. La enzima protege a las células contra los niveles nocivos de superóxido.^[49]

Taxonomía: Ordenación por categorías y clases, es una clasificación ordenada de los organismos en categorías apropiadas, según las relaciones que muestran entre ellos, aplicando los nombres adecuados y correctos.^[49]

Trypanosoma: Género de protozoos (suborden Trypanosomatina, orden Kinetoplastida) formada por hemoflagelados parásitos de invertebrados y vertebrados, incluidos los seres humanos. **Cruzi:** Especie que infecta a hombres, armadillos, murciélagos, gatos, cobayos y otros animales de América Central del Sur y hasta el sudoeste de Estados Unidos. Es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas.^[49]

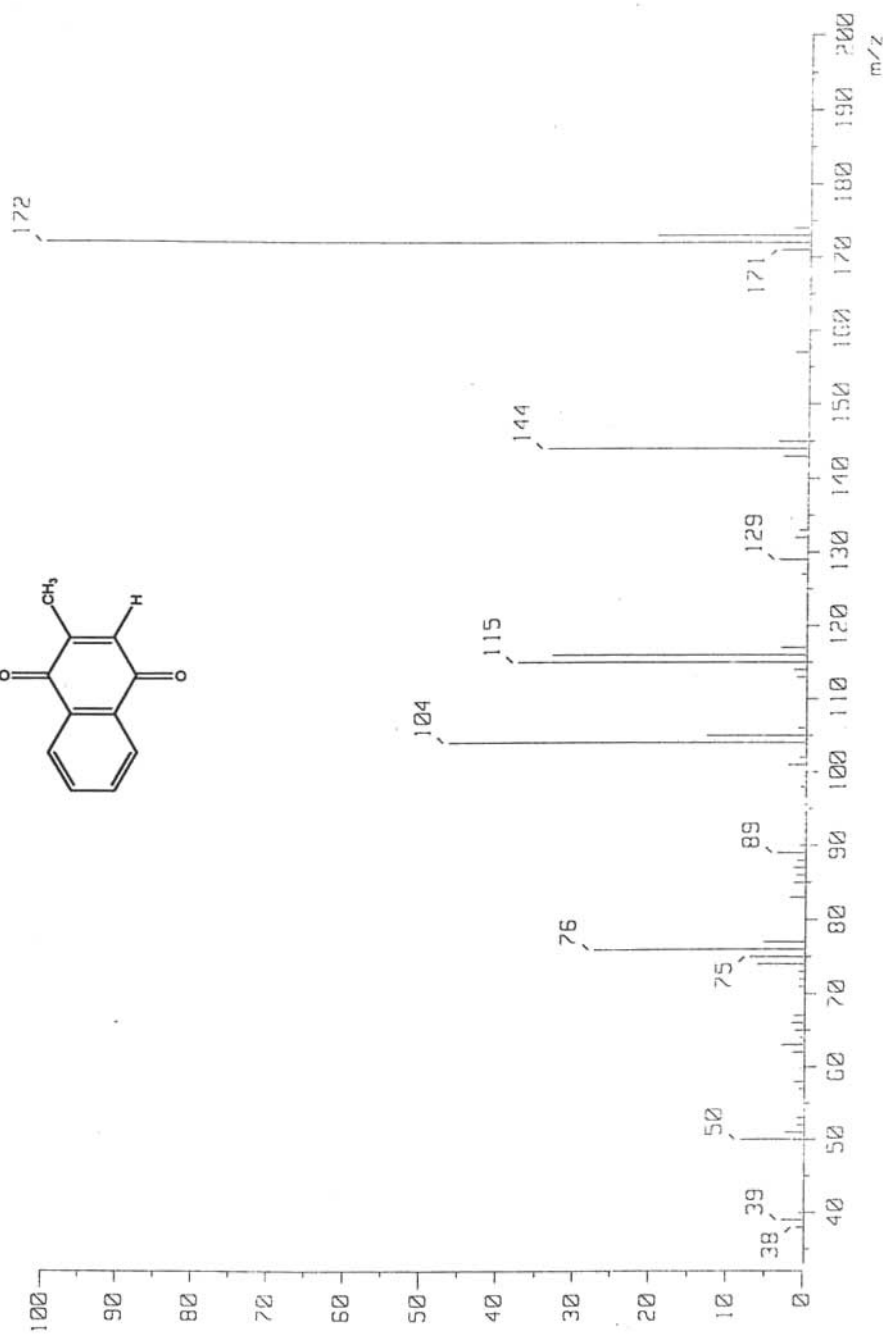
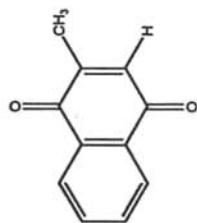
ANEXO

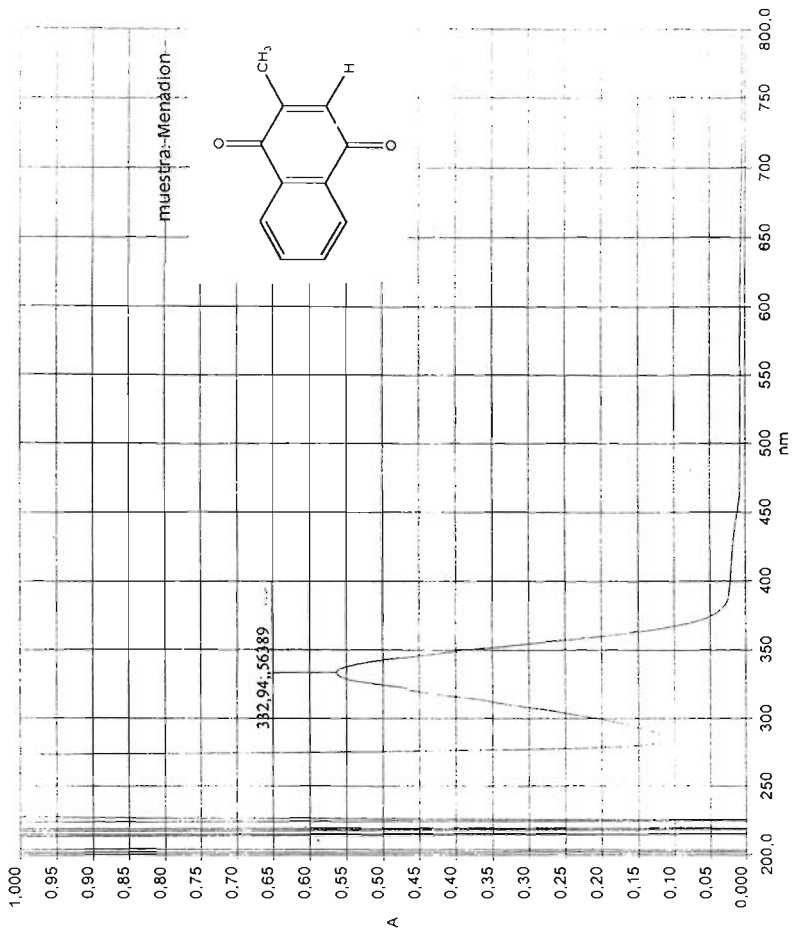
En la siguiente sección se presentan los espectros de las técnicas espectroscópicas de IR, EM, UV, RMN ^1H y ^{13}C , así como HETCOR.



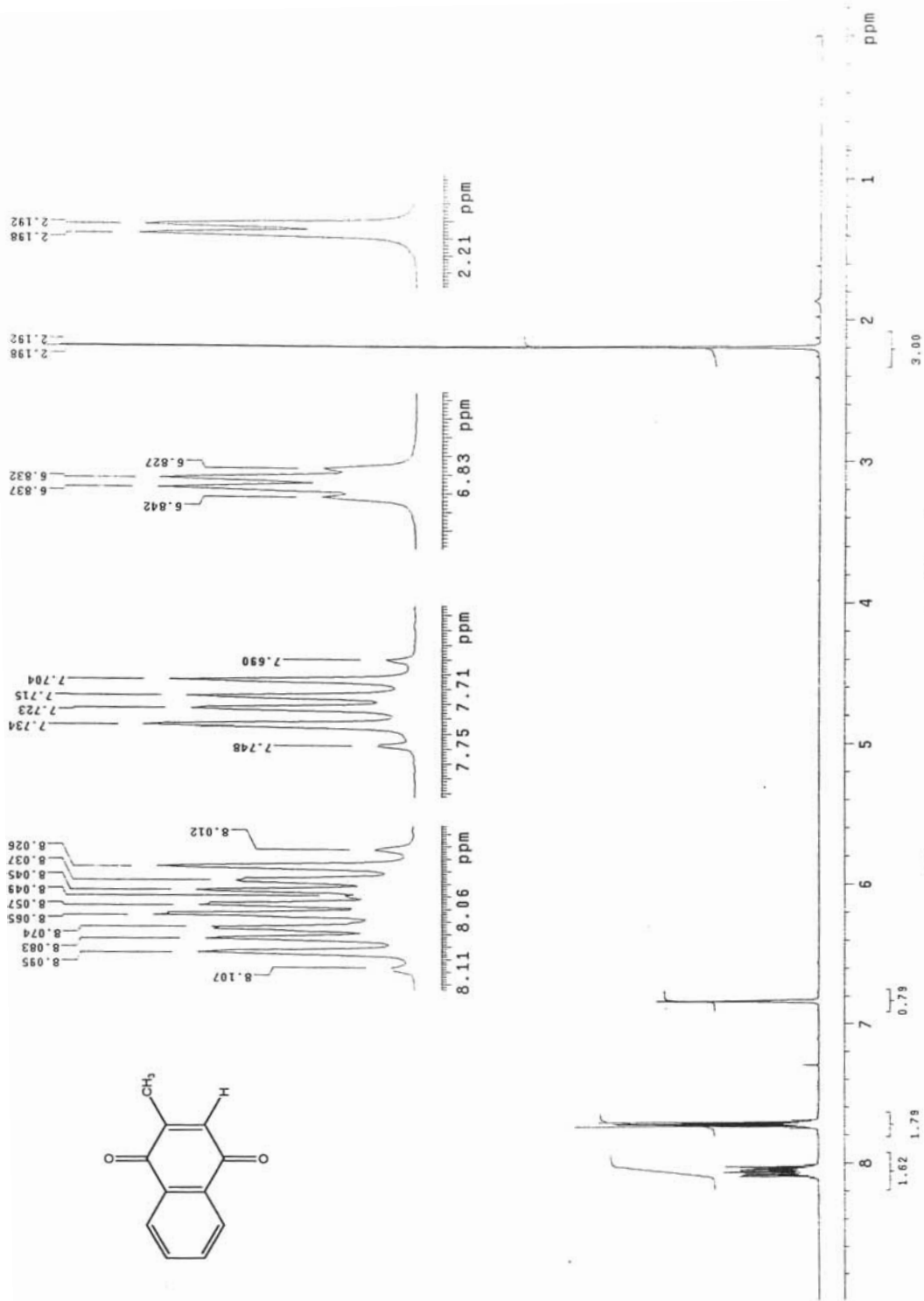
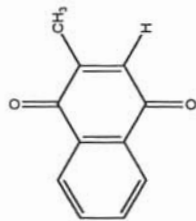
Espectro 1. 2-metil-1,4-naftoquinona

Espectro 2. 2-metil-1,4-naftoquinona



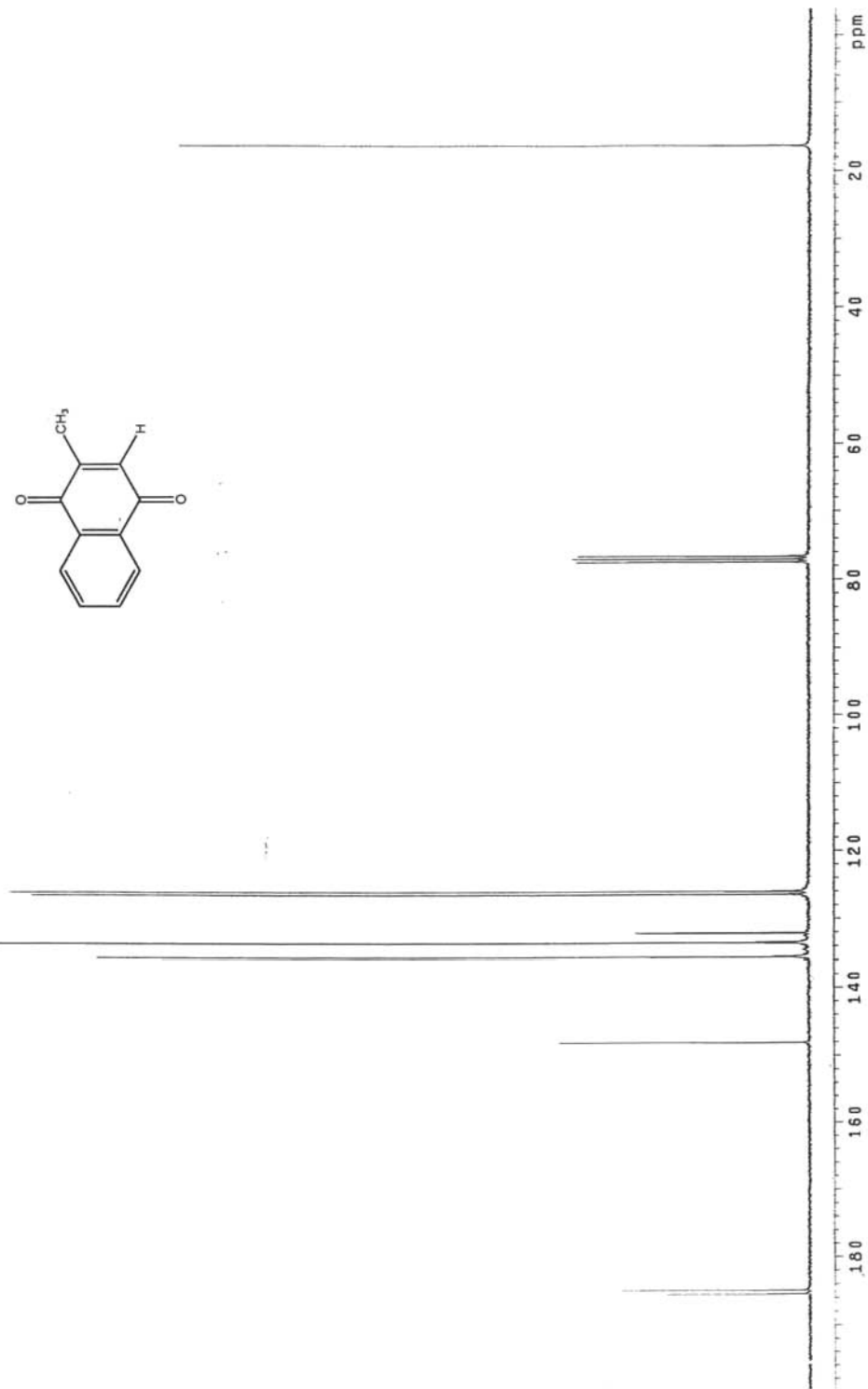
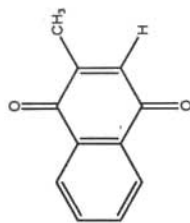


Espectro 3. 2-metil-1,4-naftoquinona

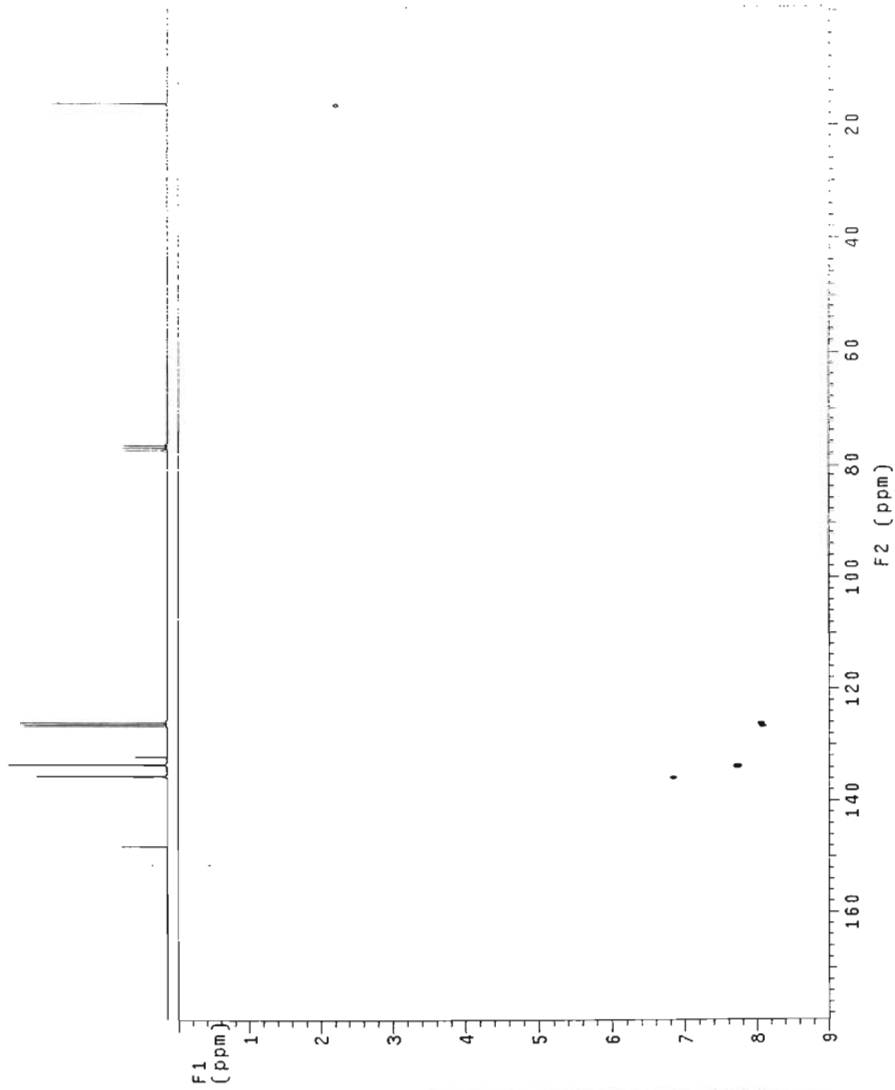
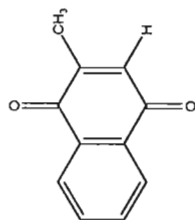


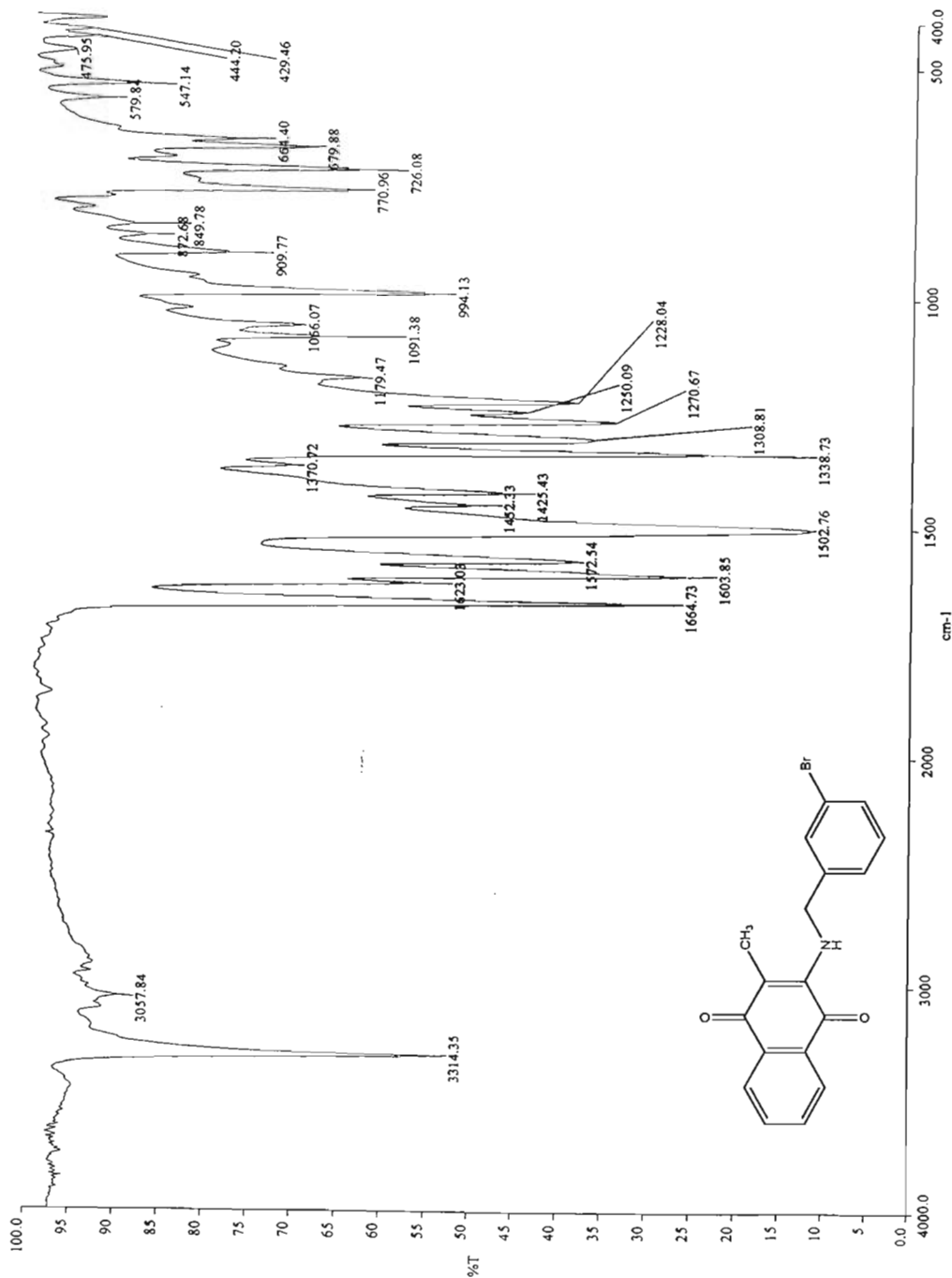
Espectro 4. 2-metil-1,4-naftoquinona

Espectro 5. 2-metil-1,4-naftoquinona



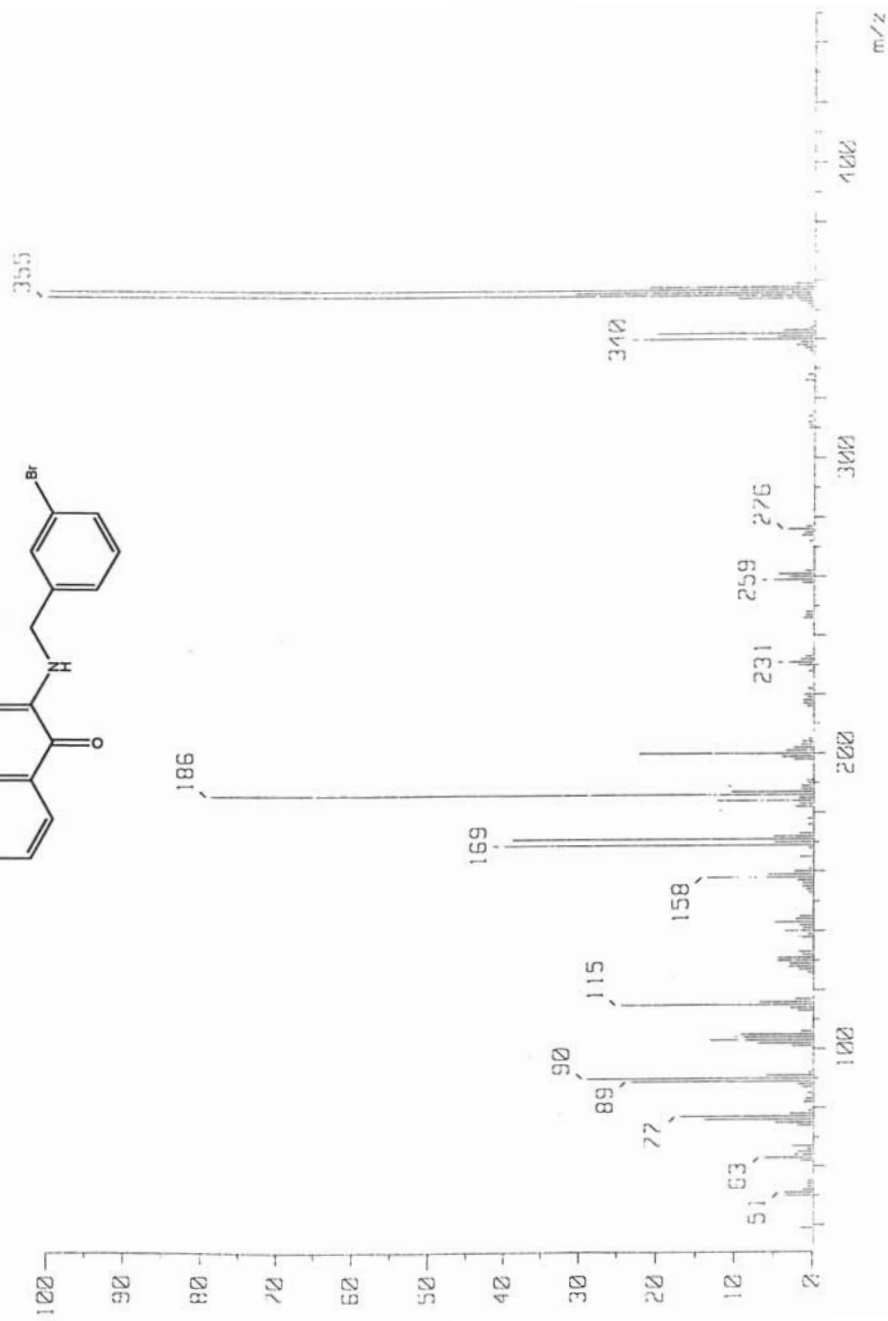
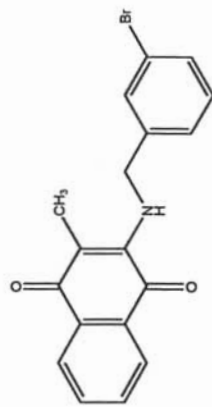
Espectro 6. 2-metil-1,4-naftoquinona

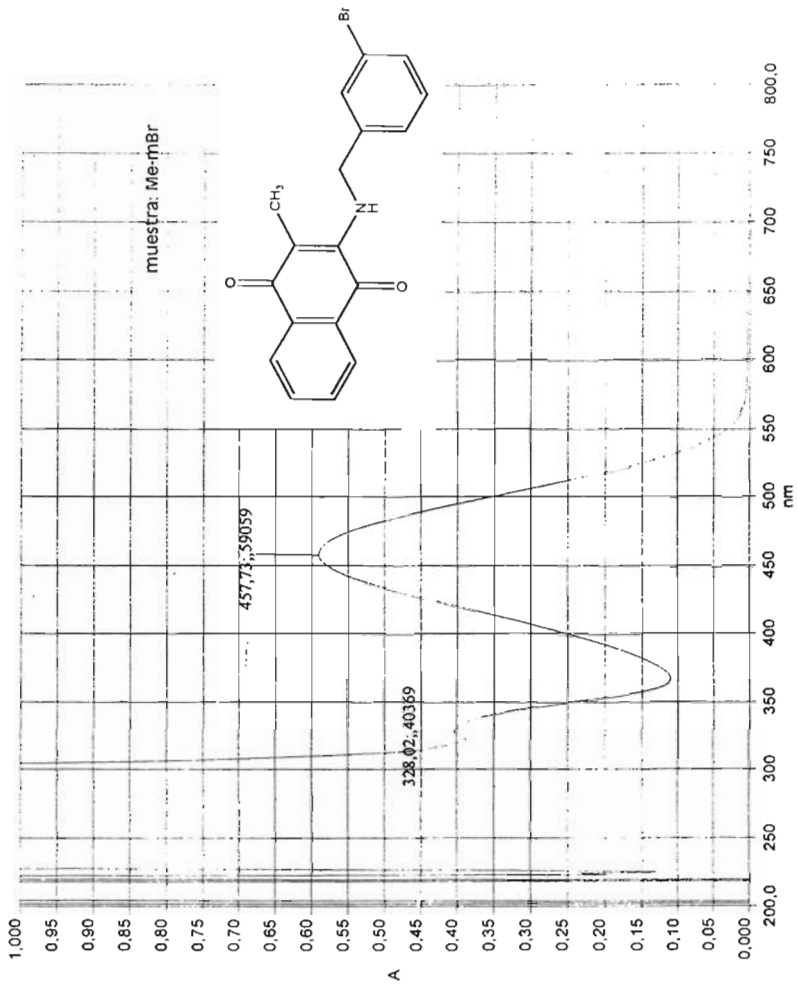




Espectro 7. 3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquina

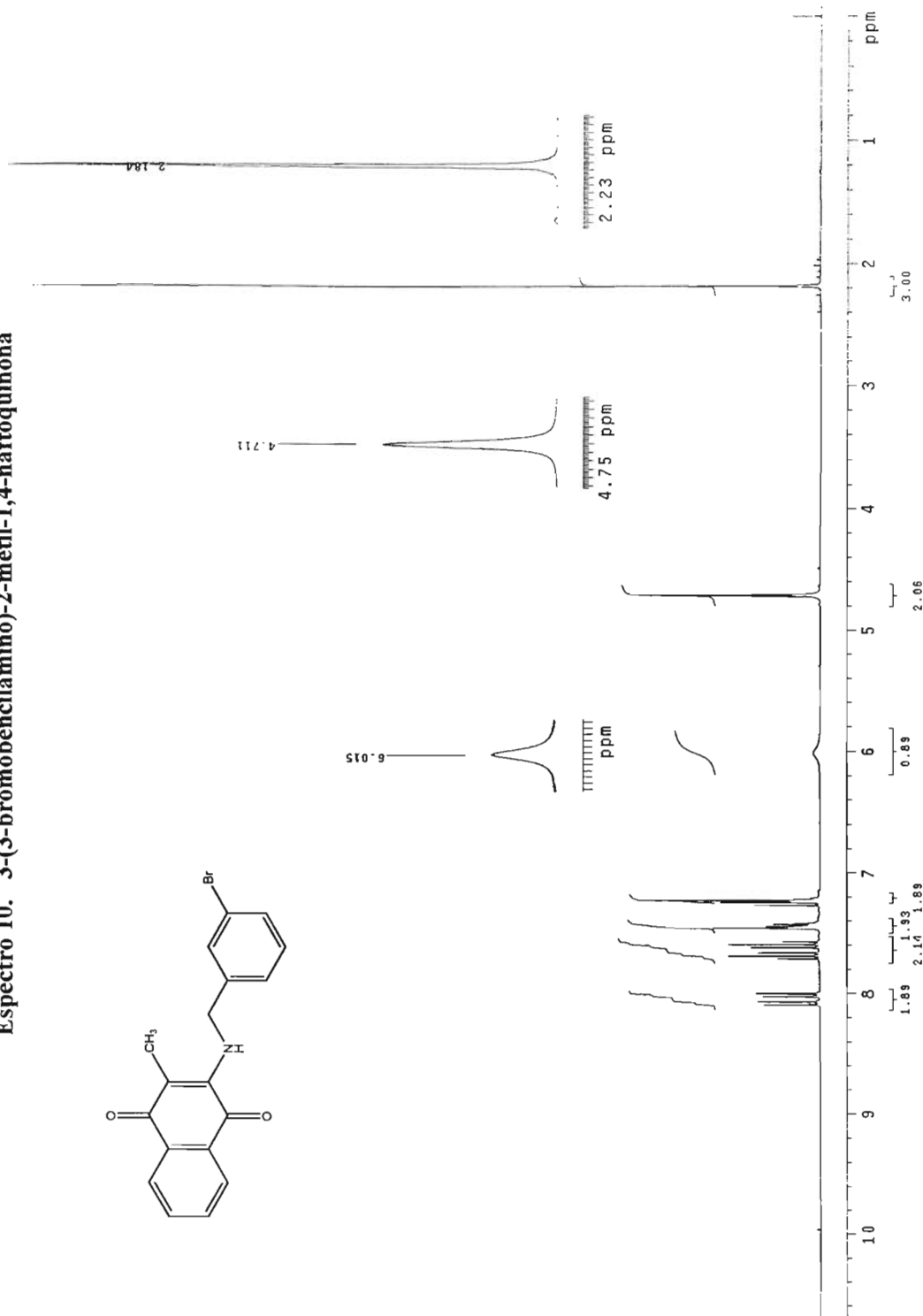
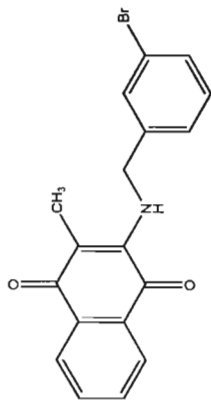
Espectro 8. 3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



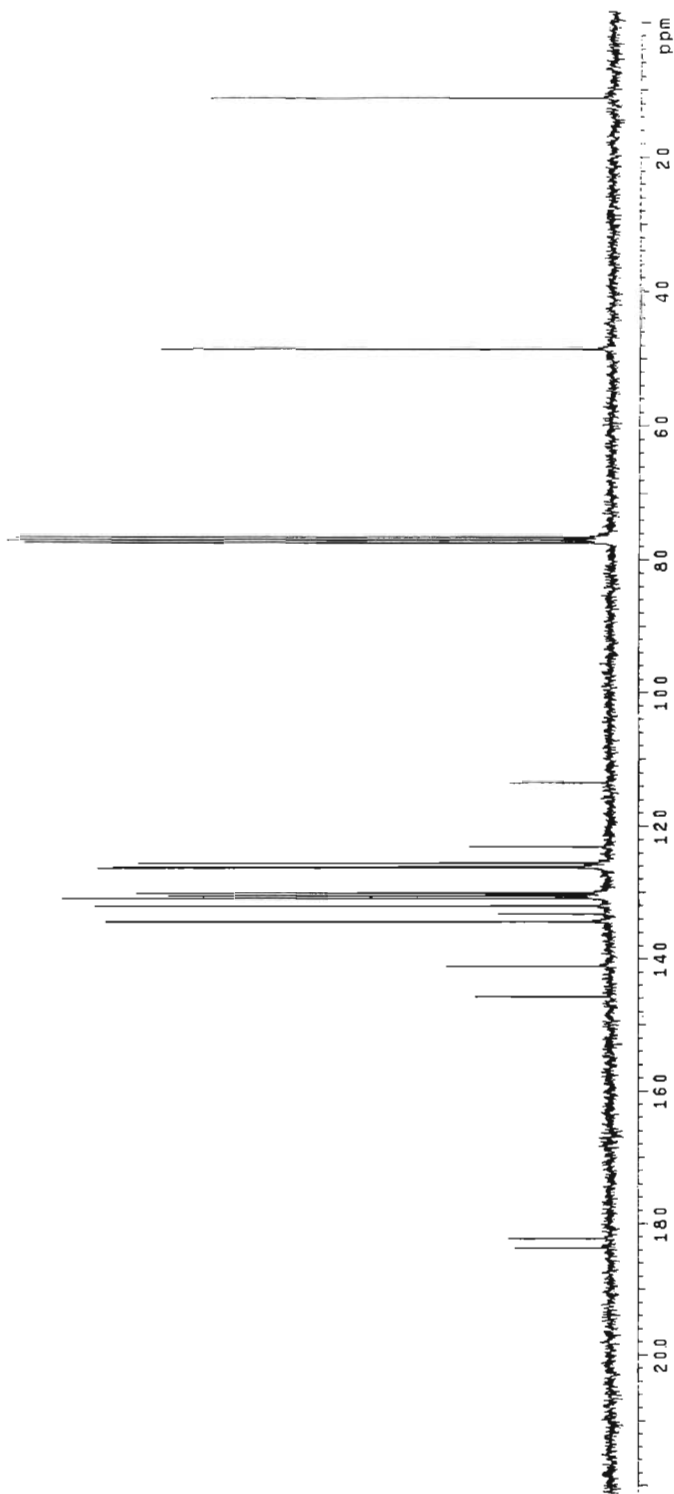
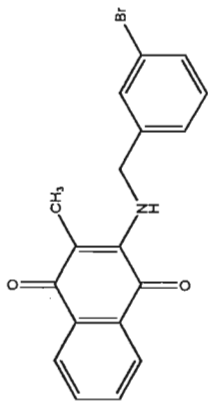


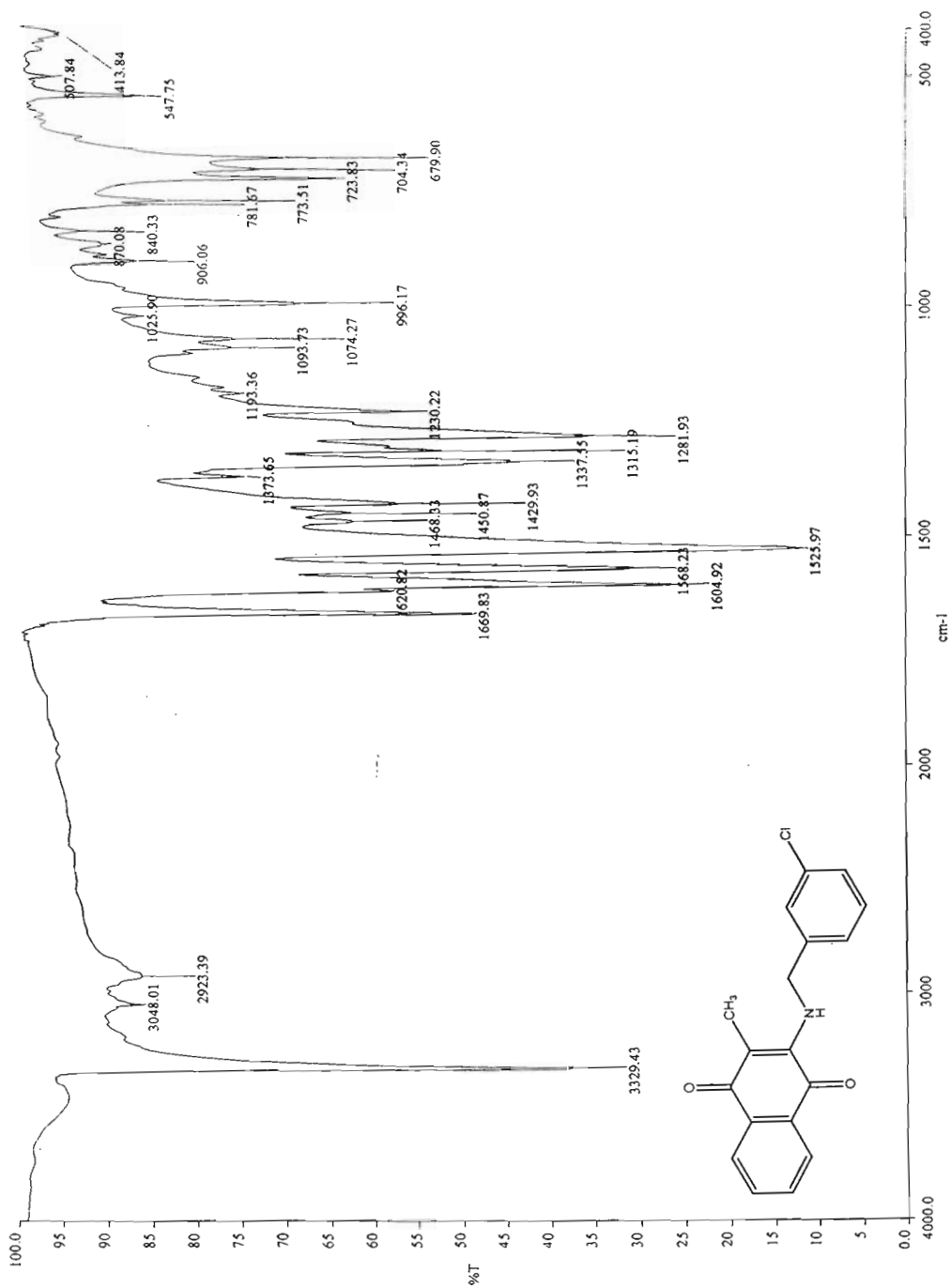
Espectro 9. 3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

Espectro 10. 3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



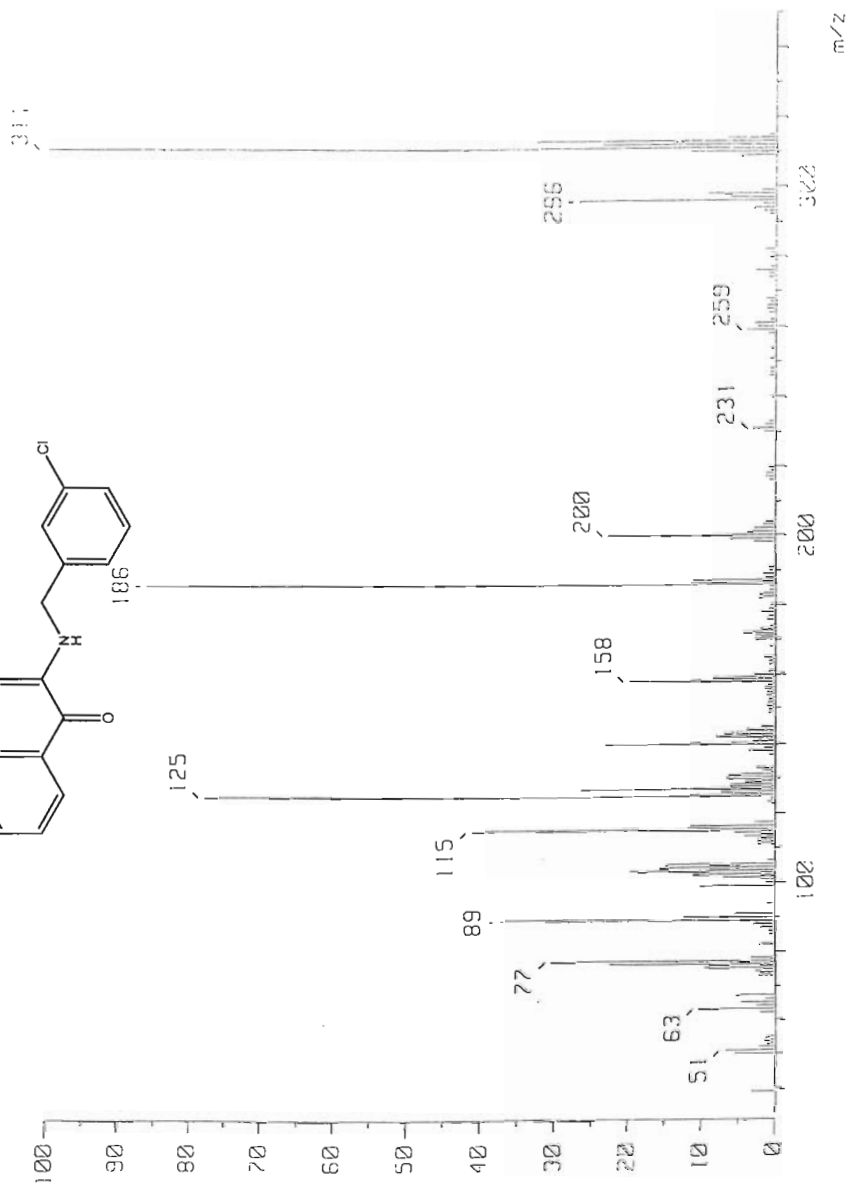
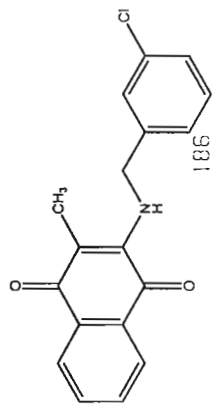
Espectro 11. 3-(3-bromobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

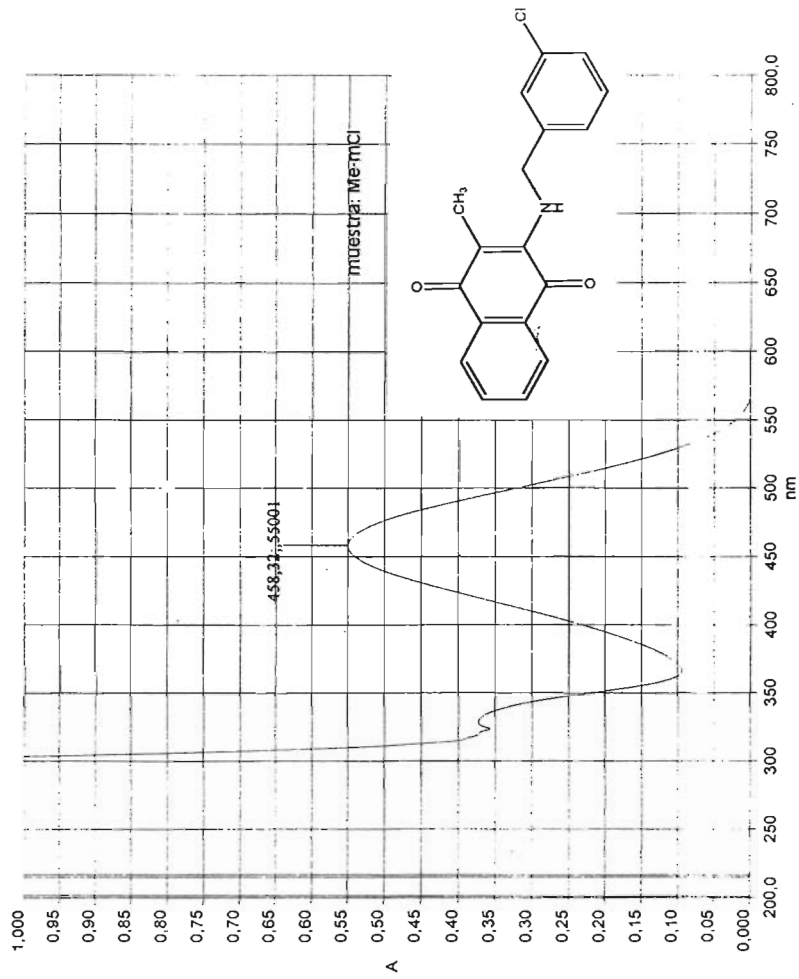




Espectro 13. 3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

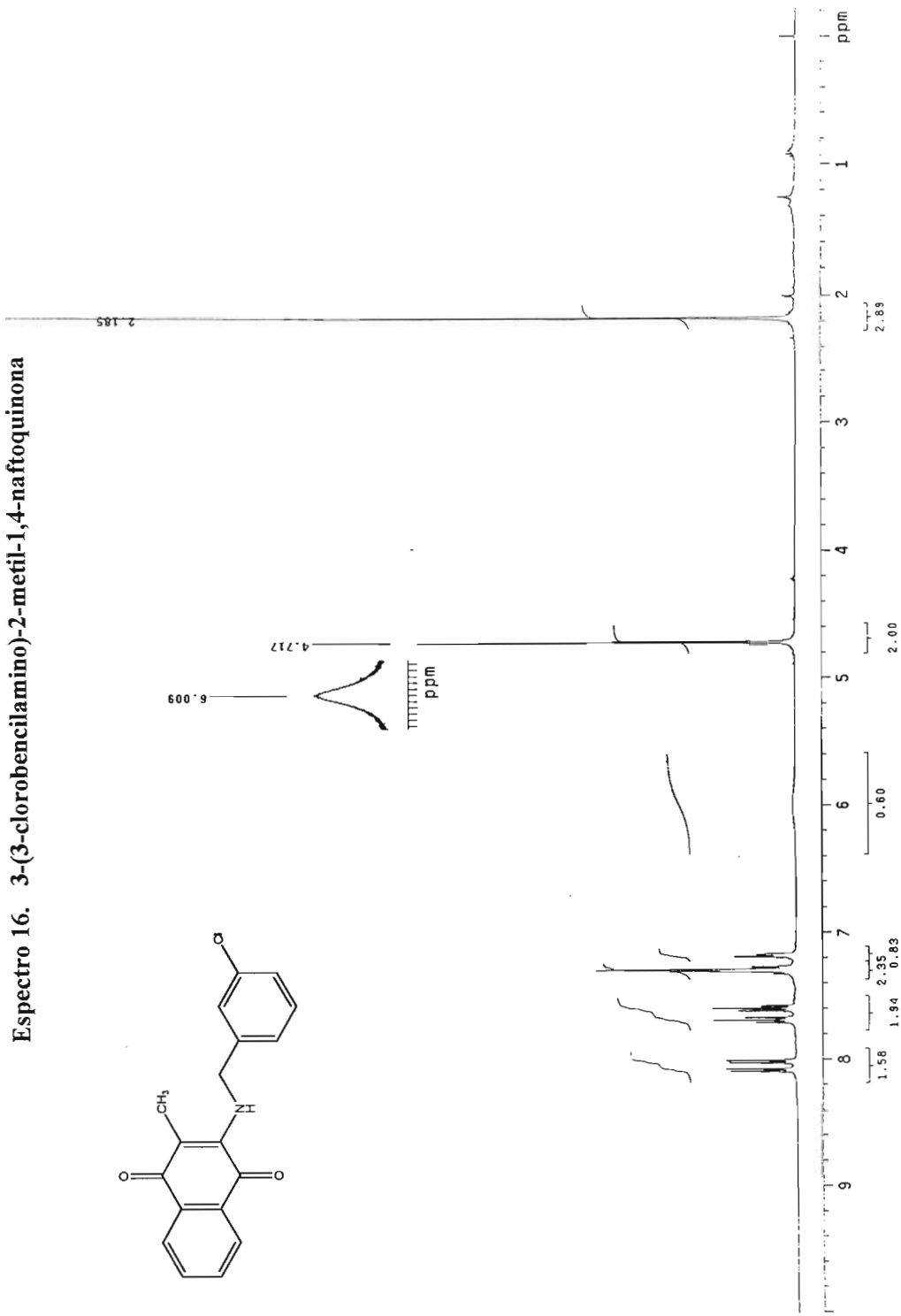
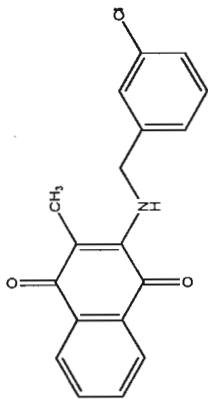
Espectro 14. 3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



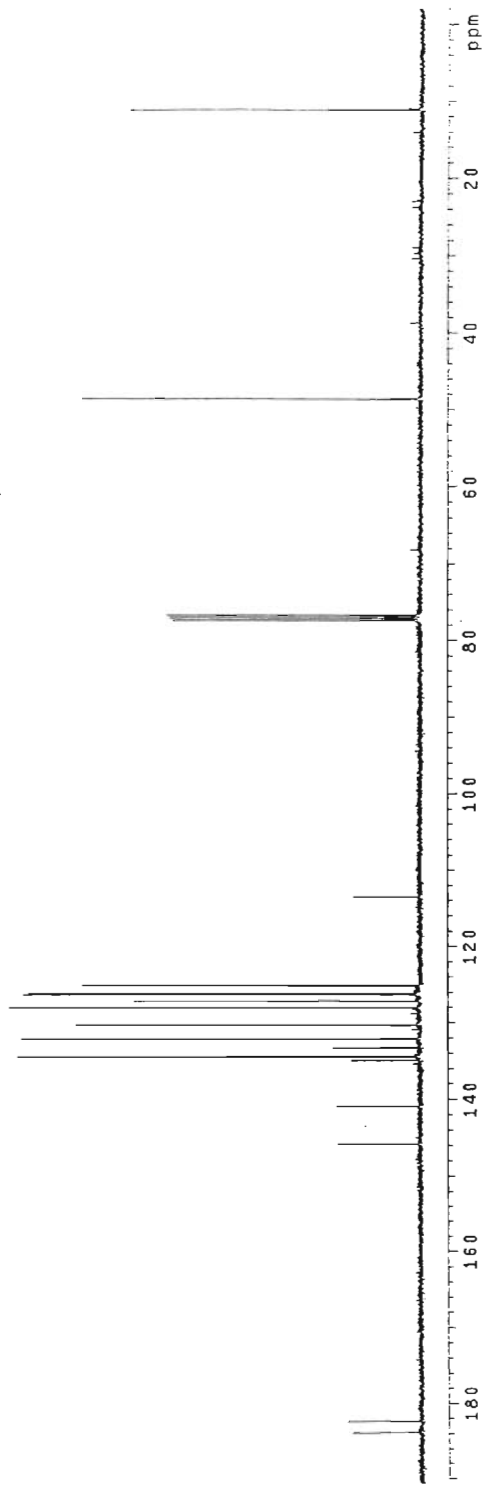
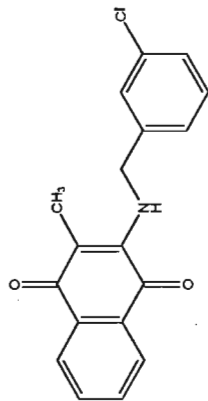


Espectro 15. 3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

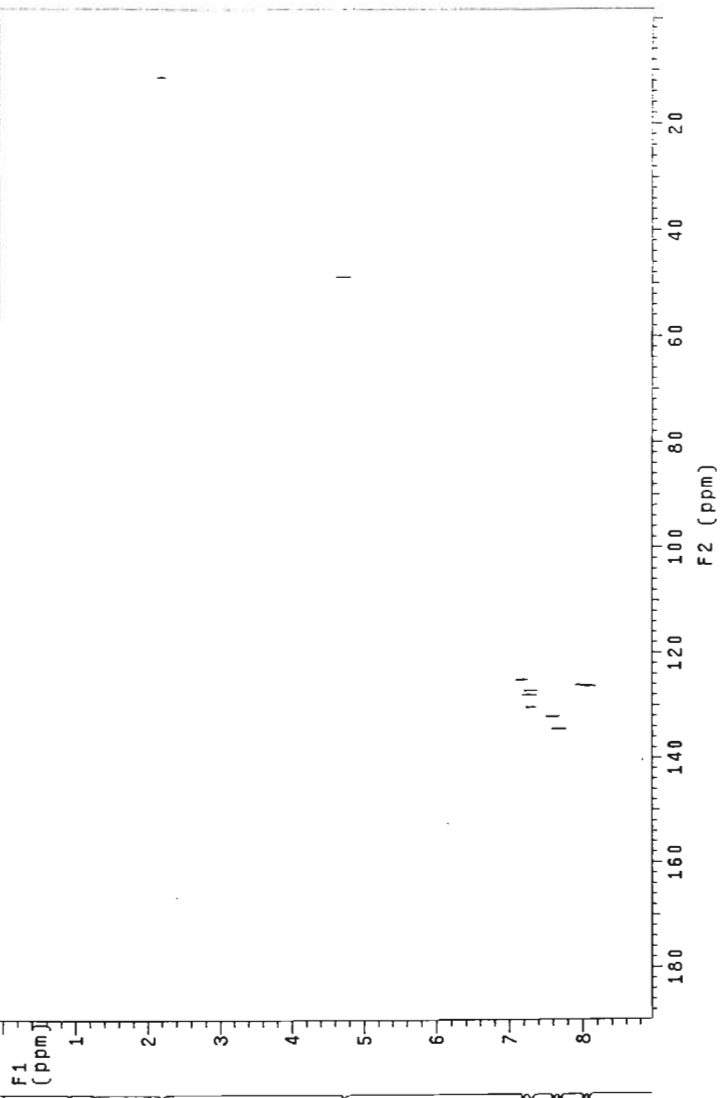
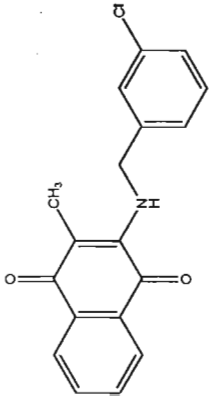
Espectro 16. 3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

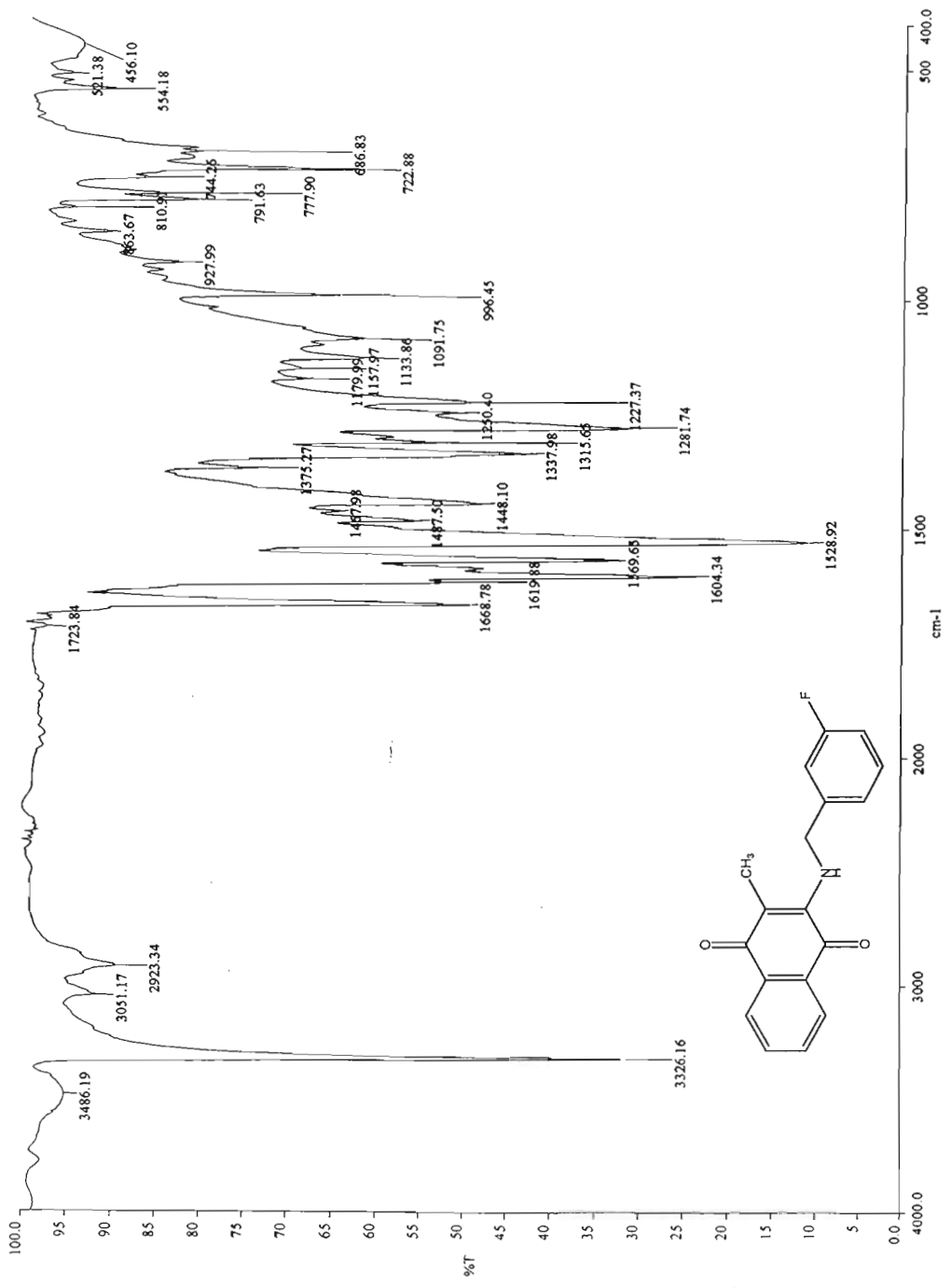


Espectro 17. 3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



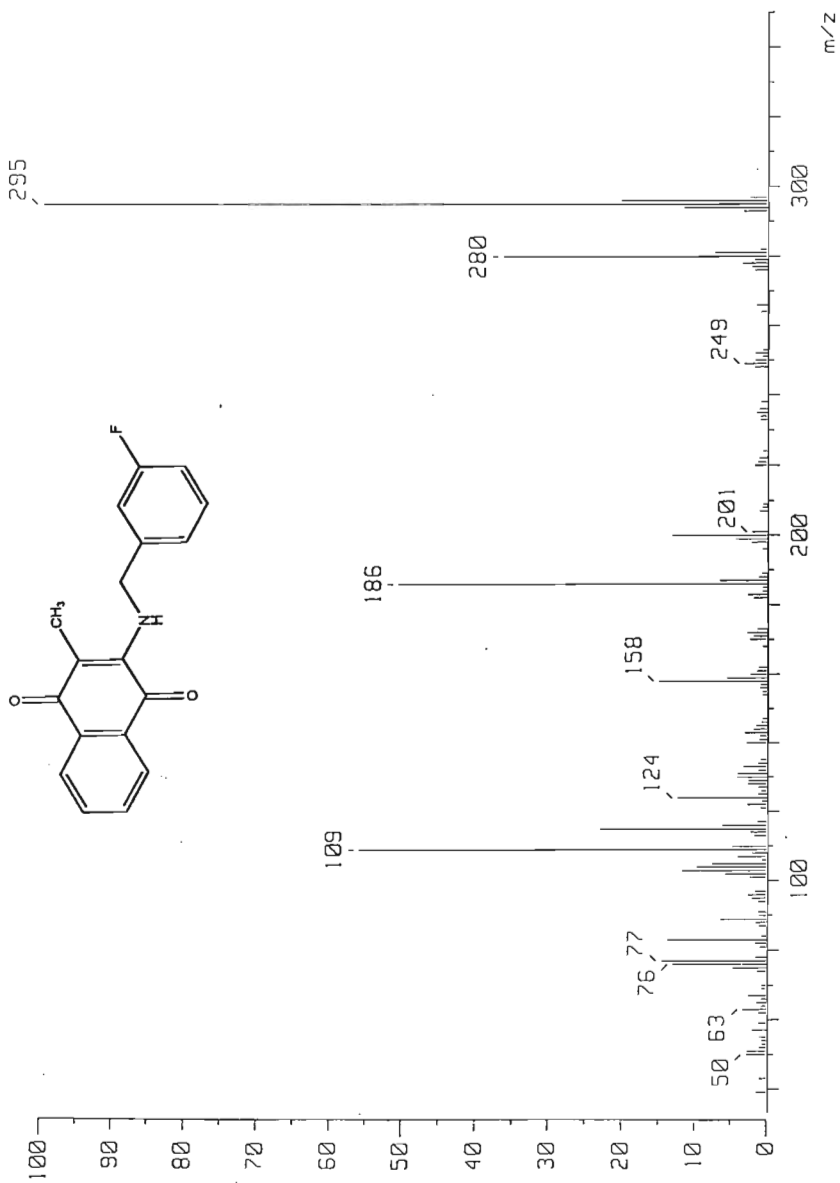
Espectro 18. 3-(3-clorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

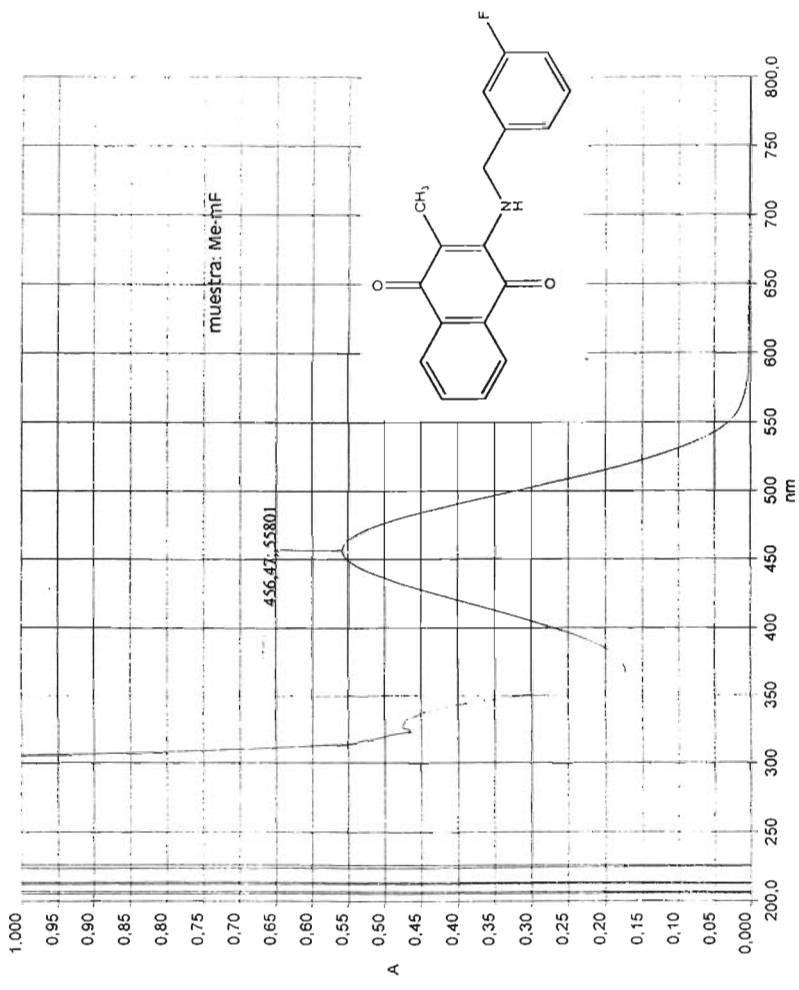




Espectro 19. 3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

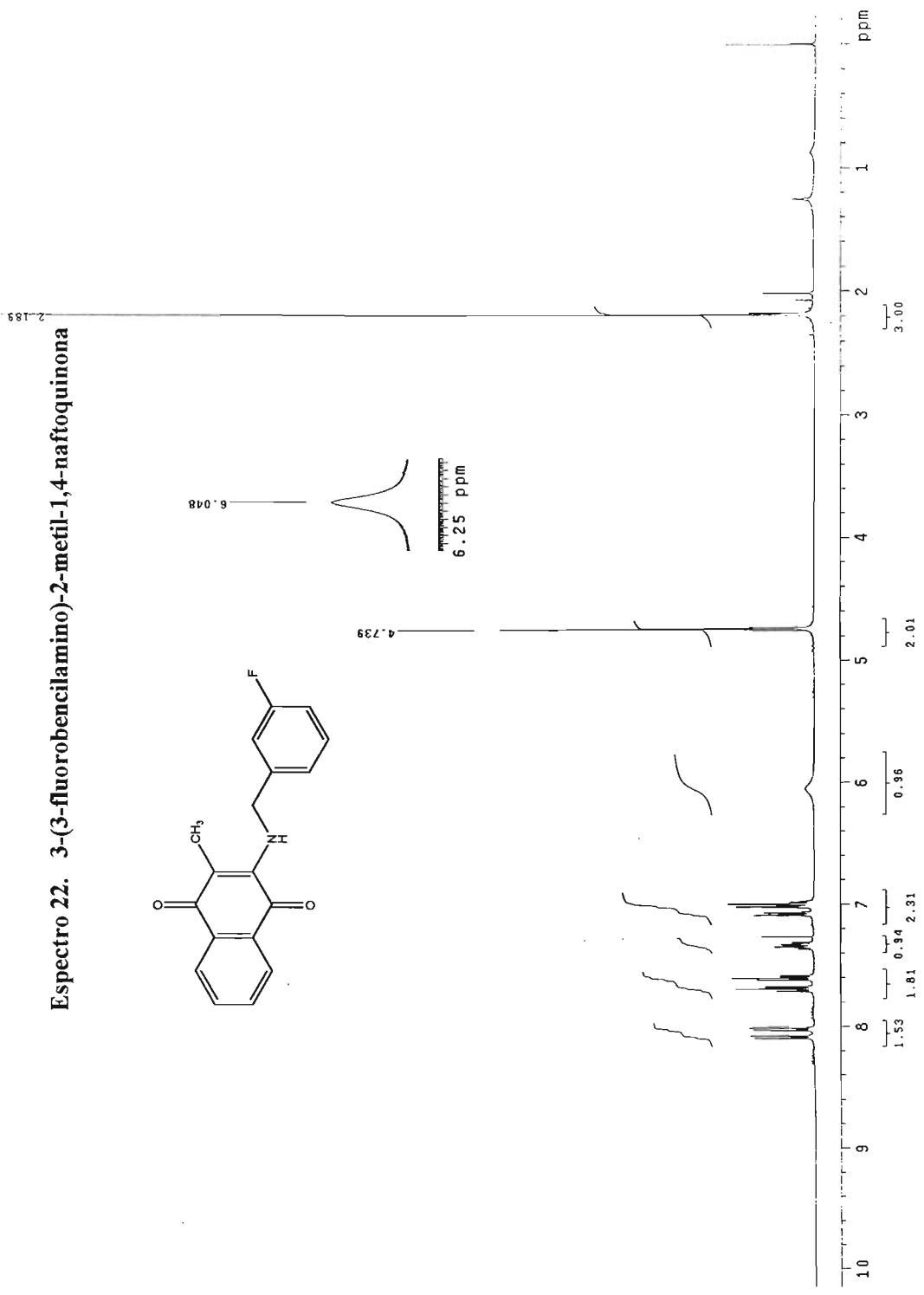
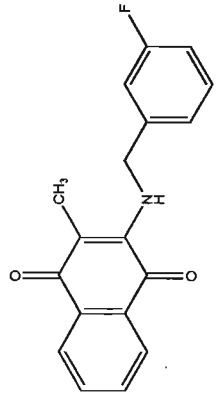
Espectro 20. 3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



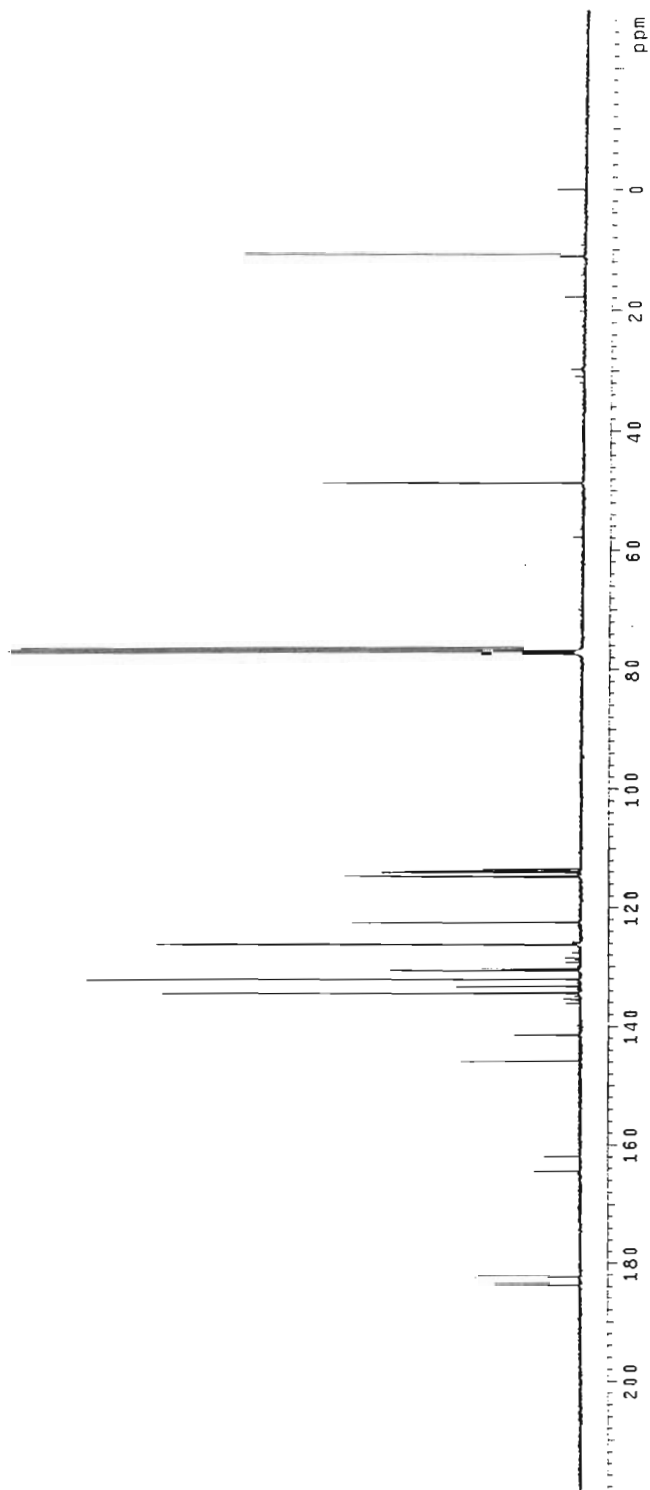
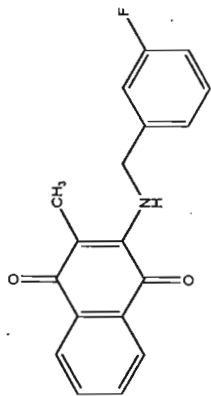


Espectro 21. 3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

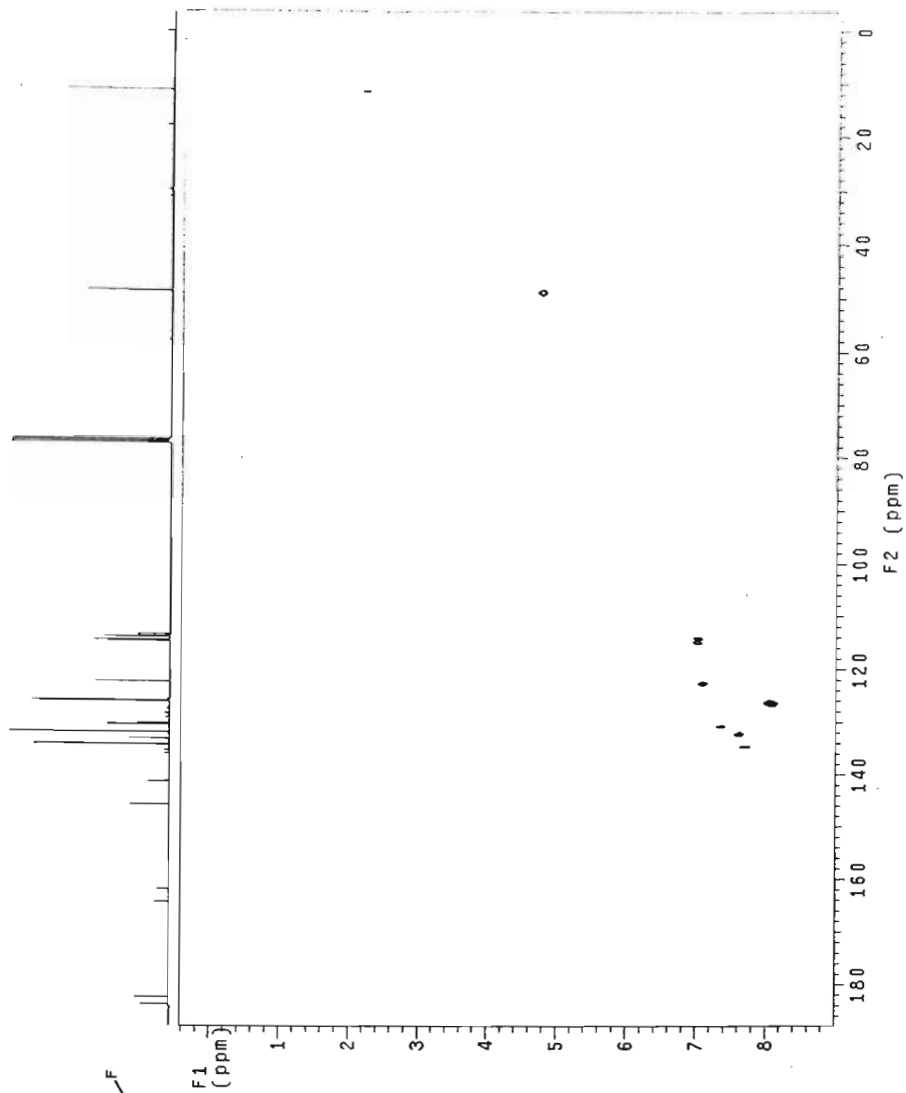
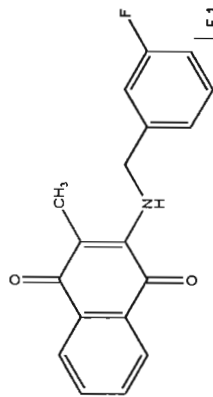
Espectro 22. 3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

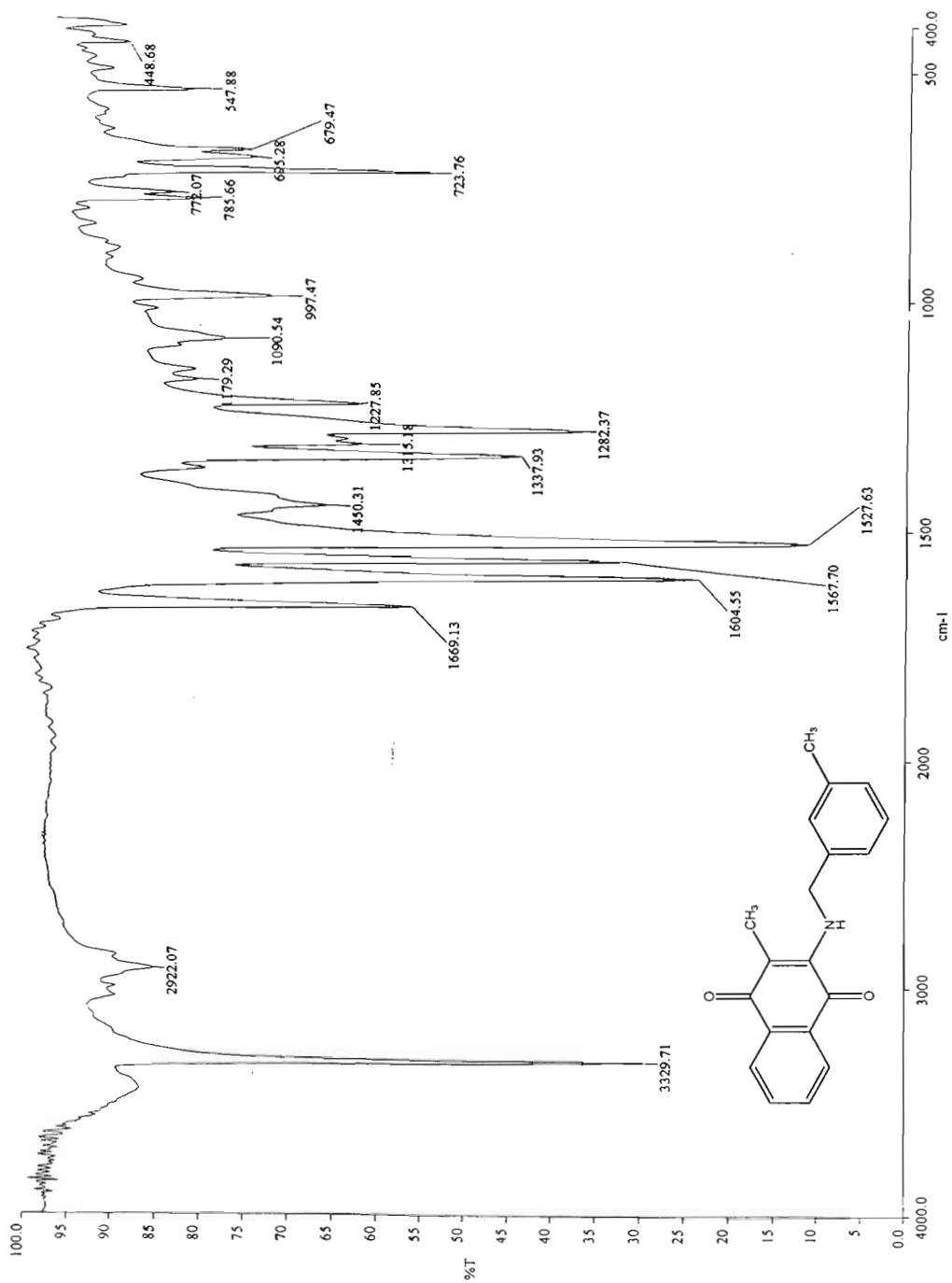


Espectro 23. 3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona



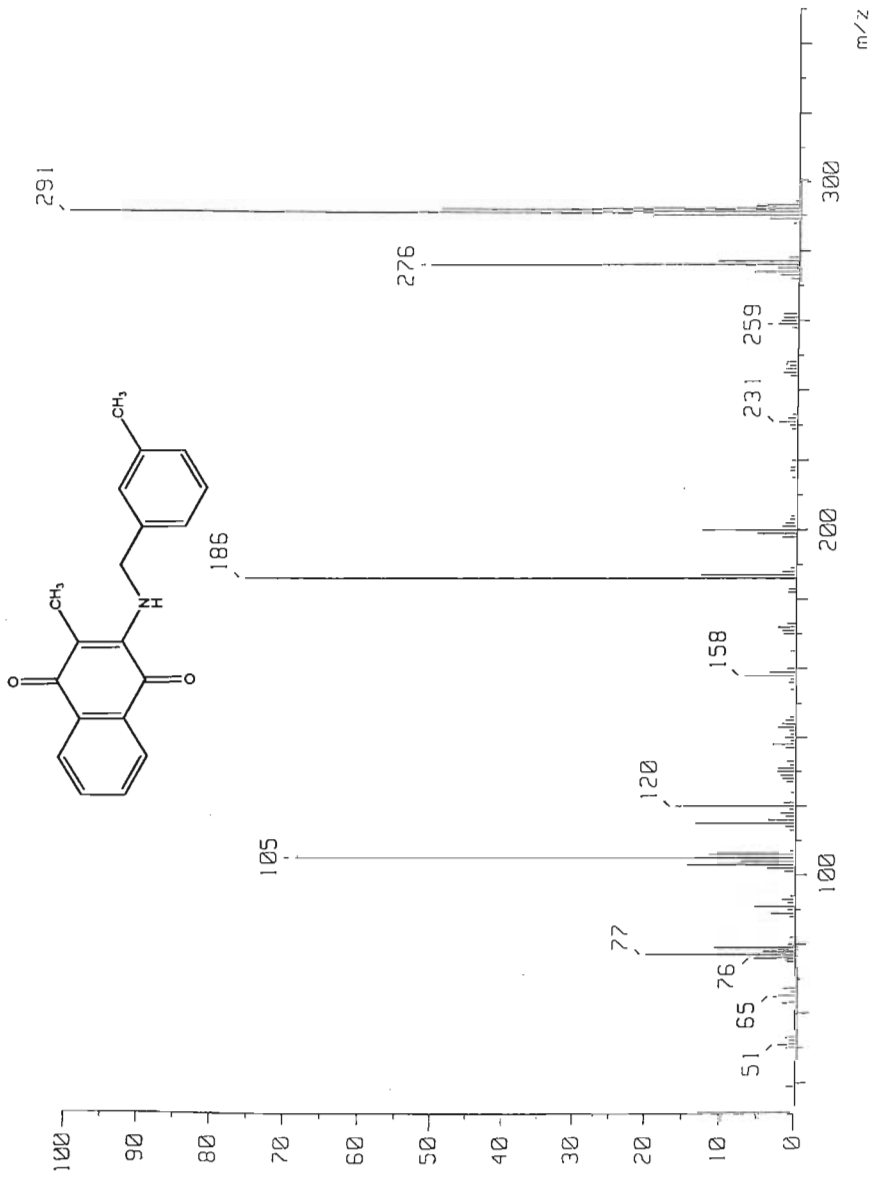
Espectro 24. 3-(3-fluorobencilamino)-2-metil-1,4-naftoquinona

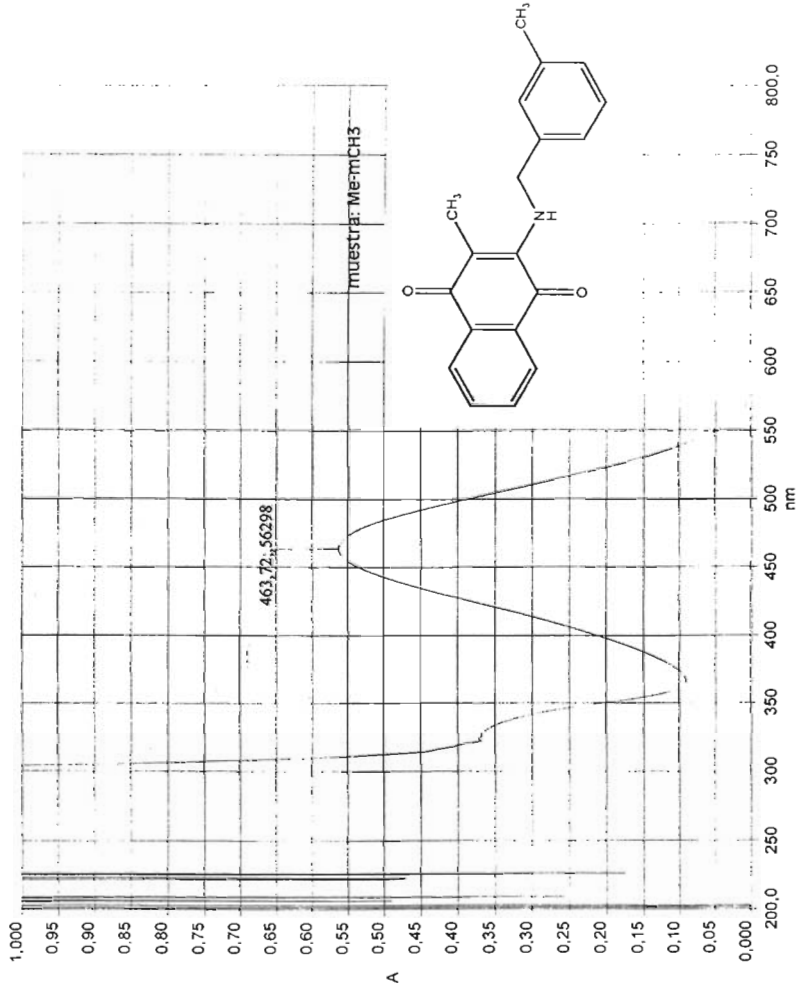




Espectro 25. 2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona

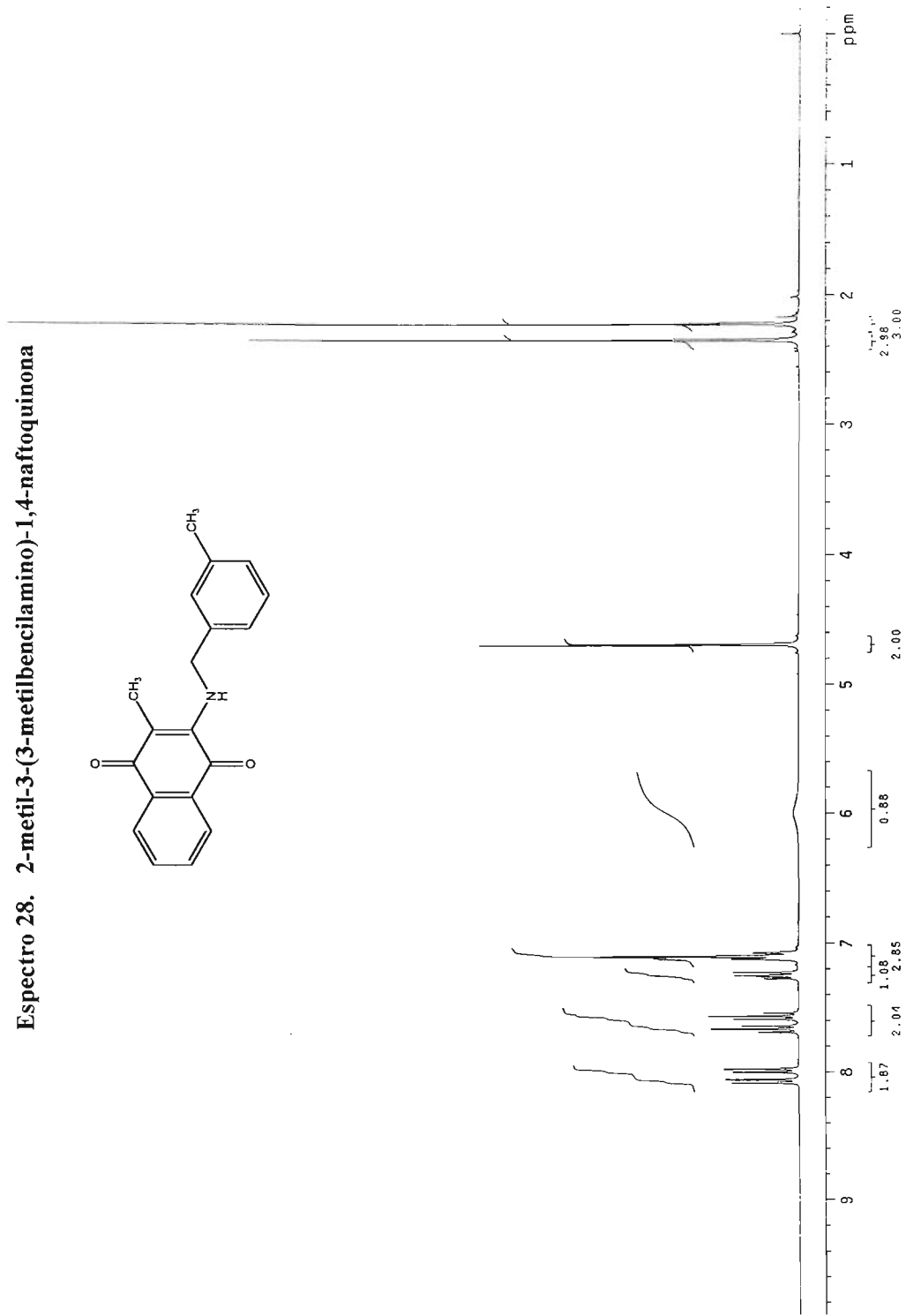
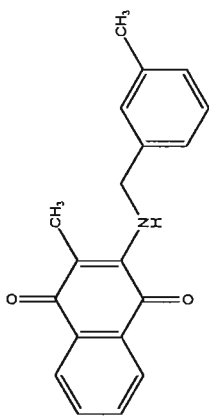
Espectro 26. 2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona



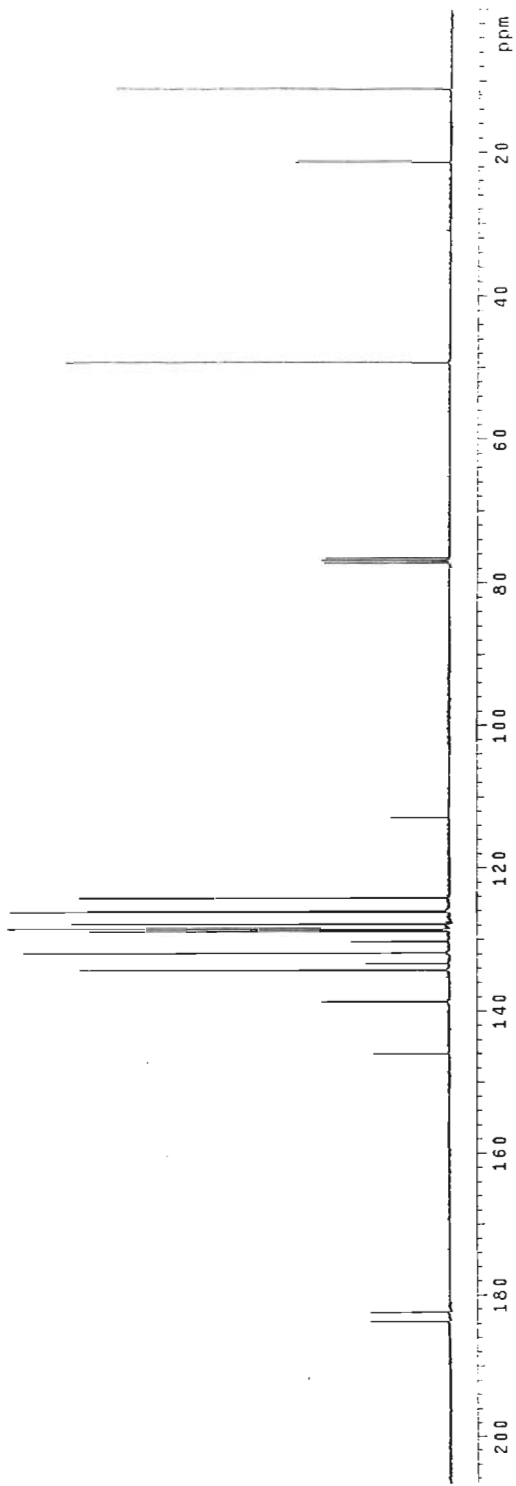
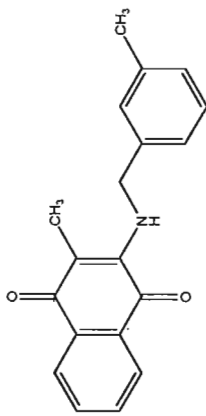


Espectro 27. 2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona

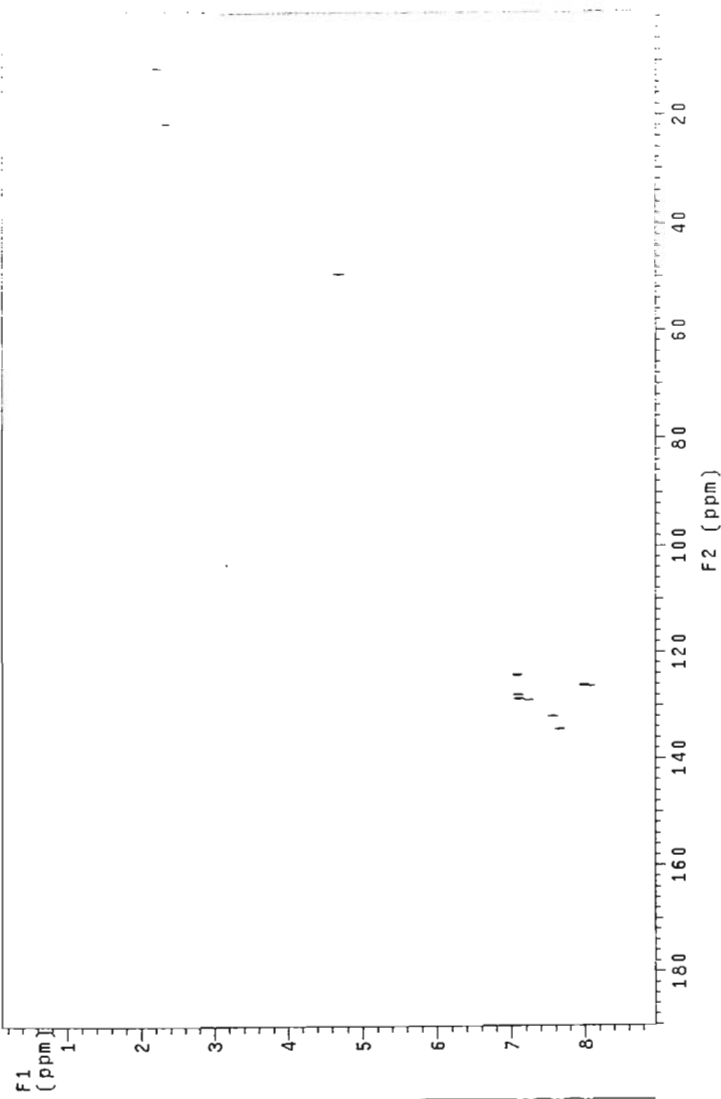
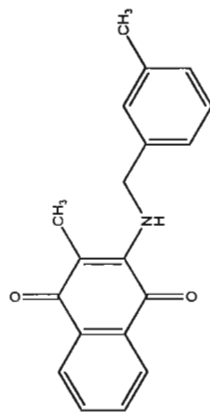
Espectro 28. 2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona

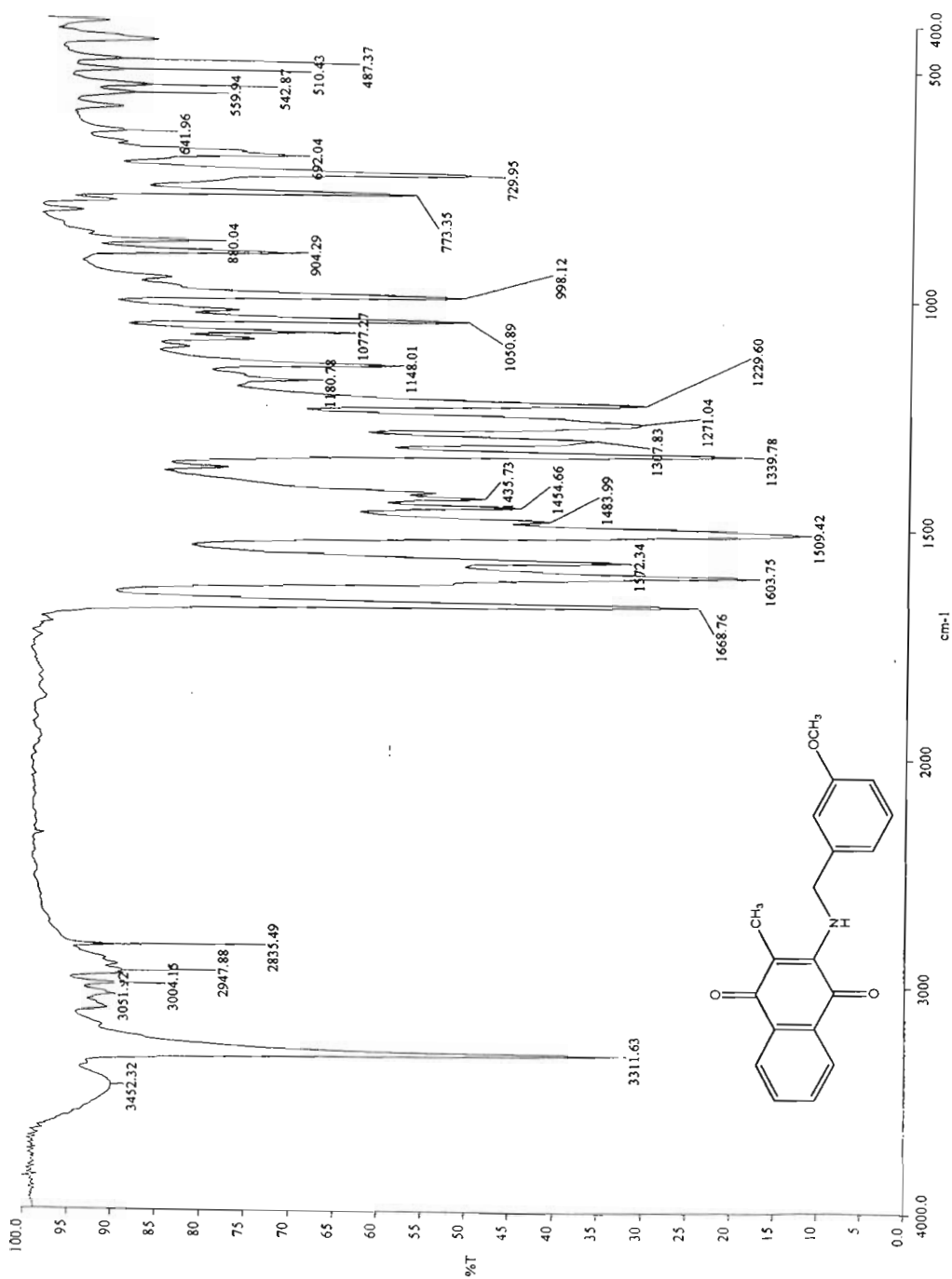


Espectro 29. 2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona



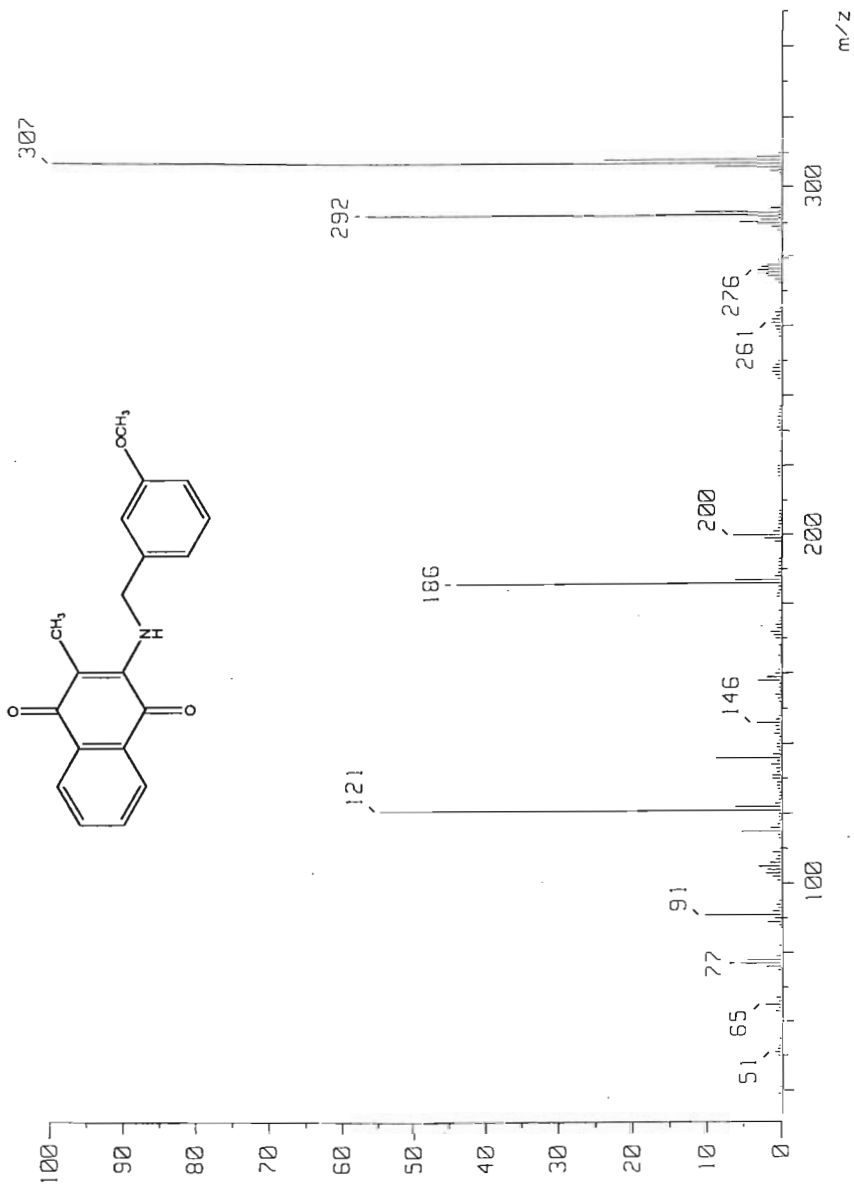
Espectro 30. 2-metil-3-(3-metilbencilamino)-1,4-naftoquinona

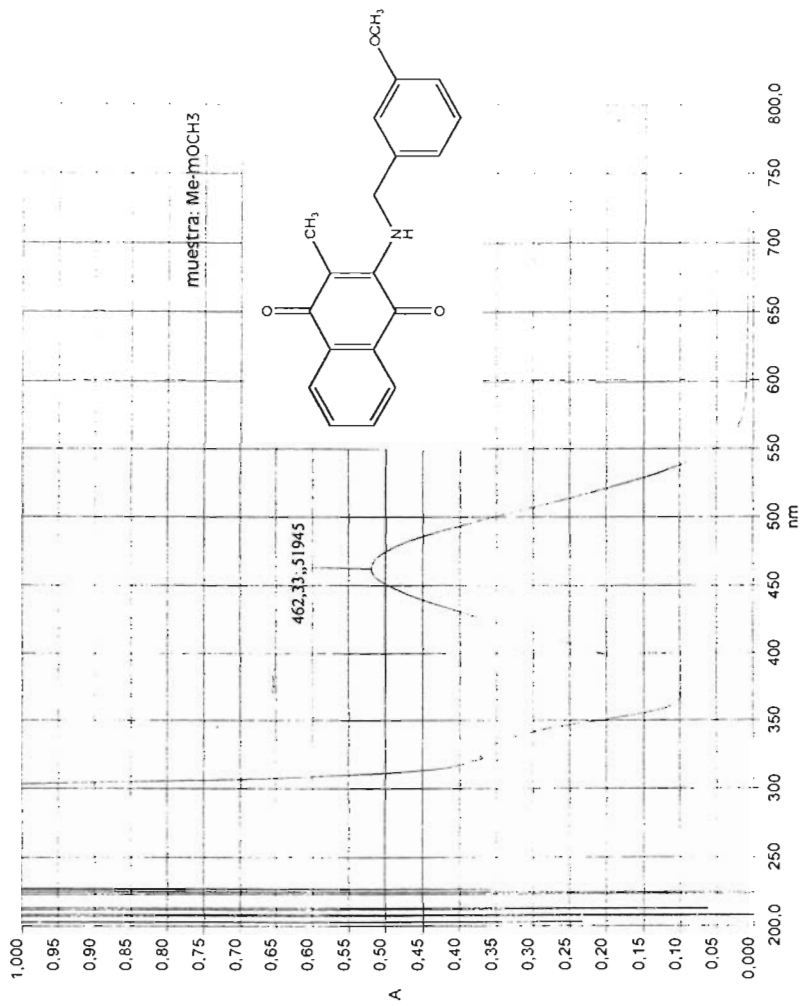




Espectro 31. 2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquina

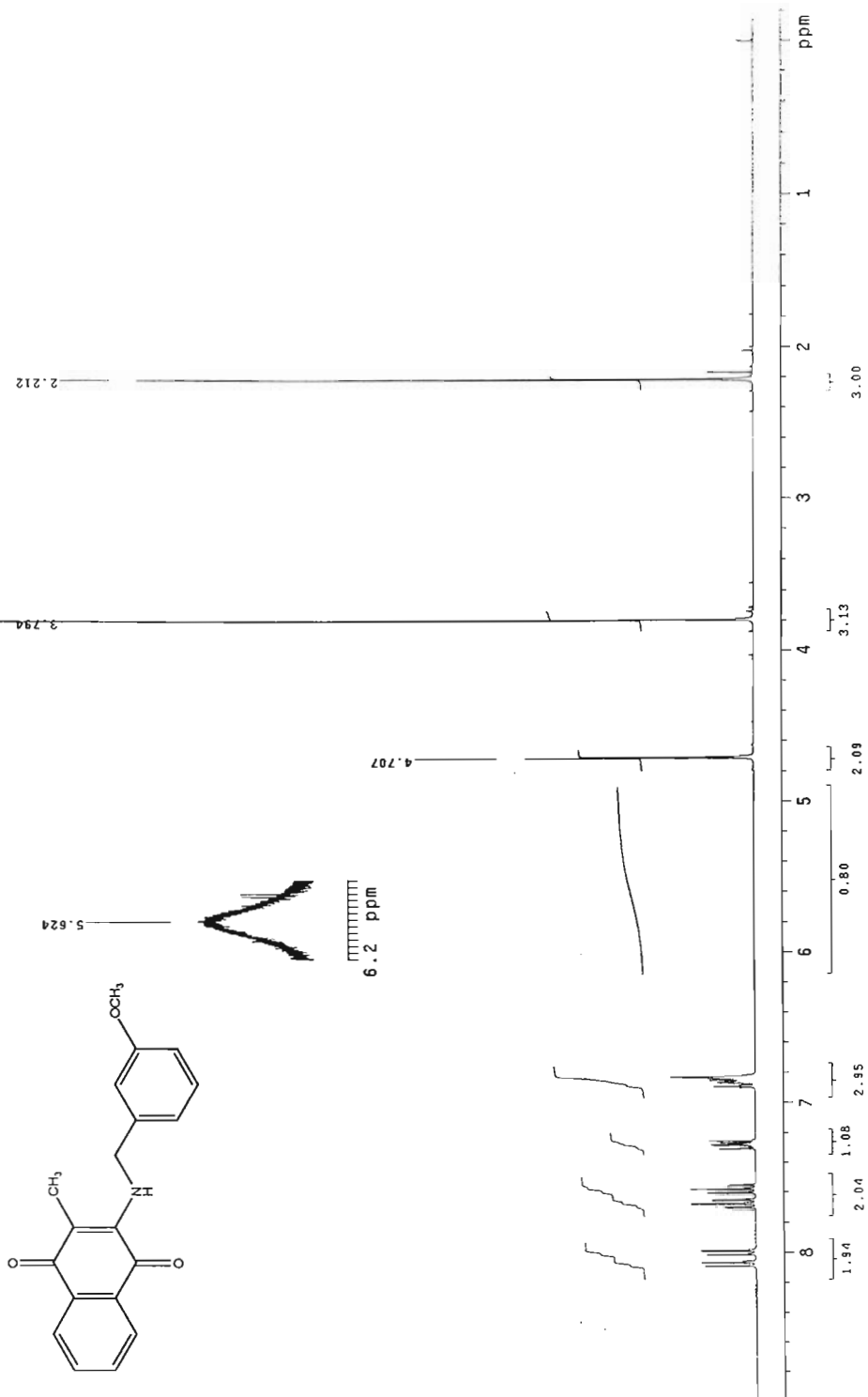
Espectro 32. 2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona



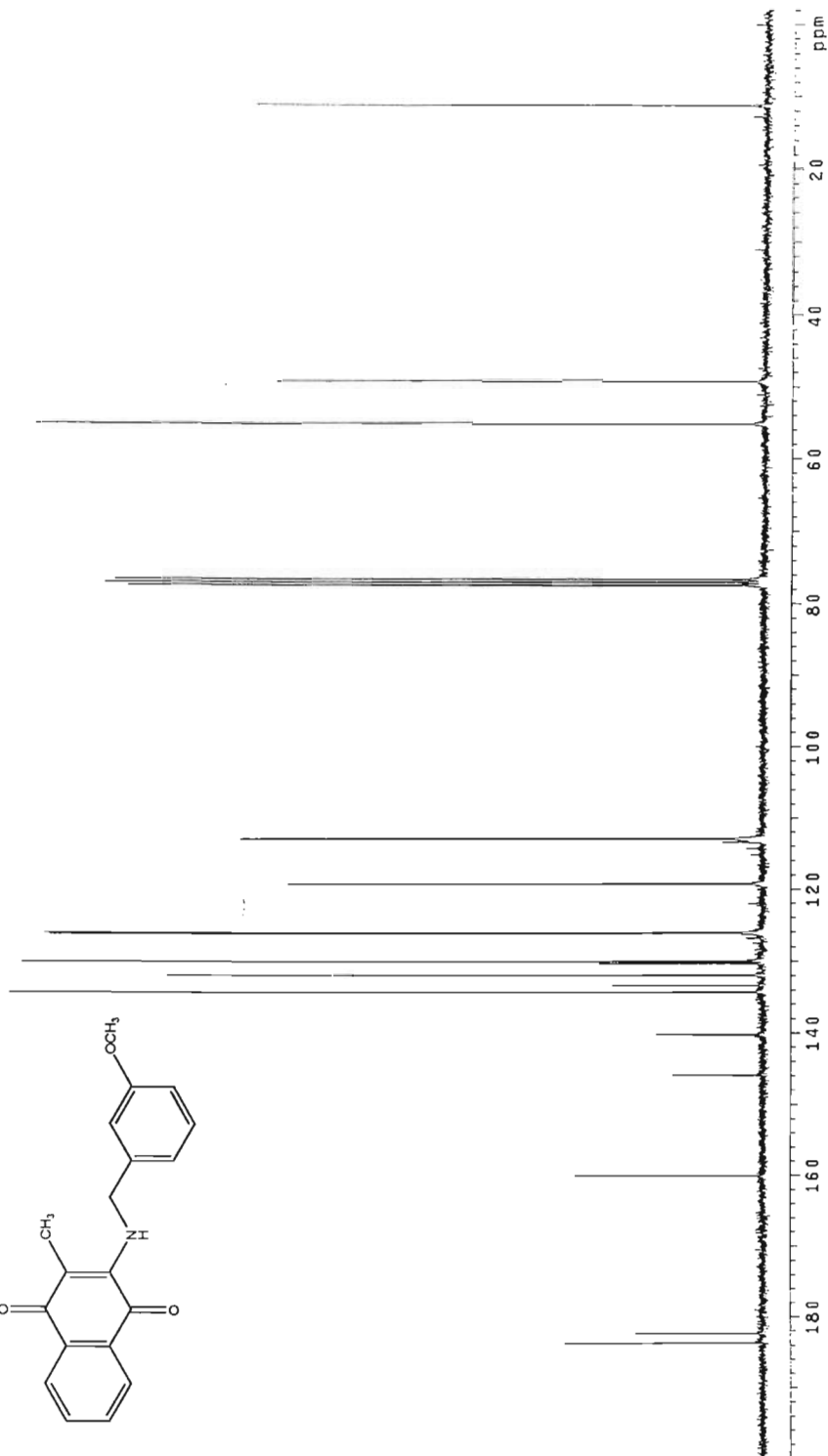
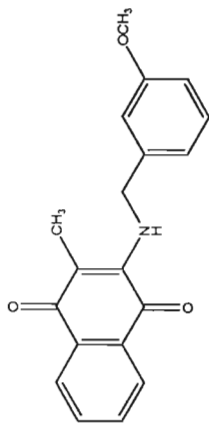


Espectro 33. 2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona

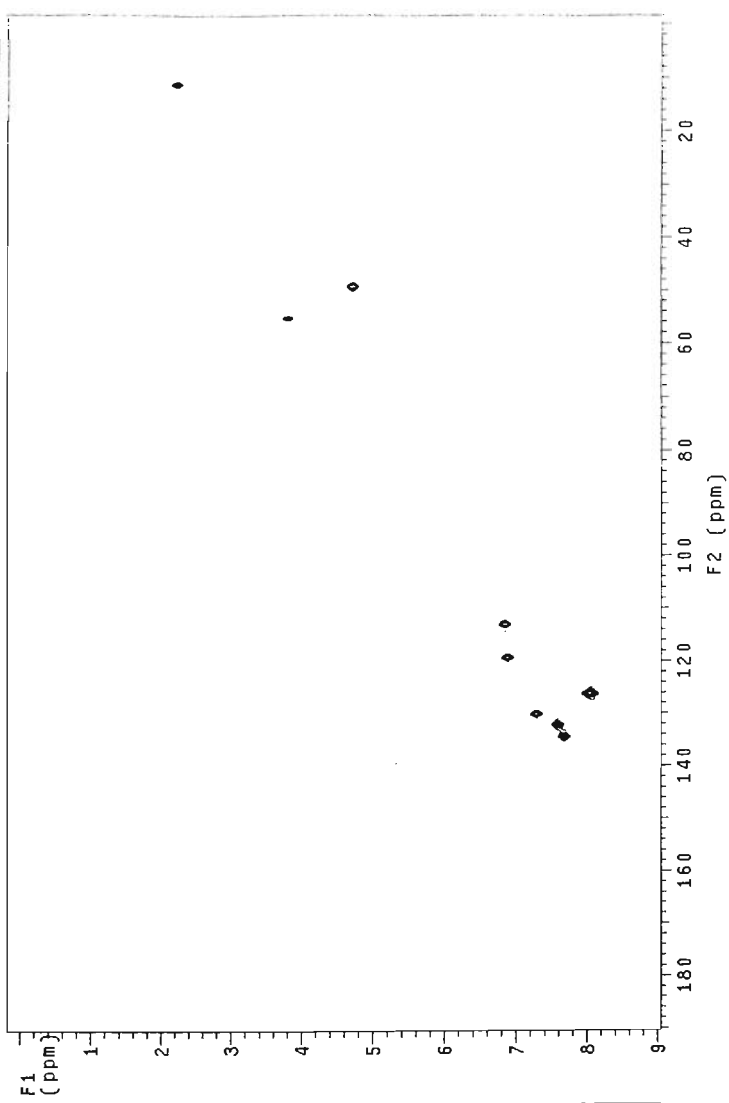
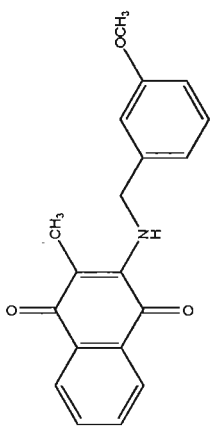
Espectro 34. 2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona

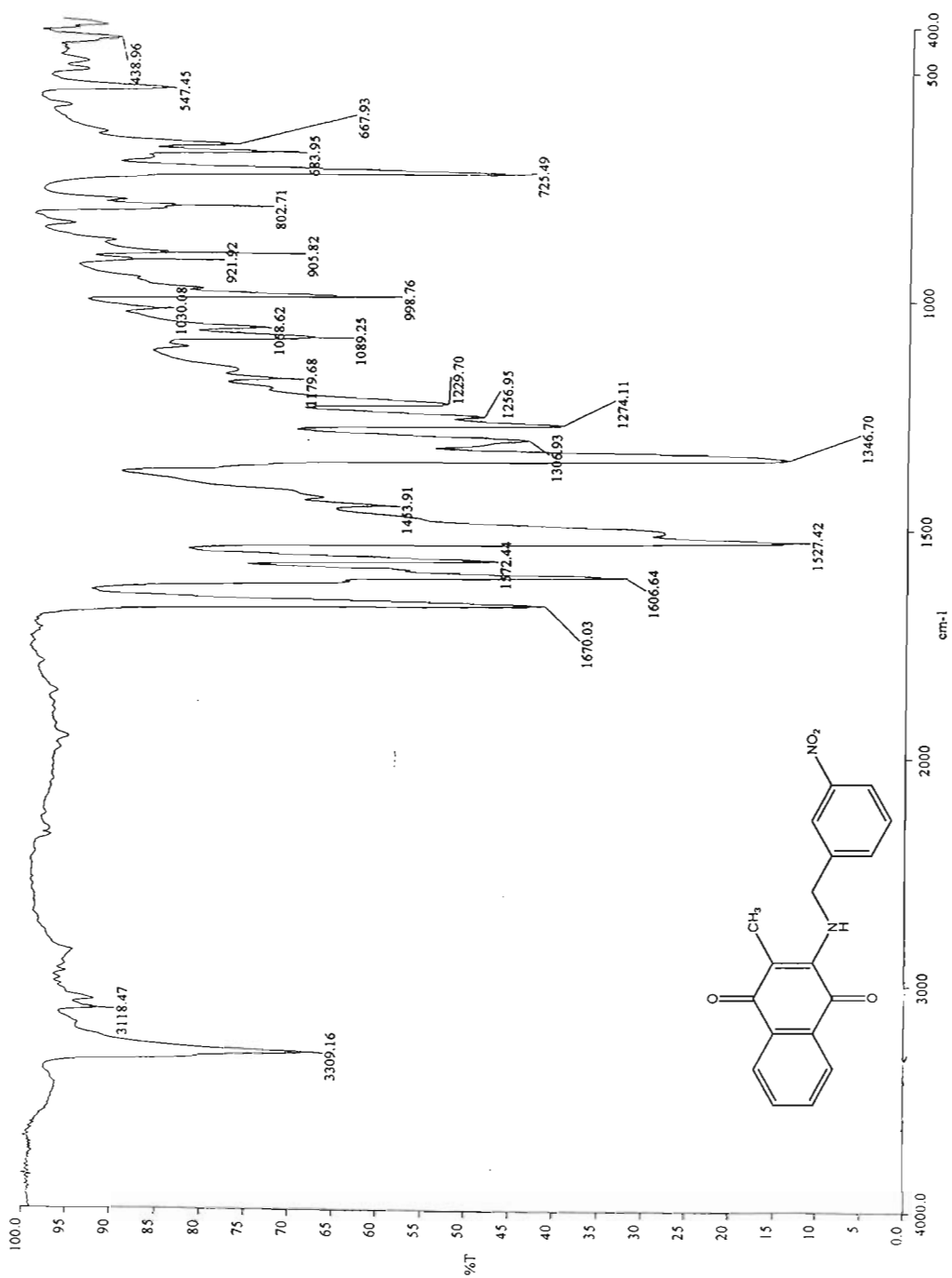


Espectro 35. 2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona



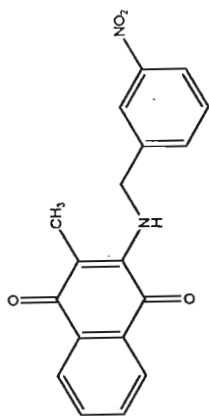
Espectro 36. 2-metil-3-(3-metoxibencilamino)-1,4-naftoquinona

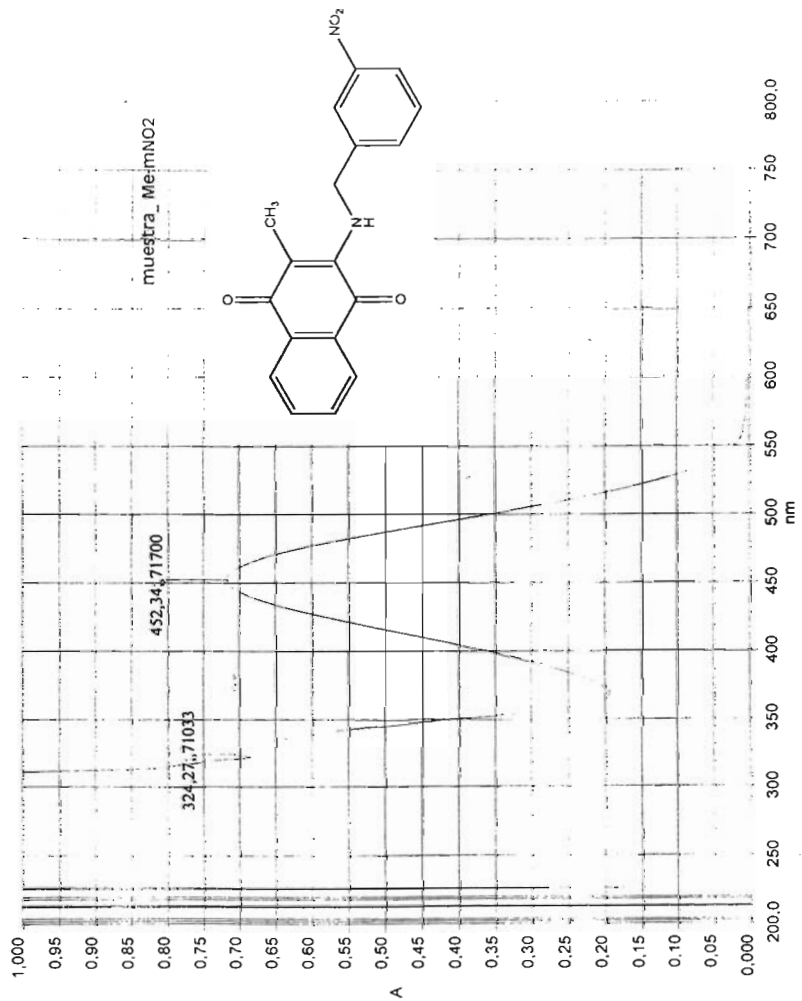




Espectro 37. 2-metil-3-(3-nitrobencilamino)-1,4-naftoquinona

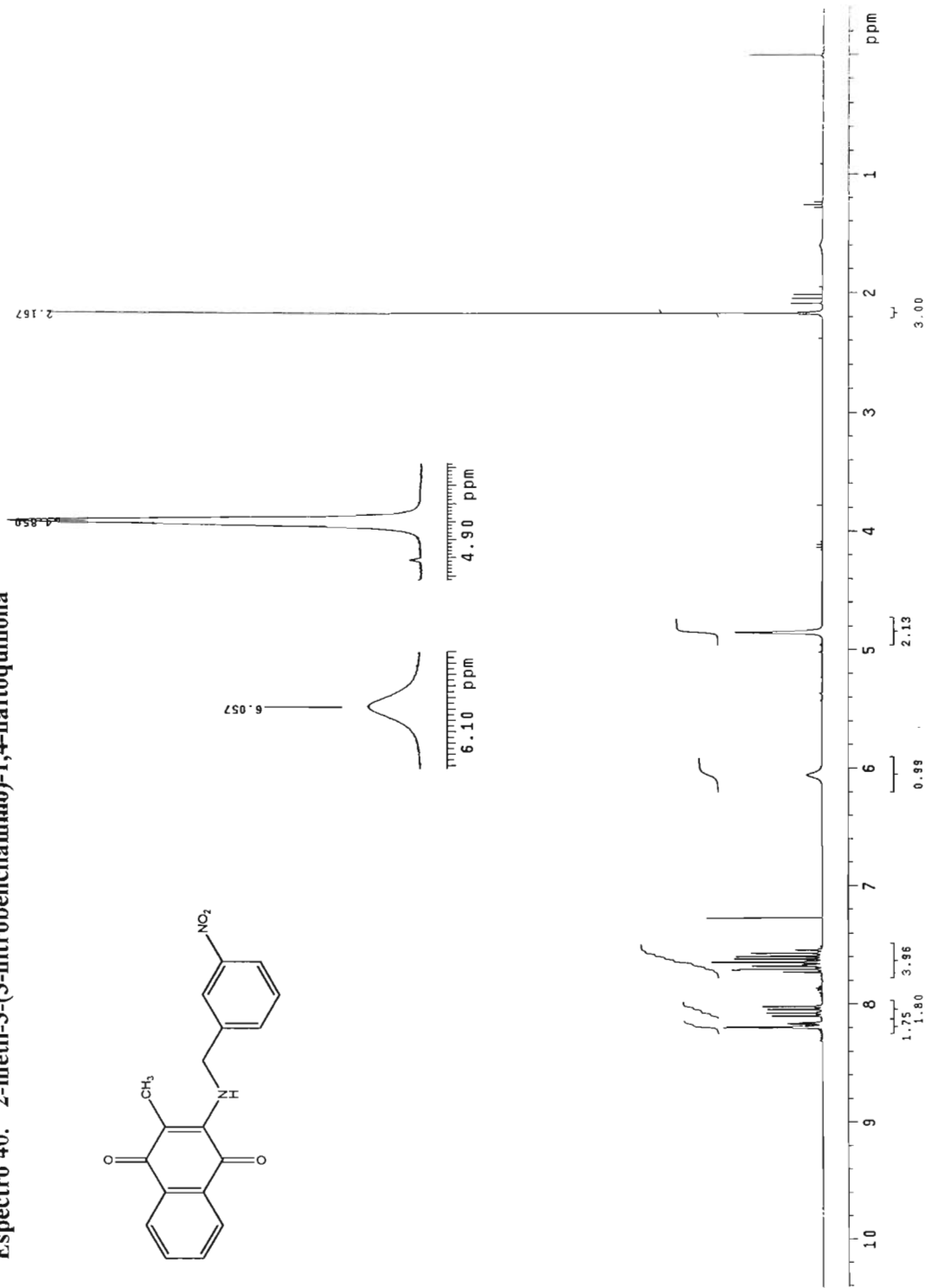
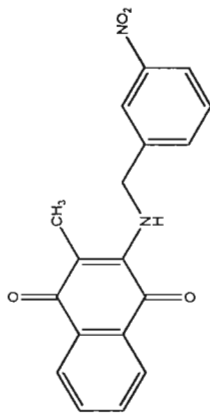
Espectro 38. 2-metil-3-(3-nitrobenzilamino)-1,4-naftoquinona



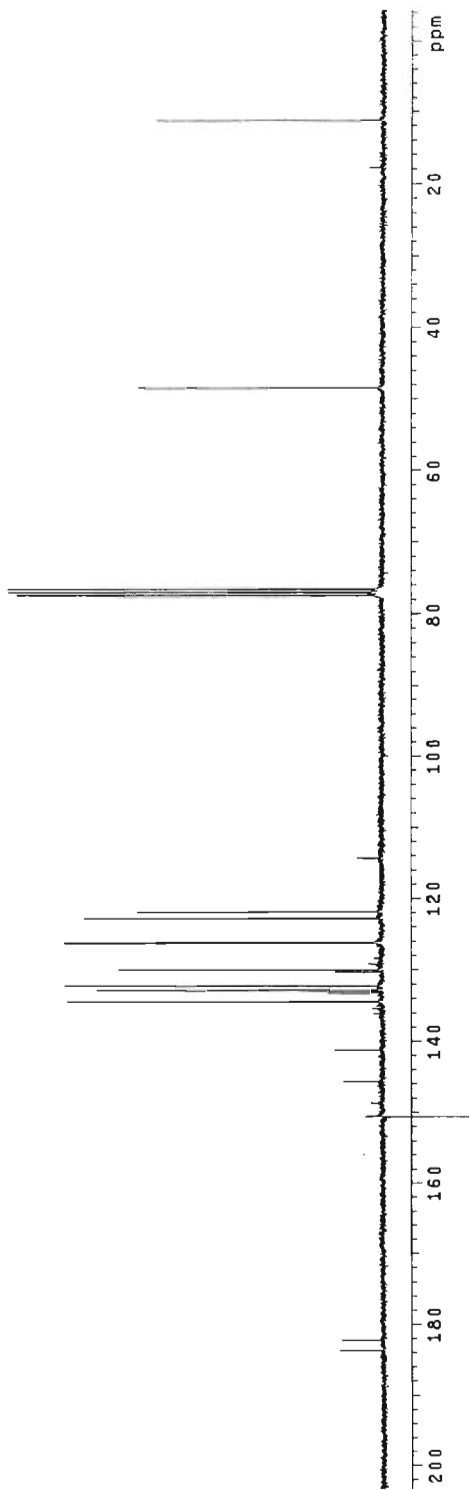
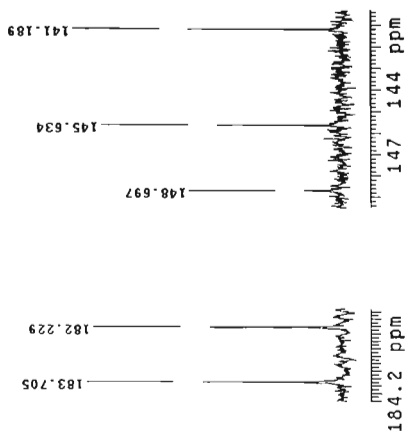
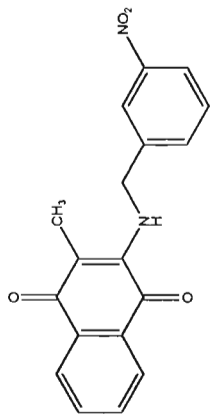


Espectro 39. 2-metil-3-(3-nitrobenzilamino)-1,4-naftoquinona

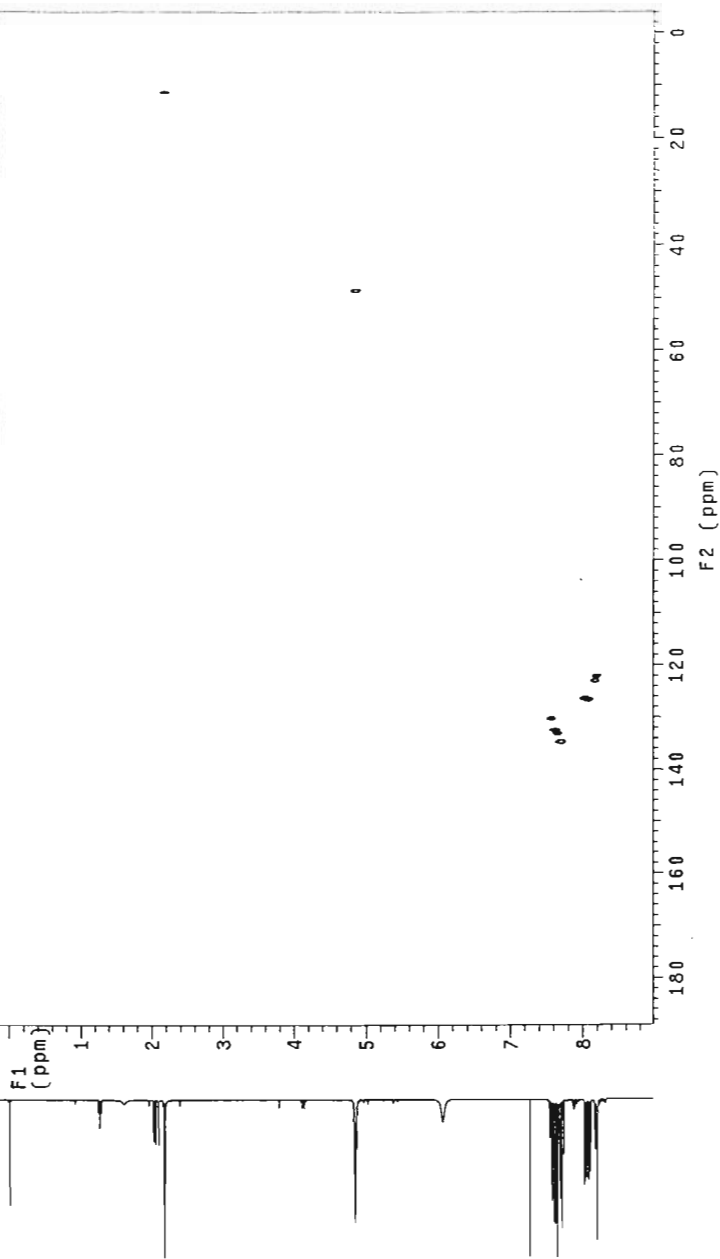
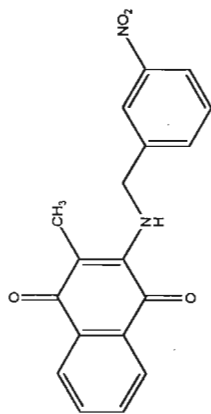
Espectro 40. 2-metil-3-(3-nitrobencilamio)-1,4-naftoquinona

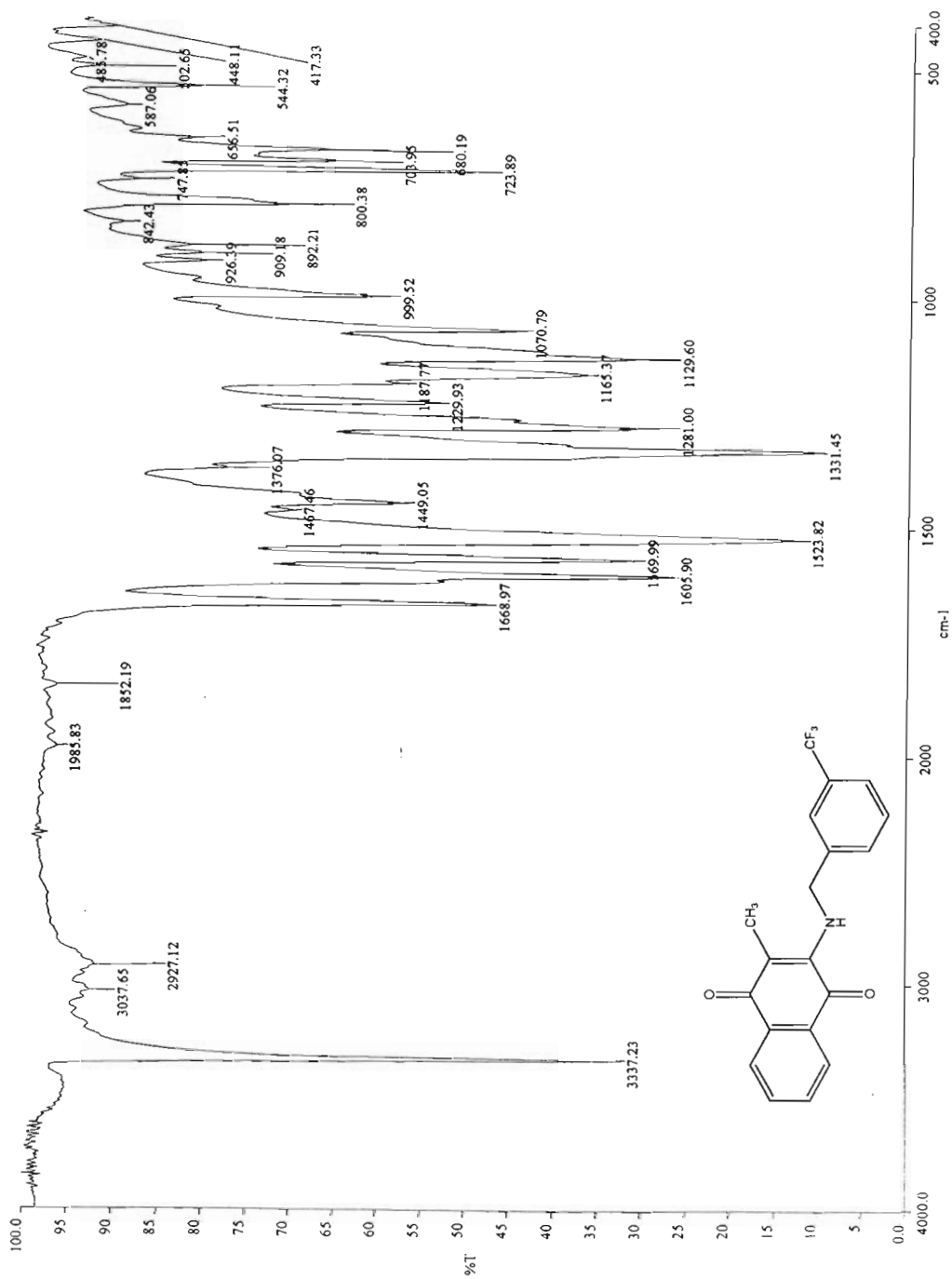


Espectro 41. 2-metil-3-(3-nitrobencilamino)-1,4-naftoquinona



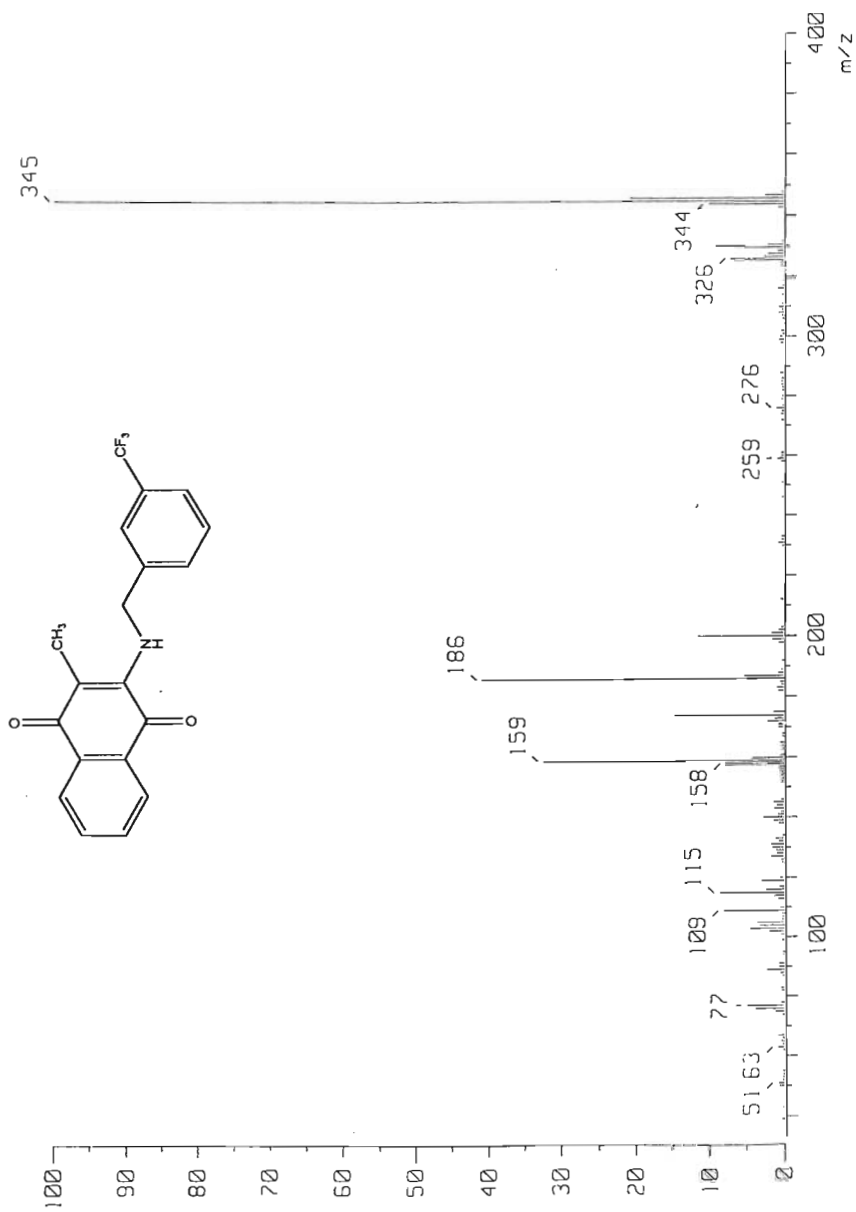
Espectro 42. 2-metil-3-(3-nitrobenzilamino)-1,4-naftoquinona

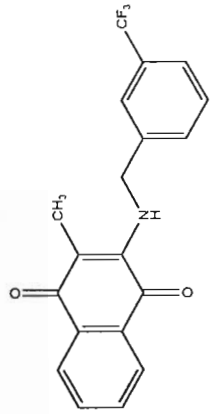
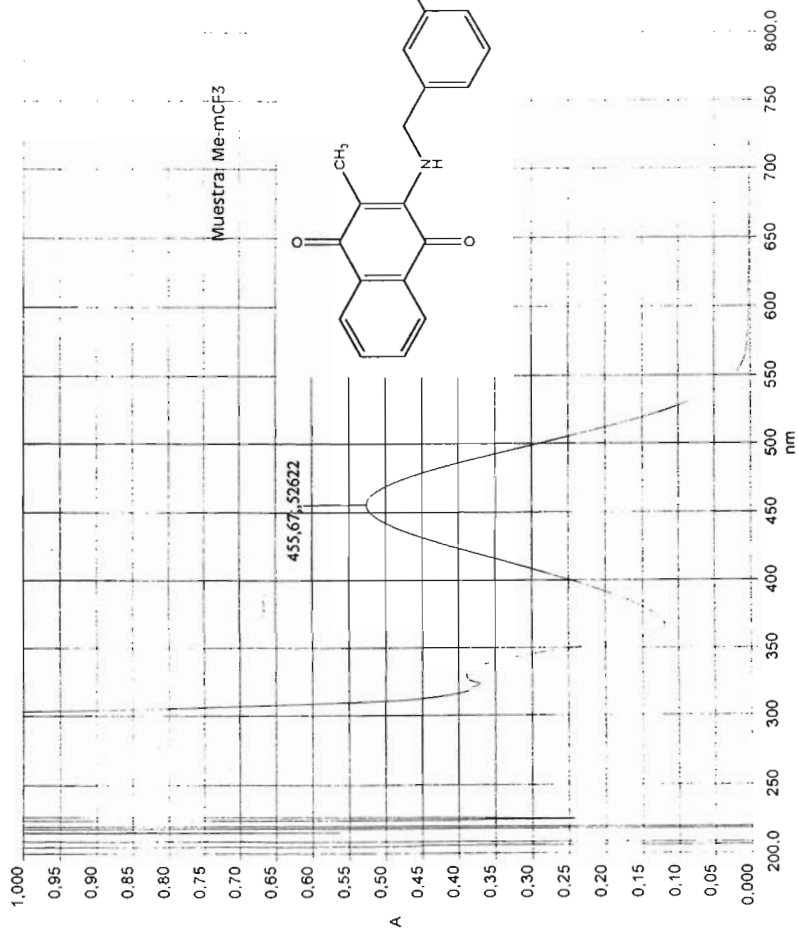




Espectro 43. 2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquina

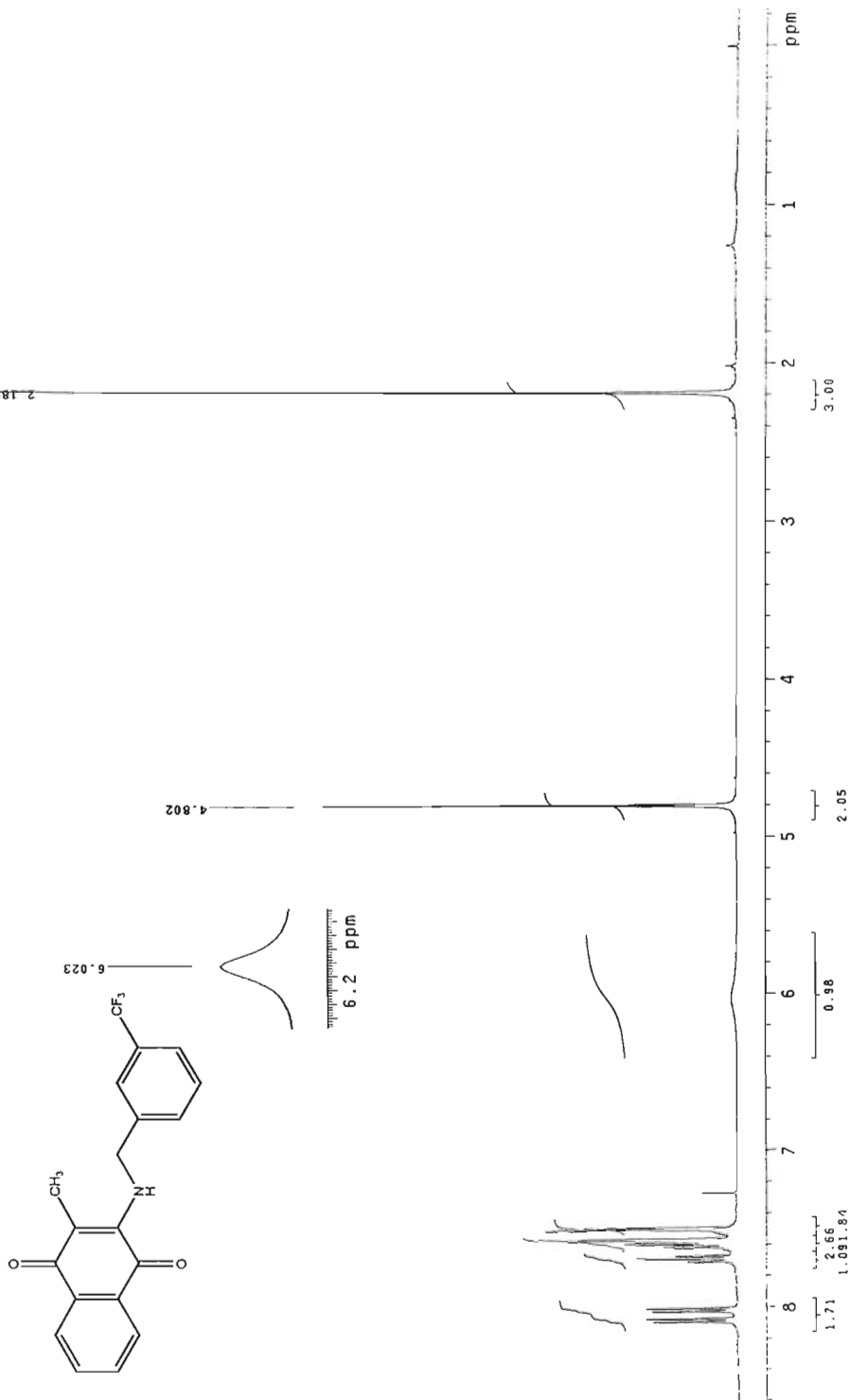
Espectro 44. 2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona



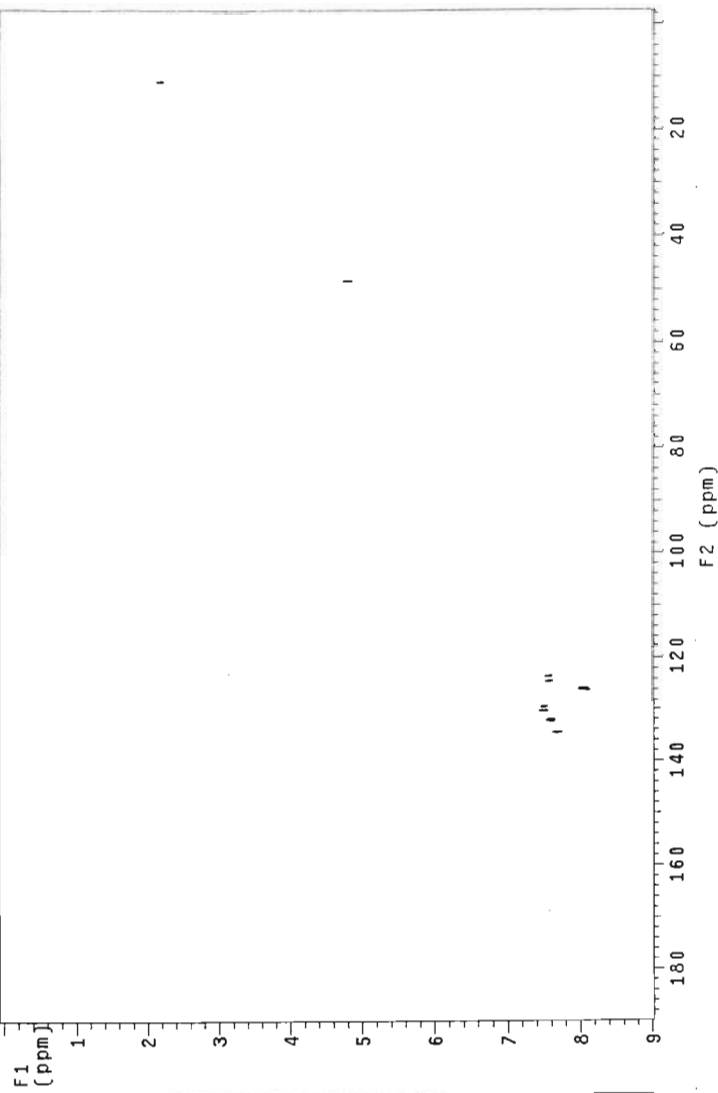
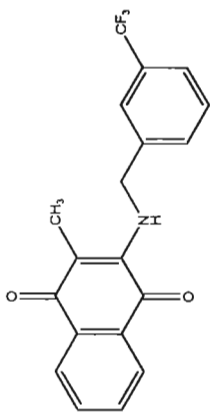


Espectro 45. 2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona

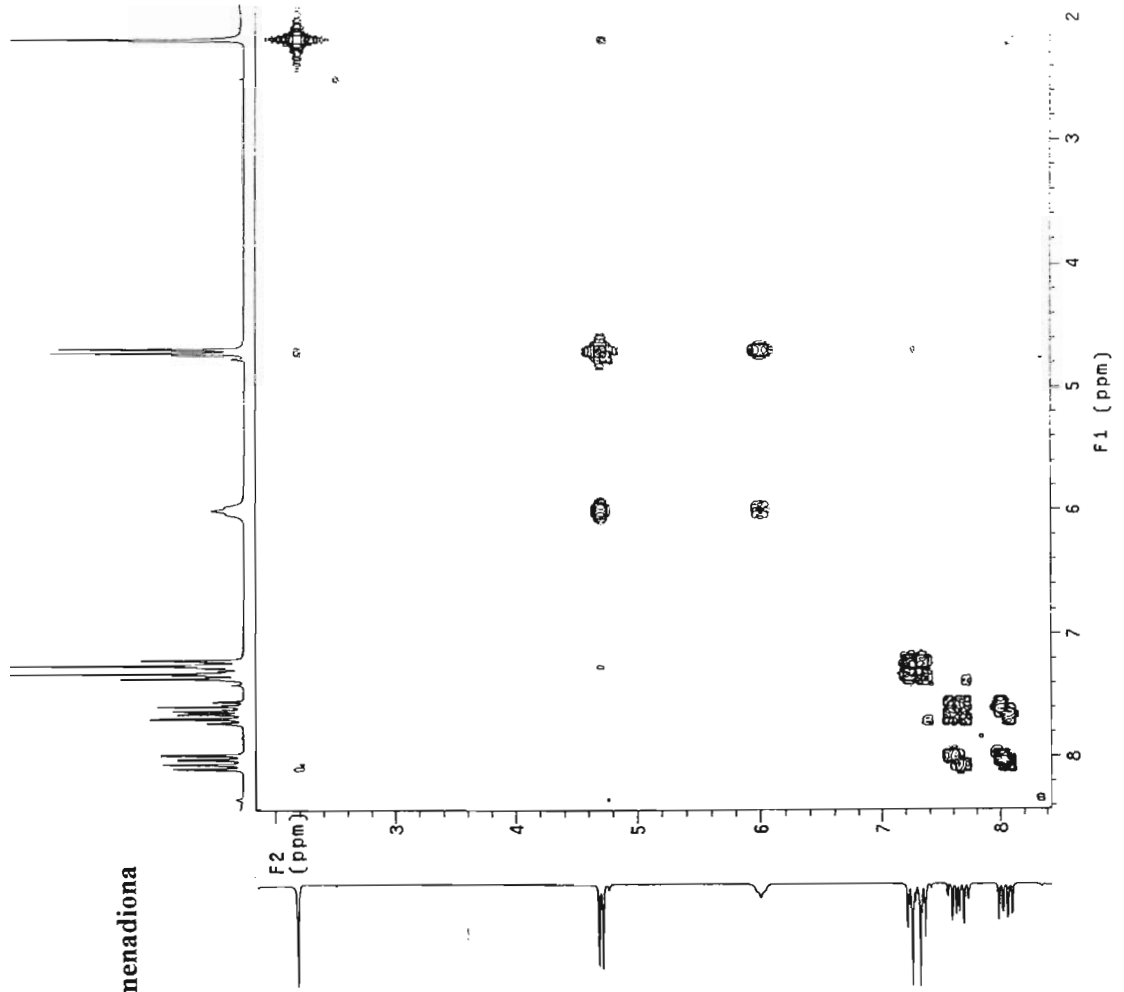
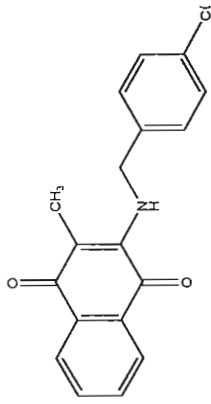
Espectro 46. 2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona



Espectro 48. 2-metil-3-(3-trifluorobencilamino)-1,4-naftoquinona



Espectro 49. 3-(p-clorobencilamino) menadiona



Espectro 50. 3-(p-clorobencilamino) menadiona

