



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

Síntesis de Carbamatos Derivados de Anilina con
posible actividad Biológica contra garrapatas del
género *Boophilusmicroplus*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTA:

ROSA ELDA PRADO RUIZ

ASESOR: Dr. ENRIQUE ANGELES ANGUIANO

COASESORA: Dra. ANA MARÍA VELÁZQUEZ SÁNCHEZ



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la **Tesis:**
Síntesis de carbamatos derivados de anilina con posible actividad biológica contra garrapatas del género boophilus microplus

Que presenta la pasante: Rosa Elda Prado Ruíz
Con número de cuenta: 095070834 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”
Cuautitlán Izcallí, Méx. a 12 de marzo de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Ramón Angeles Anguiano	
VOCAL	Dr. Víctor Manuel Zendejas Buitrón	
SECRETARIO	QFB. Brígida del Carmen Camacho Enríquez	
1er SUPLENTE	M. en C. Alberto Ramírez Murcia	
2do SUPLENTE	M. en C. Víctor Hugo Ábrego Reyes	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
HHA/pm

AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES a mi mama R. Nayma por su amor incondicional, por su paciencia y por creer siempre en mí. A mi papa Lauro por su tenacidad, por ser mi primer profesor quien me ha enseñado que no hay nada imposible; gracias a los dos hoy he logrado una meta más en mi vida.

A mis hermanos a mi hermano José Ignacio por su amor, por su paciencia y por lo mucho que he aprendido de él; a mi hermano Francisco Rafael por su amor y enseñarme que cada día se puede ser mejor; a mi hermano Eduardo Adolfo por su amor y su gran imaginación que fueron risas de esperanza en momento difíciles; a mi hermana mi mejor amiga, por su amor y la admiración que siento por su fuerza y valentía; a todos gracias los amo.

A mis sobrinos: Marco Alejandro, Juliette, Leonardo, María José, Fernanda y Max por ser los ángeles que han dado más luz a mi vida, por el amor tan sincero que te puede dar un niño y al verlos sé que siempre hay un mejor mañana.

A mis Cuñadas: Gigis por ser una niña tan linda y una gran amiga; a mi cuñada Yolanda por ser una bellísima persona y buena amiga, a Sandra, gracias por ser ahora parte de mi familia.

A la gran matriarca que fue mi abuela Josefa una gran mujer que nos dejó un legado de una gran fortaleza.

A Pablo por los hermosos momentos a su lado, por ser el motor de mi vida te doy las gracias por no darte por vencido y estar en este momento a mi lado gracias amor. Nuestra vida hoy está llena de prosperidad porque esperamos a nuestro hermosísimo hijo

A mis amigos que me acompañaron durante este trayecto y que ocupan un lugar muy especial en mi corazón: Leticia, Fernando, Araceli,

lupita, Auriola, Adrián y en especial a mi amigo Miguel Ángel por su ayuda y comprensión ya que parte de este éxito también es suyo. Gracias también a todos aquellos que se me olvida mencionar.

A la Facultad de estudios Superiores Cuautitlán por brindarme la oportunidad de aprender no solo conocimientos sino también valores.

Al Dr. Enrique Ángeles por la oportunidad de trabajar a su lado y aprender.

Agradezco a los proyectos de PAPIIT/UNAM IG200813, IN207705, IN211108-3, PAPIIT IT202412, PAPIIME PE203511y por su apoyo parcial del desarrollo del proyecto y a la DGTIC-UNAM por el uso de la supercomputadora Kan Balam. Parte del trabajo de la cátedra “Diseño de Sustancias Bioactivas” FESC-UNAM. También agradezco a F. Sotres, D. Jiménez, Moisés Hernández Duarte y a Dr. Ma. Valadez de la FESC-UNAM por su apoyo técnico

INDICE

ÍNDICE

INTRODUCCION.....	7
OBJETIVOS.....	9
1. ANTECEDENTES.....	11
1.1 Garrapatas.....	11
1.2 Morfología.....	12
1.2.1 Garrapatas del género <i>Boophilus microplus</i>	12
1.2.2 Ciclo Biológico de la Garrapata del género <i>Boophilus</i>	14
1.3 Control de las Garrapatas.....	15
1.3.1 Control natural de garrapatas.....	15
1.3.2 Resistencia de hospedero.....	15
1.3.2 Control Químico.....	16
1.4 Distribución mundial de la resistencia a ixodicidas.....	17
1.4.1 Origen de la resistencia en México.....	19
1.4.2 Tipos de resistencia.....	20
1.4.3 Factores que influyen en el desarrollo de la resistencia.....	20
1.4.4 Resistencia a Ixodicidas.....	21
1.4.5 Mecanismos de resistencia de ixodicidas.....	23
1.5 Diagnóstico de la resistencia a ixodicidas.....	24
1.6 El uso de carbamatos como alternativa en el control de la garrapata <i>Boophilus microplus</i>	25
1.6.1 Carbamatos.....	25
1.7 Desarrollo de nuevas entidades químicas con propiedades ixodicidas.....	27
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	29
3. MECANISMOS DE REACCIÓN.....	30
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1 Análisis espectroscópico.....	34
4.2 DISCUSION.....	48
CONCLUSIONES.....	52
REFERENCIAS.....	53

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

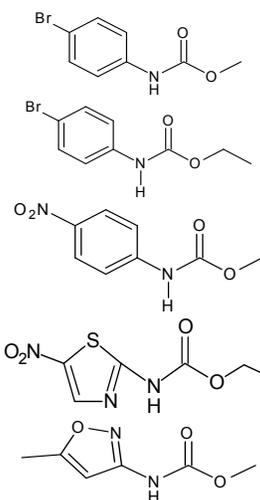
En la actualidad la resistencia de la garrapata *Boophilus microplus*, a los ixodicidas^{1, 8} va en aumento de manera que los insecticidas que se utilizan normalmente ya no son tan efectivos y una de las causas es el mal uso de los

ixodicidas, tales como el uso prolongado y las altas dosis, esto ha permitido la evolución de la resistencia a tal grado que los organoclorados y organofosforados carecen de eficacia. En el presente trabajo de investigación se presentan una síntesis de cinco carbamatos, los cuales fueron purificados por técnicas como cromatografía y recristalización, se realizó también su caracterización mediante métodos espectroscópicos como Resonancia Magnética nuclear (RMN) de hidrógeno y carbono 13, espectrometría de masas (MS) y espectroscopia Infrarroja (IR), compuestos que serán enviados para *determinar si poseen o no efectividad contra las garrapatas del género Boophilus*.

RESULTADOS

Se obtuvieron 5 carbamatos

LQM-904	4-bromofenilcarbamato de metilo
LQM-919	4-Bromofenilcarbamato de etilo
LQM-930	4-Nitrofenilcarbanto de metilo
LQM-938	5-Nitro-1,3-tiazol-2-ilcarbamato de etilo
LQM-989	5-Metilisoxazol-3-ilcarbamato de metilo



CONCLUSIÓN PRINCIPAL

Los 5 carbamatos (serie LQM-900) se sintetizaron, caracterizaron y purificaron eficientemente estos pueden ser una alternativa en el control de las garrapatas del género *Boophilusmicroplus* en México, probablemente el presente trabajo contribuirá al desarrollo de nuevos ixodicidas para ayudar a reducir las grandes pérdidas económicas para la ganadería

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Objetivo general:

- ❖ Obtener una serie de carbamatos derivados de anilinas y compuestos heterocíclicos de 5 miembros con posible acción contra la garrapata del género *Boophilus*.

Objetivos particulares:

- ❖ Sintetizar diferentes compuestos utilizando anilina y compuestos heterocíclicos de 5 miembros con un grupo amino disponible obteniendo carbamatos con estructuras aromáticas.
- ❖ Purificar los carbamatos obtenidos utilizando diferentes técnicas de separación como la cromatografía y recristalización.
- ❖ Caracterizar cada uno de los carbamatos mediante métodos espectroscópicos como infrarrojo, resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

ANTECEDENTES

1. ANTECEDENTES

1.1 Garrapatas

Desde hace varios milenios, el hombre ha percibido el problema de las garrapatas. Es importante señalar que las garrapatas y enfermedades que transmiten son uno de los grandes problemas de salud Pública y veterinaria en el mundo, la severidad

depende de la región, especies involucradas, agente transmisor, población de hospederos, situación socioeconómica y avance tecnológico en las medidas de control ^{1, 15}.

Existen aproximadamente 850 especies descritas mundialmente que no solo atacan a mamíferos sino también a reptiles y aves. Se han clasificado en dos familias de garrapatas; la *Ixodidae* que posee un caparazón protector (garrapata dura o verdadera) y la *Argasidae* (garrapata blanda o falsa) que carecen de dicho caparazón. Ambas familias de garrapatas se diferencian en cuanto a su ciclo de vida (se alimentan una o varias veces en cada estado de vida), morfología y comportamiento^{2, 3}.

Dentro de las garrapatas más problemáticas encontramos el género *Boophilus*.

1.2 Morfología

La garrapata *Boophilusmicroplus*, pertenece a la familia *ixodidae*, tiene ojos como todas las especies, posee un torax y cabeza unidos, una región bucal que consta de un hipostoma formado por una hilera longitudinal de dientes encorvados altamente especializados que rompen la piel, una cutícula brillante que les permite crecer considerablemente durante la alimentación y un número de patas que varía según el estadio de vida (larvas de 6 patas, adultos y ninfas 8 patas)⁴

1.2.1 Garrapatas del género *Boophilusmicroplus*

La garrapata *Boophilusmicroplus* es un ectoparásito hematófago que se encuentra presente en diversas regiones del mundo⁵. La garrapata *Boophilusmicroplus* se distribuye geográficamente entre los paralelos 32 de los hemisferios norte y sur, considerándose uno de los principales ectoparásitos de los bovinos en algunos países tropicales y subtropicales. El impacto económico negativo de *B. microplus* a la ganadería se debe a efectos directos e indirectos. El efecto directo, es el resultado del daño a las pieles por acción de las picaduras, pérdida de sangre y disminución de parámetros productivos. El efecto indirecto está dado por los agentes etiológicos que transmiten¹.

La garrapata *Boophilusmicropluses* originaria del sureste de Asia, se ha distribuido a través de zonas tropicales como Centro América, también ha llegado al este y sur de África, además de Australia. Fue introducida a México junto con *B. annulatus*, por el sur de Estados Unidos antes de ser exitosamente erradicada de dicho país.⁶

En México, la garrapata del género *Boophilustransmite* al ganado bovino tres agentes importantes: *Babesiabovis*, *Babesiabiginay Anaplasma marginale*, que son los causales de enfermedades como anaplasmosis y piroplasmosis^{7,8}.



Figura 1. Garrapata del genero *Boophilusmicroplus*

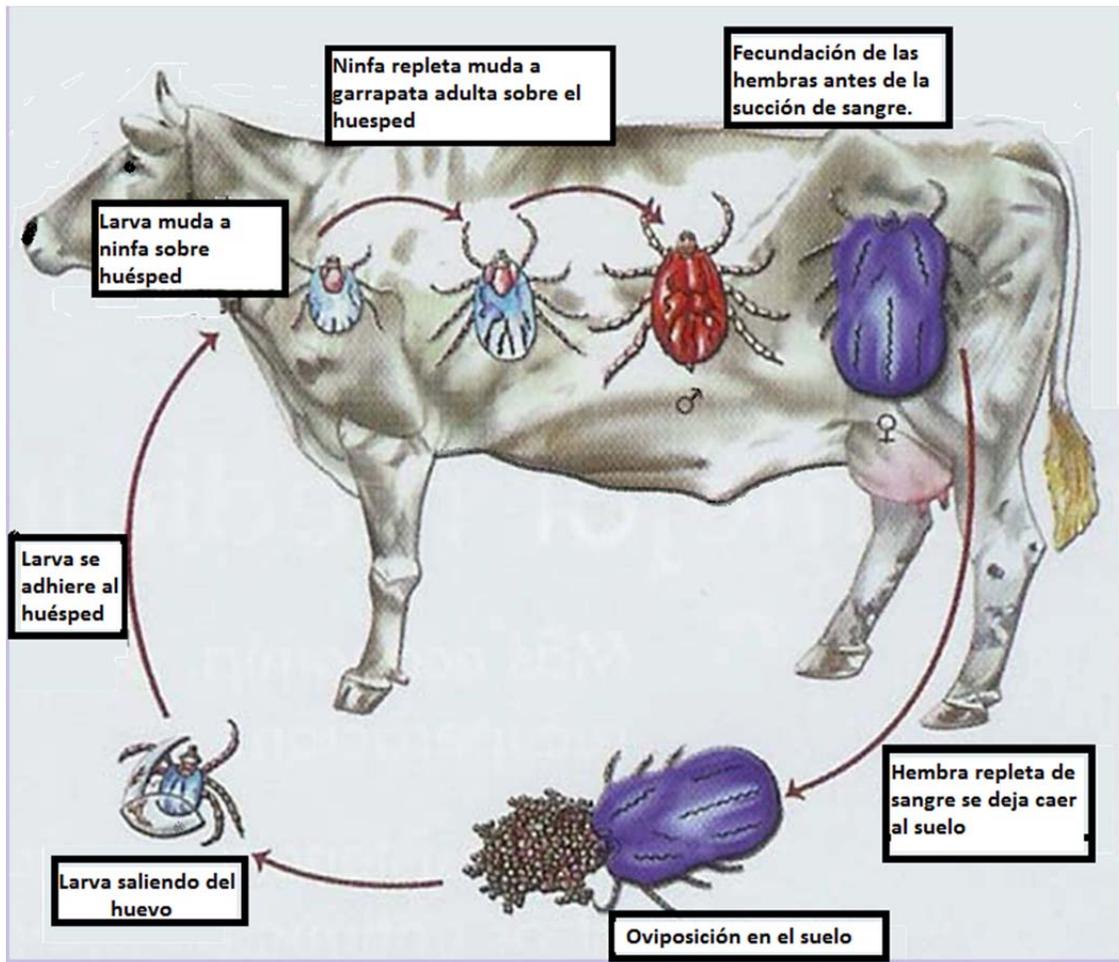


Figura 2. Ciclo Biológico de la Garrapata

1.2.2 Ciclo Biológico de la Garrapata del género *Boophilus*

Las garrapatas presentan cuatro estadios en su ciclo biológico mostrados en la figura 2: huevo, larva, ninfa y adulto. El ciclo biológico de las garrapatas del género *Boophilus* se divide en dos fases: la fase no parásita y la fase parásita. La fase *no parásita* inicia cuando la garrapata adulta hembra ingurgitada (teleogina) se desprende del bovino y busca un lugar oscuro y fresco. La teleogina pone de 2,800-3,000 huevos. Los huevos son incubados para transformarse en larvas que migran posteriormente a la vegetación en busca de un hospedero susceptible. Esta fase puede durar de 35 a 90 días dependiendo de las condiciones ambientales. *Fase parásita* inicia cuando la larva se sube a un hospedero y se

alimenta de su sangre. Durante esta fase la larva muda para transformarse en una ninfa. Esta muda para transformarse en adulto donde se diferencia el sexo (adulto macho y adulto hembra). Existe la cópula entre estos dos y la hembra queda grávida. Después de 12 a 24 horas la hembra queda repleta de sangre y se desprende del hospedero para continuar con la fase no parásita. La fase parásita tiene un tiempo constante que dura de 19 a 21 días⁸.

1.3 Control de las Garrapatas

1.3.1 Control natural de garrapatas

La naturaleza ejerce un control sobre la población de garrapatas, por un lado están los factores climatológicos (temperatura y humedad)⁹, sin embargo también existen otros reguladores biológicos que ejercen un control sobre el tremendo potencial de reproducción de las garrapatas, si no existiera este control natural, los niveles de plagas serían estratosféricos, por lo que se considera un elemento de vital importancia en el control de garrapatas.

1.3.2 Resistencia de hospedero

La resistencia del Hospedero. Las razas *Bos indicus* (Nelore, Brahaman, Gyr, Indobrasil, entre otros) son mas resistentes a infecciones graves de garrapatas que las razas *Bos taurus* (Suizo, Charolais, Gelbvieh y Holstein). La resistencia a las garrpatas por parte del hospedero se manifiesta con un reducido ingurgitamiento de la teleogina, prolongados periodos de alimentacion, disminucion en la oviposicion, baja o nula viabilidad de los huevos, cese de etapas evolutivas y muerte de ninfas⁸.El propio huésped ejerce regulación mediante el lamido o rascado de su piel

En Cuba y en Australia han detectado que las hormigas son los reguladores de mayor importancia en el control de las poblaciones de garrapatas, actuando como depredadores de adultos repletos, de garrapatas menos desarrolladas o menos

ingurgitadas y huevos de garrapatas¹⁰. Las aves también actúan al deprimir las poblaciones del ectoparásito al igual que las ratas y los ratones¹¹.

Otro regulador biológico de gran interés en el control de garrapatas son los hongos. En 1974 encontraron una hembra de *Ixodes ricinus* con micelios de *Beauveriatenella*, y en ese mismo año en Cuba demostraron la efectividad de las especies de hongos de *Beauveriabassina* y de *Metarhiziumanisopliae*, que eliminaron el 92% de los huevos en 15 días en condiciones de laboratorio, lo que dio origen a la selección de cepas para el combate de garrapatas. La patogenicidad de las diferentes cepas de los hongos entomopatógenos se evaluó, utilizando suspensiones de esporas de diferentes cepas, encontrando que los hongos más patógenos a huevos de *B. microplus*, fueron *Verticilliumlecanii*, *B.bassianayM. anisopliae*, dando origen a los bioacaricidas que son biopreparados con base en *V. lecanii*^{12, 13}.

Existen varias prácticas de manejo que afectan negativamente a las poblaciones de garrapatas, tales como: descanso de praderas, efecto del fuego, barbecho y el corte.

1.3.2 Control Químico

Ixodidas disponibles en el mercado. El control de la garrapata se ha orientado hacia el combate de las formas parasitarias (larvas, ninfas y garrapatas adultas). El método más eficaz para el control de garrapatas ha sido el uso de químicos, los cuales se aplican sobre el cuerpo del hospedero a intervalos determinados por la región ecológica, especies a las que se va combatir y eficacia residual del garrapaticida.

Las familias de productos químicos e inmunógenos (vacunas) que se utilizan actualmente para el control de las garrapatas en México son:

Tabla 1. Ixodicidas utilizados en México⁸

Ixodicidas	EJEMPLOS
• Organofosforados como:	diazinon, coumaphos y clorfenvinphos
• Piretroides como:	deltametrina, flumetrina, lambdacyalotrina, cipermetrina, alfacipertrina.
• Mezclas como:	flumetrina + cyflutrin, permetrina + ciperrmetrina y clorfenvinfos + ciperrmetrina
• Amidas como:	amitraz
• Inhibidores del desarrollo como:	fluazuron
• Fenilpirazolonas como :	fipronil
• Endectocidas como :	ivermectina, doramectina, moxidecrina
• Inmunogenos como:	antígeno Bm86 ¹¹

1.4 Distribución mundial de la resistencia a ixodicidas

Conocerla evolución mundial del problema de la resistencia de la garrapa *B. microplus* a los ixodicidas es de gran importancia una manera de conocer dicho problema es saber el año y el lugar en el cual surgió por primera vez la resistencia a un determinado compuesto químico, tal como se puede apreciar en la Tabla 2, cuyos datos son el resultado de una revisión bibliográfica realizada por la FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations)¹

Tabla 2. Año y lugar donde surge la resistetencia a los ixodicidas¹

Sustancia química	Años en que se reporto la Resistencia	Pais
Arsenicales (despues de 40 años de uso) y Organoclorados (después de 2 años de uso)	1953	Brasil
Resistencia Multiple a arsenicales, Organoclorados (DDT) Organofosforados (Diazinon, clorpirifos) y carbamatos .	1979	Africa
Organofosforados	1981	México, Veracruz, Municipio de Tuxpan
Organofosforados y Organoclorados (Lindano y dieldrin)	1986	México, Veracruz, Municipio de Temporal
Piretroides sintéticos	1987	Africa Sudáfrica
Resistencia Multiple a Organofosforados y Piretroides sintéticos	1989	Australia
Piretroides sintéticos (Cipermetrina)	1989	Colombia
Piretroides sintéticos(Flumetrina, deltametrina, alfacipermeterina y lamdacialotrina	1993	Colombia
Resistencia a Piretroides sintéticos (Flumetrina, deltametrina, cipermetrina) y Amidas (Amitraz)	1992	Australia y Centroamérica
Resistencia multiple (Organofosforados Piretroides sintéticos y Amidas)	1995	México y Brasil
Resistencia multiple (Organofosforados Piretroides sintéticos y Amidas)	1996	África. Sudrafica
Resistencia Multiple a Organofosforados, Piretroides sintéticos (Flumetrina, deltametrina y cipermetrina) y Amidas	2001	México y Taumalipas

1.4.1 Origen de la resistencia en México

Los primeros problemas de resistencia de la garrapata *B. microplus* hacia a los ixodicidas organofosforados y organoclorados en México se documentó por primera vez en 1981 en el Estado de Veracruz, siete años después de que comenzaron en forma intensiva y periódica; se demostró que la distribución de la resistencia era amplia en la región este y noreste de México (en el área de las Huastecas), por lo cual las autoridades Federales de la Dirección General de Sanidad Animal Autorizaron el registro en 1986 de los piretroides y amidinas como una alternativa del control de la resistencia a los organofosforados, iniciándose así el uso de estos ixodicidas. Siete años después, en 1993 se detectaron los primeros casos de resistencia a ixodicidas piretroides mediante el ensayo de paquetes de larvas con dosis discriminantes; se identificaron cepas dobles resistentes a piretroides y organofosforados, con una distribución geográfica en regiones ganaderas en la zona del Golfo de México, noreste y sur de Tamaulipas, este de San Luis Potosí, sureste de Tabasco, noreste de Chiapas, norte y sur del estado de Veracruz²¹.

La resistencia a los ixodicidas en la garrapata *B. microplus* se ha incrementado como un problema para la ganadería Mundial, en México tiene gran importancia porque su distribución también coincide con las áreas tropicales, que son las zonas más importantes de la industria ganadera nacional¹³.

Estos últimos hallazgos obligaron al replanteamiento de las estrategias de control que se seguían hasta esos momentos. La dirección General de Salud Animal de la SAGAR decidió estimular el uso de tratamientos estratégicos o umbrales más que los sistemáticos. Esto es, no buscar la erradicación de la garrapata, sino aprender a convivir con ella a niveles de infestación baja que no ocasione graves pérdidas productivas.

Adicionalmente el uso exagerado de ixodicidas bajo un esquema de erradicación provoca que el ganado no pueda infectarse naturalmente con los parásitos (*Babesias*) lo cual acarrea mayor susceptibilidad a la enfermedad y la muy

probable presencia de mayor número de casos clínicos cuando la población de garrapata aumenta por cualquier razón.

El desarrollo de la resistencia es producto del uso exagerado de garrapaticidas lo cual ocasiona la aparición de problemas de resistencia mismo que a la larga son más costosos de corregir pues deberá de buscar como solución el uso de un ixodicida que con toda seguridad tendrá un mayor precio que los que ya no pueden utilizarse.

1.4.2 Tipos de resistencia

La resistencia se define como la capacidad adquirida por individuos de una población parásita que les permite sobrevivir a dosis de químicos que generalmente son letales para una población normal¹.

Existen dos tipos de resistencia¹:

La resistencia cruzada (RC) es el mecanismo que les permite a las especies de insectos resistentes sobrevivir a la exposición de insecticidas relacionados químicamente o con mismo modo de acción.

La resistencia múltiple (RM) la cual les confiere resistencia hacia la acción de varias clases de insecticidas no relacionados químicamente y aún más extraordinario les confiere resistencia frente a insecticidas a los que nunca han estado expuestos, empleando varios mecanismos de defensa.

1.4.3 Factores que influyen en el desarrollo de la resistencia

Los factores que influyen directamente en el desarrollo de la evolución de la resistencia, se clasifican en:

Genéticos: los factores genéticos influyen en el desarrollo de la resistencia incluyen la frecuencia y el número de alelos resistentes, dominancia, penetración (frecuencia expresada en porcentaje, en la que individuos de un genotipo dado manifiestan, al menos en algún grado, un fenotipo mutante asociado con un

carácter), expresividad (grado o rango en el que se expresa un fenotipo para un carácter dado)²² e interacciones de alelos resistentes. La dominancia es un factor importante sobre los genes que confieren resistencia, el grado del gen influyen en el aumento de individuos resistentes en una población bajo presión de selección. También es de gran importancia la recombinación intragénica entre alelos resistentes ya preexistentes en el ectoparásito, como mecanismo adaptativo rápido en cepas sometidas a intensa presión de selección química por ixodícidas futuros¹.

Biológicos: incluyen aspectos bióticos de la plaga como potencial reproductivo, ciclo evolutivo demasiado breve, cantidad de huéspedes, sobrevivencia fortuita y refugio (alta movilidad). La presencia del refugio retarda el aumento en la frecuencia del alelo resistente, aparentemente ocurre porque algunos individuos susceptibles escapan al tratamiento, lo cual favorece a los alelos susceptibles perpetuarse en una población mayor, de tal forma que el retraso en la evolución de resistencia normalmente resulta del constante influjo de individuos susceptibles que ayudan a cancelar la evolución que ha sido realizada por la selección con insecticidas⁴.

Operaciones del químico: incluye la naturaleza del químico, el uso inicial de pesticidas, persistencias de residuos, formulación, tipo de aplicación, umbral de aplicación, umbral de selección y selección de estado de vida⁴.

Este último factor es de suma importancia dado que es el único manipulado por el hombre y por ende el único considerado para planear estrategias de combate hacia el control de las garrapatas.

1.4.4 Resistencia a Ixodícidas

La resistencia se interpreta como una respuesta biológica evolutiva, significa la única oportunidad para sobrevivir frente a la presión química desplegada sobre generaciones sucesivas de una especie¹. Contrastando con la lenta evolución de la resistencia a sustancias tóxicas producidas por plantas en la naturaleza, el

desarrollo de resistencia a los insecticidas sintéticos ha sido extremadamente rápido, posiblemente porque los insectos pueden utilizar mecanismos desarrollados en defensa contra compuestos aleloquímicos o patógenos de la planta. La velocidad con que se desarrolla la resistencia en una población depende principalmente de la frecuencia inicial de los genes que confieren resistencia, la intensidad de selección, el grado de dominancia del gen y la relativa capacidad del genotipo. En general, la frecuencia de genes que confieren resistencia es muy baja en poblaciones que no han estado bajo presión de selección.

El origen de la resistencia se gesta mediante tres fases siguientes¹:

Fase de establecimiento. Es cuando surge un alelo resistente en una población, habitualmente este proceso se efectúa por mutaciones naturales y en forma independiente a la presión de selección.

Fase de desarrollo. Es el aumento de la frecuencia de los genes que confieren resistencia, aumentando el número de individuos resistentes (en principio heterocigotos, aunque incluye homocigotos a medida que progresa la selección) y ocurre por la tasa de sobrevivencia preferencial sobre individuos susceptibles después del uso de productos químicos. Este proceso ocurre de manera rápida, si el gen de resistencia es dominante o parcialmente dominante; y lenta si el gen es recesivo.

Fase de emergencia. Ocurre por una elevada tasa de presión de selección, en donde el alelo resistente es común en la población para manifestar que el ixodicida es inefectivo. La frecuencia de genes que confieren resistencia es muy baja en poblaciones que no han estado bajo presión de selección.

La resistencia gestada en un ectoparásito le confiere mayor viabilidad, fecundidad y competitividad frente aquellos ectoparásitos susceptibles al producto químico⁶. En la actualidad, la resistencia comprende todos los ectoparásitos combatidos.

1.4.5 Mecanismos de resistencia de ixodicidas

Los insectos disponen de un genoma tal que posibilita el desarrollo de resistencia hacia los insecticidas más importantes²³. Los mecanismos de resistencia pueden ser fisiológicos o no fisiológicos; en los fisiológicos hay modificaciones en el genoma del insecto que le permite modificar su metabolismo (resistencia metabólica o toxicocinética), exoesqueleto (penetración reducida) y modificaciones en blancos de acción (insensibilidad del sitio de acción o toxicodinamia), en tanto que en los no fisiológicos hay modificaciones en el comportamiento del insecto. A continuación se describirán brevemente dichos mecanismos de resistencia.

Penetración reducida:

Es una modificación del exoesqueleto del insecto relacionada con el gen pen, para inhibir o retardar la penetración del químico, y que en general tiene que ver con la concentración de lípidos que facilitan o retardan la penetración del pesticida a través de su estructura¹.

***Resistencia metabólica*^{1, 23}:**

Es la detoxificación del insecticida por procesos enzimáticos que radica en la modificación de las vías metabólicas del insecto. Las principales vías metabólicas modificadas son las de hidrólisis, oxidación, reducción y conjugación, que difieren en importancia relativa según la especie y compuesto involucrado. El objetivo de la modificación en el metabolismo es limitar la actividad del fármaco y transformarlo en sustratos hidrosolubles, promoviendo su excreción, de modo que en el interior del parásito permanece la menor cantidad disponible para interactuar en el sitio de blanco.

Insensibilidad del sitio de acción:

Es la modificación del sitio de acción del insecticida para disminuir la sensibilidad del químico. Si la causa de resistencia es por este mecanismo, la resistencia es muy alta en comparación con la originada por el mecanismo de detoxificación.

Para el estudio de este tipo de resistencia se han utilizado técnicas de biología molecular, los cuales han revelado modificaciones en los receptores que son blancos de acción de algunos insecticidas. Un ejemplo es el canal de sodio dependiente de voltaje en el sistema nervioso de la garrapata, el cual es el sitio blanco de acción de piretroides y DDT, una mutación de punto en el gen que codifica para uno de los dominios que conforman este receptor, provoca la resistencia hacia estos insecticidas.

Resistencia no fisiológica:

Es cuando el insecto modifica su conducta inducida en el momento que toma la relación con el químico que funciona como irritante o repelente. Al parecer hay ciertas estructuras sensoriales del insecto que le ayudan a determinar cuándo aumentar su movilidad por la presencia de químicos, impulsando el desplazamiento hacia territorios del animal libres de insecticidas.

1.5 Diagnóstico de la resistencia a ixodicidas

El diagnóstico de la resistencia permite estar seguro de que realmente se está ante una situación de desarrollo de resistencia y no ante un problema de uso inadecuado del producto (dosis, frecuencia y almacenamiento de las sustancias activas). Primero se realiza una cuidadosa evaluación de las prácticas utilizadas en la aplicación del ixodicida y si se comprueba que no existen fallas en el uso del garrapaticida, entonces se recurre a métodos de diagnóstico de laboratorio para confirmar que el problema se debe al desarrollo de la resistencia⁸.

Las técnicas diagnósticas para el monitoreo de resistencia requiere cumplir con los siguientes requisitos¹:

- 1) Detectar resistencia en un estado inicial de emergencia.
- 2) Diagnosticar un amplio rango de grupos químicos, incluyendo formulaciones.
- 3) Que sea simple y barata

- 4) Que sea estandarizada: permite comparar y reproducir resultados. Los bioensayos estandarizados para el diagnóstico de resistencia de una muestra de garrapatas son valiosos porque fenotipifican la respuesta poblacional al ixodicida.

Es importante el uso de técnicas diagnósticas en el monitoreo de la susceptibilidad, para la detección temprana de resistencia, lo cual permite planificar la estrategia, de utilizar un insecticida alternativo sobre la población mutante desactivar la selección y difusión, aunque también es necesario examinar la naturaleza del mecanismo involucrado^{19, 23}.

1.6 El uso de carbamatos como alternativa en el control de la garrapata *Boophilusmicroplus*

1.6.1 Carbamatos

Los carbamatos también llamados uretanos son compuestos orgánicos que tienen una estrecha relación funcional con los carbonatos²⁴, tienen un grupo -NH₂, NHR- Ó -NR₂unido a un grupo carbonilo de éster la estructura básica de los carbamatos es la siguiente:

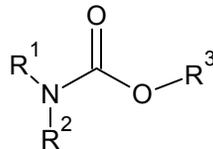


Figura 3. Estructura básica de los carbamatos.

R¹, R² y R³ = H, Alquilo, arilo. El carbamato más simple es el ácido carbámico (R¹ = R² = R³ = H)

La mayor parte de los carbamatos se han obtenido por síntesis química¹⁸ aunque se han obtenido de fuentes naturales, por lo que en la actualidad varios grupos de investigación se encuentran desarrollando métodos de síntesis de nuevos productos que tengan utilidad práctica.

La síntesis de los carbamatos se pueden realizar a partir de:

- a) Isocianatos
- b) Aminas
- c) Nitrilos, nítrenos, nitroaromáticos y cuprolitiados

Desde la década de los años 50's los carbamatos se han utilizado como insecticidas, fungicidas, nematodocidas, y herbicidas, actualmente algunos son usados como pesticidas, antiparasitarios^{19, 20, 25} y antimicrobianos.

Dentro de los carbamatos utilizados en la agricultura y medicina podemos encontrar los siguientes:

Tabla 3. Carbamatos utilizados en diferentes áreas²⁶.

TIPOS DE CARBAMATOS	
Metilcarbamatos de acción insecticida	Lannante, Carbofurán, Dimetan, Dioxacarb, Ethiofencarb, Fenethacarb, Fenobucarb, Formetanate, Isolan, Aldicarb, Carbaril, Metomyl, Pirimicarb, Oxamyl (insecticida y nematocida) y Propoxur.
Carbamatos de acción fungicida	Benomyl, Carbendazim
Ditiocarbamatos de acción fungicida	Mancozaeb, Thiram
Tiocarbamatos de acción herbicida	Molinate, Sutan 6.7 E.
Fenilcarbamato de acción herbicida	Betanal CE.
Dietiltiocarbamato	Disulfiram, utilizado en el tratamiento del alcoholismo

Los carbamatos se absorben bien por vía oral, pero por vía dérmica su absorción es variable. Son excretados rápidamente y no se acumulan en tejidos de mamíferos. Las intoxicaciones (no mortales) suelen durar menos de 24 horas. En general son de media o baja toxicidad exceptuándose algunos productos como el

carbaril, aldicarb, carbofurán, metomyl, lannate, y nudrin que son de toxicidad alta²⁶.

1.7 Desarrollo de nuevas entidades químicas con propiedades ixodicidas

La resistencia a químicos es un problema de preocupación mundial debido a la presencia de resistencia cruzada y múltiple entre plagas de insectos, disminución progresiva de insecticidas efectivos y el elevado costo del desarrollo de nuevos insecticidas.

El uso intensivo así como la administración de dosis elevadas de los ixodicidas químicos para el control o erradicación de la garrapata y otros insectos ha provocado el fenómeno de resistencia a los ixodicida.

La resistencia a los ixodicidas como por ejemplo: a los Organofosforados (diazinón, coumaphos, clorfenvinphos), Piretroides (deltametrina, flumetrina, lambdacyalotrina, cipermetrina, alfacipermetrina) y Amidinas (amitraz), en la garrapata *Boophilusmicroplus*, se ha incrementado como un problema en la ganadería mundial^{21, 27}. El desarrollo de nuevos ixodicidas seguramente contribuirá a reducir el problema de resistencia y reducirá las enormes pérdidas económicas producidas por la infestación de garrapatas¹⁹.

El descubrimiento de nuevas sustancias químicas que posean actividad ixodicida, se puede lograr mediante la modificación estructural de un prototipo o mediante la búsqueda y ensayo de una gran variedad de compuestos aislados de la naturaleza o sintetizados en el laboratorio como es el caso de los carbamatos^{16,17}. La modificación estructural de un compuesto bioactivo puede tener repercusiones importantes en sus propiedades fisicoquímicas y cambios en su actividad.

EXPERIMENTACIÓN

2. PARTE EXPERIMENTAL

Metodología General de síntesis:

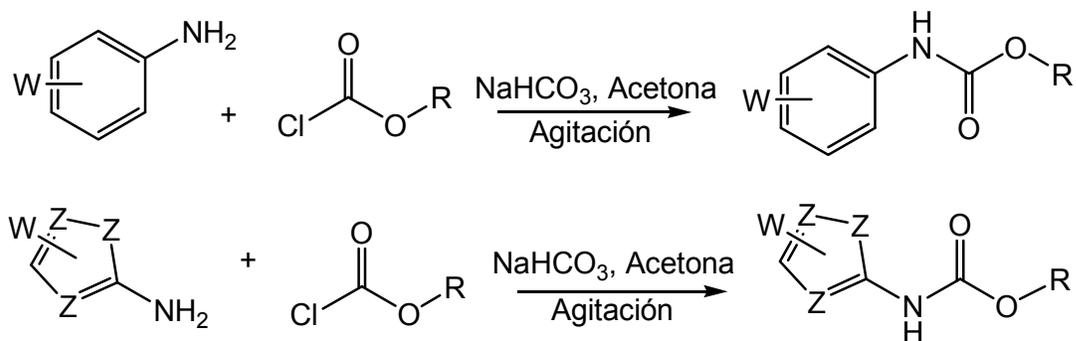
Se pesa la cantidad equivalente de la anilina sustituida posteriormente se coloca en un matraz de bola, y en acetona manteniendo una agitación constante, a esta mezcla se le agrega carbonato ácido de sodio (NaHCO_3); y enseguida se le añade cloroformiato de etilo disuelto en acetona. La mezcla de reacción se mantiene en baño de hielo por espacio de 5 minutos; posteriormente se lleva a reflujo previsto de una trampa de humedad, con agitación magnética continua; la reacción se monitorea por cromatografía de capa fina utilizando gradientes de polaridad hexano-acetato de etilo como fase móvil. Cabe mencionar que si la anterior reacción no se lleva a cabo deberá dejarse a temperatura ambiente y/o ponerse bajo la lámpara de infrarrojo.

Una vez concluido el tiempo de reacción, se filtra para eliminar el exceso de NaHCO_3 , y el disolvente se elimina a presión reducida en un rotavapor. La purificación del producto de reacción se realiza por varias, técnicas primero se hace una recristalización, si es necesario lavar con carbón activado y tercero la cromatografía en columna con gradientes de concentración hexano/ acetato de etilo.

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se determina por cromatografía en capa fina utilizando cromatoplasmas de sílica gel, empleando como reveladores, vapores de yodo y/o luz ultravioleta.

La cromatografía en columna se realiza con gel de sílice empleando como eluyente un gradiente del sistema hexano/acetato de etilo.

El peso de las muestras de los productos se determinará con una balanza analítica METTLER AT 200, los puntos de fusión se realizan con un aparato Fisher-Jones. Todos los productos se caracterizan por sus espectros de Infrarrojo, resonancia magnética nuclear y espectroscopia de masas.



R= metilo o etilo, W =cualquier grupo funcional orgánico, y Z=oxígeno, azufre y nitrógeno.

Figura 4. Reacción general de síntesis de carbamatos

3. MECANISMOS DE REACCIÓN

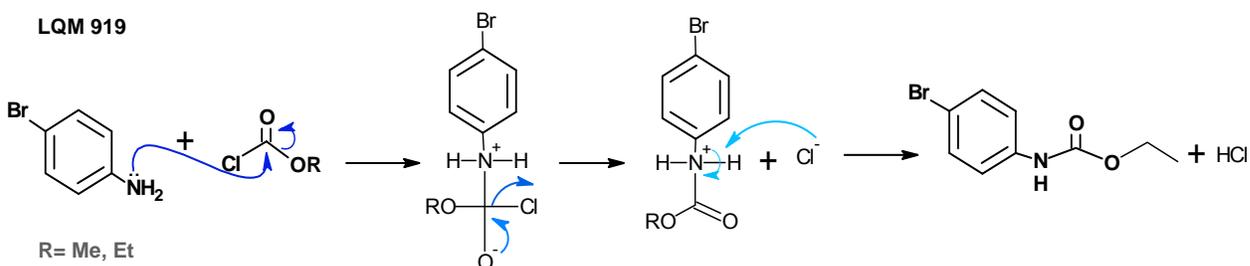
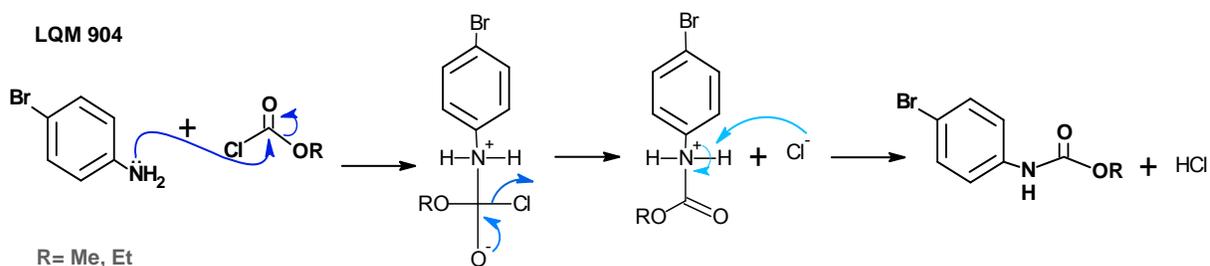
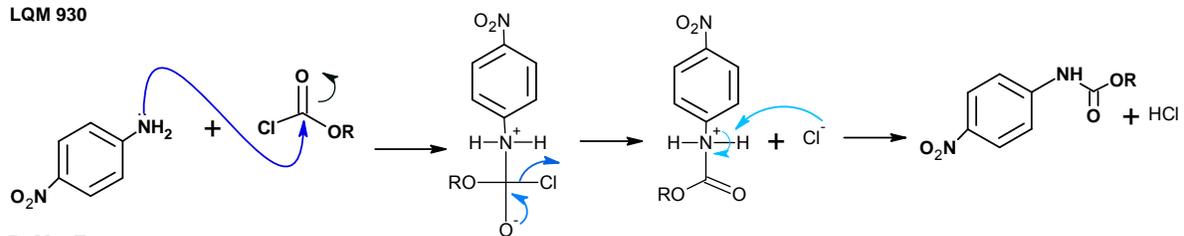
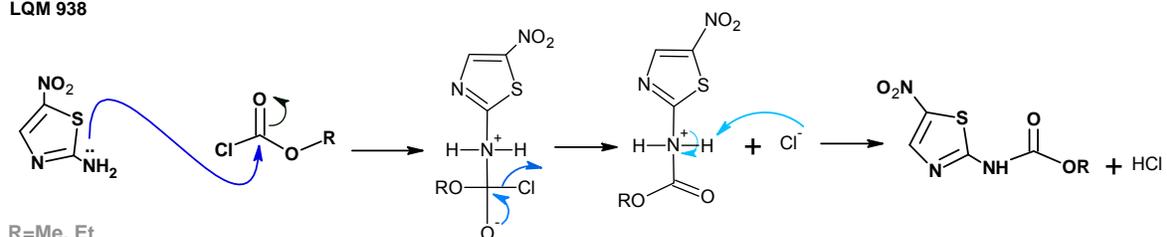


Figura 5. Mecanismos de reacción para obtener el 4-bromofenilcarbamato de metilo y el 4-Bromofenilcarbamato de etilo

LQM 930



LQM 938



LQM 989

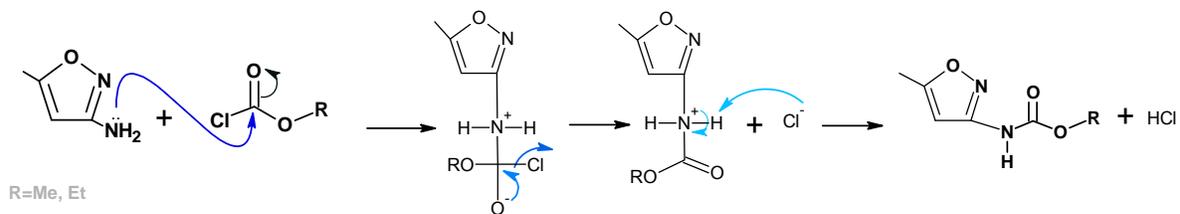


Figura 6. Mecanismos de reacción para obtener el 4-Nitrofenilcarbanto de metilo, 5-Nitro-1,3-tiazol-2-ilcarbanto de etilo y el 5-Metilisoxazol-3-ilcarbanto de metilo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran los resultados obtenidos de la caracterización de la serie de carbamatos sintetizados. En la Tabla 4 se muestran las características específicas que presentó cada carbamato como el punto de fusión, el rendimiento así como las condiciones de trabajo y la materia prima que se utilizó para sintetizar cada uno de ellos.

TABLA 4. Compuestos sintetizados. Punto de fusión, Rendimiento, Condiciones de trabajo para la reacción. B. h= Baño de hielo, T. a = Temperatura ambiente, C. I = Cámara de Infrarrojo.

LQM	Materia prima	Condiciones de reacción	Producto	Punto de fusión (°C)	Rendimiento (%)
904	4-Bromoanilina	B. h	4-Bromofenilcarbamato de metilo	124-126	87
919	4-Bromoanilina	B. h	4-Bromofenilcarbamato de etilo	78-80	79
930	4-Nitroanilina	T.a	4-Nitrofenilcarbamto de metilo	174-176	85
938	2-amino-5-nitrotiazol	C. i	5-Nitro-1,3-tiazol-2-ilcarbamato de etilo	192-194	86
989	3-amino-5-metil isoxazol	Ta	5-Metilisoxazol-3-ilcarbamato de metilo	134-136	74

4.1 Análisis espectroscópico.

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de los carbamatos LQM-904 y LQM-930 siguen un mismo patrón debido a que sus estructuras son similares.

En la parte de debajo de la figura 7 se describen los datos espectroscópicos, la RMN de ^1H de este compuesto muestra los desplazamientos químicos.

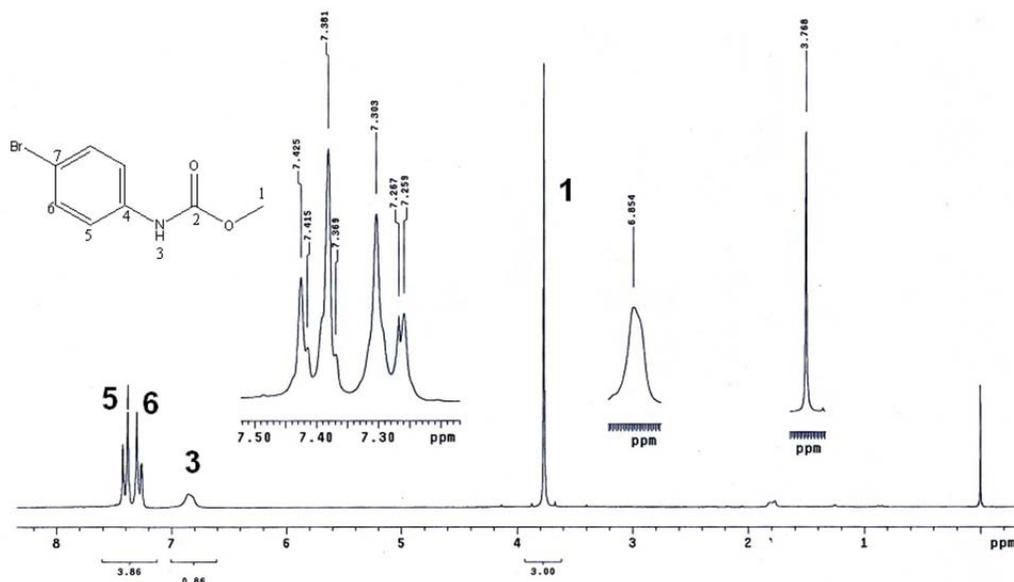


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H del carbamato LQM-904

RMN ^1H : (199.9 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 3.76 (s, 3H, H-1), 6.85 (s, 1H, H-3), 7.28 (d, 2H, $J_o=8.7$ Hz, H-6) y 7.40 (d, 2H, $J_o=8.7$ Hz, H-5). Infrarrojo: (cm^{-1}), bandas en: 3402, 3024, 2950, 2000-1600, 1630. E.Masas $\text{M}^+(\text{m/z})$ 230 20%, ($\text{M}+2$ 232 19%).

La RMN de hidrógeno de este compuesto muestra un sistema AB centrado en 7.39, debido a los hidrógenos del anillo aromático, 6.85 una señal ancha debida al protón del carbamato y finalmente una señal simple en 3.76, asignada al metilo del carbamato. El infrarrojo, muestra las bandas características del N-H en 3402, del Csp²-H en 3024, Csp³-H en 2950, las bandas del sistema aromático entre 2000 y 1600 y finalmente la del grupo carbonilo en 1704 (figura 19). El espectro de masas muestra el ión molecular en 230 y su correspondiente contribución isotópica en 232.

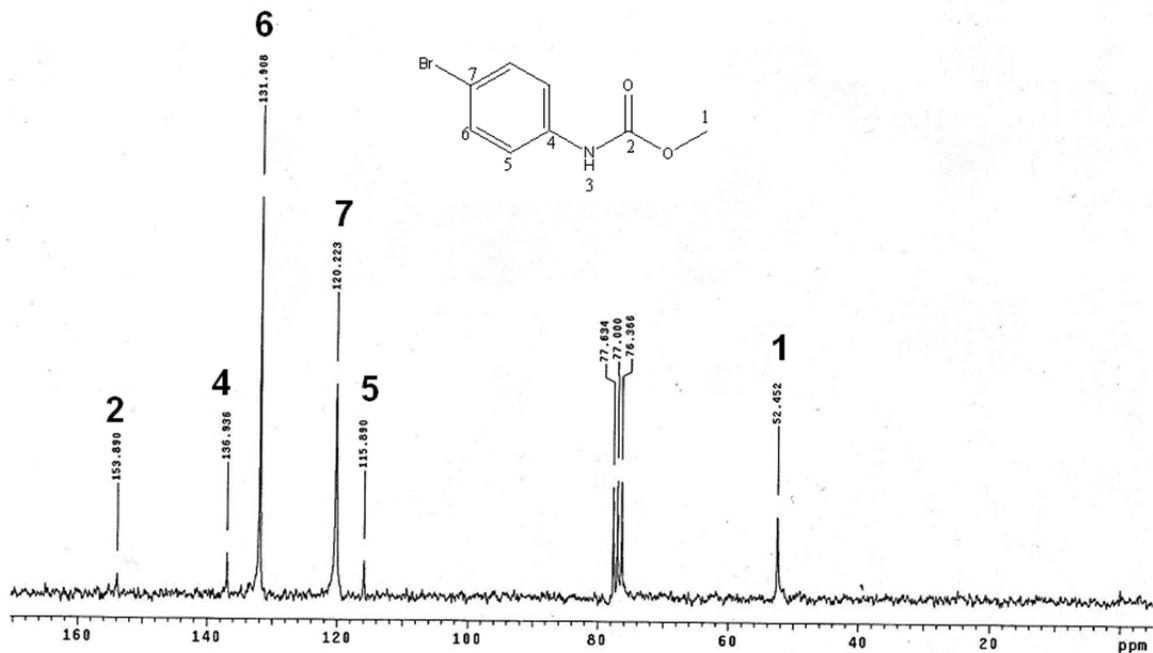


Figura 8. Espectro de RMN y ¹³C del carbamato LQM-904

RMN ¹³C:(50.2 MHz, CDCl₃/TMS) δ; 52.4 (C-1), 115.8 (C-5), 120.2 (C-7), 131.9 (C-6), 136.9 (C-4) y 153.8 (C-2).

En la parte inferior de la figura 8. Se muestran los desplazamientos químicos correspondientes a la estructura LQM-904 donde se observa el carbonilo en 153.8 ppm, además de las señales y las 4 señales correspondientes a los carbonos de la parte aromática en 115.8 (C-5), 120.2 (C-7), 131.9 (C-6), 136.9 (C-4) y del metilo en 52.4 ppm.

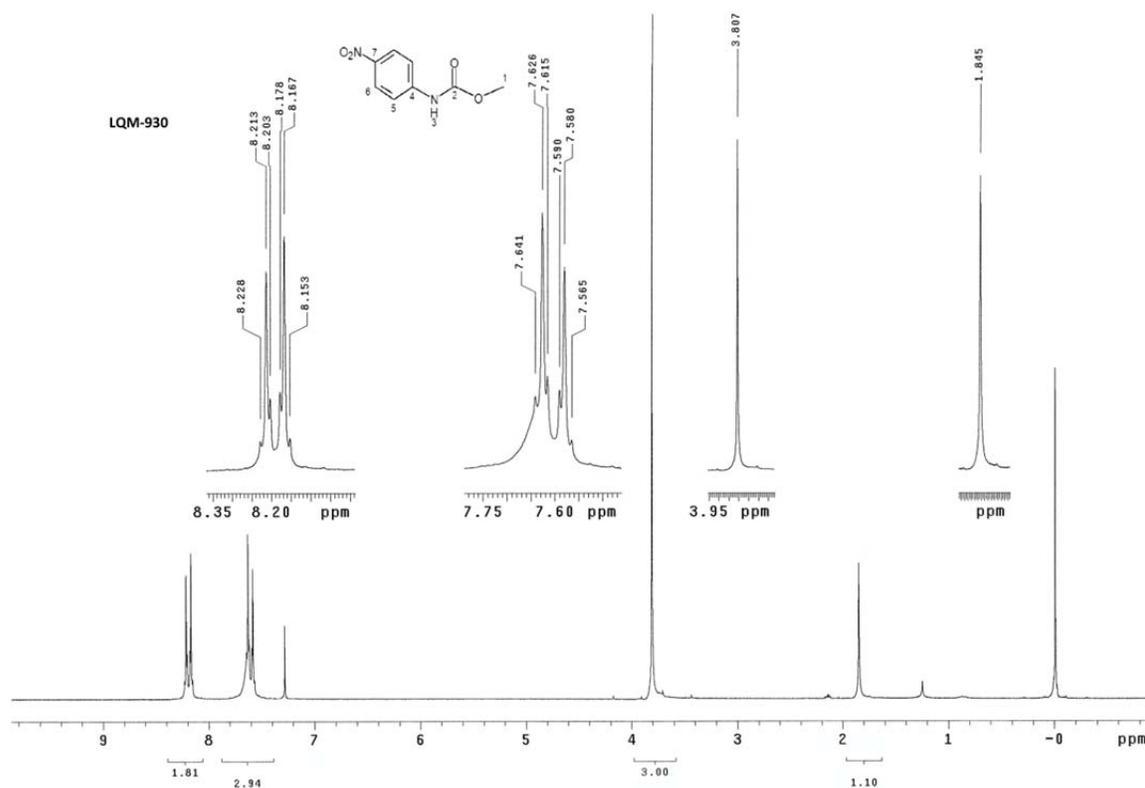


Figura 9. Espectro de RMN y ¹H del carbamato LQM-930

RMN ¹H: (200 MHz, CDCl₃/TMS) δ; 3.80(s, 3H, H-1), 7.58 sistema AB(2H, *J*_o=8.7 Hz), y 8.16 (d, 2H, *J*_o=8.7 Hz, H-5).

En la parte inferior de la figura 9. Se muestran los desplazamientos químicos correspondientes a la estructura del LQM- 930 este espectro de resonancia muestra un sistema AB centrado en 7.9 ppm debido a los hidrógenos del anillo aromática, en 7.3 ppm se observa una señal que corresponde al protón del carbamato y en 3.8 una señal simple que corresponde a los hidrógenos del metilo del carbamato.

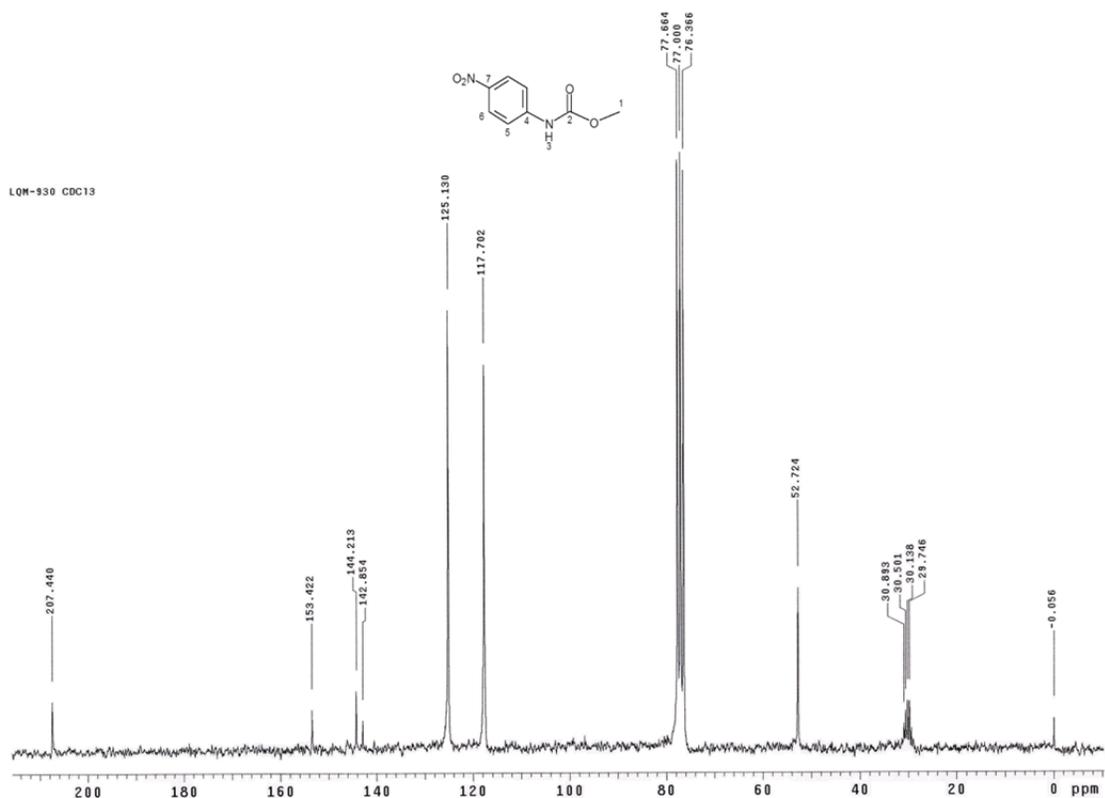


Figura 10. Espectro de RMN y ¹³C del carbamato LQM-930

RMN ¹³C: (50.2 MHz, CDCl₃/TMS) δ; 52.7 (C-1), 117.7 (C-5), 125.1 (C-7), 142.8 (C-6), 144.2 (C-4) y 153.4 (C-2).

La figura 10 muestra el espectro de RMN ¹³C del carbamato LQM-930 cuyos desplazamientos químicos corresponden al carbonilo en 153.42 ppm, las 4 señales 144.21, 142.85, 125.13 y 117.70 ppm pertenecientes a los carbonos del sistema aromático; en 61.3 ppm muestra al átomo de Carbono del grupo etilo

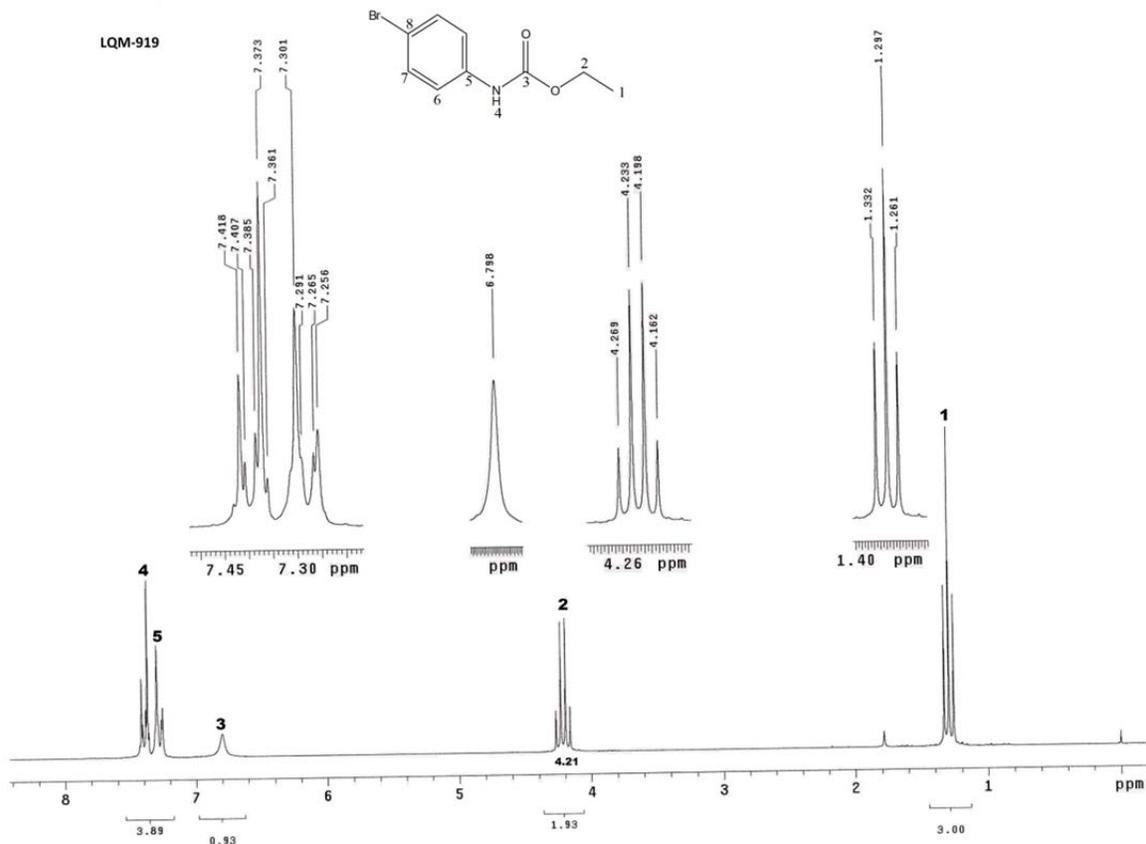


Figura 11. Espectro de RMN y ¹H del carbamato LQM-919

RMN 1H: (199.9 MHz, CDCl₃/TMS) δ; 1.29 (t, 3H, H-1), 4.21 (c, 2H, H-2), 6.79 (s, 1H, H-4), 7.57 (d, 2H, J_o=8.9 Hz, H-7) y 8.20 (d, 2H, J_o=8.9 Hz, H-6).

Con respecto al carbamato LQM-919 la diferencia que existe entre éste y el LQM-904 es solamente un carbono en la región del carbamato, es decir éste último es un carbamato de metilo de tal manera que en el espectro de hidrógeno del carbamato LQM-989 podemos notar el equilibrio que existe entre las formas tautoméricas ya que en la estructura A se muestra el protón 3 en 6.81 mientras que el tautómero B, en el protón 5 se encuentra a campos bajos en 9.08 ppm.

La diferencia entre ellos es mínima, se muestra a continuación el espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (Figura 11.), en donde se puede notar las señales del grupo etilo que son el cuarteto en 4.21 ppm y el triplete en 1.29 ppm debidos al metileno y metilo respectivamente.

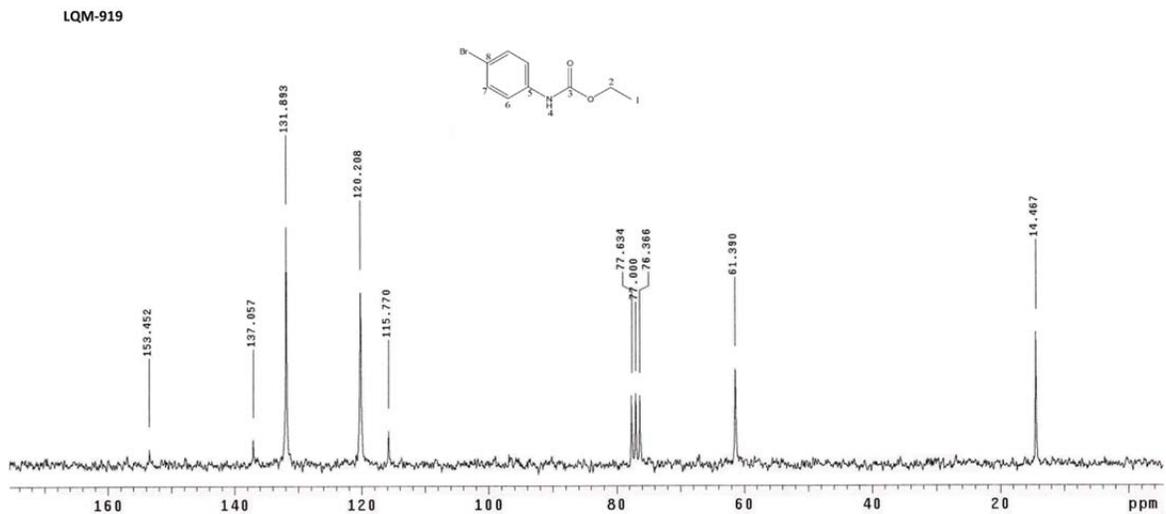


Figura 12. Espectro de RMN y ^{13}C del carbamato LQM-919

RMN ^{13}C : (50.2 MHz, CDCl_3/TMS) δ ; RMN ^{13}C : (50.2 MHz, CDCl_3/TMS) δ ; 14.4(C-1), 61.3 (C-2), 115.7 (C-8), 120.2 (C-6), 131.8 (C-7), 137.0 (C-5) y 153.4 (C-3).

La figura 12 muestra el espectro de RMN ^{13}C del carbamato LQM-919 cuyos desplazamientos químicos corresponden al carbonilo en 153.45 ppm, las 4 señales 115.7, 120.2, 131.8 y 137 ppm pertenecientes a los carbonos del sistema aromático; en 61.3 ppm muestra al átomo de Carbono del grupo etilo

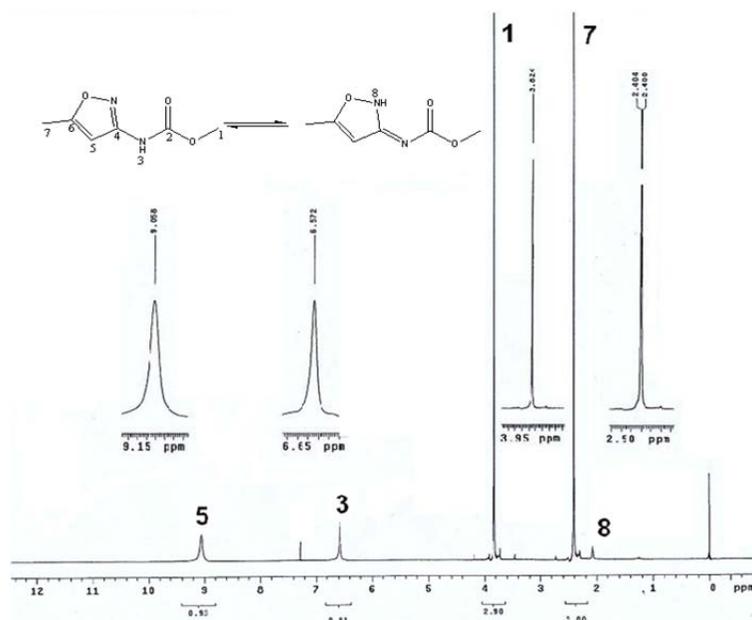


Figura 13. Espectro de RMN ^1H del carbamato LQM- 989.

RMN ^1H : (199.9 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 2.40 (s, 3H, H-7), 3.82 (s, 3H, H-1), 6.57 (s, 1H, H-3) y 9.05 (s, 1H, H-5) y su tautómero 2.11 (s, 1H, H-8). Infrarrojo: (cm^{-1}), bandas en: 3467, 3023, 2967, 1652. E. Masas M^+ 170 (21%).

En este espectro (Figura 13) se muestra el singlete debido a los hidrógenos de los carbonos metílicos H-7 y H-1 en 2.40 y 3.82 ppm respectivamente, singlete debido al hidrógeno del grupo N-H (H-3), y el singlete del hidrógeno del anillo heterocíclico H-5 que se encuentra en 9.05 ppm, la señal de su tautómero se encuentran en 2.11 ppm del hidrógeno H-8.

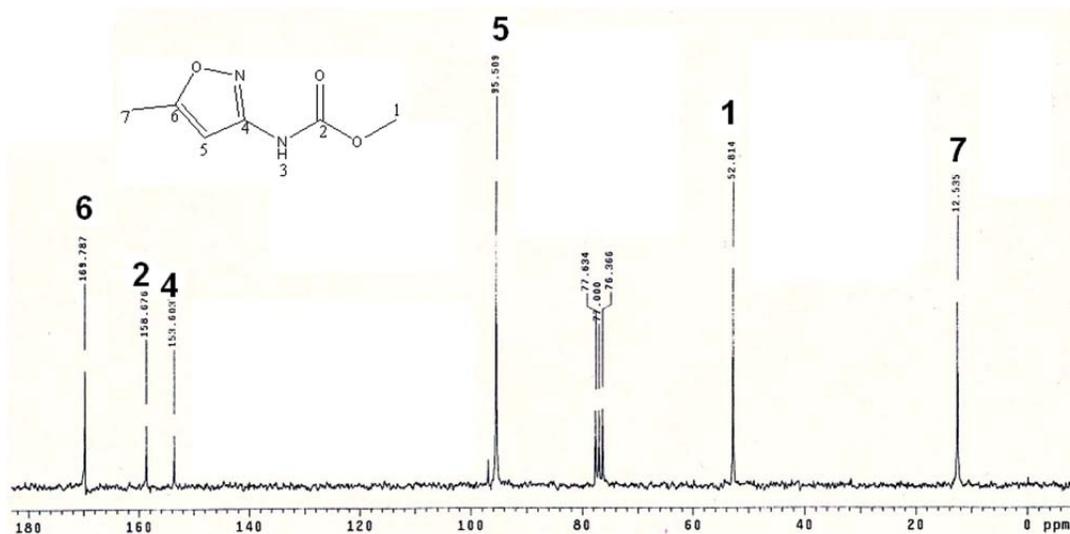


Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C del carbamato LQM- 989.

RMN ^{13}C : (50.2 MHz, CDCl₃/TMS) δ ; 12.5 (C-7), 52.8 (C-1), 95.5 (C-5), 153.6 (C-4), 158.6 (C-2) y 169.8 (C-6).

En este espectro (Figura 14.) se asignan las señales para RMN ^{13}C del carbamato LQM-989, como podemos observar se muestran todas las señales debido a los carbonos con diferente ambiente químico que posee esta molécula. Se observa el carbono carbonílico (C-2) en 158.6 ppm, además de las señales de los carbonos metílicos (C-7y C-1) en 12.5y 52.8 ppm respectivamente, y las 3 señales correspondientes a los carbonos de la parte heterocíclica.

En el caso del carbamato LQM-938, a continuación se presentan los espectros:

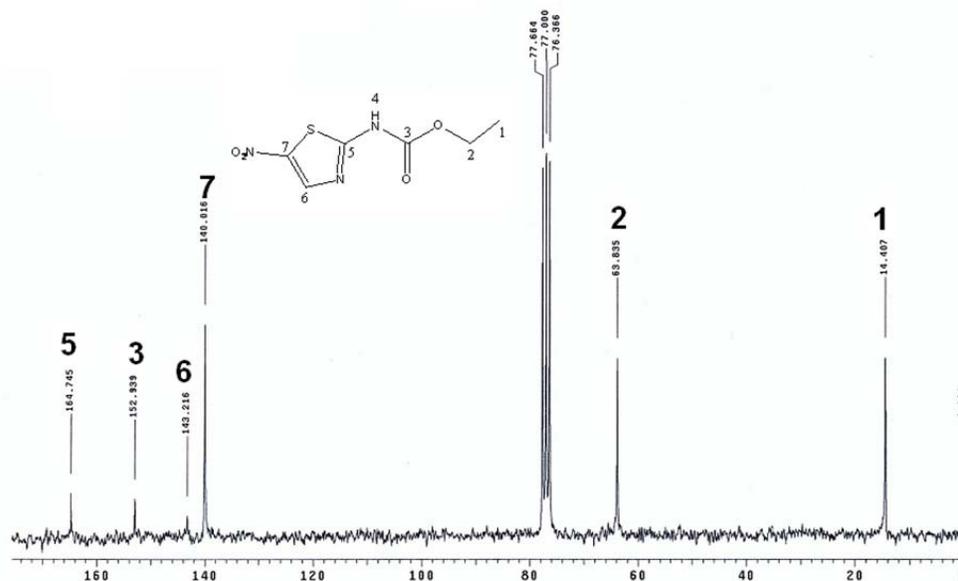


Figura. 15 Espectro de RMN ^{13}C del carbamato LQM-938

RMN ^{13}C : (50.2 MHz, CDCl_3/TMS) 14.4 (C-1), 63.8 (C-2), 140.0 (C-7), 143.2 (C-6), 152.9 (C-3) y 164.7 (C-5).

En el espectro de la Figura 15, se observa el carbono carbonílico en 152.9 ppm, además de las señales de los carbonos metílico y metilénico 14.4 y 63.8 ppm respectivamente, y las 3 señales correspondientes a los carbonos del heterociclo.

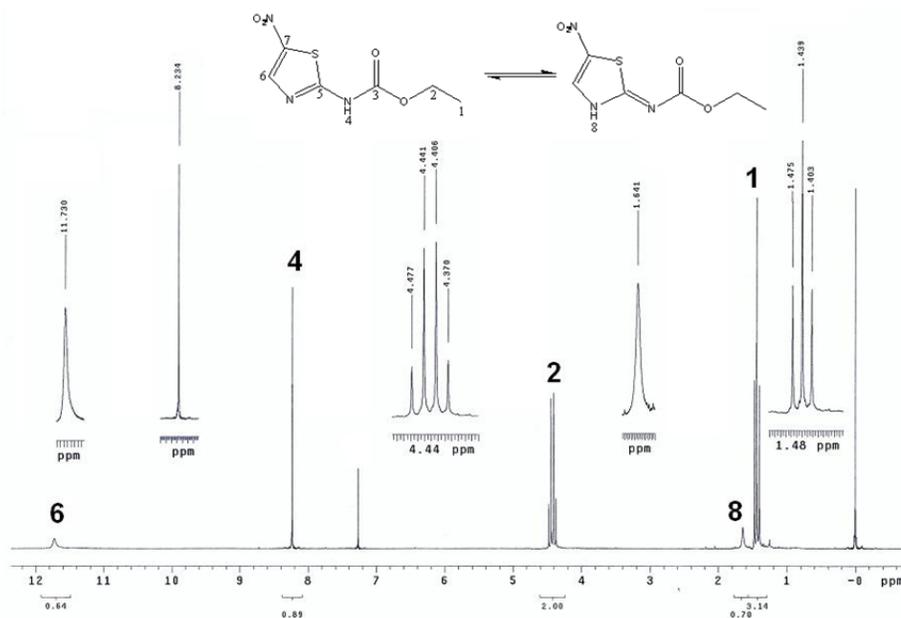


Figura 16. Espectro de RMN ¹H del carbamato LQM-938.

RMN ¹H: (199.9 MHz, CDCl₃/TMS) δ; 1.43 (t, 3H, H-1), 4.42 (c, 2H, H-2), 8.23 (s, 1H, H-6), y 11.73(s, 1H, H-6) y su tautómero 1.64 (s, 1H, H-8). Infrarrojo: (cm⁻¹), bandas en: 3397, 3023, 2970, 1623. E. Masas M 217 (5%)

En este espectro (Figura 16) se presenta, de nueva cuenta como en el caso del LQM-989 el equilibrio tautomérico del carbamato LQM-938. Se observa un triplete debido a los hidrógenos del carbono metílico en 1.43 ppm, un cuadruplete debido a los hidrógenos H-2 en 4.42 ppm, un singulete debido al hidrógeno del grupo N-H (H-4) en 8.23 ppm y un singulete del hidrógeno del compuesto heterocíclico en 11.73 ppm, con lo que respecta al tautómero tenemos el desplazamiento sobre N-H que corresponde al H-8 a un singulete en 1.64 ppm en el tautómero B, mientras que en el tautómero hace muestra al H-9 como un singulete en 7.22 ppm.

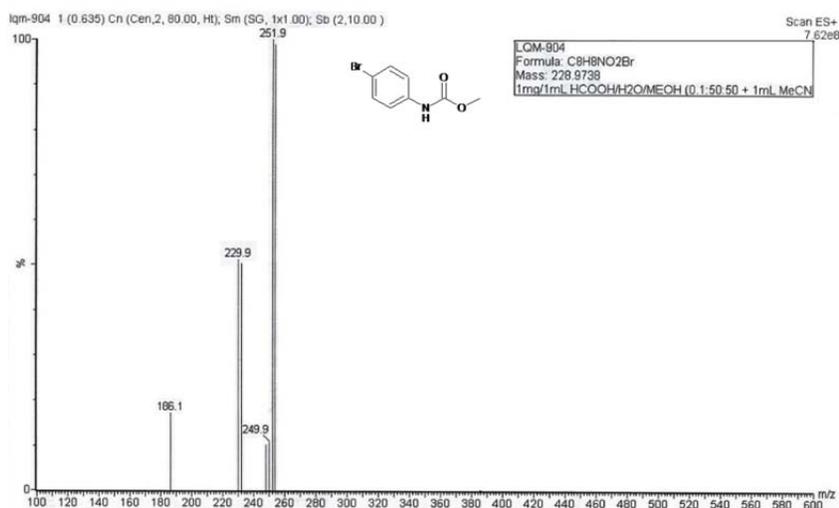


Figura 17. Espectro de masas del carbamato LQM-904.

El espectro de masas del compuesto LQM-904 muestra un ion molecular de 229 y una contribución isotópica de 231 que corresponde al átomo de bromo.

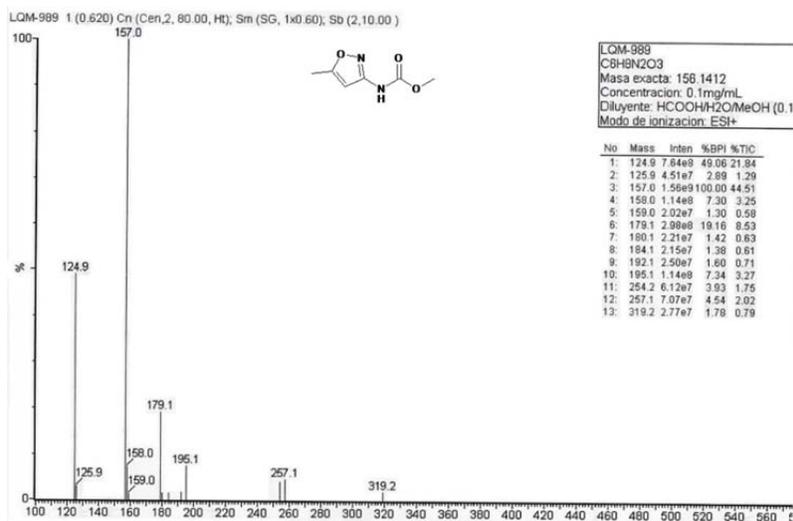


Figura 18. Espectro de masas del carbamato LQM-989.

El espectro de masas del compuesto LQM-989 se muestra el ion molecular de 156, y un fragmento en 125 correspondiente a la pérdida del grupo metoxi.

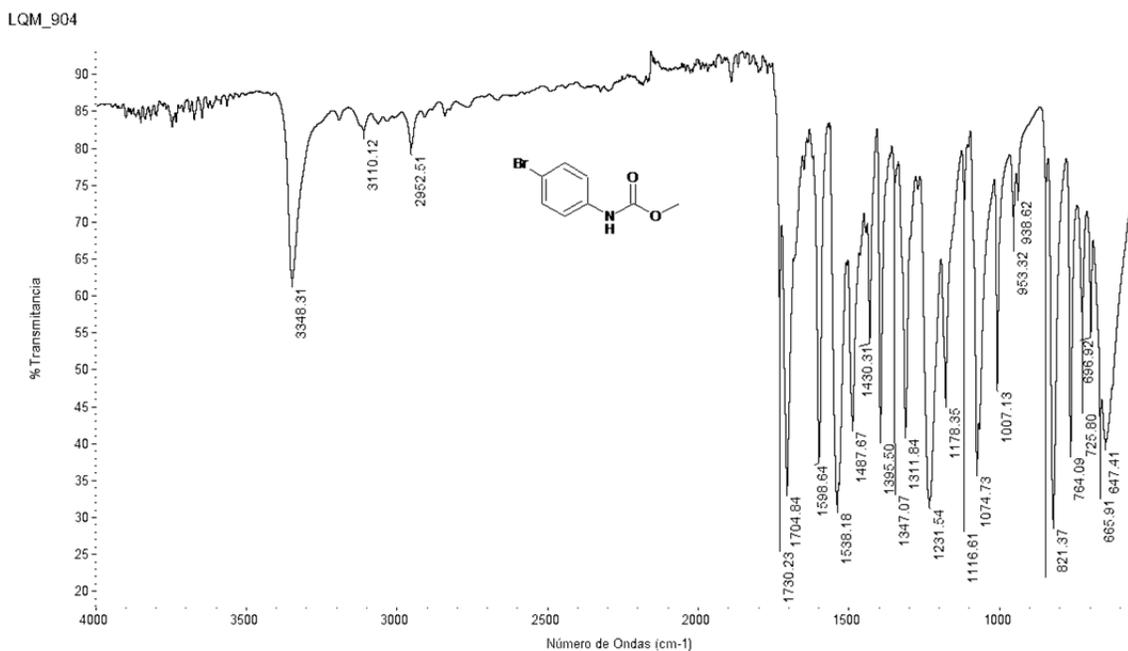


Figura 19. Infrarrojo del carbamato LQM-904.

Banda en 3348 es asignada al enlace N-H, banda en 3110 enlace Csp²-H, banda en 2952 enlace Csp³-H, banda 1704 grupo carbonilo

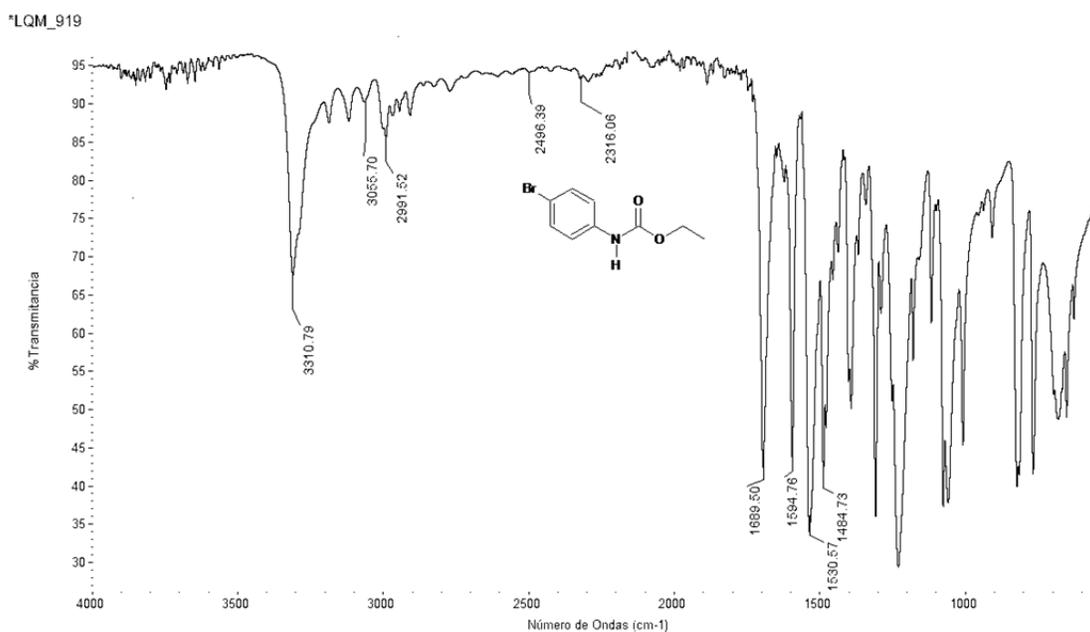


Figura 20. Infrarrojo del carbamato LQM-919.

Banda en 3310 es asignada al enlace N-H, banda en 3055 enlace Csp₂-H, banda en 2991 enlace Csp₃-H, banda 1689 grupo carbonilo.

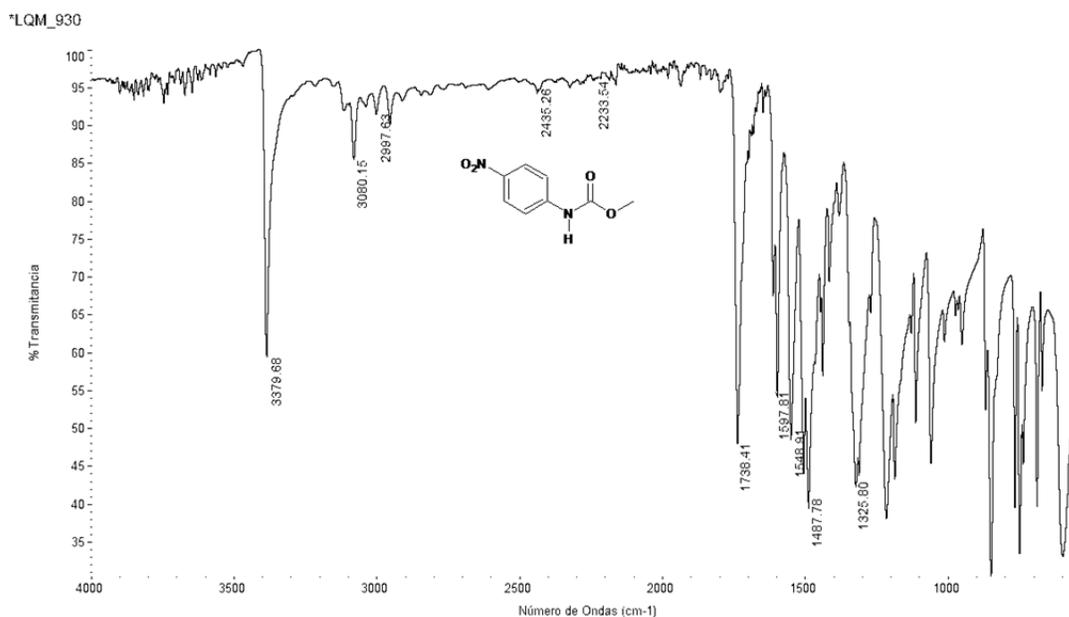


Figura 21. Infrarrojo del carbamato LQM-930.

Banda en 3379 es asignada al enlace N-H, banda en 3080 enlace Csp₂-H, banda en 2997 enlace Csp₃-H, banda 1738 grupo carbonilo

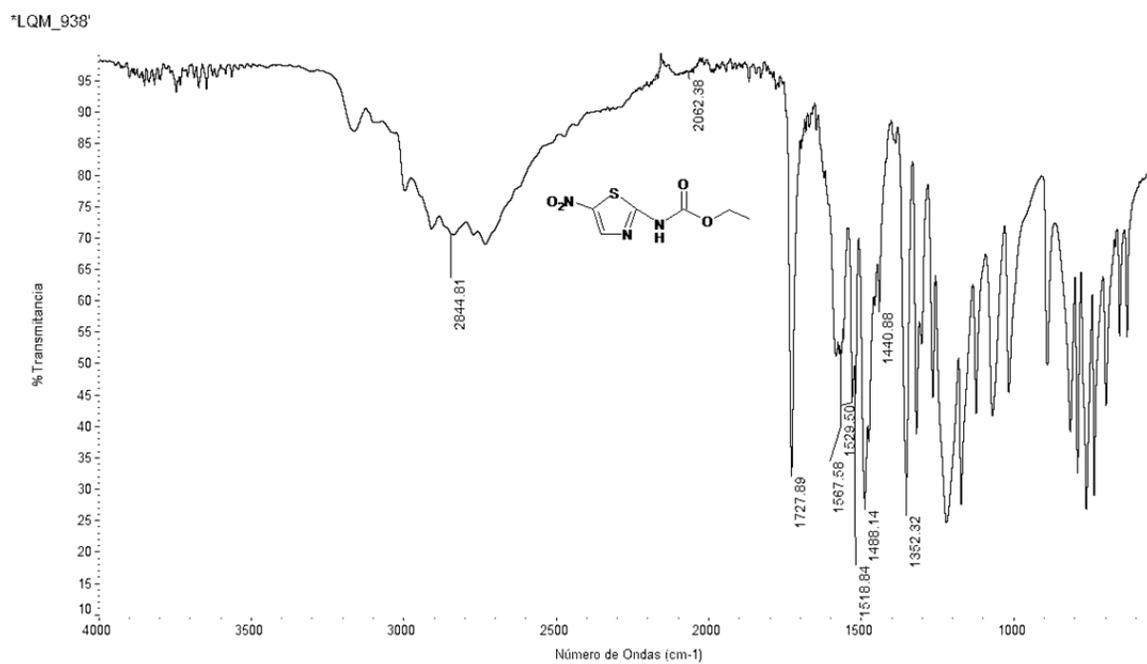


Figura 22. Infrarrojo del carbamato LQM-938.

Banda en 3400-2200 es asignada al enlace N-H, banda en 3100 enlace Csp₂-H, banda en 2844 enlace Csp₃-H, banda 1727 grupo carbonilo, bandas 1488 y 1300 grupo nitro

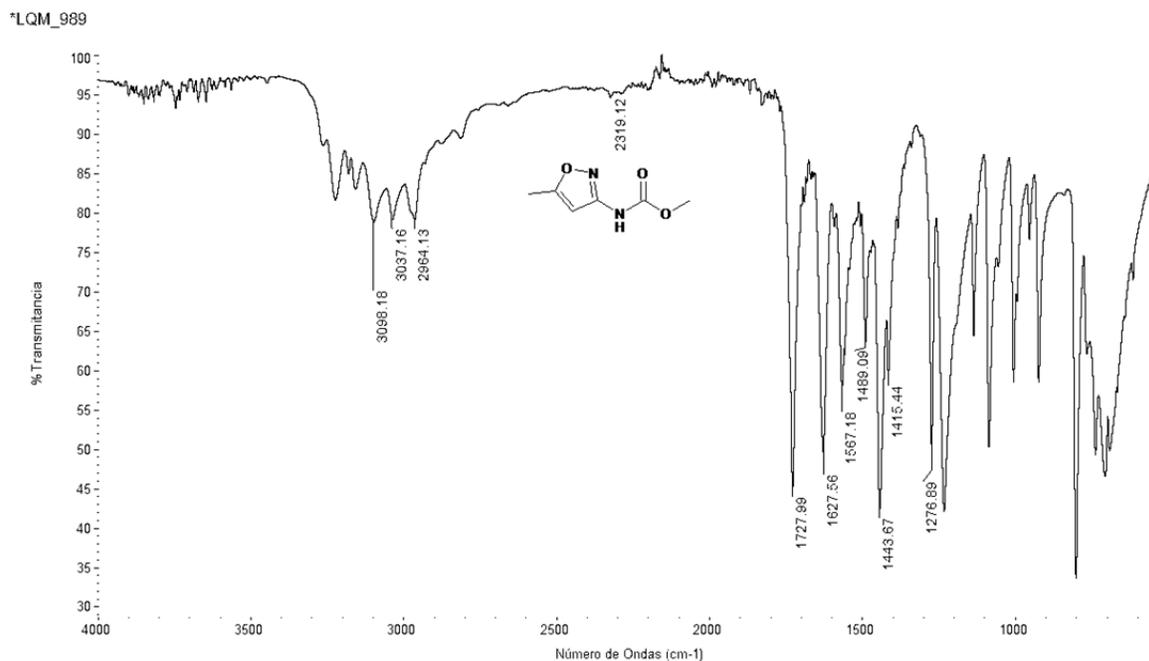


Figura 23. Infrarrojo del carbamato LQM-989.

Banda en 3305 es asignada al enlace N-H, banda en 3098 enlace Csp₂-H, banda en 2864 enlace Csp₃-H, banda 1727 grupo carbonilo

4.2 DISCUSION

La determinación de la estructura de cada uno de los compuestos orgánicos presentados en el presente trabajo constituyo uno de los principales retos en la caracterización de la serie LQM (900) por ser compuestos nuevos.

Síntesis

En este trabajo se realizó la síntesis de 5 derivados del ácido carbámico los productos se obtuvieron iniciando con la materia prima anilina o de compuestos heterocíclicos de 5 miembros con un grupo amino disponible, este método de síntesis se basa en una reacción de adición eliminación que puede observarse en los mecanismos de reacción presentados(figura 5 y 6)

Para cada uno de los carbamatos sintetizados se encontraron las condiciones apropiadas de reacción, la energía que permitió que estas se llevaran a cabo estuvo en función de la disponibilidad de los electrones de la materia prima pero si los electrones no están disponibles se necesita adicionar el grupo acilo del cloroformiato además de utilizar una lámpara de infrarrojo para reducir el tiempo de reacción; el rendimiento obtenido representa el éxito de cada una de estas reacciones ya que ninguna estuvo por debajo del 74%.

Antes de entrar a la identificación de la estructura de los carbamatos se les sometió a un análisis elemental por medio de pruebas organolépticas, físicas y químicas para deducir el tipo de compuesto que se estaba analizando, si era polvo amorfo o agujas, el color de los compuestos fue determinante porque algunos presentaron un color café oscuro debido a las impurezas presentes, así como la cromatografía en capa fina que permitió establecer si el compuesto estaba puro o no; otro punto importante fue la solubilidad con distintos disolventes que sirvió de guía para la elección de los disolventes hexano/acetato de etilo y también para los procedimientos a utilizar en los análisis espectroscópicos.

Análisis espectroscópico.

La caracterización de cada uno de los productos obtenidos permitió reconocer la estructura de cada uno de los carbamatos; con la técnica espectroscópica de **Resonancia Magnética Nuclear**(RMN) se determinó las estructuras de los compuestos orgánicos ya que se utiliza para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones, esto es que los núcleos están en resonancia con la radiofrecuencia o la radiación es decir, los núcleos pasan de un estado spin a orto como respuesta a la radiofrecuencia que son sometidos, se mostraron dos tipos de espectros la RMN ^{13}C y de ^1H porque una es complementaria de la otra, la primera determino el entorno magnético de los átomos de carabono y la segunda técnica se utilizó para deducir la estructura del esqueleto carbonado observando los entornos magnéticos de los átomos de hidrogeno.

Se mostraron espectros de masas que permitió determinar el peso molecular de cada uno de los compuestos. En la espectroscopia de masas, una sustancia es bombardeada con un haz de electrones con la suficiente energía como para fragmentar la molécula, los fragmentos positivos producidos son acelerados al vacío a través de un campo magnético y son ordenados en base a la relación carga-masa, equivalente al peso molecular.

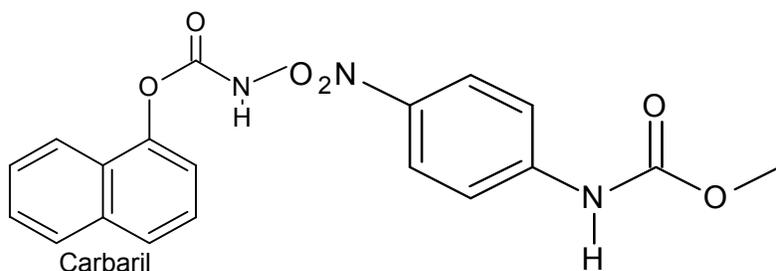
Otra de las técnicas espectroscópicas manejadas para la caracterización de los 5 carbamatos sintetizados fue la espectroscopia infrarroja (IR), donde se observa las vibraciones de enlaces y proporciona evidencia de los grupos funcionales. La posición de absorción en la región IR general puede expresarse en función de las longitudes de onda (μm) o del número de ondas (cm^{-1}) de la luz absorbida.

Los métodos espectroscópicos son de gran importancia para la determinación correcta de la estructura química de un compuesto y resulta complementaria con las técnicas convencionales, por lo tanto la espectroscopia de Masas, la

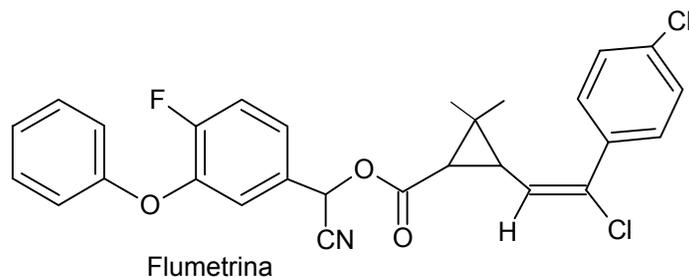
espectroscopia Infrarroja y la resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C fueron de gran utilidad en este trabajo.

Los compuestos químicos de procedencia sintética se encuentran estrechamente relacionados con la vida diaria; es por eso que una gran cantidad de grupos de investigación, tanto nacionales como internacionales se encuentran desarrollando métodos en la síntesis de productos químicos con utilidad práctica.

La finalidad de este trabajo de investigación fue dar una alternativa más a los ixodidas que hay actualmente en el mercado porque se vislumbra que tienen actividad biológica contra garrapatas del género *Boophilusmicroplus*, ya que las estructuras de los compuestos sintetizados son muy parecidas a los ixodidas utilizados y asimismo son más sencillos de sintetizar. Se pretende continuar con la siguiente etapa, ser enviados para *determinar si poseen o no efectividad contra las garrapatas del género Boophilus* y así sirva como base para la continuación de una serie de una síntesis de nuevos carbamatos.



carbamato sintetizado



Ixodida al cual ya creo resistencia la garrapata *Boophilusmicroplus*

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Se sintetizaron 5 compuestos LQM-904, LQM-919, LQM-930, LQM-938 y LQM-989, utilizando anilina con un grupo amino disponible al mismo tiempo se hallaron las condiciones adecuadas para cada reacción obteniendo una de serie de carbamatos con estructuras aromáticas.

Se purificaron los carbamatos obtenidos utilizando diferentes técnicas de separación como la cromatografía en capa fina y recristalización.

Se caracterizaron cada uno de los carbamatos mediante los métodos espectroscópicos, con ayuda del espectro Infrarrojo se determinó los tipos de grupos funcionales correspondientes a la molécula, donde la Resonancia Magnética Nuclear sustentó a través de sus espectros observándose los desplazamientos y las señales de los grupos funcionales y por consiguiente el grado de saturación de la molécula; el espectro de masas expuso los pesos moleculares de cada ion fragmentado en los cuales se descompone la molécula.

Los compuestos obtenidos en este trabajo serán propuestos como alternativas en el tratamiento contra la garrapata del género *Boophilus microplus* ya que son fáciles de sintetizar y seguramente contribuirá a controlar el problema de resistencia reduciendo las enormes pérdidas económicas producidas por las garrapatas.

REFERENCIAS

1. Alonso-Diaz, Rodriguez-Vivas, Fragoso-Sanchez, Rosario-Cruz. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Arch Med. Vet.*, (38):105-113.
2. Vredevoe, L. (28 de octubre de 1997). *Background information on the biology of ticks*. Recuperado el 25 de agosto de 2011, de <http://entomology.ucdavis.edu/faculty/rbkimsey/tickbio.html>, University of California
3. Villaruel, J. E. (2007). Liberación controlada de ixodicidas de uso veterinario, Aspectos Tecnológicos. *Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM*. México.
4. Baxer, G. B. (1998). *Boophilus microplus* characterization and role in organophosphate resistance. *I. Bio and Mol. Biol. Acetylcholinesterase DNA of the cattle tick*, (28):581-599.
5. Carlos R. Cruz-Vázquez, Zeferino García Vázquez, Ma. Teresa Quintero-Martínez, Esteban Miranda-Miranda. (2002). Histología del Intestino de la garrapata (*Boophilus microplus*) en estado de semiingurgitamiento.
6. Jøgejan, F. y Uilenberg, G. . (2004). *Parasitology. The global importance of ticks*, (129):S3-S4.
7. Olivera, M., Olivera Sequiera, T., Araujo Jr., Amarante, A., y Olivera, H. (2005). *Babesia* Spp. Infección en *Boophilus microplus* engorged females and eggs in São Paulo, State Brazil. . *Vet. Parasitol*, (130):61-67.
8. Conacyt-Sagarpa. (2005). *Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas en el Sureste de México*. México: Folleto técnico No 1.
9. Camacho, S. M. (2008). Dinámica Estacional de la garrapata *Boophilus microplus* en bovinos del estado de Sinaloa . *Tesis de Doctorado, Fac. Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM*. México.
10. R. de la Vega, G. Diaz. (1982). Depredación de la garrapata del ganado vacuno, *Boophilus microplus*, por la hormiga *Pheidole magacephala*. *Cien. Tec. Agric. Protec, Plantas*, 5(2): 97-100.
11. Barnett, S. F. (1971). *Lucha Contra las garrapatas del ganado*. . FAO, Roma, Estudios Agropecuarios.

12. P. Willadsen, R. V. McKenna, G. A. Riding. (1988). Isolation from the cattle tick, *Boophilus microplus*, of antigenic material capable of eliciting a protective immunological response in the bovine host . *Int. J. Parasitol*, 18(2):183-189.
13. A. Lopez, V. Gil-Albert. (2004). *Clasificación de los insecticidas según su modo de acción*. España: Insecticide Resistance Action Commite.
14. J. George, J. Pound y R. Dave. (2004). Chemical control of ticks on cattle the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology*, (129):S353-S366.
15. Ortiz, E. (1999). El uso de ixodicidas en México. *Segundo seminario internacional de parasitología animal: Garrapatas y enfermedades que transmiten*, (págs. 57-65). Morelos, México.
16. L., R. S. (2004). Prueba de susceptibilidad a derivados de ácido carbámico de *Aspergillus fumigatus* y *Trichophyton mentagrophytes*. *Tesis de Maestría. UNAM. México*.
17. Angeles Anguiano, E. R. (2002). *Patente n° CODEN: MXXXA3 MX 2000PA12329 A 20020624 Use of carbamate by-products in the treatment of infections produced by helicobacter pylori*. Universidad Nacional Autónoma de México., Mex.
18. Jimenez-cardoso, Enedina; Flores-luna, Andres; Angeles, E.; Martinez, P. Lopez-castanares, R.; Castaneda-hernandez, G.; Perez-urizar, Jose. (2003). In vitro anti-giardial activity of IRE-6A and IRE-7B, two ethyl-phenylcarbamate derivatives. *Revista de Investigación Clínica*, 55(4):444-447.
19. Pérez, A. G. (2007). Evaluación antiparasitaria de nueve principios de síntesis derivados del ácido carbámico utilizando como modelo el cestodo *Hymenolepis nana* var, *Fraterna* en ratones de la cepa CD1. *Tesis de licenciatura en medicina veterinaria y zootecnia* . México.
20. Sardá-Ribeiro, V., Toigo, E. Bordignon, S., Goncalves, C., y Von Poser, G. (2007). Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattla tick *Boophilus microplus* . *Vet. Parasitol*, (147): 199-203.
21. Noé Soberanes Céspedes, Minerva Santamaría Vargasa, Hugo Frago Sánchez, Zeferino García Vázquez. (2002). Primer caso de resistencia al

- amitraz en la garrapata del ganado *Boophilus microplus* en México. *Tec. Pecu. Méx*, 40(1):81-92.
22. Klug, W. S., Cummings, M. R. (1999). En *Conceptos de Genética* (págs. 763-771). Prentice-Hall.
23. C. A. Errecalde, G. Prieto, C. F. Luders, H. García- Ovando. (2003). Naturaleza y control de la quimiorresistencia en ectoparásitos. *Rev. Col. Cienc. Pec*, 16(3):257-267.
24. FESSEDEN, F. A. (2005). *Química Orgánica*. Argentina: Iberoamericana.
25. Jiménez, EneDiria; Flores, Andrés; Ángeles, E., P. MartíneLópez-Castaffares; G. Castañeda-Hernández and Pérez, José. (2003). In Vitro Antigardial activity of IRE-6" and IRE-78 Two ethyl-phenylcarbamatederivates. *Arch. Med, Res*.55:444-447, núm. 4.
26. *Pan pesticide database* . (Abril de 2009). Recuperado el agosto de 2011, de [Http//www.pesticideinfo.org](http://www.pesticideinfo.org)
27. Darwin Cabrera-Jiméneza, Roger Iván Rodríguez-Vivasa, José Alberto Rosado-Aguilara. (2008). Evaluación de la resistencia a la cipermetina en cepas de campo de *Boophilus microplus* obtenidas de ranchos bovinos del estado de Yucatán, México. *Tec Pecu Mex*, 46(4):439-448.