



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“SÍNTESIS DE COMPUESTOS CON POSIBLE
ACTIVIDAD IXODICIDA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

DIEGO SEBASTIAN REYES WEISS



Ciudad Universitaria, CDMX

2016



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: Profesor: M. en C. JOSÉ MANUEL MÉNDEZ STIVALET

VOCAL: Profesor: Dr. HÉCTOR GARCÍA ORTEGA

SECRETARIO: Profesor: Dr. MIQUEL GIMENO SECO

1er. SUPLENTE: Profesor: M. en C. LUIS ALEJANDRO DÍAZ FLORES

2° SUPLENTE: Profesor: M. en C. JAVIER ORDÓÑEZ HERNÁNDEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 225, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dr. HÉCTOR GARCÍA ORTEGA

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. EN C. JAVIER ORDÓÑEZ HERNÁNDEZ

SUSTENTANTE:

DIEGO SEBASTIAN REYES WEISS

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Química por el apoyo brindado a través del *Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP) 5000-9112*.

*“...in this terrifying world,
all we have are the connections that we make.”*

(Bojack Horseman, 2016).

ÍNDICE

1. ANTECEDENTES	1
1.1. Garrapatas	1
1.1.1. Impacto en el ganado.....	1
1.1.2. Impacto en animales domésticos.....	2
1.1.3. Impacto en el ser humano.....	3
1.2. Control de las garrapatas	4
1.2.1. Control Químico.....	5
1.2.1.1. <i>Organoclorados</i>	5
1.2.1.2. <i>Organofosforados</i>	6
1.2.1.3. <i>Carbamatos</i>	7
1.2.1.4. <i>Piretroides</i>	8
1.2.1.5. <i>Formamidinas</i>	9
1.2.1.6. <i>Avermectinas</i>	10
1.2.2. Control no químico.....	11
1.2.2.1. <i>Control ecológico</i>	12
1.2.2.2. <i>Control biológico</i>	13
1.2.2.3. <i>Selección de hospederos resistentes</i>	13
1.2.2.4. <i>Vacunas</i>	13
1.3. Colinesterasas	14
1.4. Fenotiazinas	15
1.5. Carbazol	17
1.5.1. Síntesis de carbazol.....	17
1.5.1.1. <i>Síntesis de Graebe-Ullmann</i>	17
1.5.1.2. <i>Síntesis de Borsche</i>	18
1.5.1.3. <i>Otros métodos de síntesis de carbazol</i>	18
2. JUSTIFICACIÓN	20
3. HIPÓTESIS	21
4. OBJETIVOS	22
4.1. Objetivo general	22
4.2. Objetivos particulares	22

5. DISEÑO DE LOS COMPUESTOS	23
6. PARTE EXPERIMENTAL	24
6.1. Síntesis	24
6.1.1. 9-(2,4-dinitrofenil)-9 <i>H</i> -carbazol (1).....	24
6.1.2. 1-(9 <i>H</i> -carbazol-9-il)propan-2-ol (2).....	25
6.1.3. 9-(2-(2,4-dinitrofenoxi)propil)-9 <i>H</i> - carbazol (3).....	26
6.1.4. 9-(2-((6-cloropiridin-2-il)oxi)propil)-9 <i>H</i> -carbazol (4)	27
6.1.5. 9-(2-((5-bromopiridin-2-il)oxi)propil)-9 <i>H</i> -carbazol (5).....	28
6.2. Instrumentación y reactivos	29
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
7.1. Propiedades físicas de los productos	31
7.2. Análisis y discusión de las reacciones	32
7.2.1. Obtención del compuesto 1	32
7.2.2. Síntesis del compuesto 2	33
7.2.3. Síntesis de los compuestos 3, 4 y 5	35
7.3. Análisis espectroscópico de los productos	37
7.3.1. 9-(2,4-dinitrofenil)-9 <i>H</i> -carbazol (1).....	37
7.3.2. 1-(9 <i>H</i> -carbazol-9-il)propan-2-ol (2).....	40
7.3.3. 9-(2-(2,4-dinitrofenoxi)propil)-9 <i>H</i> - carbazol (3).....	43
7.3.4. 9-(2-((6-cloropiridin-2-il)oxi)propil)-9 <i>H</i> -carbazol (4) y 9-(2-((5-bromopiridin-2-il)oxi)propil)-9 <i>H</i> -carbazol (5).....	47
7.3.5. Difracción de rayos X del compuesto 3	47
8. PERSPECTIVAS	50
9. CONCLUSIONES	51
10. REFERENCIAS	52
11. ANEXOS	65

1.ANTECEDENTES

1.1. Garrapatas

Los ácaros, o garrapatas, son artrópodos hematófagos obligados que practican parasitismo en animales y humanos, por lo que hoy en día son considerados como una plaga de gran importancia que afecta tanto a la fauna doméstica como a la silvestre, así como al ser humano directamente¹.

Actualmente se tiene registro de más de 800 especies de garrapatas divididas en 3 familias: *Nuttalliellidae*, *Ixodidae* (garrapatas duras) y *Argasidae* (garrapatas blandas)²⁻³.

El ácaro *Rhipicephalus microplus* (antiguamente *Boophilus microplus*) es el ectoparásito más importante en el ganado⁴. Es una especie muy importante debido a las significativas pérdidas económicas en regiones tropicales y subtropicales que produce alrededor del mundo⁵ al igual que por ser un vector de transmisión de enfermedades como rickettsiosis, babesiosis, anaplasmosis y borreliosis (enfermedad de Lyme)⁶, entre otras.

1.1.1. Impacto en el ganado

El impacto más importante de las garrapatas sobre el ganado es la transmisión microorganismos (bacterias y protozoarios) causantes de enfermedades que ocasionan severas pérdidas económicas en la producción de leche y carne, así como restricción en el tráfico de ganado⁷.

La anaplasmosis es una infección no contagiosa del ganado bovino. Se caracteriza por anemia e ictericia asociadas con la presencia de ciertos cuerpos en los eritrocitos, llamados anaplasmas⁸. Esta enfermedad es probablemente el factor de mayor importancia que afecta a la ganadería mundial, es producida por la bacteria *Anaplasma marginale* transmitida al ganado por medio de la mordedura de garrapatas⁹.

La babesiosis bovina es una enfermedad febril transmitida por garrapatas y causada por uno o más parásitos protozoarios del género *Babesia* que generalmente se caracteriza por una lisis eritrocítica extensiva que conduce a anemia, ictericia, hemoglobinuria y muerte¹⁰.

Además de actuar como vectores de anaplasmosis, las garrapatas pueden ser afectar al ganado y generar grandes pérdidas económicas debido a sus efectos directos, como en el caso del daño causado por mordeduras de garrapatas, que disminuye el valor de pieles para la manufactura de cueros². Por otro lado, la saliva de ciertas especies de garrapatas contiene toxinas que pueden causar desde problemas de eczema hasta parálisis¹¹.

1.1.2. Impacto en animales domésticos

Al igual que en el ganado, existen diferentes babesiosis que pueden afectar tanto a perros como caballos, algunas de las cuales son altamente patogénicas. Así mismo, erlichiosis causadas por la infección de *Erllichia canis* en perros, son en muchas ocasiones fatales².

1.1.3. Impacto en el ser humano

Las enfermedades humanas transmitidas por garrapatas han ganado gran atención desde el descubrimiento de la borreliosis de Lyme (LB), lo que estimuló una cantidad considerable de investigación. La LB es causada por *Borrelia burgdorferi*, una espiroqueta transmitida por ixódidos, y hoy en día la enfermedad transmitida por artrópodos más común en América del Norte y Europa con decenas de miles de casos anuales². Su principal manifestación es una erupción anular en expansión característica, acompañada en algunas ocasiones de mialgia, artralgia y malestar; aunque también llega a manifestar meningitis aséptica y artritis¹².

Otras especies de ixódidos mordedores de humanos transmiten infecciones virales causantes de la encefalitis europea transmitida por garrapatas y la encefalitis rusa de primavera verano. Otras infecciones virales, tal como la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo y la enfermedad de la selva de Kyasanur transmitidas también por garrapatas, suelen ser más severas y mortales².

La rickettsiosis o fiebre de las Montañas Rocosas, es una enfermedad causada por *Rickettsia rickettsii* que puede llegar a causar la muerte si no es tratada adecuadamente. Puede manifestarse provocando erupciones cutáneas, dolor de cabeza, mialgia y síntomas gastrointestinales, lo cual puede evolucionar a manifestaciones más devastadoras como gangrena, hemorragia y edema pulmonar, miocarditis, fallo renal, meningoencefalitis y edema cerebral¹³.

La importación inadvertida de ganado infestado con garrapatas a Estados Unidos a inicios del siglo XIX resultó en la propagación masiva de garrapatas

Boophilus microplus en catorce estados sureños y la concurrente transmisión de babeosis bovina¹⁴. Las pérdidas anuales estimadas en la industria ganadera estadounidense atribuidas a garrapatas en 1906 ascendía a 130.5 millones de dólares (hoy equivalente a más de 3 mil millones de dólares), lo que condujo a la implementación de un programa federal de erradicación de garrapatas que se completó en 1943⁷.

Debido a la amplia prevalencia de garrapatas infectadas con patógenos en México, el estatus de erradicación estadounidense se mantiene empleando una “zona de amortiguamiento” de 500 millas a lo largo de la frontera además de tratamiento obligado con acaricidas al ganado previo a la importación a Estados Unidos¹⁵⁻¹⁶.

1.2. Control de las garrapatas

Los beneficios económicos de resolver los asuntos de la epidemiología y control de enfermedades transmitidas por garrapatas en las regiones ganaderas del sur de África, América Latina, Australia y el sur de Estados Unidos motivó la investigación en los países afectados así como de compañías internacionales de salud animal, de desarrollar productos diseñados para proteger al ganado. La mayoría de la literatura referente al control químico de garrapatas consta de más de un siglo de investigación y experimentación de nuevos acaricidas (ixodicidas) para el control de garrapatas en el ganado, estrategias para el empleo de acaricidas y esfuerzos para mitigar los problemas de resistencia¹⁷.

1.2.1. Control Químico

Los tratamientos con agentes químicos más antiguos de los que se tiene registro consistían en la aplicación de mezclas de manteca de cerdo, azufre, keroseno, aceite de algodón y petróleo crudo¹⁸⁻¹⁹. Posteriormente la inmersión del ganado en soluciones de arsénico revolucionó el control de garrapatas, reemplazando rápidamente a el resto de los tratamientos pero la evolución de la resistencia de las garrapatas a este tratamiento, el estrecho margen entre la concentración efectiva para el control de garrapatas y la concentración tóxica para el ganado, y preocupaciones acerca de residuos tóxicos en el tejido animal fueron los factores más importantes para el reemplazo de arsénico por insecticidas orgánicos sintéticos después de la Segunda Guerra Mundial¹⁷. A partir de entonces se han empleado se han empleado tradicionalmente compuestos organoclorados²⁰, organosfosforados²¹, derivados arsénicos²², amidinas¹⁷, avermectinas²³, carbamatos y piretroides²⁴ para el control químico de las infestaciones de ácaros.

1.2.1.1. *Organoclorados*

Los hidrocarburos organoclorados fueron los primeros compuestos orgánicos usados como insecticida lanzados al mercado. Su efecto tóxico radica en el efecto que ejercen sobre canales de sodio en el axón, resultando en una fuga persistente de iones sodio al exterior de la célula lo que resulta en la despolarización de la membrana²⁵.

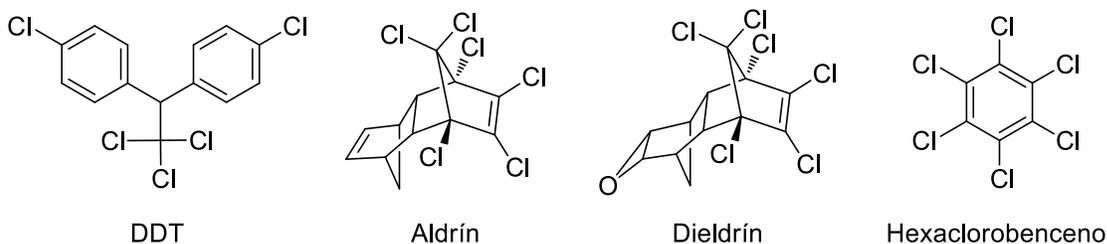


Figura 1.1. Ejemplos de compuestos organoclorados usados para el control de garrapatas.

El diclorodifeniltricloroetano (DDT) y el hexaclorobenceno (**Figura. 1.1**) fueron los primeros compuestos organoclorados usados como ixodicida^{20, 26} en la década de 1940, sin embargo, pocos años después se presentaron los primeros casos de resistencia. Posteriormente se retiraron del mercado ya que estos compuestos son persistentes en el ambiente y causan un importante daño ambiental²⁷.

1.2.1.2. Organofosforados

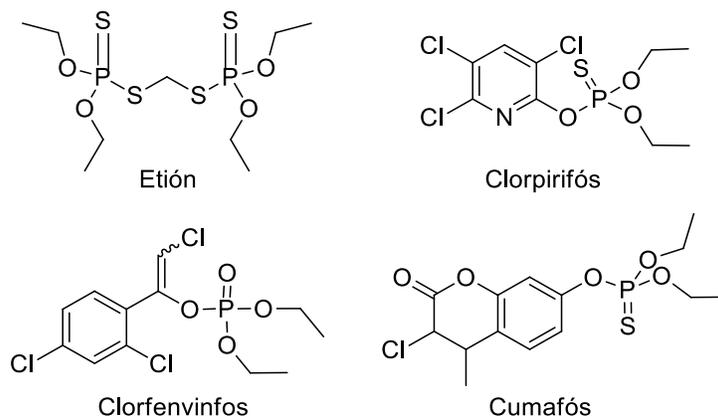


Figura 1.2. Compuestos organofosforados más comunes usados para el control de garrapatas.

Los insecticidas organofosforados (OPs) son ésteres de ácido fosfórico o tiofosfórico (**Figura. 1.2**), y se encuentran entre los pesticidas más usados en el mundo para el control de plagas de insectos. Su toxicidad consiste en la inhibición

de la acetilcolinesterasa, lo que ocasiona la acumulación del neurotransmisor acetilcolina afectando la transmisión del impulso nervioso²⁸.

En comparación con los organoclorados, los organofosforados son químicamente inestables por lo que no persisten en el ambiente por mucho tiempo¹⁷.

Los organofosfatos están generalmente categorizados como los pesticidas más tóxicos para los vertebrados y están estrechamente relacionados con los gases nerviosos sarín, somán y tabún²⁹.

1.2.1.3. Carbamatos

Los carbamatos (**Figura. 1.3**) son ésteres de ácido *N*-metil (u ocasionalmente *N,N*-dimetil) carbámico²⁸. Actúan, al igual que los organofosforados, mediante la inhibición de la acetilcolinesterasa pero con tienen una toxicidad en mamíferos muy baja. Desafortunadamente el valor de los carbamatos para el control de garrapatas es limitado debido a la resistencia cruzada con los ixodicidas organofosforados³⁰⁻³², dicha resistencia generada por las garrapatas ha minimizado o eliminado su utilidad en Australia, la mayor parte de África y zonas de América Latina³³.

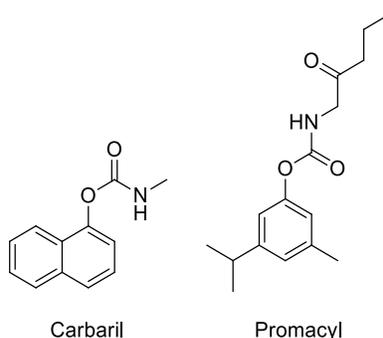


Figura 1.3. Ejemplos de carbamatos usados en el control de garrapatas.

1.2.1.4. Piretroides

Las piretrinas (**Figura. 1.4**) son una mezcla de compuestos naturales encontrados en las flores del género *Chrysanthemum*. Son el agente más antiguo utilizado para el control de insectos debido a su efectiva actividad insecticida, aunque son muy inestables ante condiciones ambientales (fotosensibles)³⁴.

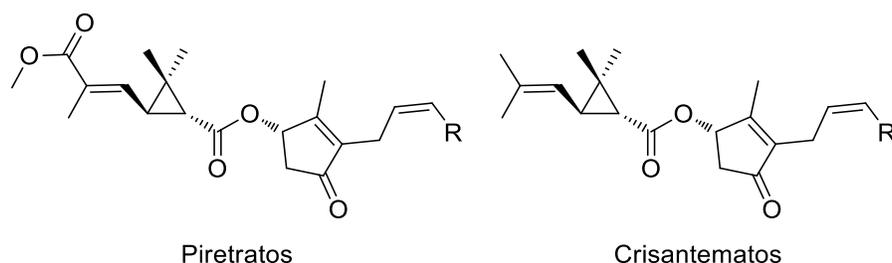


Figura 1.4. Estructura química general de las piretrinas.

Los piretroides (**Figura. 1.5**) son compuestos sintéticos análogos a las piretrinas con actividad insecticida más potente y mayor fotoestabilidad que las piretrinas. Actúan modificando los canales membranales de sodio/potasio, resultando en la despolarización membranar²⁸.

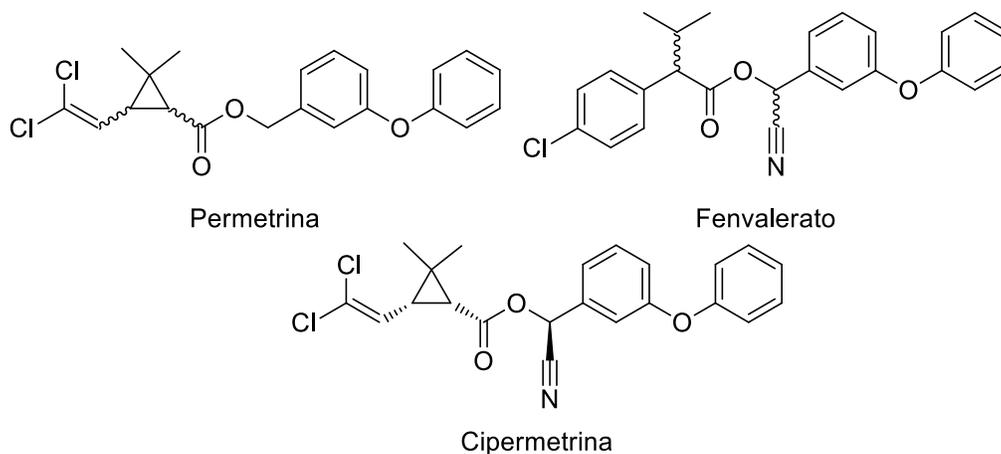


Figura 1.4. Ejemplos de piretroides usados en el control de garrapatas.

Generalmente se usan en bajas dosis y tienen una baja toxicidad hacia mamíferos. El descubrimiento de un efecto sinergista entre deltametrina y cipermetrina aplicadas junto con compuestos organofosforados, representó una gran ventaja la estrategia para retrasar el desarrollo de resistencia, así como una disminución económica importante en la formulación de productos debido a la disminución en la concentración de piretroides, relativamente más caros que los compuestos organofosforados añadidos³⁵. En México, la resistencia a piretroides por parte de garrapatas comenzó a desarrollarse en la década de 1990³⁶⁻³⁷.

1.2.1.5. *Formamidinas*

Estos compuestos suelen ser generalmente derivados fenil-disustituídos con la combinación de sustituyentes limitada a grupos cloro y metilo³⁸ (**Figura. 1.6**). El mecanismo de acción planteado consiste en la inhibición de la monoamino oxidasa, bloqueo de la neurotransmisión muscular e interacción con los receptores de octopamina³⁹.

Los derivados de formamidina, al igual que los piretroides, han sido utilizados como aditivo a ixodicidas organofosforados, desde la década de 1980, para restaurar la eficacia de estos ante garrapatas resistentes a compuestos organofosforados⁴⁰⁻⁴¹. El clordimeform fue la primer formamidina introducida al mercado, sin embargo, fue removida rápidamente en 1976 tras presentarse evidencia de su carcinogenicidad⁴². Tras resultados exitosos de pruebas de amitraz para el control de garrapatas del género *Boophilus* en Australia⁴²⁻⁴³, Estados Unidos⁴⁴ y Sudáfrica⁴⁵. A pesar de su gran éxito, desde 1999 comenzó a

reportarse la resistencia a este pesticida en diferentes países de gran importancia ganadera como: México⁴¹, Colombia⁴⁶, Sudáfrica⁴⁷ y Brazil⁴⁸.

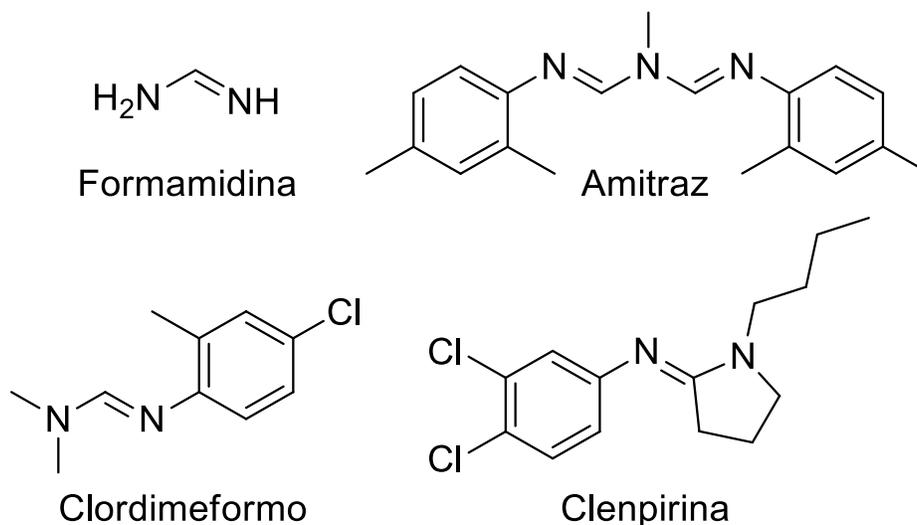


Figura 1.6. Formamidina y ejemplo de ixodicidas derivados.

1.2.1.6. Avermectinas

Las avermectinas son mezclas de compuestos naturales producidos por el actinomiceto *Streptomyces avermitilis*. Son una familia de lactonas macrocíclicas (**Figura. 1.7**) con actividad nematocida, insecticida e ixodicida demostrada⁴⁹. Su mecanismo de acción consiste el rol de las avermectinas como agonistas de los canales de cloruro activados por la unión de GABA, lo que representa un flujo de iones cloruro al interior de la célula y bloqueando el impulso eléctrico⁵⁰.

Tratamientos eficientes para el control de *B. microplus* en ganado infectado se han realizado con ivermectina, doracmetina y moxidectina administradas por medio de inyecciones subcutáneas^{50, 51, 52}, al igual que aplicándolos directamente sobre la piel⁵³⁻⁵⁴.

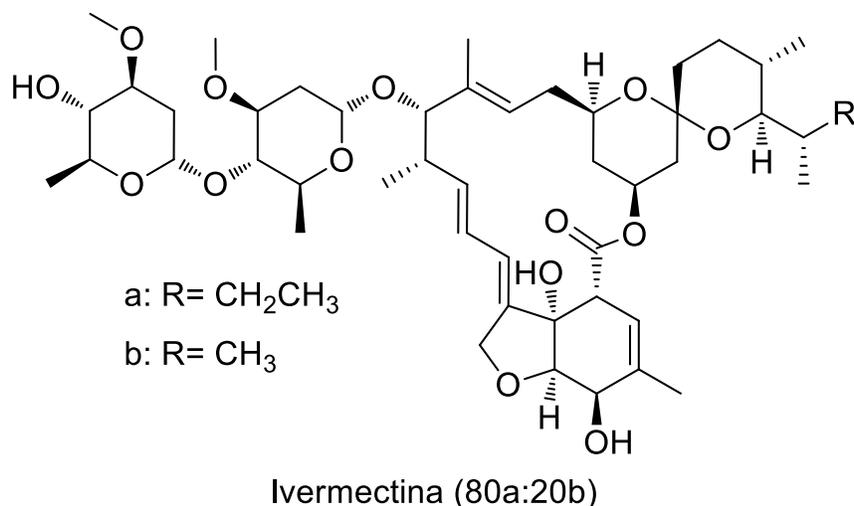


Figura 1.7. Ejemplo de avermectina usada en el control de garrapatas.

A pesar de ejercer un efecto ixodicida de alta eficacia a muy bajas concentraciones, el uso de avermectinas en el control de infestaciones de garrapatas en el ganado se ve limitado por su elevado costo⁵⁵. Los primeros casos de resistencia por parte de garrapatas a avermectinas fueron reportados en Brasil⁵⁶ en 2001, y en 2010 fueron documentados los primeros casos en México⁵⁷, aunque se reportó que los niveles de resistencia a ivermectina eran aun relativamente bajos.

El control químico se ha vuelto ineficaz en algunas regiones debido a la aparición de garrapatas resistentes a estos productos. La resistencia es uno de los mayores problemas, debido a que la disponibilidad de nuevos antiparasitarios es cada vez más escasa⁵⁸.

1.2.2. Control no químico

A pesar de que el uso de ixodicidas sigue siendo el método más eficiente y confiable para el control de garrapatas en el ganado, el desarrollo de resistencia a

estos por parte de las garrapatas, así como la demanda de alimentos libres de residuos químicos y el cuidado del ambiente, sugiere hoy en día la utilización de sistemas alternativos de control⁵⁹. Se han diseñado y desarrollado distintos enfoques complementarios al uso de ixodicidas para crear estrategias integrales de control contra garrapatas⁶⁰⁻⁶¹.

1.2.2.1. Control ecológico

Consiste en realizar modificaciones en el hábitat en el que se encuentra el ganado con el fin de instituir condiciones adversas para el desarrollo de garrapatas.

La introducción de depredadores naturales de las garrapatas, tanto silvestres (hormigas, aves silvestres) como domésticos (gallinas) pueden favorecer la eliminación de los parásitos⁶².

La rotación, descanso y quema de praderas consiste en descansos obligados de las praderas con la finalidad de presionar a las garrapatas en su etapa de vida libre al impedir o retardar que como larvas activas encuentren a su hospedero para que mueran por hambre y deshidratación⁶³.

La composición y tipo de vegetación tiene un efecto directo en la sobrevivencia de las garrapatas, huevos y larvas. Las praderas con alta vegetación y arbustos proporcionan a las garrapatas un hábitat ideal para su desarrollo⁶⁴. Por otro lado, el empleo de la vegetación adecuada puede ser también un buen método de control, ya que ciertas plantas, como las gramíneas forrajeras poseen la capacidad de repeler, atrapar u obstaculizar a las garrapatas que buscan hospedero⁶⁵⁻⁶⁶.

1.2.2.2. Control biológico

Los agentes biológicos que potencialmente pueden ser usados para el control de garrapatas se clasifican en hongos entomopatógenos (*Metarhizium sp*; *Beauveria sp*), bacterias (*Cedecea lapagei*, *Escherichia coli* y *Enterobacter agglomerans*), nematodos entomopatógenos (*Heterorhabditidae* y *Steinernematidae*) y hormigas reguladoras (*Solenopsis germinata*, *S. saevissima*, *Camponotus rengira* y *Ectatomma quadridens*)⁶⁷. Todos estos agentes afectan principalmente los estadios de vida libre de las garrapatas⁶⁸.

1.2.2.3. Selección de hospederos resistentes

El uso de ganado resistente a las garrapatas se puede lograr por la selección de animales que presenten menos garrapatas, y su posterior cruzamiento con otros animales con la misma característica, así como introducir sangre cebú en el hato⁶⁹.

Las razas *Bos indicus* son más resistentes a las garrapatas que las razas *B. taurus*. Estudios mencionan que ganado *B. indicus* (cebú) presenta del 10 al 20% menos garrapatas que ganado *B. taurus* (vaca y toro)⁷⁰.

1.2.2.4. Vacunas

Actualmente se cuenta comercialmente con dos vacunas contra *Rhipicephalus. microplus* denominadas TickGARD(PLUS)® en Australia y Gavac™ en América Latina. Las vacunas contienen el antígeno Bm86 que es una glicoproteína aislada de *R. microplus* que se encuentra predominantemente en las

células del intestino de la garrapata. Los anticuerpos anti-Bm86 aparentemente se unen a la superficie de las células epiteliales del intestino de la garrapata e interrumpen la endocitosis causando la lisis de las células y reduciendo la capacidad reproductiva de las hembras repletas⁷¹.

Los efectos de la vacuna sobre la garrapata *R. microplus* son reducciones de la capacidad reproductiva (50-90%), sin embargo, no produce mortalidad⁷².

1.3. Colinesterasas

Las colinesterasas son un grupo de enzimas encargadas de regular los niveles del neurotransmisor acetilcolina en el sistema nervioso central⁷³. Se pueden clasificar como acetilcolinesterasa (AChE, EC 3.1.1.7) y butirilcolinesterasa (BuChE, EC 3.1.1.8) de acuerdo a la diferencia de especificidad hacia la hidrólisis de acetilcolina y butirilcolina⁷⁴.

La función fisiológica de la AChE como reguladora de la sinapsis colinérgica ha sido siempre bien reconocida⁷⁴. Por otro lado, durante mucho tiempo se desconoció el rol exacto de la BuChE, por lo que se consideró como un agente auxiliar de la AChE⁷⁵, sin embargo, actualmente existe evidencia que sugiere que esta enzima desempeña un papel tan importante como el de la AChE en la regulación colinérgica en el sistema nervioso⁷⁶.

Si la actividad de las colinesterasas es suprimida por la presencia de un inhibidor, carbamatos³¹ y compuestos organofosforados²⁸ tradicionalmente, la normalmente rápida hidrólisis de acetilcolina liberada se lleva a cabo de manera más lenta, resultando en una sobreestimulación de las células receptoras,

manifestándose en una “crisis colinérgica” que puede resultar severamente debilitante e incluso fatal⁷³.

1.4. Fenotiazinas

Las fenotiazinas son una familia de compuestos heterocíclicos con dos anillos *o*-fenileno unidos por un puente de azufre y un puente de nitrógeno⁷⁷. Fue sintetizada por primera vez por Bernthsen, en 1883, durante el desarrollo de los colorantes azul de metileno y cristal violeta, calentando difenilamina y azufre a 250-260 °C, obteniendo un rendimiento de 40%⁷⁸, a partir de entonces ha desempeñado un papel importante en la química de colorantes como compuesto de inicio en la síntesis de colorantes de tiazina⁷⁹. En 1934 se descubrieron sus propiedades insecticidas⁸⁰ y poco después su uso como antihelmíntico tanto en animales como en humanos⁸¹. Esto trajo consigo un estadillo en la investigación y desarrollo de fenotiazina y sus derivados con aplicaciones farmacológicas. En la actualidad, dichos compuestos se utilizan para distintos tratamientos médicos debido a sus propiedades como antiséptico⁸², antihistamínico y antialérgico⁸³, antipsicótico⁸⁴, así como antioxidante para el tratamiento de síntomas de la enfermedad de Parkinson⁸⁵.

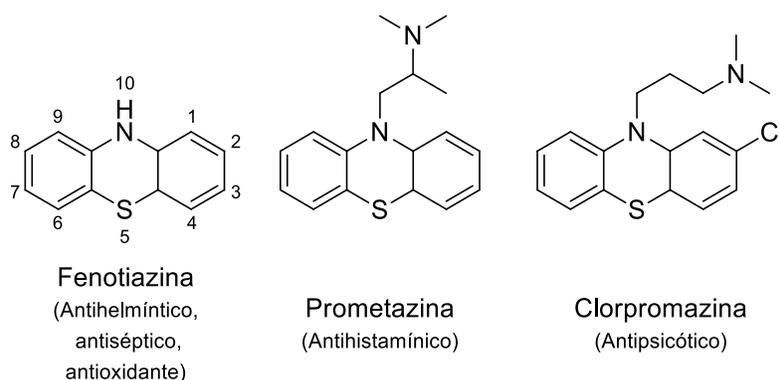


Figura 1.8. Fenotiazina, nomenclatura y ejemplo de derivados con actividad biológica.

Entre sus blancos biológicos se encuentran la calmodulina⁸⁶, proteasa MALT1⁸⁷, y colinesterasas⁸⁸, siendo estas últimas las relacionadas con la actividad ixodocida.

Debido a su sitio activo relativamente grande y abundante en residuos aromáticos, la BuChE es capaz de acomodar la estructura tricíclica voluminosa de fenotiazinas mediante interacciones tipo π - π con residuos de tirosina, fenilalanina, histidina y triptófano⁸⁹ (**Figura 1.9**). La mayoría de las fenotiazinas biológicamente relevantes actúan inhibiendo selectivamente a la BuChE, presentan una *N*-funcionalización, típicamente un grupo alquilo con un átomo de nitrógeno básico⁹⁰ (**Figura 1.8.**), aunque grupos acilo⁹¹, alcocarbonilo⁹², piridinil y pirazinil⁷⁷ también han demostrado tener actividad inhibitoria sobre la BuChE.

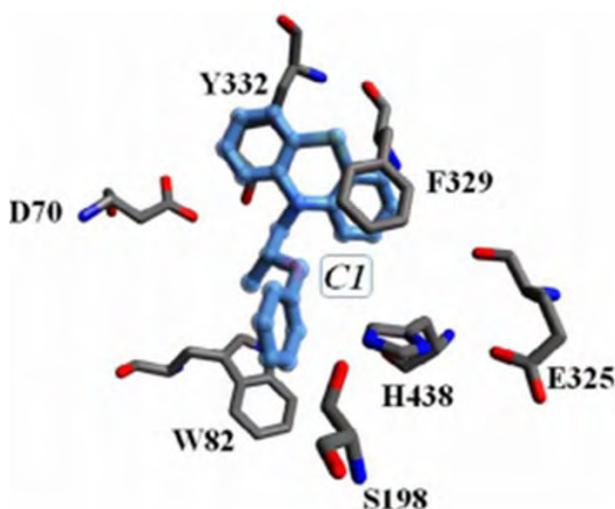


Figura 1.9. Simulación de la interacción de un compuesto derivado de fenotiazina (C1) con el centro activo de BuChE mediante interacciones tipo π - π ⁷⁷.

Teniendo en cuenta el modo de acción de las fenotiazinas sobre la BuChE es posible diseñar nuevos compuestos con posible actividad inhibitoria sobre la

BuChE, intercambiando la estructura tricíclica de la fenotiazina por compuestos de estructura similar como el fluoreno y el carbazol (**Figura 1.10**).

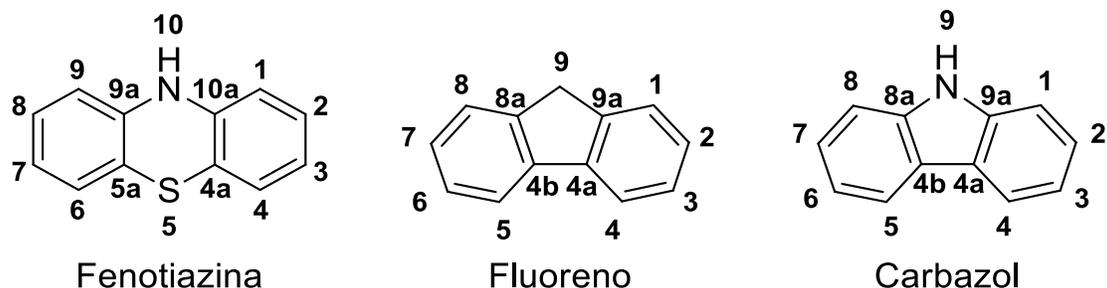


Figura 1.10. Estructura, numeración y similitud entre la fenotiazina, fluoreno y carbazol.

1.5. Carbazol

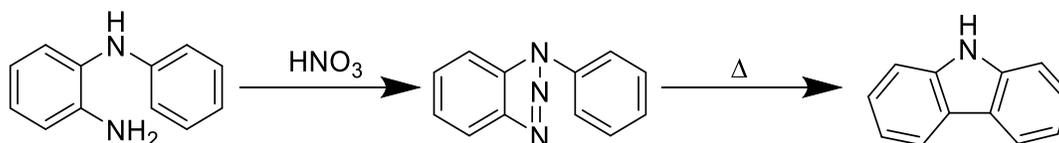
Los carbazoles son una familia de compuestos heterocíclicos formados por dos anillos *o*-fenileno unidos por un puente de nitrógeno.

El carbazol, también conocido como dibenzopirrol o 9-azafluoreno, es un compuesto incoloro que cristaliza de benceno, tolueno y ácido acético glacial. Fue descubierto en 1872 en la fracción de antraceno crudo del alquitrán de hulla⁹⁵.

1.5.1. Síntesis de carbazol

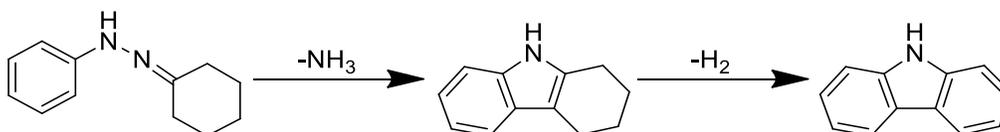
1.5.1.1. *Síntesis de Graebe-Ullmann*

Este método es de amplia aplicación en la síntesis de carbazoles. Consiste en tratar *o*-aminodifenilamina con ácido nítrico para producir 1-fenil-1,2,3-benzotriazol, el cual con calentamiento pierde nitrógeno para producir carbazol con un rendimiento cuantitativo⁹⁵.



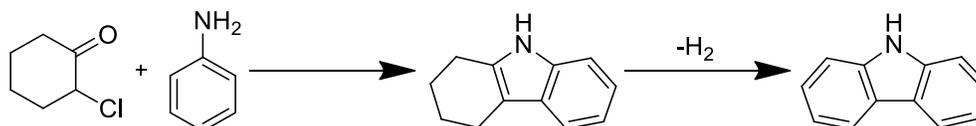
1.5.1.2. Síntesis de Borsche

Consiste en la obtención de tetrahydrocarbazol tras el calentamiento de ciclohexanona fenilhidrazina con ácido sulfúrico diluido, el cual es posteriormente oxidado a carbazol en presencia de un catalizador como pueden ser: óxido de plomo; azufre y quinolina; óxidos de cobre, cromo y bario; acetato de mercurio y cloruro de paladio⁹⁵.

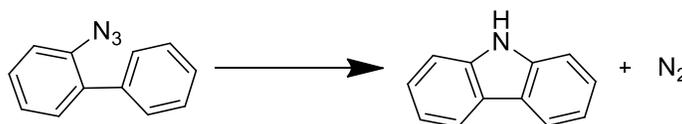


1.5.1.3. Otros métodos de síntesis de carbazol.

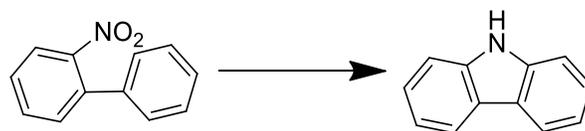
Tetrahydrocarbazol puede ser preparado a partir de 2-clorohexanona y anilina, para posteriormente ser oxidado⁹⁵.



A partir del tratamiento de *o*-azidabifenilo con calentamiento o luz ultravioleta⁹⁵.



Mediante el calentamiento a 205-215 °C de 2-nitrobifenilo con oxalato ferroso durante media hora⁹⁵.



2. JUSTIFICACIÓN

Un problema cuya solución es de suma importancia para la industria ganadera bovina nacional, es el control de la garrapata (*Boophilus microplus*), una de las parasitosis más importantes del ganado vacuno. Si bien se han utilizado diversas estrategias para su control, tales como el uso de métodos biológicos y químicos, la resistencia reportada a algunos de los ixodicidas autorizados para el control de la garrapata en México es una señal clara de la necesidad de disponer de nuevas familias de ixodicidas con mecanismos de acción diferentes a los productos actuales.

La modificación estructural de un compuesto bio-activo puede tener repercusiones importantes en sus propiedades fisicoquímicas y cambios en su actividad que pueden ir desde la potenciación, hasta la desaparición total de la misma, siendo posible, en algunos casos, la aparición de propiedades biológicas diferentes.

La aplicación de fenotiazinas *N*-sustituidas ha resultado eficaz en el control de garrapatas, por lo que es posible que compuestos análogos como los derivados de carbazol (**Figura 1.10**) puedan presentar propiedades similares, e incluso quizá de mayor potencia.

3. HIPÓTESIS

Debido a la similitud en la estructura y reactividad de la fenotiazina con el carbazol, será posible sintetizar análogos de derivados de fenotiazina con propiedades biológicas similares a partir de estos compuestos, siguiendo esquemas sintéticos similares a los descritos en la literatura.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

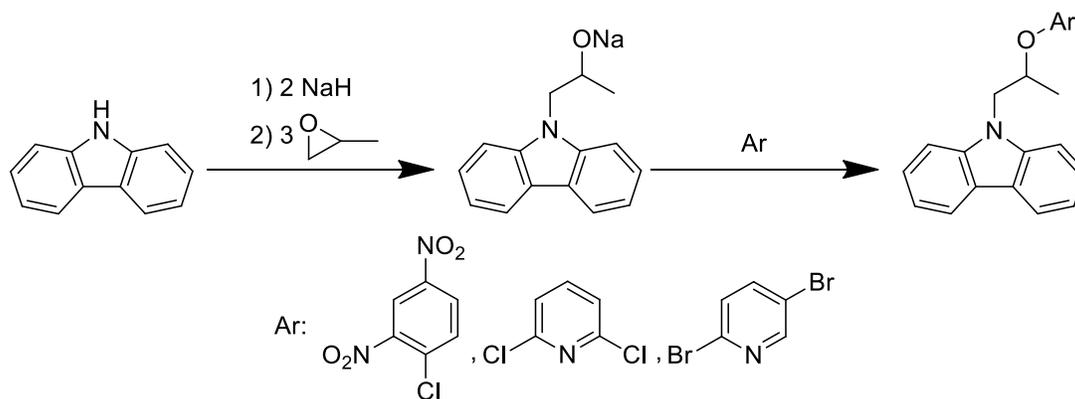
Sintetizar derivados de carbazol, análogos a derivados de fenotiazina con actividad ixodicida.

4.2. Objetivos particulares

- Encontrar las condiciones óptimas para la síntesis y purificación de los compuestos deseados.
- Caracterizar los compuestos sintetizados mediante métodos espectroscópicos estructurales: RMN ^1H , RMN ^{13}C , IR y EM.

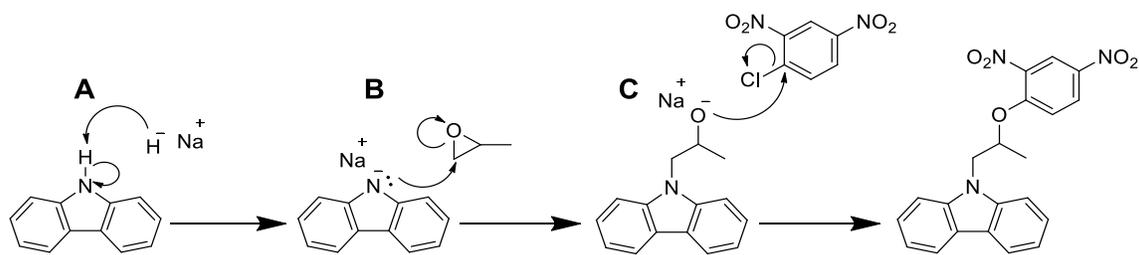
5. DISEÑO DE LOS COMPUESTOS

Debido a la gran similitud estructural entre fenotiazina y carbazol, se planeó la ruta sintética de los compuestos deseados (**Esquema 5.1**) tomando como referencia la metodología descrita por Maldonado-Domínguez *et al.*, 2014, para la síntesis de fenotiazinas *N*-sustituidas.



Esquema 5.1. Ruta sintética planteada para la síntesis de los compuestos deseados.

Esta ruta sintética (**Esquema 5.2**) consiste en la abstracción del hidrógeno del enlace N-H del carbazol por medio de una base fuerte como lo es el hidruro de sodio (**A**), formando un intermediario con carga negativa soportada por el nitrógeno, éste realiza un ataque nucleofílico sobre el carbono estéricamente menos impedido del 2-metiloxirano (**B**), dando lugar a la formación de un alcóxido, el cual realiza una sustitución nucleofílica aromática (S_NAr) sobre distintos anillos aromáticos (**C**).

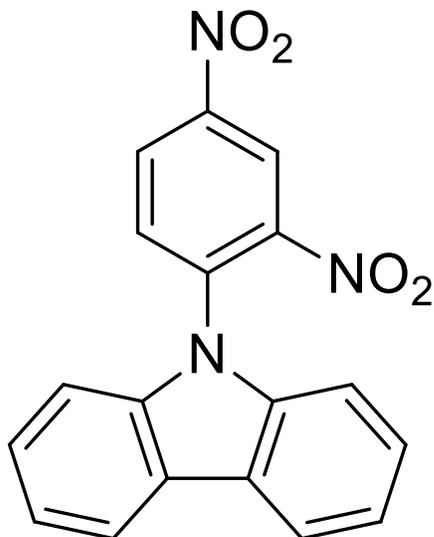


Esquema 5.2. Mecanismo de reacción propuesto.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Síntesis

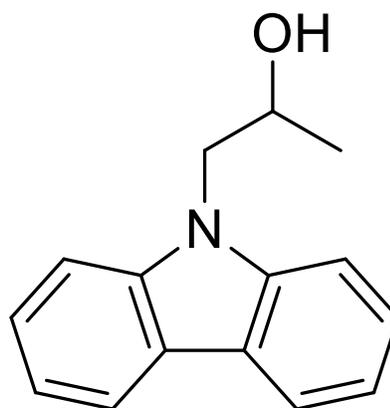
6.1.1. 9-(2,4-dinitrofenil)-9H-carbazol (1)



En un matraz se colocó carbazol (101.8 mg, 0.61 mmol) y NaH 60% (53.5 mg, 1.34 mmol), se selló, purgo y se introdujo atmósfera de N₂. Se agregaron 5 mL de THF seco y se dejó en agitación durante 50 min a temperatura ambiente. Se agregó, gota a gota, una disolución de 1-cloro-2,4-dinitrobenceno (120.9 mg, 0.60 mmol) y se calentó a reflujo durante aproximadamente 48 h. Se agregó agua y se realizaron extracciones con AcOEt (4 x 20 mL). Se purificó por cromatografía en columna utilizando un sistema hexano:AcOEt [99:1]. Finalmente se realizó un lavado con hexano seguido de un lavado con MeOH, obteniendo 61.5 mg de un sólido fino de color anaranjado correspondientes a un rendimiento de 31%. **pf** (°C): 188-190. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 9.04 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-12), 8.67 (dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H, H-11), 8.13 (m, 2H, H-4 y H-5), 7.97 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-10), 7.42 (td, *J* = 7.4, 1.3 Hz, 2H, H-2 y H-7), 7.36 (td, *J* = 7.5, 0.93 Hz, 2H, H-3 y H-6), 7.15 (m, 2H, H-1 y H-8).

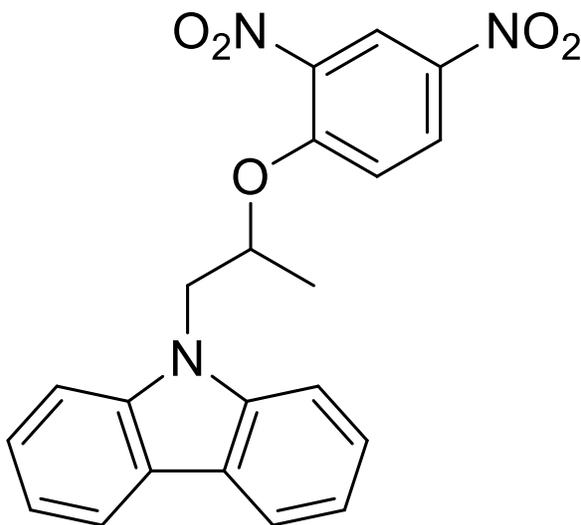
6.1.2. 1-(9H-carbazol-9-il)propan-2-ol (2)

En un vial se colocó, en el siguiente orden: carbazol (62 mg, 0.37 mmol), NaH 60% (34 mg, 0.85 mmol), 1.0 mL de THF seco y 2-metiloxirano (0.15 mL, 2.15 mmol). Se tapó y selló el vial, y se colocó en un baño de arena, previamente precalentado a 80 °C, durante 20 h. Se agregó



agua y se realizaron extracciones con AcOEt (4 x 20 mL). El producto se purificó por cromatografía en columna empezando con un sistema hexano:AcOEt [95:5]. Se obtuvieron 74.8 mg de un sólido granular color crema, correspondientes a un rendimiento de 90%. **pf** (°C): 104-106. **FTIR** por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3425, 3380, 3047, 3019, 2981, 2958, 2934, 1921, 1884, 1853, 1805, 1769, 1688, 1595, 1327, 1110. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 8.09 (dt, *J* = 7.7, 0.9 Hz, 2H, H-4 y H-5), 7.46 (m, 4H, H-1, H-2, H-7 y H-8), 7.24 (m, 2H, H-3 y H-6), 4.38 (sx, *J* = 6.0 Hz, 1H, H-11), 4.29 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H, H-10), 1.34 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, H-12). **RMN ¹³C** (100.6 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 140.8 (C-1a y C-8a), 125.8 (C-2 y C-7), 123.0 (C-4a y C-5a), 120.4 (C-3 y C-6), 119.2 (C-4 y C-5), 109.1 (C-1 y C-8), 67.1 (C-11), 50.8 (C-10), 20.8 (C-12).

6.1.3. 9-(2-(2,4-dinitrofenoxi)propil)-9H- carbazol (3)



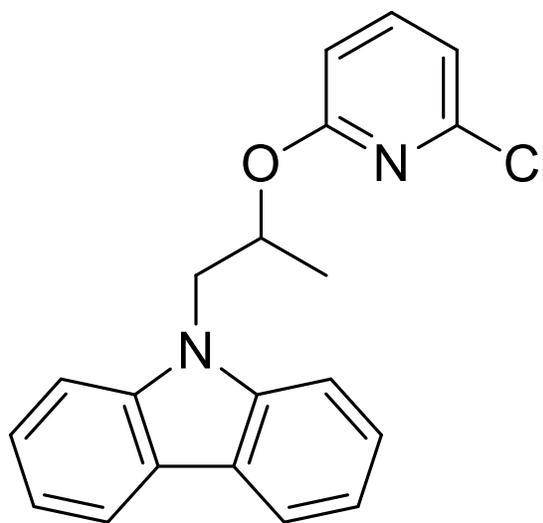
En un vial se colocó, en el siguiente orden: carbazol (249.5 mg, 1.49 mmol), NaH 60% (132 mg, 3.30 mmol), 3.0 mL de THF seco y 2-metiloxirano (0.60 mL, 8.58 mmol). Se tapó y selló el vial, y se colocó en un baño de arena, previamente precalentado a 80 °C, durante 20 h.

Después, por medio de una jeringa, se adicionó 1-cloro-2,4-dinitrobenzoceno (293.4 mg, 1.45 mmol) disuelto en 1.5 mL de THF seco y se dejó en calentamiento durante 24 h. Se agregó agua y se realizaron extracciones con AcOEt (4 x 20 mL). El producto se purificó por cromatografía en columna empezando con un sistema hexano:AcOEt [95:5] y aumentando la polaridad a [7:3] tras haber eluido los restos de materia prima y otras impurezas. La fracción correspondiente al producto se evaporó, se le realizaron lavados con hexano y MeOH frío, y fue secada al vacío. Se obtuvieron 287.2 mg de un sólido fino de color amarillo, correspondientes a un rendimiento de 49%. **pf** (°C): 136-138. **FTIR** por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3076, 2982, 2938, 2912, 2860, 1949, 1924, 1806, 1602, 1526, 1341, 1278, 1526, 1341, 1278, 1217, 1073. **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 8.44 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-16), 7.99 (d, *J* = 7.6, 0.8 Hz, 2H, H-4 y H-5), 7.83 (dd, *J* = 9.2, 2.8 Hz, 1H, H-15), 7.44 (m, 4H, H-1, H-2, H-7 y H-8), 7.21 (m, *J* = 6.7, 1.3 Hz, 2H, H-3 y H-6), 6.48 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, H-14), 5.20 (m, 1H, H-11), 4.69 (dd, *J* = 15.6, 8.4, Hz, 1H, H10),

4.52 (dd, $J = 15.6, 3.2$ Hz, 1H, H-10'), 1.62 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, H-12). **RMN ^{13}C** (100.6 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 155.1 (C-14a), 140.0 (C-1a y C-8a), 139.6 (C-15a), 139.1 (C-16a), 128.1 (C-15), 126.1 (C-2 y C-7), 123.0 (C-4a y C-5a), 121.4 (C-16), 120.4 (C-3 y C-6), 119.7 (C-4 y C-5), 114.2 (C-14), 108.4 (C-1 y C-8), 75.7 (C-11), 48.2 (C-10), 18.0 (C-12).

6.1.4. 9-(2-((6-cloropiridin-2-il)oxi)propil)-9H-carbazol (4)

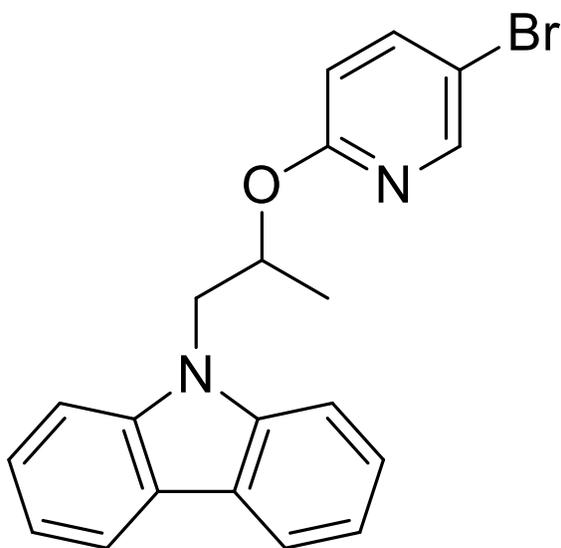
Se llevó a cabo de manera análoga a la síntesis del compuesto (3), partiendo de: carbazol (205.2 mg, 1.23 mmol), NaH 60% (92.0 mg, 2.30 mmol), 2-metiloxirano (0.5 mL, 7.16 mmol) y 48 h de calentamiento tras la adición de 2,6-dicloropiridina (171.1 mg, 1.16 mmol). Se purificó por



cromatografía en columna empleando un sistema de elución hexano:AcOEt [95:5] y realizando posteriores lavados con hexano. Se obtuvieron 122.4 mg de un sólido de color blanco, correspondientes a un rendimiento de 30%. **pf** ($^{\circ}\text{C}$): 100-102. **FTIR** por reflectancia ATR (cm^{-1}): 3052, 2978, 2953, 2932, 2879, 1962, 1897, 1857, 1786, 1684, 1590, 1290, 1260, 1058. **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 8.07 (dt, $J = 7.7, 0.8$ Hz, 2H, H-4 y H-5), 7.72 (dt, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-1 y H-8), 7.48 (m, 3H, H-2, H-7 y H-15), 7.24 (m, 2H, H-3 y H-6), 6.87 (dd, $J = 7.4, 0.6$ Hz, 1H, H-14), 6.57 (dd, $J = 8.2, 0.6$ Hz, 1H, H-16), 5.68 (m, 1H, H-11), 4.68 (dd, $J = 14.8, 5.6$ Hz, 1H, H-10), 4.33 (dd, $J = 14.6, 7.4$ Hz, 1H, H-10'), 1.39 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H,

H-12). **RMN ¹³C** (100.6 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 162.5 (C-14a), 148.2 (C-16a), 140.77 (C-1a y C-8a), 140.75 (C-15), 125.7 (C-2 y C-7), 122.9 (C-4a y C-5a), 120.1 (C-3 y C-6), 119.1 (C-4 y C-5), 116.5 (C-16), 109.46 (C-14), 109.43 (C-1a y C-8a), 70.5 (C-11), 47.2 (C-10), 18.5 (C-12). **HRMS (ESI-TOF)** [C₂₀H₁₈N₂OCl+H⁺], calculado *m/z* = 337.110217, encontrado *m/z* = 337.110415.

6.1.5. 9-(2-((5-bromopiridin-2-il)oxi)propil)-9H-carbazol (5)



Se llevó a cabo de manera análoga a la síntesis del compuesto (3), partiendo de: carbazol (201.4 mg, 1.20 mmol), NaH 60% (113.4 mg, 2.83 mmol), 2-metiloxirano (0.5 mL, 7.16 mmol) y 48 h de calentamiento tras la adición de 2,5-dibromopiridina (281.0 mg, 1.18 mmol). Se purificó por cromatografía en columna empleando un sistema de elución hexano:AcOEt [95:5] y realizando posteriores lavados con hexano. Se obtuvieron 106.4 mg de un sólido granular de color blanco, correspondientes a un rendimiento de 23%. **pf** (°C): 116-118. **FTIR** por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3164, 3088, 3048, 3014, 2977, 2956, 2945, 1934, 2870, 1923, 1887, 1820, 1792, 1769, 1668, 1582, 1272, 1242, 1062. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 8.13 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-16), 8.06 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H-4 y H-5), 7.56 (m, 3H, H-1, H-8 y H15), 7.47 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, H-2 y H-7), 7.23 (m, 2H, H-3 y H-6), 6.53 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H-14), 5.66 (sx, *J* = 6.2 Hz, 1H, H-11), 4.64 (dd, *J* = 14.8, 6.0 Hz, 1H, H-10), 4.36 (dd, *J* = 14.8, 6.4 Hz, 1H,

H-10'), 1.38 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H-12). **RMN ^{13}C** (100.6 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 161.1 (C-14a), 147.2 (C-16), 141.2 (C-15), 140.8 (C-1a y C-8a), 125.6 (C-2 y C-7), 122.9 (C-4a y C-5a), 120.2 (C-3 y C-6), 119.1 (C-4 y C-5), 113.0 (C-14), 111.7 (C-15a), 109.2 (C-1 y C-8), 70.4 (C-11), 47.5 (C-10), 18.3 (C-12). **HRMS (ESI-TOF)** [$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{OBr} + \text{H}^+$], calculado $m/z = 381.059700$, encontrado $m/z = 383.058178$.

6.2. Instrumentación y reactivos

Las materias primas y reactivos utilizados son procedentes de *SIGMA-ALDRICH*®, mientras que los disolventes son de *CONQUIMEX*®.

Para pesar las sustancias se utilizó una balanza analítica *Adventurer*® *Analítica* de *OHAUS*® con una precisión de 0.1 mg.

Para aplicar calentamiento y agitación a las reacciones se empleó una parrilla *CORNING*® *PC 420-D*.

Las reacciones fueron monitoreadas por medio de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando placas de aluminio con gel de sílice 60 e indicador fluorescente F_{254} de *MERCK*®, revelándolas con una lámpara de luz ultravioleta marca *entela*®, modelo *UVGL-25*.

La evaporación de disolventes se realizó a presión utilizando un rotaevaporador *BÜCHI R-215* adaptado a una bomba de vacío *V-700* de la misma marca, y a un dedo frío *C1283-60* de *Cole Parmer*®.

La purificación de compuestos mediante cromatografía en columna se llevó a cabo soportando el compuesto impuro en celita *Celite*® de *SIGMA-ALDRICH*® y utilizando gel de sílice 60 (0.063-0.200 mm) de *MERCK*®.

La determinación del punto de fusión de los compuestos se llevó a cabo con un equipo *MEL-TEMP® 1001D* de *Electrothermal®* utilizando capilares de vidrio.

El análisis espectroscópico de los compuestos reportados se realizó en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química de la UNAM.

La espectroscopia infrarroja se llevó a cabo por reflectancia total atenuada (ATR) en un espectrofotómetro FTIR/FIR 400 *Perkin Elmer*, en un rango espectral de 400 a 4000 cm^{-1} . En los espectros se muestran las bandas más representativas de los compuestos y se relacionan con el tipo de vibración y el grupo funcional correspondientes.

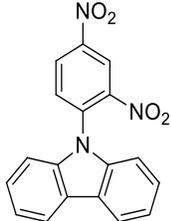
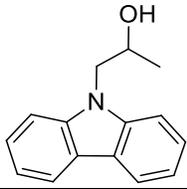
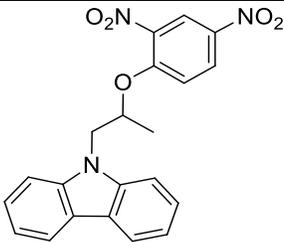
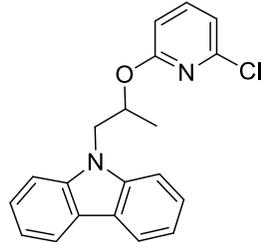
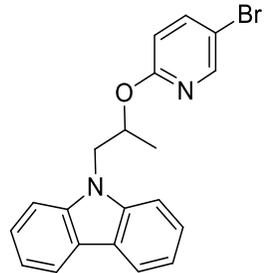
La espectroscopia de resonancia magnética nuclear se realizó en un espectrómetro de 9.4 T *VARIAN* modelo VNMRS de 400 MHz, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y deuterocloroformo (CDCl_3) como disolvente. Los desplazamientos químicos (δ) están reportados en ppm, y las constantes de acoplamiento (J) en Hz. La multiplicidad de las señales están representadas de la siguiente manera: d = doblete, dd = doble doblete, td = triple doblete, t = triplete, dt = doble triplete, sx = sextuplete y m = multiplete.

La espectrometría de masas se llevó a cabo en el CINESTAV, en un espectrómetro de masas de alta resolución MS TOF *Agilent Technologies*.

La difracción de rayos X de monocristal se realizó en un difractómetro de rayos X de monocristal *Oxford Gemini* ($\lambda_{\text{MoK}\alpha} = 0.71073$ o $\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 1.5418\text{\AA}$) con detector de área de 135 mm *Atlas*, equipado con un sistema criogénico *Cryojet*.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Propiedades físicas de los productos

Clave	Estructura	MM (g/mol)	Aspecto físico	Punto de fusión (°C)	Rendimiento (%)
1		333.30	Sólido fino de color anaranjado	188-190	31
2		225.29	Sólido granular de color crema	104-106	90
3		391.38	Sólido fino de color amarillo	136-138	49
4		336.81	Sólido de color blanco	100-102	30
5		381.27	Sólido granular de color blanco	116-118	23

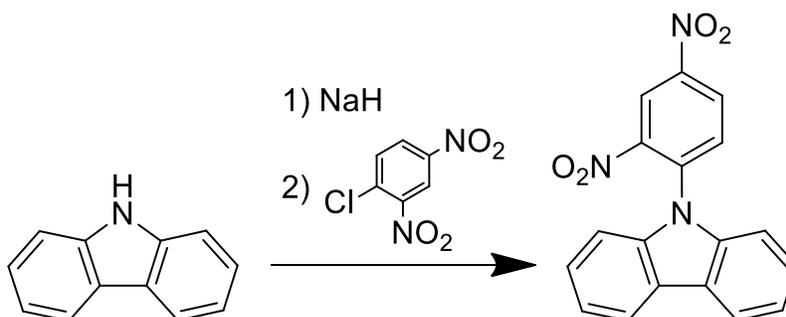
7.2. Análisis y discusión de las reacciones

7.2.1. Obtención del compuesto 1

Los primeros experimentos realizados en busca de obtener los compuestos deseados consistieron en metodologías *one-pot* debido a la aparente simplicidad de las reacciones. Estos consistieron en la abstracción del hidrógeno ácido del carbazol con hidruro de sodio, seguida de la adición de 2-metiloxirano y apertura de su anillo para la formación del alcóxido y finalmente la adición del compuesto aromático (**Esquema 5.2**).

Siguiendo el desarrollo de la reacción por medio de cromatografía en placa fina (CCF), se observó la formación de un compuesto distinto a las materias primas, el cual fue aislado, purificado y caracterizado.

El análisis espectroscópico de RMN de ^1H (**Figura 7.1**) reveló que el compuesto obtenido (**1**), no era el compuesto esperado. Esto se debe a la ausencia de señales alifáticas esperadas debido a la apertura del 2-metiloxirano, confirmando que este no participó en la reacción, y en su lugar, el carbazol realizó una sustitución nucleofílica aromática ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$) directamente sobre el 1-cloro-2,4-dinitrobenzoceno, tal como se representa en el **Esquema 7.1**.



Esquema 7.1. Obtención del compuesto 1.

La causa de que la reacción siguiera dicha ruta se puede atribuir principalmente a tres factores relacionados directamente con el 2-metiloxirano:

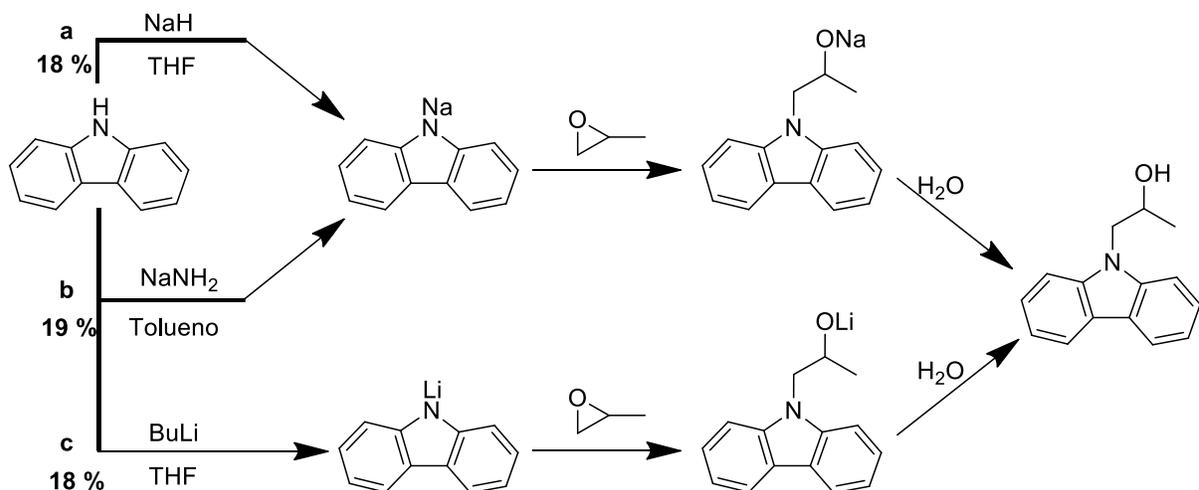
1. La dificultad de abrir epóxidos en un medio básico, el cual es necesario en estas rutas para abstraer el hidrógeno ácido del carbazol.
2. El bajo punto de ebullición (34 °C) y elevada volatilidad del 2-metiloxirano, lo que ocasiona que se escape fácilmente del medio de reacción.
3. Los bajos volúmenes empleados (<1.0 mL), lo cual favorece su rápida desaparición del medio de reacción.

A pesar de no tratarse del compuesto planteado originalmente, mantiene características similares a las buscadas en los compuestos deseados, por lo que no se descarta que pueda llevar a tener actividad biológica de interés. Es por esto que el compuesto **1** fue sintetizado nuevamente, esta vez excluyendo la adición de 2-metiloxirano, con el fin de contar con resultados más adecuados para su reporte en este trabajo.

7.2.2. Síntesis del compuesto 2

Dado el problema presentado anteriormente, se decidió cambiar el esquema sintético, el cual consistía en el uso de la metodología *one-pot*, por uno que consistiera en realizar la síntesis paso a paso, a través de la obtención de intermediarios.

Se buscaron las condiciones óptimas para lograr realizar la apertura del epóxido y obtener el intermediario **2**, empleando tres metodologías (**Esquema 7.2**), en las que se estudió el efecto de 3 bases diferentes y la adición de 2-metiloxirano se efectuó varias veces.



Esquema 7.2. Apertura del epóxido y formación del alcohol empleando distintas bases: (a) Hidruro de sodio; (b) Amiduro de sodio; (c) *n*-butil-litio.

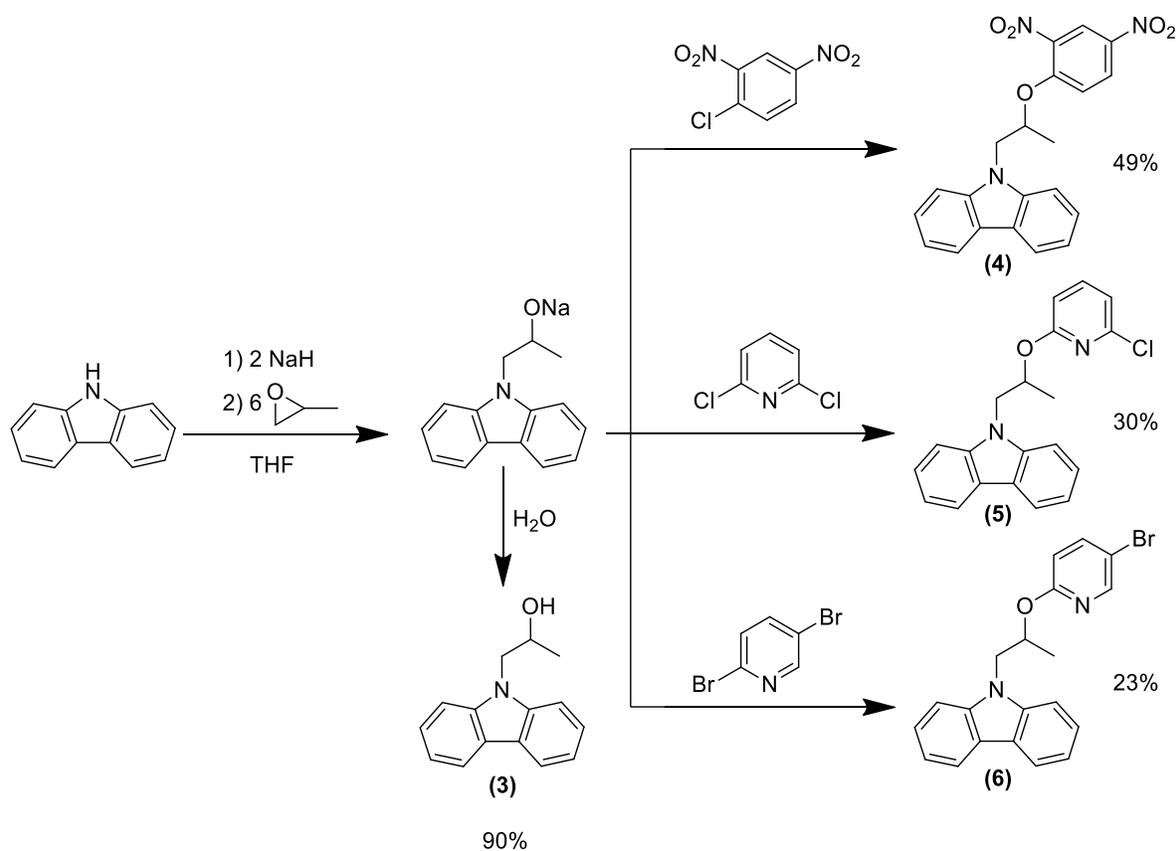
Se confirmó, por espectroscopia de RMN ^1H , la formación del alcohol mediante los tres métodos, sin embargo, en ningún caso se logró obtener un rendimiento mayor al 20% a pesar del exceso de 2-metiloxirano añadido. A partir de esto se determinó que el mayor problema de la reacción era la elevada volatilidad del 2-metiloxirano, el cual salía del medio antes de poder reaccionar, aun con el uso de refrigerantes a una temperatura de $4\text{ }^\circ\text{C}$ controlada por un recirculador.

Para evitar la pérdida de la materia prima del medio de reacción, se decidió llevar a cabo nuevamente la reacción de apertura del epóxido con hidruro de sodio en THF (a), esta vez en una ampolla de vidrio sellada con el fin de contener el 2-metiloxirano el cual fue añadido colocando la ampolla en baños de hielo y en exceso para asegurar su contención dentro del sistema. De este modo, la cuantitatividad aumentó de manera importante hasta rendimientos del 90%.

Posteriormente, la misma reacción fue escalada a viales donde se pudieran trabajar cantidades mayores, obteniéndose rendimientos similares.

7.2.3. Síntesis de los compuestos **3**, **4** y **5**

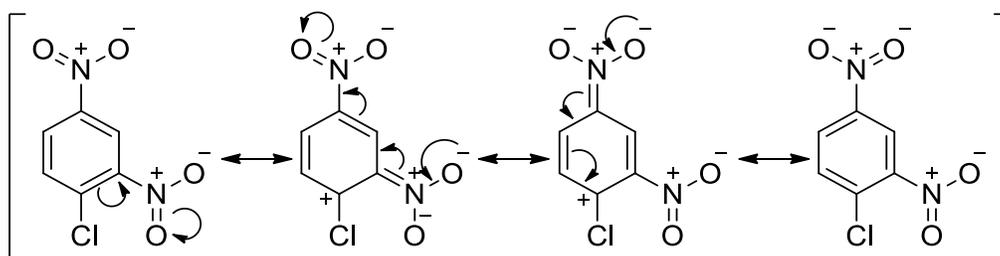
Una vez estandarizada la reacción de apertura del epóxido, se buscó realizar la sustitución nucleofílica aromática sobre núcleos de piridina y benceno activado a partir del tratamiento del intermediario **2** con hidruro de sodio en THF y calentamiento a reflujo, buscando abstraer el hidrógeno alcohólico y formar el alcóxido correspondiente para efectuar el ataque sobre los compuestos aromáticos. Sin embargo, esta metodología no resultó práctica ya que la formación del alcóxido resultó ser cuantitativa, lo que involucra una pérdida de materia considerable para el rendimiento total de la síntesis.



Esquema 7.3. Resumen de las síntesis de los compuestos **3**, **4**, **5** y **6**.

Tomando en cuenta que ya se contaba con las condiciones adecuadas para llevar a cabo la primera parte de la ruta sintética, se volvió a considerar la aplicación de la metodología *one-pot*, ya que esta presenta la ventaja de la formación del alcóxido *in situ* en comparación con la síntesis por pasos en la que el alcóxido se transforma en alcohol y posteriormente se tiene que regenerar. De este modo se logró la síntesis de los compuestos deseados (**Esquema 7.3**).

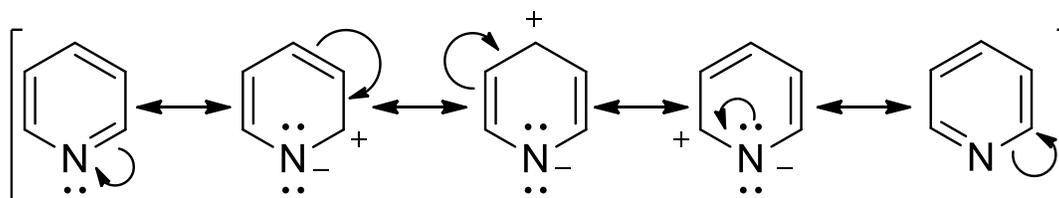
Se logró un rendimiento considerablemente mayor en la síntesis del derivado de carbazol unido a un anillo de benceno (**4**) en comparación con los derivados de carbazol unidos a anillos de piridina (**5**) y (**6**). Esto debido a que el benceno está sustituido con un buen grupo saliente (-Cl) y dos buenos grupos electroattractores (-NO₂) en posiciones *orto* y *para* a este, que activan fuertemente, por efecto resonante, la reactividad del anillo ante la S_NAr (**Esquema 7.4**).



Esquema 7.4. Resonancia del 1-cloro-2,4-dinitrobenzene: Se observa el rol activante ante S_NAr que juegan los sustituyentes nitro.

Por otro lado, las piridinas suelen presentar las posiciones *orto* y *para* activadas a sustituciones nucleofílicas aromáticas debido a la presencia del átomo de nitrógeno dentro de la molécula (**Esquema 7.5**). Sin embargo, en el caso de los compuestos deseados, los sustituyentes halogenados (-Cl y -Br) actúan tanto como grupos salientes, como desactivantes de la reactividad de la piridina debido al efecto inductivo que ejercen sobre el anillo. Debido a esto, los rendimientos en

los compuestos derivados de carbazol unidos a núcleos de piridinas son relativamente menores.



Esquema 7.5. Resonancia de la piridina: Se observa la activación de las posiciones 2 y 4 ante nucleófilos.

7.3. Análisis espectroscópico de los productos

A continuación se presenta la interpretación de los resultados de los análisis espectroscópicos realizados a los compuestos para su caracterización.

La numeración asignada a las estructuras es arbitraria, únicamente con fines ilustrativos.

7.3.1. 9-(2,4-dinitrofenil)-9H-carbazol (1)

En la **Figura 7.1** se distinguen siete señales correspondientes al mismo número de tipos de hidrógeno presentes en la molécula, tres equivalentes por parte del benceno (H-10, H-11, H-12), y cuatro por parte del carbazol (H-1 = H-8, H-2 = H-7, H-3 = H-6, H-4 = H-5).

En principio, los pares de hidrógeno del carbazol son equivalentes, sin embargo, la rotación del enlace N9-C10a genera una ruptura parcial del plano de simetría del carbazol, ocasionando que los hidrógenos de los dos anillos de benceno del carbazol no sean totalmente equivalentes. Esto se manifiesta en las señales que aparecen en 8.13 y 7.15 ppm pertenecientes a los pares H-4/H-5 y H-1/H-8 respectivamente, las cuales deberían de observarse como dobles tripletes

(*dt*) debido a la superposición de dos señales dobles de dobles *dd* que aparecen ligeramente desfasadas, sin embargo, esto no se llega a apreciar en el espectro reportado debido a que posiblemente la muestra se encontraba demasiado concentrada durante su análisis, resultando en el ensanchamiento y posible distorsión de señales.

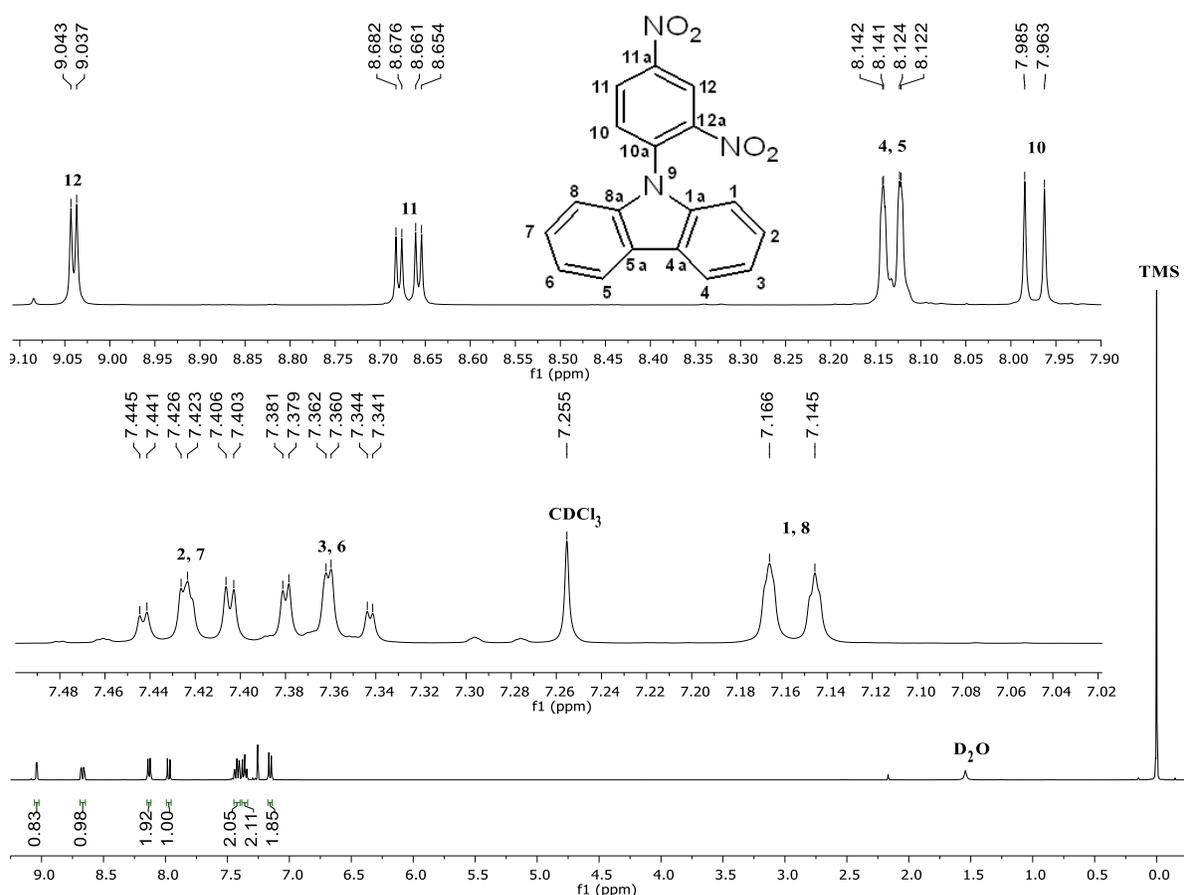
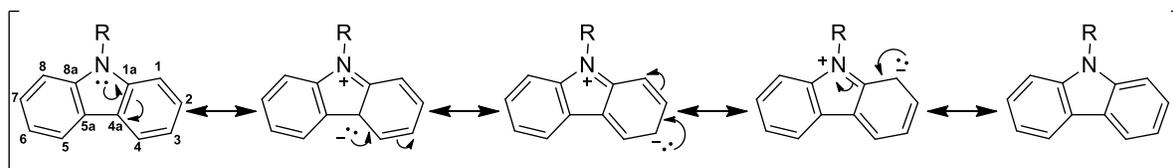


Figura 7.1. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **1**.

Los pares H-2/H-7 y H-3/H-6 aparecen en 7.42 y 7.36 ppm respectivamente como señales triples de dobles (*td*) debido a que estos protones están acoplados con dos hidrógenos en posición *orto* y uno más en posición *meta*.

El desplazamiento al que aparece cada par de hidrógenos aportados por el núcleo de carbazol está dictado principalmente por la presencia del átomo de

nitrógeno (N-9) que mediante sus efectos inductivo y resonante cubrirá o descubrirá, en distintas proporciones, ciertas posiciones en los anillos. Los protones H-1/H-8 y H-3/H-6 aparecen a campo más alto que los protones H-4/H-5 y H-2/H-7 ya que se encuentran cubiertos por efecto resonante del nitrógeno (**Esquema 7.6**).



Esquema 7.6. Resonancia del núcleo de carbazol.

En el campo bajo del espectro se encuentra una señal doble en 9.04 ppm, correspondiente a H-12 debido al fuerte efecto de descubrimiento que dos grupos nitro en posición *orto* ejercen sobre él. A continuación, en 8.67 ppm aparece la señal de H-11 que está descubierta con menor fuerza por un grupo nitro en posición *orto*, y que está acoplado con H-10 y H-12, por lo que se presenta como un doble de dobles. Al acoplarse únicamente con un hidrógeno en posición *orto* y sufrir un efecto de descubrimiento por parte de N-9, H-10 aparece en 7.97 ppm como una señal doble.

El análisis de las constantes de acoplamiento (J) confirma las posiciones de los protones asignados en el espectro, ya que H-10 y H-12 presentan constantes de acoplamiento de 8.8 y 2.4 Hz respectivamente, similares a las constantes de acoplamiento del hidrógeno al que ambas están acopladas, H-11 con $J = 8.6$ y 2.6 Hz.

7.3.2. 1-(9H-carbazol-9-il)propan-2-ol (2)

La diferencia más notable entre las **Figuras 7.1 y 7.2** es la aparición de tres señales en la región alifática, resultado de la apertura del 2-metiloxirano.

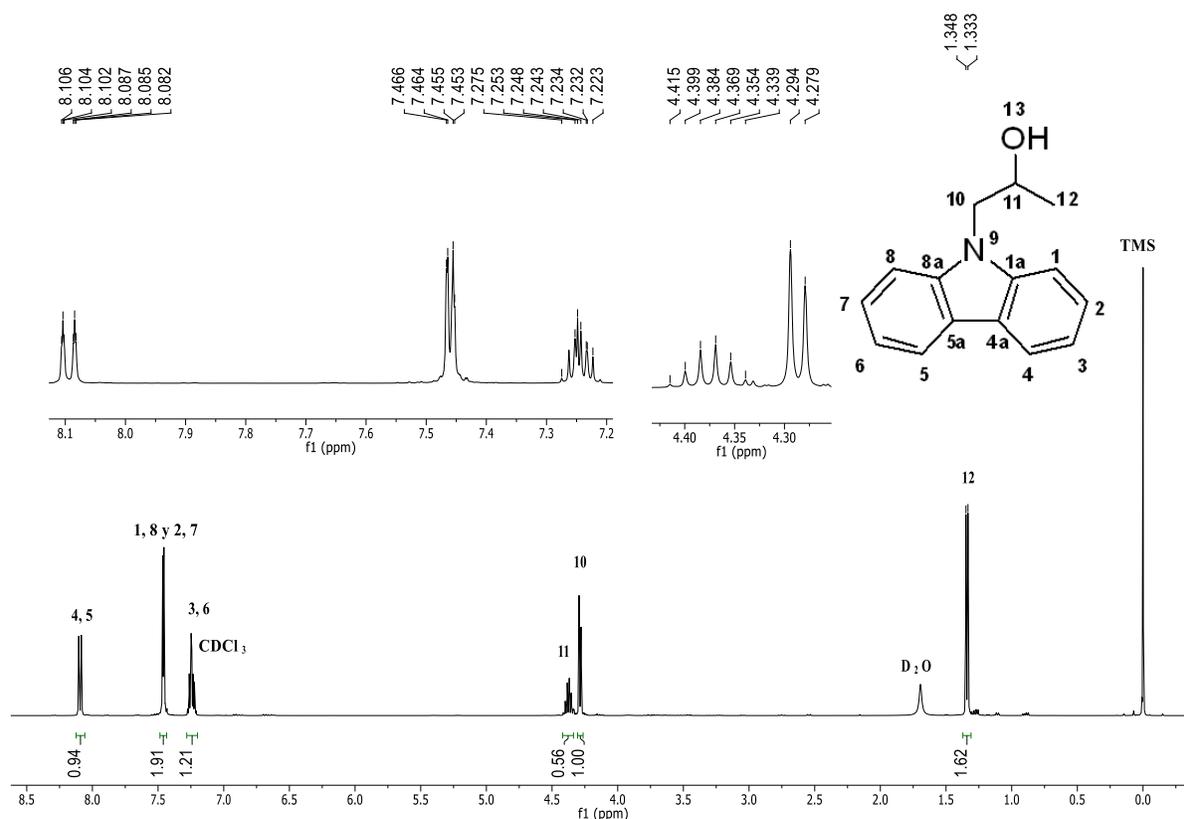


Figura 7.2. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **2**.

De las señales alifáticas, H-11 es la que aparece a campo más bajo, en 4.38 ppm con multiplicidad de sextuplete, seguida inmediatamente por un doblete en 4.29 ppm de H-10. Esto debido al efecto inductivo del oxígeno y nitrógeno respectivamente. En 1.34 ppm aparece una señal doble perteneciente a H-12.

En la región aromática, se observa nuevamente el efecto de la rotación del enlace N-C con la aparición de una clara señal *dt* en 8.09 del par H-4/H-5. Las señales de los pares H-1/H-8 y H-2/H-7 se superponen y se observan como un multiplete en 7.46 ppm. De manera similar H-3/H-6 se

presentan como multiplete en 7.24 ppm debido a la superposición con la señal del disolvente (CDCl_3).

El protón alcohólico no aparece en el espectro de RMN ^1H ya que este se intercambia fácilmente con el deuterio del agua presente en el disolvente formando la especie R-OD, la cual no se puede detectar mediante resonancia magnética nuclear.

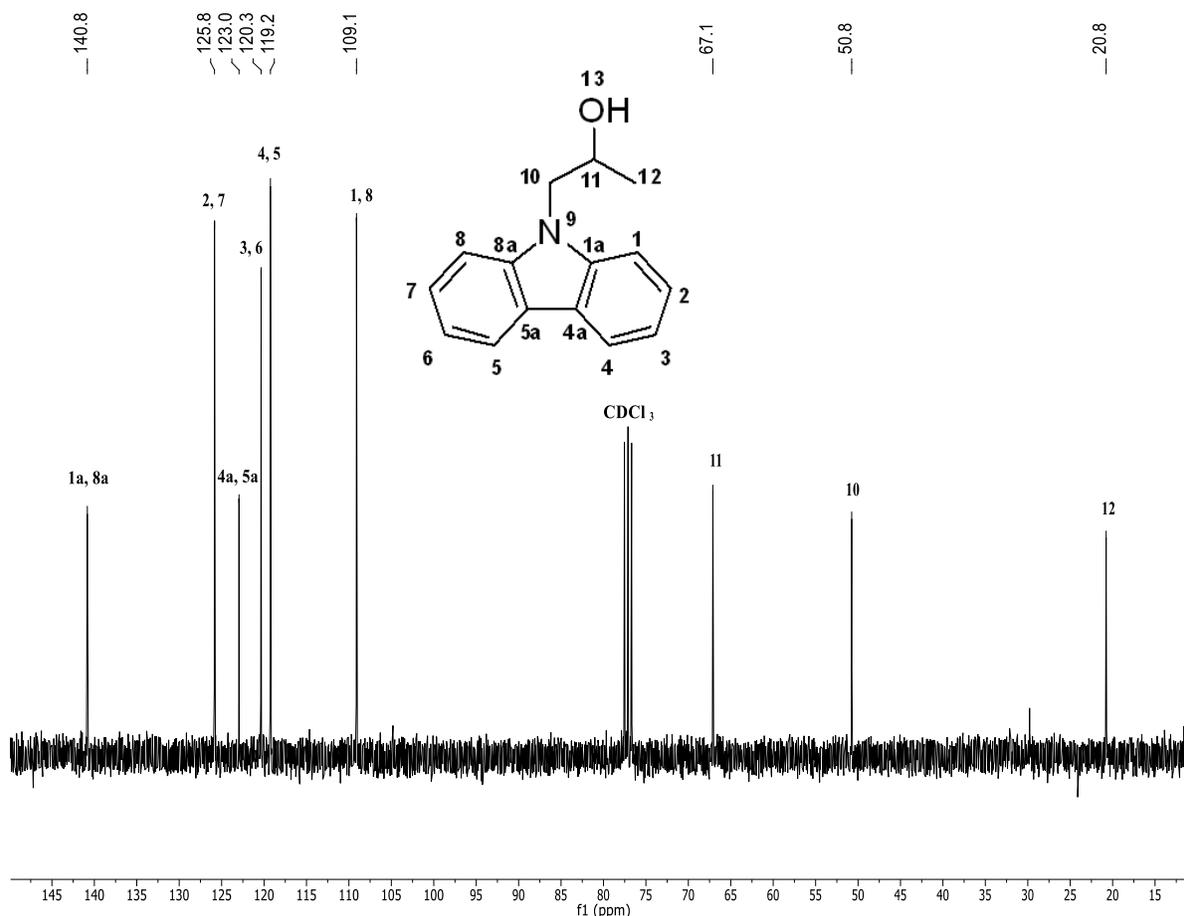


Figura 7.3. Espectro de RMN ^{13}C (100.6 MHz, CDCl_3) del compuesto 2.

En el espectro de RMN ^{13}C (**Figura 7.3**) se observan nueve señales que corresponden a los nueve tipos de carbono presentes en la molécula.

Los carbonos alifáticos aparecen en el campo alto del espectro, en 67.1 ppm aparece la señal de C-11, que está ligeramente más descubierta que C-10,

en 50.8 ppm, debido a la mayor electronegatividad del oxígeno respecto al nitrógeno. El carbono C-12 aparece en 20.8 ppm.

A campo bajo del espectro, aparecen seis señales correspondientes a los dos anillos bencílicos equivalentes del carbazol. Se distingue también que dos de estas señales pertenecen a carbonos cuaternarios. Estas fueron asignadas a los pares C-1a/C-8a en 140.8 ppm y C-4a/C-5a en 123.0 ppm, ya que el primer par sienta de manera más directa el descubrimiento electrónico por efecto inductivo del nitrógeno, además de que el segundo par está cubierto por efecto resonante del mismo nitrógeno.

El resto de las señales aromáticas fueron asignadas comparando el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **2** (Figura 7.3) con el espectro de RMN ^{13}C de carbazol de la base de datos SDBS⁹⁶.

Siendo que el compuesto **2** es el intermediario de los productos finales, estos presentan una gran similitud estructural por lo que las señales de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C analizados previamente, aparecerán de manera similar en los espectros de RMN ^1H y ^{13}C de los compuestos **3**, **4** y **5**.

Tabla 7.2. Interpretación de las señales más importantes del espectro de infrarrojo del compuesto **2**.

ν (cm^{-1})	Interpretación
3425-3380	Estiramiento O-H
3047-3019	Estiramiento C-H (sp^2)
2958-2934	Estiramiento C-H (sp^3)
1921-1688	Sobretonos aromáticos
1595	Estiramiento C-C aromático
1327	Estiramiento C-N aromático
1110	Estiramiento C-O

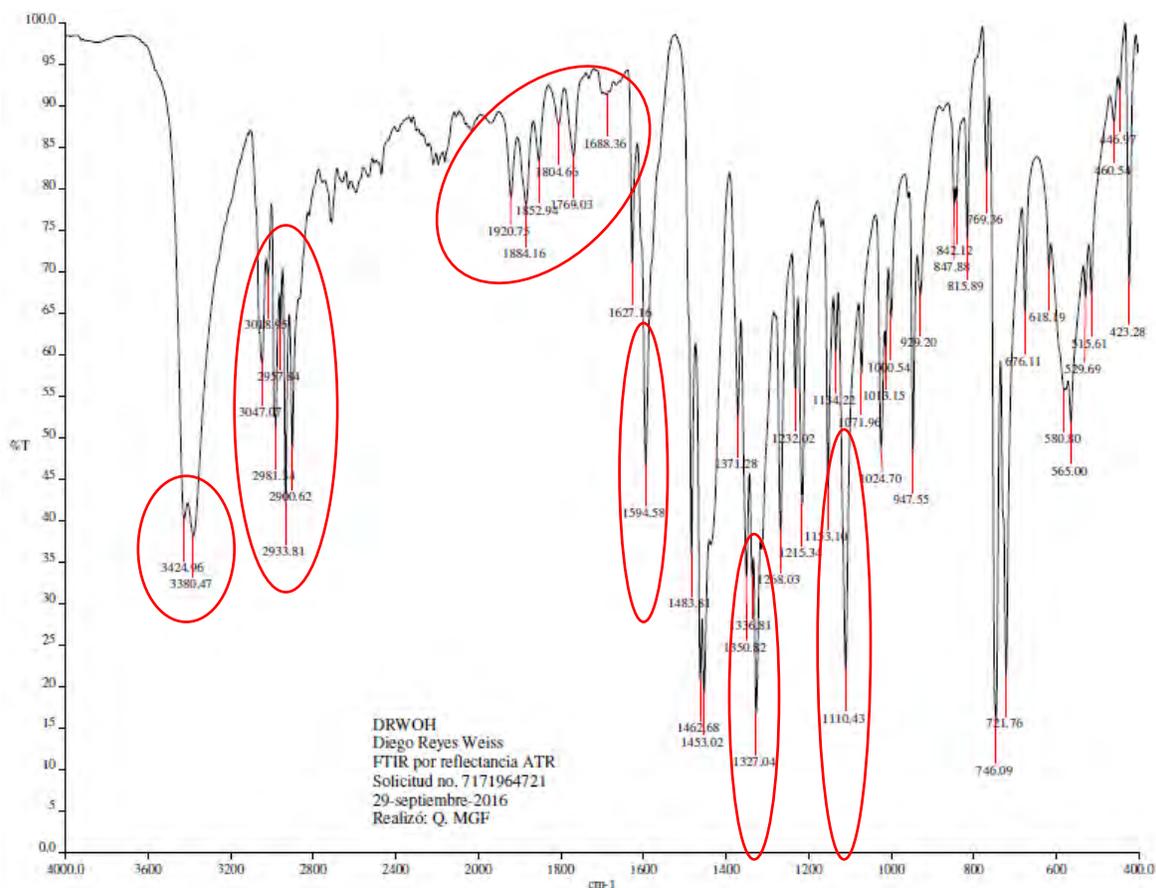


Figura 7.4. Espectro de infrarrojo del compuesto **2**.

En el espectro de infrarrojo del compuesto **2** se confirma la presencia del grupo funcional hidroxilo que no se puede apreciar mediante la técnica de RMN ¹H.

7.3.3. 9-(2-(2,4-dinitrofenoxi)propil)-9H-carbazol (3)

En el espectro de RMN ¹H del compuesto **3** (**Figura 7.5**) aparecen tres nuevas señales en la región aromática debido a la unión del compuesto **2** con un anillo de benceno dinitrado. La señal H-16, al tener dos grupos nitro en posición *orto*, sufre un fuerte descubrimiento electrónico, por lo que esta aparece a campo bajo en 8.44 ppm; H-15 sufre únicamente el efecto de un grupo nitro y aparece en

7.83 ppm; mientras que H-14, quien no siente el efecto resonante de los grupos nitro por estar en posición *meta* a ellos, aparece en 6.48 ppm.

El resto de las señales del espectro de RMN ^1H de este compuesto son similares a las ya descritas anteriormente en el análisis del compuesto **2**.

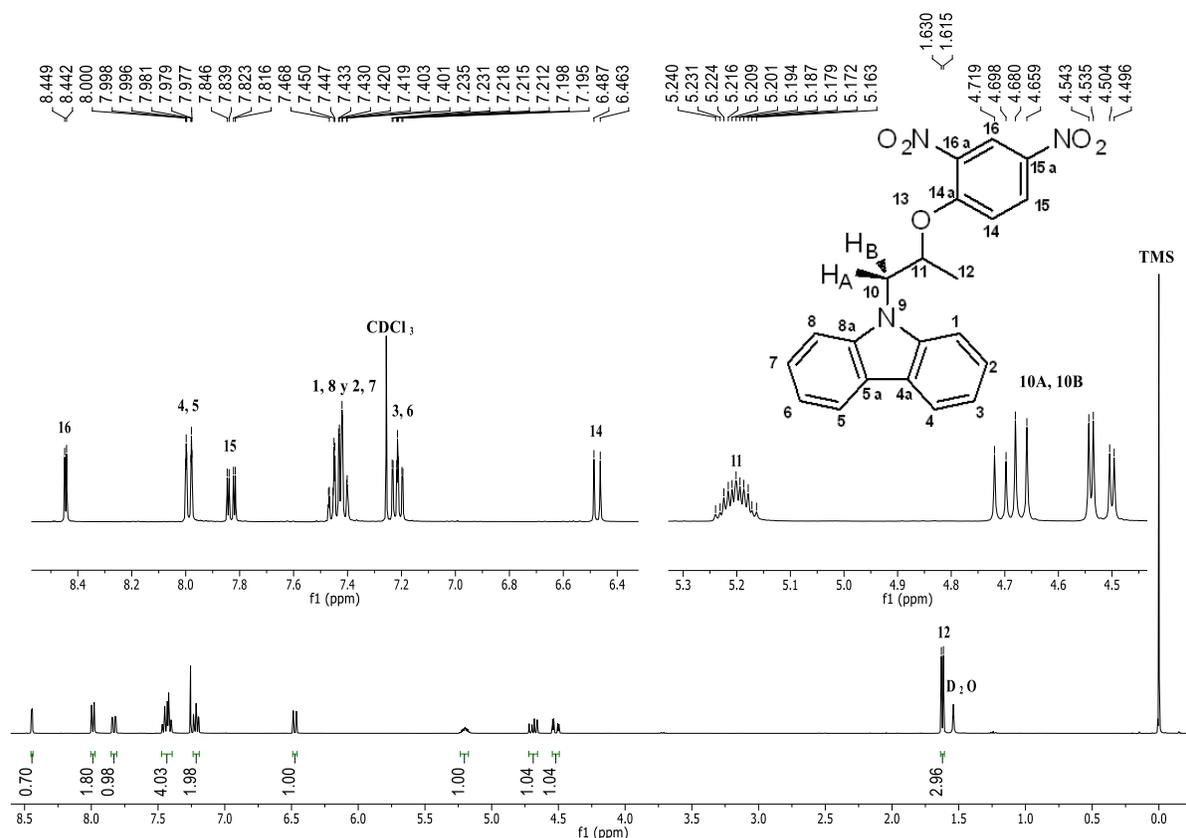


Figura 7.5. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **3**.

Un efecto particular que presenta el compuesto **3** es la presencia de un par de protones diastereotópicos en el carbono C-10. Estos protones aparentemente equivalentes, no lo son realmente, pues se encuentran en ambientes químicos distintos a causa de la proximidad a un centro quiral (C-11). Cada uno de estos protones está acoplado con el protón geminal opuesto y con el protón vecinal H-11 (**Figura 7.6**), generando cada uno una señal *dd*.

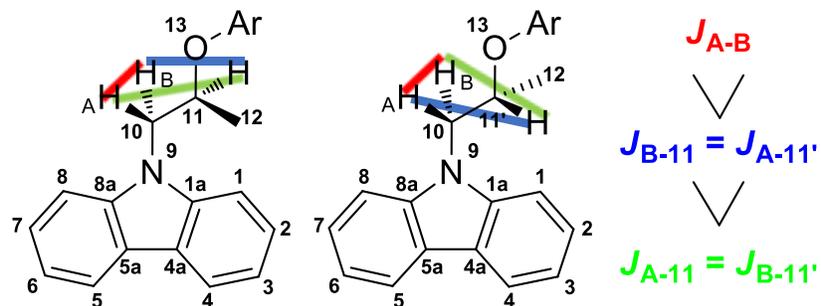


Figura 7.6. Acoplamiento de protones diastereotópicos.

En el espectro de RMN ^{13}C (**Figura 7.7**) del compuesto **3** aparecen las señales ya analizadas del compuesto **2**, más seis nuevas señales correspondientes al anillo de benceno unido.

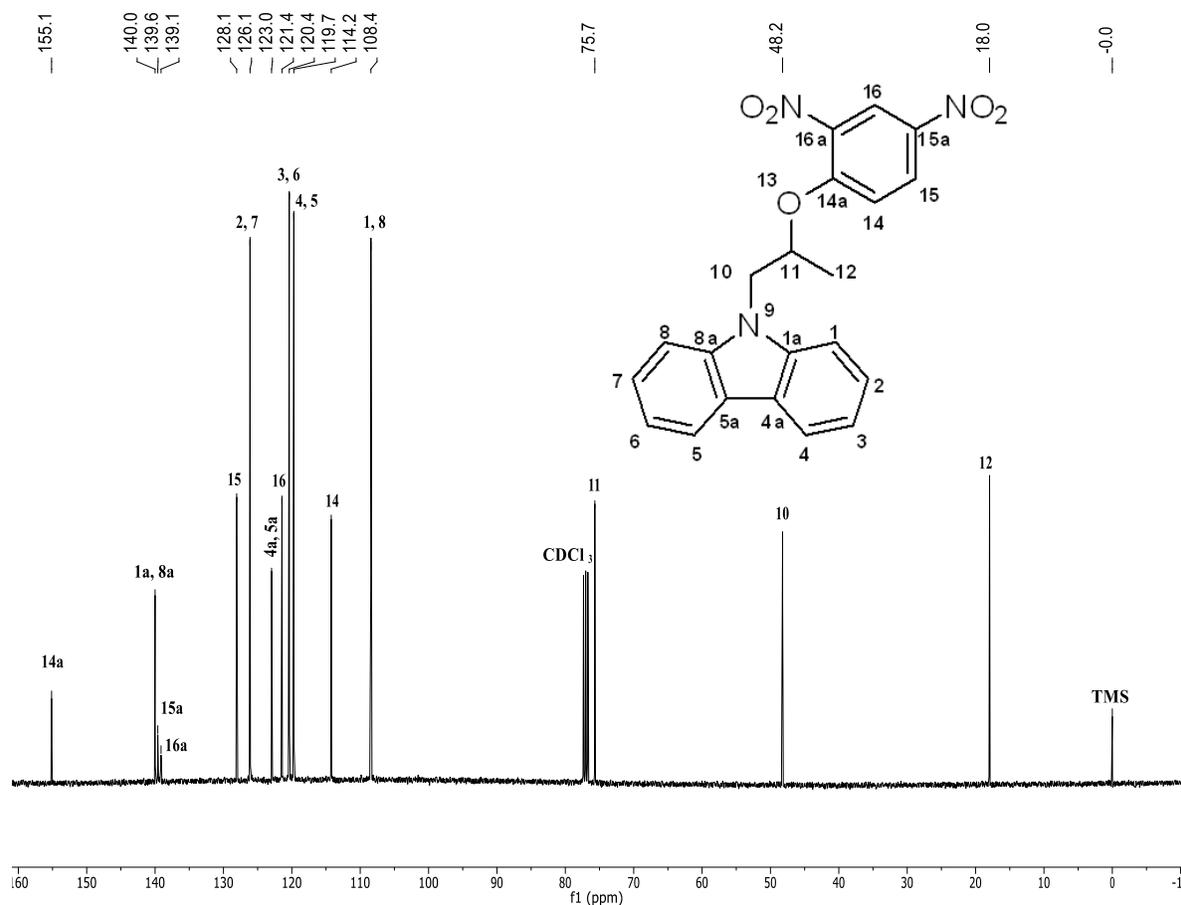


Figura 7.7. Espectro de RMN ^{13}C (100.6 MHz, CDCl_3) del compuesto **3**.

Tabla 7.3. Interpretación de las señales más importantes del espectro de infrarrojo del compuesto **3**.

ν (cm ⁻¹)	Interpretación
3076	Estiramiento C-H (sp ²)
2982-2860	Estiramiento C-H (sp ³)
1949-1806	Sobretonos aromáticos
1602	Estiramiento C-C aromático
1526	Estiramiento asimétrico N-O
1341	Estiramiento simétrico N-O
1278	Estiramiento C-N aromático
1217	Estiramiento asimétrico C-O-C
1073	Estiramiento simétrico C-O-C

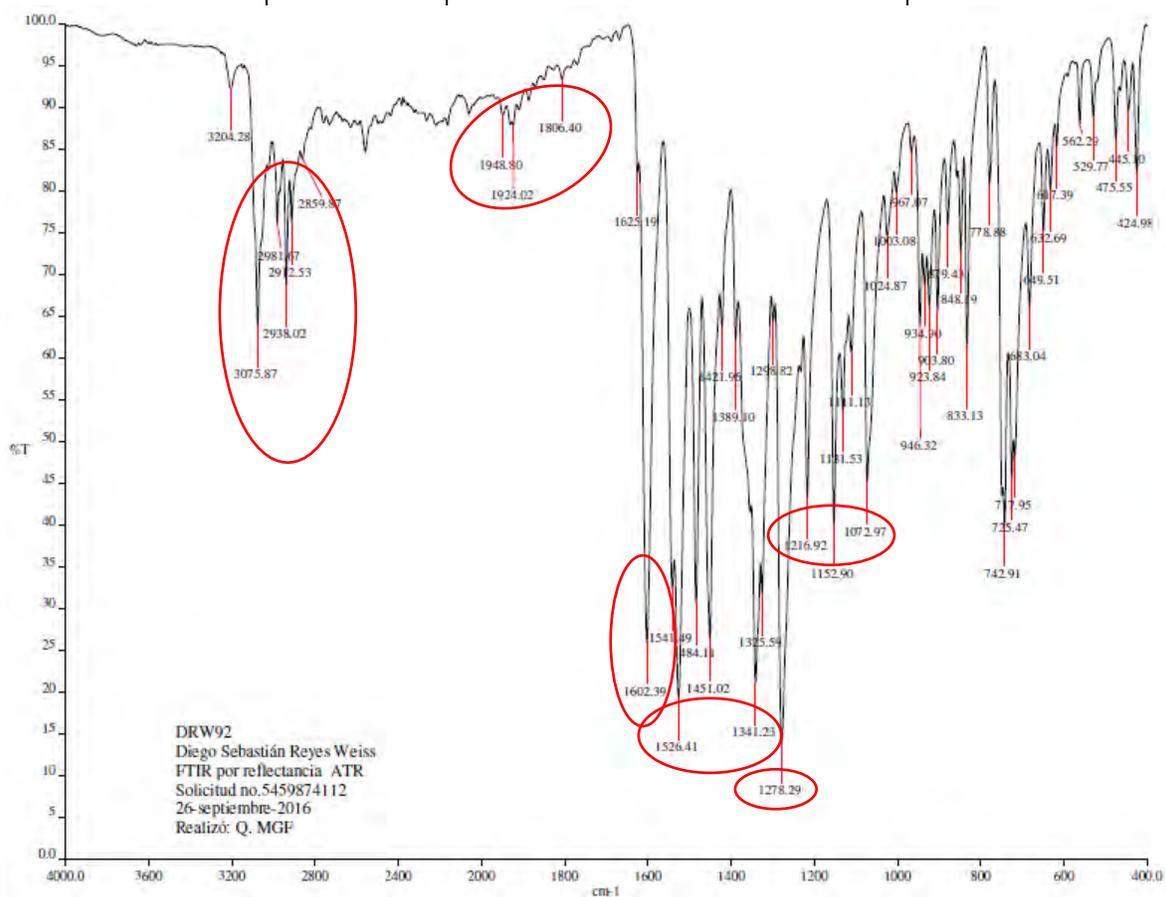


Figura 7.8. Espectro de infrarrojo del compuesto **3**.

En el espectro de infrarrojo del compuesto **3** (**Figura 7.8**) se observa la presencia del grupo nitro, así como la desaparición de la señal del alcohol del compuesto **2** (**Figura 7.4**), lo que confirma la adición del anillo bencénico nitrado, así como la formación de un puente éter.

7.3.4. 9-(2-((6-cloropiridin-2-il)oxi)propil)-9H-carbazol (4) y

9-(2-((5-bromopiridin-2-il)oxi)propil)-9H-carbazol (5)

En los compuestos **4** y **5**, la adición del núcleo de piridina se pone de manifiesto en los espectros de RMN (**Figuras A.1-A.5**) con la aparición de tres y cinco nuevas señales para ^1H y ^{13}C respectivamente en comparación con los espectros de RMN del compuesto **2**. Al igual que en el compuesto **3**, aparecen dos señales *dd* idénticas en la región alifática debido al efecto diastereotópico de los protones del C-10.

La presencia de halógenos en estas moléculas se confirmó gracias a los análisis de espectrometría de masas realizados, en los que se puede observar claramente la relación isotópica característica de la presencia de un átomo de cloro y bromo en las moléculas (**4**) y (**5**) respectivamente (**Figuras A.5 y A.6**). Estos resultados también contribuyen a la caracterización de los compuestos gracias a la obtención de la masa del ion molecular de los compuestos analizados.

En los espectros de infrarrojo de los compuestos **4** y **5** (**Figuras A.7 y A.8**) se observa, al compararlos con el espectro de infrarrojo del compuesto **2**, la desaparición del grupo hidroxilo y la aparición de un puente éter.

7.3.5. Difracción de Rayos X del compuesto 3

La obtención de monocristales adecuados permitió realizar un análisis difracción de rayos X del compuesto **3**, lo cual confirma de manera definitiva su estructura.

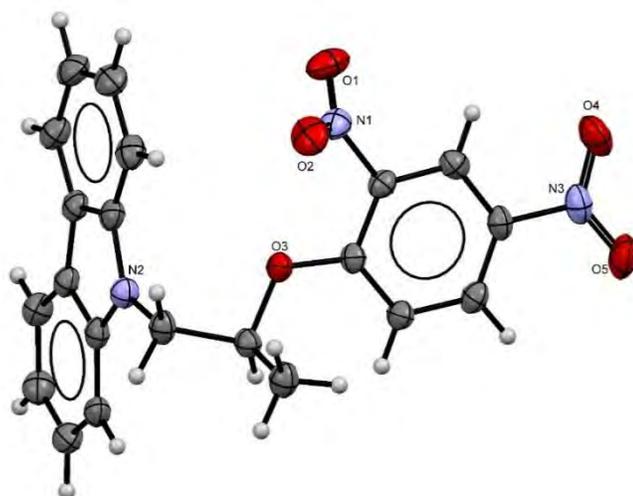
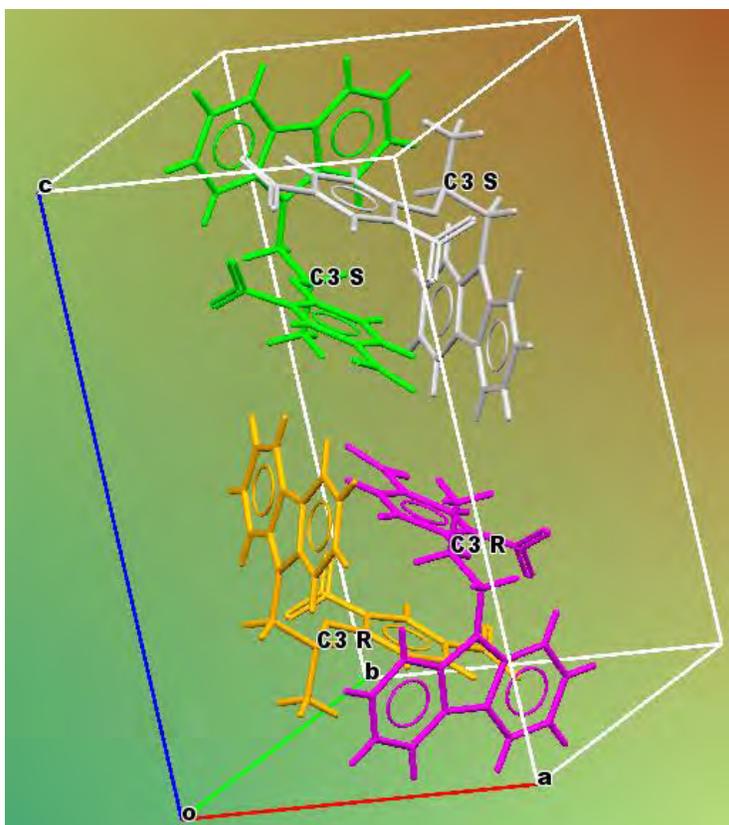


Figura 7.15. Proyección de ORTEP del compuesto **3**. Elipsoides térmicos a 50% de nivel de probabilidad.

La flexibilidad del puente éter que une al anillo de benceno con el carbazol, permite que, en el estado cristalino, estos se acomoden de forma tal que se encuentran en planos casi ortogonales, siendo su ángulo diedro 96° . Puede ser que esto sea un factor importante que favorezca la cristalización, ya que permite



que el compuesto adquiriera una conformación que facilite un empaquetamiento ordenado de las moléculas, como se puede apreciar en la **Figura 7.16**.

Figura 7.16. Empaquetamiento de las moléculas del compuesto **3** en la celda unitaria.

Un fenómeno interesante que se puede observar gracias a este análisis es la presencia, en el estado cristalino, de ambos enantiómeros de la mezcla racémica del compuesto. En la **Figura 7.16** se puede observar que las moléculas del compuesto **3** están acomodadas por parejas de manera tal que sus sustituyentes dinitrobenzilos se encuentren en planos paralelos, uno frente al otro, posiblemente gracias a interacciones tipo π - π entre ellos. Este tipo de interacciones ocurre únicamente entre moléculas con la misma configuración.

En la **Figura 7.17** se puede ver de manera más clara la conformación que adopta el compuesto **3** en el estado cristalino.

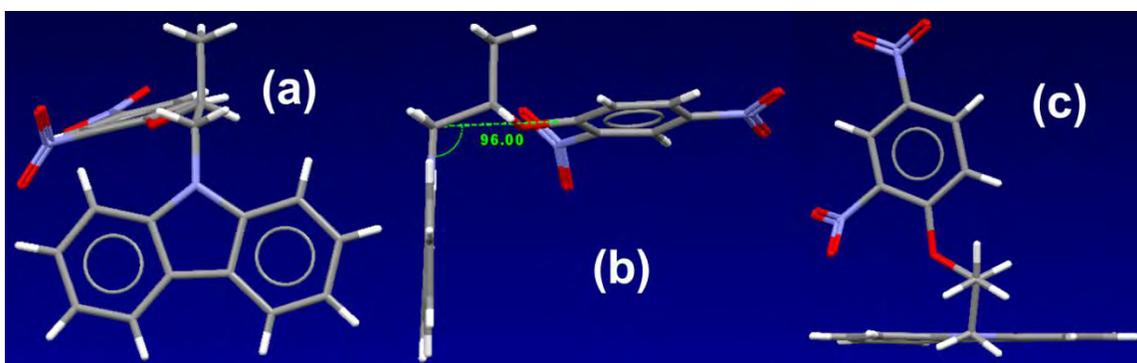


Figura 7.17. Conformación del compuesto **3** en estado cristalino: (a) Vista frontal, (b) Vista lateral, (c) Vista superior.

Otro aspecto importante que se puede apreciar claramente gracias a estos resultados es la no equivalencia de ciertos protones que en un principio podría creerse que lo son. En la **Figura 7.17** se puede observar que el núcleo de carbazol no se encuentra totalmente en el mismo plano, lo que ocasiona que los protones de sus dos anillos benzílicos se encuentren en ambientes químicos ligeramente distintos. De igual forma, se puede apreciar la diferencia de ambientes químicos en los que se encuentran los protones diastereotópicos de C-10. Esto concuerda con lo discutido anteriormente los espectros de RMN ^1H .

8. PERSPECTIVAS

Se propone realizar un estudio *in vitro* de los compuestos reportados **1-5**, pues en principio, todos presentan la habilidad de unirse al sitio activo de la BuChE gracias al residuo de carbazol. De esta manera podrá obtenerse cierta información del efecto de la *N*-funcionalización del carbazol en función de su actividad ixodida, ayudando a comprender de manera más clara el mecanismo de inhibición.

En vista de la obtención de monocristales adecuados para un análisis de difracción de rayos X del compuesto **3**, se buscará formar monocristales del resto de los compuestos sintetizados para realizar un estudio más profundo con base en su estructura tridimensional y su posible efecto biológico.

Finalmente, se buscará también la manera de mejorar los rendimientos de los compuestos que muestren efectos de interés.

9. CONCLUSIONES

Se lograron sintetizar tres compuestos derivados de carbazol (**3**, **4** y **5**), análogos a derivados de fenotiazina con actividad ixodida reportada, con rendimientos de 23 al 49%. Así mismo, se sintetizaron también, el compuesto intermediario clave para la obtención de los compuestos deseados (**2**), con un rendimiento de 90%; y el producto de la sustitución directa del carbazol sobre un compuesto aromático (**1**).

Para la obtención de los compuestos deseados, la metodología *one-pot* resultó ser una mejor alternativa, en cuanto a practicidad y rendimiento, en comparación con la síntesis por pasos gracias a la producción *in-situ* del reactivo necesario para la segunda etapa de la ruta.

Los compuestos fueron caracterizados por espectrometría de masas y las técnicas espectroscópicas de infrarrojo, resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C . Así mismo, la obtención de monocristales aptos para el análisis de difracción de rayos X brindó información de gran calidad respecto a la estructura de los compuestos.

10. REFERENCIAS

1. George, J. E. (2000). Present and Future Technologies for tick control. *Ann. New York Acad. Sci.* 916(1), 583-588.
2. Jongejans, F.; Uilenberg, G. (2005). The global importance of ticks. *Parasitology* 129(07), 3-14.
3. Horak, I.; Camicas, J.; Keirans, J. (2002). The *Argasidae*, *Ixodidae* and *Nuttalliellidae* (Acari: *Ixodida*): A world list of valid tick names. *Exp. Appl. Acarol.* 28(1-4), 27-54.
4. Domínguez-García, D. I.; Saltijeral Oaxaca, J. A.; Rosario-Cruz, R.; Almazán-García, C.; de la Fuente, J. (2010). *Boophilus microplus*: Aspectos biológicos y moleculares de la resistencia a los acaricidas y su impacto en la salud animal *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 12(2), 181-192.
5. Guerrero, F. D.; Nene, V. M.; George, J. E.; Barker, S. C.; Willadsen, P. J. (2006). Sequencing a new target genome: The *Boophilus microplus* (Acari: *Ixodidae*) genome project. *J. M. Entomol.* 43(1), 9-16.
6. Strickland, R. K.; Gerrish, R. R.; Hourrigan, J. L.; Schubert, G. O. (1976). Ticks of veterinary importance. in *Agriculture Handbook 485*; Animal and Plant Health Inspection Service; U. S. Dept. of Agriculture: Washington, D.C., Chapter 2.
7. Jonsson, N. N.; Mayer, D. G.; Matschoss, A. L.; Green, P. E.; Ansell, J. (1998). Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. *Vet. Parasitol.* 78(1), 65-77.

8. Gasque Gómez, R. (2008). *Enciclopedia Bovina 4-Enfermedades Bovinas: Anaplasmosis*. Ciudad de México, Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 91-93.
9. de Castro, J. (1997). Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. *Vet. Parasitol.* 71(2-3), 77-97.
10. Gasque Gómez, R. (2008). *Enciclopedia Bovina 4-Enfermedades Bovinas: Babeosis bovina*. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 97-101.
11. Gothe, R. (1999). Zeckentoxikosen. *Tick Toxicoses*. München, Hieronymus.
12. Shapiro, E.; Gerber, M. (2000). Lyme disease. *Clin. Infect. Dis.* 31(2), 533-542.
13. Masters, E.; Olson, G.; Weiner, S.; Paddock, C. (2003). Rocky Mountain spotted fever. *Arch. Intern. Med.* 163(7), 769-774.
14. Graham, O.; Hourrigan, J. (1977). Review article: Eradication programs for the arthropod parasites of livestock. *J. Med. Entomol.* 13(6), 629-658.
15. Bram, R.; George, J.; Reichard, R.; Tabachnick, W. (2002). Threat of foreign arthropod-borne pathogens to livestock in the United States. *J. Med. Entomol.* 39(3), 405-416.
16. George, J.; Davey, R.; Pound, J. (2002). Introduced ticks and tick-borne diseases: the threat and approaches to eradication. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 18(3), 401-416.
17. George, J., Pound, J. y Davey, R. (2004). Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology* 129(7), 353-366.

18. Francis, M. (1892). Preventive measures for farm or range use. *Bull. Texas Agric. Exp. Station* 24, 253-256.
19. Mohler, J. R. (1906). Texas or tick fever and its prevention. United States Department of Agriculture, *Farmer's Bulletin* 258, 1-45.
20. Maunder, J. C. J. (1949). Cattle tick control: Results achieved in the field with DDT and BHC. *Qd. Agric. J.* 69, 160-167.
21. Shaw, R. (1966). Culture of an organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bull. Entomol. Res.* 56(03), 389-405.
22. Whitnall, A. B. M.; Bradford, B. (1947). An arsenic-resistant tick and its control with gamexane dips. *Bull. Entomol. Res.* 38(02), 353-372.
23. Pitterna, T.; Cassayre, J.; Hüter, O.; Jung, P.; Maienfisch, P.; Kessabi, F.; Quaranta, L.; Tobler, H. (2009). New ventures in the chemistry of avermectins. *Bioorg. Med. Chem.* 17(12), 4085-4095.
24. Davey, R.; Ahrens, E.; George, J.; Hunter, J.; Jeannin, P. (1998). Therapeutic and persistent efficacy of fipronil against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. *Vet. Parasitol.* 74(2-4), 261-276.
25. Coats, J. (1990). Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. *Environ. Health Perspect.* 87, 255-262.
26. Cobbett, N. G. (1947). Preliminary tests in Mexico with DDT, cube hexachlorocyclohexane (benzene hexachloride), and combinations thereof, for the control of the cattle fever tick, *Boophilus annulatus*. *Am. J. Vet. Res.* 8, 280-283.

27. Kunz, S.; Kemp, D. (1994). Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. *Rev. Sci. Tech.* 13(4), 1249-1286.
28. Hodgson, E. (2004). *A textbook of modern toxicology*. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience.
29. Ware, G. W. (2000). *The Pesticide Book*, 5th ed., Fresno, California, Thomson Publications.
30. Roulston, W.; Stone, B.; Wilson, J.; White, L. (1968). Chemical control of an organophosphorus- and carbamate-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) from Queensland. *Bull. Entomol. Res.* 58(02), 379-392.
31. Schuntner, C.; Schnitzerling, H.; Roulston, W. (1971). Carbaryl metabolism in larvae of organophosphorus and carbamate-susceptible and -resistant strains of cattle tick *Boophilus microplus*. *Pestic. Biochem. Phys.* 1(3-4), 424-433.
32. McDougall, K.; Machin, M. (1988). Stabilisation of the carbamate acaricide promacyl in cattle dipping fluid. *Pestic. Sci.* 22(4), 307-315.
33. Kunz, S.; Kemp, D. (1994). Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. *Rev. Sci. Tech.* 13(4), 1249-1286.
34. Casida, J. (1980). Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environ. Health Perspect.* 34, 189-202.
35. Schnitzerling, H., Nolan, J.; Hughes, S. (1989). Toxicology and metabolism of isomers of flumethrin in larvae of pyrethroid-susceptible and resistant strains of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.* 6(1), 47-54.
36. Fragoso H.; Soberanes N.; Ortiz M.; Santamaría M.; Ortiz A. (1995). Epidemiología de la resistencia a ixodidas piretroides en garrapatas

- Boophilus microplus* en la República Mexicana, pp.45-57. En Rodríguez S., Fragoso H., *Seminario internacional de parasitología animal- Resistencia y Control en Garrapatas y Moscas de Importancia Veterinaria*. Acapulco, Guerrero, México.
37. Santamaría V., M.; Soberanes C., N.; Ortiz N., A.; Fragoso S., H.; Osorio M., J.; Martínez O., F.; Franco B., R.; de Labra V., G.; Quezada D., R.; Giles H., I.; Ortiz Q., M. (1999). Análisis de la situación Actual mediante el monitoreo de susceptibilidad a ixodidas en *Boophilus microplus* de 1993 a 1999 y medidas preventivas para retardar la resistencia al amitraz en México, pp.103-117. En *IV Seminario Internacional de Parasitología Animal: Control de la Resistencia en Garrapatas y Moscas de Importancia Veterinaria y Enfermedades que transmiten*. Puerto Vallarta, Jalisco, México.
38. Hollingworth, R. (1976). Chemistry, biological activity, and uses of formamidine pesticides. *Environ. Health Perspect.* 14, 57-69.
39. Evans, P.; Gee, J. (1980). Action of formamidine pesticides on octopamine receptors. *Nature* 287(5777), 60-62.
40. Aguirre, J.; Sobrino, A.; Santamaría, M.; Aburto, A.; Román, S.; Hernández, M.; Ortiz, M.; Ortiz, Y. A.; (1986). Resistencia de garrapatas en México, pp.282-306. En Cavazzani A. H., García Z. [eds.], *Seminario Internacional de Parasitología Animal*, Cuernavaca, Morelos, México.
41. Soberanes N., C.; Santamaría M., V.; Fragoso H., S.; García Z., V. (2002). First case reported of amitraz resistance in the cattle tick *Boophilus microplus* in Mexico. *Tec. Pecu. Mex.* 40, 81-92.

42. Palmer, B. H.; McCarthy, J. F.; Kozlik, A.; Harrison, I. R. (1971). A new chemical group of cattle acaricides. *Proceedings of the 3rd International Congress of Acarology*, Prague, 687-691.
43. Roy-Smith, F. (1975). Amitraz: Australian field trials against the cattle tick (*Boophilus microplus*). *Proceedings of the 8th British Insecticide and Fungicide Conference*, 565-571.
44. George, J.; Davey, R.; Ahrens, E.; Pound, J.; Drummond, R. (1998). Efficacy of amitraz (Taktic® 12.5% EC) as a dip for the control of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) on cattle. *Prev. Vet. Med.* 37(1-4), 55-67.
45. Stanford, G. D.; Baker, J. A. F.; Ratley, C. V.; Taylor, R. J. (1981). The development of a stabilized amitraz cattle dip for control of single and multi-host ticks and their resistant strains in South Africa. In *Proceedings of a Conference on Tick Biology and Control*. South Africa, pp. 143-181.
46. Benavides, E.; Rodríguez, J.; Romero, A. (2006). Isolation and partial characterization of the montecitos strain of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1877) multiresistant to different acaricides. *Ann. New York Acad. Sci.* 916(1), 668-671.
47. Strydom T.; Peter R. (1999). Acaricides and *Boophilus spp.* resistance in South Africa, pp.35-40. En Fragoso H., S.; García Z., V.; *IV Seminario Internacional de Parasitología Animal - Control de la resistencia en garrapatas y moscas de importancia veterinaria y enfermedades que transmiten*. Puerto Vallarta, Jalisco, México.

48. Miller, R.; Davey, R.; George, J. (2002). Modification of the food and agriculture organization larval packet test to measure amitraz-susceptibility against *Ixodidae*. *J. Med. Entomol.* 39(4), 645-651.
49. Lasota, J.; Dybas, R. (1991). Avermectins, a novel class of compounds: Implications for use in arthropod pest control. *Ann. Rev. Entomol.* 36(1), 91-117.
50. Gonzales, J.; Muniz, R.; Farias, A.; Goncalves, L.; Rew, R. (1993). Therapeutic and persistent efficacy of doramectin against *Boophilus microplus* in cattle. *Vet. Parasitol.* 49(1), 107-119.
51. Remington, B.; Kieran, P.; Cobb, R.; Boderó, D. (1997). The application of moxidectin formulations for control of the cattle tick (*Boophilus microplus*) under Queensland field conditions. *Aust. Vet. J.* 75(8), 588-591.
52. Caproni, L. Jr.; Umehara, O.; Moro, E.; Goncalves, L. C. B. (1998). Field efficacy of doramectin and ivermectin against natural infestations of the cattle tick *Boophilus microplus*. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 7, 151-155.
53. Muniz, R.; Coronado, A.; Anziani, O.; Sanavria, A.; Moreno, J.; Errecalde, J.; Goncalves, L. (1995). Efficacy of injectable doramectin in the protection of castrated cattle against field infestations of *Cochliomyia hominivorax*. *Vet. Parasitol.* 58(4), 327-333.
54. Davey, R.; George, J. (2002). Efficacy of macrocyclic lactone endectocides against *Boophilus microplus* (Acari: *Ixodidae*) infested cattle using different pour-on application treatment regimes. *J. Med. Entomol.* 39(5), 763-769.
55. Kemp, D. H.; McKenna, R. V.; Thullner, R.; Willadsen, P. (1999). Strategies for tick control in a world of acaricide resistance. En *Control de la Resistencia en*

- Garrapatas y Moscas de Importancia Veterinaria y Enfermedades que transmiten, IV Seminario Internacional de Parasitología Animal* (ed. Morales, G.; Fragoso, H.; Garcia, Z.), pp. 1-10. Puerto Vallarta, Jalisco, México.
56. Martins, J.; Furlong, J., (2001). Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. *Vet. Rec.* 149, 64.
57. Perez-Cogollo, L.; Rodriguez-Vivas, R.; Ramirez-Cruz, G.; Miller, R. (2010). First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Vet. Parasitol.* 168(1-2), 165-169.
58. Fragoso S., H.; Ortiz E., M; de Labra V., G.; Ortiz N., N.; Rodríguez, M.; Redondo, M.; de la Fuente, J.; Hernández P., V. (1999). Evaluación de la vacuna contra la garrapata Bm86 (Gavac) para el control de *Boophilus microplus*. *Memorias de IV Seminario Internacional de Parasitología Animal*. Puerto Vallarta, Jalisco, México. pp. 47-50.
59. López, E.; López, G.; Orduz, S. (2009). Control de la garrapata *Boophilus microplus* con *Metarhizium anisopliae*, estudios de laboratorio y campo. *Rev. Colomb. Entomol.* 35(1), 42-46.
60. Stafford, K. (2007). *Tick management handbook*. New Haven, Conn.: Connecticut Agricultural Experiment Station.
61. Walker, A. (2011). Eradication and control of livestock ticks: biological, economic and social perspectives. *Parasitol.* 138(08), 945-959.
62. Desquenses, M. (1994). *The cattle tick: Boophilus microplus*. Cayena. Guyana Francesa: CIRAD.

63. Wilkinson, P. R. (1970) Factors affecting the distribution and abundance of the cattle tick in Australia: Observations and hypotheses. *Fra. Acarol.* 12(3), 492-508.
64. Rodríguez-Vivas, R.; Alonso-Díaz, M.; Rodríguez-Arevalo, F.; Fragoso-Sánchez, H.; Santamaría, V; Rosario-Cruz, R. (2006). Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the State of Yucatan, Mexico. *Vet. Parasitol.* 136(3-4), 335-342.
65. Cruz-Vázquez, C.; Fernández Ruvalcaba, M. (2000). Anti-tick repellent effect of *Andropogon gayanus* grass on plots of different ages experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae. *Parasitol.* 24(3-4), 88-91.
66. Fernández-Ruvalcaba, M.; Preciado-de-la Torre, F.; Cruz-Vazquez, C.; Garcia-Vazquez, Z. (2004). Anti-tick effects of *Melinis minutiflora* and *Andropogon gayanus* grasses on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae. *Exp. Appl. Acarol.* 32(4), 293-299.
67. Ojeda-Chi, M. M.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Galindo-Velasco, E.; Lezama-Gutiérrez, R.; Cruz-Vázquez, R (2011) Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). *Rev. Mex. Cien. Pecu.* 2(2), 177-192.
68. Fernandes, É.; Bittencourt, V; Roberts, D. (2012). Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Exp. Parasitol.* 130(3), 300-305.

69. Rodríguez-Vivas, R. I.; Quiñones A., F.; Fragoso S., H. (2005) Epidemiología y control de la garrapata *Boophilus* en México. En: *Enfermedades de importancia económica en producción animal*. Rodríguez-Vivas, R.I. Editor. México, D. F. McGraw-Hill-UADY. pp: 571-592.
70. Jonsson, N. (2006). The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Vet. Parasitol.* 137(1-2), 1-10.
71. Willadsen, P. (1997). Novel vaccines for ectoparasites. *Vet. Parasitol.* 71(2-3), 209-222.
72. Jonsson, N.; Matschoss, A.; Pepper, P.; Green, P.; Albrecht, M.; Hungerford, J.; Ansell, J. (2000). Evaluation of TickGARDPLUS, a novel vaccine against *Boophilus microplus*, in lactating Holstein–Friesian cows. *Vet. Parasitol.* 88(3-4), 275-285.
73. Padilla, S. (1995). Regulatory and research issues related to cholinesterase inhibition. *Toxicology* 102(1-2), 215-220.
74. Taylor, P. (1991). The cholinesterases. *J. Bio. Chem.* 266(7), 4025-4028.
75. La Du, B.; Bartels, C.; Nogueira, C.; Arpagaus, M.; Lockridge, O. (1991). Proposed nomenclature for human butyrylcholinesterase genetic variants identified by DNA sequencing. *Cell. Mol. Neurobiol.* 11(1), 79-89.
76. Cerbai, F.; Giovannini, M.; Melani, C.; Enz, A.; Pepeu, G. (2007). N¹phenethyl-norcymserine, a selective butyrylcholinesterase inhibitor, increases acetylcholine release in rat cerebral cortex: A comparison with donepezil and rivastigmine. *Eur. J.Pharmacol.* 572(2-3), 142-150.

77. Maldonado-Domínguez, M.; Alavez-Rosas, D.; Aguilar, H.; Méndez-Stivalet, J.; Romero-Ávila, M.; Flores-Pérez, B.; Ibarra, F.; Alcalá-Canto, Y.; Vera-Montenegro, Y.; García-Ortega, H. (2014). Design, synthesis, in vitro evaluation and preliminary SAR studies of *N*-(2-(heteroaryloxy)propyl)phenothiazines against *Rhipicephalus microplus* cattle tick. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 24(14), 3069-3072.
78. Bernthsen, A. (1883). Über das Methylenblau. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 16(1), 1025-1028.
79. Massie, S. P. (1954). The Chemistry of Phenothiazine. *Chem. Rev.* 54(5), 797-833.
80. Campbell, F. L.; Sullivan, W. N.; Smith, L. E.; Haller, H. L. (1934) Insecticidal tests of synthetic organic compounds, Chiefly tests of sulfur compounds against culicine mosquito larvae. *J. Econ. Entomol.* 27, 1176-1185.
81. Ohlow, M.; Moosmann, B. (2011). Phenothiazine: the seven lives of pharmacology's first lead structure. *Drug Discov. Today* 16(3-4), 119-131.
82. Smith, N. (1950). Synthesis of phenothiazine derivatives for use as antioxidants. *J. Org. Chem.* 15(5), 1125-1130.
83. Burn, J. H. (1954). The Pharmacology of Chlorpromazine and Promethazine. *Proc. R. Soc. Med.* 47(8), 617-621.
84. Vaughan, G. F.; Leiberman, D.; Cook, L. C. (1955). Chlorpromazine in psychiatry. *Lancet* 265(6874), 1083-1087.
85. Mocko, J.; Kern, A.; Moosmann, B.; Behl, C.; Hajjeva, P. (2010). Phenothiazines interfere with dopaminergic neurodegeneration in

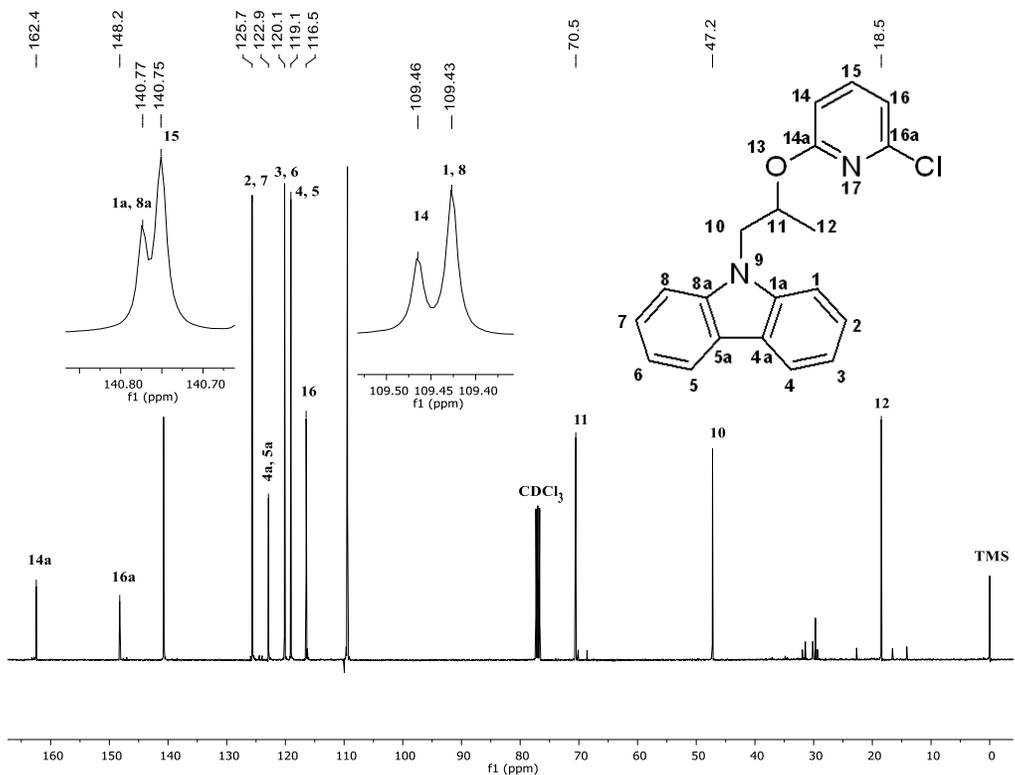
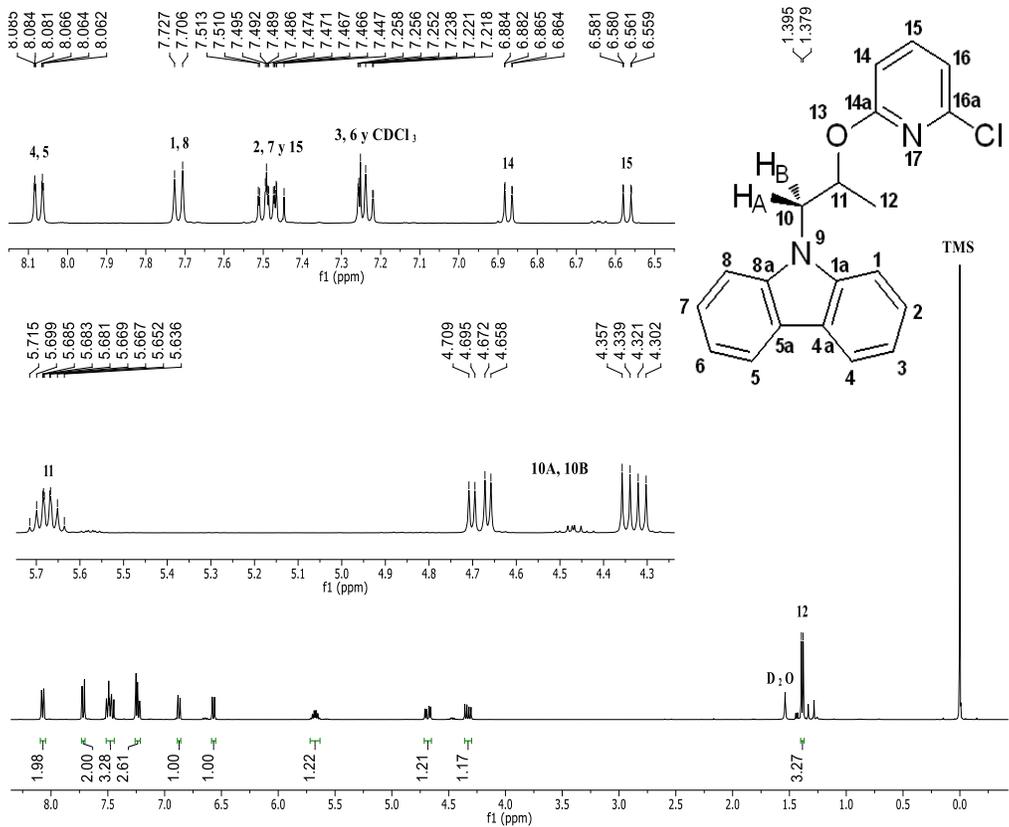
- Caenorhabditis elegans* models of Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* 40(1), 120-129.
86. Plishker, G. (1984). Phenothiazine inhibition of calmodulin stimulates calcium-dependent potassium efflux in human red blood cells. *Cell Calcium* 5(2), 177-185.
87. Nagel, D.; Spranger, S.; Vincendeau, M.; Grau, M.; Raffegerst, S.; Kloo, B.; Hlahla, D.; Neuenschwander, M.; Peter von Kries, J.; Hadian, K.; Dörken, B.; Lenz, P.; Lenz, G.; Schendel, D.; Krappmann, D. (2012). Pharmacologic Inhibition of MALT1 Protease by Phenothiazines as a Therapeutic Approach for the Treatment of Aggressive ABC-DLBCL. *Cancer Cell* 22(6), 825-837.
88. Darvesh, S.; McDonald, I; Martin, E. (2013). Selectivity of phenothiazine cholinesterase inhibitors for neurotransmitter systems. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23(13), 3822-3825.
89. Bajda, M.; Więckowska, A.; Hebda, M.; Guzior, N.; Sotriffer, C.; Malawska, B. (2013). Structure-based search for new inhibitors of cholinesterases. *Int. J. Mol. Sci.* 14(3), 5608-5632.
90. Saxena, A.; Redman, A.; Jiang, X.; Lockridge, O.; Doctor, B. (1997). Differences in active site gorge dimensions of cholinesterases revealed by binding of inhibitors to human butyrylcholinesterase. *Biochemistry* 36(48), 14642-14651.
91. Darvesh, S.; McDonald, R.; Penwell, A.; Conrad, S.; Darvesh, K.; Mataija, D.; Gomez, G.; Caines, A.; Walsh, R.; Martin, E. (2005). Structure-activity relationships for inhibition of human cholinesterases by alkyl amide phenothiazine derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* 13(1), 211-222.

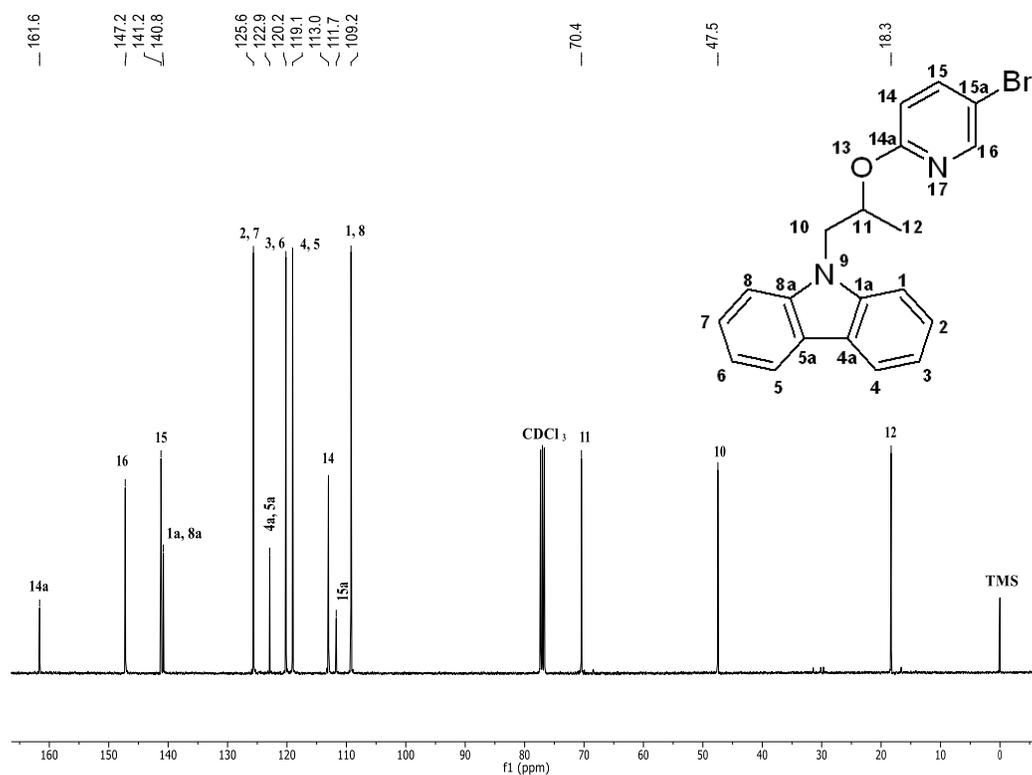
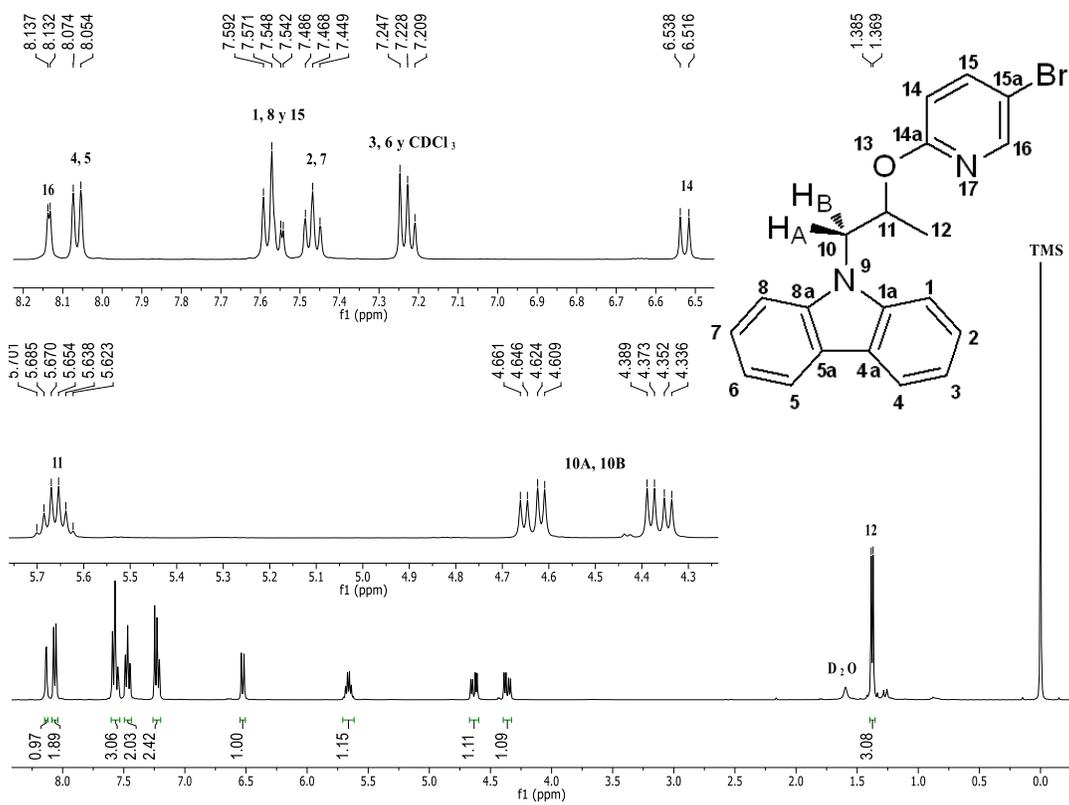
92. Darvesh, S.; McDonald, R.; Darvesh, K.; Mataija, D.; Conrad, S.; Gomez, G.; Walsh, R.; Martin, E. (2007). Selective reversible inhibition of human butyrylcholinesterase by aryl amide derivatives of phenothiazine. *Bioorg. Med. Chem.* 15(19), 6367-6378.
93. Rieveschl, G.; Ray, F. (1938). The chemistry of fluorene and its derivatives. *Chem. Rev.* 23(2), 287-389.
94. Arora, A. (2006). *Organic Chemistry: Aromatic, Alcohols Aldehydes & Acids*. Nueva Dehli: Discovery Publishing House, pp.307-308.
95. Sumpter, W.; Miller, F. (1954). *Heterocyclic compounds with indole and carbazole systems*. New York: Interscience Publishers.
96. SDBSWeb: <http://sdfs.db.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 29/10/2016).

11. ANEXOS

Tabla A1. Datos del análisis de difracción de rayos X del compuesto **3**.

Fórmula condensada:	$C_{21}H_{17}N_3O_5$
Masa molar:	391.38 (g/mol)
Temperatura:	130(2) K
Longitud de onda:	0.71073 Å
Sistema cristalino:	Monoclínico
Grupo espacial:	C 2/c
Dimensiones de la celda unitaria	
a:	10.5037(7) Å
b:	94.348(7) Å
c:	18.2367(14) Å
α :	90°
β :	94.348(7)°
γ :	90°
Volumen:	3672.3(4) Å ³
Z:	8
Densidad (calculada):	1.416 mg/m ³
Coefficiente de absorción:	0.103 mm ⁻¹
F(000):	1632
Dimensiones del cristal:	0.320 x 0.190 x 0.130 mm ³
Rango de θ para la colección de datos:	3.727 a 29.078°
Reflexiones colectadas:	13081





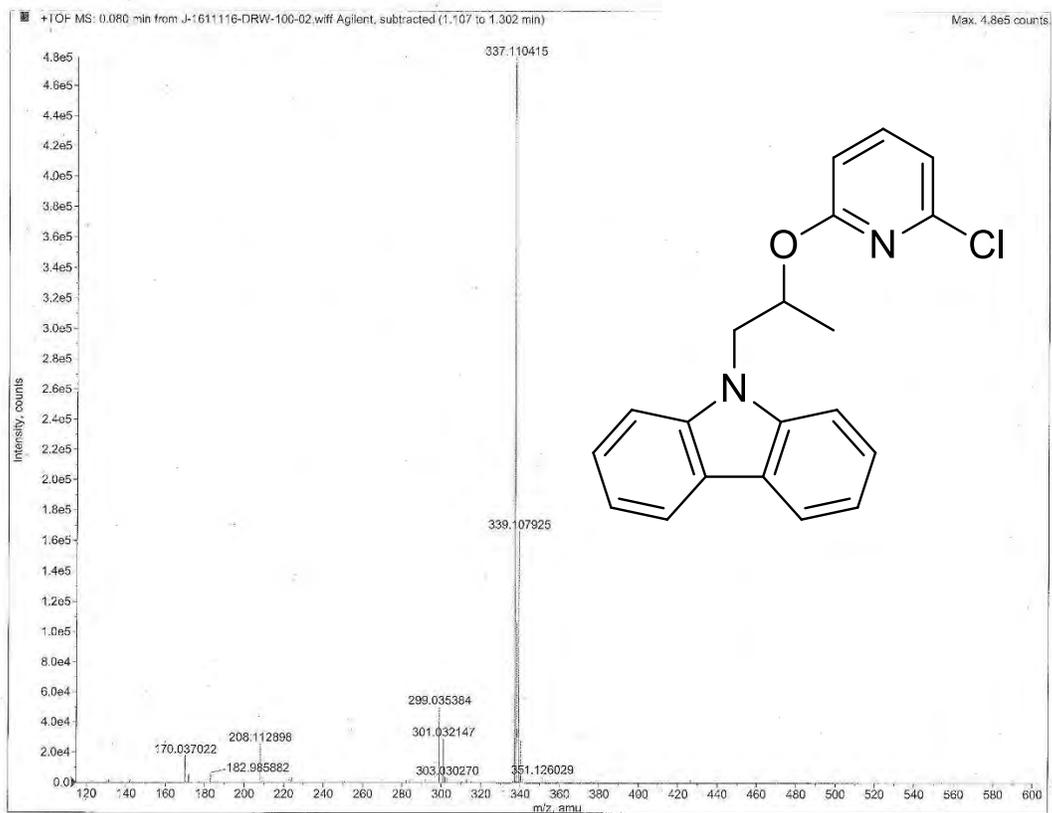


Figura A.5. Espectro de masas del compuesto 4.

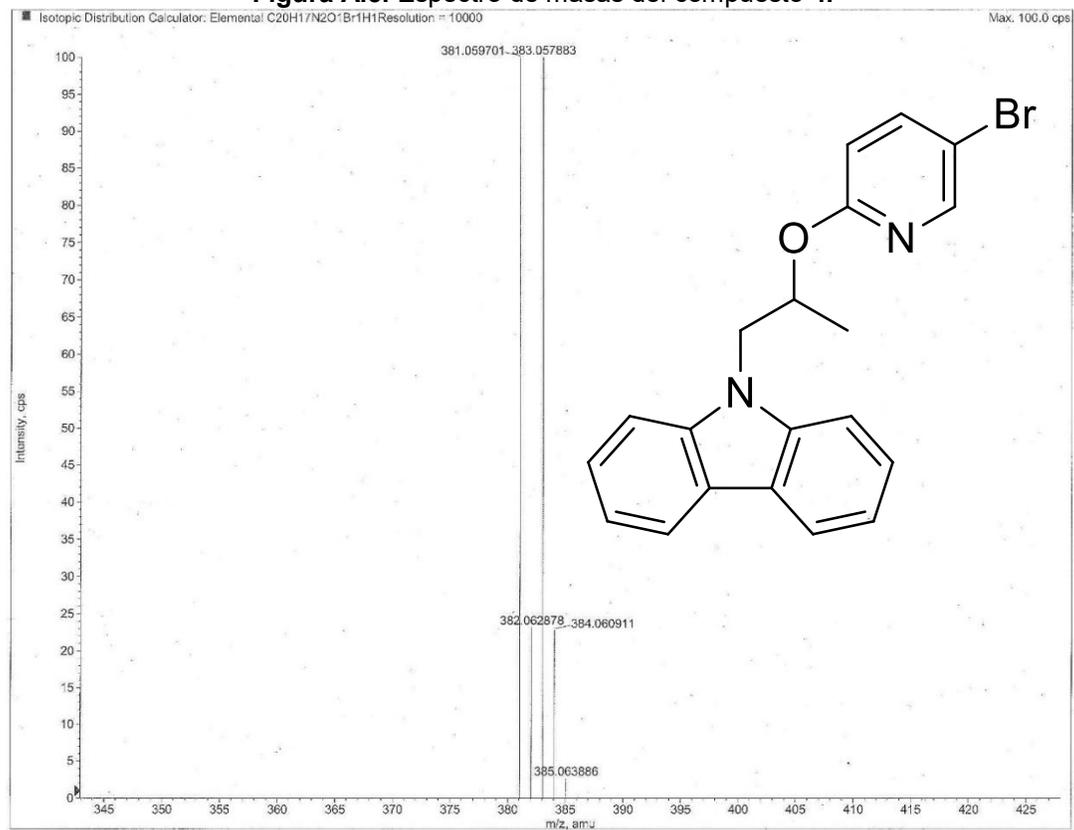


Figura A.6. Espectro de masas del compuesto 5.

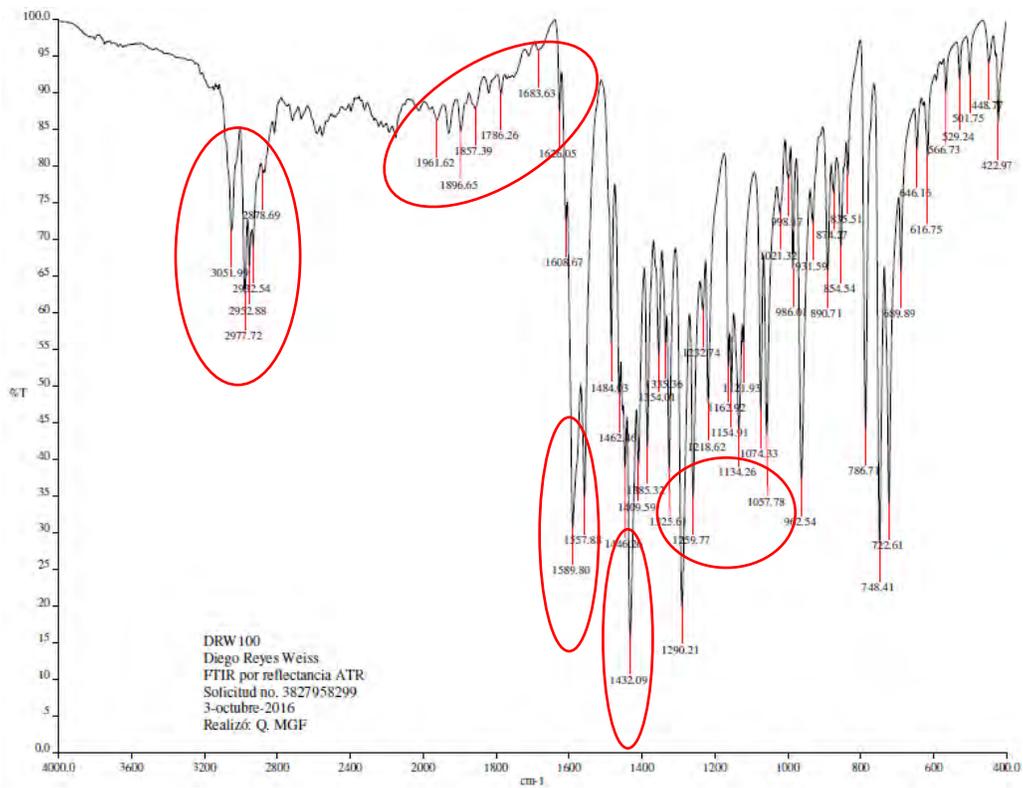


Figura A.7. Espectro de infrarrojo del compuesto 4.

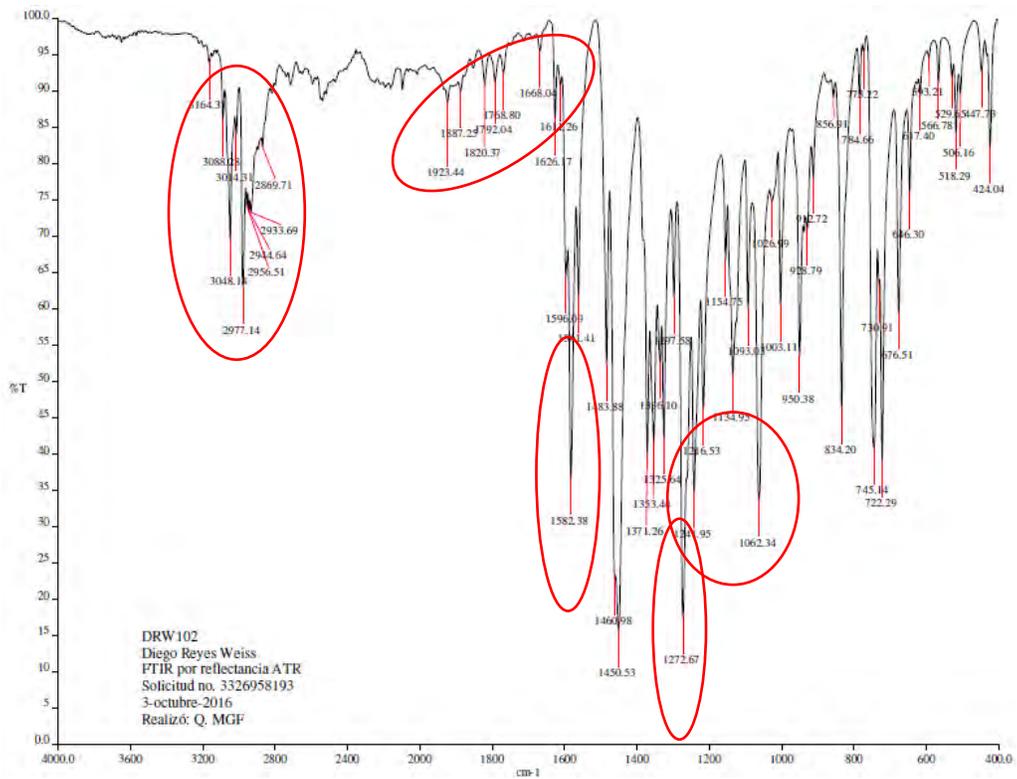


Figura A.8. Espectro de infrarrojo del compuesto 5.

Tabla A.2. Interpretación de las señales más importantes del espectro de infrarrojo de los compuestos **4** y **5**.

ν (cm ⁻¹)		Interpretación
4	5	
3052	3164-3014	Estiramiento C-H (sp ²)
2978-2879	2977-2870	Estiramiento C-H (sp ³)
1962-1684	1923-1668	Sobretonos aromáticos
1590	1582	Estiramiento C-C aromático
1290	1273	Estiramiento C-N aromático
1260	1242	Estiramiento asimétrico C-O-C
1058	1062	Estiramiento simétrico C-O-C