



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Síntesis de nuevas *N*-Bencilnitrosoureas con
posible actividad antineoplásica.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA

PRESENTA:

ELIZABETH RUL RAMÍREZ

**ASESOR: DR. ENRIQUE R. ÁNGELES ANGUIANO
COASESORA: DRA. ANA MARÍA VELÁZQUEZ SÁNCHEZ**

CUAUTITLÁN IZCALLI , ESTADO DE MÉXICO

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

Síntesis de nuevas N-Bencilnitrosoureas con posible actividad antineoplásica

Que presenta la pasante: **Elizabeth Rul Ramírez**
Con número de cuenta: **414046287** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Química**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de Diciembre de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Ramón Angeles Anguiano	
VOCAL	QFB. Martha Patricia Zúñiga Cruz	
SECRETARIO	Q. Aurora Karina Franco Francisco	
1er. SUPLENTE	Dr. Benjamín Velasco Bejarano	
2do. SUPLENTE	Dr. Fernando Ortega Jiménez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/javg/cga*

La parte experimental del presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1 de la Universidad Nacional Autónoma de México gracias a los proyectos **PAPIIT IT200817, PAPIIT No 202015, PAPIIT IN 202020, PIAPI 1843, Cátedra PIAPI 1607: Diseño de moléculas bioactivas.**

Índice

Agradecimientos	I
Glosario de compuestos sintetizados	III
Abreviaturas y acrónimos.....	IV
Introducción.....	1
2. Objetivos.....	3
2.1 Objetivo General	3
2.2 Objetivos Particulares	3
3. Antecedentes.....	4
3.1 Ciclo celular.....	4
3.1.2 Mitosis o Cariocinesis.....	5
3.1.3 Citocinesis.....	6
3.1.4 Replicación del ADN	7
3.2 Agentes alquilantes.....	7
3.2.1 Clasificación de los agentes alquilantes.....	9
3.3 <i>N</i> -bencilureas.....	11
3.3.1 Métodos de síntesis de <i>N</i> -bencilureas.....	11
3.4 <i>N</i> -nitrosoureas.....	13
3.4.1 Mecanismo de acción de las <i>N</i> -nitrosoureas.....	14
3.4.2 Nitrosación.....	16
3.4.3. Ácido nitroso.....	17
4. Justificación	19
5. Metodología Experimental	20
5.1 Reactivos.....	20
5.2 Equipos utilizados.....	21
5.3 Metodología empleada en la síntesis de las materias primas: <i>N</i> -bencilureas.....	21
5.4 Metodología empleada en la síntesis de las <i>N</i> -bencilnitrosoureas a partir de <i>N</i> -bencilureas.....	22
6. Resultados y Discusión.....	23
6.1 Condiciones de reacción para la síntesis de <i>N</i> -bencilureas.....	23
6.1.1 Propiedades físicas de las <i>N</i> -bencilureas sintetizadas.....	25
6.2 Condiciones de reacción para la síntesis de <i>N</i> -bencilnitrosoureas.....	25
6.2.1 Propiedades físicas de las <i>N</i> -bencilnitrosoureas sintetizadas.....	27
6.3 Caracterización espectroscópica.....	28

6.3.1 Espectroscopía de Infrarrojo de la 1-(4-metilbencil)urea.....	31
6.3.2 Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno de la 1-(4-metilbencil)urea.....	32
6.3.3 Resonancia Magnética Nuclear de Carbono de la 1-(4-metilbencil)urea.....	33
6.3.4 Espectrometría de Masas de la 1-(4-metilbencil)urea.....	34
6.3.5 Espectroscopía de Infrarrojo del LQM 804.....	35
6.3.5 Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno del LQM 804.....	36
6.3.6 Resonancia Magnética Nuclear de Carbono del LQM 804.....	37
6.3.7 Espectrometría de Masas LQM 804.....	38
7. Conclusiones.....	44
8. Perspectivas.....	45
9. Referencias.....	46
APÉNDICE ESPECTROSCÓPICO.....	50

Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación de los agentes alquilantes.....	9
Tabla 2. Reactivos utilizados para la síntesis de los compuestos sintetizados.....	20
Tabla 3. Propiedades físicoquímicas de las N-bencilureas sintetizadas.....	25
Tabla 4. Propiedades físicoquímicas de las N-bencilnitrosoureas sintetizadas.....	27
Tabla 5. Resumen espectroscópico de la N-bencilurea.....	28
Tabla 6. Resumen espectroscópico de la 1-(2-clorobencil)urea.....	28
Tabla 7. Resumen espectroscópico de la 1-(4-fluorobencil)urea.....	29
Tabla 8. Resumen espectroscópico de la 1-(4-metilbencil)urea.....	29
Tabla 9. Resumen espectroscópico del LQM 801.....	30
Tabla 10. Resumen espectroscópico del LQM 802.....	30
Tabla 11. Resumen espectroscópico del LQM 803.....	30
Tabla 12. Resumen espectroscópico del LQM 804.....	31
Tabla 13. Asignación de las bandas de los principales grupos funcionales observados en el espectro IR de la 1-(4-metilbencil)urea.....	32
Tabla 14. Asignación de las bandas de los principales grupos funcionales observados en el espectro IR del LQM 804.....	36

Índice de Figuras

Figura 1. Fases del ciclo celular.....	4
Figura 2. Fases de la mitosis.....	6
Figura 3. Mecanismo de acción de los agentes alquilantes.	8
Figura 4. Síntesis de ureas monosustituidas utilizando microondas como fuente de energía. 12	
Figura 5. Síntesis de ureas monosustituidas utilizando nanopartículas superparamagnéticas de magnetita (MNP- Fe ₃ O ₄) empleando disolventes eutécticos profundos (DES).	12
Figura 6. Síntesis de ureas N-monosustituidas a partir de nanopartículas de CuO.	13
Figura 7. Síntesis de ureas N-monosustituidas a partir de la transamidación de amidas primarias con aminas secundarias catalizada por dicloruro de zirconoceno.	13
Figura 8. Productos que surgen de la descomposición térmica de las nitrosoureas.	14
Figura 9. Descomposición de nitrosoureas en solución acuosa.....	15
Figura 10. ADN reticulado por las nitrosoureas.....	15
Figura 11. Mecanismo alternativo de la reticulación del ADN por nitrosoureas.	16
Figura 12. Conformación cis y trans del ácido nitroso.	18
Figura 13. Reacción general para la síntesis de N-Bencilureas.....	23
Figura 14. Propuesta del mecanismo de reacción para la síntesis de N-bencilureas de acuerdo a la metodología empleada.	24
Figura 15. N-bencilurea.	26
Figura 16. Reacción general de la nitrosación de las N-bencilnitrosoureas.....	26
Figura 17. Formación del ion nitrosonio.	26
Figura 18. Formación del nitrosocompuesto correspondiente.....	27
Figura 19. Espectro de infrarrojo de la 1-(4-metilbencil)urea.....	31
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 300 MHz) de la 1-(4-metilbencil)urea.	32
Figura 21. Espectro de RMN de ¹³ C (DMSO-d ₆ , 75 MHz) de la 1-(4-metilbencil)urea.	34
Figura 22. Espectro de masas de la 1-(4-metilbencil)urea.	35
Figura 23. Espectro IR del LQM 804.....	35
Figura 24. Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) del LQM 804.	36
Figura 25. Espectro de RMN de ¹³ C (DMSO-d ₆ , 125 MHz) del LQM 804.....	37
Figura 26. Espectro de masas del LQM 804.	38
Figura 27. Espectro de masas del LQM 801.	41
Figura 28. Espectro de masas del LQM 802.	42
Figura 29. Espectro de masas del LQM 803.	42

Agradecimientos

Me es grato reconocer y agradecer en este apartado la influencia que tuvieron en mí distintas personas en distintos lapsos de tiempo en que se desarrolló este proyecto ya que con su apoyo (incluso con el más mínimo detalle) han contribuido a que hoy en día me encuentre redactando mis más sinceros agradecimientos hacia ustedes:

A mi madre, Irene Ramírez Amaro, por ser una persona admirable y llena de cualidades que siempre se ha preocupado por brindarnos la mejor educación y el ejemplo impecable de lo que representa ser una persona culta, proactiva, independiente, estudiosa, amable y justa. Te agradezco el inmenso apoyo y cariño demostrado a lo largo de todos estos años, sobre todo por la gran confianza que has tenido en mí y nunca detenerme en cada una de las decisiones que he tomado. Sin duda este proyecto ha sido posible gracias a ello, gracias a ti y definitivamente nada hubiese sido igual de no contar contigo.

A mi hermano Felipe de Jesús Rul, gracias por ser un apoyo constante en mi vida, por escucharme, ayudarme a analizar cada una de las situaciones en que he necesitado consejos y proponerme únicamente soluciones y palabras de ánimo.

Al Dr. Enrique Ángeles y a la Dra. Ana María Velázquez, admiro su gran dominio de la química y agradezco todas las enseñanzas, consejos, tiempo, preocupación y dedicación que depositaron en cada una de las etapas de este proyecto hasta su culminación.

A mis compañeros del LQM, quienes hicieron de mi estancia dentro del laboratorio una experiencia gratificante a nivel académico y personal:

A Pablo Martínez, por brindarme tu valiosa amistad y confianza, por tu tiempo al realizar la revisión de este trabajo y además aportar tu más sincera y profesional opinión para su mejora. Así mismo te agradezco todas las sugerencias otorgadas durante mi etapa de experimentación y por siempre estar disponible para compartir tus conocimientos, los cuales sin duda admiro. Finalmente agradezco tu ayuda durante la obtención de mis primeros espectros de Resonancia Magnética Nuclear.

A Juan Hernández y Carolina Loa, por auxiliarme primordialmente durante mis inicios en la etapa de experimentación de este proyecto (tanto en la síntesis como en el uso de los equipos del laboratorio) y por los momentos que hicieron de nuestra convivencia una experiencia amena dentro del mismo.

A Yoshio Alarcón, por tu gran franqueza y sensatez al aconsejarme y al hablar conmigo, así mismo por siempre persuadirme a expandir mis fronteras del conocimiento: ¡A seguir improvisando!

A Pablo Vidal, Víctor Valadez, Maritza Hernández, Antonio Ríos, Eric Pereyra, Araceli Ríos y Tlotzin Martínez, gracias por todas las jornadas y el conocimiento compartido, así mismo por la complicidad mostrada en distintos momentos, en distintos lugares.

A Alejandro Serda, por todo el afecto, respeto y comprensión con que me has acompañado durante esta travesía y fuera de ella; por compartir conmigo la buena música, el ajedrez, los deliciosos postrecillos, ocurrencias y consejos, así como la sinceridad y objetividad en cada una de las palabras y acciones que surgieron de ti respecto a mi trabajo, mismas que finalmente me recordaron que no hay que temer ante los nuevos retos sino más bien ver más allá y así continuar con nuestro constante aprendizaje.

A Diego Cruz y al Instituto de Química de la UNAM por el apoyo en la obtención de espectros de Resonancia Magnética Nuclear y espectros de masas.

A Isaac B. Casique, porque a pesar de los distintos rumbos que hemos tomado has puesto la amistad por delante durante estos años: de alguna manera, de no haber tenido aquellas charlas y convivencia en el bachillerato quizá no hubiera elegido el camino de la Química en el momento adecuado. Te deseo mucho éxito en tus proyectos académicos y de vida.

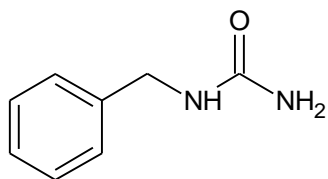
A Sara Aidil De La Lama, Fernando Medina, Esmeralda Gómez y Joseline Yreta, gracias por todas las experiencias compartidas, por los momentos recreativos durante la carrera y el apoyo incondicional que me brindaron en cada curso y fuera de ellos y que hoy en día continúa y es recíproco.

A Eduardo Cuadros, Rodrigo Cruz y Didier Nivón, la convivencia continua con ustedes durante una etapa muy importante de mi vida escolar ha sido una divertida experiencia de la cuál he aprendido de cada uno bastante sobre distintos ámbitos; gracias por todo el apoyo brindado en sus diferentes versiones, las charlas y los buenos momentos en general.

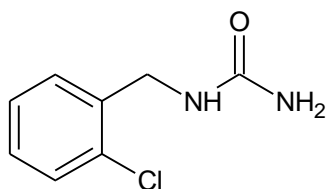
A la Universidad Nacional Autónoma de México, por la excelencia académica que representa y con ello brindarnos todas las herramientas necesarias y oportunidades para crecer no sólo a nivel académico sino personal.

Glosario de compuestos sintetizados

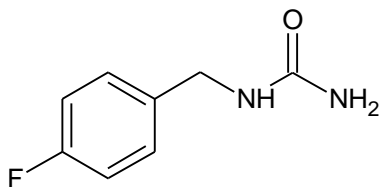
N-bencilureas sintetizadas



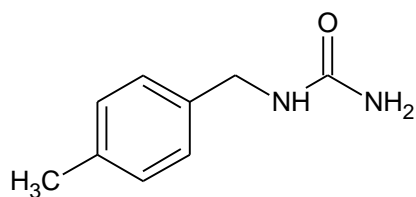
1-bencilurea



1-(2-clorobencil)urea

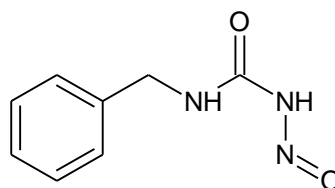


1-(4-fluorobencil)urea



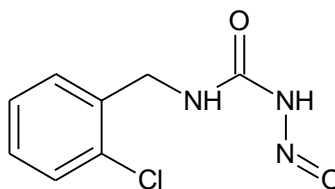
1-(4-metilbencil)urea

N-bencilnitrosoureas sintetizadas



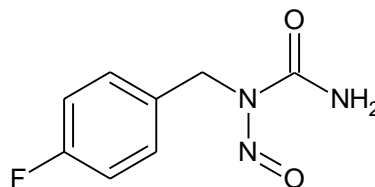
3-bencil-1-nitrosourea

Clave: LQM 801



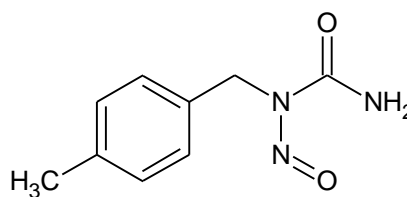
3-(2-clorobencil)-1-nitrosourea

Clave: LQM 802



1-(4-fluorobencil)-1-nitrosourea

Clave: LQM 803



1-(4-metilbencil)-1-nitrosourea

Clave: LQM 804

Abreviaturas y acrónimos

^{13}C RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono.
CV	Cristal violeta.
^1H RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.
A-T	Adenina-Timina.
ADN	Ácido Desoxirribonucleico.
ARN	Ácido Ribonucleico.
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero.
d	Señal doble.
DART	Análisis Directo en Tiempo Real*
DES	Disolventes Eutécticos Profundos*
EM	Espectrometría de Masas.
G-C	Guanina-Citocina.
IR	Espectro de infrarrojo/Irradiación infrarroja.
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada*
J	Constante de acoplamiento.
m	Señal múltiple.
min	Minutos.
mL	Mililitros.
m/z	Relación masa carga.
MHz	Megahertz.
MTT	Ensayo de reducción del bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)- 2,5-difeniltetrazol.
ppm	Partes por millón.
s	Señal simple.
SNC	Sistema Nervioso Central.
t	Señal triple.
T	Temperatura.
TLC	Cromatografía en Capa Fina*
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico.
UV	Luz ultravioleta.
VIH-1	Virus de Inmunodeficiencia Humana-1.
δ	Desplazamiento químico.

*Por sus siglas en inglés.

Introducción

El cáncer es una colección de enfermedades en las que las células anormales se dividen sin control y pueden invadir los tejidos cercanos, las células cancerosas también pueden propagarse a otras partes del cuerpo a través de los sistemas sanguíneo y linfático. Hay registro de más de cien formas de cáncer y cada una debe estudiarse por separado para encontrar el tratamiento terapéutico óptimo.^{1,2} El cáncer se considera también como una enfermedad genética, es decir, causada por cambios en los genes que controlan la forma en cómo funcionan nuestras células, especialmente la forma en cómo estas crecen y se dividen. Los cambios genéticos que causan cáncer pueden heredarse de los padres si dichos cambios están presentes en las células germinativas o pueden suceder también en la vida de una persona como resultado de errores en el ADN que ocurren al dividirse las células, a la acción de efectos ambientales (rayos gamma, rayos X, radiación solar ultravioleta, sustancias químicas, virus, etc) que posteriormente conducen a la apoptosis, que es la muerte celular programada genéticamente.³ A nivel mundial, el cáncer es una afección que va en aumento y es considerada como una de las principales causas de muerte, en 2012, hubieron 14.1 millones de casos nuevos y 8.2 muertes relacionadas con este padecimiento; 57 % de los nuevos casos de cáncer en 2012 ocurrieron en regiones menos desarrolladas del mundo que incluyen Centroamérica y partes de África y Asia; 65 % de las muertes por cáncer en el mundo también ocurrieron en estas regiones, el número de casos nuevos de cáncer se prevé que aumente a cerca de 23,6 millones para 2030.⁴ Se prevé que los cánceres más comunes (enumerados en orden descendente según los nuevos casos estimados en 2018) son el cáncer de seno, el cáncer de pulmón y bronquios, el cáncer de próstata, el cáncer de colon y recto, el melanoma de piel, el cáncer de vejiga, el linfoma no Hodgkin, el cáncer de riñón y pelvis renal, el cáncer de endometrio, la leucemia, el cáncer de páncreas, el cáncer de tiroides y el cáncer de hígado.

En México, la magnitud de los efectos del cáncer en la salud del país no es muy diferente al panorama mundial, pues es la tercera causa de muerte, después de las enfermedades cardiovasculares y la diabetes. Además, de acuerdo con cálculos de organismos internacionales, los cánceres de mama, de próstata, cervicouterino, colorrectal y de pulmón son los más recurrentes en la población en general en ambos sexos.⁵ Hay cuatro principales modalidades utilizadas en el tratamiento del cáncer: (1) cirugía, que no se puede aplicar cuando la enfermedad se propaga por todo el cuerpo; (2) radioterapia, que daña el tejido normal y el tejido canceroso; (3) quimioterapia, que a menudo produce efectos secundarios muy desagradables y, a veces, peligrosos e (4) inmunoterapia: la manipulación de la respuesta

inmune.² De estos últimos, la quimioterapia es el tratamiento de primera opción para muchos tipos de cáncer y casi siempre se usa como tratamiento sistémico, esto significa que los medicamentos viajan a través de todo el cuerpo por la sangre para llegar hasta las células neoplásicas en cualquier sitio donde éstas hayan crecido o propagado. Actualmente se usan más de cien medicamentos de quimioterapia en el tratamiento contra el cáncer, ya sea por sí solos o en combinación con otros medicamentos o tratamientos.⁶

Las nitrosoureas se encuentran entre los medicamentos clasificados como agentes alquilantes más potentes conocidos y utilizados en el tratamiento contra el cáncer, entre los ejemplos más comunes se encuentran la BCNU (carmustina), CCNU (lomustina) y metil-CCNU (semustina)^{7,8}, fármacos liposolubles que pueden penetrar el sistema nervioso central y son útiles para el tratamiento de tumores cerebrales.⁹

En este contexto, los tumores cerebrales son un grupo heterogéneo de procesos neoplásicos, dada las diferentes líneas celulares que los originan, pueden ser divididos en dos grandes grupos: lesiones primarias, que son las que se originan en células que pertenecen al sistema nervioso central y lesiones secundarias, las cuales se originan en otros sitios del cuerpo y se implantan a través de la metástasis en el cerebro.¹⁰ El esfuerzo para combatir el cáncer ha conducido a descubrimientos fundamentales no sólo en el ámbito de la química sino también de la biología celular. Se han descubierto muchas proteínas debido a que su funcionamiento anormal puede provocar crecimiento incontrolado, tasas de división más grandes, muerte disminuida y otras características aberrantes de las células cancerosas.¹¹

Durante las últimas décadas las nitrosoureas han sido ampliamente utilizadas para el tratamiento de tumores sólidos. Sus efectos citostáticos se explican porque interfieren en la biosíntesis de proteínas y ácidos nucleicos modificando la estructura química de los nucleótidos. El grupo nitroso es de gran importancia en una amplia gama de sistemas bioquímicos, que van desde las vías de señalización hasta la carcinogénesis.¹² Dada la importancia de esta clase de antineoplásicos, en este trabajo se propone la síntesis orgánica de nuevos derivados bencílicos de *N*-nitrosoureas como posibles agentes antineoplásicos a partir de *N*-bencilureas como material de partida, éstas últimas también sintetizadas bajo una nueva y eficiente metodología en el Laboratorio de Química Medicinal y Teórica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Sintetizar *N*-bencilureas utilizando como fuente de energía radiación infrarroja y en ausencia de disolvente para llevar a cabo la obtención de nuevos derivados bencílicos de *N*-nitrosoureas, moléculas con posible actividad antineoplásica.

2.2 Objetivos Particulares

- Sintetizar *N*-bencilureas usando radiación infrarroja, en ausencia de disolvente y utilizando ácido *p*-toluensulfónico como catalizador.
- Caracterizar los compuestos químicos obtenidos mediante técnicas espectroscópicas tales como Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , espectrofotometría de infrarrojo (IR) y espectrometría de masas (EM).

3. Antecedentes

3.1 Ciclo celular.

A lo largo de su vida, una célula alterna entre un periodo de crecimiento y otro en el que ocurre la división¹³ mediante un conjunto secuencial y organizado de fenómenos que transcurren en una célula cada vez que se reproduce o prolifera¹⁴, dicho mecanismo se conoce como ciclo celular, cuyas fases principales son: la interfase, la mitosis o cariocinesis y la citocinesis (Figura 1). El ciclo celular puede inhibirse por factores como la densidad celular, la falta de nutrientes, la presencia de células contiguas y la pérdida de contacto con el sustrato sobre el que crecen, cambios de temperatura o pH.¹¹

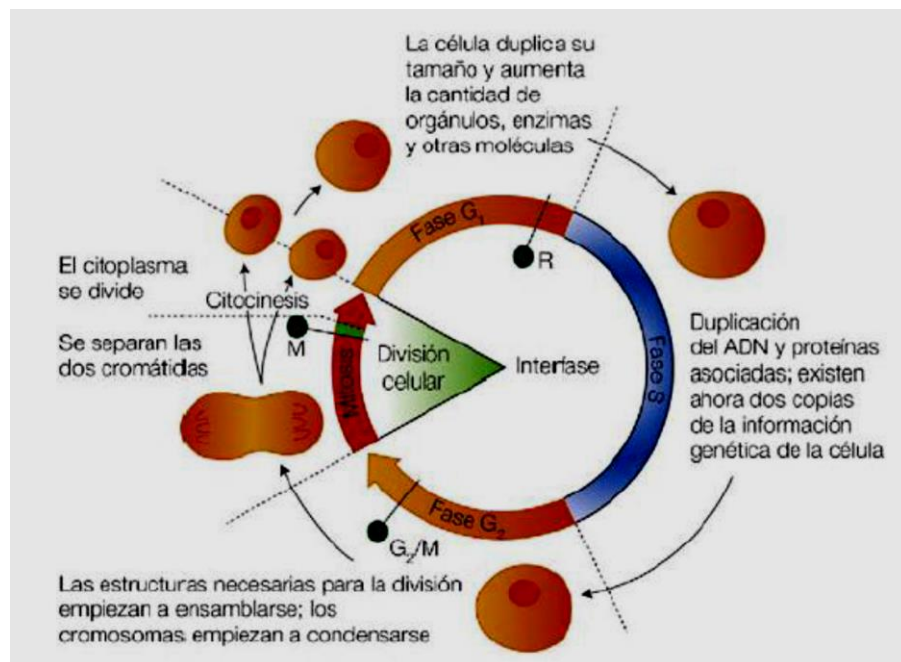


Figura 1. Fases del ciclo celular.

Una célula se reproduce llevando a cabo una secuencia ordenada de acontecimientos en los cuales duplica su contenido y luego se divide en dos; este es el mecanismo esencial mediante el cual todos los seres vivos se reproducen. El conjunto mínimo de procesos que una célula tiene que realizar son aquellos que le permiten llevar a cabo su tarea más importante: la transmisión de su información genética a la siguiente generación de células.¹¹

3.1.1 Interfase

La interfase se puede dividir en tres subfases: G₁, S y G₂. La fase G₁ o primer intervalo es un periodo de crecimiento general de la célula y de duplicación de los organelos citoplasmáticos.¹³

- La fase G₁, es la primera de las cuatro fases del ciclo celular que tiene lugar en la división celular eucariota. En esta parte de la interfase, la célula sintetiza ARNm y

proteínas en preparación para los pasos posteriores que conducen a la mitosis. La fase G₁ termina cuando la célula se mueve hacia la fase S de la interfase.

- La fase S corresponde a la fase de síntesis, ya que en ella ocurre el proceso clave de replicación del ADN. En este periodo también son sintetizadas muchas histonas (encargadas del empaquetamiento del ADN) y otras proteínas asociadas con el mismo¹³. Además, los centríolos del centrosoma se separan entre sí y se dividen, generando por lo tanto cuatro centríolos (dos por centrosoma). Las parejas de centrosomas se encargarán de organizar el huso mitótico en la profase de la mitosis. En una célula humana en cultivo, su duración ronda las 8 h, cerca de un tercio de la interfase.¹⁴
- Durante la fase G₂ comienzan a ensamblarse las estructuras directamente asociadas con la mitosis y la citocinesis: los cromosomas recién duplicados, dispersos en el núcleo en forma de filamentos de cromatina relajada comienzan a enrollarse lentamente y a condensarse en forma compacta.¹³

3.1.2 Mitosis o Cariocinesis.

La mitosis (que da nombre a la fase M del ciclo celular). Se caracteriza por la generación de dos núcleos hijos dotados de un paquete de cromosomas idéntico al del núcleo progenitor (previa replicación de su ADN). Es posible distinguir las siguientes cuatro etapas: profase, metafase, anafase y telofase (Figura 2).

- La *profase* es la etapa inicial de la mitosis y se caracteriza por la aparición de los cromosomas (constituidos por dos cromátidas hermanas) y la desorganización de la envoltura nuclear. Paralelamente, los centrosomas (que se duplicaron en la fase S del ciclo celular) se separan y emigran a polos celulares opuestos, y comienza el ensamblaje del huso mitótico. La prometáfase es la segunda etapa de la mitosis y viene marcada por el desmembramiento completo de la envoltura del núcleo y la entrada de las fibras del huso mitótico en el territorio nuclear, donde interaccionan con los cromosomas.
- La *metafase* es la etapa media de la mitosis durante la cual los cromosomas se disponen en el plano ecuatorial o central de la célula. El grado de empaquetamiento de la cromatina es máximo y las cromátidas hermanas se encuentran muy definidas.
- La *anafase* es una etapa decisiva de la mitosis, dado que es entonces cuando se pone en marcha la separación de las cromátidas hermanas (que pasan a ser consideradas cromosomas hijos) y su distribución equitativa entre los dos polos del huso mitótico.
- La *telofase* es el estadio final de la mitosis y transcurre como una profase invertida, esto es: los paquetes de cromosomas hijos son recubiertos por una nueva envoltura nuclear y se desespiralizan para retornar a su estado interfásico.

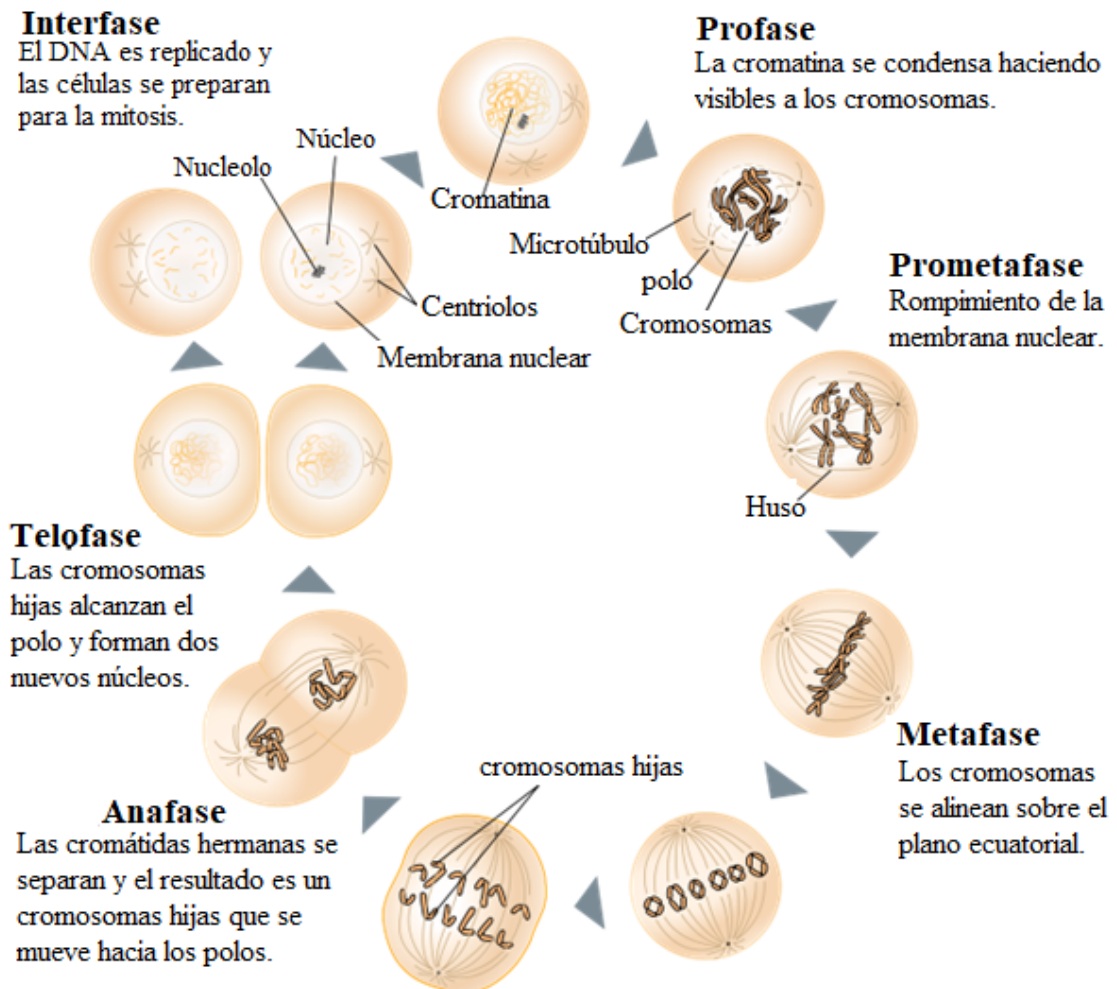


Figura 2. Fases de la mitosis.

3.1.3 Citocinesis

En la mayoría de las células animales, la citocinesis¹¹ empieza en la anafase y acaba poco después de que termine la mitosis, en la telofase. El primer cambio visible de la citocinesis en una célula animal es la aparición repentina de un fruncido o surco de segmentación, en la superficie celular. El surco rápidamente se hace profundo y se extiende alrededor de la célula hasta que la divide por completo en dos. En los animales y en muchos eucariotas unicelulares, la estructura esencial de este proceso es el anillo contráctil: un ensamblaje dinámico formado por filamentos de actina, filamentos de miosina II, y muchas proteínas estructurales y reguladoras. Durante la anafase, el anillo se ensambla justo por debajo de la membrana plasmática. El anillo se contrae poco a poco y, a la vez, se fusionan vesículas intracelulares con la membrana plasmática que insertan nueva membrana adyacente al anillo. Esta adición de membrana compensa el aumento de la superficie celular que acompaña a la división plasmática. Cuando la contracción del anillo se ha completado, la inserción y la fusión de membrana sella el hueco entre las células hijas. Así pues, la citocinesis comprende cuatro etapas: iniciación, contracción, inserción de membrana y finalización.

3.1.4 Replicación del ADN

Durante la interfase se produce la replicación del ADN. La información genética está alojada en la secuencia lineal de los nucleótidos que constituyen el ADN.¹¹ Al cabo de la división celular las células hijas heredan la misma información genética contenida en la célula progenitora. Como esa información se halla en el ADN, cada una de las moléculas de ADN debe generar otra molécula de ADN idéntica a la originarias para que ambas sean repartidas en las dos células hijas. Esta duplicación, merced a la cual el ADN se propaga en las células de generación en generación, se denomina replicación.³ Cada molécula del ADN es una doble hélice, constituida por dos hebras complementarias de nucleótidos unidas entre sí mediante los enlaces de hidrógeno que se forman entre los pares de bases G-C y A-T. La duplicación de la información genética se realiza a partir de una de las hebras del ADN que actúa como molde para la fabricación de su hebra complementaria. La información genética contenida en el ADN de los organismos contiene las instrucciones necesarias para sintetizar todas las proteínas del organismo. En los organismos eucariotas, el ADN está en el núcleo de la célula.¹¹

La capacidad de las células para mantener un alto grado de orden en un universo caótico depende de la duplicación fiel de grandes cantidades de información genética almacenada como ADN. Este proceso, que se denomina replicación del ADN, debe tener lugar antes de que la célula produzca dos células hijas genéticamente idénticas. El ADN de las células es constantemente alterado por productos químicos y radiaciones del entorno, así como por accidentes térmicos y moléculas reactivas, es por ello que mantener el orden también requiere la constante supervisión y reparación de esta información.^{11,14}

3.2 Agentes alquilantes

En el ámbito de la medicina, la alquilación del ADN se utiliza en quimioterapia para afectar el ADN de las células cancerígenas. Estos medicamentos ejercen su acción en todas las fases del ciclo celular y se usan para tratar muchas clases diferentes de cánceres, incluyendo el cáncer pulmonar, el cáncer de seno y el cáncer ovárico, así como la leucemia, el linfoma, la enfermedad de Hodgkin, el mieloma múltiple y el sarcoma.¹⁰ Los agentes alquilantes sustituyen a los grupos alquilo por átomos de hidrógeno en el ADN, lo que resulta en la formación de enlaces cruzados dentro de la cadena de ADN y, por lo tanto, produce efectos citotóxicos, mutagénicos y/o carcinogénicos. Esta acción ocurre en todas las células, pero los agentes alquilantes tienen su efecto principal en las células que se dividen rápidamente y que no tienen tiempo para la reparación del ADN. Las células cancerosas están entre las más afectadas porque están entre las células que se dividen más rápidamente. Sin embargo, las células hematopoyéticas, reproductivas y endoteliales también se dividen rápidamente, lo que explica los efectos secundarios comunes de los agentes alquilantes: anemia, pancitopenia, amenorrea,

espermatogénesis alterada, daño en la mucosa intestinal, alopecia y mayor riesgo de malignidad.¹⁵ Los agentes alquilantes son monofuncionales (pueden reaccionar con solo una cadena de ADN) o bifuncionales (reaccionan con un átomo en cada una de las dos cadenas de ADN para formar enlaces covalentes cruzados en la cadena).¹⁶

De acuerdo a lo anterior, tres distintos mecanismos de acción de los agentes alquilantes son resumidos¹⁶ y ejemplificados en la Figura 3:

- A. En el primer mecanismo, el daño del ADN por agentes alquilantes implica la formación de puentes cruzados, es decir, enlaces entre átomos en el ADN.
- B. En el segundo mecanismo, la alquilación también puede causar mutaciones debido al emparejamiento incorrecto de los nucleótidos.
- C. En el tercer mecanismo, un agente alquilante une grupos alquilo a bases de ADN, mientras que las enzimas reparadoras de la cadena intentan reemplazar las bases alquiladas, lo que da como resultado la fragmentación del ADN.

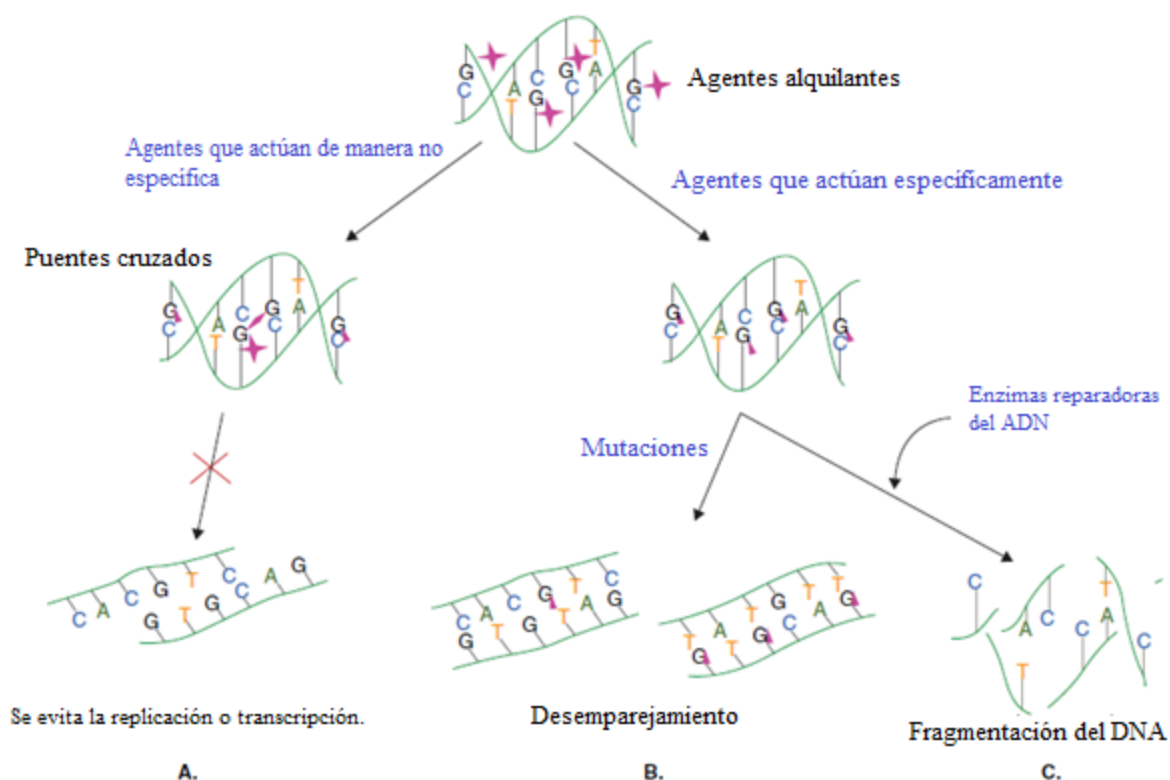


Figura 3. Mecanismo de acción de los agentes alquilantes.

El resultado final del proceso de alquilación da como resultado la mala lectura del código de ADN y la inhibición de la síntesis de ADN, ARN y proteínas y el desencadenamiento de la muerte celular programada (apoptosis) en células tumorales de rápida proliferación.¹⁵

Químicamente, los agentes alquilantes deterioran la función celular formando enlaces covalentes con los grupos amino, carboxilo, sulfhidrilo y fosfato en moléculas biológicamente importantes, de esta manera, los sitios más importantes de la alquilación son el ADN, el ARN

y las proteínas. El nitrógeno rico en electrones en la posición 7 de guanina en el ADN es particularmente susceptible a la alquilación.¹⁷

Los agentes alquilantes son una clase de fármacos antineoplásicos o anticancerosos que actúan inhibiendo la transcripción del ADN en ARN y, por lo tanto, deteniendo la síntesis de proteínas.¹⁶ Son capaces de reaccionar en muchos sitios en el ADN, en particular en los átomos de nitrógeno del anillo y oxígeno exocíclicos de las bases del ADN y en los átomos de oxígeno de los enlaces internucleótidos fosfato.¹⁸ Los agentes alquilantes impiden la reproducción de las células al dañar su ADN.¹⁹ Debido a que estos medicamentos dañan el ADN, pueden afectar a las células de la médula ósea, las cuales son formadoras de nuevos glóbulos (células sanguíneas). En casos poco comunes, esto podría ocasionar leucemia. El riesgo de leucemia debido a los agentes alquilantes depende de la dosis, lo que significa que el riesgo es menor con dosis más bajas, pero que aumenta conforme se incrementa la cantidad total del medicamento usado.²⁰

3.2.1 Clasificación de los agentes alquilantes.

Todos los agentes alquilantes tienen toxicidades importantes, pero las toxicidades predominantes son para la médula ósea y el tracto gastrointestinal. Varios agentes alquilantes también se han implicado en causar casos raros de daño hepático agudo idiosincrásico, clínicamente aparente que es típicamente colestático y se describe mejor para temozolomida, ciclofosfamida y clorambucilo, tal vez porque estos agentes se usan con mayor frecuencia y se pueden administrar por vía oral durante un período prolongado. Es importante destacar que los agentes alquilantes también pueden causar el síndrome de obstrucción sinusoidal (enfermedad venooclusiva) cuando se administran en dosis altas, y la hiperplasia nodular regenerativa cuando se administran por períodos prolongados. Estos dos últimos efectos hepáticos suelen estar relacionados con la dosis y pueden deberse a toxicidad directa.¹⁵ Los agentes alquilantes se separan generalmente en seis clases, como se indica en la Tabla 1.

A continuación se describen los tipos de agentes alquilantes²¹ más comunes así como su clasificación de acuerdo a su mecanismo de acción.^{22,17}

Tabla 1. Clasificación de los agentes alquilantes.

Clasificación	Fármaco	Aplicación médica
Mostazas nitrogenadas	Ciclofosfamida	Linfomas, leucemias, mieloma, cáncer de pulmón y cáncer de mama. ²³
	Mecloretamina	Tratamiento de la enfermedad de Hodgkin y del linfoma no Hodgkin; quimioterapia paliativa para cánceres de mama y de pulmones. ²⁴

	Ifosfamida	Cáncer testicular, el sarcoma y algunos tipos de linfoma. ²⁵
	Clorambucilo	Leucemia linfática crónica. ²⁶
Etileniminas y metilmelaminas	Altretamina	Cáncer ovárico. ²⁷
	Tiotepa	Cáncer de mama y de ovarios y linfomas de Hodgkin y no Hodgkin. Tumores superficiales de la vejiga. ²⁸
Nitrosoureas	Lomustina	Tumores cerebrales, linfoma de Hodgkin. ²⁹
	Carmustina	Tumores cerebrales, linfoma de Hodgkin y linfoma de no Hodgkin. ³⁰
	Estreptozocina	Tratamiento del cáncer de células islote del páncreas; tumor y síndrome carcinoide. ³¹
Triazenos	Dacarbacina	Linfoma de Hodgkin, melanoma y el sarcoma de tejidos blando. ³²
	Temozolomida	Tratamiento de los tumores cerebrales de astrocitoma anaplásico y glioblastoma multiforme (GBM). ³³
Ésteres sulfónicos	Busulfán	Leucemia mieloide crónica (LMC). ³⁴
Complejos de coordinación de platino.	Cisplatino	Cáncer testicular, ovárico, vesical, de cabeza y cuello, esofágico, pulmonar de células pequeñas y células no pequeñas, de mama, cervical, de estómago y próstata. También se la usa para el tratamiento del linfoma de Hodgkin y no Hodgkin, neuroblastomas, sarcomas, mieloma múltiple, melanoma y mesotelioma. ³⁵
	Carboplatino	Cáncer de pulmón de células pequeñas y de ovario. ³⁶
	Oxaliplatino	Cáncer de colon o rectal diseminado (metastásico) y con frecuencia se administra en combinación con otros fármacos anticancerígenos (fluorouracil y leucovorina). ³⁷

Aunque el cisplatino y demás complejos de coordinación del platino no tienen un grupo alquilo, de igual manera dañan el ADN³⁸ al unirse de manera covalente a sitios nucleofílicos en el ADN para interferir con la reparación del mismo, por lo que se les describe como "similares a alquilantes".

3.3 *N*-bencilureas.

La urea se encuentra entre las moléculas más estables que contienen nitrógenos, muchos de sus derivados existen ampliamente en sustancias naturales, metabolitos biológicos, reactivos o catalizadores sintéticos, ingredientes farmacéuticos o agrícolas y macromoléculas funcionales.³⁹

Las *N*-bencilureas son compuestos extensamente utilizados en la agricultura como reguladores del crecimiento en plantas, pesticidas (particularmente herbicidas); en el campo de la medicina como tranquilizantes, anticonvulsivos, agentes antidiabéticos y como inhibidores de la proteasa del VIH-1, etc. En síntesis orgánica, las *N*-bencilureas son utilizadas como materiales de partida (especialmente para la producción de carbamatos, isocianatos, polímeros y tensoactivos) y productos intermedios (especialmente para la producción de productos farmacéuticos, cosméticos y agroquímicos).⁴⁰ En este trabajo, las *N*-bencilureas que se sintetizan fungen como la materia prima de partida para la posterior formación de las *N*-bencilnitrosoureas.

3.3.1 Métodos de síntesis de *N*-bencilureas.

Existen varios métodos convencionales de síntesis de ureas *N*-monosustituidas mediante la reacción de una amina primaria o secundaria con isocianato, fosfógeno, entre otros derivados; inserción de monóxido de carbono, CO o dióxido de carbono, CO₂ de compuestos aminados en presencia de diferentes catalizadores en solventes orgánicos a condiciones de altas temperaturas y presión; reacción de aminas con sodio o cianato de potasio en solución acuosa en presencia de un equivalente de ácido clorhídrico, ácido o bases catalizados por hidratación de cianamidas, o bien la reacción de *S,S*-dimetilditiocarbonato con amonio en una mezcla de agua-dioxano.⁴¹

Aunque la síntesis de ureas mono y disustituidas ha sido documentada por una variedad de métodos tales como la reacción de ureas no sustituidas con aminas en presencia de un catalizador adecuado o con clorhidrato de alquilamina o por la amoniólisis de isonitrilos en presencia de sales mercuríicas o amoniólisis de cianamidas por la reacción de benzotriazol-1-carboxamida con una amina en THF; por fosgeno y una amina a través de isocianatos a partir de sustitutos de fosgeno menos tóxicos, como bis(4-nitrofenil) carbonato, di-*tert*-butil dicarbonato, *S,S*-dimetilditiocarbonato, trihaloacetilcloruros, trifosgeno y una amina y finalmente por la reacción de una amina con carbamatos en un solvente adecuado.⁴²

Los métodos anteriores tienen como desventaja que, usualmente son tóxicos, utilizan reactivos caros y relativamente demandantes (en cuanto a que requieren condiciones de trabajo difíciles de controlar) y tiempos largos de reacción.

Algunos métodos actuales de síntesis de ureas monosustituidas se compilan en las siguientes líneas, esto debido a que, en el presente trabajo se realiza un nuevo método de síntesis de *N*-bencilureas con rendimientos altos en condiciones como: ausencia de disolvente y utilizando TsOH como catalizador, temperaturas de 90°C así como tiempos de reacción cortos (30 min).

3.3.1.1 Síntesis de ureas monosustituidas utilizando microondas como fuente de energía.

La síntesis⁴³ es llevada a cabo mediante la reacción de un equivalente de bencilamina, cinco equivalentes de KOCN y un equivalente de ácido clorhídrico en agua como solvente (Figura 4). Después de enfriar, el precipitado formado es filtrado y lavado con hexano y Et₂O. Condiciones: 70°C, durante 4 horas de reacción. La urea cruda es disuelta en MeOH y el residuo es filtrado. La *N*-bencilurea obtenida es aislada en forma pura y con altos rendimientos (90%) evaporando el disolvente bajo condiciones de presión reducida.

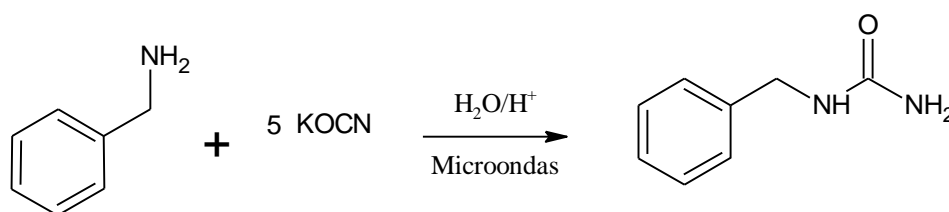


Figura 4. Síntesis de ureas monosustituidas utilizando microondas como fuente de energía.

3.3.1.2 Síntesis de ureas monosustituidas utilizando nanopartículas superparamagnéticas de Fe₃O₄ empleando disolventes eutécticos profundos (DES).

Los disolventes eutécticos poseen particular importancia en la síntesis orgánica debido a su capacidad de disolver reactivos polares y no polares así como por su fácil recuperación. Un eficiente DES que puede ser utilizado como un ácido de Lewis estable ha sido recientemente formado mediante la reacción de cloruro de colina (ChCl) y cloruro de zinc (ZnCl₂).

Así pues, la reacción entre alquilaminas primarias (1mmol), urea (2 mmol) [ChCl][ZnCl₂] (3mL), MNP-Fe₃O₄ (10 mol-%), 130 °C, 6h da como resultado la síntesis de ureas monosustituidas⁴⁴ (Figura 5). Los rendimientos obtenidos son variables (en un intervalo del 11 – 86%).

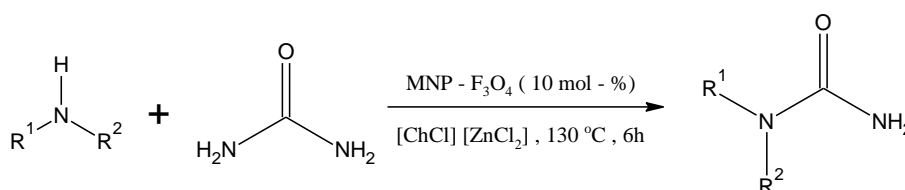


Figura 5. Síntesis de ureas monosustituidas utilizando nanopartículas superparamagnéticas de magnetita (MNP- Fe₃O₄) empleando disolventes eutécticos profundos (DES).

3.3.1.3 Síntesis de ureas *N*-monosustituidas a partir de nanopartículas de óxido de cobre (II), CuO.

Entre los catalizadores heterogéneos, nanopartículas de óxido de cobre (II), CuO han sido extensivamente usadas como catalizadores eficientes en reacciones orgánicas debido a su pequeño tamaño y grandes áreas de superficie, alta actividad catalítica, fáciles de manejar, reusables, etc. Un método nuevo, simple y eficaz para la síntesis de ureas *N*-monosustituidas (Figura 6) es reportado utilizando nanopartículas de óxido de cobre (II), (CuO NPs) que actúan como agentes reductores y estabilizantes además de su actividad catalizadora en la reducción de 4-nitrofenol e hidratación de una cianamidas para la formación de dichos derivados *N*-monosustituidos en presencia de acetal-doxima como un sustituto de agua en etanol como un disolvente verde.⁴¹

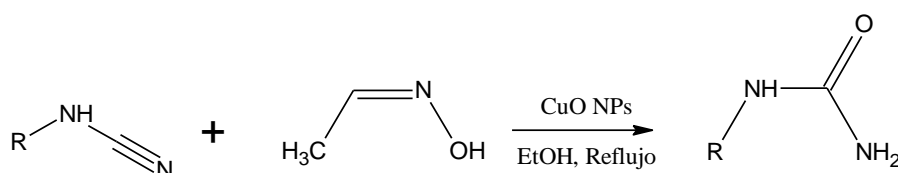


Figura 6. Síntesis de ureas *N*-monosustituidas a partir de nanopartículas de CuO.

De acuerdo al método utilizado y abarcado anteriormente, los rendimientos reportados son bueno (mayores al 80%).

3.3.1.4 Síntesis de ureas *N*-monosustituidas a partir de la transamidación de amidas primarias con aminas secundarias catalizada por dicloruro de zirconoceno.

El dicloruro de zirconoceno ha demostrado ser un catalizador efectivo en la transamidación de amidas primarias con aminas en ciclohexano a 80°C en 5-24 horas. Para el caso específico (síntesis de ureas *N*-monosustituidas), se encontró que los carbamatos son buenos sustratos para la conversión a la correspondiente urea *N*-monosustituidas (Figura 7).⁴⁵ Los rendimientos reportados son buenos (mayores al 80%).

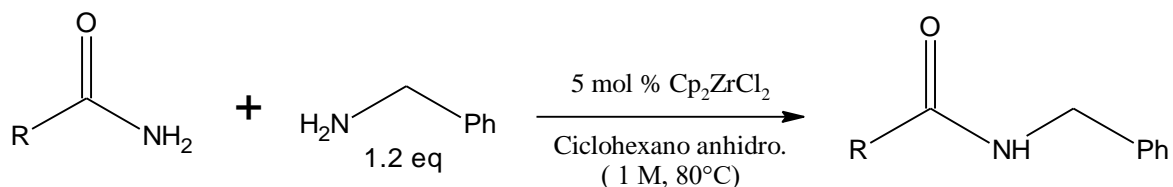


Figura 7. Síntesis de ureas *N*-monosustituidas a partir de la transamidación de amidas primarias con aminas secundarias catalizada por dicloruro de zirconoceno.

3.4 *N*-nitrosoureas.

Las nitrosoureas se distinguen por su alta solubilidad en lípidos y su inestabilidad química. La naturaleza lipofílica de las nitrosoureas permite el paso libre a través de las membranas; por lo tanto, penetran rápidamente en la barrera hematoencefálica, logrando concentraciones efectivas

en el SNC. En consecuencia, estos agentes se utilizan para una variedad de tumores cerebrales.¹⁷

3.4.1 Mecanismo de acción de las *N*-nitrosoureas.

Como agentes alquilantes, las nitrosoureas⁴⁶, tienen la capacidad de agregar grupos alquilo a muchos grupos electronegativos bajo ciertas condiciones presentes en las células. Así mismo, detienen el crecimiento tumoral al introducir rupturas monocatenarias y al entrecruzar nucleótidos en hebras de doble hélice de ADN, atacando directamente al ADN. Esto hace que los filamentos no puedan desenrollarse y separarse. Dado que esto es necesario en la replicación del ADN, las células ya no pueden dividirse. Las nitrosoureas afectan predominantemente la síntesis de ADN (replicación) en lugar de la síntesis del ARN mensajero, ARN ribosómico y de transporte (transcripción).⁴⁷ La presencia del grupo nitroso labiliza el enlace nitrógeno-carbono, lo que lleva a la descomposición espontánea en dos electrófilos: un isocianato (**1**) y un hidróxido de diazeno (**2**) que se han detectado en algunos casos mediante espectrometría de masas de ionización por electrospray. Este intermedio genera una sal de diazonio (**3**) (Figura 8). La alquilación parece ser la principal reacción responsable de la actividad antitumoral, mientras que la carbamoilación tiene lugar principalmente en los grupos amino de las proteínas, lo que lleva a la inhibición de varios mecanismos de reparación del ADN. Las *N*-nitrosoamidas y los *N*-nitrosocarbamatos, que pueden actuar como agentes alquilantes (pero no de carbamoilación), también tienen actividad antitumoral⁴⁸, lo que apoya la suposición de que la alquilación es el mecanismo clave.

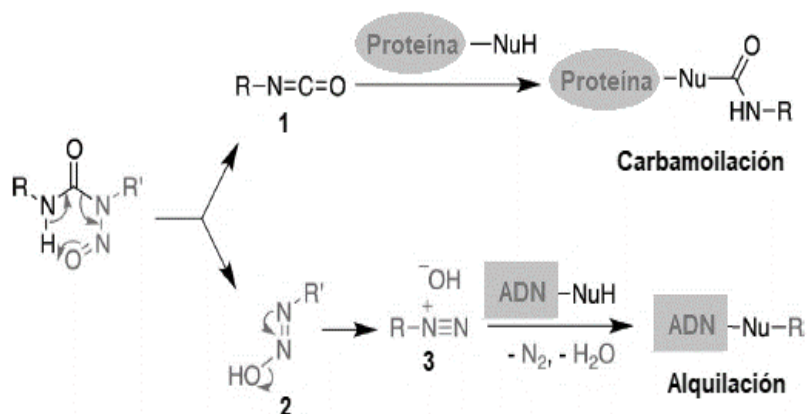


Figura 8. Productos que surgen de la descomposición térmica de las nitrosoureas.

La vía de fragmentación discutida anteriormente se propuso principalmente sobre la base de estudios de la descomposición térmica de nitrosoureas en condiciones anhidras, pero en solución acuosa la reacción es mucho más compleja y ha sido explicada por el mecanismo que se muestra en la Figura 9. La adición de una molécula de agua a la nitrosourea, en su forma tautomérica, proporciona el intermediario tetraédrico (**4**), que se descompone en una amina primaria, dióxido de carbono y el intermediario (**5**). La adición de un nucleófilo distinto de

agua al tautómero de la nitrosourea explica el aislamiento de productos carbamoilados, formados por eliminación de (5), Figura 9.

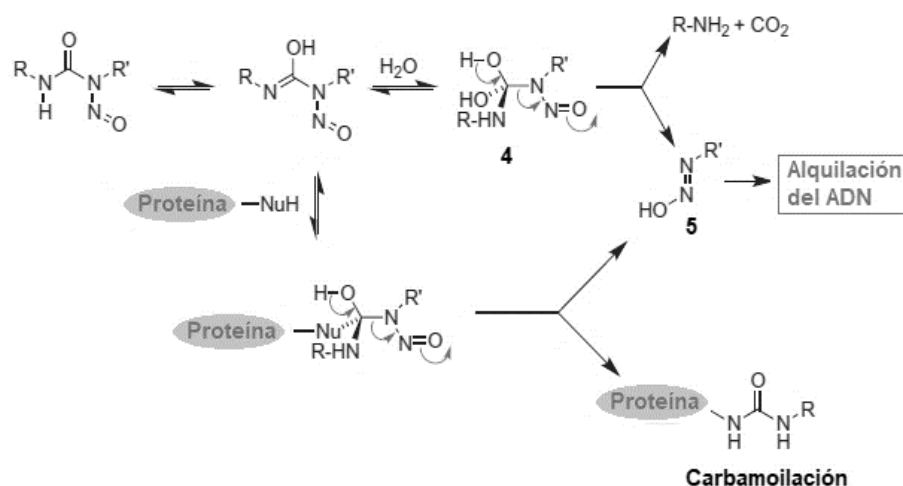


Figura 9. Descomposición de nitrosoureas en solución acuosa.

En la Figura 10, se presenta la propuesta del mecanismo de acción de las nitrosourea como agentes alquilantes⁴⁶: la mayoría de las nitrosoureas derivadas de la 1-(2-cloroetil)-1-nitrosourea, CNU contienen una cadena de cloroetil en el nitrógeno nitrosado, lo que les permite actuar como agentes de reticulación del ADN. Se supone que la reacción de la especie de diazonio electrófila (6) con guanina tiene lugar en O-6 para dar la molécula (7); este producto mono-alkilado reacciona posteriormente con el átomo N-3 de la unidad de citosina en la cadena de ADN complementaria por asistencia anquimérica del átomo de guanina N-1 a través del intermedio (8), dando el producto reticulado (9). De hecho, la adición de la alquiltransferasa O-6-alkilguanina ADN, una enzima que rompe los aductos de guanina O-6, evita la reticulación.

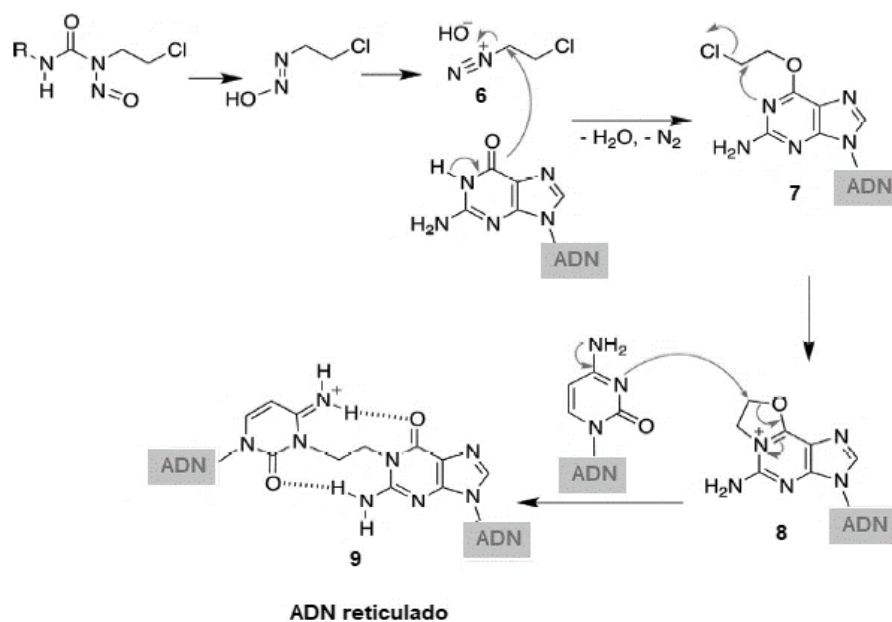


Figura 10. ADN reticulado por las nitrosoureas.

Alternativamente, de acuerdo a la Figura 11, las moléculas de nitrosourea intactas en lugar de las especies de diazonio pueden alquilar directamente el ADN. Por lo tanto, el ataque nucleofílico de guanina O-6 al tautómero de nitrosourea (**10**) da un efecto intermedio, (**11**). Aunque se han propuesto mecanismos alternativos, de acuerdo con los experimentos de etiquetado, es probable que (**11**) cicle a la nitrosoisoxazolidina (**12**), que es atacada por otro átomo O-6 de una unidad guanina vecina para dar (**13**). En este aducto, el O-6 de la primera guanina se carbamoila y el O-6 de la segunda guanina se alquila con un grupo 2-hidroxidozoetilo. La generación de diazonio y el ataque de N-3 a partir de una citosina de la cadena de ADN opuesta, con asistencia anquimérica de guanina N-1, finalmente da el producto reticulado carbamoilado (**14**).

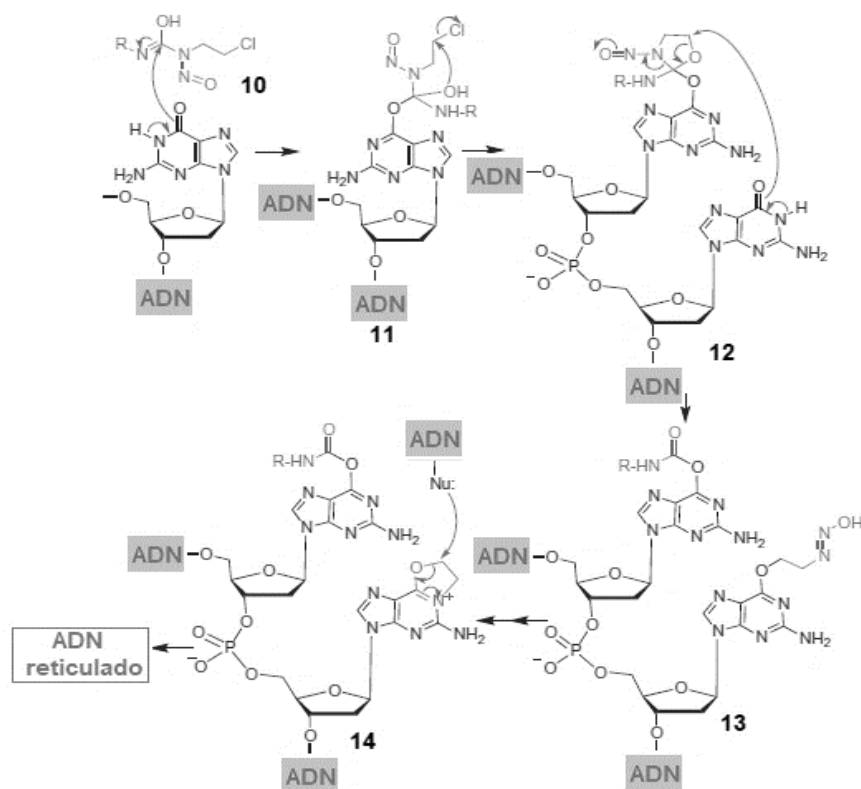


Figura 11. Mecanismo alternativo de la reticulación del ADN por nitrosoureas.

Extrapolando esta propuesta con el tipo de moléculas sintetizadas, podríamos ayudarnos a predecir cuáles derivados pueden presentar actividad biológica y cuáles no, sin embargo, pruebas biológicas como CV (Cristal violeta) y/o un ensayo MTT sin duda son imprescindibles para llegar a una conclusión concreta.

3.4.2 Nitrosación.

En química orgánica, una reacción de nitrosación es aquella que implica la conversión de un compuesto orgánico (generalmente aminas) en su correspondiente derivado nitrosado, esto es, en compuestos que contengan el grupo funcional nitroso (NO).

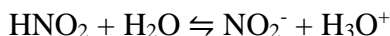
La reacción de las aminas con el ácido nitroso es una materia compleja, pero de gran interés teórico como práctico. La nitrosación de las aminas suele efectuarse añadiendo una disolución acuosa de nitrito de sodio, NaNO_2 a una disolución fría de la amina en un ácido mineral; la especie reactiva está formada por la pequeña cantidad de amina libre que está en equilibrio con la amina protonada. El ácido nitroso, que es un compuesto inestable, se produce siempre en la mezcla reaccionante fría a la vez que se utiliza. El agente nitrosante real es el ion nitrosonio (NO^+) que se forma por la protonación del ácido nitroso seguida por la pérdida de agua:



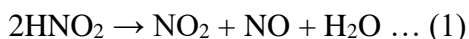
El mecanismo de nitrosación de amidas actualmente no es un campo ampliamente explorado, no obstante, por lo general se trata de un mecanismo similar al de las aminas.

3.4.3. Ácido nitroso.

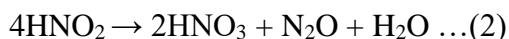
El ácido nitroso⁴⁹, (HNO_2) es un ácido débil monobásico conocido solo en solución y en la forma de sales de nitrito. Su valor de pK_a ha sido medido muchas veces por diferentes métodos. El valor más confiable es probablemente 3.148 a 25°C.



El ácido nitroso se descompone rápidamente en óxido de nitrógeno, óxido nítrico y agua cuando está en solución (1):



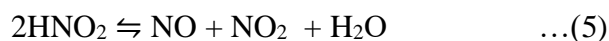
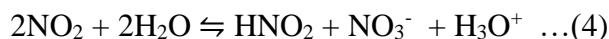
También puede descomponerse en ácido nítrico y óxido nitroso y agua (2):



El ácido nitroso puro nunca se ha aislado ya que la descomposición se produce dando varios óxidos de nitrógeno como productos finales. Esta descomposición generalmente está representada por la ecuación (3):



Aunque la ecuación anterior, cabe mencionar, no demuestra la imagen completa ya que el óxido nítrico se oxidará aún más a dióxido de nitrógeno. Afortunadamente, la descomposición es relativamente lenta a temperatura ambiente y baja $[\text{HNO}_2]$, alrededor de 1×10^{-3} - 1×10^{-2} M, y esto permite que se realicen trabajos tanto sintéticos como mecanísticos a 0 ° C y 25 ° C , donde gran parte de la cinética ha sido estudiada. En ausencia de oxígeno, la vía de descomposición involucra los dos equilibrios Eq. (4) y (5), mientras que en presencia de oxígeno la ecuación (4) entra en juego, y la descomposición es significativamente más rápida. Dónde la descomposición es un problema, por ejemplo, para reacciones de nitrosación lentas, se puede lograr un mejor trabajo cuantitativo llevando a cabo las reacciones anaeróbicamente, p.ej. bajo nitrógeno:



La estructura del ácido nitroso es bien conocida (Figura 12). Esta molécula existe en ambas conformaciones (cis y trans) siendo la conformación trans la forma dominante.

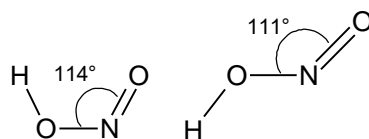
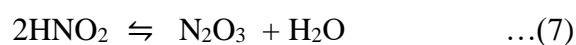
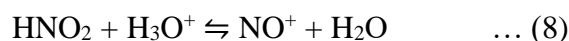


Figura 12. Conformación cis y trans del ácido nitroso.

Las longitudes y ángulos de enlace son conocidos y hay algún carácter dipolar que confiere un carácter de doble enlace parcial al enlace N-OH. El ácido nitroso existe en solución acuosa en equilibrio con trióxido de dinitrógeno, N_2O_3 , ec. (7), que también es una especie nitrosante eficaz, que puede ser considerada como nitrito de nitrosonio.



El tinte azulado visto en soluciones bastante concentradas de ácido nitroso se debe al N_2O_3 . Otros dos equilibrios son importantes en el contexto de nitrosación por ácido nitroso. Uno implica la conversión al catión nitrosonio NO^+ , que se vuelve importante a muy niveles de acidez muy altos. (8):



4. Justificación

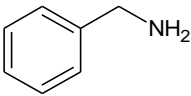
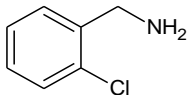
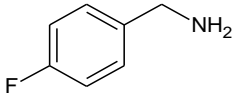
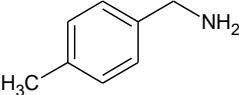
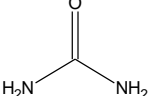
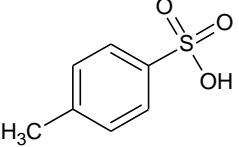
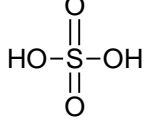
Las *N*-nitrosoureas son compuestos antineoplásicos también conocidos como agentes alquilantes que han sido estudiados desde 1959⁴⁶, al ser una subclase de agentes alquilantes evitan que las células tumorales se reparen a sí mismas y por lo tanto las deja incapaces de reproducirse⁵¹. La síntesis de compuestos *N*-nitrosados ha recibido una mayor atención desde el punto de vista no sólo químico sino también médico debido a los efectos anticancerígenos que algunos derivados han mostrado y que actualmente se utilizan como auxiliares en los tratamientos de quimioterapia tales como la semustina, carmustina y lomustina. Es por ello que en este trabajo se propone la síntesis de nuevos derivados bencílicos de *N*-nitrosoureas, esperando que, al pertenecer a la misma clase de agentes alquilantes posean también actividad biológica como antineoplásicos y con ello incrementar el portafolio de moléculas de producción nacional que se pueden utilizar en tratamientos contra el cáncer y a la vez realizar una nueva aportación al campo de la Química Medicinal y eventualmente a la Medicina en al corroborarse dicha suposición bajo la realización de pruebas biológicas.

5. Metodología Experimental

En este apartado se describe la metodología empleada para la síntesis tanto de las *N*-bencilureas como de los compuestos químicos principales: *N*-bencilnitrosoureas. Así mismo se mencionan las especificaciones técnicas de los equipos utilizados como datos técnicos y algunas características fisicoquímicas de los reactivos implicados durante la síntesis orgánica de cada uno de los compuestos previamente mencionados.

5.1 Reactivos.

Tabla 2. Reactivos utilizados para la síntesis de los compuestos sintetizados.

Nombre IUPAC	Estructura molecular	Masa molecular (g/mol)	Densidad (g/mL)	Pureza (%)	Marca
Bencilamina		107.15	0.981	99.5	Sigma-Aldrich®
2-Clorobencilamina		141.60	1.173	95	Sigma-Aldrich®
4-Fluorobencilamina		125.14	1.095	97	Sigma-Aldrich®
4-Metilbencilamina		121.18	0.952	97	Sigma-Aldrich®
Urea		60.06	1.335	99.5	Sigma Aldrich®
Ácido <i>p</i> -toluensulfónico		190.22	No aplica	98	Fluka Analytical
Acetonitrilo	$\text{H}_3\text{C}-\text{C}\equiv\text{N}$	41.05	0.786	99.5	Grado técnico
Ácido sulfúrico		98.08	1.840	95-98%	Meyer®
Nitrito de sodio	$\text{Na}^+ \text{O}^- \text{N}=\text{O}$	69	No aplica	97	Meyer®

NOTA: Disolventes como Acetato de etilo, acetona, acetonitrilo y hexano fueron de grado técnico y destilados previos a su utilización.

Para llevar a cabo la síntesis de los compuestos nitrosados se utilizaron las *N*-bencilureas sintetizadas como material de partida.

5.2 Equipos utilizados.

- Balanza Ohaus®, modelo AP110 (110g - 0.1mg).
- Lámpara de luz UV Mineralight® modelo UVGL – 25 multibanda UV – 254/366 nm.
- Rotavapor Büchi® modelo R-210 con un baño calentador modelo B-491.
- Aparato tipo Thomas, Mel-Temp®.
- Equipo NICOLET Is10 Spectrometer Thermo Scientific®, adaptado con el accesorio Smart Orbit Thermo Scientific, ventana de diamante 30000–200 cm⁻¹. El software empleado para la recolección de datos fue OMNIC 8.0.
- Espectrómetro de Masas JEOL, The AccuTOF, JMS-T100LC.
- Equipo de RMN Bruker Fourier 300MHz, Bruker, Bruker JEOL 500MHz.
- Lámpara de luz IR 140V.

5.3 Metodología empleada en la síntesis de las materias primas: *N*-bencilureas.

En un matraz bola de 100 mL se colocaron 1 equivalente de la *N*-bencilamina correspondiente, 2 equivalentes de urea y ácido *p*-toluensulfónico como catalizador en ausencia de disolvente utilizando como fuente de calor una lámpara de luz IR. Mediante el empleo de la cromatografía en capa fina se le dio seguimiento a la presente reacción, determinando así una temperatura de 90°C y un tiempo de reacción de 30 minutos.

Pasado el tiempo de reacción y una vez obtenido el producto crudo se procedió a purificar cada una de las *N*-bencilureas formadas utilizando la recristalización simple donde tras sencillas pruebas de solubilidad el acetonitrilo fue elegido como el disolvente ideal. El producto crudo se disolvió en la mínima cantidad de acetonitrilo caliente, se añadió carbón activado y se mantuvo en agitación durante cinco minutos. Posterior a esta agitación, se procedió a filtrar la mezcla de reacción sobre una cama de celita dentro de un papel filtro de poro mediano. Finalmente, la solución se dejó reposar a temperatura ambiente para favorecer la formación de agujas blancas y brillantes. Una vez formadas dichas agujas, se procedió a recuperar el producto final, lavando con hexano frío. Una vez seco, se determinó el rendimiento, punto de fusión del producto de reacción, así como su caracterización mediante distintas técnicas espectroscópicas.

5.4 Metodología empleada en la síntesis de las *N*-bencilnitrosoureas a partir de *N*-bencilureas.

Se colocó un matraz Erlenmeyer de 250 mL en un baño de hielo con sal y acetona, dentro de este matraz se procedió a formar la mezcla nitrosante utilizando una solución de ácido sulfúrico (38%) y nitrito de sodio (2.5 equivalentes). Se agregó a esta mezcla cantidad suficiente de acetato de etilo como fase orgánica y por último se añadió lentamente la *N*-bencilurea correspondiente. Al igual que en la síntesis de las *N*-bencilureas, el seguimiento de esta mezcla de reacción se realizó mediante el uso de la cromatografía en capa fina, determinando así un tiempo de reacción de 2 horas a una temperatura no mayor de 5°C. Pasado el tiempo de reacción, utilizando un embudo de separación se procedió a realizar una serie de extracciones de la fase orgánica. Se procedió a recolectar todas las fases orgánicas en un matraz de manera de manera que fuese más sencillo trabajar finalmente con una sola fase. La fase orgánica recolectada se secó utilizando sulfato de sodio como agente desecante y en seguida, con ayuda del rotavapor, se le eliminó el exceso de disolvente. Al eliminar el disolvente quedaba un líquido oleoso amarillo, el cual, al enfriarse permitía la formación de cristales amarillos. A dichos cristales se les tomó una CCF en un sistema 70:30:10 (acetato de etilo, hexano y etanol, respectivamente) con lo que se observó que aún no se encontraban puros por lo que finalmente se filtraron y una vez filtrados se les añadió la mínima cantidad de acetato de etilo, con lo cual se observó cómo dichos cristales se limpiaban hasta adquirir una coloración blanca y brillante. De igual manera se les volvió a tomar una CCF en el mismo sistema anteriormente mencionado con lo que se observó la presencia de un único producto. Los nuevos cristales blancos fueron filtrados y recuperados mediante filtración con vacío. Una vez seco, se determinó el rendimiento, punto de fusión del producto de reacción, así como su caracterización mediante distintas técnicas espectroscópicas.

6. Resultados y Discusión

A continuación, se presentan los resultados obtenidos durante la etapa experimental de este proyecto, así como su correspondiente justificación y discusión desde la síntesis hasta la obtención del producto final, utilizando herramientas de caracterización como la Espectroscopía Infrarroja (IR), Espectrometría de Masas (EM) y la Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C para cada uno de los compuestos sintetizados.

6.1 Condiciones de reacción para la síntesis de *N*-bencilureas.

Como ya se ha mencionado anteriormente en el apartado de antecedentes, la síntesis de *N*-bencilureas se puede conseguir bajo distintas metodologías, cada una con algunas ventajas y desventajas respecto al método propuesto en este trabajo, en el cual, para la síntesis de este tipo de compuestos se procedió a realizar una reacción de condensación entre la *N*-bencilamina correspondiente y la urea, en una proporción de 1:2 respectivamente, en ausencia de disolvente y añadiendo ácido *p*-toluensulfónico como catalizador, manteniendo con una lámpara de luz IR un reflujo a una temperatura de 90°C durante 30 minutos, tal como se observa en la Figura 13, obteniéndose rendimientos por encima del 80%.

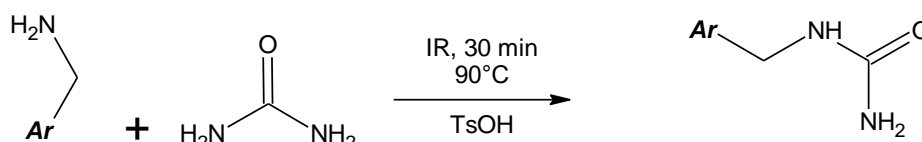


Figura 13. Reacción general para la síntesis de *N*-Bencilureas

Donde:

Ar: Bencilamina; 2-clorobencilamina; 4-fluorobencilamina; 4-metilbencilamina .

1: *N*-bencilurea, 1-(2-clorobencil)urea; 1-(4-fluorobencil)urea; 1-(4-metilbencil)urea.

La bencilamina correspondiente, al condensarse con la urea, necesita encontrarse en una proporción de equivalentes, 1:2 debido a que, con ello aseguramos que el reactivo en exceso sea la urea y así, al ser la bencilamina el reactivo limitante, la reacción no de paso a una doble adición de la urea, pudiéndose favorecer la formación de un compuesto *N*-disustituido⁴³.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, se ha propuesto un mecanismo de reacción (Figura 14) en el cual el primer paso consiste en el ataque de un par de electrones libres del grupo carbonilo de la urea hacia uno de los hidrógenos del grupo hidroxilo de la molécula de ácido *p*-toluensulfónico, dando paso a las estructuras de resonancia 2 y 3. En seguida el carbono electrofílico del intermediario tetraédrico (2) es atacado por un par de electrones libres del nitrógeno terminal de la bencilamina correspondiente, desplazando a un par de electrones al

átomo de oxígeno dando como resultado la estructura (5). Puesto que en el medio de reacción se encuentra la base conjugada del ácido *p*-toluensulfónico, esta se protona con uno de los hidrógenos unidos al nitrógeno más sustituido de la molécula de bencilamina dando como resultado la estructura (6); nuevamente, tras la protonación de la base conjugada del TsOH, uno de los nitrógenos de la parte ureica de la molécula vuelve a protonarse, lo cual favorece la salida del amoniaco, dando como resultado la molécula (7). A continuación, un par de electrones del amoniaco se protona formándose así el producto final, en este caso, la *N*-bencilurea correspondiente, sin olvidar que en el medio de reacción se encuentra un equilibrio entre el ácido *p*-toluensulfónico y su base conjugada, así como entre el amonio y el amoniaco. Cabe resaltar que después de terminada la reacción, este olor característico de amoniaco se llegaba a percibir dentro del matraz de reacción.

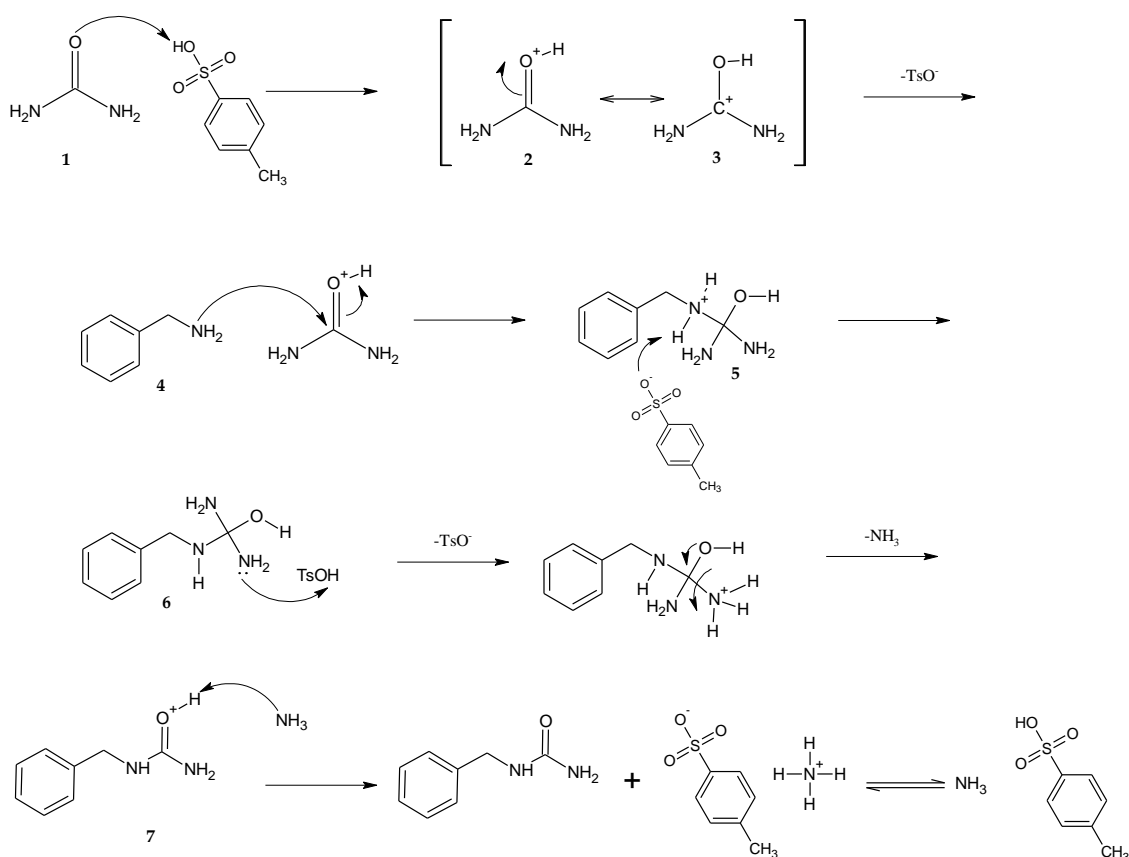


Figura 14. Propuesta del mecanismo de reacción para la síntesis de *N*-bencilureas de acuerdo a la metodología empleada.

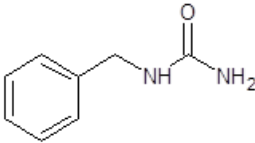
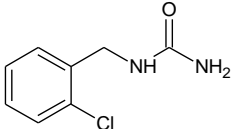
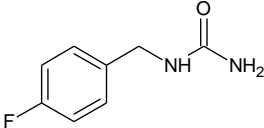
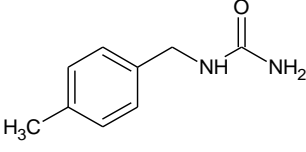
La síntesis de *N*-bencilureas monosustituidas requiere de temperaturas bajas de reacción debido a que se observó que un aumento por encima de los 100°C favorecía la formación de subproductos no deseados, dificultando el aislamiento del producto principal; en cuanto al tiempo de reacción, 30 minutos fueron los necesarios para lograr que toda la materia prima

(bencilamina correspondiente) reaccionara. Lo anteriormente descrito se comprobó al realizar el seguimiento de la reacción con la técnica de cromatografía en capa fina.

6.1.1 Propiedades físicas de las *N*-bencilureas sintetizadas.

En la Tabla 3 se muestra la información correspondiente a las propiedades fisicoquímicas de cada una de las *N*-bencilureas sintetizadas: punto de fusión, rendimiento y masa molar del compuesto puro.

Tabla 3. Propiedades físicoquímicas de las *N*-bencilureas sintetizadas.

Nombre IUPAC	Estructura molecular	Punto de fusión (°C)	Rendimiento (%)	Masa molar (g/mol)
<i>N</i> -bencilurea		144 - 146	85.34	150.18
1-(2-clorobencil)urea		130 - 134	84.75	184.62
1-(4-fluorobencil)urea		122 - 124	86.21	168.17
1-(4-metilbencil)urea		126 - 128	84.93	164.20

6.2 Condiciones de reacción para la síntesis de *N*-bencilnitrosoureas.

Asegurar la formación del ion nitrosonio, NO^+ (agente nitrosante, electrófilo) es crucial para llevar a cabo la nitrosación; para ello se efectuó (a bajas temperaturas, 5°C) la adición de una solución acuosa de un ácido mineral (en este caso, ácido sulfúrico al 38%) al nitrito de sodio (2.5moles), ya que esto provoca la formación del ácido nitroso (el cuál sólo se encuentra en solución y en sus sales, los nitritos). El ácido nitroso es bastante inestable y se descompone rápidamente a óxido de nitrógeno (IV), óxido de nitrógeno (II) y agua cuando se encuentra en solución.

El ion nitrosonio es mucho menos electrofílico que el ion nitronio, NO_2^+ y ataca solamente a los núcleos aromáticos fuertemente nucleofílicos. Los fenoles, como las aminas terciarias aromáticas, sufren nitrosaciones rápidamente, pero los anillos con sustituyentes menos

activadores que los grupos hidroxilo o amino, o con sustituyentes desactivadores no son atacados por los agentes nitrosantes⁵²; razón que también explica la formación de los compuestos sintetizados en este proyecto, además de que las moléculas contaban con una estructura provista de dos sitios nucleofílicos susceptibles a la nitrosación, que, en este caso se trataron de los dos átomos de nitrógeno como se observa en la Figura 15:

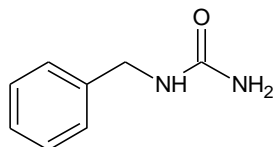


Figura 15. *N*-bencilurea.

La reacción general observada en esta síntesis de *N*-bencilnitrosoureas (Figura 16) es la siguiente:

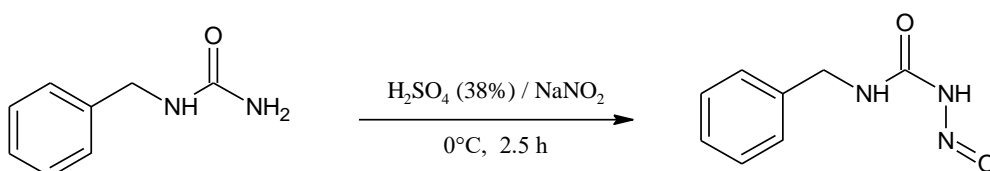


Figura 16. Reacción general de la nitrosación de las *N*-bencilnitrosoureas.

De acuerdo a lo anterior, el mecanismo de nitrosación consiste en dos fases:

Fase I: Formación del ion nitrosonio:

Primero, el ácido nitroso inestable se preparó mediante el tratamiento de nitrito de sodio con H_2SO_4 acuoso, al 38%. Un ion nitrito es protonado por H_2SO_4 para dar ácido nitroso. Luego, el ácido nitroso también se protona para formar un ion oxonio que tiene un buen grupo saliente (agua). Y finalmente, la partida del grupo saliente genera iones nitrosonio o catión nitrosilo (Figura 17).

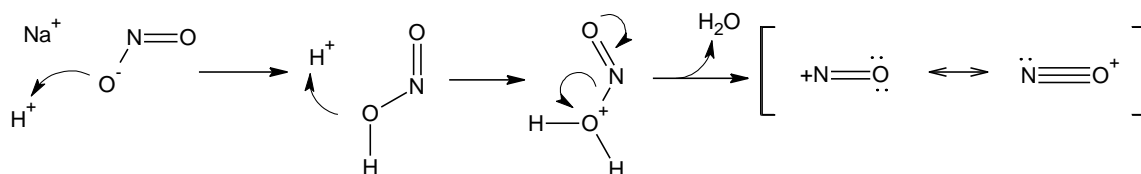


Figura 17. Formación del ion nitrosonio.

Fase II: Ataque electrofílico:

El ion nitrosonio es electrofílico y es atacado por un par de electrones pertenecientes al nitrógeno menos sustituido o terminal de la *N*-Bencilurea correspondiente, formando un intermediario tetraédrico del cuál se libera un protón del nitrógeno y finalmente formando el nitrosocompuesto correspondiente (Figura 18).

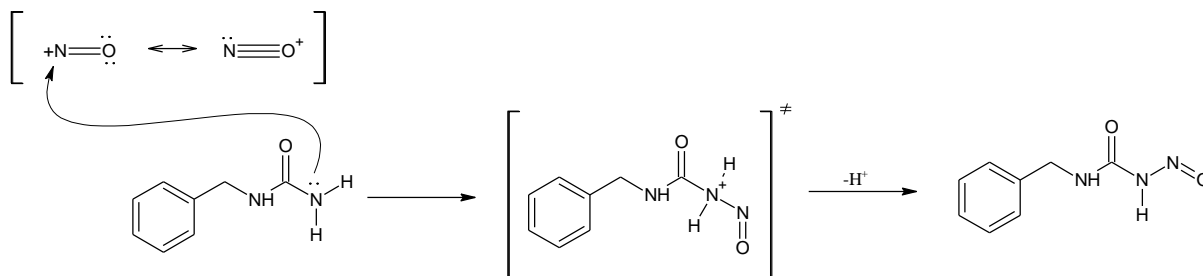


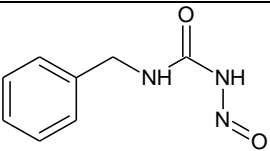
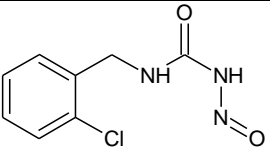
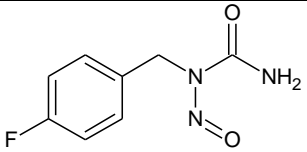
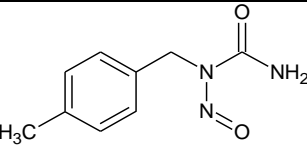
Figura 18. Formación del nitrosocompuesto correspondiente.

En el caso del derivado LQM 802, el mecanismo de reacción es similar al propuesto anteriormente, salvo por el sustituyente cloro en la posición dos del anillo. De la misma forma, este mecanismo es igualmente propuesto para la nitrosación del LQM 803 y LQM 804, únicamente considerando en este caso específico para estos últimos la nitrosación se dio en el nitrógeno más sustituido de la molécula y no en el terminal (o menos sustituido) como las moléculas anteriores.

6.2.1 Propiedades físicas de las *N*-bencilnitrosoureas sintetizadas.

En la Tabla 4 se muestra la información correspondiente a las propiedades fisicoquímicas de cada una de las *N*-bencilnitrosoureas sintetizadas: punto de fusión, rendimiento y masa molar del compuesto puro.

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de las *N*-bencilnitrosoureas sintetizadas.

Nombre IUPAC	Estructura	Punto de fusión (°C)	Rendimiento (%)	Masa molar (g/mol)
LQM 801		136 - 140	10.22	179.176
LQM 802		140 - 142	8.22	213.621
LQM 803		136 - 140	8.72	197.167
LQM 804		84 - 90	11.6	193.206

6.3 Caracterización espectroscópica.

Enseguida se procede a relatar la caracterización espectroscópica de cada uno de los compuestos sintetizados, para ello se utilizaron tres distintas técnicas (Espectroscopia IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y EM). Cabe resaltar que los espectros de RMN ^{13}C son desacoplados de hidrógeno, razón por la cual observamos sólo singuletes en ellos.

En primer lugar, se muestran unas tablas con el resumen espectroscópico para cada una de las *N*-bencilureas y *N*-bencilnitrosoureas sintetizadas (Tabla 5-12).

Tabla 5. Resumen espectroscópico de la *N*-bencilurea.

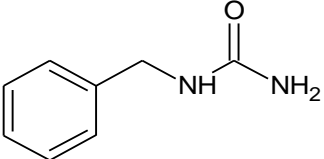

<i>N</i>-Bencilurea, Rend. 85.34%, p.f 144-146°C IR (Diamante, V_{\max} , cm^{-1}): 3423.09-3324.47 (NH), 2879.30 ($\text{Csp}^3\text{-H}$), 1969.75 (C=C aromático), 1645.18(C=O). ^1H RMN (500MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) 7.28 (m, 5H), 6.44 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 5.56 (s, 2H), 4.18 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H); ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 159.32 (C=O), 141.48(Csat), 128.82 (Arom), 43.40($\text{CH}_2\text{-Arom}$); EM-DART m/z: 150.08 [M] $^+$, 151.08 [$\text{M}+1\text{H}$] $^+$

Tabla 6. Resumen espectroscópico de la 1-(2-clorobencil)urea.

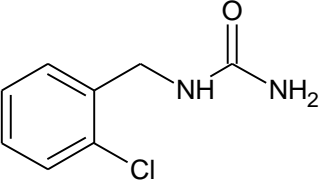
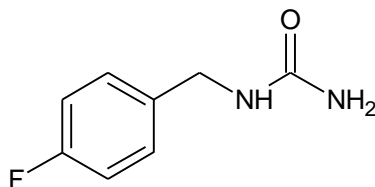
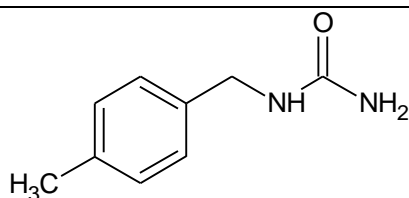

1-(2-clorobencil)urea, Rend. 84.75%, p.f. 130-134°C, IR (Diamante, V_{\max} , cm^{-1}): 3433.66-3337.26 (NH), 2931.06 ($\text{Csp}^3\text{-H}$), 1343.55 (C=C aromático), 1641.09(C=O). ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 7.29 (m, 4H), 6.46 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 4.20 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 159.19(C=O), 138.41(-C- CH_2), 132.39(-C-Cl), 129.54, 129.13, 128.88, 127.63 (Arom), 41.25($\text{CH}_2\text{-Arom}$). EM-DART m/z: 184.62 [M] $^+$, 185.05 [$\text{M}+1\text{H}$] $^+$

Tabla 7. Resumen espectroscópico de la 1-(4-fluorobencil)urea.



1-(4-fluorobencil)urea, Rend. 86.21%, **p.f.** 122-124°C, **IR** (Diamante, V_{\max} , cm^{-1}): 3427.16-3326.92 (NH), 2931.36 ($\text{Csp}^3\text{-H}$), 1464.41 (C=C aromático), 1553.99(C=O), 1215.51 (C-F). **$^1\text{H RMN}$** (500 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 7.24 (m, 2H), 7.09 (m, 2H), 6.43 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 5.56 (s, 2H), 4.11 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H). **$^{13}\text{C RMN}$** (125 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 160.46 (-C-F, d, $J = 38.2$ Hz), 159.29 (C=O), 137.68 (-C- CH_2 -), 129.44 ($J = 8.0$ Hz), 115.40 ($J = 21.2$ Hz) (Arom), 42.61($\text{CH}_2\text{-Arom}$). **EM-DART** m/z: 168.17 $[\text{M}]^+$, 169.07 $[\text{M}+1\text{H}]^+$

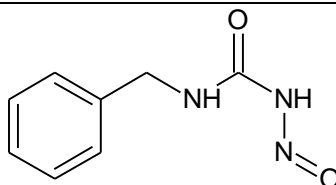
Tabla 8. Resumen espectroscópico de la 1-(4-metilbencil)urea.



1-(4-metilbencil)urea, Rend. 84.93%, **p.f.** 126-128, **IR** (Diamante, V_{\max} , cm^{-1}): 3428.65-330.40 (NH), 22922.08 ($\text{Csp}^3\text{-H}$), 1800-2000 (C=C aromático), 1593.98(C=O). **$^1\text{H RMN}$** (300 MHz, DMSO-d_6) δ 7.11 (m, 4H), 6.38 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 5.52 (d, 2H), 4.12 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.44 (H_2O), 2.26 (s, 3H) **$^{13}\text{C RMN}$** (75 MHz, DMSO-d_6) δ **$^{13}\text{C RMN}$** (75 MHz, DMSO-d_6) δ 160.25 (C=O), 138.22 (C- CH_3), 136.00 (C- CH_2), 129.20, 127.46 (Arom), 43.03(s), 21.11(CH_3). **EM-DART** m/z: 164.20 $[\text{M}]^+$, 165.10 $[\text{M}+1\text{H}]^+$

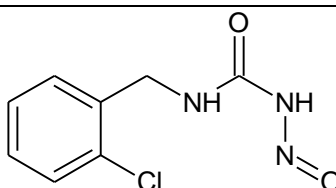
A continuación, en la siguiente página se presentan los resúmenes espectroscópicos correspondientes a las *N*-bencilnitrosoureas sintetizadas.

Tabla 9. Resumen espectroscópico del LQM 801.



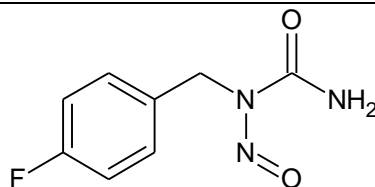
3-bencil-1-nitrosourea (LQM 801), Rend. 10.22%, **p.f.** 136-140; **IR** (Diamante, V_{\max} , cm^{-1}): 3316.29 (NH), 2872.75 ($\text{Csp}^3\text{-H}$), 1800-2000 (C=C aromático), 1561.21 (C=O), 1453.79 (NO). **^1H RMN** (500 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 7.24 (m, 5H), 6.44 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 4.21 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.36 (s, 1H). **^{13}C RMN** (125 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 158.67(C=O), 141.45(C- CH_2), 128.76, 127.54, 127.11(Arom), 43.53($\text{CH}_2\text{-Arom}$).

Tabla 10. Resumen espectroscópico del LQM 802.



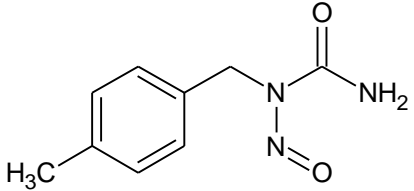
3-(2-clorobencil)-1-nitrosourea (LQM 802), Rend. 8.22%, **p.f.** 140-142; **IR** (Diamante, V_{\max} , cm^{-1}): 3316.29 (NH), 2872.75 ($\text{Csp}^3\text{-H}$), 1800-2000 (C=C aromático), 1561.21 (C=O), 1453.79 (NO). **^1H RMN** (500 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 7.30 (m, 4H), 6.61 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 4.26 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H); **^{13}C RMN** (126 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 158.39(C=O), 138.29(C- CH_2), 132.43(C-Cl), 129.59, 129.18, 128.96, 127.67 (Arom), 41.45($\text{CH}_2\text{-Arom}$).

Tabla 11. Resumen espectroscópico del LQM 803.



1-(4-fluorobencil)-1-nitrosourea (LQM 803), Rend. 8.72%, **p.f.** 136-140; **IR** (Diamante, V_{\max} , cm^{-1}): 3316.29 (NH), 2872.75 ($\text{Csp}^3\text{-H}$), 1800-2000 (C=C aromático), 1561.21 (C=O), 1453.79 (NO). **^1H RMN** (500 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 8.21 (s, 2H), 7.47, 7.22 (m, 4H), 4.02 (s, 2H); **^{13}C RMN** (126 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 163.77 (C-F), 161.34(C=O), 131.69(C- CH_2), 130.70, 115.89 (Arom), 42.07($\text{CH}_2\text{-Arom}$).

Tabla 12. Resumen espectroscópico del LQM 804.


1-(4-metilbencil)-1-nitrosourea, Rend. 11.6%, p.f. 84-90°C; IR (Diamante, V_{\max} , cm^{-1}): 33346.54 (NH), 3171.17 ($\text{Csp}^2\text{-H}$), 2922.28 ($\text{Csp}^3\text{-H}$), 1800-2000 ($\text{C}=\text{C}$ aromático), 1720.66 ($\text{C}=\text{O}$), 1477.31 (NO); $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.22 (m, 4H), 5.94 (s, 2H), 4.06 (s, 2H), 2.29 (d, $J = 16.4$ Hz, 3H). $^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 159.48 ($\text{C}=\text{O}$), 136.13 (C-CH_3), 131.39, 129.61, 129.33, 129.24, 127.49 (Arom), 42.89 (d, $J = 56.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Arom}$), 21.16 (d, $J = 8.6$ Hz, $-\text{CH}_3$).

Dada la similitud de los derivados sintetizados (tanto *N*-bencilureas como *N*-bencilnitrosoureas) en este apartado se procede a describir de manera detallada la caracterización espectroscópica de uno sólo de los derivados de cada grupo, eligiendo para ello de manera arbitraria a la 1-(4-metilbencil)urea y a la 1-(4-metilbencil)-1-nitrosourea (LQM 804). El resto de los espectros correspondientes a los distintos derivados se encuentra al final de esta tesis dentro del apéndice espectroscópico.

6.3.1 Espectroscopía de Infrarrojo de la 1-(4-metilbencil)urea.

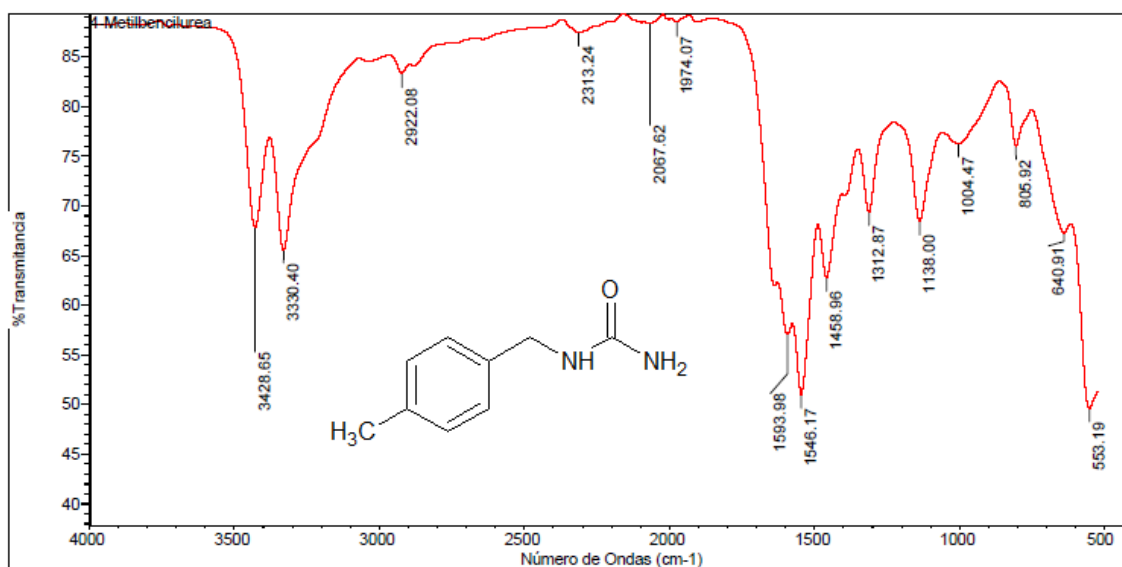


Figura 19. Espectro de infrarrojo de la 1-(4-metilbencil)urea.

De acuerdo al espectro IR anterior (Figura 19) observamos que para el tipo de molécula que tenemos (amida secundaria) encontramos que la banda correspondiente a la vibración del grupo carbonilo de esta amida corresponde al valor de 1593.98 cm^{-1} , probablemente se encuentra desplazada a frecuencias más bajas debido a la resonancia que existe en esta parte de la

molécula⁵³. Por otra parte, los enlaces N-H de la molécula se muestran en las bandas de 3428.65 y 3330.40 cm^{-1} debido a que son dos enlaces de este tipo. A 2922.08 cm^{-1} se encuentra la banda del enlace C-H de tensión de los carbonos sp^3 de este compuesto. Nuevamente, la banda de los armónicos que se ubica el rango comprendido entre 2000 - 1665 cm^{-1} ⁵³ no se alcanza a notar de manera concluyente a pesar que esta banda es característica en compuestos con anillos aromáticos, no obstante el enlace C=C, correspondiente al anillo aromático se atribuye a la banda correspondiente al valor de 1458.96 cm^{-1} puesto que en esta región también es característica para núcleos aromáticos.

A continuación, en la Tabla 13 se muestra un resumen de lo anteriormente descrito.

Tabla 13. Asignación de las bandas de los principales grupos funcionales observados en el espectro IR de la 1-(4-metilbencil)urea.

Frecuencia (cm^{-1})	Enlace
1593.98	C=O
3428.65	N-H
3330.40	N-H
1458.96	C=C aromático
2922.08	C sp^3 -H

6.3.2 Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno de la 1-(4-metilbencil)urea.

En la Figura 20 se puede apreciar el espectro de RMN ^1H del compuesto 1-(4-metilbencil)urea.

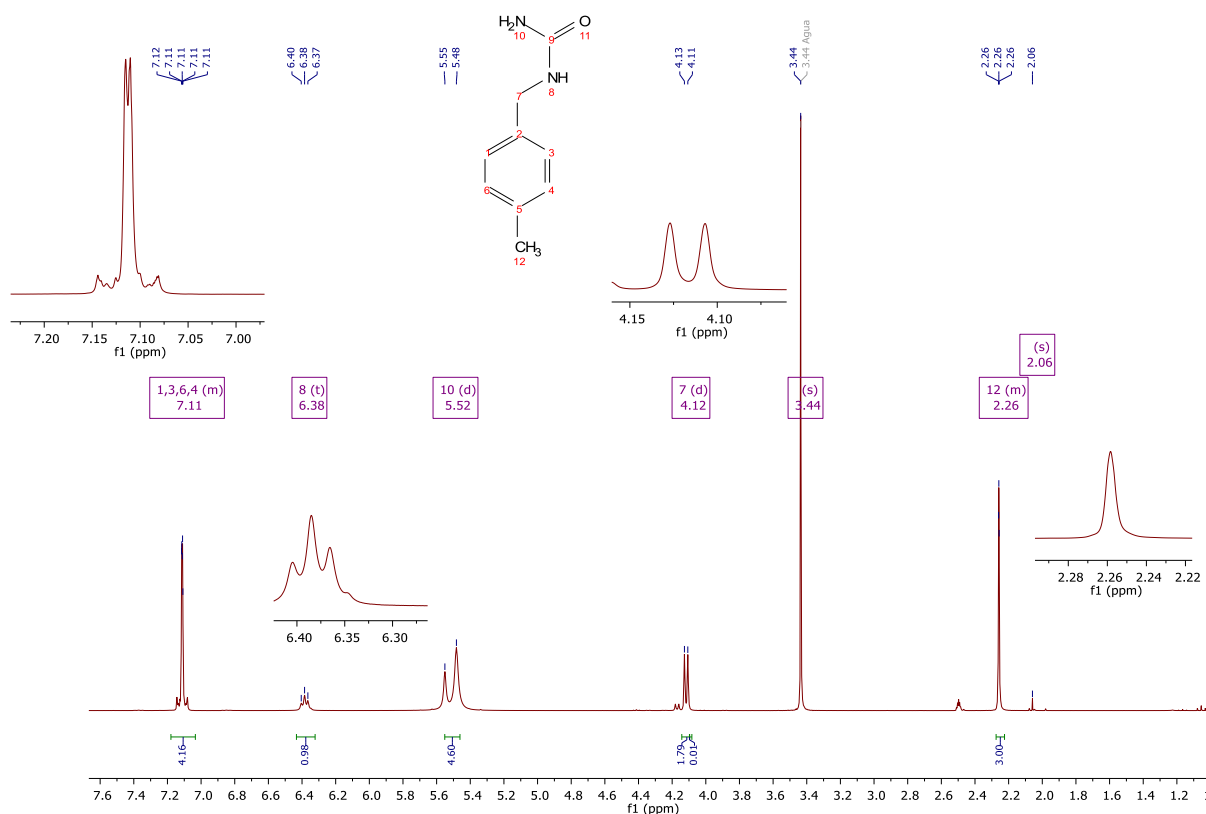


Figura 20. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) de la 1-(4-metilbencil)urea.

Como se puede apreciar, observamos que a campos bajos, en el rango de 7.11 ppm se encuentra un multiplete (y además sistema AA'-BB') que integra para cuatro átomos de hidrógeno pertenecientes al anillo aromático. El triplete observado en el rango de 6.38 ppm integra para un átomo de hidrógeno y corresponde al protón unido al nitrógeno más sustituido (átomo 8). En 5.52 ppm se esperaba observar un singulete que integrase para los dos átomos de hidrógeno enlazados al nitrógeno terminal, los cuales se encuentran desprotegidos ya que se encuentran unidos a un átomo electronegativo como lo es el nitrógeno, razón por la cual aparece dicho desplazamiento hacia campos bajos. No obstante, la señal observada es un doblete que integra para cuatro hidrógenos. Esta señal se justifica debido a que posiblemente se encuentra urea remanente además del compuesto, es decir, urea que no reaccionó por completo durante la síntesis y es por ello que en total dicha señal integra para cuatro átomos de hidrógeno.

En 4.12 ppm, al tener el átomo 7 sólo un hidrógeno vecino del átomo 8, la señal observada es un doblete que integra para los dos hidrógenos de dicho átomo, es decir, para los dos hidrógenos pertenecientes al metileno.

A campos altos, en 2.26 ppm observamos un multiplete que corresponde a los tres hidrógenos del metilo que se encuentra en la posición *-para* del anillo aromático, como consecuencia de la diferencia en la electronegatividad entre un carbono y un hidrógeno. El carbono es ligeramente más electronegativo que un hidrógeno, dando como resultado que los hidrógenos enlazados a él se encuentren más desplazados a campos altos.

Finalmente, en este espectro se aprecian dos señales: una en 3.44 ppm y la otra en 2.06 ppm, las cuales no corresponden a la molécula pero se atribuyen a la presencia de agua y acetona, respectivamente ya que, de acuerdo a la literatura⁵⁴ estos rangos son característicos de dichos disolventes y ocasionados debido a un mal manejo en la preparación de las muestras para RMN.

6.3.3 Resonancia Magnética Nuclear de Carbono de la 1-(4-metilbencil)urea.

En la Figura 21 se puede apreciar el espectro de RMN ¹³C del compuesto 1-(4-metilbencil)urea. El singulete que aparece en 159.24 ppm corresponde a la señal del carbono del carbonilo (átomo 9) el cual se encuentra más desplazado hacia campos bajos debido a la resonancia que existe en el grupo funcional amida, la cual causa esa desprotección de dicho átomo que desplaza al carbonilo hacia estas frecuencias. Como se puede observar, una señal en 160.25 ppm también logra observarse, esta señal se explica debido a la presencia de urea remanente tras la realización de la síntesis del compuesto en cuestión, pues observamos la señal correspondiente al carbonilo de la urea, tal como se mencionó en el espectro anterior.

Los carbonos saturados correspondientes a las señales en 138.22 y 136.00 ppm corresponde al carbono del átomo 5 y 2, respectivamente, ambos desplazados hacia frecuencias altas, dichas asignaciones fueron corroboradas usando tablas espectroscópicas⁵⁴

Los carbonos 1 y 3 (127.46 ppm) se encuentran desplazados hacia frecuencias más bajas en comparación con sus homólogos 4 y 6 (129.20 ppm). Esto se explica debido a que el grupo metilo es un grupo electrodonador que provoca la desprotección de estos dos átomos de carbono (6 y 4). Observamos cierta simetría en estas señales debido a la equivalencia de dichos pares entre sí.

La señal del carbono 7 se encuentra desplazada hacia campo alto (43.03 ppm) ya que este rango es específico para el metileno correspondiente.

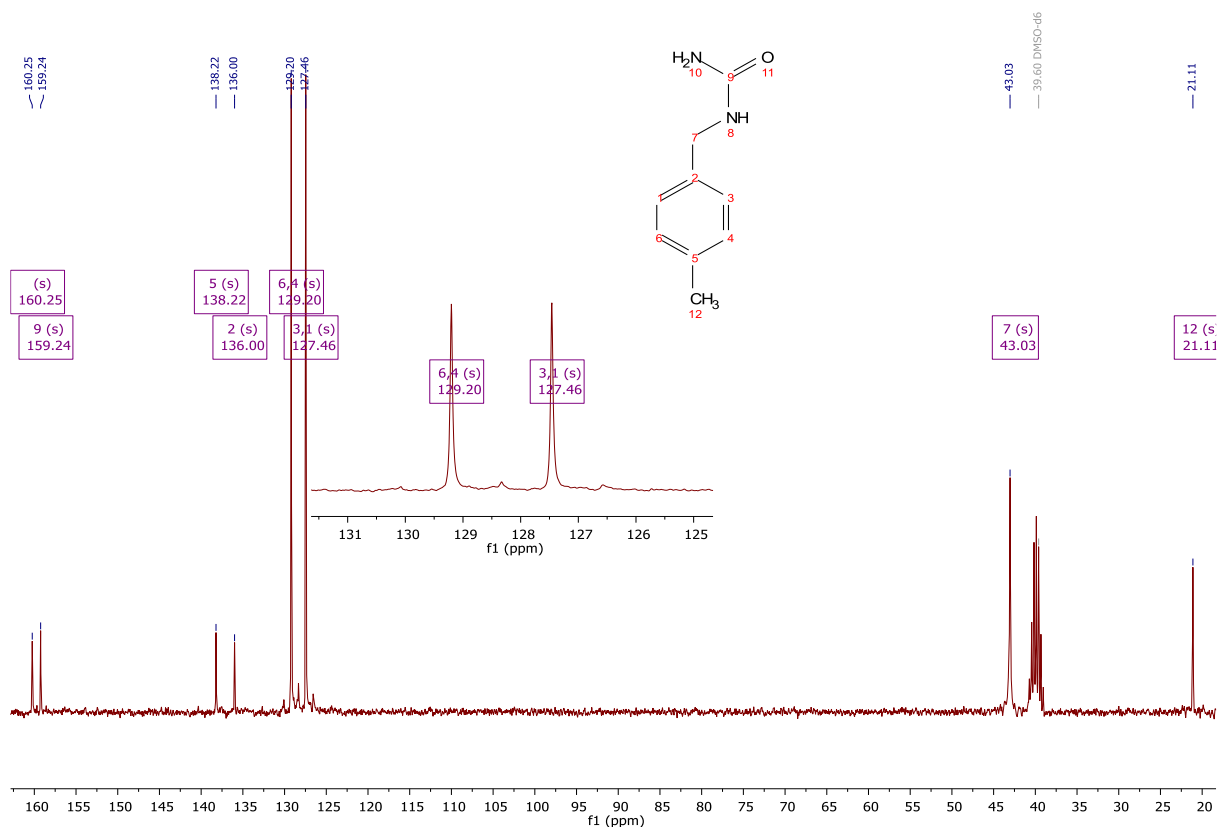


Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) de la 1-(4-metilbencil)urea.

6.3.4 Espectrometría de Masas de la 1-(4-metilbencil)urea.

El siguiente espectro de masas (Figura 22) fue realizado utilizando la técnica DART y confirma la obtención de la materia prima obtenida 1-(4-metilbencil)urea ya que se observa la presencia del pico base en 165.10 m/z con una abundancia relativa del 100% correspondiente al ion molecular, este valor es consistente con la masa molecular más una unidad del compuesto esperado.

Data:U-2613 DC-79B
 Sample Name:Dr. Marcos Hernandez / Diego Cruz
 Description:
 Ionization Mode:ESI+
 History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[];Smooth[5]];

Acquired:6/14/2019 12:51:27 PM
 Operator:AccuTOF
 Mass Calibration data:Cal_Peg_600
 Created:6/17/2019 12:21:43 PM
 Created by:AccuTOF

Charge number:1 Tolerance:10.00(mmu)
 Element:¹²C:0 .. 9, ¹H:0 .. 13, ¹⁴N:0 .. 2, ¹⁶O:0 .. 1

Unsaturation Number:0.0 .. 50.0 (Fracti...

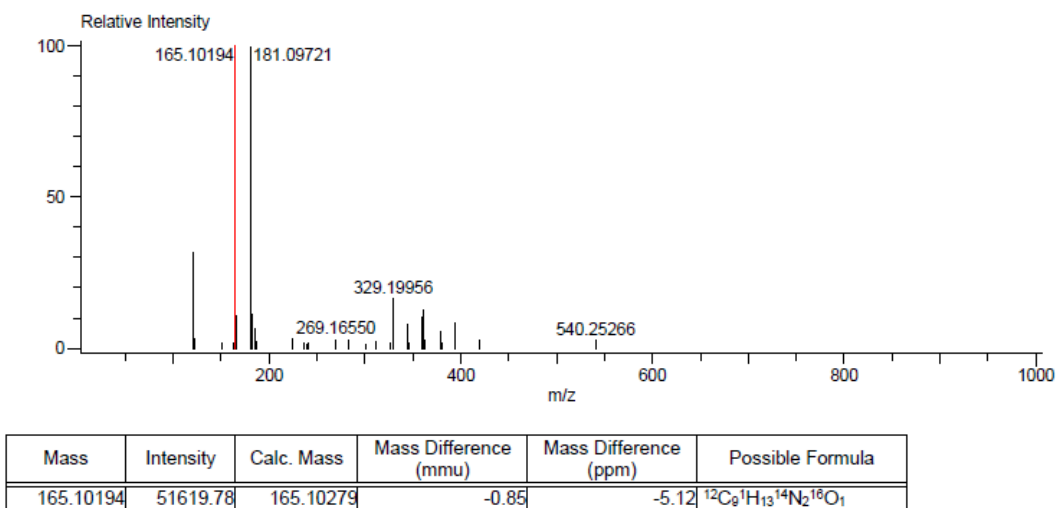


Figura 22. Espectro de masas de la 1-(4-metilbencil)urea.

6.3.5 Espectroscopía de Infrarrojo del LQM 804.

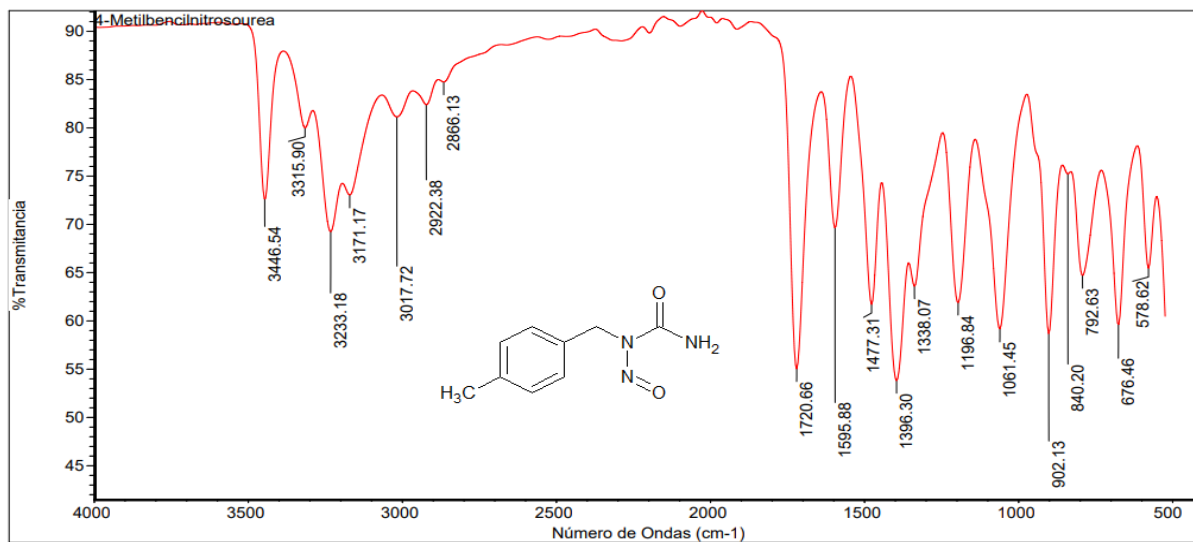


Figura 23. Espectro IR del LQM 804.

De acuerdo al espectro de IR anterior (Figura 23), para el tipo de molécula que tenemos (amida secundaria) encontramos que la banda correspondiente al grupo carbonilo de esta amida corresponde al valor de 1720.66 cm^{-1} , probablemente se encuentra desplazada a frecuencias más bajas debido a la resonancia que existe en esta parte de la molécula⁵³. Por otra parte, los enlaces N-H de la molécula se muestran en las bandas de 3346.54. La banda de los sobretonos aromáticos se ubica el rango comprendido entre $2000 - 1665 \text{ cm}^{-1}$ ⁵³ correspondiente al enlace C=C del anillo aromático. Finalmente, el enlace C_{sp3}-H se encuentra para el carbono CH₂

(metileno) y CH₃ (metilo) presentes en la estructura con un valor de 2922.28cm⁻¹. Finalmente, los compuestos aromáticos nitrosados absorben en el rango de 1511-1495 cm⁻¹ ⁵³ por lo que la banda asignada al grupo nitroso N=O se atribuye al valor que aparece en 1477.31 cm⁻¹.

En la Tabla 14 se resume la asignación de bandas anteriormente descrita.

Tabla 14. Asignación de las bandas de los principales grupos funcionales observados en el espectro IR del LQM 804.

Frecuencia (cm ⁻¹)	Enlace
1720.66	C=O
3346.54	N-H
1477.31	NO
2922.28	Csp ³ -H
3171.17	Csp ² -H (alcano)
1800-2000	C=C aromático

6.3.5 Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno del LQM 804.

En la Figura 24 se puede apreciar el espectro de RMN ¹H del compuesto LQM 804.

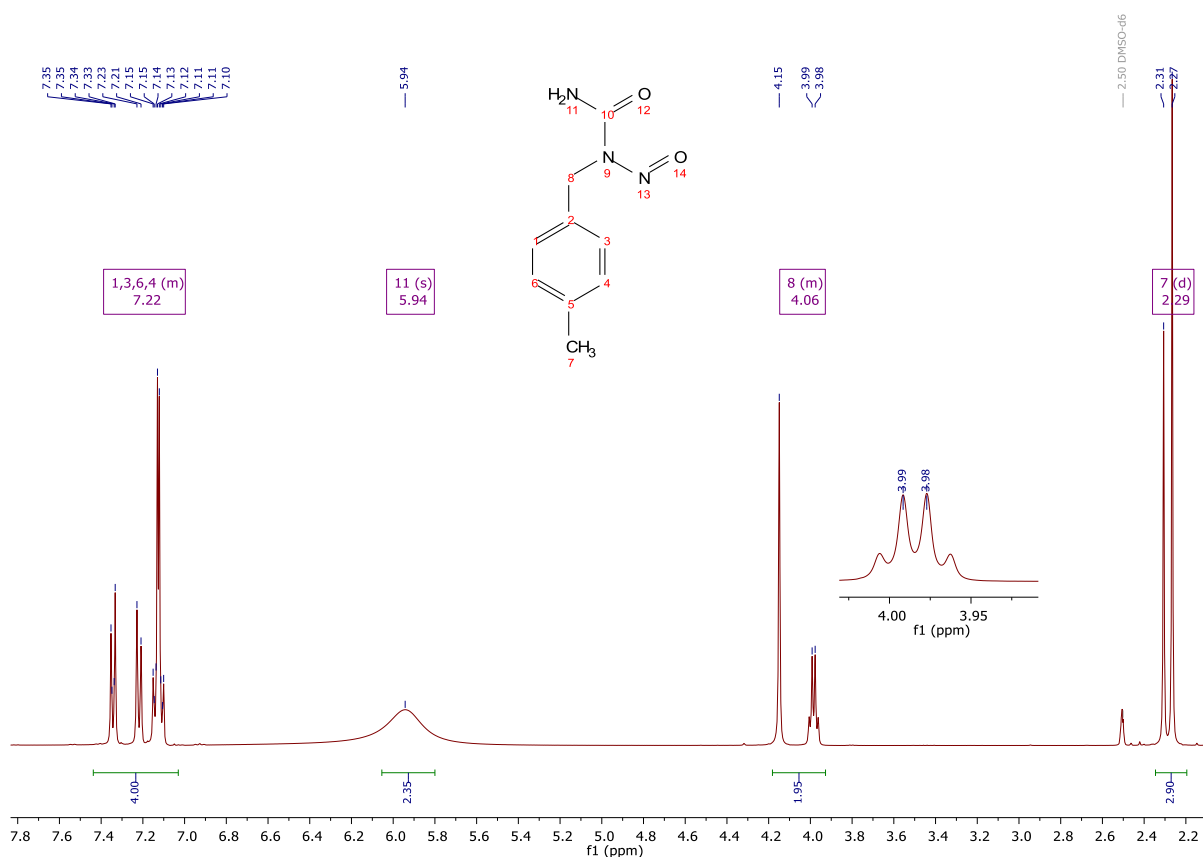


Figura 24. Espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) del LQM 804.

Se observa un multiplete en 7.22 ppm, el cuál corresponde a los cuatro hidrógenos del anillo aromático, donde los pares de núcleos 1, 3 y 4, 6 son equivalentes. Nuevamente, se trata de un sistema AA'-BB' debido a la equivalencia de dichos pares entre sí. En 5.94 ppm, desplazado hacia campos bajos se encuentra una señal singulete que integra para dos hidrógenos, esta señal

es clave para observar que, en este caso, la molécula se ha nitrosado en el nitrógeno menos sustituido. En el caso de los hidrógenos del átomo 8, correspondientes al nitrógeno más sustituido de la molécula se esperaría obtener una señal de tipo singlete que integrase para ambos, no obstante, observamos que esta señal 4.06 ppm es un multiplete, de hecho, son dos señales las que se logran apreciar, esto es debido principalmente a que este espectro corresponde a una mezcla de compuestos (es decir, se tiene a la molécula LQM 804 y posiblemente a su isómero, el 3-(4-metilbencil)-1-nitrosoarea) donde cada señal observada en este rango (el singlete y a continuación un doblete) se justifica debido a la presencia de hidrógenos diasterotópicos en la molécula.

Finalmente, a 2.29 ppm se encuentra la señal que corresponde a los hidrógenos del metilo, correspondientes al átomo 7, como se ha explicado anteriormente, este rango es característico en los hidrógenos de este grupo funcional. Esta señal también confirma la presencia de ambos isómeros, no debe tomarse como un doblete sino más bien como señales aisladas (dos singletes) que corresponden a cada uno de los compuestos presentes.

6.3.6 Resonancia Magnética Nuclear de Carbono del LQM 804

En la Figura 25 se puede apreciar el espectro de RMN ^{13}C del compuesto 1-(4-metilbencil)-1-nitrosoarea.

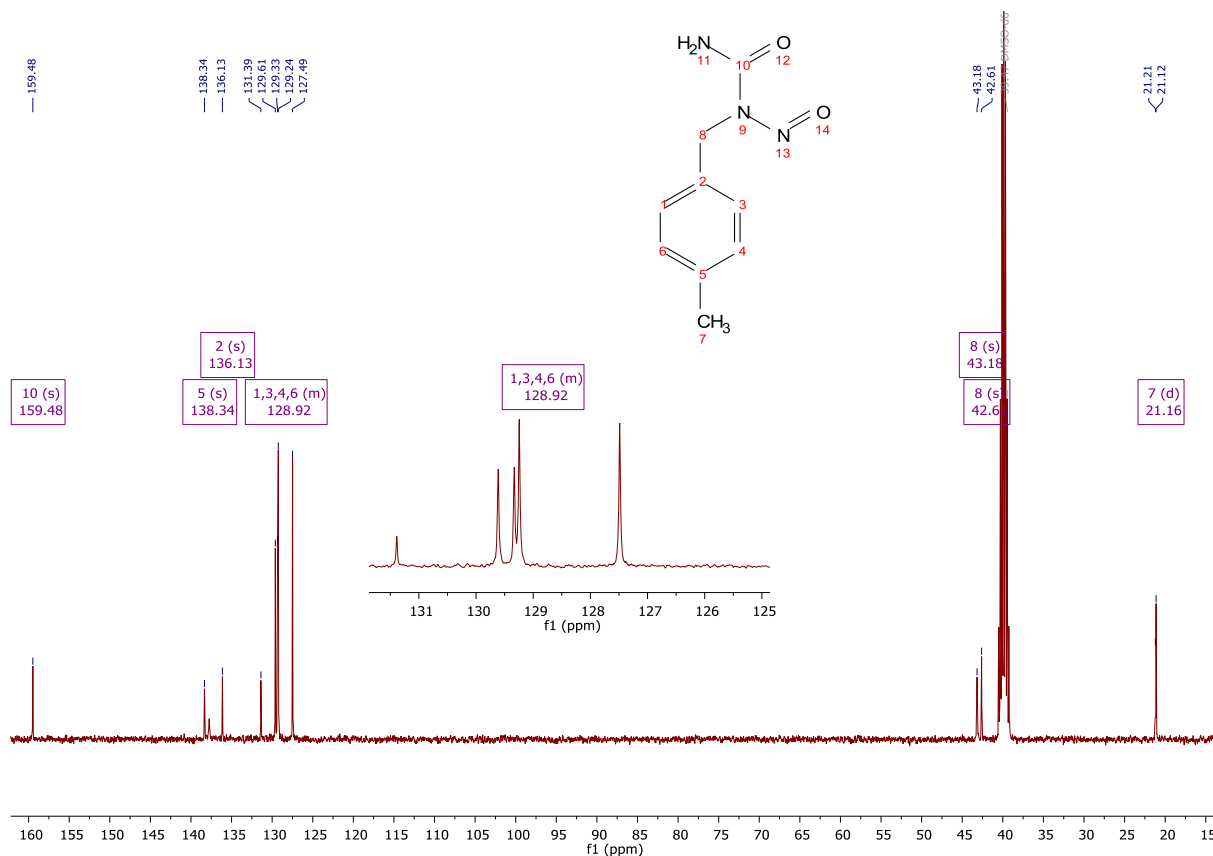


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) del LQM 804.

El singulete que aparece en 159.48 ppm corresponde a la señal del carbono del carbonilo (átomo 10) el cual se encuentra más desplazado hacia campos altos debido a la resonancia que existe en el grupo funcional amida.

Los carbonos equivalentes pertenecientes al anillo aromático (1,3 y 6,4) así como los carbonos saturados presentes en el anillo se encuentran en el rango que va desde 125-138 ppm, rango característico de este tipo de átomos.

A campos altos se observan dos singuletes (42.61 y 43.18ppm). La presencia de estas señales nuevamente se debe a la posible presencia de dos productos de reacción (como ya se ha mencionado anteriormente, posiblemente se trate del compuesto en cuestión, LQM 804 y a su isómero). Estas señales corresponden al átomo 8 de la molécula ya que es un rango característico de un metileno.

Finalmente, encontramos el desplazamiento característico del grupo metilo en 21.16 ppm.

6.3.7 Espectrometría de Masas LQM 804.

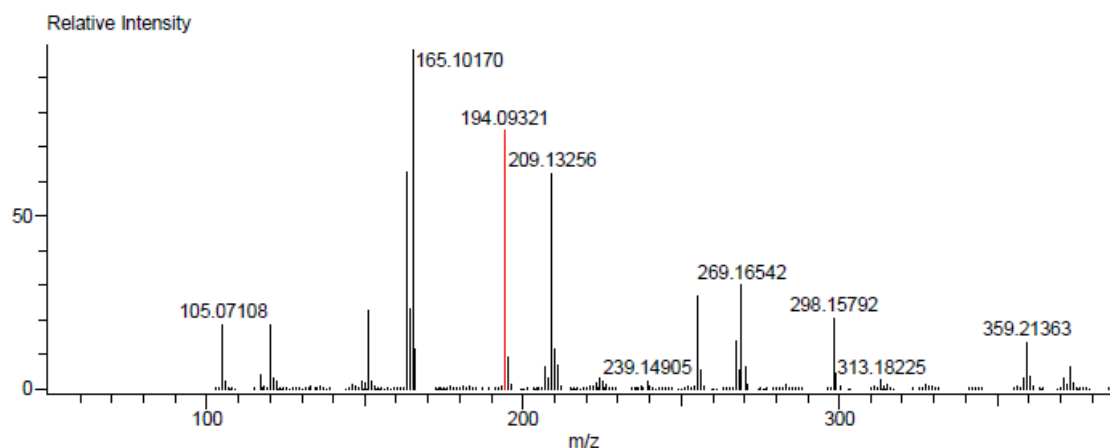
El siguiente espectro de masas (Figura 26) fue realizado utilizando la técnica DART y confirma la obtención de la materia prima esperada ya que se observa la presencia del pico en 194.09321 m/z con una abundancia relativa del 70% correspondiente al ion molecular, este valor es consistente con la masa molecular más una unidad del compuesto esperado.

Data:U-1425 DC-QD
 Sample Name:Dr. Marcos Hernandez / Diego Cruz
 Description:
 Ionization Mode:ESI+
 History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[1.0%];Smooth..

Acquired:3/27/2019 10:43:22 AM
 Operator:AccuTOF
 Mass Calibration data:Cal_Peg_600
 Created:3/28/2019 1:57:05 PM
 Created by:AccuTOF

Charge number:1
 Element:¹²C:1 .. 9, ¹H:1 .. 12, ¹⁴N:1 .. 3, ¹⁶O:1 .. 2

Tolerance:50.00(mmu)
 Unsaturation Number:0.0 .. 60.0 (Fracti...



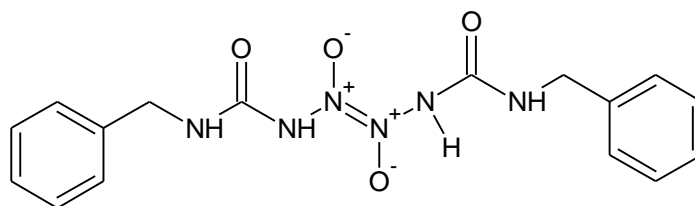
Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula
194.09321	199182.14	194.09295	0.26	1.34	¹² C ₉ ¹ H ₁₂ ¹⁴ N ₃ ¹⁶ O ₂

Figura 26. Espectro de masas del LQM 804

De acuerdo a los resultados mostrados anteriormente, tanto para las *N*-bencilureas como para las *N*-bencilnitrosoureas, todas las moléculas respectivas se lograron caracterizar mediante la espectroscopia IR y RMN (^1H y ^{13}C), aclarando que respecto a estas últimas dos, en el resto de los espectros no se evidenció la presencia del isómero correspondiente como lo fue con el LQM 804 sino que en ellos se obtuvo un único producto de reacción (ver apéndice espectroscópico). Ahora bien, a pesar de emplear la misma técnica espectroscópica que con las *N*-bencilureas, DART, sólo uno de los espectros (correspondiente a la 1-(4-metilbencil)-1-nitrosourea) coincidió el pico base con la masa molecular de la misma. Es por ello que es necesario fundamentar dichos resultados bajo el siguiente análisis:

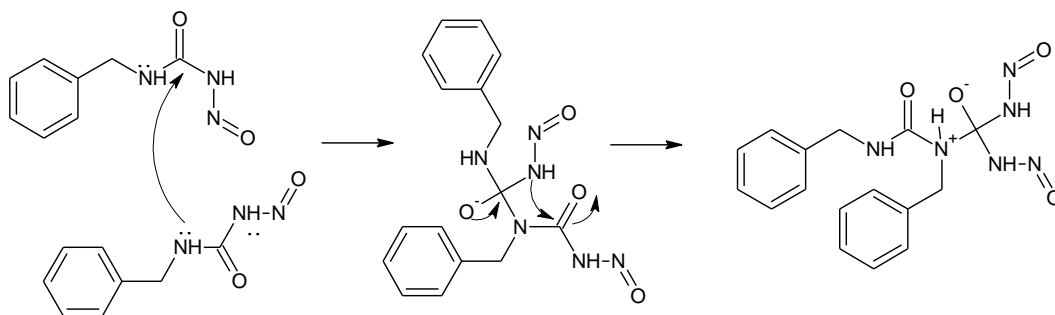
De acuerdo a la literatura⁵⁵, en algunos nitrosocompuestos aromáticos es factible que se presente un equilibrio entre monómeros y estructuras diméricas mediante un proceso de dimerización que no requiere condiciones especiales de iniciación. El uso del comportamiento de compuestos aromáticos nitrosados como tales modelos se basa principalmente en sus fuertes dimerizaciones dependientes de la estructura a azodióxidos. En la dimerización, las moléculas nitrosadas muestran su naturaleza ambivalente, durante la dimerización de un par de moléculas, una de ellas se comporta como el nucleófilo, pero el otro desempeña el papel del objetivo para la unión del nucleófilo, lo cual probablemente depende de la orientación espacial intermolecular. Sabiendo esto, cabe mencionar y tener presente que después de la síntesis de las *N*-Nitrosobencilureas, los espectros de masas se obtuvieron en cuestión de días después de su síntesis (1-(4-metilbencil)-1-nitrosourea) así como en cuestión de semanas (3-bencil-1-nitrosourea, 3-(2-clorobencil)-1-nitrosourea, 1-(4-fluorobencil)-1-nitrosourea) debido principalmente a contratiempos referentes a la disponibilidad del espectrómetro de masas. Claramente no sólo el tiempo sino también la temperatura (los compuestos sintetizados se mantuvieron a temperatura ambiente) fueron dos variables importantes e influyentes en los resultados obtenidos.

En el caso de la 3-bencil-1-nitrosourea, podemos suponer que el dímero formado es el siguiente:

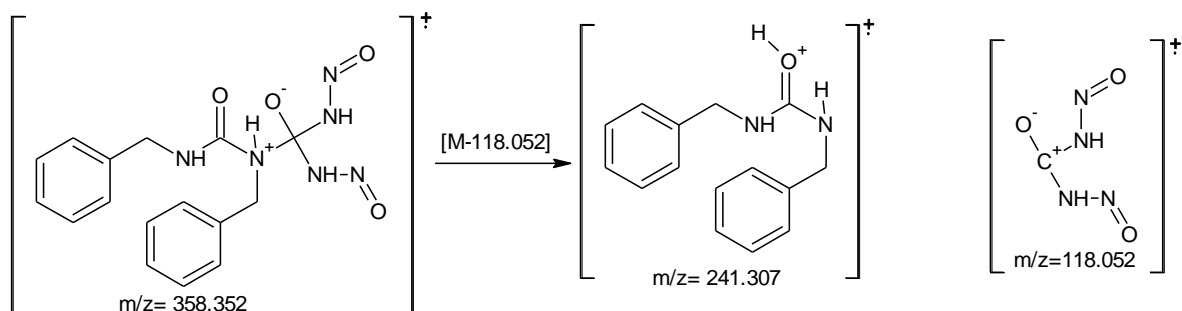


La molécula anterior (el dímero de la 1-bencil-3-nitrosourea) tiene un peso molecular de 358.35 g/mol. No obstante, en este caso, se plantea la formación de un dímero como consecuencia del ataque nucleofílico y posterior adición del nitrógeno más sustituido de la 3-bencil-1-nitrosourea

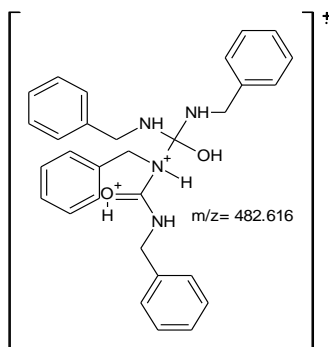
hacia el carbono del grupo carbonilo de una segunda molécula de 3-bencil-1-nitrosourea, tal como se ejemplifica a continuación:



De donde se obtienen los siguientes fragmentos:



Así mismo, al unirse dos moléculas del fragmento correspondiente a $m/z = 241.307$ se obtiene la siguiente estructura que corresponde a otro de los picos ($m/z = 482.616$):



Y, como observamos, el fragmento anterior explica el pico correspondiente de acuerdo a la Figura 27 correspondiente al espectro de masas del LQM 801 que se encuentra en la siguiente página.

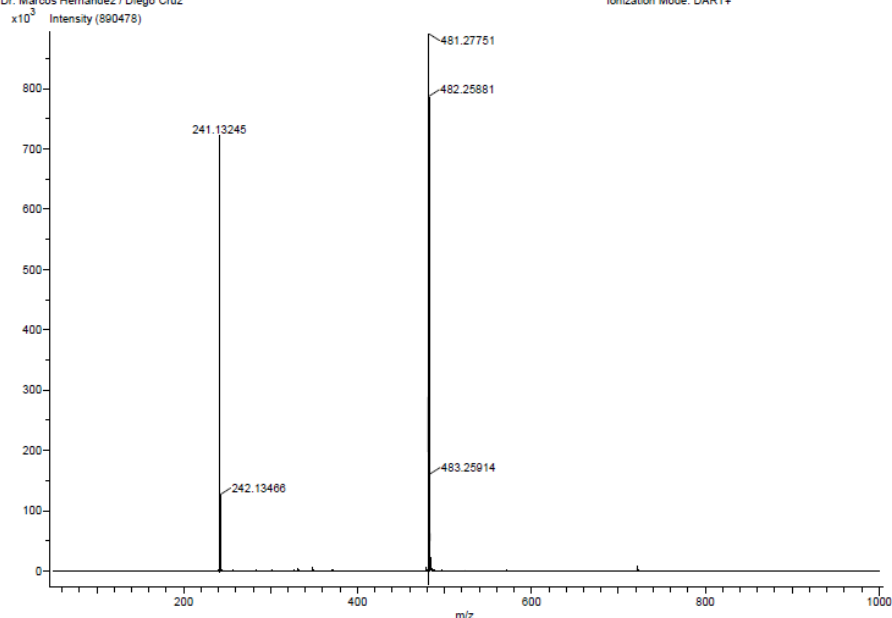
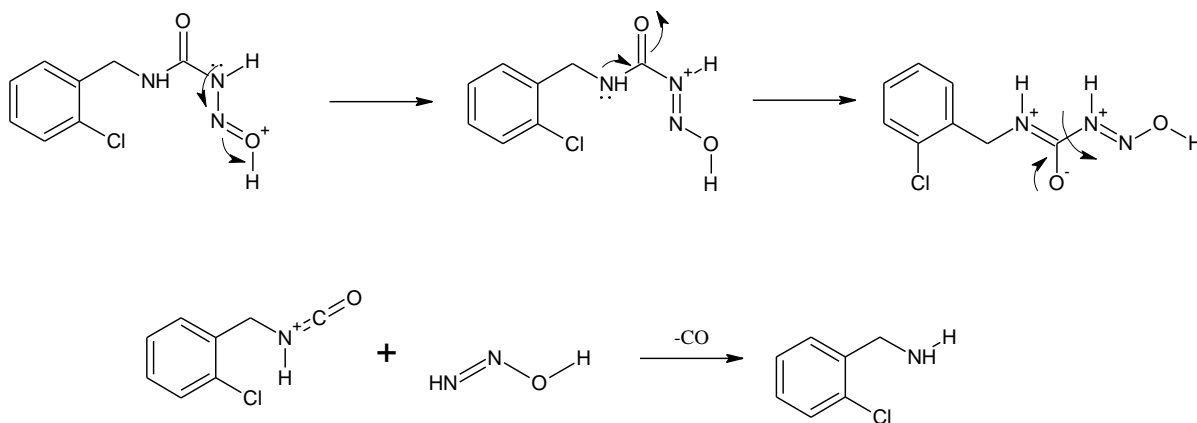
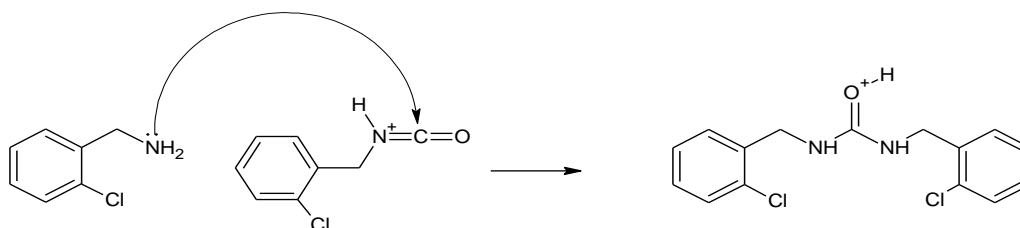


Figura 27. Espectro de masas del LQM 801.

Además de la propuesta planteada para la 3-bencil-1-nitrosoarea, ahora, tomando en cuenta que se trata de la 3-(2-clorobencil)-1-nitrosoarea se propone un mecanismo distinto de fragmentación en donde el primer paso consiste en la formación de un isocianato correspondiente de acuerdo al siguiente mecanismo:



Una vez formados estos productos de reacción, sucede una reacción entre la bencilamina y el isocianato que da como resultado una dibencilurea protonada (el método utilizado es DART, de ahí que se visualiza un protón de más en la estructura):



Esta molécula tiene una relación $m/z = 310.197$ que corresponde a uno de los picos mostrados en el espectro de masas más la unidad (Figura 28). Considerando que ocurre una dimerización

en esta molécula, se obtiene una molécula con $m/z = 620.39$ (^{35}Cl) y, considerando que el Cl tiene 9 isótopos, las relaciones de m/z que mostraría este compuesto corresponderían a los picos de 621.090 (^{36}Cl) y 622.0927 (^{37}Cl), no obstante, no se puede concluir claramente con la elucidación del resto de los picos observados bajo únicamente este análisis.

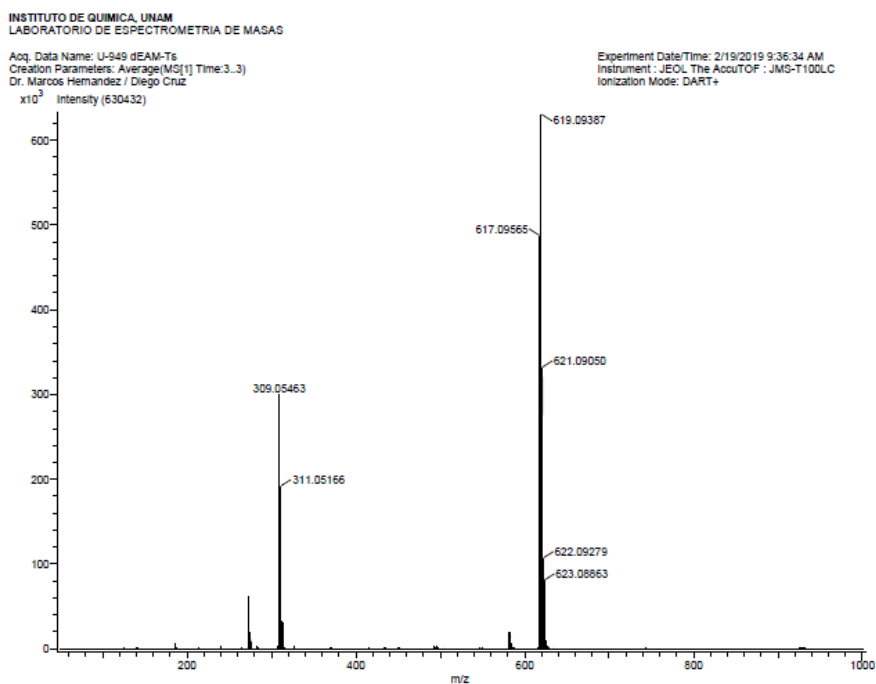


Figura 28. Espectro de masas del LQM 802.

De acuerdo al espectro de masas (obtenido por el método DART) que observamos para el caso de la presente molécula 1-(4-fluorobencil)-1-nitrosourea (Figura 29):

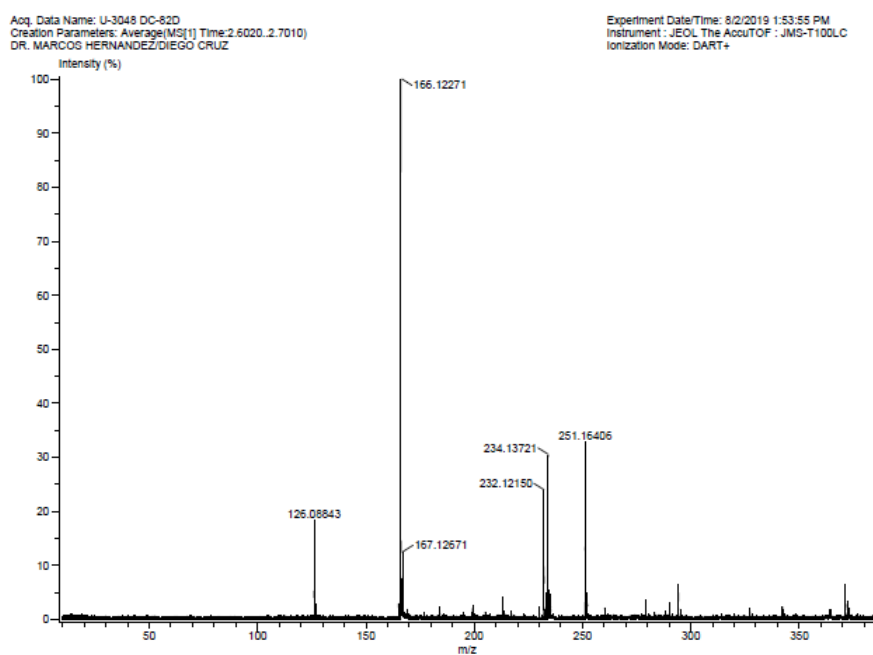
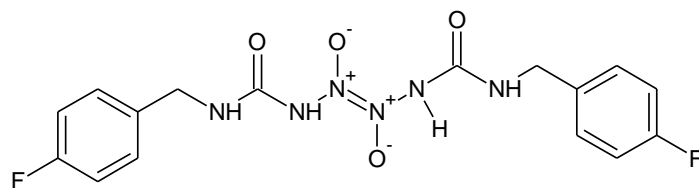
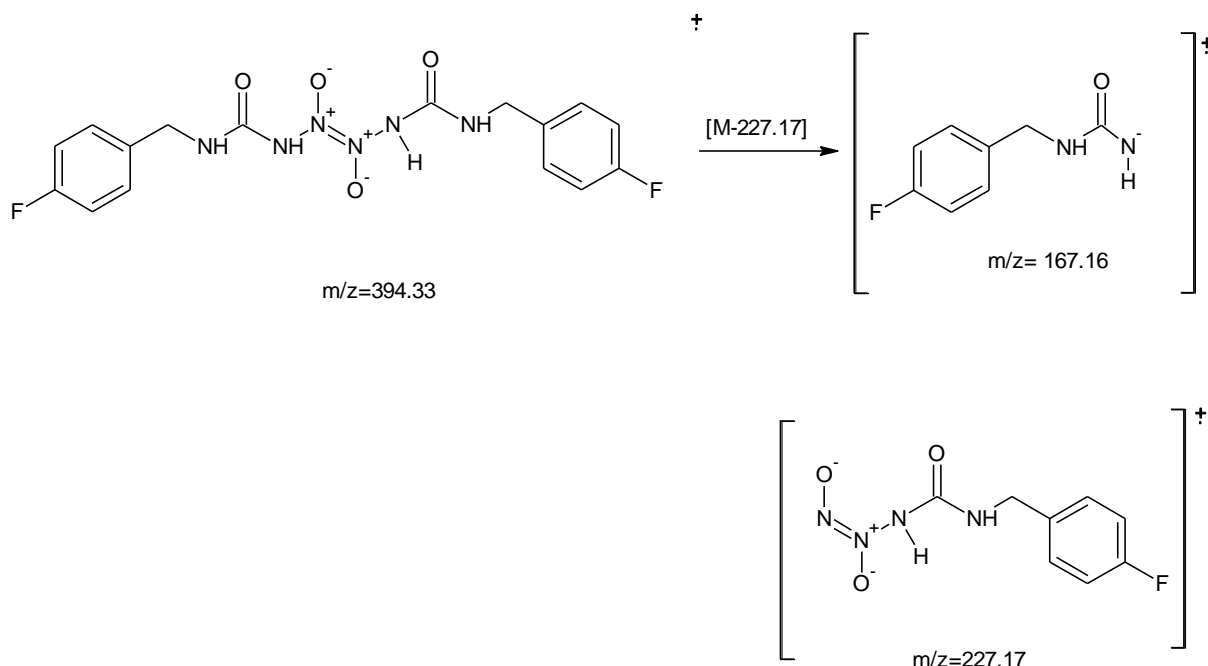


Figura 29. Espectro de masas del LQM 803.

En este caso, como podemos ver, la elucidación de la estructura no es clara, es decir, contemplando la hipótesis de que en este caso también se han formado dímeros, la estructura obtenida en teoría correspondería al tipo:



Donde la masa molecular de este dímero es de 394.33 g/mol, mismo valor que no concuerda con alguno de los picos obtenidos, sin embargo, al realizar una fragmentación como se muestra en la siguiente imagen obtenemos el pico correspondiente a $m/z = 167.16$:



Y, como observamos, el fragmento de $m/z = 167.16$ explica uno de los picos observados en la Figura 29.

Otro hecho interesante es que, en el caso de las *N*-bencilnitrosoureas observamos que tanto en el LQM 801 como en el LQM 802 la nitrosación se dio en el nitrógeno terminal de la molécula mientras que para el LQM 803 y LQM 804 dicha nitrosación aconteció en el nitrógeno más sustituido a pesar de que la metodología fue similar en todos los derivados. El efecto estérico es la clave para comprender este suceso debido a que el patrón observado es que las moléculas que tienen un sustituyente en posición *-para* al anillo se nitrosaron en el nitrógeno más sustituido no así en el caso de las moléculas *-orto* sustituidas, las cuales se nitrosaron en la posición del nitrógeno menos sustituido.

7. Conclusiones.

- Mediante una nueva metodología en condiciones de luz IR y en ausencia de disolvente se lograron obtener *N*-Bencilureas con rendimientos por encima del 80%.
- Se demostró que es posible sintetizar *N*-bencilnitrosoureas con la metodología empleada. Se obtuvieron bajos rendimientos y estabilidad variable.
- Todas las *N*-bencilureas y *N*-bencilnitrosoureas sintetizadas se caracterizaron mediante el empleo de distintas técnicas espectroscópicas como la Espectrofotometría IR, RMN (de ^1H y ^{13}C) y espectrometría de masas (EM-DART) como método de confirmación de la formación de los productos de interés.

8. Perspectivas.

El alcance de este trabajo engloba únicamente la síntesis orgánica de compuestos con posible actividad antineoplásica, específicamente, *N*-bencilnitrosoureas. Es por ello que se proponen como prospectivas lo siguiente:

- Llevar a cabo las correspondientes pruebas biológicas (MTT y CV, por ejemplo) en cada uno de los compuestos obtenidos y así, desmentir o confirmar su posible actividad antineoplásica.
- Realizar la optimización de los rendimientos obtenidos en la síntesis de los derivados nitrosados ya que a pesar de que sí se obtuvieron los compuestos esperados, los rendimientos de los mismos resultaron notablemente bajos y dada su estabilidad variable y su posible tendencia a dimerizarse, trabajar bajo condiciones de reacción en frío durante toda la síntesis hasta el almacenaje resulta un aspecto importante a considerar en caso de realizar nuevamente la síntesis.
- Con el objetivo de obtener una elucidación más completa de cada una de las moléculas obtenidas, se sugiere RMN de ^{15}N para esclarecer en qué posición se encuentran los nitrógenos.
- Realizar estudios teóricos utilizando las herramientas de la Química Computacional con el objetivo de estudiar más detalladamente la posible actividad biológica de esta clase de moléculas.

9. Referencias

- (1) Instituto Nacional del Cáncer. ¿Qué es el cáncer? <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>.
- (2) Ferguson, L. N. Cancer. How can chemists help? *J. Chem. Educ.* **2009**, 52 (11), 688. <https://doi.org/10.1021/ed052p688>.
- (3) De Robertis, Eduardo; Hib, J. *Fundamentos de Biología Celular y Molecular de Robertis*, 4^o ed.; Ateneo, E. El, Ed.; 2004.
- (4) Instituto Nacional del Cáncer. Estadísticas del cáncer <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/estadisticas>.
- (5) Sociedad Mexicana de Oncología A.C. Prevención y diagnóstico oportuno en cáncer.; 2016.
- (6) American Cancer Society. Quimioterapia <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento/quimioterapia.html>.
- (7) Carrillo, J. A.; Munoz, C. A. Alternative Chemotherapeutic Agents: Nitrosoureas, Cisplatin, Irinotecan. *Neurosurg. Clin. N. Am.* **2012**, 23 (2), 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2012.01.005>.
- (8) Zolfigol, M. A.; Eisenbrand, G.; Fiebig, H. H.; Zeller, W. J.; Crider, A. M.; Kolczynski, T. M.; Yates, K. M.; Hansch, C.; Leo, A.; Schmidt, C.; et al. The Chemistry of the N-Alkyl-N-nitrosoamides. II. A New Method for the Deamination of Aliphatic Amines. *J. Med. Chem.* **1980**, 77 (22), 1095–1101. <https://doi.org/10.1007/BF00286946>.
- (9) Agarwal, S.; Ray, B.; Mehrotra, R. SERS as an advanced tool for investigating chloroethyl nitrosourea derivatives complexation with DNA. *Int. J. Biol. Macromol.* **2015**, 81, 891–897. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.09.024>.
- (10) Contreras, L. E. Epidemiología de Tumores Cerebrales. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **2017**. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2017.05.001>.
- (11) Alberts, Bruce; Johnson, Alexander; Lewis, Julian; Raff, Martin; Roberts, Keith; Walters, P. *Biología Molecular de la Célula*, 5^o.; Omega, Ed.; Barcelona, 2010.
- (12) Arce, D. D. Óxido Nítrico, Mutagénesis Y Cáncer. *Rev. Cuba. Investig. Biomed.* **2004**, 23 (3), 184–189.
- (13) Curtis, A., Schnek, H. *Invitación a la Biología en contexto social*, 7ed ed.; Médica-Panamericana, 2016.
- (14) Bravo, C., Fresquet, V., Calvo, A. Ciclo celular y destinos vitales de la célula. En *Biología celular biomédica*; 2015; pp 321–344.
- (15) Alkylating Agents <https://livertox.nih.gov/AlkylatingAgents.htm> (accessed may 13,

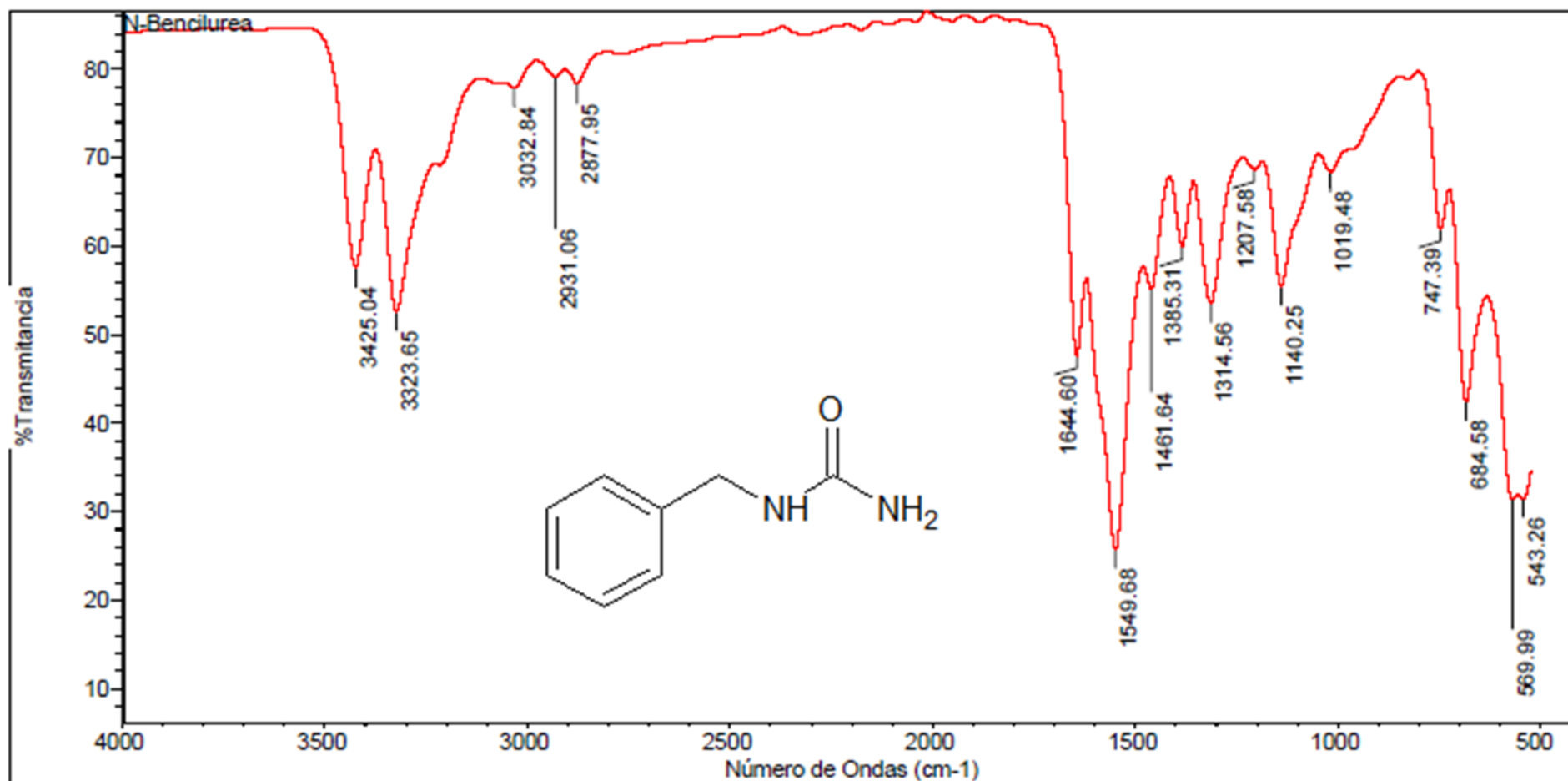
- 2019).
- (16) Ralhan, R.; Kaur, J. Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2007**, *17* (9), 1061–1075. <https://doi.org/10.1517/13543776.17.9.1061>.
 - (17) Calvo, E., Chris, H. Principles of Oncologic Pharmacotherapy: Page 2 of 4. <https://www.cancernetwork.com/articles/principles-oncologic-pharmacotherapy/page/0/1> (accessed may 13, 2019).
 - (18) Saffhill, R.; Margison, G. P.; Connor, P. J. O. Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents. **1985**, *823*, 111–145.
 - (19) Warwick, G. P.; Warwick, G. P. The Mechanism of Action of Alkylating Agents The Mechanism of Action of Alkylating Agents. **1963**, 1315–1333.
 - (20) American Cancer Society. Cómo funcionan los medicamentos de quimioterapia. <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento/quimioterapia/como-funcionan-los-medicamentos-de-quimioterapia.html>.
 - (21) Chemocare. Cisplatino <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/cisplatino.aspx> (accessed may 14, 2019).
 - (22) Soffiatti, R.; Trevisan, E.; Ruda, R. Neurologic complications of chemotherapy and other newer and experimental approaches. *Handb. Clin. Neurol.* **2014**, *121*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4088-7.00080-8>.
 - (23) Oncohealth Institute. Ciclofosfamida <http://www.oncohealth.eu/es/area-paciente/cancer/informacion-soporte-paciente/informacion-general/tratamiento/quimioterapia/listado-farmacos/ciclofosfamida> (accessed may 13, 2019).
 - (24) Chemocare. Mechlorethamine <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/mechlorethamine.aspx> (accessed may 13, 2019).
 - (25) Oncohealth Institute. Ifosfamida <http://www.oncohealth.eu/es/area-paciente/cancer/informacion-soporte-paciente/informacion-general/tratamiento/quimioterapia/listado-farmacos/ifosfamida> (accessed may 13, 2019).
 - (26) Chemocare. Leukeran <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/leukeran.aspx> (accessed may 13, 2019).
 - (27) Chemocare. Altretamina <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/altretamina.aspx> (accessed may 13, 2019).
 - (28) Chemocare. Tiotepa <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/tiotepa.aspx> (accessed may 13, 2019).
 - (29) Instituto Nacional del Cáncer. Lomustina

- <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/lomustina> (accessed may 13, 2019).
- (30) Instituto Nacional del Cáncer. Carmustina <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/carmustina> (accessed may 13, 2019).
- (31) Chemocare. Estreptozocina <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/estreptozocina.aspx> (accessed may 13, 2019).
- (32) Oncohealth Institute. Dacarbazina <http://www.oncohealth.eu/es/area-paciente/cancer/informacion-soporte-paciente/informacion-general/tratamiento/quimioterapia/listado-farmacos/dacarbazina>.
- (33) Chemocare. Temozolomide <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/temozolomide.aspx>.
- (34) Chemocare. Busulfán <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/busulfaacuten.aspx>.
- (35) Chemocare. Cisplatino <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/cisplatino.aspx>.
- (36) Oncohealth Institute. Carboplatino <http://www.oncohealth.eu/es/area-paciente/cancer/informacion-soporte-paciente/informacion-general/tratamiento/quimioterapia/listado-farmacos/carboplatino>.
- (37) Chemocare. Oxaliplatino <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/oxaliplatino.aspx>.
- (38) Coyne, S.; Carty, M. P. Enhanced DNA-PK-mediated RPA2 hyperphosphorylation in DNA polymerase η -deficient human cells treated with cisplatin and oxaliplatin. *DNA Repair (Amst)*. **2008**, *7*, 582–596. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2007.12.012>.
- (39) Wang, C. H.; Hsieh, T. H.; Lin, C. C.; Yeh, W. H.; Lin, C. A.; Chien, T. C. One-Pot Synthesis of N-Monosubstituted Ureas from Nitriles via Tiemann Rearrangement. *Synlett* **2015**, *26* (13), 1823–1826. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1381007>.
- (40) Artuso, E.; Degani, I.; Fochi, R.; Magistris, C. Preparation of mono-, di-, and trisubstituted ureas by carbonylation of aliphatic amines with S,S-dimethyl dithiocarbonate. *Synthesis (Stuttg)*. **2007**, Núm. 22, 3497–3506. <https://doi.org/10.1055/s-2007-990813>.
- (41) Nasrollahzadeh, M.; Maham, M.; Mohammad Sajadi, S. Green synthesis of CuO nanoparticles by aqueous extract of *Gundelia tournefortii* and evaluation of their catalytic activity for the synthesis of N-monosubstituted ureas and reduction of 4-nitrophenol. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *455*, 245–253.

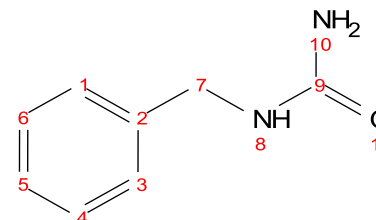
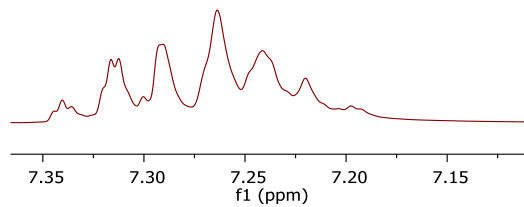
- <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.05.045>.
- (42) Pasha, M. A.; Jayashankara, V. P. Efficient synthesis of N,N'-disubstituted ureas/thioureas catalyzed by iodine. *Synth. Commun.* **2006**, *36* (12), 1787–1793. <https://doi.org/10.1080/00397910600619127>.
- (43) De Luca, L.; Porcheddu, A.; Giacomelli, G.; Murgia, I. Microwave-assisted synthesis of N-monosubstituted urea derivatives. *Synlett* **2010**, Núm. 16, 2439–2442. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1258553>.
- (44) Inaloo, I. D.; Majnooni, S.; Esmaeilpour, M. Superparamagnetic Fe₃O₄ Nanoparticles in a Deep Eutectic Solvent: An Efficient and Recyclable Catalytic System for the Synthesis of Primary Carbamates and Monosubstituted Ureas. *European J. Org. Chem.* **2018**, *2018* (26), 3481–3488. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201800581>.
- (45) Atkinson, B. N.; Chhatwal, A. R.; Lomax, H. V.; Walton, J. W.; Williams, J. M. J. Transamidation of primary amides with amines catalyzed by zirconocene dichloride. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (95), 11626–11628. <https://doi.org/10.1039/c2cc37427g>.
- (46) Avendano, C.; Menéndez, J. C. *Epigenetics targets for cancer*; 2008.
- (47) Dulude, H.; Salvador, R.; Gallant, G.; Pharmacy, F. Chemical stability of new urea and nitroso-urea derivatives of diamino acids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4* (22), 2697–2700.
- (48) Neog, B.; Sinha, S.; Bhattacharyya, P. K. Alkylation of DNA by nitrogen mustards: A DFT study. *Comput. Theor. Chem.* **2013**, *1018*, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2013.06.002>.
- (49) Roop, R. *Group 15 (N, P, As, Sb and Bi) Alkaline Earth Compounds*; 2013; Vol. 15. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59550-8.00004-1>.
- (50) García-Prieto, J. C.; Mateos, R.; Calle, E.; Casado, J. Inhibition of Nitrosation by the Reaction Medium. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46* (9), 3517–3520. <https://doi.org/10.1021/jf980306d>.
- (51) Colditz, G. A. American Brain Tumor Association. *SAGE Encycl. Cancer Soc.* **2015**. <https://doi.org/10.4135/9781483345758.n30>.
- (52) Geissman, T. A. *Principios de química orgánica*; Reverté, 1973.
- (53) Silverstein - Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th ed.pdf.
- (54) Pretsch, E. *Structure Determination of Organic Compounds*, 2a ed.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1989.
- (55) Vancik, H. *Aromatic C-nitroso Compounds*; Springer, 2013.

APÉNDICE ESPECTROSCÓPICO

- Espectro de infrarrojo de la 1-bencilurea.
- Espectro RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) de la 1-bencilurea.
- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) de la 1-bencilurea.
- Espectro de masas de la 1-bencilurea.
- Espectro de infrarrojo de la 1-(2-clorobencil)urea.
- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) de la 1-(2-clorobencil)urea.
- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) de la 1-(2-clorobencil)urea.
- Espectro de masas de la 1-(2-clorobencil)urea.
- Espectro de infrarrojo de la 1-(4-fluorobencil)urea.
- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) de la 1-(4-fluorobencil)urea.
- Espectro RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) de la 1-(4-fluorobencil)urea
- Espectro de masas de la 1-(4-fluorobencil)urea.
- Espectro de infrarrojo del LQM 801.
- Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) del LQM 801.
- Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) del LQM 801.
- Espectro de infrarrojo del LQM 802.
- Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) del LQM 802.
- Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) del LQM 802.
- Espectro de infrarrojo del LQM 803.
- Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) del LQM 803.
- Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) del LQM 803.



Espectro de infrarrojo de la 1-bencilurea.

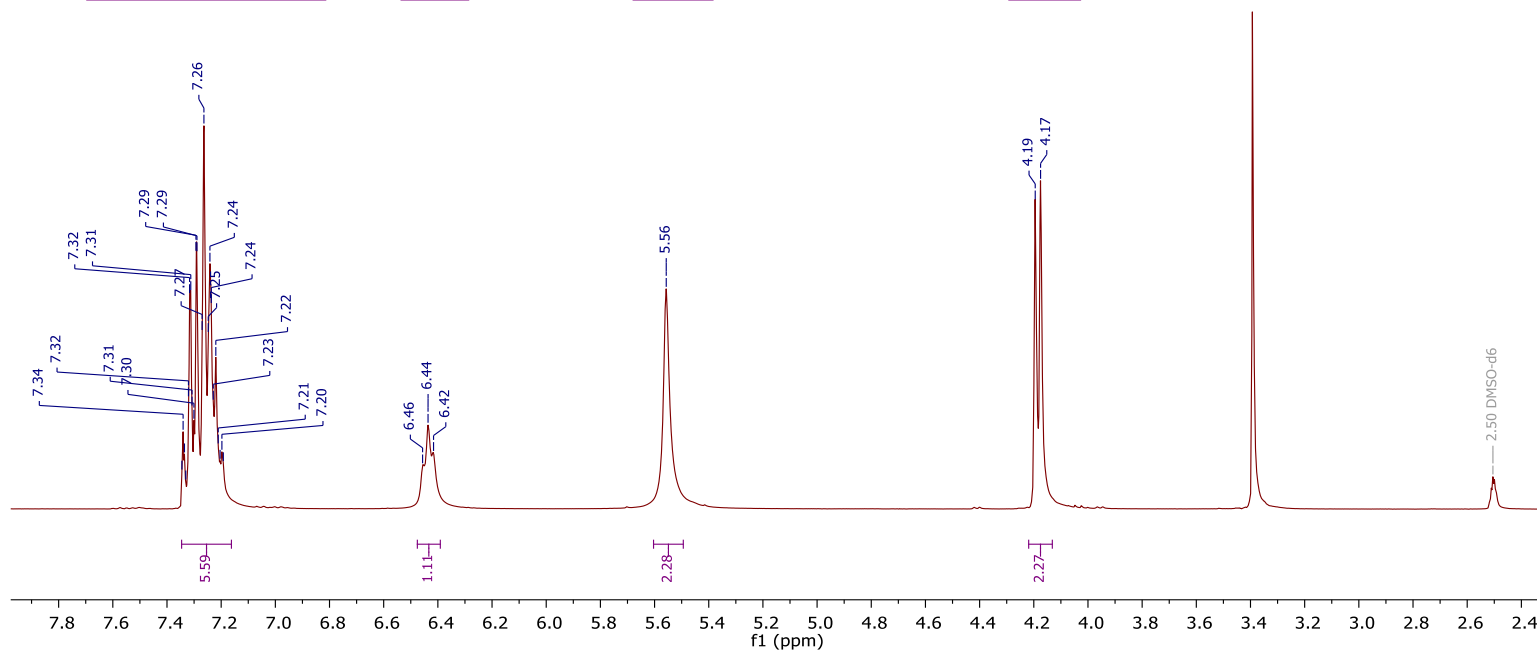


H-6, H-4, H-1, H-3, H-5 (m)
7.28

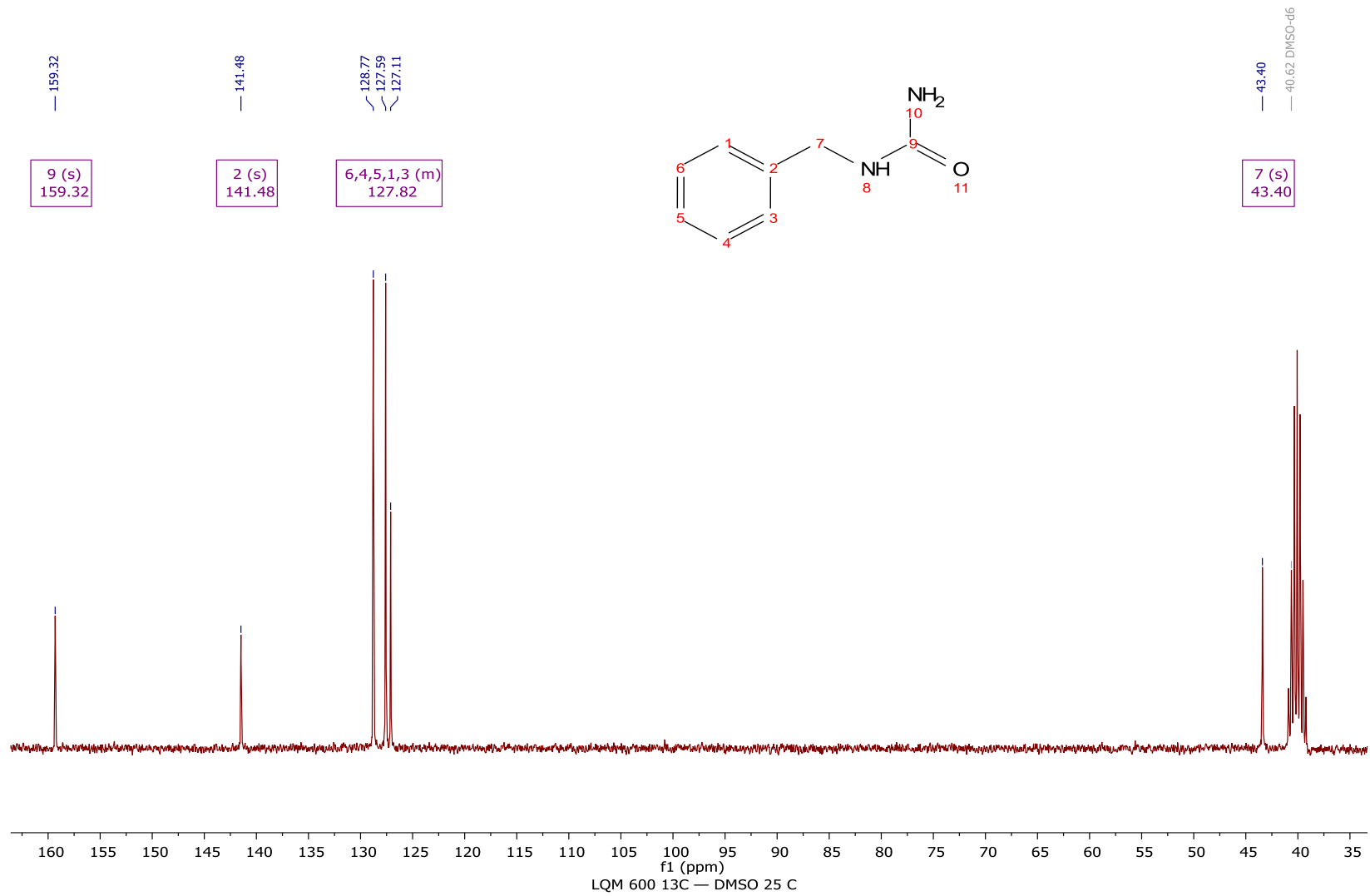
H-8 (t)
6.44

H-10 (s)
5.56

H-7 (d)
4.18



Espectro RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) de la 1-bencilurea.



Espectro de RMN ¹³C (DMSO-d₆, 125 MHz) de la 1-bencilurea.

Data:U-946 DC-71D

Sample Name:Dr. Marcos Hernandez / Diego Cruz

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[1.0%];Smooth..

Acquired:2/19/2019 9:24:21 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_Peg_600

Created:2/19/2019 9:47:15 AM

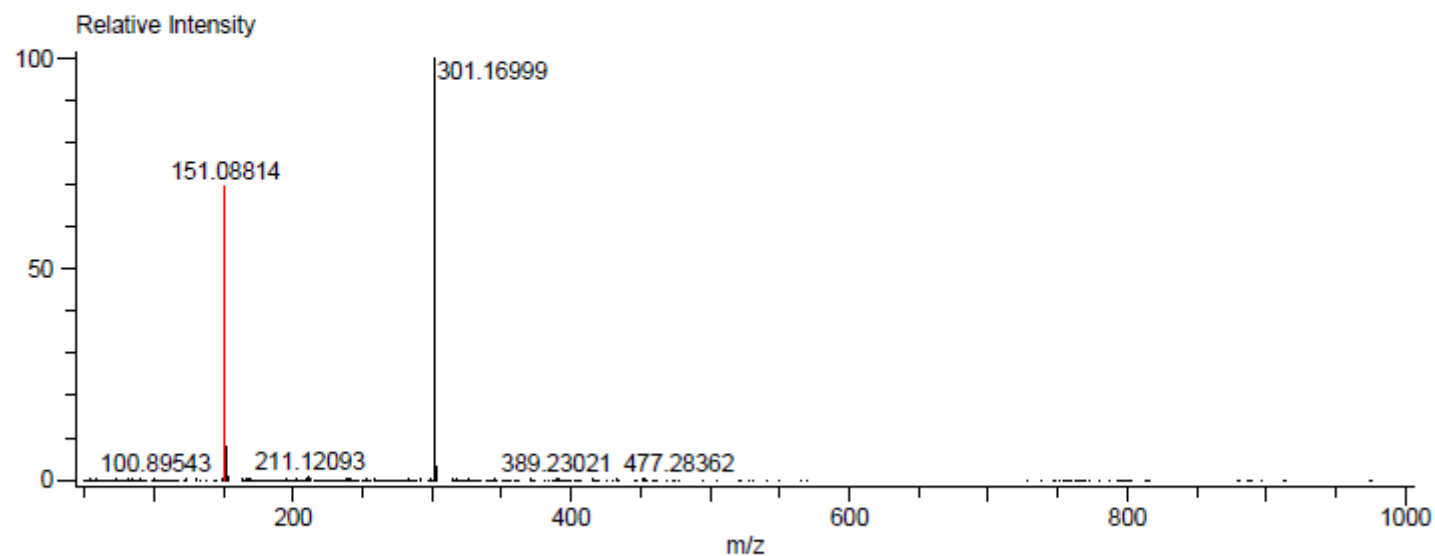
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:200.00(ppm), 5.00 .. 15.00(...

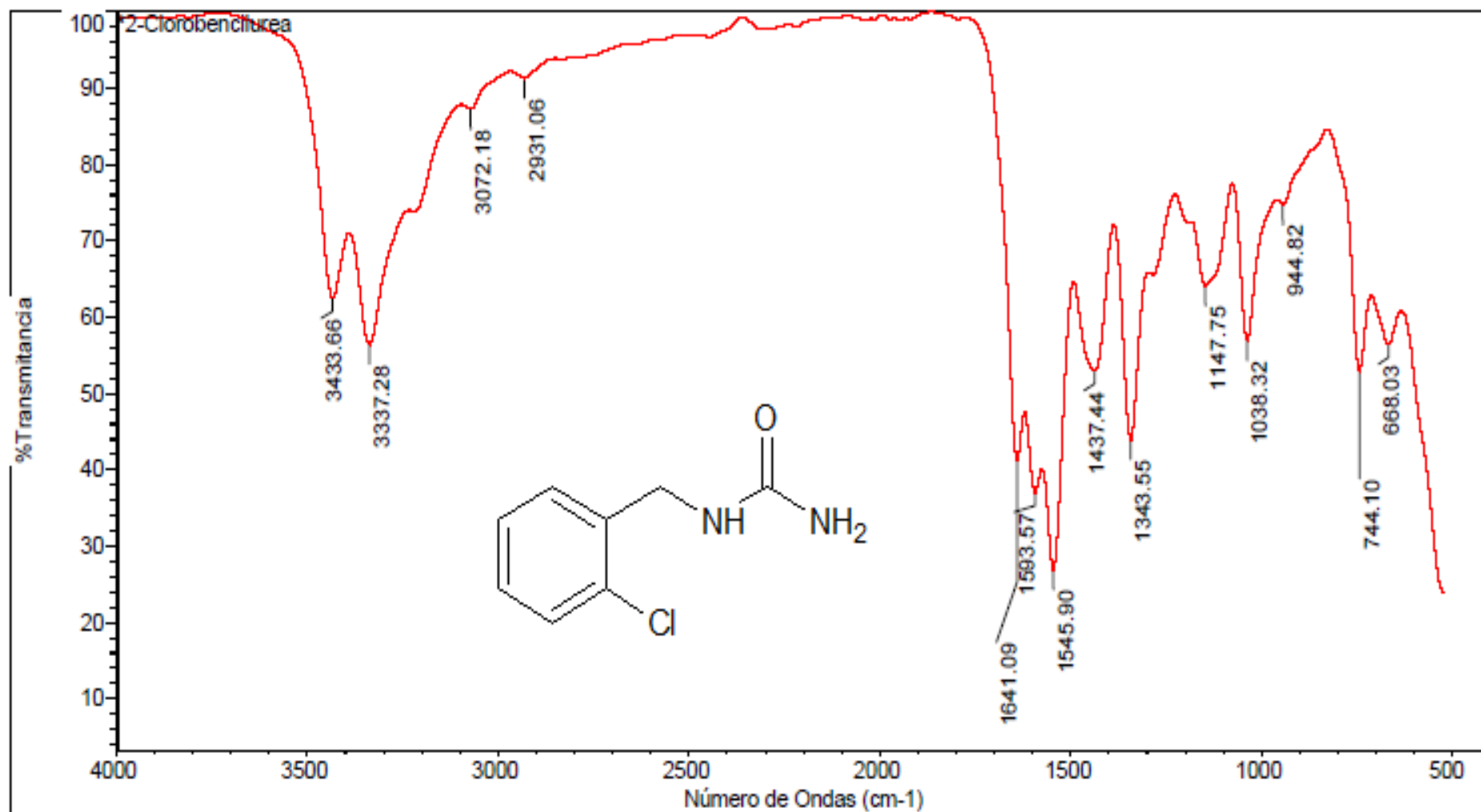
Unsaturation Number:0.0 .. 40.0 (Fracti...

Element:¹²C:1 .. 16, ¹H:1 .. 23, ¹⁴N:1 .. 2, ¹⁶O:1 .. 4

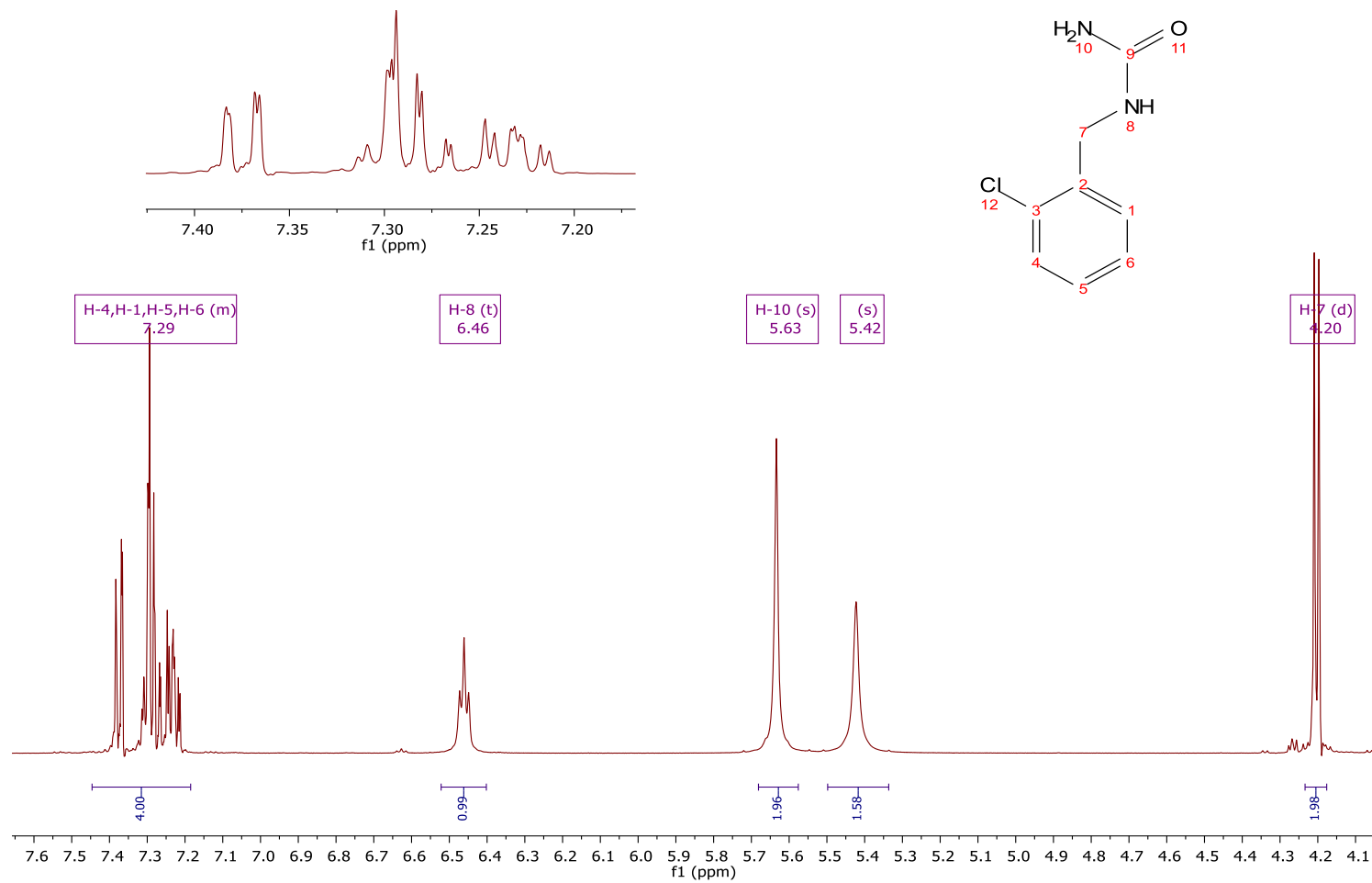


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula
151.08814	2325759.58	151.08714	1.00	6.61	¹² C ₈ ¹ H ₁₁ ¹⁴ N ₂ ¹⁶ O ₁

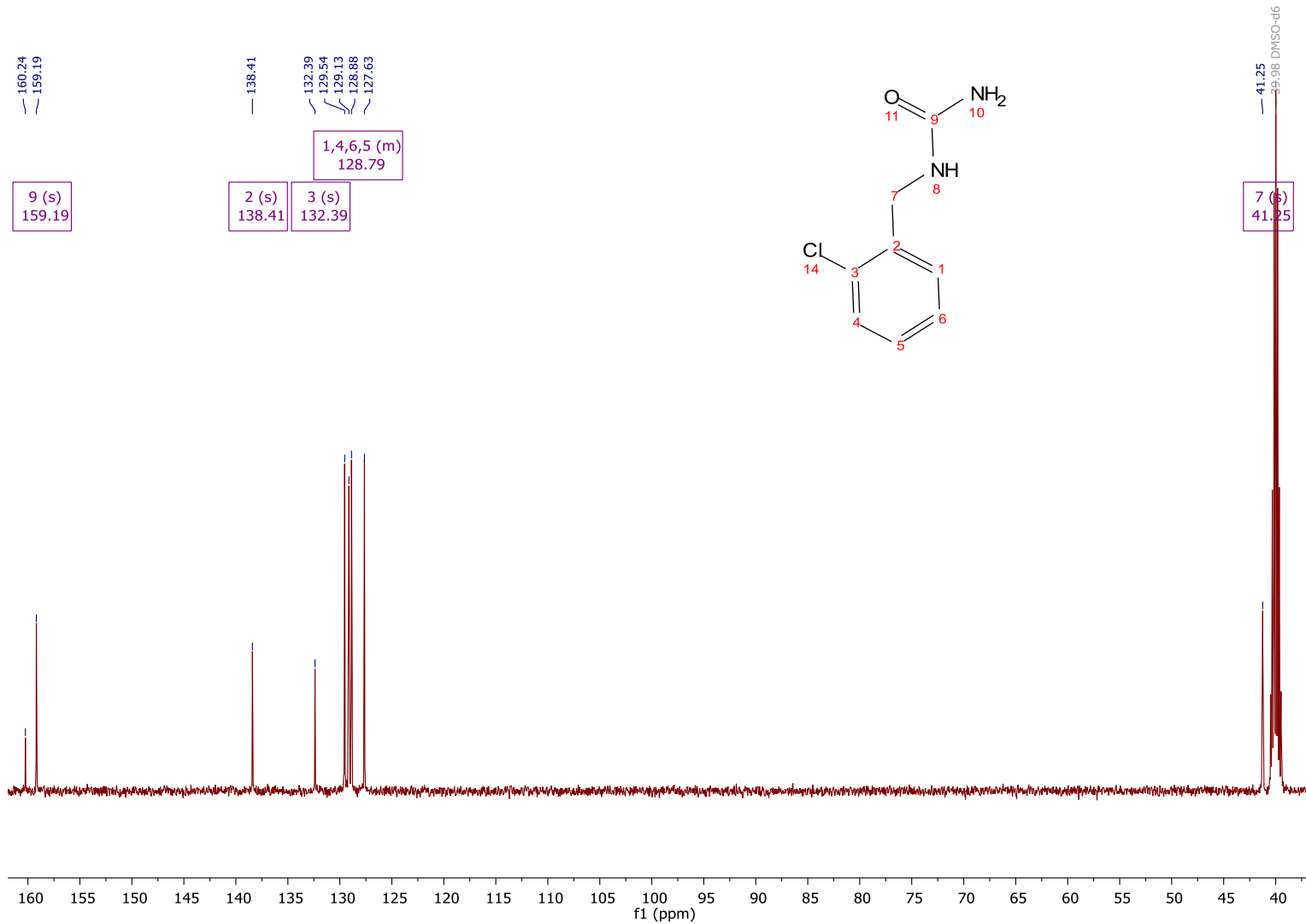
Espectro de masas de la 1-bencilurea.



Espectro de infrarrojo de la 1-(2-clorobencil)urea.



Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) de la 1-(2-clorobencil)urea.



Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) de la 1-(2-clorobencil)urea.

Data:U-947 DC-c72B

Sample Name:Dr. Marcos Hernandez / Diego Cruz

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[1.0%];Smooth..

Acquired:2/19/2019 9:28:05 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal_Peg_600

Created:2/20/2019 12:51:28 PM

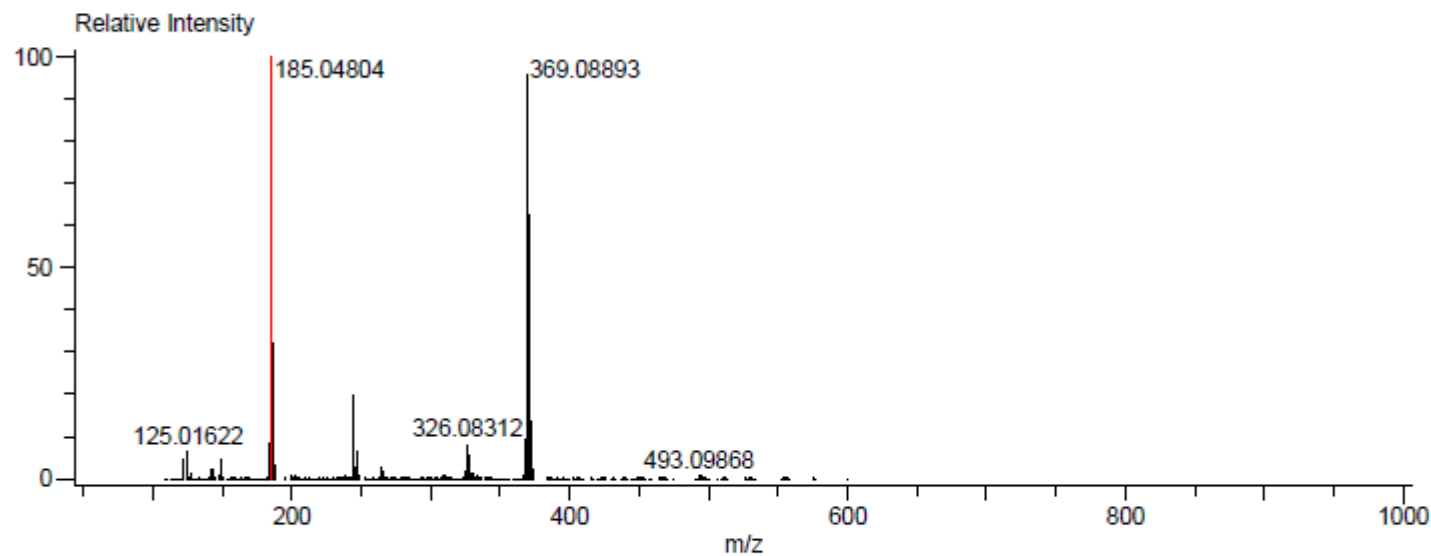
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:30.00(mmu)

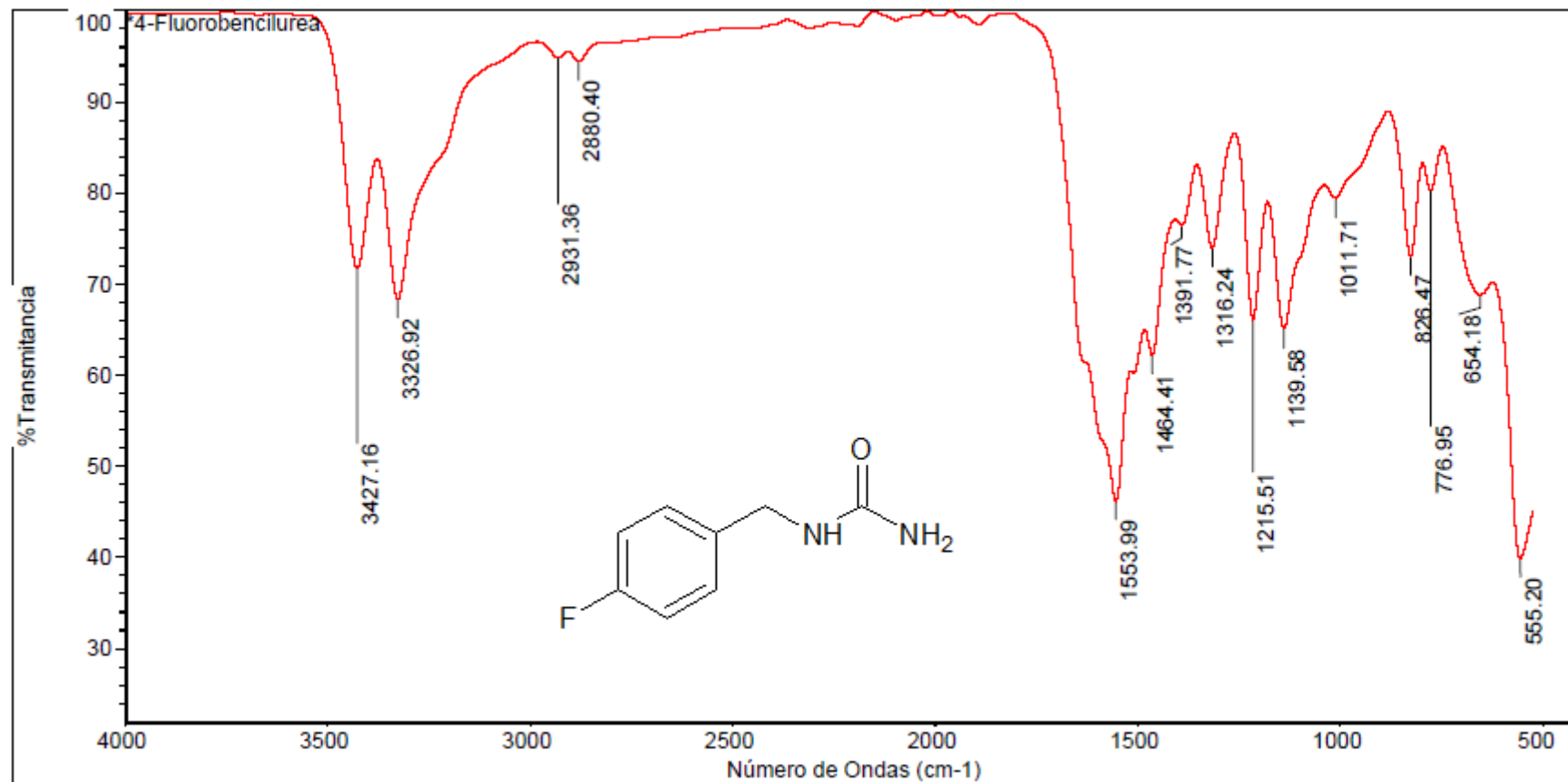
Unsaturation Number:0.0 .. 25.0 (Fracti...

Element:¹²C:1 .. 8, ¹H:1 .. 10, ³⁵Cl:1 .. 1, ¹⁴N:0 .. 2, ¹⁶O:0 .. 1

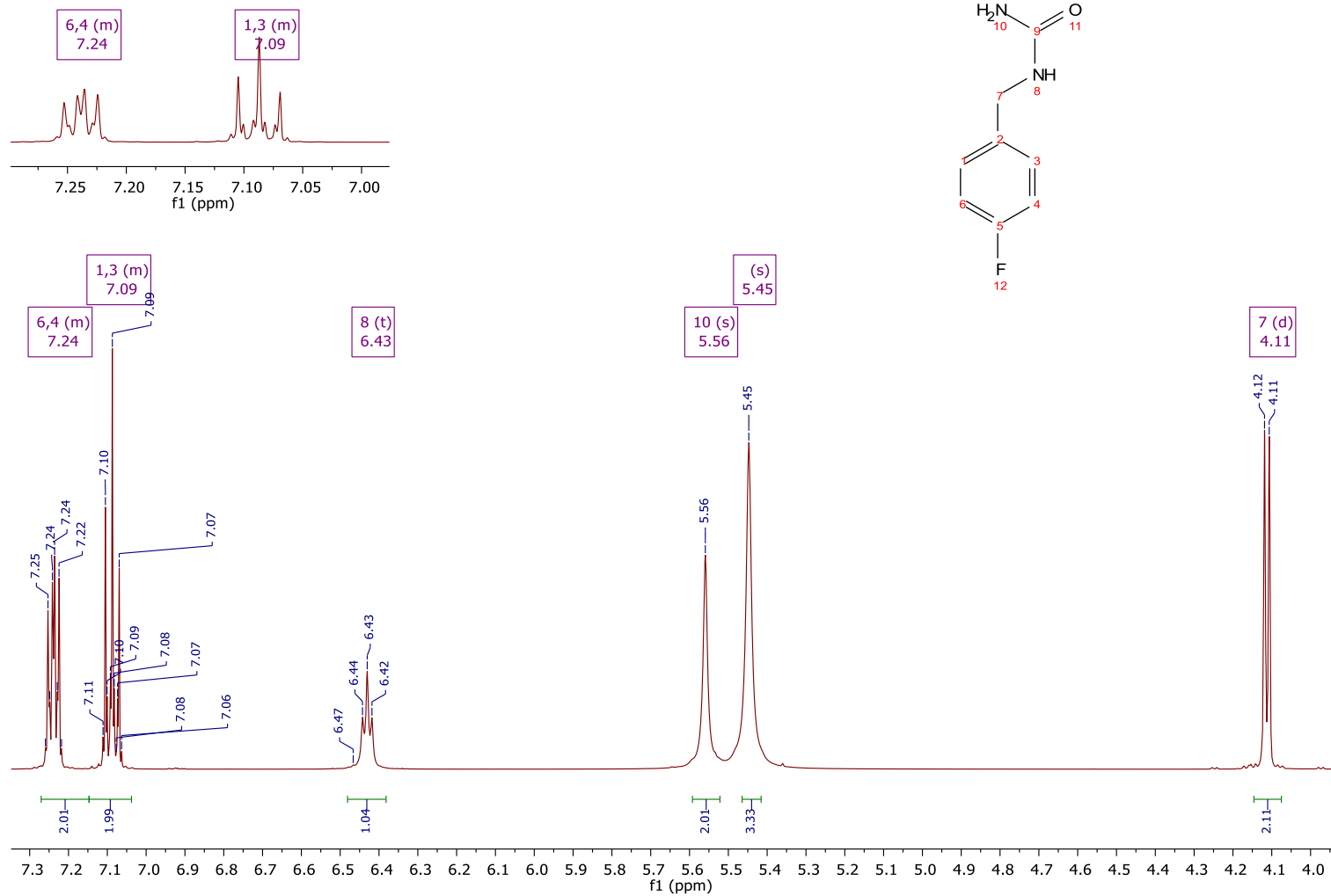


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula
185.04804	1015111.68	185.04817	-0.12	-0.68	¹² C ₈ ¹ H ₁₀ ³⁵ Cl ₁ ¹⁴ N ₂ ¹⁶ O ₁

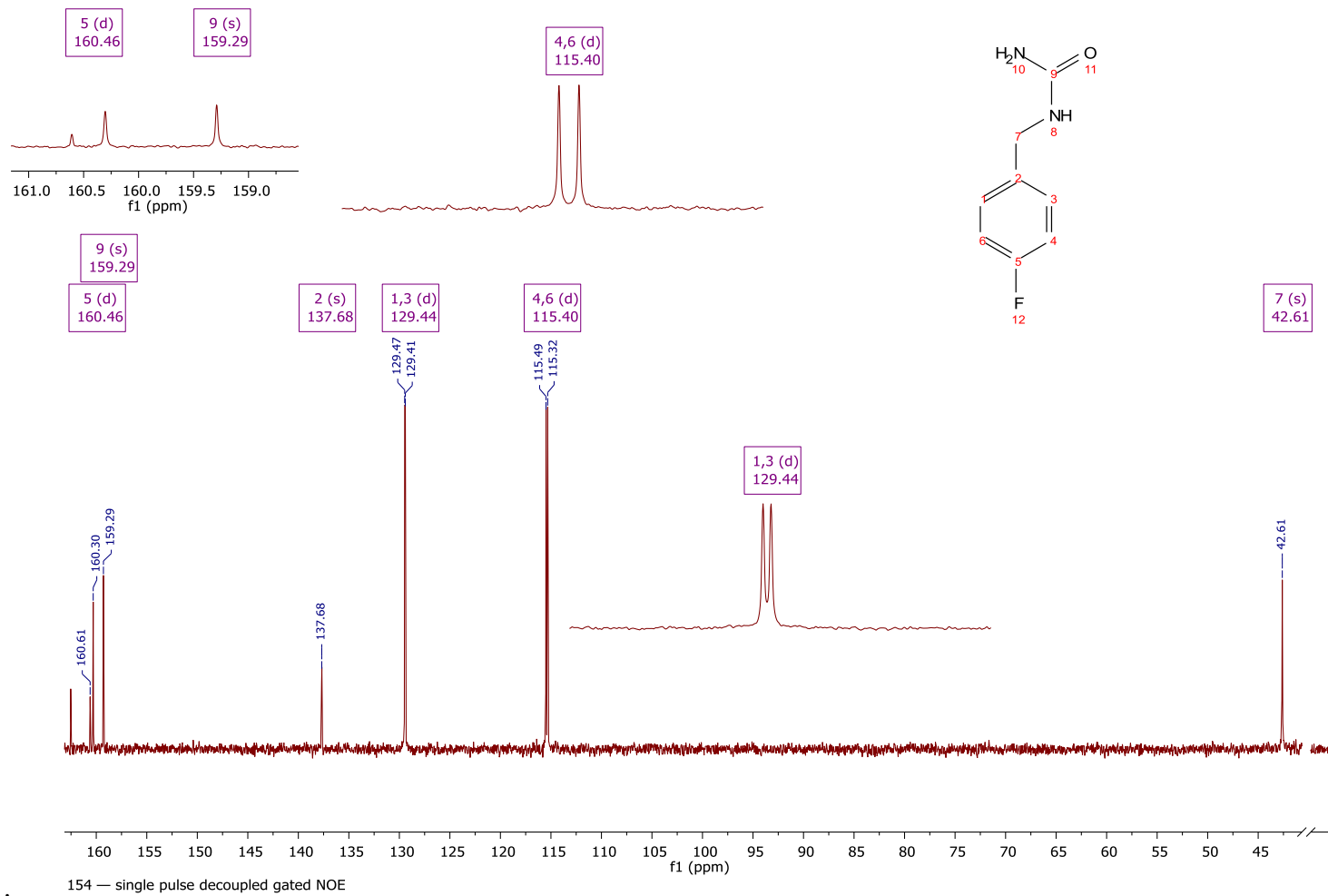
Espectro de masas de la 1-(2-clorobencil)urea.



Espectro de infrarrojo de la 1-(4-fluorobencil)urea.



Espectro de RMN ^1H (DMSO-d_6 , 500 MHz) de la 1-(4-fluorobencil)urea.



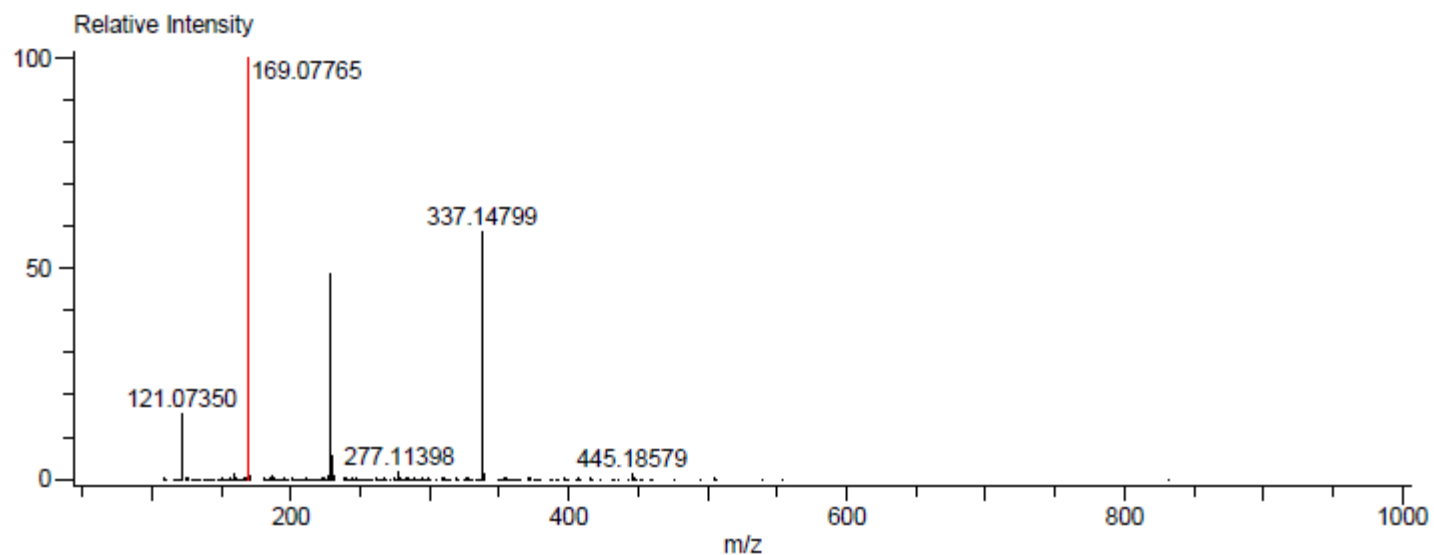
Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) de la 1-(4-fluorobencil)urea.

Data:U-948 dEAM-Ms
 Sample Name:Dr. Marcos Hernandez / Diego Cruz
 Description:
 Ionization Mode:ESI+
 History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[1.0%];Smooth..

Acquired:2/19/2019 9:32:04 AM
 Operator:AccuTOF
 Mass Calibration data:Cal_Peg_600
 Created:2/20/2019 12:54:46 PM
 Created by:AccuTOF

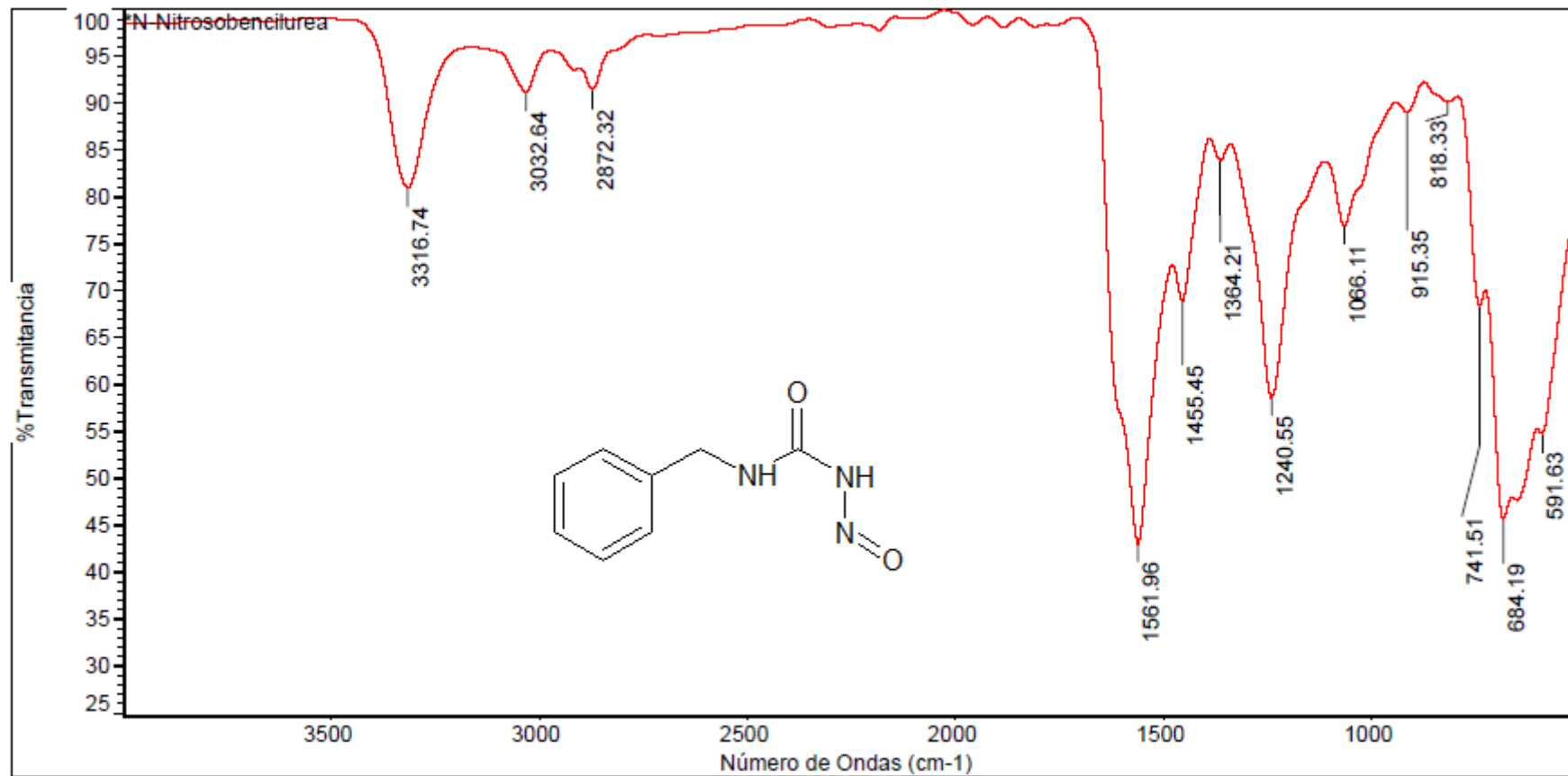
Charge number:1 Tolerance:30.00(mmu)
 Element:¹²C:1 .. 8, ¹H:1 .. 10, ¹⁹F:1 .. 1, ¹⁴N:0 .. 2, ¹⁶O:0 .. 1

Unsaturation Number:0.0 .. 25.0 (Fracti...

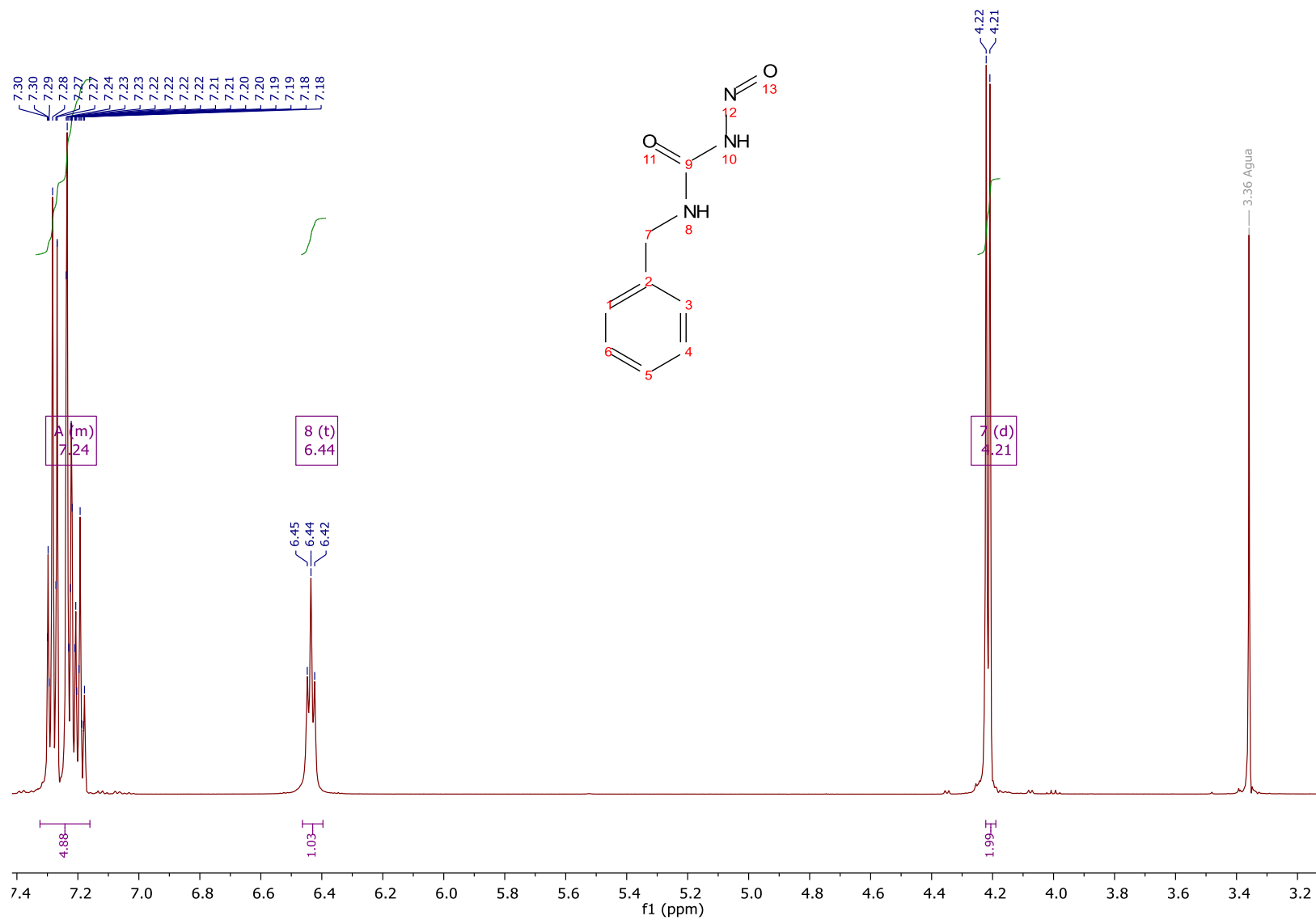


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula
169.07765	1828353.20	169.07772	-0.06	-0.38	¹² C ₈ ¹ H ₁₀ ¹⁹ F ₁ ¹⁴ N ₂ ¹⁶ O ₁

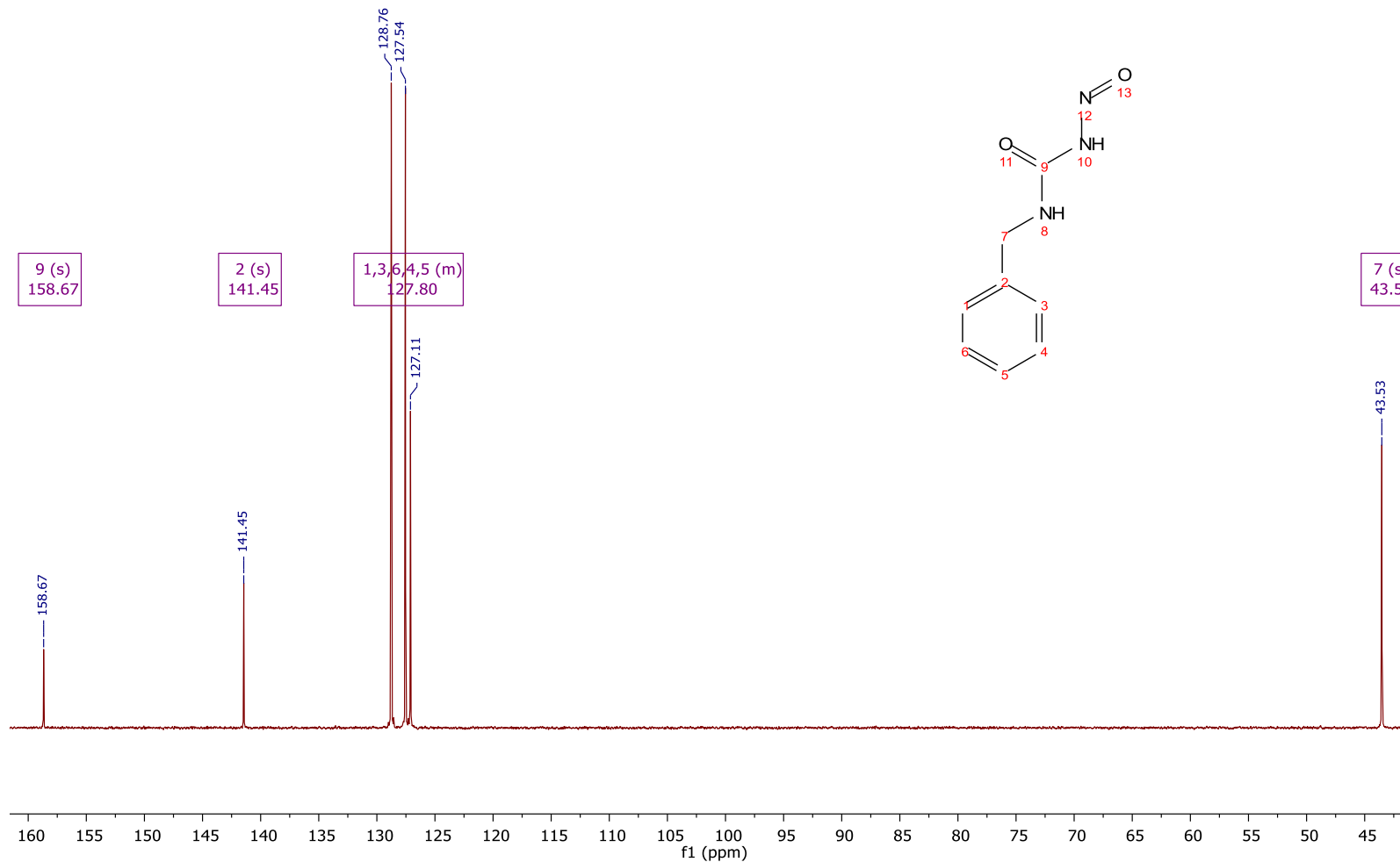
Espectro de masas de la 1-(4-fluorobencil)urea.



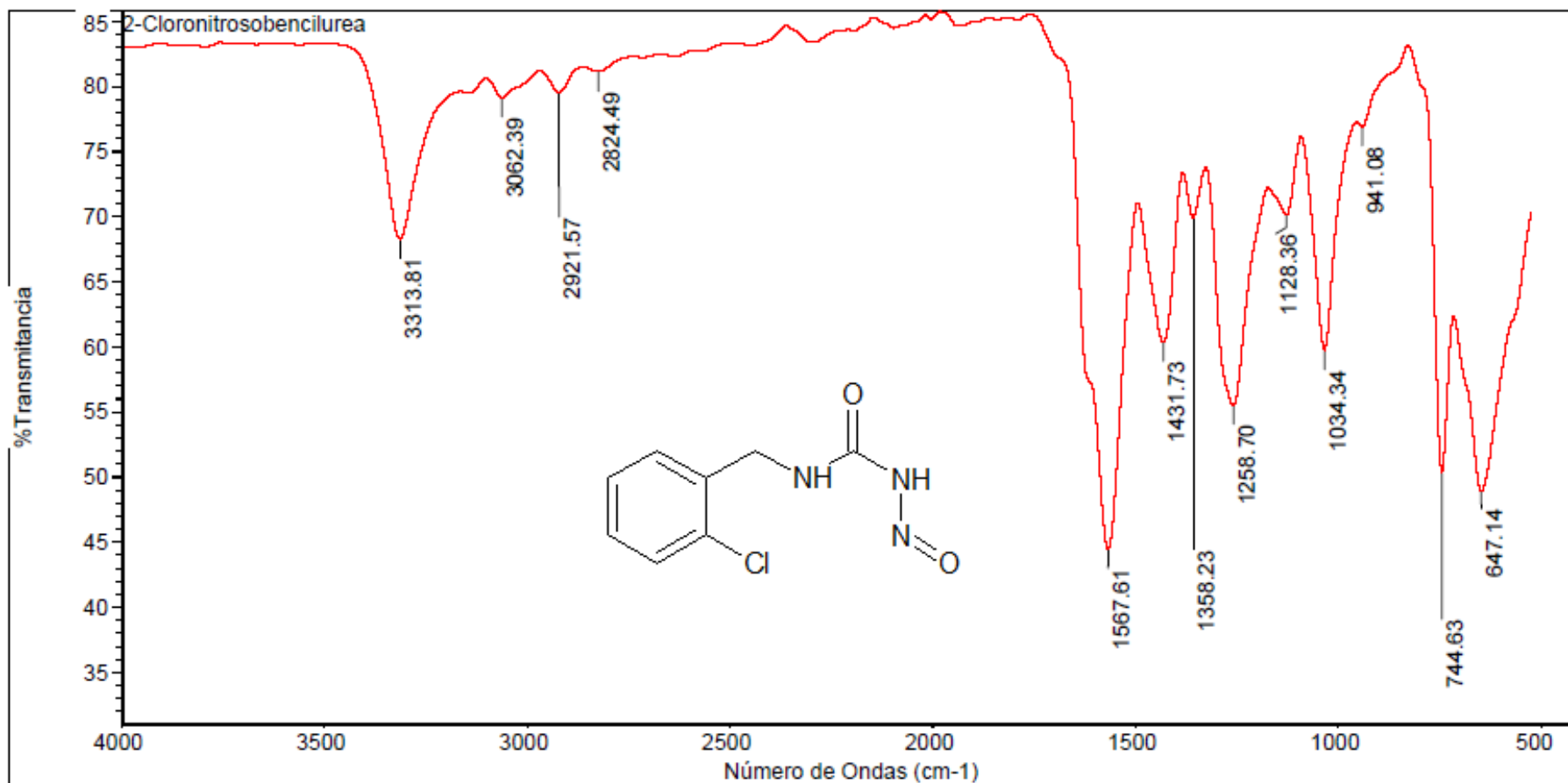
Espectro de infrarrojo del LQM 801.



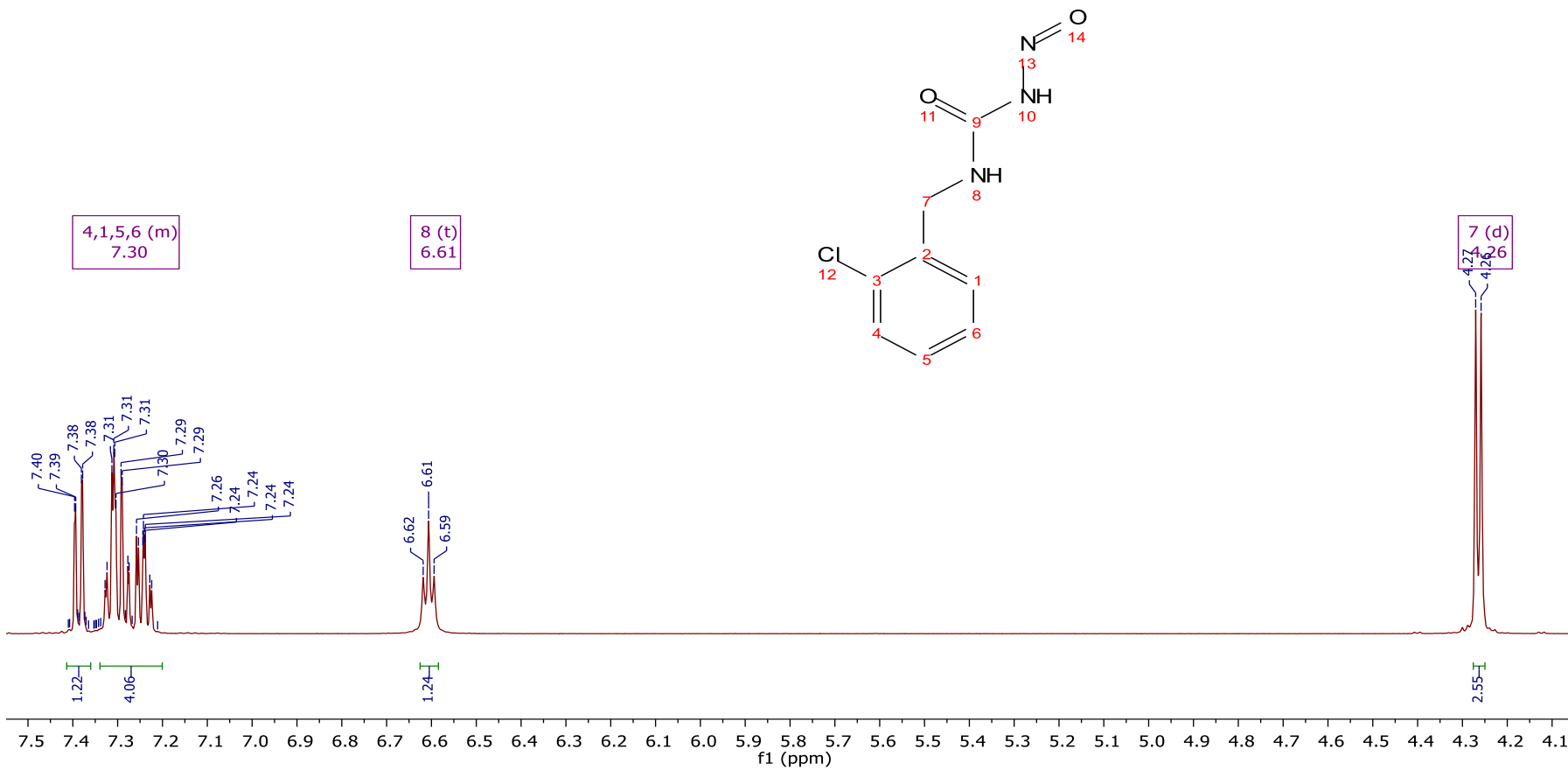
Espectro de RMN de ¹H (DMSO-d₆, 500 MHz) del LQM 801.



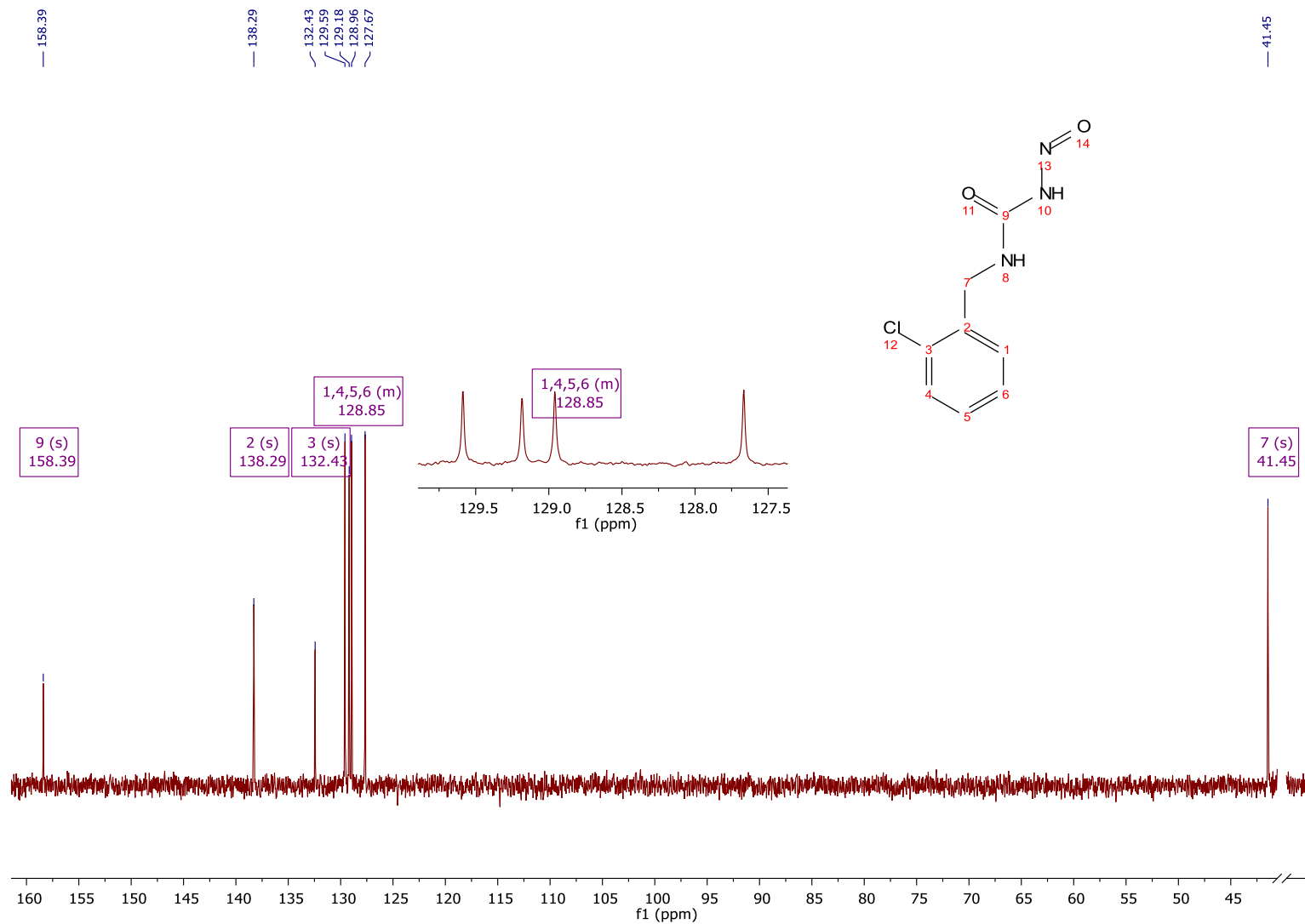
Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) del LQM 801.



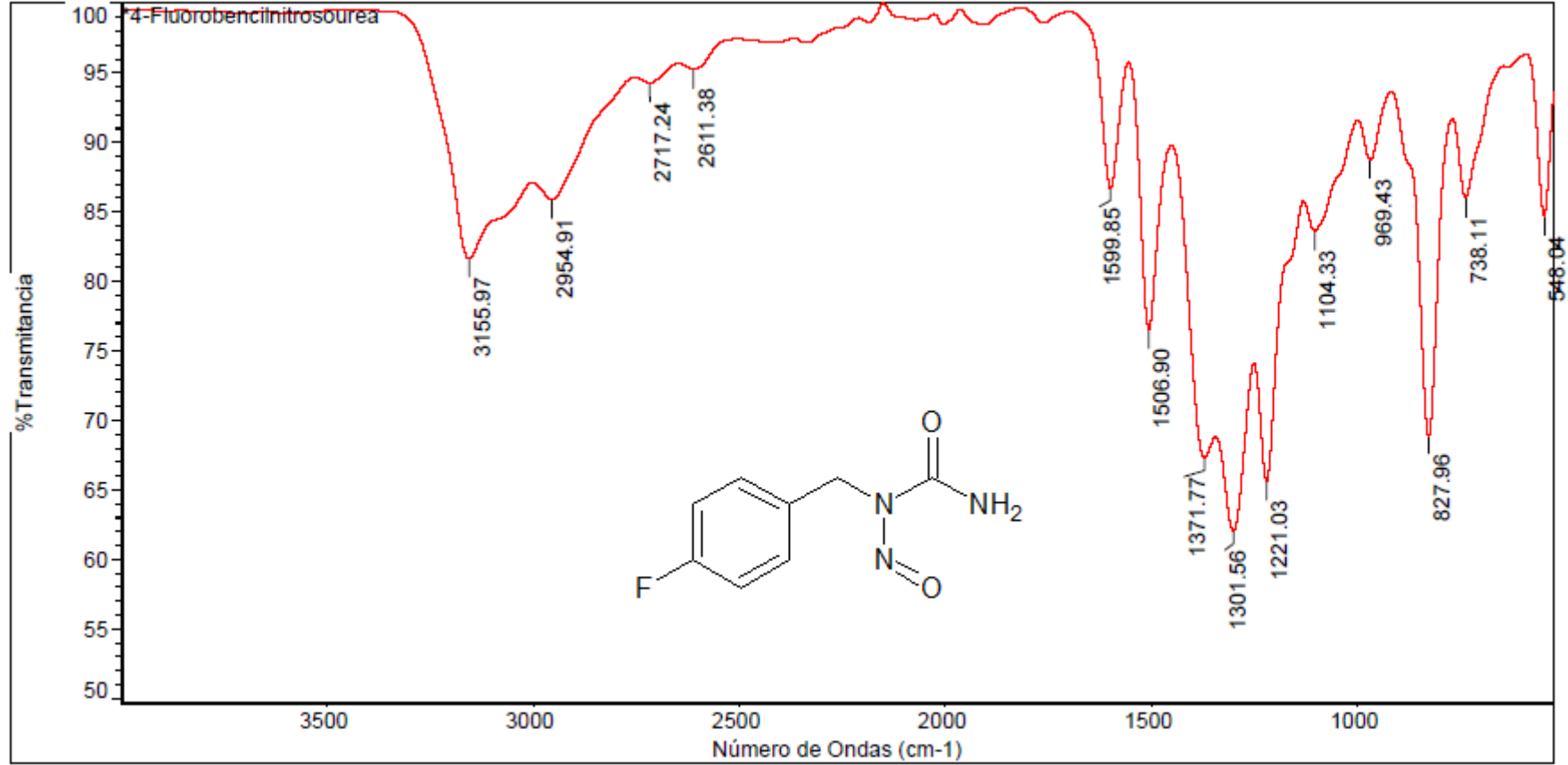
Espectro de infrarrojo del LQM 802.



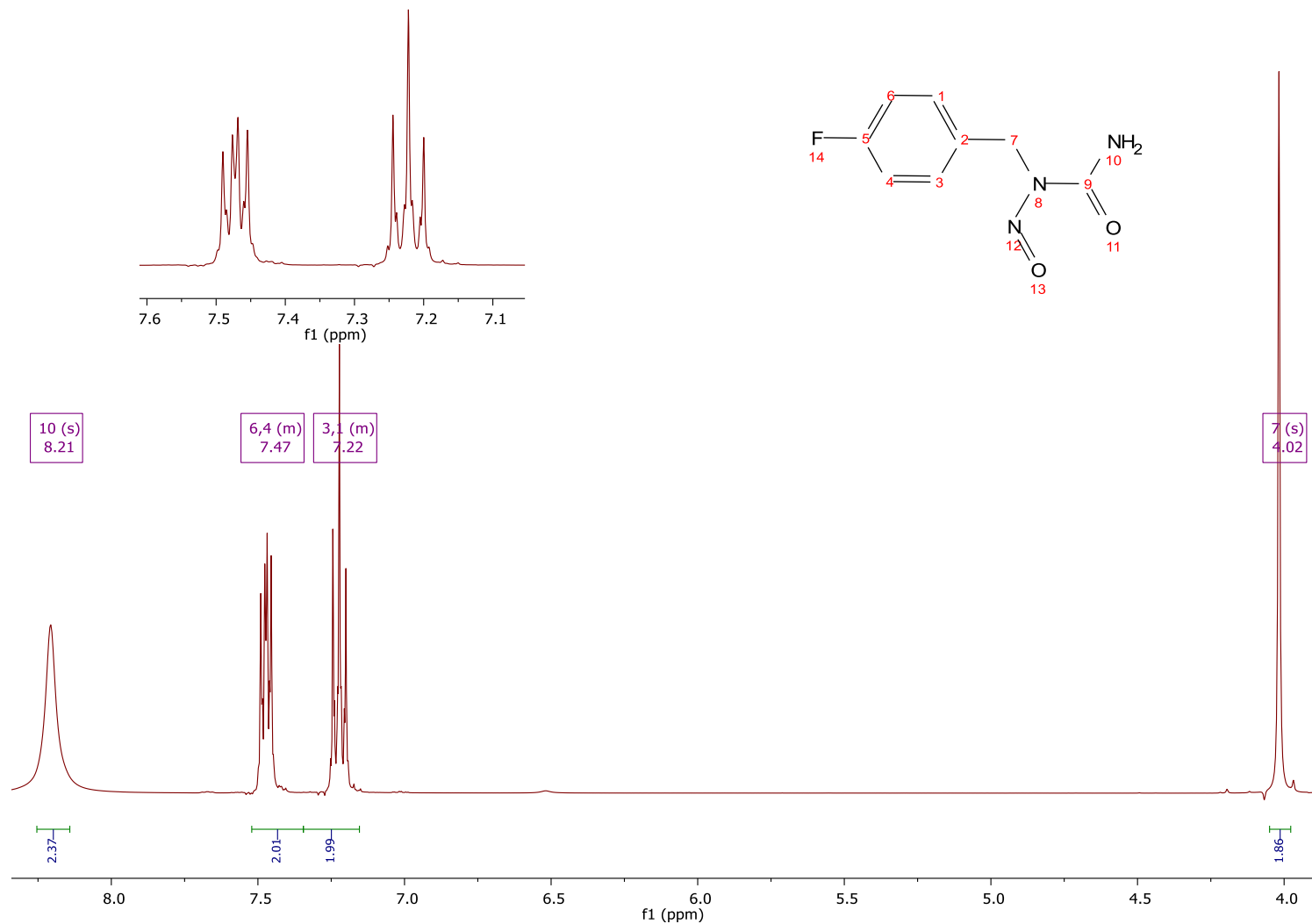
. Espectro de RMN de ¹H (DMSO-d₆, 500 MHz) del LQM 802.



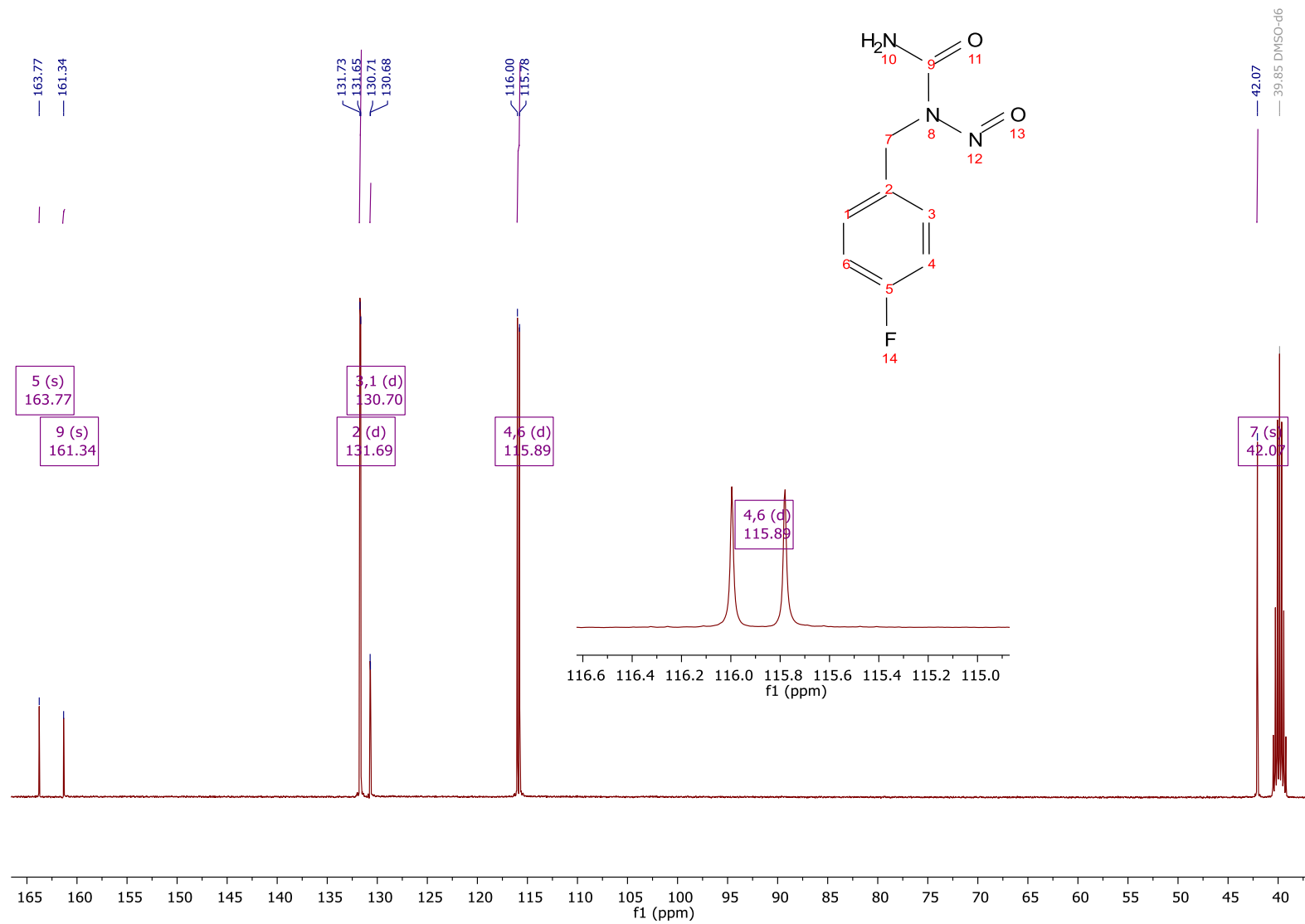
Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) del LQM 802.



Espectro de infrarrojo del LQM 803



Espectro de RMN de ¹H (DMSO-d₆, 500 MHz) del LQM 803.



Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) del LQM 803.