

2 Ej. No. 27



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**SINTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA SOBRE LA
FOTOSÍNTESIS DE DERIVADOS NITRO AROMÁTICOS**

T E S I S

MARIA DEL RAYO SALINAS VAZQUEZ

Q U I M I C O

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE:

CAPITULO I

Introducción	2
1) Generalidades sobre las malezas	4
2) Control de malezas	5
a) Control preventivo	
b) Control manual	
c) Control mecánico	
d) Control biológico	
e) Control por fuego	
f) Control por inundación	
g) Control químico	
3) Herbicidas	6
a) Historia	
b) Ventajas y desventajas de su uso	
c) Selectividad	
d) Tipos de aplicación	
e) Acción bioquímica	
-Fotosíntesis	
Inhibidores del transporte de electrones	
Desviación de electrones de FS I	
Inhibición de síntesis de carotenoides	
Inhibición de síntesis de ATP	
-Síntesis de macromoléculas	
-Suplantación de la actividad auxínica	
-Síntesis de aminoácidos aromáticos	

CAPITULO II

Objetivos 31

CAPITULO III

Hipótesis de trabajo 33

CAPITULO IV

Parte experimental 35

A)Parte química

b)Parte bioquímica

CAPITULO V

Discusión y Resultados 47

a)Parte química

b)Parte bioquímica

CAPITULO VI

Conclusiones 77

CAPITULO VII

Bibliografía 80

ESPECTROS

CAPITULO I :

INTRODUCCION

Introducción.-

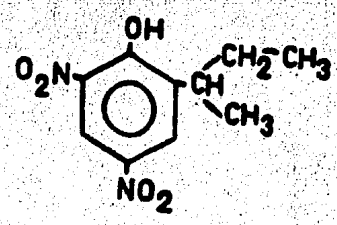
La gran explosión demográfica actual está provocando un mayor interés hacia el desarrollo de agentes químicos que ayuden a mejorar la productividad de los cultivos, controlando a las malezas.

A pesar de que ninguno de los productos utilizados como herbicidas es inofensivo ya que todos tienen un cierto grado de toxicidad, especialmente si se usan en forma indiscriminada, es innegable su utilidad en terrenos donde su uso eleva el rendimiento del cultivo hasta en un 50 %.

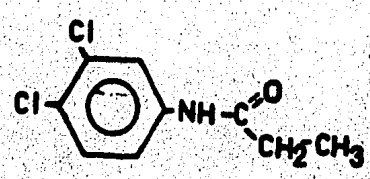
Actualmente en México la producción de herbicidas está basada en tecnología extranjera. En algunos casos solo se efectúan reacciones finales, importándose las materias primas iniciales o algún intermediario; en otros, solo se diluye el principio activo y se envasa el producto comercial. Como consecuencia, el precio de estos productos se eleva ocasionando problemas económicos entre los consumidores.

Por otra parte, en nuestro país, algunas de las plantas consideradas como malezas en otros países, forman parte de nuestra alimentación o bien, tienen utilidad gracias a las propiedades medicinales que poseen.

El objetivo de este trabajo es buscar nuevos productos relacionados con la estructura de compuestos comerciales tales como DINOSEB (2-(n-butil)-4,6-dinitrofenol) y PROPANIL (3',4'-diclorononionanilida) y probar su actividad como inhibidores del transporte de electrones en fotosistema II;



DINOSEB
PI₅₀ = 4.8



PROPANIL
PI₅₀ = 6.1

1) Generalidades sobre las malezas.

Las malezas o malas hierbas pueden ser definidas como plantas que crecen donde el hombre no lo desea (1).

Tan pronto como el hombre comenzó a cultivar plantas, época que en algunas partes del mundo data de hace unos 10 000 años, aparecieron las malezas y con ellas la competencia cultivo-maleza (1). Esta competencia se refiere a (2,4):

a) La luz. - En muchas ocasiones las malezas crecen con mayor velocidad que el cultivo cubriéndolo en pocos días y provocando su muerte. En casos no tan dramáticos, en los que solo disminuye la iluminación, baja el rendimiento del cultivo.

b) Nutrientes. - Los nutrientes del suelo son tomados más rápidamente por las malezas que por el cultivo, disminuyendo su disponibilidad.

c) Agua. - Las malezas toman el agua que podría ser aprovechada por el cultivo.

Además de los daños ya mencionados existen otros conocidos como "no agrícolas" (2,4,8), tales como los producidos por la invasión de malezas sobre vías de comunicación. En ríos y lagos, además, pueden dañar la pesca y agricultura bloqueando drenajes.

Algunas características de las malezas que hacen de ellas plantas peligrosas para el cultivo son (2,8,11):

a) Producen semillas en grandes cantidades en condiciones favorables y aún en condiciones desfavorables. La viabilidad de estas semillas es muy alta.

b) Las semillas de malezas presentan generalmente, viabilidad de más de dos años y en algunos casos hasta de 20 años.

c) Son capaces de sobrevivir en condiciones ambientales desfavorables.

ables.

Sin embargo, no debe olvidarse que algunas de las especies que se cultivan actualmente fueron obtenidas al seleccionar plantas que pudieron sobrevivir bajo determinadas condiciones, convirtiéndose algunas malezas en especies provechosas, por ejemplo el nabo y el quelite (8).

Muchas de ellas pueden servir como forraje, otras como abono orgánico, aumentando la productividad del cultivo.

Por esto es necesario tener un mayor conocimiento sobre la fisiología vegetal.

2) Control de malezas.-

Existen diferentes tipos para controlar a las malezas:

a) Control preventivo.-Para este tipo de control son necesarias las siguientes normas (2,11):

i) Uso de semilla limpia, es decir, sin semillas de malezas.

ii) Abonar correctamente la tierra.

iii) Limpieza de la maquinaria usada para eliminar la hierba antes de volver a usarla.

iv) Mantener limpios canales y caminos ya que el agua es uno de los principales dispersores de semillas y polen.

b) Control manual.-Es uno de los métodos más antiguos es el que se use el asedón, el machete o simplemente las manos. Por medio de este método el deshierbo se hace lentamente corriéndose el riesgo de que las malezas cubran el cultivo antes de terminar la labor.

c) Control mecánico.-Se usa maquinaria especializada. Por este método al mismo tiempo que se deshierba se renueva la tierra.

d) Control biológico. (2,10).-En este tipo de control se usa un organismo que evita la proliferación de otro que es dañino. Sin embargo existen muy pocas especies de hongos o insectos específicos que puedan usarse para el control de malezas. Este tipo de control natural no cause problemas ecológicos por lo que ofrece una buena línea de investigación.

e) Control por fuego.-Antes de sembrar es posible quemar el terreno, para esto debe tenerse especialmente en cuenta el viento que puede extender el fuego trayendo efectos contraproducentes. Los inconvenientes son la pérdida de microflora del suelo, así como de materia orgánica.

f) Control por inundación.-Se usa para eliminar tubérculos y semillas de malezas.

g) Control químico.-Se usan agentes químicos denominados herbicidas cuya aplicación debe seguir reglas muy específicas.

3) Herbicidas.-

a) Historia (5).-Desde hace mucho tiempo los agricultores han usado agentes químicos para el control de las malezas, el más antiguo de ellos es el cloruro de sodio.

Existen datos de que en 1850 en Alemania, ya se usaba cloruro de sodio y cal para el control de las malezas. Mas tarde, en 1897 en Francia se encontró que el sulfato de hierro podía controlar las malezas de hoja ancha en cultivos de cereales; casi al mismo tiempo en Francia se reportó el uso de ácido sulfúrico y nitrato de cobre con el mismo fin. Otros compuestos usados fueron el arsenito de sodio y otros derivados de arsénico. En 1914 se usaron derivados del petróleo contra las malezas de drenajes y en 1933

se empezaron a usar derivados de dinitrofenol en cultivos de cereales.

Antes de la Segunda Guerra Mundial los agentes químicos usados para el control de las malezas fueron básicamente clorato de sodio, sulfamato de amonio, disulfuro de carbono y borato de sodio, ninguno de ellos era selectivo, es decir, dañaban tanto a las malezas como al cultivo, por lo que se prefería el deshierbe manual o mecánico.

Un cambio importante en la historia de los herbicidas se presentó con el descubrimiento del ácido 2,4-diclorofenoxiacético o 2,4-D, el cual elimina a las malezas sin dañar significativamente al cultivo. Por otra parte se requerían cantidades mucho menores del compuesto orgánico comparadas con los compuestos inorgánicos.

La aparición de estos compuestos más efectivos contra las malezas, a menor costo y con menos problemas de residualidad, provocó el desarrollo de otros compuestos derivados del 2,4-D a los que se conoce como "compuestos fenoxi", los cuales dominaron el mercado de los herbicidas durante los años 60's. Sin embargo su producción declinó al aparecer en el mercado otros compuestos más efectivos.

Aunque al principio los herbicidas no tuvieron mucho éxito debido a que sus precios eran muy elevados, actualmente el control químico ha desplazado a los otros métodos en los países industrializados.

b) Ventajas y desventajas del uso de los herbicidas.-

Ventajas.-

i) Pueden aplicarse aún en tiempo de lluvias, condiciones en las que no es posible usar maquinaria.

ii) Eliminan las semillas de malezas, de manera que el cultivo

puede crecer sin competencias (2,5).

iii) Existen compuestos tan selectivos que pueden usarse contra las malezas aún en presencia del cultivo (2,5).

Desventajas.-

i) Su efectividad puede disminuir por diferentes factores (2,10,11)

(Fig.1):

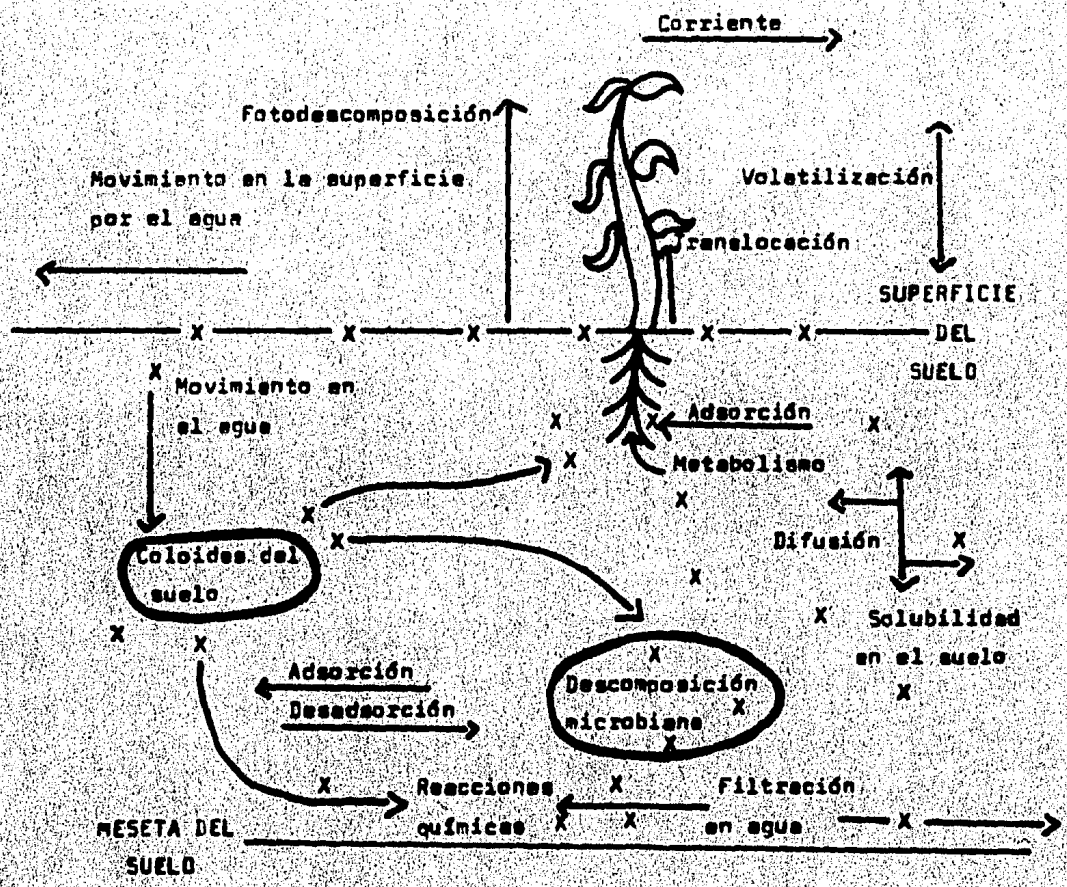


Figura 1.-Inactivación de los herbicidas en el suelo.

-Descomposición microbiana.-Esta dependerá de factores tales como temperatura, agua, oxígeno y nutrientes en el suelo. Si estas condiciones no son favorables para el desarrollo de los microorganismos, el herbicida puede acumularse y convertirse en una sustancia tóxica para el cultivo.

-Descomposición química.-A través de este tipo de descomposición algunos herbicidas pueden perder su actividad, mientras que otros la aumentan. El agua y el oxígeno ocupan un papel muy importante en este tipo de degradación.

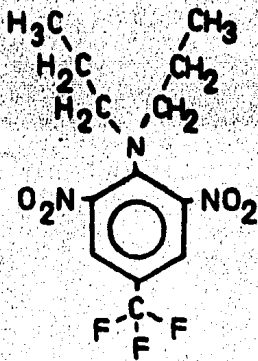
La degradación química y la microbiana están íntimamente relacionadas.

-Adsorción por coloides del suelo.-Los coloides presentes en el suelo incluyen partículas inorgánicas y orgánicas con una gran área superficial lo que les confiere una capacidad de adsorción particular. Los herbicidas que generalmente son moléculas que se encuentran en forma iónica en el suelo, son adsorbidos por las partículas coloidales, lo que influirá en la cantidad de herbicida por usarse y en su permanencia en el suelo.

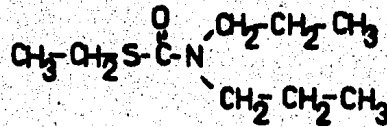
-Filtración.-Se refiere al movimiento del herbicida en el suelo. La adsorción del herbicida en el suelo, su solubilidad en el agua y la cantidad de agua que pase a través del suelo influirán en la efectividad del herbicida.

-Volatilización.-La volatilidad de los herbicidas es un punto importante ya que si éstos llegan a evaporarse parcialmente disminuye su efectividad.

Algunos herbicidas como el EPTC (S-etil-dipropil-tiocarbamato) (Fig.2) se cree que se mueve a través del suelo en forma de gas; otros se pierden al evaporarse junto con el agua.



Trifluralin



EPTC

Figura 2.-Fórmulas de algunos herbicidas muy volátiles.

-Fotodescomposición.-Consiste en la descomposición de la molécula del herbicida por medio de la luz.

-Degradación en plantas superiores (20.11).-Los herbicidas pueden ser absorbidos por algunas plantas y ser translocados, es decir, pueden penetrar y circular dentro de la planta. Por procesos bioquímicos pueden ser desactivados o bien, pueden convertirse en moléculas más efectivas (Figura 3). Algunas de estas reacciones son:

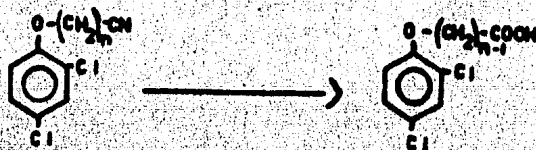
Oxidación.-Incluye α y ω oxidación. La sufren principalmente los fenoxialcanonitrilos y los ácidos fenoxialcanoicos.

Descarboxilación.-La sufren principalmente derivados del ácido benzoico, del fenol y de la urea. La descarboxilación puede ir seguida de una desaminación. En esta reacción se requiere de una molécula de agua por lo que también puede considerarse como una hidrólisis.

Hidrólisis.-Se presenta en ésteres. La hidrólisis produce compuestos los cuales frecuentemente carecen de acción fitotóxica.

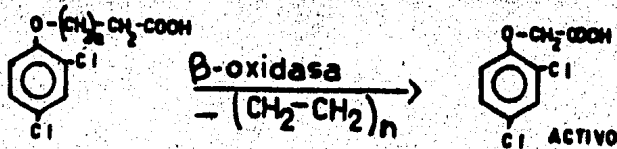
Desalquilación.-Esta reacción se presenta en herbicidas del

α-oxidación:



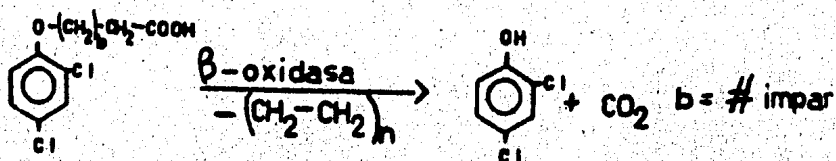
β-oxidación:

a)

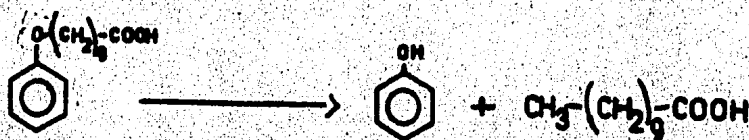


a = # par

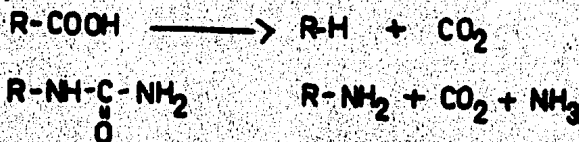
b)



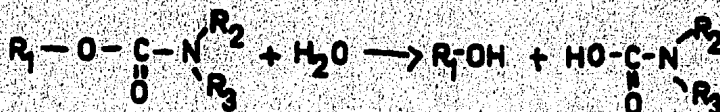
ω-oxidación:



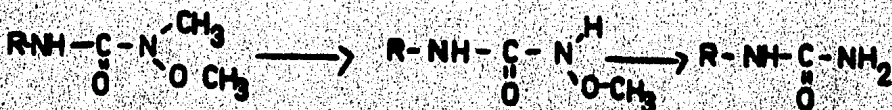
Descarboxilación:



Hidrólisis:



Desalquilación:



Conjugación:

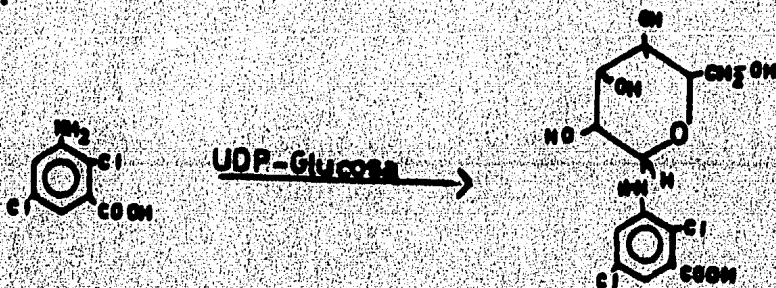


Figura 3.-Degradación de herbicidas en plantas superiores.

tipo de triazinas, ureas, carbamatos, tiocarbamatos y dinitroanilinas.

Conjugación. - La sufren los azúcares, los aminoácidos y menos frecuentemente las proteínas.

Ruptura del anillo. - Los fragmentos formados no necesariamente son fitotóxicos, pueden unirse a residuos insolubles o pueden llegarse a degradar completamente.

A la cantidad de herbicida que permanece sin ser alterado por alguno de estos factores, se le conoce como residuo. Si la residualidad es baja, habrá que aplicar el herbicida varias veces para proteger el cultivo; si es alta puede dañar a cultivos subsecuentes.

ii) Se desarrollan variedades de malezas resistentes al herbicida, por lo que debe practicarse la rotación de herbicidas de diferentes espectros.

iii) Los herbicidas pueden ser peligrosos para el hombre o para los animales si no se toman las medidas adecuadas.

c) Selectividad. -

La selectividad de los herbicidas es relativa (9). Todas las sustancias utilizadas como herbicidas son tóxicas en grandes concentraciones, es decir, afectan tanto a las malezas como al cultivo; a dosis bajas no afectan a ninguna de las dos.

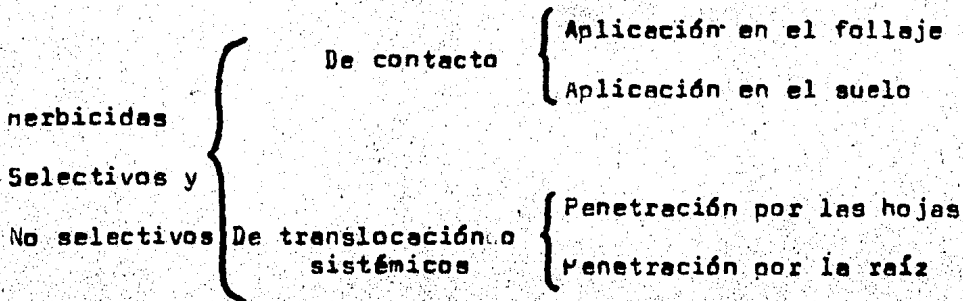
Un factor importante en la selectividad de un herbicida es la disposición de las hojas en las distintas plantas. De hecho los primeros herbicidas, como las sales de hierro y cobre o ácido sulfúrico diluido, deben su efectividad a una permanencia diferencial, es decir, mientras eran retenidos por malezas de hoja ancha no lo eran por cereales.

En general la efectividad va a depender de la interacción entre

el medio ambiente, la planta y el herbicida (10,11).

La selectividad depende de la estructura química del herbicida y de la fisiología de la planta.

Por razones prácticas los herbicidas se clasifican en:



i) No selectivos o generales. - Afectan a todo tipo de plantas. Se usan para proteger campos cuando no se cultiva en ellos, en canales, en caminos o en áreas industriales.

ii) Selectivos. - Solo actúan sobre una variedad de plantas.

A su vez, ambos tipos de herbicidas pueden dividirse en (2,3):

- De contacto. - Como su nombre lo indica solo actúan sobre el área con la que entran en contacto y pueden aplicarse sobre el follaje o en el suelo, afectando de esta manera las hojas y raíces respectivamente.

- De translocación o sistémicos. - Penetran a la planta y circulan por ella. Penetran por las hojas o por la raíz si son aplicados en el suelo.

d) Tipos de aplicación. -

Los herbicidas pueden clasificarse de acuerdo a su forma de aplicación (2,5) en:

i) Pre-siembra. - Estos herbicidas se aplican como su nombre lo indica, antes de la siembra del cultivo, de esta manera se elimi-

nan las malezas ya presentes y/o se impide la germinación de sus semillas.

ii) Pre-emergencia. - Se aplican después de sembrar el cultivo, pero antes de que éste germine. Estos herbicidas permiten que el cultivo no sea dañado por las malezas durante el periodo crítico de crecimiento, comprendido durante las primeras cinco semanas.

iii) Post-emergencia. - Actúan solo sobre las malezas sin dañar al cultivo significativamente, se aplica después de que éste ha germinado.

De esta manera se observa el tipo de malezas presentes y es posible seleccionar a los herbicidas adecuados.

Este tipo de herbicidas también puede eliminar a las malezas que han resultado resistentes a otros herbicidas de pre-siembra y pre-emergencia.

e) Acción bioquímica. -

Muchas han sido las investigaciones para tratar de elucidar las formas de acción de los herbicidas en la planta.

Cuando los herbicidas penetran en la célula vegetal se suceden una serie de reacciones bioquímicas que dependen del herbicida y de la variedad de la planta principalmente (9). Existen otros factores que influyen en la determinación del punto principal de acción del herbicida.

El esquema que a continuación se presenta nos muestra el modo de acción en que los herbicidas pueden actuar en la planta (12):

EVENTO BIOQUIMICO	TIPO DE ACCION
Fotosíntesis	Inhibición del transporte de electrones. Desviación de electrones del fotosistema I. Inhibición de la síntesis de ATP. Inhibición de la síntesis de carotenoides.
Síntesis de macromoléculas	Inhibición de la síntesis de proteínas y metabolismo de ácidos nucleicos. Inhibición de la síntesis de lípidos.
Actividad auxínica	Suplantación.
Síntesis de aminoácidos aromáticos	Inhibición.

Fotosíntesis.-

El fenómeno de la fotosíntesis ha constituido un enigma para el hombre de todos los tiempos. No habiéndose logrado, hasta la fecha su total esclarecimiento. Actualmente se acepta que involucra dos tipos de reacciones:

1) Reacción luminosa.- En ella se aprovecha la energía luminosa para la reducción de un aceptor de electrones (NADP) con el subsecuente desprendimiento de oxígeno. Esta reacción se efectúa en los tilacoides que son sacos membranosos que se encuentran dentro del cloroplasto (Fig.4).

2) Reacción oscura.- Consiste en la utilización del NADPH para la síntesis de hexosas a partir de CO_2 (14).



- G.-Un gránulo (conjunto de tilacoides)
- I.-Laminillas intergranales
- S.-Estroma
- E.-Envoltura o membrana externa

Figura 4.-Estructura de un cloroplasto.

En 1937 R. Hill observó que al iluminar una suspensión de cloroplastos en presencia de un aceptor de electrones exógeno, se liberaba oxígeno (13):



Aún se desconoce la identidad de algunos de los intermediarios de la cadena transportadora de electrones (Figura 5):

Mn.-Es un complejo enzimático que requiere de manganeso para la fotólisis del agua. Aún se desconoce el sitio de unión y la función del manganeso en la proteína. Compuestos como albúmina sérica bovina, ditioneitol (DTT) o iones Ca^{2+} se requieren para reactivar al reaprendimiento de oxígeno en los cloroplastos aislados (37).

Z.-Es el donador de electrones de FS II (fotosistema II). Su identidad se desconoce pero se le relaciona con el citocromo b_{559} (37).

P₆₈₀ y P₇₀₀ .- Se les asigna estos números por presentar máximos de absorción a estas longitudes de onda. Están formados por clorofila. Este impulsa a los electrones en contra de un gradiente electroquímico utilizando la energía luminosa absorbida (37).

Q.- Es el primer aceptor de electrones de FS II. Está relacionado con los componentes C-550 y X-320 (máximos de absorción a 550 y 320 nm respectivamente) (27, 37).

Q.- Su estructura no se conoce totalmente, pero se la relaciona con el citocromo b₅₅₉ y tiene como función el transporte de electrones entre Q y PQ, al parecer, está formada por dos subunidades y otro componente de estructura similar a la de la plastoquinona (17, 37).

PQ.- La plastoquinona puede existir en varias formas, siendo la más común la plastoquinona A. Aparecen asociadas a ella las plastoquinonas B y C cuyas estructuras no son bien conocidas. Transporta electrones de B al citocromo f (29).

Cit f.- El citocromo f (de folium, -hoja, donde se le encontró por primera vez) transporta electrones de PQ a la plastocianina. Se encuentra cerca del sitio de acoplamiento en la síntesis de ATP o unido al mecanismo de acoplamiento (17).

PC.- La plastocianina es una proteína cúprica que transporta electrones entre FS II y FS I (fotosistema I). Presenta una coloración azul debido al ión Cu²⁺ unido a ella (32).

X.- Su identidad ha sido muy discutida y se proponen estructuras como nteridinas, flavinas y porfirinas entre otras. Actualmente se ha asociado a un compuesto denominado P₄₃₀ cuya estructura es desconocida y a una proteína con una unión Fe-S, posiblemente una ferredoxina (37).

FRS.-Sustancia reductora de ferredoxina. Se ha propuesto su existencia en la transferencia de electrones de X a la ferredoxina (14).

FD.-ferredoxina. Es una proteína que contiene Fe unido al azufre de la cisteína. El hierro puede presentarse como Fe(II) o Fe(III) (14).

R.-Ferredoxina-NADP-Reductasa.-Es una flavoproteína que puede utilizar tanto NAD^+ como al NADP como aceptores de electrones (14).

Otros elementos indispensables en la función fotosintética son los pigmentos que intervienen en ella. Tienen como función principal la captación de energía solar. Los espectros de absorción de unos y otros pigmentos se complementan teniendo como resultado un espectro de absorción más amplio (Fig.6) (14,15).

La clorofila es el pigmento fotosintético principal y está presente en todas las células fotosintéticas. Puede existir en dos formas: la "a" y la "b" en plantas superiores, ellas solo se diferencian por pequeños cambios estructurales en su molécula. La clorofila "a" sirve como centro de reacción en la fotosíntesis, de aquí su importancia (14).

Los carotenoides y ficobilinas son los llamados "pigmentos accesorios" sirven como "antenas", es decir, captan la energía luminosa y después la transfieren al centro de reacción. Los carotenoides comprenden a las xantofilas y carotenos.

Todos estos pigmentos además son parte estructural de la membrana del tilacoide y evitan la fotooxidación al disipar el exceso de energía luminosa absorbida, inofensivamente en forma de calor (26).

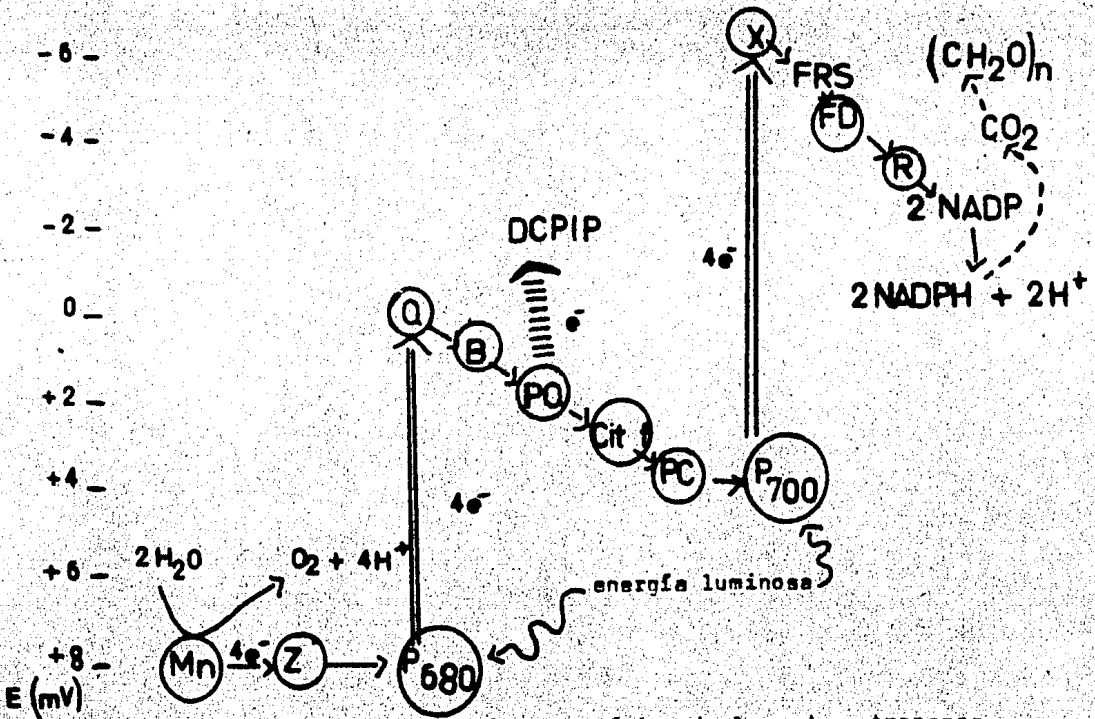


Figura 5.-Representación esquemática de la cadena transportadora de electrones fotosintética (22,15,17)

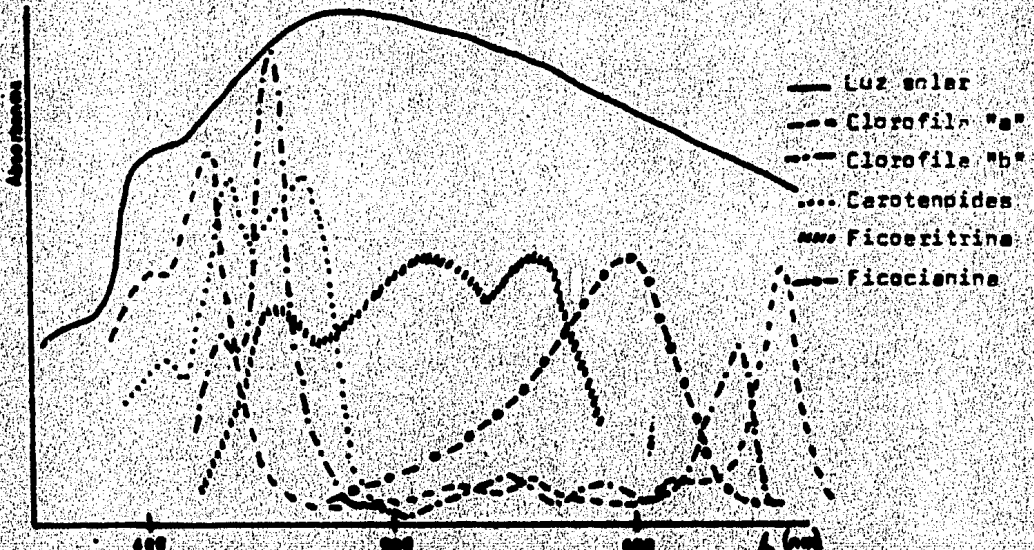
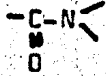


Figura 6.-Espectros de absorción de algunos pigmentos fotosintéticos (14,15).

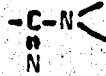
-Inhibidores del transporte de electrones.-

Este tipo de compuestos inhiben la reacción de Hill y dentro de esta clasificación se encuentran aproximadamente la mitad de los herbicidas comerciales (18,19).

Muchos de estos compuestos poseen en su molécula grupos funcionales como los siguientes:



Grupo amido



Grupo imido

Estos herbicidas se conocen como "herbicidas clásicos".

Otros poseen grupos funcionales variados como hidroxilos, nitrilos, nitros o éteres entre otros.

En el estudio del modo de acción de los herbicidas se han empleado diferentes técnicas:

-Medición del desprendimiento de oxígeno, utilizando aceptores de electrones específicos como DCFIP (2,6-diclorofenolindofenol) o FeCN (ferricianuro de potasio), por medio de un electrodo de oxígeno o por medio de técnicas manométricas o espectrofotométricas (13).

-Medición de radioactividad. Causada por herbicidas "mercados" los cuales se incuban con la suspensión de cloroplastos.

-Degradación controlada de las proteínas del cloroplasto con tripsina. Se observa si la acción del herbicida es la misma después de la degradación.

-Medición de fluorescencia. -Al inhibirse el transporte de electrones en FS II la energía luminosa se manifiesta totalmente en forma de fluorescencia.

De estudios en donde se aplicaron las técnicas anteriores

en cloroplastos de especies normales y especies mutantes resultó el siguiente modelo:

a) Entre el aceptor primario de FS II, Q y el siguiente aceptor, B existe una capa proteínica que protege a Q de reductores externos. La transferencia de electrones de Q a B es facilitada por esta capa (21,23).

b) En esta proteína se localiza el sitio de unión de los herbicidas clásicos (figura 7).

c) La capa proteínica está formada por dos polipéptidos, uno de 32 KD y otro de 41 KD (12,20).

d) Al polipéptido de 32 KD se unen los herbicidas clásicos, mientras que al de 41 KD se unen los no clásicos como fenoles (figura 9).

e) Existe una zona específica para cada tipo de herbicida y otra común a todos los herbicidas (12,20) (figura 8).

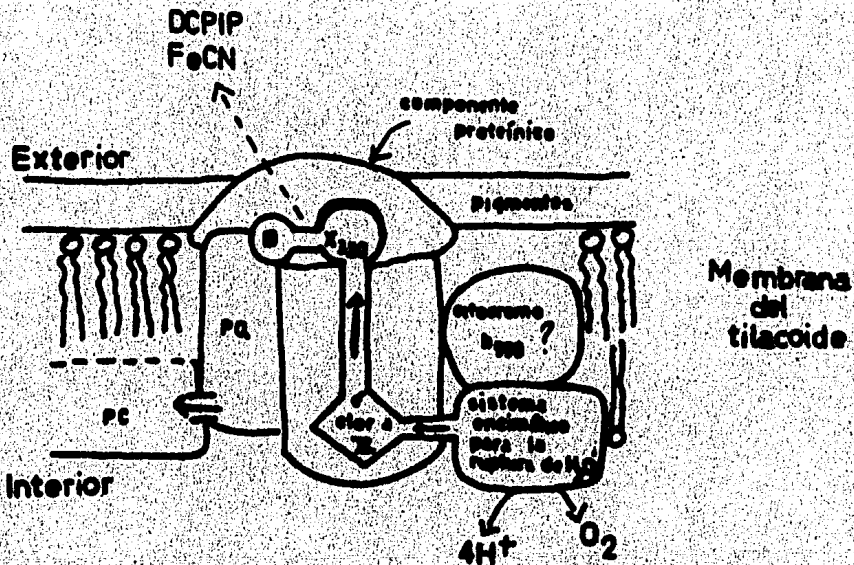


Figura 7.-Esquema estructural del modelo proteínico de FS II (21,23).

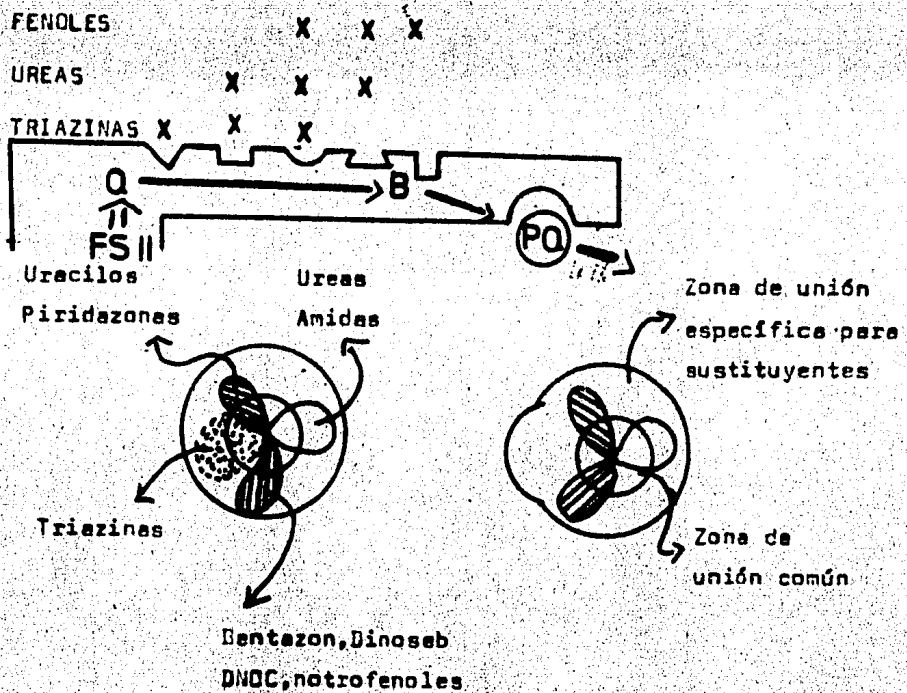
**ESPECIE NORMAL****ESPECIE RESISTENTE**

Figura 8.-Esquema de sitios de unión específicos para diferentes herbicidas (12,20).

Además se ha encontrado que la cantidad y composición de lípidos en la membrana del tilacoide influye en la unión de los herbicidas a la proteína (12).

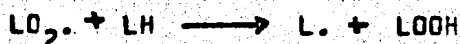
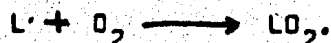
Al unirse el herbicida a la proteína produce probablemente, un cambio en el potencial redox bloqueando como consecuencia, el transporte de electrones entre Q y B. Otra teoría consiste en un cambio conformacional de la proteína protectora, teniendo el mismo efecto bloqueador entre Q y B.

Efectos fitotóxicos.-Al bloquearse el transporte de electrones, el exceso de energía proveniente de la radiación solar absorbida genera grandes cantidades de clorofila "triplete", la cual si no es "apegada" por los pigmentos accesorios, sustrae átomos de hi-

drógeno de los ácidos grasos, específicamente de los insaturados de la membrana, produciendo radicales libres lipídicos:

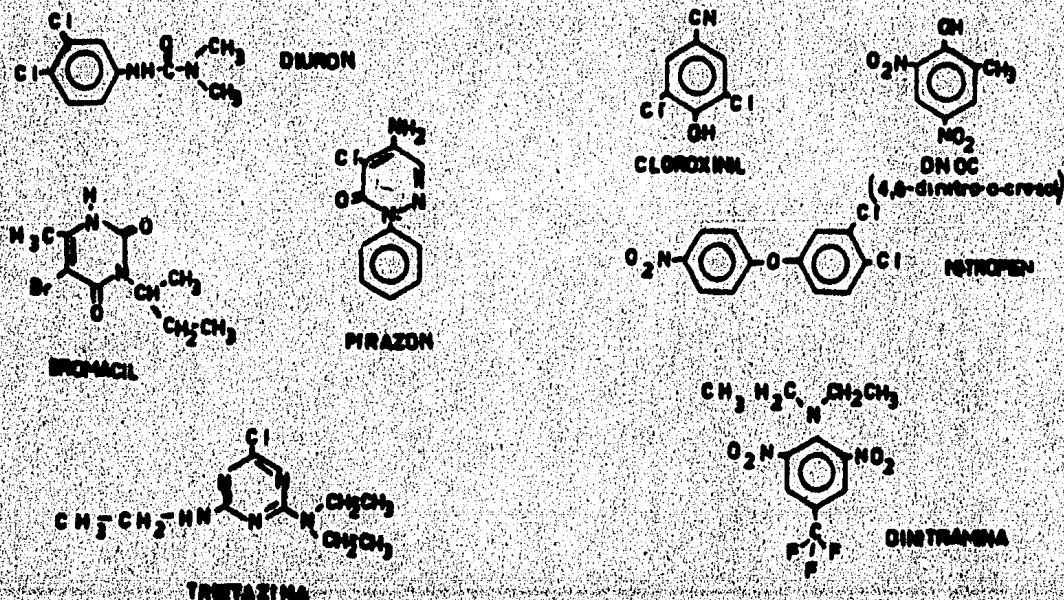


Una vez iniciada esta reacción, la presencia de oxígeno produce más radicales libres:



Con esto puede observarse que el ambiente normal en una planta, es decir, presencia de luz y oxígeno, incrementa la acción fitotóxica del herbicida (16,24).

La peroxidación de los ácidos grasos produce la destrucción de la membrana. Además al inhibirse el transporte de electrones se inhibe la síntesis de ATP y la reducción de NADP. Finalmente se provoca la destrucción progresiva de las membranas hasta alcanzar la muerte de la planta.



Herbicidas clásicos

Herbicidas no clásicos

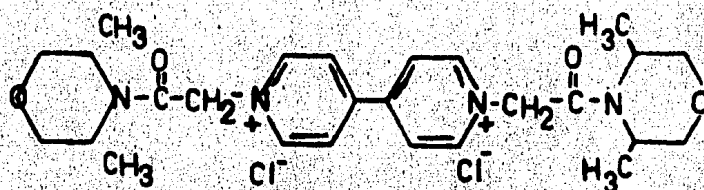
Figura 9.-Estructura de algunos herbicidas inhibidores del transporte de electrones fotosintético (22,31).

-Desviación de electrones de FS I.-

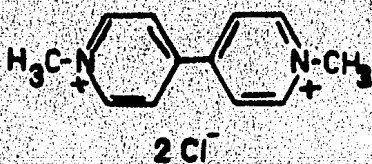
A este tipo de herbicidas pertenecen las sales cuaternarias de bupiridilio (figura 10), su modo de acción es a través de radicales libres (25).

Se ha encontrado que estos compuestos son principalmente herbicidas de contacto (16), translocándose poco en la planta. Solo tienen efecto en presencia de luz.

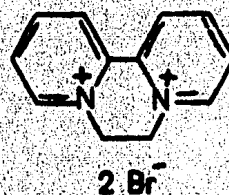
Se acenta que las reacciones por radicales libres se presentan normalmente en la planta durante el envejecimiento, pero son evitadas por agentes antioxidantes como la vitamina E (16).



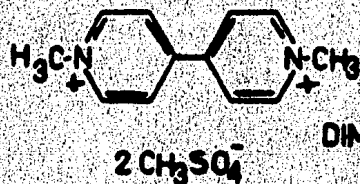
DICLORURO DE MORFAMQUAT



DICLORURO DE
PARAQUAT



DIBROMURO DE DIQUAT



DIMETILSULFATO DE
PARAQUAT

Figura 10.-Estructura de herbicidas bupiridílicos.

-inhibición de la síntesis de carotenoides.-

Entre este tipo de herbicidas se encuentran el norfluzon, fluridona, aminotiazol y CPTA (2-(4-clorofenil-tio)-trietil cloruro de amonio), los cuales inhiben diferentes puntos de esta síntesis (26,3) (figura 11).

La falta de carotenoides implica una desorganización celular más rápida causada por la destrucción fotooxidativa de los ácidos grasos que forman las membranas del cloroplasto; además también se afecta la estructura membranal y los complejos fotosintéticos captadores de la energía luminosa, factor clave en la fotosíntesis.

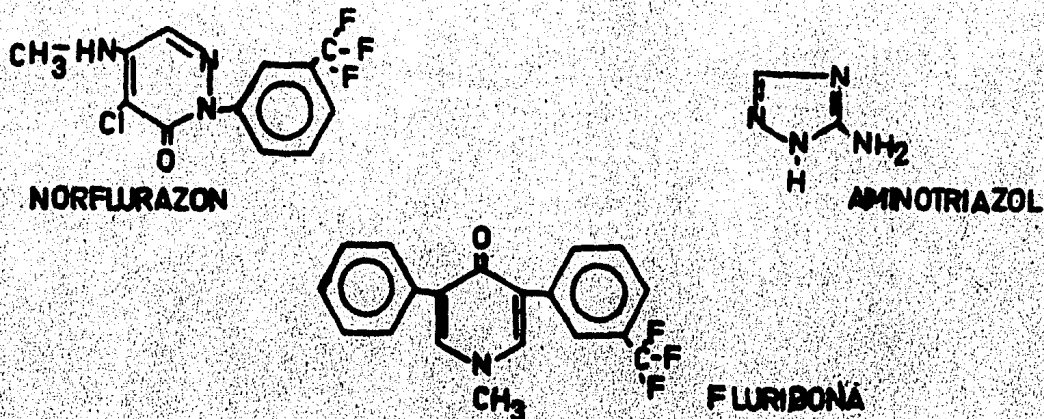


figura 11.-Estructura de herbicidas inhibidores de la síntesis de carotenoides.

-Inhibición de la síntesis de ATP.-

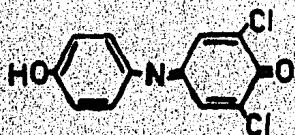
Dentro de este grupo de herbicidas pueden considerarse 3 tipos (30):

Inhibidores del transporte de electrones.-Provocan que no se forme el gradiente electroquímico, lo que según la teoría de Mitchel (14) es necesario para que se efectue la síntesis de ATP.

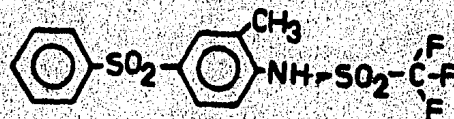
Desacoplantes.-El transporte de electrones en los tilacoides está acoplado a la síntesis de ATP, un desacoplante disocia estos

dos eventos de manera que cualquier sustancia que inhiba la fosforilación sin causar inhibición en el transporte de electrones, o bien, incremente el transporte de electrones sin modificar la fosforilación es considerada como un desacoplante (30). Ejemplos de desacoplantes son: 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP), valinomicina, gramicidina D, atebrián, sales de metilamina y el desacoplante usado comercialmente, la perfluidona (18) (figura 12).

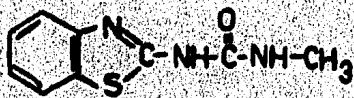
Inhibidores de la transferencia de energía.—Estos compuestos no tienen un efecto directo sobre la velocidad del flujo de electrones o en la magnitud del gradiente de protones sino que disminuye el flujo de electrones en una manera indirecta al bloquear el sitio de síntesis de ATP (28). A este tipo de compuestos pertenecen: el florizín, DCCD (N,N'-diciclohexilcarbodiimida), sintalín (decaetilendiguánidina) y las 1,2,3-tiadiazolil-fenilureas usadas comercialmente (18) (figura 12).



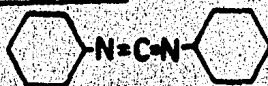
DCPIP



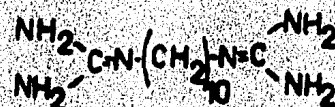
PERFLUIDONA

DESACOPLANTES

BENZOTIAZURON



DCCD



SINTALIN

INHIBIDORES DE LA TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

Figura 12.—Estructura de compuestos inhibidores de la síntesis de ATP

-Síntesis de macromoléculas.-

Inhibición del metabolismo de ácidos nucleicos y síntesis de proteínas.-Entre este tipo de herbicidas se encuentran ácidos benzoicos, carbamatos, dinitroanilinas, fenoxiácidos, tiocarbamatos y triazinas (14). Las dinitroanilinas presentan una acción inhibitoria indirecta, debido a que éstas actúan interfiriendo con la acción, desarrollo y transporte de las hormonas.

Herbicidas como ioxinil, dinoseb, piriclor y clorprofam, inhiben la incorporación de precursores a RNA (ARN), DNA (ADN) o proteínas ya que disminuyen la concentración de ATP. (figura 13).

El 2-(4-metil-2,6-dinitroanilin)-N-metil-propionamida presenta una acción directa sobre la síntesis de proteínas.

Inhibición de la síntesis de lípidos.-A esta clase de herbicidas pertenecen los carbamatos y las piridazinonas sustituidos. Estas moléculas alteran la composición de los lípidos en las membranas, siendo su efecto directo sobre el metabolismo de lípidos (18).

El dinoseb y el cloramben tienen acción inhibitoria sobre la síntesis de ácidos grasos. Otros compuestos como la perfluidona, el ioxinil, las fenilureas, el bromacil, las s-triazinas y las acinilidas también interfieren con la síntesis de lípidos (figura 13).

-Suplantación de la actividad auxínica.-

Los herbicidas pertenecientes a este grupo son los derivados del ácido benzoico y su actividad puede explicarse mediante la teoría de Thimann (1). La cual establece que esta acción herbicida se debe a la presencia de una carga positiva situada a 0,55 nm de la carga negativa del grupo carboxilo. Lo que permite aparentemente la unión de estos compuestos al receptor activo para las auxinas en la célula vegetal. Como consecuencia se produce un

crecimiento anormal de raides y tallos causando la muerte de la planta. También presentan un efecto nocivo sobre la división celular (figura 14) y en la producción de acetileno.

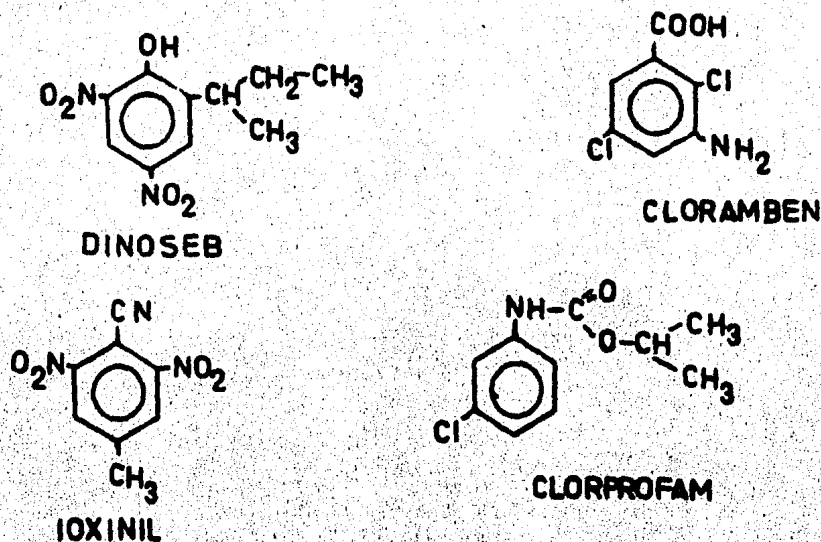


Figura 13.-Estructura de algunos herbicidas inhibidores de la síntesis de macromoléculas.

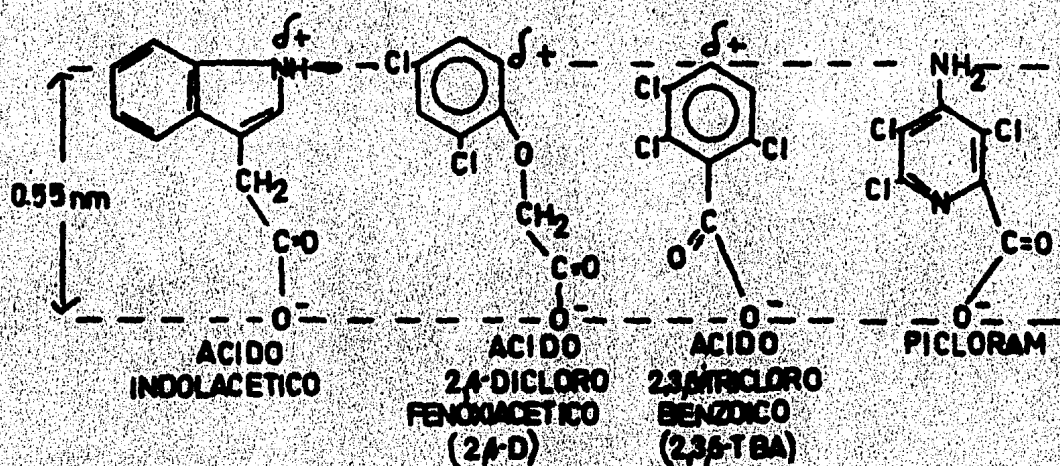


Figura 14.-Compuestos que cumplen con la teoría de Thimann.

CAPITULO II :

OBJETIVOS

Objetivos.-

Nuestra meta fué sintetizar productos orgánicos que funcionaran como inhibidores del transporte de electrones en FS II, usando reactivos del país.

Se probó su actividad inhibitoria sobre cloroplastos aislados de hojas de chicharo, midiendo el desprendimiento de oxígeno en la reacción de Hill. También se probaron estos compuestos en hojas de linaza para determinar el grado de clorosis que producen.

Dentro de la variedad de grupos funcionales que aparecen en las estructuras de los herbicidas comerciales, escogimos como modelo a los derivados nitro aromáticos y sintetizamos a 8 compuestos relacionados con esta estructura básica.

CAPITULO III :

HIPOTESIS DE TRABAJO

Hipótesis de trabajo.-

En base a los compuestos mencionados anteriormente (Dinoseb y Propanil) procedimos a sintetizar productos con un núcleo básico de nitrobeneno modificado. Las modificaciones consistieron en la introducción de átomos de halógeno y grupos amido principalmente, es decir, combinamos las estructuras de los herbicidas comerciales escogidos como modelos.

CAPITULO IV :

PARTE EXPERIMENTAL

Parte experimental.-A) Parte química.-Nitración de naftaleno.-

Se disuelven 2 g (0.0156 moles) de naftaleno en 10 ml de ácido acético glacial, calentando a una temperatura no mayor de 40 °C. Se agrega gota a gota y con agitación HNO₃ (2 ml), la solución se vuelve amarilla durante la adición del HNO₃.

Después de adicionar totalmente el HNO₃, se calienta la mezcla a 50 °C por una hora y media en baño de agua. Se deja enfriar y se vierte sobre hielo. Se obtiene un precipitado amarillo claro que se filtra y lava con agua fría para eliminar el exceso de ácido.

El producto se recristaliza de etanol. Se obtienen agujas de color amarillo claro.

Se obtienen 1.1350 g. El rendimiento es del 54.82 %. La reacción se sigue por cromatografía en capa fina (CCF).

Reducción de 1-nitro-naftaleno.-

A un gramo (5.7×10^{-3} moles) de 1-nitro-naftaleno se agregan 12 ml de ácido acético glacial, hasta disolución. Se agregan 3.5 ml de anhídrido acético y poco a poco 1.6 g de hierro en polvo (al agregar el hierro, la solución se calienta y oscurece). La mezcla de reacción se calienta a reflujo por 11 horas, siguiendo la reacción por CCF. Es necesario agregar un exceso de ácido acético para que la agitación sea adecuada.

Se deja enfriar y se vierte sobre hielo. El precipitado obtenido se filtra y lava con agua. Se recristaliza de H₂O/etanol 60:40, obteniéndose unos cristales rosas muy pálidos.

Se obtienen 0.5134 g. El rendimiento de la reacción es del 48.01 %

Nitración de 1-naftilacetamida.-

Se siguió la técnica reportada por Hodgson y Walker (35).

A 2 ml de HNO_3 concentrado y previamente enfriado en un baño de hielo se le agregan poco a poco 0.3 g (1.73×10^{-3} moles) de 1-naftilacetamida, agregando solo hasta que se ha disuelto la adición anterior por completo. La temperatura se mantiene menor a 10°C con agitación magnética.

La solución se vuelve amarilla al adicionar la materia prima, luego naranja rojizo y casi al final de la adición se forma una pasta amarilla. Se deja agitando por 40 minutos más, después de adicionar la materia prima, y se le agrega hielo. Precipita un sólido amarillo, el cual se filtra y lava con agua fría.

Se obtienen 0.34 g de producto crudo. Por CCF se observa la presencia de dos productos, al eluir con cloroformo. Los productos se separan por placas preparativas, eluyendo tres veces con cloroformo. Para aplicar el producto a las placas, se disuelve en acetona/metanol 50:50.

Se disolvieron 0.25 g de los cuales se obtuvieron 0.07459 g de 2-nitro-naftilacetamida y 0.11841 g de 4-nitro-naftilacetamida, extrayéndolos con acetona de la sílica.

Ambos productos se presentan en forma de agujas, solo que el producto nitrado en posición 2 es amarillo más oscuro.

El rendimiento es de 29.84 % para la 2-nitro-1-naftilacetamida y 34.83 % para la 4-nitro-1-naftilacetamida, siendo el rendimiento total del 64.67 %.

Reducción de 4-(2-bromo-etil)-acetanilida.-

Se disuelve 1 g (4.34×10^{-3} moles) de materia prima en 10 ml de ácido acético glacial y 7 ml de anhídrido acético. Se agregan poco a poco 0,9498 g de hierro en polvo.

La mezcla se calienta a reflujo por 3 horas, siguiéndola por CCF. Se enfría y se vierte sobre hielo. Se obtiene un precipitado rojizo, el cual se filtra y se lava con acetona caliente, con la cual se extrae el producto. El precipitado obtenido con el acetona se recristaliza de H_2O /etanol 90:10. Se obtienen 0,5933 g de agujas blancas por lo que el rendimiento es de 56,28 %.

Nitración de 4-(2-bromo-etil)2-nitro-acetanilida.-

A 0,35 g (1.45×10^{-3} moles) de materia prima se agregan 3,5 ml de ácido acético glacial para disolverla y poco a poco 1,2 ml de HNO_3 al 90 %. La mezcla se calienta en baño de agua a 50-54 °C por una hora, siguiendo la reacción por CCF. Se deja enfriar y se vierte sobre hielo, obteniéndose un precipitado amarillo brillante. Se purifica por medio de placas preparativas, eluyendo con benceno/metanol 99:1 dos veces. El producto se aplica a las placas en solución de cloroformo. Se extrae también de ellas con cloroformo, obteniéndose además, la materia prima que no reaccionó.

Se obtienen 0,14269 g de agujas de color amarillo muy brillante. El rendimiento es del 34,37 %.

Acetilación de p-nitro-anilina.-

1 g de p-nitro-anilina ($7,24 \times 10^{-3}$ moles) se disuelven en 2 ml de ácido acético glacial y 4 ml de anhídrido acético. Se agrega una gota de H_2SO_4 concentrado como catalizador y se deja agitando por

10 horas. Se forma un precipitado amarillo muy pálido. La mezcla se vierte sobre hielo, se filtra y se lava con agua fría.

El producto se recristaliza de H_2O /etanol 1:1. Se obtienen 1.2945 g, siendo el rendimiento del 99.245 %.

Acetilación de o-nitro-anilina.-

0.5 g (3.6×10^{-3} moles) de o-nitro-anilina se disuelven en 1 ml de ácido acético glacial y 3 ml de anhídrido acético, con lo que la solución se oscurece. Se agrega una gota de H_2SO_4 concentrado y la reacción se sigue por CCF. Se deja reaccionando por 12 horas, después de lo cual se vierte sobre hielo, se filtra y se lava con agua fría, obteniéndose un precipitado amarillo.

Se recristaliza de agua y se obtienen agujas de color amarillo.

El peso del producto es de 0.4803 g, por lo que el rendimiento es del 73.646 %.

En la tabla I se presentan los datos de espectroscopia y puntos de fusión para estos compuestos (33,34).

El resto de los compuestos probados fueron sintetizados por la Dra. Eva Estrada M. y el maestro Mauro Cruz M. para estudios similares.

B) Parte bioquímica.-

Aislamiento de cloroplastos.-

Para el aislamiento de cloroplastos se utilizan plantas de chícharo crecidas en condiciones controladas:

Las semillas de chícharo comerciales poseen un fungicida para protegerles, por lo que deben lavarse varias veces con agua hasta quitarles lo mas posible el fungicida.

Una vez lavadas se colocan sobre "Agrolita", cubriéndolas con un poco de ella. Se dejan crecer por dos semanas bajo iluminación continua y temperatura constante de 25 °C, regándolas diariamente con agua destilada.

Para el aislamiento de los cloroplastos se les quita las raíces a las plantas y se sigue la siguiente técnica(6):

1.-5 g de plantas de chícharo son homogeneizadas en 50-75 ml (el volumen depende del recipiente utilizado para homogeneizar) del siguiente medio (medio de aislamiento):

Tricina-NaOH 50 mM pH=7.5

NaCl 300 mM

MgCl 3mM

Albúmina sérica bovina (ASB) 0.01 %

2.-El homogenado se filtra a través de 4 capas de gase y el filtrado se centrifuga a 1000 g (3500 rpm en una centrifuge J-21, rotor J-20 marca Beckman) por 30 segundos.

3.-El sobrenadante se centrifuga a 3000 g (5000 rpm en la misma centrifuge) por 10 minutos, para obtener los cloroplastos en el sedimento.

4.-El sedimento se suspende en 5 ml del siguiente medio (medio de resuspensión):

Tricina-NaOH 5 mM pH=7.5

Sacarosa 100 mM

EDTA 2 mM

MgCl₂ 3 mM

ASB 0.1 %. Ayudándose con una varilla de vidrio y un trocito de algodón.

Todo se efectúa a 4°C. Los cloroplastos se mantienen cubiertos con panel aluminio y sobre hielo.

Determinación de clorofila.-

1.-100 μ l de la suspensión de cloroplastos se colocan en 4 ml de acetona al 80 % contenidos en un tubo de ensayo y se agitan.

2.-Centrifugar a 2500 rpm por 3 minutos en una centrifuga clinica.

3.-El sobrenadante se afira a 5 ml con acetona al 80 %. Se determina la absorbancia de la solución a 645 y 663 nm, siendo los inversos de los coeficientes de extinción de 20.2 μ g/ml y 8.02 μ g/ml, respectivamente.

En base a estos datos se determina el valor adecuado para tener 100 μ g de clorofila (cantidad óptima para las determinaciones). La suspensión de cloroplastos debe mantenerse en hielo y agitarse antes de agregarla a la mezcla de reacción.

La mezcla de reacción contiene:

0.2 ml de amortiguador tricina-NaOH 300 μ M pH=8

0.05 ml de DCPiP 10 mM

0.2 ml de NH₄Cl 10 mM

0.02 ml de solvente o solución del herbicida de concentraciones sucesivas.

Volumen de suspensión de cloroplastos necesario para 100 μ g de clorofila.

H₂O necesaria para tener 2 ml de volumen total.

Son necesarios además, agitación magnética constante y un baño de agua para mantener constante la temperatura (figura 16).

Para la iluminación de la mezcla de reacción se usa una lámpara de 150 watts perteneciente a un proyector para transparencias y un filtro, consistente en una solución de CuSO₄ al 5 %.

Es conveniente que después de agregar todas las soluciones necesarias para las determinaciones, esperar un minuto para que la mezcla de reacción adquiera la temperatura del baño, tapando el recipiente. Con esto se evita la iluminación externa, para lo cual también se recomienda trabajar en un lugar oscuro.

Determinaciones previas.-

A) Determinación de las cantidades óptimas de DCPIP y μ g de clorofila. El medio de reacción contiene diferentes volúmenes de DCPIP 10 mM, 50 y 100 μ g de clorofila, 0.2 ml de tricloro-NaOH 300mM pH 8 y agua necesaria para completar el volumen a 2 ml.

B) Determinación del efecto del disolvente.

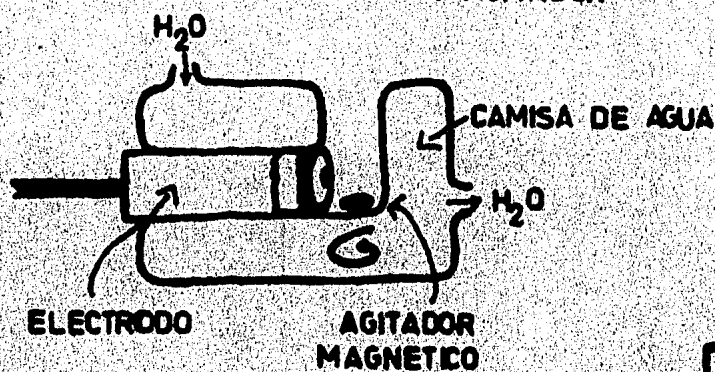
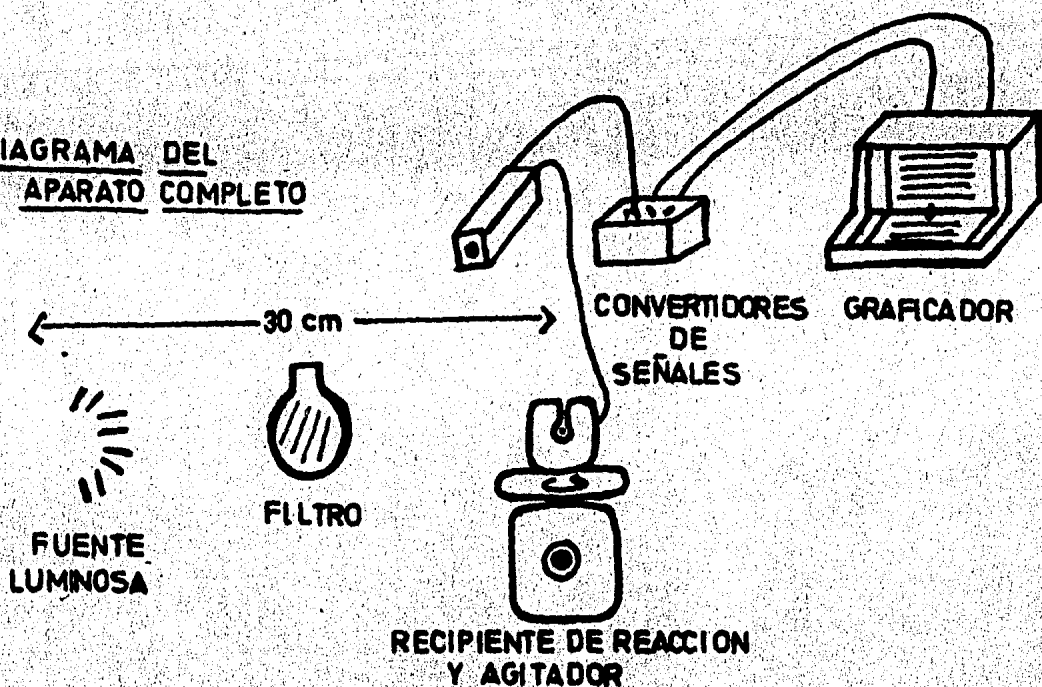
C) Determinación de la inhibición del transporte de electrones por un herbicida comercial, en este caso: loxiniil. Su pl_{50} es de 5.8-6 (12).

Determinación de la inhibición en el transporte de electrones.-

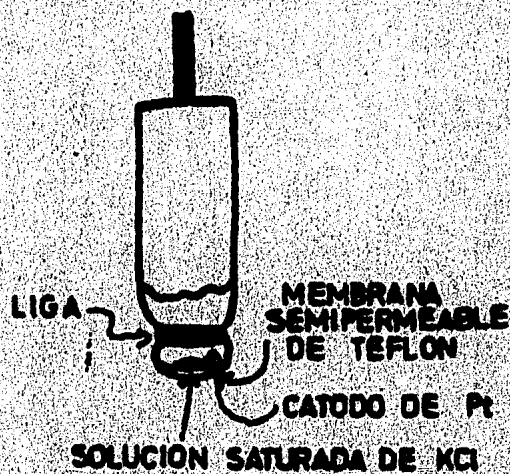
Para determinar el transporte de electrones en μ moles de O₂/min/mg de clorofila es necesario calibrar el electrodo primero.

Se agregan 2 ml de agua destilado y se deja que se estabilice el electrodo (se obtiene una línea recta vertical en el graficador), se agrega un poco de ditionato de sodio, el cual absorbe el

DIAGRAMA DEL APARATO COMPLETO



RECIPIENTE DE REACCION Y ELECTRODO



ELECTRODO DE OXIGENO

Figura 16.- Diagramas de los aparatos utilizados.

oxígeno presente en el agua.

Sabiendo que el agua contiene $0.26 \mu\text{moles}$ de O_2/ml , se obtendrá el valor de los moles correspondientes para cada centímetro recorrido por el graficador (figura 17).

De los trazos obtenidos para cada determinación con los diferentes compuestos, se determina la inclinación de la recta por minuto, lo cual estará relacionado con el número de μmoles de oxígeno que se han producido en la mezcla de reacción, en base a la calibración (figura 17).

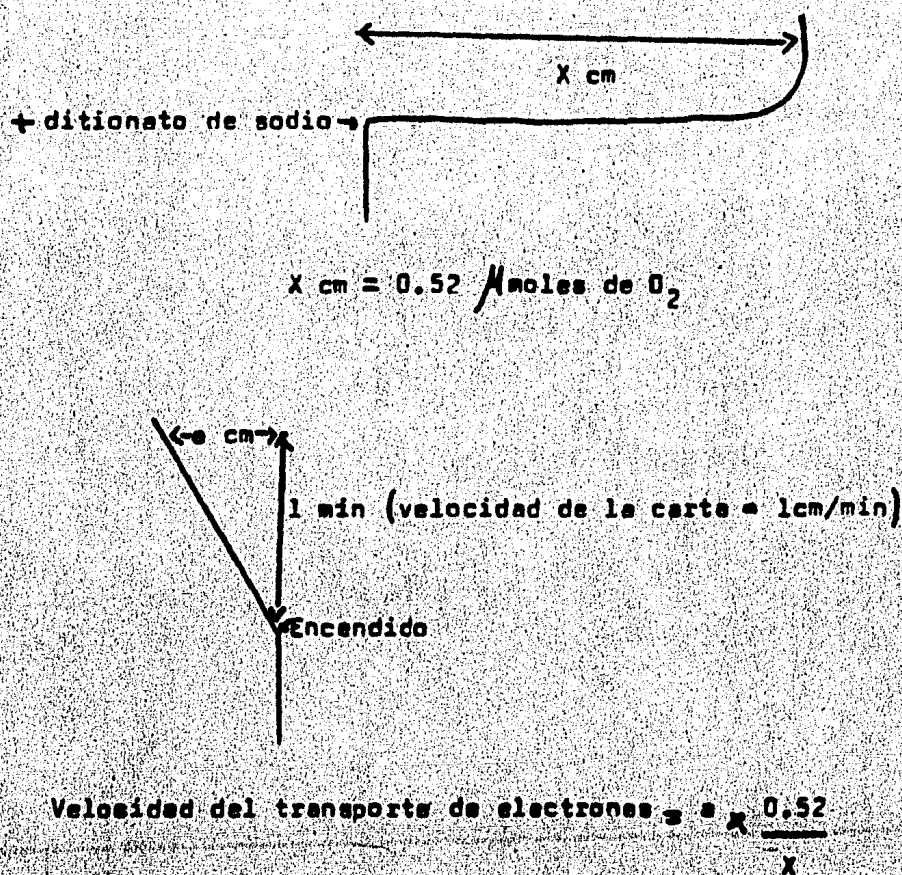


Figura 17.-Ejemplificación de los trazos obtenidos para la calibración y determinación de inhibición.

Multiplicando la calibración del electrodo por el valor de la inclinación se obtendrán los μ moles de O_2 /min y dividiendo este valor entre los mg de clorofila, se obtendrán las unidades deseadas, arriba mencionadas.

Los datos obtenidos se presentan ya sea, en gráficas de % de inhibición causada por el compuesto respecto al control (con disolvente), o bien μ moles de O_2 /min/mg de clorofila vs concentración.

Determinación de la fotooxidación de la clorofila.-

Como se mencionó ya, la inhibición del transporte de electrones produce la destrucción de pigmentos fotosintéticos, uno de ellos: la clorofila.

Su concentración se determina midiendo la absorbencia a 663 y 645 nm en soluciones de clorofila extraída de hojas de linaza con acetona al 80 %. Las hojas han sido tratadas con las diferentes soluciones de los compuestos por probar.

La técnica seguida fué la siguiente:

Semillas de linaza se germinan en "Agrolita" y se dejan crecer por 7 días con luz continua y temperatura controlada de 25 °C.

De las plantas obtenidas se cortan las hojas y se pesan en conjuntos de 5 hojas.

En una caja Petri se coloca un papel filtro y 3 conjuntos de hojas previamente pesadas. En cada caja se pondrá además, una solución de 20 μ l de la solución deseada en 1.98 ml de agua destilada. El control consiste en colocar las hojas en una solución que contiene, en lugar de la solución del compuesto, la misma cantidad de

disolvente. Las cajas se colocan bajo iluminación continua a temperatura de 25°C.

Las hojas permanecerán así por 2,5 y 7 días y las determinaciones para cada día, así como para el día "0" se harán de la siguiente manera:

Las 5 hojas de cada conjunto, se homogenizan en un mortero con 2 ml de acetona al 80 %, el homogenado se pasa a un tubo de ensayo con ayuda de 6 ml de la misma solución de acetona, se agita y se deja reposar por 5 minutos. Después, se centrifuga por 5 minutos a 3000 rpm (en una centrífuga clínica). El sobrenadante se afora a 10 ml con la solución de acetona al 80 %.

Se miden las absorbancias a 645 y 663 nm y se determinan los μg de clorofila con ayuda de los coeficientes de extinción antes mencionados.

Los datos se reportan en μg de clorofila /g de tejido fresco, o bien en % de disminución de clorofila vs tiempo.

CAPITULO V :

DISCUSION Y

RESULTADOS

Discusión y Resultados.-

a) Parte Química.-

Las figuras 18, 19 y 20 representan las rutas sintéticas seguidas para la obtención de los compuestos N₇, N₁₁, N₁₃, N₁₅, N₁₆ y N₁₇.

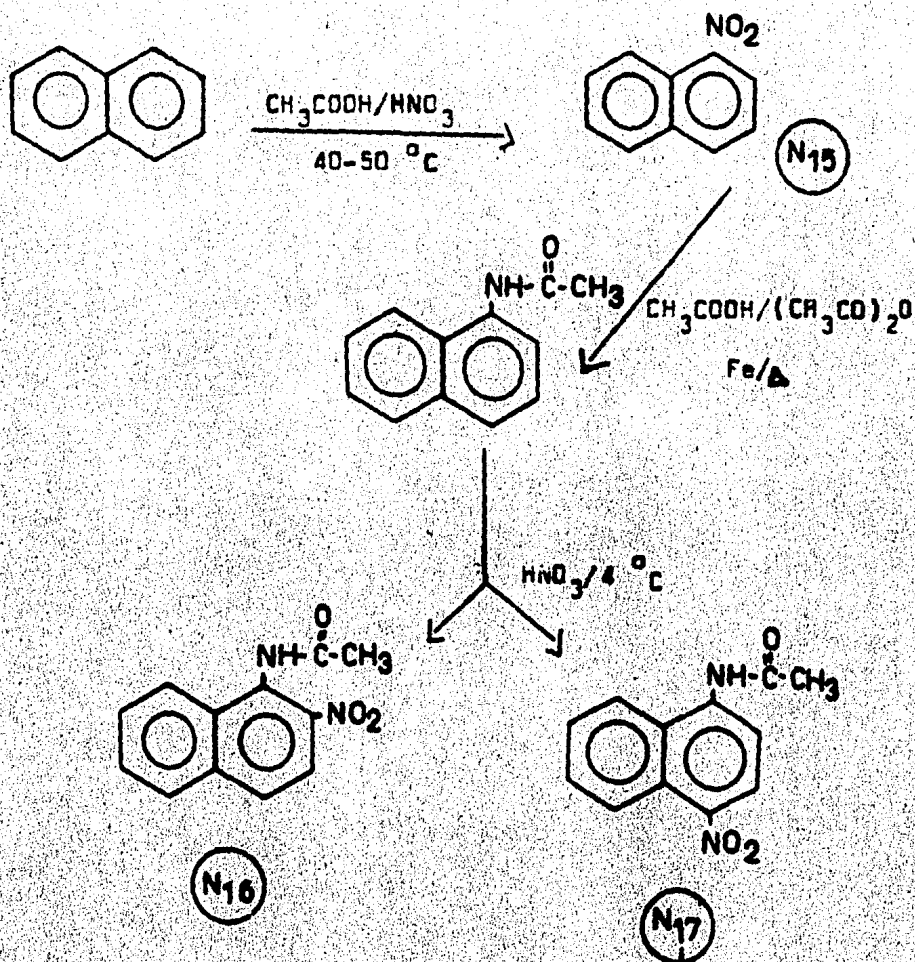


Figura 18.-Esquema de síntesis de 2 y 4-nitro-1-naftil-acetamida.

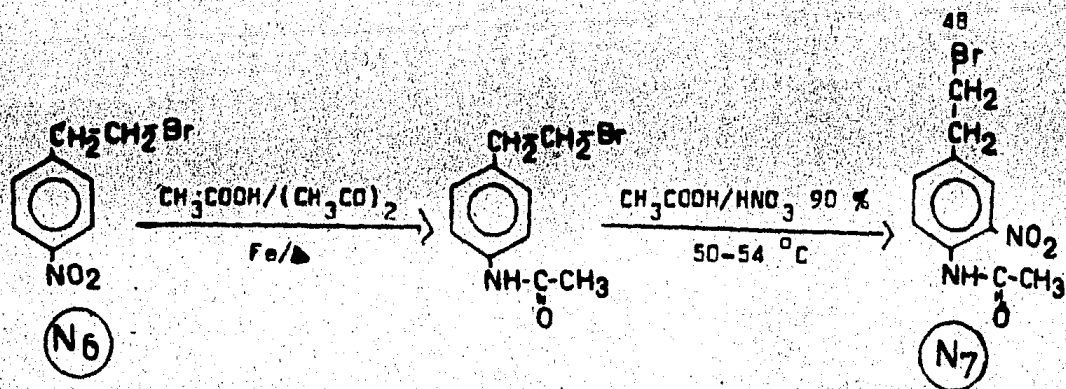


Figura 19.-Esquema de síntesis de 4-(2-bromo-etil)2-nitroacetanilida.

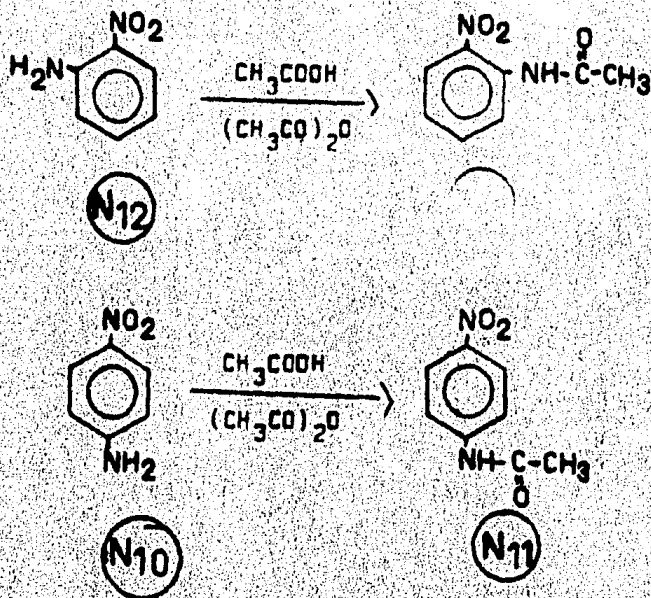


Figura 20.-Esquema de síntesis de orto y para-nitroacetanilida.

En la tabla I se encuentran los puntos de fusión de los compuestos obtenidos, así como los datos espectroscópicos de IR y RMN, que caracterizan a cada molécula.

Los rendimientos para las nitraciones varían entre un 35 y 65 %, éstos podrían considerarse como rendimientos bajos, sin embargo hay que tener en cuenta que al efectuar una nitración pueden obtenerse subproductos con cierta facilidad, ya sean productos nitrados en otras posiciones o bien, nitrados en más de una posición.

Por otro lado la nitración de amidas implica otro problema más, ya que el HNO_3 que se utiliza como agente nitrante puede hidrolizar a la amida obteniéndose más subproductos.

En cuanto a las reducciones del grupo nitro, se prefirió esta ruta ya que en un solo paso se obtenían las aminas protegidas adecuadamente para nitrarlas posteriormente.

En el caso específico de la 1-naftilacetamida, se prefirió obtenerla directamente en esta forma, ya que la amina libre se descompone fácilmente en el medio ambiente (33).

La acetilación de la p-nitroanilina tuvo un buen rendimiento en comparación con la de la o-nitroanilina, ya que esta última presenta un mayor impedimento estérico.

Los compuestos fueron identificados por espectroscopía IR y RMN además de su punto de fusión y CCF.

-1-nitro naftaleno.- A él pertenecen los espectros 1 y 2, IR y RMN respectivamente.

En el espectro 1 podemos observar las bandas intensas para el grupo nitro a 1340 y 1510 cm^{-1} . La banda débil a 3030 cm^{-1} corresponde a las uniones C-H presentes y la banda media a 1600 cm^{-1} corresponde al anillo aromático.

Para el espectro 2, la muestra se disolvió en CHCl_3 deuterado. En él pueden observarse una serie de bandas entre 7.3 y 8.3δ

que corresponden a los protones de los anillos aromáticos, excepto al protón alfa al carbono que posee el grupo nitro. La señal para este protón se encuentra a 8.55δ , y que la presencia del grupo nitro hace que la señal aparezca a campo mas bajo.

Tomando como base este protón para la integración, la primera señal múltiple integra para 6 protones.

El singulete a 7.25δ pertenece al cloroformo no deuterado que contamina al disolvente deuterado.

1-naftilacetamida.- A ella pertenecen los espectros 3 y 4. El espectro infrarrojo número 3 presenta una banda media a 3250 cm^{-1} correspondiente a la unión N-H. la banda intensa a 1700 cm^{-1} pertenece al carbonilo de la amida, mientras que las de 1530 cm^{-1} (media) y 1270 cm^{-1} (débil) pertenecen a las uniones C-N. La banda característica para el metilo se encuentra a 1390 cm^{-1} y es muy débil.

El espectro de RMN # 4 pertenece también a la 1-naftilacetamida disuelta en acetona deuterada. Muestra un singulete a 9.05δ , al cual pertenece el protón de la amida. Esta señal desaparece con D_2O .

El multiplete entre 7.25 y 8.1δ corresponde a los protones del anillo aromático, integra para 7 protones.

Todas las señales pertenecientes a los protones de los anillos aromáticos se encuentran desplazados a campo mas alto, respecto a las del 1-nitronaftaleno.

El singulete a 2.25δ pertenece a los protones del metilo.

A 2.1δ se obtiene el pico correspondiente al acetona sin deuterar, mientras que el que se encuentra a 2.75δ pertenece al H_2O .

ambos contaminantes del disolvente deuterado.

-2-nitro-1-naftilacetamida.-Corresponden a ella los espectros 5 y 6.

En el espectro IR # 5 se observa la banda media a 3200 cm^{-1} correspondiente a la unión N-H. Las otras bandas características de las uniones C-N se encuentran como hombros muy leves a 1630 y 1500 cm^{-1} , la de 1240 cm^{-1} es una banda media.

El grupo nitro está representado por dos bandas intensas a 1320 y 1480 cm^{-1} .

En el espectro 6 de RMN en el que la muestra se disolvió en acetona deuterada, pueden observarse una serie de señales entre 7.5 y 8.3δ que pertenecen a los protones de los anillos aromáticos, integra para 6 protones.

El singulete a 9.5δ pertenece al protón de la amida y muestra la influencia del grupo nitro, ya que está desplazado a campo más bajo que la correspondiente señal en la 1-naftilacetamida. Esta señal desaparece con D_2O .

El singulete a 2.2δ pertenece a los protones del metilo, ya que integra para tres protones. Las señales a 2.7 y 2.8δ pertenecen al agua y acetona sin deuterar respectivamente, que contaminan al disolvente deuterado.

-4-nitro-1-naftilacetamida.-A ella pertenecen los espectros 7 y 8.

El espectro 7 de IR muestra las bandas a 3220 cm^{-1} (media), 1270 cm^{-1} (media) y las de 1660 y 1530 cm^{-1} ("hombros"), caracterís-

ticas de las amidas secundarias.

Las bandas para el grupo nitro son intensas y se encuentran a 1330 y 1500 cm^{-1} .

El espectro 8 se efectuó con solución del compuesto en acetona deuterada. En él pueden observarse más definidas las bandas para los protones "vecinos" a los grupos amido y nitro.

Puede observarse el singulete perteneciente al protón de la amida a $9.55\text{ } \delta$. Este desaparece con D_2O . Esta señal se encuentra practicamente al mismo desplazamiento químico que la correspondiente en el compuesto 2-nitro-1-naftilacetamida, por lo que la influencia de la posición del grupo nitro es la misma en ambos compuestos.

En multiplete entre 7.5 y $7.85\text{ } \delta$ pertenece a los protones del anillo aromático que se encuentran entre los grupos nitro y amido, integran para 2 protones. El otro multiplete entre 8.15 y $8.6\text{ } \delta$ pertenece a los 4 protones del segundo anillo aromático.

El singulete a $2.2\text{ } \delta$ corresponde a los protones del metilo.

De nuevo aparecen las señales para el agua a $2.75\text{ } \delta$ y acetona sin deuterar a $2.1\text{ } \delta$.

-4-(2-bromo-etil)acetanilida.-Corresponden los espectros 9 y 10.

En el espectro 9 de IR pueden observarse las bandas a 1660 cm^{-1} (intensa), 1540 cm^{-1} (media), 1260 cm^{-1} (media) y 3300 cm^{-1} (media) que corresponden a las uniones N-H y C-N.

La banda intensa a 1610 cm^{-1} pertenece al anillo aromático.

La banda a 550 cm^{-1} pertenece a la unión C-Br.

La espectroscopia RMN (espectro 10) se efectuó en solución de cloroformo y como puede observarse el protón perteneciente

a la amida presenta su señal dentro del multiplete perteneciente a los protones del anillo aromático. Este multiplete se encuentra entre 7 y 7.6 δ e integra para 5 protones, tomando como base el singulete a 2.1 δ que pertenece a los protones del metilo.

El triplete a 3.5 δ pertenece a los protones del metileno α al bromo y el que se encuentra a 3.1 δ pertenece a los protones del metileno β al bromo.

-4-(2-bromo-etil)2-nitro-acetanilida.-A este compuesto corresponden los espectros 11 y 12.

En el Ir # 11 pueden observarse las bandas de la amida a 3360 cm^{-1} (media), 1700 cm^{-1} (intensa) y 1270 cm^{-1} (media). La banda intensa a 1580 cm^{-1} pertenece al anillo aromático, mientras que las correspondientes al grupo nitro se encuentran a 1330 y 1510 cm^{-1} . La banda débil a 570 cm^{-1} pertenece a la unión C-Br.

El espectro 12 de RMN se efectuó en solución de cloroformo deuterado. En él puede observarse que la señal para el protón de la amida se ve fuera del campo debido a la influencia del grupo nitro en posición "orto" a ella. Esta señal a 10.3 δ desaparece con D_2O .

El doblete a 8.65 δ pertenece al protón "meta" al grupo nitro, integra para 1 protón. El que se encuentra a 8 δ también integra para 1 protón y corresponde al protón "orto" al grupo nitro. El doblete de dobletes a 7.45 δ integra para 1 protón y corresponde al protón "para" al grupo nitro.

Los triplete a 3.65 y 3.15 δ corresponden a los protones de los metilenos α y β respectivamente, al bromo. Como puede observarse la presencia del grupo nitro no influye grandemente en es-

tos protones.

-p-nitro-acetanilida.-A ella pertenece el espectro 11. Solo de IR ya que se consideró que con éste y el punto de fusión era suficiente para su identificación.

Están presentes las bandas para la amida a 3280, 1680 y 1270 cm^{-1} . Las correspondientes al grupo nitro se encuentran a 1350 y 1510 cm^{-1} . La disustitución del anillo aromático en posición "para" está representada por la banda a 850 cm^{-1} .

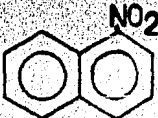
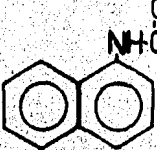
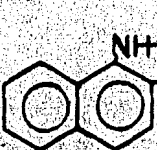
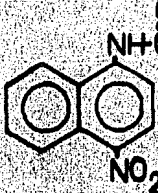
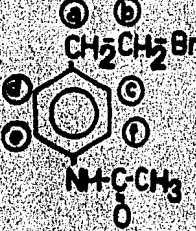
-A la o-nitro-acetanilida pertenece el espectro de IR # 14.

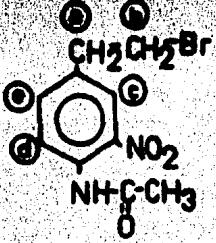
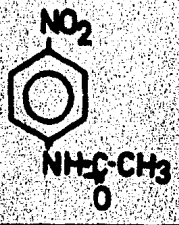
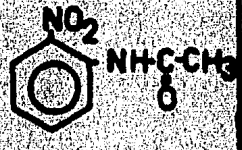
El grupo nitro está representado por las bandas intensas a 1350 y 1510 cm^{-1} . Las pertenecientes al grupo amido se encuentran a 3380, 1700 y 1280 cm^{-1} .

A la disustitución en posición "orto" del anillo aromático pertenece al banda a 750 cm^{-1} .

Las bandas para cada grupo funcional fueron asignadas según Nakanishi (38) y Silverstein (39).

DATOS ESPECTROSCOPICOS Y PUNTOS DE FUSION

FORMULA	IR (cm ⁻¹) KBr	RMN (δ)	P. de fusión (°C)
	$\text{-NO}_2 \begin{cases} 1510 \text{ (i)} \\ 1540 \text{ (i)} \end{cases}$	Anillos: Multinlete 7.4 a 8.6	52-53
	$\begin{aligned} \text{-NH-} & 3250 \text{ (m)} \\ \text{-NH-C-} & 1700 \text{ (m)} \\ & \text{O} \end{aligned}$	$9 \text{ (des. + D}_2\text{O)}$ $\text{-CH}_3 \text{ 7.25 (sin.)}$	160-61
	$\begin{aligned} \text{-NH-} & 3200 \text{ (m)} \\ \text{-NH-C-} & 1630 \text{ (i)} \\ & \text{O} \\ \text{-NO}_2 & \begin{cases} 1520 \text{ (i)} \\ 1320 \text{ (i)} \end{cases} \end{aligned}$	$9.5 \text{ (des. + D}_2\text{O)}$ $\text{-CH}_3 \text{ 7.2 (sin.)}$	200-01
	$\begin{aligned} \text{-NH-} & 3220 \text{ (m)} \\ \text{-NH-C-} & 1660 \text{ (i)} \\ & \text{O} \\ \text{-NO}_2 & \begin{cases} 1530 \text{ (i)} \\ 1900 \text{ (i)} \end{cases} \end{aligned}$	$9.55 \text{ (des. + D}_2\text{O)}$ $\text{-CH}_3 \text{ 2.7 (sin.)}$ $H_a \text{ y } H_b \text{ 7.8-7.85 (m)}$	152-93
	$\begin{aligned} \text{-NH-} & 3300 \text{ (m)} \\ \text{-NH-C-} & 1660 \text{ (i)} \\ & \text{O} \\ \text{-Br} & 590 \text{ (m)} \end{aligned}$	$\text{-CH}_3 \text{ 2.25 (sin.)}$ $\text{-CH}_2\text{-(a) 3.1 (tr)}$ $\text{-CH}_2\text{-(b) 3.5 (tr)}$ $H_d \text{ y } H_e \text{ 7.4 (db)}$ $H_f \text{ y } H_f' \text{ 7.1 (db)}$	142-43

FORMULA	IR (cm ⁻¹) KBr	RMN (δ)	P. de fusión (°C)
	-NH- 3360 (m) -NH-C- 1700 (i) O -NO ₂ { 1330 (i) 1510 (i) -Br 570 (d)	10.3 (des. D ₂ O) -CH ₂ -(a) 3.15(tr) -CH ₂ -(b) 3.55(tr) H _d 8.65 (db) H _c 8 (db) H _a 7.45 (db-db)	127-28
	-NH- 3280 (d) -NH-C- 1680 (m) O -NO ₂ { 1350 (i) 1510 (i)		216-17
	-NH- 3380 (m) -NH-C- 1700 (i) O -NO ₂ { 1350 (i) 1510 (i)		90-91

NOTAS:

i = intensa

d = débil

m = media

des. + D₂O desaparece con D₂O

sin = singuleto

db = doblete

tr = triplete

b) Parte Bioquímica.-

La determinación de inhibición del transporte de electrones en fotosistema II se hizo mediante la medición de la generación de oxígeno en cloroplastos del tipo "E", según la clasificación de Hall (7), extraídos de hojas de chícharo. Se utilizó DCPIP como aceptor de electrones de FS II (saca electrones de PQ).

Al inhibirse el transporte de electrones, disminuye o se inhibe por completo la liberación de oxígeno.

Los cloroplastos utilizados poseen los tilacoides arreglados irregularmente y desorientados. Los discos se encuentran hinchados y no poseen membrana exterior, ni estroma por lo que no hay fijación de CO_2 . Son utilizados en estas determinaciones ya que se tiene una alta velocidad en el transporte de electrones, pero no son utilizados para medir síntesis de ATP, por ser ésta muy lenta.

El electrodo de oxígeno utilizado para las determinaciones es llamado "tipo Clark" y consiste en un cátodo de platino y un ánodo de plata. En el extremo, una membrana semipermeable protege a los electrodos del medio ambiente. Esta membrana permite el paso solamente de gases al interior del sensor, específicamente el oxígeno.

Al aplicar un determinado potencial (en este caso de 0.8 V), el oxígeno presente provoca un flujo de corriente a través de la celda, la cual es proporcional a la cantidad de oxígeno a la cual ha sido expuesta la membrana. Debido a que el oxígeno se consume rápidamente en el cátodo, puede considerarse que dentro de la membrana la presión se cura. Considerándose que la difusión del oxígeno a través de la membrana es proporcional a la presión

fuera de ella. Al aumentar la presión de oxígeno fuera, más oxígeno es difundido y mayor es la corriente que fluye.

Como se mencionó en la parte experimental es necesario efectuar algunas mediciones para determinar las condiciones óptimas de trabajo.

Las condiciones óptimas de clorofila y DCPIP están representadas en la gráfica 1. Como se puede observar al aumentar la cantidad de clorofila aumenta la velocidad del transporte de electrones. De los dos experimentos realizados, se obtiene un mayor transporte de electrones utilizando 100 μ g.

Para el DCPIP se obtiene un máximo en el transporte de electrones a 50 μ l de una solución de concentración 10 mM. Esto se debe a que a concentraciones bajas, la cantidad de aceptor de electrones es insuficiente para una buena velocidad en el transporte de electrones. Por el contrario a concentraciones altas, el aceptor de electrones oscurece la mezcla de reacción impidiendo que los cloroplastos se saturen de luz, lo que disminuirá el transporte de electrones.

Este mismo efecto se presenta si la cantidad de clorofila es muy alta.

La determinación del efecto de los disolventes se hace para evitar efectos secundarios de estos en las determinaciones.

Por lo general se recomienda el uso de disolventes que no sean volátiles y tengan una inhibición del transporte de electrones no mayor del 20 %.

Los disolventes que se usaron fueron etanol y DMF (N,N-dimetilformamida), los cuales presentaron una inhibición del 14

y 7 % respectivamente, a una concentración del 1%.

La determinación de la inhibición del transporte de electrones por un herbicida comercial como el ioxinil sirve como punto de referencia.

La gráfica 2 nos muestra la inhibición causada por este compuesto sobre FS II. Como puede observarse a una concentración de 1×10^{-6} M se obtiene una inhibición del 50 % en el transporte de electrones. Al logaritmo negativo de este valor se le conoce como pI_{50} .

Los compuestos probados, así como los pI_{50} y el disolvente utilizado se muestran en la tabla II.

Hay casos en los que no aparecen los valores de pI_{50} debido a que las concentraciones utilizadas, el compuesto no presente una inhibición del 50 % y no pudieron utilizarse soluciones más concentradas, ya que el compuesto precipitaba en el seno de la reacción, obteniéndose un medio que impedía el paso de luz a los cloroplastos en forma completa y homogénea.

En la gráfica 3 se muestra la inhibición del transporte de electrones de ida a una serie de compuestos que poseen diferentes sustituyentes en posiciones "orto" y "meta" al grupo nitro en el anillo aromático (figura 21).

En este gráfico puede observarse que la actividad del compuesto N_3 el cual posee el grupo β, β, β -tricloro-etoxi-carbonilo en el grupo amino y un carboxilo libre, es ligeramente superior a la del compuesto N_2 y mucho mayor a la de N_1 .

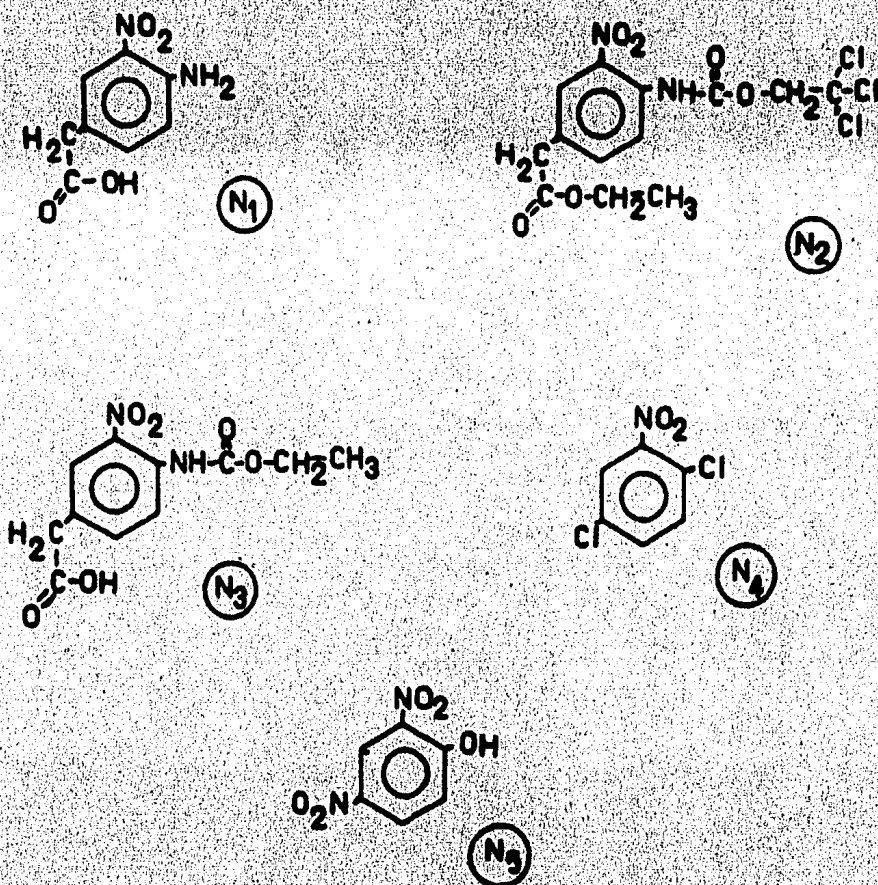


Figura 21.-Estructura de los compuestos presentes en la gráfica 3.

En la gráfica 4 puede observarse que la presencia del sustituyente $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{R}_x$ (N₆) da una actividad mayor a la molécula que el grupo $-\text{CH}_2-\text{CO.OH}$ (N₈).

También puede observarse en esta gráfica que el compuesto que posee un grupo carboxilo esterificado (N₉) tiene una actividad menor con respecto al que posee un grupo carboxilo libre (N₈).

En la gráfica 5 puede observarse la influencia del sustituyente en el grupo amino de "orto" y "para" nitroanilinas. Como puede observarse la presencia del grupo β,β,β -tricloro-oxi-carbonilo en la o-nitro-anilina aumenta su actividad respecto a la de la amina libre y la acetanilida correspondiente (compuestos N_{14} , N_{12} y N_{13} respectivamente).

La actividad que presentan las aminas libres, ya sea en posiciones "orto" o "para" es mayor que la de las respectivas acetanilidas. Además los compuestos nitrados en "para", ya sea con la amina libre o acetilada, presentan mayor actividad que las nitradas en posición "orto".

En la gráfica 6 puede observarse la influencia de un grupo acetamido en el nitro-naftaleno. Como puede observarse la presencia de este grupo en posición "para" al nitro disminuye considerablemente la actividad de la molécula.

La actividad presentada por las nitroacetanilidas es prácticamente la misma para las correspondientes nitronaftilacetamidas, por lo que la inserción de un anillo aromático en estas últimas no parece tener una influencia significativa en la actividad de la molécula.

El compuesto N_{15} presenta la mayor actividad inhibitoria del transporte de electrones de los compuestos probados.

En la gráfica 7 están presentes todos los compuestos para los cuales fue posible obtener un pl_{50} y por lo tanto, son los que presentaron mayor actividad inhibitoria.

Como puede observarse la mayoría de ellos poseen átomos de halógeno en su molécula, ya sea unidos directamente al anillo aromático (N_4) o unidos a él por medio de otros grupos como

en N_2, N_3, N_6 y N_7 .

También puede observarse que la posición de los sustituyentes y el número de ellos no es importante, pues mientras algunos poseen tres sustituyentes en el anillo aromático (N_2, N_3, N_4 y N_7), otros poseen solo dos (N_6 y N_{14}) o incluso poseen un anillo aromático más como en N_{15} .

Como ya se había mencionado antes, uno de los efectos fitotóxicos de los herbicidas inhibidores del transporte de electrones es la destrucción de los pigmentos fotosintéticos.

Este efecto fué aprovechado en los experimentos realizados con hojas de linaza, lo que nos da una idea del efecto de algunos de los compuestos en un sistema más organizado que los cloroplastos aislados.

En la tabla III se presentan los datos que muestran la disminución de clorofila provocada por los compuestos respecto al tiempo, bajo condiciones extremas de iluminación. En la gráfica 8 se representan estos datos.

Como puede observarse el sustituyente β, γ, δ -triclora-etoxi-carbonilo presente en los compuestos N_2 y N_{14} , en este caso no tiene un buen efecto ya que la disminución de clorofila provocada por estos compuestos no es mayor del 50 %.

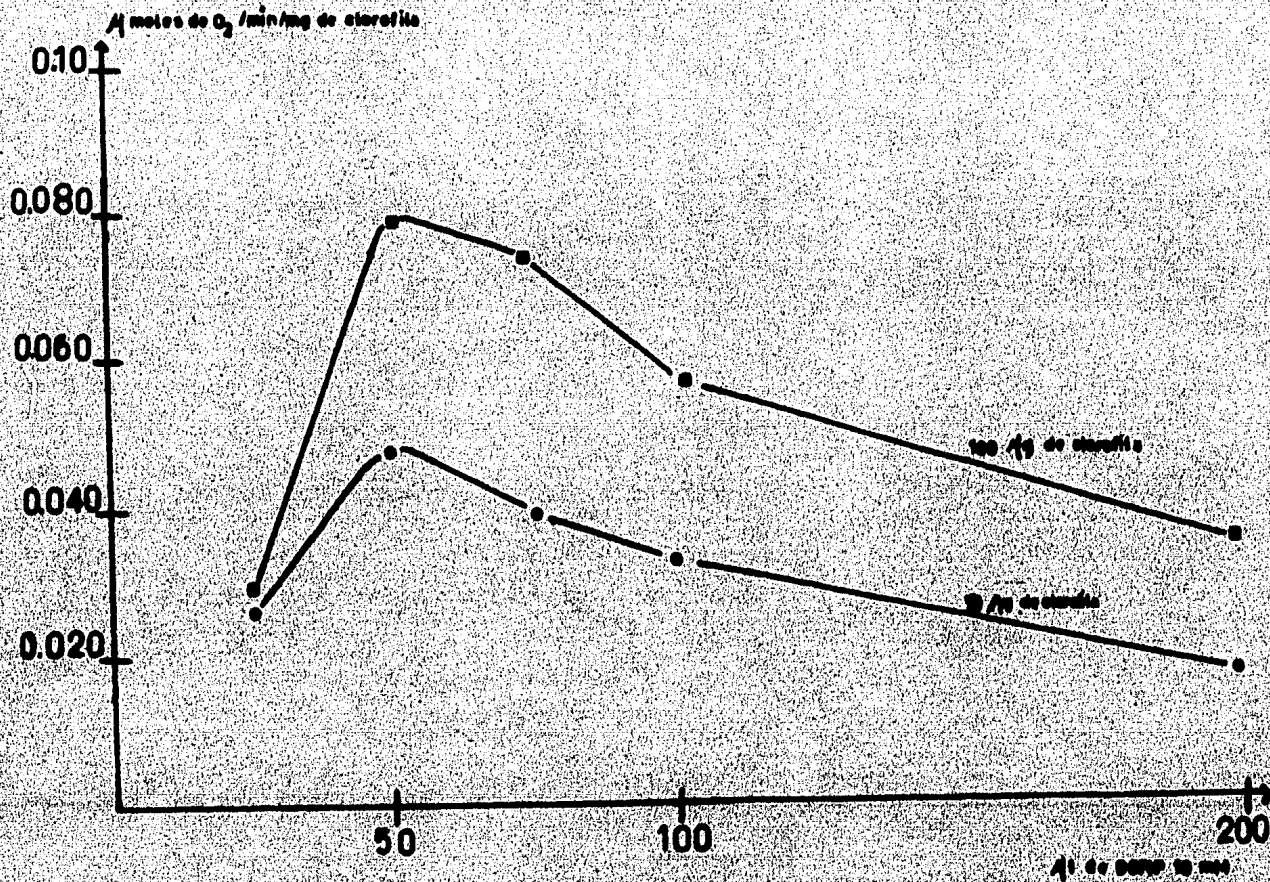
Esto puede deberse a problemas de penetración dentro de las hojas o posiblemente a que los compuestos se descomponen bajo las condiciones extremas de iluminación a las que se efectuó este experimento.

Con los resultados de ambos tipos de experimentos, es decir, con los cloroplastos aislados y las hojas de linaza, puede obser-

verse que existen características muy especiales que deben poseer las moléculas antes de poder considerar si sirve o no como herbicida.

GRAFICA Nº 1

Transporte de electrones no cíclico $H_2O \rightarrow DCPIP$



GRAFICA Nº 2

Transporte de electrones no ciclico $H_2O \rightarrow DCPIP$

HERBICIDA : IOXINIL

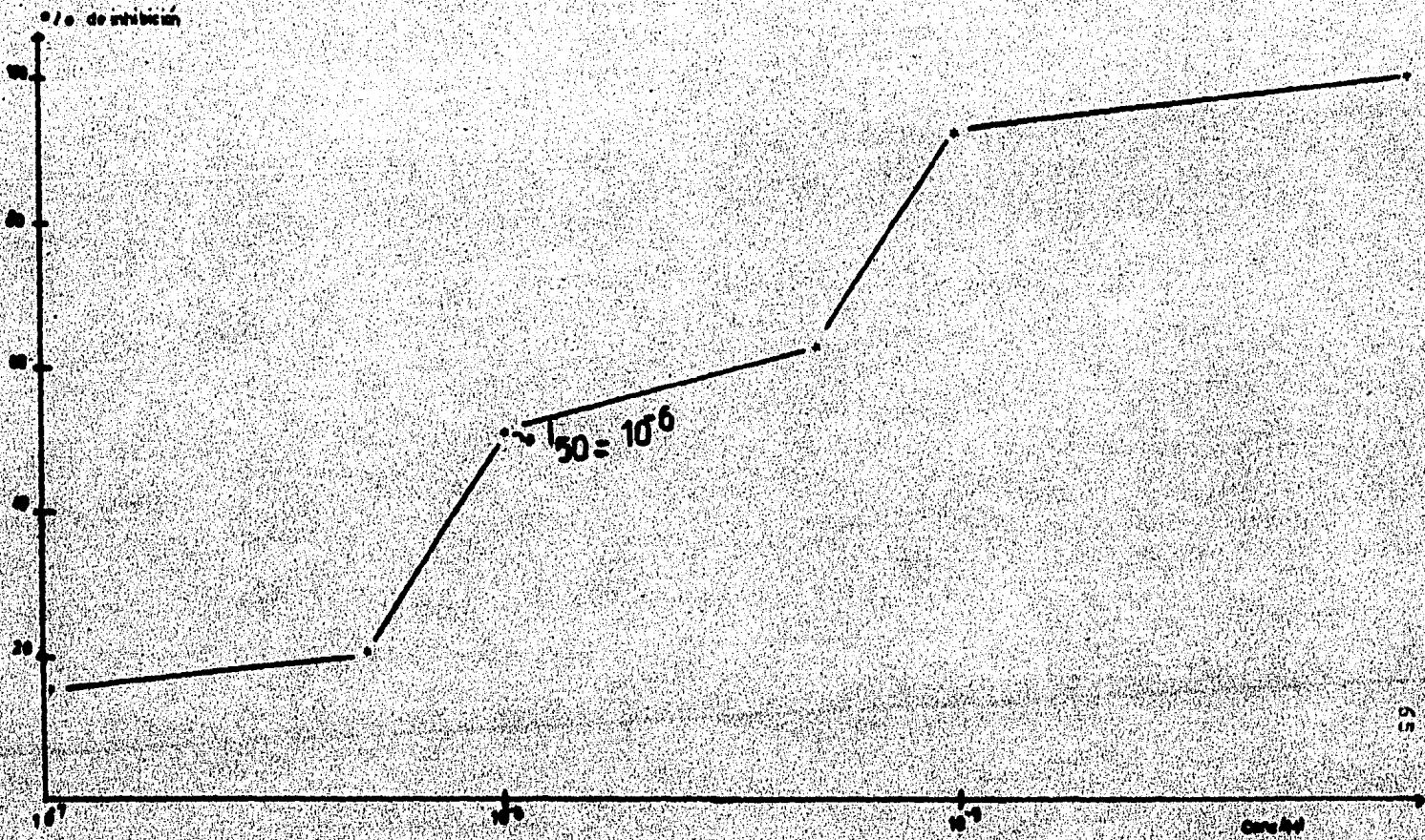
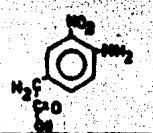
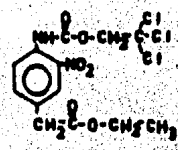
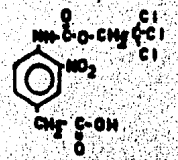




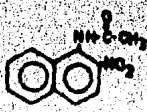
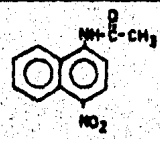


TABLA II

RESULTADOS DE INHIBICION

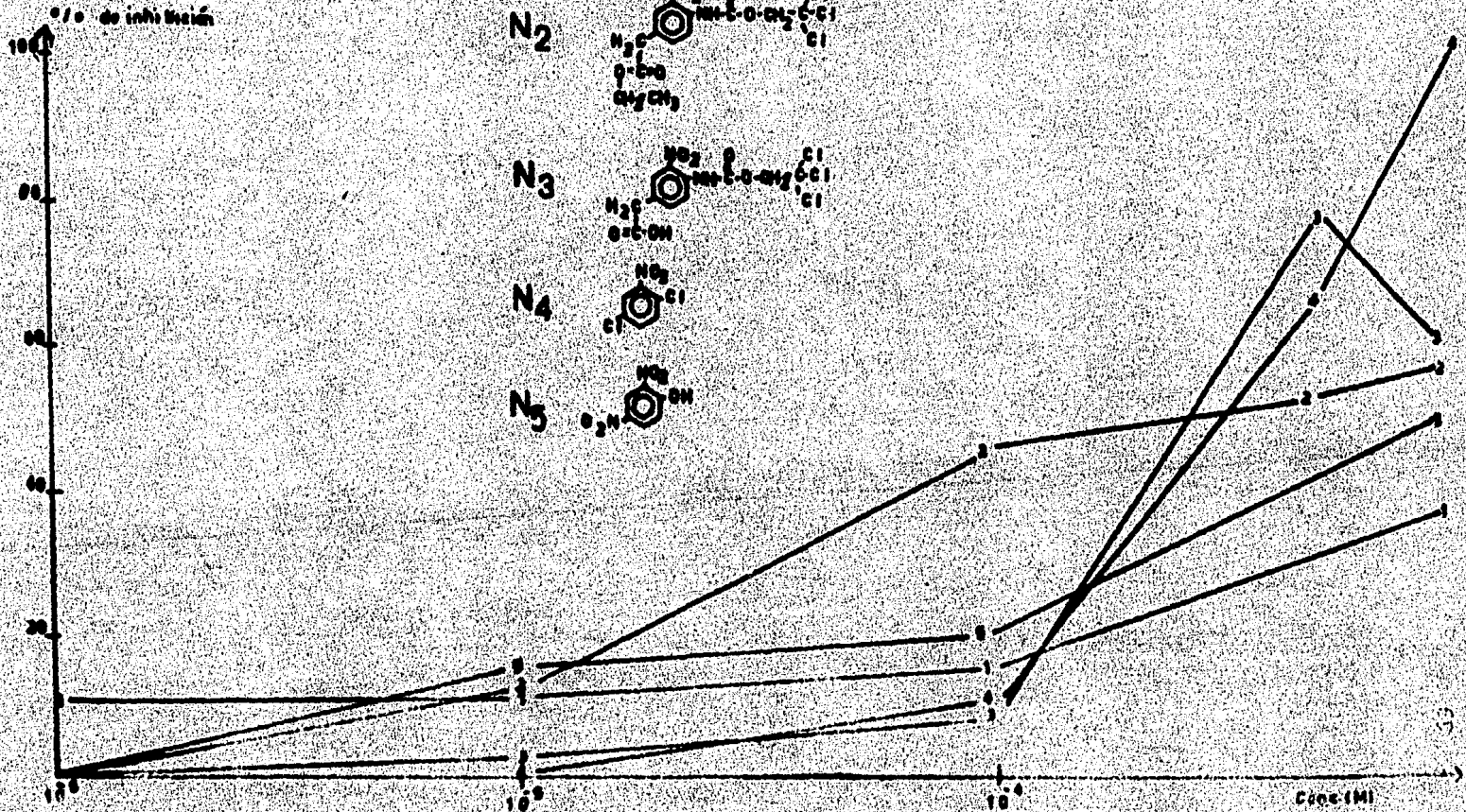
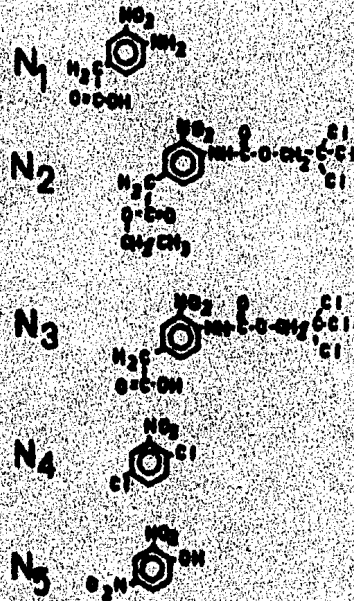
CLAVE	FORMULA	CONCENTRACION	INHIBICION	SOLVENTE	GRAFICA	PI ₅₀
N ₁		10 ⁻⁶	11.2	Etanol	3,3	—
		10 ⁻⁵	11.01			
		10 ⁻⁴	14.83			
		10 ⁻³	36.68			
N ₂		10 ⁻⁶	0	Etanol	3,7	3.39
		10 ⁻⁵	11.4			
		10 ⁻⁴	44.04			
		5 X 10 ⁻⁴	50.77			
		10 ⁻³	55.91			
N ₃		10 ⁻⁶	0	Etanol	3,7	3.57
		10 ⁻⁵	1.67			
		10 ⁻⁴	8.07			
		5 X 10 ⁻⁴	76.29			
		10 ⁻³	57.96			
N ₄		10 ⁻⁶	0	Etanol	3,7	3,7
		10 ⁻⁵	0			
		10 ⁻⁴	9.47			
		5 X 10 ⁻⁴	64.18			
		10 ⁻³	100			
N ₅		10 ⁻⁶	0	Etanol	3	—
		10 ⁻⁵	14.64			
		10 ⁻⁴	19.04			
		10 ⁻³	49.72			
N ₆		10 ⁻⁶	4	Etanol	4,7	3.21
		10 ⁻⁵	6.56			
		10 ⁻⁴	12			
		5 X 10 ⁻⁴	42.18			
		10 ⁻³	54.72			
N ₇		10 ⁻⁶	0	DMF	4,7	3.01
		10 ⁻⁵	2.175			
		10 ⁻⁴	10.87			
		5 X 10 ⁻⁴	21.95			
		10 ⁻³	56.52			

CLAVE	Fórmula	CONCENTRACION	INHIBICION	SOLVENTE	GRAFICA	$\sigma_{1,2}$
N ₈		10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	0 1.02 1.02 20.77	Etolol	4	—
N ₉		10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	13 9.23 3.98 17.36	Etolol	4	—
N ₁₀		10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	0 19.8 37.1 39	Etolol	5	—
N ₁₁		10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	0 11.11 11.11 33.33	DMF	5	—
N ₁₂		10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	0 25.81 25.49 18.83	Etolol	5	—
N ₁₃		10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	0 6.52 0 13.04	Etolol	5	—
N ₁₄		10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 5 x 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	0 4.71 10.11 49.69 59.86	Etolol	5,7	3.28
N ₁₅		10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 5 x 10 ⁻⁴ 10 ⁻³	0 3.57 33.89 100 100	Etolol	6,7	3.82

CLAVE	FORMULA	CONCENTRACION	INHIBICION	SOLVENTE	GRAFICA	σI_{50}
N16		10^{-6}	0	DMF	6	—
		10^{-5}	2.35			
		10^{-4}	19.04			
		10^{-3}	14.76			
N17		10^{-6}	0	DMF	6	—
		10^{-5}	0			
		10^{-4}	10.55			
		10^{-3}	26			

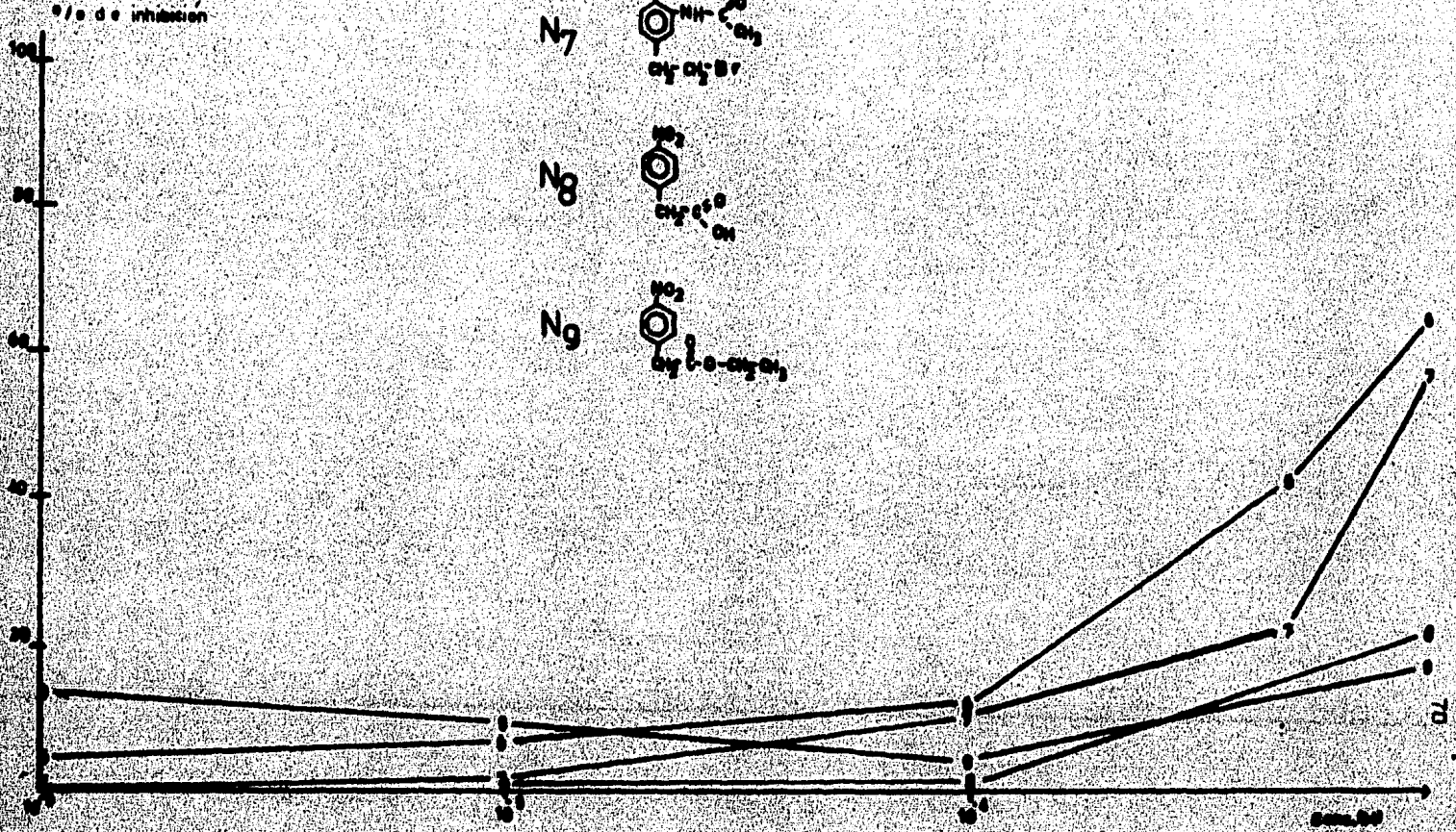
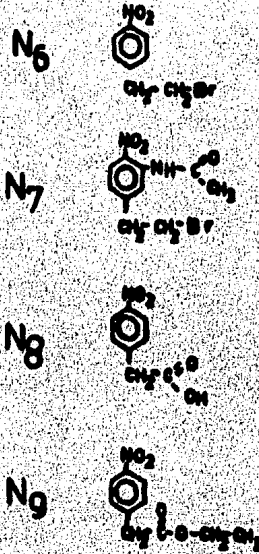
GRAFICA N° 3

Transporte de electrones no cíclico $H_2O \rightarrow DCPIP$



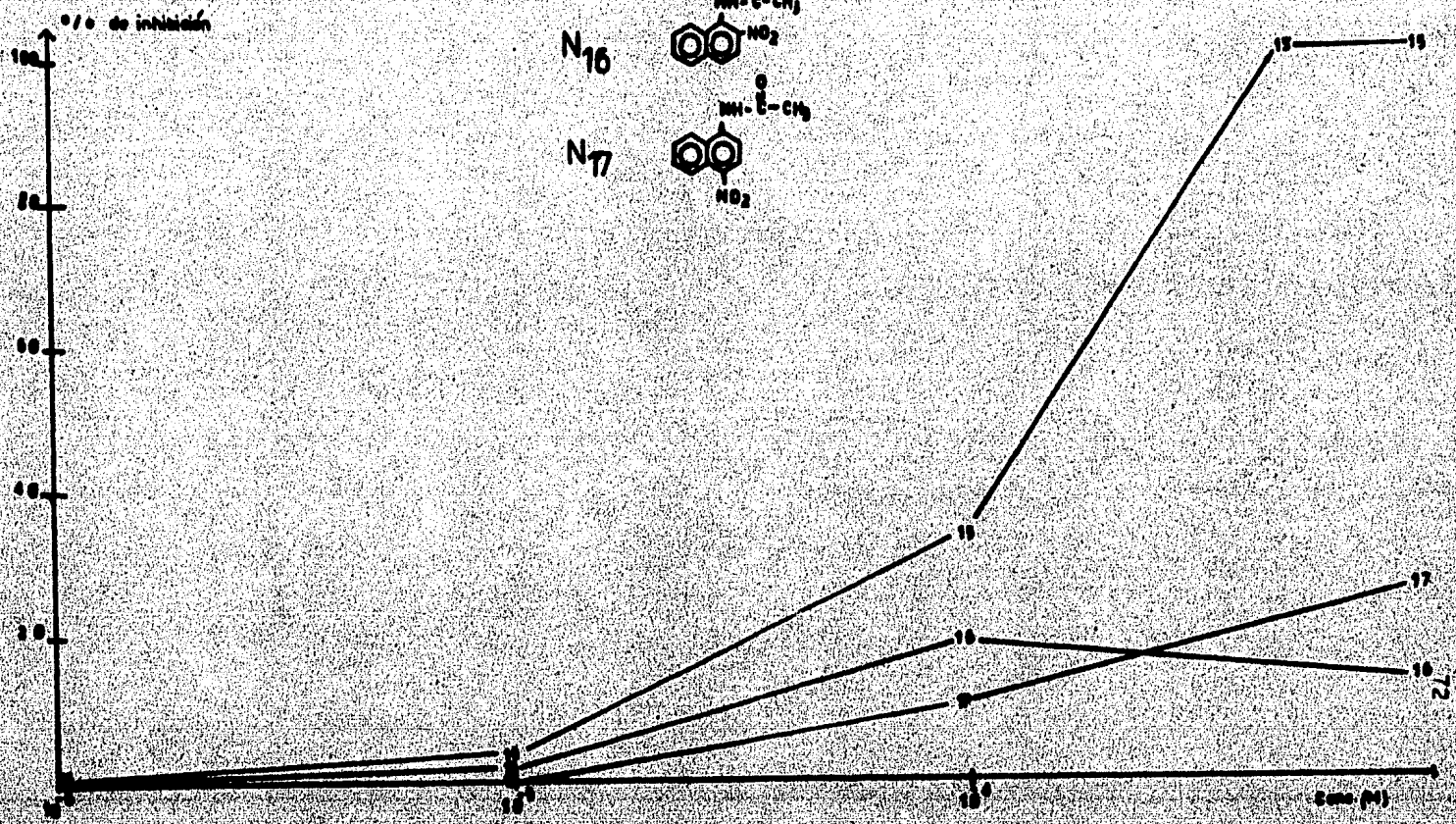
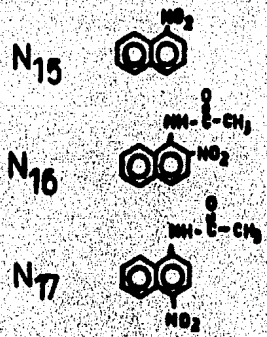
GRAFICA N° 4

Transporte de electrones no cíclico $H_2O \rightarrow DCPIP$



GRAFICA Nº 6

Transporte de electrones no cíclico $H_2O \rightarrow DCPIP$



GRAFICA N° 7

Transporte de electrones no cíclico $H_2O \rightarrow DCPIP$

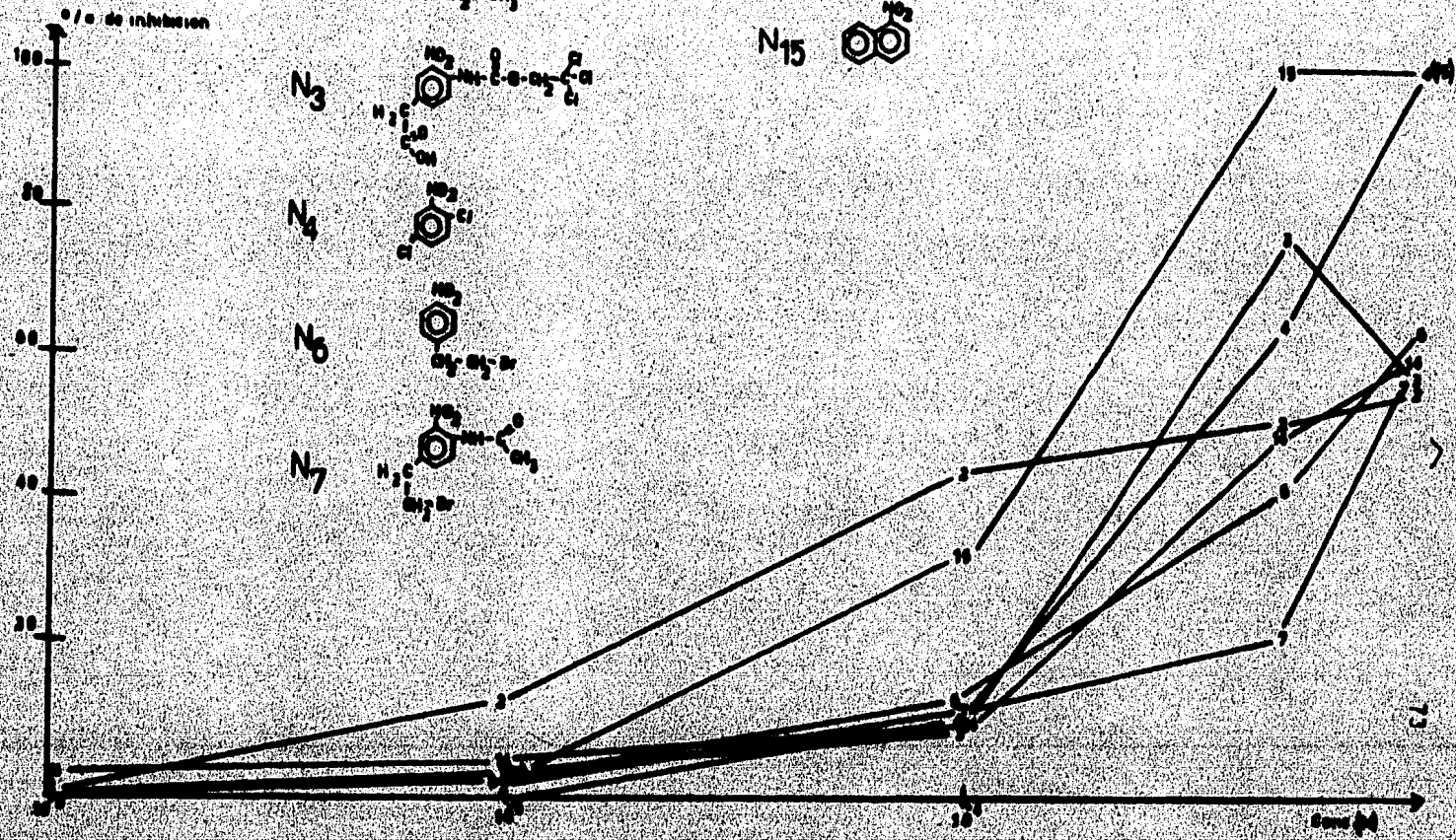
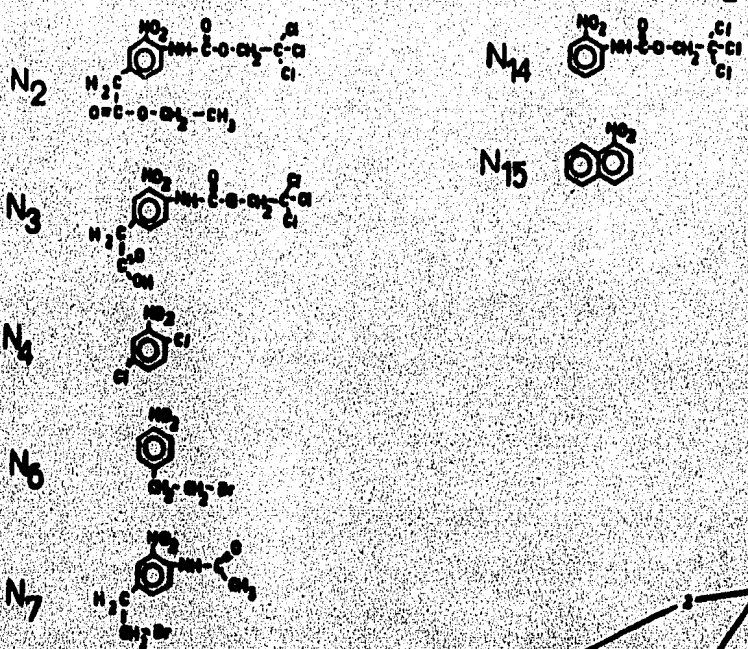
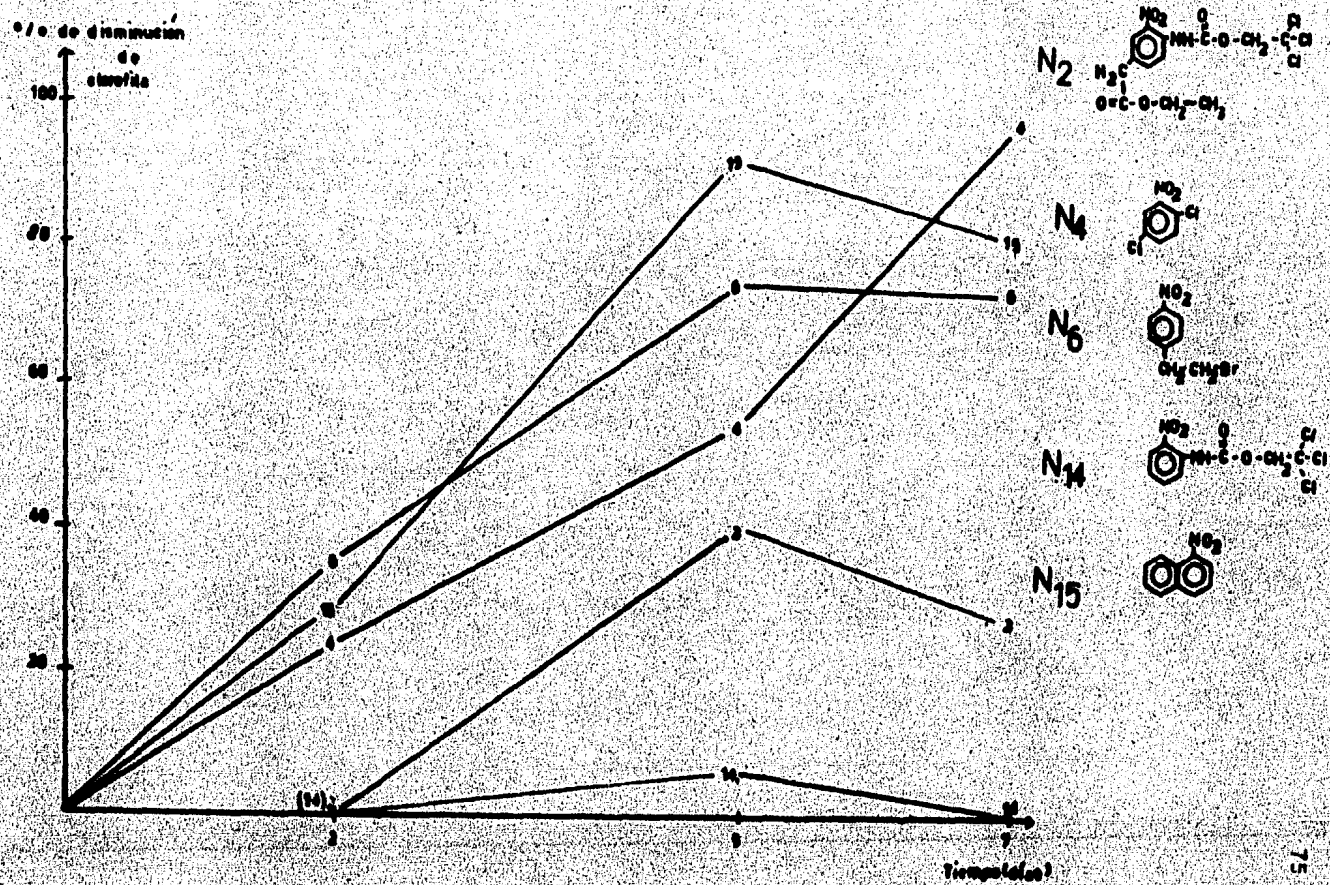


TABLA III

CLAVE	FORMULA	TIEMPO (DIAS)	% DE DISMINUCION DE CLOROFILA
N ₂		2	0
		5	39.49
		7	25.4
N ₄		2	23.65
		5	56.09
		7	100
N ₆		2	37.75
		5	74.98
		7	75.81
N ₁₄		2	0
		5	5.42
		7	0
N ₁₅		2	26.95
		5	93.33
		7	80.1

GRAFICA N° 8
 % de disminucion de clorofila vs tiempo



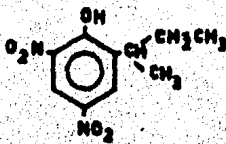
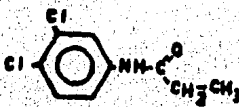
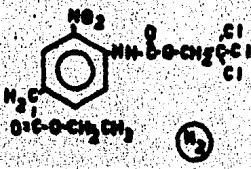
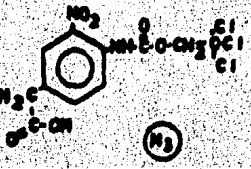
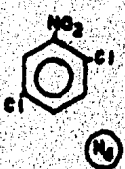

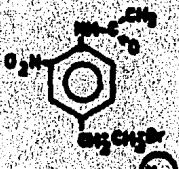
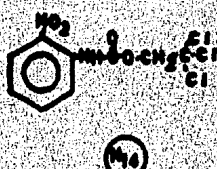

CAPITULO VI :

CONCLUSIONES

Conclusiones.-

En base a los resultados obtenidos pueden concluirse los siguientes puntos:

1) Tomando como base de comparación a las moléculas correspondientes al Dinoseb y Propamil se observó que:

				
	DINOSEB	PROPAMIL		
n_{D50}	4.8	5.1		
				
n_{D50}	3.39	3.57	3.48	3.21
				
n_{D50}	3.07	3.28	3.82	

**ESTRUCTURA DE COMPUESTOS PROBADOS CON MAYOR ACTIVIDAD
INHIBITORIA Y HERBICIDAS MODELO.**

a) La presencia de halógenos en la molécula parece estar relacionada con su actividad inhibitoria.

b) La presencia del grupo carboxilo libre provoca que la molécula tenga una actividad mayor, con respecto a la que posee el mis-

no grupo en forma de ester (Compuestos N_2 y N_3 de la tabla anterior y compuestos N_8 y N_9 de la gráfica 4).

c) El pI_{50} de los compuestos probados es más bajo que el de los herbicidas comerciales usados como modelo.

2) Es casi imposible predecir "a priori" si un compuesto orgánico va a ser o no un buen herbicida. Pueden existir algunas características que hagan de la molécula un buen candidato, pero esto se comprobará solamente al probarse en la planta.

3) Los compuestos que son buenos inhibidores del transporte de electrones a nivel de cloroplastos aislados, pueden no serlo en sistemas más organizados como hojas, debido a que se presente otra serie de problemas como penetración y metabolismo, entre otros.

4) Este estudio representa un paso inicial en la búsqueda de un compuesto orgánico que reúna las características de un herbicida selectivo. Es evidente que son muchos los factores que se conjugan para que el compuesto tenga un nivel de actividad comparable al de los herbicidas comerciales.

CAPITULO VII :

BIBLIOGRAFIA

Bibliografía.-

- 1) CREMLIN, R. "Pesticides". John Wiley & Sons, Inc. Gran Bretaña (1978).
- 2) ROJAS, M. "Manual teórico-práctico de herbicidas y fitorreguladores". Limusa, México, 1978.
- 3) PALLETT, K., E. "Curso sobre herbicidas en la Facultad de Química, U.N.A.M. México, 1983.
- 4) FRYER, J., D. y WAKENEACE, R., J. (Eds.). "Weed Control Handbook". Blackwell Scientific, Pu. 6^a Edición. Gran Bretaña, 1977.
- 5) SANDERS, H., J. "Herbicidas". Chemical & Engineering News. 59, 20-33, (1981).
- 6) SANDERS, G., E. y PALLETT, K., E. "Studies into the different responses of three weed species to the hydroxybenzoni-triles". Proceedings 1982. British Crop Protection Conference. Weeds.
- 7) HALL, D., D. "Nomenclature for isolated chloroplasts". Nature, New Biology. 235, 125-26, (1972).
- 8) ESPINOSA, F., J. "Las malezas: ¿Una maldición?". Naturealeza. 12, (5), 297-307, (1981).
- 9) ASHTON, F., M. y CRAFT, A., S. "Mode of action of herbicides". John Wiley & Sons, Inc. U.S.A., 1973.
- 10) MUZIK, T., J. "Weed biology and control". McGraw-Hill, Inc. U.S.A., 1970.
- 11) KLINGMAN, G., C. y ASHTON, F., M. "Weed Science". John Wiley & Sons, Inc., U.S.A., 1975.
- 12) FEDTKE, C. "Biochemistry and Physiology of herbicide action". Springer-Verlag. Berlin, 1982.
- 13) TREBST, A. "Measurement of Hill reaction and photoreduction". Methods in enzymology. Volumen 24, parte B. Academic Press. U.S.A., 1972.

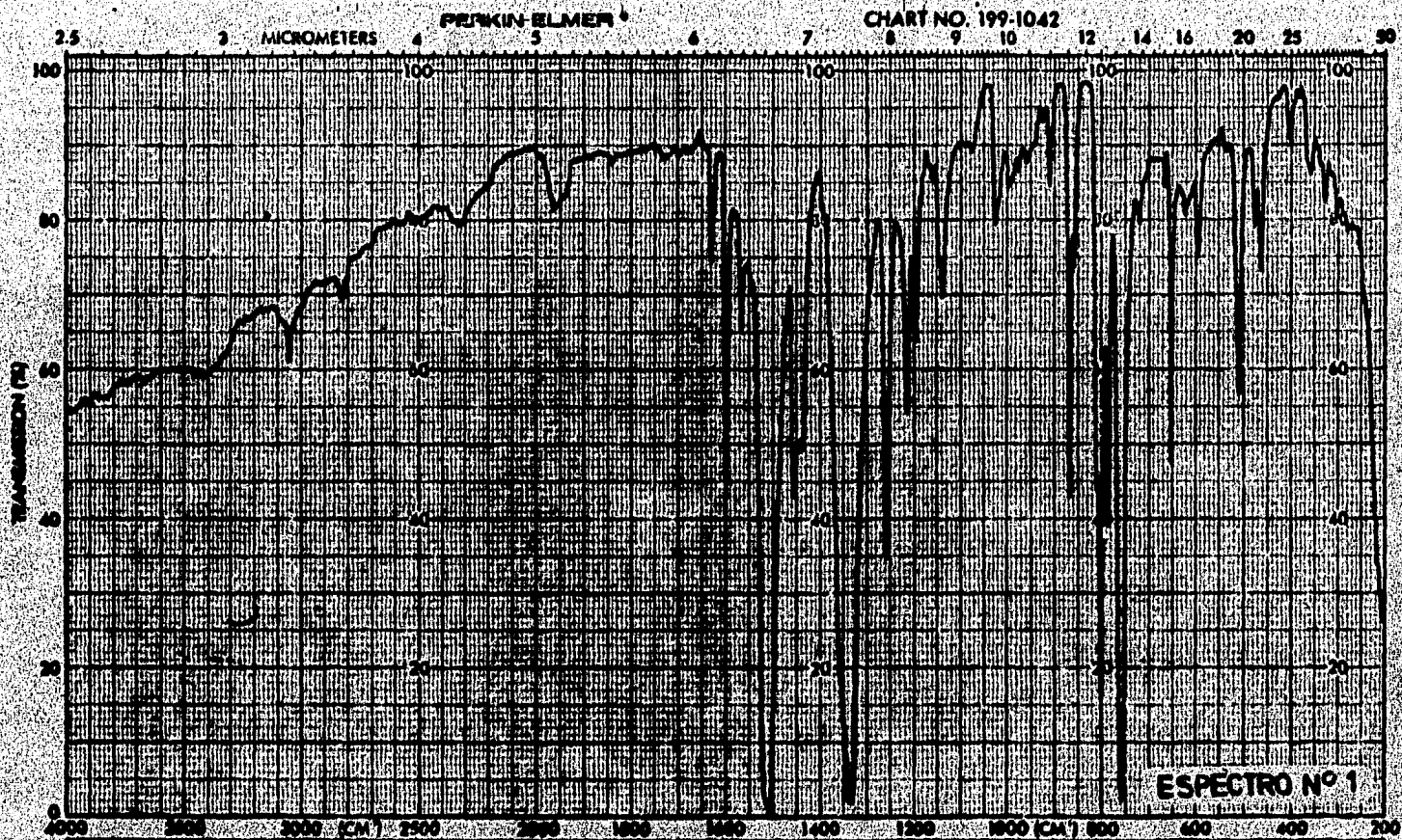
- 14) LEHNINGER, A., L. "Bioquímica". Omega. 2^a Edición. España, 1981.
- 15) GOVINDGEE y GOVINDGEE, R. "The absorption of light in photosynthesis". Scientific American, 231, (6), 68-82, (1974).
- 16) DODGE, A., D. "The role of light and oxygen in the action of photosynthetic inhibitor herbicides". ACS Symposium series # 181. Biochemical responses induced by herbicides. Moreland, D., E. et al. (Eds.). American Chemical Society, 1982.
- 17) CRAMER, W., A. "Cytochromes". Encyclopedia of Plant Physiology. Vol. 5 Trebst, A. y Avron, M. (Eds.). Springer-Verlag. Berlin, 1977.
- 18) MORELAND, D., E. "Mechanism of action of herbicides". Ann. Rev. of Plant Physiology. 31, 597-638, (1980).
- 19) WRIGHT, K. y CORBETT, J., R. "Biochemistry of herbicides affecting photosynthesis". Z. Naturforsch. 34c, 966-72, (1979).
- 20) PFISTER, K., y ARNTZEN, C., J. "The mode of action of photosynthesis system-II-specific inhibitors in herbicides resistant weed biotypes". Z. Naturforsch. 34c, 996-1009, (1979).
- 21) RENGER, G. "Studies on the structural and functional organization of system II of photosynthesis". Biochimica et Biophysica Acta. 440, 287-300, (1976).
- 22) CORBETT, J., P. "The biochemical mode of action of pesticides". Academic Press. U.S.A., 1974.
- 23) RENGER, G. "Studies about the mechanism of herbicidal interaction with photosystem II in isolated chloroplasts". Z. Naturforsch. 34c, 1010-14, (1979).
- 24) DODGE, A., D. "Oxygen radicals and herbicides action". Biochemical society transaction. 59th meeting. Vol. 10. Londres, 1982.
- 25) DODGE, A., D. "Modo de acción de los herbicidas a base de bipiridil".

- dillo, perquat y diquat". *Endeavour*, 30, 130-35, (1971).
- 26) BRITTON, G. "Carotenoid biosynthesis. A target for herbicide activity". *Z. Naturforsch.* 34c, 979-85, (1979).
- 27) MALKIN, R. "Primary electron acceptors". *Encyclopedia of Plant Physiology*. Vol 5. Trebst, A. y Avron, M. (Eds.). Springer-Verlag, Berlin, 1977.
- 28) McCARTY, R., E. "Energy transfer inhibitors of photophosphorylation in chloroplasts". *ibid.*
- 29) AMESZ, J. "Plastoquinone". *ibid.*
- 30) GOOD, N., E. "Uncoupling of electron transport from phosphorylation in chloroplasts". *ibid.*
- 31) MCEWEN, F., L. y STEPHENSON, B., R. "The use and significance of pesticides in the environment". Wiley-Interscience, Pu. U.S.A., 1979.
- 32) KATO, S. "Plastocyanine". *Encyclopedia of Plant Physiology*. Vol 5. Trebst, A. y Avron, M. (Eds.). Springer-Verlag, Berlin, 1977.
- 33) DONALDSON, N. "The chemistry and technology of naphthalene compounds". Edward-Arnold, Pu. Londres, 1958.
- 34) SHRINER, R., L. et al. "Identificación sistemática de compuestos orgánicos". Limusa, México, 1966.
- 35) HODGSON, H., H. y WALKER, J. "The nitration of α -naphthalide and the preparation of 2 and 4 nitronaphthilamines". *J. Chem. Soc.* 1205, (1933).
- 36) Manual de manejo del electrodo de oxígeno.
- 37) GOLBECK, J., H.; LIENS, S. y SAN PIETRO, A. "Electron transport in chloroplasts". *Encyclopedia of Plant Physiology*. Vol 5. Trebst, A. y Avron, M. (Eds.). Springer-Verlag, Berlin, 1977.

38) NAKANISHI, K. "Infrared spectroscopy". Holden-Day Inc. San Francisco and Nankodo Co. Lim. 1ª Edición Tokio, 1962.

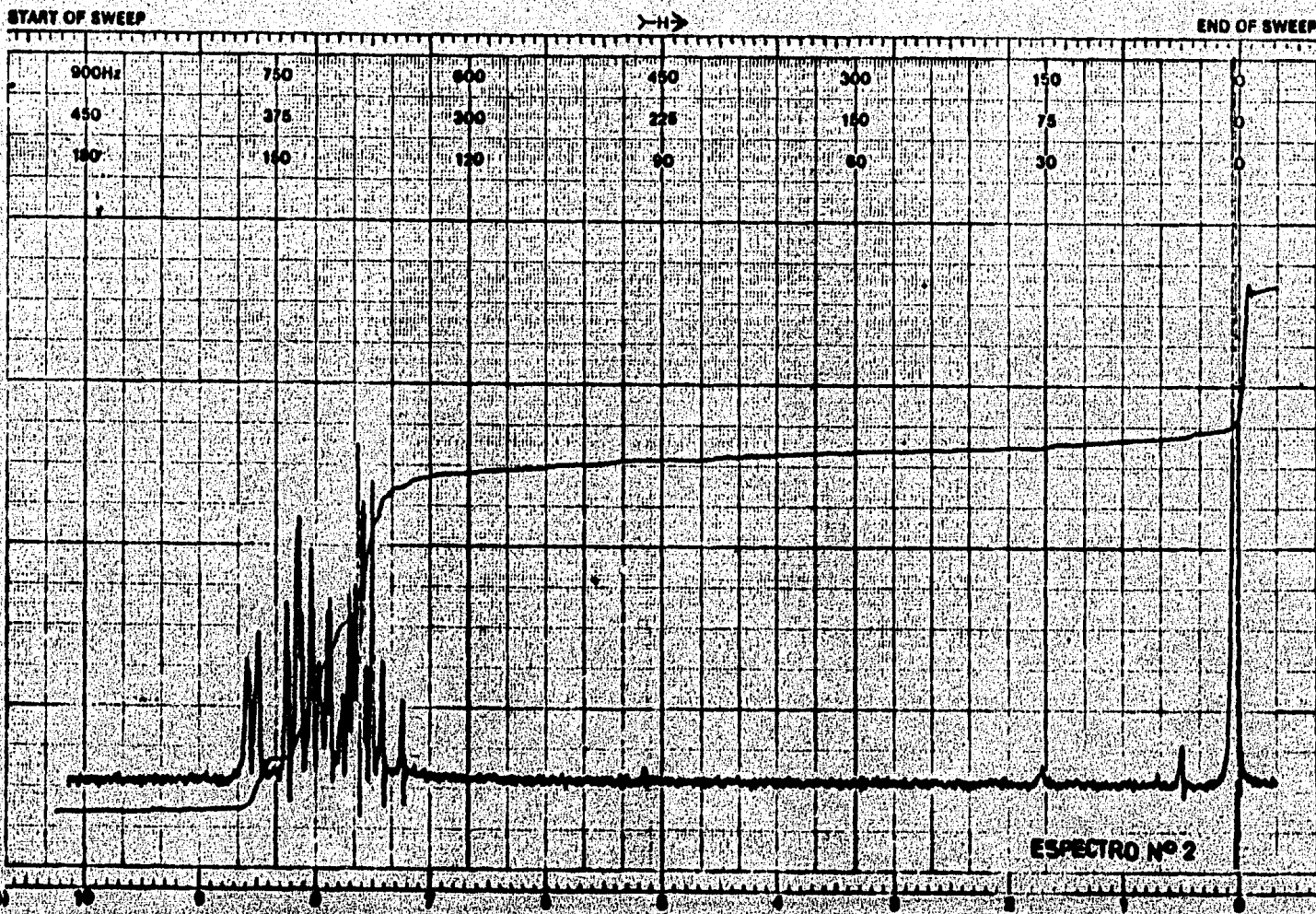
39) SILVERSTEIN, R., M et al. "Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos". Diana. 1ª Edición. México, 1980.

ESPECTROS



<p>EXPANSION</p> <p style="text-align: center;">ANISOLE</p> <p style="text-align: center;"><chem>COC1=CC=CC=C1</chem></p> <p>SAMPLE ORIGIN <i>Mexico</i></p>	<p>COORDINATE</p> <p>EXPANSION 5:1</p> <p>REMARKS <i>partida</i></p>	<p>SCAN TIME</p> <p>MULTIPLIER</p> <p>SPLIT PROGRAM <i>1</i></p> <p>SOLVENT <i>CS₂</i></p> <p>CONCENTRATION</p>	<p>MP. SCAN</p> <p>TIME DRIVE</p> <p>OPERATOR <i>J. L.</i></p> <p>DATE</p> <p>CELL PATH REFERENCE</p>
---	--	--	---

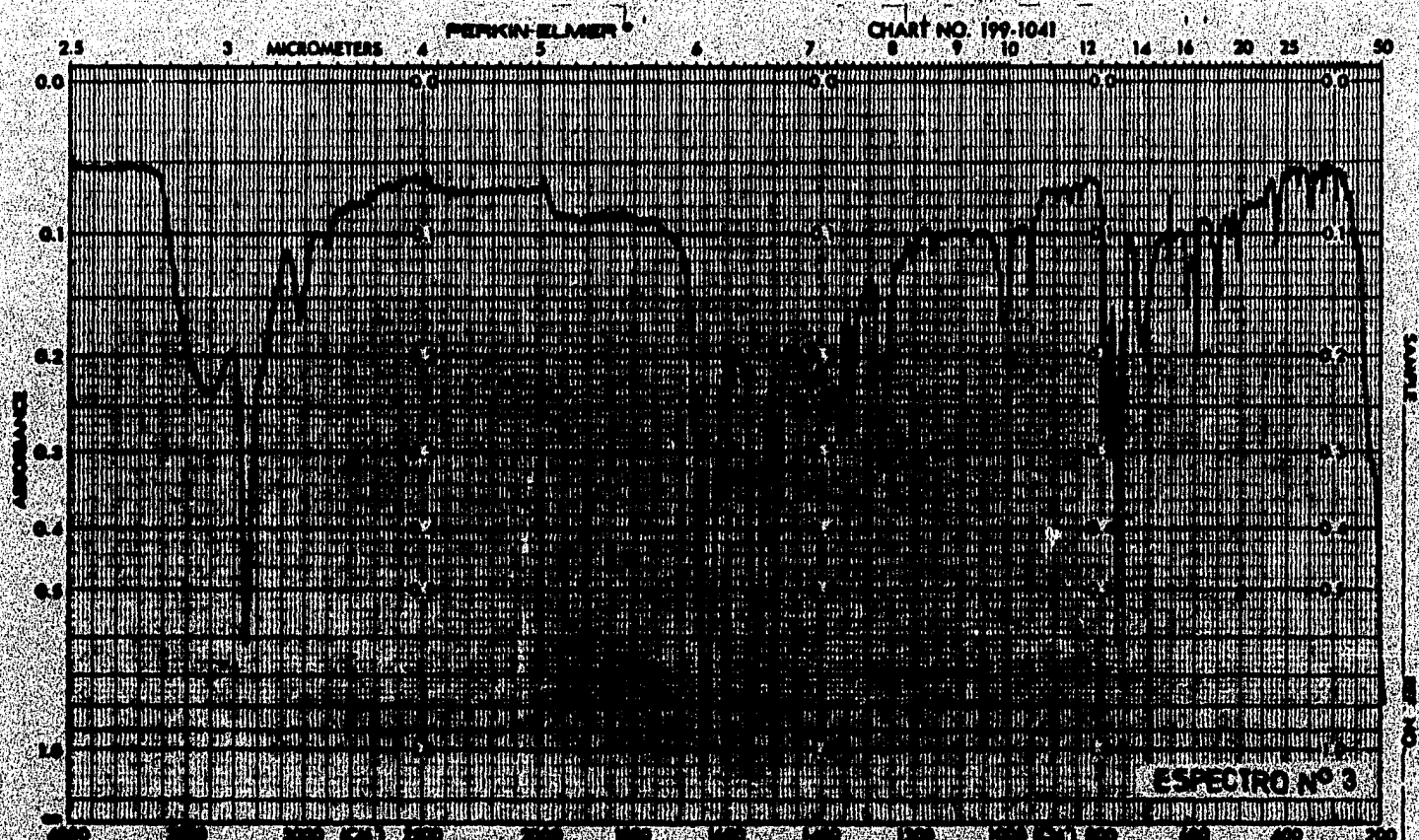
varian instrument division palo alto, california



EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

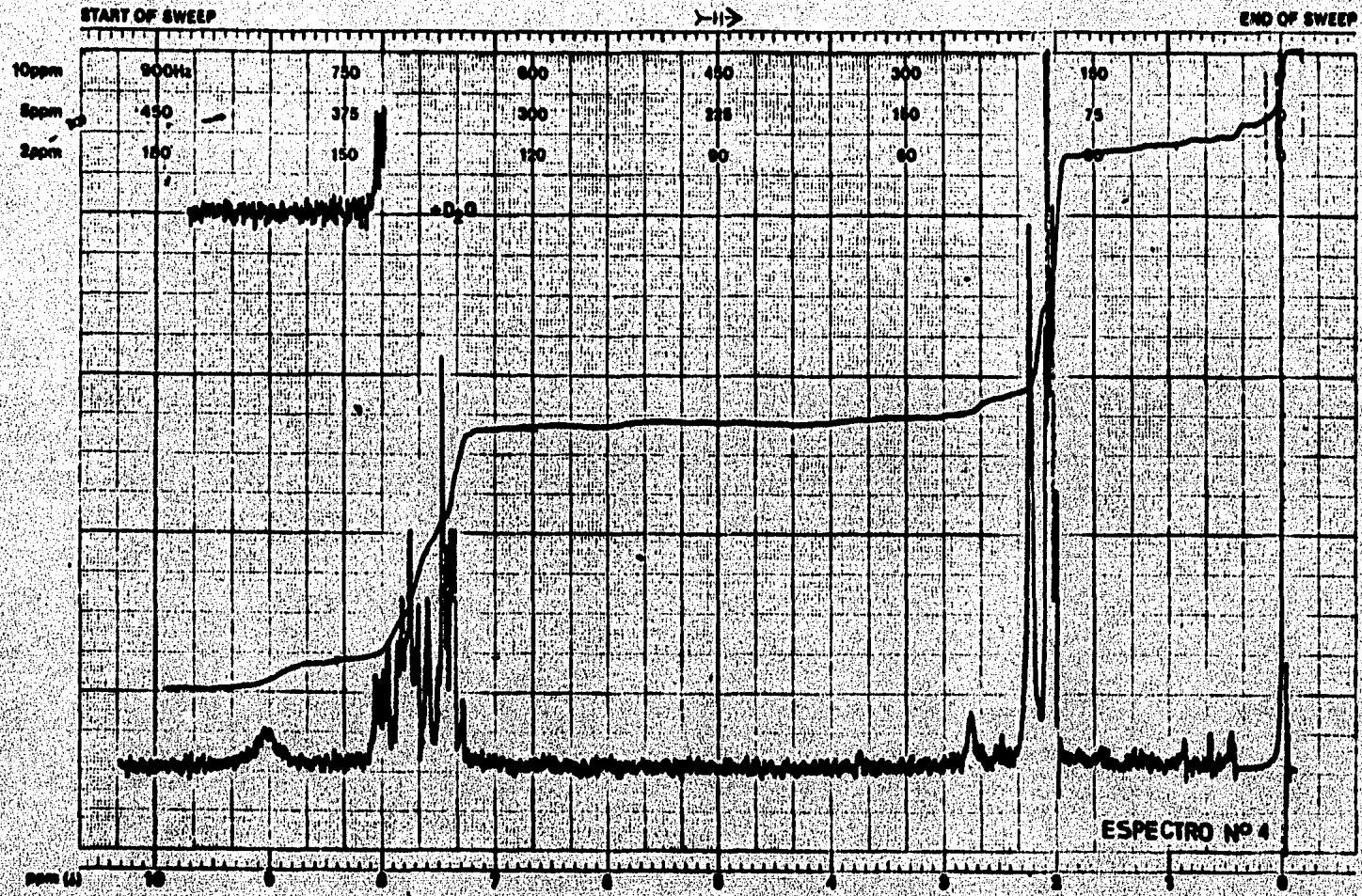
LOCK POS _____ ppm SPECTRUM AMPL. _____ SWEEP TIME 6 min NUCLEUS H SAMPLE WATER C. OPERATOR Mj
 LOCK POWER _____ mW FILTER 0.1 kHz SWEEP WIDTH _____ ppm ZERO REF. TMS DATE 2-2-61
 DECOUPLE POS _____ ppm RF POWER 1.05 mW END OF SWEEP _____ ppm SAMPLE TEMP. _____ °C SOLVENT H₂O SPECTRUM NO. 2/23
 DECOUPLE POWER _____ mW





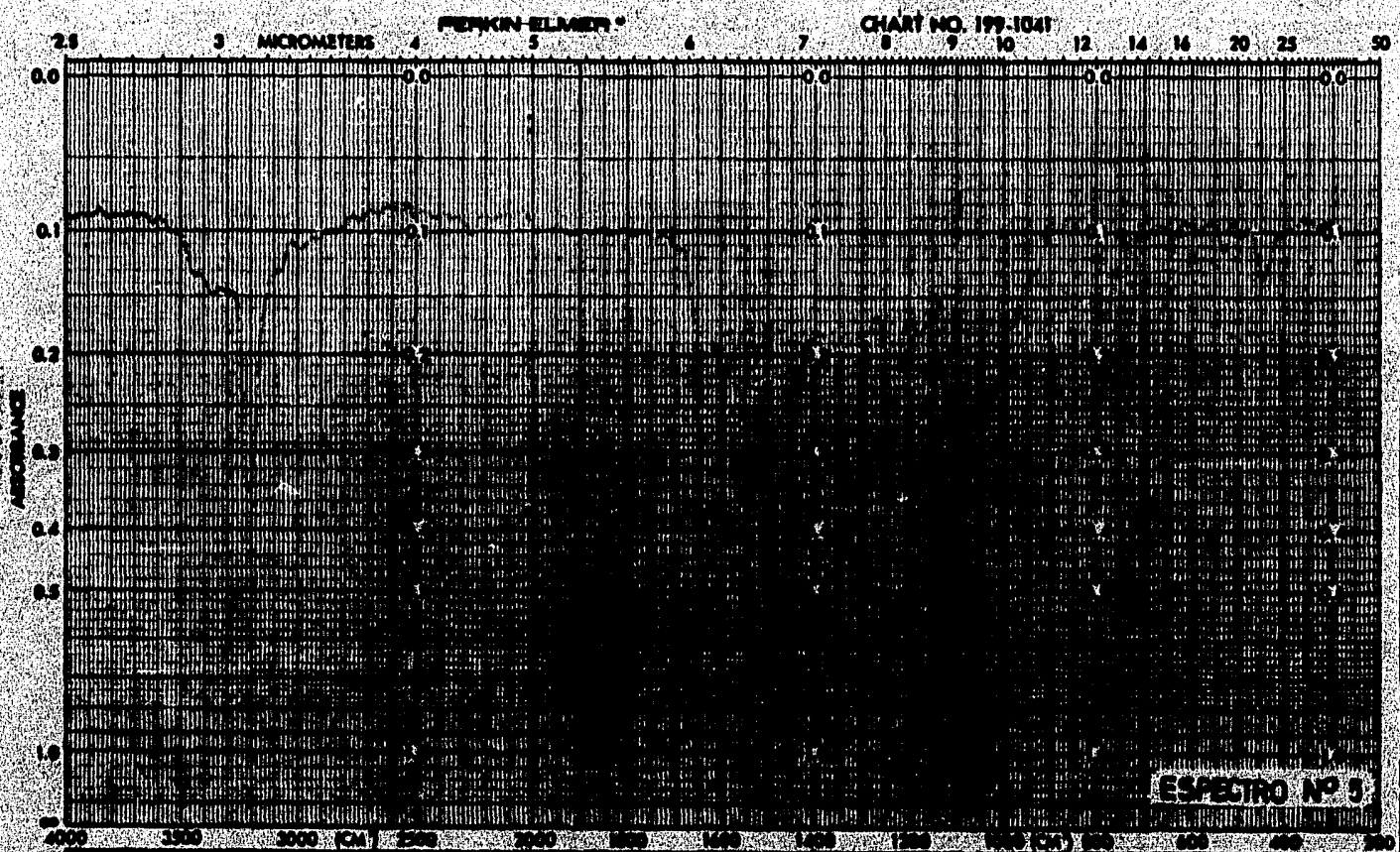
<p>EXPANSION</p> <p>SAMPLE</p> <p>ORIGIN</p>		<p>ORIGIN</p> <p>EXPANSION</p> <p>REMARKS</p>	<p>SCAN TIME</p> <p>RESOLUTION</p> <p>SCAN PROGRAM</p> <p>SOLVENT</p> <p>CONCENTRATION</p>	<p>REF. SCAN</p> <p>TIME DIVS</p> <p>OPERATOR</p> <p>CELL PATH</p> <p>REFERENCE</p>	<p>SHOULDER</p> <p>DATE</p>
--	--	---	--	---	-----------------------------


varian instrument division
palo alto, california



EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS. _____ ppm SPECTRUM AMPL. _____ dB SWEEP TIME 5 min NUCLEUS ¹H SAMPLE THU
 LOCK POWER _____ mW FILTER P-01 SWEEP WIDTH 10 ppm ZERO REF. TM DATE 21-3
 DECOUPLE POS. _____ ppm RF POWER 1.0 mW END OF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP. 0 °C SOLVENT D2O
 OPERATOR Alj...
 SPECTRUM NO. 21



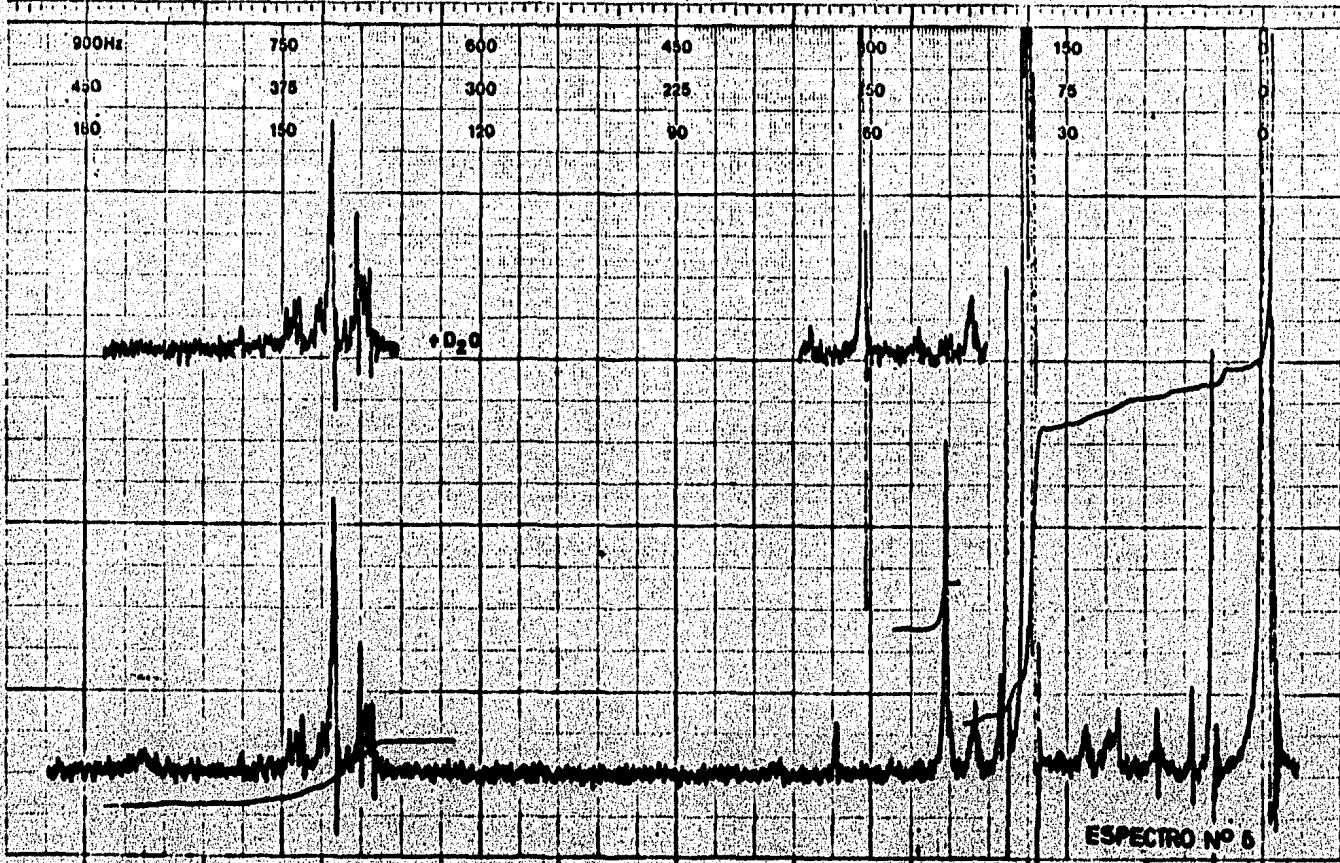
EXPANSION	ABSCISSA	ORDINATE	SCAN TIME	NO. SCAN	SINGLE BEAM
	<i>1.0m</i>		<i>12</i>		
SAMPLE ORIGIN		EXPANSION	DATE	TIME	OPERATOR
	<i>Benzene</i>	<i>N.T.</i>	<i>AB</i>	<i>1/10</i>	<i>1/10</i>
	REMARKS	SOLVENT	CELL PATH	DATE	
	<i>gas</i>	<i>CH₂</i>	<i>1.0m</i>	<i>1/10</i>	
		CONCENTRATION	REFERENCE		
			<i>1.0m</i>		

ESPECTRO Nº 5

START OF SWEEP

END OF SWEEP

10ppm
5ppm
2ppm

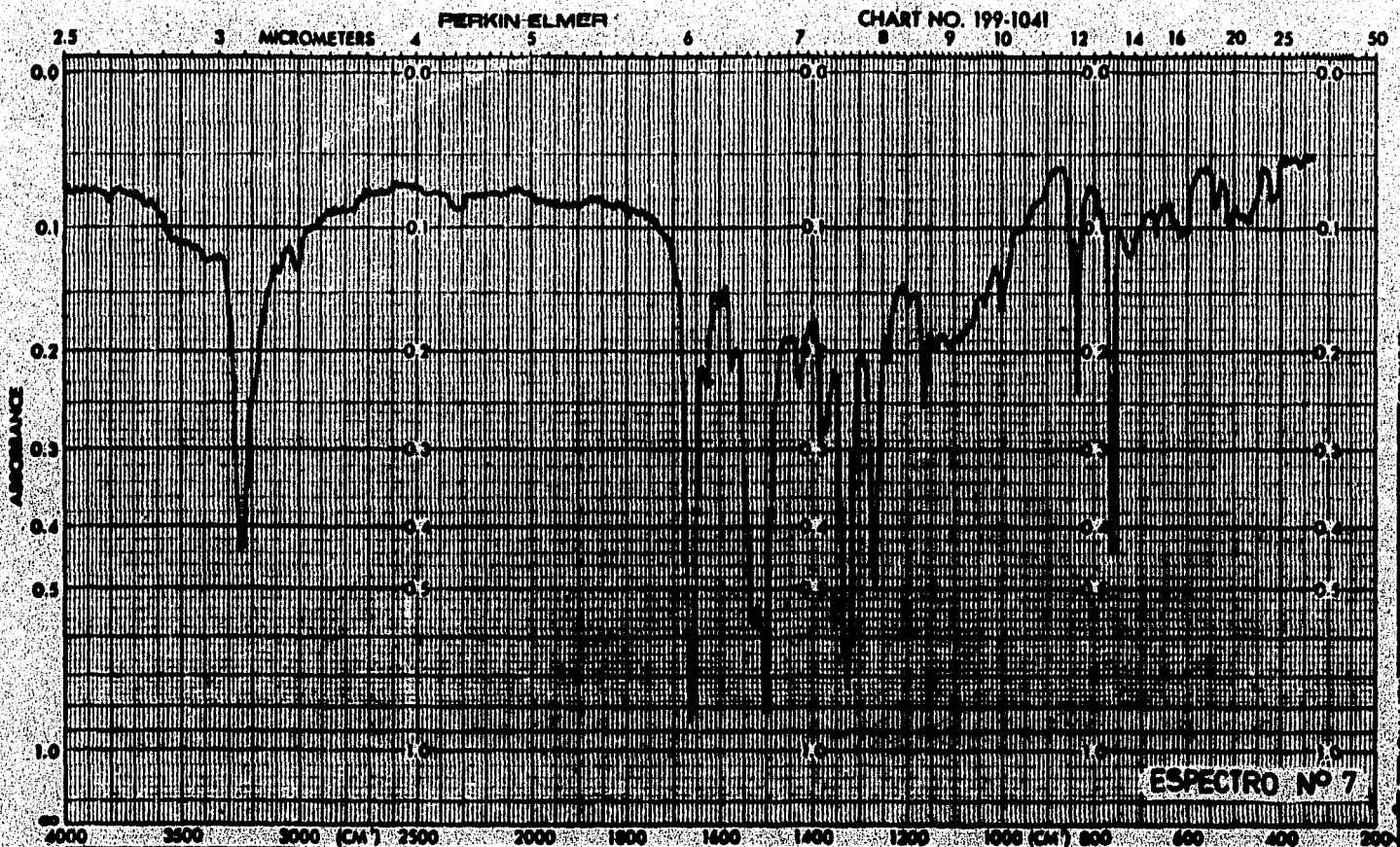


ESPECTRO Nº 6

varian instrument division

EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS. _____ ppm SPECTRUM AMPL. 4.2 MHz SWEEP TIME 5 min NUCLEUS 1H SAMPLE: Protein C OPERATOR W. J. ...
 LOCK POWER _____ mW FILTER 0.5 MHz SWEEP WIDTH 10 ppm ZERO REF. TMS DATE 11-4-58
 DECOUPLE POS. _____ ppm DECOUPLING POWER _____ mW RF POWER 0.05 mW END OF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP. 0 °C SOLVENT: C₂D₂ SPECTRUM NO. 22



EXPANSION	ABSCISSA	ORDINATE	SCAN TIME
	11.7%		17
SAMPLE	EXPANSION	% T	MULTIPLIER
ORIGIN	ABS		1
	REMARKS	SOLVENT	REP. SCAN
	Pestilla	CONCENTRATION	SINGLE BEAM
			TIME DRIVE
			OPERATOR
			DATE
			CELL PATH
			REFERENCE

SAMPLE NO. 5126

varian instrument division
palo alto, california

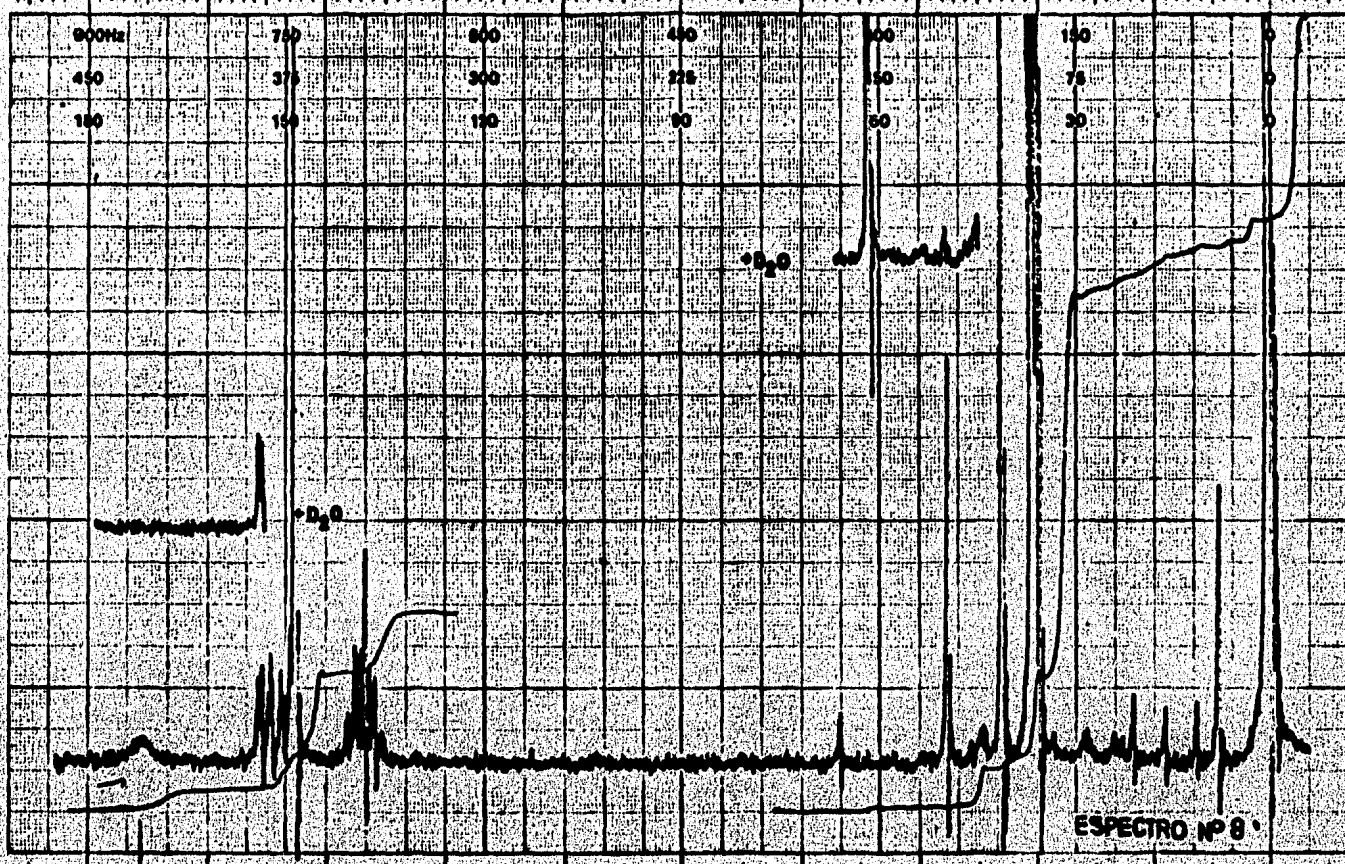


START OF SWEEP

→ H →

END OF SWEEP

10ppm
5ppm
2ppm



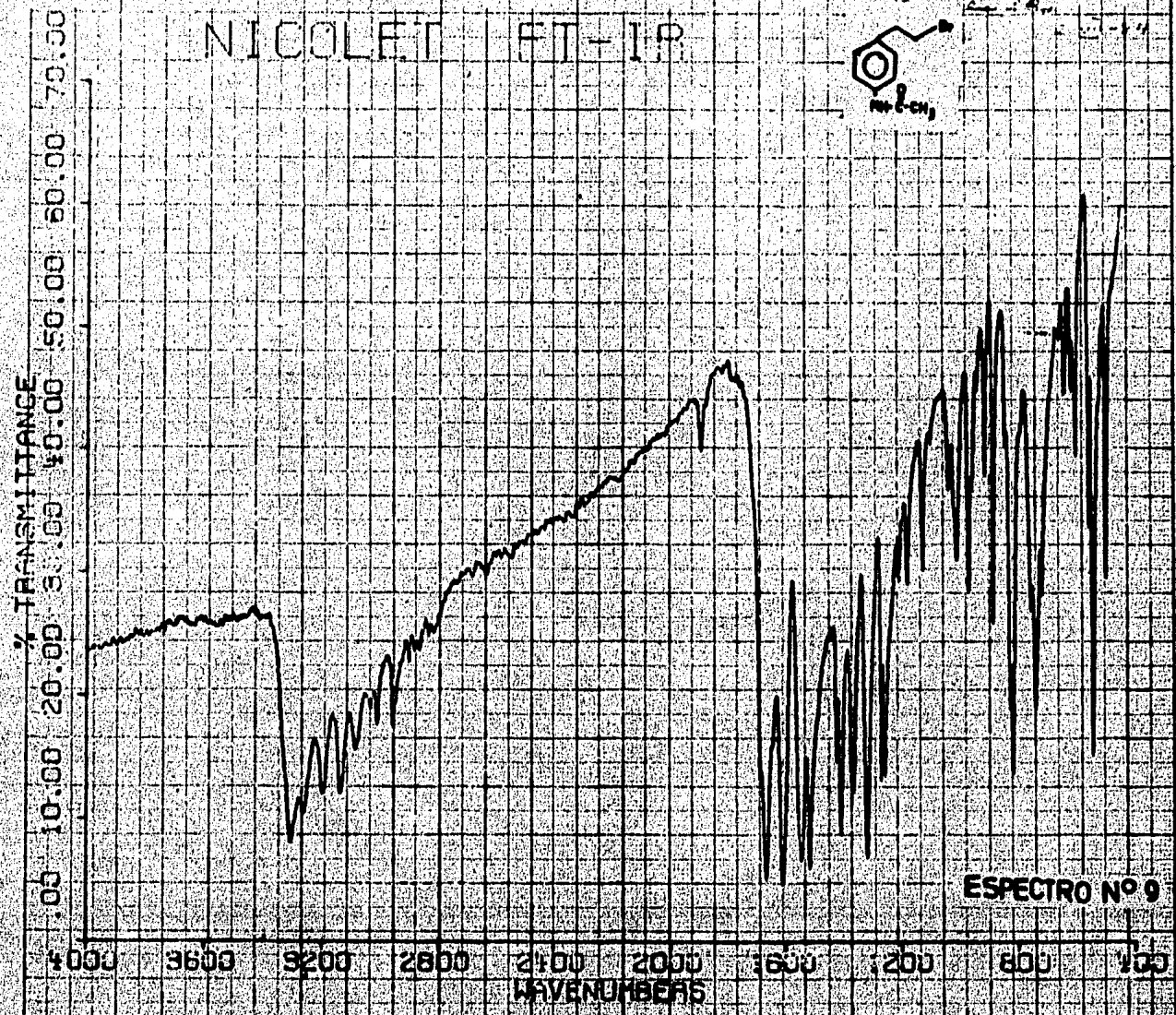
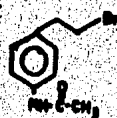
EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS _____ ppm SPECTRUM AMPL. 1.5 x 10⁷ SWEEP TIME 6 min NUCLEUS ¹H
 LOCK POWER _____ mW FILTER 2.0 G 500 SWEEP WIDTH 10 ppm ZERO REF TMS
 DECOUPLE POS _____ ppm RF POWER 0.1 mW AMPLIF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP 0 °C
 DECOUPLING POWER _____ mW

SAMPLE: *Thiourea C*
NC(=S)S
 SOLVENT: *C₂H₅O*

OPERATOR *Aljond...*
 DATE *11-2-68-11*
 SPECTRUM NO. *7163*

NICOLET FT-1P



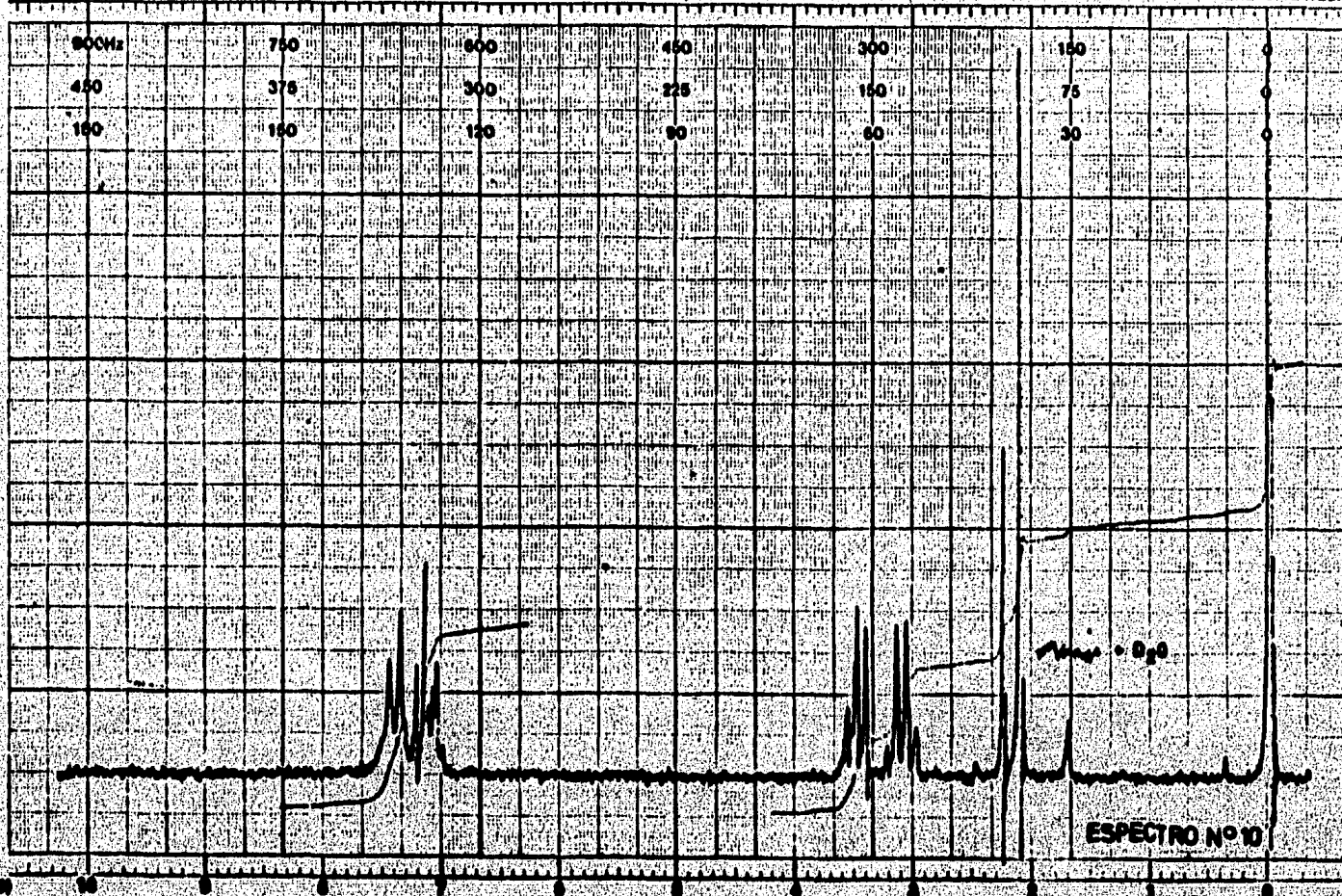
ESPECTRO Nº 9

varian instrument division palo alto, california

START OF SWEEP

END OF SWEEP

10ppm
5ppm
2ppm



ESPECTRO N° 10

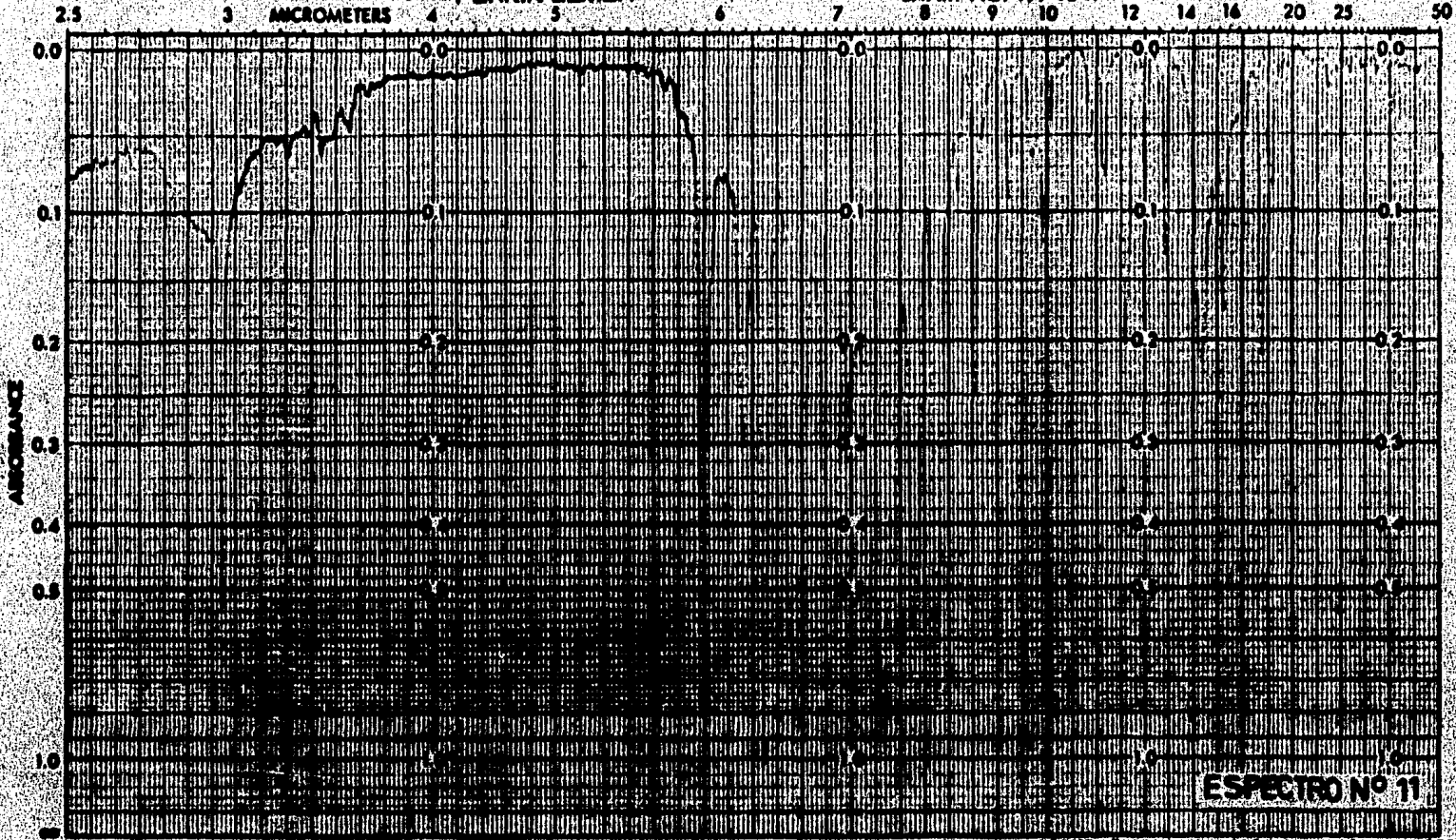
EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS _____ ppm SPECTRUM AMPL. 2.0 dB SWEEP TIME 5 min NUCLEUS ^1H SAMPLE 7
 LOCK POWER _____ mW FILTER 0.1 sec SWEEP WIDTH 0 ppm ZERO REF 1M OPERATOR *[Signature]*
 DECOUPLE POS _____ ppm RF POWER 1.0 mW END OF SWEEP 1 ppm SAMPLE TEMP 0 °C DATE 2.2.70
 DECOUPLE POWER _____ mW SOLVENT: CDCl3 SPECTRUM NO. 9785



PERKIN-ELMER

CHART NO. 199-1041



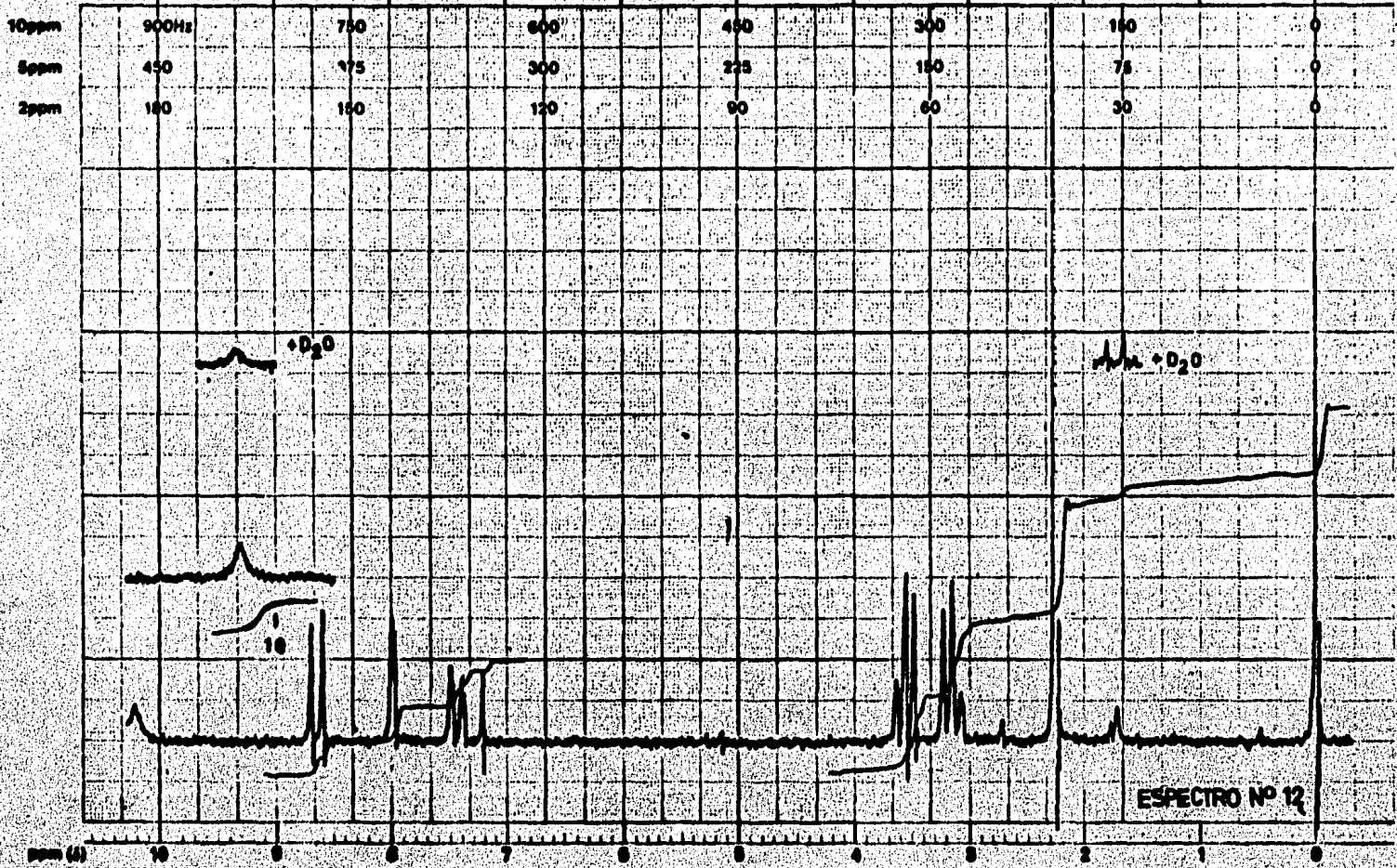
ESPECTRO Nº 11

EXPANSION		ABSCISSA	ORDINATE	SCAN TIME	REP. SCAN	SINGLE BEAM	
SAMPLE ORIGIN		REMARKS	EXPANSION	MULTIPLIER	TIME DRIVE	OPERATOR	
DATE		SOLVENT	AM	SLIT PROGRAM	OPERATOR	DATE	
CELL PATH REFERENCE		CONCENTRATION		CELL PATH REFERENCE		DATE	



varian Instrument division Palo Alto, California

START OF SWEEP → H → END OF SWEEP

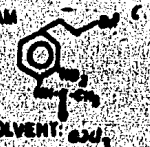


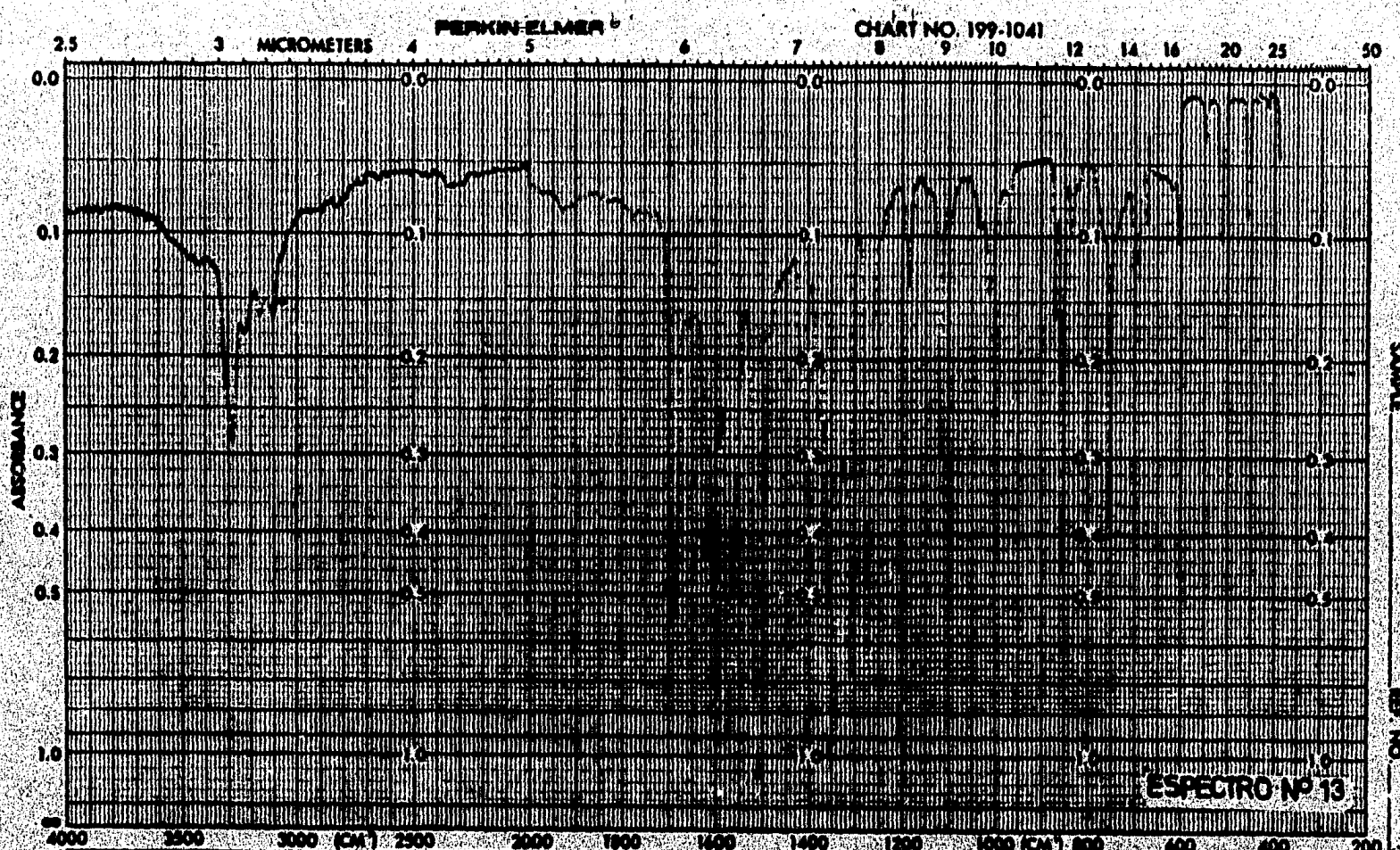
EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK FOS _____ ppm SPECTRUM AMPL. 2.5 ± 10⁰⁰ SWEEP TIME 5 min NUCLEUS H SAM _____ OPERATOR W. J. ...

LOCK POWER _____ mG FILTER 0.05 kHz SWEEP WIDTH _____ ppm ZERO REF. 7.00 DATE 30-7-11

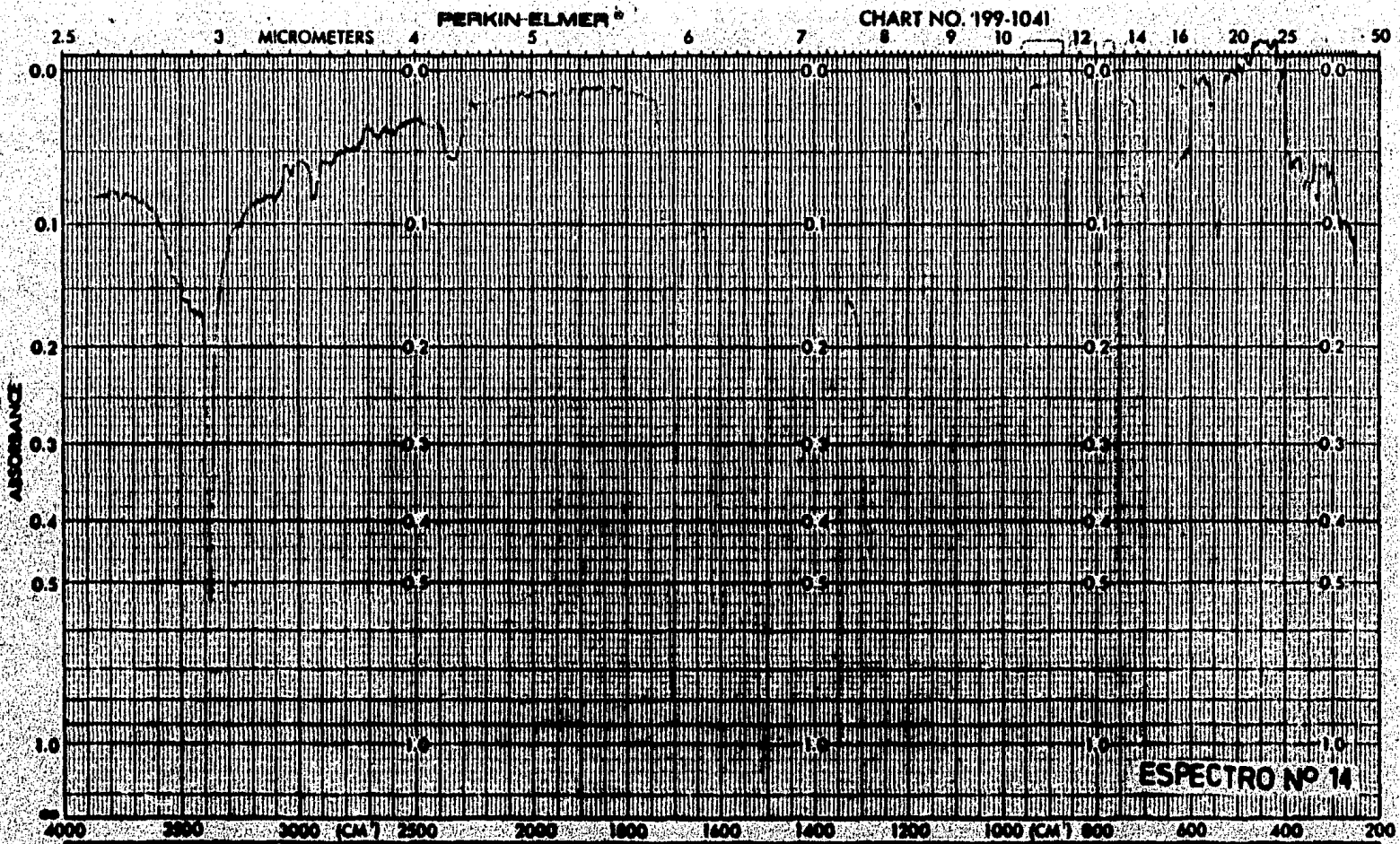
DECOUPLE FOS _____ ppm DECOUPLING POWER _____ mG RF POWER 0.01 mG END OF SWEEP 0.2 ppm SAMPLE TEMP. 2 °C SOLVENT: CDCl₃ SPECTRUM NO. 901





<p>EXPANSION _____</p> <p>SAMPLE ORIGIN <u>Mexico City</u></p>	<p>ABSCISSA</p>	<p>ORDINATE</p> <p>EXPANSION _____</p> <p>% T _____</p> <p>REMARKS <u>partic</u></p>	<p>SCAN TIME _____</p> <p>MULTIPLIER _____</p> <p>SLIT PROGRAM <u>V</u></p> <p>SOLVENT <u>KBr</u></p> <p>CONCENTRATION _____</p>	<p>REP. SCAN _____</p> <p>TIME DRIVE <u>12</u></p> <p>OPERATOR <u>Marsel</u></p> <p>CELL PATH REFERENCE _____</p> <p>DATE <u>22-V-68</u></p>
--	-----------------	--	--	--

SAMPLE REF. NO. 13



SAMPLE

REF. NO.

<p>EXPANSION <u>ABSCISSA</u></p> <p><u>6.4x</u></p>	<p>ORDINATE</p> <p>EXPANSION <u>% T</u></p> <p><u>ABS</u></p>	<p>SCAN TIME <u>1.0</u></p> <p>MULTIPLIER <u>1</u></p> <p>SLIT PROGRAM <u>6</u></p>	<p>REP. SCAN <u>SINGLE BEAM</u></p> <p>TIME DRIVE <u> </u></p> <p>OPERATOR <u> </u></p> <p>DATE <u> </u></p>
<p>SAMPLE ORIGIN <u>M. J. ...</u></p>	<p>REMARKS <u> </u></p>	<p>SOLVENT CONCENTRATION <u> </u></p>	<p>CELL PATH REFERENCE <u> </u></p>

