

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
LICENCIATURA EN CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE QUÍMICA



TEMA:

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE HIDRAZONAS
AROMÁTICAS Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

PRESENTADO POR:

Br. BORIS EZEQUIEL DE LA CRUZ ARGÜELLO

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS.

DOCENTES DIRECTORES:

M.Sc BESSY EVELYN GÁLVEZ

PhD. GUILLERMO DÍAZ Crespín

CIUDAD UNIVERSITARIA, FEBRERO 2021

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

AUTORIDADES:

M.Sc. ROGER ARMANDO ARIAS

RECTOR.

Ing. FRANCISCO ALARCÓN

SECRETARIO GENERAL

Licdo. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN.

FISCAL GENERAL

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA.

Lic. MAURICIO HERNÁN LOVO CÓRDOVA.

DECANO

Lic. JAIME HUMBERTO SALINAS ESPINOZA.

SECRETARIO

Lic. NELSON MAURICIO COTO MENDOZA

DIRECTOR DE LA ESCUELA DE QUÍMICA

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	X
AGRADECIMIENTOS	XII
ABREVIATURAS Y CODIGOS DE ESTRUCTURAS	XIV
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
OBJETIVO GENERAL	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
III. MARCO TEÓRICO	5
3.1. GENERALIDADES	5
3.1.1. GRUPO CARBONILO	5
3.1.2. ADICIÓN NUCLEOFÍLICA AL GRUPO CARBONILO	6
3.1.3. ADICIÓN DE COMPUESTOS NITROGENADOS A ALDEHÍDOS Y CETONAS.	7
3.2. HIDRAZONAS	8
3.2.1. GENERALIDADES	8
3.2.2. MECANISMO DE FORMACIÓN	10
3.2.3. SÍNTESIS DE HIDRAZONAS	10
3.3. CARACTERIZACIÓN DE HIDRAZONAS	11
3.3.1. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA ANALÍTICA (TLC)	11
3.3.2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA PREPARATIVA (CCFP)	11
3.3.3. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA (UV)	11
3.3.4. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)	12
3.3.5. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	12
3.4. APLICACIONES DE LAS HIDRAZONAS	14
3.5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE HIDRAZONAS	15
3.5.1. ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA	16
3.5.2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL	16
3.5.3. ACTIVIDAD ANTINFLAMATORIA	19
3.5.4. ACTIVIDAD ANTICONVULSIVA	19

3.5.5. ACTIVIDAD ANTITUMORAL	20
3.5.6. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA	20
3.6. HIDRAZONAS COMO LIGANDOS	21

IV. METODOLOGÍA **25**

4.1. REACTIVOS Y MATERIALES	25
4.1.1. REACTIVOS	25
4.1.2. MATERIALES	26
4.2. INSTRUMENTACIÓN	26
4.2.1. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (FT-IR)	26
4.2.2. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	26
4.2.3. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV-Vis)	27
4.3. SÍNTESIS DE REACTIVOS	27
4.3.1. PROCEDIMIENTO GENERAL DE SÍNTESIS PARA LA OXIDACIÓN DE BENCIDROLES	27
4.3.2. PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS DE LA 3,3'-DIYODOBENZOFENONA (2)	28
4.3.3. PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS DE LA 3,3'-DINITROBENZOFENONA (3)	28
4.4. SÍNTESIS DE LA FAMILIA DE HIDRAZONAS	29
4.4.1. PROCEDIMIENTO GENERAL DE SÍNTESIS DE HIDRAZONAS	29
4.4.2. SÍNTESIS DE LA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA BENZOFENONA (5)	31
4.4.3. SÍNTESIS DE LA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 3,3'-DINITROBENZOFENONA (6)	32
4.4.4. SÍNTESIS DE LA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA FLUORENONA (8)	33
4.4.5. SÍNTESIS DE LA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 4,4'-DIMETOXIBENZOFENONA (10)	34
4.4.6. SÍNTESIS DE LA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 3,3'-DIYODOBENZOFENONA (11)	35
4.4.7. SÍNTESIS DE LA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 4,4'-DIFLUOROBENZOFENONA (13)	36
4.4.8. PROCEDIMIENTOS DE SÍNTESIS DE LA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA XANTONA	37
4.5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA	38

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN **41**

5.1. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA BENZOFENONA (5)	41
5.2. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 3,3'-DINITROBENZOFENONA (6)	45
5.3. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA FLUORENONA (8)	51
5.4. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 4,4'-DIMETOXIBENZOFENONA (10)	56
5.5. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 3,3'-DIYODOBENZOFENONA (11)	60
5.6. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 4,4'-DIFLUOROBENZOFENONA (13)	65
5.7. REACCIONES DE SÍNTESIS PARA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA XANTONA	68
5.8. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LAS HIDRAZONAS	71
5.8.1. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE (5)	72
5.8.2. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE (6)	73

5.8.3. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE (8)	74
5.8.4. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE (10)	75
5.8.5. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE (11)	76
5.8.6. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE (13)	77

VI. CONCLUSIONES **79**

VII. RECOMENDACIONES **81**

VIII. BIBLIOGRAFÍA **83**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Experimentos monodimensionales	13
Tabla 2. Estructuras de las hidrazonas sintetizadas	37
Tabla 3. Condiciones de reacciones para la xantona	38
Tabla 4. Espectro ultravioleta visible de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona	45
Tabla 5. Condiciones y reacción para la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona	46
Tabla 6. Espectro ultravioleta visible de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona	51
Tabla 7. Espectro ultravioleta visible de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona	55
Tabla 8. Espectro UV de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona	60
Tabla 9. Condiciones y reacción para la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona	61
Tabla 10. Espectro UV de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona	65
Tabla 11. Espectro UV de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona	68
Tabla 12. Condiciones de reacciones para la xantona	69
Tabla 13. Actividad antifúngica del compuesto 5	72
Tabla 14. Actividad antifúngica del compuesto 6	73
Tabla 15. Actividad antifúngica del compuesto 8	74
Tabla 16. Actividad antifúngica del compuesto 10	75
Tabla 17. Actividad antifúngica del compuesto 11	76
Tabla 18. Actividad antifúngica del compuesto 13	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Grupo carbonilo estabilizado por resonancia.	6
Figura 2. Ataque nucleofílico al grupo carbonilo.	6
Figura 3. Mecanismo de formación del hemiaminal.	7
Figura 4. Pérdida de una molécula de agua para la formación del enlace imina.	8
Figura 5. Estructura y reactividad del grupo hidrazona	8
Figura 6. Sustituyentes “R” en la estructura de las hidrazonas.	9
Figura 7. Reacción de formación de hidrazonas.	10
Figura 8. Tautomerismo del pigmento 1-fenilazo-2-naftol.	15
Figura 9. Estructura de las hidrazonas del (E)-2-benzotiazol	16
Figura 10. Estructura de la hidrazona de la 4,4-dimetoxibenzofenona	17
Figura 11. Estructura general de las hidrazonas de la Quinazolona.	18
Figura 12. Estructura de la 4-cromanona (a) y de la 4-tiocromanona (b)	18
Figura 13. Estructura de las hidrazonas derivadas de la benzohidracina(4-aliloxy-benzilideno)	19
Figura 14. Estructura de la 2-(2-formilfural)piridilhidrazona	19
Figura 15. Estructura general de las hidrazonas derivadas del ácido nicotínico	20
Figura 16. Estructura de la hidrazona difenólica	20
Figura 17. Estructura general de las tiazolil hidrazonas	21
Figura 18. Modos de coordinación de las hidrazonas (D y E átomos dadores)	22
Figura 19. Estructura de las hidrazonas de esterol	23
Figura 20. Estructura de las benzofenonas utilizadas	26
Figura 21. Reacción general para la oxidación de bencidroles	27
Figura 22. Reacción de síntesis de la 3,3'-diyodobenzofenona	28
Figura 23. Reacción de síntesis de la 3,3'-dinitrobenzofenona	29
Figura 24. Reacción general de síntesis de hidrazonas.	30
Figura 25. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona	31
Figura 26. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona	32
Figura 27. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona	33
Figura 28. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona	34
Figura 29. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona	35
Figura 30. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona	36
Figura 31. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la xantona	37
Figura 32. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona	42

Figura 33. Secciones y espectro 1H-RMN obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona	42
Figura 34. Espectro IR de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona	44
Figura 35. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona	48
Figura 36. Espectro 1H-RMN obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona	49
Figura 37. Espectro IR obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona	50
Figura 38. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona	52
Figura 39. Secciones y espectro 1H-RMN obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona	53
Figura 40. Espectro IR obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona	54
Figura 41. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona	56
Figura 42. Espectro 1H-RMN de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona	57
Figura 43. Espectro IR de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona	59
Figura 44. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona	62
Figura 45. Espectro 1H-RMN de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona	62
Figura 46. Espectro IR de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona	64
Figura 47. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona	66
Figura 48. Espectro IR de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona	67
Figura 49. Estructuras de la fenilhidrazina y la 2,4-dinitrofenilhidrazina	70

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermanas, por todos sus consejos, apoyo incondicional y por siempre motivarme a seguir adelante. A Carito por darme siempre ese impulso necesario para continuar, por toda su paciencia, cariño y confianza.

Mis más sinceros agradecimientos a la M.Sc. Amy Morán del Centro de Investigación y desarrollo en Salud (CENSALUD) por la realización de los ensayos antifúngicos. A la Dra. Alice y el Dr. Guy Lamoureux del Centro de Investigación en Productos Naturales (CIPRONA) de la Universidad de Costa Rica (UCR) por los espectros ¹H RMN.

A mis asesores de tesis, Ph.D Guillermo por sus puntuales observaciones, a la maestra Bessy por todo su tiempo, dedicación, por sus asesorías acompañadas con café, por guiarme y acompañarme a lo largo de todo este trabajo, sin usted nada hubiera sido posible.

A mis compañeros, que a lo largo de la carrera se convirtieron en mi segunda familia, Alexito, Ricardito, José Luis, el chao, Thami y Mari, muchas gracias por su amistad, confianza y apoyo incondicional, porque con ustedes todo el estrés de la carrera se convirtió en risas y momentos divertidos.

A todos los docentes que me formaron a lo largo de mi carrera, de manera especial, a todos aquellos que fuera del plano de la relación docente-estudiante me brindaron su amistad, Dr. Orellana, Dr. Parada, Lic. Hugo y M.Sc Bessy. Al maestro Aguirre y el Lic. Hugo por toda su ayuda en la corrección y edición de este trabajo.

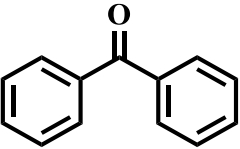
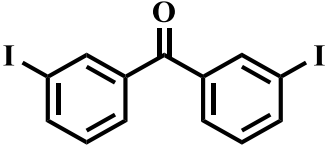
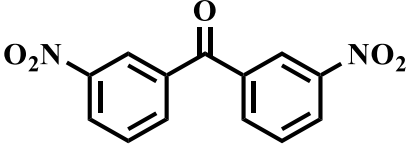
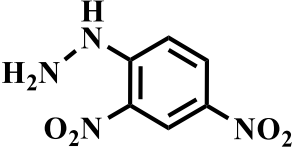
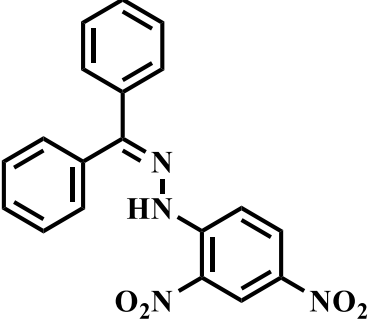
Muchas gracias.

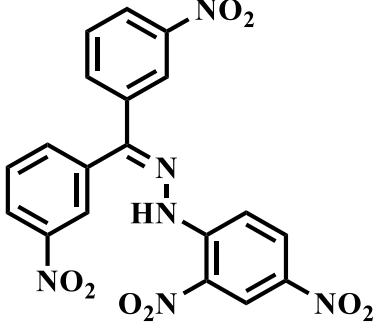
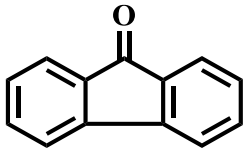
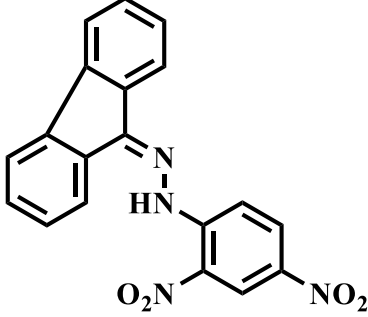
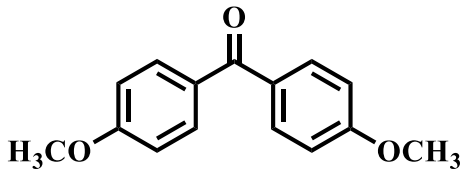
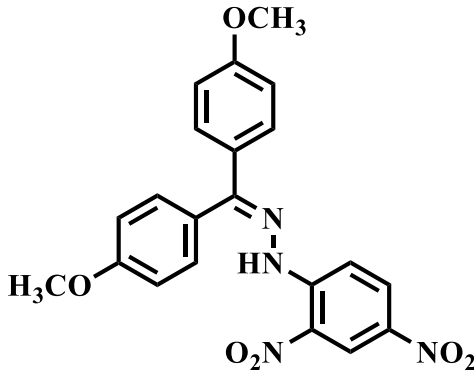
ABREVIATURAS Y CÓDIGO DE ESTRUCTURAS

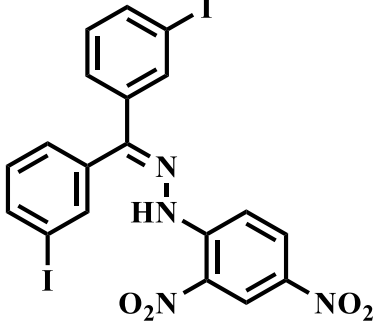
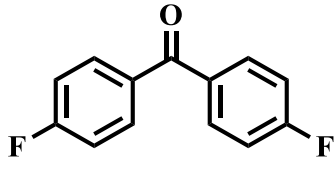
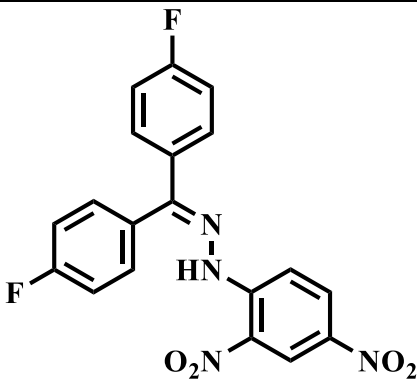
Abreviatura

Significado

2,4-DFH	2,4-dinitrofenilhidrazina
DMF	dimetilformamida
UV-vis	Ultravioleta visible
IR	Infrarrojo
H ¹ RMN	Resonancia magnética nuclear de protones
TLC	Cromatografía en capa fina analítica
CCFP	Cromatografía en capa preparativa
PF	Punto de fusión
RF	Factor de retención

Código	Estructura	Nombre
1		benzofenona
2		3,3'-diyodobenzofenona
3		3,3'-dinitrobenzofenona
4		2,4-dinitrofenilhidrazina
5		2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona

6		2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona
7		fluorenona
8		2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona
9		4,4'-dimetoxibenzofenona
10		2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona

11		2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona
12		4,4'-difluorobenzofenona
13		2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona

I. INTRODUCCIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo fundamental sintetizar una familia de hidrazonas y evaluar su actividad biológica (antifúngica), con el fin de realizar un estudio de comparación entre estructura de las hidrazonas sintetizadas y su posible capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos.

Ya que la resistencia a los medicamentos por cepas bacterianas se ha vuelto bastante alarmante, la demanda de nuevos compuestos con un mayor potencial de actividad biológica ha aumentado, hoy en día la búsqueda de nuevas sustancias con actividad antimicrobiana se ha convertido en un importante campo de la investigación.

En las últimas décadas ha aumentado considerablemente el interés en el desarrollo de nuevos compuestos con actividad anticonvulsiva, antidepresiva, analgésica, antiinflamatoria, antiplaquetaria, antibacterial, antifúngica, antimalárica, antimicrobiana, antitumoral y antiviral. Las hidrazonas constituyen una clase importante de compuestos para el desarrollo de nuevos medicamentos. Por esta razón, muchos investigadores han sintetizado esta clase de compuestos como estructuras diana y evaluado sus actividades biológicas. Estas investigaciones han guiado el desarrollo de nuevas hidrazonas que poseen actividades biológicas variadas.

Los compuestos que contienen en su estructura el grupo $R_2C=N-NR_2$ se denominan hidrazonas, estas pertenecen a la gran clase de azometinas (oxímas, iminas y bases de Schiff) y se distinguen de los otros miembros de esta clase por la presencia de dos átomos de nitrógeno de diferente naturaleza enlazados entre sí. El doble enlace $C=N$ en las hidrazonas se conjuga con un par de electrones libres del átomo de nitrógeno terminal, estas características estructurales son las principales responsables de las propiedades físicas y químicas de las hidrazonas.

El método clásico de síntesis para las hidrazonas involucra la condensación de compuestos carbonílicos (aldehídos y cetonas) con hidrazinas mediante la eliminación de una molécula

de agua para dar el enlace imino característico en las hidrazonas. La metodología para las síntesis de hidrazonas en esta investigación se basó en este método clásico de síntesis donde se utilizó 2,4-DFH y diferentes benzofenonas sustituidas para la obtención de las correspondientes 2,4-dinitrofenilhidrazonas a las cuales se les realizó ensayos antifúngicos.

Se ha demostrado que las hidrazonas poseen actividad biológica como: antimicrobianos, anticonvulsivos, analgésicos, antiinflamatorios, antiplaquetarios, antituberculosos y antitumorales. Por ejemplo, algunos derivados de hidrazona, como la piridoxal isonicotinoilhidrazona, se utilizan como agentes quelantes de hierro y pueden ser asimismo utilizados como agentes terapéuticos en el tratamiento del cáncer. Esta última aplicación es debido a que, durante el crecimiento y metabolismo acelerado de las células tumorales se produce una gran demanda de hierro, por lo que la privación de este metal afecta más a las células cancerosas que a las normales. Numerosos derivados de hidrazona, con sustituyentes heterocíclicos han demostrado propiedades antifúngicas y antimicrobianas ante microorganismos tales como *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium tuberculosis*. Las propiedades biológicas de muchos de estos compuestos aumentan cuando se forma un complejo metálico.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Sintetizar una familia de hidrazonas aromáticas y evaluar su actividad biológica.

Objetivos específicos

- Optimizar la síntesis de hidrazonas, derivadas de la benzofenona.

- Sintetizar una familia de hidrazonas derivadas de benzofenonas con diferentes sustituyentes.

- Purificar los compuestos obtenidos mediante técnicas de recristalización y cromatográficas.

- Caracterizar los productos obtenidos utilizando espectroscopia Ultravioleta Visible (UV-vis), Infrarrojo (IR) y Resonancia Magnética Nuclear de protones (H^1 RMN).

- Evaluar la actividad antifúngica de las hidrazonas sintetizadas.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. GENERALIDADES

3.1.1. Grupo carbonilo

Los compuestos carbonílicos están presentes en todas partes. La mayoría de las moléculas biológicas contienen grupos carbonilo, al igual que la mayor parte de los agentes farmacéuticos y muchas de las sustancias químicas sintéticas con las que tratamos todos los días.²⁹ El grupo carbonilo, es sin duda el grupo funcional más importante en la química orgánica.

Aunque existen muchos tipos diferentes de compuestos carbonílicos y muchas reacciones diferentes, podemos encontrar dos amplias clases de este tipo de compuestos:

1. Compuestos que solo tienen átomos de carbono e hidrógeno enlazados al grupo carbonilo tales como: aldehídos y cetonas.
2. Compuestos que contienen átomos electronegativos enlazados al grupo carbonilo tales como: ácidos carboxílicos, cloruros de ácidos, ésteres y amidas.³⁰

El grupo carbonilo está formado por un doble enlace que une un átomo de carbono y un átomo de oxígeno, el enlace doble carbono-oxígeno de un grupo carbonilo es similar en varios aspectos al enlace doble carbono-carbono de un alqueno. El átomo de carbono carbonílico tiene hibridación sp^2 y forma tres enlaces σ . El cuarto electrón de valencia permanece en un orbital p del carbono y forma un enlace π con oxígeno por el traslape con un orbital p del oxígeno. El átomo de oxígeno también tiene dos pares de electrones no enlazados, los cuales ocupan sus dos orbitales restantes. El enlace doble carbono-oxígeno está fuertemente polarizado debido a la alta electronegatividad del oxígeno en relación con el carbono y es la alta polaridad de este enlace que domina la química de los compuestos carbonílicos.^{4,11,29,31,32}

Como el oxígeno es más electronegativo que el carbono, el átomo de oxígeno atrae los electrones del doble enlace carbono-oxígeno, haciendo que el enlace carbonilo sea polar. En

términos de resonancia se puede describir al grupo carbonilo como una combinación de dos formas contribuyentes, en la figura 1 se muestra como el grupo carbonilo es estabilizado por resonancia, al igual que sus estructuras contribuyentes.^{4,32}

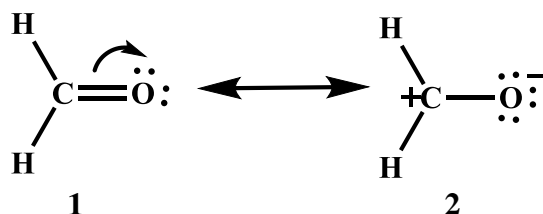


Figura 1. Grupo carbonilo estabilizado por resonancia.

La estructura contribuyente 1 es más importante, ya que cada átomo del grupo carbonilo tiene el octeto de Lewis completo, y no hay ninguna carga formal sobre los átomos. Las formas de resonancia polares de los compuestos carbonílicos también ayudan a explicar las propiedades químicas de los aldehídos y cetonas, ya que el átomo de carbono carbonílico es electrofílico y el átomo de oxígeno carbonílico es nucleofílico.^{4,32}

3.1.2. Adición nucleofílica al grupo carbonilo

La reacción más común de aldehídos y cetonas es la adición nucleofílica, adición de un nucleófilo y un protón a través del doble enlace carbono-oxígeno. Existen dos tipos de enlace entre C y O, el doble enlace C=O es bastante más corto que un típico enlace sencillo C-O, y también es doblemente más fuerte; sin embargo, es más reactivo, esto está relacionado a la polarización. El enlace C=O polarizado da al átomo de carbono una carga parcial positiva, y esta carga atrae nucleófilos con carga negativa y estimula la reacción, como se muestra en la figura 2.^{4, 11, 12, 29}

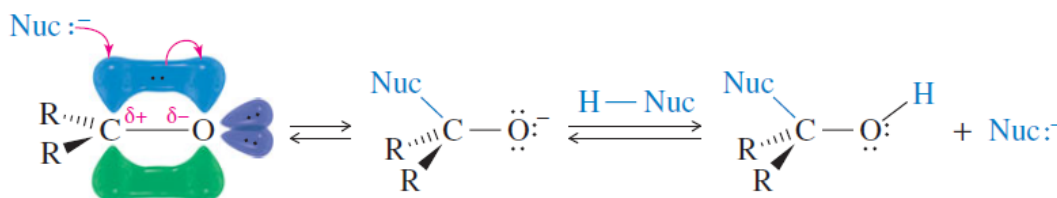


Figura 2. Ataque nucleofílico al grupo carbonilo.

En el ataque de un nucleófilo los electrones del enlace pi son forzados a salir al átomo de oxígeno para formar un anión alcóxido, una vez formado, y dependiendo de la naturaleza del nucleófilo, el alcóxido tetraédrico intermediario puede experimentar una protonación por agua o ácido para formar un alcohol como producto o alternativamente, el intermediario tetraédrico puede protonarse y eliminar el oxígeno para formar un nuevo enlace doble entre el carbono carbonílico y el nucleófilo.^{12, 29}

3.1.3. Adición de compuestos nitrogenados a aldehídos y cetonas.

Amoníaco y aminas de fórmula general RNH_2 son análogos nitrogenados del agua y alcoholes. Ellos son más nucleófilos que el agua y los alcoholes, y reaccionan más rápidamente con grupos carbonilo de aldehídos y cetonas. En estas reacciones se forma el análogo nitrogenado de un hemiacetal, llamado un **hemiaminal**. El mecanismo de formación del hemiaminal es similar al del hemiacetal y se muestra en la figura 3. En primer lugar, el nitrógeno nucleofílico ataca al átomo de carbono carbonílico para dar un aducto tetraédrico con una carga positiva sobre el nitrógeno y una carga negativa en el oxígeno. El producto inicial experimenta rápidamente una transferencia intermolecular del protón del nitrógeno al átomo de oxígeno.^{4,32}

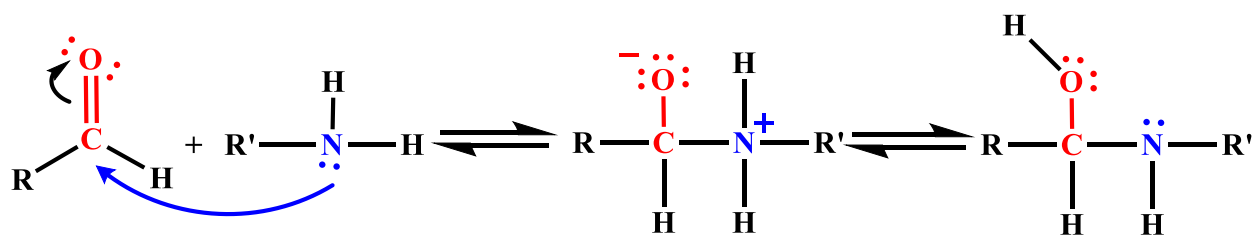


Figura 3. Mecanismo de formación del hemiaminal.

El hemiaminal no reacciona con un segundo mol de amina para formar el análogo de nitrógeno de un acetal porque pierde fácilmente una molécula de agua para formar un compuesto con un doble enlace carbono-nitrógeno, llamado una **imina** como se muestra en la figura 4.^{4,32}

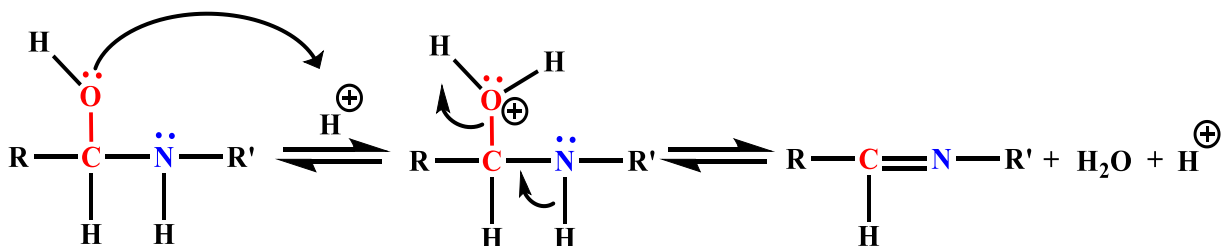


Figura 4. Pérdida de una molécula de agua para la formación del enlace imina.

La reacción global de un compuesto carbonílico con una amina es una reacción de adición-eliminación. En la etapa de adición, el átomo de nitrógeno se adiciona al átomo de carbono carbonílico. El producto de adición entonces pierde una molécula de agua en una reacción de eliminación para dar una imina.^{4,32}

3.2. HIDRAZONAS

3.2.1. Generalidades

Las hidrazonas y sus derivados constituyen una clase de compuestos versátiles en la química orgánica, que poseen en su estructura el grupo $R_2C=N-NR_2$, este grupo contiene dos átomos de nitrógeno de diferente naturaleza enlazados entre sí y un doble enlace $C=N$ que se conjuga con un par de electrones libres del átomo de nitrógeno terminal, estas características estructurales son las principales responsables de las propiedades físicas y químicas de las hidrazonas. En la figura 5 se muestra que ambos átomos de nitrógeno del grupo hidrazona son nucleófilos, aunque el nitrógeno de tipo amino es más reactivo. El átomo de carbono del grupo hidrazona tiene carácter tanto electrofílico como nucleofílico.^{5,6}

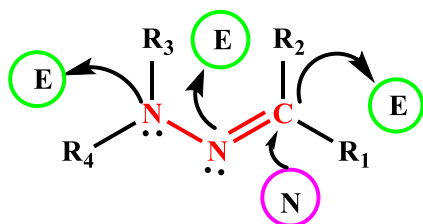


Figura 5. Estructura y reactividad del grupo hidrazona

Debido a la capacidad de reaccionar con reactivos nucleofílicos y electrofílicos, las hidrazonas son ampliamente utilizadas en la síntesis orgánica, especialmente para la preparación de compuestos heterocíclicos.^{5,6}

Las hidrazonas sustituidas, alquilhidrazonas y ciertas arilhidrazonas y azinas de aldehídos alifáticos y cetonas simples son líquidos incoloros o ligeramente coloreados que poseen un olor característico. El punto de ebullición de las hidrazonas se eleva con respecto al peso molecular de los sustituyentes “R” como se muestra en la siguiente figura³:

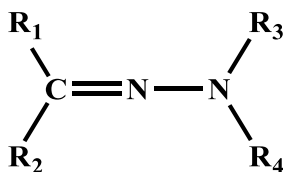


Figura 6. Sustituyentes “R” en la estructura de las hidrazonas.

Las alquilhidrazonas que poseen una cadena de carbono ramificada poseen puntos de ebullición más bajos que sus análogos que tienen una cadena lineal. Las fenilhidrazonas de aldehídos y cetonas aromáticos son sólidos, la mayoría ligeramente coloreado. Varias arilhidrazonas, especialmente las 4-nitro y 2,4-dinitrofenilhidrazonas, tienen una estructura cristalina bien desarrollada y los puntos de fusión definidos, de modo que son convenientes para la identificación de compuestos carbonílicos.³

Análisis cristalográficos indican que la agrupación $\text{R}_2\text{C}=\text{NNR}_2$ en hidrazonas posee una estructura plana, aunque la coplanaridad puede degradarse en ciertas moléculas impedidas estéricamente. La longitud del enlace C=N en hidrazonas depende de la naturaleza de los sustituyentes, variando entre 1.27 y 1.35Å. El cual es superior a los valores de 1.24 y 1.255Å para iminas alifáticas. La presencia de un par de electrones libres en el átomo de nitrógeno de tipo amino en el grupo hidrazonas, es capaz de conjugarse con los electrones π , lo cual conlleva a una disminución en el orden de enlace C=N y por lo tanto un aumento de su longitud.³

3.2.2. Mecanismo de formación

La reacción global de un compuesto carbonilo con una amina es una reacción de adición-eliminación. En el paso de adición el átomo de nitrógeno se enlaza al átomo de carbono del grupo carbonilo, y el átomo de hidrógeno se enlaza al átomo de oxígeno del carbonilo. El producto de adición pierde una molécula de agua en una reacción de eliminación para generar una imina, como se muestra en las figuras 3 y 4. Los compuestos derivados de aminas también reaccionan bajo este mecanismo para formar derivados estables de iminas. Estos compuestos incluyen hidroxilamina, hidrazina, y aminas sustituidas tal como semicarbazida y 2,4-dinitrofenilhidrazina.⁴

La formación de una imina requiere catálisis ácida, sin un catalizador ácido, la reacción es muy lenta, sin embargo, algunos compuestos como las oximas, por ejemplo, se forman sin catálisis ácida, aunque la reacción se da más rápido en medio ácido. La formación de una imina es de hecho más rápida a un pH aproximado de 4-6: a pH más bajo, el exceso de amina se protona y la tasa de la primera etapa es lenta; por encima de este pH la concentración de protones es demasiado baja para permitir la protonación del grupo saliente OH en la etapa de deshidratación.¹¹

3.2.3. Síntesis de hidrazonas

El método general y más antiguo para la síntesis de hidrazonas, es la reacción de hidracinas con compuestos carbonílicos. En la figura 7, se muestra este método clásico de síntesis para las hidrazonas, que involucra la condensación de compuestos carbonílicos (aldehídos y cetonas) con hidracinas mediante la eliminación de una molécula de agua para dar el enlace imino.^{5,6}

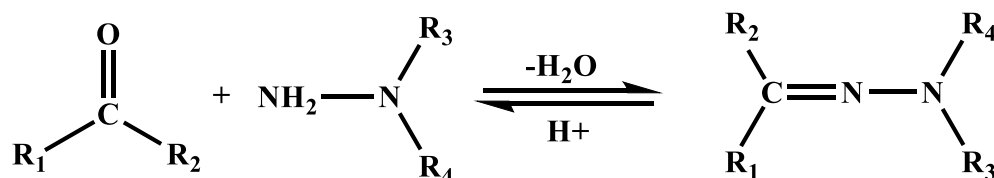


Figura 7. Reacción de formación de hidrazonas.

3.3. CARACTERIZACIÓN DE HIDRAZONAS

Las principales técnicas que forman la base de análisis estructural moderno son: espectroscopia ultravioleta (UV) e Infrarrojo (IR), y espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

Para la caracterización de las hidrazonas es necesario realizar una purificación previa de los productos obtenidos, ya sea utilizando técnicas de recristalización o cromatográficas.

3.3.1. Cromatografía en capa fina analítica (TLC)

La cromatografía en capa fina analítica es una técnica cualitativa que se utiliza con los siguientes fines: Monitoreo de una reacción, identificación de un compuesto, determinación de los componentes de una mezcla, comprobación de la pureza de un compuesto, determinación del disolvente apropiado para llevar a cabo una separación mediante cromatografía preparativa y análisis de las fracciones recogidas en una cromatografía en columna. La fase estacionaria (adsorbente) se encuentra depositada, formando una capa fina de espesor uniforme (0.1 - 0.2 mm), sobre una placa de vidrio, plástico, o una lámina metálica.¹³

3.3.2. Cromatografía en capa fina preparativa (CCFP)

La cromatografía en capa fina preparativa se emplea en la separación de componentes de una mezcla con el fin no solo de identificarlos, sino de cuantificarlos mediante su recuperación a partir de la placa o cromatofolios. A diferencia de la cromatografía de capa fina analítica, la cromatografía preparativa se utiliza para la separación y aislamiento de los componentes de mezclas en cantidades comprendidas entre 100 y 200 mg. Este tipo de cromatografía se lleva a cabo en placas de gel de sílice de 1-2 mm de espesor sobre un soporte de vidrio de 20x20 cm.¹³

3.3.3. Espectroscopia ultravioleta (UV)

Las medidas de absorción de radiación ultravioleta y visible tienen una gran aplicación en la identificación y determinación de una enorme cantidad de especies inorgánicas y orgánicas. La espectroscopia UV se basa en la medida de la transmitancia (T) o de la absorbancia (A)

de disoluciones que se encuentran en cubetas transparentes que tienen un camino óptico. Normalmente, la concentración de un analito absorbente está relacionada linealmente con la absorbancia. La absorción de la radiación visible y ultravioleta de longitud de onda larga está restringida a un número limitado de grupos funcionales (llamados cromóforos) que contienen electrones de valencia con energías de excitación relativamente bajas.¹⁴ Las hidrazonas que se sintetizaron poseen grupos cromóforos y son compuestos coloreados, por lo tanto, se esperan obtener valores de longitudes de onda máximas para cada uno de ellos.¹⁴

3.3.4. Espectroscopia Infrarroja (IR)

La espectroscopia infrarroja (IR) se utiliza para analizar las características vibracionales de las moléculas, estructuras cristalinas y cristales, utilizando para ello diferentes tipos de muestras y diferentes instrumentaciones.¹³

Los espectros aparecen con numerosas bandas características en el intervalo del espectro infrarrojo (sobre 100 cm^{-1} a 4000 cm^{-1}). Se pueden asociar bandas individuales con grupos químicos específicos, tales como el grupo carbonilo. Casi todos los instrumentos utilizados en IR están equipados con sistemas de análisis que utilizan transformadas de Fourier de haz sencillo.¹³

Las señales observadas en los espectros de IR describen vibraciones moleculares como si las moléculas fuesen masas conectadas por muelles. Para la caracterización de las hidrazonas por IR, estas presentan la vibración molecular del enlace característico (C=N) en el intervalo de frecuencias $1640\text{-}1690\text{ cm}^{-1}$.¹³

3.3.5. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) se basa en la medida de la absorción de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias aproximadamente de 4 a 900 MHz. En contraste con la absorción ultravioleta visible e infrarroja, en el proceso de absorción están implicados los núcleos de los átomos en vez de los electrones exteriores.¹⁴ La espectroscopia de RMN es una técnica que proporciona información estructural y estereoquímica de gran interés en un espacio de tiempo relativamente corto. Se trata de una técnica no destructiva que estudia el comportamiento de

ciertos núcleos atómicos (aquéllos que poseen *spin* nuclear distinto de cero) en presencia de un campo magnético externo.¹²

De particular interés para la Resonancia Magnética Nuclear es el espín de los protones y neutrones del núcleo atómico. En el núcleo atómico, cada protón se puede aparear con otro protón con espín antiparalelo (algo análogo a los que sucede con los electrones en los enlaces químicos). Los neutrones también pueden hacerlo. Los pares de partículas que resultan de combinar un espín de signo positivo con otro negativo, da como resultado un espín neto de valor cero. Por esta razón los núcleos con número de protones y neutrones impar dan lugar a un espín neto, donde el número de desapareamientos contribuye con un $\frac{1}{2}$ al total del número cuántico de espín nuclear, denominado I, por tanto, entre los elementos de la Tabla Periódica, cada isótopo de un determinado átomo, dependiendo de cuál sea el número de protones y neutrones del núcleo, va a tener un determinado valor de I.¹³

Entre los núcleos activos en RMN los más interesantes son aquellos cuyo número cuántico de spin (I) es igual a un $\frac{1}{2}$, como los núcleos de ^1H y ^{13}C . En el caso de RMN de ^1H , la escala de valores del desplazamiento químico va de 0 a ~ 15 ppm, y para ^{13}C , de 1 a 220. Es importante notar que, puesto que la escala es relativa, no cambiará, aunque cambie la frecuencia de operación del instrumento.¹³

A continuación, en la tabla 1, se resume la información general que aportan los experimentos de ^1H y para ^{13}C , llamados experimentos monodimensionales.

Tabla 1. Experimentos monodimensionales

EXPERIMENTO	INFORMACIÓN	CONCLUSIONES
RMN ^1H	Valor del desplazamiento químico (en ppm), la multiplicidad de cada señal, y la constante de acoplamiento para cada hidrógeno.	Permite relacionar estrechamente cada protón con los átomos de carbono adyacentes.
RMN ^{13}C	Evidencia todos los carbonos de la molécula.	Hibridación de cada átomo de carbono, así como su funcionalización.

3.4. APLICACIONES DE LAS HIDRAZONAS

Las hidrazonas se consideran entre los grupos más importantes de compuestos en la química inorgánica, orgánica, analítica y medicinal debido a su accesibilidad preparativa, variedad estructural, habilidad de formar una larga variedad de compuestos y su amplio perfil biológico. La introducción de grupos funcionales en estas moléculas amplía el campo de aplicaciones en el uso de estas últimas en la síntesis orgánica. Además, la combinación del grupo hidrazona con otros grupos funcionales conduce a compuestos con propiedades físicas y químicas únicas, es por ello por lo que una de las principales tareas de un químico orgánico es el diseño y síntesis de nuevos compuestos con altas aplicaciones a partir de reactivos fácilmente disponibles.^{6,9,33,34}

Aparte de la química de coordinación, las bases de Schiff, hidrazonas, y sus derivados, tales como carbazonas, semicarbazonas y tiosemicarbazonas, son objeto de muchos estudios atractivos debido a sus aplicaciones.^{6,9} El amplio rango de aplicaciones para las hidrazonas están bien documentados. Entre dichas aplicaciones que poseen las hidrazonas se encuentra su uso como sensores moleculares, cuyo desarrollo se encuentra en auge por el amplio rango de aplicaciones industriales, medioambientales y biológicas que implican la detección de cantidades traza de especies químicas y biológicas en alimentos, medicamentos, etc.^{5,9}

En lo que se refiere a la industria de los pigmentos, varias hidrazonas como el 1-fenilazo-2-naftol, se utilizan con ese fin. Como se muestra en la figura 8, en este compuesto existe un tautomerismo azo/hidrazona, presentándose predominantemente en la forma tautomérica hidrazona. Con la desprotonación, el anión resultante también tiene propiedades como tintes y según el sustituyente R se denominan Orange II ($R = SO_3H$) y Para Red ($R = NO_2$).⁵

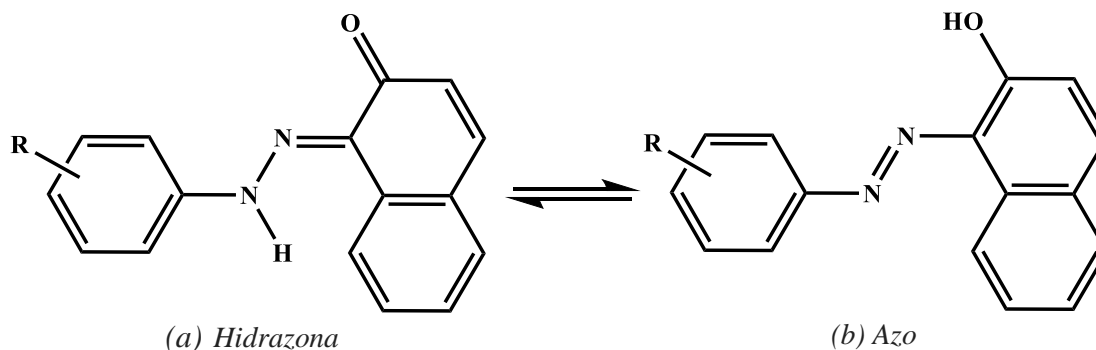


Figura 8. Tautomerismo del pigmento 1-fenilazo-2-naftol.

Otra aplicación de las hidrazonas es en la industria de los polímeros, diversas hidrazonas se emplean como agentes plastificantes, antioxidantes e iniciadores de la polimerización⁵. Además, algunas hidrazonas se han utilizado también como herbicidas, insecticidas, nematocidas, rodenticidas, y reguladores del crecimiento de plantas.¹⁵

Así, en lo que se refiere al análisis químico, la formación de derivados aromáticos de hidrazonas se utiliza para medir la concentración de Aldehídos y cetonas de bajo peso molecular, la Formación de derivados de 2,4-dinitrofenilhidrazonas de compuestos de carbonilo ha sido durante mucho tiempo un ejercicio común en los laboratorios de química orgánica.^{5,16}

3.5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE HIDRAZONAS

Las hidrazonas constituyen una clase importante de compuestos que han atraído la atención de los químicos medicinales con respecto a estudiar sus estructuras, ya que poseen enormes e interesantes propiedades biológicas tales como: anticancerígenos, antitumorales, antimaláricos, antibacteriales, antituberculosos, antifúngicos, anticonvulsivos, y actividades antiinflamatorias.^{2,9,15,17,34}

3.5.1. Actividad anticancerígena

En el 2006 Easmon et al, sintetizaron las 2-benzoxazolil hidrazonas derivadas de 2-formil y 2-acetilpiridinas las cuales presentaron actividades antitumorales. La hidrazona de la 2-acetilpiridina inhibe in vitro la proliferación celular en el rango de los nM, mientras que las hidrazonas derivadas de la R-(N)-acetildiazinas/quinolinas inhibe el crecimiento celular en el rango de μM .¹⁸

Recientemente, en el 2014, Lindgren et al, sintetizaron hidrazonas de benzotiazol y evaluaron su actividad anti proliferativa in vitro frente a tres líneas celulares de cáncer humano: HL-60 (leucemia), MDAMB-435 (mama) y HCT-8 (colon). Obtuvieron una buena citotoxicidad para las tres líneas celulares de cáncer y dos moléculas prometedoras (figura 9) para el diseño de fármacos contra el cáncer.¹⁹

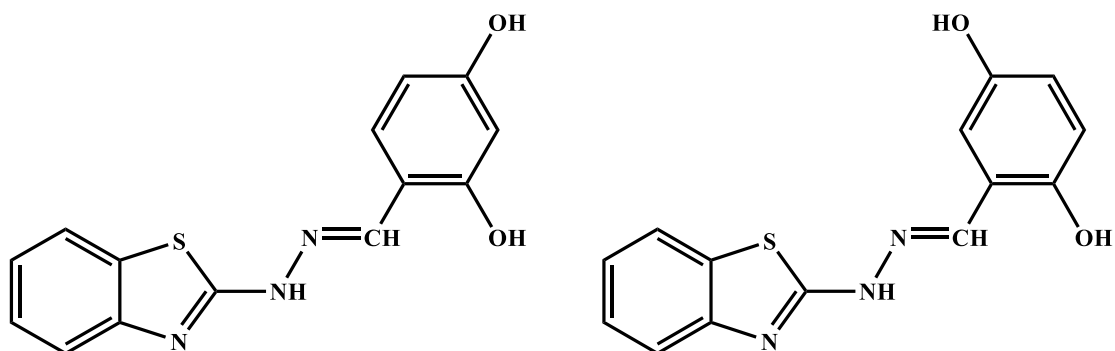


Figura 9. Estructura de las hidrazonas del (E)-2-benzotiazol

3.5.2. Actividad antibacterial

Las enfermedades infecciosas son la segunda causa principal de muerte en el mundo y la tercera causa principal de muerte en los países económicamente avanzados²⁰, el aumento de forma espectacular de la prevalencia de las infecciones microbianas resistentes a múltiples fármacos en las últimas décadas se ha convertido en un grave problema de atención médica. La búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos será, en consecuencia, siempre una tarea importante y un reto para los químicos medicinales². La leishmaniasis es una enfermedad tropical causada por la infección de protozoos *Leishmania*, ha sido reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un problema de salud creciente; muchas

partes de Asia y África son vulnerables a la leishmaniasis. Diversas hidrazonas de la benzofenona, como la hidrazona de la 4,4-dimetoxibenzofenona (figura 10) ha demostrado una significativa actividad antileishmanial, así este compuesto y otros derivados de hidrazonas han presentado actividad antifúngica y antibacterial.²⁰

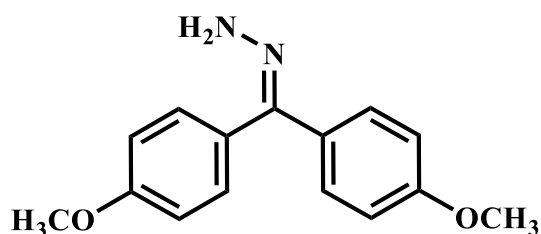


Figura 10. Estructura de la hidrazona de la 4,4-dimetoxibenzofenona

Aslan y Karacan en el 2012, sintetizaron una serie de hidrazonas sulfonil aromáticas y se evaluaron sus actividades antimicrobianas. Todos los compuestos mostraron una potente inhibición contra cepas como *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *P. fluorescens*, *E. coli*, entre otras.¹

Numerosos derivados de hidrazona, con sustituyentes como heterociclos o macromoléculas han demostrado propiedades antifúngicas y antimicrobianas ante microorganismos tales como *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium tuberculosis*⁵. Las propiedades biológicas de muchos de estos compuestos aumentan cuando se forma un complejo metálico⁵. Asimismo, algunas hidrazonas derivadas de la Quinazolona (figura 11) han demostrado tener actividad anti-inflamatoria y poseen actividad antibacteriana in vitro contra varias cepas de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.²¹

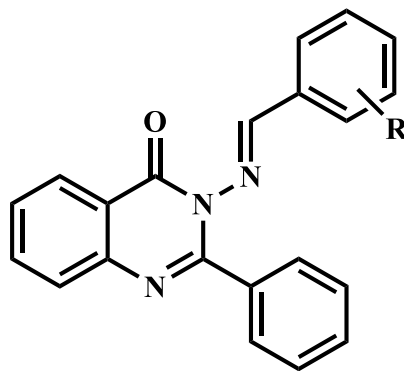


Figura 11. Estructura general de las hidrazonas de la Quinazolona.

Las proteasas de cisteína (PC) son enzimas que participan en funciones importantes del ciclo de vida de muchos parásitos, entre ellas el tráfico de proteínas necesarias para el metabolismo y las funciones reproductivas; específicamente, se ha encontrado que estas PC son de gran relevancia en varios aspectos importantes para el parásito como son el crecimiento, la infectividad y la supervivencia al interior de la célula huésped, en la búsqueda de sustancias antiparasitarias, se han sintetizado diferentes hidrazonas derivadas de cromo, tiocromo (figura 12), alquil y aril hidrazonas, ya que algunas tienen la capacidad de inhibir una PC del parásito y por lo tanto afectar el crecimiento y desarrollo de estos microorganismos en la célula huésped.²²



Figura 12. Estructura de la 4-cromanona (a) y de la 4-tiocromanona (b)

La tuberculosis (TB) es una pandemia mundial causada por diferentes especies de micobacterias. *Mycobacterium tuberculosis* es un patógeno eficaz, que causa la tuberculosis y es la mayor causa infecciosa de muerte en todo el mundo, matando a aproximadamente dos millones de personas al año. Kulandai y Geethamalika recientemente, en el 2017, sintetizaron

nuevas hidrazonas derivadas de la benzohidracina(4-aliloxi-benzilideno) (figura 13) y se encontró que estos compuestos actúan como agentes anti-tuberculosis muy potentes, el porcentaje de inhibición fue de 97.9 y 98.7%. Previamente realizaron estudios antibacterianos in vitro con bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) y Gram-negativas (*Escherichia coli*) presentando inhibición contra dichas bacterias.³³

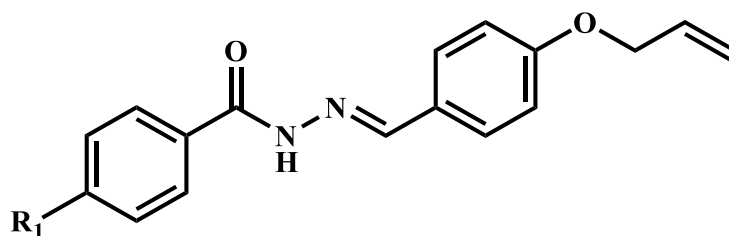


Figura 13. Estructura de las hidrazonas derivadas de la benzohidracina(4-aliloxi-benzilideno)

3.5.3. Actividad antiinflamatoria

Todeschini et al. sintetizaron el derivado antiinflamatorio más importante la 2-(2-formilfuril)piridilhidrazona (figura 14), el cual presenta una inhibición del 79 % de la pleuresía en una dosis de 80,1 $\mu\text{mol} / \text{kg}^2$

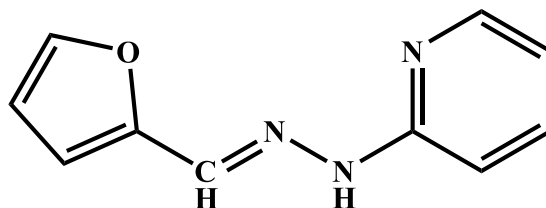


Figura 14. Estructura de la 2-(2-formilfuril)piridilhidrazona

3.5.4. Actividad anticonvulsiva

Una serie de hidrazonas derivadas del ácido nicotínico (figura 15) han sido investigadas y pueden ser consideradas como una nueva droga en el diseño de nuevos fármacos anticonvulsivos. La epilepsia no es una enfermedad, sino un síndrome de diferentes trastornos del sistema nervioso central que involucran la actividad eléctrica, espontánea,

intermitente, anormal en el cerebro, este síndrome afecta a 60 millones de personas en todo el mundo.^{2, 23}

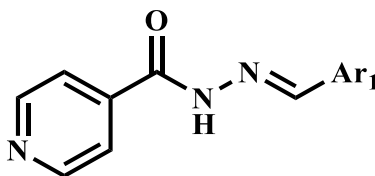


Figura 15. Estructura general de las hidrazonas derivadas del ácido nicotínico

3.5.5. Actividad antitumoral

Una variedad de fármacos antitumorales está actualmente en uso clínico. La búsqueda de fármacos antitumorales llevó al descubrimiento de varias hidrazonas que tienen actividad antitumoral. Algunas hidrazonas difenólicas mostraron una inhibición máxima uterotrófica (término utilizado para describir un efecto positivo sobre el crecimiento de los tejidos uterinos) de 70 %, mientras que el compuesto mostrado en la figura 16 exhibió citotoxicidad en el intervalo de 50 a 70% contra líneas celulares malignas del tipo MCF-7 y ZR-75-1 (cáncer de mama).²

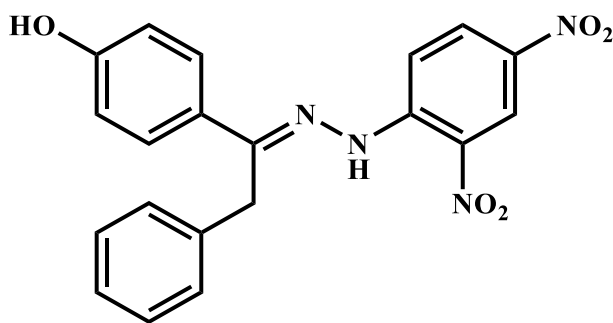


Figura 16. Estructura de la hidrazona difenólica

3.5.6. Actividad antifúngica

Tyrkov et al en el 2013, sintetizaron hidrazonas sustituidas de nitrotetrazol-5-carbaldehído y evaluaron su actividad antifúngica obteniendo resultados positivos contra cepas de *Candida albicans*, *Microsporium canis*, y *Trichophyton rubrum*.²⁴

Sushama et al en el 2017, sintetizaron algunas tiazolil hidrazonas (figura 17) y evaluaron su actividad antioxidante y antifúngica *in vitro*. La actividad antifúngica *in vitro* de los compuestos sintetizados contra las especies de hongos *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* encontraron que era moderada a buena en comparación con el estándar de fluconazol.³⁵

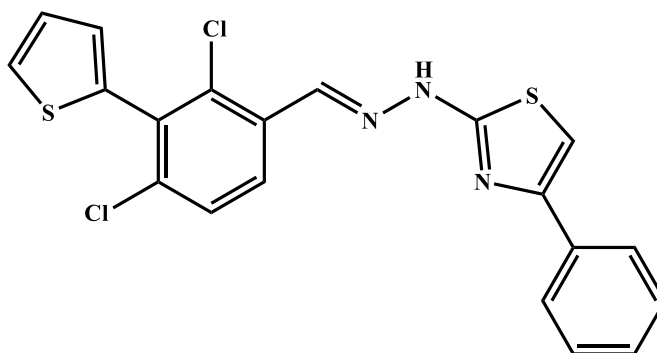


Figura 17. Estructura general de las tiazolil hidrazonas

3.6. HIDRAZONAS COMO LIGANDOS

Las propiedades biológicas de las hidrazonas están a menudo relacionadas con la coordinación a un ion metálico. Esto es debido, en primer lugar, a la lipofilicidad, que controla el porcentaje y velocidad de entrada de los compuestos químicos en las células y que se modifica con la coordinación. Asimismo, los complejos metálicos pueden ser más activos que el ligando libre y algunos de los efectos secundarios pueden decrecer después de la complejación.^{5,34}

Las bases de Schiff tienen diversas aplicaciones en diferentes áreas tales como la catálisis, desactivadores metálicos, procesos de separación, la electroquímica, bioinorgánica, química ambiental y en la biología, en esta última ejerciendo su efecto como antitumorales, antibacteriales, antifúngicos e inhibidor de otras actividades.^{25,26}

Las hidrazonas actúan como ligandos en complejos metálicos uniéndose al centro metálico a través del nitrógeno imínico⁵, esta cualidad las hace más versátiles para formar complejos con iones metálicos con estado de oxidación variable²⁵, así complejos metálicos

de Zn(II)^5 , Cu(II)^5 , Fe(III)^5 , Co(II)^{27} , Ni(II)^{27} y Cd(II)^{27} , muestran amplias aplicaciones biológicas.

Asimismo, la presencia de sustituyentes con átomos dadores de electrones, tanto en el compuesto carbonílicos como en la hidrazina, puede aumentar el número de puntos de unión (denticidad), como se muestra en la figura 18⁵.

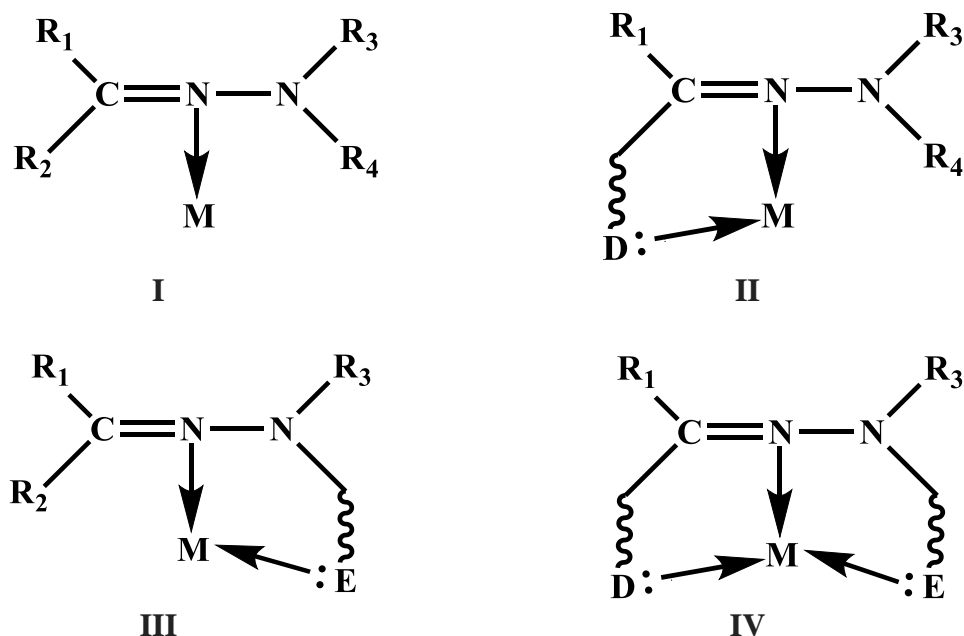


Figura 18. Modos de coordinación de las hidrazonas (*D* y *E* átomos dadores)

Los complejos metálicos de bases de Schiff tienen un rol esencial en el campo de la química de coordinación, la cual constituye uno de los campos más importantes de la Química Inorgánica, no sólo por su amplitud y complejidad sino por el gran volumen de investigación que se le dedica.^{5,27}

El impulso de la Química en la Coordinación se debe en gran parte al desarrollo en el campo teórico, en los métodos de síntesis y en el campo de las aplicaciones de los compuestos de coordinación.⁵

Entre las aplicaciones de las hidrazonas en los compuestos de coordinación y en las bases de Schiff se puede mencionar la actividad antioxidante de una nueva serie de bases de Schiff

que fueron sintetizadas las cuales contienen bis-1,2,4-triazol y bis-hidrazona derivadas de dihidrazida tereftálica.²⁵

Los complejos de hidrazonas con esterol y platino como metal presentan actividad biológica contra *Leishmania mexicana*. Estos complejos son inhibidores específicos de la esterol metil transferasa (EMT), los parásitos que causan leishmaniasis poseen ergosterol (el análogo al esterol en los vertebrados). La enzima EMT cataliza la incorporación de este esterol, el cual lo requiere el parásito para sobrevivir y crecer, al ser inhibida, este muere. Esta enzima es específica para la ruta biosintética del ergosterol y no interfiere en la biosíntesis de colesterol, siendo éste, el principal esterol en los vertebrados.²⁸

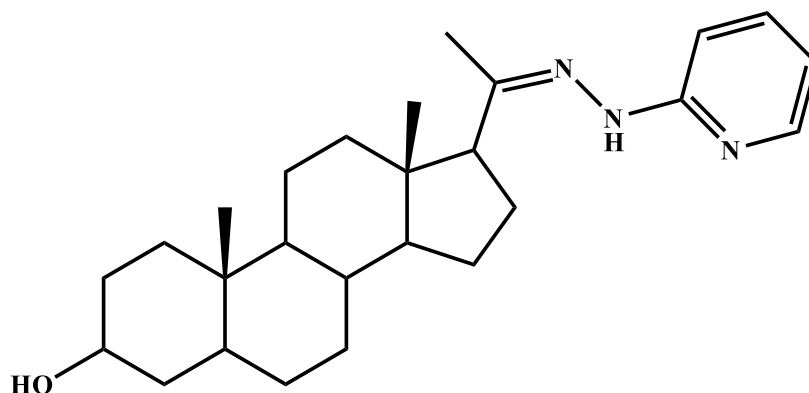


Figura 19. Estructura de las hidrazonas de esterol

De igual manera se han realizado estudios de complejos organometálicos de bases de Schiff derivadas de la condensación del ácido salicílico-3-aldehído con isonicotinoil hidrazina, los cuales poseen actividad antibacterial contra *S. aureus*, *E coli*, *B subtilis* y *P. aeruginosa*.²⁷

IV. METODOLOGÍA

4.1. REACTIVOS Y MATERIALES

4.1.1. Reactivos

Para llevar a cabo las reacciones de síntesis de las hidrazonas se emplearon los reactivos siguientes:

1. La hidrazina utilizada en la síntesis de los compuestos fue la 2,4-dinitrofenilhidrazina (Sigma Aldrich, calidad síntesis)
2. Como disolvente para llevar a cabo la reacción de síntesis se utilizó etanol, etilenglicol y dimetilformamida (DMF) (Sigma Aldrich, calidad síntesis), cada uno se utilizó dependiendo de la solubilidad de los reactivos.
3. Las cetonas empleadas fueron la benzofenona, diferentes benzofenonas sustituidas, la fluorenona y la xantona.
4. Ácido clorhídrico concentrado, se utilizó como catalizador en cada una de las reacciones.

Los reactivos de los numerales 1, 2 y 4 se solicitaron a la bodega de la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, la benzofenona que se utilizó fue adquirida de la casa Sigma Aldrich mientras que la xantona, fluorenona y benzofenonas con sustituyentes metóxi y flúor, se obtuvieron mediante oxidación suave de sus bencidroles correspondiente. Las benzofenonas con sustituyentes nitro y yodo se sintetizaron a partir de la benzofenona. A continuación, se detallan las estructuras de las benzofenonas utilizadas, las cuales fueron sintetizadas y caracterizadas en el centro de investigación en productos naturales (CIPRONA) de la Universidad de Costa Rica (UCR).

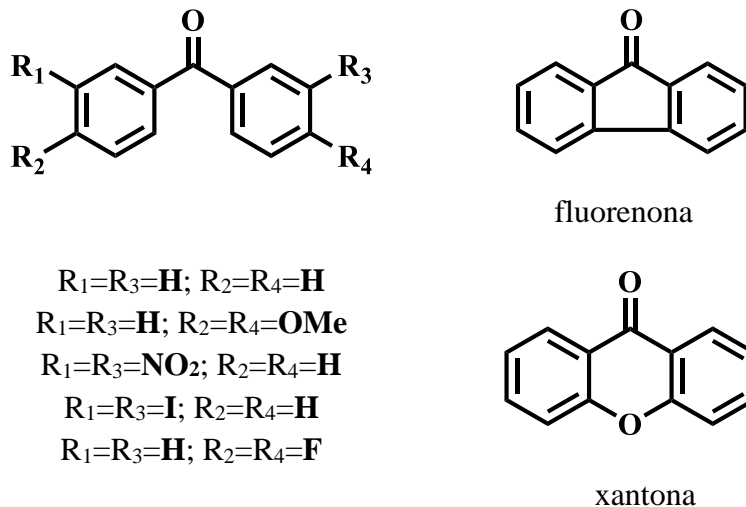


Figura 20. Estructura de las benzofenonas utilizadas

4.1.2. Materiales

Toda la cristalería y demás material que fue utilizado para la síntesis de las hidrazonas se solicitó a la bodega de la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

4.2. INSTRUMENTACIÓN

La caracterización de los productos obtenidos se realizó por técnicas espectroscópicas, que a continuación, se detallan:

4.2.1. Espectroscopia Infrarroja (FT-IR)

Los espectros de infrarrojo (FT-IR) de las hidrazonas obtenidas se realizaron en un equipo Thermo Scientific Nicolet iS5 y unidad de Reflectancia Total Atenuada (iD7 ATR).

4.2.2. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) fueron realizados en un instrumento Varian-Mercury 400 BB (600 MHz para los núcleos de 1H). Los productos se disolvieron en cloroformo deuterado ($CDCl_3$) que contiene tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en **ppm** y las constantes de

acoplamiento (J) en **Hz**. En los experimentos de RMN ^1H , la multiplicidad de las señales se indica por las abreviaturas: (s) singulete, (d) doblete y (m) multiplete. El procesamiento y el análisis de los espectros de RMN, se efectuaron utilizando los programas Mestre Nova (MestreLab Research), según las necesidades.

4.2.3. Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

Los espectros de absorción en la región de ultravioleta-visible (UV-Vis) se realizaron en un espectrofotómetro UV- Pharmaspec-1700 de la marca SHIMADZU. El análisis se realizó en la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

4.3. SÍNTESIS DE REACTIVOS

4.3.1. Procedimiento general de síntesis para la oxidación de bencidroles

El procedimiento de oxidación para alcoholes utilizando hipoclorito de sodio da como resultado excelentes rendimientos de los productos oxidados deseados. Este método de oxidación es suave, eficiente y seguro. Los procedimientos experimentales son muy convenientes. Además, el bajo costo y la disponibilidad del hipoclorito de sodio como lejía doméstica comercial hace que este método de oxidación de alcoholes sea muy atractivo.⁴¹

La figura 21 muestra la reacción general de oxidación para la obtención de las benzofenonas a partir de los correspondientes bencidroles.

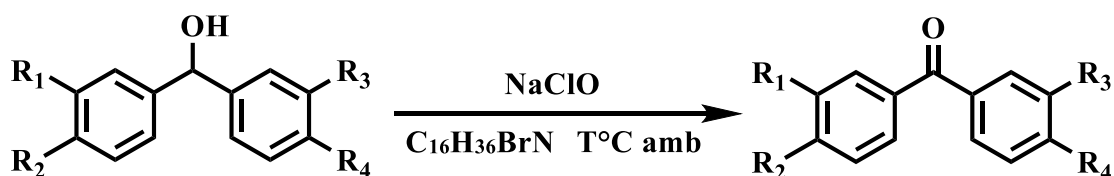


Figura 21. Reacción general para la oxidación de bencidroles

La reacción de oxidación se realizó en un balón fondo redondo equipado con un agitador magnético, se mezcló el alcohol (bencidrol) e hipoclorito de sodio utilizando acetato de etilo como disolvente, posteriormente se adicionó el bromuro de tetrabutilamonio como reactivo de transferencia de fase, el tiempo de reacción fue de 30 minutos.²⁹ El monitoreo de las

reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía de capa fina (TLC) empleando hexano-acetato de etilo 8:2 como fase móvil y fase estacionaria de gel de sílice HF254.²⁹

4.3.2. Procedimiento de síntesis de la 3,3'-diyodobenzofenona (2)

La figura 22 muestra la reacción de síntesis para la obtención de la 3,3'-diyodobenzofenona (2) a partir de la benzofenona, así como también las condiciones en que se llevó a cabo la reacción.



Figura 22. Reacción de síntesis de la 3,3'-diyodobenzofenona

La reacción se llevó a cabo en un balón fondo redondo conteniendo 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, en él se agregó la benzofenona (1) pulverizada (1.98 g), la mezcla se colocó en un baño de hielo (0 - 5 °C aproximadamente), manteniendo la temperatura fría, luego se adicionó gota a gota la disolución yodante, que se preparó previamente disolviendo NaIO₄ (1.324 g), KI (2.772 g), y I₂ (2.4 g) en 60 mL de ácido sulfúrico. La mezcla se dejó en agitación por 75 minutos manteniendo la temperatura. Se realizó una extracción líquido-líquido utilizando éter etílico, la fase orgánica se secó con desecante, se filtró por gravedad y se rota evaporó.

La purificación se realizó por recristalización utilizando acetona.

4.3.3. Procedimiento de síntesis de la 3,3'-dinitrobenzofenona (3)

La figura 23 muestra la reacción de síntesis para la obtención de la 3,3'-dinitrobenzofenona (3) a partir de la benzofenona, así como también las condiciones en las que se llevó a cabo la reacción.

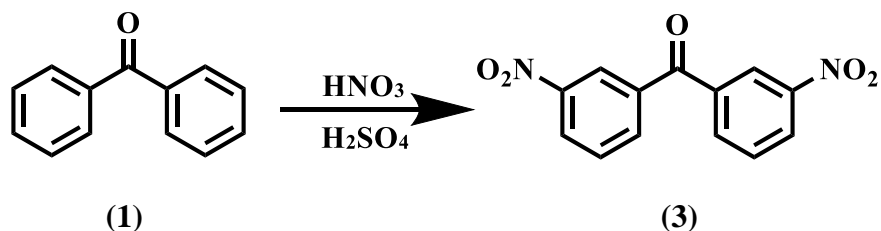


Figura 23. Reacción de síntesis de la 3,3'-dinitroacetofenona

Primeramente, se preparó la mezcla nitrificante, se pesaron en frascos cerrados (Erlenmeyer) y por separado 5.075 g de HNO_3 y 15 g de H_2SO_4 , se enfrió el ácido sulfúrico y se adicionó gota a gota el ácido nítrico, la mezcla se mantuvo en un baño de hielo para evitar que la temperatura superara los $20\text{ }^\circ\text{C}$.

En un balón fondo redondo se adicionó (1) pulverizada a 50 g de ácido sulfúrico, se agitó esta mezcla hasta total disolución, posteriormente se adicionó gota a gota la mezcla nitrificante manteniendo la temperatura por debajo de los $20\text{ }^\circ\text{C}$. Se calentó la mezcla por debajo de los $70\text{ }^\circ\text{C}$ y con agitación constante durante dos horas y media. Pasado el tiempo se dejó enfriar la mezcla y se hizo precipitar un sólido en un baño de hielo el cual se filtró al vacío y se lavó con agua hasta neutralidad.

El producto se recristalizó en metanol.

4.4. SÍNTESIS DE LA FAMILIA DE HIDRAZONAS

4.4.1. Procedimiento general de síntesis de hidrazonas

La figura 24 muestra la reacción general de síntesis para las hidrazonas, así como también las condiciones en las que se llevaron a cabo las reacciones.

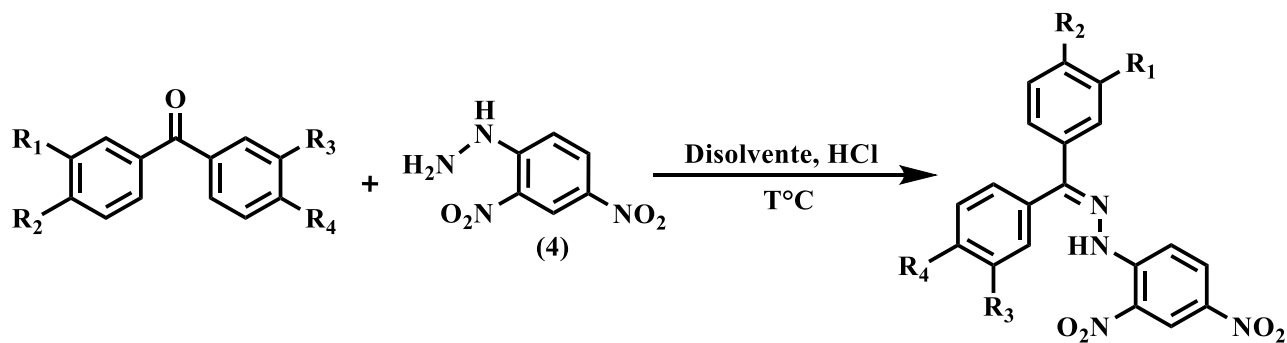


Figura 24. Reacción general de síntesis de hidrazonas.

La reacción se llevó a cabo en un balón de fondo redondo, donde se utilizó etanol, etilenglicol y DMF, según la solubilidad de los reactivos y ácido clorhídrico como catalizador (las cantidades usadas tanto de reactivos como de disolvente y catalizador fueron medidas en mmol), se realizó una solución en etanol de la 2,4-dinitrofenilhidrazina (**4**) en medio ácido, se agregó la cetona a emplear. Se adaptó un condensador para reflujo, se le aplicó calor hasta ebullición y agitación constante al sistema de reacción. El monitoreo de las reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía de capa fina (TLC) empleando cromatofolios con fase estacionaria de gel de sílice HF254 y triclorometano como fase móvil.

Posteriormente se filtró la mezcla al vacío y se realizaron lavados con etanol frío, agua y una mezcla de etanol y HCl diluido, a fin de garantizar la eliminación de posibles residuos de reactivos en el producto obtenido.

4.4.2. Síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona (5)

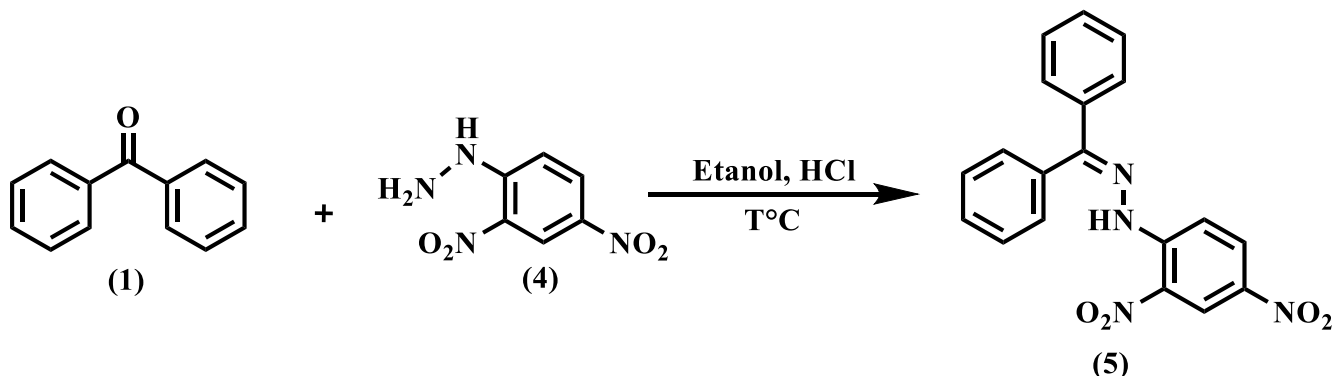


Figura 25. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona

En un balón fondo redondo de 50 ml se mezcló 1 mL de HCl (catalizador) y 10 mL de etanol como disolvente, posteriormente se adicionaron 197 mg (1.03 mmol) de (4), se agitó la mezcla hasta total disolución, luego se agregó (187 mg, 1.03 mmol) de (1), se aplicó reflujo con agitación por 15 minutos, la mezcla se dejó enfriar. Se procedió a realizar la separación del sólido formado utilizando filtración al vacío, la hidrazona formada se lavó con HCl 1 M, agua y etanol frío, con la finalidad de eliminar restos de (4). Se obtuvo un producto anaranjado claro, la obtención de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona (5) se confirmó por espectroscopia UV, IR y ^1H -RMN.

Caracterización: ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ 11.23 (s, 1H), 9.07 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 8.37 (ddd, $J = 9.6, 2.6, 0.7$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 7.74 – 7.59 (m, 5H), 7.46 – 7.39 (m, 3H), 7.38 – 7.35 (m, 2H). **IR (ATR)**, ν (cm^{-1}): 3300 (>N-H); 1620 (C=N); 1510 (N-H); 1260 (C-N). **UV-vis**, (CHCl_3), λ_{max} (nm): 387.2. **Estado físico:** sólido. **Color:** anaranjado claro. **PF:** 240 °C. **Rendimiento:** 67 %

4.4.3. Síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona (6)

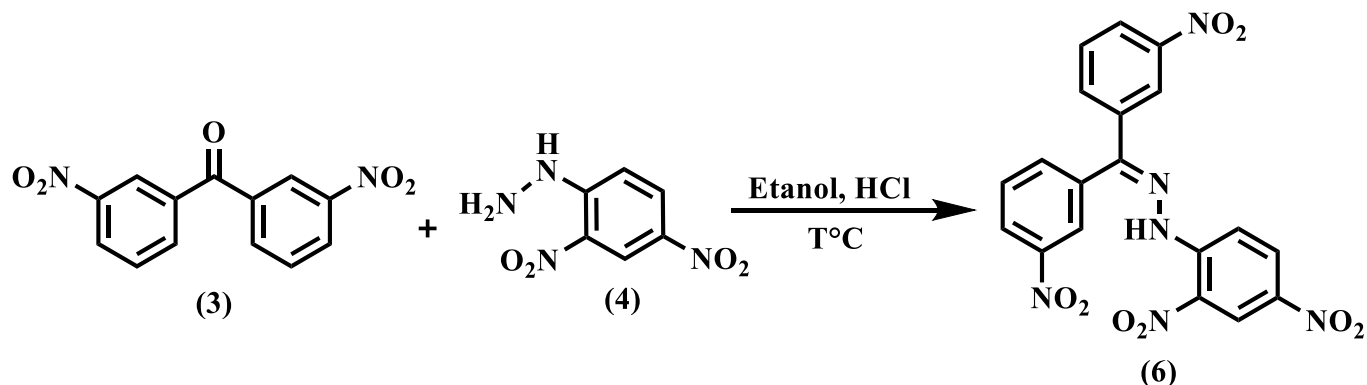


Figura 26. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona

En un balón fondo redondo de 50 mL se agregaron 10 mL de etanol como disolvente y 101.1 mg (0.383 mmol) de (3), se agitó y calentó la mezcla hasta total disolución. En un beaker se preparó una disolución con 109.7 mg (0.55 mmol) de (4) en 5 mL de etanol y 1 mL de HCl concentrado, se agitó y calentó hasta total disolución, esta mezcla se preparó por separado debido a la solubilidad de los reactivos. Poco a poco se adicionó esta mezcla al balón de reacción que contenía la cetona, se llevó a ebullición con agitación por 1.5 horas. La hidrazona formada se filtró al vacío y se lavó con HCl 1 M, agua y etanol frío con la finalidad de eliminar restos de (4). Se obtuvo un producto sólido de color amarillo, la obtención de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona (6) se confirmó por espectroscopia UV, IR y ¹H- RMN.

Caracterización: ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 11.25 (s, 1H), 9.10 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.33 (ddd, *J* = 8.1, 2.2, 0.9 Hz, 1H), 8.23 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 8.00 – 7.91 (m, 4H), 7.81 – 7.75 (m, 4H). **IR (ATR),** ν (cm⁻¹): 3100 (>N-H); 1660 (C=N); 1540, 1350 (NO); 1270 (CN). **UV-vis,** (CHCl₃), λ_{max} (nm): 373.2. **Estado físico:** sólido. **Color:** amarillo. **PF:** 264 °C. **Rendimiento:** 49.3 %

4.4.4. Síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona (8)

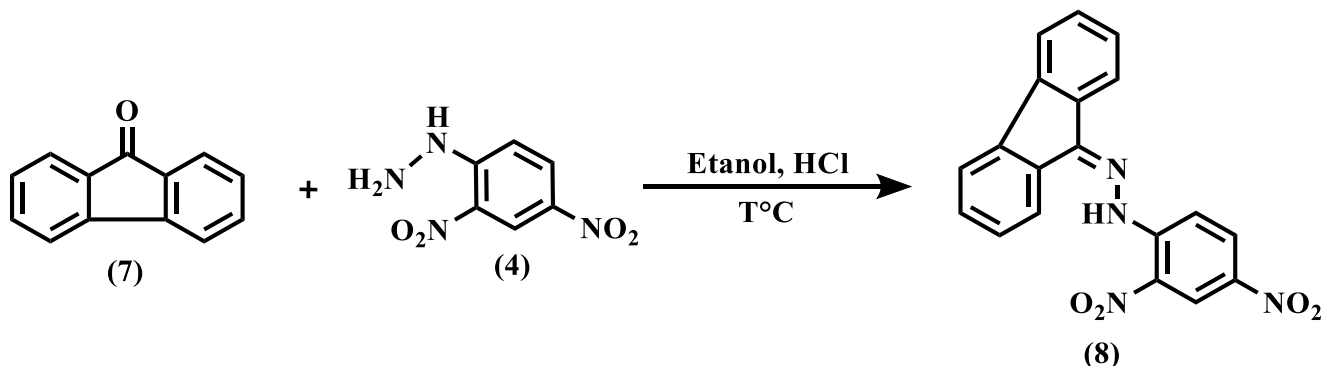


Figura 27. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona

En un balón fondo redondo de 50 mL se agregaron 10 mL de etanol como disolvente y 90.4 mg (0.50 mmol) de (7), se agitó y calentó la mezcla hasta total disolución. En un beaker se preparó una disolución de 0.1004 g (0.507 mmol) de (4) en 5 mL de etanol y 1 mL de HCl concentrado como catalizador, se agitó y calentó hasta total disolución, esta mezcla se preparó por separado debido a la solubilidad de los reactivos. Poco a poco se adicionó esta mezcla al balón de reacción que contenía la cetona, se llevó a ebullición con agitación por 15 minutos, la hidrazona formada se filtró al vacío, se lavó con HCl 1 M, agua y etanol frío con la finalidad de eliminar restos de (4). Se obtuvo un producto anaranjado claro, la obtención de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona (8) se confirmó por espectroscopia UV, IR y ^1H -RMN.

Caracterización: ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 12.22 (s, 1H), 9.20 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.44 (dd, $J = 9.5, 2.5$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.54 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.46 (dt, $J = 21.1, 7.5$ Hz, 2H), 7.36 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H). **IR (ATR)**, ν (cm^{-1}): 3331 ($>\text{NH}$); 1615 ($\text{C}=\text{N}$); 1499 (NH); 1332 (CN). **UV-vis**, (CHCl_3), λ_{max} (nm): 393.4. **Estado físico:** sólido. **Color:** anaranjado claro. **PF:** 282 °C. **Rendimiento:** 58 %

4.4.5. Síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona (10)

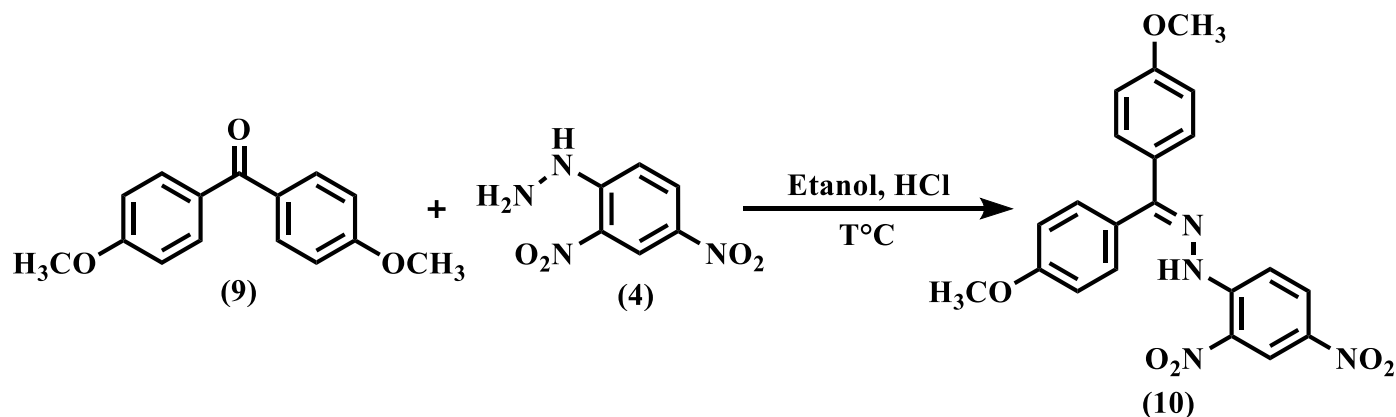


Figura 28. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona

En un balón fondo redondo de 25 mL se agregaron 5 mL de etanol y 4,4'-dimetoxibenzofenona (9) 119.5 mg (0.494 mmol), se agitó y calentó la mezcla hasta total disolución. En un beaker se preparó una disolución de 99 mg (0.5 mmol) de (4) en 5 mL de etanol y 15 gotas de HCl concentrado, se agitó y calentó hasta total disolución. Poco a poco se adicionó esta mezcla al balón de reacción que contenía la cetona, se llevó a ebullición con agitación por 15 minutos. la hidrazona formada se filtró al vacío, se lavó con HCl 1 M, agua y etanol frío con la finalidad de eliminar restos de (4), se recristalizó en acetona. Se obtuvo un producto anaranjado claro, la obtención de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona (10) se confirmó por espectroscopia UV, IR y ¹H-RMN.

Caracterización: ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 11.31 (s, 1H), 9.08 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.34 (dd, *J* = 9.6 Hz, 1H), 8.26 (dd, *J* = 9.6, 2.6 Hz, 2H), 8.18 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 6.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 3.79 (s, *J* = 4.3 Hz, 6H). **IR (ATR),** ν (cm⁻¹): 3270 (>N-H); 1607 (C=N); 1586 (N-H); 1332 (CN); 1248 (C-O). **UV-vis,** (CHCl₃), λ_{max} (nm): 396, 263.4. **Estado físico:** sólido. **Color:** anaranjado claro. **PF:** 165-167 °C. **Rendimiento:** 35 %

4.4.6. Síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona (11)

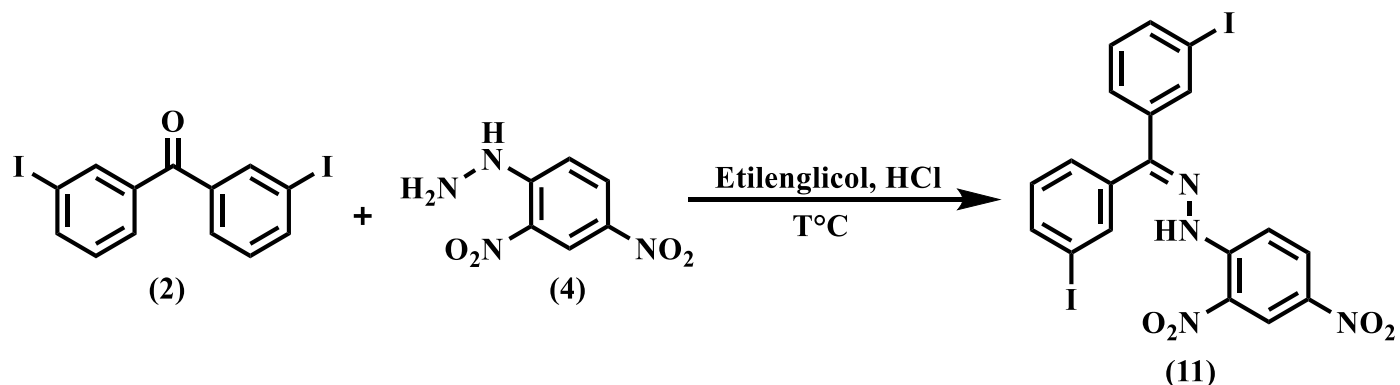


Figura 29. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona

En un balón fondo redondo de 25 mL se agregaron 5 mL de etilenglicol como disolvente y 50.5 mg (0.255 mmol) de (4), se agitó y calentó la mezcla hasta total disolución, posteriormente se agregaron 106.5 mg (0.245 mmol) de (2) y 0.5 mL de HCl concentrado, se agitó y calentó a reflujo hasta total disolución. Se dejó enfriar la mezcla, se filtró al vacío y la hidrazona obtenida se lavó con una mezcla de etanol y agua 1:1 y 8:2 con la finalidad de eliminar restos de (4), posteriormente se purificó recristalizándolo en acetona. Se obtuvo un producto anaranjado oscuro, la obtención de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona (11) se confirmó por espectroscopia UV, IR y ^1H -RMN.

Caracterización: ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 11.20 (s, 1H), 9.09 (dd, $J = 9.1, 2.6$ Hz, 1H), 8.41 (dd, $J = 9.5, 2.5$ Hz, 1H), 8.37 (dd, $J = 9.6, 2.4$ Hz, 1H), 8.24 – 8.17 (m, 2H), 8.12 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.07 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.96 – 7.93 (m, 2H), 7.81 – 7.62 (m, 2H), 7.54 – 7.32 (m, 2H). **IR (ATR),** ν (cm^{-1}): 3281.89 ($>\text{NH}$); 1650.18 (C=N); 1509.05 (NH); 1335.55 (CN). **UV-vis,** (CHCl_3), λ_{max} (nm): 382.4. **Estado físico:** sólido. **Color:** anaranjado. **PF:** 276-278 °C. **Rendimiento:** 29.38 %

4.4.7. Síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona (13)

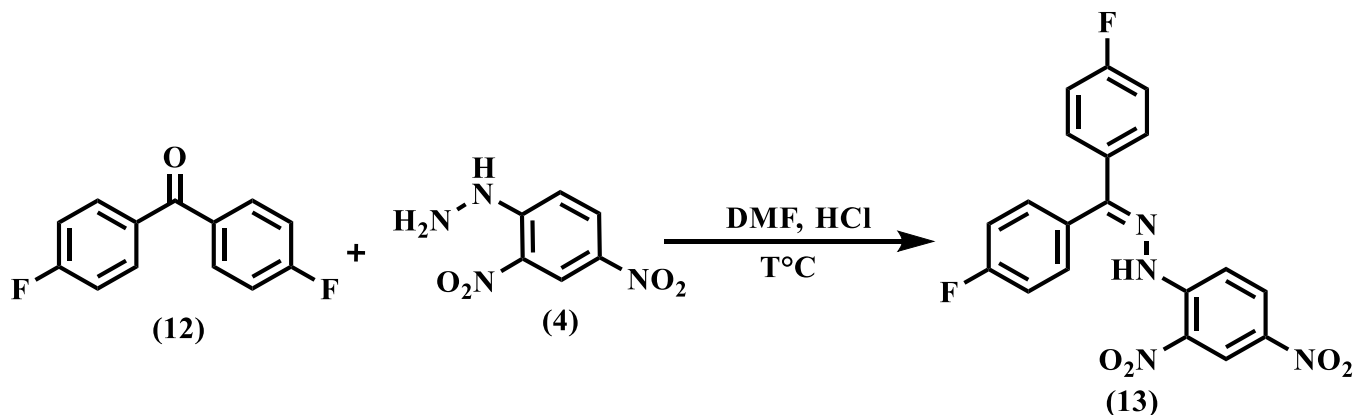


Figura 30. Reacción de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona

Utilizando un balón fondo redondo de 25 mL se agregaron 100 mg (0.505 mmol) de (4) y como disolvente 5 mL de dimetilformamida (DMF), se agitó la mezcla hasta total disolución, luego se añadieron 110.9 mg (0.509 mmol) de (12) y 3 gotas de HCl concentrado (como catalizador), la mezcla se mantuvo en agitación y calentamiento por 30 minutos. Debido a que el producto obtenido presentaba alta solubilidad en el disolvente (DMF), se procedió a añadir agua fría para precipitar la hidrazona, el producto obtenido se filtró al vacío y se lavó con etanol y ácido clorhídrico diluido con la finalidad de eliminar restos de (4), se recrystalizó en acetona. Se obtuvo un producto rojo, la obtención de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona (13) se confirmó por espectroscopia UV e IR.

Caracterización: IR (ATR), ν (cm^{-1}): 3280 (>N-H); 1620 (C=N); 1500 (NH); 1220 (CN).

UV-vis, (CHCl_3), λ_{max} (nm): 385.6. **Estado físico:** sólido. **Color:** rojo. **PF:** 290-293 °C.

Rendimiento: 38 %

A continuación, se muestra una tabla resumen con los productos obtenidos para cada reacción de síntesis.

Tabla 2. Estructuras de las hidrazonas sintetizadas

Código de estructura	R ₁ =R ₃	R ₂ =R ₄	
5	H	H	
6	NO ₂	H	
10	H	OCH ₃	
11	I	H	
13	H	F	
8	-	-	

4.4.8. Procedimientos de síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la xantona

Dentro de la síntesis de la familia de hidrazonas se planteó la obtención de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la xantona (figura 31), se realizaron cuatro procedimientos sintéticos mostrados a continuación, en ninguno de ellos se obtuvo la molécula objetivo.

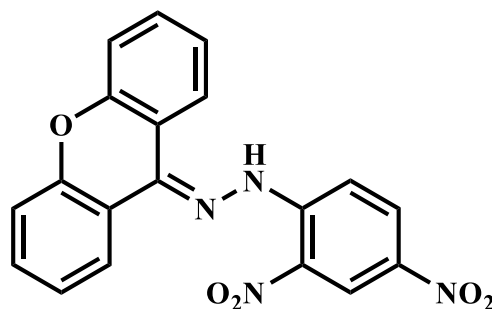


Figura 31. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la xantona

En las 4 metodologías se empleó el procedimiento general de síntesis de las hidrazonas (sección 1.6) a continuación se muestra una tabla resumen donde se muestran las variaciones de las condiciones en cada reacción.

Tabla 3. Condiciones de reacciones para la xantona

N°	Cetona	Hidrazina	Solvente	Tiempo	Catalizador
1	xantona	2,4-DFH	Etanol	15 min	1 mL HCl []
2	xantona	2,4-DFH	Etilenglicol	30 min	1 mL HCl []
3	xantona	2,4-DFH	DMF	60 min	1 mL HCl []
4	xantona	2,4-DFH	DMF	90 min	2 mL HCl []

En ninguna de las reacciones se logró obtener la hidrazona objetivo, cada reacción se monitoreó con TLC, cada una de las cuales mostraba únicamente manchas correspondientes a los reactivos.

4.5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Se evaluó la actividad antifúngica de las hidrazonas obtenidas permitiendo así hacer una relación entre su estructura y actividad biológica presentada, con el fin de determinar cuáles compuestos poseen mayor actividad biológica. Estos ensayos se realizaron en los laboratorios del Centro de Investigaciones y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador (UES).

La actividad antifúngica de los compuestos sintetizados fue evaluada con dos diferentes cepas de hongos (*C. albicans* y *A. niger*) utilizando el método de difusión en agar. Esta prueba se realizó a las soluciones de prueba de cada compuesto sintetizado, se prepararon en 8 concentraciones diferentes 25, 40, 55, 100, 150, 200, 250 y 300 µg/mL utilizando DMF como solvente.

Posteriormente se utilizaron discos de papel filtro whatman N°2 (6 mm de diámetro) impregnados con las disoluciones de los compuestos, se utilizó un disco impregnado con DMF para control negativo; dichos discos se obtuvieron por medio de un sacabocados. Los

discos se colocaron en la superficie del medio de cultivo agar Mueller-Hinton, las cajas Petri se pre-incubaron por 1 hora a temperatura ambiente para minimizar el efecto de la variación del tiempo entre la aplicación de las diferentes disoluciones, posteriormente las cajas Petri fueron incubadas por 24 horas a 35 °C. El valor de inhibición se calculó igual al promedio de los diámetros de inhibición (mm) menos el diámetro del disco (en mm): $C=A-B$; donde C es el valor de inhibición, A es el tamaño del halo más tamaño de disco y B es el tamaño del disco (± 6 mm). Cada prueba se realizó por duplicado. Se estableció un control positivo constituido por las especies de hongos expuestas a los antifúngicos ketoconazol y cicloheximida que poseen una probada actividad biocida.⁴²

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los objetivos planteados en este trabajo, se realizaron diferentes estrategias sintéticas para la obtención de una familia de hidrazonas utilizando benzofenonas sustituidas, con el fin de estudiar su actividad antifúngica, y presentar una relación de estructura versus actividad antifúngica.

Así, se comenzó sintetizando los reactivos de partida, realizando la oxidación de bencidroles y la síntesis de **(2)** y **(3)**, ambas sintetizadas a partir de la benzofenona, una vez obtenidos estos compuestos, se realizó la síntesis de cada una de las hidrazonas propuestas, a continuación, se muestra de manera separada para cada hidrazona, la discusión del procedimiento experimental empleado y el análisis de la confirmación de la obtención de producto utilizando espectroscopia UV-vis, IR y ¹H- RMN.

5.1. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA BENZOFENONA (5)

Para la síntesis de este producto se empleó la metodología expuesta en la sección 4.4.2, donde las condiciones de reacción consultadas en la literatura involucran como primera fase la preparación de una disolución de 2,4-DFH, utilizando etanol como disolvente y ácido clorhídrico como catalizador, como segunda fase de síntesis se agregó **(1)** sólida, el sistema se colocó a reflujo para total disolución de la benzofenona, la mezcla se mantuvo en agitación y calentamiento a reflujo por 15 minutos.

Se obtuvo con un rendimiento del 67 % **(5)** figura 32, un sólido color anaranjado claro. Se determinó el punto de fusión de la hidrazona sintetizada utilizando un Melt-Temp Thomas Scientific, obteniendo un valor de 240 °C, este dato se contrastó con la bibliografía en la cual se reporta un valor de 239 °C³⁶ para esa hidrazona, este valor cercano nos da indicios de la obtención del producto esperado, además de la pureza de este, posteriormente se realizó la caracterización del producto utilizando espectros ¹H-RMN, IR (ATR) y UV-vis.

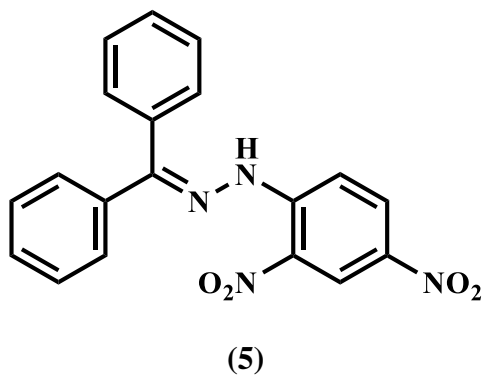


Figura 32. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona

La siguiente figura muestra el espectro $^1\text{H-RMN}$ obtenido de (5) donde se muestran ampliadas las regiones importantes del espectro.

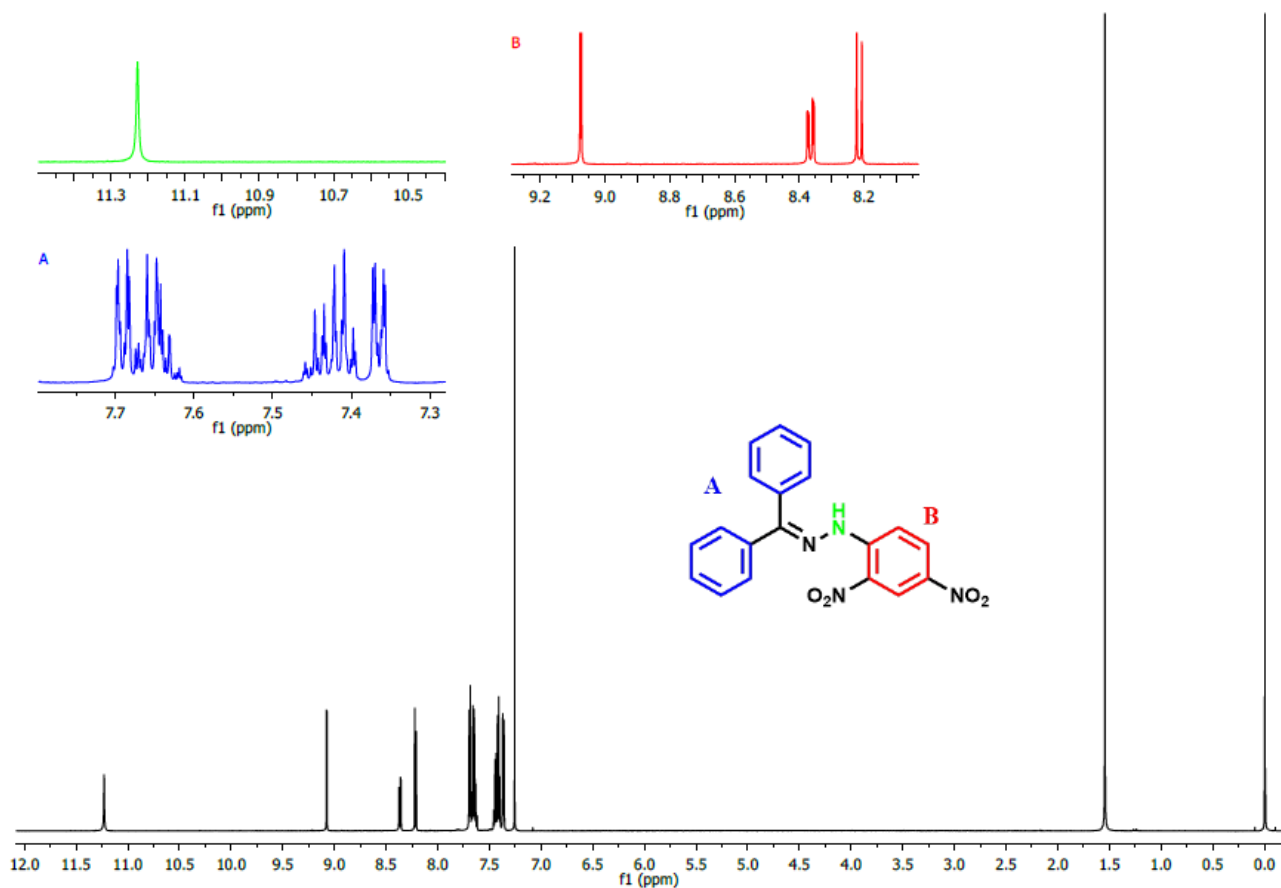


Figura 33. Secciones y espectro $^1\text{H-RMN}$ obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona

Los datos obtenidos del espectro $^1\text{H-RMN}$ (600 MHz, CDCl_3) mostrado en la figura 33 confirman la obtención de **(5)**. El análisis realizado de este espectro, muestra en color verde el pico característico que indica la formación del producto, el cual es correspondiente a la señal del protón del grupo $-\text{NH}$ de la hidrazona, con un desplazamiento químico de δ 11.23 ppm (s, 1H) (singlete, un protón), este dato obtenido se comparó con la bibliografía consultada, mostrando desplazamientos químicos para este protón de $\sim 10.8\text{-}12.3$ ppm.^{24, 37, 38}. En la expansión B se observan los desplazamientos químicos para los tres protones del anillo aromático proveniente de la 2,4-dinitrofenilhidrazina mostrados en color rojo que van desde 8.21 ppm hasta 9.07 ppm y la expansión A, muestra dos multipletes correspondientes a los 10 protones de los anillos aromáticos provenientes de la benzofenona (7.38 – 7.35 ppm) y (7.74 – 7.59 ppm).

Comparando los protones presentes en los 3 anillos aromáticos, se observa que los protones provenientes de la 2,4-dinitrofenilhidrazina (sección B) se encuentran más desplazados a campo bajo con respecto a los protones aromáticos de la benzofenona (sección A), esto se debe a la presencia y efecto sustractor de electrones de los grupos nitro ($-\text{NO}_2$) sobre los protones de ese anillo, causando un efecto de desprotección, desplazando la señal a campo bajo.^{38,39}

A continuación, se muestra el espectro IR (ATR) obtenido de **(5)**, donde se muestran las bandas de absorción características de acuerdo con las vibraciones de los enlaces de la molécula.

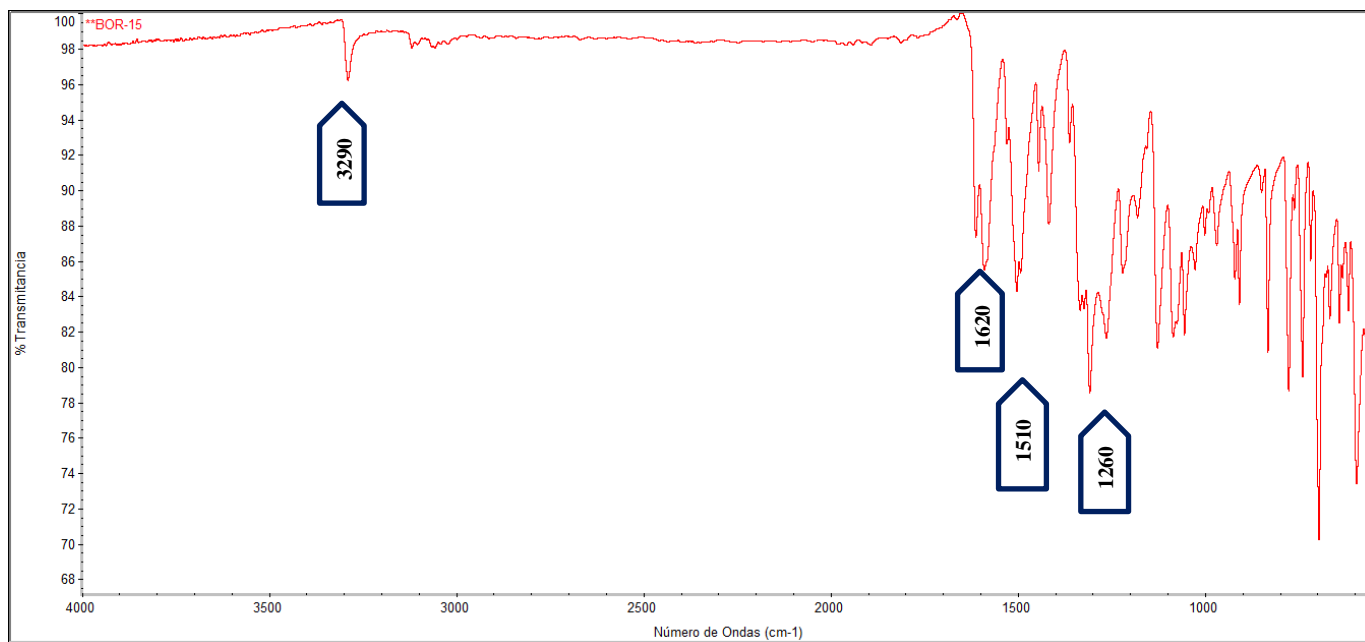
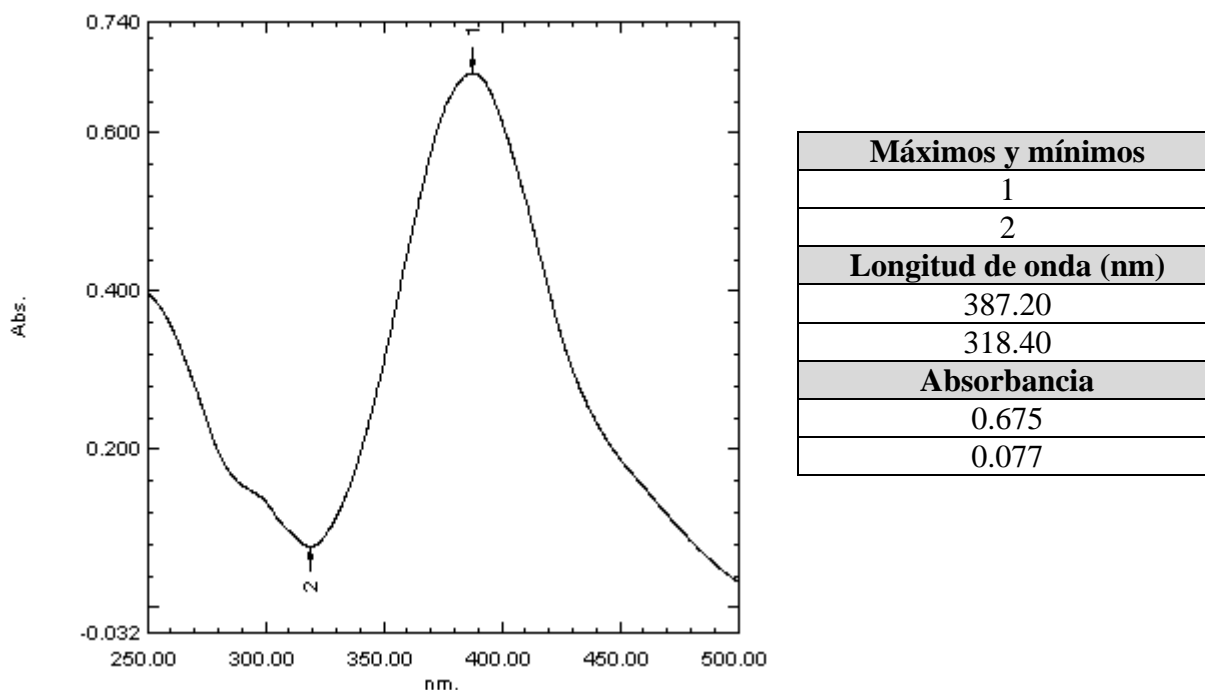


Figura 34. Espectro IR de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona

El espectro IR mostrado en la figura 34 exhibe 4 bandas de absorción importantes, descritas a continuación, ν (cm^{-1}): **3290 ($>\text{N-H}$)**; **1620 (C=N)**; **1510 (N-H)**; **1260 (C-N)**. la primera banda de absorción corresponde a la vibración de estiramiento asimétrico del grupo amino ($>\text{N-H}$)²⁰. La siguiente señal pertenece a la vibración de estiramiento del enlace imino de la hidrazona (C=N)^{20,24,37,38}, mientras que las últimas 2 señales de 1510 y 1260 cm^{-1} corresponden a la vibración de torsión del enlace (N-H) y al estiramiento del enlace (C-N) de una amina aromática.

La siguiente tabla muestra el espectro UV-vis obtenido de **(5)**, los datos de los puntos de absorbancia máximo y mínimos, como también el valor de longitud de onda para cada valor de absorbancia. El espectro fue obtenido mediante la preparación de una disolución de la hidrazona utilizando triclorometano (CHCl_3) como disolvente.

Tabla 4. Espectro ultravioleta visible de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la benzofenona

De acuerdo con el espectro obtenido se pueden observar dos longitudes de onda, una para la máxima absorbancia (0.675) y otra para la mínima absorbancia (0.077), 387.20 y 318.40 nm respectivamente. Estas señales son consecuencia de la presencia de grupos cromóforos en la estructura de la hidrazona, tales como: C=C de los anillos aromáticos, C=N del grupo imino y R-NO₂, los cuales presentan transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

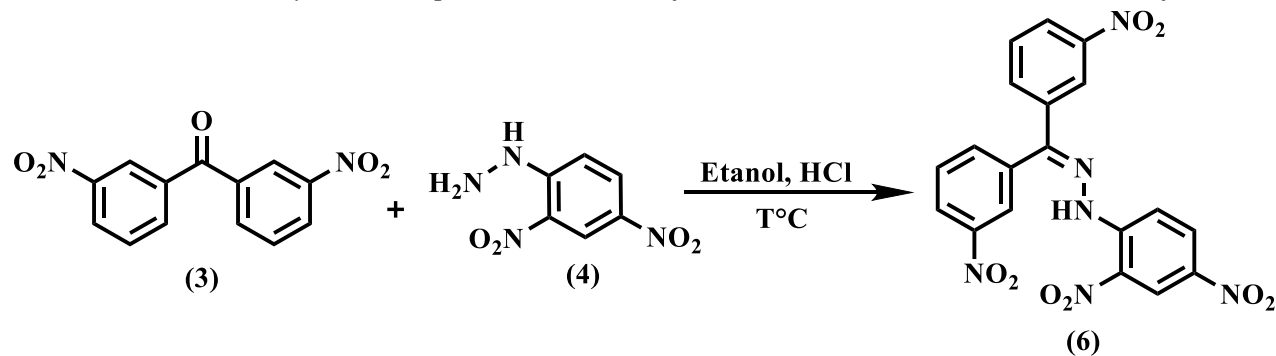
Los datos obtenidos de absorbancia se compararon con los valores reportados por Oparin, et al., 1978, que presentan absorbancias máximas y mínimas de 380 y 318 nm respectivamente para (5).

5.2. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 3,3'-DINITROBENZOFENONA (6)

Para la síntesis de este producto se empleó la metodología expuesta en la sección 4.4.3, donde las condiciones de reacción consultadas en la literatura involucran como primera fase la preparación de una disolución de 2,4-DFH, utilizando etanol como disolvente y ácido clorhídrico como catalizador, como segunda fase de reacción se preparó otra solución de (3) y etanol, la cual se colocó a reflujo para total disolución de la cetona, ambas soluciones se mezclaron y se mantuvieron a reflujo por 1.5 horas.⁸

Previamente a la obtención del producto se realizaron 2 diferentes procedimientos de síntesis en los cuales no se obtuvieron resultados satisfactorios, el siguiente cuadro resume las condiciones de reacción para cada procedimiento y la reacción de síntesis correspondiente.

Tabla 5. Condiciones y reacción para la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona



Reacción	Cetona	Hidrazina	Solvente	Catalizador	Observación
1	3,3'-dinitrobenzofenona (sólida)	2,4-DFH	Etanol	1 mL HCl []	Se formó un sólido color naranja en el seno de la reacción, pero al filtrarlo se formó un sólido amarillo en las aguas madre.
2	3,3'-dinitrobenzofenona (sólida)	2,4-DFH	Etanol	2 mL HCl []	No se observó formación de sólido.
3	3,3'-dinitrobenzofenona (disuelta en etanol)	2,4-DFH	Etanol	1 mL HCl []	Se obtuvo un sólido color amarillo en el seno de la reacción.

En la reacción número 1 se realizó el procedimiento descrito en la sección 4.4.1 que corresponde al procedimiento general de síntesis, como resultado se obtuvo un sólido de color anaranjado en el seno de la reacción, además, se observó que (3) no se disolvió fácilmente, al realizar la filtración al vacío del sólido anaranjado obtenido, se observó que en el kitazato que contenía las aguas madre de la reacción precipitó un sólido color amarillo, generando la duda sobre cuál de ambos sólidos (color anaranjado o color amarillo)

correspondía a la molécula objetivo (2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona) por lo que se procedió a la determinación de los puntos de fusión de ambos sólidos como dato importante en la identificación del producto esperado. Para el sólido color anaranjado se obtuvo un PF de 195 °C, y para el sólido color amarillo se obtuvo un punto de fusión de 262 °C. El sólido anaranjado presentó un PF muy cercano al de la 2,4-DFH (198 °C)³⁶ reportado en la bibliografía, por lo que se llegó a la conclusión que correspondía a 2,4-DFH cristalizada en el seno de la reacción. Para el PF del sólido color amarillo no se encontró bibliografía para contrastar el dato obtenido, pero este se acerca más al dato esperado, ya que (6) por ser una molécula grande se espera un PF alto y cercano al del resto de la familia de hidrazonas sintetizadas.

Teniendo en cuenta lo anterior, se procedió a montar una reacción para la obtención del producto de forma directa, es decir, en el seno de la reacción y no como subproducto de las aguas madres, para ello se montó la reacción número 2 donde se tomó en cuenta que el pH pudo influir en los resultados de la reacción número 1, con esta consideración se decidió aumentar el pH agregando 2 mL de catalizador (HCl), como resultado no se observó formación de ningún sólido en la reacción, el pH fue muy ácido, lo cual provocó que el exceso de hidrazina se protonara y la tasa de la primera etapa fuera lenta¹¹, descartando de esta manera que el pH influyó de manera directa en los resultados de la reacción 1.

Para la reacción número 3 se consideró la poca solubilidad de (3) en el medio de reacción, por lo que preparó una solución de esta cetona en etanol garantizando la solubilidad total de la misma, esta disolución fue añadida lentamente y con agitación constante al medio de reacción y se procedió a calentar a reflujo aumentando el tiempo a 1.5 horas, como resultado se observó la formación de un sólido color amarillo. Se determinó así que la solubilidad de los reactivos es un factor muy importante e influyente en la obtención del producto.

Se obtuvo con un rendimiento del 49.3 % la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona (figura 35), un sólido color amarillo. Se determinó el punto de fusión de la hidrazona sintetizada utilizando un Melt-Temp Thomas Scientific obteniendo un valor de 262 °C, dando indicios de la pureza de la hidrazona. Es importante mencionar que no se encontró un dato bibliográfico con el cual contrastar este valor obtenido. Posteriormente se realizó la caracterización del producto utilizando espectros ¹H-RMN, IR (ATR) y UV-vis.

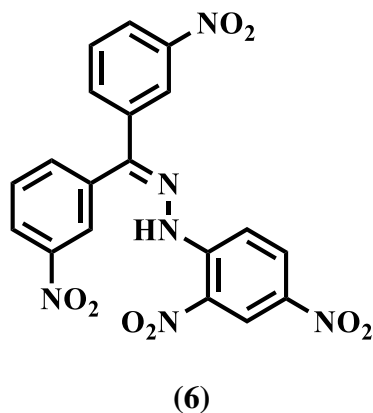


Figura 35. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la caracterización utilizando ^1H -RMN, IR (ATR) y UV-vis:

La siguiente figura muestra el espectro ^1H -RMN obtenido de (6) donde se muestran ampliadas las regiones importantes del espectro.

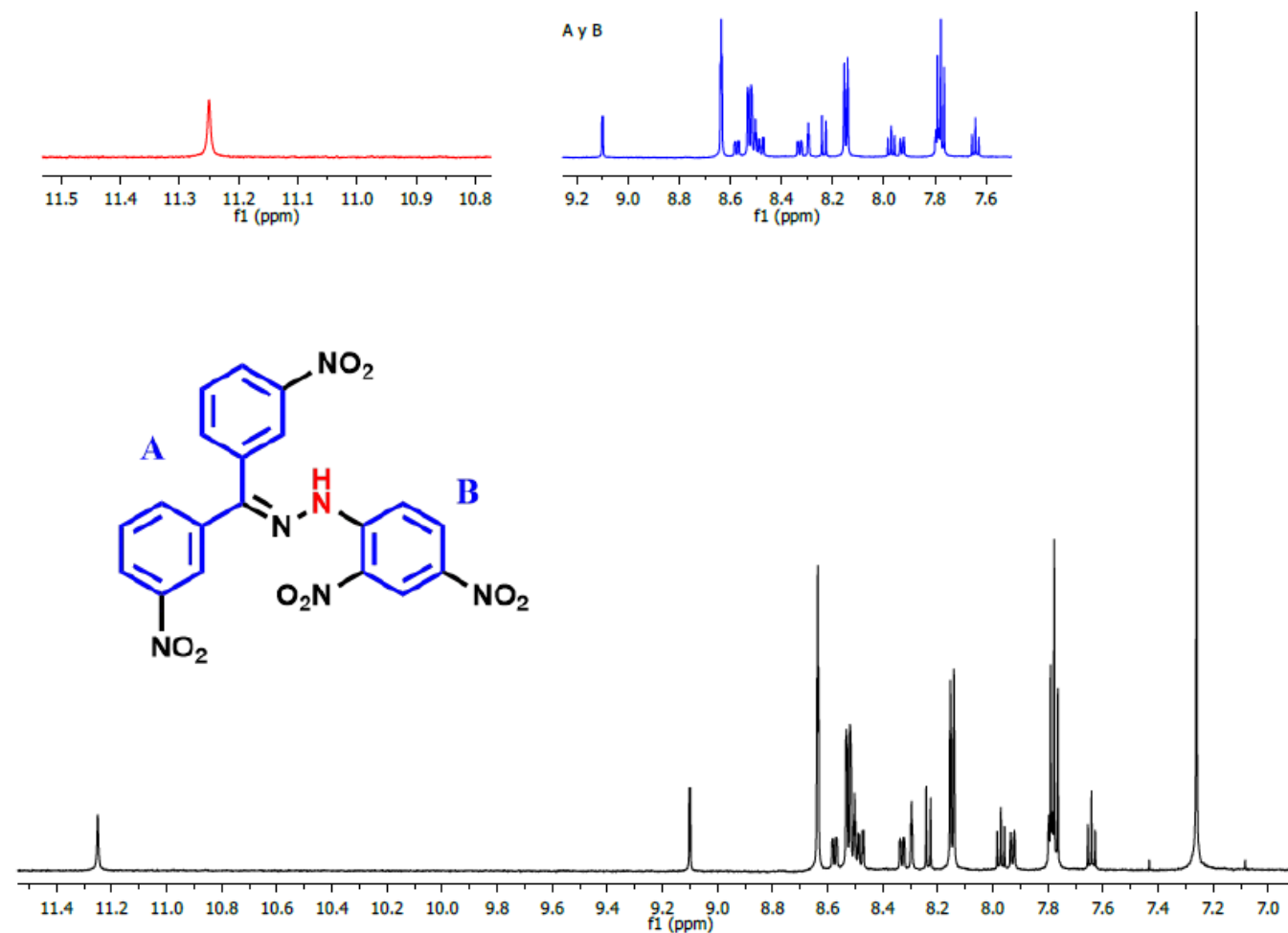


Figura 36. Espectro ^1H -RMN obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona

Los datos obtenidos del espectro ^1H -RMN (600 MHz, CDCl_3) mostrado en la figura 33, confirman la obtención de (6). En el análisis realizado de este espectro, la expansión en color rojo muestra el pico característico que indica la formación del producto, el cual es correspondiente a la señal del protón del grupo -NH (color rojo) presente en la estructura de la hidrazona, con un desplazamiento químico de 11.25 ppm (s, 1H), este dato obtenido se comparó con la bibliografía consultada, mostrando desplazamientos químicos para este protón de ~ 10.8 -12.3 ppm.^{24, 37, 38} Debido a que la hidrazona presenta grupos nitro (-NO₂) en todos los anillos aromáticos, se observan desplazamientos químicos similares en los protones del compuesto tanto para los tres protones del anillo aromático proveniente de la 2,4-dinitrofenilhidrazina, así como los 8 protones de los anillos aromáticos provenientes de la 3,3'-dinitrobenzofenona, los protones de los anillos aromáticos se ven desprotegidos y por

lo tanto desplazados a campo bajo, por el efecto atractor de electrones de los grupos nitro.^{38,39} La señal con desplazamiento químico a 9.10 ppm corresponde al protón del anillo proveniente de la parte de la 2,4-DFH en la molécula de la hidrazona, dicho protón está rodeado por grupos nitro, debido al efecto antes mencionado, se ve más desplazado a campo bajo, el resto de los protones muestran señales que van desde 7.65 ppm hasta 8.7 ppm (secciones A y B).

En la siguiente figura se muestra el espectro IR (ATR) obtenido de (6), donde se muestran las bandas de absorción características de acuerdo con las vibraciones de los enlaces de la molécula.

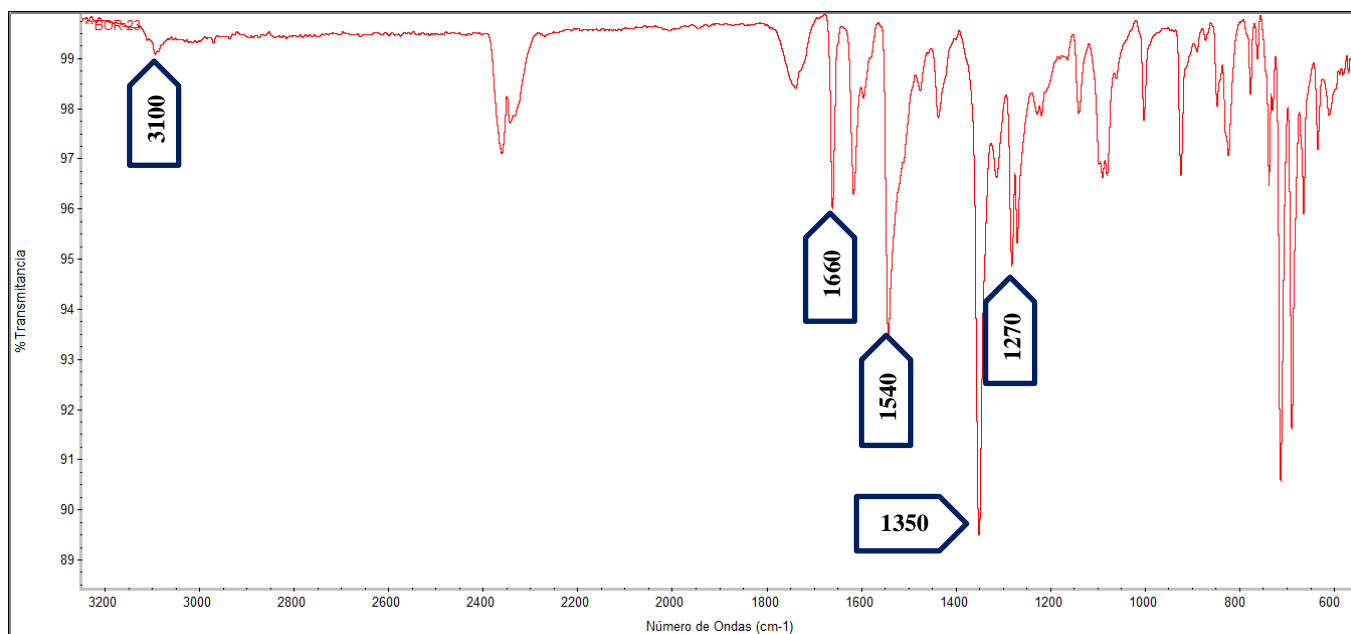
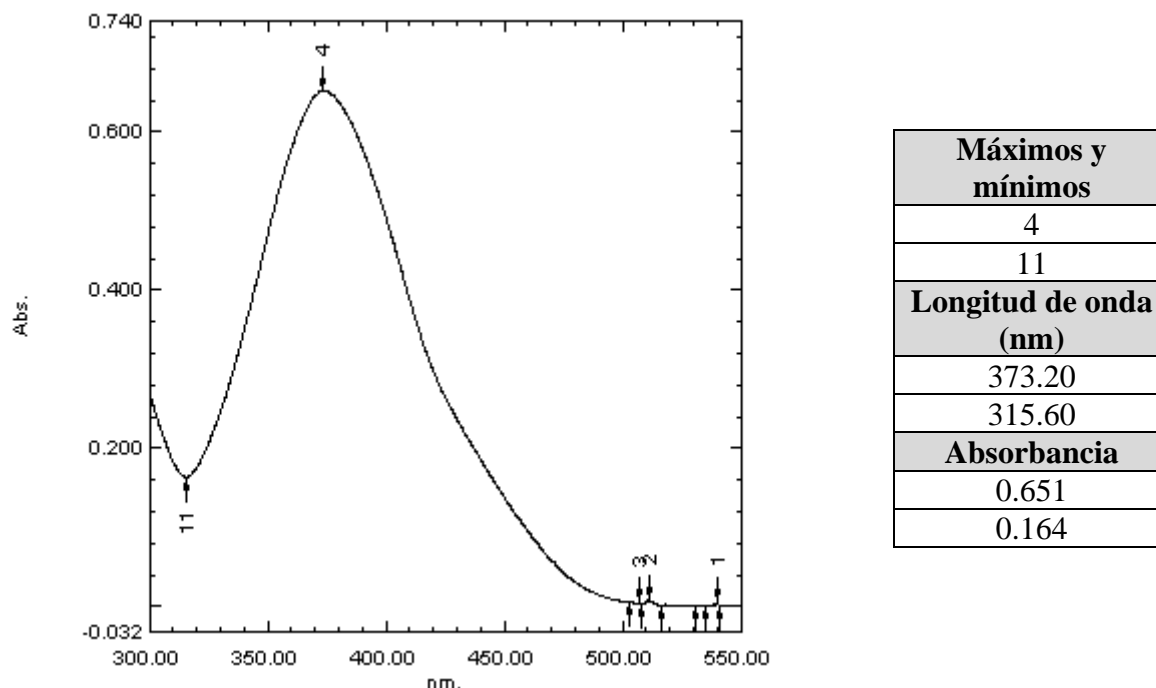


Figura 37. Espectro IR obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona

El espectro IR mostrado en la figura 37 muestra 5 bandas de absorción importantes, descritas a continuación, ν (cm^{-1}): **3100 (>N-H)**; **1660 (C=N)**; **1540, 1350 (NO)**; **1270 (CN)**. la primera banda de absorción corresponde a la vibración de estiramiento asimétrico del grupo amino (>N-H)²⁰. La siguiente señal pertenece a la vibración de estiramiento del enlace imino de la hidrazona (C=N)^{20,24,37,38}, mientras que las 2 señales de 1540 y 1350 cm^{-1} corresponden a la vibración de estiramiento del enlace (N-O) de los grupos nitro y la señal a 1270 cm^{-1} le corresponde al estiramiento del enlace (C-N) de una amina aromática.

La siguiente tabla muestra el espectro UV-vis obtenido de **(6)**, los datos de los puntos de absorbancia máximo y mínimos, como también el valor de longitud de onda para cada valor de absorbancia. El espectro fue obtenido mediante la preparación de una disolución de la hidrazona utilizando triclorometano (CHCl_3) como disolvente.

Tabla 6. Espectro ultravioleta visible de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-dinitrobenzofenona



De acuerdo con el espectro obtenido se pueden observar dos longitudes de onda, una para la máxima absorbancia (0.651) y otra para la mínima absorbancia (0.164), 373.20 y 315.60 nm respectivamente. Estas señales son consecuencia de la presencia de grupos cromóforos en la estructura de la hidrazona, tales como: $\text{C}=\text{C}$ de los anillos aromáticos, $\text{C}=\text{N}$ del grupo imino y $\text{R}-\text{NO}_2$, los cuales presentan transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

5.3. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA FLUORENONA (8)

La obtención de este producto involucró la metodología expuesta en la sección 4.4.4 donde las condiciones de reacción consultadas en la literatura indican como primera parte la preparación de una solución de **(4)**, utilizando etanol como disolvente y ácido clorhídrico como catalizador, como segunda fase se agregó **(7)** en disolución ocupando etanol como

disolvente, ambas disoluciones se mezclaron, el sistema se colocó a reflujo en agitación hasta ebullición.⁸

Se obtuvo con un rendimiento del 58 % la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona (figura 38) un sólido color anaranjado claro. Se determinó el punto de fusión de la hidrazona sintetizada utilizando un Melt-Temp Thomas Scientific, obteniendo un valor de 282 °C, el cual fue contrastado con la bibliografía en la cual se reporta un valor de 283 °C³⁶. Este valor da indicios de la obtención del producto esperado, además de la pureza de este, posteriormente se realizó la caracterización del producto utilizando espectros ¹H-RMN, IR y UV-vis.

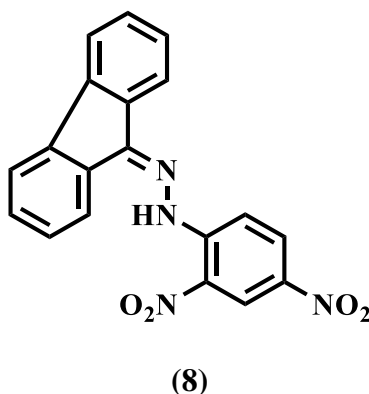


Figura 38. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la caracterización utilizando ¹H-RMN, IR (ATR) y UV-vis.

La figura 39 muestra el espectro ¹H-RMN obtenido de (8) donde se muestran ampliadas las regiones importantes del espectro.

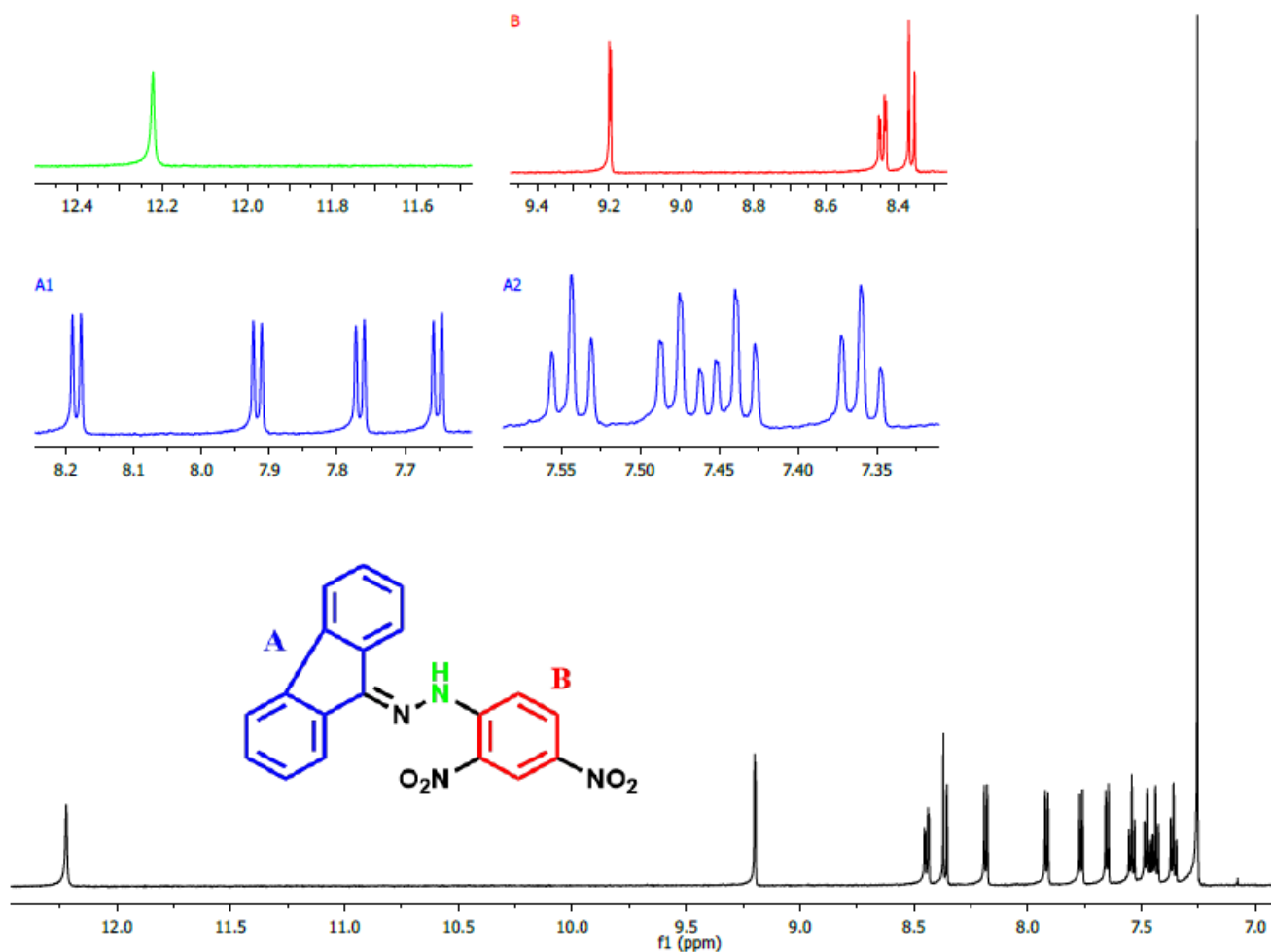


Figura 39. Secciones y espectro $^1\text{H-RMN}$ obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona

Los datos obtenidos del espectro $^1\text{H-RMN}$ (600 MHz, CDCl_3) mostrado en la figura anterior, confirman la obtención de **(8)**, tal como se detalla a continuación:

El análisis realizado de este espectro muestra una señal característica que indica la formación del producto, la cual es correspondiente al protón del grupo $-\text{NH}$ (marcado en color verde) presente en la hidrazona, con un desplazamiento químico de 12.22 ppm (s, 1H), este dato obtenido se comparó con la bibliografía consultada, mostrando desplazamientos químicos para este protón de $\sim 10.8\text{-}12.3$ ppm.^{24, 37, 38} De igual manera se presentan los 3 protones del anillo aromático proveniente de la 2,4-dinitrofenilhidrazina (sección B), representados por 3 señales las cuales se encuentran a 8.36, 8.44 y 9.20 ppm, desplazados a campo bajo por el efecto que ejerce los grupos nitro ($-\text{NO}_2$) de anillo aromático, siendo el

protón ubicado en posición *meta* con respecto al grupo imino (en medio de los grupos nitro) el más afectado y desplazado a campo bajo 9.20 ppm. Así mismo, se observan los protones aromáticos proveniente de la parte de la fluorenona (color azul), ambos anillos aromáticos están conectados por un anillo de 5 carbonos, lo cual afecta en el desplazamiento de las señales, en la expansión A1 se observan 4 dobletes que van desde 7.65 ppm hasta 8.18 ppm los cuales poseen la misma constante de acoplamiento (7.5 Hz) indicando la relación entre ellos, estas señales corresponden a 4 protones en posición *orto* con respecto al anillo de 5 carbonos, de igual manera en la expansión A2 se observan 2 triplete y un doblete de triplete correspondiente a los protones en posiciones *meta* con respecto al anillo de 5 carbonos.

La siguiente figura muestra el espectro IR (ATR) obtenido de **(8)**, donde se muestran las bandas de absorción características de acuerdo con las vibraciones de los enlaces de la molécula.

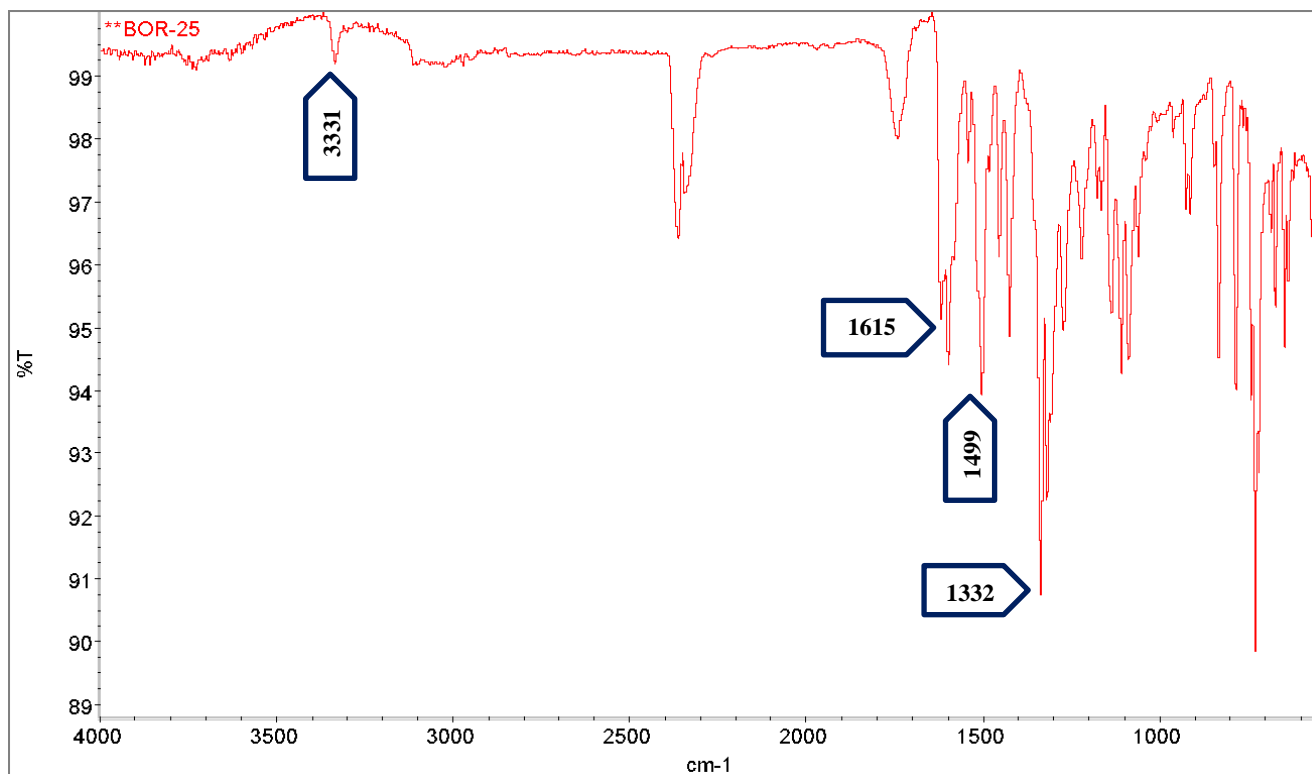
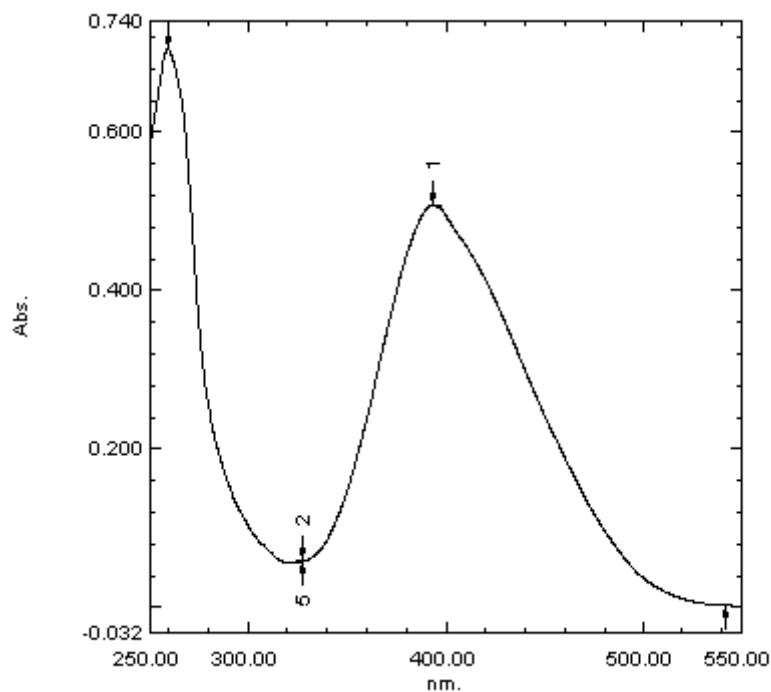


Figura 40. Espectro IR obtenido de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona

En el análisis del espectro IR de (**8**) se muestran 4 bandas de absorción importantes, señaladas a continuación: ν (cm^{-1}): **3331** ($>\text{NH}$); **1615** ($\text{C}=\text{N}$); **1499** (NH); **1332** (CN). La primera banda de absorción corresponde a la vibración de estiramiento asimétrico del grupo amino ($>\text{N-H}$)²⁰. La siguiente señal es la más importante debido a que pertenece a la vibración de estiramiento del enlace imino de la hidrazona ($\text{C}=\text{N}$)^{20,24,37,38}, enlace indicativo de la formación del producto esperado, mientras que las últimas 2 señales 1499 y 1332 cm^{-1} corresponden a la vibración de torsión del enlace (N-H) y al estiramiento del enlace (C-N) respectivamente.

La siguiente tabla muestra el espectro UV-vis obtenido de (**8**), los datos de los puntos de absorbancia máximo y mínimos, como también el valor de longitud de onda para cada valor de absorbancia. El espectro fue obtenido mediante la preparación de una disolución de la hidrazona utilizando triclorometano (CHCl_3) como disolvente.

Tabla 7. Espectro ultravioleta visible de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la fluorenona



Máximos y mínimos
1
5
Longitud de onda (nm)
393.40
327.60
Absorbancia
0.507
0.058

De acuerdo con el espectro obtenido se pueden observar dos longitudes de onda, una para la máxima absorbancia (0.651) y otra para la mínima absorbancia (0.164), 373.20 y 315.60 nm respectivamente. Estas señales son consecuencia de la presencia de grupos cromóforos

en la estructura de la hidrazona, tales como: C=C de los anillos aromáticos, C=N del grupo imino y R-NO₂, los cuales presentan transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

5.4. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 4,4'-DIMETOXIBENZOFENONA (10)

Para la síntesis de esta hidrazona se empleó la metodología expuesta en la sección 4.4.5, donde las condiciones de reacción consultadas en la literatura involucra como primera fase de reacción la preparación de una disolución de (9) ocupando etanol como disolvente, como segunda fase de reacción se preparó una disolución de 2,4-DFH, utilizando etanol como disolvente y ácido clorhídrico como catalizador, ambas disoluciones se mezclaron, el sistema se colocó a reflujo en agitación y calentamiento hasta ebullición por 15 minutos.⁸

Se obtuvo con rendimiento de 35 % la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona (figura 41) un sólido color anaranjado claro. Se determinó el punto de fusión de la hidrazona sintetizada utilizando un Melt-Temp Thomas Scientific, obteniendo un rango de temperaturas de 165-167 °C. Es importante mencionar que no se encontró un dato bibliográfico con el cual contrastar este valor obtenido.

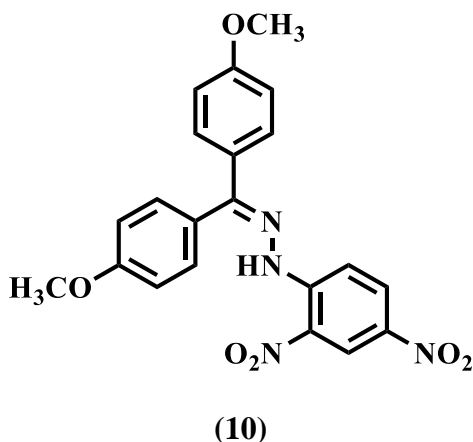


Figura 41. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona

Obtenido el compuesto se procedió a realizar la caracterización de este, utilizando ¹H-RMN, IR (ATR) y UV-vis, a continuación, se muestra por separado la discusión de los resultados obtenidos para cada análisis espectroscópico.

La figura 42 muestra el espectro ^1H -RMN obtenido de (**10**) donde se muestran ampliadas las regiones importantes del espectro.

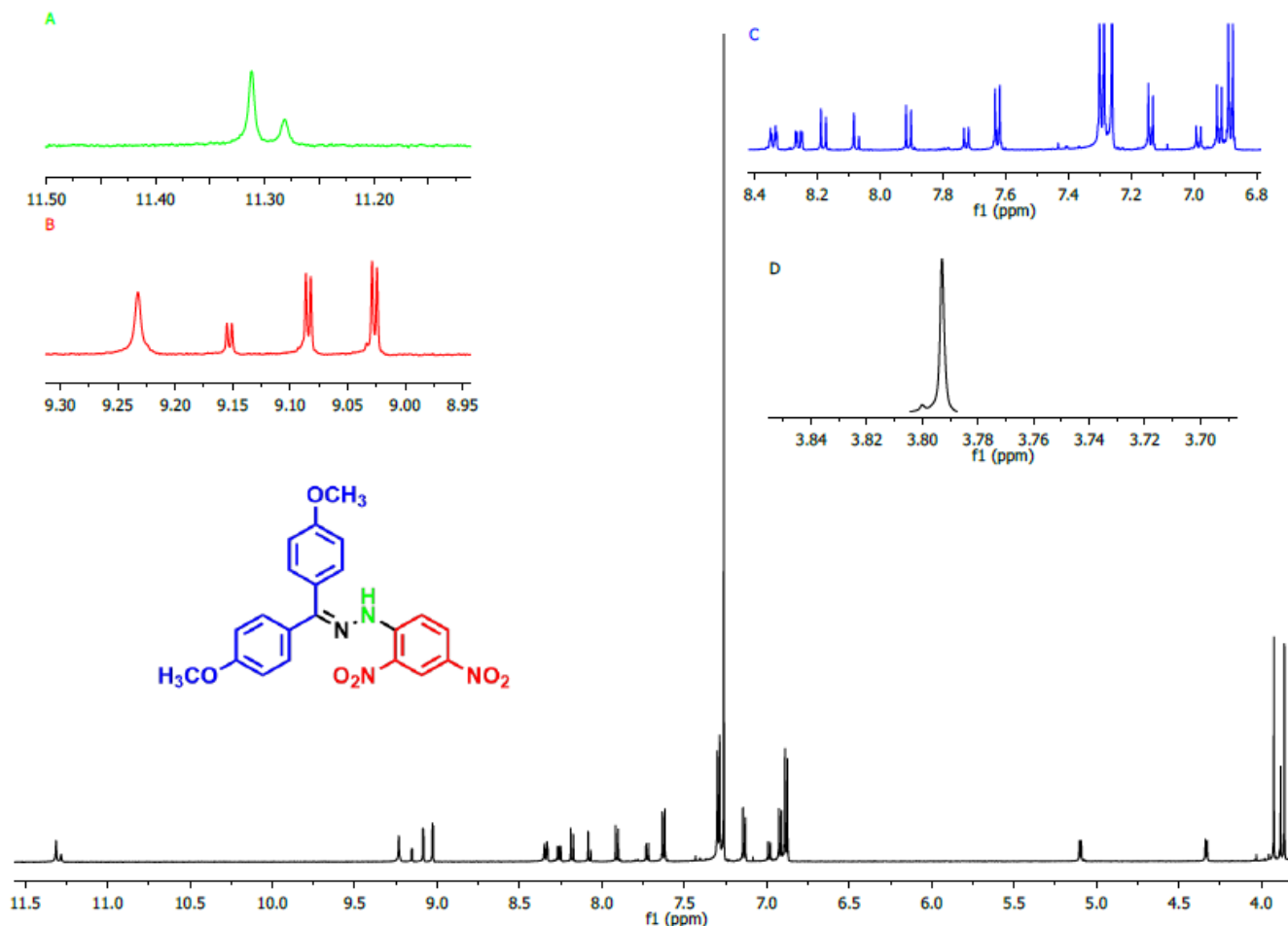


Figura 42. Espectro ^1H -RMN de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona

Los datos obtenidos del espectro ^1H -RMN (600 MHz, CDCl_3) mostrado en la figura anterior, confirman la obtención de (**10**); sin embargo, se observan muchas señales que no corresponden a ningún protón dentro de la estructura de la hidrazona, estos podrían estar relacionados a impurezas de reactivos, degradación de la muestra o mal manejo de esta. En este punto es importante señalar que la limitación de disolventes dificultó la purificación adecuada de los productos.

El análisis realizado de este espectro muestra una señal característica que indica la formación del producto, la cual es correspondiente al protón del grupo $-\text{NH}$ (sección A)

presente en la hidrazona, con un desplazamiento químico de 11.31 ppm (s, 1H), este dato obtenido se contrastó con la literatura consultada, la cual muestra desplazamientos químicos para este protón en el rango de ~ 10.8-12.3 ppm.^{24, 37, 38} De igual manera en la expansión B se presentan los 3 protones del anillo aromático proveniente de la 2,4-dinitrofenilhidrazina (color rojo), desplazadas a campo bajo por el efecto que ejerce los grupos nitro (-NO₂) del anillo aromático, y un singlete a 9.23 ppm³⁹, relacionado al protón Ph-NH de la 2,4-dinitrofenilhidrazina, presente como impureza en el producto.

Asimismo, en la expansión C, se observan las señales (dobletes) de los protones aromáticos provenientes de la parte de la 4,4'-dimetoxibenzofenona (color azul), los cuales poseen entornos químicos diferentes debido a los sustituyentes metoxi (-OCH₃) presentes en ambos anillos aromáticos. Este grupo también desplaza las señales a campo bajo por el efecto atractor de electrones, además se observan señales correspondientes a impurezas en el producto (reactivos), de igual manera se observa un singulete (expansión D) a un desplazamiento químico de 3.79 ppm que integra para 6 protones los cuales provienen de los grupos metoxi de los anillos aromáticos.

La siguiente figura muestra el espectro IR (ATR) obtenido de (**10**), donde se muestran las bandas de absorción características de acuerdo con las vibraciones de los enlaces de la molécula.

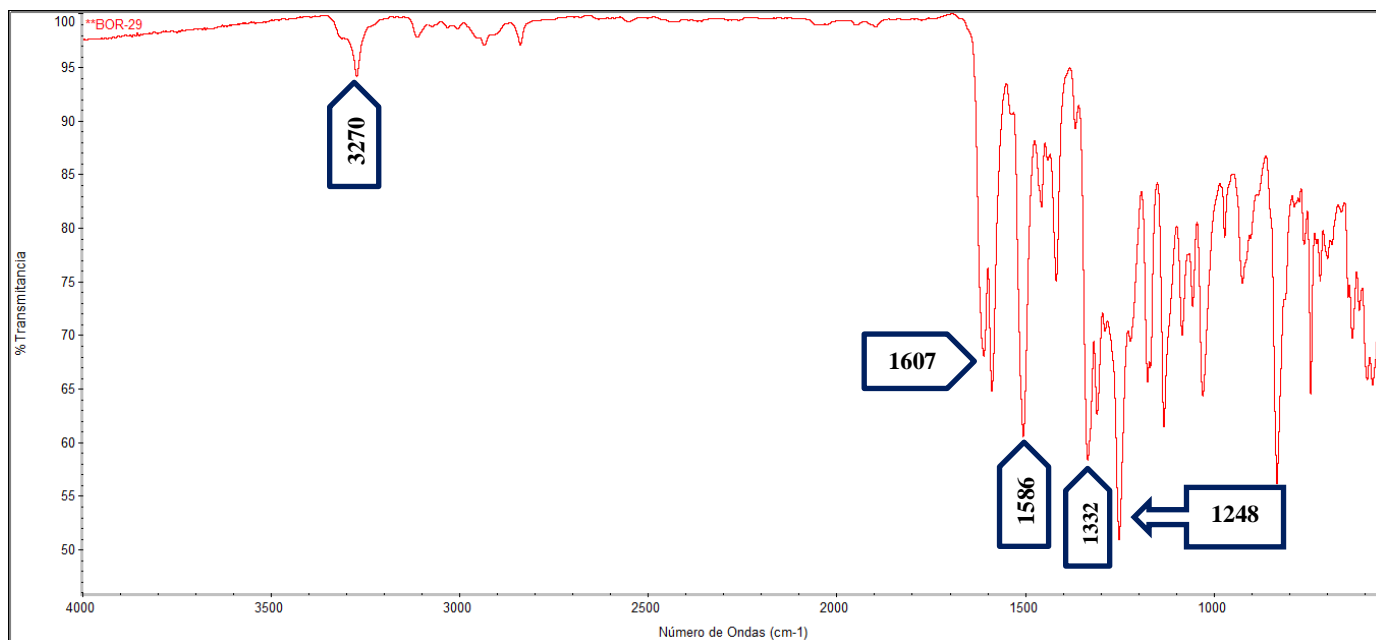
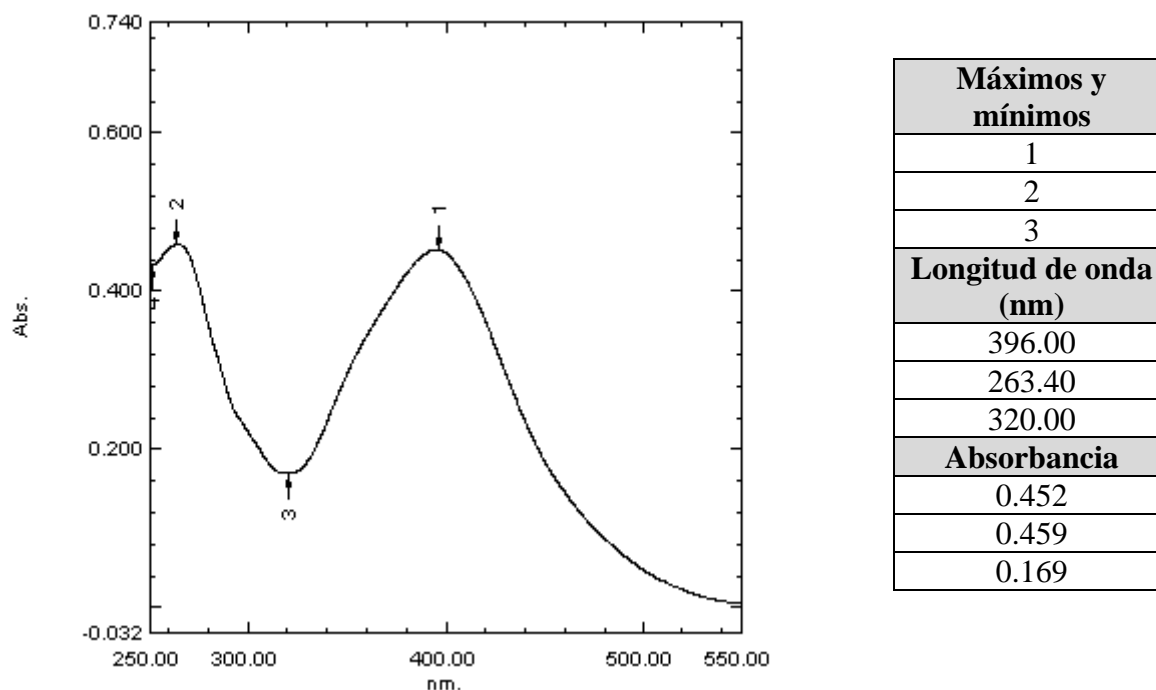


Figura 43. Espectro IR de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona

En el análisis del espectro IR de la hidrazona se muestran 5 bandas de absorción importantes, señaladas a continuación: ν (cm⁻¹): **3270 (>N-H)**; **1607 (C=N)**; **1586 (N-H)**; **1332 (CN)**; **1248 (C-O)**. La primera banda de absorción corresponde a la vibración de estiramiento asimétrico en el enlace N-H del grupo amino (>N-H)²⁰. La siguiente señal es la más importante debido a que pertenece a la vibración de estiramiento del enlace imino de la hidrazona (C=N)^{20,24,37,38}, enlace indicativo de la formación del producto esperado, mientras que las señales de 1586 y 1332 cm⁻¹ corresponden a la vibración de torsión del enlace (N-H) y al estiramiento del enlace (C-N) respectivamente. También se muestra la señal del estiramiento del enlace C-O de un éter aril alquílico a 1248 cm⁻¹.

La siguiente tabla muestra el espectro UV-vis obtenido de **(10)**, los datos de los puntos de absorbancia máximo y mínimos, como también el valor de longitud de onda para cada valor de absorbancia. El espectro fue obtenido mediante la preparación de una disolución de la hidrazona utilizando triclorometano (CHCl₃) como disolvente.

Tabla 8. Espectro UV de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-dimetoxibenzofenona

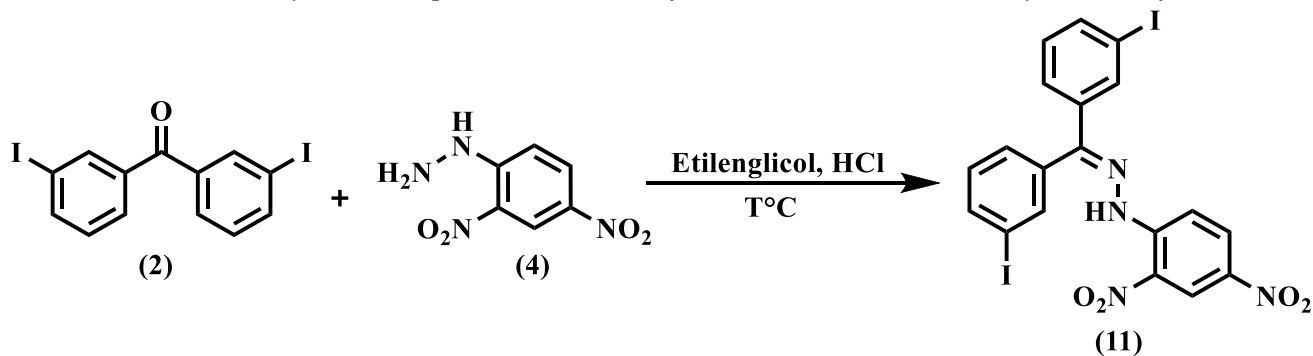
En el espectro obtenido, se pueden observar dos picos de máxima absorbancia para este compuesto, a 396 y 263.4 nm, este último es el que posee la mayor absorbancia, también se observa la señal de la mínima absorbancia (0.169) a una $\lambda = 320$ nm. Estas señales son consecuencia de la presencia de grupos cromóforos en la estructura de la hidrazona, tales como: C=C de los anillos aromáticos, C=N del grupo imino y R-NO₂, los cuales presentan transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

5.5. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 3,3'-DIYODOBENZOFENONA (11)

Para la síntesis de este producto se empleó la metodología expuesta en la sección 4.4.6, donde las condiciones de reacción consultadas en la literatura involucran como primera parte la preparación de una disolución de (4), utilizando etilenglicol como disolvente y ácido clorhídrico como catalizador, como segunda parte se agregó (2) y ácido clorhídrico concentrado como catalizador, se colocó a reflujo hasta total disolución de la cetona y se dejó enfriar la mezcla.

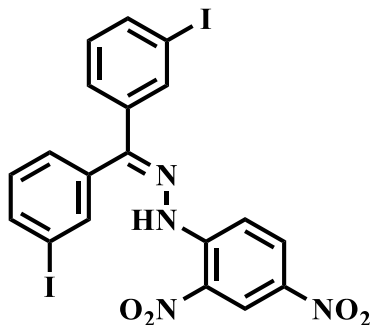
Primeramente, se realizó la reacción utilizando etanol como disolvente, pero se observó que la (2) fue insoluble en etanol, por lo tanto, la reacción no dio la formación de la hidrazona correspondiente, la solubilidad fue favorecida al utilizar etilenglicol, a continuación, se muestra una tabla resumen de las reacciones realizadas.

Tabla 9. Condiciones y reacción para la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona



Reacción	Cetona	Hidrazina	Solvente	Catalizador	Observación
1	3,3'- diyodobenzofenona (sólida)	2,4-DNFH	Etanol	1 mL HCl []	No se observó la formación del producto, la cetona no se disolvió en el medio de la reacción.
2	3,3'- diyodobenzofenona (sólida)	2,4-DNFH	Etilenglicol	1 mL HCl []	Se observó la total solubilidad de la cetona y se observó la formación de un sólido amarillo naranja.

Se obtuvo con un rendimiento de 29.38 % la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona (figura 44) un sólido color anaranjado, en este sólido se observaron unas partículas color café, por lo que se procedió a recristalizar la hidrazona utilizando acetona con el fin de purificar el producto. Se obtuvo un producto naranja oscuro, se tomó el punto de fusión de la hidrazona recristalizada, utilizando un Melt-Temp Thomas Scientific, obteniendo un valor de 276-278 °C. Es importante mencionar que no se encontró un dato bibliográfico con el cual contrastar este valor obtenido. Posteriormente se realizó la caracterización utilizando los espectros ¹H-RMN, IR (ATR) y UV-vis.



(11)

Figura 44. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona

Con el fin de dar cumplimiento a los objetivos planteados, la formación del producto se verificó mediante el análisis espectroscópico utilizando ^1H -RMN, IR (ATR) y UV-vis, a continuación, se muestra por separado la discusión de los resultados obtenidos.

Espectro ^1H -RMN obtenido de (11) donde se muestran ampliadas las regiones importantes del espectro.

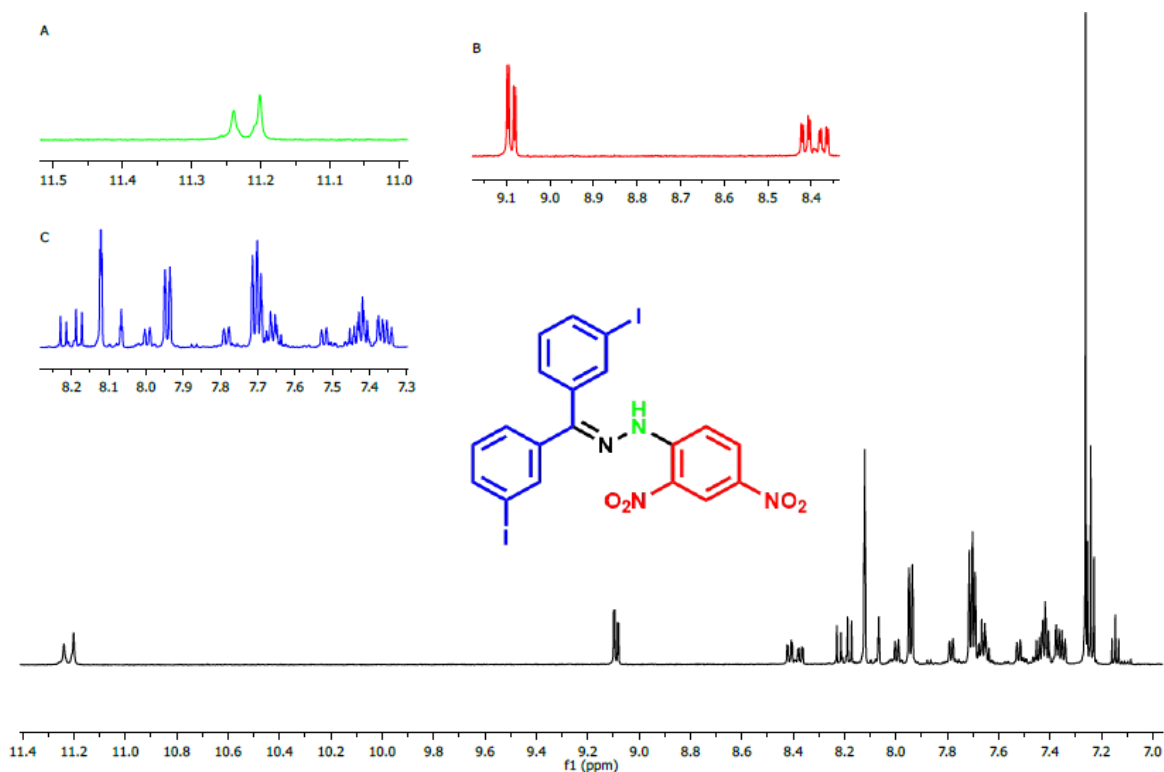


Figura 45. Espectro ^1H -RMN de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona

Los datos obtenidos del espectro $^1\text{H-RMN}$ (600 MHz, CDCl_3) mostrado en la figura 45, muestran la obtención de (**11**); sin embargo, se observan muchas señales que no corresponden ningún protón dentro de la estructura de la hidrazona, estos podrían estar relacionados a impurezas de reactivos, degradación de la muestra o mal manejo de esta. Cabe mencionar que la limitación de disolventes dificultó la purificación adecuada de los productos.

El análisis realizado de este espectro muestra una señal característica que indica la formación del producto, la cual es correspondiente al protón del grupo $-\text{NH}$ (sección A) presente en la hidrazona, un singlete con un desplazamiento químico de 11.20 ppm, este dato obtenido se contrastó con la literatura consultada, en la cual muestran desplazamientos químicos para este protón en el rango de $\sim 10.8\text{-}12.3$ ppm.^{24, 37, 38} De igual manera se presentan los 3 protones del anillo aromático proveniente de la 2,4-dinitrofenilhidrazina (color rojo), representados por las señales de la expansión B, desplazadas a campo bajo por el efecto que ejerce los grupos nitro ($-\text{NO}_2$) de anillo aromático, con desplazamientos químicos que van aproximadamente en el rango de 8.37-9.09 ppm.

Asimismo, en la expansión C, se observan las señales de los protones aromáticos proveniente de la parte de la 3,3'-diyodobenzofenona, los cuales poseen entornos químicos diferentes debido a los sustituyentes *-yodo* presentes en ambos anillos aromáticos, además se observan numerosas señales que no corresponde a la hidrazona objetivo, pudiendo ser impurezas de los reactivos o una posible descomposición con el tiempo de la hidrazona

La siguiente figura muestra el espectro IR (ATR) obtenido de (**11**), donde se muestran las bandas de absorción características de acuerdo con las vibraciones de los enlaces de la molécula.

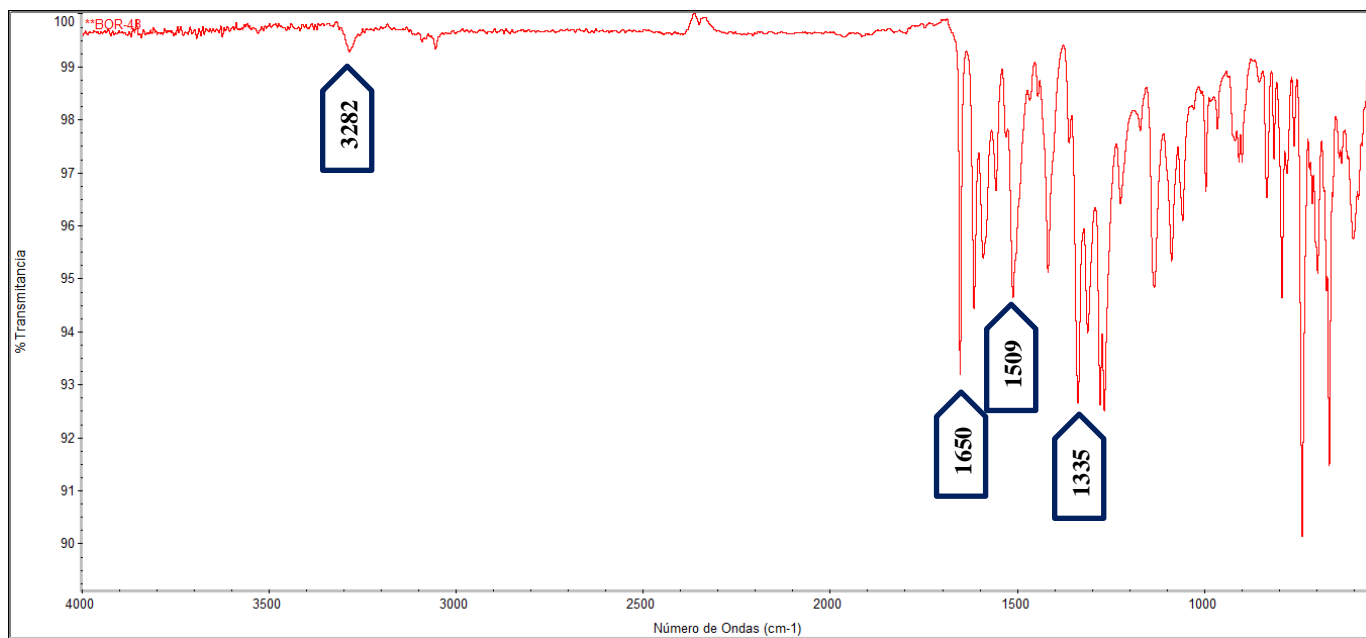
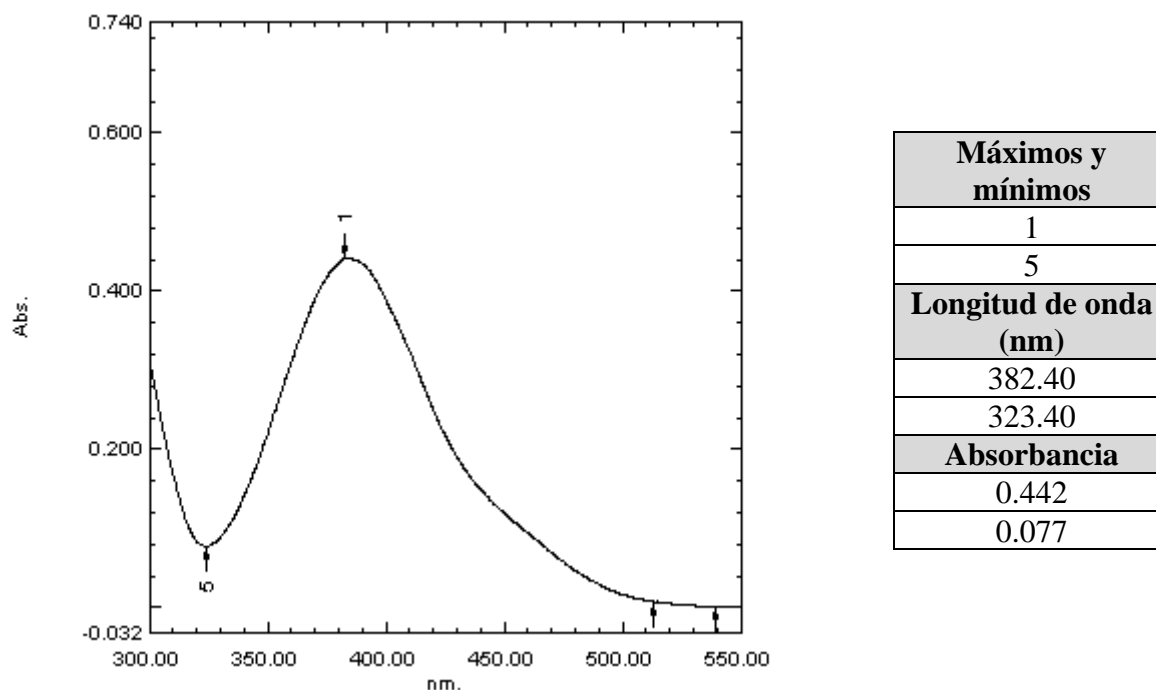


Figura 46. Espectro IR de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona

En el análisis del espectro IR de la hidrazona se muestran 4 bandas de absorción importantes, señaladas a continuación: ν (cm⁻¹): **3281.89 (>N-H)**; **1650.18 (C=N)**; **1509.05 (N-H)**; **1335.55 (C-N)**. La primera banda de absorción corresponde a la vibración de estiramiento asimétrico en el enlace N-H del grupo amino (>N-H)²⁰. La siguiente señal es la más importante debido a que pertenece a la vibración de estiramiento del enlace imino de la hidrazona (C=N)^{20,24,37,38}, enlace indicativo de la formación del producto esperado, mientras que las 2 señales de 1509.05 y 1335.55 cm⁻¹ corresponden a la vibración de torsión del enlace (N-H) y al estiramiento del enlace (C-N) respectivamente.

La siguiente tabla muestra el espectro UV-vis obtenido de (**11**), los datos de los puntos de absorbancia máximo y mínimos, como también el valor de longitud de onda para cada valor de absorbancia. El espectro fue obtenido mediante la preparación de una disolución de la hidrazona utilizando triclorometano (CHCl₃) como disolvente.

Tabla 10. Espectro UV de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 3,3'-diyodobenzofenona

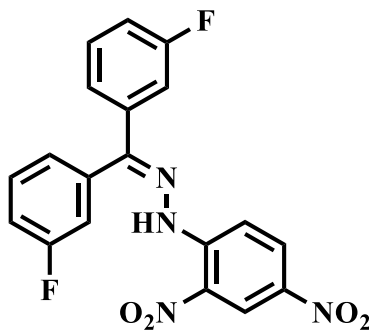
En el espectro obtenido, se puede observar un pico de máxima absorbancia para este compuesto, a 382.40 nm, este último posee la absorbancia de 0.442, también se observa la señal de la mínima absorbancia (0.077) a una $\lambda = 323.40$ nm. Estas señales son consecuencia de la presencia de grupos cromóforos en la estructura de la hidrazona, tales como: C=C de los anillos aromáticos, C=N del grupo imino y R-NO₂, los cuales presentan transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

5.6. 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA 4,4'-DIFLUOROBENZOFENONA (13)

Para la síntesis de este producto se empleó la metodología expuesta en la sección 4.4.7, donde las condiciones de reacción consultadas en la literatura involucran como primera fase, la preparación de una disolución de (**4**), utilizando dimetilformamida (DMF) como disolvente, como segunda fase se agregó (**12**) y ácido clorhídrico concentrado como catalizador, se colocó a reflujo y agitación para total disolución de la cetona, por 30 minutos.⁴¹

Se obtuvo con un rendimiento del 38% la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona (figura 47) un sólido color rojo. Se determinó el punto de fusión de la

hidrazona sintetizada utilizando un Melt-Temp Thomas Scientific, obteniendo un rango de temperaturas de 290-293 °C. Es importante mencionar que no se encontró un dato bibliográfico con el cual contrastar este valor obtenido. Posteriormente se realizó la caracterización utilizando los espectros IR (ATR) y UV-vis.



(13)

Figura 47. 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona

Con el fin de dar cumplimiento a los objetivos planteados, la formación del producto se verificó mediante el análisis espectroscópico utilizando IR (ATR) y UV-vis. Para esta análisis, no se cuenta con el espectro de ^1H RMN, por lo que se obviaré su discusión.

A continuación, se muestra por separado la discusión de los resultados obtenidos. La figura 48 muestra el espectro IR (ATR) obtenido de (13), donde se muestran las bandas de absorción características de acuerdo con las vibraciones de los enlaces de la molécula.

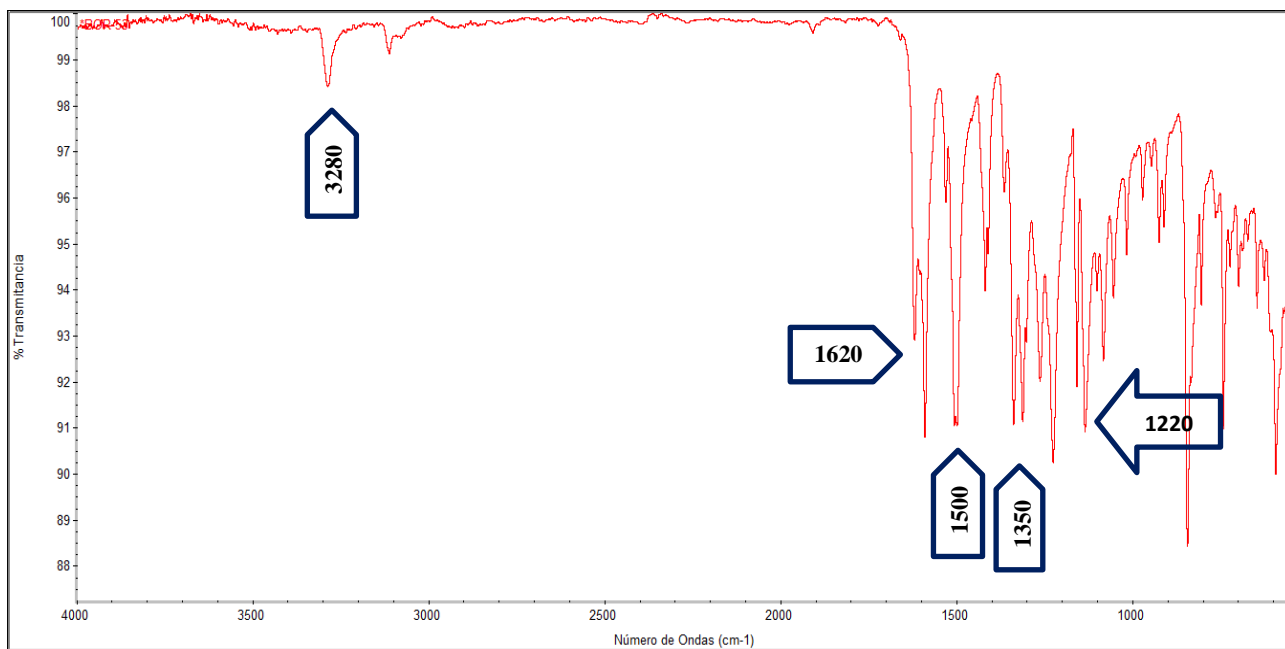
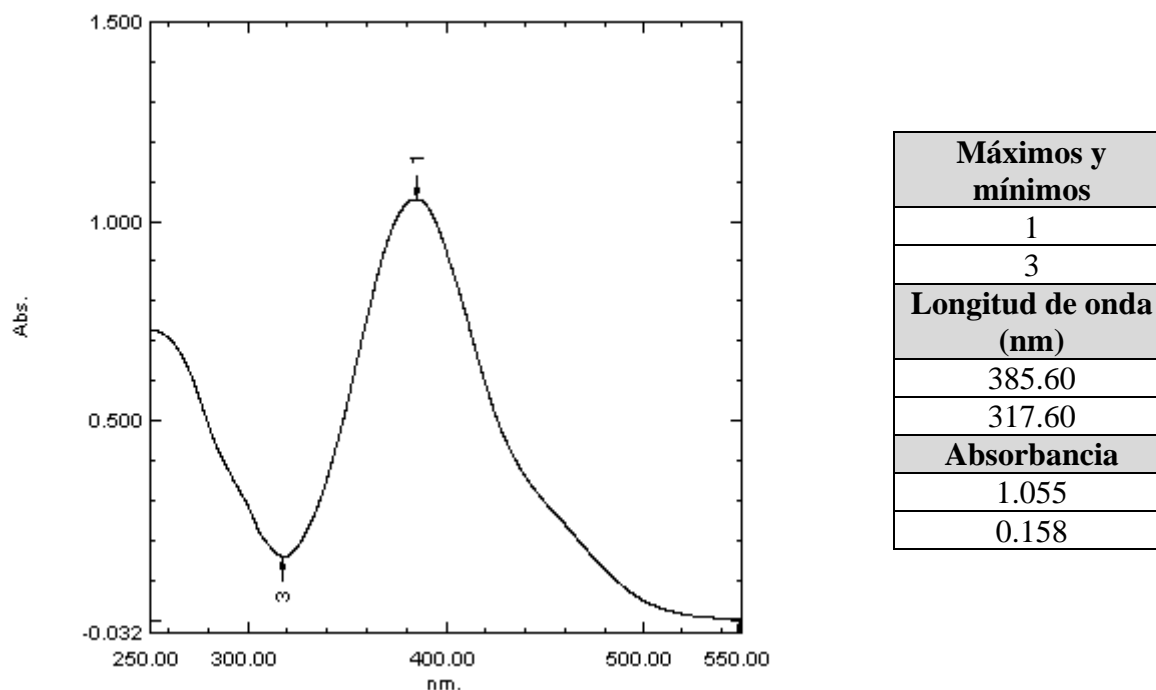


Figura 48. Espectro IR de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona

En el análisis del espectro IR de la hidrazona se muestran 5 bandas de absorción importantes, señaladas a continuación: ν (cm^{-1}): **3280** (>N-H); **1620** (C=N); **1500** (N-H); **1350** (C-N); **1220** (C-F). La primera banda de absorción corresponde a la vibración de estiramiento asimétrico en el enlace N-H del grupo amino (>N-H)²⁰. La siguiente señal es la más importante debido a que pertenece a la vibración de estiramiento del enlace imino de la hidrazona (C=N)^{20,24,37,38}, enlace indicativo de la formación del producto esperado, mientras que las señales de 1500 y 1350 cm^{-1} corresponden a la vibración de torsión del enlace (N-H) y al estiramiento del enlace (C-N) respectivamente, además se muestra la señal de estiramiento del enlace (C-F) a 1220 cm^{-1} .

La siguiente tabla muestra el espectro UV-vis obtenido de (**13**), los datos de los puntos de absorbancia máximo y mínimos, como también el valor de longitud de onda para cada valor de absorbancia. El espectro fue obtenido mediante la preparación de una disolución de la hidrazona utilizando triclorometano (CHCl_3) como disolvente.

Tabla 11. Espectro UV de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la 4,4'-difluorobenzofenona

En el espectro obtenido, se puede observar un pico de máxima absorbancia para este compuesto, a 385.60 nm, este último posee la absorbancia de 1.055. También se observa la señal de la mínima absorbancia (0.158) a una $\lambda = 317.60$ nm. Estas señales son consecuencia de la presencia de grupos cromóforos en la estructura de la hidrazona, tales como: C=C de los anillos aromáticos, C=N del grupo imino y R-NO₂, los cuales presentan transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

5.7. REACCIONES DE SÍNTESIS PARA 2,4-DINITROFENILHIDRAZONA DE LA XANTONA

Dentro de las síntesis planteadas para la investigación se propuso la síntesis de la 2,4-dinitrofenilhidrazona de la xantona (figura 31), para la cual se realizaron varias reacciones utilizando condiciones diferentes, sin obtener un resultado favorable para la obtención de la hidrazona.

Se realizaron 4 reacciones de síntesis con el fin de lograr la obtención de esta hidrazona, las reacciones involucraron condiciones expuestas en la literatura consultada donde, primeramente se preparó una disolución de (4), utilizando etanol como disolvente y ácido

clorhídrico como catalizador, como segunda fase de reacción se agregó la xantona en disolución ocupando etanol como disolvente, ambas disoluciones se mezclaron, el sistema se colocó a reflujo en agitación hasta ebullición.⁸ La reacción se repitió ocupando etilenglicol y DMF.

A continuación, se muestra un cuadro resumen de las reacciones llevadas a cabo para los intentos de síntesis de esta hidrazona.

Tabla 12. *Condiciones de reacciones para la xantona*

N°	Cetona	Hidrazina	Solvente	Tiempo	Catalizador	Observación
1	Xantona	2,4-DFH	Etanol	15 min	1 mL HCl []	No se observó formación de sólido, al dejar reposar el sistema se formó un sólido en forma de agujas
2	Xantona	2,4-DFH	Etilenglicol	30 min	1 mL HCl []	No se observó formación de sólido, al dejar reposar el sistema se formó un sólido en forma de agujas
3	Xantona	2,4-DFH	DMF	60 min	1 mL HCl []	No se observó formación de sólido, al dejar reposar el sistema se formó un sólido en forma de agujas
4	Xantona	2,4-DFH	DMF	90 min	2 mL HCl []	No se observó formación de sólido, al dejar reposar el sistema se formó un sólido en forma de agujas

Para todas las reacciones llevadas a cabo se obtuvo el mismo resultado, el sólido obtenido tenía una forma muy parecida a la xantona, para cada reacción se realizó una cromatografía en capa fina, corriendo sobre ella la 2,4-dinitrofenilhidrazina, la xantona y el producto obtenido, y se logró verificar que el sólido obtenido poseía el mismo RF de la xantona por lo que se comprobó que las reacciones no dieron el producto esperado. En las primeras 3 reacciones se modificó el disolvente y el tiempo de reflujo, con la finalidad de comprobar si la solubilidad y el tiempo afectaban de manera directa la formación de la hidrazona, pero se obtuvieron resultados negativos. Se aumentó el pH en la reacción 4 para verificar si la acidez del medio era un factor que influía en el resultado, ya que según el mecanismo de reacción para la formación de las hidrazonas se necesita un pH ligeramente ácido para promover la salida del oxígeno carbonílico en forma de agua y formación del enlace imino, pero de igual manera no se logró obtener el producto esperado.

Se realizó una búsqueda bibliográfica del producto esperado para comprobar si algún autor reportaba la síntesis de esta hidrazona, pero no se encontró ningún documento que verificara la reacción. Fuson, RC. no reporta 2,4-dinitrofenilhidrazona de la xantona, pero sí reporta producto utilizando la fenilhidrazina como nucleófilo.

Comparando las estructuras de los nucleófilos, fenilhidrazina (a) y 2,4-dinitrofenilhidrazina (b) en la figura 49, se puede discutir que el volumen del nucleófilo (impedimento estérico) afecta de gran manera en el ataque nucleofílico de la 2,4-dinitrofenilhidrazina al carbono carbonílico de la xantona.



Figura 49. Estructuras de la fenilhidrazina y la 2,4-dinitrofenilhidrazina

5.8. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LAS HIDRAZONAS

La actividad antifúngica de los compuestos sintetizados se determinó con respecto a las cepas de hongos *C. albicans* y *A. niger*. Se encontró la presencia de propiedades antifúngicas bajo condiciones in vitro utilizando el método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) descrito en la sección 6.7 de la metodología.

La mayoría de los compuestos sintetizados se encontraron activos contra las dos cepas de hongos probadas en las 8 concentraciones diferentes de cada compuesto. Cabe mencionar que hubo inhibición del crecimiento utilizando el control negativo (DMF), debido a que todas las disoluciones utilizaban este disolvente se puede plantear la discusión de si son los compuestos sintetizados o el disolvente el que presenta la actividad antifúngica, la utilización de otros disolventes se vio limitada por la falta de los mismos.

A continuación, se muestran las tablas que representan los resultados obtenidos, donde claramente indican que todos los compuestos fueron igualmente activos, pero con cierto grado de variación, tomando en cuenta los fármacos de referencia (ketoconazol y cicloheximida 1 %), se observó que los compuestos fueron menos activos en comparación al ketoconazol, pero presentaron mayor o igual actividad que el otro fármaco de referencia, cicloheximida. No se encontró diferencia significativa de las actividades antifúngicas entre las disoluciones de mayor y menor concentración, es decir, no se observa un patrón lineal de mayor concentración mayor actividad antifúngica.

Entre los compuestos sintetizados, (10) mostró mayor inhibición (18.54 mm y 17.60 mm a 250 y 200 µg/mL respectivamente) contra *C. albicans*, sin embargo, fue considerablemente menos efectivo que el ketoconazol, pero fue más efectivo en todas las concentraciones que la cicloheximida. La actividad antifúngica presentada por este compuesto se asocia a la presencia de los sustituyentes (grupo metoxi) en la estructura de la molécula, debido a que son grupos fuertemente donadores de electrones²⁰.

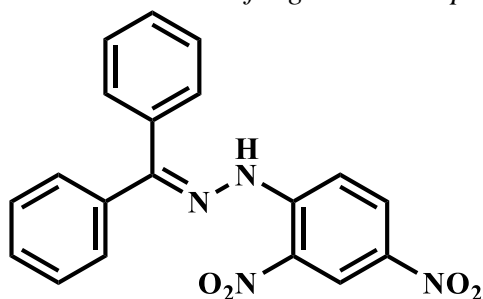
En las siguientes tablas se muestran los resultados de la actividad antifúngica de las hidrazonas sintetizadas con respecto a las cepas de hongos empleadas, se realizó el ensayo por duplicado para cada una de las disoluciones preparadas, además se muestra el promedio

(\bar{x}) de ambas mediciones, la desviación estándar (s), el control negativo y los antifúngicos de referencia, donde C+ indica la actividad positiva de los antifúngicos de referencia y la abreviatura N.M significa “no medible” haciendo referencia a los casos en los que el halo de inhibición es muy pequeño.

5.8.1. Actividad antifúngica de (5)

El compuesto (5) presentó inhibición contra las dos cepas de hongos utilizadas, y en todas las concentraciones preparadas de este compuesto, cabe mencionar que el disolvente DMF también presentó inhibición en el control negativo, en la tabla siguiente se muestran marcadas (rosado) las concentraciones que presentaron mayor inhibición (en mm) que el disolvente. Las disoluciones de más concentración tuvieron un efecto mayor de inhibición contra *C. albicans*, caso contrario en la cepa de *A. niger* donde las disoluciones de más baja concentración presentaron mayor inhibición.

Tabla 13. Actividad antifúngica del compuesto 5

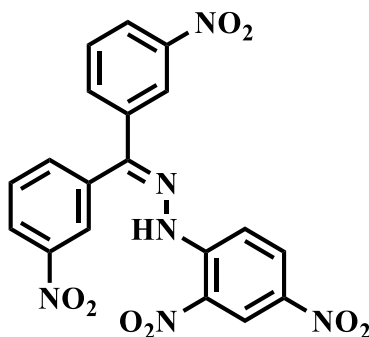


Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Zona de inhibición en mm							
	<i>C. albicans</i>				<i>A. niger</i>			
	P ₁	P ₂	\bar{x}	s	P ₁	P ₂	\bar{x}	s
25	12.70	15.31	14.01	1.85	15.16	13.41	14.29	1.24
40	12.34	14.00	13.17	1.17	13.96	13.20	13.58	0.54
55	12.82	14.85	13.84	1.435	13.36	13.18	13.27	0.127
100	14.58	15.59	15.09	0.71	14.44	13.46	13.95	0.69
150	15.60	17.09	16.35	1.05	11.90	11.15	11.53	0.53
200	15.28	19.80	17.54	3.20	11.93	11.52	11.73	0.29
250	15.64	17.32	16.48	1.19	10.51	10.46	10.49	0.04
300	15.65	18.28	16.97	1.86	11.14	10.27	10.71	0.62
DMF	N.M	16.36	16.36	-	12.71	12.75	12.73	-
Ketoconazol	56.61	67.64	62.13	-	21.48	30.5	25.99	-
Cicloheximida	12.05	-	12.05	-	12.13	13.44	12.79	-
C+	+	+		-	+	+		

5.8.2. Actividad antifúngica de (6)

La tabla siguiente se muestran marcadas (rosado) las concentraciones que presentaron mayor inhibición (en mm) que el disolvente. Este compuesto presentó una inhibición mayor que el disolvente únicamente en dos concentraciones (25 y 250 $\mu\text{g/mL}$) contra la cepa de *C. albicans*, mientras que contra la cepa de *A. niger* ninguna de las concentraciones de las disoluciones presentó una inhibición mayor que la del disolvente (12.73 mm).

Tabla 14. Actividad antifúngica del compuesto 6

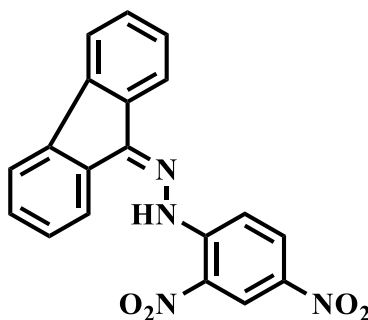


Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Zona de inhibición en mm							
	<i>C. albicans</i>				<i>A. niger</i>			
	P ₁	P ₂	\bar{x}	s	P ₁	P ₂	\bar{x}	s
25	16.01	17.06	16.54	0.74	12.90	11.40	12.15	1.06
40	-	15.69	15.69	-	11.70	11.37	11.54	0.23
55	16.36	15.07	15.72	0.912	11.07	12.15	11.61	0.764
100	16.36	14.66	15.51	1.20	10.85	12.41	11.63	1.10
150	18.28	12.61	15.45	4.01	9.20	9.09	9.15	0.08
200	12.19	15.51	13.85	2.35	15.34	9.57	12.46	4.08
250	17.10	17.45	17.28	0.25	10.98	11.02	11.00	0.03
300	14.00	16.90	15.45	2.05	11.63	11.38	11.51	0.18
DMF	N.M	16.36	16.36	-	12.71	12.75	12.73	-
Ketoconazol	56.61	67.64	62.13	-	21.48	30.5	25.99	-
Cicloheximida	12.05	-	12.05	-	12.13	13.44	12.79	-
C+	+	+		-	+	+		

5.8.3. Actividad antifúngica de (8)

El compuesto 8 presentó inhibición en todas las disoluciones preparadas de este compuesto, de igual manera el control negativo (DMF) presentó inhibición contra las dos cepas de hongos analizadas. En la tabla 15 se muestran en rosado las disoluciones que presentaron una mayor inhibición que el disolvente, contra la cepa *C. albicans* las concentraciones de 25 y 55 $\mu\text{g/mL}$ con 17.48 y 16.81 mm respectivamente fueron las que presentaron mayor inhibición que el control negativo, mientras que, contra la cepa *A. niger* las concentraciones de 40 y 100 $\mu\text{g/mL}$ con 12.74 y 12.88 mm respectivamente fueron las que presentaron mayor inhibición que el control negativo, además se observó para esta cepa que hubo un decrecimiento de la actividad antifúngica a medida se aumenta la concentración de las disoluciones.

Tabla 15. Actividad antifúngica del compuesto 8

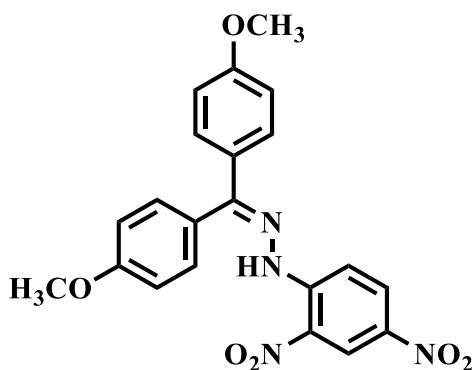


Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Zona de inhibición en mm							
	<i>C. albicans</i>				<i>A. niger</i>			
	P ₁	P ₂	\bar{x}	s	P ₁	P ₂	\bar{x}	s
25	17.88	17.07	17.48	0.57	11.66	12.68	12.17	0.72
40	16.51	15.44	15.98	0.76	10.38	15.09	12.74	3.33
55	18.58	15.04	16.81	2.503	10.88	14.29	12.59	2.411
100	18.57	13.13	15.95	3.71	12.53	13.23	12.88	0.49
150	13.89	16.32	15.11	1.72	10.40	11.64	11.02	0.88
200	12.22	14.87	13.55	1.87	10.66	11.64	11.15	0.69
250	13.67	15.46	14.57	1.27	10.66	11.18	10.92	0.37
300	11.47	14.39	12.93	2.06	10.33	9.85	10.09	0.34
DMF	N.M	16.36	16.36	-	12.71	12.75	12.73	-
Ketoconazol	56.61	67.64	62.13	-	21.48	30.5	25.99	-
Cicloheximida	12.05	-	12.05	-	12.13	13.44	12.79	-
C+	+	+		-	+	+		

5.8.4. Actividad antifúngica de (10)

La siguiente tabla muestra la actividad antifúngica de las disoluciones preparadas del compuesto 10, para las cuales se observan en color rosado las disoluciones que presentaron una mayor inhibición contra las cepas de hongos analizadas. Para la cepa de *C. albicans* se observa que las disoluciones de mayor concentración presentaron una mayor inhibición que el control negativo DMF (disolvente), siendo la disolución de 250 $\mu\text{g/mL}$ la que presentó mayor inhibición contra esta cepa de hongo. Para la cepa de *A. niger* solo se observaron 2 disoluciones (55 y 100 $\mu\text{g/mL}$) que superaron el diámetro de inhibición del control negativo (DMF), siendo este compuesto menos efectivo contra la cepa de *A. niger*.

Tabla 16. Actividad antifúngica del compuesto 10

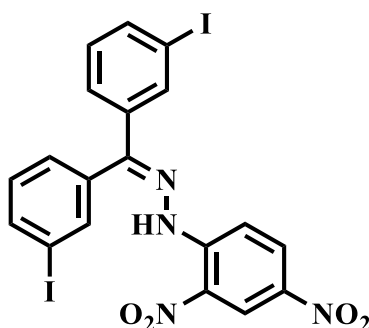


Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Zona de inhibición en mm							
	<i>C. albicans</i>				<i>A. niger</i>			
	P ₁	P ₂	\bar{x}	s	P ₁	P ₂	\bar{x}	s
25	13.49	13.73	13.61	0.17	11.08	10.22	10.65	0.61
40	13.73	13.28	13.51	0.32	11.40	10.72	11.06	0.48
55	13.32	12.94	13.13	0.269	11.43	18.00	14.72	4.646
100	13.31	12.36	12.84	0.67	12.35	13.32	12.84	0.69
150	N.M	16.60	16.60	-	11.33	10.18	10.76	0.81
200	N.M	17.60	17.60	-	10.83	10.80	10.82	0.02
250	N.M	18.54	18.54	-	10.62	11.11	10.87	0.35
300	N.M	17.12	17.12	-	11.63	11.17	11.40	0.33
DMF	N.M	16.36	16.36	-	12.71	12.75	12.73	-
Ketoconazol	56.61	67.64	62.13	-	21.48	30.5	25.99	-
Cicloheximida	12.05	-	12.05	-	12.13	13.44	12.79	-
C+	+	+		-	+	+		

5.8.5. Actividad antifúngica de (11)

El compuesto 11 presentó cierto grado de inhibición en todas las disoluciones preparadas de este compuesto, cabe mencionar que contra la cepa de *C. albicans* ninguna de las concentraciones superó el diámetro de inhibición presentado por el control negativo, mientras que para *A. niger* las disoluciones de menor concentración (25, 40, 55 y 100 $\mu\text{g/mL}$) presentaron una mayor inhibición en referencia con el disolvente y con las disoluciones más concentradas (150, 200, 250 y 300 $\mu\text{g/mL}$).

Tabla 17. Actividad antifúngica del compuesto 11



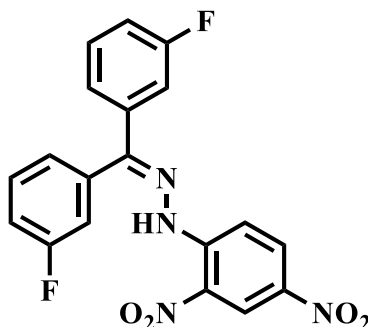
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Zona de inhibición en mm							
	<i>C. albicans</i>				<i>A. niger</i>			
	P ₁	P ₂	\bar{x}	s	P ₁	P ₂	\bar{x}	s
25	14.33	14.48	14.41	0.14	14.88	13.00	13.94	1.33
40	15.13	15.58	15.36	0.32	13.33	11.78	12.76	1.10
55	14.71	15.13	14.92	0.297	13.96	14.53	14.25	0.403
100	15.10	14.33	14.72	0.54	15.36	15.68	15.52	0.23
150	N.M	11.90	11.90	-	11.52	11.45	11.49	0.05
200	11.64	13.38	12.51	1.23	11.18	11.27	11.23	0.06
250	15.69	14.98	15.34	0.50	11.30	11.27	11.29	0.02
300	14.39	19.79	14.59	0.28	11.30	11.42	11.36	0.08
DMF	N.M	16.36	16.36	-	12.71	12.75	12.73	-
Ketoconazol	56.61	67.64	62.13	-	21.48	30.5	25.99	-
Cicloheximida	12.05	-	12.05	-	12.13	13.44	12.79	-
C+	+	+		-	+	+		

5.8.6. Actividad antifúngica de (13)

Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica del compuesto 13 arrojaron valores de inhibición positivos en todas las disoluciones preparadas de esta hidrazona, cabe mencionar que, de todos los compuestos sintetizados, este, presentó un menor grado de inhibición. Contra la cepa de *C. albicans* ninguna de las disoluciones presentó un mayor diámetro de inhibición que el control negativo (DMF), mientras que contra la cepa de *A. niger* únicamente la disolución de concentración 100 µg/mL superó el diámetro de inhibición del control negativo 13.72 y 12.73 mm respectivamente.

Resulta importante destacar que, con respecto a los antifúngicos de referencia, ninguna de las disoluciones se acerca a los valores de inhibición de estos antifúngicos.

Tabla 18. Actividad antifúngica del compuesto 13



Concentración (µg/mL)	Zona de inhibición en mm							
	<i>C. albicans</i>				<i>A. niger</i>			
	P ₁	P ₂	\bar{x}	s	P ₁	P ₂	\bar{x}	s
25	15.88	11.50	13.69	3.10	11.64	12.89	12.27	0.88
40	16.11	-	16.11	-	11.27	13.08	12.18	1.28
55	16.97	13.46	15.22	2.482	12.25	12.81	12.53	0.396
100	16.97	15.10	16.04	1.32	14.24	13.20	13.72	0.74
150	11.01	N.M	11.01	-	10.45	11.24	10.85	0.56
200	N.M	13.89	13.89	-	10.83	11.08	10.96	0.18
250	14.11	14.67	14.39	0.40	11.74	11.07	11.41	0.47
300	13.47	14.87	14.17	0.99	11.67	11.25	11.46	0.30
DMF	N.M	16.36	16.36	-	12.71	12.75	12.73	-
Ketoconazol	56.61	67.64	62.13	-	21.48	30.5	25.99	-
Cicloheximida	12.05	-	12.05	-	12.13	13.44	12.79	-
C+	+	+		-	+	+		

VI. CONCLUSIONES

Para la realización de esta investigación se incluye primeramente la búsqueda de información bibliográfica, el desarrollo metodológico en el cual se muestran los procesos sintéticos para la obtención de todos los reactivos necesarios, la posterior síntesis de la familia de hidrazonas y la caracterización de cada una de ellas (UV-vis, IR(ATR) y ^1H -RMN), además, de los resultados y discusión, para los cuales se presentan las siguientes conclusiones:

1. El procedimiento general de síntesis empleado para la obtención de la familia de hidrazonas mostró resultados positivos, sin embargo, se presentaron pequeñas variantes en su metodología, ya que cada benzofenona utilizada presentaba diferente solubilidad frente a los disolventes empleados en el proceso experimental.
2. La caracterización empleada (^1H -RMN, IR(ATR) y UV-vis) para cada una de las hidrazonas obtenidas, mostraron señales características para dichas estructuras, en ^1H -RMN se destacó una señal característica que indica la formación del producto, la cual es correspondiente a un singulete del protón del grupo $\text{R}=\text{N}-\text{NH}-\text{R}$ presentes en las hidrazonas, además de las señales de los protones del anillo aromático proveniente de la 2,4-DFH en la estructura de la hidrazona.
3. Para los espectros IR se obtuvieron bandas de absorción características presentes en todas las estructuras de estos compuestos, tales como: ($>\text{N}-\text{H}$); ($\text{C}=\text{N}$); ($\text{N}-\text{H}$); ($\text{C}-\text{N}$). la caracterización de los compuestos sintetizados se vuelve muy importante para la verificación en la obtención de estos.
4. Los ensayos antifúngicos realizados a la familia de hidrazonas mostraron cierto grado de inhibición en el crecimiento contra las cepas de hongos *C. albicans* y *A. niger*, cabe mencionar que fueron menos efectivos en comparación al ketoconazol y presentaron mayor o igual actividad que la cicloheximida, considerando también que no se pudo despejar la duda sobre la actividad biológica del DMF frente a estas cepas.

5. El compuesto 10 mostró mayor inhibición (18.54 mm y 17.60 mm a 250 y 200 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente) contra *C. albicans*, sin embargo, fue considerablemente menos efectivo que uno de los antifúngicos de referencia, ketoconazol, pero fue más efectivo en todas las concentraciones que el segundo antifúngico de referencia, cicloheximida. La actividad antifúngica presentada por este compuesto se asocia a la presencia de los sustituyentes (grupo metoxi) en la estructura de la molécula, debido a que son grupos fuertemente donadores de electrones.^{20,42}

6. El compuesto 11 mostró mayor inhibición (15.52 mm a 100 $\mu\text{g/mL}$) contra *A. niger*, sin embargo, fue considerablemente menos efectivo que uno de los antifúngicos de referencia, ketoconazol, pero fue más efectivo en las concentraciones de 25, 55 y 100 $\mu\text{g/mL}$ que el segundo antifúngico de referencia, cicloheximida. La actividad antifúngica presentada por este compuesto se asocia a la presencia de los sustituyentes (yodo) en la estructura de la molécula, debido a que son grupos atradores de electrones.⁴²

7. El compuesto 13 fue el menos activo contra las cepas de hongos, ya que presentó mayor inhibición únicamente en una concentración (13.72 mm a 100 $\mu\text{g/mL}$) contra *A. niger*, mientras que contra *C. albicans* ninguna concentración superó la inhibición del disolvente (DMF).

VII. RECOMENDACIONES

- Replicar los ensayos biológicos utilizando un disolvente diferente al DMF, debido a que este disolvente empleado mostró inhibición en el crecimiento de las cepas de hongos empleadas.
- Realizar otros ensayos biológicos diferentes, como, por ejemplo, actividades antibacterial, antiinflamatoria, anticancerígena, etc. A fin de buscar una mayor aplicación de actividad biológica de estas hidrazonas sintetizadas.
- Utilizar las hidrazonas como ligandos en la síntesis de complejos con iones metálicos, a fin de analizar un posible aumento en la actividad biológica de estos compuestos cuando están formando complejos metálicos.
- Comprobar previamente la solubilidad de los reactivos en el disolvente de reacción y monitorear las reacciones utilizando TLC para la obtención de mejores resultados en la síntesis de estos compuestos.
- Realizar la purificación de todos los reactivos empleados y productos obtenidos con la finalidad de obtener mejores resultados y espectros más limpios.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Aslan, H., Karacan, N. (2013). Aromatic sulfonyl hydrazides and sulfonyl hydrazones: antimicrobial activity and physical properties. *Medicinal Chemistry Research*, 22, 1330-1338.
- [2]. Rollas, S., Küçükgülzel, G. (2007). Biological Activities of Hydrazone Derivatives. *Molecules*, 12, 1910-1939.
- [3]. Kitaev, Y., Buzykin, B., Troepol'skaya, V. (1970). The Structure of Hydrazones. *Russian Chemical Review*, 39(6), 443-465.
- [4]. Ouellette, R., Rawn D. (2014). *Organic Chemistry: Structure, Mechanism, and Synthesis*. California, USA: Elsevier.
- [5]. Viñuelas Zahínos, E. *Capacidad coordinante de ligandos derivados de 2-tiazolina e hidrazona frente a iones metálicos de transición* (tesis doctoral). Universidad de Extremadura, Badajoz, España.
- [6]. Belskaya, N., Dehaen, W., Bakulev, V. (2010). Synthesis and properties of hydrazones bearing amide, thioamide and amidine functions, *ARKIVOC*, 275-332.
- [7]. Kitaev, Y., Buzykin, B. (1972). The Reactions of Hydrazones. *Russian Chemical Review*, 41(6), 495-515.
- [8]. Rudrapal, M et al. (2013). Synthesis and antibacterial activity of some new hydrazones. *Medicinal Chemistry Research*, 22, 2840-2846.
- [9]. Marandi, G., Saghatforoush, L., Golsanamlou, V., Tofighjoo, E. (2015). Efficient synthesis and development of novel hydrazones with potent diverse activities. *Res Chem Intermed*, 41, 631-636.
- [10]. Zani, F., Vicini, P., Incerti, M. (2004). Synthesis and antimicrobial properties of 2-(benzylidene-amino)-benzo[d]isothiazol-3-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39, 135-140.
- [11]. Clayden, J., Greeves, N., Warren, S., Wothers, P. (2000). *Organic Chemistry*. USA: Oxford.
- [12]. Wade JR. (2013). *Organic Chemistry*. United States of America: Pearson Education.
- [13]. Rubinson, K.A., Rubinson, J.F. (2001). *Análisis Instrumental*. Madrid, España: Pearson Educación, S.A.

- [14]. Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. Madrid, España: McGraw-Hill.
- [15]. Asif, M., Asif, H. (2013). Analgesic, Anti-Inflammatory, and Antiplatelet Profile of Hydrazones Containing Synthetic Molecules. *Applied Chemistry*, 1-7.
- [16]. Vittimberga, B., Ruekberg, B. (2006). 2,4-Dinitrophenylhydrazone Experiment, *Chemical Education*, 83(11), 1661-1662.
- [17]. Hamurcu, F., Mamaş, S., Ozdemir, U., Gündüzalp, A., Senturk, O. (2016). New series of aromatic/five-membered heteroaromatic butanesulfonyl hydrazones as potent biological agents: Synthesis, physicochemical and electronic properties. *Molecular Structure*, 1118, 18-27.
- [18]. Easmon, J., Pürstinger G., Thies, K., Heinisch, G., Hofmann J. (2006). Synthesis, Structure-Activity Relationships, and Antitumor Studies of 2-Benzoxazolyl Hydrazones Derived from Alpha-(N)-acyl Heteroaromatics. *Med. Chem*, 49, 6343-6350.
- [19]. Lindgren, E. B. et al. (2014). Synthesis and anticancer activity of (E)-2-benzothiazole hydrazones. *Medicinal Chemistry*, 86, 12-16.
- [20]. Al-kahraman, Y., Yasinzai, M., Singh, G. (2012). Evaluation of Some Classical Hydrazones of Ketones and 1,2-Diketones as Antileishmanial, Antibacterial and Antifungal Agents. *Arch Pharm Res*, 35(6), 1009-1013.
- [21]. Kandpal, B., Meshram, J., Mohanram, I., Shaikh A. (2015). Evaluation of newly synthesized quinazolinone derivatives of hydrazones as potent anti-inflammatory and antibacterial agents. *Med Chem Res*, 24, 1419-1426.
- [22]. Muñoz, D. L., Cardona, D. P., Cardona, A., Carrillo, M. L., Quiñonez, W., Echeverri, F., Vélez, I. D., Robledo, S. M. (2006). Efecto de hidrazonas sobre amastigotes intracelulares de *Leishmania panamensis* y una proteasa de cisteína parasitaria. *VITAE*, 13(12), 5-12.
- [23]. Sinha, R., Sara, S., Khosa, R. (2011). Nicotinic acid hydrazones: a novel anticonvulsant pharmacophore. *Med Chem Res*, 20, 1499-1504.
- [24]. Tyrkov, A., Abdel'rakhim, A., Sukhenko, L., Degtyarev, O. (2013). Synthesis and antifungal activity of substituted nitrotetrazole-5-carbaldehyde hydrazones. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 47(11), 589-592.
- [25]. Vidyashree, H., Kalluraya, B., Vishwanath, T. (2015). Synthesis, Spectroscopic Properties and Antioxidant Activity of Bis-Hydrazones and Schiff's bases Derived from Terephthalic Dihydrazide. *J Fluoresc*, 25,481-488.

- [26]. Tirkey, V., Mishra, S., Dash, H., Das, S., Nayak, B., Mobin, Shaikh., Chatterjee, S. (2013). Synthesis, characterization and antibacterial studies of ferrocenyl and cymantrenyl hydrazone compounds. *Organometallic Chemistry*, 732, 122-129.
- [27]. Kalashetty, B., Kalashetty, M., Karabasannaver, S., Gani, R. (2013). Synthesis, characterization and anti-microbial study of some organometallic complexes of multi-dentate Schiff bases derived from 3-Aldehydosalicilic acid at various pH ranges. *Drug invention today*, 5, 105-112.
- [28]. Visbal, G., Marchán, E., Maldonado, A., Simoni, Z., Navarro, M. (2008). Synthesis and characterization of platinum-sterol hydrazone complexes with biological activity against *Leishmania (L.) mexicana*. *Inorganic Biochemistry*, 102, 547-554.
- [29]. Mc Murry, J. (2008). *Química orgánica*. Distrito Federal, México: CENGAGE learning.
- [30]. Smith, J. (2008). *Organic Chemistry*. New York, Estados Unidos: McGraw-Hill.
- [31]. Carey, F. (2006). *Química Orgánica*. Distrito Federal, México: McGraw-Hill.
- [32]. Maitland, J., Fleming, S. (2010). *Organic Chemistry*. United States of America: W.W.Norton & Company, Inc.
- [33]. Kulandai, T., geethamalika, G. (2017). Synthesis, Characterization and Anti Mycobacterial Activity of Novel Hydrazones. *oriental journal of chemistry*, 33, 335-345.
- [34]. El Saied, F., Abd-Elzaher, M., El Tabl, A., Shakhofa, M., Rasras, A. (2017). Synthesis, physicochemical studies and biological evaluation of unimetallic and heterobimetallic complexes of hexadentate dihydrazone ligands. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 6, 24-32.
- [35]. Kauthale, S., Tekale, S., Damale, M., Sangshetti, J., Pawar, R. (2017). Synthesis, antioxidant, antifungal, molecular docking and ADMET studies of some thiaolyl hydrazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27, 3891-3896.
- [36]. Shriner, R., Fuson, R., Curtin, D. (2001). *Identificación sistemática de compuestos orgánicos*. D.F México: Limusa.
- [37]. Pouralimardan, O., Chamayou, AC., Janiak, C., Hosseini-Monfared, H. (2007). Hydrazone Schiff base-manganese(II) complexes: Synthesis, crystal structure and catalytic reactivity. *Inorganica Chimica Acta*, 360, 1599-1608.

- [38]. Bagrov, F.V. (1998). Synthesis and Structure of N'-(2-Phenylaminobenzoyl)hydrazones of Aromatic Aldehydes, Ketones, and α -Dicarbonyl Compounds. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 36, 854-857.
- [39]. Field, L.D., Sternhell, S., Kalman, J.R. (2008). *Organic Structures from Spectra*. England: John Wiley & sons.
- [40]. Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J. (2005). *Spectrometric identification of organic compounds*. New York, USA: John Wiley & sons.
- [41]. Mirafzal, G.A., Lozeva, A.M. (1998). Phase transfer catalyzed oxidation of alcohols with sodium hypochlorite. *Tetrahedron Letters*, 39, 7263-7266.
- [42]. Gregory, L., Donna, M., Neumann, A. (2014). Synthesis and antifungal activity of substituted salicylaldehyde hydrazones, hydrazides and sulfohydrazides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (22), 4629-4636.