



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Síntesis, caracterización estructural y evaluación
biológica de bases de Schiff fluoradas
p-hidroxisustituídas**

Proyecto de investigación
TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO INDUSTRIAL

Presenta:
Bando Vázquez Alejandro Yair

Asesor:
Dr. Alcives Avila Sorrosa

Coasesor:
Dr. David Morales-Morales

Ciudad de México, Septiembre 2016



“SI LO INTENTAS Y FALLAS, NO IMPORTA. INTÉNTALO DE NUEVO.
FALLA DE NUEVO. FALLA MEJOR.”

-SAMUEL BECKETT

Agradecimientos

A mis padres, Ninfa Vázquez Camacho y Alejandro Bando Flores, por todo su apoyo incondicional durante todos estos 23 años, por darme la oportunidad de seguir mis sueños, por todos esos consejos a lo largo de mi vida para jamás rendirme y siempre luchar por esas metas que aunque hace unos años se veían lejanas, hoy orgullosamente puedo decirles que hemos cosechado uno de los logros más importantes dentro de una familia. Los amo.

A mi hermano Brayan Jared, por ser una motivación para mí en lograr cada meta que me propongo y ser una figura de ejemplo para su preparación profesional. Jamás te rindas y persigue tus sueños, hermano. Sé que llegarás mucho más lejos que yo.

A mis tíos Antonio y Verónica Vázquez, y a mi abuelita Antonia Camacho, por ser uno de los pilares fundamentales en mi vida, por darme las herramientas y consejos necesarios para crecer tanto personal como profesionalmente. Aunque no lo crean, esto es un logro colectivo. Los amo.

A mi novia, Laura Angélica, por tu apoyo y tus consejos para nunca rendirme, por todas aquellas veces que quise tirar la toalla y por las veces que tuvimos que salvar al mundo para no morir junto con él, tu llegada a mi vida me hizo ver la vida de otra manera, esforzarme para ser cada día mejor y llegar mucho más lejos. Somos un equipo efectivo. Te amo.

A mi profesor y asesor Dr. Alcives Avila Sorrosa, el cual llegó en un momento crucial en mi vida y me hizo ver la Química desde otro ángulo y retomar el amor por mi carrera. Por su gran apoyo y por todos sus consejos tanto personales como profesionales. A él le debo el estar aquí terminando algo que veía imposible.

A mi coasesor Dr. David Morales Morales por la confianza brindada para formar parte de su grupo de trabajo, por las instalaciones y todas sus enseñanzas. No falló a su promesa, de verdad aprendí ciencia de la buena.

A todos mis amigos Q.F.I.'s que durante el transcurso de la carrera me mostraron que aún existen amigos de verdad y gente con la que puedo contar, jamás olvidaré todos los momentos que pasamos juntos.

A mi amada Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, por abrirme sus puertas y brindarme todo lo necesario para haberme formado como un profesional Q.F.I. que pondrá en alto su nombre en cualquier parte del mundo que vaya.

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de investigación No 3, del departamento de Química Orgánica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (IPN) bajo la dirección del Dr. Alcives Avila Sorrosa, así como en el laboratorio No. 3 de Química Inorgánica del Instituto de Química (UNAM) con el coasesoramiento del Dr. David Morales y con el financiamiento de los proyectos SIP 20150067 y 20161006.

El presente trabajo fue presentado en Segundo Congreso de Ciencia, Educación y Tecnología en la FES Cuautitlán el mes de Junio de 2016 con el nombre *“Síntesis, caracterización estructural y actividad biológica de bases de Schiff fluoradas p-hidroxisustituídas”*

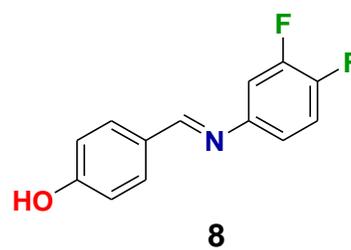
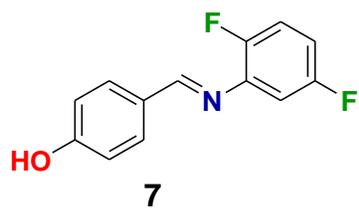
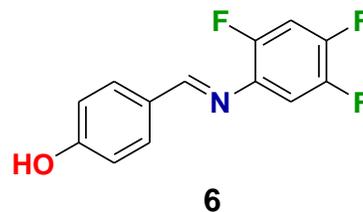
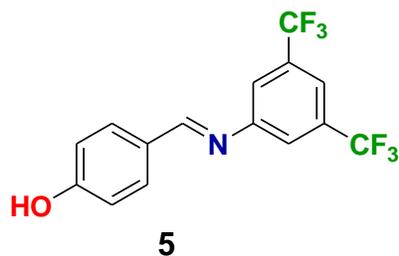
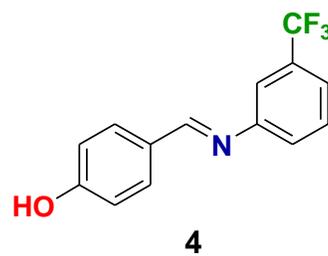
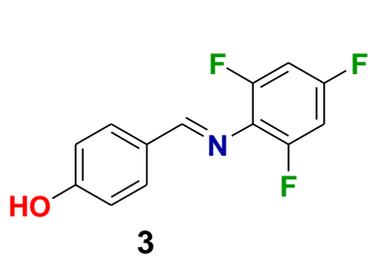
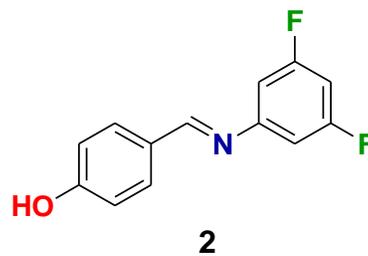
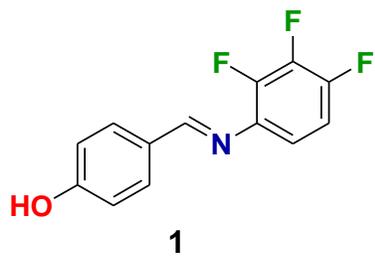
TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. Introducción.....	1
1.1 Bases de Schiff.....	1
1.2 El flúor.....	2
1.3 El impacto del flúor en química medicinal.....	4
2. Antecedentes.....	6
3. Justificación.....	14
4. Hipótesis.....	15
5. Objetivo General.....	15
6. Objetivos Particulares.....	16
7. Resultados y discusión.....	17
7.1 Síntesis de bases de Schiff fluoradas <i>p</i> -hidroxisustituídas.....	18
7.2 Caracterización espectroscópica.....	18
7.2.1 Análisis vibracional por espectroscopía infrarrojo.....	19
7.2.2 Análisis por espectrometría de masas.....	20
7.2.3 Análisis por espectroscopía de RMN (^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ y ^{19}F).....	24
7.2.4 Caracterización estructural de las bases de Schiff <i>p</i> -hidroxisustituídas.....	38
8. Evaluación biológica.....	45
8.1 Método de difusión en disco de Kirby-Bauer.....	45
8.1.1 Medios de cultivo bacteriano.....	45
8.1.2 Medios de cultivo de levadura.....	45
8.1.3 Preparación de los discos.....	46
8.1.4 Preparación del inóculo.....	46
8.2 Resultados.....	47
9. Conclusiones.....	50
10. Parte experimental.....	51
10.2 Compuestos sintetizados.....	52
11. Referencias.....	60
12. Apéndice.....	63
12.1 Espectroscopías y espectrometrías de las bases de Schiff fluoradas <i>p</i> -hidroxisustituídas.....	64

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

RMN-¹³C{¹H }	Resonancia magnética nuclear de carbono desacoplado a protón
RMN-¹H	Resonancia magnética nuclear de protón
RMN-¹⁹F	Resonancia magnética nuclear de flúor
Å	Ángstrom. Unidad de longitud para medir distancia entre átomos
IR	Espectroscopía de infrarrojo
EM-IE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
m/z	Relación masa/carga (Espectrometría de masas)
DMSO-<i>d</i>₆	Dimetilsulfóxido deuterado
t.a.	Temperatura ambiente
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
pKa	Fuerza que tienen las moléculas para disociarse
M^{•+}	Ión molecular (Espectrometría de masas)
ν	Frecuencia o vibración de enlace
cm⁻¹	Número de onda (Espectroscopía infrarrojo)
°C	Grados Celsius
C=N-R	Enlace imínico
δ	Desplazamiento químico (Resonancia Magnética Nuclear)
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
s	Señal singulete
d	Señal con multiplicidad doble
t	Señal con multiplicidad triple
dd	Señal con multiplicidad doble de dobletes
td	Señal con multiplicidad triple de dobletes
q	Señal con multiplicidad cuádruple
m	Señal múltiple o multiplete
mm	Milímetros. Unidad de longitud
nm	Nanómetros. Unidad de longitud equivalente a 10 ⁻⁹ metros
g	Gramos. Unidad de masa
mL	Mililitros. Unidad de volumen
mmol	Milimoles. Unidad de masa molecular
M.M.	Mallas moleculares
COS-7	Línea celular obtenida de riñón de mono africano para uso en investigación.
YEPD	Medio de cultivo de extracto de levadura peptona dextrosa (<i>yeast extract peptone dextrose</i> por sus siglas en inglés)
ATCC	American Type Culture Collection. Depósito de cultivos biológicos.

LISTA DE COMPUESTOS SINTETIZADOS



RESUMEN

Los compuestos fluorados han ganado un gran interés por sus aplicaciones exitosas en diferentes campos de la química, destacando su empleo en estudios supramoleculares, diseño de nuevos materiales y como bloques de partida en la síntesis de nuevas moléculas biológicamente significativas. Hoy en día, el flúor es una unidad estructural clave en la búsqueda y descubrimiento de nuevos medicamentos, así como para aumentar la actividad de los ya existentes.

A pesar de la abundancia natural de este elemento, es poco común encontrar compuestos fluorados en la naturaleza, lo cual significa que la mayoría de las moléculas fluoradas conocidas han sido sintetizadas en el laboratorio. No obstante, resulta interesante que entre un 20 y 25% de los medicamentos de línea farmacéutica, presentan por lo menos un átomo de flúor en sus estructuras.

Por otro lado, las bases de Schiff son un grupo de moléculas nitrogenadas de gran interés y muy valoradas por su amplia variabilidad estructural que permite controlar y dirigir racionalmente las propiedades de los compuestos con la introducción de grupos específicos.

Así, en el presente trabajo se describe una metodología sencilla, asequible y eficiente para la síntesis de una serie de 8 bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas mediante reacciones de condensación entre diferentes anilinas fluoradas y *p*-hidroxibenzaldehído empleando mallas moleculares de 4 Å.

Los compuestos fueron completamente caracterizados mediante análisis espectroscópico de IR, espectrometría de masas por la técnica de impacto electrónico, RMN-¹H, RMN-¹³C{¹H} y RMN-¹⁹F. Y en algunos casos donde se obtuvieron cristales con características adecuadas se realizó análisis de difracción de rayos X de monocristal. Las iminas fluoradas fueron evaluadas en ensayos antibacterianos por el método de difusión en discos, evaluando su potencial de inhibición contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas, hongos y levaduras.

1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos nitrogenados constituyen un grupo variado e importante de moléculas orgánicas que poseen propiedades de interés en las diferentes ramas de la química. Dentro de esta clasificación encontramos a los compuestos imínicos o también conocidos como bases de Schiff, los cuales han sido conocidos desde 1864, cuando el químico alemán Hugo Schiff reportó el producto de condensación entre compuestos carbonílicos y aminas primarias (Schiff, 1864).

1.1 Bases de Schiff

Las bases de Schiff, conocidos como azometinas o iminas (Schiff, 1864; Patai, 1970), son compuestos representados por la fórmula general $R_3R_2C=N-R_1$. Los sustituyentes R_2 y R_3 pueden ser alquilo, arilo, heteroarilo o hidrógeno. El sustituyente R_1 unido al nitrógeno imínico puede ser alquilo, arilo, heteroarilo, hidrógeno o algunos metales (por lo general Si, Al, B, Sn). Las propiedades químicas y reactividad de las iminas siguen siendo estudiadas desde hace más de un siglo (Layer, 1963).

El método más común para la preparación de iminas es la reacción original descubierta por Schiff (Schiff, 1864; Schiff, 1866; Robertson, 1995) presentada en la Figura 1, la cual consiste en la reacción de un grupo carbonilo, ya sea aldehído o cetona **1**, con una amina primaria **2** y la eliminación de una molécula de agua. Esta reacción puede ser acelerada por catálisis ácida y se lleva a cabo generalmente por calentamiento a reflujo de una mezcla de un compuesto de carbonilo y una amina, utilizando una trampa de Dean Stark para eliminar el agua. Esta eliminación es importante, ya que la conversión de la amina **3** en el compuesto imínico **4** es reversible. Desde este punto varios agentes deshidratantes se han utilizado con éxito incluyendo sulfato de sodio y tamices moleculares (Westheimer & Taguchi, 1971).

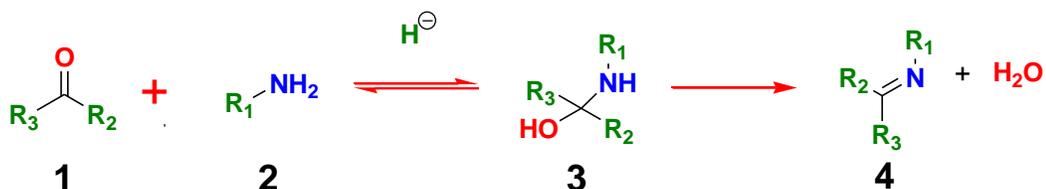


Figura 1. Etapas de la reacción de Schiff para la formación de iminas.

Alternativamente, se han reportado algunos métodos *in situ*, que implica disolventes deshidratantes tal como tetrametilortosilicato u ortoformiato de trimetilo (Love & Ren, **1993**; Look, Murphy, Campbell, & Gallop, **1995**). Dado que para esta reacción es requerido un catalizador ácido (Billman & Tai, **1958**; Panneerselvam *et. al.*, **2005**; Naeimi *et. al.*, **2006**), pueden utilizarse diversos ácidos minerales, como H₂SO₄ o HCl, ácidos orgánicos tales como ácido *p*-toluensulfónico o *p*-toluenosulfonato de piridinio o incluso se ha reportado el uso de ácidos de Lewis como ZnCl₂, TiCl₄, SnCl₄, BF₃Et₂O, MgSO₄, Mg(ClO₂)₂, etc.

Las bases de Schiff representan un grupo importante de moléculas nitrogenadas, de gran valor para su síntesis por su versátil y amplia variabilidad estructural que permite controlar y dirigir racionalmente las propiedades de los compuestos por la introducción de grupos específicos. Estas moléculas han demostrado propiedades interesantes con un plétora de aplicaciones como antibacterianos (Shi *et. al.*, **2007**), antifúngicos (Guo *et. al.*, **2007**), analgésicos (Zhou *et. al.*, **2010**), anticancerígenos (Sztanke *et. al.*, **2013**) y antiinflamatorios (Nithinchandra *et. al.*, 2012).

1.2 El flúor

El flúor es el elemento más electronegativo de la tabla periódica y el treceavo elemento más abundante en la corteza terrestre (rsc.org, **2016**), según la escala de Pauling, posee un valor de electronegatividad de $x = 4$, el más alto de todos los elementos (Pauling, **1939**).

En la naturaleza el flúor se encuentra en minerales como la fluorita, el espato flúor y la criolita, pero también se encuentra ampliamente distribuido en otros minerales (Emsley, **2011**). En lo que respecta a su apariencia, es un gas color amarillo pálido, con propiedades corrosivas, que reacciona con prácticamente todas las sustancias orgánicas e inorgánicas, reaccionando considerablemente con compuestos que contienen hidrógeno como el agua o el amoníaco (propertiesofmatter.com, **2011**). Un ejemplo en el cuál se utilizan estas propiedades del flúor es la reacción de Schiemann, la cual se basa en la conversión de anilinas a compuestos de aril fluoruros a través de

diazoación por formación de fluoroboratos de diazonio y su posterior descomposición térmica de los tetrafluoroboratos derivados (Laali & Gettwert, **2001**).

En química orgánica, el flúor ha tenido un crecimiento importante en la síntesis de nuevas moléculas. La alta electronegatividad del flúor tiene una serie de consecuencias que conducen a una polarización que le confiere un comportamiento menos covalente y más electrostático al enlace C-F. Este tipo de enlace forma uniones más fuertes en química orgánica resultando innovador para el desarrollo de una amplia gama de productos industriales y materiales especiales, incluyendo productos farmacéuticos. La introducción de flúor en una molécula orgánica a través de reacciones electrofílicas o nucleofílicas se ha convertido en un elemento clave en la búsqueda y descubrimiento de nuevos fármacos o el mejoramiento de las propiedades de los ya existentes. (O'Hagan, **2007**).

Aunque el flúor y el hidrógeno tienen parámetros estéricos y radios de van der Waals similares, 1.2 y 1.35 Å respectivamente (Bondi, **1964**), el flúor unido covalentemente a un carbono ocupa un volumen más pequeño que un grupo metilo, amino, o un grupo hidroxilo, pero es más grande que un átomo de hidrógeno, por lo tanto, la sustitución de un átomo de hidrógeno por un átomo de flúor genera un ligero cambio en el efecto estérico de la molécula (O'Hagan, **2007**).

Debido a estas características el flúor puede causar cambios significativos en una molécula orgánica, principalmente por su efecto inductivo aceptor de electrones, que puede mejorar significativamente la lipofilidad y solubilidad, así como en el metabolismo de los fármacos (Purser, Moore, Swallow, & Gouverneur, **2007**).

1.3 El impacto del flúor en química medicinal

Resulta interesante que a pesar de la abundancia de este elemento, existen muy pocos compuestos orgánicos de origen natural que contienen flúor, por lo que se ha convertido en un componente clave en el diseño de fármacos (O'Hagan, **2007**).

El flúor se utiliza a menudo para sustituir al hidrógeno en investigaciones de química medicinal, donde el cambio de C-H a C-F es la sustitución más utilizada debido a las diversas propiedades que posee el átomo de flúor. Sin embargo, tal sustitución tiene consecuencias electrónicas significativas y puede cambiar dramáticamente las propiedades de una molécula, por ejemplo, el pKa de grupos funcionales adyacentes (O'Hagan, **2007**).

La sustitución de C-OH a C-F se ha convertido en una herramienta excelente en la exploración de las funciones del enlace de hidrógeno con respecto a la polaridad del enlace C-O en sistemas biológicos (Duschinsky, Plevan, & Heidelberger, **1957**).

Estas sustituciones proveen cambios importantes en las propiedades fisicoquímicas de la molécula, entre las cuales se destacan:

- **Efecto inductivo:** Al ser el flúor el elemento más electronegativo de la tabla periódica, es lógico suponer que sin duda afecta la polaridad de una molécula a través de su efecto inductivo. Con la introducción de átomos de flúor, se observa una marcada reducción de los valores de pKa en diversos derivados de ácidos carboxílicos y alcoholes alifáticos (M.H., Grellier, & Morris, **1989**; Dean, **1999**).
- **Lipofilicidad:** La presencia de un átomo de flúor o un sustituyente CF₃ en posiciones *orto* o *para* disminuye las propiedades de algunos grupos funcionales capaces de actuar como bases de Lewis en anillos aromáticos (amina, alcohol, éter, carbonilo, amida). Además de esto, disminuye la capacidad que tienen estos grupos de formar puentes de hidrógeno con el agua que los rodea, aumentando su carácter lipófilo y su solubilidad en grasas, mejorando su partición en las membranas biológicas (López & Romero, **2011**).

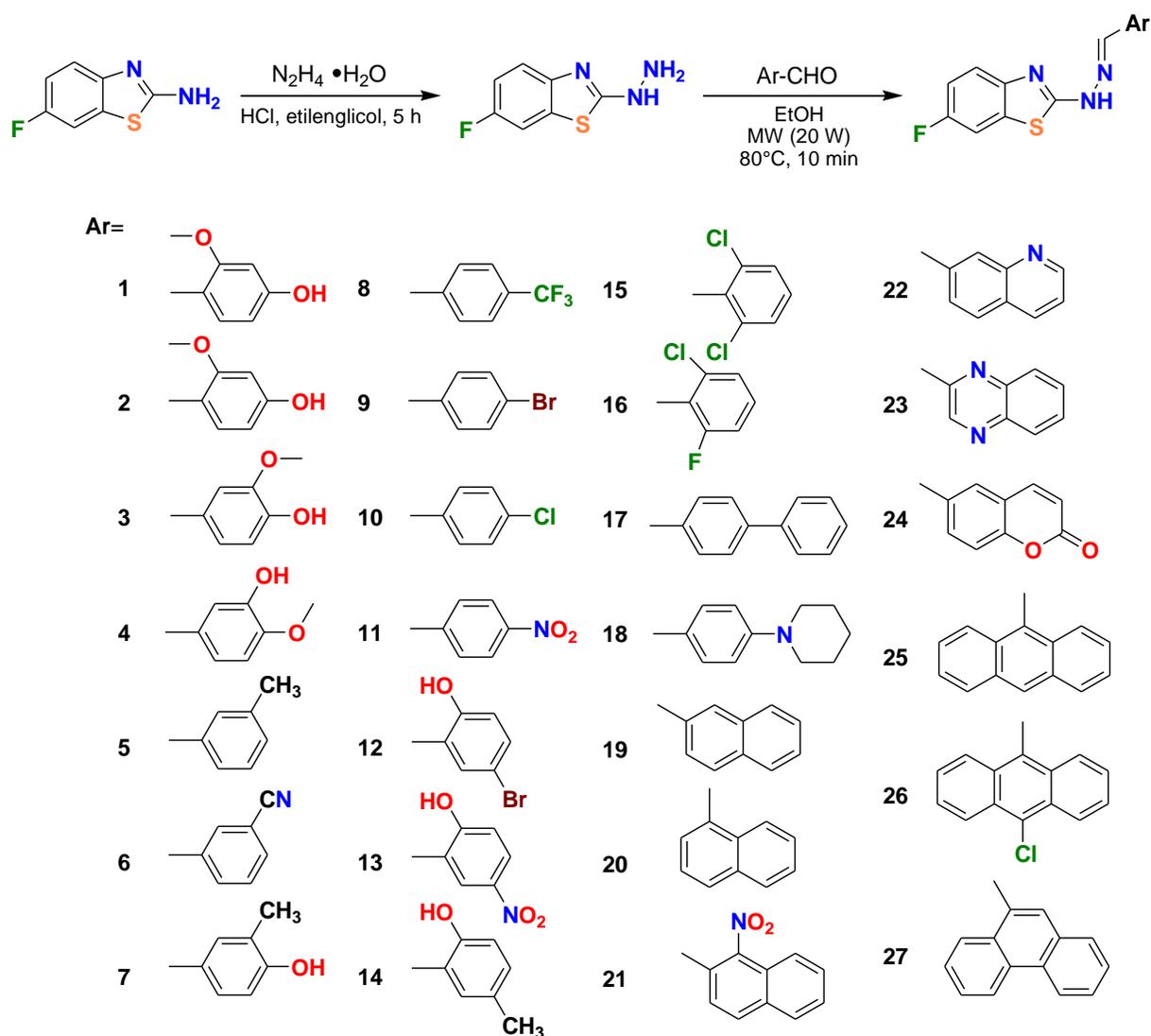
- **pKa y biodisponibilidad:** Debido a que el flúor posee la electronegatividad más alta (Pauling, **1939**), este tiene un efecto muy fuerte sobre la acidez o basicidad de los grupos funcionales adyacentes. Dependiendo de la posición del sustituyente de flúor con respecto al grupo ácido o básico en la molécula, se puede observar un cambio importante en los valores de pKa. Por ejemplo, el pKa del ácido acético y sus análogos fluorados son de 4,76 para CH₃COOH, 2,59 para el CH₂FCOOH, 1,24 para el CHF₂COOH y 0,23 para CF₃COOH (Swain & Rupniak, **1999**). Por lo tanto, si el átomo de flúor se encuentra en una posición más cercana al heteroátomo o bien se aumenta el número de átomos de flúor, menor será el pKa de la molécula (en compuestos nitrogenados, este parámetro está en función de la molécula ionizada). La modulación del pKa puede repercutir en la biodisponibilidad al afectar el proceso de absorción (Smith, Waterbeemd, & Walker, **2006**). Todo lo anterior se traduce en una mejor permeación de la membrana de un compuesto y por lo tanto una biodisponibilidad mejorada (López & Romero, **2011**).

- **Estabilidad metabólica:** La estabilidad metabólica es uno de los factores clave en la determinación de la biodisponibilidad de un compuesto. En términos generales, la introducción de flúor en moléculas con actividad biológica puede utilizarse para modificar el metabolismo de los mismos (López & Romero, **2011**). Los compuestos lipofílicos tienen una tendencia a ser oxidados por las enzimas del hígado, en particular, por el citocromo P450.

El flúor provee un aumento de la polaridad a la molécula, por lo que una estrategia para este problema es bloquear el sitio metabólicamente lábil con un sustituyente fluorado y a su vez esperar que este sustituyente no perjudique a los sitios de unión a la proteína diana. Dentro de la química medicinal el flúor se ha convertido en una herramienta esencial en el descubrimiento de nuevos fármacos con propiedades únicas. La sustitución de grupos funcionales o átomos de hidrógeno en algunos medicamentos con átomos de flúor puede tener una variedad de efectos importantes sobre las propiedades de las moléculas, aumentando su selectividad, su eficacia, o haciéndolas más fáciles de administrar. Así que, no es de extrañar que actualmente una quinta parte de todos los medicamentos en el mercado contienen al menos un átomo de flúor (López & Romero, **2011**).

2. ANTECEDENTES

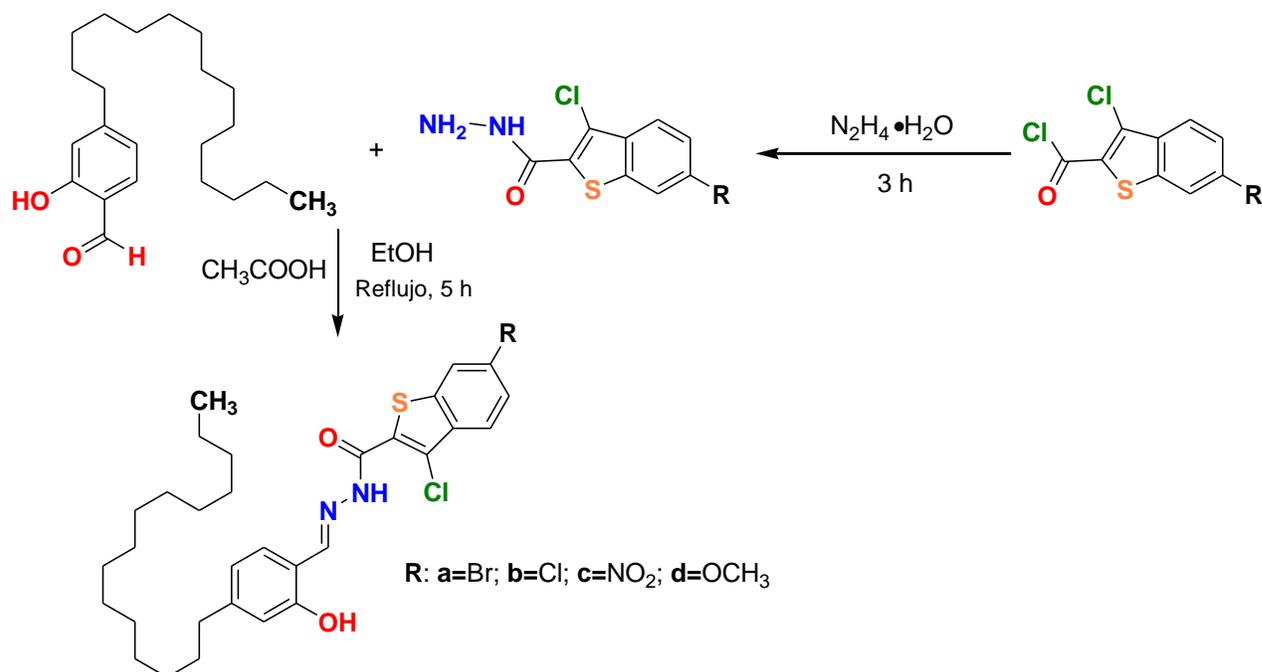
Las bases de Schiff han jugado un papel importante como modelos estereoquímicos tanto por su accesibilidad preparativa como por su variabilidad estructural (Metelitsa *et al.*, **2006**). Un ejemplo de la variabilidad sistemática de las bases Schiff y compuestos relacionados fluorados, es su potencial biológico como anticancerígeno. Un ejemplo ilustrativo es el informe de Gabr y colaboradores (Gabr, *et al.*, **2015**), en el cual se reporta la síntesis de una serie de 27 hidrazonas de mediante la reacción de 2-amino-6-fluorobenzotiazol con hidrato de hidrazina para posteriormente formar el derivado de la base de Schiff utilizando diferentes aldehídos aromáticos (Esquema 1).



Esquema 1. Síntesis de bases de Schiff con derivados de benzotiazol.

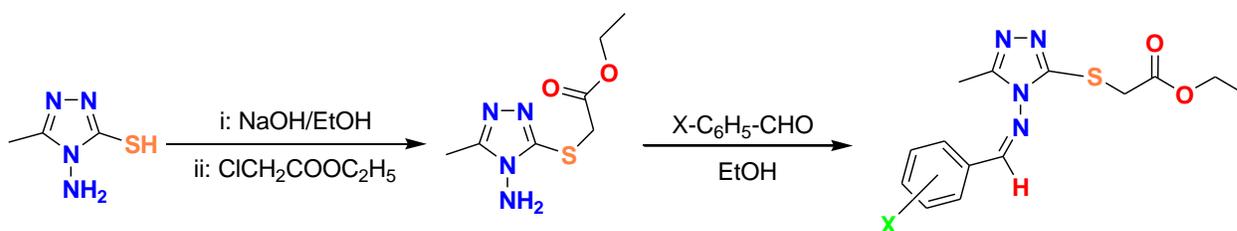
A estos análogos de las bases Schiff se les evaluó su actividad antitumoral contra el cáncer cervical (Hela) y el cáncer de fibroblastos de riñón (COS-7), donde 6 compuestos mostraron una actividad prometedora contra el cáncer cervical y uno contra el cáncer de fibroblastos de riñón en comparación con la doxorrubicina como agente antitumoral de referencia.

Dos de las propiedades principales de estos compuestos imínicos y de gran interés en el presente trabajo son su actividad antimicrobiana y antifúngica (Shi *et. al.*, 2007; Guo *et. al.*, 2007). Un artículo publicado por Naganagowda y colaboradores (Naganagowda *et. al.*, 2014) reportó la síntesis de nuevos compuestos relacionados con las bases de Schiff por reacción del 2-hidroxi-4-pentadecilbenzaldehído con hidrazida de ácido benzotiofen-2-carboxílico sustituido con diferentes grupos en la posición 6 del anillo aromático en presencia de ácido acético en etanol (Esquema 2). Los compuestos recién sintetizados exhibieron actividad antibacteriana de baja a moderada contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y actividad antifúngica significativa frente a *Candida albicans* y *Chrysosporium pannical*.



Esquema 2. Síntesis de hidrazonas a partir de 2-hidroxi-4-pentadecilbenzaldehído y derivados del benzotiofeno.

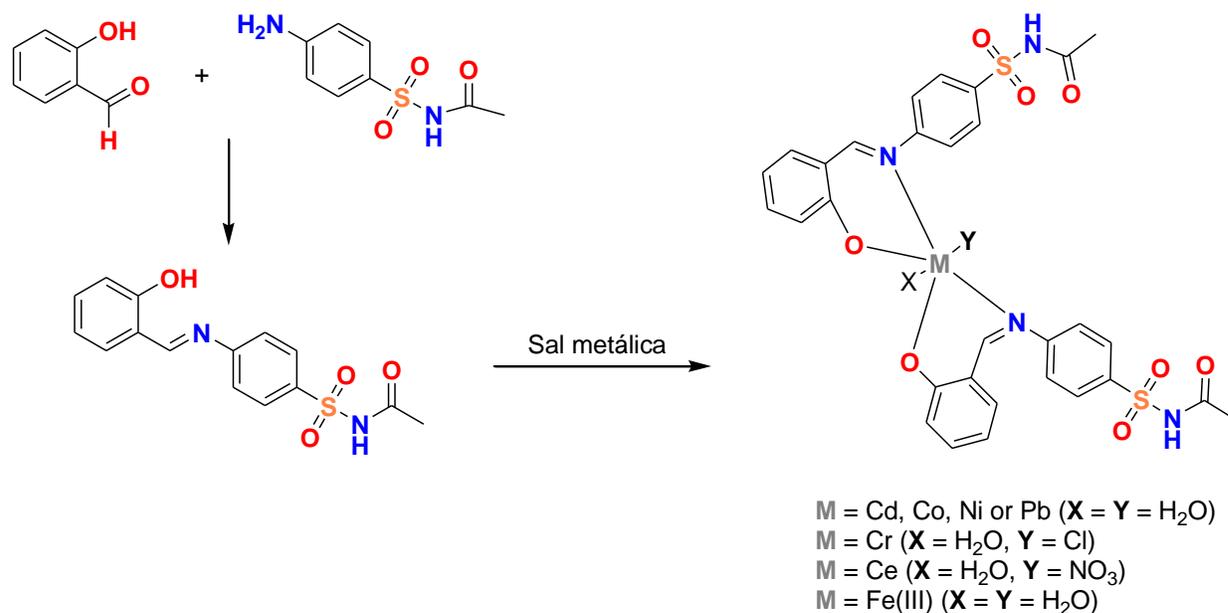
Otro artículo que reporta la actividad antifúngica de los compuestos relacionados de bases de Schiff fue el informe realizado por Yang y colaboradores (Yang *et. al.*, **2014**), en el cual se realizó la síntesis de 9 compuestos relacionados de bases de Schiff del tipo 3-metil-4-(X-bencilidenamino)-5-etoxicarbonilmetilsulfanil-1,2,4-triazol en el cual la X hace referencia a diferentes átomos del grupo de los halógenos, que se realizó a partir del 3-metil-4-amino-5-etoxicarbonilmetil sulfanil-1,2,4-triazol y distintos aldehídos aromáticos *p*-sustituídos con diferentes halógenos. (Esquema 3) y se evaluaron contra 4 agentes patógenos vegetales encontrando que 3 de los compuestos presentaron actividad importante contra *Gibberlla saubinetii* y *Fusarium oxysporium f.s.p. niveum*, demostrando que su actividad antifúngica fue mejor que el compuesto de referencia triadimefon, el cual es un fungicida sistémico que actúa por acción preventiva, curativa y erradicante, para el control de oidio, septoriosis y helmintosporiosis en diversos cultivos de cereales, frutas y leguminosas (loveland.cl, **2016**).



Esquema 3. Síntesis de bases de Schiff del tipo 5-etoxicarbonilmethilsulfanil-1,2,4-triazol.

Recientemente la síntesis de complejos metálicos derivados de bases de Schiff ha tenido un crecimiento importante en diferentes campos de investigación en química debido a la gran variedad de propiedades que se les han encontrado. Las bases de Schiff son una clase importante de ligandos que se coordinan a los iones metálicos a través de nitrógeno imínico y este tipo de interacciones se ha estudiado ampliamente. En los compuestos imínicos, el enlace C=N es esencial para la actividad biológica, se han reportado una gran diversidad de compuestos con notable actividad como antibacterianos, antifúngicos, anticancerígenos y actividades antipalúdicas (Annappoorani & Krishnan, **2013**). Un artículo escrito este año y de gran interés debido a los microorganismos utilizados en la evaluación biológica fue el de Abu-Khadra (Abu-Khadra, **2016**) y colaboradores, en el cual sintetizaron una nueva serie de complejos metálicos de bases de Schiff a partir de la formación de la base mediante la reacción de 2-hidroxibenzaldehído con sulfacetamida y posteriormente la formación de complejos

con Ag(I), Cd(II), Ce(III), Co(II), Cr(III), Fe(III), Ni(II) y Pb(II) (Esquema 4). Varios de los complejos fueron seleccionados por su actividad antibacteriana prometedora contra bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis* y *Sterptococcus pneumoniae*) y antifúngica (*Aspergillus fumigates* y *Candida albicans*).



Esquema 4. Síntesis de complejos metálicos de bases de Schiff.

En lo que respecta a los compuestos fluorados, como se comentó en el apartado anterior, es uno de los grupos de compuestos organohalogenados con mayor importancia y alto potencial en el diseño de nuevos fármacos.

En la actualidad, tres medicamentos de los diez más vendidos contienen átomos de flúor. Uno de ellos es el agente hipolipemiante de Pfizer, Lipitor® (atorvastatina, figura 2) que tiene un sustituyente flúor aromático; asimismo, el inhibidor de la bomba de protones de transporte activo primario, Prevacid® (lansoprazol, figura 3) incluye una unidad trifluorometilo y el componente de combinación contra asma Seretide® (fluticasona, figura 4), producto de GlaxoSmithKline que posee tres sustituyentes flúor en diferentes partes de la molécula (Duschinsky *et. al.*, 1957).

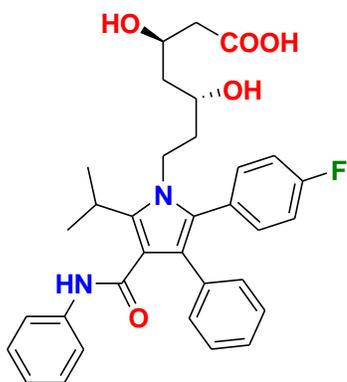


Figura 2. Atorvastatina.

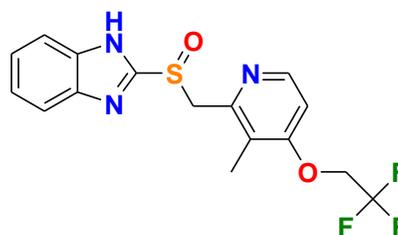


Figura 3. Lansoprazol.

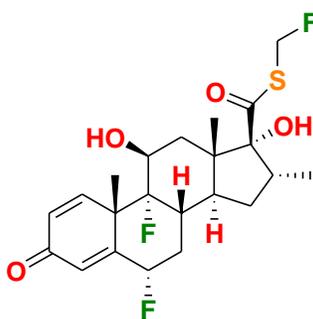
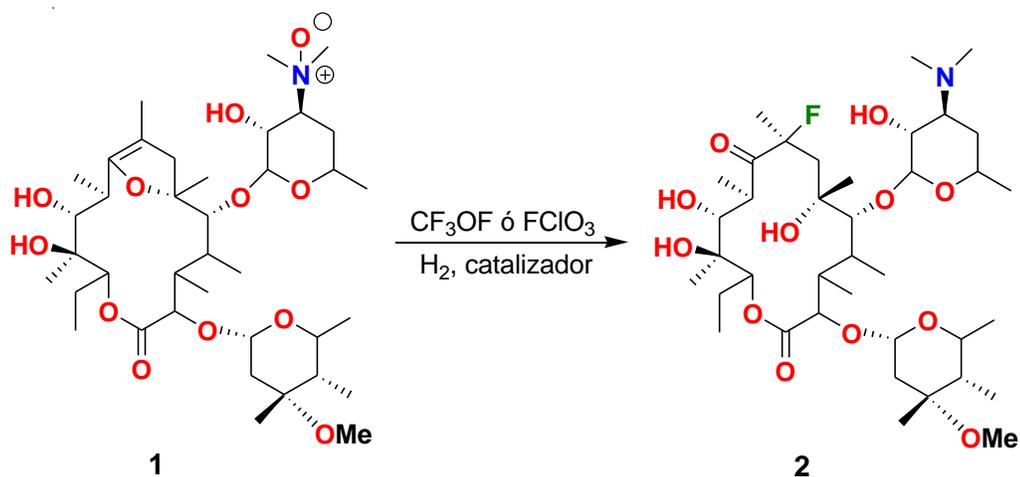


Figura 4. Fluticasona.

Un ejemplo importante de la influencia del flúor en las propiedades de un fármaco es el análogo fluorado de la eritromicina, la fluritromicina (**2**, esquema 5). La primera es un antibiótico producido por *Saccharopolyspora erythraeus* (E.E.S. Abbott Laboratories, **2000**) eficaz contra una amplia gama de bacterias patógenas, se utiliza también contra infecciones como bronquitis y la enfermedad del legionario. Es especialmente importante para el tratamiento de pacientes que son alérgicos a la penicilina (Committee on Infectious Diseases, **2000**). Sin embargo, la eritromicina es inadecuada para el tratamiento de infecciones causadas por *Helicobacter pylori* que causa gastritis, ya que a pesar de que las tabletas comercialmente disponibles presentan recubrimiento entérico, se descompone bajo las condiciones ácidas del estómago evitando que el fármaco llegue al sitio blanco (AHFS Drug Information , **2004**). La fluritromicina, también conocida como 8-fluoroeritromicina, es un análogo monofluorado lanzado en 1997 en Italia por Poli Industria Chimica bajo el nombre comercial de Flurizic®, sintetizado mediante la fluoración de *N*-óxido de 6,9-hemicetal A 8,9-anhidroeritromicina con hipofluorito de trifluorometil o fluoruro de perclorilo (Esquema 5) (Lin, You, & Cheng, **2011**). La fluritromicina tiene una vida media biológica más larga, mejor biodisponibilidad y alcanza concentraciones más altas en los tejidos, además de presentar un mejor efecto terapéutico en el tratamiento de la gastritis y otras infecciones

bacterianas en comparación con la eritromicina, esto gracias a las características que le confiere la inclusión del átomo de flúor en su estructura (Mabe, Eller, & Champney, 2004).



Esquema 5. Síntesis de fluoritromicina.

Otro ejemplo importante de fármacos fluorados es el Efavirenz (Figura 5), una molécula producida por Bristol-Myers Squibb y comercializada bajo el nombre de Sustiva® y Stocrin®, es un inhibidor de la transcriptasa inversa utilizado en pacientes con VIH. En su estructura el grupo trifluorometilo se encuentra unido a un centro estereogénico en un anillo heteroalifático. El Efavirenz actúa mediante la unión a la enzima transcriptasa inversa, a distancia del sitio activo, alterando su conformación e inhibiendo a la enzima. En 2001, se encontró que los tratamientos combinados con Efavirenz resultaron ser más activos contra el retrovirus y fueron mejor tolerados por los pacientes (Plosker *et. al.*, 2001). Estudios de relación estructura-actividad mostraron que la presencia del grupo trifluorometilo mejoró la potencia del fármaco mediante la reducción del pKa del carbamato cíclico, lo que indica una interacción clave del enlace de hidrógeno con la proteína (Rabel *et. al.*, 2001).

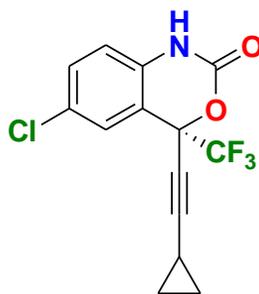
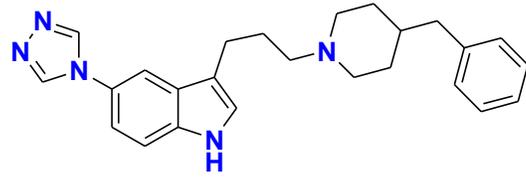
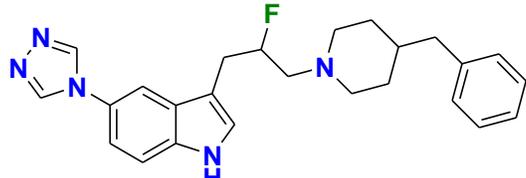
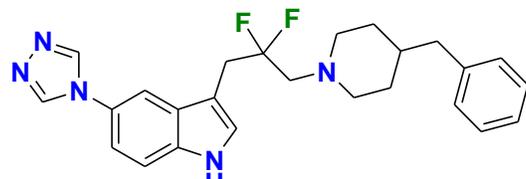


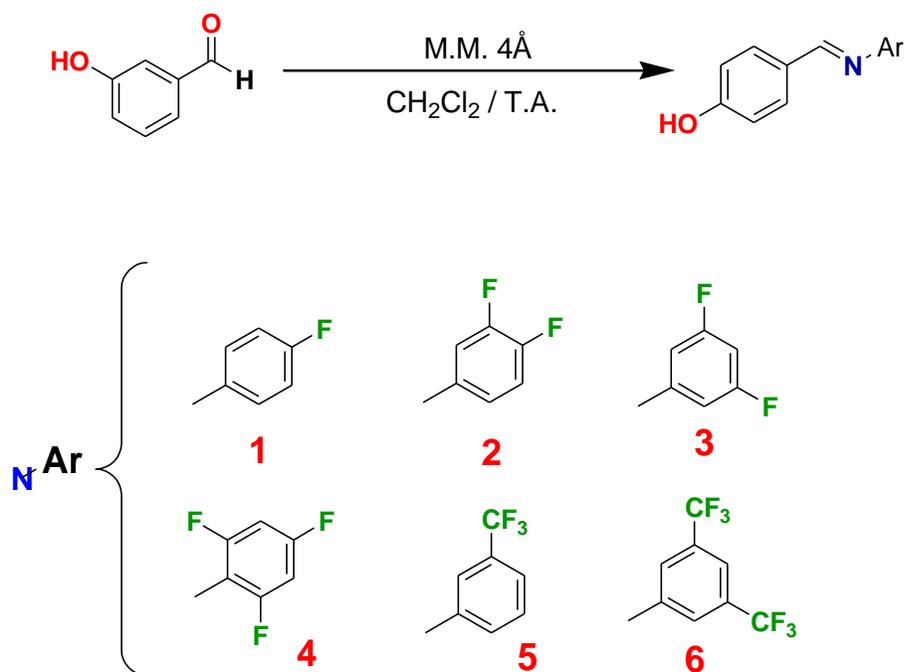
Figura 5. Efavirenz.

Como podemos ver la inclusión de los átomos de flúor en diferentes moléculas les confiere características especiales, tales como resistir condiciones desfavorables en cuanto al pH del organismo, el cual puede causar la degradación de los principios activos y por lo tanto puede afectar su biodisponibilidad (van Niel *et. al.*, 1999) tal como se muestra en el ejemplo del esquema 6, en el que se observa un cambio importante tanto en la biodisponibilidad como en el pKa de la molécula a medida que se aumenta el número de átomos de flúor en su estructura.

	BIODISPONIBILIDAD	pKa
	BAJA	9.7
	BUENA	8.7
	BUENA	6.7

Esquema 6. Relación de la biodisponibilidad y el pKa por incursión de átomos de flúor.

Finalmente, una publicación precedente que sienta una base sólida para el desarrollo de este trabajo fue el realizado por Avila-Sorrosa y colaboradores y publicado en 2015 (Avila-Sorrosa *et. al.*, 2015), en el cual se sintetizó una serie de 6 iminas fluoradas bajo condiciones suaves de reacción mediante la condensación de 3-hidroxibenzaldehído con diferentes anilinas fluoradas, las cuales fueron probadas como agentes antibacterianos contra cepas Gram positivas y Gram negativas, cuyos resultados arrojaron que los compuestos con grupos flúor y trifluorometilo en posiciones *meta*, es decir, los compuestos 3, 5 y 6 mostrados en el Esquema 7, tuvieron un efecto antimicrobiano comparable con la Ampicilina, usado como fármaco de referencia.



Esquema 7. Síntesis de bases de Schiff fluoradas *m*-hidroxisustituídas.

3. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día existen una tasa alarmante de amenazas microbianas y parasitarias emergentes cuya resistencia a los fármacos existentes demandan urgentemente el descubrimiento y desarrollo de nuevos agentes quimioterapéuticos más eficaces, con nuevos mecanismos de acción y actividad mejorada.

El flúor es un protagonista emergente muy importante en la síntesis orgánica y representa una estrategia efectiva en la obtención de compuestos farmacológicamente significativos. A pesar de la abundancia de este elemento, es muy difícil encontrar compuestos orgánicos fluorados de forma natural. La mayoría de estos compuestos se han sintetizado en el laboratorio. El fluor es el único capaz de imitar al átomo de hidrógeno en virtud de su tamaño con la diferencia de tener una gran capacidad electroattractora combinada con la energía de enlace C-F que mejora significativamente la estabilidad metabólica y la lipofilicidad y facilitando la permeación en barreras biológicas.

Por otro lado, las iminas han demostrado ser compuestos nitrogenados con variadas funciones biológicas, que conduce a su empleo como agentes antibacterianos, antifúngicos, analgésicos, anticancerígenos y antiinflamatorios; además, su gran versatilidad en cuanto a variación estructural permite el diseño de moléculas con propiedades únicas y dirigidas a una función específica.

Por lo anterior se plantea la síntesis de una serie de compuestos imínicos fluorados dirigidos como agentes antimicrobianos.

4. HIPÓTESIS

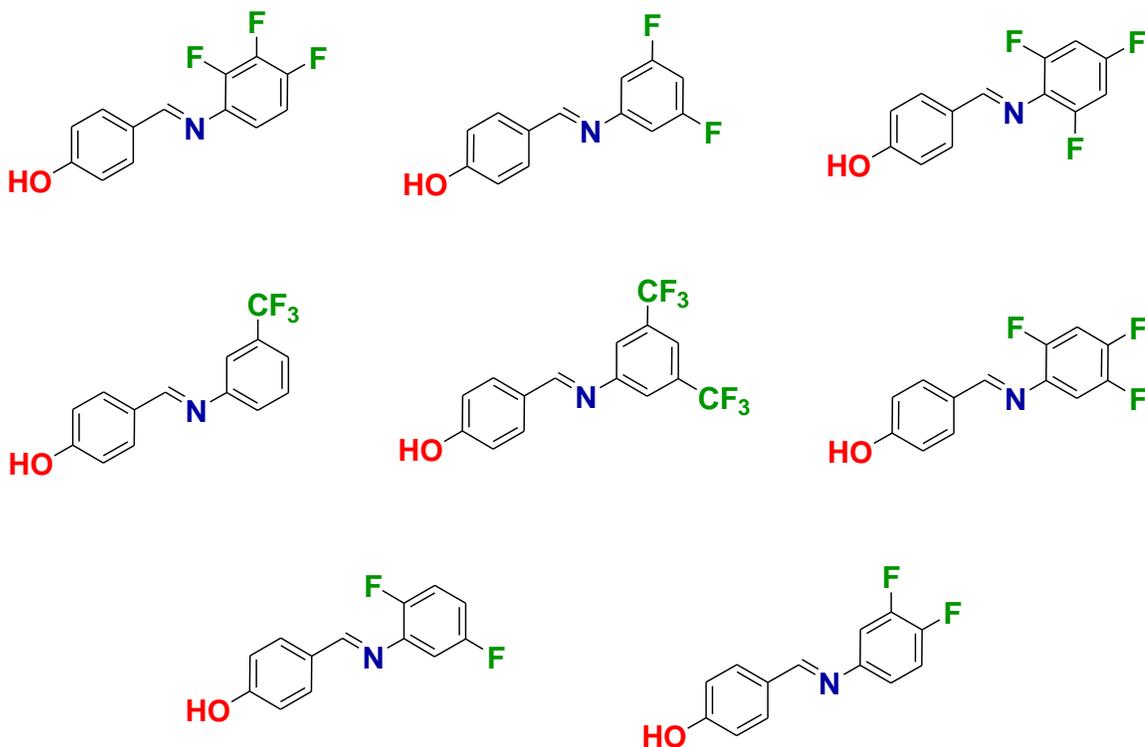
Dado que las bases de Schiff y compuestos relacionados han demostrado ser farmacóforos con múltiples funciones biológicas destacando su uso como agentes antimicrobianos y antifúngicos, y a que son considerados grupos funcionales privilegiados por permitir de una manera muy fácil su variación estructural mediante la introducción de diferentes grupos funcionales y con ello dirigir las propiedades físicas, químicas y biológicas, se plantea la síntesis de una serie de bases de Schiff mediante reacciones de condensación que permitirán la introducción de átomos de flúor buscando potenciar su actividad antimicrobiana.

5. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar una serie de bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas empleando reacciones sencillas de condensación con *p*-hidroxibenzaldehído y diferentes anilinas fluoradas. La serie de compuestos serán evaluados como agentes antimicrobianos y antifúngicos.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

- Llevar a cabo la síntesis de las siguientes bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas mediante la condensación de aldehídos aromáticos con anilinas fluoradas:

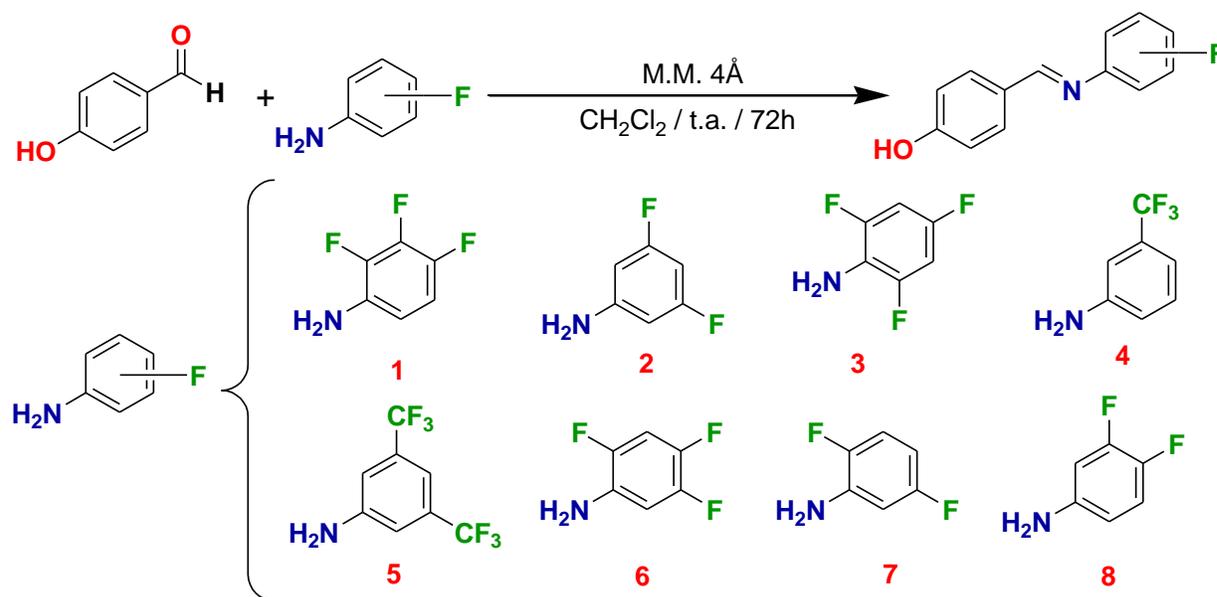


- Determinar las propiedades fisicoquímicas de cada una de las bases de Schiff y su caracterización espectroscópica y espectrométrica mediante IR, EM-IE, RMN-¹H, RMN-¹³C{¹H}, RMN-¹⁹F y análisis por difracción de rayos X.
- Realizar la evaluación biológica de los compuestos sintetizados.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Síntesis de las bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas

Las diferentes bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas fueron sintetizadas utilizando un método sencillo y asequible desarrollado por nuestro grupo de investigación y reportado en publicaciones precedentes a este trabajo (Avila-Sorrosa *et. al.*, 2015). La síntesis se realizó mediante reacciones de condensación entre diferentes anilinas fluoradas y *p*-hidroxi-benzaldehído (Esquema 8) empleando mallas moleculares de 4 Å. Este método resultó eficiente en la obtención de los compuestos, dando lugar a sólidos microcristalinos blancos y en algunos casos a sólidos cristalinos incoloros, con rendimientos del 78% al 90% que de acuerdo con Vogel, se consideran de buenos a excelentes (Vogel *et. al.*, 1989). La mayoría de los compuestos sintetizados presentaron puntos de fusión por arriba de los 100°C y todos ellos mostraron solubilidad en disolventes polares (MeOH, *i*-PrOH, DMSO). Todos los compuestos mostraron estabilidad en condiciones de luz, temperatura y humedad ambiental, sin embargo se acondicionaron empleando atmósfera de nitrógeno y protegidos de la luz.



Esquema 8. Procedimiento general de síntesis de las bases de Schiff *p*-hidroxisustituídas.

La purificación de estas bases de Schiff se realizó mediante recristalización por calentamiento ligero con AcOEt y filtración con un posterior secado al alto vacío; en el caso de los compuestos **3** y **5**, los cuales fueron solubles en CH₂Cl₂, se aislaron mediante una extracción líquido-líquido utilizando una solución saturada de NaHSO₃ en un embudo de separación para lograr la migración del *p*-hidroxibenzaldehído a la fase acuosa; la fase orgánica fue eliminada empleando vacío.

Durante el transcurso de las reacciones, en la mayoría de ellas se observó la formación de sólidos cristalinos insolubles en el CH₂Cl₂, lo cual fue indicativo de la polaridad de los compuestos (muy polares) lo cual posteriormente fue corroborado mediante pruebas de solubilidad con disolventes de distintas polaridades.

El catalizador utilizado en estas reacciones fueron las mallas moleculares de 4 Å, también conocidos como tamices moleculares, los cuales son un catalizador heterogéneo compuesto por aluminosilicatos metálicos cristalinos que tienen una red de interconexión tridimensional de tetraedros de sílice y alúmina, los cuales son Na₂O, Al₂O₃ y un pequeño porcentaje de SiO₂. El agua de hidratación se elimina por calentamiento para producir cavidades uniformes que adsorben selectivamente moléculas de un tamaño específico, por lo cual deben sufrir un proceso de activación mediante calentamiento en un horno de secado y utilizarlas inmediatamente para que dichos tamices no absorban el agua y gases del medio ambiente (sigmaaldrich.com, **2016**), por lo cual en esta metodología también fungen como un agente desecante.

Los tamices moleculares han demostrado recientemente utilidad en procedimientos orgánicos sintéticos, permitiendo con frecuencia el aislamiento de los productos deseados a partir de reacciones de condensación que se rigen por equilibrios generalmente desfavorables, como en el caso de las iminas, ya que muchas iminas de estructura sencilla son muy inestables frente a la hidrólisis, desplazando el equilibrio hacia el lado de los reactivos (Allinger *et. al.*, **1986**).

7.2 Caracterización espectroscópica

Todos los compuestos fueron caracterizados por métodos espectroscópicos (IR-KBr; EM-IE, RMN-¹H, RMN-¹³C{¹H} y RMN-¹⁹F) y en algunos casos donde se obtuvieron cristales con características adecuadas se realizó análisis por difracción de rayos X de

monocristal. Los análisis anteriores permitieron establecer de forma inequívoca la identidad de las diferentes estructuras de la serie de compuestos imínicos fluorados aquí presentados, observando en cada una de las bases de Schiff obtenidas un solo estereoisómero.

7.2.1 Análisis vibracional por espectroscopía infrarrojo

En los espectros de IR se presenta un caso especial en la banda de estiramiento del enlace -OH del anillo aromático, que normalmente aparece en aproximadamente ν 3610 cm^{-1} , pero debido a que la molécula presenta interacciones por puente de hidrógeno con el nitrógeno imínico, las bandas de estiramiento se encuentran traslapadas con la señal correspondiente al enlace $\text{C-H } sp^2$, localizadas en un intervalo de ν $3080\text{-}3030\text{ cm}^{-1}$, posteriormente en la llamada zona de la huella digital se encuentran las bandas de estiramiento pertenecientes al sistema C=C-F , las cuales en la bibliografía se reportan en un intervalo de ν $1350\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ (Pretsch *et. al.*, 2009), pero al igual que las bandas anteriores, al encontrarse traslapadas dificultan su identificación. En la Figura 6 se muestra como ejemplo el espectro de IR del compuesto **1**, donde se corrobora lo antes descrito.

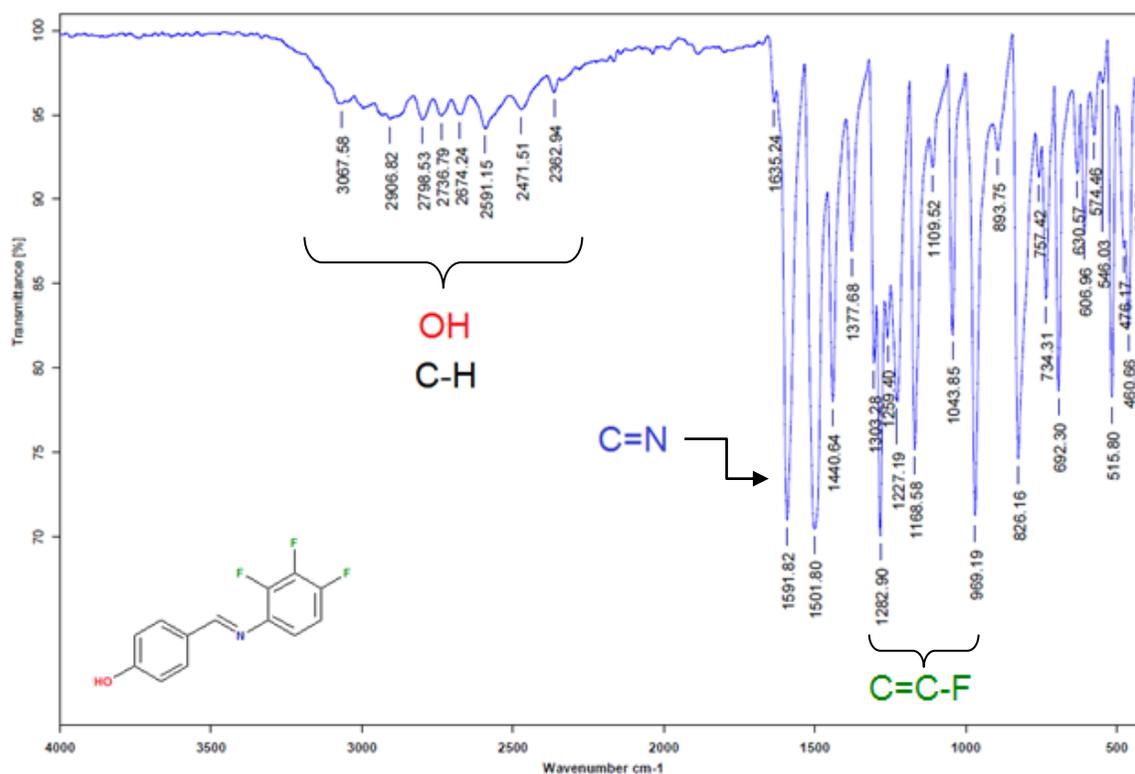
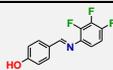
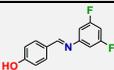
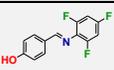
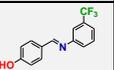
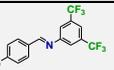
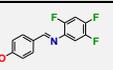
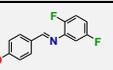
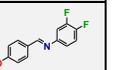


Figura 6. Espectro de IR del compuesto **2.4** y principales bandas de vibración.

En relación de la señal diagnóstica de los diferentes compuestos fluorados correspondiente a la vibración de estiramiento C=N, se muestran los valores en números de onda en la Tabla 1. El valor de número de onda más bajo corresponde al compuesto **7**, mientras que el más alto se presenta para el compuesto **3** (Tabla 1).

Tabla 1. Número de onda de la banda imínica en la espectroscopía IR.

Compuesto	1	2	3	4	5	6	7	8
Molécula								
ν C=N (cm ⁻¹)	1591.8	1574.5	1665	1575	1588.6	1572.4	1571.6	1575.9

7.2.2 Análisis por espectrometría de masas

El análisis por la técnica de impacto electrónico para los diferentes compuestos imínicos, mostraron en todos los casos el ión molecular (M^{•+}), el cual en la mayoría de los compuestos estudiados también representa el pico base. El patrón de fragmentación que exhiben los compuestos son principalmente rupturas del tipo α -heteroátomo, rupturas en puntos de ramificación y pérdida de ácido cianhídrico.

Para ejemplificar el patrón de fragmentación se ha tomado el compuesto **6** con masa molecular de 251.06 g/mol como ejemplo representativo (Figura 7), en el cual se puede apreciar el pico base **A** con una relación m/z = 251 y una abundancia relativa del 100%, siendo al mismo tiempo el ión molecular. Posteriormente el fragmento **B** muestra la pérdida de un hidrógeno, ya que el fragmento presenta una relación m/z = 250 con una abundancia del 97%. Para el caso del fragmento **C** (m/z = 232, 5%), corresponde a la pérdida de un sustituyente flúor del sistema *N*-arílico; aunque la abundancia relativa es apenas del 5%, es un fragmento importante dentro del patrón de fragmentación. El fragmento **D** (m/z = 158, 10%) corresponde a la pérdida del anillo aromático *p*-hidroxisustituído. En lo que respecta al fragmento **E** (m/z = 131, 10%) es consistente del anillo bencénico *N*-arílico sustituido con los átomos de flúor proveniente de una ruptura heterolítica de los fragmentos **B** o **D**. El fragmento **F** (m/z = 93, 5%) se forma por un arreglo electrónico del fragmento **A**, mediante una ruptura heterolítica del enlace

sigma del carbono íminico y una ruptura homolítica del enlace C-N del sistema *N*-arílico. La formación del fragmento **G** ($m/z = 65$, 15%), se forma por un equilibrio ceto-enólico del fragmento **F** y posteriormente la pérdida de monóxido de carbono para la formación de un catión ciclopentadienilo, el cual al ser un compuesto inestable debido a que no cumple la regla de Huckel, sufre la pérdida de un etino y da lugar a un catión ciclopropenilo (fragmento **H**, $m/z = 39$, 10%) el cual es un compuesto aromático y por lo tanto es mucho más estable que el fragmento **G**. Debido a que los fragmentos **G** y **H** se forman a partir del sistema aromático *p*-hidroxisustituído, estos picos son consistentes en todas las espectrometrías de los compuestos analizados. Finalmente, otro fragmento clave para estos compuestos imínicos es la pérdida de ácido cianhídrico (fragmento **I**, $m/z = 28$).

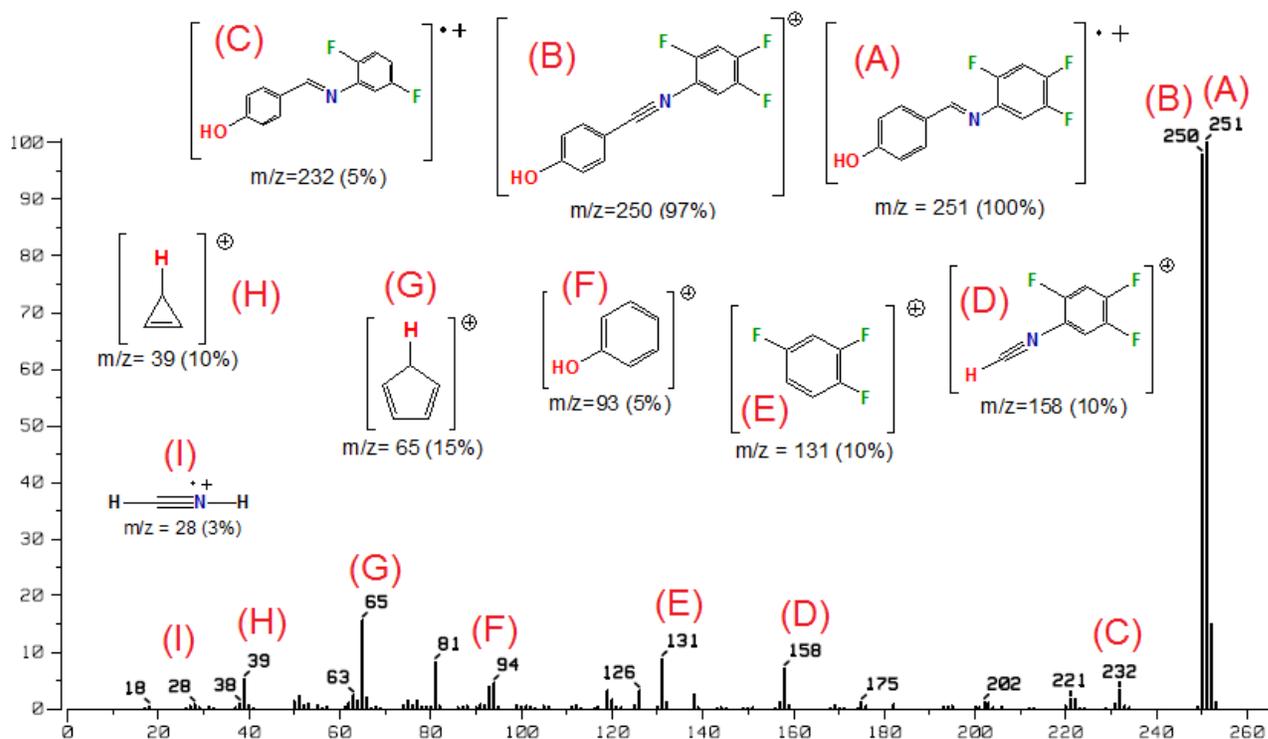
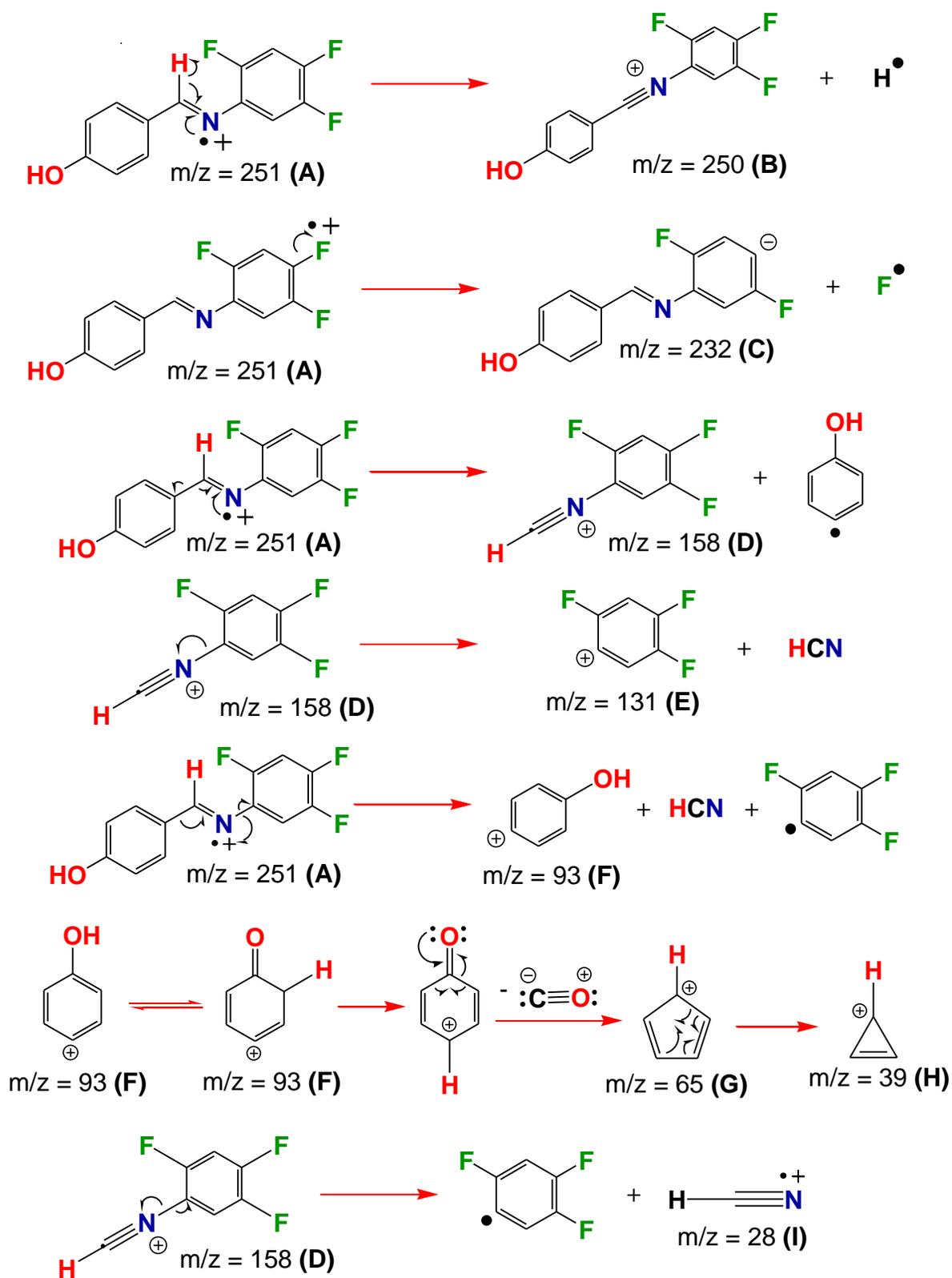


Figura 7. Espectro de masa del compuesto **6** y principales fragmentos.

En el Esquema 9 se muestran los tipos de rupturas del patrón de fragmentación del compuesto representativo **6** de la serie. Se puede observar que la ruptura que genera el fragmento **B**, es una típica ruptura alfa al heteroátomo, en este caso el nitrógeno, la cual da como resultado la pérdida de un átomo de hidrógeno. El fragmento **C** se genera por escisión del enlace entre C-F, el cual en este caso, puede ocurrir en cualquiera de los átomos de flúor del sistema *N*-arílico. La generación del fragmento **D** ocurre por otra ruptura de tipo alfa al nitrógeno, esta vez con la pérdida del anillo bencénico *p*-hidroxisustituído. La formación del fragmento **E** se genera por ruptura heterolítica del enlace C-N del sistema *N*-arílico del fragmento **D**, El fragmento **F** se forma a partir del ión molecular por arreglo electrónico, en primer lugar sufre una ruptura heterolítica del enlace alfa al carbono íminico y posteriormente una ruptura homolítica del enlace C-N del sistema *N*-arílico. La formación del fragmento **G** se forma por un equilibrio ceto-enólico del fragmento **F** y posteriormente la pérdida de monóxido de carbono para la formación de un catión ciclopentadienilo, el cual al ser un compuesto inestable debido a que sólo posee cuatro electrones π y esto hace que no se cumpla con la regla de Hückel (Ege, 2000), sufre la pérdida de un etino y da lugar al fragmento **H**, el cual es un catión ciclopropenilo, que es un compuesto aromático y por lo tanto es mucho más estable que el fragmento **G**. Debido a que los fragmentos **G** y **H** se forman a partir del sistema aromático *p*-hidroxisustituído, estos picos son consistentes en todas las espectrometrías de los compuestos analizados.

Todos los espectros cumplen cabalmente con la regla del nitrógeno, ya que al tener un solo nitrógeno en su estructura, presentan una masa molecular non y posteriormente la formación de fragmentos con masa par.



Esquema 9. Principales rupturas que exhibe el patrón de fragmentación compuesto 6.

7.2.3 Análisis por espectroscopía de RMN (^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ y ^{19}F)

El análisis de RMN para los principales núcleos activos a este tipo de experimentos (^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ y ^{19}F), fueron consistentes en las diferentes estructuras de los compuestos imínicos analizados.

Los espectros de RMN- ^1H muestran en todos los casos las señales esperadas. Por ejemplo, el hidrógeno fenólico es la señal más desplazada a campo bajo y se observa como una señal muy ancha con una multiplicidad simple.

Para facilitar el análisis de los resultados de RMN, se tomará como en los casos anteriores un compuesto representativo para hacer la discusión. Sin embargo, en todos los casos se observó que las señales desplazadas hacia campo más bajo corresponden al hidrógeno fenólico (δ 10–10.5 ppm) que se observa como una señal simple y ancha. En el caso de la señal imínica, la cual es diagnóstica para ese tipo de estructuras, se observó que aparece en aproximadamente δ 8.5 ppm la cual se presenta como un singulete y en todos los casos integra para un hidrógeno.

De manera general, las señales más desplazadas a campo alto, pertenecen a los hidrógenos posicionados en *orto* del sistema aromático *p*-hidroxisustituído, los cuales se observan como señales dobles que pertenecen al sistema AA'BB' que integran para dos hidrógenos, lo cual es consecuencia del alto blindaje que confiere el efecto mesomérico del grupo fenólico.

En la Figura 8, se muestra el espectro de RMN- ^1H , para el compuesto **4**, donde se puede notar la presencia de todas las señales esperadas. Por ejemplo, la señal del grupo $-\text{OH}$ aparece a δ 10.27 ppm. Posteriormente yendo a campo alto se localiza la señal imínica a δ 8.42 ppm. En el intervalo de δ 7.80 ppm aparece una señal con multiplicidad d y una $J= 8.6$ Hz que integra para 2H, y corresponden a los hidrógenos *orto* al carbono imínico; a continuación a δ 7.66 ppm aparece una señal con multiplicidad t y una $J= 16.4$ Hz correspondiente a los hidrógenos 13 y 15, los cuales están sufriendo un efecto inductivo por parte del grupo trifluorometil y por tanto se encuentran menos protegidos electrónicamente que el resto de los hidrógenos del sistema *N*-arílico fluorado. A δ 7.33 ppm se encuentra una señal t con una $J= 7.6$ Hz que pertenece al hidrógeno 12, ya que es un indicativo de que se encuentran dos hidrógenos adyacentes en el sistema aromático *N*-arílico (11 y 13). Hacia campo más bajo a δ 7.24 ppm aparece una señal con multiplicidad d y una $J= 7.9$ Hz que corresponde al hidrógeno 11. Finalmente la señal más desplazada a campo alto en un intervalo de δ 6.93 ppm aparece una señal con multiplicidad d y una $J= 8.6$ Hz correspondiente a los hidrógenos 1 y 3, los cuales son los más protegidos electrónicamente.

Cabe mencionar que todos los compuestos fueron disueltos en $\text{DMSO}-d_6$, razón por la cual a campo alto se nota en todos los casos la presencia de trazas de DMSO y agua a los desplazamientos esperados, δ 2.5 ppm y δ 3.5 ppm respectivamente (Gottlieb *et. al.*, **1997**).

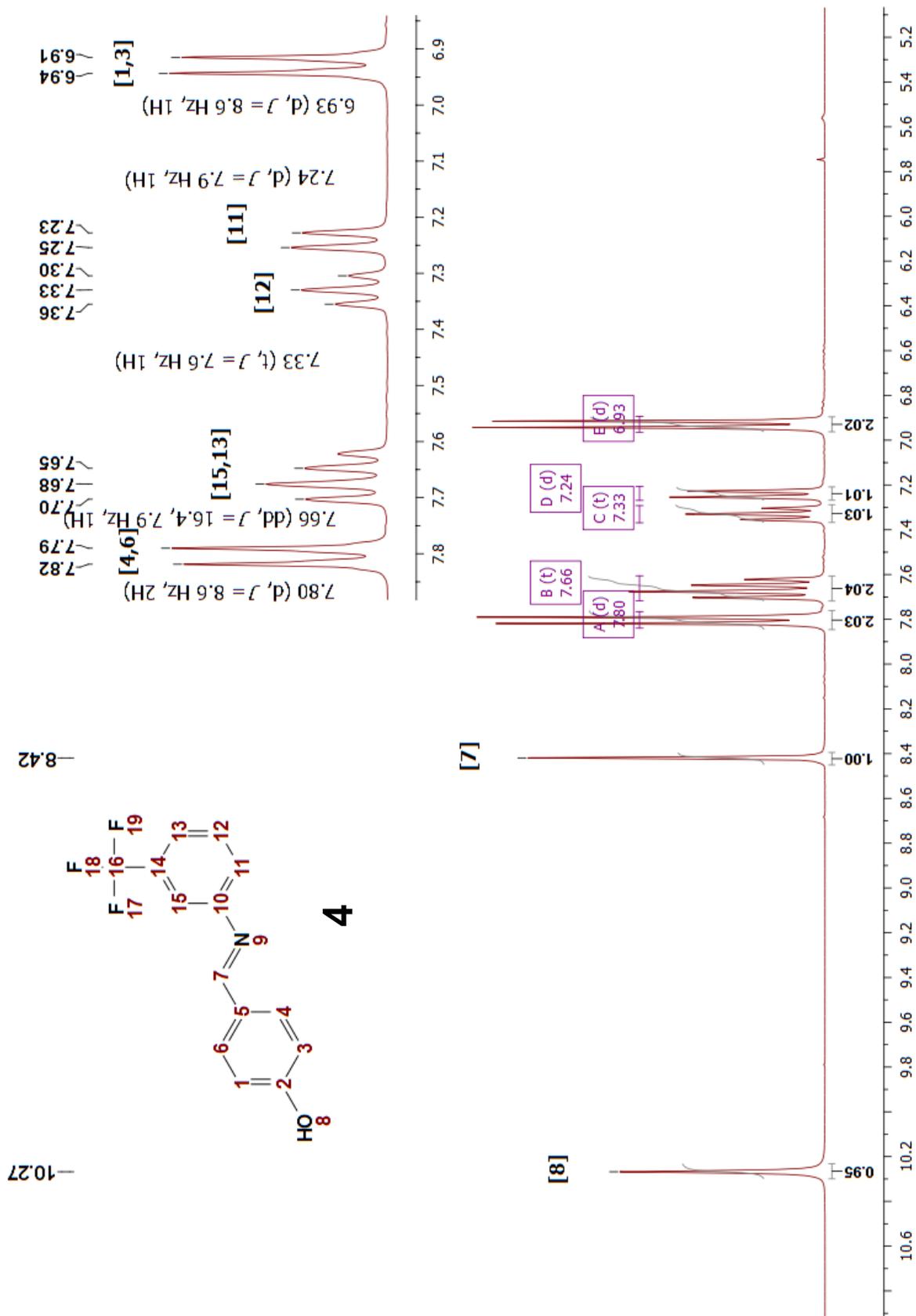


Figura 8. Espectroscopía de RMN-¹H a 300 MHz en DMSO-*d*₆ del compuesto 4

El análisis espectroscópico por RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ fue consistente, con las señales esperadas para las diferentes bases de Schiff fluoradas. De manera general, en todo el conjunto de señales observadas en todos los compuestos analizados, las más desplazadas a campo bajo corresponden a la señal imínica, apareciendo en un intervalo de δ 161-163 ppm, la segunda señal desplazada a campo bajo que también se observa en todos los casos corresponde al carbono unido al grupo $-\text{OH}$, apareciendo en un intervalo de δ 161-162 ppm.

En lo que atañe a los carbonos fluorados, estos se observan como señales de baja intensidad con multiplicidades características del acoplamiento con los átomos de flúor, estas señales son observadas en el intervalo δ 140-165 ppm. Así también, se observan las constantes de acoplamiento características entre C-F, que oscilan entre $^1J_{\text{C-F}}= 240\text{-}250$ Hz y $^4J_{\text{C-F}} 2\text{-}10$ Hz.

Con respecto al sistema fenólico, los carbonos *orto* al carbono imínico se observan como una señal simple y de alta intensidad en alrededor de δ 130-132 ppm, mientras que el carbono cuaternario unido al carbono imínico se presenta alrededor de δ 126-127.5 ppm. De este sistema, el conjunto de señales más desplazadas corresponden, como es de esperar, a los carbonos *orto* al grupo $-\text{OH}$, los cuales también aparecen como señales simples de alta intensidad.

Del sistema *N*-arílico fluorado también se puede destacar que hay acoplamiento a cuatro enlaces de los carbonos que forman parte de este sistema, lo cual se observa con diferentes multiplicidades que presenta, los carbonos localizados en posición *orto* a los átomos de flúor presentan un mayor blindaje, observándose en alrededor de δ 105-120 ppm con multiplicidades *d* y *t* con *J* que oscilan entre 16-26 Hz, dependiendo del número de átomos de flúor así como las posiciones en las que se encuentran distribuidos en el anillo bencénico *N*-arílico, las cuales se reportan de manera particular para cada base de Schiff en el anexo 1.

Para ejemplificar lo anterior, se muestra a continuación el espectro de RMN del compuesto **4** (Figura 9), en el cual podemos observar que la señal más desplazada a campo bajo a δ 161.58 ppm corresponde al carbono imínico, seguido de una señal con δ 161.27 ppm de más intensidad, que pertenece al carbono fenólico. A campo más alto se aprecia una señal simple a δ 150.71 ppm correspondiente al carbono unido al nitrógeno imínico. Posteriormente aparecen un conjunto de señales singuletes correspondientes a distintos carbonos de los sistemas aromáticos de la molécula y en el intervalo δ 121.92 ppm, se puede notar una señal que presenta una multiplicidad cuádruple (q) con $^1J_{C-C}$ de 53 Hz y una $^1J_{C-F}$ 23.9 Hz. Esta señal es asignada al carbono perteneciente al grupo trifluorometil del anillo bencénico *N*-arílico. En el caso de las señales correspondientes al anillo *p*-hidroxisustituído aparecen como singletes en las regiones esperadas, a δ 131.16 ppm para los carbonos *meta* al grupo -OH y δ 115.81 ppm para los carbonos *orto* al grupo -OH, los cuales se encuentran más protegidos.

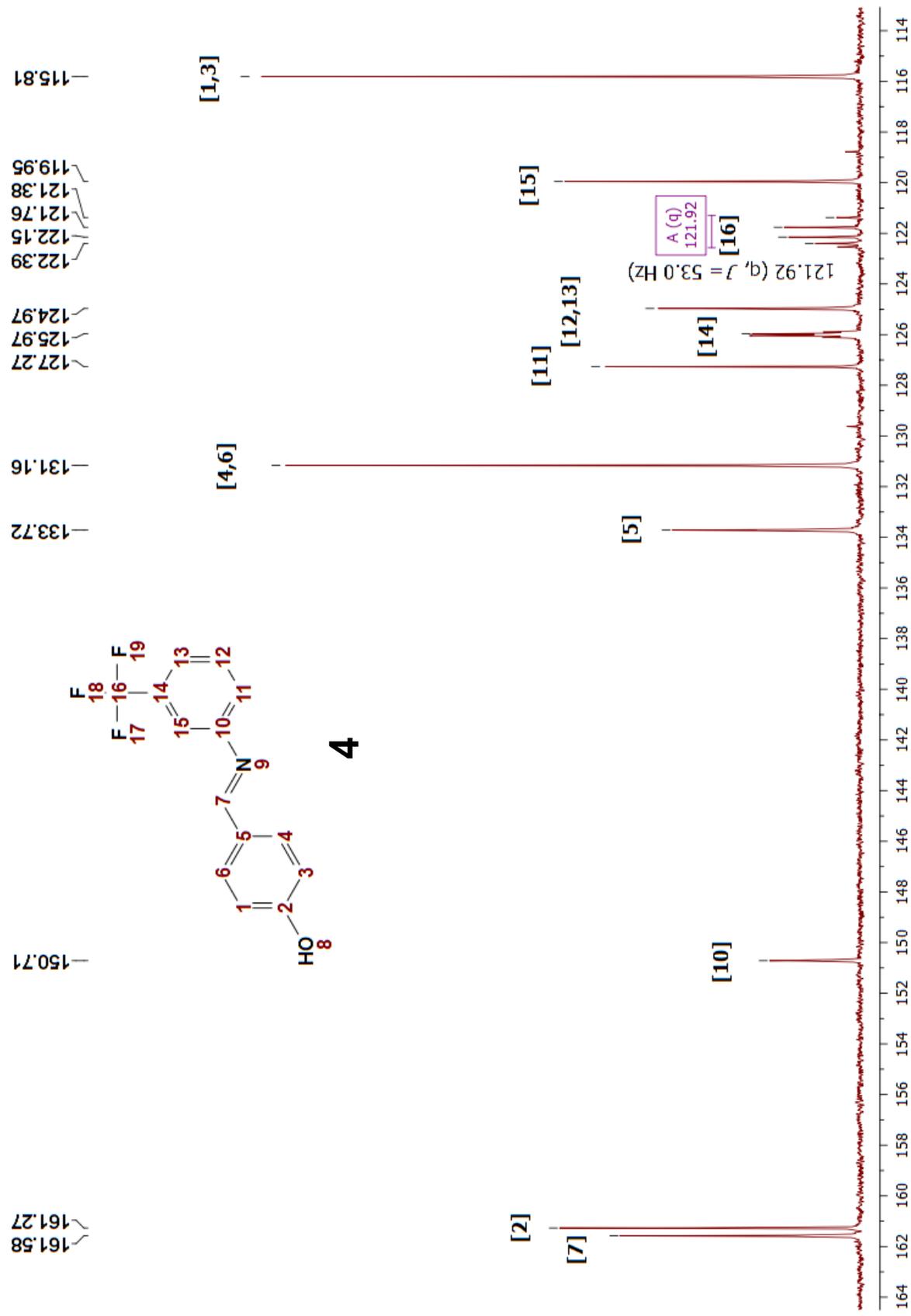


Figura 9. Espectroscopía de RMN ¹³C del compuesto **4** (75 MHz, DMSO-d₆)

El análisis de RMN-¹⁹F es de gran importancia e interés en el análisis estructural de compuestos fluorados. Por lo anterior se realizaron experimentos de RMN-¹⁹F, dando las señales esperadas correspondientes a los diferentes átomos de flúor presentes en los diferentes compuestos. A continuación se describen los espectros de RMN-¹⁹F de cada molécula analizada.

En el compuesto fluorado **1** (Figura 10) en el cual se observan dos conjuntos de señales con multiplicidades dd, la primera aparece de campo bajo a campo alto a δ -139.88 ppm con $^3J_{F-F} = 21.7$ y $^5J_{F-F} = 3.1$ Hz correspondiente al átomo de flúor 16, la segunda señal aparece a δ -147.38 ppm con una $^3J_{F-F} = 20.7$ y $^5J_{F-F} = 3.1$ Hz que pertenece al átomo de flúor 18, estas J son debido a los acoplamientos que sufre el flúor con otro átomo de flúor a 3 y 5 enlaces, los cuales explican las multiplicidades observadas. Finalmente a campo más alto una señal con multiplicidad t a δ -160.83 con una $J = 21.0$ Hz, estas señales corresponden al átomo de flúor 17 del sistema *N*-arílico fluorado.

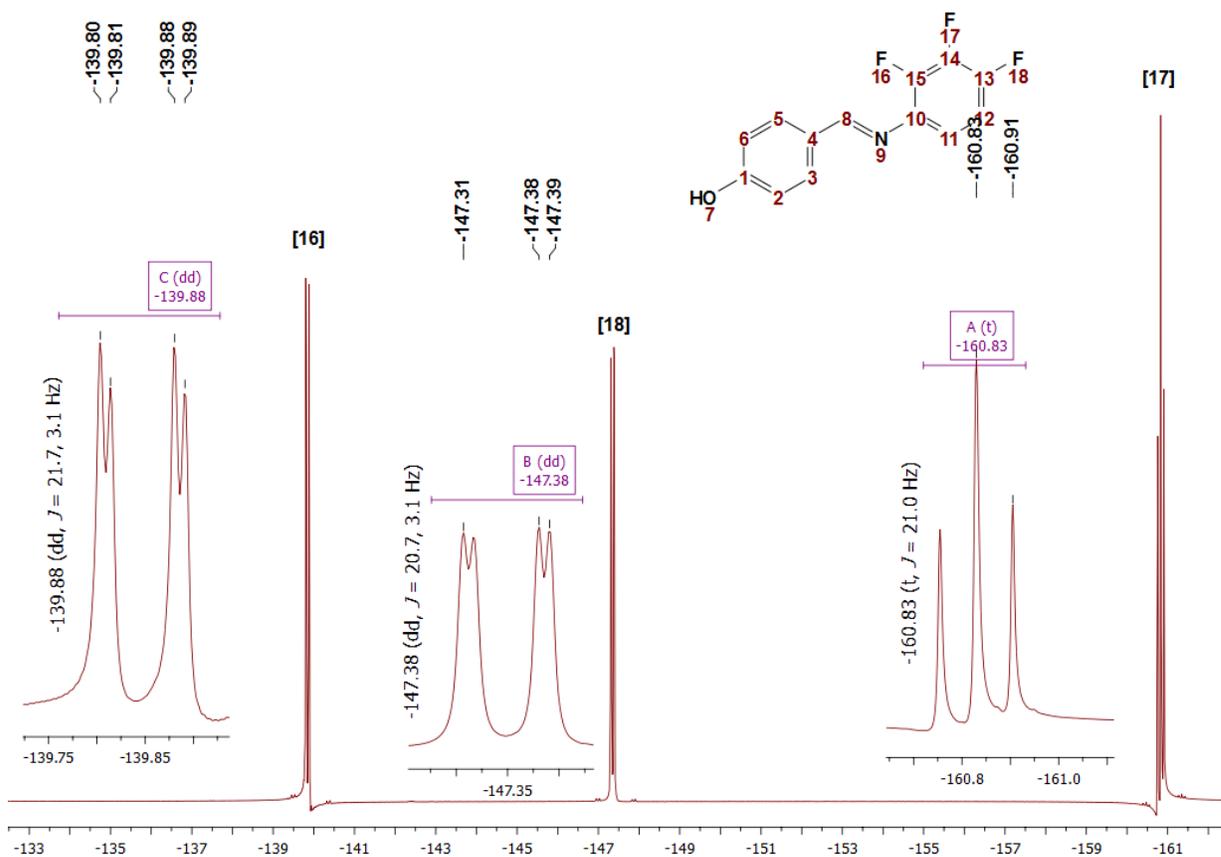


Figura 10. Espectro de RMN-¹⁹F a 283 MHz en DMSO-*d*₆ del compuesto **1**.

Para el caso del compuesto **2** (Figura 11) se observa una señal simple que corresponde a los dos átomos de flúor de las posiciones 16 y 17, lo cual es debido a que ambos átomos de flúor comparten el mismo ambiente químico, cuyo δ es de -109.73 ppm.

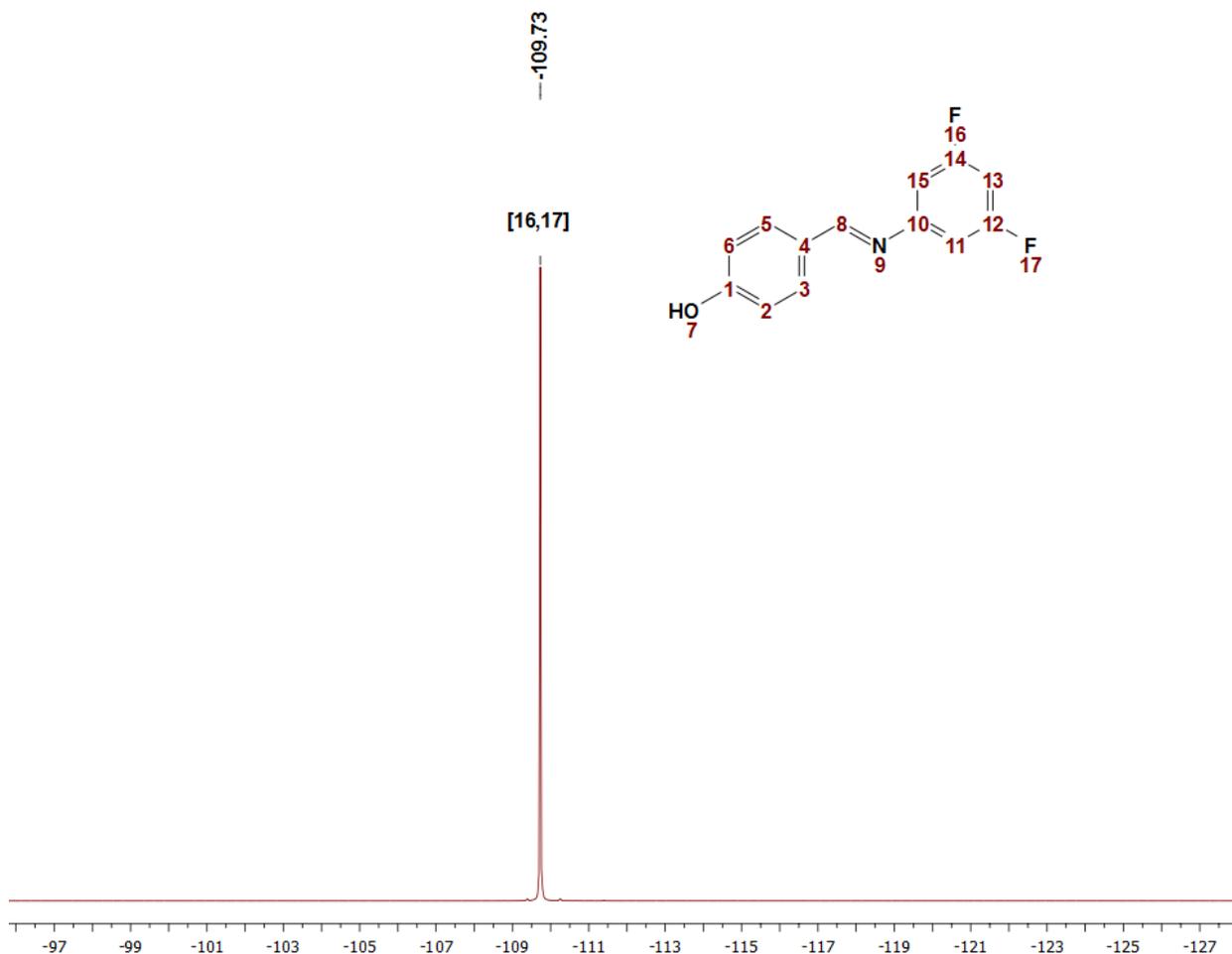


Figura 11. Espectro de RMN- ^{19}F a 283 MHz en $\text{DMSO}-d_6$ del compuesto **2**.

En el compuesto **3** (Figura 12) se aprecian dos señales simples, la más desplazada a campo bajo aparece a δ -114.03 ppm, la cual se asigna al átomo de flúor en la posición *para* (17), mientras que la señal simple más intensa que aparece más desplazada a campo alto con un δ -122.08 ppm corresponde a los dos átomos de flúor en posición *orto* (16 y 18) que comparten el mismo ambiente químico debido a que la molécula presenta simetría.

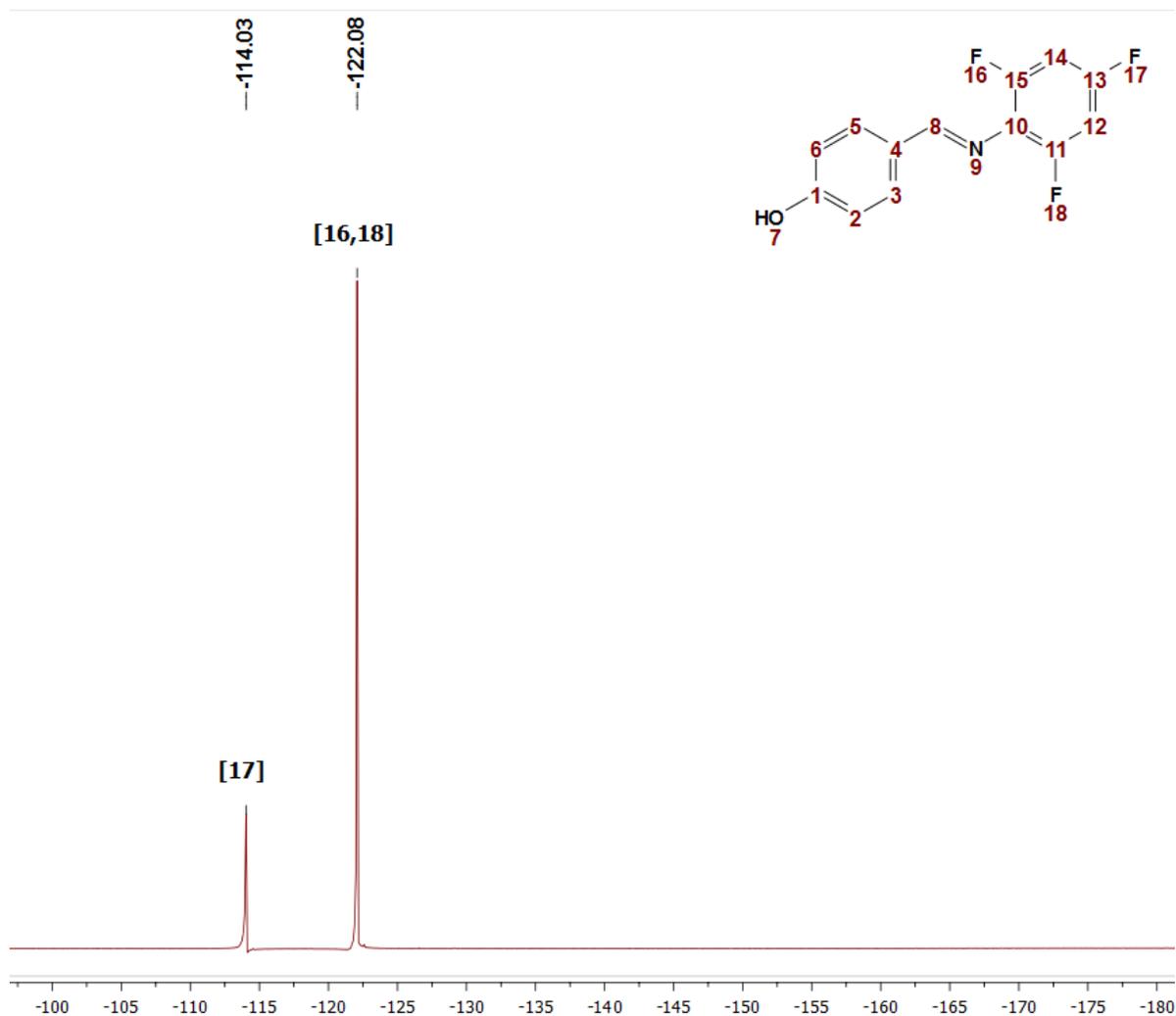


Figura 12. Espectro de RMN- ^{19}F a 283 MHz en $\text{DMSO-}d_6$ del compuesto **3**.

Continuado con el ejemplo del compuesto **4** (Figura 13), el cual presenta en su estructura tres átomos de flúor, se puede apreciar una señal simple con δ -58.89 ppm correspondiente a los tres átomos 17, 18 y 19 del grupo trifluorometil en posición *meta* debido a que comparten el mismo ambiente químico.

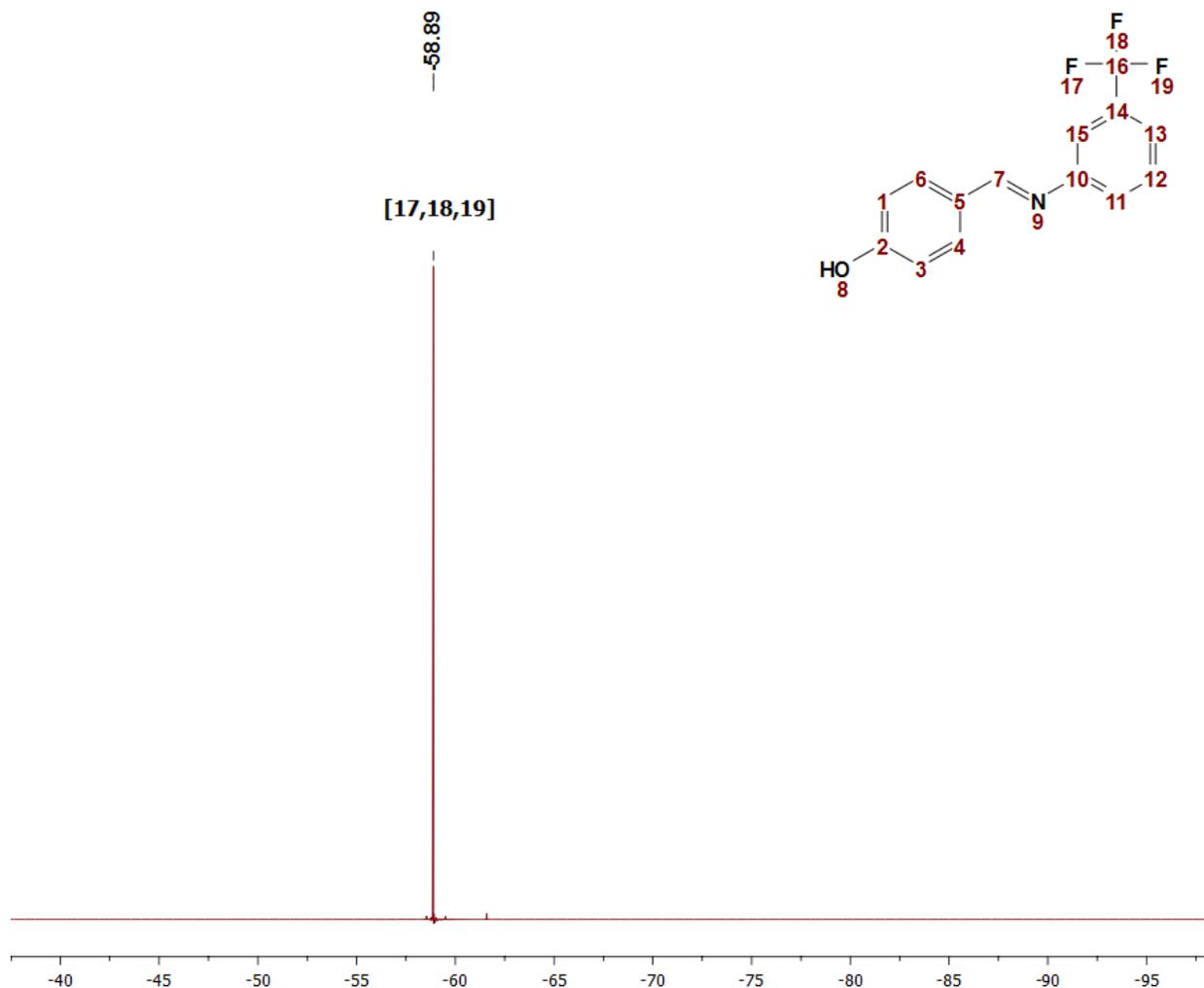


Figura 13. Espectro de RMN- ^{19}F a 283 MHz en DMSO- d_6 del compuesto **4**.

En el compuesto **5** (Figura 14), que posee dos sustituyentes trifluorometilo en posición *meta* al sistema N-arílico, se observa una señal múltiple compleja que aparece entre δ -57.96 ppm debido a la simetría y al mismo ambiente químico que presentan los sustituyentes en la molécula.

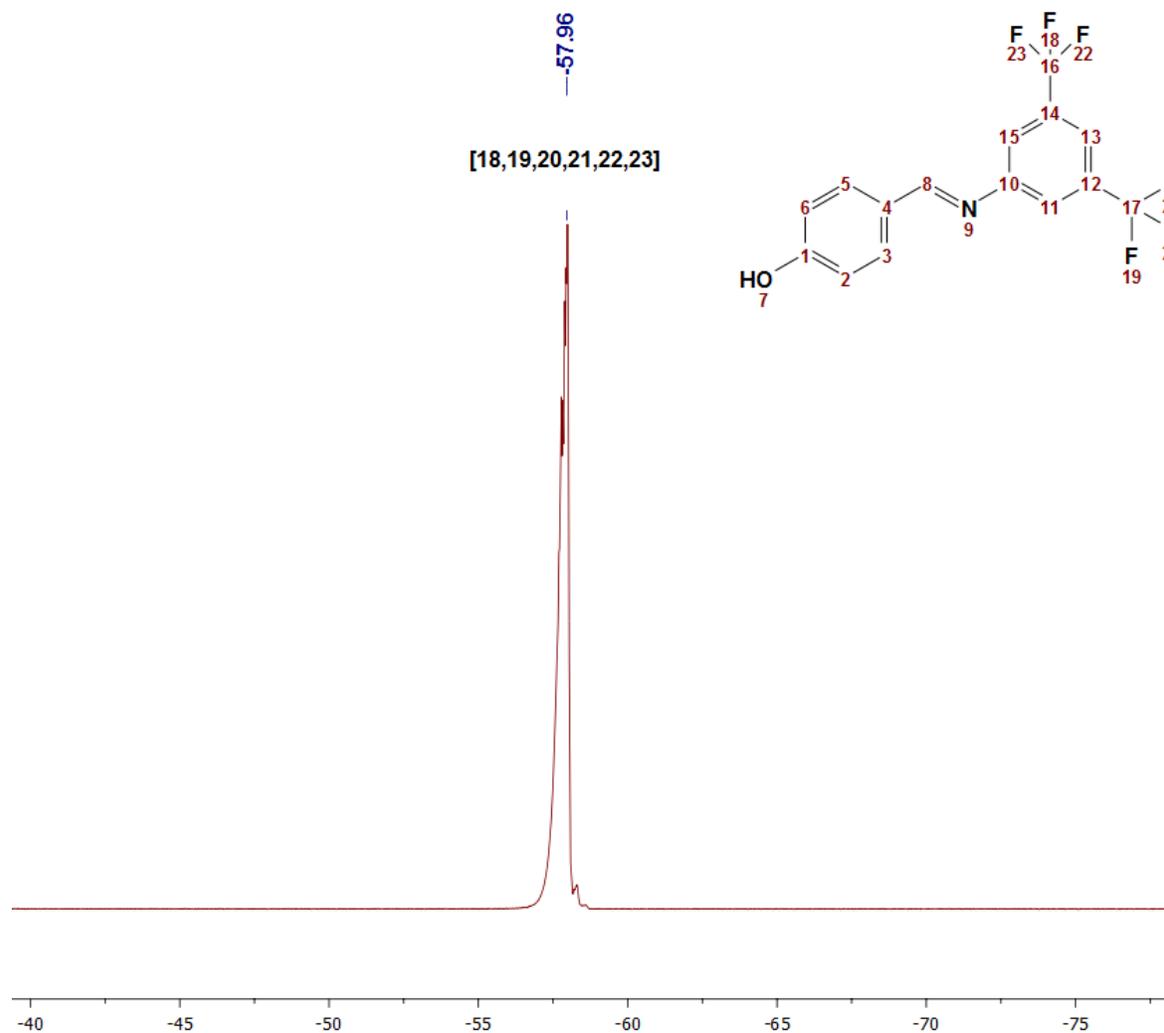


Figura 14. Espectro de RMN- ^{19}F a 283 MHz en DMSO- d_6 del compuesto **5**.

En el compuesto **6** (Figura 15) aparecen dos conjuntos de señales con multiplicidad d, la primera que aparece más desplazada a campo bajo a δ -127.08 ppm con una $J= 13.6$ Hz pertenece al átomo de flúor número 16, en seguida aparece una señal a δ -139.39 ppm con una $J= 23.6$ Hz la cual corresponde al átomo de flúor en posición 18 y finalmente a campo más alto una señal con multiplicidad dd a δ -142.37 ppm con dos constantes de acoplamiento, la primera ${}^3J_{F-F}= 23.3$ Hz y la segunda ${}^5J_{F-F}= 14.6$ Hz perteneciente al átomo de flúor 17.

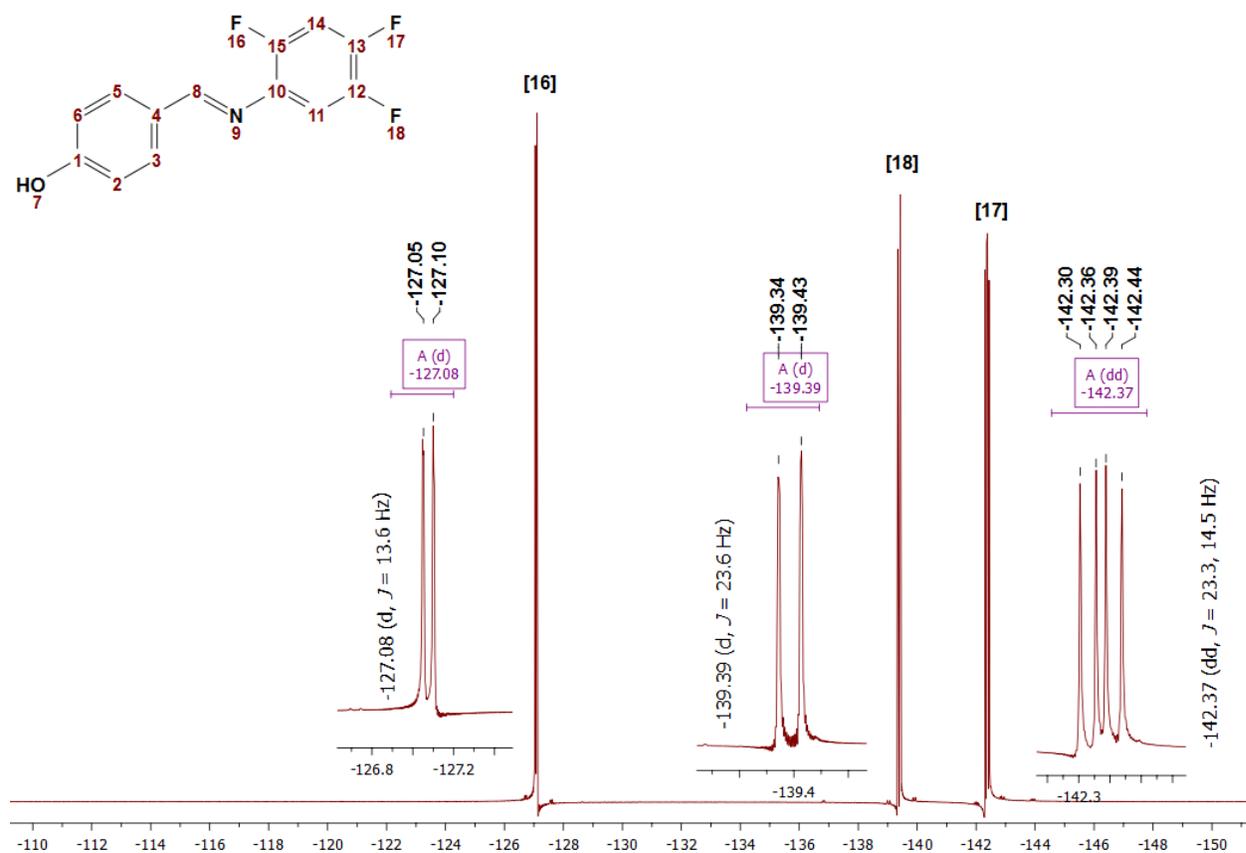


Figura 15. Espectro de RMN- ${}^{19}\text{F}$ a 283 MHz en DMSO- d_6 del compuesto **6**.

Para el compuesto **7** (Figura 16) se pueden apreciar dos conjuntos de señales con multiplicidad d, la primera de ellas aparece más desplazada a campo bajo a δ -117.72 ppm con una $J= 16.6$ Hz, que pertenece al átomo de flúor número 16 y la segunda señal a δ -131.72 ppm y una $J= 16.6$ Hz que corresponde al átomo de flúor en posición 17.

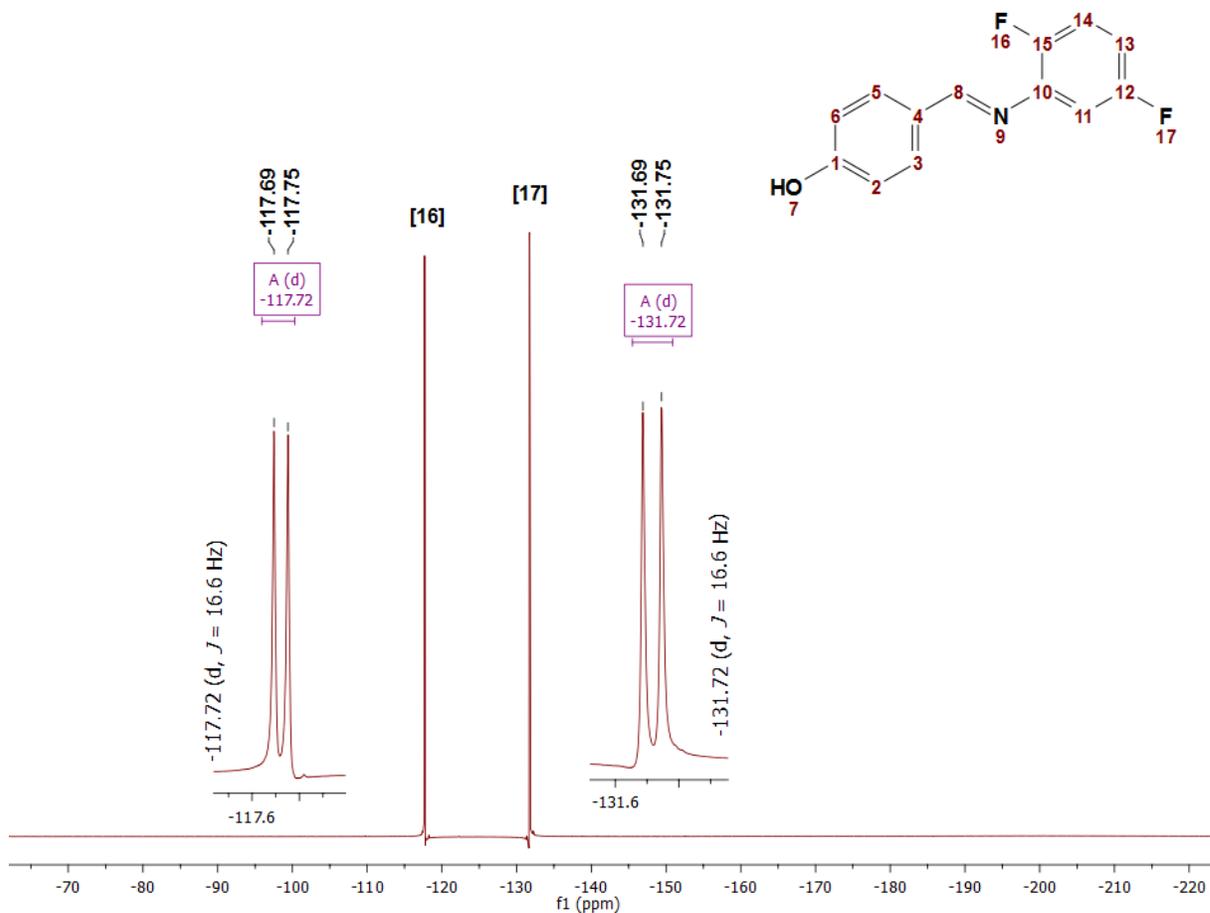


Figura 16. Espectro de RMN- ^{19}F a 283 MHz en $\text{DMSO-}d_6$ del compuesto **7**.

Finalmente en el compuesto **8** (figura 17), al igual que en el compuesto **7**, aparecen dos conjuntos de señales con multiplicidad doble, pero debido a la posición de dichos átomos de flúor en el anillo bencénico *N*-arílico, estos se ven desplazados a campo más alto. La primera señal aparece más desplazada a campo bajo a δ -137.72 con una $J = 19.3$ Hz pertenece al átomo de flúor número 16, mientras que la señal a δ -131.72 con una $J = 16.6$ Hz corresponde al átomo de flúor número 17.

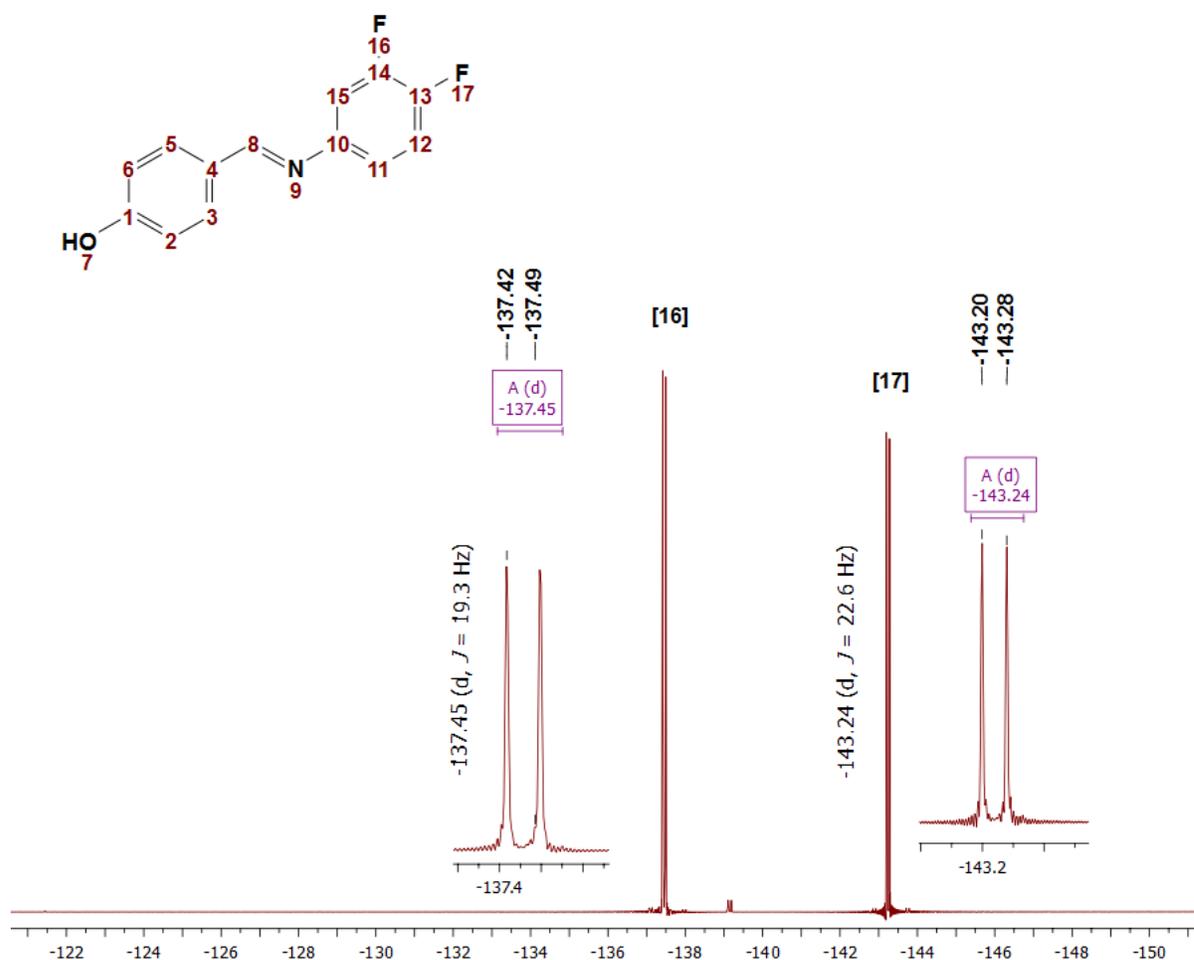


Figura 17. Espectro de RMN- ^{19}F a 283 MHz en DMSO- d_6 del compuesto **8**.

Todos los desplazamientos aquí reportados son consistentes con aquellos reportados en la literatura y compuestos relacionados (Field, Li, & Magill, **2015**; Dolbier, **2009**). Con lo anterior se ha hecho un análisis general por espectroscopia de RMN de las diferentes bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas, en todos los casos los análisis de los diferentes núcleos activos fueron consistentes con las estructuras aquí propuestas.

7.2.4 Caracterización estructural de las bases de Schiff *p*-hidroxisustituídas

De los compuestos sintetizados fue posible obtener la caracterización por difracción de rayos-x de monocristal de los compuestos **2** y **4**. Estos compuestos cristalizaron en los sistemas ortorrómbico (*Pbca*) y monoclinica (*P21/n*), respectivamente. El compuesto **2** cristalizó con una molécula en la unidad asimétrica y ocho en la celda unitaria, el compuesto **4** cristalizó con cuatro moléculas en la celda unitaria y una en la unidad asimétrica. Los datos cristalográficos se encuentran resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2. Resumen de datos cristalográficos de los compuestos **2** y **4**.

	Compuesto 2	Compuesto 4
Formula	C ₁₃ H ₉ F ₂ NO	C ₁₄ H ₁₀ F ₃ NO
Peso molecular (g/mol)	233.21	265.23
Sistema Cristalino	ortorrómbico	monoclinico
Grupo espacial	Pbca	P21/n
a (Å)	11.2499(9)	4.8500(11)
a (Å)	9.3430(7)	23.260(6)
a (Å)	19.7259(16)	10.976(3)
α (°)	90	90
β (°)	90	93.770(6)
γ (°)	90	90
V (Å³)	2073.4(3)	1235.5(5)
Z	8	4
ρ (g/cm³)	1.494	1.426
MoKa (mm⁻¹)	0.120	0.121
F (000)	960	544
Temperatura (K)	150	173

El compuesto **2** (Figura 18) no es un compuesto plano ya que los planos de los anillos fenol y del sistema *N*-arílico fluorado sustituido presentan un ángulo de 50.6° entre ellos. El sistema imínico presenta un ángulo de torsión de 170.4° dado por los átomos C1-C7-N1-C8 y una distancia de enlace C-N de 1.28 Å.

La presencia del grupo hidróxido (OH) en posición *para* al grupo imínico, lleva a formar enlaces de hidrógeno con el átomo de nitrógeno imínico (N1), la interacción O1-H1...N1 presenta una distancia de interacción de 2.92 Å. El enlace de hidrógeno se

complementa con la interacción C6-H6...O1 formando un ciclo de siete miembros, los ciclos se extienden generando arreglos lineales como se muestra en la Figura 19.

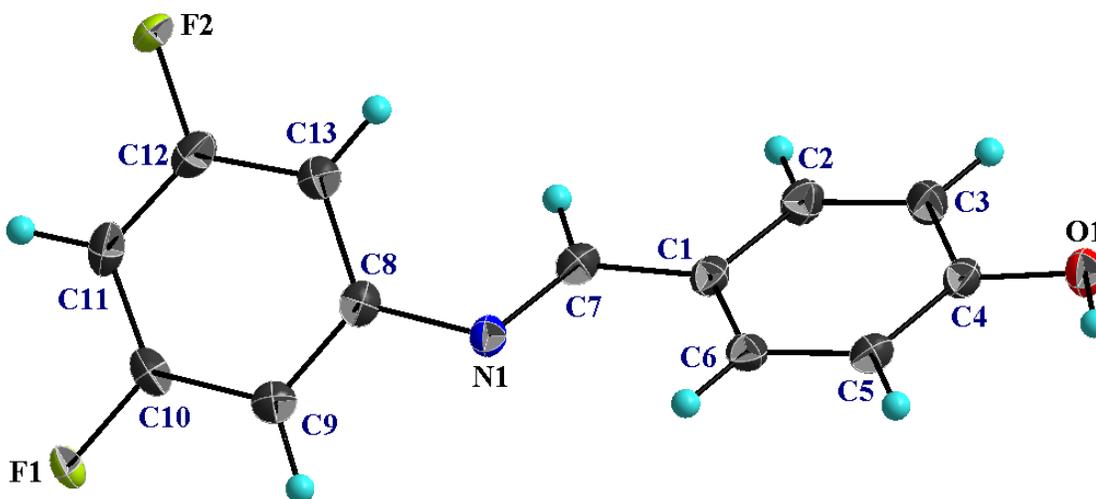


Figura 18. Representación molecular del compuesto **2**. Las elipsoides son mostradas al 50% de probabilidad.

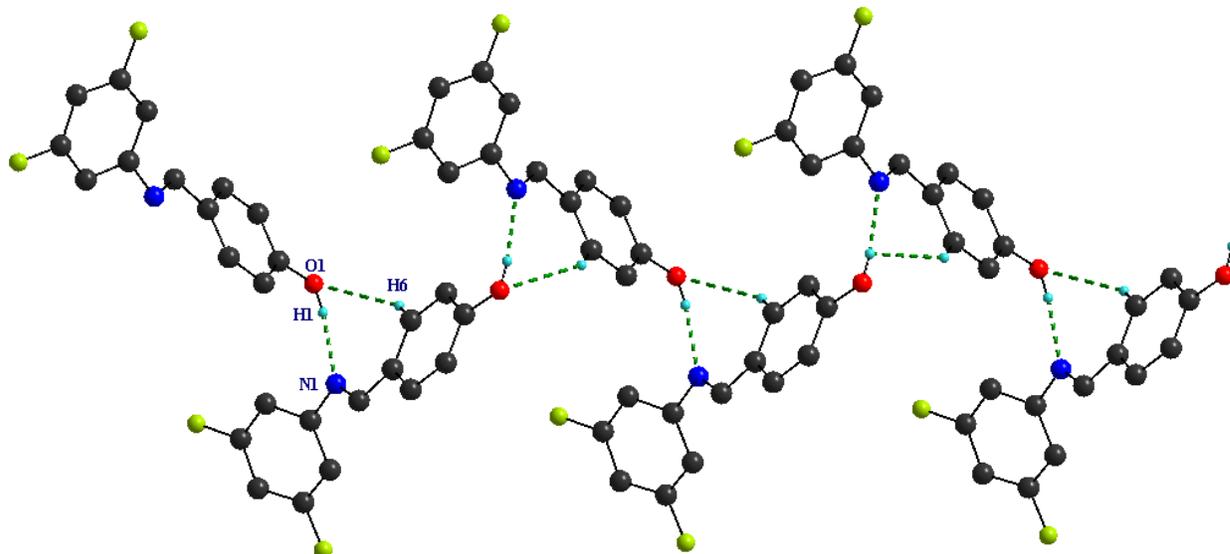


Figura 19. Arreglo lineal formado por las interacciones O1-H1...N y C6-H6...O1 en el compuesto **2**. Los átomos de hidrogeno que no participan en las interacciones se omiten por claridad.

Se identifica la interacción C11-H11...F1, la cual forma arreglos dimericos cíclicos de ocho miembros (Figura 20a) con un distancia de interacción de 2.59 Å. Al combinar este arreglo con el formado por las interacciones O1-H1...N1 y C6-H6...O1 se observa la

formación de arreglos lineales (Figura 20b). El arreglo cristalino tridimensional se estabiliza con la presencia de interacciones del tipo C-H... π (Figura 21). De ellas se identifican las interacciones débiles C6-H6...Cg2_(C8-C13) y C13-H13...Cg1_(C1-C6), dichas interacciones presentan distancias de enlace de 2.92 y 2.85 Å entre los átomos de hidrogeno y los centroides. Los valores geométricos de las interacciones se presentan en la Tabla 3.

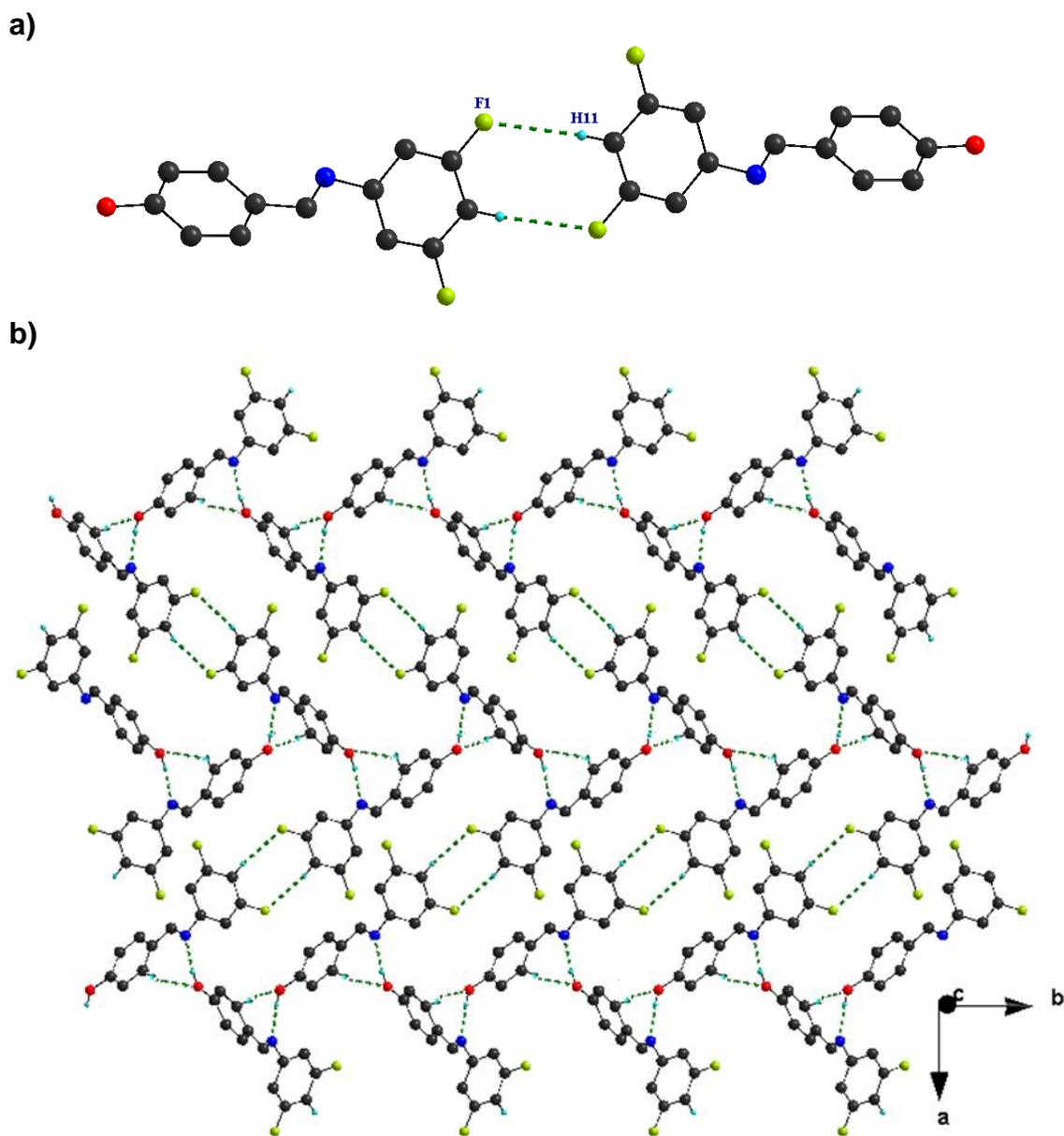


Figura 20. a) Ciclo formado por la interacción C-H...F. b) Arreglo lineal formado por enlaces de hidrogeno encontrados en el compuesto **2**. Se omiten los átomos de hidrogeno que no participan en las interacciones.

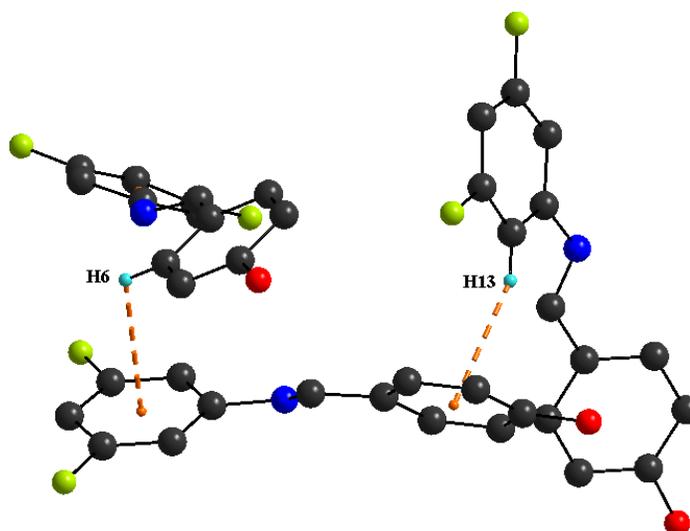


Figura 21. Representación de las interacciones C-H... π en el compuesto **2**.

En el caso del compuesto **4**, se observa un ángulo entre los dos sistema aromáticos de 56.5° , lo que indica que se trata de una molécula no plana. El grupo imínico presenta una distancia de enlace C=N de 1.28 \AA , y un ángulo de torsión C8-N1-C7-C1 de 179.3° . La estructura del compuesto se presenta en la figura 22.

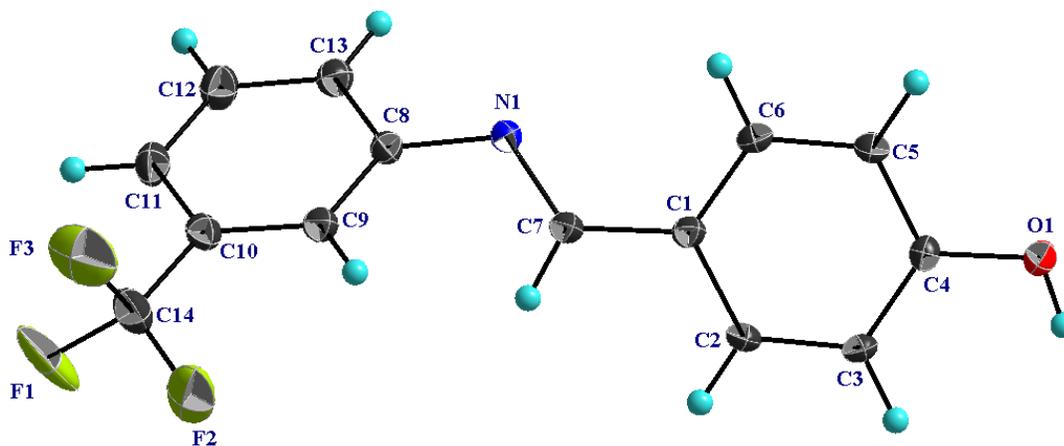


Figura 22. Estructura molecular del compuesto **4**. Las elipsoides son presentadas al 30% de probabilidad.

El arreglo cristalino está dirigido por la presencia de interacciones de enlaces de hidrogeno. De estas interacciones, se identifican primeramente los enlaces de hidrógeno generados por el grupo hidroxilo (OH) con el grupo imínico. La interacción observada es O1-H1...N1 con una distancia de enlace de 1.94 \AA , el átomo de oxígeno

de hidroxilo también presenta la interacción C13-H13...O1. Las interacciones O1-H1...N1 y C13-H13...O1 forman un ciclo de seis miembros que generan arreglos lineales. Las interacciones se representan en la figura 23.

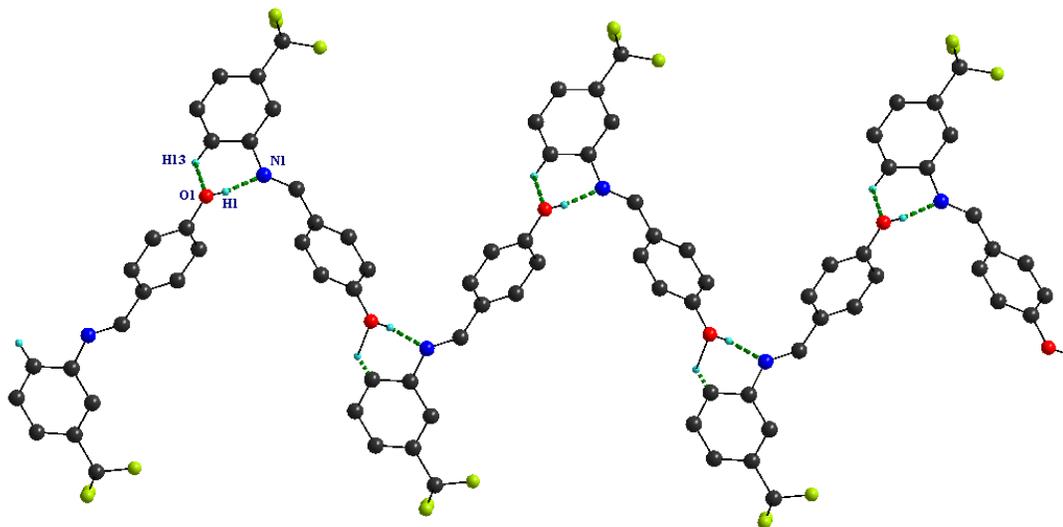


Figura 23. Arreglo lineal formado por las interacciones O1-H1...N1 y C13-H13...O1 en el compuesto **4**.

El sustituyente $-CF_3$ en posición *meta* del sistema *N*-arílico presenta interacciones del tipo C-H...F. El átomo de flúor F1 presenta un enlace de hidrógeno bifurcado [C2-H2...F1, C7-H7...F1] dando lugar a ciclos de seis miembros, estos ciclos forman los arreglos diméricos macrocíclicos presentados en la figura 24. Estos macrocíclicos se unen a través de la interacción C5-H5...F3 dando lugar a arreglos dimensionales (Figura 25). Los datos geométricos de estas interacciones se presentan en la Tabla 3.

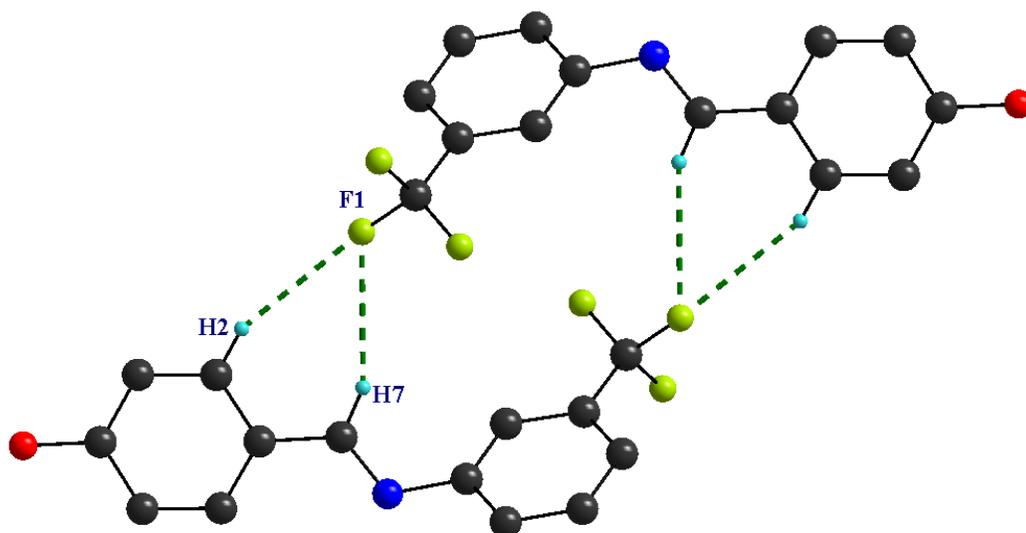


Figura 24. Representación de las interacciones C2-H2...F1, C7-H7...F1 encontradas en el compuesto 4.

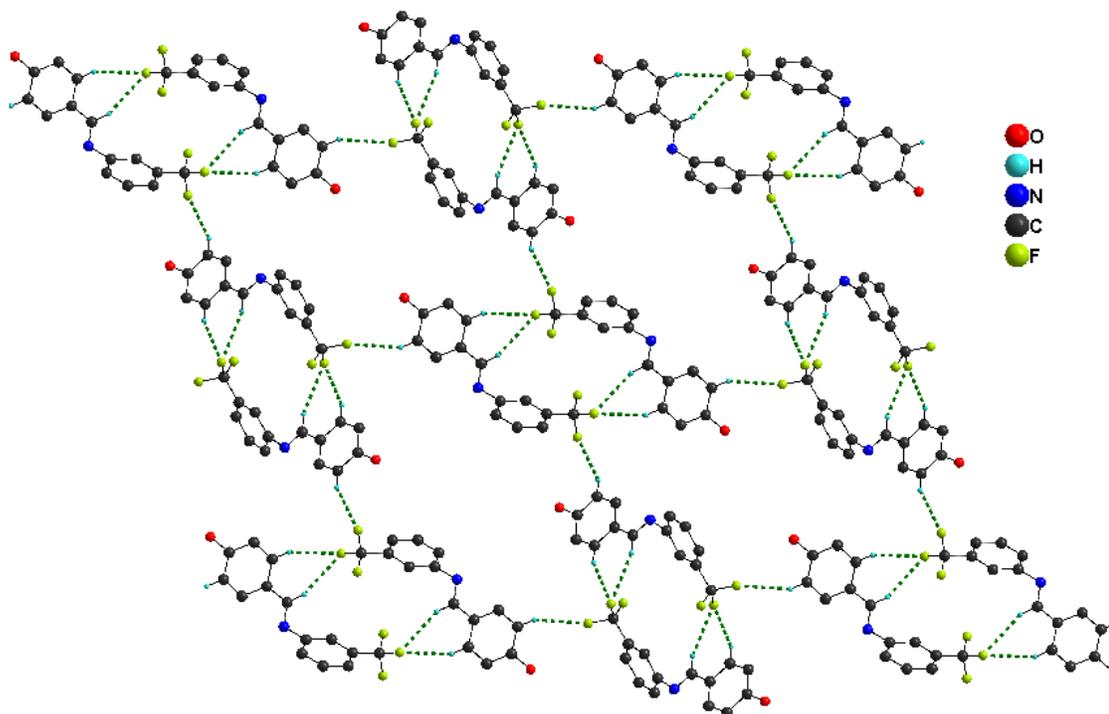


Figura 25. Arreglo lineal generado por las interacciones C-H...F. Se omiten los átomos de hidrógeno que no participan en las interacciones.

Los compuestos **2** y **4**, aun cuando presentan en su estructuras sistemas aromáticos, en sus arreglos no se observan interacciones π - π . El compuesto **2** presenta interacciones C-H... π , mientras que en el compuesto **4** no se observan estas interacciones.

Tabla 3. Valores geométricos de los enlaces de hidrogeno.

D-H...A	D-H (Å)	H...A (Å)	D-A (Å)	\angle DHA (°)
Compuesto 2				
O1-H1...N1	0.852(15)	1.900(14)	2.7319(18)	165
O6-H6...O1	0.95	2.65		143
C11-H11...F1	0.95	2.59	3.4690(2)	123
C6-H6...Cg2	0.95	2.92	3.4357(19)	115
C13-H13...Cg1	0.95	2.85	3.7335(19)	155
Compuesto 4				
O1-H1...N1	0.85(3)	1.94(3)	2.784(3)	170(3)
C13-H13...O1	0.95	2.57	3.4735(3)	127
C2-H2...F1	0.95	2.72	3.6103(5)	157
C7-H7...F1	0.95	2.76	3.6478(8)	156
C5-H5...F3	0.95	2.76	3.6410(6)	154

Los valores geométricos de las interacciones no covalentes fueron obtenidos utilizando el programa PLATON (Spek, 2009), mientras que los análisis estructuras se realizaron con ayuda del programa Mercury (ccdc.cam.ac.uk, 2016). Para realizar las figuras correspondientes se utilizó el programa DIAMOND (Diamond, 2006).

8. EVALUACIÓN BIOLÓGICA

8.1 Método de difusión en disco de Kirby-Bauer

En este trabajo se estudió la sensibilidad de las levaduras a las bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas en función del halo de inhibición producido por la difusión de los compuestos en un medio de cultivo sólido utilizando como referencia agentes antibacterianos y antifúngicos de concentración y actividad conocida.

8.1.1 Medios de cultivo bacteriano

Se evaluó la susceptibilidad microbiana de dos cepas bacterianas Gram positivas, *Bacillus subtilis* ATCC6633 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, y dos cepas bacterianas en Gram negativas, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700602. Las cepas se obtuvieron del cepario de la Facultad de Química, UNAM.

Todos los cultivos bacterianos se crecieron en medio Hinton-Mueller (HM) previamente esterilizado en autoclave por 15 min a 121°C. La composición del medio HM consistió en 2 g de Extracto de Res, 17.5 g de hidrolizado ácido de caseína y 1.5 g de almidón por 1 L de agua destilada; el medio de cultivo sólido además contenía 2% de agar. Después de la esterilización, el medio de cultivo sólido se dejó enfriar a 45-50°C antes de verter 28-30 mL en cajas Petri desechables de 10 cm de diámetro. Los platos de cultivo se almacenaron por un máximo de 7 días a 4°C.

8.1.2 Medios de cultivo de levadura

Se evaluó la susceptibilidad antifúngica de dos cepas de levadura: *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 y *Candida albicans* ATCC 10231. Las cepas se obtuvieron del cepario de la Facultad de Química, UNAM. Los cultivos de levadura se crecieron en medio YEPD cuya composición consistió de 20 g de Peptona, 10 g de Extracto de Levadura y 20 g de glucosa por 1 L de agua destilada; el medio YEPD sólido además contenía 2% de agar. Se esterilizaron por separado una solución de glucosa al 20% del resto de los componentes en autoclave por 15 min a 121°C. Después de la

esterilización, el medio de cultivo sólido se dejó enfriar a 45-50°C y se mezcló con la solución de glucosa en cantidad suficiente para obtener una concentración final de 2%, para finalmente verter en cajas Petri desechables de 10 cm de diámetro. Para el medio líquido, la solución de glucosa se adicionó al resto de los componentes justo antes de usar. Los platos de cultivo se almacenaron por un máximo de 7 días a 4°C.

8.1.3 Preparación de los discos

Se prepararon dos series de disoluciones de las 8 bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas en estudio a una concentración de 10 mg/mL utilizando como disolvente DMSO. Se inocularon 20 µL de cada disolución en discos de papel filtro Whatman 6 de 0.5 cm de diámetro previamente esterilizados en autoclave por 15 min a 121°C. Como control negativo se utilizaron discos embebidos únicamente con disolvente. Como el control positivo para las cepas de levadura se utilizaron discos embebidos con una solución de 1 mg/mL de fluconazol, para *E. coli* y *B. subtilis* se utilizaron discos embebidos con 1 mg/mL de ampicilina, y para *S. aureus* y *K. pneumoniae* se utilizaron discos embebidos con 0.5 mg/ml de cloranfenicol.

8.1.4 Preparación del inóculo

Los inóculos se prepararon tocando con el asa de cultivo una colonia aislada de la cepa correspondiente para ser inoculada en 5 mL del medio líquido deseado. Las cepas bacterianas se crecieron a 37°C, excepto *S. aureus* que al igual que las cepas de levadura se crecieron a 30°C. Después de 16-18 h de incubación, la densidad óptica de los cultivos se ajustó a una densidad óptica de 0.5 a 595 nm mediante la adición del correspondiente medio de cultivo fresco. Los platos de cultivo se inocularon uniformemente con el cultivo de 0.5 de densidad óptica con una torunda de algodón. Se dejaron secar por 5 minutos e inmediatamente se aplicaron los discos con el compuesto a evaluar y los discos control. Los platos se incubaron por 20 h a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo en cuestión.

8.2 Resultados

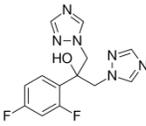
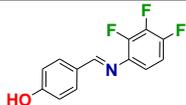
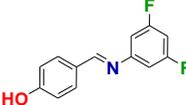
Como se observa el tamaño de los halos generados por las iminas (Figura 26) en estudio es modesto comparado contra un antibiótico ya comprobado, pues en el mejor de los casos son 1/6 del tamaño del antibiótico control lo anterior limita su potencial como potenciales fármacos (Tabla 4). Se realizó el mismo experimento con *S. cerevisiae* como levadura control aunque esta no es un patógeno y por tanto la utilidad de los posibles fármacos es limitada. En este ensayo también se observó la presencia de halos de inhibición de crecimiento y fueron comparables con los encontrados para *C. albicans* (Tabla 5).

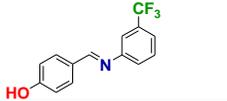
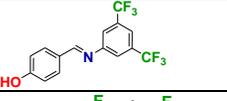
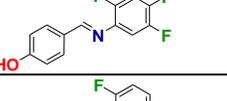
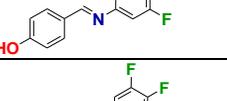
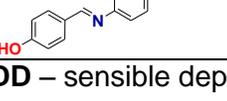
Así, en base a los resultados obtenidos, las bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas que mostraron cierto grado de actividad en la inhibición del crecimiento de *C. Albicans* y *S. Cerevisiae* fueron los compuestos **1, 3, 5, 6 y 7**.

Tabla 4. Puntos de corte y equivalencia para los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* por fluconazol.

Antifúngico	Carga del disco (µg)	Diámetro (mm)		
		R	S-DD	S
Fluconazol	25	≤14	15-18	≥19

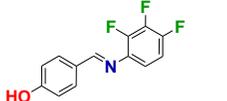
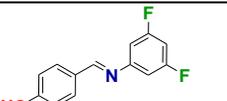
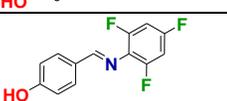
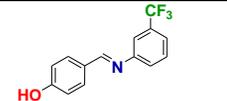
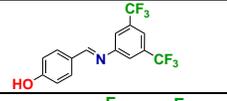
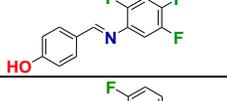
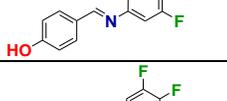
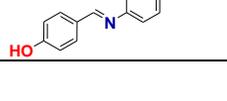
Resultados Experimentales

Control negativo (DMSO)			0	0
 Control positivo (Fluconazol)		20		13
COMPUESTO	1		20	1
	2		20	0
	3		20	2

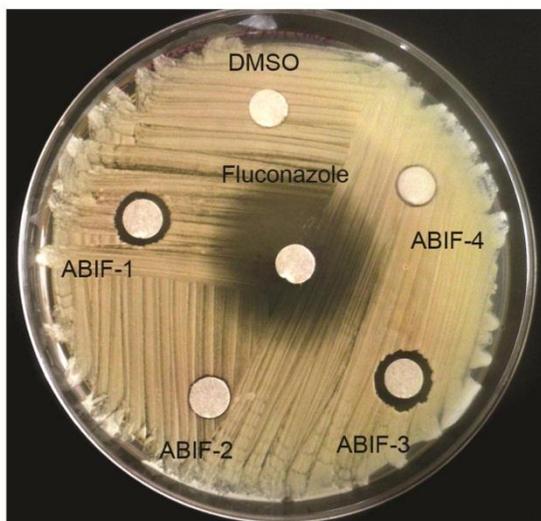
4		20	0.5
5		20	1
6		20	1
7		20	1
8		20	0.5

R – resistente, S-DD – sensible dependiendo de la dosis, S - sensible

Tabla 5. Halos de inhibición del crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* por fluconazol.

Antifúngico		Carga del disco (µg)	Diámetro (mm)	
Control negativo (DMSO)		0	0	
Control positivo (Fluconazol)		20	6	
COMPUESTO	1		20	1
	2		20	0
	3		20	2
	4		20	0
	5		20	0
	6		20	2
	7		20	1
	8		20	0

A



B

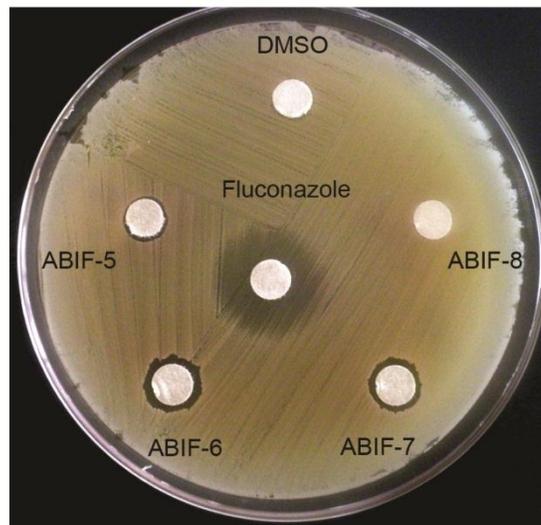
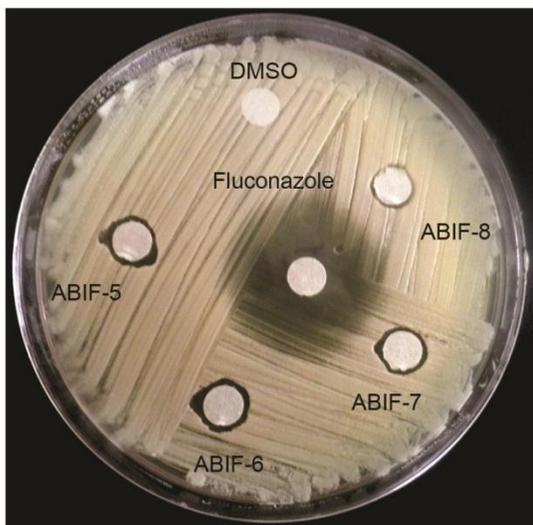
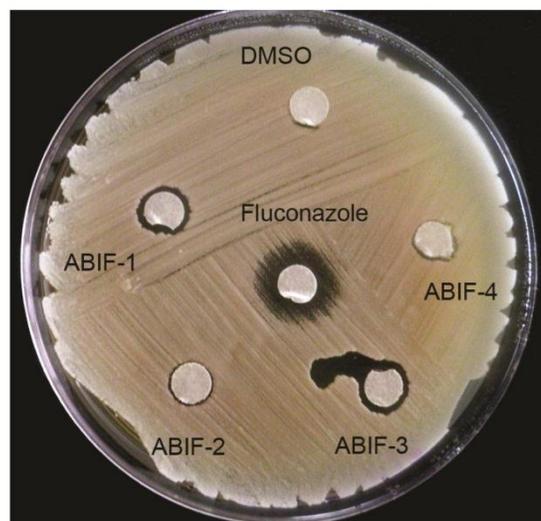


Figura 26. Antibiograma por difusión con discos de las diferentes iminas evaluadas en el que se observa la presencia de halos de inhibición del crecimiento para (A) *Candida albicans* y (B) *Saccharomyces cerevisiae*.

9. CONCLUSIONES

- Se obtuvo de forma selectiva una serie de bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas bajo condiciones suaves de reacción empleando mallas moleculares como catalizador y agente desecante con rendimientos que van de buenos a excelentes, siendo estos de 78 a 90%.
- La serie de bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas fueron totalmente caracterizados mediante métodos espectroscópicos de IR, RMN-¹H, RMN-¹³C{¹H}, RMN-¹⁹F, así como espectrometría de masas por impacto electrónico. Además fue posible realizar en algunos de los compuestos obtenidos, análisis de difracción rayos-X de monocristal, dando con ello caracterización estructural esperada de los compuestos fluorados.
- Se realizó un breve estudio de las interacciones no covalentes que establecen estos compuestos en estado sólido y los arreglos supramoleculares que generan como consecuencia de las interacciones. Las principales interacciones fueron de enlace de hidrógeno (OH⋯N) que se establecen entre los grupos –OH y C=N, interacciones de tipo C-H⋯F, además de que uno de los compuestos presenta interacciones de tipo C-H⋯π. En ninguno de los compuestos analizados se observaron interacciones de tipo π-π.
- Los diferentes compuestos fluorados no mostraron una actividad significativa en ensayos antimicrobianos contra *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *B. subtilis*, en comparación con el fármaco de referencia, sin embargo en el caso de los ensayos realizados en *C. Albicans* y *S. Cerevisiae* los compuestos **1**, **3**, **5**, **6** y **7** presentaron cierto grado de actividad en la inhibición del crecimiento en comparación con el fluconazol.

10. PARTE EXPERIMENTAL

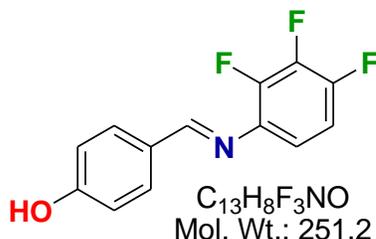
Todos los reactivos utilizados se adquirieron comercialmente de Aldrich Chemical Co. Inc., y fueron usados sin previa purificación. Los disolventes usados fueron suministrados por la compañía J. T. Baker, los cuales fueron purificados mediante una destilación fraccionada sometiéndolos a reflujo durante 5 horas empleando óxido de calcio como agente desecante y una trampa de humedad de cloruro de calcio en la parte superior del refrigerante de la columna de destilación.

Los puntos de fusión se determinaron por triplicado en un tubo capilar mediante un aparato MEL-TEP equipado con termómetro de mercurio con escala 0-400 °C. La espectroscopia vibracional de IR se realizó en el intervalo de 4000 a 450 cm^{-1} mediante un espectrómetro NICOLET-MAGNA 750 FT-IR en pastilla de KBr. Los análisis de espectrometría de masa en general fueron realizados por la técnica de impacto electrónico EM-IE operado a un potencial de ionización de 70 eV., utilizando un espectrómetro JEOL JMS-SX102A. Los espectros de RMN fueron adquiridos en CDCl_3 y $\text{DMSO}-d_6$ a temperatura ambiente en un espectrómetro JEOL GX300 ECLIPSE con una frecuencia de 300 Hz para la resonancia de ^1H , 75 Hz para $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ y 283 Hz para ^{19}F . Los desplazamientos químicos (δ) para ^1H y $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ están reportados en partes por millón (ppm) a campo abajo en relación a TMS, o señal residual no deuterada de los disolventes. Las abreviaturas utilizadas en la descripción de los datos de RMN son las siguientes: s, simple; d, doble; dd, doble de doble; ddd; doble de doble de dobles; dt, doble de tripletes; c, cuádruple; q, quintuple; y m múltiple.

Las constantes de acoplamiento J se expresan en Hz. El análisis cristalográfico de rayos X se llevaron a cabo por el método de mono cristal con un equipo BRUKER SMART APEX CCD, equipado con monocromador de graffito y detector de área de radiación monocromática de Mo-Kalfa ($\lambda=0.71073$) a 294 K los datos se colectaron con barrido tipo omega y se integraron con el programa SAINT incluidos en el paquete BRUKER SHELXTL. La resolución estructural de los diferentes compuestos se realizo por métodos directos mediante el programa SHELXS y su refinamiento por el método de mínimos cuadrados en F^2 con ayuda de SHELXS-97. Los ángulos son expresados en grados ($^\circ$) y las longitudes en (Å)

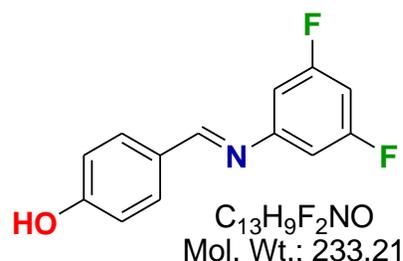
10.1 Compuestos sintetizados

10.1.1. Síntesis de 4-(E)-(2,3,4-trifluorofenilimino)-metilfenol



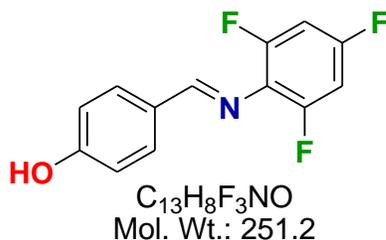
A una solución homogénea de 0.4864 g (3.98 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído en 40 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó gota a gota, con agitación constante, 0.42 mL (0.5859 g, 3.98 mmol) de 2,3,4-trifluoroanilina, hasta homogenizar completamente. Posteriormente se agregaron 20 g de mallas moleculares de 4 Å activadas en un horno de secado a 150°C por 72 h. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación manual intermitente suave, en atmósfera de nitrógeno y protegida de la luz durante 72 horas. Cumplido el tiempo, se retiró el disolvente mediante decantación. El producto, el cual es insoluble en CH_2Cl_2 se retiró cuidadosamente de las mallas moleculares mecánicamente y se lavaron con 30 mL de CH_2Cl_2 (3 X 10 mL) resultando un sólido incoloro y polimorfo correspondiente al compuesto $[C_6H_4-4-(OH)-4-(CH=NC_6H_2-2,3,4-F)]$ (0.904 g, 3.6mmol, 90.4%). P. f. 196-198° C. IR (KBr), ν (cm^{-1}): 3067, 2591, 1591, 1501, 1440, 1282, 1168, 969. EM-IE, m/z: 251 (40, $[M^{*+}]$), 250 (42), 158 (15), 131 (45), 126 (100), 99 (60), 65(10), 39(5), 28 (20). RMN- 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 10.28 (s, 1H, OH), 8.48 (s, 1H, NH), 7.77 (s, 1H, CH), 7.22 (dd, $J = 24.4, 15.3$ Hz, 1H, CH), 7.07 (dd, $J = 25.1, 17.6$ Hz, 1H, CH), 6.90 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, CH). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (76 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 163.94, 161.85, 148.17 (dd, $^1J_{C-F} = 243, ^2J_{C-F} = 10.4$ Hz) 144.39 (dd, $^1J_{C-F} = 250, ^2J_{C-F} = 10.9$ Hz), 138.28 (dt, $^1J_{C-F} = 249.0$ Hz, $^2J_{C-F} = 15.1$ Hz), 131.64, 127.33, 116.21, 115.66 (d, $J = 5.8$ Hz), 112.45 (dd, $^1J_{C-F} = 17.7, ^2J_{C-F} = 4.0$ Hz). RMN- ^{19}F (283 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): -139.88 (dd, $^3J_{F-F} = 21.7$ Hz, $^5J_{F-F} = 3.1$ Hz), -147.38 (dd, $^3J_{F-F} = 20.7$ Hz, $^5J_{F-F} = 3.1$ Hz), -160.83 (t, $J = 21.0$ Hz).

10.1.2. Síntesis de 4-(E)-(3,5-difluorofenilimino)-metilfenol



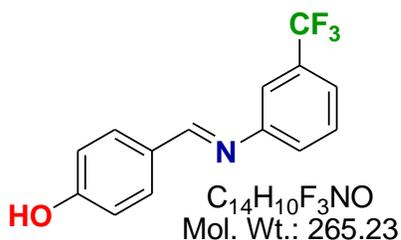
A una solución homogénea de 0.5239 g (4.29 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído en 40 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó gota a gota, con agitación constante, 0.5539 g (4.29 mmol) de 3,5-difluoroanilina, hasta homogenizar completamente. Posteriormente se agregaron 20 g de mallas moleculares de 4 Å activadas en un horno de secado a 150°C por 72 h. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación manual intermitente suave, en atmósfera de nitrógeno y protegida de la luz durante 72 horas. Cumplido el tiempo, se retiró el disolvente mediante decantación. El producto, el cual es insoluble en CH_2Cl_2 se retiró cuidadosamente de las mallas moleculares mecánicamente y se lavaron con 30 mL de CH_2Cl_2 (3 X 10 mL) resultando un sólido incoloro y polimorfo correspondiente al compuesto $[C_6H_4-4-(OH)-4-(CH=NC_6H_3-3,5-F)]$ (0.896 g, 3.84mmol, 89.6%). P. f. 120-122° C. IR (KBr), ν (cm^{-1}): 3101, 2584, 1574, 1512, 1440, 1282, 1125. EM-IE, m/z: 233 (90, $[M^{*+}]$), 232 (100), 120 (10), 113 (30), 93 (10), 65(10), 39(5), 28 (5). RMN- 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 10.28 (s, 1H, OH), 8.43 (s, 1H, NH), 7.77 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, CH), 6.91 (t, $J = 10.5$ Hz, 5H, CH). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (76 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 162.79 (dd, $^1J_{C-F} = 246.2$, $^3J_{C-F} = 15.2$ Hz), 155.12, 131.28, 126.94, 115.83, 104.52 (d, $J = 25.5$), 100.29 (t). RMN-19F (283 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): -109.73.

10.1.3. Síntesis de 4-(E)-(2,4,6-trifluorofenilimino)-metilfenol



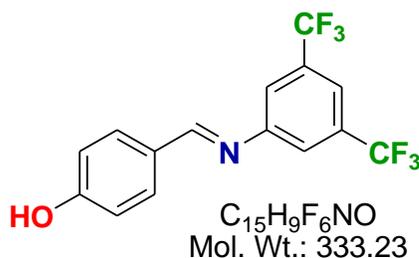
A una solución homogénea de 0.4864 g (3.98 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído en 40 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó gota a gota, con agitación constante, 0.5859 g (3.98 mmol) de 2,4,6-trifluoroanilina, hasta homogenizar completamente. Posteriormente se agregaron 20 g de mallas moleculares de 4 Å activadas en un horno de secado a 150°C por 72 h. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación manual intermitente suave, en atmósfera de nitrógeno y protegida de la luz durante 72 horas. Cumplido el tiempo, se retiró el disolvente mediante filtración y lavado de mallas moleculares con CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). El disolvente fue evaporado mediante presión negativa hasta tener un aproximado del 10% de CH_2Cl_2 y se adicionó n-hexano y acetato de etilo hasta tener una relación 2:1 hexano:AcOEt hasta producir una precipitación del sólido, el cual es un sólido incoloro y polimorfo correspondiente al compuesto $[C_6H_4-4-(OH)-4-(CH=NC_6H_2-2,4,6-F)]$ (0.762 g, 3.03mmol, 76.2%). P. f. 178-180° C. IR (KBr), ν (cm^{-1}): 3154, 2965, 2877, 1665, 1590, 1514, 1447, 1281, 1113. EM-IE, m/z: 251 (100, $[M^+]$), 250 (95), 232 (5), 158 (10), 131 (5), 126 (5), 94 (10), 65(20), 39(10), 28 (5). RMN- 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 10.45 (s, 1H, OH), 8.57 (s, 1H, NH), 7.83 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H, CH), 7.31 (q, $J = 9.0$ Hz, 2H, CH), 6.97 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 166.64, 161.53, 158.08 (dt, $^1J_{C-F} = 265.4$, $^3J_{C-F} = 15.3$ Hz), 154.74 (dd, $^1J_{C-F} = 239.6$, $^3J_{C-F} = 8.4$ Hz), 130.83, 126.23 (td, $^1J_{C-F} = 14.6$, $^3J_{C-F} = 4.9$ Hz), 100.57 (m). RMN- ^{19}F (282 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): -114.03, -122.08.

10.2.4. Síntesis de 4-(E)-(3-trifluorometil)fenilimino))-metilfenol



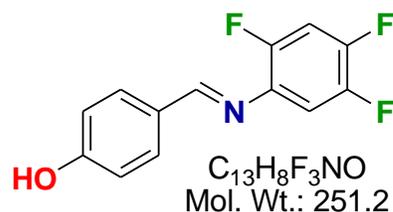
A una solución homogénea de 0.4606 g (3.77 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído en 40 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó gota a gota, con agitación constante, 0.471 mL (0.6078 g, 3.77 mmol) de 3-trifluorometilaniлина, hasta homogenizar completamente. Posteriormente se agregaron 20 g de mallas moleculares de 4 Å activadas en un horno de secado a 150°C por 72 h. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación manual intermitente suave, en atmósfera de nitrógeno y protegida de la luz durante 72 horas. Cumplido el tiempo, se retiró el disolvente mediante decantación. El producto, el cual es insoluble en CH_2Cl_2 se retiró cuidadosamente de las mallas moleculares mecánicamente y se lavaron con 30 mL de CH_2Cl_2 (3 X 10 mL) resultando un sólido incoloro y polimorfo correspondiente al compuesto $[C_6H_4-4-(OH)-4-(CH=NC_6H_5-3-CF_3)]$ (0.788 g, 2.97mmol, 78.8%). P. f. 184-186° C. IR (KBr), ν (cm^{-1}): 3062, 2689, 1575, 1513, 1391, 1330, 1283, 1244, 1156. EM-IE, m/z: 265 (95, $[M^+]$), 264 (100), 196 (5), 145 (35), 94 (5), 65(10), 39(7), 28 (5). RMN- 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 10.27 (s, 1H, OH), 8.42 (s, 1H, NH), 7.80 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, CH), 7.66 (dd, $J=16.4, 7.9$ Hz, 1H, CH), 7.33 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, CH), 7.24 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, CH), 6.93 (d, $J=8.6, 1H, CH$). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (76 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 161.58, 161.27, 150.71, 133.72, 131.16, 127.27, 125.97, 124.97, 121.92 (q, $^1J_{C-F} = 53.0$ Hz), 119.95, 115.81. RMN- ^{19}F (283 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): -58.89

10.1.5. Síntesis de 4-(E)-(3,5-bistrifluorometil)fenilimino))-metilfenol



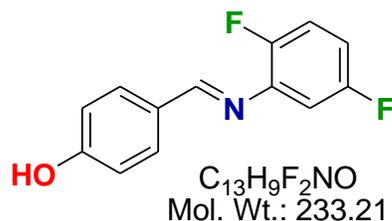
A una solución homogénea de 0.4028 g (3.29 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído en 40 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó gota a gota, con agitación constante, 0.515 mL (0.756 g, 3.29 mmol) de 3,5-bis(trifluorometil)anilina, hasta homogenizar completamente. Posteriormente se agregaron 20 g de mallas moleculares de 4 Å activadas en un horno de secado a 150°C por 72 h. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación manual intermitente suave, en atmósfera de nitrógeno y protegida de la luz durante 72 horas. Cumplido el tiempo, se retiró el disolvente mediante filtración y lavado de mallas moleculares con CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). El disolvente fue evaporado mediante presión negativa hasta tener un aproximado del 10% de CH_2Cl_2 y se adicionó n-hexano y acetato de etilo hasta tener una relación 2:1 hexano:AcOEt hasta producir una precipitación del sólido, el cual es un sólido incoloro y polimorfo correspondiente al compuesto $[C_6H_4-4-(OH)-4-(CH=NC_6H_3-3,5-CF_3)]$ (0.824 g, 2.47mmol, 82.4%). P. f. 178-180° C. IR (KBr), ν (cm^{-1}): 3057, 2590, 1572, 1516, 1420, 1332, 1282, 1235, 1150. EM-IE, m/z: 333 (85, $[M^+]$), 332 (100), 264 (5), 240 (5), 213 (10), 214 (10), 120 (5), 94 (5), 65(7), 39(3), 28 (5). RMN- 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.51 (s, 1H, OH), 8.35 (s, 1H, NH), 7.76 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H, CH), 7.66 (s, 1H, CH), 7.56 (d, 2H, CH) 6.97 (t, $J = 10.3$ Hz, 2H, CH). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 164.01, 163.43, 161.58, 153.87, 132.16, 131.94, 131.16, 131.51, 131.17, 131.07, 130.64, 128.49, 125.14, 121.53. RMN- ^{19}F (283 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): -57.96

10.1.6. Síntesis de 4-(E)-(2,4,5-trifluorofenilimino)-metilfenol



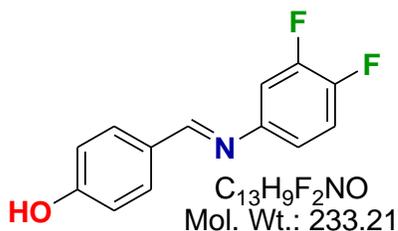
A una solución homogénea de 0.4864 g (3.98 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído en 40 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó gota a gota, con agitación constante, 0.5859 g (3.98 mmol) de 2,4,5-trifluoroanilina, hasta homogenizar completamente. Posteriormente se agregaron 20 g de mallas moleculares de 4 Å activadas en un horno de secado a 150°C por 72 h. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación manual intermitente suave, en atmósfera de nitrógeno y protegida de la luz durante 72 horas. Cumplido el tiempo, se retiró el disolvente mediante decantación. El producto, el cual es insoluble en CH_2Cl_2 se retiró cuidadosamente de las mallas moleculares mecánicamente y se lavaron con 30 mL de CH_2Cl_2 (3 X 10 mL) resultando un sólido incoloro y polimorfo correspondiente al compuesto $[C_6H_4-4-(OH)-4-(CH=NC_6H_2-2,4,5-F)]$ (0.81 g, 3.22mmol, 81%). P. f. 200-202° C. IR (KBr), ν (cm^{-1}): 3057, 2590, 1572, 1516, 1420, 1332, 1282, 1235, 1150. EM-IE, m/z: 251 (100, $[M^+]$), 250 (97), 232 (5), 158 (10), 131 (10), 94 (5), 65(10), 39(5), 28 (5). RMN- 1H (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): 10.31 (s, 1H, OH), 8.52 (s, 1H, NH), 7.79 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, CH), 7.56 (m, 2H, CH), 6.92 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, CH). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (75 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): 163.53, 161.38, 152.08, 148.85, 147.86, 144.55, 136.56, 131.21, 126.89, 115.79, 109.79 (dd, $J = 17.3, 2.7$ Hz), 106.55 (dd, 26.8, 21.7 Hz). RMN- ^{19}F (283 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): -127.08 (d, $J = 13.6$ Hz), -139.39 (d, $J = 23.6$ Hz), -142.37 (dd, $^3J_{F-F} = 23.3$ Hz, $^5J_{F-F} = 14.6$ Hz).

10.1.7. Síntesis de 4-(E)-(2,5-difluorofenilimino)-metilfenol



A una solución homogénea de 0.5239 g (4.29 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído en 40 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó gota a gota, bajo agitación magnética, 0.43 mL (0.5859 g, 4.29 mmol) de 2,5-difluoroanilina, hasta homogenizar completamente. Posteriormente se agregaron 20 g de mallas moleculares de 4 Å activadas en un horno de secado a 150°C por 72 h. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación manual intermitente suave, en atmósfera de nitrógeno y protegida de la luz durante 72 horas. Cumplido el tiempo, se retiró el disolvente mediante decantación. El producto, el cual es insoluble en CH_2Cl_2 se retiró cuidadosamente de las mallas moleculares mecánicamente y se lavaron con 30 mL de CH_2Cl_2 (3 X 10 mL) resultando un sólido incoloro y polimorfo correspondiente al compuesto $[C_6H_4-4-(OH)-4-(CH=NC_6H_2-2,5-F)]$ (0.824 g, 3.53mmol, 82.4%). P. f. 190-192° C. IR (KBr), ν (cm^{-1}): 3070, 2578, 1593, 1571, 1514, 1492, 1420, 1373, 1285, 1225, 1168, 1143. EM-IE, m/z: 233 (95, [M+]), 232 (100), 214 (5), 140 (10), 120 (10), 113 (65), 93 (30), 65(12), 39(7), 28 (10). RMN- 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 10.29 (s, 1H, OH), 8.51 (s, 1H, NH), 7.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH), 7.29 (td, $^1J_{H-C} = 9.7$, $^2J_{H-F} = 5.0$ Hz, 1H, CH), 7.18 (td, $^1J_{H-C} = 9.6$ Hz, $^2J_{H-F} = 6.7$ Hz, $^3J_{H-F} = 3.0$ Hz, 1H, CH), 7.02 (m, 1H, CH), 6.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, CH). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 163.55, 161.37, 158.42 (dd, $^1J_{C-F} = 240.9$ Hz, $^4J_{C-F} = 2.2$ Hz), 151.97 (dd, $^1J_{C-F} = 242.3$ Hz, $^4J_{C-F} = 2.9$ Hz), 141.17 (m), 131.27, 126.96, 116.95 (dd, $^1J_{C-C} = 22.9$ Hz, $^2J_{C-F} = 9.8$ Hz), 115.78, 112.19 (dd, $^1J_{C-C} = 24.2$, $^2J_{C-F} = 7.9$ Hz), 108.11 (dd, $^1J_{C-C} = 22.4$ Hz, $^2J_{C-F} = 1.5$ Hz). RMN- ^{19}F (282 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): -117.72 (d, $^4J_{F-F} = 16.6$ Hz), -131.72 (d, $^4J_{F-F} = 16.6$ Hz).

10.1.8. Síntesis de 4-(E)-(3,4-difluorofenilimino)-metilfenol



A una solución homogénea de 0.5239 g (4.29 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído en 40 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó gota a gota, con agitación constante, 0.43 mL (0.5859 g, 4.29 mmol) de 3,4-difluoroanilina, hasta homogenizar completamente. Posteriormente se agregaron 20 g de mallas moleculares de 4 Å activadas en un horno de secado a 150°C por 72 h. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación manual intermitente suave, en atmósfera de nitrógeno y protegida de la luz durante 72 horas. Cumplido el tiempo, se retiró el disolvente mediante decantación. El producto, el cual es insoluble en CH_2Cl_2 se retiró cuidadosamente de las mallas moleculares mecánicamente y se lavaron con 30 mL de CH_2Cl_2 (3 X 10 mL) resultando un sólido incoloro y polimorfo correspondiente al compuesto $[C_6H_4-4-(OH)-4-(CH=NC_6H_2-2,5-F)]$ (0.796 g, 3.41mmol, 79.6%). P. f. 190-192° C. IR (KBr), ν (cm^{-1}): 2916, 2793, 2736, 2591, 2480, 1575, 1504, 1284, 1165, 1165. EM-IE, m/z: 233 (95, [M+]), 232 (100), 140 (5), 120 (5), 113 (15), 93 (10), 65(5), 39(3), 28 (5). RMN- 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 10.23 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.35 (m, 2H), 7.06 (m, 1H), 6.90 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H). RMN- $^{13}C\{^1H\}$ (75 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 161.39, 161.00, 130.97, 130.97, 127.15, 117.99 (dd, $^1J_{C-F} = 6.2$ Hz, $^2J_{C-F} = 2.9$ Hz), 117.60 (d, $J = 17.8$ Hz), 115.73, 109.73 (d, $J = 17.6$ Hz) RMN- ^{19}F {1H} (282 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): -137.45 (d, $J = 19.3$ Hz), 143.24 (d, $J = 22.6$ Hz).

11. REFERENCIAS

1. Abu-Khadra, A., Farag, R., & Abdel-Hady, A. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Schiff Base (E)-N-(4-(2-Hydroxybenzylideneamino) Phenylsulfonyl) Acetamide Metal Complexes. *AJAC*, **2016**, 7(3), 233-245.
2. AHFS Drug Information. **2004**. *McEvoy GK, ed. Erythromycins General Statement*. Bethesda: MD: American Society of Health-System Pharmacists.
3. Allinger, N. L., Cava, M. P., Jongh, D., Johnson, C. R., Lebel, N. A., & Stevens, C. L. **1986**. *Química Orgánica* (Vol. 1° Edición). Barcelona, España: Reverté.
4. Annapoorani, S., & Krishnan, C. Synthesis and spectroscopic studies of trinuclear N4 Schiff base complexes international. *J. Chem. Tech. Res.*, **2013**, 5(1), 180-185.
5. Avila-Sorrosa, A., Hernández-González, J. I., Reyes-Arellano, A., Toscano, R. A., Reyes-Martínez, R., Pioquinto-Mendoza, J. R., Morales-Morales, David. Synthesis, structural characterization and biological activity of fluorinated Schiff-bases. *J. Mol. Struct.*, **2015**, 1085, 249-257.
6. Billman, J., & Tai, K. Reduction of schiff bases. II. Benzhydrylamines and structurally related compounds lab. *J. Org. Chem.*, **1958**, 23(4), 535-539.
7. Bondi, A. van der Waals Volumes and Radii. *J. Phys. Chem.*, **1964**, 68 (3), 441-451.
8. Committee on Infectious Diseases, A. A. **2000**. *Red book: report of the Committee on Infectious Diseases* 25th ed.. IL: American Academy of Pediatrics: ed. Elk Grove Village.
9. Dean, J. **1999**. *Lange's Handbook of chemistry*. New York: McGraw-Hill.
10. *DIAMOND*, Visual Crystal Structure Information System, Version 3.1c, CRYSTAL IMPACT, Bonn, Germany. Brandenburg, K. **2006**. *DIAMOND*. Crystal Impact GbR, Bonn, Germany.
11. Dolbier, William R. **2009**. *Guide to Fluorine NMR for Organic Chemists*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA.
12. Duschinsky, R., Plevan, E., & Heidelberger, C. The synthesis of 5-fluoropyrimidines. *Chem. Soc. Rev.*, **1957**, 79 (16), 4559-4560.
13. E.E.S. Abbott Laboratories. Erythromycin ethylsuccinate prescribing information In: Physicians' desk reference. 56th ed. Montvale. NJ: *Medical Economics Company Inc*, **2002**, 450-452.
14. Emsley, J. **2011**. *Nature's Building Blocks: An A-Z Guide to the Elements* (2nd Edition ed.). New York: Oxford University Press.
15. Field, L., Li, H., & Magill, A. **2015**. *Organic Structures from 2D NMR Spectra*. United Kingdom: Wiley.
16. Gabr, M., Elgohary, N. S., Elbendary, E., El-Kerdawy, M. M., & Nanting, N. Synthesis, in vitro antitumor activity and molecular modeling studies of a new series of benzothiazole Schiff bases. *Chin. Chem. Lett.*, **2015**, 27(3), 380-386.
17. Gottlieb, H., Kotlyar, V., & Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62(21), 7512-7515.

18. Guo, Z., Xing, R., Liu, S., Zhong, Z., Ji, X., Wang, L., Li, P. Antifungal properties of Schiff bases of chitosan, N-substituted chitosan and quaternized chitosan. *Carbohydr. Res.*, **2007**, *342(10)*, 1329-32.
19. Laali, K., & Gettwert, V. Fluorodediazonization in ionic liquid solvents: new life for the Balz-Schiemann reaction. *J. Fluorine Chem.*, **2001**, *107*, 31-34.
20. Layer, R. W. The chemistry of imines. *Chem. Rev.*, **1963**, *63(5)*, 489-510.
21. Lin, G.-Q., You, Q.-D., & Cheng, J.-F. (Edits.). **2011**. *Chiral Drugs: Chemistry and Biological Action*. New Jersey: Wiley.
22. Look, G., Murphy, M., Campbell, D., & Gallop, M. Trimethylorthoformate: A mild and effective dehydrating reagent for solution and solid phase imine formation. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36 (17)*, 2937-2940.
23. López, S. E., & Romero, Á. Grupo trifluorometilo: un sustituyente importante en química medicinal. *Revista Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela*, **2011**, 40-52.
24. Love, B. E., & Ren, J. Synthesis of sterically hindered imines. *J. Org. Chem.*, **1993**, *58 (20)*, 5556-5557.
25. *Triadimefon 25 WP*. (sitio en internet). Consultado el 8 Septiembre de **2016**, disponible en: <http://www.loveland.cl/productos/triadimefon-25-wp/>
26. M.H., A., Grellier, & Morris, J. Hydrogen bonding. Part 7. A scale of solute hydrogen-bond acidity based on log K values for complexation in tetrachloromethane. *Chem. Soc. Rev.*, **1989**, *2(4)*, 699-711.
27. Mabe, S., Eller, J., & Champney, W. Structure-Activity Relationship for Three Macrolide Antibiotics in *Haemophilus Influenzae*. *Curr. Microbiol.*, **2004**, *49(4)*, 248-254.
28. Metelitsa, A. V., Burlov, A. S., Bezugly, S., Borodkina, I. G., Bren, V. A., Garnovskii, A., Minkin, V. Cobalt(II), Nickel(II), Copper(II) and Zinc(II) complexes with new tetraaza Schiff base ligands: Synthesis, characterization and thermodynamic studies. *Russ. J. Coord. Chem.*, **2006**, *858*, 32.
29. Mercury, Crystal Structure Visualisation Version Mercury 2.3 (sitio en internet). Consultado 11 de septiembre de **2016**. Disponible en: (<http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/mercury/>)
30. Naeimi, H., Salimi, F., & Rabiei, K. Mild and convenient one pot synthesis of Schiff bases in the presence of P2O5/Al2O3 as new catalyst under solvent-free conditions. *J. Mol. Catal. A-Chem.*, **2006**, *260 (1-2)*, 100-104.
31. Naganagowda, G., Meijboom, R., & Petsom, A.. Synthesis and Antimicrobial Activity of New Schiff Base Compounds Containing 2-Hydroxy-4-pentadecylbenzaldehyde Moiety. *Adv. Chem.*, **2014**, *2014*, 1-9.
32. Nithinchandra, Kalluraya, B., Aamir, S., & Shabaraya, A. Regioselective reaction: synthesis, characterization and pharmacological activity of some new Mannich and Schiff bases containing sydnone. *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, *54*, 597-604.
33. O' Hagan, D. **2003**. Proceedings of the International Symposium on Fluorine in the Life Sciences. Bürgenstock, Switzerland.
34. O'Hagan, D. Understanding organofluorine chemistry. An introduction to the C-F bond. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, *37(2)*, 308-318.

35. O'Hagan, D., & Harper, D. Fluorine-containing natural products and Recent Progress in Elucidating the Pathway of Fluorometabolite Biosynthesis in *Streptomyces cattle*. *ACS*, **1999**, *746(15)*, 201-224.
36. Ozkay, Y. Antimicrobial activity and a SAR study of some novel benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45(8)*, 3293-3298.
37. Shaharyar, M., Salahuddin, S., Mazumder, A., Pandey, R. Synthesis, characterization and pharmacological screening of novel benzimidazole derivatives. *Arab. J. Chem.*, **2011**, *45(8)*, 1-6.
38. Panneerselvam, P., Nair, R., Vijayalakshmi, G., Subramanian, E., & Sridhar, S. Synthesis of Schiff bases of 4-(4-aminophenyl)-morpholine as potential antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, *40 (2)*, 225-229.
39. Patai, S. **1970**. *The Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond*. New York: Wiley.
40. Pauling, L. **1939**. *The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals: An Introduction to Modern Structural Chemistry*. Ithaca, NY: Cornell University Press.
41. Plosker, G., Perry, C., & Goa, K. Efavirenz: a pharmaco-economic review of its use in HIV infection. *Pharmacoeconomics*, **2001**, *19(4)*, 421-436.
42. Pretsch, E., Buehlmann, P., Badertscher, M. **2009**. *Structure Determination of Organic Compounds* 4th ed. Springer, 208.
43. *Properties Of Matter: Fluorine*. (sitio en internet). Consultado el 30 de Agosto de **2016**, disponible en: <http://www.propertiesofmatter.com/fluorine>
44. Purser, S., Moore, P. R., Swallow, S., & Gouverneur, V. Fluorine in medicinal chemistry. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, *37(2)*, 320-330.
45. Rabel, S., Sun, S., Maurin, M., & Patel, M. Electronic and resonance effects on the Ionization of structural analogues of efavirenz. *AAPS PharmSci*, **2001**, *3(4)*, 26-29.
46. Robertson, G. **1995**. *Imines and their N-substituted derivatives: NH, NR and N-haloimines*. Amsterdam: Reverté, 412-414.
47. *Fluorine*. (sitio en internet). Consultado el 5 de Septiembre de **2016**, disponible en: <http://www.rsc.org/periodic-table/element/9/fluorine>
48. Schiff, H. Mitteilungen aus dem universitatlaboratorium in Pisa: Eineneue reihe organischer basen (in German). *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1864**, 118-119.
49. Schiff, H. Eine neue Reihe organischer Diamine (in German). *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1866**, *140*, 92-137.
50. Shi, L., Ge, H., Tan, S., Li, H., Song, Y., Zhu, H.L., Tan, R.X. Synthesis and antimicrobial activities of Schiff bases derived from 5-chloro-salicylaldehyde. *Eur. J. Med. Chem.*, **2007**, *42(4)*, 558-64.
51. *Molecular Sieves 4 angstroms: Technical Information Bulletin*. (sitio en internet). Consultado el 30 de Agosto de **2016**, disponible en: <http://www.sigmaaldrich.com/chemistry/chemical-synthesis/learning-center/technical-bulletins/al-1430/molecular-sieves.html>

52. Smith, D., Waterbeemd, v. d., & Walker, D. **2006**. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry, vol. 31: Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design*. Weinheim: Wiley-VCH.
53. Spek, A.L. *Acta Cryst.* **2009**, **D65**, 148-155.
54. Sztanke, K., Maziarka, A., Osinka, A., & Sztanke, M. An insight into synthetic Schiff bases revealing antiproliferative activities in vitro. *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, *21(13)*, 3648-3666.
55. Swain, C., Rupniak, N.M.J. Progress in the development of neurokinin antagonists. *Ann. Rep. Med. Chem.*, **1999**, *34*, 51-60.
56. van Niel, M., Collins, I., Beer, M., Broughton, H., Cheng, S.K.; Goddacre, S.C.; Heald, A.; Locker, K.L.; MacLeod, A.M.; Morrison, D.; Moyes, C.R.; O'Connor, D.; Pike, A.; Rowley, M.; Russell, M.G.; Sohal, B.; Atanton, J.A.; Thomas, S.; Verrier, H.; Watt, A.P.; Castro, J.L. Fluorination of 3-(3-(piperidin-1-yl)propyl)indoles and 3-(3-(piperazin-1-yl)propyl)indoles gives selective human 5-HT_{1D} receptor ligands with improved pharmacokinetic profiles. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42(12)*, 2087-2104.
57. Vogel, A., Tatchell, A., Furnis, B., Hannaford, A., & Smith, P. **1989**. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry* (5th Edition ed.). United Kingdom: Prentice Hall.
58. Westheimer, F., & Taguchi, K. Catalysis by molecular sieves in the preparation of ketimines and enamines. *J. Org. Chem.*, **1971**, *36 (11)*, 1570-1572.
59. Yang, Q., Sun, X., Liu, Y., Chen, B., & Shen, S. Synthesis and Antifungal Activity of Schiff Bases of 5-Ethoxycarbonylmethylsulfanyl-1,2,4-triazole. *Chinese J. App.*, **2014**, *31(7)*, 788-792.
60. Zhou, Y., Zhao, M., Wu, Y., Li, C., Wu, J., Zheng, M., Peng, L., Peng, S. A class of novel Schiff's bases: Synthesis, therapeutic action for chronic pain, anti-inflammation and 3D QSAR analysis. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18(6)*, 2165-2172.

12. APÉNDICE

12.1 Espectroscopías y espectrometrías de las bases de Schiff fluoradas *p*-hidroxisustituídas

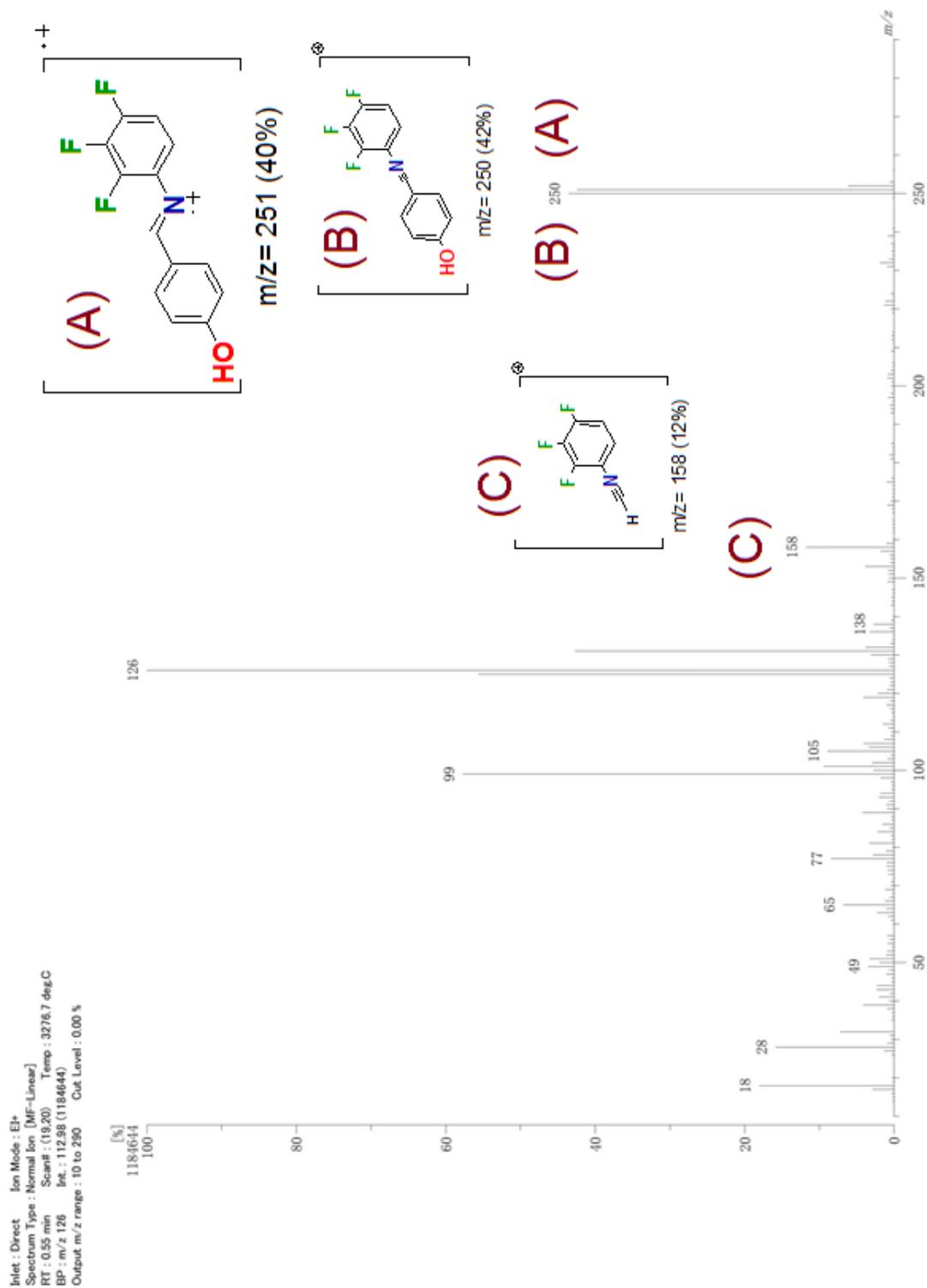


Figura 27. Espectrometría de masas del 4-(E)-(2,3,4-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 1).

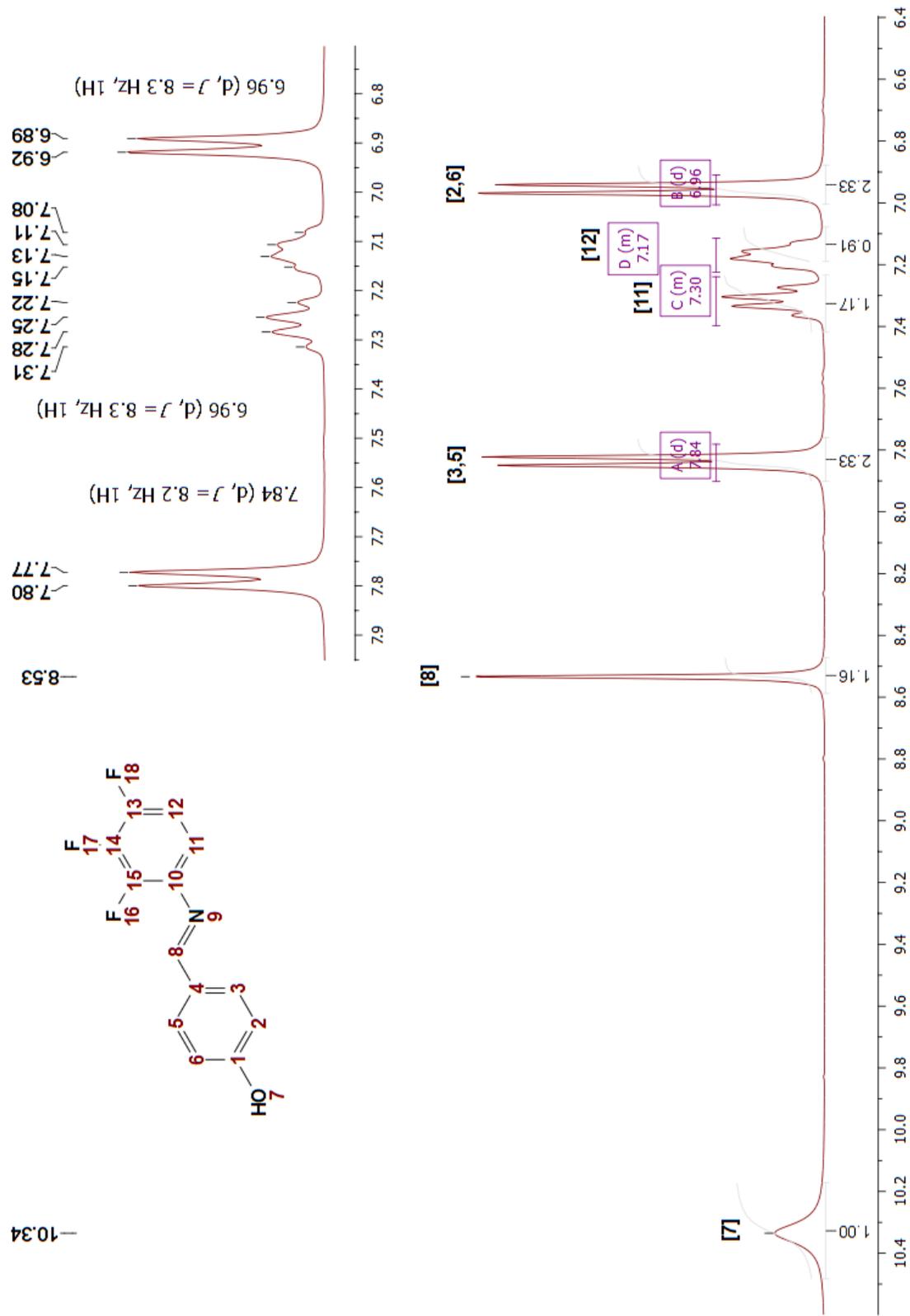


Figura 28. Espectroscopía de RMN-¹H del 4-(E)-(2,3,4-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 1).

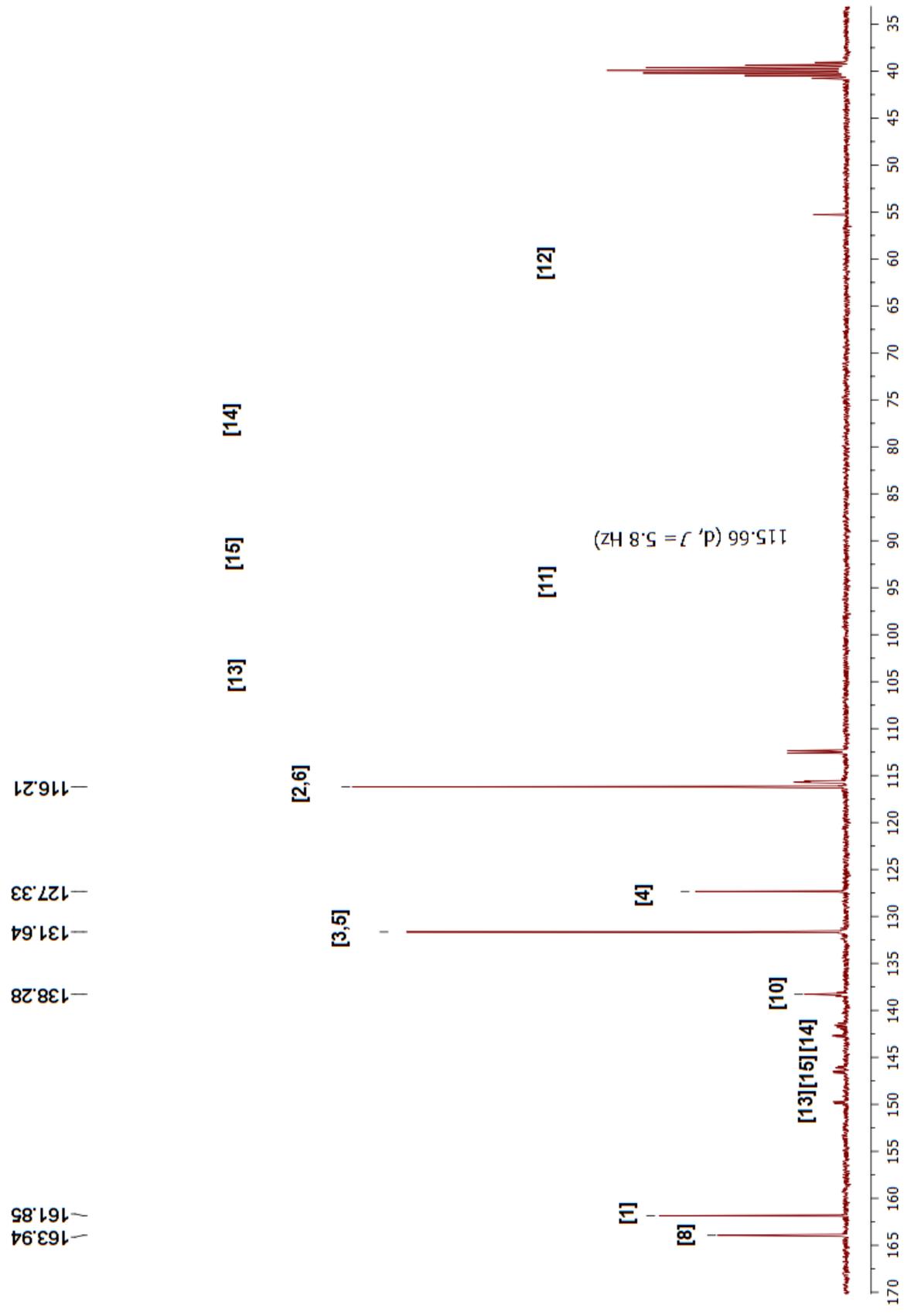


Figura 29. Espectroscopia de RMN-¹³C{¹H} del 4-(E)-(2,3,4-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 1).

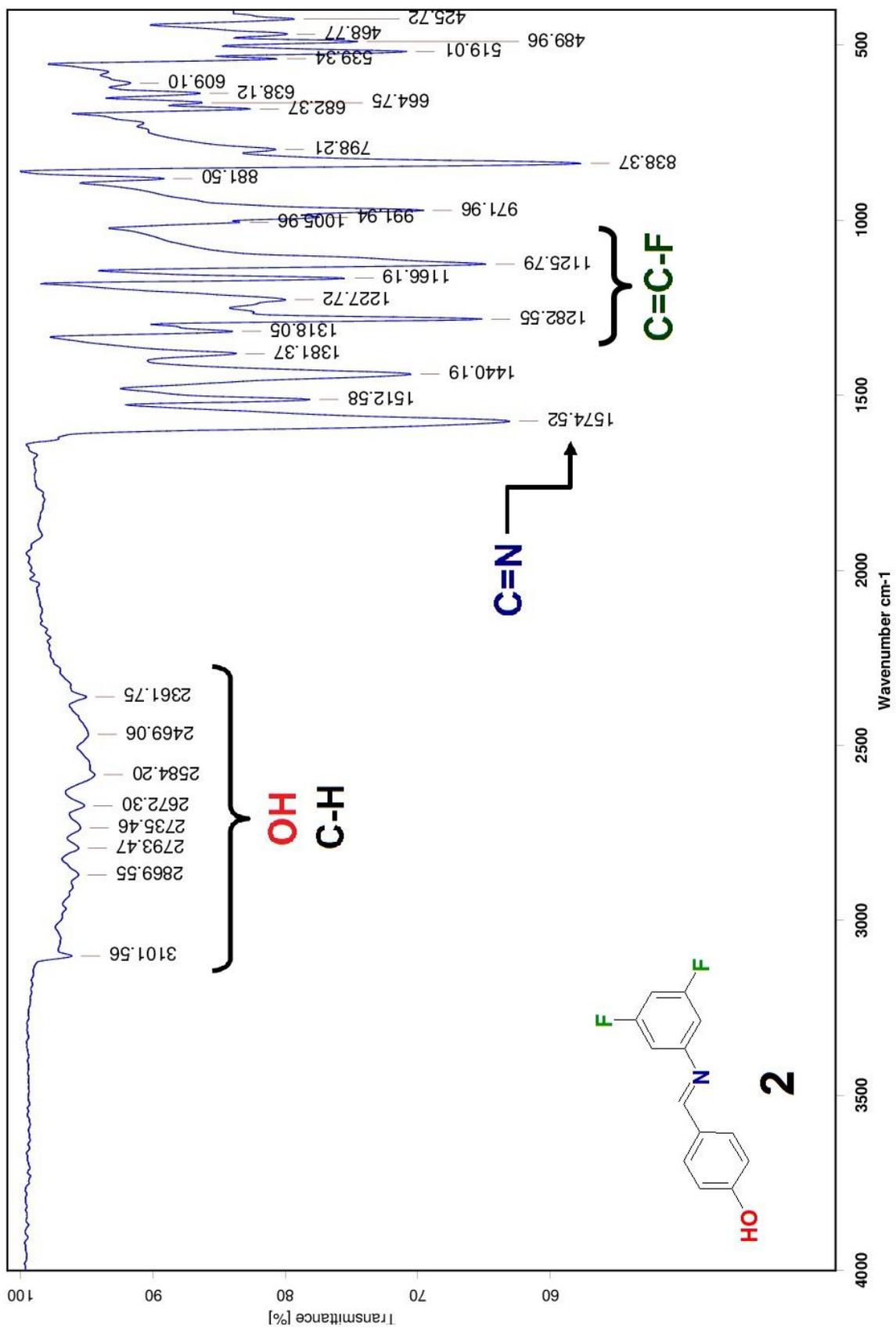


Figura 30. Espectroscopia de IR del 4-(E)-(3,5-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 2).

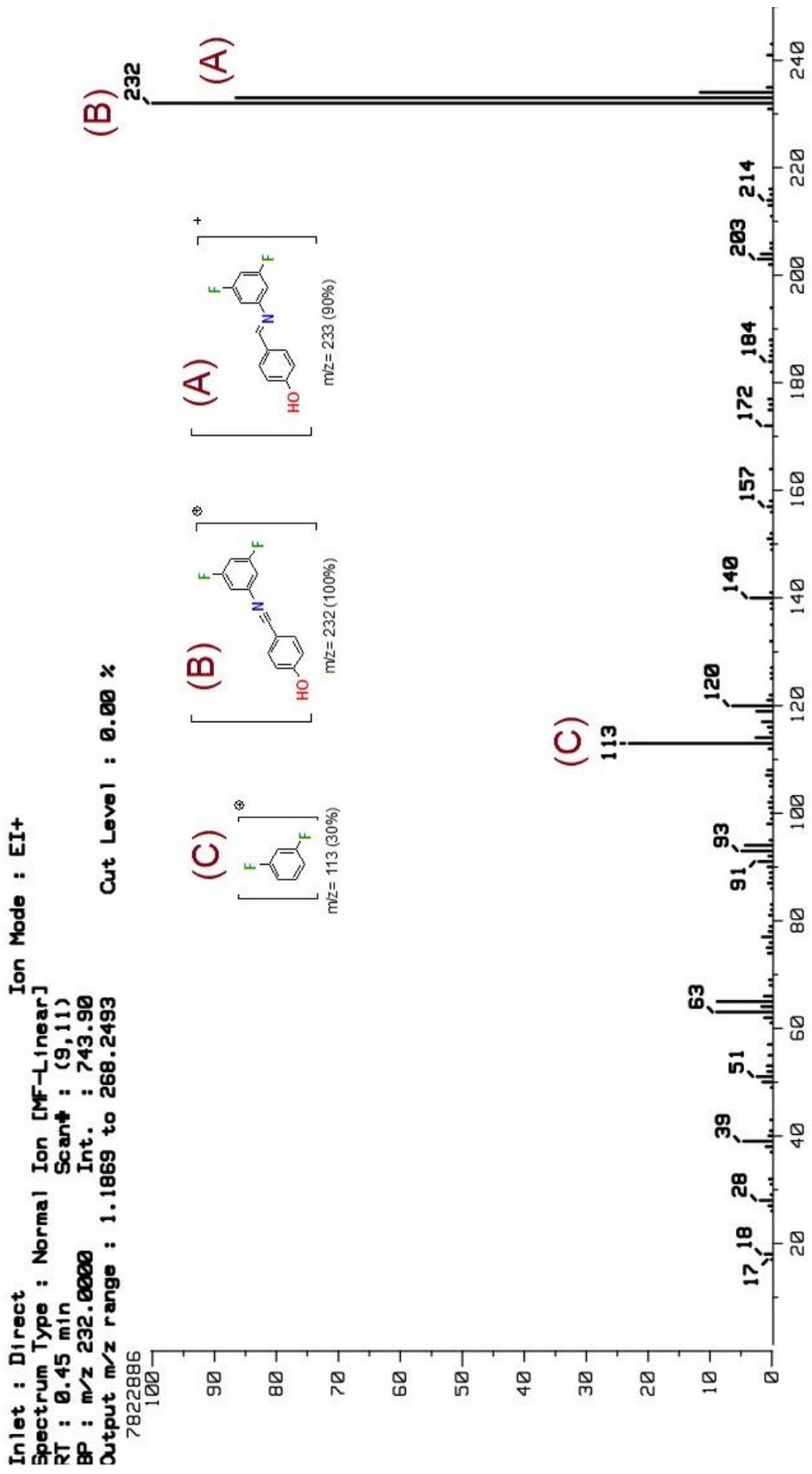


Figura 31. Espectrometría de masas del 4-(E)-(3,5-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 2).

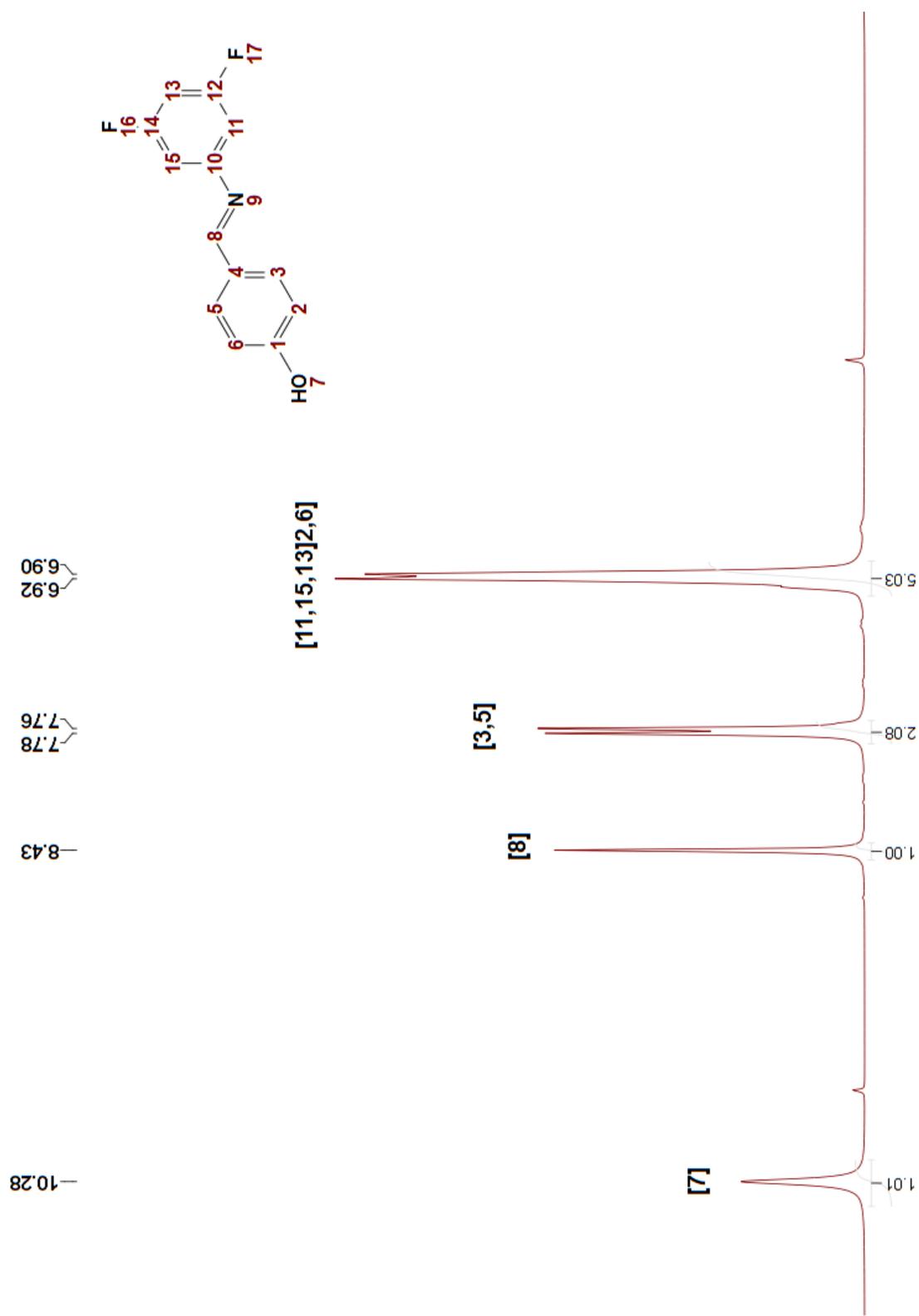


Figura 32. Espectroscopía de RMN-¹H del 4-(E)-(3,5-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 2).

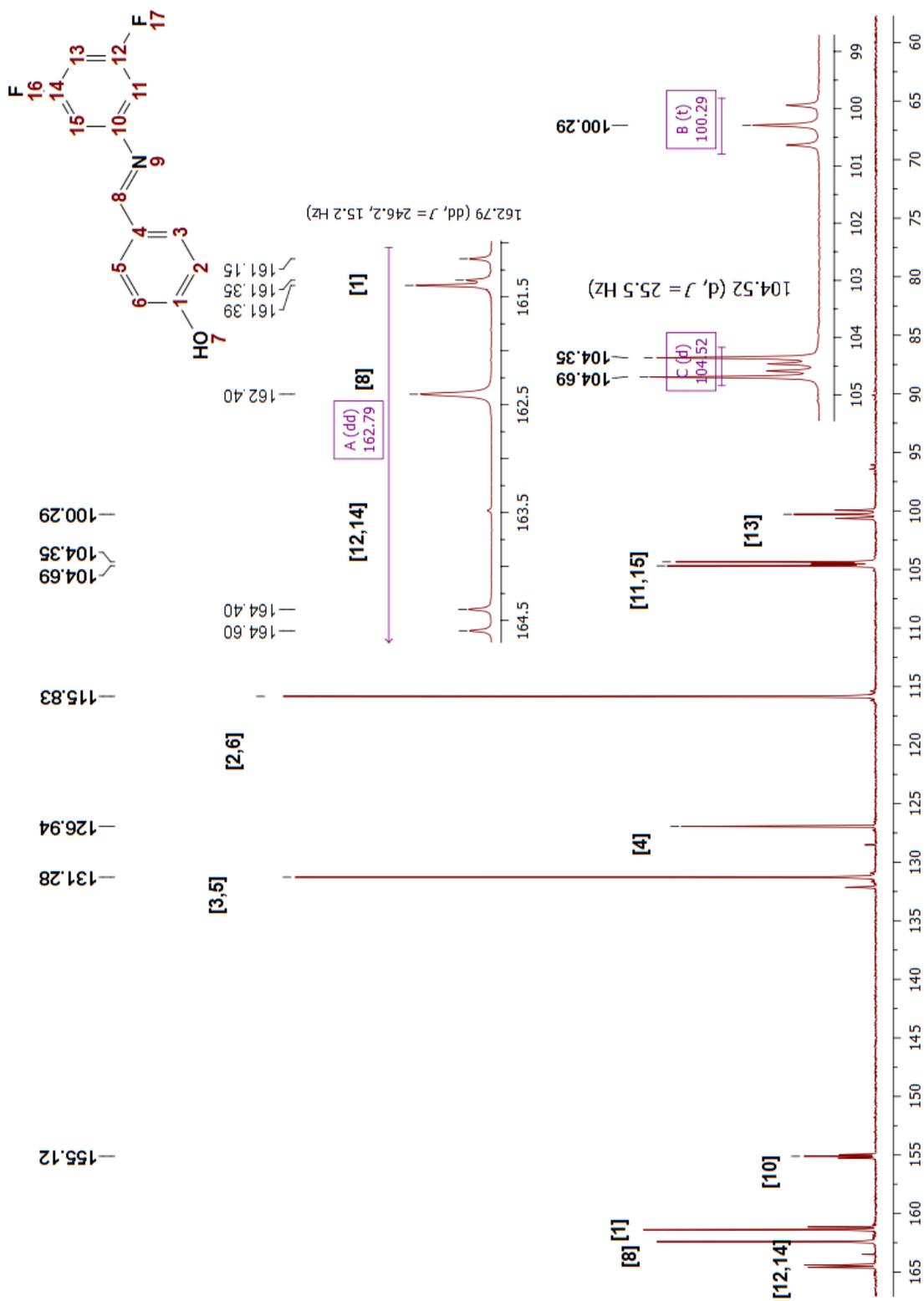


Figura 33. Espectroscopía de RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ del 4-(E)-(3,5-difluorofenilimino)-metifenol (compuesto 2).

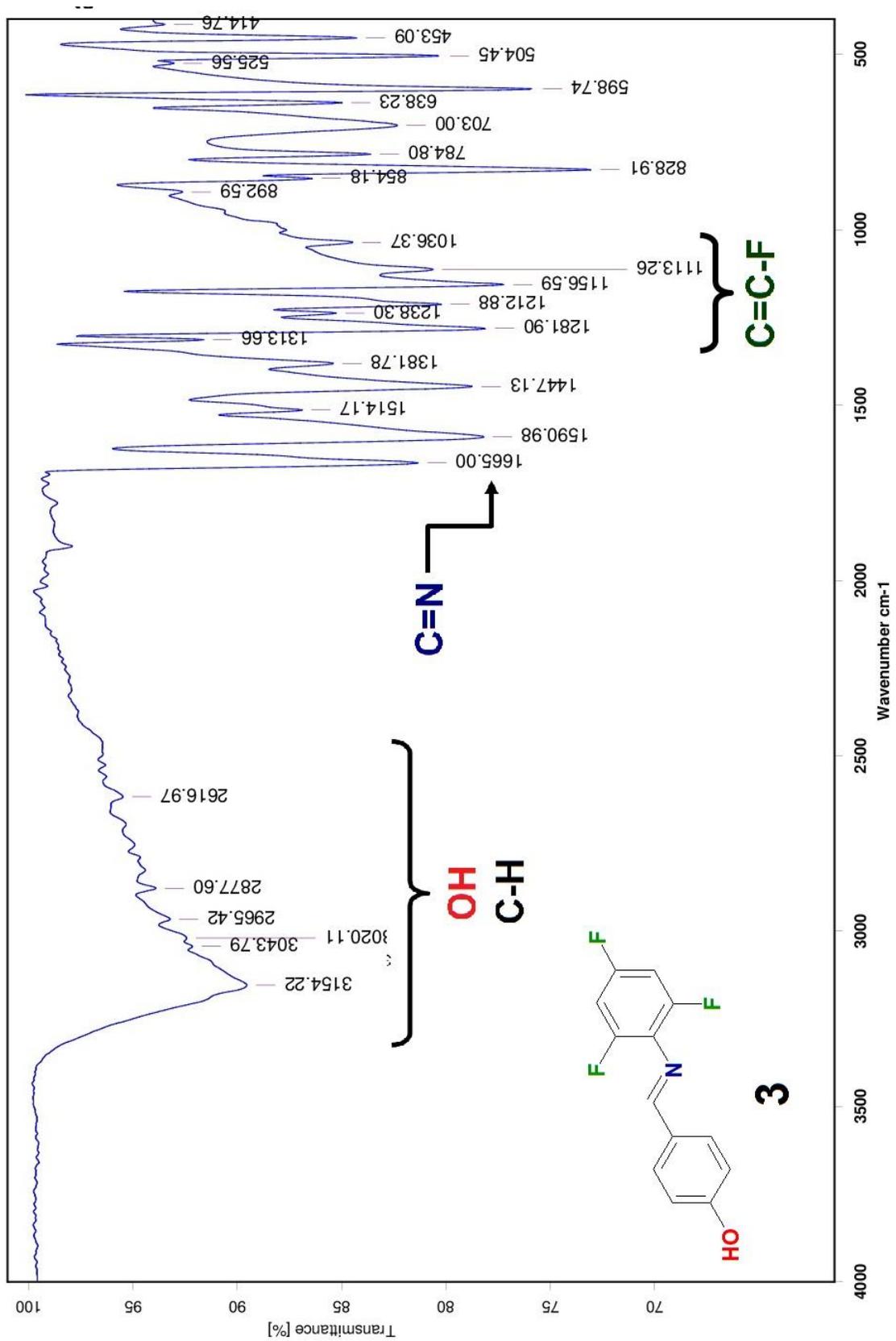


Figura 34. Espectroscopía de IR del 4-(E)-(2,4,6-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 3).

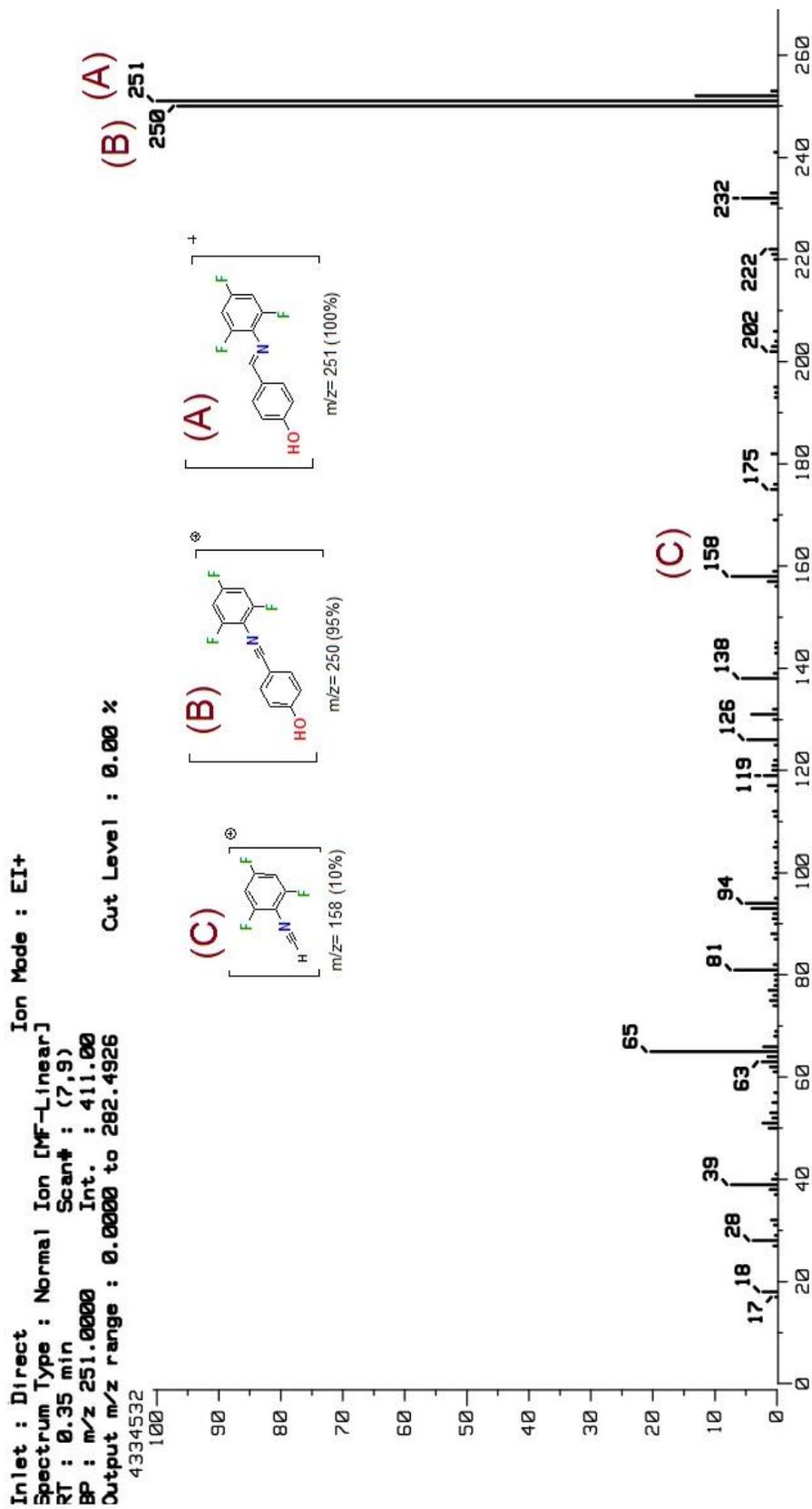


Figura 35. Espectrometría de masas del 4-(E)-(2,4,6-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 3).

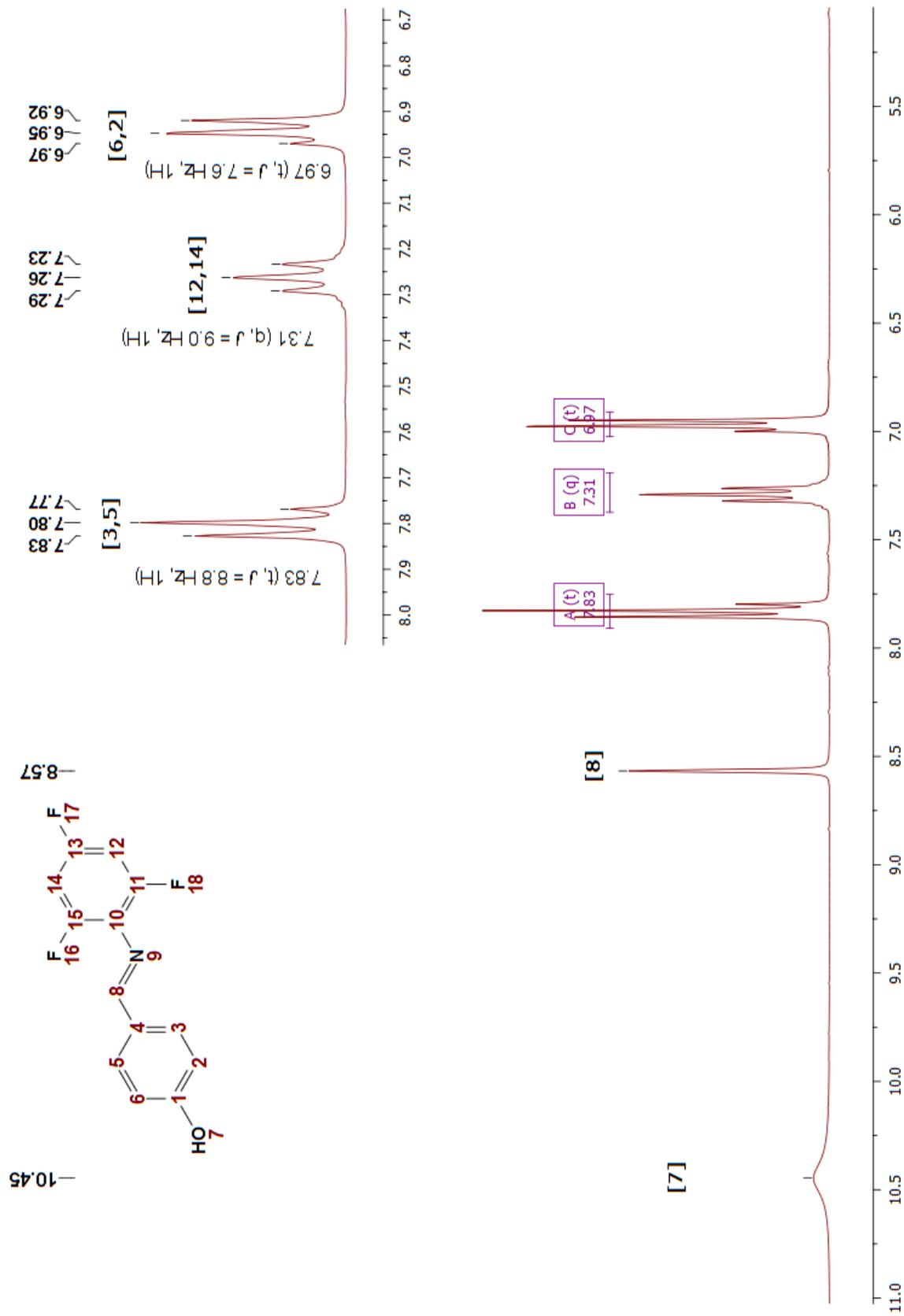


Figura 36. Espectroscopía de RMN-¹H del 4-(E)-(2,4,6-trifluorofenilimino)-metifenol (compuesto **3**).

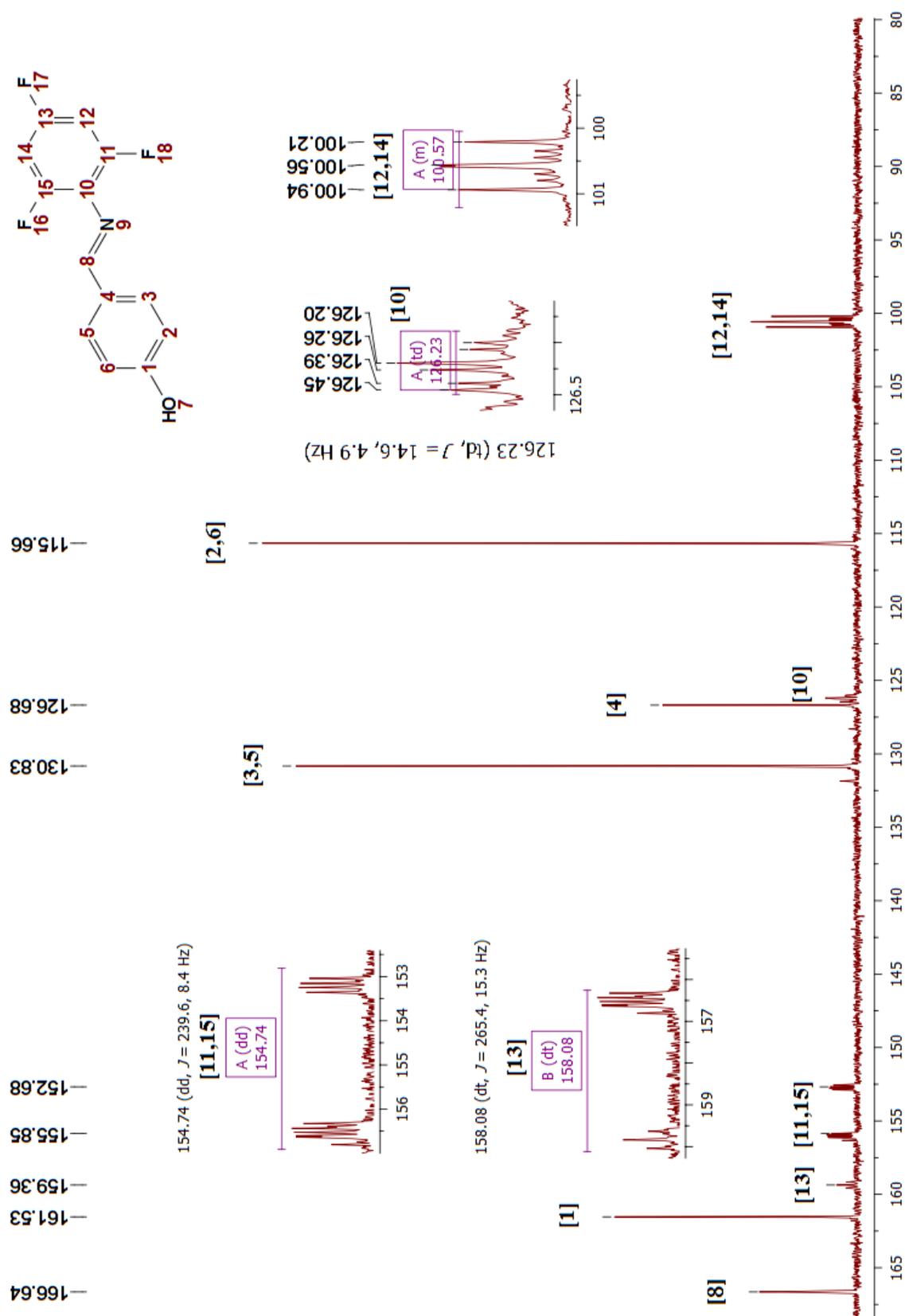


Figura 37. Espectroscopía de RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ 4-(E)-(2,4,6-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 3).

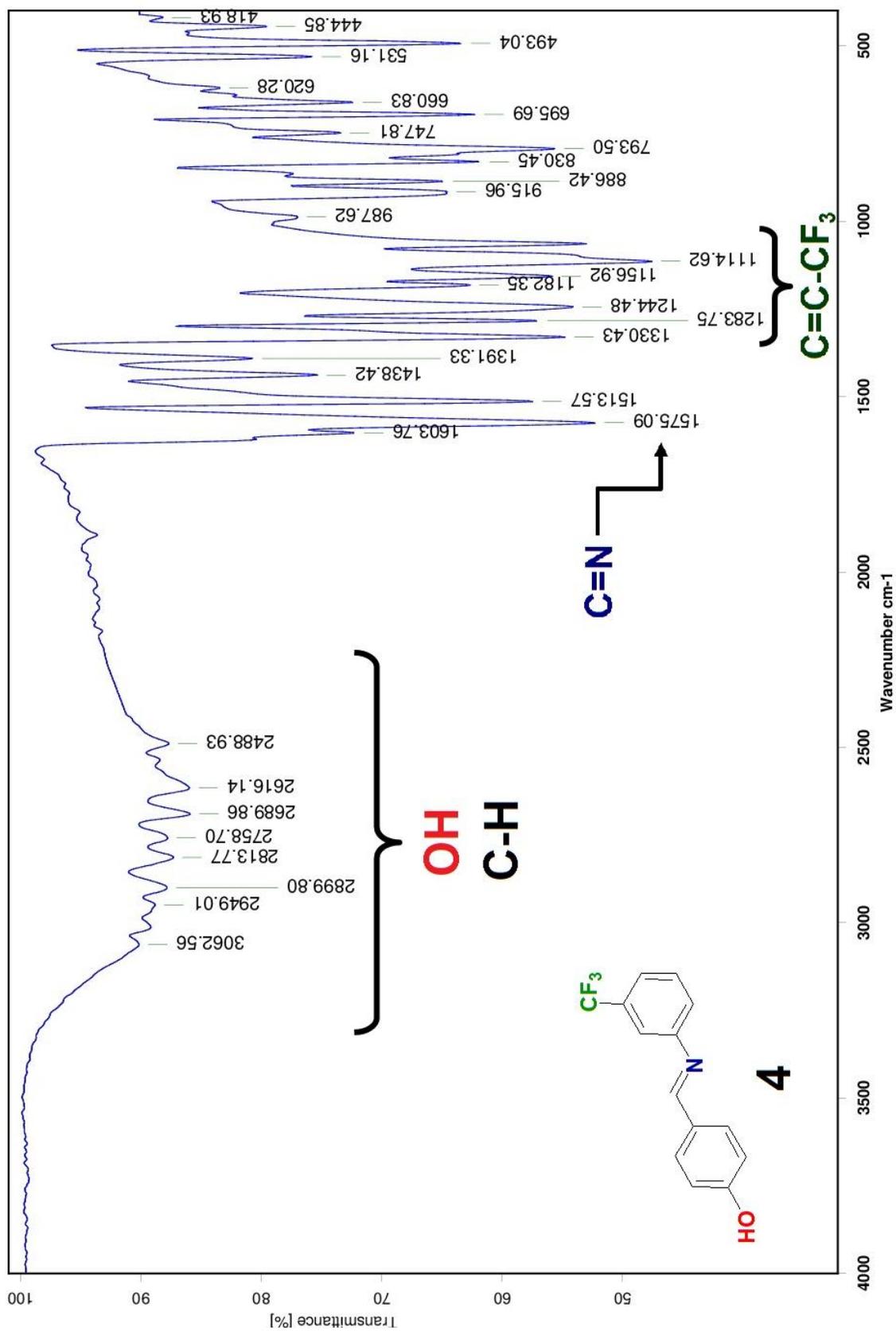


Figura 38. Espectroscopía de IR del 4-(E)-(3-trifluorometil)fenilimino)))-metilfenol compuesto 4.

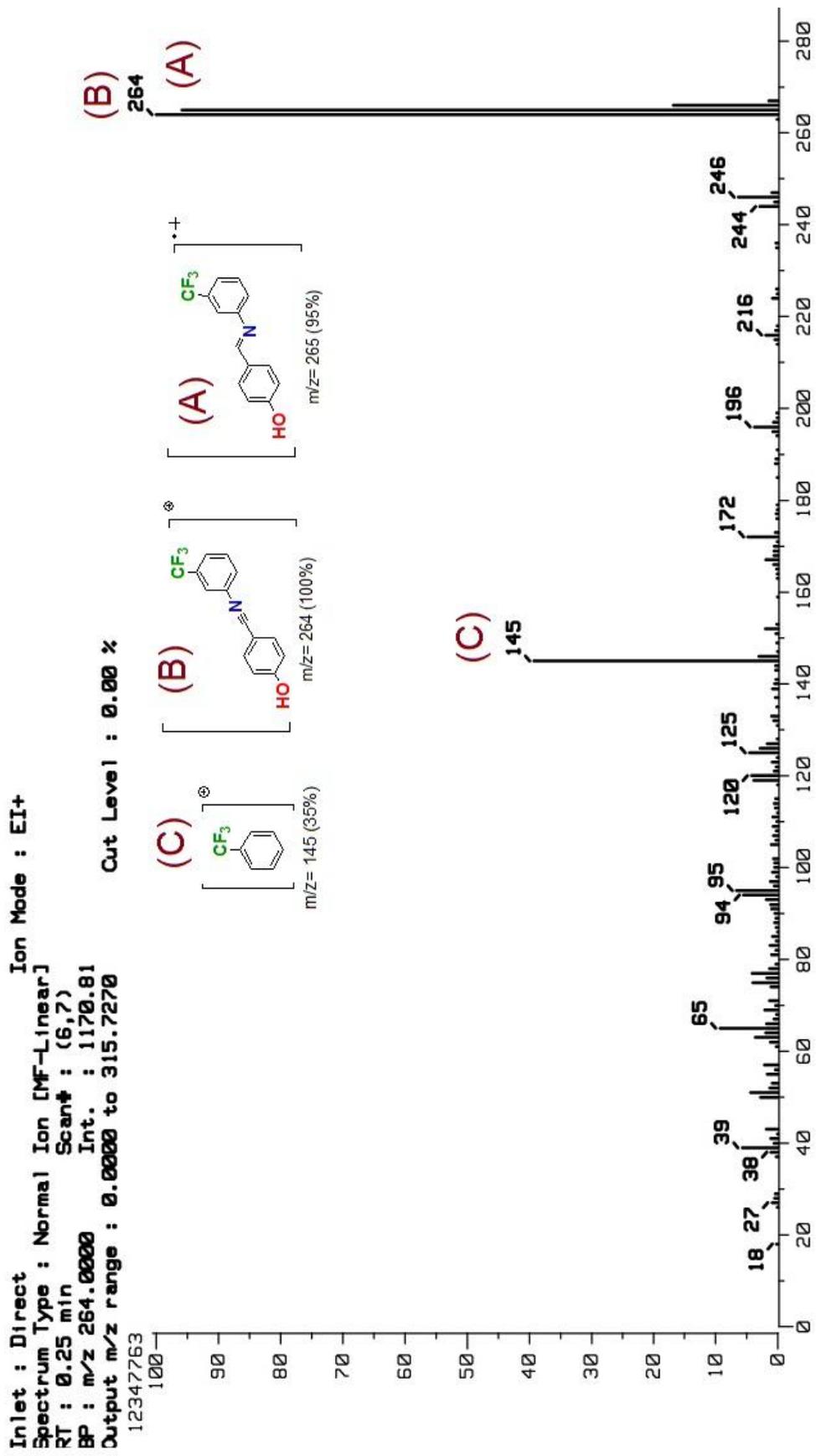


Figura 39. Espectrometría de masas del 4-(E)-(3-trifluorometil)fenilimino)-metilfenol (compuesto 4).

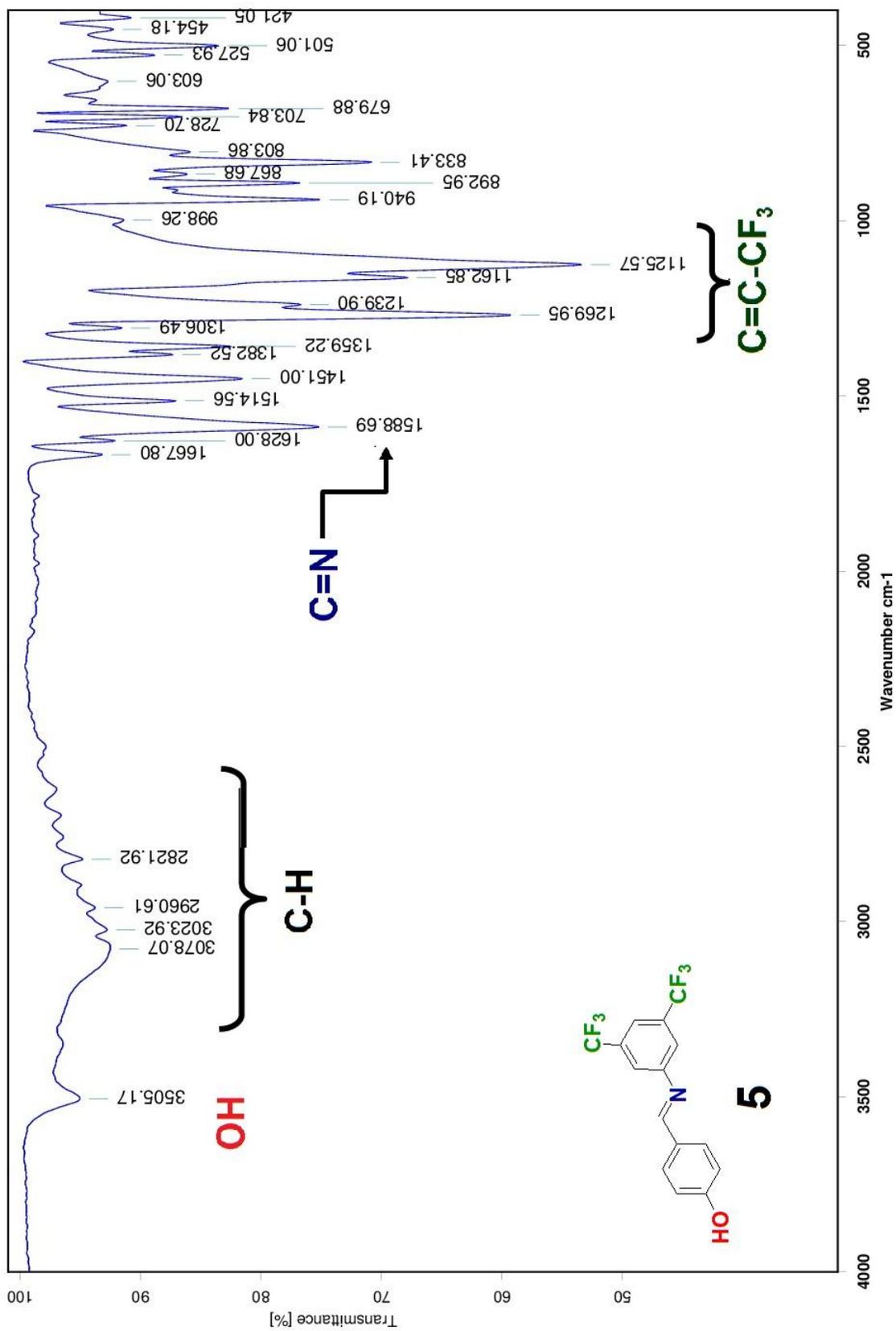


Figura 40. Espectrometría de IR del 4-(E)-(3,5-bis(trifluorometil)fenilimino)-metilfenol (compuesto 5).

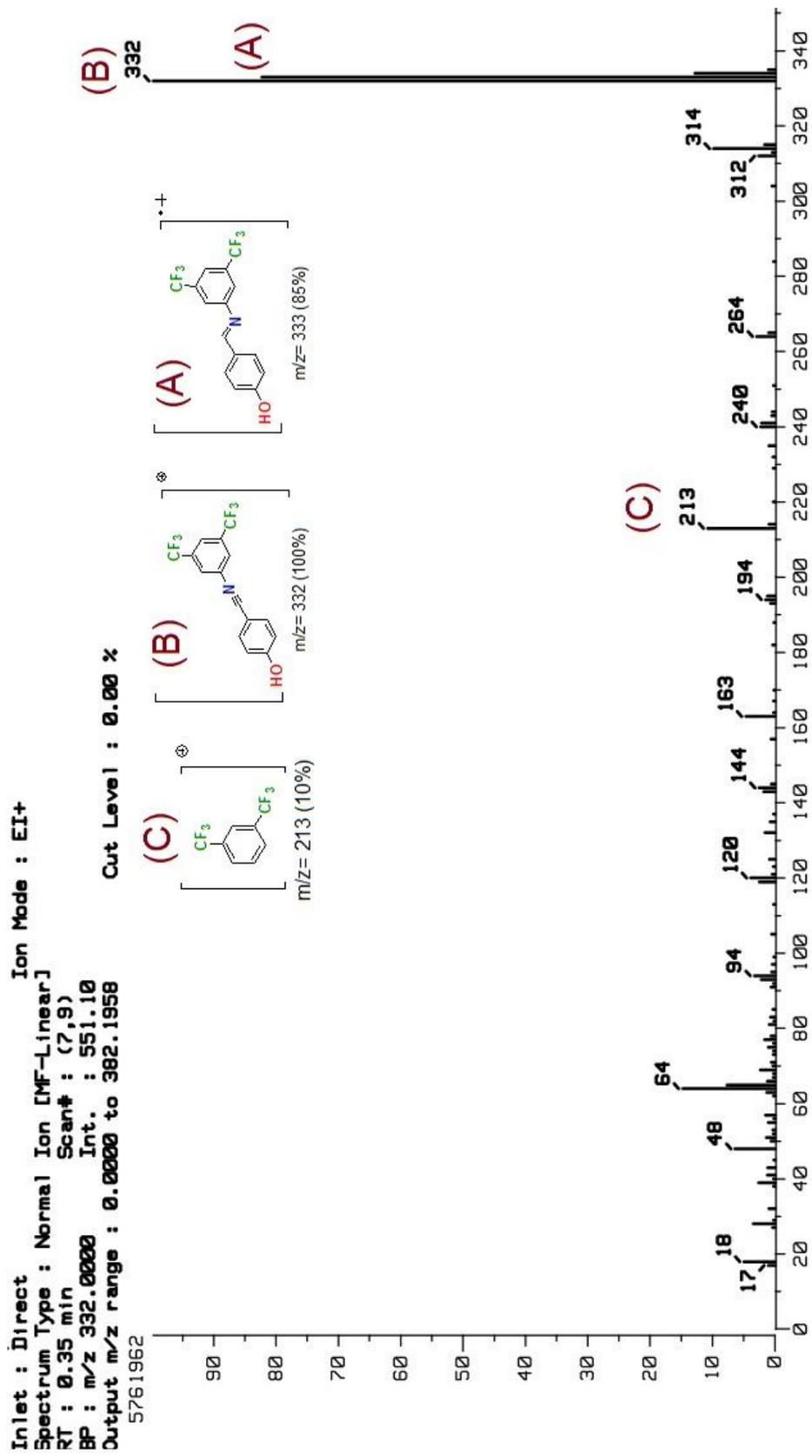


Figura 41. Espectrometría de masas del 4-(E)-(3,5-bistrifluorometil)fenilimino)-metilfenol (compuesto 5).



Figura 42. Espectroscopia de RMN-¹H del 4-(E)-(3,5-bis(trifluorometil)fenilimino)-metilfenol (compuesto 5).

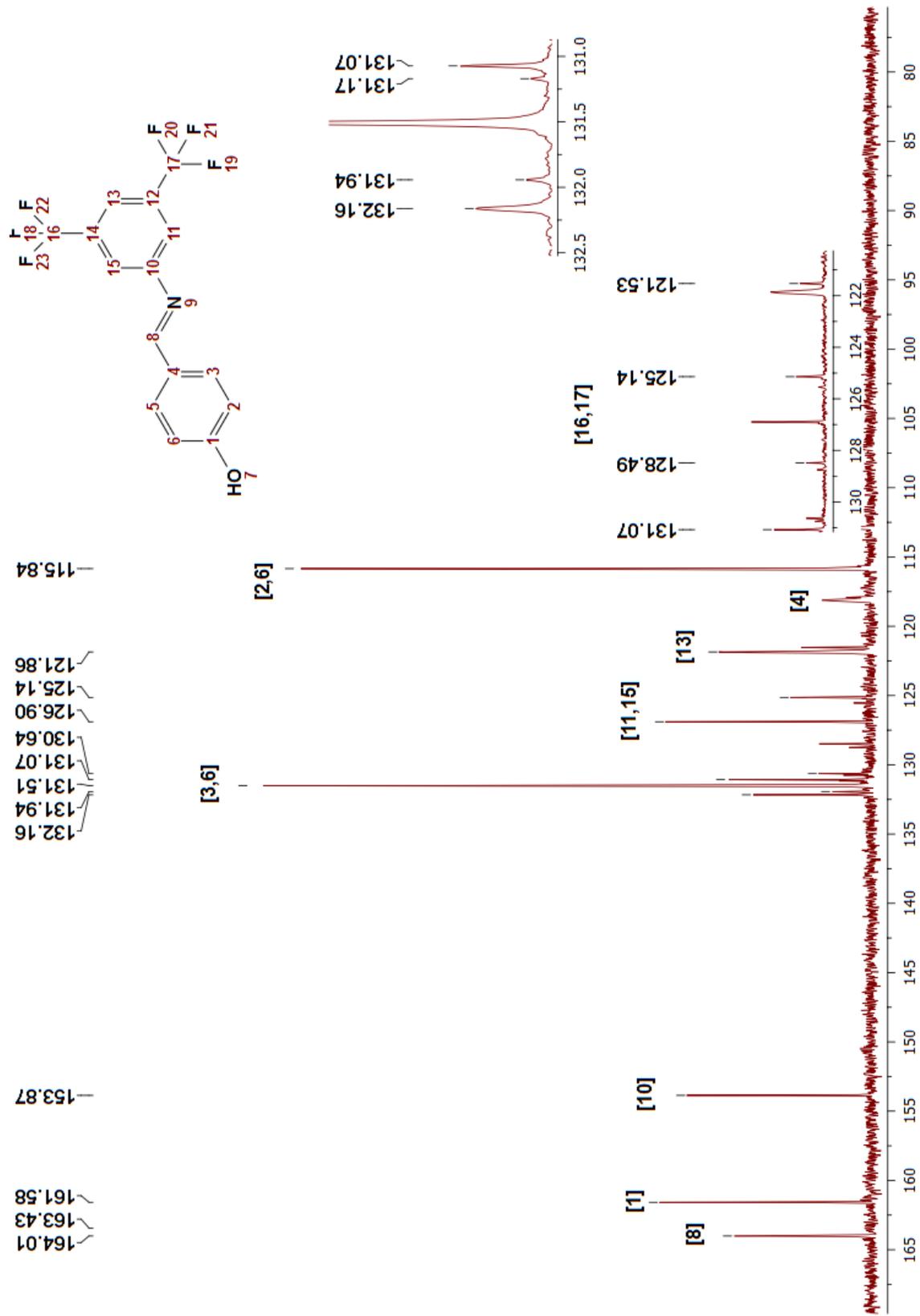


Figura 43. Espectroscopia de RMN- ^{13}C (H) del 4-(E)-(3,5-bis(trifluorometil)fenilimino)-metilfenol (compuesto 5).

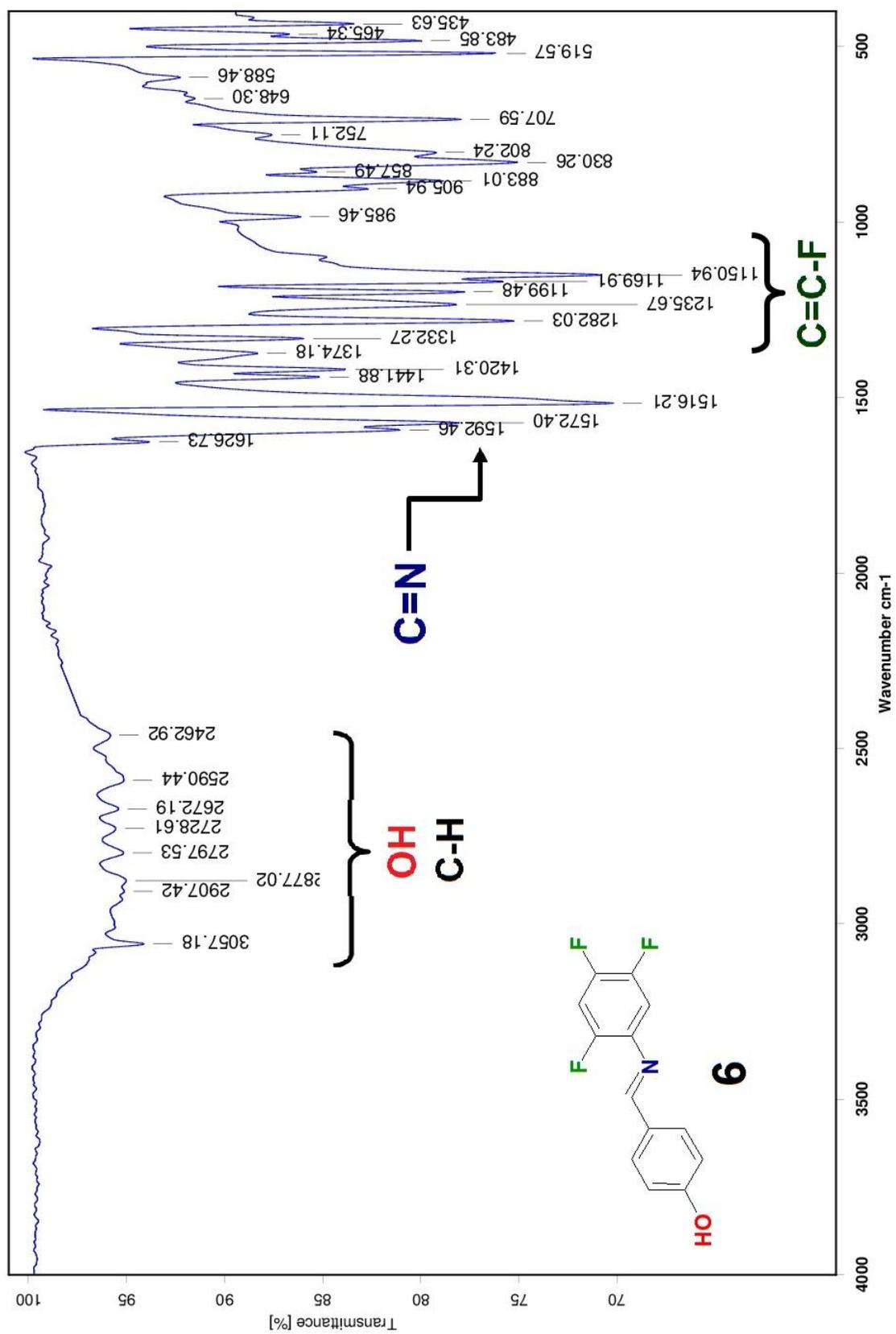


Figura 44. Espectroscopía de IR del 4-(E)-(2,4,5-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto **6**).

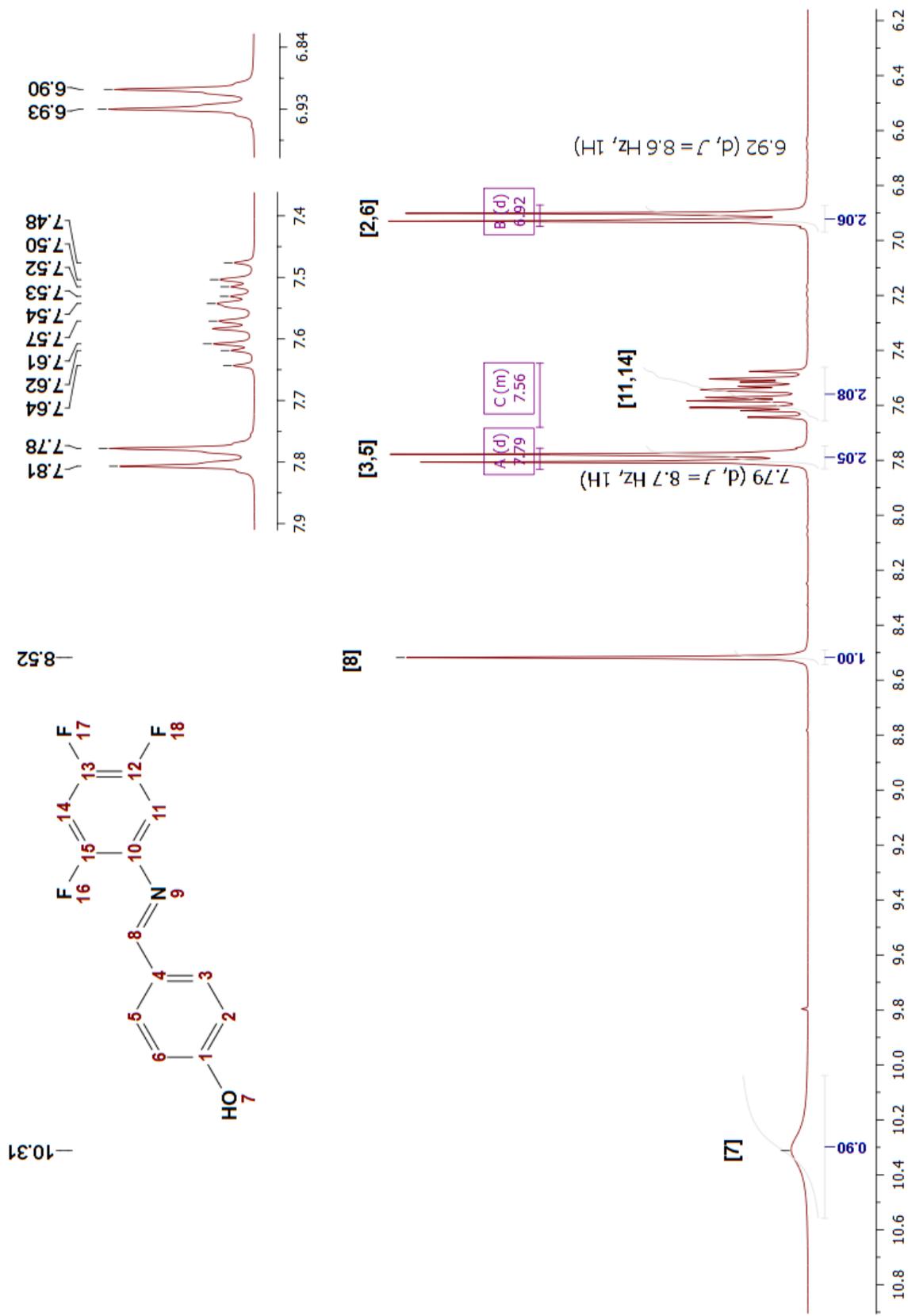


Figura 45. Espectro de RMN- ^1H del 4-(E)-(2,4,5-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 6).

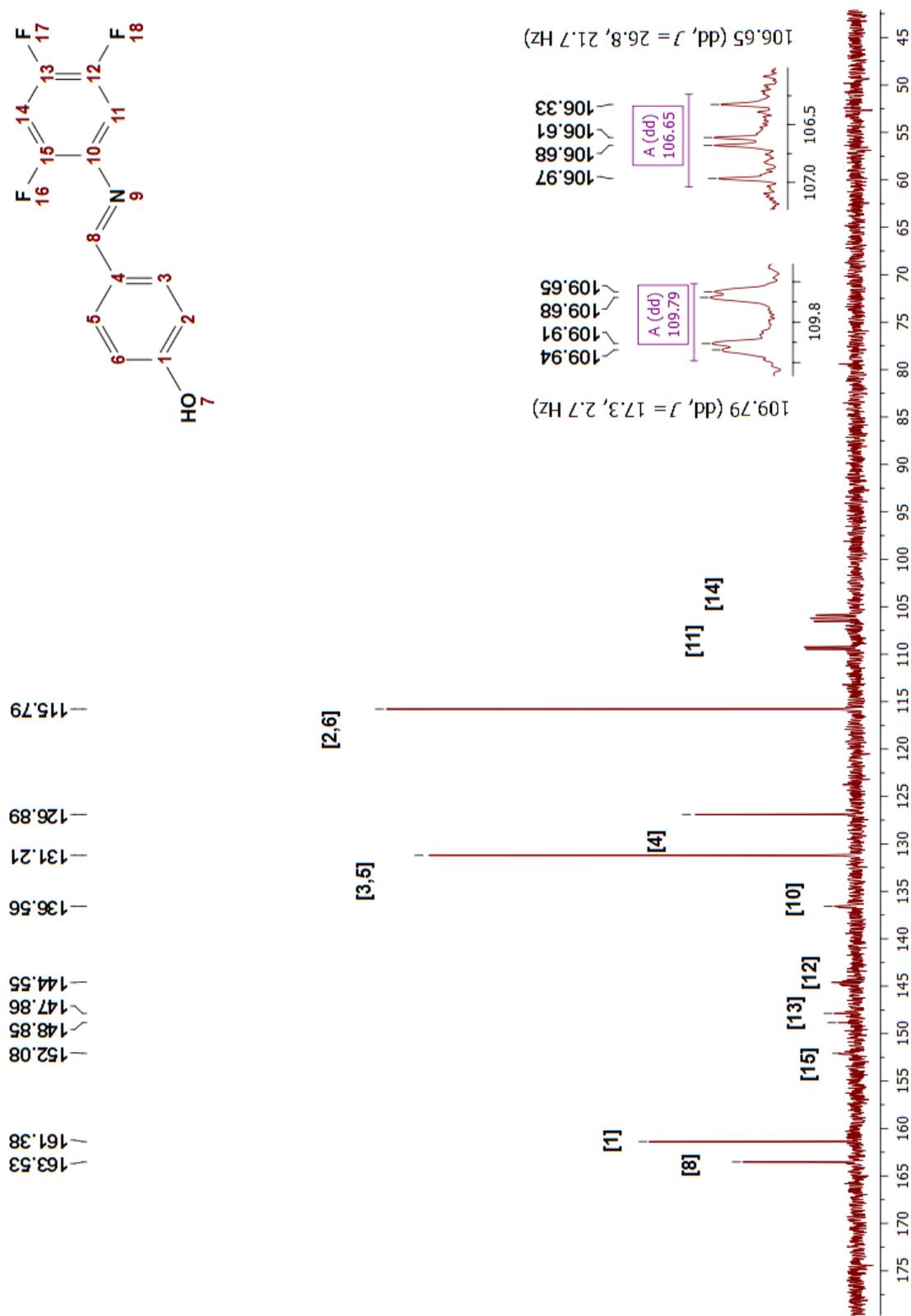


Figura 46. Espectroscopía de RMN- ^{13}C { ^1H } del 4-(E)-(2,4,5-trifluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 6).

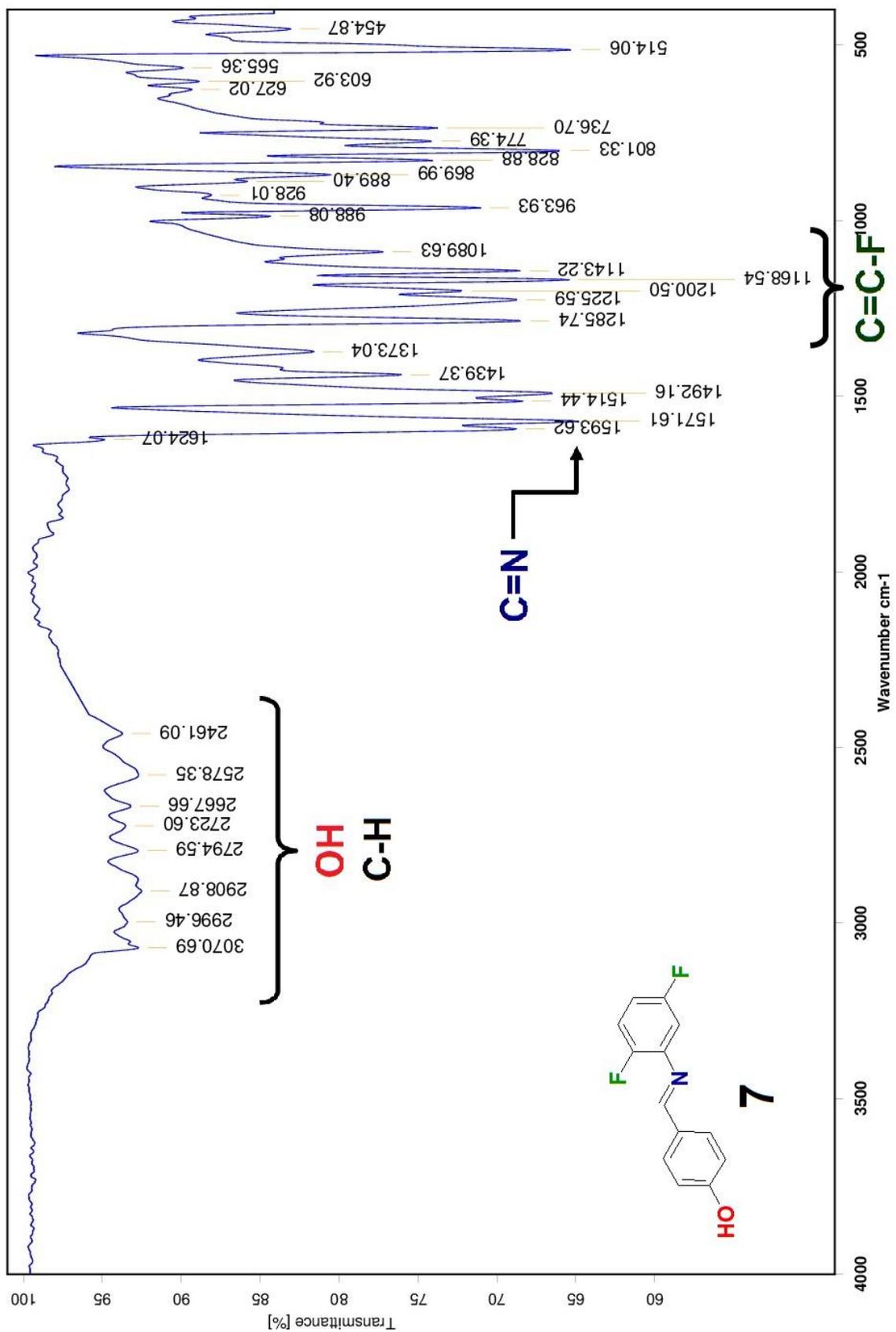


Figura 47. Espectroscopía de IR del 4-(E)-(2,5-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 7).

Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 0.58 min Scan# : (20.22) Temp : 3276.7 degC
 BP : m/z 232 Int. : 205.86 (2158554)
 Output m/z range : 10 to 298 Out Level : 0.00 %

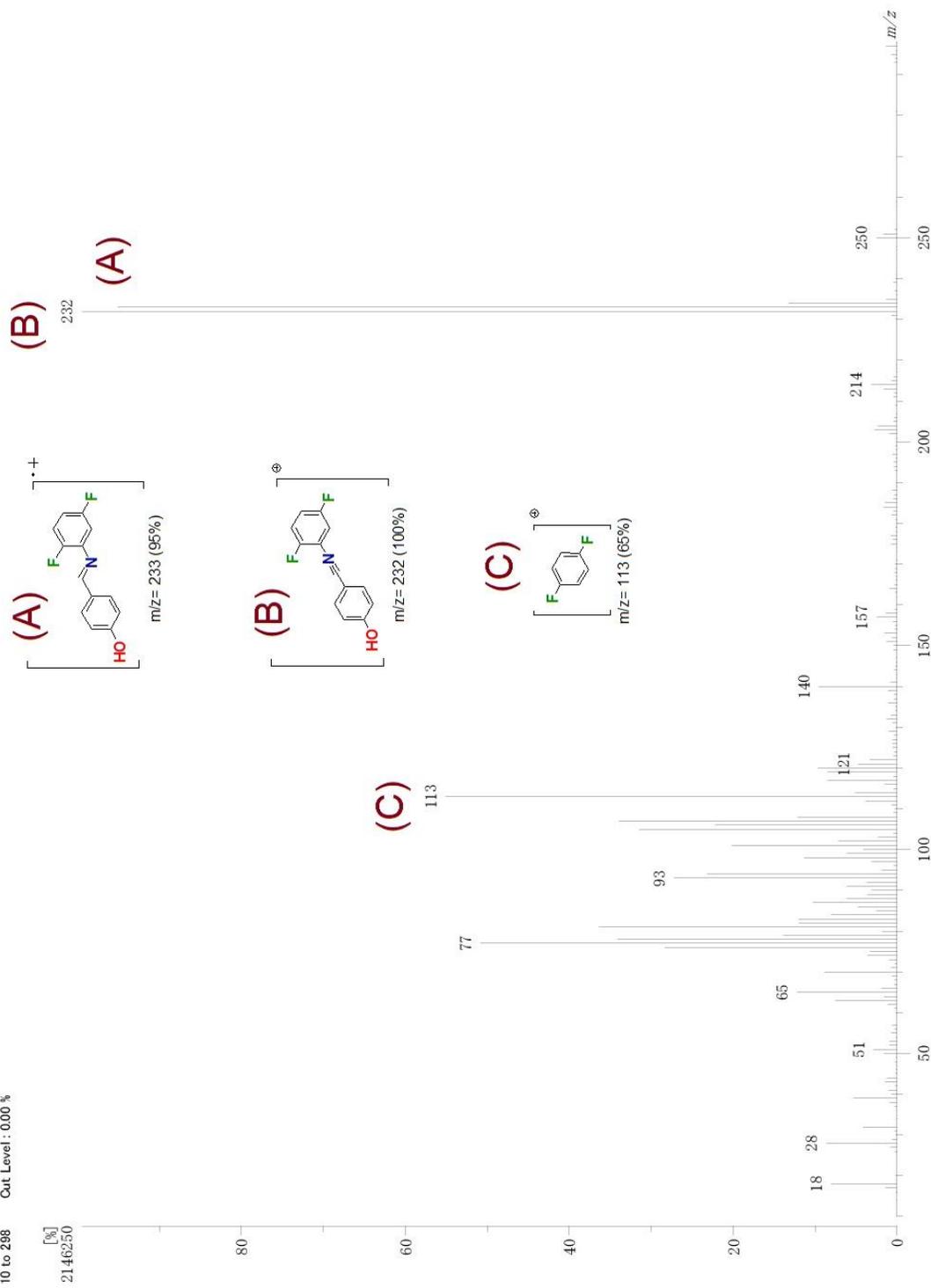


Figura 48. Espectrometría de masas del 4-(E)-(2,5-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 7).

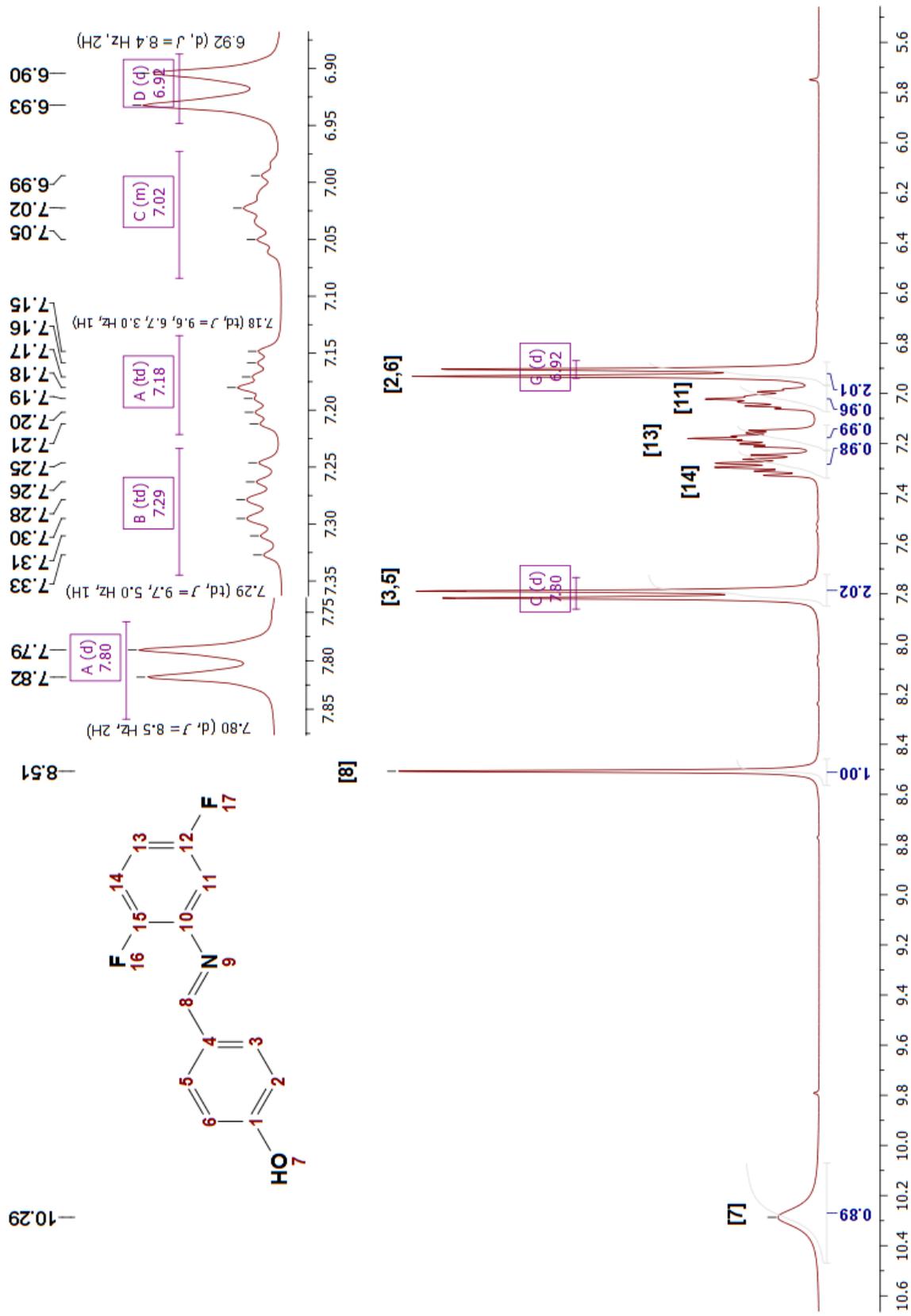


Figura 49. Espectroscopía de RMN-¹H del 4-(E)-(2,5-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 7).

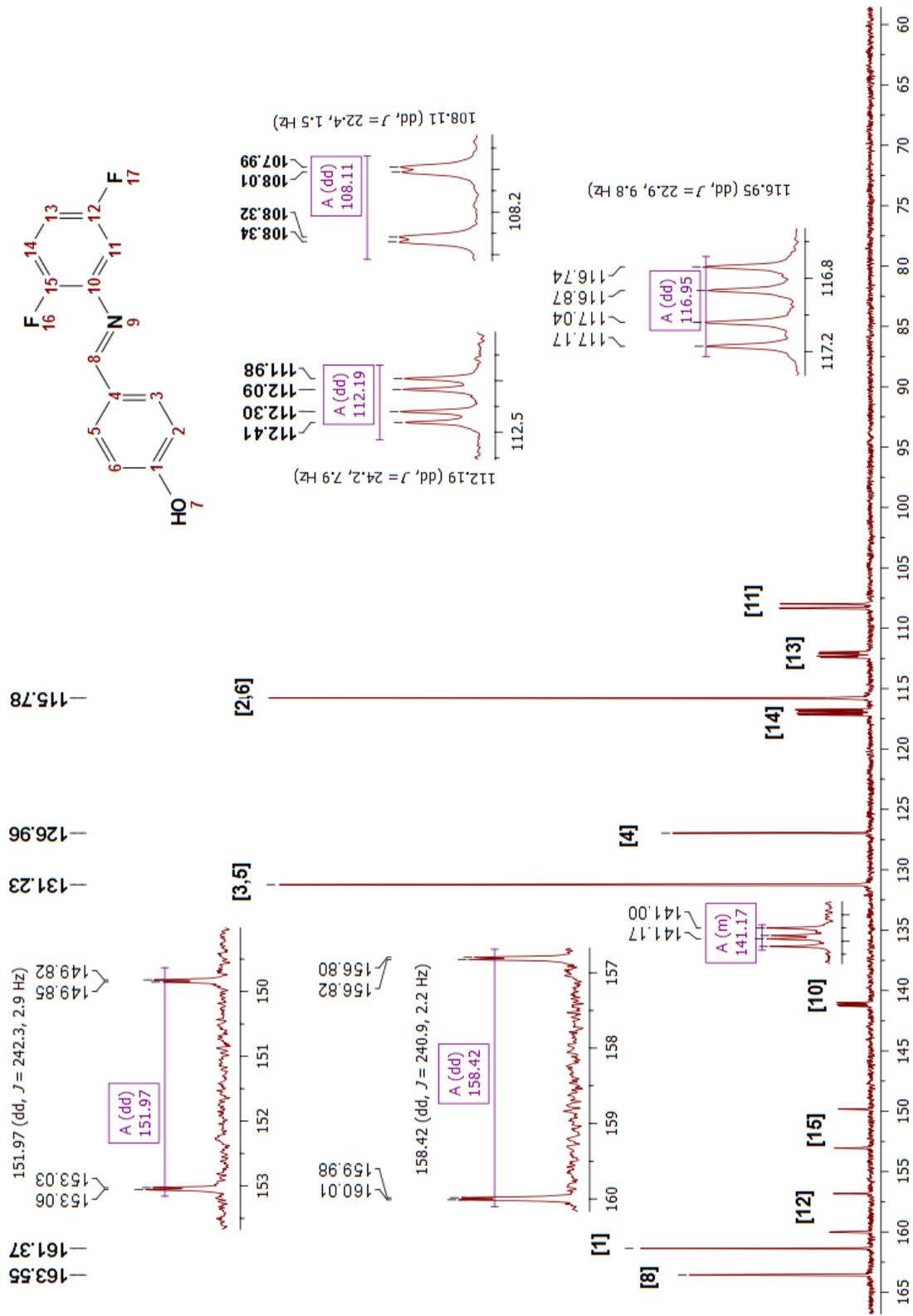


Figura 50. Espectroscopia de RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ del 4-(E)-(2,5-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 7).

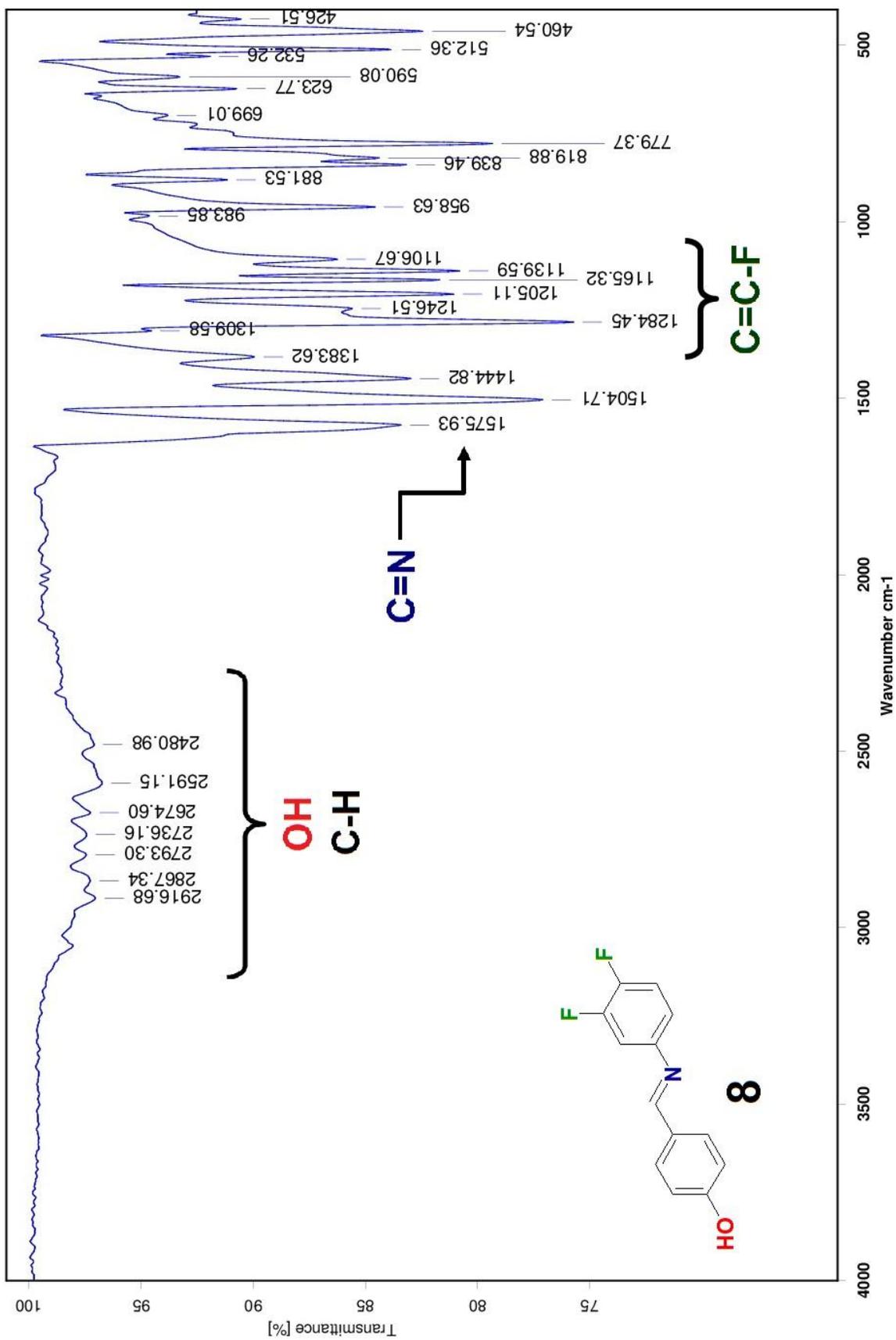


Figura 51. Espectroscopia de IR del 4-(E)-(3,4-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto **8**).

Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 0.76 min Scan# : (26.27) Temp : 3276.7 degC
 BP : m/z 232 InL : 337.77 (3541808)
 Output m/z range : 10 to 278 Out Level : 0.00 %

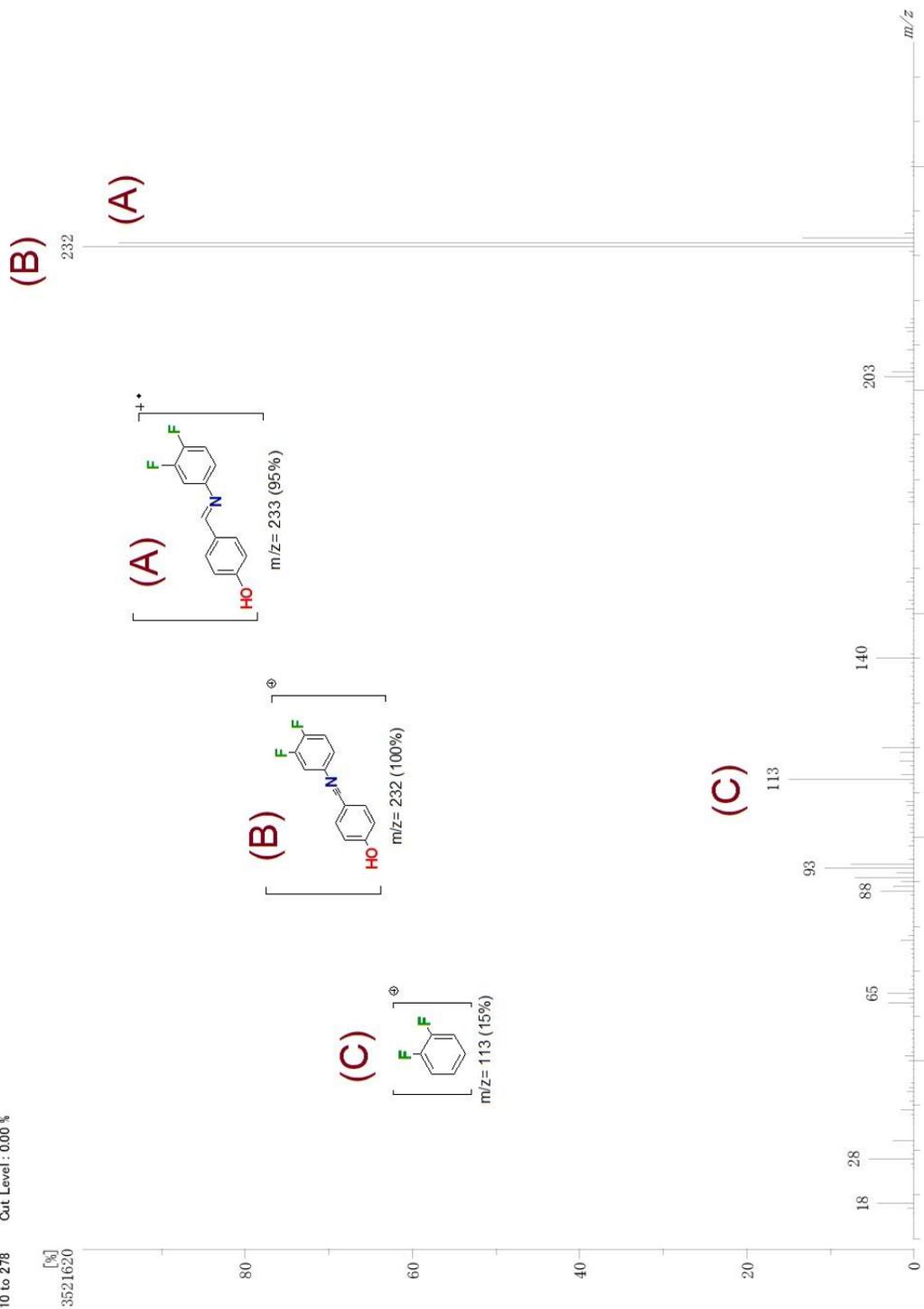


Figura 52. Espectrometría de masas del 4-(E)-(3,4-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto **8**).

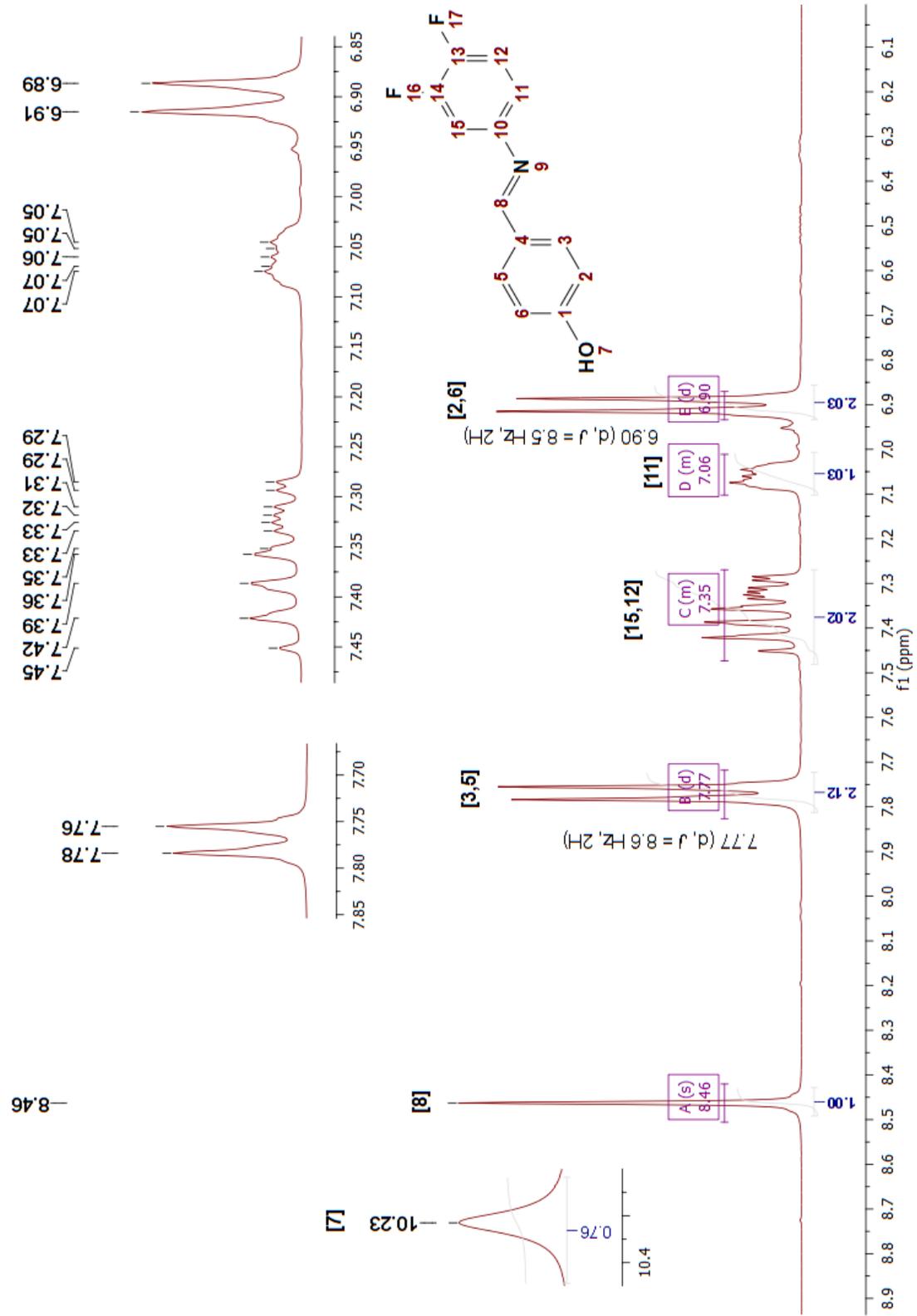


Figura 53. Espectroscopía de RMN-¹H del 4-(E)-(3,4-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 8).

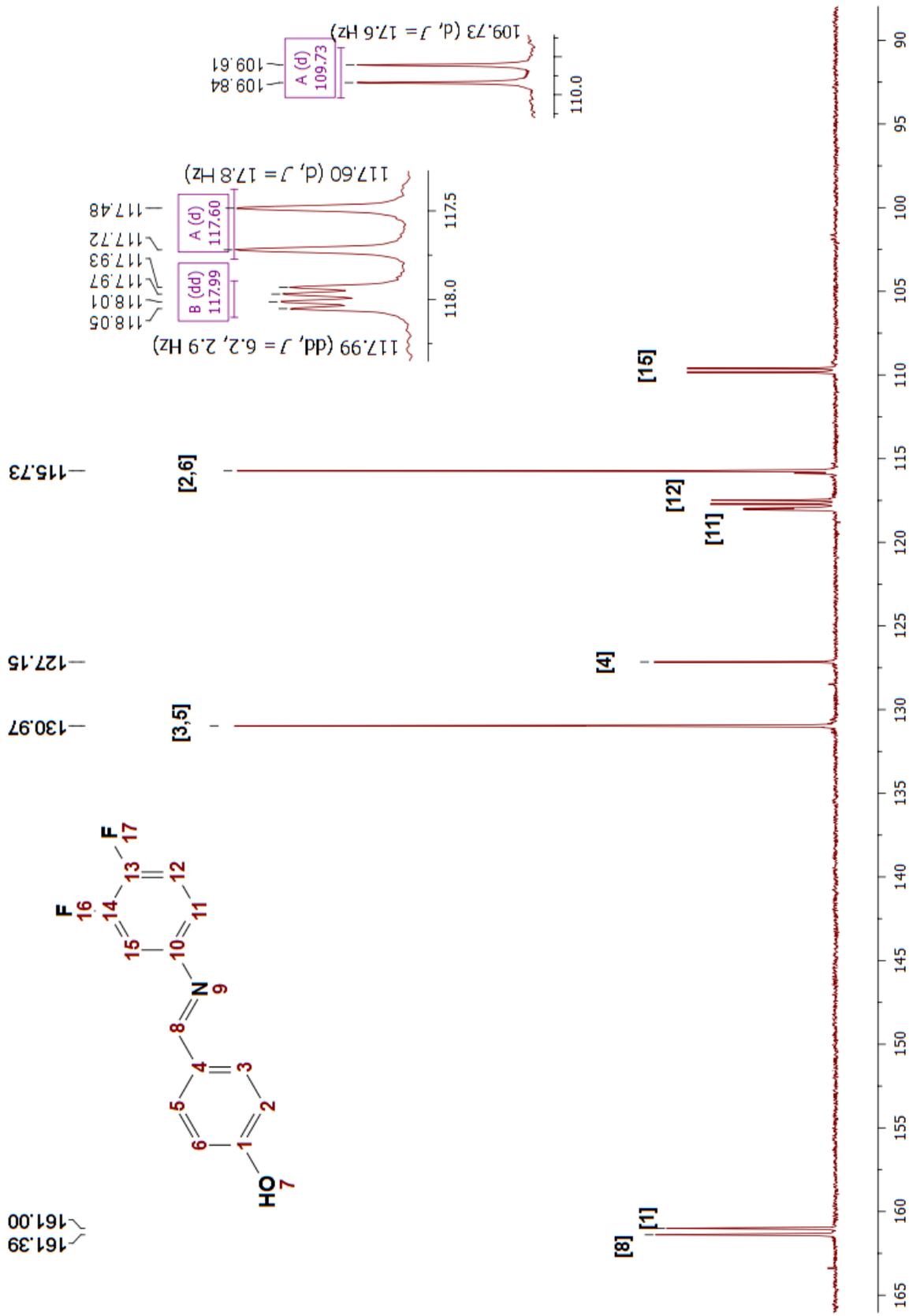


Figura 54. Espectroscopia de RMN- $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ del 4-(E)-(3,4-difluorofenilimino)-metilfenol (compuesto 8).