

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

FACULTAD DE QUIMICA

RELACION ENTRE LA ACTIVIDAD AUXINI-  
CA Y ALGUNAS PROPIEDADES FISICO-  
QUIMICAS DE FENILETILAMINAS.

GLORIA ELIZABETH MORENO MORALES

Q U I M I C O

1977



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Tesis 1977  
ABQ [REDACTED] 289  
ECHA \_\_\_\_\_  
RSC \_\_\_\_\_  
• \_\_\_\_\_



QUIMICA

JURADO ASIGNADO

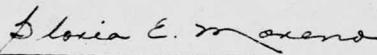
Presidente:	PROF. ALFONSO ROMO DE VIVAR
Vocal:	PROFA. MARTHA ALBORES VELASCO
Secretario:	PROF. ALEJANDRO BLANCO LABRA
1er. Suplente:	PROF. HECTOR SALGADO ZAMORA
2o. Suplente:	PROF. JAIME MEDINA OROPEZA

Sitio donde se desarrolló el Tema:

Departamento de Química Orgánica, División de Estudios Superiores,  
Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

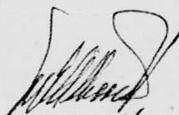
Sustentante:

Gloria Elizabeth Moreno Morales

  
\_\_\_\_\_

Asesor del Tema:

Dra. Martha Albores Velasco

  
\_\_\_\_\_

Con profundo agradecimiento a la Dra. Martha Albores Velasco; sus consejos hicieron posible la culminación de esta tesis.

Agradezco al Dr. Auster Valderrama Cano su colaboración.

## I N D I C E .

I. - INTRODUCCION	pag. 1
II. - ANTECEDENTES	3
a) Reguladores de crecimiento	
b) Síntesis Letal	
c) Aminas como reguladores de crecimiento	
d) Relaciones Estructura-Actividad	
III. - RESULTADOS Y DISCUSION	16
IV. - PARTE EXPERIMENTAL	25
a) Métodos Químicos	
b) Métodos Biológicos	
c) Métodos Estadísticos	
V. - CONCLUSIONES	41
VI. - BIBLIOGRAFIA	43

## I. - INTRODUCCION.

La posibilidad de predecir la actividad biológica de una molécula antes de sintetizarla y probarla, ha sido una meta por alcanzar en los últimos años. Ya que la actividad biológica depende de factores muy diversos como son: su facilidad para penetrar y translocarse, para evitar su degradación o su almacenamiento en tejidos inertes, y para interaccionar con un receptor; puede decirse que se requiere una combinación muy especial de propiedades fisicoquímicas de la molécula, para que ésta presente una cierta actividad biológica.

El método de Hansch ha dado buenos resultados en la predicción de actividades de compuestos de una serie determinada y se ha utilizado sobre todo en la planeación de síntesis de medicamentos.

En este trabajo se utiliza el método para analizar los factores que determinarían la actividad de algunas aminas, que potencialmente son sustancias con una actividad auxfínica selectiva.

Se utilizan el coeficiente de partición y la constante de basicidad para representar en el tratamiento de Hansch, factores lipofílicos, electrónicos y estéricos de la molécula.

## II. - ANTECEDENTES.

### a) Reguladores de crecimiento.

El descubrimiento de que el crecimiento de las plantas puede modificarse por la aplicación de cantidades extremadamente pequeñas de ciertas sustancias químicas reguladoras de crecimiento, ha tenido gran importancia en el desarrollo de la agricultura.

A partir de 1880, cuando Carlos Darwin, en su libro "El Poder del Movimiento en las Plantas", concluyó que "alguna influencia que se transmita a través de raíces y tallos era la responsable del crecimiento en las plantas" los estudios que se han llevado a cabo sobre tales "efectos" han sido innumerables; se sabe que la planta crece bajo el control de sustancias altamente activas que se conocen como hormonas reguladoras de crecimiento, que pueden ser auxinas, citocininas o giberelinas; y que éstas se encuentran dentro de la planta en raíces, tallos, hojas jóvenes, en las semillas y en el polen.

En 1934, Kögl, logró aislar de la orina humana el ácido 3-indolacético, que al ser probado en las plantas causaba efectos considerables en el crecimiento de las mismas y se le denominó auxina. Este ácido se aisló después de las plantas y se sintetizó posteriormente en el laboratorio. Se prepararon asimismo una extensa variedad de compuestos similares al ácido indolacético, y se encontró que muchas auxinas sintéticas, específicamente ácidos, como el 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y el ~~2,4,6-triclorofenoxiacético~~ (MCPA), poseen una actividad fisiológica más alta que la hormona natural (1).

El 2,4-D y el MCPA), en concentraciones tan pequeñas -- como una parte por millón en agua, promueven el crecimiento de las plantas; en cambio, a concentraciones elevadas éstos -- mismo ácidos actúan como herbicidas para ciertas especies. Las dosis que se usan no son peligrosas al hombre o animales y los residuos tampoco son tóxicos.

b) Síntesis Letal.

Al encontrar Wildman (2), que el origen del ácido indolacé

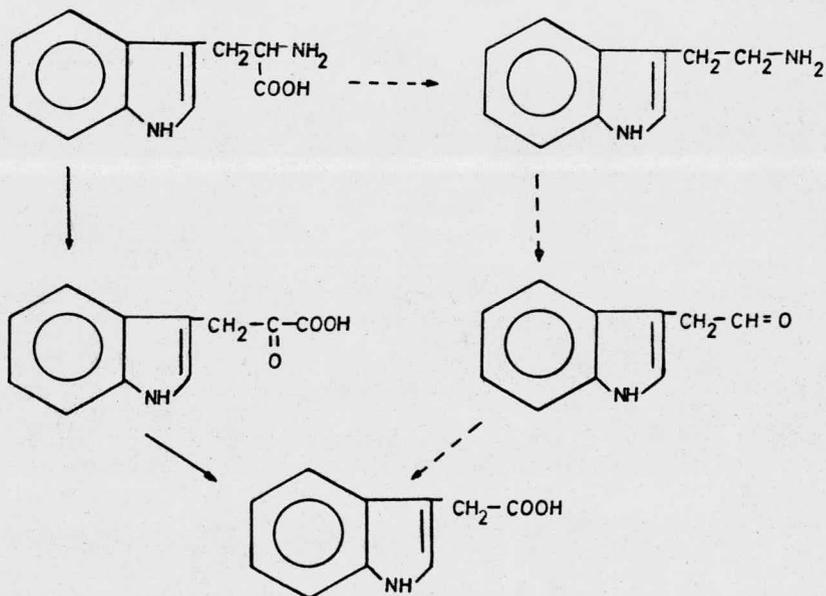
tico es el Triptofano y al obtenerse de las plantas 2-indolacetonitrilo, se inició una serie de estudios sobre la posibilidad de aplicar a las plantas "precursores", que pudieran transformarse a hormonas reguladoras de crecimiento, y en los últimos años se ha estudiado con bastante interés y se ha aplicado en el control de maleza esta "síntesis letal"; transformación dentro de las plantas de una sustancia inactiva por sí misma a una sustancia con actividad biológica. Un ejemplo de esto, es el estudio clásico de Wain (3), con ácidos fenoxialcanoicos, en el que se mostró que un proceso bien conocido en Bioquímica animal: la beta-oxidación, sucede en plantas y que, de hecho, los ácidos fenoxialcanoicos con un número par de átomos de carbono se transformaba al 2, 4-D.

Estos estudios dieron como resultado el uso comercial del ácido 2, 4-diclorofenoxibutírico como el herbicida selectivo ya que las malezas eran capaces de efectuar la transformación del ácido butírico al acético.

c) Aminas como reguladores de crecimiento.

Como una alternativa a la beta-oxidación se ha estudiado -

la transformación de aminas dentro de la planta a los ácidos correspondientes. La amino-oxidación es un proceso conocido y se sabe que, por lo menos en algunas plantas, existe la posibilidad de que el ácido indolacético se produzca a partir de Triptofano, - a través de Triptamina, como se muestra en el cuadro siguiente (4).



En 1962, Ferenczy (5), estudió el efecto causado por la 2,4-D amina en nueve especies cotiledóneas y en 28 especies de tabaco: - realizó un tratamiento con 1 000g/Ha. a plantas de tomate, zanahoria, girasol, alfalfa y rábano, las cuales murieron entre los 10 y 12 días. El mismo tratamiento en plantas de pepino y remolacha dulce las afectó muy ligeramente y las cinco variedades de cáñamo húngaro probadas fueron totalmente resistentes al tratamiento.

Nash y sus colaboradores (6), sugirieron que la 2,4-D amina se convertía al aldehído en los tejidos que contenían aminooxidasa, ya que sometiendo las plantas de rábano, chícharo, zanahoria, remolacha roja y tomate a una aspersión con 2 ml. de una solución de clorhidrato de 2,4-D amina (10mM) y sal de sodio de 2,4-D (5mM) encontraron que las plantas tratadas fueron seriamente dañadas en comparación con los controles. Cuando las plantas se trataban -- con 2-Hidroxietil Hidracida, inhibidor de aminooxidasa antes de la aspersión con amina, no se observaba actividad auxínica, de lo cual se dedujo que no se llevaba a cabo la transformación de la 2,4-D amina al ácido correspondiente. Se concluyó por lo tanto, que la 2,4-D amina PER SE es inactiva como sustancia reguladora de crecimiento.

Mann (7), había aislado y purificado aminooxidasa de las plantas y encontró que era una protefna que contenfa cobre y era sensible a compuestos carbonflicos. Las preparaciones más activas de aminooxidasa se obtuvieron en chícharo (8), y se encontró que di--cha enzima cataliza desaminaciones oxidativas de una gran varie -dad de sustancias. Ya que la aminooxidasa existe en diferentes --cantidades en diferentes especies, se previó una acción selectiva -de las aminas y se iniciaron estudios sistemáticos con ariloxietil -aminas (9), ariletilaminas y feniletilaminas sustituidas con cloro - (10). Los resultados obtenidos se muestran en las tablas I, II y III.

Como se observa, la actividad de feniletilamina y sus deriva-dos 2 y 4-clorados y los compuestos diclorados 2, 4-, 2, 5- y 2, 6-, sobre la elongación de coleoptilos de trigo y segmentos de tallo de chícharo y sobre la curvatura del tallo de chícharo es prácticamente nula.

En cambio la 3-cloro, 2, 3-dicloro y la 3, 4-dicloro feniletil -aminas, así como el derivado 2, 3, 6-triclorado presentaron actividad en las tres pruebas. El compuesto que presentó más alta acti-vidad fué el 2, 3-diclorado, el cual también presentó la más alta -actividad epinástica en plantas de tomate.

T A B L A I.

ACTIVIDAD DE BENCILAMINAS COMPARADA CON LA ACTIVIDAD DE LOS ACIDOS BENZOICOS.

AMINA Y ACIDO	COLEOPTILOS DE TRIGO					SEGMENTOS DE CHICHARO				
	CONC.MOLAR	-7	-6	-5	-4	-3	-7	-6	-5	-4
2-cloro bencilamina	98	97	97	95	96	101	101	99	98	98
Acido	100	100	100	100	110	100	100	100	100	100
2,4-dicloro bencilamina	97	97	98	98	94	99	100	100	99	98
Acido	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2,5-dicloro bencilamina	99	98	95	107	96	100	100	100	106	98
Acido	100	100	124	141	136	100	100	108	124	123
2,6-dicloro bencilamina	99	98	97	95	96	100	100	100	100	99
Acido	100	100	100	100	154	100	100	100	100	111
3,4-dicloro bencilamina	97	97	98	98	94	100	100	99	99	95
Acido	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

\* La actividad está expresada como un porcentaje de la longitud de los segmentos usados como control.

\*\* La conc. está dada en  $10^{-x}$ .

T A B L A II.

ACTIVIDAD DE FENILETILAMINAS COMPARADA CON LA ACTIVIDAD DE LOS ACIDOS FENILACETICOS.

AMINA	COLEOPTILOS DE TRIGO					SEGMENTOS DE CHICHARO				
	CONC.MOLAR	-7	-6	-5	-4	-3	-7	-6	-5	-4
Feniletilamina	100	100	99	99	94	99	100	99	99	102
Acido	100	98	100	121	140	100	98	100	111	130
2-cloro feniletilamina	100	100	101	98	102	98	99	99	108	98
Acido	102	125	149	154	152	100	102	109	131	134
3-cloro feniletilamina	101	101	103	111	105	99	98	104	130	101
Acido	103	120	152	149	146	102	105	118	123	125
4-cloro feniletilamina	99	99	101	105	113	97	99	100	97	99
Acido	100	98	119	150	137	101	101	105	130	127
2,3-dicloro f.e.a.	100	100	106	116	105	99	99	113	135	125
Acido	135	157	160	157	140	105	118	135	129	118
2,4-dicloro f.e.a.	101	99	99	100	115	102	101	101	103	99
Acido	100	102	121	145	145	99	106	119	125	114
2,5-dicloro f.e.a.	100	100	102	102	99	102	101	102	101	99
Acido	101	102	138	147	137	103	113	121	131	119
2,6-dicloro f.e.a.	100	100	99	102	117	100	100	100	103	99
Acido	103	113	114	154	141	101	114	122	132	121
3,4-dicloro f.e.a.	102	101	102	107	109	101	101	106	122	104
Acido	98	104	140	136	108	99	110	123	128	118
3,5-dicloro f.e.a.	103	102	100	101	98	101	101	101	102	102
Acido	97	99	100	106	94	97	100	100	116	109
2,3,6-tricloro f.e.a.	100	101	112	116	99	101	101	103	129	119
Acido	112	163	165	162	150	123	133	134	131	121

T A B L A III

ACTIVIDAD DE FENOXIETILAMINAS COMPARADA CON LA ACTIVIDAD DE LOS ACIDOS FENOXIACETICOS.

AMINA Y ACIDO	COLEOPTILO DE TRIGO					SEGMENTOS DE CHICHARO				
	CONC. MOLAR	-7	-6	-5	-4	-3	-7	-6	-5	-4
Fenoxietilamina	98	99	104	107	133	102	98	100	99	111
Acido Fenoxiacético	100	100	98	100	100	100	100	100	101	102
2-cloro fenoxietilamina	98	101	102	129	149	100	100	100	110	100
Acido	100	100	100	112	111	101	101	101	101	124
3-cloro fenoxietilamina	105	106	140	154	100	102	103	113	120	100
Acido	100	100	100	100	100	101	101	101	113	127
4-cloro fenoxietilamina	124	150	152	111	100	106	116	120	123	100
Acido	98	99	105	117	108	101	100	103	110	123
2,3-dicloro fenoxietilamina	103	103	104	114	100	101	100	103	122	100
Acido	100	101	100	99	110	98	98	100	98	104
2,4-dicloro fenoxietilamina	123	153	155	132	100	110	120	124	120	100
Acido	102	117	127	140	100	100	101	116	128	121
2,5-dicloro fenoxietilamina	101	131	149	153	100	99	110	120	123	100
Acido	98	100	102	119	102	100	101	102	113	131
2,6-dicloro fenoxietilamina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Acido	101	99	99	98	97	98	100	99	98	98
3,4-dicloro fenoxietilamina	127	151	156	135	100	102	114	124	120	100
Acido	99	100	99	109	98	101	100	101	101	115
2,4,5-tricloro fenoxietilamina	127	152	150	125	100	112	122	130	118	100
Acido	102	104	119	133	111	102	109	119	133	111

En la tabla de actividades presentada por Nash (6), para las ariloxietilaminas, se observa que en coleoptilos de trigo, la actividad más alta es la presentada por la 2, 4-dicloro fenoxietilamina; mientras la 2- y 4-cloro, 2, 3-dicloro y 2, 5-dicloro fenoxietilaminas presentan muy poca actividad en comparación con la de los ácidos correspondientes.

En segmentos de chícharo sólo presentan actividad apreciable la 2, 4-dicloro y 2, 5-dicloro fenoxietilamina.

Se sabe que la actividad de la aminooxidasa en el trigo es baja (11), por lo que los ácidos son mucho más activos en pruebas de trigo que sus correspondientes aminas, en cambio en tejidos en los que se tienen altos niveles de aminooxidasa como son los de chícharo, la actividad de las aminas es equiparable a la de los ácidos, como se asumió que cualquier actividad presentada por las aminas se debe a la formación del ácido correspondiente por oxidación enzimática de la amina, se esperarfa un paralelismo entre la actividad de las aminas y la de los ácidos.

Sin embargo la 2, 5- y 2, 6-diclorofenil etilaminas son ac

tivas en todas las pruebas y sus correspondientes ácidos fenil acéticos son activos, y las fenoxietilaminas son inactivas, -- mientras que los ácidos correspondientes son activos.

Un análisis de la estructura de las aminas en relación - con su actividad, no parece dar ninguna indicación de la razón por la que las aminas que se supondrían activas, sean inactivas.

Ya que las aminas podrían ser reguladoras de crecimiento selectivos, se consideró de interés determinar en este trabajo, cuales son los factores que determinan su actividad.

#### d) Relaciones Estructura-Actividad.

Hasta la mitad de este siglo, la mayoría de los estudios de correlación de la estructura molecular con los cambios en las actividades biológicas fueron empíricos y cualitativos (12), pero recientemente se han hecho posibles correlaciones cuantitativas mediante modelos matemáticos con capacidad de predecir la actividad biológica de una molécula antes de su evalua -

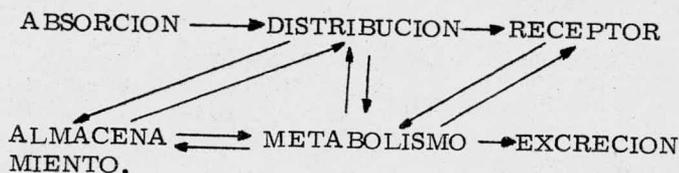
ción y de su síntesis, para reducir el costo y tiempo de sintetizarla y probarla biológicamente.

Estos estudios han tenido gran expansión debido al mejoramiento de las técnicas para estudiar por separado cada uno de los factores fisicoquímicos asociados con mecanismos biológicos, que son muy complejos.

Todos los organismos vivos son sistemas químicamente dinámicos, resultado directo de una serie de reacciones químicas interdependientes que se mantienen en equilibrio. Se dice que existe una forma de actividad biológica, cuando una sustancia química es introducida a éste sistema y produce alteraciones, ya sea por aceleración, inhibición o interacción con una o más de las reacciones químicas o de sus componentes.

La actividad biológica de cualquier sustancia está gobernada por diversos factores incluyendo transporte y almacenamiento en tejidos inertes, acción de enzimas degradativas e interacción con el receptor biológico.

El camino de una sustancia química desde su aplicación hasta la reacción con el sitio receptor, se puede esquematizar de la manera siguiente (13).

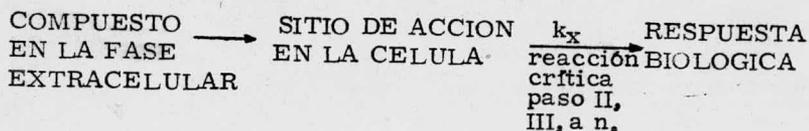


Antes de llegar al sitio receptor la sustancia puede ser absorbida y posteriormente distribuida, puede almacenarse en tejidos inertes, o bien metabolizarse degradándose y puede ser excretada.

Los tipos de interacciones celulares y químicas son muy variados, desde la formación irreversible de uniones covalentes hasta uniones muy débiles, que dan por resultado complejos reversibles, la formación de puentes de hidrógeno, interacción iónica y de dipolo, fuerzas de Van der Waals o uniones hidrofóbicas.

Corwin Hansch y Toshio Fujita (14) en un intento de tra -

tar matemáticamente la actividad biológica, suponen que las condiciones que limitan la velocidad biológica de las sustancias químicas se puede expresar de una manera general como el siguiente esquema:



El primer paso del esquema es un proceso al azar en el cual la molécula vá de una solución muy diluida que se en encuentra fuera de la célula a un sitio particular en la célula, el cual puede estar dentro de un organelo.

Mediante este método es posible analizar cómo cada una de las propiedades fisicoquímicas de la molécula se relaciona con la acción de la sustancia y puede llegarse a considerar algunos factores como no significativos de ésta ecuación general.

La actividad biológica depende de factores fisicoquímicos (15); éstos son importantes en el transporte y en la in-

teracción de la sustancia con el sitio receptor y puede dividirse en factores electrónicos (E), hidrofóbicos (H) y estéricos (S).

De acuerdo con Hansch, la actividad biológica puede representarse por la ecuación:

$$\text{Log } \frac{1}{C} = f(\Delta E, \Delta H, \Delta S) \text{ cte.}$$

siendo  $\text{Log } 1/C$  la actividad biológica y en donde  $\Delta E$  se relaciona con los parámetros  $\sigma$ ,  $\sigma^*$ ,  $\sigma^\circ$   $\Delta \log k_A$ ;  $\Delta S$  con  $E_S$ ,  $E_S^C$  y  $\Delta H$  con  $\pi$ .  $\pi$  es una constante hidrofóbica derivada del coeficiente de partición  $P$ . El cual representa la distribución de una sustancia entre una fase orgánica y una fase acuosa generalmente se determina en el sistema Octanol-agua.

El logaritmo del coeficiente de partición de una fracción de la molécula se define como  $\pi = \log P_X - \log P_H$ , en donde  $P_X$  es el coeficiente de partición del derivado y  $P_H$  es el del compuesto base.

$\sigma$  es la constante de Hammett.

$\sigma^\circ$  y  $E_S$  son las constantes polar y estérica de Taft para sistemas alifáticos.

$\sigma^*$  constante estérica.

$E_s^C$  es constante estérica corregida de Hancock.

La ecuación de Hansch puede derivarse y se obtiene una ecuación del tipo:

$$\text{Log } \frac{1}{C} = -a (\log P)^2 + b \log P + \rho \sigma + \delta E_s + C$$

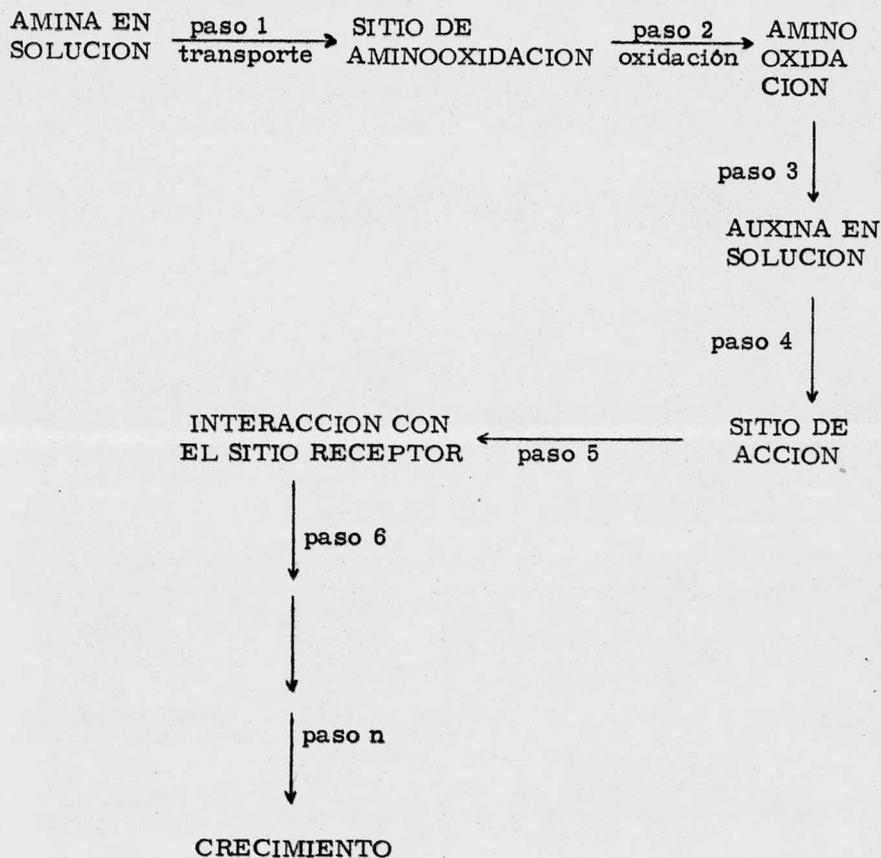
siendo  $b, \rho, \delta$  y  $C$  constantes determinadas por análisis de re-gresión usando el método de mfnimos cuadrados.

### III.- RESULTADOS Y DISCUSION.

De estudios anteriores (6), (7), (10), sobre las relaciones en tre estructura y actividad de aminas, se habfa observado que la - que la mayoria de ellas son inactivas cuando son rociadas en plan- tas y, que aunque la 3-cloro, 2, 3-dicloro, 3, 4-dicloro y 2, 3, 6-tri- cloro feniletilaminas son apreciablemente activas en las pruebas - de chfcharo y de trigo, todas las demás feniletilaminas se pueden- considerar prácticamente inactivas.

Debido a que las aminas se transforman a ácidos por medio- de una aminooxidación y los ácidos sí presentan actividad auxfínica, se esperaba que las aminas fueran activas en algunas plantas. La mayor actividad de las aminas en chfcharo, apoya la suposición de que la amina se oxida mediante una aminooxidasa, porque el chf-- charo tiene mayor concentración de aminooxidasa, sin embargo, - dada la inactividad de la mayoria de las aminas y con el objeto de encontrar derivados de aminas efectivamente selectivos, se inició este estudio para determinar cuales son los factores que determi- nan la actividad.

Seguindo el modelo de Hansch (14), se podrian discutir los diversos factores que tienen influencia en la actividad de las aminas, considerando un esquema como el siguiente:



La falta de actividad de la mayoría de las aminas en plantas podría deberse a fenómenos de transporte, pero sería difícil explicar la falta de actividad de las aminas en segmentos de chícharo y de trigo, debido a que la lipofilidad no difiere aparentemente, pero es necesario realizar determinaciones de coeficientes de partición, ya que están involucrados factores difíciles de apreciar a simple vista. Por otro lado, muchas veces el factor lipofílico sólo puede variar entre límites muy estrechos para que la sustancia sea activa. Así mismo, el factor determinante de la actividad podría ser el factor electrónico, modificando la formación de uniones con el receptor, o el factor estérico, impidiendo la oxidación o la interacción con enzimas específicas. Se decidió entonces estudiar el problema analizando cada uno de los factores que, de acuerdo con Hansch, determinan la actividad.

Se determinaron, por lo tanto, coeficientes de partición; debido a que el coeficiente de partición  $P$ , no es independiente de la concentración (12), deben usarse diluciones infinitas, y las determinaciones se hicieron a diferentes concentraciones; además debe considerarse que las aminas se ionizan:



por lo que debió hacerse una corrección del coeficiente de partición con pK en la forma siguiente:

$$P = \frac{[C]_{\text{Octanol}}}{[1 - \alpha] [C]_{\text{H}_2\text{O}}}$$

en donde:

P es el coeficiente de partición

C es la concentración

$\alpha$  es el grado de disociación.

Se usaron en este trabajo soluciones buffer de pH entre 11.25 y 11.5 para determinar el coeficiente de partición de la feniletilamina.

Para el cálculo de los coeficientes de partición de las fenil etilaminas cloradas se usaron los valores de  $\pi$ , que han sido determinados en diferentes trabajos usando como sistema Octanol - agua, se tomaron como referencia los reportados por Toshio Fujita y colaboradores (16), y aditivamente se calcularon los valores de  $\pi$  para las aminas utilizadas en este trabajo ( tabla IV). Se comprobaron experimentalmente con la determinación del coe

T A B L A IV.

AMINA	Log P	pK <sub>b</sub>	$\sigma^*$	$\sigma^o$	$\sigma$
Feniletilamina	1.3380 - 0.03	4.27	-	-	-
2-cloro f.e.a.	1.9280	4.37	0.38	0.20	-
3-cloro f.e.a.	2.0180	4.44	0.37	0.37	0.373
4-cloro f.e.a.	2.0380	4.40	0.27	0.27	0.227
2,3-dicloro f.e.a.	2.6080	4.60	0.75	0.57	-
2,4-dicloro f.e.a.	2.6280	4.70	0.65	0.47	-
2,5-dicloro f.e.a.	2.6080	4.70	0.75	0.57	-
2,6-dicloro f.e.a.	2.5180	4.80	0.76	0.40	-
3,4-dicloro f.e.a.	2.7180	4.70	0.64	0.64	0.600
3,5-dicloro f.e.a.	2.7380	4.60	0.74	0.74	0.746
2,3,6-tricloro f.e.a.	3.1980	5.70	1.13	0.77	-

ficiente de partición de la 2, 6-dicloro feniletilamina. Puede verse en la gráfica I que no existe una relación aparente entre el coeficiente de partición y la actividad.

Como la basicidad de las aminas está determinada por factores electrónicos y estéricos, se pensó utilizar el pK de las aminas para representar éstos factores en la ecuación de Hansch. Ya que como puede verse en la gráfica II no existe una relación directa entre la actividad y el pK, una combinación lineal del factor lipofílico y el pK deberá representar adecuadamente la actividad.

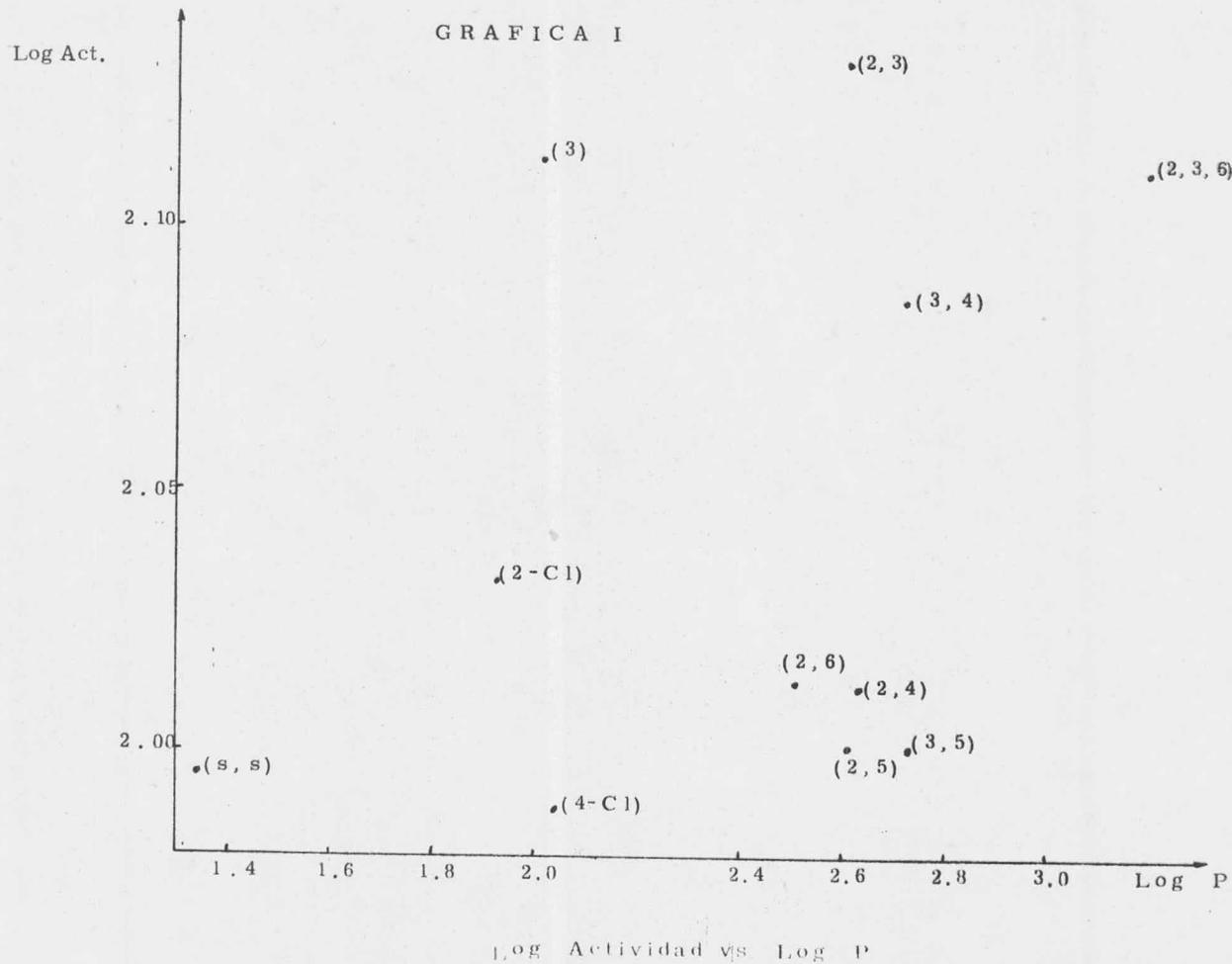
La primera ecuación que se propuso fué:

$$\text{Act} = a + b\Pi + c\text{pK}$$

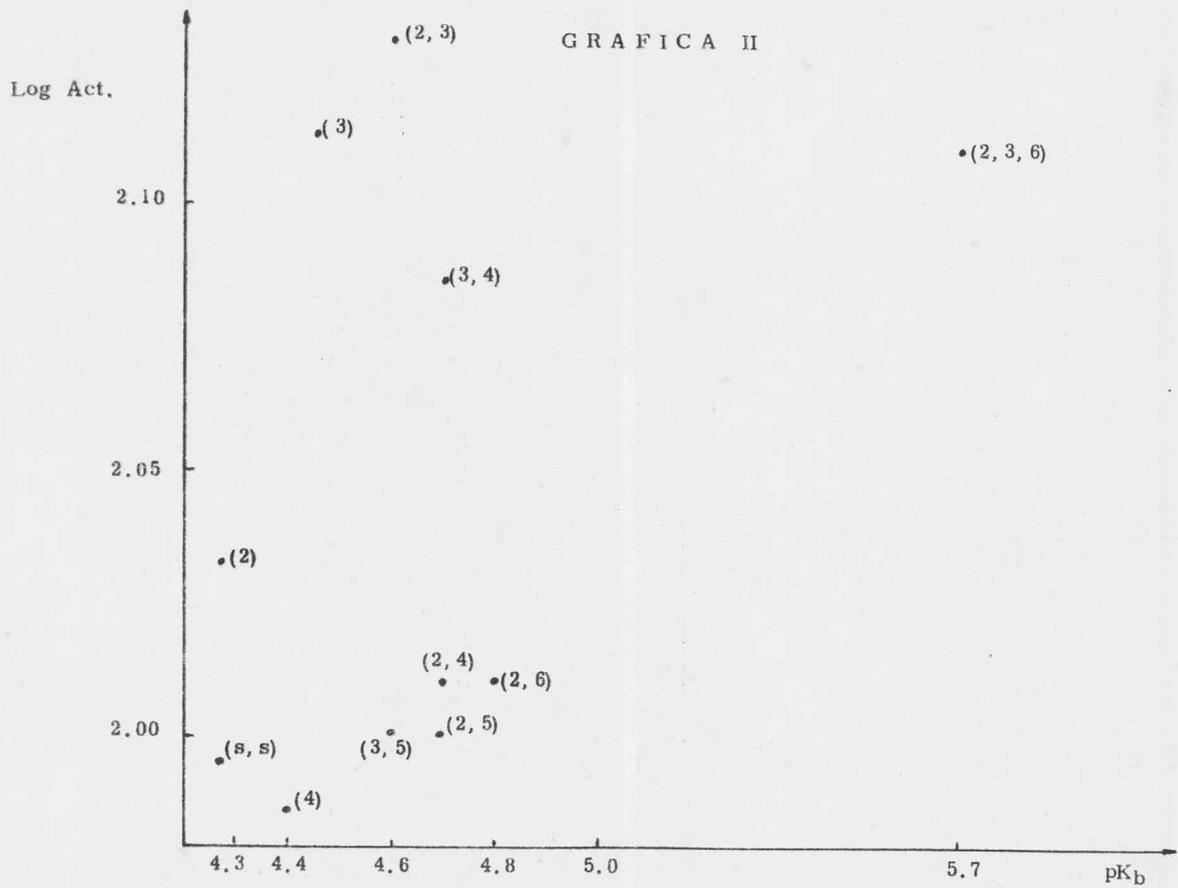
donde:

a, b y c son coeficientes que habrá que determinar por el método de mínimos cuadrados para los valores experimentales de pK de las 11 feniletilaminas, y  $\Pi$  que es el coeficiente de partición de las aminas.

El resultado de resolver la ecuación ( ver parte experimental), fué la ecuación siguiente:



GRAFICA II



Log Actividad vs pK<sub>b</sub>

$$\text{Log Act} = 3.1798 + 0.26633 \pi - 0.38022 \text{ pK}$$

La desviación promedio que se obtiene con esta ecuación es  $7 \times 10^{-6}$ , por lo que puede decirse que representa adecuadamente la actividad. Se observa además que la actividad aumenta cuando la amina es más básica.

Ya que el  $\text{pK}_b$  disminuye con la basicidad y el signo negativo del coeficiente determinará una mayor actividad mientras menor sea el  $\text{pK}_b$  y mientras mayor sea el  $\pi$ . Se observa además que mientras mayor sea el coeficiente de partición mayor será la actividad.

Aunque la desviación promedio de la ecuación es bastante aceptable, puede notarse que la constante de la ecuación (3.1798) involucra factores desconocidos, y representa un gran porcentaje de la actividad.

Tratando de estimar por separado como contribuyen los factores electrónico y estérico, se utilizaron constantes  $\sigma$  de Hammett (17), que han sido usadas ampliamente para estimar el factor electrónico en el método de Hansch (14). Como la cons--

tante  $\sigma$  no está reportada para sustituyentes en orto y representa únicamente efectos resonantes y polares, se utilizaron en éste caso sólo las aminas sin este tipo de sustituyentes.

Se hizo entonces un nuevo grupo de 4 aminas, que no tienen sustituyentes en orto, y se resolvió la ecuación:

$$\text{Log Act} = a + b\pi + c\sigma$$

y el resultado fué:

$$\text{Log Act} = 2.040567 + 3.735 \times 10^{-4}\pi + 0.015249\sigma$$

En este caso, la suma de los factores electrónicos y lipofílicos representa una parte muy pequeña de la actividad. Además la desviación estándar es mayor que para el caso de la ecuación en la que se usaron  $\text{pK}_b$ , y como se mencionó antes, es una ecuación que sólo funcionaría para feniletilaminas sin sustituyentes en orto, lo que limitaría demasiado, pues las aminas más activas y menos activas en este trabajo tienen este tipo de sustituyente.

Taft (18), ha reportado valores de  $\sigma^*$ , que representan únicamente los efectos polares de los sustituyentes sin considerar efectos resonantes, y estos valores se usaron para calcular

los coeficientes de otra ecuación, en la que se supondría que só lo son los efectos inductivos los que funcionarían. Se obtuvieron los siguientes coeficientes:

$$\text{Log Act} = 2.00855 + 0.0137028 \Pi + 0.0143068 \sigma^{\circ}$$

Aunque la desviación promedio de esta ecuación es  $1.5 \times 10^{-6}$ , la suma de factores lipofílicos y electrónicos es también muy pequeña en comparación con la constante 2.00855, que como se dijo antes involucra factores desconocidos.

Se calculó por último el valor de los coeficientes de una ecuación en la que estarían involucrados efectos estéricos en la posición en orto, factores que no fueron tomados en cuenta en el cálculo anterior y se obtuvieron los siguientes valores:

$$\text{Log Act} = -3.8670 + 3.8057 \Pi' - 5.6208 \sigma^*$$

cuya desviación con los valores del Log de Actividad es muy grande ( $2.262 \times 10^{-2}$ ).

Aparentemente, de la observación de las ecuaciones anteriores puede verse que el pK de las aminas está involucrando únicamente los valores de  $\sigma$  reportados, ya que si esto fuera se tendrían ecuaciones semejantes; si se trazan en una

gráfica los valores de  $pK$  y los de  $\sigma$  reportados por los diferentes autores, se nota que no están directamente relacionados, y ya que los valores de  $pK$  son valores experimentales puede pensarse que en este caso los sustituyentes en el anillo no tienen una influencia tan directa.

## IV.- PARTE EXPERIMENTAL.

Los puntos de fusión fueron tomados en un aparato Fisher Jones y están sin corregir.

Los espectros de I. R., se obtuvieron en un Espectrofotómetro Perkin Elmer Gratin 337, y se hicieron en pastillas de KBr y películas directas.

Los espectros de U. V. se hicieron en un Espectrofotómetro de Carl Zeiss. M4 Q III PM Q II. 45 309 - 46 275.

Para la Cromatografía en capa fina, empleada para verificar la pureza de la sustancia o para su purificación se empleó Sílice GS-254 de Merck, utilizando como revelador vapores de Iodo o una solución de 5g. de  $\text{CoCl}_2$  en 100 ml. de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 5%.

## a) Métodos Químicos.

Síntesis del Clorhidrato de p-clorofeniletilamina,Bromuro de p-clorobencilo.

Se adaptó el método reportado para la obtención de bromuro de p-nitrobencilo (19), de la manera siguiente: En un matraz de tres bocas con agitador, condensador a reflujo con trampa de gas y embudo de adición, se colocaron 13,86 g. (0,11 moles) de --- p-clorotolueno, calentando hasta la temperatura de ebullición y se fueron añadiendo gota a gota y con agitación 21,6 g. (0,12 moles) de bromo. Al terminar de añadir el bromo se siguió calentando la mezcla por 15 minutos, se vertió en un matraz que contenía 150 ml. de Benceno y se le añadió un poco de carbón activado, se dejó a la temperatura de ebullición por 10 minutos en la campana, debido a que el bromuro es altamente lacrimógeno, se filtró y se enfrió a la temperatura ambiente, se lavó con dos porciones de 5 ml. de Benceno. Obteniéndose 11,5g de Rendimiento 50,99% . P.F. 96-98°C.

Cianuro de p-clorobencilo.

Se disolvieron 49 g (0,75 moles) de NaCN en 45 ml de agua

y se le agregaron 11,5g (0,55 moles) del bromuro de la reacción anterior, añadiendo 100g de alcohol al 95%. La mezcla se calentó a reflujo por dos horas, se dejó enfriar, se eliminó por filtración el NaCl obtenido. El filtrado se concentró eliminando el alcohol, obteniéndose el cianuro, el cual se destiló a presión reducida. Rendimiento 14 g. Punto de fusión - 30-32°C.

p-clorofeniletilamina.

El cianuro de la reacción anterior se hidrogenó de acuerdo a Augustine, R.L. (20), en amoníaco-etanol.

## HIDROGENACION.

Preparación del Níquel-Raney: se procedió de acuerdo a Augustine, R.L.(20) : A una solución de 190g de NaOH en 750 ml. de agua destilada, contenida en un vaso de dos litros, en un vaso de hielo a 10°C, se le fueron agregando 150g de Níquel-Raney en pequeñas porciones, agitando rápidamente y evitando que la temperatura sobrepase los 25°C.

Al terminar la adición se deja que la mezcla alcance la temperatura ambiente. Al disminuir el desprendimiento de hidrógeno, el vaso se calienta en un baño María, hasta que se termine el desprendimiento de hidrógeno, aproximadamente 6 horas. El volumen de la mezcla se mantuvo constante mediante la adición periódica de agua destilada. Se dejó que el Níquel se asentara, se decantó el líquido y el catalizador se lavó con dos porciones de un litro de agua destilada, decantando, después se lavó hasta que el pH fuera neutro. Se continuó lavando con tres porciones de 100 ml de alcohol absoluto, y el catalizador se guarda en etanol absoluto en frascos cerrados en el refrigerador, teniendo actividad hasta seis meses.

En el frasco para hidrogenar a presión media, se disolvió el cianuro en etanol absoluto, se saturó con amoníaco en un baño de hielo. Se le añadió Niquel-Raney activado y se le hizo pasar una corriente de hidrógeno a 55 lb/pulg<sup>2</sup> de--jándolo 26 horas, se filtró y se eliminó el disolvente. Se -destiló la amina a presión reducida. Rendimiento 62%.

Síntesis del clorhidrato de 2,3-dicloro feniletilamina.

#### Síntesis de 2,3-diclorotolueno.

Se obtuvo a partir de 2-amino, 3-clorotolueno, mediante una reacción de Sandmeyer, siguiendo la técnica reportada por Vogel para el p-clorotolueno (21).

Se disolvieron 11.27g (0.07 moles) de 2-amino, 3-clorotolueno en 20ml de HCl concentrado y 20ml de agua destilada, se enfrió la mezcla a 0°C en un baño de hielo con sal, se agitó vigorosamente, adicionando un poco de hielo. El clorhi--drato se vá precipitando. Después se le añadió gota a gota una solución de 4.36g de Nitrito de sodio en 8.3 ml de agua, continuando la agitación y manteniendo la temperatura en -tre 0-5°C, esto se logró mediante la adición de hielo a la --mezcla.

Al terminar de añadir Nitrito de sodio, se hace una prueba de yoduro de potasio-papel con almidón, para comprobar si la mezcla contiene trazas de ácido nitroso.

Se vierte con agitación el cloruro de Diazonio formado, a una solución de cloruro cuproso. Cuando se llega a una temperatura de  $15^{\circ}\text{C}$ , empieza a liberar Nitrógeno y el sólido empieza a desaparecer, se continua calentando hasta los  $60^{\circ}\text{C}$ , agitando ocasionalmente, hasta que deje de burbujear Nitrógeno.

La mezcla se destiló por arrastre de vapor y se separó el 2,3-diclorotolueno, se lavó con NaOH al 10%, con agua y con un volumen igual de ácido sulfúrico concentrado y finalmente con agua, se secó con sulfato de magnesio anhidro, se decantó y se destiló a presión reducida  $54-62^{\circ}\text{C}/8\text{ mm de Hg}$ .

#### Síntesis del cloruro de 2,3-diclorobencilo.

La técnica que se siguió para la bromación en la cadena fue la misma que se usó en la preparación de p-clorofeniletil amina.

#### Síntesis de Cianuro de 2,3-diclorobencilo.

La técnica que se siguió fue la misma que la reportada en

la preparación de p-cloro feniletilamina. Punto de fusión 68-70°C.

Síntesis de 2, 3-dicloro feniletilamina.

Se hidrogenó de acuerdo a la técnica reportada anteriormente. Punto de ebullición. 106-107°C/ 1 mm.

Clorhidrato de 2, 3 D amina. P. de f. 198-200°C. Rendimiento 72%.

Síntesis del Clorhidrato de 2, 6-D feniletilamina.

Síntesis de bromuro de 2, 6-diclorobencilo.

Se siguió la misma técnica reportada para la obtención de p-cloro feniletilamina.

Síntesis de Cianuro de 2, 6-diclorobencilo.

Se siguió la misma técnica reportada para la obtención de p-cloro feniletilamina.

Se destiló a presión reducida 85-89°C/ 0 mm de Hg.

Síntesis del Clorhidrato de 3, 4-dicloro feniletilamina.

Se siguió la técnica reportada en la obtención de beta-fenoxietilamina, teniéndose como materia prima 3, 4-diclorofenol.

Clorhidrato de 3, 4-dicloro feniletilamina. Punto de fusión  
221-224<sup>o</sup>C. Rendimiento 80%.

## DETERMINACION DE COEFICIENTES DE PARTICION.

Para ésta determinación se siguió la técnica reportada por Purcel, W.P., y sus colaboradores (12), como sigue: Se preparó una solución de la amina en agua saturada de n-Octanol o del Clorhidrato de la amina en una solución amortiguadora, manteniendo el pH entre 11.25 y 11.5.

Se usó como método analítico la absorción en ultravioleta - de las aminas correspondientes. La longitud de onda usada para la feniletilamina fue 258 nm, para la 2,6-dicloro feniletilamina 222.6 nm, siendo éstas las longitudes de onda máxima.

La curva de calibración se trazó de la manera usual preparando distintas concentraciones de la amina, obteniéndose en todos los casos una recta.

## PURIFICACION DEL n- OCTANOL.

Se lavó sucesivamente con una solución acuosa de NaOH - al 10%, con  $H_2SO_4$  diluido y con una solución de  $NaHCO_3$  se -

secó sobre sulfato de magnesio y se destiló a presión reducida  $80^{\circ}\text{C}/2$  mm de Hg. como ha sido descrito (12).

El aparato de destilación debe estar provisto de una columna de fraccionamiento eficiente; se eliminó el primer 10% de la destilación.

La cromatografía de gases indicó una pureza aceptable.

En un embudo de separación se saturó n-Octanol con -- agua destilada y se centrifugó a 2 000 rpm, por 2 horas a  $25^{\circ}\text{C}$ . Obteniéndose el n-Octanol saturado de agua.

#### PARTICION.

Una cantidad exactamente pesada de amina o clorhidrato se disolvió en un tubo de centrifuga, en 50-70 ml de agua saturada de n-Octanol, en el caso de la amina, en solución amortiguadora en el caso del Clorhidrato, y se agregaron de 5-10 ml de n-Octanol saturado de agua. Se agitó el tubo por 2 minutos y se centrifugó a 2 000 rpm por 2 horas a  $25^{\circ}\text{C}$ . Se

extrajo cuidadosamente la fase acuosa y se midió su absorbancia, se tiene así directamente la concentración de la muestra en mg/ml en el agua y por diferencia se obtiene la concentración en el Octanol. El coeficiente de partición está dado por la relación existente entre la concentración en mg/ml de la -- muestra en Octanol entre la concentración en mg/ml en la fase acuosa.

#### DETERMINACION DE pK.

Se determinaron potenciométricamente, con electrodos- de Vidrio-Calomel, de una mezcla de Acetona-agua.

Se midió la deferenca de potencial, se trazó una curva- de calibración, la cual nos relaciona el valor del potencial - con el correspondiente pH (22).

b) Métodos Biológicos.

Pruebas de elongación efectuadas en el coleoptilo de trigo.

La técnica que se siguió es una adaptación del método - reportado por Clarke y Wain (23).

PREPARACION.

El grano de trigo utilizado no tiene ningún tratamiento con fungicida.

- 1.- Se selecciona el grano.
- 2.- Se preparan cajas petri con papel filtro del número 3, -- cortándolo de tal manera que quede a 5 mm del borde de la caja y se le hace una perforación en el centro.
- 3.- Se colocan 30 semillas seleccionadas, en forma simétrica en cada una de las cajas petri.
- 4.- Se les agrega 4 ml de agua a cada caja petri, colocando la pipeta de tal forma que el agua se añada por la perforación central.

- 5.- Las cajas petri se colocan en un recipiente que contenga un poco de agua y una tapa transparente que permita la entrada de luz negra, dejándose bajo ésta luz por 12 horas.
- 6.- Después de 12 horas se les agrega de 1 a 1.5 ml de agua destilada.
- 7.- A las 24 horas, se hace una primera selección, eliminando las semillas que no presenten la iniciación de la raíz. Y se les agrega de 1 a 1.5 ml de agua destilada.
- 8.- A las 36 horas se efectúa una segunda selección, haciéndola de tal forma que queden las semillas que tengan aproximadamente el mismo tamaño de iniciación de la hoja, y se les agrega de 1 a 1.5 ml de agua destilada, se tapan con una tela negra y se dejan en la oscuridad.
- 9.- A las 60 horas se procesan.

#### PROCESADO.

- a.- Se cortan los coleoptilos que midan aproximadamente una pulgada, en el nacimiento de la semilla.
- b.- Se colocan en una caja petri que contenga un poco de agua destilada.
- c.- Se colocan 20 coleoptilos en un portaobjetos y no deben ser más grandes que el portaobjetos, eliminando los que se excedan 3 mm más o menos.

- d.- Se corta la sección del coleoptilo de 0.9cm que se encuentra a 5 mm abajo de la punta y se colocan en una caja petri que contenga un poco de agua destilada.
- e.- Se les quita la hoja, que se encuentra dentro del coleoptilo por medio de un microcapilar sellado y se van dejando insertados de 2 a 3 coleoptilos en cada microcapilar.
- f.- Se colocan 10 coleoptilos en cada caja petri, la cual vá a tener 25 ml de la solución preparada con la sustancia que se desea probar la actividad. Los microcapilares con -- los coleoptilos deben de quedar flotando en la solución.
- g.- Se dejan en una estufa cuya temperatura se encuentra entre 24 y 26°C por 24 horas.
- h.- Por último se procede a medir cada coleoptilo. Para -- que el experimento tenga validez, los valores obtenidos -- no deberán desviarse del promedio.

## c) Métodos Estadísticos.

Se llevó a cabo el análisis de regresión de los datos experimentales, bajo la siguiente hipótesis.

1.- Se representó la actividad biológica de cada amina por la ecuación (24).

$$Y = a + bX_1 + cX_2 + E.$$

en donde:

Y = actividad.

$X_1 = pK$

$X_2 = \log P$

a, b y c = constantes

E = error o desviación entre el valor predicho por la ecuación y el determinado experimentalmente.

Se conocen la actividad, los pK y los coeficientes de partición de 11 aminas.

2.- Se minimizó el error cuadrático de  $E_i$  por medio de  $\sum E_i^2$  eligiendo a, b y c tales que  $Q(a, b, c) = \sum E_i^2$  fuera mínimo. Como se sabe para eso se requiere que:

$$\frac{\partial Q}{\partial a} = 0 \quad \frac{\partial Q}{\partial b} = 0 \quad \frac{\partial Q}{\partial c} = 0$$

3.- Se resolvieron las derivadas parciales indicadas y se simplificaron las ecuaciones encontradas llegándose al siguiente sistema:

$$\begin{aligned} n a + \sum X_1 b + \sum X_2 c &= \sum Y \text{ exp} \\ \sum X_1 a + \sum (X_1)^2 b + \sum (X_1 X_2) c &= \sum X_1 Y \text{ exp} \\ \sum X_2 a + \sum (X_1 X_2) b + \sum (X_2)^2 c &= \sum X_2 Y \text{ exp} \end{aligned}$$

donde:

$$X_1 = pK$$

$$X_2 = \log P$$

Y = valores experimentales de actividad

a, b, c son los valores que hay que encontrar de la regresión.

4.- Se resolvió este sistema con el fin de hallar los parámetros de la relación lineal (1), y los valores encontrados se tabulan en la página 41.

## V.- CONCLUSIONES.

Se determinó el coeficiente de partición de 11 feniletilaminas sustituidas y se observó que no existe una relación directa entre el coeficiente de partición y la actividad auxínica de las mismas.

Se determinó asimismo que no existe una relación directa entre la actividad auxínica y el  $pK_b$  de las aminas.

Se aplicó el método de Hansch para buscar una relación lineal que representara la actividad. Se usaron como parámetros:  $\Pi$ , para representar el factor lipofílico y el  $pK_b$ ,  $\sigma$ ,  $\sigma^\circ$  y  $\sigma^*$ , para representar factores electrónicos y/o estéricos.

Se encontraron las siguientes ecuaciones que indican como influye cada uno de los parámetros anteriores en la actividad.

$$\text{Log Act} = 3.179879 + 0.266335 \Pi - 0.380228 pK$$

$$\text{Log Act} = 2.040567 + 0.000373593 \Pi + 0.0152495 \sigma$$

$$\text{Log Act} = 2.008559 + 0.0137028 \Pi + 0.0143068 \sigma^\circ$$

$$\text{Log Act} = -3.867047 + 3.805737 \Pi - 5.620822 \sigma^*$$

La ecuación que mejor representa la actividad de las aminas es la que utiliza  $pK_b$  para representar factores electrónicos y estéricos, la desviación promedio es la mínima encontrada. Además utiliza valores experimentales.

De la ecuación encontrada para la actividad, puede -- concluirse que mientras mayor sea la actividad, y mientras menor sea el  $pK_b$ , mayor será la actividad.

Existe un gran porcentaje de efectos desconocidos que influyen en la actividad.

## VI.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Wain, R.L., Agriculture. 68, 374-8 (1961).
- 2.- Wildman, S.G., Ferri, M.G., Bonner, J.J. Arch. Biochem. 13, 131 (1947).
- 3.- Wain, R.L., Fawcett, C.H., y Steward, F.C. Plant Physiology. Vol.VA. Ed. Academic Press. New York-London (1969).
- 4.- Jones, R.L., Metcalfe, T.P. y Sexton, W.A. Biochem, J. 45, 43 (1949).
- 5.- Ferenczy, L., Acta Agron. Hung. 11, 281 (1962).
- 6.- Nash, R.J., Smith, T.A. y Wain, R.L. Ann. Appl. Biol. 61, 481-494 (1968).
- 7.- Mann, P.J.G. Biochem, J. 59, 609-20 (1959).
- 8.- Hill, J.M., Mann, P.J.G. Biochem, J. 91, 171 (1964).
- 9.- Fawcett, C.H., Pascal, R.M., Pybus, M.B., Taylor, H.F., Wain, R.L. y Wightman, F. Proc. Roy. Soc. B 150, 95-119 (1959).
- 10.-Albores, M. y Wain, R.L. Medelingen Fakulteit Landbouwwetwenschappen Gent, 39. Parte 2, 617-24 (1974).
- 11.-Richardson, K.E., Miedema, E. y Vandor, S.L. Canad. J.-Biochem. 44, 1271 (1966).
- 12.- Purcell, W.P., Baco, G.E. y Clayton, M. Strategy of Drug Design. A molecular Guide to Biological Activity. John -- Wiley & Sons N.Y. (1973).
- 13.-Van Valkenburg, W. Pesticide Formulations. Marcel Dekker, Inc. N.Y. (1973).

14. - Hansch, C. y Fujita, T. Jour. Amer. Chem. Soc. 86 , 1616-1626 (1964).
15. - Gould, R. F. (Editor). Advances in Chemistry Series. Fujita, T. The Extrathermodynamic Structure Activity Correlations. -- American Chemical Society, 1-19. Washington, D. C. (1972).
16. - Fujita, T., Iwasa, J. y Hansch, C. Jour. Amer. Chem. Soc. 86 , - 5175-80 (1964).
17. - Hine, J. Physical Organic Chemistry. 2nd. Ed. Mc Graw-Hill - Book Co. Inc. Tokyo (1962).
18. - Gilliom, R. D. Introduction to Physical Organic Chemistry. -- Adisson-Wesley Publishing Co. U. S. A. (1970).
19. - Vogel, Arthur. A Text-Book of Practical Organic Chemistry. - Cap. VII, 13, 961. Third Ed. Longmans. London (1961).
20. - Augustine, R. L. Catalytic Hydrogenation. Edward Arnold Pu - blishers. London (1965).
21. - Vogel, Arthur. A Text-Book of Practical Organic Chemistry . - Cap. IV, 61, 600. Third Ed. Longmans. London (1961).
22. - Vaquero, G. Comunicación Personal. Tesis Profesional. Análi - sis (1974).
23. - Clarke y Wain. Ann. Appl. Biol. 51 , 453 (1953).
24. - Hinnelblau, D. M. Process Analysis by Statistical Methods. J. Wiley and Sons Inc. 143-6. N. Y. (1970).