

**CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE COMPUESTOS DE INTERÉS
BIOLÓGICO: QUINOLINAS Y DERIVADOS, EVALUACIÓN DE SU POSIBLE
APLICACIÓN ANTIBACTERIAL**

**MARTHA MILENA BARÓN LEÓN
SINDY MARCELA COMAS TOSCANO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2016

**CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE COMPUESTOS DE INTERÉS
BIOLÓGICO: QUINOLINAS Y DERIVADOS, EVALUACIÓN DE SU POSIBLE
APLICACIÓN ANTIBACTERIAL**

**MARTHA MILENA BARÓN LEÓN
SINDY MARCELA COMAS TOSCANO**

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico

Director:

RAFAEL CABANZO HERNANDEZ. Ms.C.

Codirector:

DIANA PADILLA RUEDA. Ph.D

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2016

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico a mi gran Dios y salvador, quien es digno de recibir toda honra y gloria, Él es mi felicidad, refugio y en él siempre puedo confiar, el único merecedor de mi agradecimiento por su gran misericordia y bondad me guardo y guio en este camino universitario.

A mis padres por sus oraciones, amor, consejos, platicas que me orientaron en esta meta, por sus esfuerzos en apoyarme incondicionalmente, a mis hermanos y hermanas porque fueron de gran ayuda para poder hoy culminar esta carrera que inicio con mucho entusiasmo e incertidumbres pero donde viví momentos de alegrías, tristezas, acuerdos, desacuerdos que me enseñaron a crecer como persona y formarme como profesional. Por ultimo a mis sobrinos por regalarme sonrisas aun cuando mis ánimos no eran los mejores.

Martha Milena Barón León

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Dios quien supo guiarme por buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi familia quienes por ellos soy lo que soy, mi gran motivación para seguir adelante. Mis hermanos y mis padres por su apoyo incondicional, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

Gracias también a mis compañeros que me apoyaron y me permitieron entrar en su vida durante esta etapa de estudio.

Sindy Marcela Comas Toscano

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Rafael Cabanzo Hernandez, Director de la investigación, por las valiosas orientaciones y apoyo. Laboratorio de Espectroscopia Atómica y Molecular (LEAM).

Diana Padilla Rueda, codirectora de la investigación, por donarnos las muestras en estudio, por sus aportes, consejos, motivación, tiempo y dedicación en la realización de esta investigación. Universidad del Atlántico (UA).

Carlos Mario Melendez por la síntesis de los compuestos heterocíclicos mediante el Grupo de investigación en compuestos heterocíclicos, universidad del atlántico (UA).

Yuli Prada por su colaboración en la realización de los ensayos antibacteriales tomados en el Laboratorio de Bioquímica y Microbiología (UIS).

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	16
1. OBJETIVOS	18
1.1. OBJETIVO GENERAL	18
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2. MARCO TEÓRICO	19
2.1. COMPUESTOS QUINOLINICOS Y SUS DERIVADOS	19
2.2. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS	20
2.3. CARACTERÍSTICAS DE LAS CEPAS BACTERIANAS	21
3. METODOLOGÍA	23
3.1. PARÁMETROS PARA LA CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA	24
3.1.1. Espectroscopia de absorción ultravioleta-visible	25
3.1.2. Fluorescencia (PL).....	25
3.1.3. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	25
3.1.4. Espectroscopia RAMAN	26
3.2. PARÁMETROS PARA LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL	26
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA	27
4.1.2. Espectros de Fluorescencia (PL).	29
4.1.3. Espectros FTIR	31
4.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL	35
5. CONCLUSIONES	41
6. RECOMENDACIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43
ANEXOS	47

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Longitud de onda de máxima absorción de la segunda banda ($\lambda_{\text{máx}}$) y coeficiente de absorción molar para cada uno de solventes utilizados.	28
Tabla 2. Grupos funcionales para cada una de las moléculas con sus respectivas longitudes de onda.	33
Tabla 3. Grupos funcionales para cada una de las moléculas con sus respectivas frecuencias.	35
Tabla 4. Concentraciones mínimas inhibitorias de los derivados tetrahydroquinolínicos frente a SARM	39

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Moléculas tetrahydroquinolónicas.	23
Figura 2. Protocolo experimental del proyecto de investigación.	24
Figura 3. Espectro de absorción de la molécula con código 300 en los solventes acetonitrilo (morado) y metanol (rojo)	28
Figura 4. Espectro fluorescencia de la estructura código 300	29
Figura 5. Espectro fluorescencia estructura código 420. Con solvente ACN	30
Figura 6. Espectros de excitación y fluorescencia de la estructura código 300	31
Figura 7. Espectro IR de la estructura código 679.	32
Figura 8. Espectro Raman con la estructura código 676	34
Figura 9. % de crecimiento SARM frente a los derivados tetrahydroquinolónicos.	36
Figura 10. Inhibición del crecimiento bacteriano en presencia de los derivados tetrahydroquinolónicos.	38

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Parámetros para la toma de Espectros.	47
Anexo B. Espectros de la técnica FTIR, RAMAN, UV.Vis. y graficas de los resultados evaluación antibacterial.	48

NOMENCLATURA

UV. Vis: Ultravioleta Visible.

FTIR: Infrarojo por Transformada de Fourier.

PL: Fluorescencia ó Photo Luminiscencia.

α : Coeficiente absorción Molar.

$\lambda_{\text{máx}}$: Longitud de onda máxima.

λ_{Exc} : Longitud de Excitación.

SARM: *Staphylococcus Aureus* Resistente a la Meticilina.

E. Coli O157:H7: *Escherichia Coli* O157:H7.

P. Aeruginosa: *Pseudomona Aeruginosa*.

RESUMEN

TITULO: CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE COMPUESTOS DE INTERÉS BIOLÓGICO: QUINOLINAS Y DERIVADOS, EVALUACIÓN DE SU POSIBLE APLICACIÓN ANTIBACTERIAL*

AUTORES: Martha Milena Barón León**

Sindy Marcela Comas Toscano **

PALABRAS CLAVES: Tetrahydroquinolinas, FTIR, Fluorescencia, UV-Vis, Raman, *Pseudomona Aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Sthapylococcus Aerus* Resistente a la Meticilina (SARM).

DESCRIPCIÓN

Entre los alcaloides, una de las familias más estudiadas son los compuestos quinolinicos debido a su amplio rango de actividades biológicas. Los diferentes compuestos, desde el punto de vista de caracterización espectroscópica no han sido completamente caracterizados. En este trabajo se presentan los resultados de la caracterización por medio de diversas técnicas espectroscópicas (Fluorescencia, FTIR, Raman y UV-Visible) para la determinación de parámetros de interés como el coeficiente de extinción molar; esencial para el estudio de la fluorescencia, factores estructurales (cambios en los grupos funcionales) y la evaluación de su posible aplicación antibacterial. Mediante señales características o huellas dactilares se identificaron los enlaces; C-Cl, NO₂, amina y amida en las respuestas espectroscópicas que confirman los compuestos en estudio; por medio de estas técnicas se evidencia las ventajas como la sensibilidad, rapidez en la preparación y toma de datos. En los ensayos biológicos (antibacteriales), el efecto de los derivados en crecimiento bacteriano frente a las bacterias *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Sthapylococcus aerus* Resistente a la Meticilina (SARM), fue estudiado por el método de microdilución en caldo en el cual se mide la inhibición en el crecimiento de cada cepa bacteriana en presencia de cada una de las quinolinas en un rango de concentraciones de 1-100 µM comparándolas con el control positivo y control negativo en cada caso, las cuales presentaron concentración mínimas inhibitorias por encima del 50% especialmente para SARM en presencia de las tetrahydroquinolinas, esta concentración se encuentra dentro del rango de concentraciones terapéuticas empleadas actualmente para el tratamiento de infecciones causadas por SARM.

* Proyecto de grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: M.Sc. Rafael Cabanzo Hernandez

ABSTRACT

TITLE: SPECTROSCOPIC CHARACTERIZATION OF BIOLOGICAL INTEREST COMPOUNDS: QUINOLINES AND DERIVATIVES, EVALUATION OF POSSIBLE APPLICATION ANTIBACTERIAL*

AUTHORS: Martha Milena Barón León**

Sindy Marcela Comas Toscano **

KEYWORDS: Tetrahydroquinolines, FTIR, Fluorescence, UV-Vis, Raman, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aerus* Methicillin Resistant (SAMR)

DESCRIPTION

Among the alkaloids, one of the most studied families are the quinoline compounds because of its biological activities wide range. Different compounds from the spectroscopic characterization viewpoint have not been fully characterized. In this paper are presented the characterization result through various spectroscopic techniques (fluorescence, FTIR, Raman and UV-visible) to determinate interesting parameters as the molar extinction coefficient; essential for studying fluorescence, structural factors (changes in functional groups) and evaluation of their possible antibacterial application. By signals characteristics or fingerprints are identified the links; C-Cl, NO₂, amine and amide in the spectroscopic responses that confirm testing compounds; through these techniques are evidenced advantages such as sensitivity, preparation speed and data collection. In bioassay (antibacterial), the effect of the bacterial derivatives growth against bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aerus* Methicillin Resistant (SAMR), was studied by microdilution broth method in which inhibition is measured in the growth of each bacterial strain in the presence of each of quinolines in a concentration range of 1-100 µM comparing them with the positive and negative control in each case, which presented minimum inhibitory concentration above 50% especially for SAMR in the presence of tetrahydroquinolines, this concentration is within the range of therapeutic concentrations currently employed for the treatment of infections caused by MRSA.

* Bachelor Thesis

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: M.Sc. Rafael Cabanzo Hernandez

INTRODUCCIÓN

La química orgánica se cataloga como una ciencia central en el estudio de los fenómenos naturales a nivel molecular, desarrollando sus métodos, objetos y ampliando sus actividades. Una de estas actividades es la construcción intencional de moléculas de uso práctico, dentro de este objetivo, se incluye la identificación y optimización de nuevas sustancias químicas. Esto permite que la medicina actual cuente con la posibilidad de nuevos fármacos para combatir enfermedades de origen diverso, siendo éste uno de los puntos de mayor interés para la química orgánica [1]. Entre esas sustancias químicas se encuentra un grupo muy particular de compuestos orgánicos, conocidos como las tetrahydroquinolinas, heterociclos nitrogenados conformados por seis átomos de carbono; siendo una de las familias más estudiadas e interesantes de los compuestos heterocíclicos, presentes en la naturaleza como productos del metabolismo secundario de plantas y microorganismos [2]. Éstas desempeñan un rol muy importante en el estudio de la química de productos naturales y en el desarrollo de nuevos fármacos. Los derivados estructurales de este farmacóforo han establecido una línea de investigación biológica de gran importancia, gracias a la amplitud de actividades farmacológicas que se les adjudican: antimalárica, antitumoral, antioxidante, antifúngica, entre otras [3].

Es importante, dentro de la síntesis, la caracterización de los productos; en este trabajo se presentan los resultados de la caracterización, por medio de diversas técnicas espectroscópicas de estructuras quinolínicas y tetrahydroquinolínicas previamente sintetizadas. Entre las técnicas usadas se destacan: Fluorescencia, FTIR, Raman y UV-Visible; todo esto, para la determinación de propiedades ópticas y la influencia de los factores estructurales en la respuesta espectroscópica; como solventes se usaron acetonitrilo y metanol. Dentro de las aplicaciones biológicas de las quinolinas, de acuerdo a los sustituyentes presentes en los anillos aromáticos y las diferentes propiedades que se le atribuyen, es de

gran estudio la actividad antibacterial de los mismos. La eficacia limitada y alta toxicidad de los fármacos antibacteriales disponibles, han puesto en evidencia la necesidad de nuevos compuestos que puedan constituir alternativas a los fármacos existentes [3]. Es por esto que se realizó una valoración sobre su actividad antibacterial en las tetrahydroquinolinas de interés biológico [4].

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Caracterización espectroscópica de muestras de interés biológico (quinolinas y sus derivados) por medio de UV-Visible, fluorescencia, FT-IR y Espectroscopia Raman; evaluación de su posible actividad antibacterial.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar, los derivados quinolínicos y tetrahydroquinolínicos usando la técnica de espectroscopia UV-Vs y determinar los coeficientes de extinción molar.
- Caracterizar por medio de fluorescencia, FTIR y RAMAN analizando la influencia de los factores estructurales (cambios en los grupos funcionales) en las respuesta espectroscópicas de las quinolinas y sus derivados.
- Determinar la posible actividad antibacterial de las estructuras quinolínicas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. COMPUESTOS QUINOLINICOS Y SUS DERIVADOS

La motivación para el desarrollo de los compuestos quinolínicos y sus derivados en gran parte se debe al amplio rango de actividades en las cuales tiene aplicabilidad biológica: antipalúdicas, antiprotozoicas, antibacteriana, antimicrobianas, antivirales y antifúngicas [5]. Estos compuestos fueron aislados por primera vez del alquitrán de hulla en 1834 por Runge. La palabra quinolina es derivada de la palabra quinas, que proviene de las Rubiáceas, del género de las chinchonas, los extractos de esta planta fueron usados para combatir la malaria, lo que la convirtió en una molécula de interés para la química orgánica [6].

El análisis detallado del extracto de la quina permitió identificar más de 20 alcaloides de los cuales la quinina (1), la cinchonidina (2), la quinidina (3) y la cinconina (4) son las sustancias de mayor actividad biológica. La quinina, aislada en 1820 por Pelletiev y Paventou, fue usada para combatir la malaria y la quinidina se usó como agente antiarrítmico. A pesar de su alta actividad, la quinina no es un fármaco ideal contra la malaria, por que presentan un alto grado de toxicidad [6],[7].

Recientemente, se ha observado el desarrollo de complejos procesos bioquímicos en algunos micro-organismos patógenos, lo que ha llevado a que estos adquieran resistencia ante los antibióticos comunes. Este hecho ha estimulado la síntesis de nuevos derivados, que poseen como base estructural el sistema quinolínico, más efectivos y menos tóxicos [8], realizando modificaciones estructurales que mejoren los parámetros físico-bioquímicos de estos compuestos. La quinolina también ha sido empleada como grupo funcional en los éteres corona que sirven de transportadores de sustancias a través de diversas membranas biológicas [6].

2.2. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

Las técnicas de caracterización que se basan en la interacción radiación-materia; dan información de tipo composicional y estructural, tanto a nivel elemental como molecular. Entre sus ventajas se pueden mencionar su capacidad de análisis multi- elemental, rapidez, las pocas restricciones en el tipo de muestra, suelen tener menores requerimientos de pre tratamiento de muestra, reducen el consumo de muestra y los tiempos de análisis, con relativamente altas sensibilidades. Entre ellas, se pueden destacar las técnicas espectroscópicas: Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia Raman, Fluorescencia en régimen estacionario (PL) y espectroscopía de absorción UV-Visible [9].

La espectroscopia UV-Visible a través del estudio de la posición e intensidad de las bandas de absorción, da información sobre transiciones electrónicas del sistema molecular, lo cual permite determinar parámetros de interés: Rango de longitudes de onda de absorción, coeficiente de absorción molar. Dado que el comportamiento de una molécula es fuertemente afectada por su entorno, estudiando la interacción compuesto-solvente es posible la evaluación y seguimiento de interacciones con muestras de interés biológico [10].

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), se basa en la interacción de la materia con radiación en el rango espectral IR. Es una técnica vibracional que permite identificar los grupos funcionales del sistema y permite estudiar las interacciones de los compuestos con sustancias de interés biológico [11].

La espectroscopia Raman, con sus variantes de Infrarrojo Cercano (NIR-Raman) e intensificada por efecto superficial (SERS), se basa en la dispersión inelástica de luz monocromática sobre materiales no metálicos [12]. El número de onda indica

los modos vibracionales en el material, mientras que el ancho da información estructural; el uso y análisis de la polarización de la radiación dispersada determina la orientación y simetría del material [13].

La fluorescencia (PL), permite determinar factores de tipo estructural, composicional y estudiar interacciones con el entorno. No es tan utilizada como las técnicas de absorción, porque no todos los compuestos fluorescen, y el instrumental necesario es relativamente más costoso. En el caso de la familia de las quinolinas, son compuestos con una gran capacidad de respuesta, debido a su estructura y grupos funcionales [14]. La posición e intensidad de las bandas, dan información de tipo estructural como enlaces y grupos funcionales, del grado de condensación y de la rigidez estructural de la molécula, permite determinar el rendimiento cuántico de fluorescencia; si se trabaja con fluorescencia resuelta en el tiempo; además, da información sobre las transiciones y las interacciones con el entorno, ya que es afectada por el pH de la solución, la temperatura, el oxígeno disuelto, y la concentración en la solución; incluso puede ser utilizado como técnica de detección y cuantificación [15].

Debido a la información que brindan a nivel estructural, eficiencia, facilidad y rapidez en la adquisición de datos, se da paso al estudio e implementación de estas técnicas espectroscópicas.

2.3. CARACTERÍSTICAS DE LAS CEPAS BACTERIANAS

Las cepas *staphylococcus aureus* Resistente a la Meticilina (SARM) es una bacteria Gram positiva anaerobia de pared gruesa peptidoglicano, es una bacteria común en la piel y en las membranas mucosas de los individuos sanos, en consecuencia en esa condición no es un problema. Sin embargo, cuando ésta bacteria ingresa al organismo a través de heridas, catéteres, procesos quirúrgicos

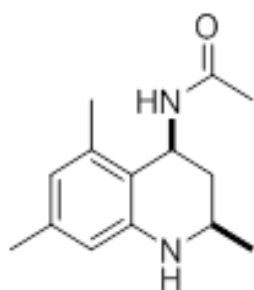
y es resistente a la meticilina se torna potencialmente peligrosa. Este microorganismo posee un alto grado de patogenicidad siendo responsable desde infecciones superficiales de la piel y tejidos blandos hasta osteomielitis, endocarditis y neumonías. La situación puede ser más grave aún porque las cepas resistentes a la meticilina suelen ser también resistentes a otros antibióticos. Esta bacteria se trasmite por contacto físico directo y mediante el contacto con objetos que están contaminados. Este microorganismo se encuentra diseminado en las instituciones sanitarias ocasionando severas infecciones en el hombre. Tolerando un rango de temperatura de crecimiento de 30-40°C [16]

Escherichia coli es un bastón Gram negativo anaerobio de pared delgada (bacilo) de la familia enterobacteriaceae. Las mayoría de las *E. coli* son comensales normales que se encuentra en el tracto digestivo. Este microorganismo procariota es quizás el más estudiado por el ser humano, se trata de una bacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, por ende en las aguas negras. *E. coli* puede causar infecciones graves en el aparato excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía. Tolerando de temperatura de crecimiento de 37°C. [17]

Pseudomona aeruginosa es el principal patógeno de la familia pseudomonadaceae y se identifica por ser un bacilo Gram negativo ligeramente curvado que crece mejor en aerobios, que pueden causar una amplia gama de enfermedades como la infección nosocomial, neumonía, fibrosis quística, infecciones del tracto urinario en pacientes con sondaje, sepsis y otros [18]. La *P. aeruginosa* se caracteriza por estar ampliamente distribuida en la naturaleza formando parte de la microbióta normal del hombre. La tierra, plantas, agua corriente pueden actuar como depósito con clara predilección por los ambientes húmedos tolerando un amplio rango de temperatura de crecimiento, hasta 50 °C.

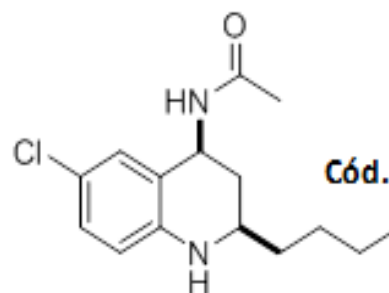
3. METODOLOGÍA

El nombre de las moléculas estudiadas, figura 1, fue asignado usando la nomenclatura IUPAC, el código corresponde a la numeración para efectos de identificación.



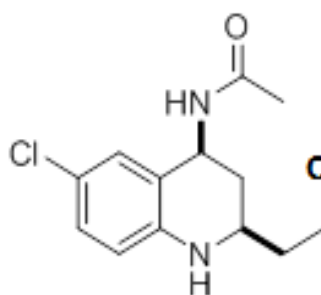
Cód.300

2,5,7-trimetil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il acetamida



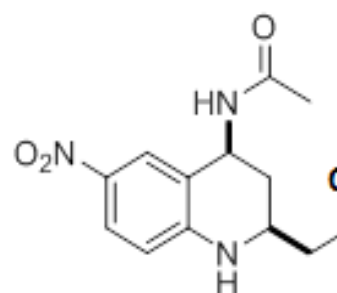
Cód.407

2-butil-6-cloro-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il acetamida



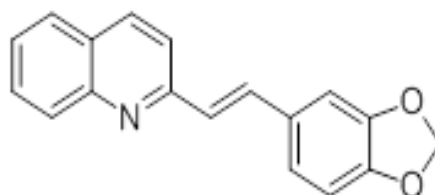
Cód. 676

6-cloro-2-etil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il acetamida



Cód.679

2-etil-6-nitro-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-4-il acetamida



Cód.420

(E)-2-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) vinyl) quinolina

Figura 1. Moléculas tetrahidroquinolínicas.

El protocolo de trabajo implementado para la caracterización espectroscópica de las muestras y el estudio de sus posibles aplicaciones biológicas figura 2.

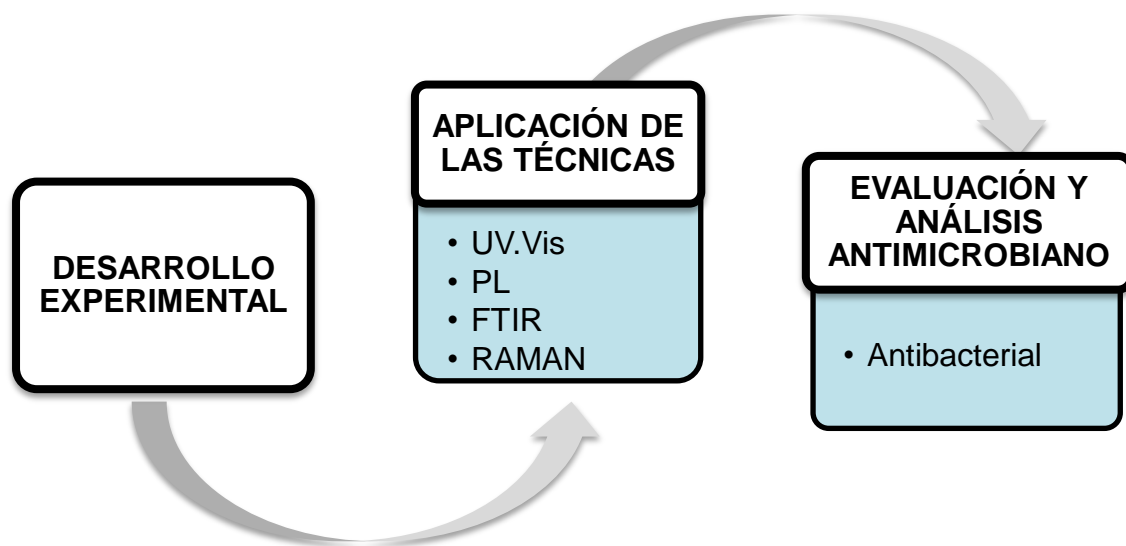


Figura 2. Protocolo experimental del proyecto de investigación.

3.1. PARÁMETROS PARA LA CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

Para las muestras tetrahidroquinolínicas en fase líquida, se utilizaron disolventes; polar aprótico (acetonitrilo) y polar prótico (metanol), presentando estos las mejores condiciones para el análisis de las muestras. Estudios realizados en el Laboratorio de Química Orgánica y Bioquímica, mostraron que el uso de disolventes polares apróticos como el acetonitrilo presentaban una buena alternativa como blanco eficiente [3]. Se prepararon soluciones patrón a temperatura ambiente. Los datos experimentales, pesos y concentraciones se resumen en el anexo A (Tabla1.A). Para los cálculos asociados a la preparación de las diluciones tetrahidroquinolínicas se tuvo en cuenta el siguiente protocolo; se prepararon soluciones madre (aprox. 10^{-3} [M]); para las curvas de calibración se trabajó con 6 disoluciones, con los dos solventes. Todas las pruebas se realizaron

por duplicado. Para la aplicación de las técnicas, los parámetros experimentales de toma de datos fueron escogidos de acuerdo a la bibliografía [19],[20],[21].

3.1.1. Espectroscopia de absorción ultravioleta-visible: Se utilizó el equipo UV-Vis Shimadzu Spectrophotometer, con el software integrado UVProbe-[Spectrum], en un rango espectral de 200 a 450 nm, intervalo de muestreo de 1.0nm, anchura de la rendija de 5.0 nm, temperatura ambiente 23°C; la línea base fue fijada usando los blancos respectivos.

3.1.2. Fluorescencia (PL): Las longitudes de onda de excitación fueron determinadas a partir de los espectros UV-Vis.

Los parámetros experimentales adicionales fueron fijados con base en la revisión bibliográfica: anchura de la rendija de excitación y de emisión 2.0 nm, paso 2.0 nm. En el anexo A (Tabla 2.A.) se presentan las concentraciones de las muestras para los puntos analizados.

3.1.3. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR): Para el análisis instrumental con FT-IR se utilizó el equipo NICOLET IS50 FT-IR con el software integrado OMNIC-Collect Sample. Los espectros se adquirieron en fase sólida, 4000 a 400 nm, con 32 scan, resolución 4.0 cm^{-1} , apertura 100, velocidad óptica 0.4747cm/s, ganancia 1.0.

3.1.4. Espectroscopia RAMAN: Los espectros Raman fueron tomados en fase sólida, se utilizó el equipo Labram HR Evolution Raman Spectrometer con las siguientes condiciones de adquisición: rango espectral 200-1800 cm^{-1} y 1800-3600 cm^{-1} , % potencia 100%, tiempo de integración 20 s, acumulaciones 10 (SC), rejilla de 600 planos/mm, objetivo 100X.

3.2. PARÁMETROS PARA LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL

La actividad antimicrobiana de los derivados tetrahydroquinolínicos fue evaluada frente a las cepas bacterianas de *Escherichia coli*_O157:H7, *Staphylococcus aureus* Resistente a la Metilcilina (SARM), y *Pseudomona aeruginosa*. El ensayo fue llevado a cabo en colaboración con el Grupo de Investigación de Bioquímica y Microbiología – UIS. El efecto de los derivados en crecimiento bacteriano fue estudiado por el método de microdilución en caldo en el cual se mide la inhibición en el crecimiento de cada cepa bacteriana en presencia de cada una de las quinolinas en un rango de concentraciones de 1-100 μM comparándolas con el control positivo y control negativo en cada caso [22], [23].

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

Los espectros de las estructuras tetrahydroquinolónicas mediante las técnicas espectroscópicas UV-Vis, fluorescencia, FTIR y RAMAN fueron adquiridos en el Laboratorio de espectroscopia atómica y molecular (LEAM) del parque tecnológico Guatiguará UIS.

4.1.1. Espectros de absorción UV-Vis: La muestra código 300, figura 3. Se observa una primera banda en la región (280-320 nm), se atribuye a las transiciones electrónicas π y π^* de los anillos aromáticos que éstas poseen. Además, se aprecia una segunda banda (230- 280 nm), que se puede asignar a los electrones $n-\pi^*$ del anillo bencénico, [24]. Las gráficas para determinar el coeficiente de absorción molar de las demás moléculas se presentan en el anexo B (Fig. 1.B). Estos datos sirvieron de referencia para los parámetros experimentales de la fluorescencia (PL).

Para calcular el coeficiente de absorción molar se utilizó la ley de Beer-Lambert en el rango lineal de la absorbancia de las muestras (soluciones diluidas). Las curvas de calibración presentaron coeficientes de correlación elevados, todos alrededor de 0,98 y 0,99. Las gráficas se presentan en el anexo B (Fig. 2.B) [25].

La tabla 1 presenta los parámetros más relevantes obtenidos a partir de la técnica UV-Vis: Longitud de onda de máxima absorción de la segunda banda ($\lambda_{m\acute{a}x}$); Coeficiente de absorción molar (α) y el logaritmo en base 10 del coeficiente de absorción molar.

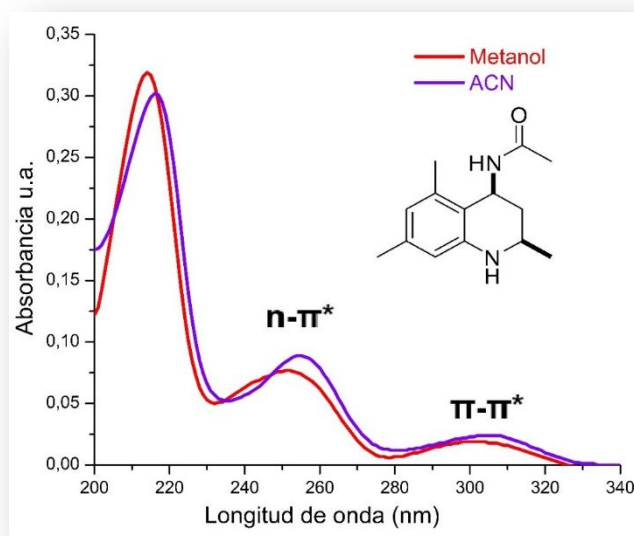


Figura 3. Espectro de absorción de la molécula con código 300 en los solventes acetonitrilo (morado) y metanol (rojo)

Tabla 1. Longitud de onda de máxima absorción de la segunda banda ($\lambda_{\text{máx}}$) y coeficiente de absorción molar para cada uno de solventes utilizados.

Muestras Quinolinas	Solvente	$\lambda_{\text{máx.}}$ (nm)	α $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	\log_{10} (α)	$\lambda_{\text{máx.}}$ (nm)	α $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	\log_{10} (α)
300	ACN	305	2360,82	3,37			
407		317	3943,74	3,60			
420		347	40414,74	4,61			
676		317	3507,98	3,55	392	9753,01	3,99
679		392	17248,15	4,24			
300	Metanol	301	2971,34	3,47			
407		317	2438,37	3,39			
420		300	13526,21	4,13	416	39384,12	4,60
676		317	3173,71	3,50	393	6298,20	3,80
679		392	21034,35	4,32			

α = Coeficiente absorción Molar, $\lambda_{\text{máx.}}$ = Longitud de onda máxima.

4.1.2. Espectros de Fluorescencia (PL): Los procesos por los cuales un sistema molecular pierde energía son dos: radiativos (emisión de fotones) y no radiativos (generación de calor). Los procesos radiativos (fluorescencia) se ven favorecidos por la rigidez estructural y por el contrario, moléculas con facilidad para cambiar su geometría (al menos parcialmente) o con átomos pesados en su estructura tienen menos probabilidad de presentar fluorescencia.

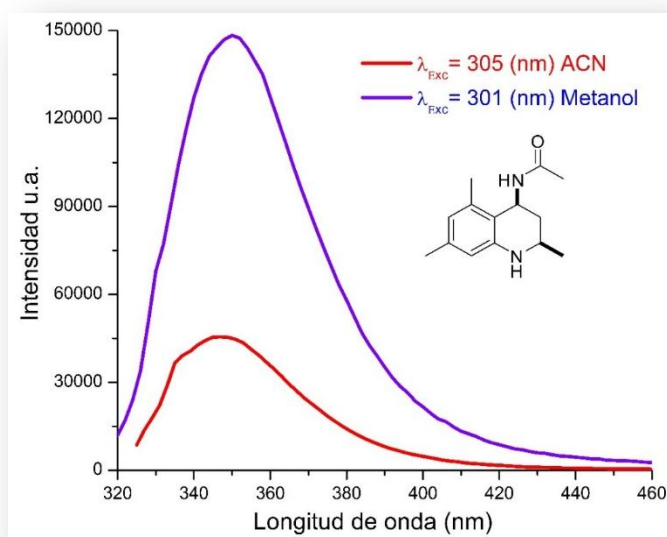


Figura 4. Espectro fluorescencia de la estructura código 300.

Teniendo en cuenta lo anterior, las únicas moléculas que presentan espectro de emisión (fluorescencia) son las moléculas identificadas con los códigos 300 y 420. La primera emite cuando se diluye en los dos solventes utilizados mientras la segunda solo lo hace cuando está disuelto en ACN. Las figuras 4 y 5 muestran los espectros de emisión de estos compuestos.

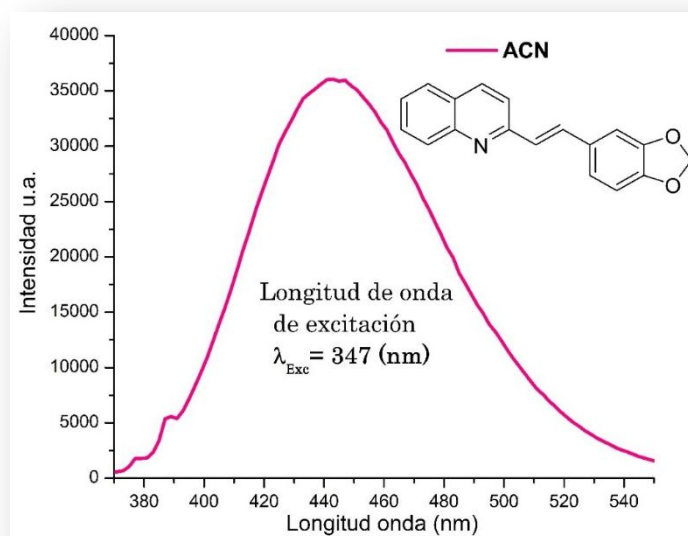


Figura 5. Espectro fluorescencia estructura código 420. Con solvente ACN

Si se realiza un espectro de excitación, se confirma el rango de longitudes de onda en el que el sistema puede absorber radiación (230-280) nm. La figura 6 muestra los espectros de excitación y de emisión, normalizados, de la molécula con código 300 [26].

A mayor polaridad del solvente menor la energía del estado excitado y se observa un desplazamiento hacia el rojo del espectro de emisión [27].

Los desplazamientos producidos están relacionados con el grado diferente de solvatación de las moléculas en estado excitado, según la polaridad del solvente [28].

Las muestras tetrahydroquinolónicas con grupos funcionales no presentaron emisión Según la literatura una pequeña cantidad de moléculas o iones pueden actuar como atenuadores de la PL, es decir; aceptores de electrones [26]. Esto muestra concordancia con los resultados experimentales.

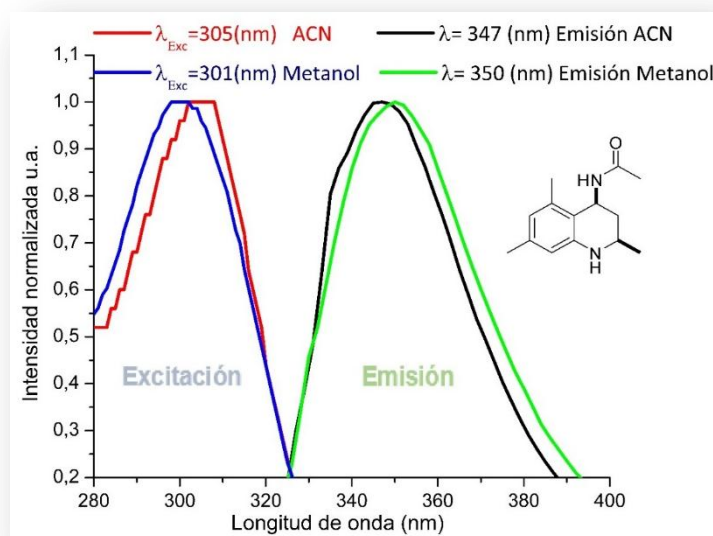


Figura 6. Espectros de excitación y fluorescencia de la estructura código 300

4.1.3. Espectros FTIR: En el espectro IR se confirma, de manera rápida y económica la presencia de los diferentes grupos funcionales: NO₂ en la región (1480-1353 cm⁻¹) [29], por la señal típica en forma de herradura de intensidad significativa, lo cual demuestra las ventajas y rapidez de la técnica para la detección de grupos funcionales, figura 7.

El espectro IR de la estructura código 300, en fase sólida, mostró señales asociadas a vibraciones de tensión de C-H alifáticos entre 2900 a 2990 cm⁻¹, el doble aromático del enlace =CH en 3082 cm⁻¹ y la señal C=C en 1510 a 1456cm⁻¹, característicos de la huella del anillo aromático bencénico di sustituido [24]. Las señales de vibración de tensión y deformación de las aminas y amidas secundarias se detectan en 3386 y 1622 cm⁻¹, 3280 y 1590 cm⁻¹ respectivamente, aunque se observa un corrimiento, debido a las ramificaciones del grupo metil, aumentando la intensidad de la señal.

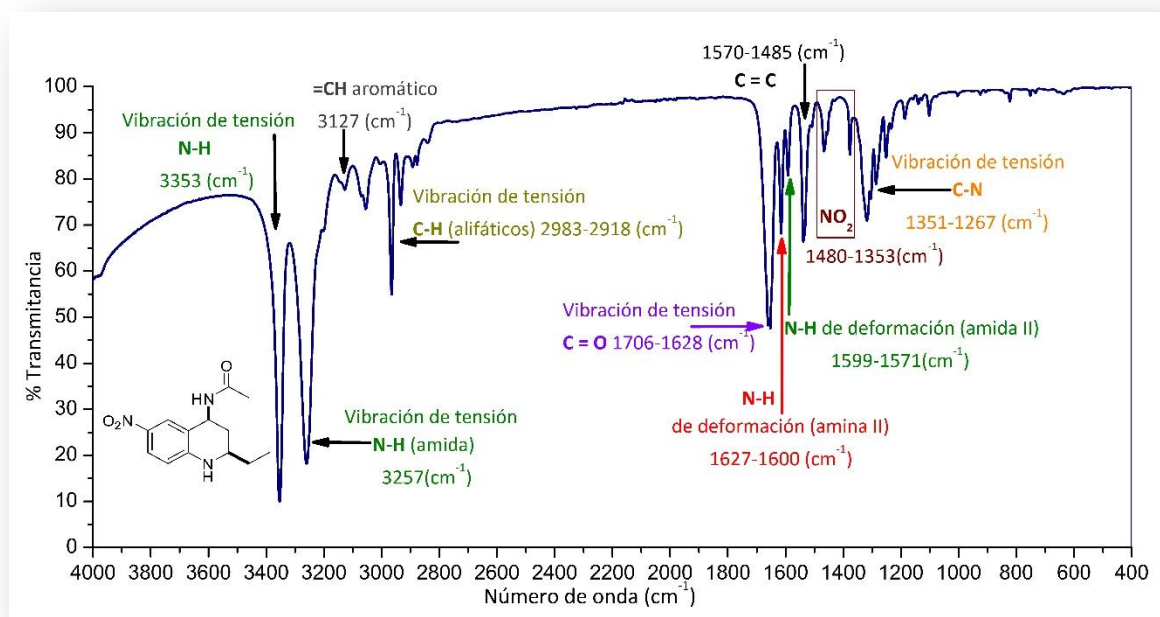


Figura 7. Espectro IR de la estructura código 679.

El pico en el intervalo de 1339 a 1297 cm^{-1} , corresponde a las vibraciones de tensión del enlace C-N, los modos de vibración de tensión del C=O se identificaron como picos fuertes en 1690 a 1592 cm^{-1} , anexo B (Fig. 3.B) [30].

El espectro IR de la estructura código 676, el enlace C-Cl normalmente posee una frecuencia de grupo único, se le asignó un pico en 650 cm^{-1} , de acuerdo a la literatura, anexo B (Fig. 4.B). De igual manera, se confirma la señal de este halógeno, en el espectro de la estructura código 407 del anexo B (Fig. 5.B).

Estos sustituyentes, normalmente, son sencillos de identificar cuando la molécula contiene un único halógeno [31]. El espectro de la estructura código 420 del anexo B (Fig. 6.B), muestra señales particulares a las anteriores estructuras, correspondientes a las vibraciones de los enlaces C=N en 1643 a 1553 cm^{-1} y vibraciones de tensión de los enlaces C-O en dos regiones significativas 1265 a

1186 cm⁻¹ y 876 a 776 cm⁻¹ [30].

En la tabla 2 se presenta el resumen de la ubicación de las bandas características de los grupos funcionales para cada una de las moléculas de los espectros IR.

Tabla 2. Bandas características de grupos funcionales para cada una de las moléculas.

Moléculas	300	407	420	676	679
Bandas	Número de onda cm ⁻¹	Número de onda cm ⁻¹	Número de onda cm ⁻¹	Número de onda cm ⁻¹	Número de onda cm ⁻¹
N-H Amina secundaria tensión deformación	3386 1622-1590	3386 1622-1590		3386 1624-1560	3353 1627-1600
=CH	3082	3082	3058	3079	3127
C-H alifático tensión	2900-2990	3075		2990-2915	2983-2918
C=O tensión	1690-1592	1690-1592		1717-1625	1706-1628
N-H Amida Secundaria Tensión Deformación	3280 1590-1513	3280 1590-1513		3252 1559-1426	3257 1599-1571
C=C tensión	1510-1456	1510-1456	1521-1464	1425-1373	1570-1485
C-N tensión	1339-1297	1339-1297	1464-1385	1337-1220	1351-1267
C-Cl				650	
C=N			1643-1563		
C-O tensión			1265-1186		
C-O tensión			875-776		
NO ₂					1480-1353

4.1.4. Espectros RAMAN: En el espectro de la muestra código 676, se observó una banda a 665 cm⁻¹, asociada al estiramiento simétrico del enlace C-Cl, de la molécula, figura 8.

Esta asignación es consistente cuando se compara con el espectro de la estructura código 407, que presenta la misma banda, ligeramente desplazada en el pico 645 cm^{-1} , ver anexo B (Fig. 7.B) [32].

El espectro de la muestra código 300, anexo B (Fig. 8.B), presenta señales de menor intensidad, debido a la rigidez de la molécula se observa el enlace $\text{C}=\text{C}$ en el pico de 1609 cm^{-1} , la señal de las aminas secundarias en el pico de 1439 cm^{-1} . [32].

La molécula código 420 presentó diferencia en el espectro por la presencia del estiramiento en los enlaces $\text{C}-\text{O}$ en $771\text{-}804\text{ cm}^{-1}$, y $1198\text{-}1233\text{ cm}^{-1}$ ver anexo B (Fig. 10.B) [34].

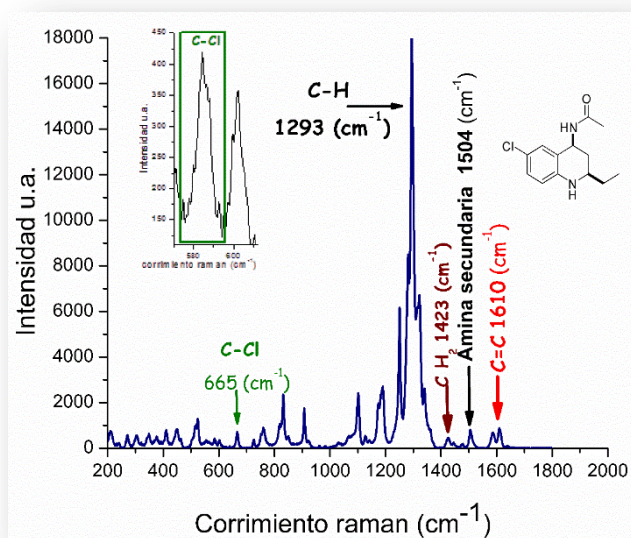


Figura 8. Espectro Raman con la estructura código 676

El espectro de la muestra código 679, anexo B (Fig. 9.B), se observan similitudes en los espectros con la estructura código 676 teniendo como particularidad dos bandas en la región de $1484 - 1440\text{ cm}^{-1}$, que se atribuyen al estiramiento del

grupo nitro NO₂. [33].

En la tabla 3 se presenta el resumen de la ubicación de las bandas características de los grupos funcionales para cada una de las moléculas de los espectros RAMAN.

Tabla 3. Bandas características de grupos funcionales para cada una de las moléculas de los espectros RAMAN.

Moléculas	300	407	420	676	679
Bandas	Corriente raman (cm ⁻¹)	Corriente raman (cm ⁻¹)	Corriente raman (cm ⁻¹)	Corriente raman (cm ⁻¹)	Corriente raman (cm ⁻¹)
C-H	1176	1127	1376	1293	1310
CH ₂	1316	1324	1446	1423	1429
N-H Amina secundaria	1501	1439		1504	1506
C=C	1690	1604	1613	1610	1609
C-Cl		645		665	
C-O			771-804		
C-O			1198-1233		
Piridina			1014		
NO ₂					1484-1440

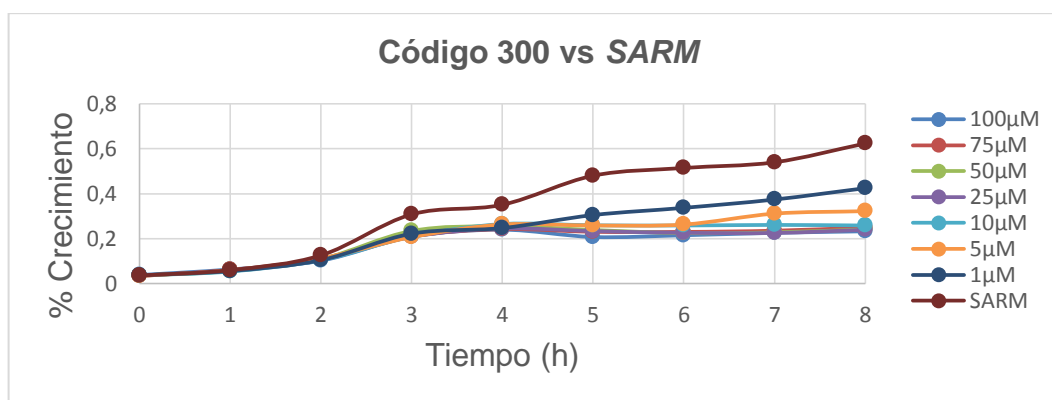
4.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL

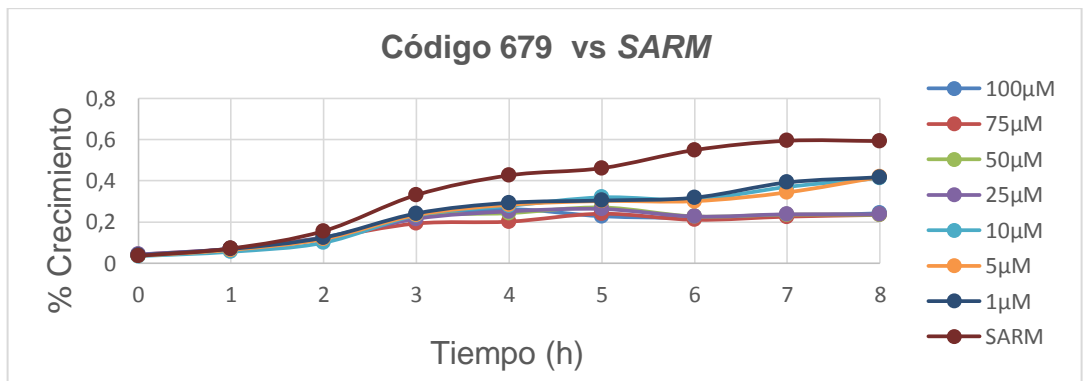
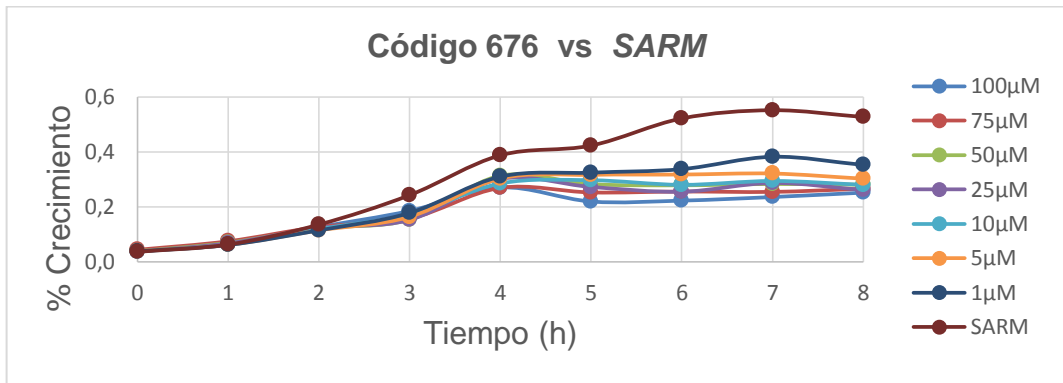
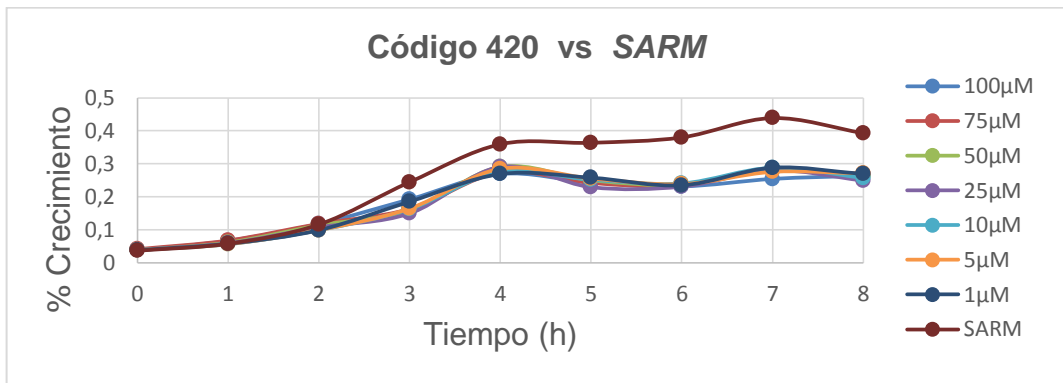
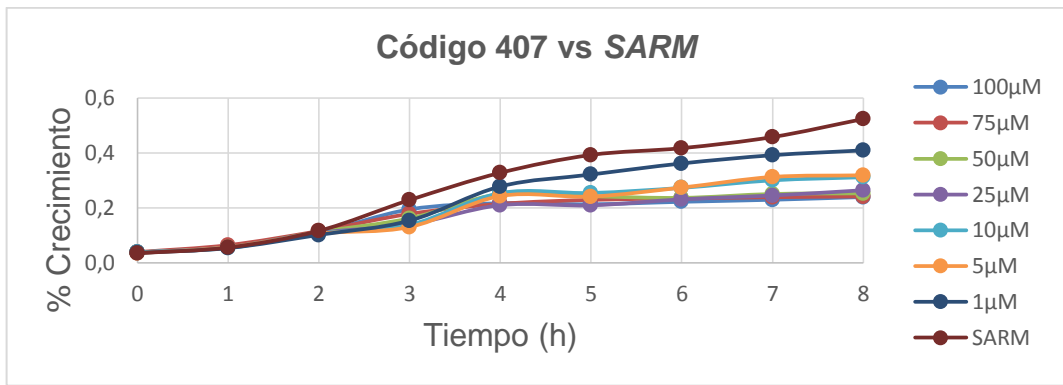
Las cinéticas de crecimiento fueron construidas individualmente para cada una las bacterias de estudio (*P. aeruginosa*, *E. coli* O157:H7, SARM). Las concentraciones evaluadas en este ensayo estuvieron en un rango de 1 a 100 µM.

En las gráficas obtenidas para la SARM, figura 9, se pueden identificar tres etapas diferenciadas en el crecimiento bacteriano. La fase de latencia en la que las células crecen y se preparan para la división celular, esta fase transcurre en las primeras dos horas. La fase siguiente se conoce como fase logarítmica, y es aquella en la cual las células se dividen doblando su población de modo creciente y constante, a la tercera hora se observó el crecimiento máximo de la bacteria seguido del decaimiento para los preparados que contenían las estructuras código 300, 407, 676 y 679 a concentraciones superiores de 25 μM .

Se observó una fase estacionaria al cabo de las cinco horas de modo general en la cual algunas células mueren mientras otras crecen y se dividen, lo cual no representa un aumento significativo en el número de organismo. No se observó la fase de muerte celular, la cual está dada por la disminución del crecimiento y división mientras la muerte del microorganismo ocurre rápidamente y por tanto una caída de los valores de porcentaje de crecimiento; de este comportamiento se puede asegurar que las tetrahydroquinolinas evaluadas ejercen un efecto bacteriostático y no bactericida [23]. La presencia de los derivados tetrahydroquinolínicos frente a las bacterias *P. aeruginosa*, *E. coli* O157:H7 no interrumpió el crecimiento de las bacterias como se evidencia en el anexo B (Fig. 11.B).

Figura 9. % de crecimiento SARM frente a los derivados tetrahydroquinolínicos.

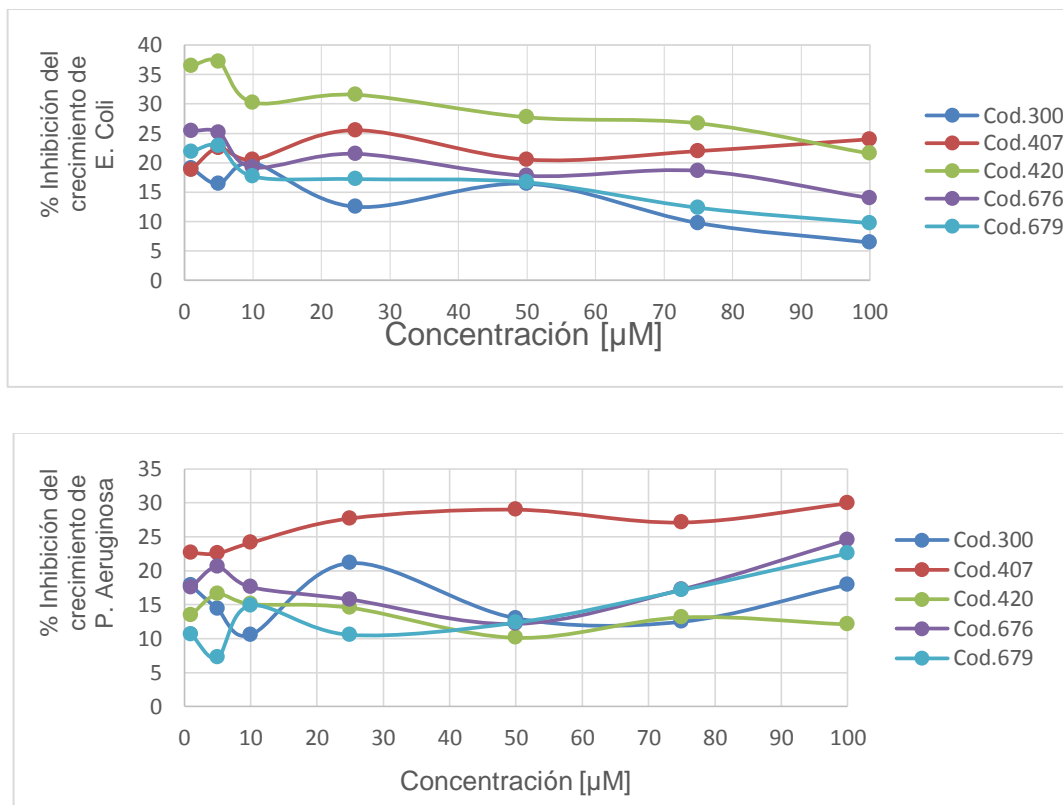


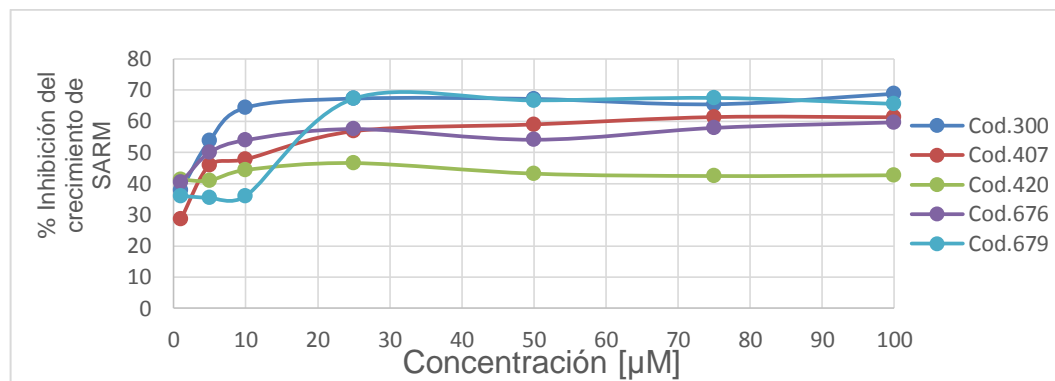


A partir de las cinéticas de crecimiento se construyeron las gráficas de porcentaje de inhibición Vs concentración de tetrahydroquinolína para cada bacteria estudiada, figura 10.

De las gráficas de porcentaje inhibición Vs concentración de quinolinas para las tres bacterias, se puede inferir que la mayoría de las estructuras tetrahydroquinolínicas estudiadas presentaron mayor actividad de inhibición frente a la bacteria Gram positiva SARM como se evidencia en la figura 10. Sin embargo, se observa que la actividad que presentan estos sistemas tetrahydroquinolínicos no aumenta de acuerdo a la concentración, confirmando la actividad bacteriostática.

Figura 10. Inhibición del crecimiento bacteriano en presencia de los derivados tetrahydroquinolínicos.





Se determinaron la CMI₅₀ y CMI₉₀ por interpolación desde las gráficas de inhibición de la cepa. En la tabla 4 se presentan los resultados obtenidos.

Tabla 4. Concentraciones mínimas inhibitorias de los derivados tetrahydroquinolínicos frente a SARM

Compuestos	CMI ₅₀	CMI ₉₀
Código 300	4 µM	NP
Código 407	13,65 µM	NP
Código 420	NP	NP
Código 676	5 µM	NP
Código 679	16,71 µM	NP

NP: No determinada en el rango evaluado

La CMI fue determinada como la mínima concentración necesaria de agente antimicrobiano para causar inhibición en el crecimiento bacteriano. Las CMI consideradas fueron: CMI₅₀ y CMI₉₀ que corresponden a la inhibición de crecimiento en un 50% y 90% respectivamente.

La molécula código 300 es la estructura base de las tetrahydroquinolinas códigos 407, 676 y 679 las cuales tienen un halógeno adicional, Cl, Cl y NO₂

respectivamente, la presencia de éstos grupos aceptores de electrones en los agentes antimicrobianos [23], evidentemente, presentan inhibición mayor del 50%, con CMI_{50} para las estructuras código 300, 407, 676 y 679 de 4 μM , 13,65 μM , 5 μM y 16,71 μM frente a SARM respectivamente y para CIM_{90} las tetrahydroquinolinas estudiadas no presentaron inhibición en este rango evaluado. Este comportamiento demuestra afinidad de las tetrahydroquinolinas por la bacteria Gram positiva en particular. La estructura código 420 no presento inhibición en los rangos de CIM evaluadas.

La CIM_{50} se encuentra dentro del rango de concentraciones terapéuticas empleadas actualmente para el tratamiento de infecciones causadas por SARM [23], [35].

5. CONCLUSIONES

A partir de los espectros UV-Vis se determinaron los máximos de fluorescencia, y los coeficientes de extinción molar de las moléculas en estudio. Se observa el desplazamiento de los máximos del espectro en función de la polaridad del solvente y la reducción de la intensidad de la señal espectroscópica, debido a las interacciones molécula-solvente.

Mediante la técnica IR y RAMAN se confirmaron las estructuras, con las sustituciones de grupos funcionales de las tetrahydroquinolínas de interés, tales como los enlaces C-Cl, NO₂.

Se demuestra la capacidad de detectar los grupos halógenos, por medio de las técnicas espectroscópicas utilizadas y se confirman las ventajas como la sensibilidad, rapidez en la preparación y toma de datos, mediante el uso de las técnicas espectroscópicas.

Para SARM la CMI₅₀ de las estructuras código 300, 407, 676 y 679 fue de 4 µM, 13,65 µM, 5 µM y 16,71µM respectivamente, presentando inhibición por encima del 50% y las tetrahydroquinolínas estudiadas no presentaron inhibición en el rango evaluado frente a las bacterias Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli* O157:H7).

6. RECOMENDACIONES

Se aconseja trabajar la caracterización, ampliando la línea de los alcoholes.

Se considera conveniente caracterizar las muestras en agua por la buena respuesta que se obtuvo en la evaluación biológica.

Se recomienda realizar la evaluación antifúngica dado que se evaluó el comportamiento antibacterial.

BIBLIOGRAFÍA

- [11] ASGHARI, khiavi, JESETH, Vongsvivut, I. Perepichka, A. Mechler, B. R. Wood, D. Mcnaughton, and D. S. Bohle, "Interaction of quinoline antimalarial drugs with ferriprotoporphyrin IX , a solid state spectroscopy study," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 105, no. 12, pp. 1662–1669, 2011.
- [14] AL-THAQAFY Asiri, KHAN, Sherey, "Synthesis, Caraceterization and spectroscopic behaviour of novel 2-oxo-1,4-disubstituted-1,2,5,6-tetrahydrobenzo[h]quinoline-3- carbonitrile dyes," *Spectrochim. acta part a Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 12, no. 2, pp. 141–148, 2014.
- [20] ALSENOY Tresa, JAMPILEK Josef, MUSIOL Rober, PANICKER Yohannan, VARGHES Hema. (FT-IR , FT-Raman) investigations and quantum chemical calculations of 4-hydroxy-2-oxo-1 , 2-dihydroquinoline-7-carboxylic acid," *Spectrochim. acta part a Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 121, no. 6, pp. 404–414, 2014.7
- [21] AHAMAD, Javeed. "Spectroscopic investigation (FT-IR, FT-Raman), HOMO–LUMO, NBO analysis and molecular docking study of 4-chlorophenyl quinoline-2-carboxylate," *J. Spectrochim. acta Part a Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 145, no. 4, pp. 260–269, 2015.
- [25] ARÉVALO, Ana Graciela. "Evaluación de un método por Espectroscopía UV-Vis para la detección de Contaminantes Orgánicos en Agua," Universidad De San Carlos De Guatemala, 2006.
- [4] BOMPART, Daznia, Kouznetsov, Vladimir, Meléndez, Carlos Núñez-durán. "Anti-leishmanial evaluation of C2-aryl quinolines: Mechanistic insight on bioenergetics and sterol biosynthetic pathway of *Leishmania braziliensis*," *Bioorg. Med. Chem*, vol. 21, no. 3, pp. 4426–4431, 2013.
- [33] BALACHANDRAN, Vianco. and MURUGAN Mareg. "FT-IR , Raman and DFT study of 5-chloro-4-nitro-o-toluidine and NBO analysis with other halogen (Br , F) substitution," *J. Mol. Struct.*, vol. 1039, no. 4, pp. 197–206, 2013.
- [30] COATES, Jhon. "Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach," *Encycl. Anal. Chem.*, vol. 90, no. 2, pp. 10815–10837, 2000
- [34] CUÉLLAR, Fabio Augusto MESA, Carlos. "Caracterización de Nanocompuestos de Poliuretano-Urea/Montmorillonita por XRD y μ -Raman," *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia.*, vol. 12, no. Septiembre 2010, pp. 1–8, 2016
- [22] ELSBACH peter. "What is the real role of antimicrobial polypeptides that can

mediate several other inflammatory responses ?,” *J. Clin. Investig. J*, vol. 111, no. 11, pp. 1643–1645, 2003.

- [16] FERNÁNDEZ Jorge, TORIBIO, susana. “Staphylococcus aureus resistente meticilina: una emergencia sanitaria en medicina humana y una alerta para la ciencia veterinaria,” *Rev. Ciencias Vet.*, vol. 15, no. 1, pp. 83–96, 2013.
- [17] GUERRA, Dávila, JEANETH Jessica, VÁSQUEZ Maita. “Actividad Antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de ruta *Graveolens* (ruda), mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus Aureus* y *Escherichia Coli*,” Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, 2015.
- [32] HANNAH Robert W, Foil A. Miller. Course notes on the Interpretation of Infrared and, 1rd ed., vol. 30, no. 3. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2004.
- [1] KOUZNETSOV, Vladimir. “4-aminopiperidinas y espiro-4-piperidinas : Importancia Farmacológica y esfuerzos Sintéticos 4-aminopiperidines and spiro-4-piperidines : Pharmacological Importance and Synthetic Efforts,” *Sci. Revista de la Facultad de Cencias la Universidad Javeriana*, vol. 12, no. 2, pp. 23–45, 2007.
- [2] KOUZNETSOV, Vladimir. “Reacción de imino diels-alder de tres Componentes con Precursores de origen natural. Generación de nuevas tetrahydroquinolinas 2,4- diaril disustituidas,” *J. Sci. Tech.*, vol. 8, no. 2, pp. 91–95, 2007.
- [5] KOUZNETSOV, Vladimir. “Desarrollo de estrategias y tácticas en la Síntesis de los Alcaloides y sus Análogos,” *Sci. Technica*, vol. 12, no. 33, pp. 1–4, 2007.
- [7] KOUZNETSOV, Vladimir. “Antimaláricos: construcción de híbridos moleculares de la cloroquina,” *Sci. Revista de la Facultad de ciencias Universidad. Javeria.*, vol. 13, no. 2, pp. 306–320, 2009.
- [8] KOUZNETSOV, Vladimir. “Alcaloides quinolínicos : Importancia Biológica y esfuerzos sintéticos,” *Revista de la Facultad de ciencias* vol. 12, no. 2, pp. 5–18, 2005.
- [9] KUMRU, Sari, and KÜÇÜK V Kocademir M. “Experimental and Theoretical Studies on IR, Raman, and UV-Vis Spectra of Quinoline-7-carboxaldehyde,” *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomo- lecular Spectrosc.*, vol. 13, no. 4, pp. 1–15, 2014.

- [19] KUMRU, Sari, KÜÇÜK and Kocademir M. “Combined experimental and quantum chemical studies on spectroscopic (FT-IR , FT-Raman , UV e Vis , and NMR) and structural characteristics of quinoline-5-carboxaldehyde,” *J. Mol. Struct.*, vol. 1125, no. 2, pp. 302–309, 2016.
- [24] KUMAR, shrugesh, TONDER Van. “Synthesis of quinoline based heterocyclic compounds for blue lighting application,” *J. Sci. Opt. Mater.*, vol. 50, no. 2, pp. 275–281, 2015
- [26] LAKOWICZ, Joseth. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Third Edit., vol. 78. Singapur. Springer Science Business Media , LLC , 233 Spring Street , New York , NY 10013 , EE.UU, 2006.
- [3] MELENDEZ, Carlos “Diversificación Estructural del Anillo (tetrahidro)quinolínico por medio de Reacciones de cicloadición tipo imino diels-alder (povarov) de tres componentes. búsqueda de nuevos derivados Quinolínicos como posibles Agentes Antifúngicos y Antiparasitarios,” Universidad Industrial de Santander, 2010
- [18] MONTERO, María Milagro. “Pseudomonas aeruginosa multiresistente : aspectos epidemiológicos , clínicos y terapéuticos ,” Universidad Autónoma de Barcelona, 2012.
- [6] NIÑO, Monica Eliana. “Estudio cinético de la Reacción de Nitración de quinolinas 2-(4-piridil) Sustituidas,” universidad industrial de santander, 2008.
- [13] PINZARU, Cinta. “Identification and characterization of pharmaceuticals using Raman and surface-enhanced Raman scattering,” *J. RAMAN Spectrosc.*, vol. 35, no. 12, pp. 338–346, 2004
- [23] PRADA, Yuli. “Síntesis de nuevos péptidos Antimicrobianos Bioconjugados con nanopartículas de oro (aunps) con potencial antibiótico frente a Escherichia Coli o157:h7 y Staphylococcus Aureus resistente a metilicina (SARM),” Universidad Industrial de Santander, 2014.
- [28] ROMERO, Ale “Study of the solvatochromic effect on natural phenolic compounds.,” *Ars Pharm.*, vol. 43, pp. 57–71, 2002.
- [10] SANTO, Joseth. “Hydrogen bonding and dipolar interactions between quinolines and organic solvents . Nuclear magnetic resonance and ultraviolet – visible spectroscopic studies,” *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 57, no. 25, pp. 1541–1553, 2001.
- [29] SILVERSTEIN, Robert and WEBSTER Francis. *Spectrometric Identification*

Of Organic Compounds, Sixth Edit. Editorial reviews, 1963.

- [31] SINGH, Joseth. "FTIR and Raman spectra and fundamental frequencies of 5-halosubstituted uracils : 5-X-uracil (X = F , Cl , Br and I)," *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 87, no. 2, 111p, recuperado en 2012.
- [35] SCHEITHAUER Sheire, KOPP hefener, "Compliance with hand hygiene in patients with meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteria q," *J. Hosp. Infect.*, vol. 76, no. 4, pp. 320–323, 2010.
- [27] SOLORZANO, Yasser Gidi, "Síntesis y Estudio fotofísico de Derivados Vinílicos del Naftoxazol," Universidad de Chile, 2011.
- [15] THORAT, Bapu, MANDEWALE Mustapha C. "Synthesis, Characterization and Fluorescence Study of n^{\prime} -[(e)- (2- hydroxyquinolin-3-yl)methylidene]-1-benzofuran-2- carbohydrazide and its Metal Complexes," *Journal of heterocyclic Lett.*, vol. 5, no. 2, pp. 251–259, 2015.
- [12] WESEŁUCHA, Leksandra, "FT-Raman study of quinine aqueous solutions with varying pH : 2D correlation study," *J. Mol. Estructure*, vol. 826, no. 2, pp. 96–103, 2007.

ANEXOS

Anexo A. Parámetros para la toma de Espectros

Tabla 1. A. Pesos y concentraciones de las estructuras quinolónicas y sus diferentes disolventes.

Muestra	peso molecular (g/mol)	Masa (g)	Solvente (10ml)	Concentración [M]
300	249.27	2.62E-03	ACN	1.05E-03
		2.59E-03	Metanol	1.04E-03
407	280.8	5.66E-03	ACN	2.02E-03
		4.57E-03	Metanol	1.63E-03
420	275.31	2.82E-03	ACN	1.02E-03
		0.00405	Metanol	1.47E-03
676	238.72	6.00E-04	ACN	2.51E-04
		5.50E-04	Metanol	2.30E-04
679	249.27	2.62E-03	ACN	1.05E-03
		2.59E-03	Metanol	1.04E-03

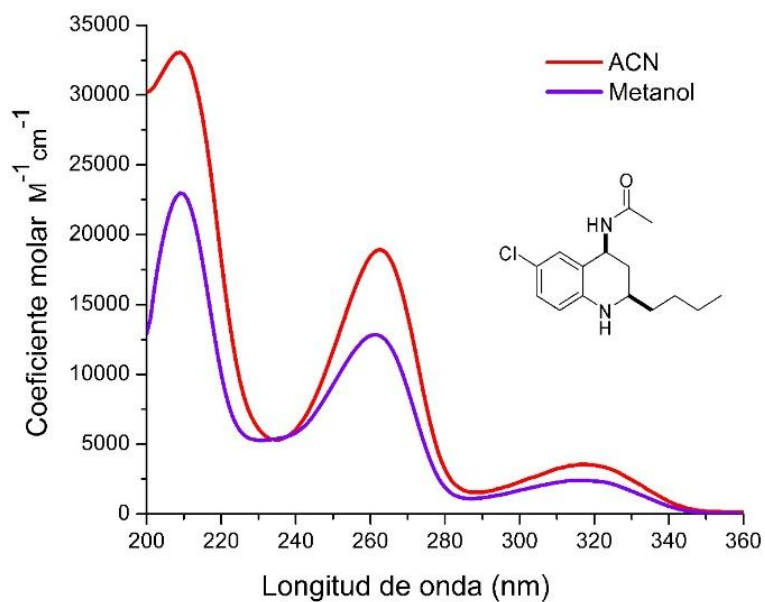
Tabla 2. A. Concentraciones para la toma de espectros en Fluorescencia.

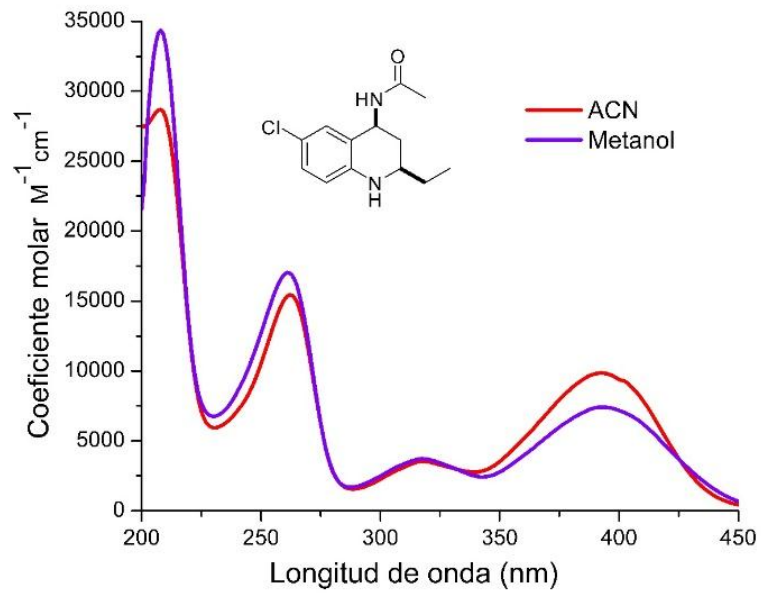
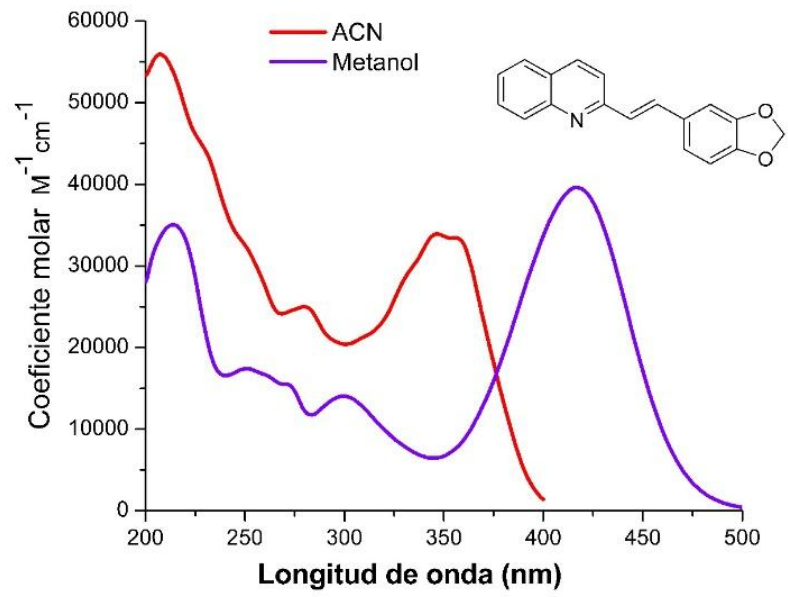
Muestra	Solvente	Longitud de Excitación (nm)	Concentración [M]
300	ACN	305	2.25E-06
	Metanol	301	2.71E-06
407	ACN	317	4.03E-06

	Metanol	317	3.25E-06
420	ACN	347	2.04E-06
	Metanol	416	2.94E-06
676	ACN	392	5.02E-07
	Metanol	393	4.60E-07
679	ACN	392	2.10E-06
	Metanol	392	2.00E-06

Anexo B. Espectros de la técnica FTIR, RAMAN, UV.Vis. y graficas de los resultados evaluación antibacterial.

Figura 1.B. Graficas de los coeficientes de extinción molar en función de la longitud de onda para los compuestos de estudio en los diferentes solventes con Acetonitrilo (ACN) y metanol, códigos 407, 420, 676 y 679 respectivamente.





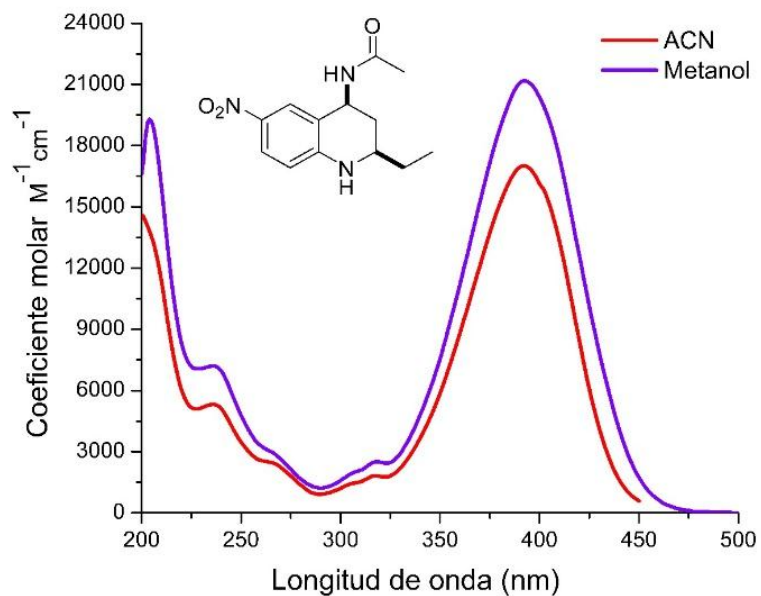
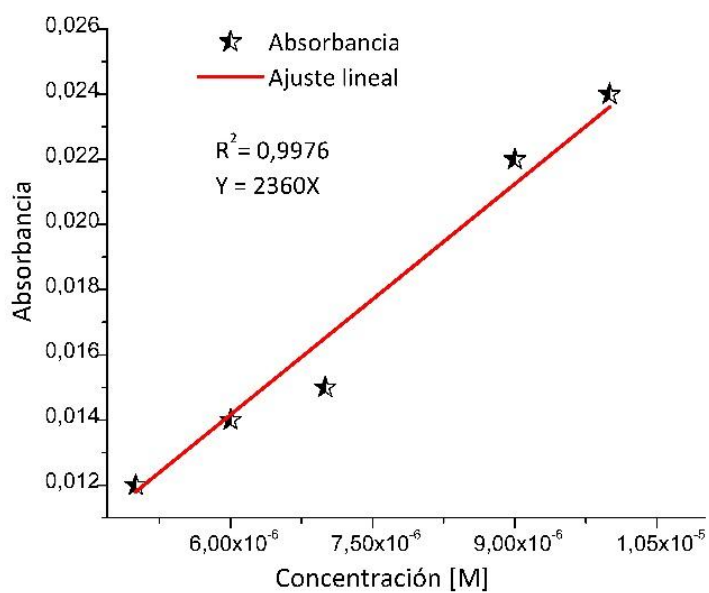


Figura 2.B. Curvas de calibración con Acetonitrilo (ACN) y metanol respectivamente.



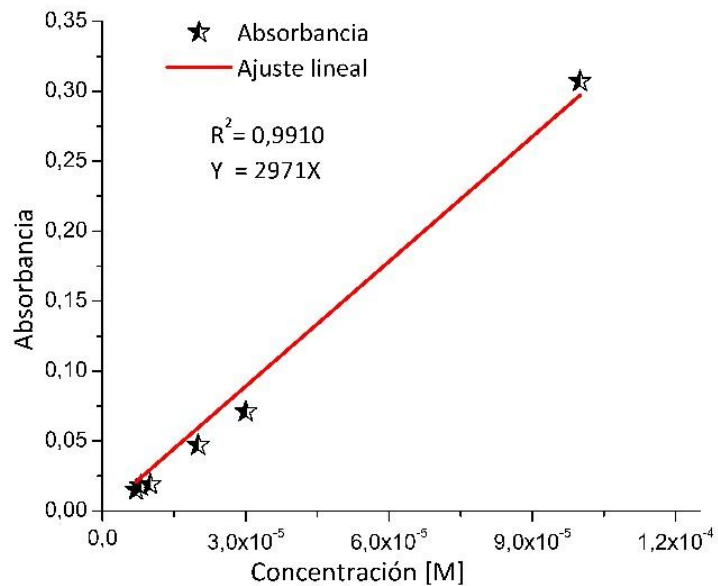


Figura 3.B. Espectro IR de la estructura código 300 en fase sólida.

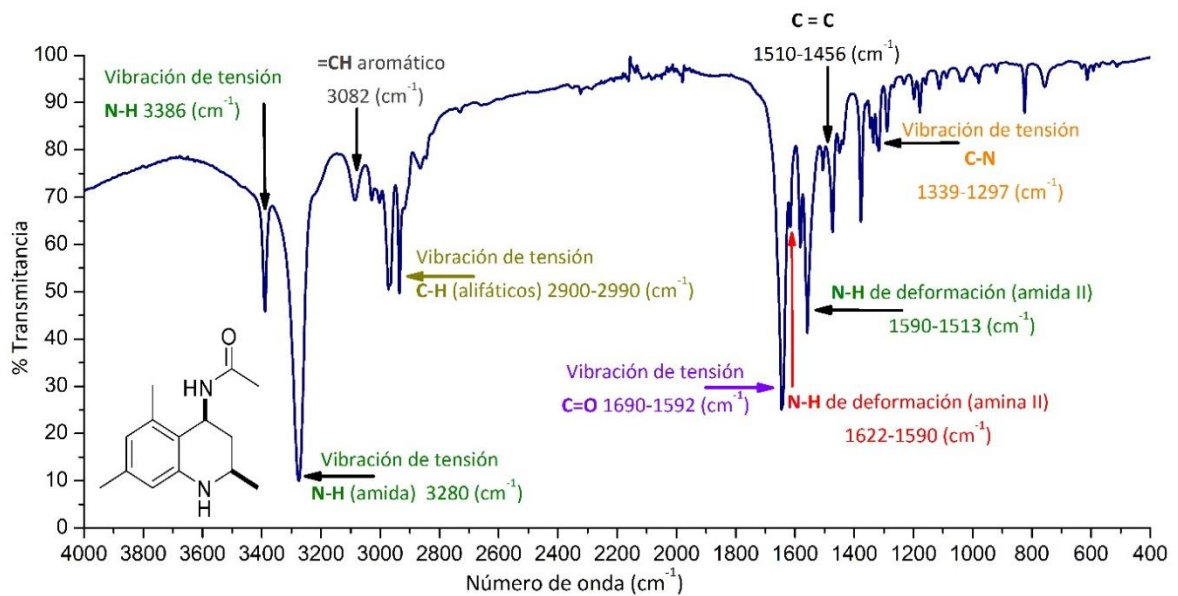


Figura 4. B. Espectro IR de la estructura código 676.

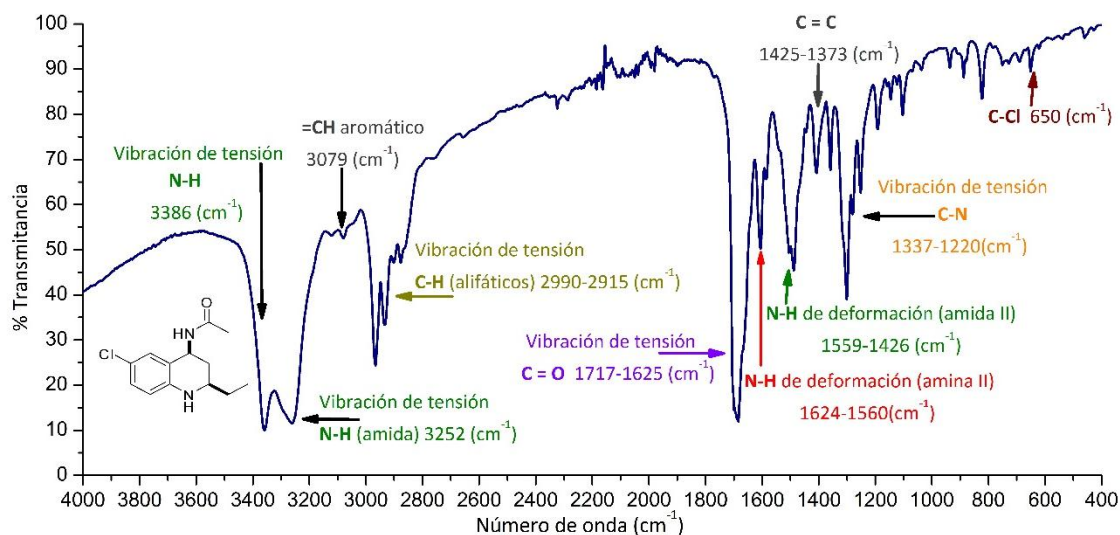


Figura 5.B. Espectro FT-IR de la estructura código 407. Se marcan las señales representativas de los grupos funcionales de la molécula.

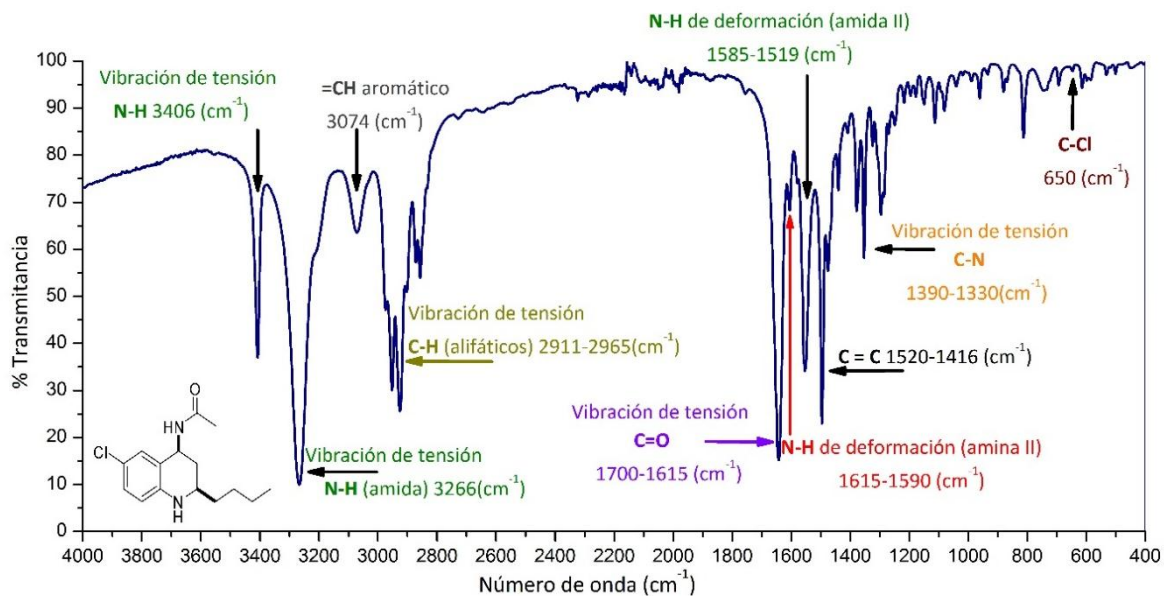


Figura 6.B. Espectro IR estructura código 420, Se marcan las señales representativas de los grupos funcionales de la molécula.

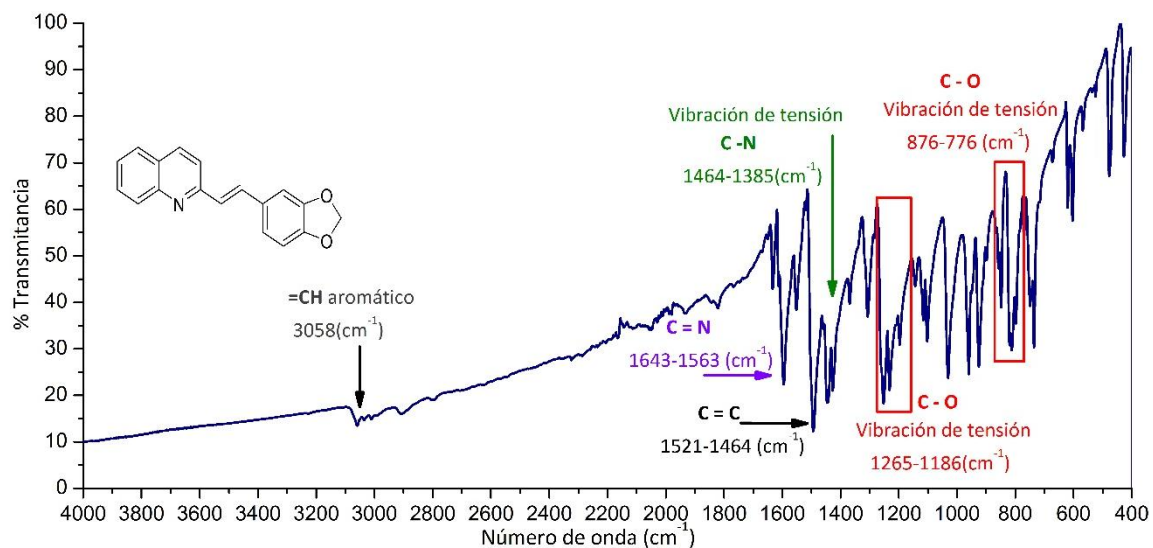


Figura 7.B. Espectro Raman de la estructura código 407

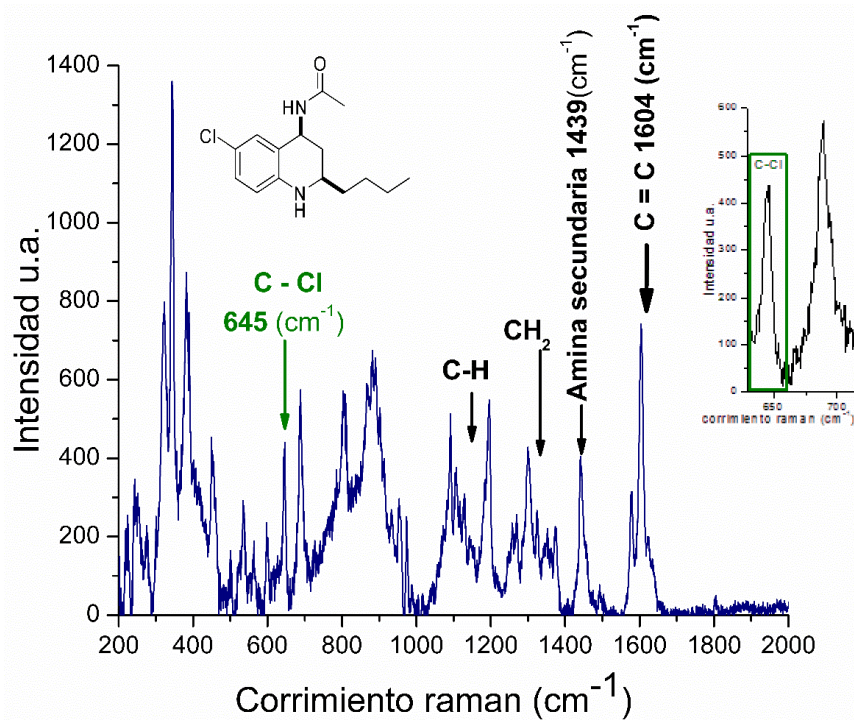


Figura 8.B. Espectro Raman estructura código 300

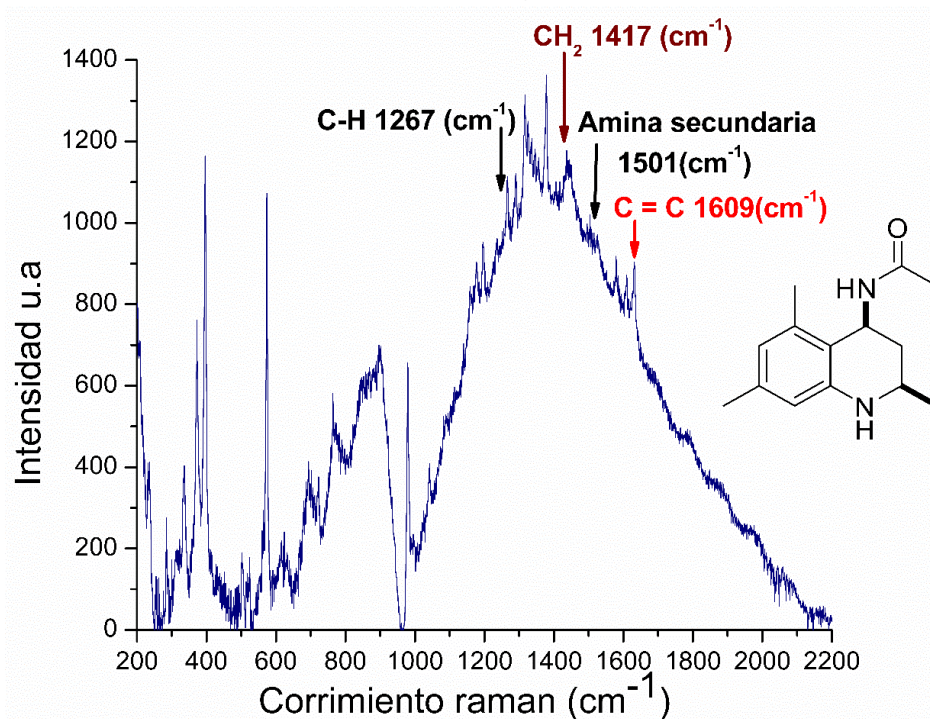


Figura 9.B. Espectro Raman de la estructura código 679.

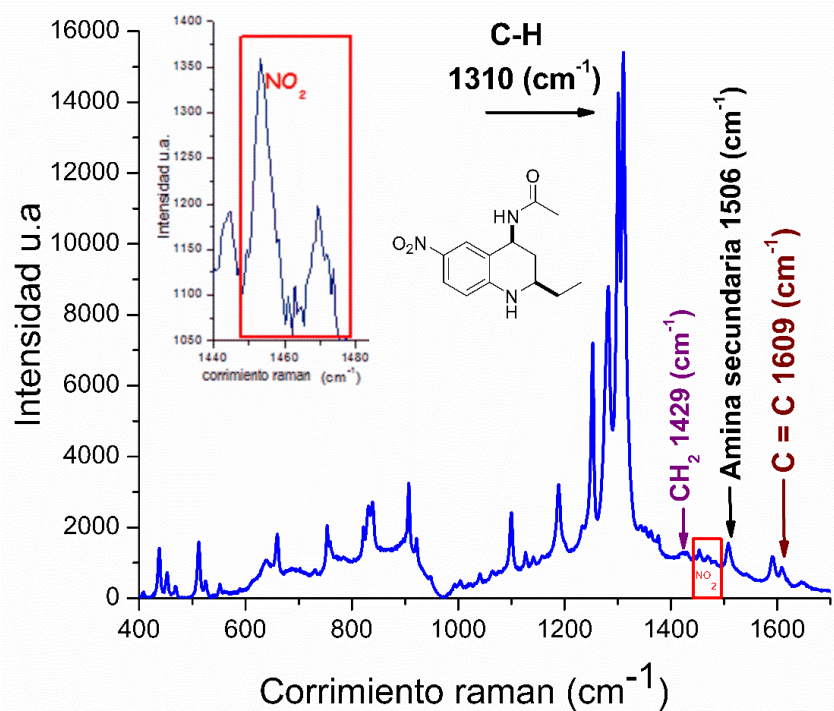


Figura 10.B. Espectro Raman de la estructura código 420

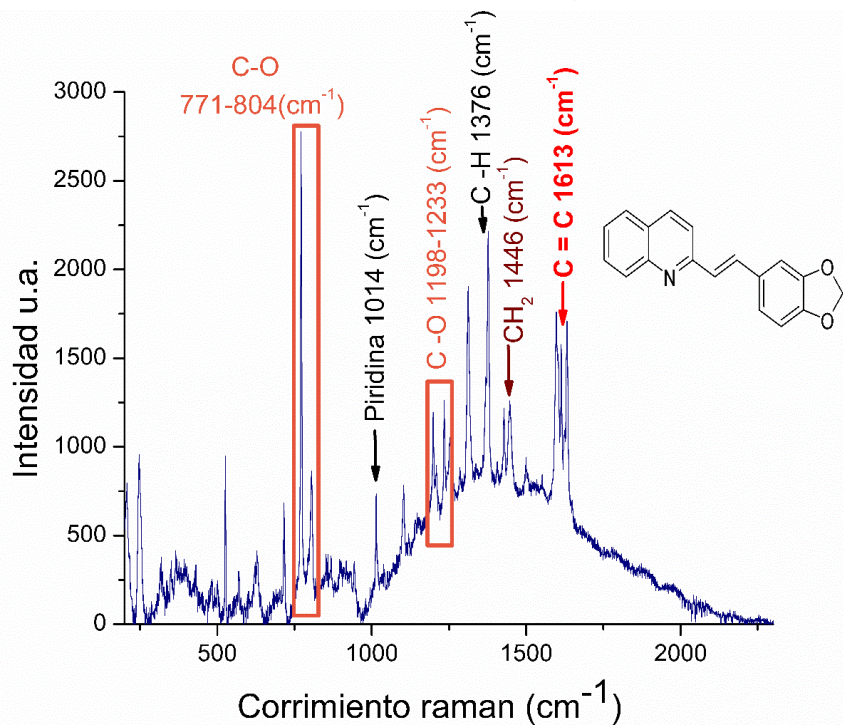


Figura 11.B. Crecimiento de las bacterias *P. aeruginosa*, *E. coli* O157:H7 en presencia de los derivados tetrahydroquinolínicos.

