



Síntesis de aciltioureas con piperazina-1-carboxilato de etilo en su estructura: test de actividad fungicida frente a *Aspergillus flavus*

Resumen

En este estudio se sintetizaron tres aciltioureas que contienen en su estructura a la piperazina-1-carboxilato de etilo: 4-(benzoilcarbamo-tiol)piperazina-1-carboxilato de etilo (L1), 4-((4-metilbenzoil)carbamo-tiol)-piperazina-1-carboxilato de etilo (L2) y 4-((3-nitrobenzoil)-carbamo-tiol) piperazina-1-carboxilato de etilo (L3). Se caracterizaron las propiedades físicas (punto de fusión y solubilidad) de cada ligando y se identificaron otras de sus propiedades por medio de técnicas instrumentales como análisis elemental, espectroscopia infrarroja (FT-IR), espectroscopia de resonancia magnética nuclear (¹H-RMN y ¹³C-RMN) y espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS N1s). Después se realizaron pruebas de la actividad fungicida de los tres ligandos contra *Aspergillus flavus* usando la técnica de Kirby-Bauer en tres porcentajes de aplicación (0,5; 1,0 y 1,5%). Los resultados demostraron que los ligandos inhiben el crecimiento del hongo, esto recalca el papel de la modificación del anillo aromático en la actividad biológica y abre la puerta al desarrollo de nuevos agentes antifúngicos.

Palabras clave: ligando; Kirby-Bauer; antifúngico.

Synthesis of acylthioureas with ethyl piperazine-1-carboxylate in their structure: Fungicidal activity test against *Aspergillus flavus*

Abstract

In this research, three acylthioureas containing ethyl piperazine-1-carboxylate in their structure were synthesized: ethyl 4-(benzoilcarbamo-thiol) piperazine-1-carboxylate (L1), ethyl 4-((4-methylbenzoyl)carbamo-thiol) piperazine-1-carboxylate (L2), and ethyl 4-((3-nitrobenzoyl)carbamo-thiol) piperazine-1-carboxylate (L3). The physical properties (melting point and solubility) of each ligand were characterized, and additional properties were identified using instrumental techniques such as elemental analysis, infrared spectroscopy (FT-IR), nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR and ¹³C-NMR), and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS N1s). Subsequently, the antifungal activity of the three ligands against *Aspergillus flavus* was tested using the Kirby-Bauer method at three application percentages (0.5, 1.0, and 1.5%). The results demonstrated that the ligands inhibit fungal growth, highlighting the role of aromatic ring modification in biological activity and paving the way for the development of new antifungal agents.

Keywords: Ligand; Kirby-Bauer; antifungal.

Síntese de aciltioureas com piperazina-1-carboxilato de etila em sua estrutura: teste de atividade fungicida contra *Aspergillus flavus*

Resumo

Neste estudo, três aciltioureas contendo piperazina-1-carboxilato de etila em sua estrutura foram sintetizadas: 4-(benzoilcarbamo-tiol)piperazina-1-carboxilato de etila (L1), 4-((4-metil-benzoil)carbamo-tiol)piperazina-1-carboxilato de etila (L2) e 4-((3-nitrobenzoil)-carbamo-tiol)piperazina-1-carboxilato de etila (L3). As propriedades físicas (ponto de fusão e solubilidade) foram caracterizadas, e outras propriedades foram identificadas por meio de técnicas instrumentais como análise elemental, espectroscopia no infravermelho (FT-IR), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (¹H-RMN e ¹³C-RMN) e espectroscopia de fotoelétrons de raios X (XPS N1s). Em seguida, a atividade fungicida dos três ligantes contra *Aspergillus flavus* foi testada pelo método de Kirby-Bauer em três porcentagens de aplicação (0,5; 1,0 e 1,5%). Os resultados demonstraram que os ligantes inibem o crescimento fúngico, destacando o papel da modificação do anel aromático na atividade biológica e abrindo caminho para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos.

Palavras-chave: ligante; Kirby-Bauer; antifúngico.

Introducción

A lo largo de la historia los compuestos químicos han sido la solución para curar enfermedades, combatir plagas en la agricultura, preservar alimentos y producir metales, entre otras aplicaciones [1]. En la actualidad, ante la necesidad urgente de incrementar la producción agrícola para satisfacer la demanda alimentaria de una población mundial en continuo crecimiento, la búsqueda de nuevas alternativas basadas en compuestos químicos ha cobrado gran relevancia. Este avance ha sido posible gracias al desarrollo de métodos más eficientes de síntesis y caracterización de nuevos ligandos, lo que ha permitido generar moléculas con propiedades mejoradas y, en consecuencia, ofrecer a la industria nuevos productos con aplicaciones agrícolas más efectivas [2, 3].

Los ligandos son moléculas neutras o iónicas que tienen la capacidad de coordinarse con un metal, están acompañados de átomos que determinan su comportamiento químico y su capacidad de formar complejos específicos [4]. La coexistencia de átomos de azufre (base blanda), oxígeno (base dura) y nitrógeno (base dura) dentro de una misma estructura confiere al ligando un carácter de reactividad moderada, lo que amplía su versatilidad en la formación de complejos estables y funcionales [5]. Es importante destacar que, aunque todas las moléculas son susceptibles de interactuar con metales, solo aquellas que cumplen las condiciones estructurales necesarias pueden actuar efectivamente como ligandos coordinantes [6].

Se ha demostrado que algunos ligandos derivados de la benzoiltiourea presentan propiedades antibacterianas y antimicóticas [6–8]. También se ha demostrado que los derivados 1, 3-disustituídos de tiourea son excelentes inhibidores de la α -glucosidasa, lo que sugiere un gran potencial para el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de la diabetes tipo II [9]. Algunos derivados han mostrado un porcentaje de inhibición del $97,03 \pm 0,37$ % de la enzima proteasa del VIH-1 [12], otros inhiben la ureasa [10–12].

Los compuestos derivados de la piperazina han mostrado avances significativos en diversas aplicaciones y se destacan como nematocidas y antioxidantes [13]. Dentro de este grupo, los derivados de la 2-metilpiperazina han cobrado especial interés debido a su potencial actividad quimioterapéutica, ya que sus estructuras fueron diseñadas a partir de prototipos previamente identificados como inhibidores de la proteasa NS3/4A del virus de la hepatitis C (VHC) [14]. Asimismo, la evaluación de sus propiedades antibacterianas y anticancerígenas *in vitro* reveló que varios de estos compuestos presentan una notable actividad anticancerígena frente a la línea celular de cáncer de colon humano Caco-2 [15, 16]. Estos antecedentes justifican su elección en el presente estudio, pues la evidencia de su capacidad bioactiva y su versatilidad estructural los convierte en candidatos apropiados para profundizar en sus propiedades y explorar nuevas aplicaciones dentro del ámbito de esta investigación.

El control de hongos fitopatógenos tiene gran relevancia económica, ya que el crecimiento fúngico sobre los cultivos disminuye tanto el rendimiento como la calidad de los productos durante y después de la cosecha. La recurrencia de pérdidas asociadas a estos organismos ha generado la necesidad de desarrollar fungicidas más eficientes y con nuevos mecanismos de acción [17]. En este contexto, las especies del género *Aspergillus* son ampliamente reportadas en diversos cultivos y sustratos, especialmente en climas cálidos, es importante detectarlas por su capacidad de biodeterioro, su producción de micotoxinas y su patogenicidad en animales y plantas.

El *Aspergillus flavus*, reconocida como una especie presente durante el almacenamiento, ha sido detectada también infectando maíz en campo y generando aflatoxinas B1 y B2 [18], compuestos altamente tóxicos cuya presencia representa un riesgo significativo para la salud y la cadena alimentaria. Dado que esta especie ha mostrado

una creciente resistencia a fungicidas convencionales, surge la necesidad de explorar nuevos compuestos con actividad antifúngica [19]. En este marco, los ligandos derivados de benzoiltiourea y piperazina –cuya versatilidad estructural y actividad biológica han sido documentadas– son candidatos para el desarrollo de alternativas innovadoras. Por lo tanto, en el presente trabajo se muestra la síntesis y caracterización de ligandos basados en estos esqueletos químicos; además, se evalúa su capacidad antifúngica frente a *Aspergillus flavus* con el objetivo de identificar moléculas con posible aplicación en el control de este patógeno.

Materiales y métodos

Síntesis de los ligandos L1, L2 y L3

El punto de fusión de los ligandos se determinó utilizando un equipo de medición de punto de fusión digital diseñado para la determinación precisa de temperaturas de fusión en compuestos orgánicos y organometálicos. El espectro infrarrojo de los ligandos, en los intervalos de 4000 a 400 cm^{-1} , fue obtenido mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), en un espectrómetro IR-TF Nicolet™ iS™10. Los espectros de la resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN), de la resonancia magnética nuclear de carbono-13 (^{13}C -RMN), de la correlación protón-protón (H,H-COSY), de la coherencia cuántica única heteronuclear (HSQC) y de la correlación heteronuclear de enlaces múltiples (HMBC) del ligando se obtuvieron con un espectrómetro VARIAM MERCURY 400 plus (400 MHz para ^1H y 100 MHz para ^{13}C en DMSO- d_6). El análisis elemental de los ligandos se realizó en un Analizador Elemental C, N, H, S Perkin Elmer 2400.

Para la síntesis de 4-(benzoilcarbamiol)piperazina-1-carboxilato de etilo (L1), se colocaron en un balón de 100 mL 1,37 g (0,014 mol) de tiocianato de potasio (KSCN); para 4-((4-metilbenzoil)carbamiol)-piperazina-1-carboxilato de etilo (L2) se colocaron 1,25 g (0,012 mol) y para 4-((3-nitrobenzoil)carbamiol)piperazina-1-carboxilato de etilo (L3), 0,52 g (0,005 mol), cada uno con 20 mL de acetonitrilo. Luego se adicionaron 1,65 mL (0,014 mol) de cloruro de benzoilo para L1; 1,70 mL (0,012 mol) de cloruro de 4-metilbenzoilo para L2; y 1,00 g (0,005 mol) de cloruro de 3-nitrobenzoilo para L3. Las mezclas se dejaron en reflujo por 2,5 h a 55 $^{\circ}\text{C}$.

Se dejaron enfriar y se agregó etil piperazina-1-carboxilato: 2,06 mL (0,014 mol) para L1, 1,60 mL (0,012 mol) para L2 y 0,77 mL (0,005 mol) para L3. Se dejaron en agitación por 2 h a temperatura ambiente; luego se vertió cada mezcla sobre un vaso con agua destilada y HCl (cc) en proporción 10:1. Se dejó en reposo, se filtró, se secó y se obtuvieron 3,200 g de L1, 3,709 g de L2 y 1,030 g de L3, los cuales fueron utilizados para la caracterización y las pruebas biológicas correspondientes.

Técnica de Kirby-Bauer

La técnica de Kirby-Bauer consiste en preparar tres soluciones de cada ligando a concentraciones de 0,5; 1,0 y 1,5%, utilizando etanol al 98% (v/v) como solvente. En cada solución se sumergieron

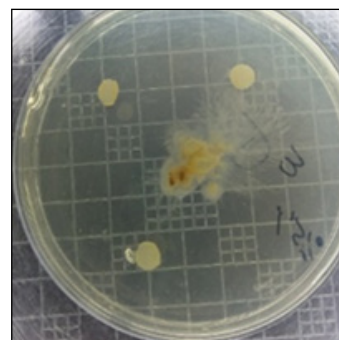


Figura 1. Distribución de los discos de sensibilidad en la caja de Petri inoculada con el hongo *Aspergillus flavus*.

tres discos de sensibilidad, que luego se colocaron en cajas Petri con agar papa dextrosa (PDA), tal como se muestra en la **figura 1**. Estas cajas fueron inoculadas con el hongo *Aspergillus flavus*, aislado a partir de granos de maíz. Después de 72 h se midieron los halos de inhibición.

Adicionalmente, se realizan dos controles para los nueve tratamientos: uno con discos sumergidos solo en etanol y otro con la caja Petri sembrada únicamente con el hongo, sin discos, para verificar la sensibilidad del hongo hacia los ligandos.

Resultados y discusión

Análisis elemental

En la **tabla 1** se muestran los resultados del análisis elemental de los ligandos L1, L2 y L3.

Tabla 1. Análisis elemental de los ligandos L1, L2 y L3.

Compuesto	Condición	Composición				
		C (%)	H (%)	N (%)	O (%)	S (%)
L1 $C_{15}H_{19}N_3O_3S$	Calculado	56,06	5,96	13,07	14,93	9,98
	Obtenido	56,07	6,40	12,30	-----	9,04
L2 $C_{16}H_{21}N_3O_3S$	Calculado	57,29	6,31	12,53	14,31	9,56
	Obtenido	56,43	6,30	12,99	15,00	9,28
L3 $C_{19}H_{18}N_4O_5S$	Calculado	49,17	4,95	15,29	21,83	8,75
	Obtenido	48,41	5,35	14,55	24,10	7,59

La síntesis de L1 tuvo un rendimiento del 70% y se obtuvo una sustancia blanca, el punto de fusión estuvo entre 146 y 148 °C, lo cual indica su pureza. El nuevo ligando es soluble en dimetilformamida (DMF), cloroformo, butanol, dimetilsulfóxido (DMSO) y acetona; además, es ligeramente soluble en metanol y etanol e insoluble en agua. La recrystalización se realizó en etanol y no se obtuvieron cristales. En el análisis elemental se observan posibles impurezas, probablemente por la presencia de solvente que quedó atrapado en el compuesto L1.

La síntesis de L2 tuvo un rendimiento del 85% y se obtuvo una sustancia blanca con punto de fusión entre 143 y 145 °C, lo cual indica su pureza. El nuevo ligando es soluble DMF, cloroformo, butanol, DMSO y acetona; además, es ligeramente soluble en metanol y etanol e insoluble en agua. La recrystalización se realizó en etanol y en el análisis elemental se observa posibles impurezas, probablemente por presencia de solvente que quedó atrapado en el compuesto L2.

De la síntesis de L3 se obtuvo un compuesto sólido amarillo pálido con un rendimiento del 55%, con el punto de fusión entre 151 y 153 °C, lo cual indica su pureza. El ligando también es soluble en DMF, cloroformo, butanol, DMSO y acetona, y es ligeramente soluble en metanol y etanol e insoluble en agua. La recrystalización también se realizó en etanol y el análisis elemental indica posibles impurezas, probablemente por presencia de solvente que quedó atrapado en el compuesto L3.

Espectroscopía infrarroja (FT-IR)

Los resultados obtenidos a partir de la espectroscopia infrarroja (FT-IR) se reportan en la **tabla 2**. En la FT-IR de L1, las señales de los grupos NH, C=O, (C=O)-NH, (C=S)-NR, C=S y CH aromático son consistentes con los reportados en otras investigaciones para tioureas similares [6]. El FT-IR de L2 también es consistente con los reportados para los compuestos de acil/aryl-tioureas [6]. Además, en L2 se distinguen claramente las asignaciones de los grupos NH, C=O, (C=O)-NH entre 1432 y 1330 cm^{-1} , entre otras señales. En la **figura 2** se puede observar los otros grupos asignados al ligando.

Tabla 2. Espectros obtenidos en la espectroscopía infrarroja (FT-IR) en los ligandos L1, L2 y L3.

Ligando	Grupo	Espectro FT-IR (cm^{-1})
L1	NH	3281
	CH aromático	2079
	C=O	1679 y 1593
	(C=O)-NH	1524 – 1310
	(C=S)-NR	1218 – 1138
	C=S	1079 – 985
L2	NH	3260
	CH aromático	3034 – 2923
	C=O	1667 y 1613
	(C=O)-NH	1519 – 1310
	(C=S)-NR	1212 – 1182
	C=S	1078 – 977
L3	NH	3241
	CH aromático	3057 – 2872
	C=O	1676 y 1605
	(C=O)-NH	1526 – 1347
	(C=S)-NR	1276 – 1181
	C=S	1114 – 970

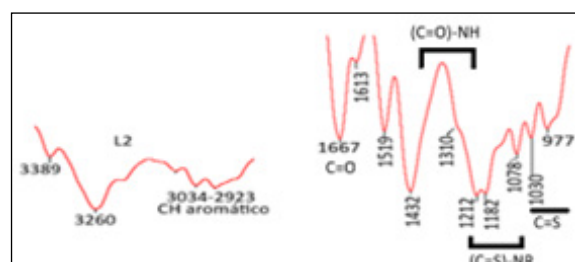


Figura 2. Espectro infrarrojo FT-IR del ligando L2 en cm^{-1} .

El espectro FT-IR del ligando L3 confirma la presencia de grupos NH, C=O y (C=O)-NH, entre otros grupos importantes que son consistentes con los reportados para compuestos similares [6, 20–23].

Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS N1s)

Tabla 3. Señales de la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS N1s) para los ligandos L1, L2 y L3.

Ligando	Grupo	Espectro XPS N1s (eV)
L1	2 > N	397,9
	NH	398,1
L2	2 > N	397,8
	NH	398,1
L3	2 > N	398,0
	NH	399,0
	NO ₂	403,0

De acuerdo con los resultados de la **tabla 3**, el espectro XPS N1s de L1 presenta dos señales muy próximas en energía, una identificada a dos nitrógenos a 397,9 eV y otra señal a 398,1 eV, esto está en concordancia con lo esperado para el compuesto [5]. El espectro XPS N1s de L2 presenta dos señales muy similares a L1, una señal a 397,8 eV y la segunda a 398,1 eV. El espectro XPS N1s de L3 presenta tres señales: una a 398 eV, la segunda a 399 eV y la tercera, más desprotegida, se observa a 403 eV [5].

Resonancia magnética nuclear (RMN)

Se asignaron los desplazamientos químicos en el espectro ^1H -RMN y ^{13}C -RMN para los ligandos L1, L2 y L3. Los resultados obtenidos en la RMN fueron los siguientes:

Espectro de resonancia magnética nuclear de L1

^1H -RMN (400MHz, DMSO- d_6): $\delta = 10,75$ (s, 1H del NH); 7,9 (dd, 2H, H-orto); 7,5 (t, 1H, H-meta); 7,6 (t, 2H, H-para) 4,07(q, 2H, H₂); 4,14(t, 2H, H₄); 3,47(t, 2H, H₃); 1,19(t, 3H, H₁).

^{13}C -RMN (400MHz, DMSO- d_6): $\delta = 180,67$ (C=S), 164,43(C(O)NH), 155,04(C(O)O); 133,05(C*-C=O); 132,99(C-orto), 128,89(C-para), 128,86(C-meta), 61,49(O-CH₂), 50,16(2*C-pip), 43,24(2*C-pip), 40,51; 39,51(2*C del DMSO), 15,03(CH₃).

Espectro de resonancia magnética nuclear de L2

^1H -RMN (400MHz, DMSO- d_6): $\delta = 10,75$ (s,1H,NH); 7,85(dd, 2H,H-orto); 7,31(dd, 1H, H-meta); 4,07(c, 2H, H₂); 4,13(t, 6H, H₄); 3,55 (3H, H₃) 1,19(t, 3H, H₁).

^{13}C -RMN (400MHz, DMSO- d_6): $\delta = 180,21$ (C=S); 163,69(C(O)NH); 154,45((C=O)-OC₂H₅); 142,63(C₈); 129,65(C-orto), 128,80(C-para), 128,37(C-meta); 60,90(CH₂); 49,56(2*C-pip₄); 42,59(2*C-pip₃); 20,96(Ph-CH₃); 14,44(-CH₃).

Espectro de resonancia magnética nuclear de L3

^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11,27$ (s, 1H, N-H); 8,77(singlete, 2H, H₇); 8,46(dobleto, 1H, H₆); 8,36(dobleto, 1H, H₈); 7,82(tripleto, 1H, H₅); 4,09(tripleto, 4H, Pip-H₄); 4,05(cuadrupleto, 2H, H₂); 3,49(tripleto, 4H, Pip-H₃); 1,2(tripleto, 3H, H₁).

^{13}C -RMN (400MHz, DMSO- d_6): 179,47(C=S C₁₄); 161,99(Ph-C=O, C₁₃); 134,43(C(O)-O, C₁₂); 147,63(-C-NO₂, C₁₁); 134,68 (C₁₀); 134,10 (C₇); 130,08 (C₈); 126,82 (C₆); 123,19 (C₅); 60,94 (C₂); 60,15(C₄); 49,67(C₃); 39,32(DMSO); 14,45(C₁).

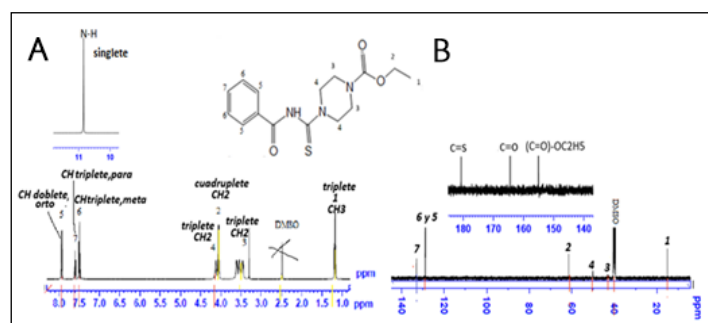


Figura 3. Espectro A: ^1H -RMN y B: ^{13}C -RMN de L1 en dimetilsulfóxido (DMSO) deuterado.

En la figura 3A se observa el espectro COSY (espectroscopía correlacionada) de ^1H -RMN, en DMSO deuterado, del ligando L1. En el espectro se observa el acoplamiento del CH₃ tripleto (1,19 ppm) y CH₂ cuadrupleto (4,07 ppm) del grupo etóxido, que aparece superpuesto al CH₂ (4,14 ppm) de la piperazina más próxima al C=S, el cual se ha acoplado directamente al otro CH₂ de la piperazina (3,47 ppm). En la región aromática del grupo benzoilo, el ligando presenta acoplamiento del protón en posición orto a 7,9 ppm (dobleto), a 7,5 ppm (tripleto, meta) y el protón en posición para a 7,6 ppm (tripleto).

En la figura 3B se observa el espectro de ^{13}C -RMN en DMSO. Para el C=S hubo un desplazamiento químico de 180,67 ppm debido a un entorno desprotegido, este valor es más alto con respecto al carbono del grupo C=O del benzoilo, que aparece a 164,43 ppm. El carbono del grupo éster (C=O)-O- se asigna al desplazamiento de 155,04 ppm, que está menos desprotegido que el otro C=O. Los carbonos del grupo bencénico son observados en el rango de 128 pm a 133 ppm. El carbono del grupo CH₂- unido al oxígeno del grupo éster se observa a 61,49 ppm. Los CH₂- de la piperazina

desprotegida por la cercanía del grupo benzoiltiourea se observan a 50,16 ppm, mientras que a los CH₂- de la piperazina más próxima al grupo éster se les asigna el desplazamiento químico de 43,24 ppm.

En la figura 4A se observa el espectro de ^1H -RMN del ligando L2, en el que se observa la señal singlete del protón del N-H a 10,75 ppm, muy desprotegida, lo cual es consistente con las señales observadas en otros compuestos similares reportados [27]. El grupo bencénico disustituido en las posiciones presenta dos señales dobletes acopladas que corresponden al desplazamiento del protón más cercano al grupo C=O, a 7,85 ppm y 7,31 ppm se asigna al otro protón C-H (el grupo CH₃ unido al benceno lo protege). El protón del -CH₃ (singlete) unido al benceno es observado a 2,38 ppm, mientras que el otro grupo CH₃ (tripleto, a 1,19 ppm) está acoplado con el CH₂ (cuadrupleto, a 4,07 ppm) en el grupo etóxido (O-CH₂-CH₃). En el anillo de la piperazina se ha asignado un desplazamiento a 4,13 ppm al CH₂ tripleto, que está más próximo al grupo N-C=S, mientras el otro CH₂ tripleto es observado a 3,55 ppm [20-23].

En la figura 4B se observa el espectro ^{13}C -RMN en DMSO de L2. Para el carbono del grupo C=S se identificó un desplazamiento químico de 180,21 ppm, que es el más desprotegido, respecto al carbono del grupo C=O del benzoilo, que es observado a 163,69 ppm. El desplazamiento químico del carbono del grupo éster (C=O)-O se identificó a 154,45 ppm. Los carbonos del grupo del benceno aparecen en el rango de 128 a 143 ppm. El carbono del -CH₂- unido al oxígeno del grupo éster le corresponde 60,90 ppm, a la señal del carbono del grupo CH₂- de la piperazina más cercana al grupo aciltiourea se le asignó el desplazamiento químico de 49,56 ppm, mientras que el otro grupo -CH₂ de la piperazina más próximo al grupo éster se observó a 42,59 ppm. Al grupo CH₃ más protegido se le asignó el desplazamiento químico de 14,44 ppm [20-23].

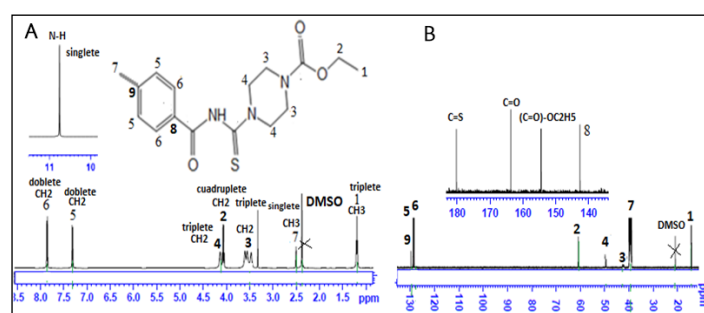


Figura 4. Espectro A: ^1H -RMN y B: ^{13}C -RMN de L2 en dimetilsulfóxido (DMSO) deuterado.

En la figura 5A se observa el espectro ^1H -RMN de L3, podemos ver la señal singlete del protón del N-H a 11,27 ppm, lo que nos indica que el hidrógeno está más desprotegido con respecto a L1 y L2, debido a la presencia del grupo NO₂ del benceno. En el benceno se observa el acoplamiento del protón en posición orto C-H (dobleto, 8,46 ppm) y meta C-H (tripleto, 7,82 ppm) y el protón en la posición para se observó como un dobleto a 8,36 ppm. Asimismo, al protón singlete en posición orto junto al grupo NO₂ se le asignó un desplazamiento de 8,77 ppm. La señal del grupo CH₃ (tripleto, 1,2 ppm) está acoplada con el grupo CH₂ (cuadrupleto, 4,05 ppm). En el grupo de la piperazina próxima al C=S se observó al grupo CH₂ como un tripleto a 4,09 ppm, que está acoplado al otro CH₂ (tripleto, 3,49 ppm) de la piperazina [6].

En la figura 5B se observa el espectro de ^{13}C -RMN en DMSO de L3. Al desplazamiento químico C=S se le asignó 179,47 ppm, más desprotegido con respecto al carbono del grupo C=O del benzoilo, que se observó a 161,99 ppm. El C=O del grupo éster se observó a 134,43 ppm, este presenta un entorno más protegido. Al carbono del benceno unido al grupo NO₂ se le asignó un desplazamiento químico de 147,63 ppm, debido a la desprotección que ejerce el grupo NO₂. Al carbono C₇ en posición orto, entre el grupo NO₂ y C=O (benzoilo)

se le asignó el desplazamiento químico de 134,10 ppm. El carbono en posición C₈ cercano al NO₂ presenta un desplazamiento químico de 130,08 ppm. El carbono en el CH₂- unido al oxígeno del grupo éster aparece a 60,94 ppm y en la piperazina el grupo CH₂- cercano al grupo benzoilo se observó a 60,15 ppm. Por su parte, el otro grupo CH₂ más próximo al grupo éster se le asignó el desplazamiento de 39,32 ppm. El CH₃ del grupo etilo se observó a 14,45 ppm [6]. Estos resultados son consistentes con lo reportado en otras investigaciones para compuestos similares al ligando L3 [21–25]. Aquí destacamos la capacidad desprotectora del grupo NO₂ que influye a los grupos adyacentes a su entorno [21, 24, 25].

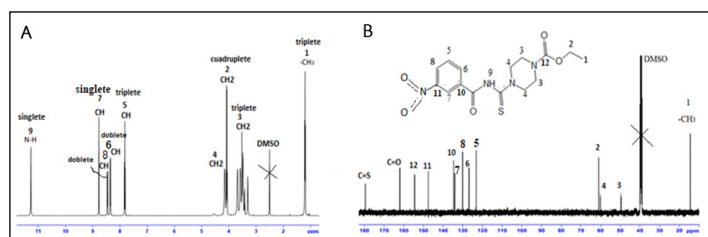


Figura 5. Espectro A: ¹H-RMN y B: ¹³C-RMN de L3 en dimetilsulfóxido (DMSO) deuterado.

Enfrentamiento antimicótico contra el hongo *Aspergillus flavus*

En la tabla 4 se muestran los promedios de las medidas de los halos de inhibición de las muestras en diferentes grados de concentración en contacto con el hongo *Aspergillus flavus*. La interpretación de los diámetros de inhibición, de acuerdo con la técnica Kirby-Bauer, se clasifica de la siguiente manera: un diámetro menor a 14 mm indica que el hongo es resistente al compuesto, entre 15 y 19 mm se considera una respuesta intermedia, y un diámetro mayor a 20 mm sugiere que el microorganismo es sensible al tratamiento utilizado.

Tabla 4. Promedio de las medidas de halos de inhibición.

Muestra	Concentración (%)	Diámetro de inhibición (mm)
L1	0,5	25
L1	1,0	29
L1	1,5	30
L2	0,5	40
L2	1,0	29
L2	1,5	40
L3	0,5	24
L3	1,0	38
L3	1,5	36
T	—	7

T: testigo

En los resultados se observó que todos los ligandos presentan sensibilidad aun a la concentración de 0,5% (L1, L2 y L3 presentan halos de inhibición superior a 20 mm). A la concentración de 1,5% se obtuvieron resultados muy buenos con inhibición de 30 mm de diámetro para L1, 40 mm para L2 y 36 mm de diámetro de inhibición para L3. Esto nos permitió determinar que el hongo *Aspergillus flavus* es sensible frente a los tres ligandos L1, L2 y L3.

Las medidas de los halos en este estudio mostraron que todos los tratamientos superaron los 20 mm de diámetro, lo que indica una alta sensibilidad del hongo a los compuestos evaluados. Este resultado se corrobora al observar que en la caja Petri sin discos el hongo creció sin impedimentos en toda el área disponible, como se muestra en la figura 6.

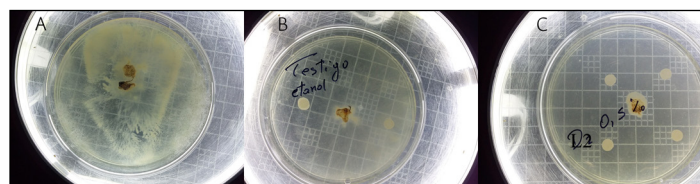


Figura 6. Cajas Petri utilizadas para la evaluación del diámetro del halo de inhibición (mm) con A: testigo sin disco, B: testigo con disco tratado con etanol y C: tratamiento L2 (0,5%).

Conclusiones

Se sintetizaron tres nuevos ligandos por reacción del isocianato de alquilo con etil piperazina-1-carboxilato en acetonitrilo como disolvente. El proceso de síntesis no requirió condiciones especiales de trabajo, es muy económica y su resultado tiene alta pureza y buen rendimiento, por lo que se puede replicar con facilidad. Todas las pruebas contra el hongo *Aspergillus flavus* de los ligandos L1, L2 y L3 a diferentes concentraciones fueron exitosas. Los resultados plantean un escenario prometedor para seguir investigando con los tres ligandos, para mejorar su rendimiento donde se requiera y ampliar el estudio de sus aplicaciones en sistemas biológicos: antibacterianos, antivirales, fungicidas, tuberculostáticos, entre otros. También valdría la pena ampliar la investigación al nivel de citotoxicidad de los ligandos y su impacto frente al ambiente.

Referencias

- [1] T. Gómez Franco, E. Matarín Rodríguez-Peral y F. García, "La sostenibilidad del sistema de salud y el mercado farmacéutico: Una interacción permanente entre el costo de los medicamentos, el sistema de patentes y la atención a las enfermedades", *Salud Colect.*, vol. 16, e2897, 2020. DOI: <https://doi.org/10.18294/sc.2020.2897>.
- [2] A. Vilches y D. Gil Pérez, "Ciencia de la sostenibilidad: Un nuevo campo de conocimientos al que la química y la educación química están contribuyendo", *Educ. quim.*, vol. 24, nro. 2, pp. 199–206, 2013. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0187-893X\(13\)72463-7](https://doi.org/10.1016/S0187-893X(13)72463-7).
- [3] Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) y Food and Agriculture Organization (FAO), *OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2017-2026*, OECD, 2017.
- [4] J. Angulo-Cornejo y L. Bayer, *Química de Coordinación*, Lima, Universidad Nacional de Ingeniería, 2010.
- [5] M. Lino-Pacheco, "Síntesis y caracterización de ligandos polidentados n, o y s dadores y sus complejos metálicos por modificación estructural en las periferias de las aciltioureas", tesis doctoral, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 2022. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/18045>.
- [6] C. H. Cienfuegos Rodriguez, "Síntesis y caracterización de los ligandos N-benzoil-Ometil-N'-(o-nitrofenil)-isourea y N-benzoil-O-metil-N'-(αnaftil)-isourea por reacción de aciltioureas monosustituidas con acetato de plata", Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2024.
- [7] M. R. Mannam, S. R. Devineni, C. M. Pavuluri, N. R. Chamarthi y R. S. P. Kottapalli, "Urea and thiourea derivatives of 3-(trifluoromethyl)-5,6,7,8-tetrahydro-[1, 2, 4]triazolo[4,3-a]pyrazine: Synthesis, characterization, antimicrobial activity and docking studies", *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, vol. 194, nro. 9, pp. 922–932, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/10426507.2019.1577845>.
- [8] S. Madasani, S. R. Devineni, N. R. Chamarthi, C. M. Pavuluri, A. Vejendla y V. Chintha, "Biphenyl backbone-based (bis)urea and (bis)thiourea derivatives as antimicrobial and antioxidant agents and evaluation of docking studies and ADME properties", *Polycycl. Aromat. Compd.*, vol. 43, nro. 7, pp. 5915–5939, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/10406638.2022.2110905>.
- [9] M. A. Shakil et al., "Synthesis and characterization of some novel benzoyl thioureas as potent α-glucosidase inhibitors: In vitro

- and in silico”, *J. Mol. Struct.*, vol. 1308, 138133, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138133>.
- [10] M. C. Tavares *et al.*, “The influence of N-alkyl chains in benzoyl-thiourea derivatives on urease inhibition: Soil studies and biophysical and theoretical investigations on the mechanism of interaction”, *Biophys. Chem.*, vol. 299, 07042, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2023.107042>.
- [11] F. Odame *et al.*, “Synthesis, characterization and biological activity of some dithiourea derivatives”, *Acta Chim. Slov.*, vol. 67, nro. 3, pp. 764–777, 2020. DOI: <https://doi.org/10.17344/acsi.2019.5689>.
- [12] C. Limban *et al.*, “New substituted benzoylthiourea derivatives: From design to antimicrobial applications”, *Molecules*, vol. 25, núm. 7, p. 1478, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25071478>.
- [13] H. M. Abosadiya, “Synthesis, crystal structure and antioxidant evaluation of N-(4-formylpiperazine-1-carbonothioyl)benzamide”, *Eur. J. Chem.*, vol. 11, nro. 2, pp. 156–159, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5155/eurjchem.11.2.156-159.1981>.
- [14] M. C. Avís Cañamero, “Diseño, síntesis y caracterización estructural de sulfonilureas derivadas de piperazina potencialmente activas frente al vhc”, trabajo final de grado, Universidad de Sevilla, 2017. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11441/65141>.
- K. K. Valluri, T. R. Allaka, I. V. K. Viswanath y N. Pvvv, “Synthesis and antibacterial / anticancer activities of compounds containing pyrazole ring linked to piperazines”, *Curr. Bioact. Compd.*, vol. 16, nro. 4, pp. 419–431, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1573407215666190111124513>.
- [16] L. C. S. Pinheiro *et al.*, “Synthesis of benzoylthiourea derivatives and analysis of their antibacterial performance against planktonic *Staphylococcus aureus* and its biofilms”, *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 71, nro. 6, pp. 645–651, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/lam.13359>.
- [17] G. P. Juárez-Becerra, M. E. Sosa-Morales y A. López-Malo, “Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control”, *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, vol. 4, nro. 2, pp. 14–23, 2010. Disponible en: <https://www.udlap.mx/TSIA/volumen4-2/>.
- [18] J. M. S. Castillo, *Micotoxinas en alimentos*, Editorial Díaz de Santos, 2007.
- [19] T. L. L. Ferraz *et al.*, “Sinusopatía letal destructiva por *Aspergillus flavus* resistente a anfotericina B: reporte de un caso”, *Rev. Iberoam. Micol.*, vol. 39, nro. 1, pp. 21–24, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.riam.2022.01.001>.
- [20] M. Á. Aztatzi, “Síntesis vía microondas de amidas y ésteres insaturados con propiedades luminiscentes para su aplicación en diodos orgánicos emisores de luz”, tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León; 2018. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/18633>.
- [21] K. Vaughan y E. MacLeod, “Synthesis and Characterization of New Compounds in the Series 1-alkyl-4-[2-aryl-1-diazenyl]piperazines”, *Open org. chem. j.*, vol. 9, nro. 1, pp. 1–8, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1874095201509010001>.
- [22] A. J. Demuner, M. Longue Filho, L. C. de A. Barbosa y M. A. dos Santos, “Síntese e avaliação da atividade nematocida de derivados da piperazina”, *Eclét. Quím. J.*, vol. 26, pp. 11–24, 2001. DOI: <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v26.1.2001.p11-24>.
- [23] A. J. Demuner, M. Longue Filho, L. C. de A. Barbosa y M. A. dos Santos, “Síntese e avaliação da atividade nematocida de derivados da piperazina”, *Eclét. Quím. J.*, vol. 26, pp. 11–24, 2001. DOI: <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v26.1.2001.p11-24>.
- [24] L. G. Wade, P. A. E. Brito, H. G. Ortega y J. W. Simek, *Química orgánica*, 9.ª ed., Ciudad de México, Pearson Educación, 2017.
- [25] K. M. Rathod y N. S. Thakre, “Synthesis and antimicrobial activity of azo compounds containing m-cresol moiety”, *Chem. Sci. Trans.*, vol. 2, nro. 1, pp. 25–28, 2012. DOI: <https://doi.org/10.7598/CST2013.254>.
- [26] J. F. Moulder, W. F. SticMe, P. E. Sobol y K. D. Bornben, *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy*, Minnesota, Physical Electronics Inc., 1995.
- [27] U. Schröder, R. Richter, L. Beyer, J. Angulo-Cornejo, M. Lino-Pacheco y A. Guillen, “Metal Complexes of Naphthyl-substituted Thiourea Derivatives”, *ZAAC*, vol. 629, nro. 6, pp. 1051–1058. DOI: <https://doi.org/10.1002/zaac.200300019>.

Citación del artículo:

D. M. Alcívar Rodríguez, M. N. Lino-Pacheco, J. R. Angulo-Cornejo y J. M. Navarrete Álava, “Síntesis de aciltioureas con piperazina-1-carboxilato de etilo en su estructura: test de actividad fungicida frente a *Aspergillus flavus*”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 54, nro. 1, pp. 55–60, 2025. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v54n1.114831>.