



*UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO*

---

*FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN*

Síntesis y evaluación antifúngica  
de compuestos derivados del  
piridinildiindolilmetano

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ROJAS JARAMILLO JOSÉ ABRAHAM

ASESORES: Dr. JOSÉ GUILLERMO PENIERES CARRILLO  
Dra. AMPARO LONDOÑO OROZCO  
Dr. TONATIUH ALEJANDRO CRUZ SÁNCHEZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
PRESENTE

DEPARTAMENTO DE  
ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Síntesis y evaluación antifúngica de compuestos derivados del  
piridinildiolmetano.

que presenta el pasante: José Abraham Rojas Jaramillo  
con número de cuenta: 09212154-2 para obtener el título de:  
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 3 de Noviembre de 2010

PRESIDENTE	<u>Dr. José Guillermo Penieres Carrillo</u>	
VOCAL	<u>Dr. Enrique Salas Téllez</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. Alma Lucila Núñez del Arco</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Dra. Olivia Noguez Cordova</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Dr. Fernando Ortega Jiménez</u>	

*ESTE TRABAJO ESTÁ DEDICADO A:*

*Mi Madre†, Irene Jaramillo gracias por tu amor y tener fe en mí  
A Norma que llegaste a mí vida en un momento muy especial  
y que sin tu apoyo este trabajo no se hubiera logrado.  
Gracias por permitirme formar parte de tu vida.....Te Amo*



## Agradecimientos:

A la UNAM y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

A mi familia, a mi padre por su apoyo y a mi madre<sup>†</sup> por su motivación, a mis hermanos, en especial a mi hermana Ángeles por su apoyo incondicional gracias.

A Norma por quererme tal como soy, estar conmigo y darme ánimos en los momentos difíciles de mi vida, por tu apoyo y colaboración para la realización de este trabajo, por tu amor y comprensión gracias.

A mis amigos de la facultad en especial a Claudia y Ayde por estar conmigo en los momentos en los que más necesitaba de un amigo, a mis amigas Ana María por mantenernos a todos unidos a Tanya que sin tus ocurrencias la facultad no hubiera sido lo mismo, y a Vicky por tus consejos y amistad gracias.

A mis compañeros del laboratorio de orgánica L-121, Angélica, Mitzeli, Eduardo y Ernesto por su amistad y enseñanzas.

A mis compañeros del laboratorio 6 de Microbiología en especial a Beatriz y Arianna por su compañía pero sobre todo por su amistad.

A mis asesores el Dr. Memo, al Dr. Tona y la Dra. Amparo por tenerme confianza y paciencia por sus consejos y enseñanzas gracias.

Al Dr. Hulme Ríos por el apoyo para la obtención de los espectros y al Sr. Draucin Jiménez por el apoyo brindado en la reparación de material de vidrio

Y por último a mis sinodales por las observaciones y aportaciones brindadas para la conclusión de este trabajo gracias.



Este trabajo se realizó en el laboratorio L-121 de la sección de Química Orgánica en Campo 1, a cargo del Dr. José Guillermo Penieres C. y en el laboratorio 6 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria en campo 4 a cargo del Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz S., ambos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Se agradece el apoyo del proyecto PAPIIT IN211008—3 “Evaluación de la actividad antimicótica de compuestos sintéticos y naturales sobre la estructura de las células micóticas” a cargo del Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez.

Resultados parciales de este trabajo se presentaron en el 44<sup>o</sup>. Congreso Mexicano de Química. Realizado en Puebla, Pue., México. Septiembre 26-30, 2009.



## ABREVIATURAS

**ATCC:** American Type Culture Collection.

**CDCl<sub>3</sub>:** Cloroformo Deuterado.

**CYP3A4:** Citocromo P450 3A4.

**DIM:** Diindolilmetano.

**DMSO:** Sulfóxido de dimetilo.

**DNA:** Ácido desoxirribonucleico.

**EPA:** Agencia de Protección Ambiental.

**I3C:** Indolil-3-carbinol.

**CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria.

**OPPT:** Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancias Tóxicas.

**PAPIIT:** Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica.

**PPA:** Ácido Polifosfórico.

**RMN:** Resonancia Magnética Nuclear.

**rRNA:** Ácido Ribonucleico Ribosómico.

**SDA:** Agar Dextrosa Sabouraud.

**SEA:** Sustitución Electrofilica Aromática.

**SIDA:** Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

**TAFF:** Tonsil Actisil FF.

**TMS:** Tetrametilsilano.

**UFC:** Unidades Formadoras de Colonias.



# ÍNDICE

## Página

Introducción.	2
1.- Generalidades.	5
1.1.- Química Verde.	6
1.1.1.- La Química Verde.	6
1.1.2.- Arcillas.	7
1.1.2.1.- Bentonita.	8
1.1.2.2.- Uso de la Bentonita en Química Orgánica.	9
1.2.- Catálisis.	10
1.2.1.- Clasificación.	11
1.2.2.- Catálisis Heterogénea.	12
1.3.- El Espectro electromagnético.	12
1.3.1.- La Radiación electromagnética.	13
1.3.2.- Microondas.	14
1.3.3.- Uso de las microondas en Química Orgánica.	15
1.4.- Química del Indol.	16
1.4.1.- Importancia Biológica y Farmacológica.	17
1.4.2.- Síntesis y Reacciones.	19
1.4.2.1.- Síntesis de Fischer.	20
1.4.2.2.- Sustitución Electrofílica Aromática (SEA).	21
1.5.- Química de la Piridina.	22
1.5.1.- Importancia Biológica y Farmacológica.	22
1.5.2.- Síntesis y Reacciones.	23
1.6.- Diindolilmetanos.	25
1.7.- Clasificación taxonómica de los Hongos.	27
1.8.- Características generales de los Hongos.	28
1.8.1.- Reproducción de los Hongos.	29
1.9.- Clasificación de las Micosis.	31
1.10.- Antifúngicos.	33
1.10.1.- Clasificación de los antifúngicos.	34
2.- Objetivos.	36
3.- Metodología Experimental.	38
3.1.- Síntesis Orgánica.	39
3.2.- Evaluación de la actividad antifúngica.	42
4.- Resultados y Discusión.	45
5.- Conclusiones.	62
6.- Referencias.	64
7.- Apéndice	68



# INTRODUCCIÓN

## Introducción

Hasta la fecha se han descubierto muy pocos antimicóticos en comparación con los antibacterianos, y la frecuencia de infecciones por hongos se ha incrementado en forma importante en las últimas décadas. El incremento en el uso de fármacos inmunosupresores, tanto en pacientes con patología oncológica como en poblaciones con enfermedades autoinmunes, el espectacular incremento del número de trasplantes de órganos, enfermedades como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA),<sup>1</sup> así como el aumento de la esperanza de vida de los enfermos sometidos a cuidados críticos, han aumentado sustancialmente el número de pacientes que las padecen.

Otras posibles razones para el incremento en la incidencia de las micosis incluyen el aumento en el uso de catéteres urinarios y los que reciben nutrición parenteral. Aunado a esto, están los problemas de seguridad y toxicidad de los fármacos antifúngicos (principalmente de los polienos: anfotericina B y nistatina) o de la aparición de resistencia en los principales antifúngicos, como son la anfotericina B, el fluconazol y la 5-fluorocitosina, debido principalmente a tratamientos antifúngicos prolongados, los cuales incrementan la concentración mínima inhibitoria (CMI), lo que hace de la resistencia farmacológica la principal causa de fallo terapéutico entre los pacientes en tratamiento.<sup>2</sup>

El tratamiento de las micosis especialmente las sistémicas es muy limitado, como se ha mencionado por los problemas de resistencia, seguridad farmacológica y problemas de eficacia, y actualmente se utiliza un número relativamente pequeño de antifúngicos, como la anfotericina B, fluconazol e itraconazol.<sup>3</sup> El desarrollo de nuevos fármacos incluye versiones modificadas de antifúngicos estándar y el descubrimiento de una totalmente nueva clase de agente antifúngico.

La investigación de nuevos antifúngicos se ha centrado en la última década en el descubrimiento de nuevos antibióticos poliénicos (rustimicina, spongistatina, etc.); formulaciones menos tóxicas de los antifúngicos actuales o el desarrollo de nuevos azoles más potentes y de un perfil farmacocinético más favorable ha dado como resultado la aparición de la llamada tercera generación de compuestos azólicos como voriconazol, posaconazol, etc.<sup>2</sup>

Como consecuencia de todo lo expuesto, las dificultades para encontrar nuevos antifúngicos han sido críticas, por lo que se ha tenido que orientar en rutas alternativas de investigación.

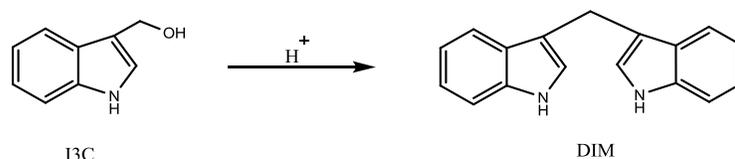
Las plantas medicinales han sido utilizadas en diferentes países como un tratamiento alternativo para los problemas de salud. Muchos extractos de plantas y aceites aislados de plantas han mostrado ejercer actividad biológica tanto *in vitro* como *in vivo*, lo cual justifica la búsqueda relacionada a la medicina tradicional, enfocada en la caracterización de la actividad antimicrobial de estas plantas.<sup>4</sup>

Por otro lado, las plantas contienen muchos componentes que son importantes recursos de moléculas biológicamente activas. Como otros vegetales, la familia de las Crucíferas (*Brassicaceae*) contiene nutrientes y fitoquímicos que tienen propiedades contra ciertos tipos de cáncer; estos vegetales, como



son la col, brócoli, mostaza, coliflor y col de Bruselas son ricos en compuestos azufrados y nitrogenados llamados glucosinolatos, que por hidrólisis de la enzima mirosinasa forman compuestos biológicamente activos incluyendo indoles e isotiocionatos.<sup>5</sup>

Se sabe que los compuestos que contienen dentro de su estructura al fragmento estructural del indol presentan una importante actividad biológica y farmacológica, uno de ellos es el diindolilmetano (DIM) presente en vegetales principalmente de la familia de las crucíferas y que es el responsable de la actividad anticancerígena, ya que induce la apoptosis de células cancerígenas. Éste se forma a partir del indolil-3-carbinol (I3C) que a un pH bajo como el del estómago, pueden combinarse y crear productos de condensación ácida<sup>6</sup> (Esquema 1).



*Esquema 1.- Formación del DIM a partir del Indolil-3-carbinol.*

Existen varios métodos que están disponibles para la preparación de diindolilmetanos, obtenidos a partir del indol y aldehídos, a un pH ácido y prolongados tiempos de reacción, en los que se obtenían rendimientos moderados a buenos; actualmente, se trabaja en la síntesis de compuestos con un enfoque ambientalista, utilizando para ello una arcilla bentónica como medio de reacción y catalizador, además de fuentes de energía alternativas, tales como microondas, infrarrojo o ultrasonido, sin uso de disolventes, en las que se ha notado un aumento en el rendimiento obtenido, así como una disminución en el tiempo de reacción, además de las ventajas económicas.<sup>7</sup>

En el presente trabajo se realizó la síntesis de diindolilmetanos empleando una arcilla bentónica como catalizador y energía de microondas como fuente de activación, adicionalmente se evaluó la actividad antifúngica de estos compuestos en diferentes cepas de hongos patógenos.



# GENERALIDADES

# Generalidades

## 1.1.- Química Verde

### 1.1.1.- Química Verde

Desde 1990, cuando entro en vigor la Ley de la Prevención de la Contaminación, la Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancias Tóxicas (OPPT), dependiente de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos de América, exploró la idea de desarrollar nuevos procesos y productos químicos o mejorar los existentes para hacerlos menos peligrosos para la salud humana y el medio ambiente. En 1991, la OPPT puso en marcha un programa de subvenciones a la investigación llamado "Rutas Sintéticas, Alternativas para Prevenir la Contaminación". Este programa proporcionó subvenciones sin precedentes para proyectos de investigación que incluyen la prevención de la contaminación en el diseño y síntesis de productos químicos. En 1993, el programa se amplió para incluir otros temas, tales como disolventes químicos más seguros y más ecológicos, y pasó a denominarse "**Química Verde**". Desde entonces este programa ha generado numerosas colaboraciones con el mundo académico, la industria, y organizaciones gubernamentales y no gubernamentales para promover el uso de la química para la prevención de la contaminación.<sup>8</sup>

La química verde consiste en procesos y productos químicos diseñados para reducir o eliminar los impactos ambientales negativos, cuyo uso resulta en reducción de residuos, productos más seguros o menos tóxicos y mejora de la eficiencia. Asimismo, la química verde estimula la innovación y fomenta la creación de productos que sean ambiental y económicamente sustentables.

La química verde es un método muy eficaz para la prevención de la contaminación, porque aplica innovadoras soluciones científicas a situaciones del mundo real del medio ambiente. **Los 12 principios de la química verde**, proporcionan una guía para la aplicación de la misma.

#### Doce principios de la química verde.<sup>9</sup>

- 1.- **Prevención:** Es preferible prevenir la formación de residuos que tratar de limpiar los residuos después de haber sido creados.
- 2.- **Economía atómica:** Los métodos de síntesis deben ser diseñados de tal manera que se incorporen al máximo todos los materiales utilizados en el proceso.
- 3.- **Síntesis químicas menos peligrosas:** Siempre que sea posible, los métodos de síntesis deberán diseñarse para utilizar y generar sustancias que tengan poca o ninguna toxicidad para la salud humana y el medio ambiente.
- 4.- **Diseño de productos químicos más seguros:** Los productos químicos deben ser diseñados de manera que mantengan su eficacia a la vez que reduzcan al mínimo su toxicidad.



- 5.- **Disolventes seguros y auxiliares:** El uso de sustancias auxiliares (por ejemplo: disolventes, agentes de separación, etc.) deberían ser innecesarios siempre que sea posible e inoocuo cuando se usen.
- 6.- **Eficiencia energética:** Los requerimientos energéticos serán catalogados por sus impactos ambientales y económicos, y deben ser reducidos. Los métodos de síntesis deben realizarse preferentemente a temperatura y presión ambiental.
- 7.- **Uso de materias primas renovables:** Las materias primas deben ser renovables en lugar de no renovables, siempre que sea técnica y económicamente factible.
- 8.- **Reducir derivados:** Se evitará en lo posible la formación de derivados (grupos de bloqueo, de protección/desprotección, modificación temporal de procesos físicos/químicos).
- 9.- **Catálisis:** Se emplearán catalizadores (lo más selectivo posible) y de preferencia de origen natural.
- 10.- **Diseño de productos biodegradables:** Los productos químicos deben ser diseñados de manera tal que al final de su función éstos se descompongan en productos inoocuos.
- 11.- **Análisis en tiempo real para la prevención de la contaminación:** Las metodologías analíticas serán desarrolladas para permitir la monitorización en tiempo real.
- 12.- **Seguridad química para la prevención de accidentes:** Las sustancias utilizadas en un proceso químico deberán ser elegidas para minimizar el potencial de accidentes químicos, incluidas las emanaciones, explosiones e incendios.

### 1.1.2.- Arcillas

Una arcilla no es un mineral, sino que es un agregado de minerales, filosilicatos en su mayor parte, y otras sustancias coloidales, las cuales se han formado a partir de la descomposición de rocas aluminosas, y de acuerdo a estas sustancias es que toman su color, siendo blancas cuando son puras; éstas se caracterizan por tener plasticidad al ser mezcladas con agua, y el de poseer un tamaño de partícula muy pequeño, siendo considerada arcilla todas las fracciones con un tamaño de grano inferior a  $2\mu\text{m}$ .

Las arcillas son constituyentes esenciales de gran parte de los suelos y sedimentos, sus propiedades son consecuencia de sus características estructurales, principalmente debidas a los filosilicatos, éstos presentan una estructura basada en el apilamiento de planos de iones de oxígeno e hidroxilos. Los grupos tetraédricos  $(\text{SiO})_4^{-4}$  se unen compartiendo tres de sus cuatro oxígenos con otros vecinos formando capas de extensión infinita y fórmula  $(\text{Si}_2\text{O}_5)^{-2}$ , que constituyen la unidad fundamental de los filosilicatos.<sup>10</sup>

Estas capas tetraédricas se unen a otras octaédricas, el plano de unión entre ambas capas está formado por los oxígenos de los tetraedros que se encontraban sin compartir con otros tetraedros (oxígenos



apicales), y por grupos  $(OH)^-$  de forma que, en este plano, quede un  $(OH)^-$  en el centro de cada hexágono formado por seis oxígenos apicales, el resto de los  $(OH)^-$  son remplazados por los oxígenos de los tetraedros.<sup>10</sup>

Otra unión similar ocurre en la superficie opuesta de la capa octaédrica. Así, los filosilicatos pueden estar formados por dos capas, tetraédrica (T) más octaédrica (O), denominándose bilaminares (1:1 ó T:O), o bien por tres capas, una octaédrica y dos tetraédricas denominándose trilaminares (2:1 ó T:O:T). A cada una de estas unidades, ya sea una capa octaédrica más una o dos tetraédricas, se le denomina lámina.

### 1.1.2.1.- Bentonita

La Bentonita es una arcilla perteneciente al grupo de las esmectitas, debido a que tiene en su composición a la montmorillonita en un porcentaje mayor al 50%, cuya fórmula es  $Al_4[(OH)_{12}/Si_8O_{16}] \cdot nH_2O$ , ésta se produce por la alteración de la ceniza volcánica *in situ*. La definición más aceptada para la bentonita es la dada por Wright: “bentonita es todo aquel suelo que contiene más del 50% de minerales del grupo de las montmorillonitas, estando presentes otros minerales como la kaolinita, la illita y la beidelita”.<sup>11</sup>

Existen diferentes tipos de bentonita, las cuales varían en su composición y en algunas de sus propiedades físicas, como son el color, siendo la más abundante la de color amarillo. En México la bentonita se extrae principalmente de los estados de Durango, Tlaxcala y Puebla.

Así pues, el principal componente de la bentonita es la montmorillonita, ésta es un filosilicato, que en la bentonita está formada por varias láminas que están compuestas cada una por tres capas, las cuales las dos exteriores son tetraédricas, mientras que la unidad interna es octaédrica, cada capa está separada de otra por un espacio llamado: “espacio interlaminar” (Figura 1).

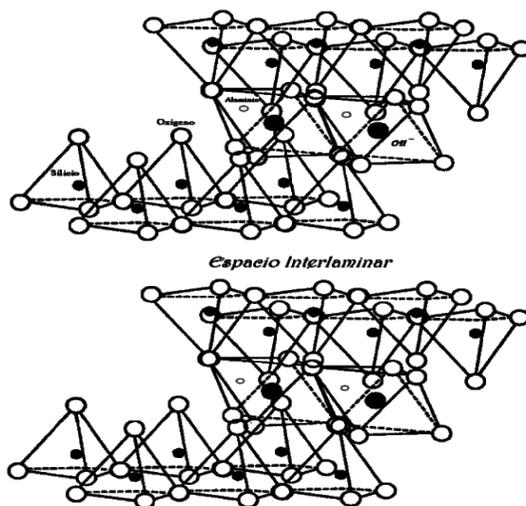


Figura 1.- Estructura parcial de la montmorillonita.

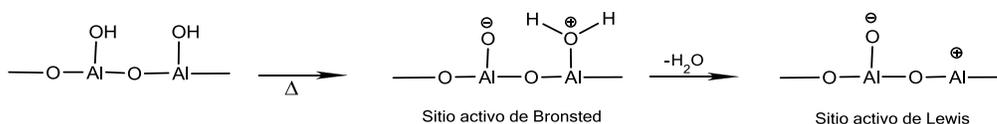


Cada unidad tetraédrica presenta un arreglo polimérico bidimensional de tetraedros de SiO<sub>4</sub> unidos por tres vértices a manera de formar anillos hexagonales.

### 1.1.2.2.- Usos de la bentonita en Química Orgánica

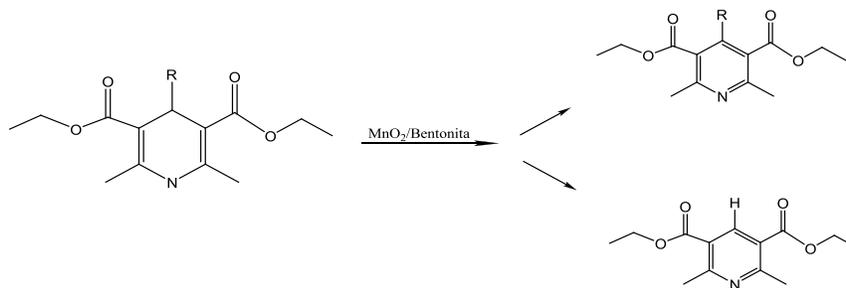
En Química Orgánica, los minerales han sido ampliamente utilizados como catalizadores o bien como soporte de reactivos para formar sistemas complejos de reacción, dentro de estos materiales se encuentra la bentonita.

Debido a su composición y estructura química, la bentonita es capaz de catalizar reacciones, esto es debido a que presenta sitios activos ácidos tanto de Lewis como de Brønsted-Lowry, los cuales se generan a partir de la interacción de los grupos hidroxilo adyacentes entre sí, y que se encuentran enlazados cada uno a un átomo de aluminio<sup>12</sup> (Esquema 2).

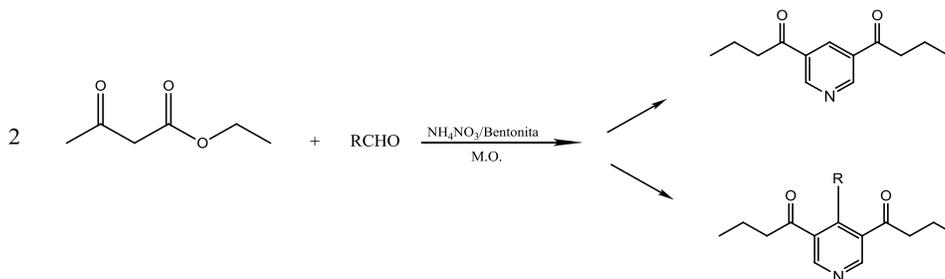


*Esquema 2.- Generación de sitios ácidos en la bentonita.*

La bentonita es usada para realizar diversas reacciones en ausencia de solventes. Entre las reacciones que es capaz de catalizar se encuentran, oxidaciones y síntesis de piridinas (Esquemas 3 y 4), además de reacciones de condensación, síntesis de benzimidazoles, la obtención de nitrilos y amidas aromáticas, etc.



*Esquema 3.- Oxidaciones catalizadas con bentonita.<sup>13</sup>*



*Esquema 4.- Síntesis de piridinas catalizadas con bentonita.<sup>14</sup>*



Desde hace tiempo las arcillas se han usado como emulsionantes, para la fabricación de pinturas, grasas, lubricantes, plásticos, cosméticos. Además, se utilizan arcillas organofílicas, capaces de hinchar y dispersarse en disolventes orgánicos, y se usan, por lo tanto, como agentes gelificantes.

Además de los campos indicados anteriormente, las bentonitas se utilizan como excipientes por la industria farmacéutica, debido a que no son tóxicas, ni irritantes, ya que no pueden ser absorbidas por el cuerpo humano. Se utilizan para la elaboración de preparaciones tanto de uso tópico como oral. Se utiliza como adsorbente, estabilizante, espesante, agente suspensor y como modificador de la viscosidad.

Su principal uso es en la preparación de suspensiones tópicas, geles y soluciones. Cuando se usa como parte de una preparación oral, su naturaleza adsorbente puede enmascarar el sabor de otros ingredientes, o puede ralentizar la liberación de ciertos fármacos catiónicos (la hectorita y la saponita se utilizan como fármacos o drogas retardantes), utilizándose en cantidades pequeñas, generalmente las concentraciones de bentonita como agente de soporte es del 0.5-5 % y del 1-2 %, cuando se usa como adsorbente.

Asimismo, se emplean en la obtención de membranas de ósmosis inversa, en la desalinización de aguas, para acelerar la clarificación de vino. En la industria cosmética para la elaboración de máscaras y cremas.

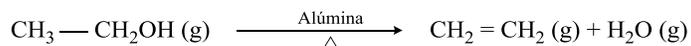
## 1.2.- Catálisis

Al fenómeno que tiene lugar cuando en la composición del complejo activado interviene una sustancia diferente de los reactivos afectando positivamente a la cinética se le denomina “Catálisis”, y al proceso correspondiente “proceso catalítico”.

Según la clásica definición de Ostwald, catalizador es una sustancia que altera la velocidad de una reacción química, sin afectar los factores energéticos de la misma, al consumirse en ella. Hablando propiamente un catalizador no puede, por tanto, iniciar sino sólo acelerar, la reacción.<sup>15</sup>

Los procesos catalíticos tienen gran importancia de orden práctico, tanto en procesos industriales como en procesos biológicos absolutamente necesarios para la vida, tal es el caso de los procesos enzimáticos, que tienen lugar en los seres vivos y la asimilación fotoquímica del dióxido de carbono por las plantas.

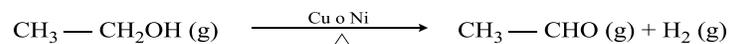
Si bien existen catalizadores inespecíficos como los catalizadores ácido-base, otros tienen elevada especificidad, hasta el extremo de que a partir de determinados reactivos, se pueda llegar a diferentes productos finales de reacción, simplemente utilizando catalizadores diferentes. Como muestra de esto basta un ejemplo, la pirólisis del etanol; catalizada por alúmina conduce a la formación de etileno y agua<sup>16</sup> (Esquema 5)



*Esquema 5.- Pirólisis del etanol con alúmina.*



Mientras que si el catalizador es cobre o níquel se obtiene acetaldehído e hidrógeno (Esquema 6).



*Esquema 6.- Pirólisis del etanol con cobre o níquel.*

Cualitativamente, el efecto catalítico depende del catalizador y de la estructura del complejo catalizador-sustrato. Cuantitativamente, la acción catalítica depende de la concentración de catalizador (o de la magnitud de la superficie total del catalizador presente por mol de reactivo, en el caso de la catálisis heterogénea).

En un principio se creía que los catalizadores se mantenían inalterables durante los procesos químicos. Sin embargo, ahora se sabe que los catalizadores forman enlaces químicos con los reactivos durante estos procesos. Así, los procesos catalíticos son cíclicos: los reactivos se unen al catalizador, los productos se liberan desde otra unión y tras la regeneración, se recupera el estado inicial. En teoría el catalizador ideal no se consume durante el proceso, pero en la práctica es diferente. Debido a reacciones paralelas, el catalizador sufre cambios fisicoquímicos y su actividad disminuye, produciéndose su desactivación, de manera que debe ser regenerado o incluso reemplazado.

Los catalizadores pueden ser gases, líquidos o sólidos, aunque la mayor parte de ellos son líquidos y sólidos. La importancia de la catálisis en la industria radica en que más del 70% de los productos químicos se obtienen con la ayuda de catalizadores, y si consideramos los productos desarrollados últimamente el porcentaje aumenta a más del 90%. Así, muchos compuestos orgánicos intermedios necesarios para la producción de plásticos, fibras sintéticas, productos farmacéuticos, tintes, resinas y pigmentos sólo pueden ser fabricados mediante procesos catalíticos.

### 1.2.1.- Clasificación

Los procesos catalíticos pueden clasificarse atendiendo al estado físico del catalizador y del sistema de reacción, o bien a la naturaleza química del catalizador. De esta forma, según al estado físico del catalizador y del sistema de reacción, los procesos catalíticos pueden subdividirse en: <sup>16</sup>

- **Homogéneos:** El estado físico del catalizador es el mismo que el de las sustancias que intervienen en el proceso.
- **Heterogéneos:** El estado físico del catalizador es diferente del que tienen las sustancias que intervienen en la reacción.

Y según la naturaleza química del catalizador los procesos catalíticos pueden subdividirse en:

- **Autocatalíticos:** Cuando el catalizador es uno de los reactivos, uno de los productos finales o una sustancia intermedia de la reacción.
- **Catalítico (simplemente):** Cuando el catalizador es una sustancia diferente de las indicadas anteriormente.



### 1.2.2.- Catálisis Heterogénea

En un proceso catalítico heterogéneo el catalizador se encuentra en estado físico diferente de aquel en que se encuentran las sustancias que intervienen en la reacción. Los procesos de este tipo más frecuentes son las reacciones entre gases catalizadas por sólidos, en ellas la reacción tiene lugar en la superficie del catalizador, concretamente en determinados centros activos de la superficie del catalizador. En consecuencia, se comprende fácilmente que los catalizadores sólidos deben tener gran superficie por unidad de volumen (lo que depende del grado de división en que se encuentren y, en mucho mayor grado, de la porosidad del sólido) y elevada concentración de centros activos por unidad de superficie.

La superficie externa del catalizador, debida a la forma geométrica de sus partículas, suele ser muy pequeña en comparación con la superficie interna (superficie de los poros de las partículas). Por ello, se puede entender fácilmente que la mayoría de las moléculas de las sustancias iniciales reaccionarán en la superficie interna del catalizador. Para ello, las moléculas de los reactivos han de difundirse desde el seno de la masa constituida por las sustancias diferentes del catalizador hasta la superficie de éste en la que se produce la reacción, formándose así los productos finales, los cuales se difundirán ahora desde la superficie del catalizador hacia el seno de la masa constituida por las demás sustancias (diferentes del catalizador).

La catálisis más importante es por mucho la heterogénea. Los procesos catalíticos heterogéneos son de un gran interés en el campo de la industria química. Generalmente, el catalizador es un sólido mientras que los reactivos son líquidos y/o gases. Procesos tan importantes como la oxidación del  $\text{SO}_2(\text{g})$  a  $\text{SO}_3(\text{g})$ , la síntesis del amoníaco, el cracking del petróleo y la hidrogenación de grasas insaturadas suelen hacerse mediante procesos catalíticos heterogéneos.<sup>16</sup>

Algunos ejemplos de catalizadores heterogéneos son la mezcla de Pt/Rh utilizados para la oxidación de amoníaco a óxido nítrico y los utilizados para el craqueo de fracciones de petróleo como el níquel soportado sobre aluminosilicatos.

### 1.3.- El Espectro Electromagnético

La luz visible, los rayos X, microondas, las ondas de radio, etc., son distintos tipos de radiación electromagnética, que en su conjunto forman el *espectro electromagnético*. Este espectro se divide de manera arbitraria en distintas regiones, y la región visible, la más familiar, sólo constituye una pequeña parte del espectro total cuya longitud de onda va de  $3.8 \times 10^{-7}$  a  $7.8 \times 10^{-7}$  m (Figura 2).



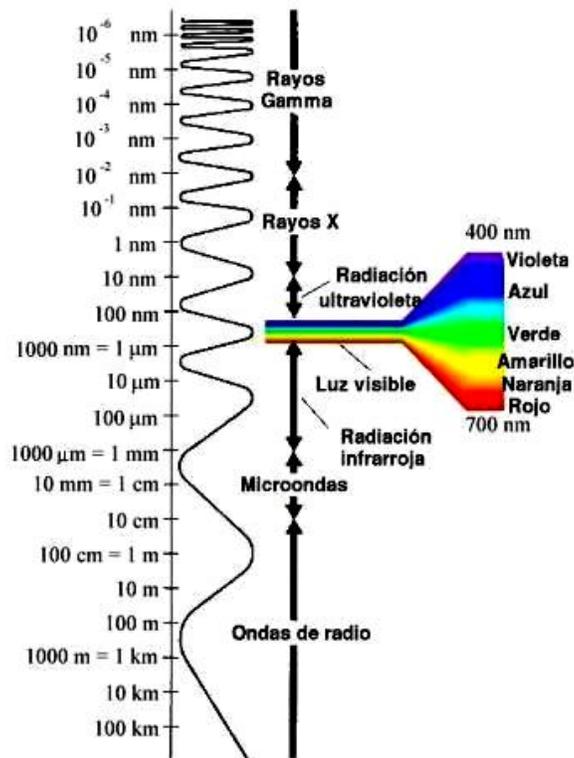


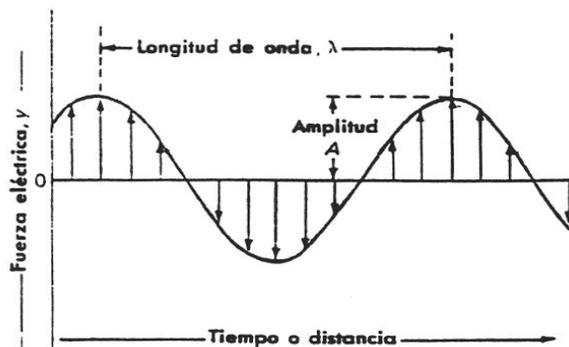
Figura 2.- El Espectro electromagnético.

### 1.3.1.- La Radiación Electromagnética

Las cargas eléctricas en movimiento producen campos eléctricos y magnéticos. Los cambios cíclicos en estos campos producen radiación electromagnética; de esta manera la radiación electromagnética consiste en una oscilación perpendicular de un campo eléctrico y uno magnético. Ésta traslada energía de un punto a otro, moviéndose a la velocidad de la luz.<sup>10</sup>

La radiación electromagnética tiene un comportamiento dual, en algunos aspectos posee las propiedades de una partícula (llamada fotón), pero en otros aspectos se comporta como una onda de energía que viaja a la velocidad de la luz. Al igual que todas las ondas, la radiación electromagnética se caracteriza por una longitud de onda, una frecuencia y una amplitud (Figura 3). **La longitud de onda  $\lambda$**  (lambda) es la distancia de un máximo de la onda a la siguiente. **La frecuencia  $\nu$**  (nu) es, la cantidad de máximos de onda que pasan por un punto fijo por unidad de tiempo; por lo general se expresa en segundos recíprocos,  $s^{-1}$ , o hertz Hz ( $1\text{Hz} = 1\text{ s}^{-1}$ ). **La amplitud** es, la altura de una onda, medida desde el punto medio hasta el máximo. La intensidad de la energía de radiación, sea ésta débil o intensa, es proporcional al cuadrado de la amplitud de onda.<sup>17</sup>





*Figura 3.- Las ondas electromagnéticas.*

Una parte pequeña del espectro es la que tiene más interés para el hombre, denominada región visible que comprende las radiaciones luminosas las cuales pueden ser captadas por nuestro ojo, ésta se extiende desde el color rojo al color violeta del arco iris (ver Figura 2).

Las radiaciones de menor frecuencia (o mayor longitud de onda) son las radiofrecuencias utilizadas en telecomunicaciones. Mientras que, las de mayor frecuencia (o menor longitud de onda) son las correspondientes a los rayos x y rayos  $\gamma$ . Cada zona del espectro tiene sus propias características, así como sus aplicaciones en la ciencia y tecnología.

### 1.3.2.- Microondas

Las microondas son un tipo de radiación electromagnética, no ionizante que causa movimiento molecular por migración de iones y rotación de dipolos, su intervalo de frecuencia es del orden de 300-300,000 Mhz, lo cual en términos de longitud de onda es de  $1-10^{-2}$ m.

La frecuencia de 2450Mhz es, la utilizada en hornos convencionales, y es precisamente este tipo de hornos los utilizados para llevar acabo reacciones químicas y los cuales constan de cinco componentes principales.

- **Ventilador:** Desvía el vapor que es producido durante el proceso de irradiación y desvía las microondas para que se difundan por todo el horno.
- **Plato giratorio:** Este sirve para que se irradie lo más uniformemente posible.
- **Magnetron:** Es un diodo cilíndrico que actúa como disipador, el cual genera las microondas.
- **Temporizador:** Permite que controlemos el tiempo exacto para que se irradien las microondas.
- **Panel de control:** Es el dispositivo mediante el cual el operador determina el programa que requiere cada proceso

La radiación de microondas es producida por el magnetron, éste se compone, fundamentalmente de un cátodo central que genera electrones en intervalos regulares, y un ánodo que los atrae. Unos fuertes imanes permanentes dentro del magnetron obligan a los electrones a tomar trayectorias circulares antes de llegar al ánodo, y éstos son los que generan las microondas.



Para lograr su efecto, el magnetrón proyecta las microondas generadas hacia el interior del horno. Muchas moléculas son **dipolares** (tales como las del agua), es decir, son moléculas con una carga parcial positiva de un lado y negativa del otro. Estas moléculas intentan alinearse con el campo eléctrico fluctuante generado por las ondas. Sin embargo, la dirección del campo magnético se invierte 2,500 millones de veces por segundo (ya que son ondas de 2.5Ghz), por lo que una vez alineadas con la onda anterior, deben volver a rotar para alinearse con la siguiente onda. Este proceso es realizado por millones de moléculas simultáneamente, 2,500 millones de veces por segundo, esto es lo que generalmente se conoce como calor, que no es más que una excitación masiva de las moléculas de un compuesto.<sup>18</sup>

El calentamiento producido en los materiales absorbidos, se debe a la presencia de moléculas polares, generándose en consecuencia un intenso efecto de fricción. Esto hace que por conducción el alimento se caliente (conducción iónica). Esta interacción entre microondas y moléculas polares provoca el giro de éstas, haciendo rotar al resto de las moléculas polares que hay en los alimentos además del agua (polarización dipolar).

Sin embargo, esta interacción no tiene efecto sobre moléculas apolares, como es el caso de los plásticos. Asimismo, tampoco tiene efecto en sustancias polares en las que sus partículas no tienen movilidad.

### 1.3.3. Uso de las microondas en química orgánica

Tradicionalmente, la síntesis química se ha realizado proporcionando energía térmica a las moléculas empleando una fuente de calor externa. El calor se transmite pasando a través de las paredes del recipiente para posteriormente alcanzar al disolvente y a los reactivos. Este es un método lento de transferir energía al sistema, ya que depende de la conductividad de los materiales que deben ser atravesados.

El calentamiento por microondas es un proceso muy diferente. Es decir, las microondas se acoplan directamente con las moléculas que están presentes en la mezcla de reacción, permitiendo una rápida elevación de la temperatura. Como el mecanismo no depende de la conductividad térmica de los materiales del recipiente, el resultado es un instantáneo y localizado calentamiento de cualquier sustancia que reaccione ante la polarización dipolar y/o la conducción iónica, los cuales son los dos mecanismos fundamentales de transferencia energética por microondas.<sup>19</sup>

El campo de las microondas en química orgánica está en desarrollo. El primer trabajo de aplicación de microondas en síntesis fue realizado por Vanderhoff en 1969, para la polimerización de monómeros vinílicos solubles en agua. Aunque fue hasta 1986 cuando aparecen los primeros trabajos en síntesis orgánica realizados por R. Gedye y R.J. Giguere. Éstos describen varias reacciones llevadas a cabo en pocos minutos en cavidades selladas y en hornos domésticos. Si bien el proceso era rápido y fiable, también lo eran las explosiones que tenían lugar debido a las altas presiones generadas en sistemas cerrados. Previniendo esto en Francia en 1987, investigadores como D. Villemin, A. Loupy, J. Hamelin y



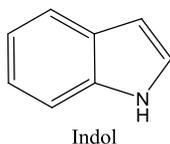
otros, desarrollaron procedimientos más seguros y reacciones en recipientes abiertos, y sin disolventes. Esta ausencia de disolventes y las microondas presentan una serie de ventajas entre las que se encuentran ser una técnica económica, eficaz y segura con la que además se minimizan los residuos y con ello la contaminación. Esto constituye un interesante acercamiento a la denominada Química Verde (“Green Chemistry”).<sup>19</sup>

Las reacciones con microondas en presencia de un disolvente, conlleva a la necesidad de eliminarlo. Por ello las reacciones heterogéneas utilizan soportes sólidos minerales, que a veces actúan como catalizadores (alúmina, gel de sílice, arcillas y zeolitas, etc.) en ausencia de disolventes y han provocado un profundo impacto en este tipo de reacciones. Estas reacciones son efectuadas con reactivos inmovilizados sobre soportes sólidos porosos y presentan ventajas sobre las reacciones en disolución, debido a la buena dispersión de los centros activos del reactivo que conlleva a una mayor selectividad y una más fácil elaboración. La posibilidad de reciclado de algunos de estos soportes sólidos hace que estos procesos sean respetuosos con el medio ambiente.

Las microondas se han empleado para la realización de numerosas transformaciones, incluidas las sustituciones nucleofílicas, oxidaciones, adiciones, eliminaciones, isomerizaciones, esterificaciones, hidrólisis, acetilaciones, etc.<sup>19</sup>

#### 1.4.-Química del Indol

El Indol (Figura 4) es una sustancia compuesta por la fusión de dos anillos, uno de ellos es un anillo insaturado de cinco miembros con un heteroátomo de nitrógeno (pirrol), y unido a éste en una de las caras (cara b) se encuentra un anillo de seis miembros de tipo bencénico.



*Figura 4.- Estructura del indol.*

Los índoles se pueden encontrar físicamente en estado líquido o sólido, estos compuestos tienden a ser, en el caso de los sólidos, cristales que van de color beige hasta café oscuro, son solubles en etanol, acetato de etilo, acetona y con puntos de fusión relativamente bajos; en tanto que los índoles líquidos son en general sustancias oleosas de olor característico, poco más densos que el agua y pueden ser parcial o totalmente miscibles con disolventes como la acetona o el etanol.<sup>12</sup>

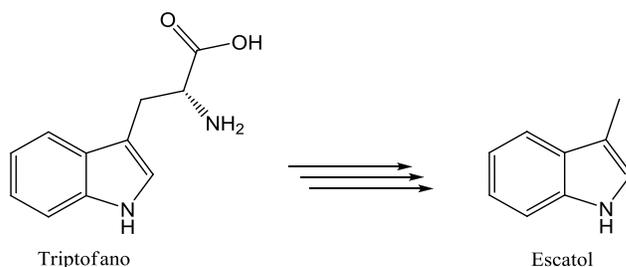
Algunos derivados del indol fueron usados como tinturas hasta fines del siglo XIX. Posteriormente, el interés por el indol se intensificó cuando se conoció que se encontraba presente en muchos alcaloides.



### 1.4.1.- Importancia Biológica y Farmacológica

El indol es una de las estructuras heterocíclicas que tiene gran importancia dentro del sistema biológico y farmacológico. Una de las funciones del indol dentro de los seres vivos es, la de servir como materia prima para la elaboración de otros compuestos.

Ejemplo de esto se observa en el esqueleto de sustancias de importancia biológica para el hombre tal como lo es el triptófano, que es un aminoácido esencial, importante para la síntesis proteica. Este aminoácido es degradado en el organismo hasta escatol (3-metilindol) o indol mediante reacciones enzimáticas (desaminación oxidante o descarboxilación) (Esquema 7), siendo el escatol el principal responsable del olor característico de las heces, pero que a concentraciones muy bajas éste es el componente principal para la fabricación de esencias (jazmín y azahar) y perfumes.

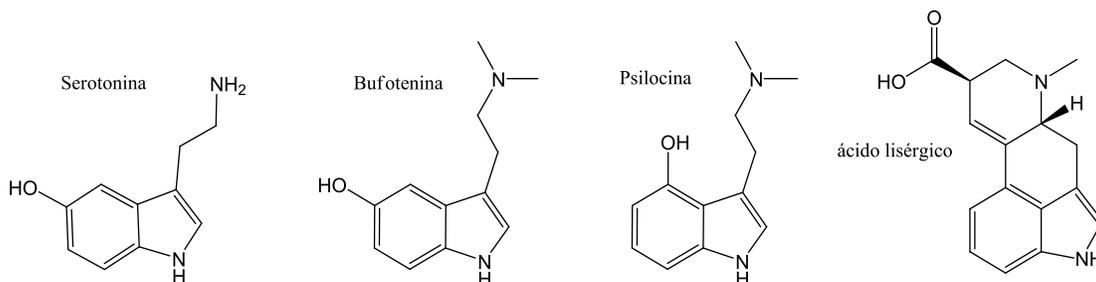


*Esquema 7.- Degradación del triptófano hasta escatol.*

La mayor parte de los derivados indólicos son de origen vegetal, y forman parte de un grupo que contiene nitrógeno, el cual recibe el nombre de alcaloides.

Un grupo numeroso de alcaloides está relacionado con el aminoácido triptófano y contiene un sistema indólico en su estructura. Entre ellos la serotonina se destaca por su importancia fisiológica, al estimular muchos músculos lisos y funcionar como neurotransmisor en el sistema nervioso central. Varias drogas al tener similitud estructural con la serotonina interfieren en el metabolismo cerebral, produciendo cambios mentales parecidos a la esquizofrenia.<sup>20</sup>

A continuación se muestran las fórmulas estructurales de la serotonina y de otros tres alcaloides derivados del indol que producen alucinaciones: la bufotenina, la psilocina y el ácido lisérgico (Figura 5).

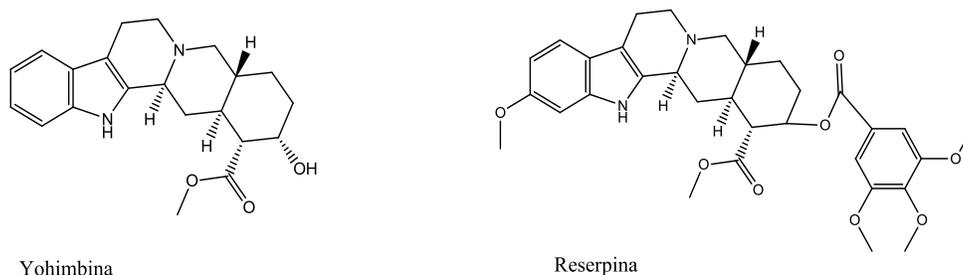


*Figura 5.- Estructuras químicas de alcaloides relacionados al triptófano.*



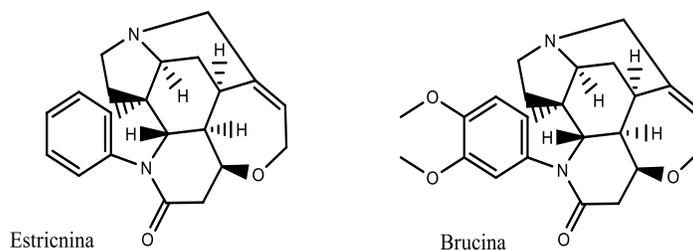
La bufotenina es una droga psicoactiva de las semilla de cahobe. La psilocina es un ingrediente activo de ciertos hongos alucinógenos, y el ácido lisérgico es un alcaloide presente en un hongo que crece en el centeno. Todos estos compuestos presentan un sistema indólico sustituido en el carbono tres por una cadena de los carbonos que acaban en un grupo amino.

Otros alcaloides de interés son la yohimbina y la reserpina, las cuales se caracterizan por tener una estructura muy similar (Figura 6), pero a pesar de eso sus efectos farmacológicos son opuestos. La yohimbina es una sustancia que se extrae de la corteza de un árbol llamado *Pausinystalia yohimbe* y produce hipertensión y el aumento del ritmo cardiaco, mientras que la reserpina la disminuye.<sup>12</sup> Por ello, la reserpina está indicada para la presión arterial elevada y desórdenes nerviosos y mentales. Este efecto tranquilizante de la reserpina puede deberse a la reducción de niveles de la serotonina en el cerebro.



**Figura 6.- Estructuras químicas de la yohimbina y de la reserpina.**

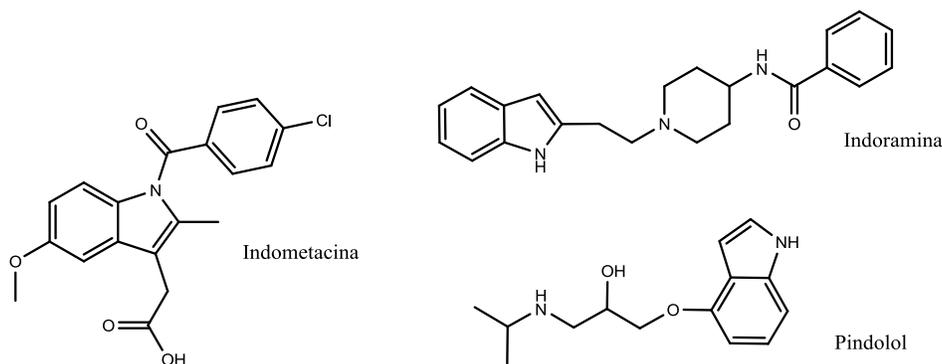
La estricnina es otro tipo de alcaloide el cual se obtiene de las semillas del árbol *Strychno*. Ésta es un estimulante del sistema nervioso central, y en grandes dosis produce convulsiones, fallo respiratorio y asfixia. Es utilizada en la actualidad como veneno para plagas. La brucina es otro alcaloide encontrado en las mismas semillas y de estructura muy similar a la de la estricnina, sin embargo, aunque tienen efectos similares, los efectos de la estricnina son más intensos (Figura 7).



**Figura 7.- Estructuras químicas de la estricnina y la brucina.**

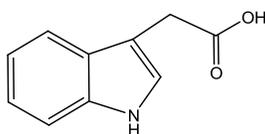
Farmacológicamente, el indol se encuentra en diversos fármacos entre los que se encuentran, la Indometacina, la Indoramina y el Pindolol (Figura 8). La primera es reconocida por su efecto antipirético, analgésico y antiinflamatorio, mientras que los otros dos son fármacos caracterizados por ser antagonistas competitivos de los receptores H<sub>1</sub> histaminérgicos, 5-HT y β-adrenérgicos, por lo que son utilizados contra la hipertensión.





**Figura 8.- Fármacos que contienen al indol en su estructura.**

El ácido 3-indolilacético (Figura 9) y algunos derivados del indol semejantes, son sustancias de crecimiento de las plantas (fitohormonas), las cuales se denominan auxinas, éstas ejercen una influencia decisiva en el crecimiento y en numerosos procesos de desarrollo de plantas superiores.<sup>21</sup>



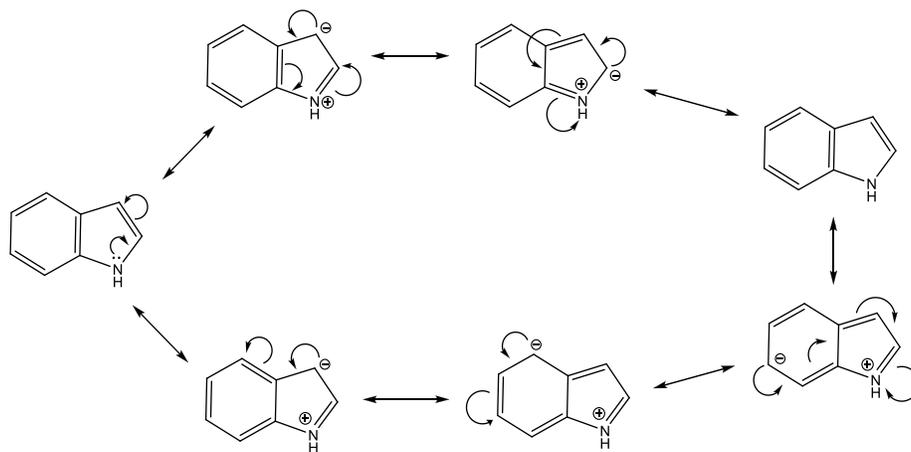
**Figura 9.- Estructura del ácido 3-indolilacético.**

#### 1.4.2.-Síntesis y Reacciones

Como se ha visto, los derivados indólicos tienen un gran valor por su importancia para el ser humano. Desde hace tiempo, cuando se conoció que el indol formaba parte de la estructura de muchas moléculas de interés biológico, su interés fue en aumento, y por supuesto su síntesis. Existen varias formas de sintetizar indoles sustituidos, entre las más importantes se encuentran la síntesis de Madelung, ésta es una deshidratación cíclica de N-ácil o-toluidina con bases fuertes y altas temperaturas; otra síntesis es la de Reissert, en la cual se reduce el ácido o-nitrofenilpirúvico con zinc en ácido acético o sulfato ferroso en hidróxido de amonio. Existen otras síntesis de indoles como la de Nenitzescu o la de Bischler, pero entre éstas la síntesis de Fischer es la más utilizada en la cual se usa una fenilhidrazona de un aldehído o una cetona y un ácido fuerte.<sup>22</sup>

La característica principal del indol es, que es un compuesto aromático, debido a que en esta molécula se encuentra un heteroátomo de nitrógeno que es capaz de activar a los dos anillos por medio de resonancia, al introducir a la molécula el par de electrones que tiene disponible (Esquema 8).





*Esquema 8.- Estructuras de resonancia del indol.*

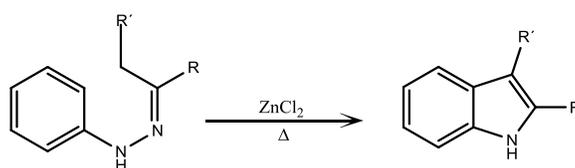
Se sabe que los indoles son compuestos capaces de llevar a cabo una gran cantidad de reacciones de diversos tipos como sustituciones nucleofílicas y desprotonaciones, e incluso reacciones vía radicales libres.

Sin embargo, dentro de las reacciones que más comúnmente se realizan sobre ellos, se encuentran las reacciones de Sustitución Electrofílica Aromática (SEA), las cuales son características de los compuestos aromáticos.

#### 1.4.2.1.- Síntesis de Fischer

De entre los anillos de benceno condensado con otros anillos, el indol es probablemente el más importante, ya que forma parte de muchos productos naturales. El método más general de creación de un sistema indólico es la síntesis de indoles de Fischer. En esta reacción se utilizan como productos de partida las fenilhidrazonas de un aldehído o una cetona adecuados; si bien, la reacción falla para sintetizar el indol como tal, sí es bastante útil en la síntesis de numerosos derivados de éste.

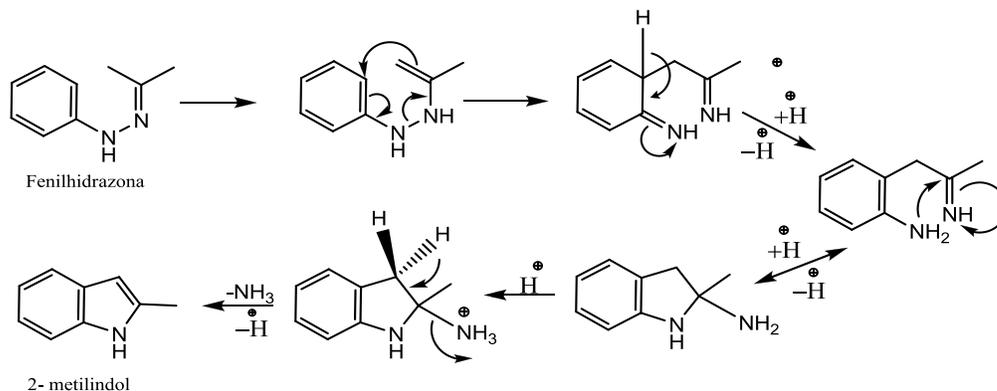
En esta síntesis se calienta la correspondiente fenilhidrazona de un compuesto carbonílico con cloruro de zinc fundido (ácido sulfúrico o fluoruro de boro), como agente de condensación o un ácido de Lewis y más recientemente el ácido polifosfórico (PPA), a unos  $180^{\circ}\text{C}$ <sup>23</sup> (Esquema 9).



*Esquema 9.- Síntesis de Fischer.*



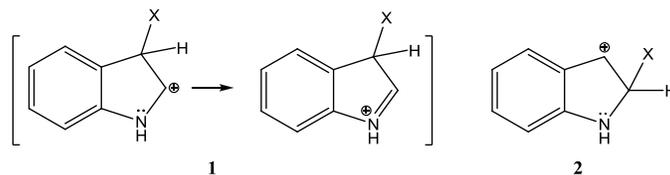
El mecanismo de la síntesis de indoles de Fischer se efectúa mediante una transposición con pérdida de una molécula de amoníaco. Ésta empieza con la tautomerización catalizada por ácido de la arilhidrazona, desde la forma imina a la forma enamina, ello causa la extrusión de amoníaco con cierre simultáneo del anillo para dar el heterociclo deseado (Esquema 10).



*Esquema 10.- Mecanismo de la síntesis de indoles de Fischer.*

#### 1.4.2.2.- Sustitución Electrofílica Aromática (SEA)

La sustitución electrofílica en el indol tiene lugar casi exclusivamente sobre el anillo pirrólico, en C-3. El examen de los intermedios de la reacción permite entender por qué la sustitución tiene lugar en C-3 en vez de C-2. La mayor estabilidad del intermedio (1) con respecto al intermedio (2), se cree es debido al hecho de que es posible la deslocalización de la carga sin afectar la aromaticidad del anillo de benceno, lo que no es posible en 2<sup>24</sup> (Figura 10).



*Figura 10.- Sustitución electrofílica en el indol.*

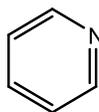
Hay varios tipos de reacciones SEA, dentro de las principales reacciones que se pueden llevar a cabo con los indoles están la halogenación, la polimerización, la nitración y condensación con compuestos carbonílicos, entre otras.

Es necesario tener precauciones en el manejo de estos compuestos en medio ácido, ya que el indol forma un dímero al ser tratado con cloruro de hidrógeno en disolventes apróticos, mientras que en solución ácida acuosa se establece un equilibrio entre el indol, su dímero, su trímero y sus sales. En contraste con el pirrol, el indol no experimenta autocondensación más allá del trímero en estas condiciones.<sup>22</sup>



## 1.5.- Química de la Piridina

La piridina (Figura 11) es un líquido incoloro con olor desagradable. Se puede manufacturar a partir del alquitrán de carbón o a partir de otros productos químicos. Es miscible en alcohol y agua, de reacción ligeramente básica, y forma un clorhidrato cristalino al reaccionar con cloruro de hidrógeno. La electronegatividad del átomo de nitrógeno empobrece la densidad electrónica del anillo, haciéndolo menos susceptible a la sustitución electrofílica.



Piridina

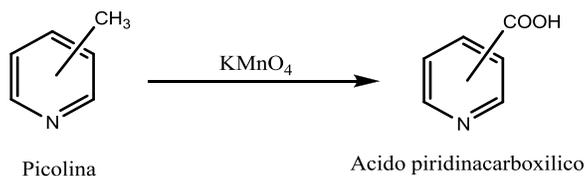
*Figura 11.- Estructura de la piridina.*

La piridina es, un análogo heterocíclico del benceno que contiene nitrógeno, y al igual que el benceno ésta es una molécula aromática plana, pero a diferencia del benceno, la piridina experimenta con dificultad sustitución electrofílica aromática. La halogenación ocurre bajo condiciones muy drásticas, la nitración ocurre con rendimientos muy bajos y las reacciones de Friedel-Crafts no son exitosas.<sup>17</sup> Las piridinas pueden sintetizarse a partir del amoníaco y de los compuestos dicarbonílicos adecuados (Síntesis de Hantzsch).

La piridina se usa para disolver otras sustancias. También, se utiliza en la producción de una variedad de productos tales como medicamentos, vitaminas, aditivos para alimentos, pinturas, tinturas, insecticidas, etc.

### 1.5.1.- Importancia Biológica y Farmacológica

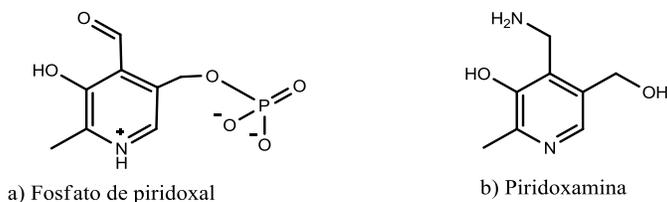
La piridina se encuentra de manera natural en el alquitrán de hulla, junto con varias metilpiridinas, de las cuales las más importantes son los compuestos monometilados conocidos como picolinas, y su oxidación genera ácidos piridinacarboxílicos<sup>25</sup> (Esquema 11). En general, las picolinas se utilizan como solventes y como materia prima en la elaboración de polímeros, textiles, agroquímicos, colorantes y productos farmacéuticos.



*Esquema 11.- Oxidación de una picolina.*



Un derivado de la piridina, el fosfato de piridoxal (Figura 12a), es una coenzima (vitamina B6) que cataliza las reacciones de transaminación, la cual es la transferencia de grupos amino. Por lo tanto, son coenzimas de las transaminasas, enzimas que catalizan la transferencia de grupos amino entre aminoácidos. El fosfato de piridoxal reacciona con un aminoácido para dar lugar a la piridoxamina (Figura 12b), capaz de reaccionar con un  $\alpha$ -cetoácido y convertirlo en un nuevo aminoácido.<sup>24</sup>



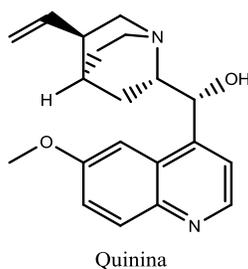
**Figura 12.- Estructuras del fosfato de piridoxal y de la piridoxamina.**

Otra vitamina que contiene un anillo piridínico es el ácido nicotínico o niacina (vitamina B3). Dentro de las funciones de la niacina se incluyen la remoción de químicos tóxicos del cuerpo y la participación en la producción de hormonas esteroideas como son las hormonas sexuales. La designación de *vitamina B<sub>3</sub>* también incluye a la correspondiente amida, la nicotinamida (Figura 13).



**Figura 13.- Estructuras de la vitamina B3.**

El anillo de la piridina es la base de muchos fármacos como los antipalúdicos (quinina) (Figura 14), y alcaloides como los de la cicuta y tabaco. Otros compuestos que tienen un anillo piridínico son los fosfatos del dinucleótido nicotinamida–adenina, los cuales son los de mayor importancia bioquímica.



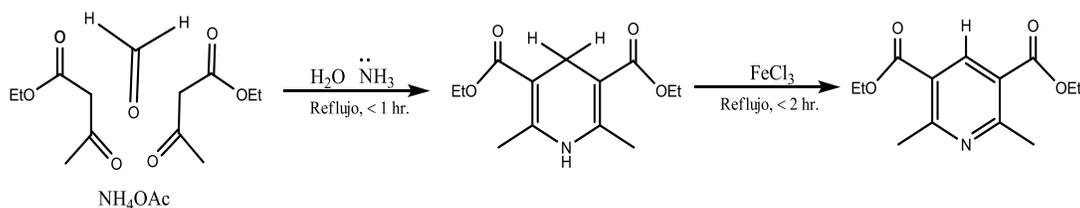
**Figura 14.- Estructura de la quinina.**

### 1.5.2.-Síntesis y Reacciones

La creciente demanda de ciertos derivados de la piridina condujo al desarrollo de síntesis que comprenden cierres de anillos. La síntesis más general para las piridinas es, la síntesis de Hantzsch, la cual



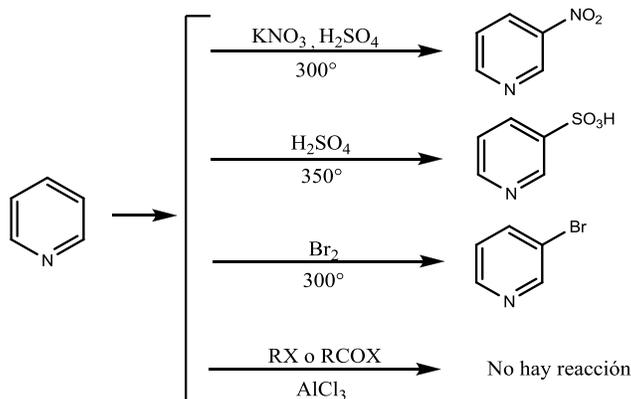
se efectúa mediante la condensación de un  $\beta$ -cetoéster, un aldehído y amoniaco, lo que nos da como resultado una dihidropiridina que al oxidarse da una piridina (Esquema 12).



**Esquema 12.- Síntesis de piridinas de Hantzsch.**

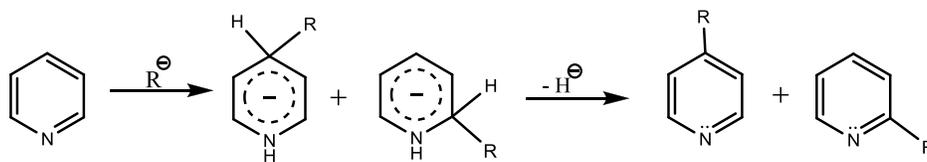
Por condensación del éster acetoacético con un aldehído, en presencia de amoniaco, se forma un derivado de la dihidropiridina, esta reacción es la síntesis de Hantzsch, procedimiento general que puede modificarse variando el aldehído o el  $\beta$ -cetoéster. Puesto que el derivado de la dihidropiridina se oxida con facilidad formando el derivado de la piridina, éste constituye un método de gran aplicación para preparar piridinas sustituidas.

La piridina puede someterse tanto a la sustitución electrofílica, como a la nucleofílica, lo cual es característico de los anillos aromáticos. En las sustituciones electrofílicas a la piridina, sólo es posible nitrarla, sulfonarla o halogenarla. Las reacciones dan generalmente el producto 3-sustituido (Figura 15).



**Figura 15.- Sustitución electrofílica de la piridina.**

Al igual que en la sustitución electrofílica, la piridina se comporta como un anillo bencénico que atrae electrones fuertemente. La sustitución nucleofílica, tiene lugar con facilidad, en particular en las posiciones 2 y 4. Esta reactividad es tan grande que incluso se puede desplazar un ion hidruro,  $H^-$  fuertemente básico (Figura 16).



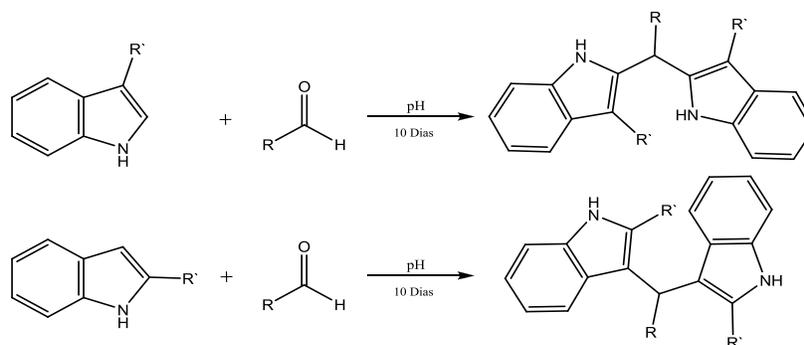
**Figura 16.- Reactividad de la piridina.**



## 1.6.- Diindolilmetanos

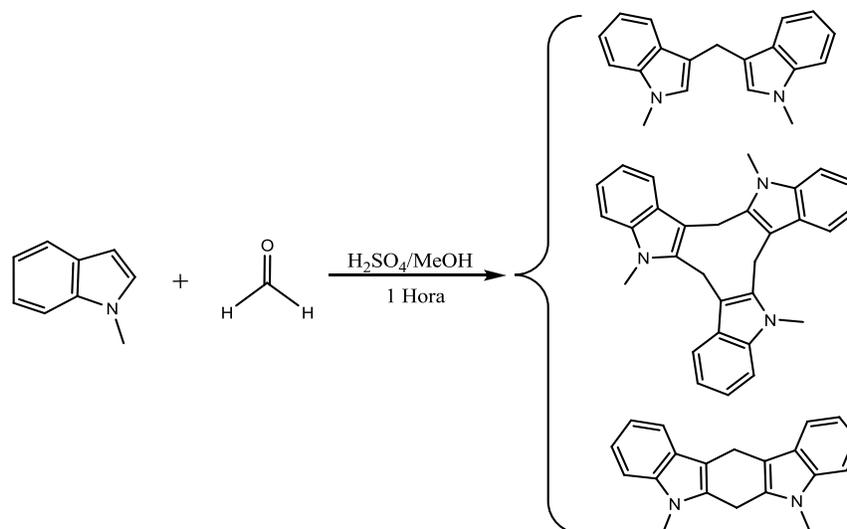
El Diindolilmetano (DIM) como tal, ha demostrado ser un importante compuesto químico, porque este ha sido sujeto de numerosas investigaciones, las cuales sugieren que el DIM podría ayudar a prevenir varios tipos de cáncer, especialmente cáncer de mama, cervical, de próstata y de útero.<sup>6, 26</sup>

La síntesis de diindolilmetanos no es nueva, ya que a principios de los sesenta Kamal y Qureshi,<sup>27</sup> lograron su síntesis a partir de diversos indoles como el 1 y 2-metilindol y diversos aldehídos alifáticos y aromáticos; éstos se sintetizaron bajo condiciones controladas de pH y en medio acuoso, sin embargo, en algunas reacciones no se obtuvieron los compuestos deseados (Esquema 13).



*Esquema 13.- Síntesis de diindolilmetanos según Kamal y Qureshi.*

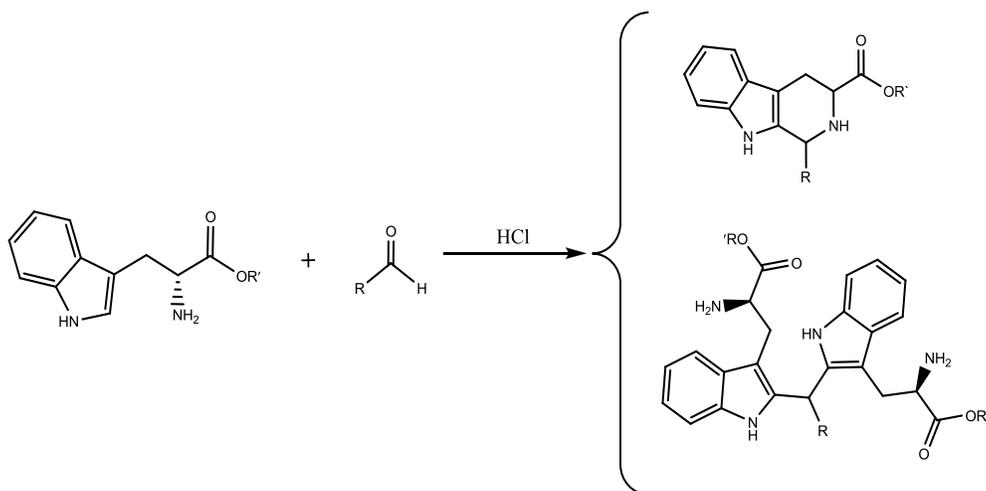
En los setenta, Bergman, Högberg y Lindström reportaron la síntesis de diindolilmetanos, a partir del indol o 1-metilindol y aldehídos, en condiciones ácidas, en la cual también se formaban compuestos ciclooligoméricos con bajos rendimientos<sup>28</sup> (Esquema 14). Además, los autores propusieron que cuando la reacción se llevaba a cabo con aldehídos aromáticos, estos presentaban una estructura dimérica.



*Esquema 14.- Formación de macrociclos por condensación de indol y aldehídos.*

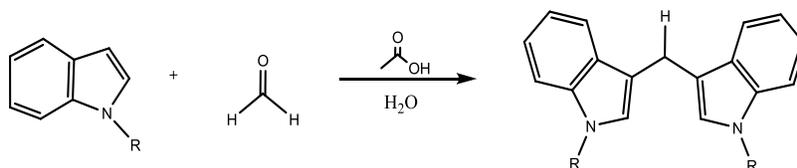


En esa misma década en Alemania, Pindur realizó reacciones de condensación entre diversos aldehídos y triptófanos, en las cuales aparte de obtener diindolilmetanos, obtuvo tetrahidrocarbolas<sup>12</sup> (Esquema 15).



*Esquema 15.- Síntesis de tetrahidrocarbolas y diindolilmetanos a partir del triptófano según Pindur.*

Para 1987, Jackson<sup>29</sup> y colaboradores realizaron la síntesis de diindolilmetanos con indol, N-Metilindol y al formaldehído como enlazante, ésta se llevó a cabo en medio ácido obteniendo buenos rendimientos (Esquema 16).



*Esquema 16.- Síntesis de diindolilmetanos según Jackson y Col.*

En años recientes la síntesis de diindolilmetanos, ha tomado un rumbo más ecologista, Penieres<sup>7</sup> y colaboradores utilizaron una arcilla bentónica como medio catalítico de reacción y energía infrarroja en ausencia de disolventes; en ésta se utilizó el indol y aldehídos aromáticos, en los cuales se obtuvieron rendimientos de hasta el 96 %.



## 1.7.- Clasificación Taxonómica de los Hongos

La clasificación de los hongos ha cambiado mucho en las últimas décadas, debido a la introducción de nuevas técnicas de estudio en morfología, inmunología, así como de biología molecular (rRNA y secuenciación de DNA), que han permitido trazar árboles filogenéticos bastante precisos entre seres vivos.

Los hongos son un grupo de organismos que comparten características en común, pero no constituyen un grupo monofilético (que descienden todos de un antepasado común), sino polifilético (que descienden de antepasados diferentes); las semejanzas se deben a convergencia evolutiva, no a un origen común. En realidad, los organismos considerados hongos se encuentran ubicados en tres de los siete reinos que forman los seres vivos, estos tres reinos son: <sup>30</sup>

- **Reino Fungi:** Aquí se encuentran los llamados hongos verdaderos y la mayoría de los hongos que son patógenos para el hombre. Los organismos de este reino se dividen según su forma de reproducción sexual y comprende cuatro Phyla: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota*.
- **Reino Chromista:** La mayoría son organismos de vida libre fotosintéticos, entre los que se encuentran algas y algunos hongos, que en realidad descienden de algas que han perdido la clorofila, por lo que no son fotosintéticos y estos comprenden tres Phyla: *Oomycota*, *Hyphochytriomycota* y *Labyrinthulomycota*.
- **Reino Protozoa:** Estos son organismos unicelulares, no tienen pared celular formal y son fotosintéticos. Los hongos que pertenecen a este reino están incluidos en cuatro Phyla: *Dictyosteliomycota*, *Myxomycota*, *Acrasiomycota* y *Plasmodiophoromycota*. Ninguno de estos hongos son patógenos para el hombre.

Antes se tenía una división o *phylum* denominada *Deuteromycetes* o *Fungi imperfecti*, donde se consideraba a la mayoría de los hongos de interés patógeno. Esta división como tal ya no existe y, los hongos que la integraban prácticamente quedan incluidos dentro de las divisiones y clases citadas; este cambio se da porque antes sólo se realizaba la clasificación tomando en cuenta la morfología y formas de reproducción, mientras que ahora es de suma importancia la posición que da la biología molecular, conforme a la secuencia de los ácidos nucleicos (mitocondriales y ribosomales). Así que en la actualidad al grupo de *Deuteromycetes* se les considera como hongos mitospóricos o anamórficos, es decir que sólo llevan a cabo reproducción mitótica o asexual. <sup>31</sup>



## 1.8.- Características Generales de los Hongos

Los hongos poseen características particulares que los hacen diferentes de las plantas, ya que no elaboran su propio alimento mediante la fotosíntesis como aquellas, sino que viven a expensas de otros organismos, vivos o muertos. De igual forma, los hongos se diferencian de los animales porque aquellos no poseen la capacidad de desplazarse o moverse sobre el medio o superficie en que crecen, además de que pueden estar formados por una sola célula (unicelulares) o por muchas (pluricelulares).

Los hongos son organismos muy abundantes, pues se calcula que hay alrededor de 1500 000 de especies diferentes en el planeta. Tienen una gran diversidad de formas y tamaños. Asimismo, pueden vivir en los más diversos sustratos y condiciones ambientales; aprovechan elementos nutritivos muy simples y forman parte elemental de la vida del hombre y otros organismos.<sup>32</sup>

Sin embargo, los hongos patógenos para el hombre son una porción muy pequeña en relación a la gran cantidad de especies que habitan nuestro planeta.

Debido a su gran número y a su diversidad de características, es menester explicar sus principales cualidades como son:<sup>33</sup>

- Todos son heterótrofos, por lo cual deben de alimentarse de materia orgánica preformada que utilizan como fuente de carbono y energía.
- Son eucariotes, es decir, presentan un núcleo diferenciado con membrana bien organizada.
- Pueden ser unicelulares (levaduras) o multicelulares (hongos filamentosos).
- Tienen como unidad anatómica fundamental a la hifa, que en los hongos unicelulares está representada por la levadura, y en cambio, los multicelulares adoptan generalmente la forma filamentosa.
- Tienen una pared celular formada por polisacáridos, polipéptidos y quitina; esta pared es rígida por lo que no puede fagocitar alimentos, sino que absorben nutrientes simples que obtienen al desintegrar polímeros mediante enzimas extracelulares llamadas despolimerasas.
- La reproducción puede ser sexual (*teleomorfismo*), o asexual (*anamorfismo*).
- Son aerobios o facultativos.
- El principal componente lipídico en la membrana celular es, el ergosterol, el cual le proporciona rigidez.
- Su crecimiento óptimo lo alcanza entre los 20-30°C, pero con rangos muy amplios que van desde los 0-55°C, con humedad relativa y un pH de 5.6 a 7.0.



## 1.8.1.- Reproducción de los Hongos

### Reproducción sexual

La reproducción sexual se caracteriza por el intercambio de material genético y se denomina esporulación y a las estructuras sexuales se les denomina esporas. Las esporas sexuales se denominan según los phyla del hongo, así en los *Oomycota* se observa el tipo de esporas sexuales llamadas Oosporas; en los *Zygomycota*, Cigosporas; en los *Ascomycota*, Ascosporas y en los *Basidiomycota*, Basidiosporas (Tabla 1).

Tabla 1.- Tipos de esporas sexuales. <sup>30</sup>	
Morfología	Características
<i>Basidiosporas</i>	<i>Estructuras unicelulares que se forman a partir de un basidio.</i>
<i>Zigosporas</i>	<i>Se forman por la unión de dos hifas sexualmente diferenciadas. De esta unión, posterior a una meiosis, nace un nuevo individuo.</i>
<i>Ascosporas</i>	<i>Resultan de una meiosis y se forman a partir de una bolsa o asca que produce un número determinado de esporas.</i>
<i>Oosporas</i>	<i>Se forman por la unión de dos gametos. Tienen una pared muy gruesa</i>

### Reproducción asexual

Las estructuras de reproducción pueden ser de tipo asexual y se les denomina conidios. Se le denomina conidiogénesis a los mecanismos por los cuales se originan las células conidiales que van a dar origen a las diferentes características morfológicas de los hongos que se reproducen asexualmente.

Hay dos modelos básicos de conidiogénesis: tállica y blástica. En la blástica hay un pequeño brote en la célula conidiógena que da lugar al conidio. En la tállica toda la célula conidiógena se convierte en uno o más conidios.<sup>34</sup> Y de acuerdo a su forma, o el tipo de célula conidiogénica donde proceden, son denominados como: microconidios, macroconidios, artroconidios, clamidoconidios, dictioconidios, fialoconidios, aleuroconidios y blastoconidios (Tabla 2).



Tabla 2.- Tipos de conidios.<sup>33</sup>

Estructura	Morfología	Características
<i>Tálicos</i>	<i>Microconidios</i>	<i>Miden menos de 3 micras. Generalmente, son unicelulares. (Trichophyton)</i>
	<i>Macroconidios</i>	<i>Miden más de 3 micras. Generalmente, presentan septos en su interior. (Microsporum)</i>
	<i>Arthroconidios</i>	<i>Se producen por fragmentación de la hifa. (Coccidioides immitis)</i>
	<i>Clamidoconidios</i>	<i>Se producen cuando la hifa se encuentra en un medio adverso. Son grandes, redondos y de pared gruesa. Pueden ser reproductivos o de resistencia. (Cándida albicans)</i>
	<i>Dictioconidios</i>	<i>Se dividen tanto transversal como longitudinalmente. (Alternaria)</i>
	<i>Fialoconidios</i>	<i>Producidos por un conidióforo en forma de botellón. (Phialophora)</i>
	<i>Aleuroconidios</i>	<i>Pequeños, colocados alternativamente a lo largo del micelio. (Paracoccidioides)</i>
<i>Blásticos</i>	<i>Blastoconidios</i>	<i>Corresponden a las levaduras. (Cándida)</i>

La hifa generalmente mide de 3 a 20  $\mu\text{m}$ . de diámetro, con una longitud variable formada por una pared celular rígida en la que fluye el protoplasma; el crecimiento es apical y tiende a ramificarse para formar el micelio, el cual de acuerdo a su función se divide en vegetativo y reproductor. El primero está inmerso en el substrato y se encarga de la absorción de los nutrientes. El segundo, también llamado micelio aéreo, se encuentra libre y en él se desarrollan las estructuras de reproducción, esporas o conidios, los cuales tienen la función de multiplicación y dispersión de los hongos en la naturaleza.<sup>30</sup>

De acuerdo a la forma de las hifas, éstas pueden ser:

- Tabicadas (septadas).
- Cenocíticas (aseptadas).
- Espiral.
- Nodosas.
- Pectinadas.
- Candelabro fávico.
- Raqueta.
- Unicelulares (levadiriformes).
- Seudohifas.
- Vesiculosas.



## 1.9.- Clasificación de las Micosis.

Se le denomina micosis a las infecciones provocadas por hongos microscópicos, y toman su nombre de la parte del cuerpo a la que invaden (onicomicosis cuando infectan las uñas), o bien toman el nombre del hongo que las causa (coccidioidomicosis producida por *Coccidioides immitis*). Pueden ser de origen endógeno o exógeno.<sup>34</sup>

Los hongos endógenos se encuentran en piel y mucosas de individuos sanos, y sólo en condiciones especiales del huésped (inmunosupresión) se convierten en patógenos. Los hongos exógenos viven fuera del ser humano, penetran por vía aérea o cutánea. Por lo tanto, el establecimiento de una micosis va a depender de las propiedades tanto del parásito (capacidad patógena) como del huésped (inmunidad), así como del tamaño del inóculo y la vía de exposición.

En general las personas sanas tienen inmunidad natural contra infecciones micóticas, pero ésta no es específica y depende de varios factores que pueden ser genéticos, hormonales, nutricionales, sexo y la edad. También, representan barreras la piel y las mucosas, así como las secreciones de sebo y sudor que tienen actividad fungicida.<sup>34</sup>

Las infecciones por hongos y las enfermedades que causan micosis convencionalmente se han venido clasificando, basándose en su localización anatómica o en el grado de profundidad de la lesión en:

- **Micosis superficiales:** Las micosis superficiales afectan la capa cornea de la piel, la porción suprafolicular del pelo y mucosas.
- **Micosis cutáneas:** Las micosis cutáneas en el ser humano incluyen una amplia variedad de procesos en los que pueden ser afectados la piel, pelos y uñas.
- **Micosis subcutáneas:** Las micosis subcutáneas afectan a la piel como puerta de entrada, es decir, son infecciones del tejido subcutáneo asociado a la dermis y a la epidermis; siendo causadas por hongos saprófitos cuyo hábitat es el suelo y las plantas.
- **Micosis profundas o sistémicas:** Las micosis profundas se adquieren por inhalación de las esporas del hongo. Después ocurre una colonización y en la mayoría de los casos es asintomática, pero que puede evolucionar a una infección pulmonar crónica; es rara la diseminación a cualquier otro órgano o sistema.

Debido a su uso extendido y a la facilidad de comprensión se emplea la clasificación propuesta por la OMS y la dada por González Ochoa, la cual dividen las micosis como se muestra en (Tabla 3).



Tabla 3.- Clasificación Clínica de las micosis <sup>33</sup>		
Según González Ochoa	Según la OMS	Características
Exclusivamente Tegumentarias.	Superficiales	Son las más frecuentes, de distribución universal, muy contagiosas, generalmente benignas, aunque algunas de ellas de curso muy crónico. Fácilmente curables y de buen pronóstico.
Inicialmente Tegumentarias.	Subcutáneas	Muy frecuentes, con zonas endémicas definidas, no contagiosas, algunas muy crónicas. De curación relativamente fácil, y generalmente de buen pronóstico, excepto el micetoma.
Secundariamente Tegumentarias.	Profundas o Sistémicas	En sus zonas endémicas son muy frecuentes, no contagiosas de hombre a hombre. Pueden ser de curso agudo, subagudo o crónico, de pronóstico variable, dependiendo de la inmunocompetencia del paciente. La facilidad de su curación está en relación al tiempo de evolución y el grado de invasión del hongo a los tejidos del huésped.
Oportunistas.	Oportunistas	Cosmopolitas, algunas se presentan con mucha frecuencia, normalmente no son contagiosas y su curso y curación son muy variables, sujetos a la respuesta del huésped.
Pseudomicosis.		Infecciones que están causadas por microorganismos que no pertenecen a los hongos, pero que dan cuadros clínicos similares a las micosis.

Pero en un sentido estricto, esta clasificación es artificial, ya que las micosis profundas oportunistas, las subcutáneas y las causadas por hongos dimórficos también pueden tener manifestaciones cutáneas.

Asimismo, en esta clasificación predomina un criterio topográfico. Sin embargo, las micosis oportunistas incluidas aquí pueden localizarse en cualquiera de las regiones corporales.

Las infecciones sistémicas graves están aumentando en frecuencia y gravedad, debido en gran medida al incremento de sujetos con alteraciones en su estado inmune: edades extremas de la vida, ciertas enfermedades (hemáticas, neoplasias, diabetes, inmunodeficiencias, SIDA, infecciones crónicas), traumas (quemaduras extensas), algunos tratamientos (quimioterapia, radioterapia, corticoides, antibióticos, nutrición parenteral, trasplante de órganos), técnicas instrumentales diagnósticas o terapéuticas agresivas (catéteres, sondas, cirugía extensa, prótesis exógenas) y otras causas.<sup>35</sup>



## 1.10.- Antifúngicos

Cuando hablamos de antifúngicos nos referimos a toda aquella sustancia que es capaz de inhibir el crecimiento o de causar lisis en el hongo. El desarrollo de fármacos para el tratamiento de las micosis profundas ha sido muy lento. El empleo de yoduro potásico (1g/ml) para el tratamiento de la esporotricosis, a comienzos del siglo XX, se considera la primera terapia sistémica antifúngica administrada con éxito; lamentablemente, su espectro de acción era muy limitado, hasta el descubrimiento de los polienos en los años cincuenta por Brown y Hazen no se había dispuesto de nuevos antifúngicos sistémicos. Poco tiempo después, se introdujo la 5-Fluorocitosina, un antitumoral con actividad antifúngica, pero desarrollaba con facilidad resistencias secundarias. Al final de los años setenta se comercializaron los primeros azoles (Clotrimazol, Ketoconazol, Fluconazol), que se convirtieron en las mejores alternativas para uso tanto tópico como sistémico.<sup>36</sup>

El mecanismo de acción de los antifúngicos es variado (Figura 17), la mayoría de las drogas antifúngicas interfieren con la biosíntesis o integridad del ergosterol, el cual es el principal esteroide en la membrana fúngica. La griseofulvina, actúa a nivel de síntesis de proteínas de microtúbulos e inhibe la reproducción celular al igual que la 5-fluorocitosina; la terbinafina, una alilamina actúa a nivel de la epoxidación del escualeno. Los nuevos antimicóticos como las neumocandinas y las nikkomicinas actúan en la pared celular inhibiendo la síntesis de glucanos y de quitina. Por estas razones, conviene conocer sus aplicaciones, sus ventajas y desventajas, en particular sus efectos colaterales e interacciones de los antifúngicos.<sup>34</sup>

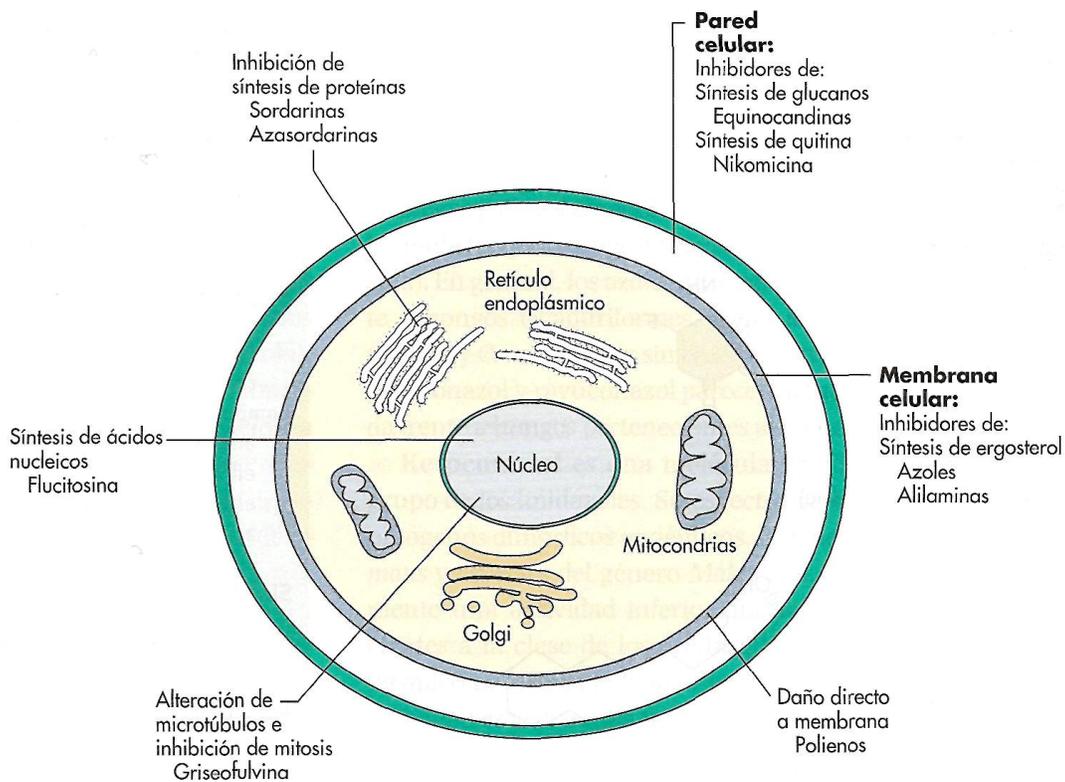


Figura 17.- Lugares de acción de los Antifúngicos.<sup>36</sup>



### 1.10.1.-Clasificación de los antifúngicos

Los antifúngicos pueden clasificarse de acuerdo a varios factores, uno de ellos es de acuerdo a su estructura química y origen (Tabla 4), otra clasificación es por el efecto que causan en los hongos (Tabla 5), y finalmente, otra menos utilizada es conforme a su empleo (Tabla 6).

Tabla 4.- Clasificación de los antifúngicos según su origen y estructura química.(modificada) <sup>37</sup>			
<i>Origen Natural</i>			
Tipo		Ejemplos	Mecanismo de acción
<i>Antibióticos</i>	<i>Polienos</i>	<i>Anfotericina B y Nistatina</i>	<i>Se une a ergosterol y provoca daño oxidativo directo en la membrana.</i>
	<i>No polienos</i>	<i>Griseofulvina</i>	<i>Alteración de microtúbulos e inhibición de la mitosis.</i>
<i>Origen Sintético</i>			
Tipo		Ejemplos	Mecanismo de acción
<i>Azoles</i>	<i>Imidazoles</i>	<i>Clotrimazol, Econazol, Ketoconazol, Miconazol, Terconazol, Econazol, Tioconazol</i>	<i>Inhibe enzimas lanosterol 14<math>\alpha</math>-desmetilasa dependientes de citocromo P-450.</i>
	<i>Triazoles</i>	<i>Itraconazol, Fluconazol, Voriconazol, Posaconazol, Ravuconazol</i>	<i>Idéntico a imidazoles, aunque con mayor especificidad de unión a diana.</i>
<i>Pirimidinas fluoradas</i>		<i>Flucitosina</i>	<i>Inhibición de síntesis de ADN y ARN.</i>
<i>Equinocandinas</i>		<i>Caspofungina, Micafungina, Anidulafungina</i>	<i>Inhibición de la síntesis de glucanos de la pared celular del hongo.</i>
<i>Alilaminas</i>		<i>Terbinafina y Naftifina</i>	<i>Inhibición de escualeno epoxidasa.</i>
<i>Otros</i>		<i>Derivados de sordarina y azasordarina</i>	<i>Inhibición del factor de elongación 2. Inhibición de síntesis proteica.</i>
		<i>Ciclopiroxolamina</i>	<i>Se acumula en células fúngicas, altera transporte de iones y aminoácidos.</i>
		<i>Tolnaftato</i>	<i>Desconocida (posible destrucción de ribosomas).</i>
		<i>Yoduro potásico</i>	<i>Desconocida (posible activación de enzimas lisosómicas y degradación de granulomas).</i>



Tabla 5.- Clasificación según el efecto que producen.	
Efecto	Ejemplos
<b>Fungistáticos</b> Inhiben el crecimiento del hongo.	Griseofulvina, 5-Fluorocitosina y algunos clásicos tópicos.
<b>Fungicidas</b> Producen la lisis del hongo.	Imidazoles, alilaminas, antibióticos poliénicos.

Tabla 6.- Clasificación según su empleo sobre el huésped. <sup>38</sup>	
Fármacos Para Micosis Sistémicas	
Droga	Comentarios
<i>Anfotericina B</i>	<i>Exclusivamente intravenoso, espectro adecuado, nefrotoxicidad.</i>
<i>5-Fluorocitosina</i>	<i>Espectro estrecho, supresión medular ósea.</i>
<i>Fluconazol</i>	<i>Intravenoso u oral, buena absorción y distribución oral, acción prolongada.</i>
<i>Ketoconazol</i>	<i>Buena absorción oral, salvo en presencia de una disminución de ácido gástrico, distribución limitada, inhibe CYP3A4.</i>
<i>Itraconazol</i>	<i>Muy lipófilico, la ingestión con las comidas aumenta absorción oral, inhibe CYP3A4.</i>
<i>Griseofulvina</i>	<i>La ingestión con las comidas aumenta la absorción.</i>
Fármacos Orales Para Micosis Cutáneas	
Droga	Comentarios
<i>Terbinafina</i>	<i>Buena absorción oral, fungicida, tratamiento más breve.</i>
Fármacos Tópicos Para Micosis Cutáneas	
Droga	Comentarios
<i>Clotrimazol</i>	<i>Alta eficiencia contra dermatofitos.</i>
<i>Miconazol</i>	<i>Máxima eficacia contra dermatofitos.</i>
<i>Ciclopirox</i>	<i>Alta eficacia contra dermatofitos.</i>
<i>Tolnaftato</i>	<i>Buena eficacia contra dermatofitos.</i>
<i>Haloprogrina</i>	<i>Buena eficacia contra dermatofitos.</i>
<i>Ácido Undecilico</i>	<i>Menor eficacia contra dermatofitos.</i>



# OBJETIVOS

# Objetivos

## Objetivo General

- Realizar la síntesis orgánica de nuevos compuestos derivados del piridinildiindolilmetano, así como determinar la actividad antifúngica de estos compuestos mediante la aplicación de pruebas de sensibilidad, utilizando cepas de referencia de hongos levaduriformes como son: (*Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*) y hongos filamentosos (*Aspergillus fumigatus*).

## Objetivos Particulares

- Realizar la síntesis de los compuestos, mediante reacciones de sustitución electrofílica aromática, empleando bentonita como soporte de reactivos, catalizador y medio de reacción, utilizando microondas como fuente de activación.
- Realizar la purificación de los compuestos, mediante técnicas cromatográficas.
- Caracterizar los compuestos anteriores, mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ .
- Determinar mediante pruebas cualitativas la actividad antifúngica frente a hongos levaduriformes (*Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*) y hongos filamentosos (*Aspergillus fumigatus*).
- Determinar mediante pruebas cuantitativas la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los compuestos que presenten actividad con las pruebas cualitativas.



# METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

# Metodología Experimental

## 3.1.- Síntesis Orgánica

### Materiales y Equipo

Para llevar a cabo la síntesis de los compuestos utilizamos como aldehído al 2-piridin-carboxaldehído marca Aldrich, y como indoles se utilizó indol marca Eastman Organic Chemicals, 1-metilindol y 2-fenilindol los dos marca Aldrich, y al 2-metilindol marca Merck Shuchardt.

A esta reacción se le agregó arcilla bentonítica Tonsil Actisil FF (TAFF), como medio de reacción y catalizador, ésta es tomada de su presentación comercial y fue previamente activada en una estufa a 100°C durante una hora antes de su uso.

Para la irradiación de la energía de microondas se utilizó un microondas convencional marca DAEWOO Mod. KOR-631G, 2450 MHz.

La síntesis de los compuestos fue seguida por cromatografía en capa fina, en la cual se utilizaron cromatofolios de aluminio Alugram SILG/UV254 de 0.25mm como fase estacionaria, y como fase móvil se utilizó una mezcla hexano y acetato de etilo en diferentes proporciones, adquiridos en ADIDSA y destilados antes de su uso.

Las placas fueron reveladas mediante una lámpara de luz ultravioleta marca Mineralight-Lamp, Upland.

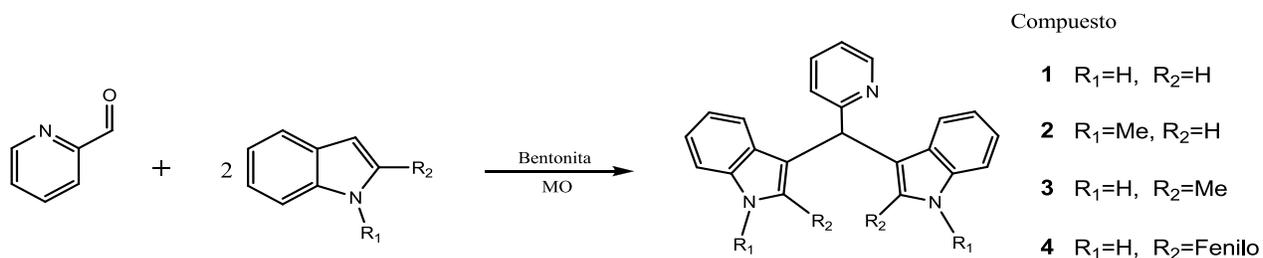
Los compuestos fueron purificados mediante la técnica de placa preparativa, utilizando para ello silica gel MN-Kieselgel G/UV 254 marca Macherey-Nagel, como fase estacionaria y como fase móvil se tomaron los mismos disolventes usados para cromatografía en capa fina.

Cada producto puro fue identificado por espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) para  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , mediante un equipo marca Varian modelo Mercury 300 a 300MHz, usando  $\text{CDCl}_3$  como disolvente y TMS como referencia interna.

Para la determinación del punto de fusión se utilizó un aparato de Fischer Johns modelo SYBRON/THERMOLYNE los cuales no están corregidos.



## Parte experimental



*Esquema 17.- Reacción general.*

Procedimiento general: en un reactor de vidrio, se colocó 7g de bentonita previamente activada junto a ésta se le agregó para cada reacción 1 mmol del aldehído (2-piridincarboxaldehído), más 2 mmoles del indol correspondiente, y se procedió a irradiarlos con microondas por períodos de tres minutos (Figura 18).



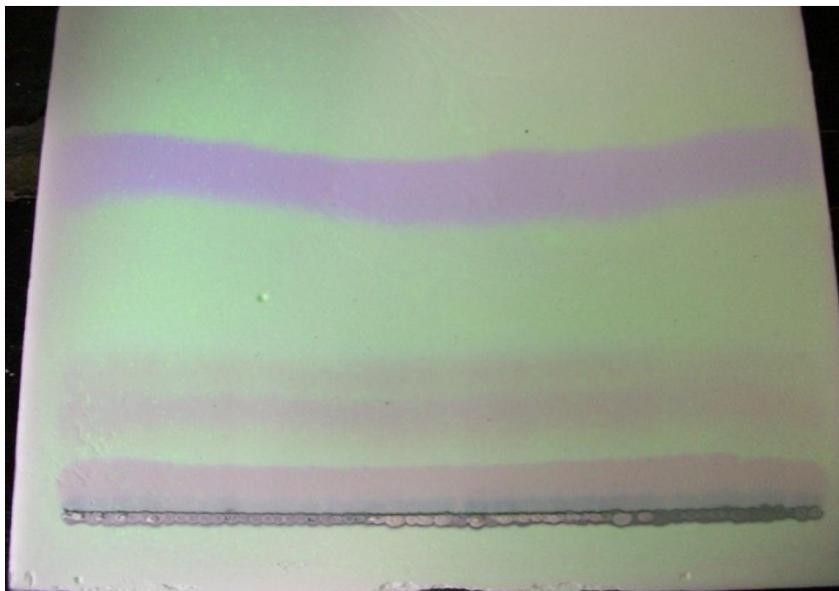
*Figura 18.- Irradiación con microondas.*

La evolución de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina, cada 3 min, con un sistema (Hex/AcOEt, 7:3), excepto para la reacción 4 en la cual se ocupó un sistema (Hex/AcOEt 9:1).

Se continuó irradiando hasta observar la completa reacción de los indoles. Los productos obtenidos se extrajeron de la arcilla, empleando etanol caliente y filtrando a gravedad, posteriormente, se eliminó el exceso de etanol con un rotavapor.



La purificación de los compuestos se llevó a cabo vía cromatoplaaca preparativa (Figura 19), con un sistema (Hex/AcOEt 7:3) para los productos 1 y 3. Mientras que, para el producto 4 se utilizó un sistema (Hex/AcOEt 9:1), y posteriormente, se extrajeron con acetona. Para el producto 2 la purificación fue mediante recristalización con etanol.



*Figura 19.- Purificación de los productos mediante cromatoplaaca preparativa.*

Una vez purificados los productos estos fueron enviados a Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear para  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .



### 3.2.- Evaluación de la Actividad Antifúngica

#### Material y Equipo

Para llevar a cabo la evaluación antifúngica, se utilizaron las siguientes cepas de hongos: *Candida albicans* (ATCC 10231), con 48 h de incubación a 35 °C; *Cryptococcus neoformans* con 72 h de incubación a 35 °C, obtenida del cepario del Laboratorio 6 de microbiología, en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y *Aspergillus fumigatus* con 48 h de incubación a 25 °C. Esta última se obtuvo del cepario de la Facultad de Química.

Con el objetivo de comprobar que las cepas utilizadas no tuvieran contaminantes se les realizaron pruebas como tinción de Gram a la cepa de *Candida albicans*, así como tinción de tinta china a la cepa de *Cryptococcus neoformans*, a su vez se les realizó la tinción de azul de algodón a la cepa de *Aspergillus fumigatus*.

Para el cultivo de levaduras se utilizó Agar Dextrosa- Sabouraud marca BIOXON-Becton Dickinson. Para el cultivo de hongos filamentosos se utilizó Agar Dextrosa-papa marca DIBICO; para la prueba de sensibilidad en levaduras se utilizó Agar Mueller-Hinton marca DIBICO adicionado con glucosa al 2% marca BD BIOXON-Becton Dickinson y 0.5µg/mL de azul de metileno Löffler marca MERCK.

Para la disolución de los compuestos sintetizados, así como de los antimicóticos utilizados se empleó sulfóxido de dimetilo (DMSO) marca Fermont al 99.9%, y un agitador eléctrico marca Vortex-Genie 2.

Para la preparación de la solución salina fisiológica (NaCl 0.85%). Se usó cloruro de sodio QP. Marca REPROQUIFIN.

Los discos empleados se hicieron a partir de papel Whatman #5, de 5 mm de diámetro.

Para las diluciones se utilizaron micropipetas de 1, 10, 100 y 1000 µL todas marca Rainin.

Para mantener la temperatura óptima para el crecimiento de las cepas, las cuales fueron de 35 °C por 48 h para *Candida albicans*, de 35 °C por 72 h para *Cryptococcus neoformans* y de 25 °C por 7 días para *Aspergillus fumigatus*, se manejaron incubadoras marca Binder BD 23-UL y RIOSSA modelo E-033.

Balanza analítica marca A&D company limited HR-200 y Balanza analítica modelo BL 3100 de Sartorius AG.

Todas las manipulaciones se realizaron en campana de flujo laminar marca Figursa modelo CFV-120.



## Parte Experimental

### Pruebas cualitativas

#### DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

(Prueba de difusión en disco) para hongos levaduriformes.<sup>39</sup>

Para reactivar las cepas de levaduras, se cultivaron en cajas petri con agar dextrosa-Sabouraud (SDA) incubando a *Candida albicans* (ATCC 10231), durante 48 h a 35 °C, y a *Cryptococcus neoformans* durante 72 h a 35 °C.

Posteriormente, se resembraron las levaduras en SDA, se incubaron a 35°C durante 24 h y se estandarizaron los inóculos suspendiéndolas en un tubo de solución salina (NaCl 0.85%) hasta alcanzar una concentración equivalente al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland ( $1 \times 10^6$  UFC/mL).

A continuación, se realizó un sembrado masivo en la superficie de cada caja de agar Mueller-Hinton adicionado con glucosa al 2% y 0.5µg/mL de azul de metileno con cada inóculo estandarizado, se dejaron secar las cajas durante 10 a 15 minutos en estufa, a 35 °C. Se colocaron los discos impregnados con 2µg de cada producto a evaluar. Finalmente, se incubaron a 35 °C durante 24 h, y se procedió a observar si había formación de halos de inhibición, reincubando las cajas que presentaron halo y midiéndolo nuevamente a las 48 h.

#### (Método de inhibición del crecimiento radial)\* Para hongos filamentosos.

Según el método modificado de Wang & Bun 2002, en cajas petri con agar dextrosa-papa se sembró *Aspergillus fumigatus*, y se incubó a 25 °C durante 7 días o hasta observarse el desarrollo de la colonia.

Posteriormente, se tomó de la periferia de la colonia un inóculo de aproximadamente 5mm de diámetro con la ayuda de una varilla de vidrio hueca y se colocó en posición invertida sobre placas de agar dextrosa-papa.

Después, se colocaron alrededor del inóculo los discos impregnados con el producto a evaluar a una concentración inicial de 2µg/disco hasta una concentración máxima de 10µg/disco, y se incubaron a 25 °C durante 72 a 96 h o hasta que la superficie del agar estuvo cubierta por el micelio, procediendo a observar si los productos presentaban inhibición por la formación de medias lunas.

\* En ambas pruebas se aplicó un control negativo que consistió en la aplicación de 10µL del disolvente a cada disco en el cual fueron disueltos los productos que en este caso fue el DMSO, y el control positivo: Ketoconazol 0.5 µg/10µL, asimismo también fue evaluado cada uno de los disolventes o químicos utilizados, ambas pruebas se realizaron por triplicado.



## Pruebas cuantitativas

### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

(Prueba de sensibilidad por dilución en Agar)

Se preparó agar dextrosa-sabouraud en tubos con 6 mL del agar y se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 40–45 °C. Por otra parte, previamente se preparó una solución stock con la cantidad suficiente de producto a evaluar para obtener concentraciones que van de los 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 y 3.5µg/10µL y de los 6, 7, 8 y 9µg/10µL y posteriormente, se le agregó a cada tubo la cantidad necesaria para obtener dichas concentraciones; se homogeneizó y se vació en cajas petri de 60 mm dejándose gelificar.

Se estandarizó el inóculo equivalente al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland para cada levadura, de la misma manera que en la prueba de difusión.

Se procedió a sembrar las cajas con la respectiva levadura, y se realizó un control positivo el cual se preparo agregando ketoconazol a una concentración de 2µg/10µL. Posteriormente, se incubaron a 35–37 °C durante 48 h tomando lectura a las 24 y 48 h para observar si había formación de colonias. Como control negativo se utilizó a ambas levaduras sin compuestos a evaluar.



RESULTADOS

y

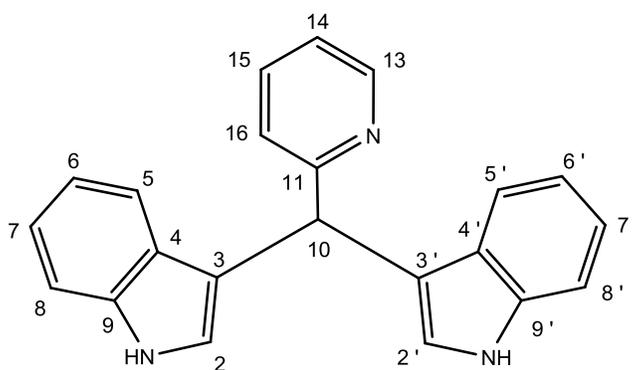
DISCUSIÓN

# Resultados y Discusión

## Síntesis Orgánica

Los resultados obtenidos en la síntesis orgánica nos muestran a cuatro compuestos que guardan una relación estructural semejante, sólo diferenciándose por la presencia de sustituyentes en las posiciones 1 y 2 del núcleo indólico. A partir de los datos obtenidos de las técnicas espectroscópicas que se aplicaron para la identificación de los compuestos sintetizados en este trabajo, se puede demostrar a continuación la síntesis favorable para los derivados de piridinildiindolilmetano.

Al reaccionar el Indol con el aldehído (2-piridincarboxaldehído), se logró aislar un sólido color amarillo, con punto de fusión de **184°C. (Producto 1)**



Producto 1.- Bis(3-Indolil) (2-piridinil)metano

Fórmula Molecular:  $C_{22}H_{17}N_3$

Peso Molecular: 323 g/mol.

<i>Prueba</i>	<i>Resultado</i>
<i>Aspecto físico</i>	<i>Sólido en forma de gránulos color amarillo</i>
<i>Punto de fusión</i>	<i>184°C</i>
<i>Rendimiento</i>	<i>60 %</i>
<i>Solubilidad</i>	<i>Acetona, DMSO, Cloroformo</i>
<i>Tiempo de reacción</i>	<i>9 min.</i>

**Espectro 1** R.M.N.  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ ) ( $\delta$  ppm): 43.02 ( $C_{10}$ ), 111.03 ( $C_8$ ), 118.06 - 126.94 ( $C_{arom}$ ), 136.58 ( $C_9$ ), 149.19 ( $C_{13}$ ), 163.39 ( $C_{11}$ ).

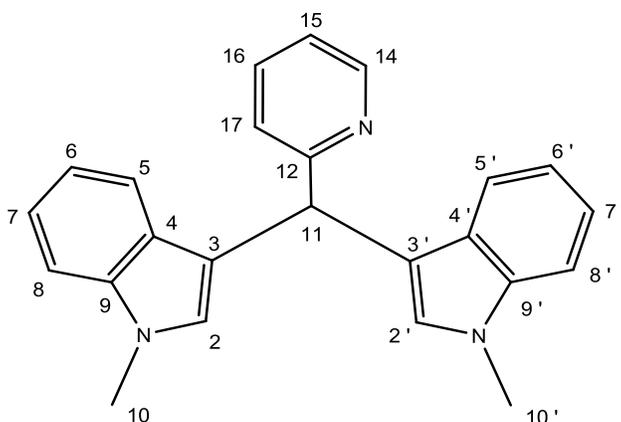
**Espectro 2** R.M.N.  $^1H$  ( $CDCl_3$ ) ( $\delta$  ppm): 6.05 (1H,  $H_{10}$ ), 6.77 (1H,  $H_{14}$ ), 6.98 (2H,  $H_2$ ), 7.33 - 7.60 (10H,  $H_{arom}$ ), 8.20 (2H,  $H_1$ ), 8.57 (1H,  $H_{16}$ )



**La espectroscopia de R.M.N.  $^{13}\text{C}$**  (Espectro 1), nos muestra una señal con desplazamiento químico de 43.02 ppm asignado al  $\text{C}_{10}$ , otra señal con desplazamiento químico de 163.39 ppm asignado al  $\text{C}_{11}$  y, se muestran varias señales entre (111.03 a 149.19 ppm) asignadas a los carbonos aromáticos.

Con respecto a la R.M.N.  $^1\text{H}$  (Espectro 2), se observa una señal con desplazamiento químico de 6.05 ppm la cual corresponde al hidrógeno unido al  $\text{C}_{10}$ , que es característico de diindolilmetanos sustituidos, otra señal con desplazamiento en 8.20 ppm es asignada a los hidrógenos unidos a los nitrógenos indólicos. Asimismo, el espectro nos muestra varias señales entre (6.77 a 7.60 ppm) que corresponden a los hidrógenos unidos a carbonos aromáticos.

La reacción del 1-Metilindol con el aldehído (2-piridincarboxaldehído), se logró aislar un sólido color café característico de los indoles, con punto de fusión de **136°C. (Producto 2)**



**Producto 2.- Bis(1-Metil-3-indolil) (2-piridinil)metano**

Fórmula Molecular:  $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_3$

Peso Molecular: 351 g/mol.

<i>Prueba</i>	<i>Resultado</i>
<i>Aspecto físico</i>	<i>Sólido en forma de gránulos color café</i>
<i>Punto de fusión</i>	<i>136°C</i>
<i>Rendimiento</i>	<i>85%</i>
<i>Solubilidad</i>	<i>Acetona, DMSO, Cloroformo</i>
<i>Tiempo de reacción</i>	<i>9 min.</i>

**Espectro 3.** R.M.N.  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$  ppm): 32.51 ( $\text{C}_{10}$ ), 42.87 ( $\text{C}_{11}$ ), 109.0 ( $\text{C}_8$ ), 116.62 - 127.98 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 136.32 ( $\text{C}_9$ ), 137.23 ( $\text{C}_{16}$ ), 149.30 ( $\text{C}_{14}$ ), 163.66 ( $\text{C}_{12}$ ).

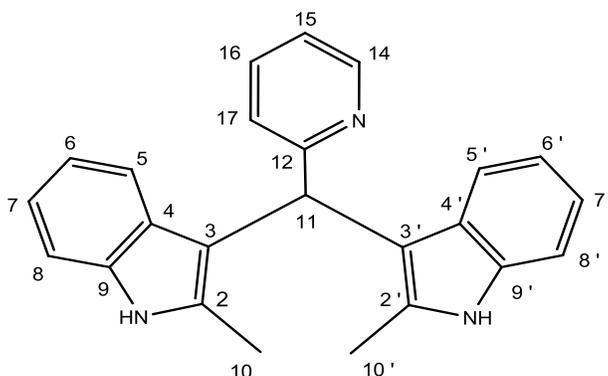
**Espectro 4.** R.M.N.  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$  ppm): 3.71 (6H,  $\text{H}_{10}$ ), 6.14 (1H,  $\text{H}_{11}$ ), 6.76 (2H,  $\text{H}_2$ ), 7.08 - 7.62 (11H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 8.67 (1H,  $\text{H}_{17}$ ).



En la espectroscopia de R.M.N.  $^{13}\text{C}$  (Espectro 3), se encuentra una señal con desplazamiento químico de 32.51 ppm correspondiente a los carbonos  $\text{C}_{10}$  y  $\text{C}_{10}'$  los cuales están unidos a los nitrógenos indólicos. Por otra parte, se muestra una señal con desplazamiento químico en 42.87 ppm la cual corresponde al  $\text{C}_{11}$ , además el espectro nos muestra varias señales (109.0 a 163.66 ppm) correspondientes a los carbonos aromáticos.

La R.M.N.  $^1\text{H}$  (Espectro 4), nos indica una señal con desplazamiento químico en 3.71 ppm correspondiente a los hidrógenos  $\text{H}_{10}$  y  $\text{H}_{10}'$ . Ahora bien, se observó una señal con desplazamiento químico de 6.14 ppm correspondiente al hidrógeno unido al  $\text{C}_{11}$ , además se muestran varias señales de (7.08 a 8.67 ppm) correspondientes a los hidrógenos unidos a carbonos aromáticos.

Para la reacción del 2-Metilindol con el aldehído (2-piridincarboxaldehído), se logró aislar un sólido color café que es característico de los indoles, con punto de fusión de  $92^\circ\text{C}$ . (**Producto 3**)



**Producto 3.- Bis(2-Metil-3-indolil) (2-piridinil)metano**

Fórmula Molecular:  $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_3$

Peso Molecular: 351 g/mol.

<i>Prueba</i>	<i>Resultado</i>
<i>Aspecto físico</i>	<i>Sólido en forma de polvo color café - anaranjado</i>
<i>Punto de fusión</i>	<i><math>92^\circ\text{C}</math></i>
<i>Rendimiento</i>	<i>70%</i>
<i>Solubilidad</i>	<i>Acetona, DMSO, Cloroformo,</i>
<i>Tiempo de reacción</i>	<i>9 min.</i>

**Espectro 5.** R.M.N.  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$  ppm): 12.37 ( $\text{C}_{10}$ ), 21.25 ( $\text{C}_{11}$ ), 110.52 - 127.36 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 133.75 ( $\text{C}_2$ ), 135.63 ( $\text{C}_9$ ), 136.78 ( $\text{C}_{16}$ ), 149.02 ( $\text{C}_{14}$ ), 162.47 ( $\text{C}_{12}$ ).

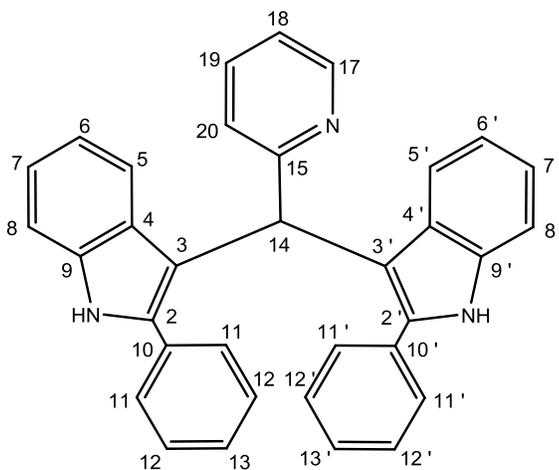
**Espectro 6.** R.M.N.  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$  ppm): 2.37 (6H,  $\text{H}_{10}$ ), 5.79 (1H,  $\text{H}_{11}$ ), 6.94 - 7.74 (11H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 8.36 (2H,  $\text{H}_1$ ), 8.47 (1H,  $\text{H}_{17}$ ).



*La espectroscopia de* R.M.N.  $^{13}\text{C}$  (Espectro 5), muestra una señal con desplazamiento químico de 12.37 ppm correspondientes a los carbonos  $\text{C}_{10}$  y  $\text{C}_{10}'$ . Del mismo modo, se observa una señal con desplazamiento químico en 21.25 ppm correspondiente al  $\text{C}_{11}$ , así como varias señales entre (110.52 a 162.47 ppm) correspondientes a los carbonos aromáticos.

En la R.M.N.  $^1\text{H}$  (Espectro 6), se observa una señal con desplazamiento químico en 2.37 ppm correspondiente a los hidrógenos del metilo  $\text{C}_{10}$ , también se muestra una señal con desplazamiento químico de 5.79 ppm correspondiente al hidrógeno unido al  $\text{C}_{11}$ . Asimismo, se muestra una señal en 8.36 ppm correspondiente a los hidrógenos  $\text{H}_1$  y  $\text{H}_1'$  que se encuentran unidos a los nitrógenos indólicos, así como varias señales entre (6.94 a 7.74 ppm) correspondientes a los hidrógenos unidos a carbonos aromáticos.

Para la reacción del 2-Fenilindol con el aldehído (2-piridincarboxaldehído), se logró aislar un sólido color marrón, con punto de fusión de  $96^\circ\text{C}$ . (**Producto 4**)



**Producto 4.- Bis(2-Fenil-3-indolil) (2-piridinil)metano**

Fórmula Molecular:  $\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{N}_3$

Peso Molecular: 475 g/mol.

<i>Prueba</i>	<i>Resultado</i>
<i>Aspecto físico</i>	<i>Sólido en forma de cristales color marrón translucido</i>
<i>Punto de fusión</i>	<i><math>96^\circ\text{C}</math></i>
<i>Rendimiento</i>	<i>90%</i>
<i>Solubilidad</i>	<i>Acetona, DMSO, Cloroformo</i>
<i>Tiempo de reacción</i>	<i>12 min.</i>



**Espectro 7.** R.M.N.  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$  ppm): 33.48 ( $\text{C}_{14}$ ), 109.63 ( $\text{C}_3$ ), 110.87 ( $\text{C}_8$ ), 119.41 - 136.08 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 136.72 ( $\text{C}_9$ ), 148.97 ( $\text{C}_{17}$ ), 161.32 ( $\text{C}_{15}$ ).

**Espectro 8.** R.M.N.  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$  ppm): 7.03 (1H,  $\text{H}_{14}$ ), 7.07 - 7.99 (20H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 8.52 (1H,  $\text{H}_{17}$ ), 8.79 (1H,  $\text{H}_{20}$ ), 10.09 (2H,  $\text{H}_1$ ).

**En la espectroscopia de** R.M.N.  $^{13}\text{C}$  (Espectro 7), se observa un desplazamiento químico en 33.48 ppm correspondiente al carbono  $\text{C}_{14}$ , así como una señal con desplazamiento químico en 161.32 ppm correspondiente al  $\text{C}_{15}$ , y varias señales entre (109.63 a 148.97 ppm) correspondientes a los carbonos aromáticos.

La R.M.N.  $^1\text{H}$  (Espectro 8), nos muestra una señal con desplazamiento químico en 7.03 ppm correspondiente al  $\text{H}_{14}$ . También, se observa una señal con desplazamiento químico en 8.52 ppm que corresponde al  $\text{H}_{17}$ , otras señales en 8.79 y 10.09 ppm correspondientes al  $\text{H}_{20}$  y a los hidrógenos  $\text{H}_1$  y  $\text{H}_1'$  respectivamente, así como varias señales unidas entre (7.07 a 7.58 ppm) correspondientes a los hidrógenos unidos a los carbonos aromáticos.

De los espectros de **la espectroscopia de** R.M.N.  $^{13}\text{C}$  se puede observar señales múltiples en común en posición 20, 40 - 60 y 80 ppm, y en la espectroscopia de R.M.N.  $^1\text{H}$  se aprecian señales en común con desplazamiento químico desde 0.5-2.2 ppm, 3.5 y 5 ppm, estas señales fueron debido a impurezas que presentaron algunos de los disolventes, observándose principalmente en los productos que fueron purificados por cromatoplaque preparativa. Sin embargo, tales señales se aprecian muy poco en el producto 2 el cual se purificó por recristalización.

Un punto importante en destacar son los tiempos de reacción, que en promedio son muy cortos (9-12 min), comparados con los ya mencionados en la literatura en la cual se describen tiempos de reacción elevados que van desde horas hasta días (Kamal and Qureshi, 1963). Estas reacciones mencionadas se hicieron en medios ácidos, la bentonita realizó esta labor, ya que presenta características ácidas de Lewis y Brønsted-Lowry.

En este mismo sentido, la energía de activación necesaria para que la bentonita catalice la reacción es proporcionada por la energía de microondas, la cual además produce la elevación de la temperatura lo que conlleva al incremento de la presión debido al contenido de agua presente en la bentonita acelerando así el tiempo de reacción. Así pues, la bentonita viene a reemplazar el uso de catalizadores nocivos como lo son los ácidos minerales que además de ser peligrosos son costosos.



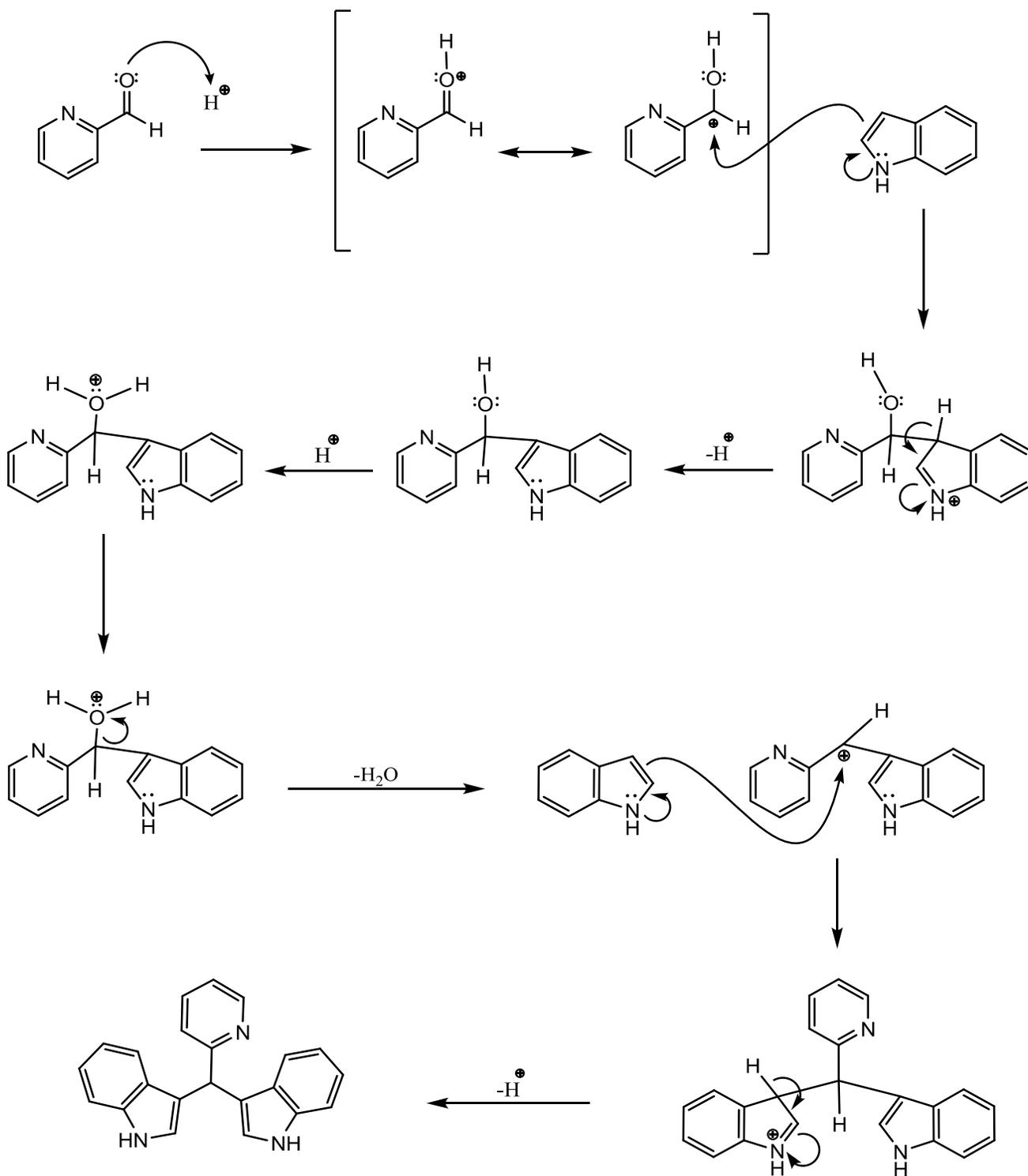
Cabe señalar que de las reacciones realizadas sólo se purificó el producto mayoritario, pero en todas se observaron productos secundarios, así como materia prima sin reaccionar, lo cual puede justificarse ya que los tiempos de cada reacción en particular no están optimizados, por lo que los rendimientos de algunas de las reacciones no pueden ser los óptimos, pero que a pesar de esto se obtuvieron rendimientos que oscilaron entre los 60 y 90%.

De los resultados obtenidos se observa que los rendimientos más bajos se obtuvieron del producto en el cual no había sustituyentes en el núcleo indólico. Por consiguiente, se puede suponer que los rendimientos se ven favorecidos cuando hay sustituyentes en éste, por otra parte, el rendimiento fue mayor cuando el sustituyente fue un grupo fenilo en posición C2, ya que de los dos productos en el cual ambos tenían como sustituyente al grupo metilo, el rendimiento de ambos fue similar y solamente un poco mayor cuando éste ocupa la posición 1, sin embargo, esto puede justificarse debido a la técnica por la cual fueron purificados, ya que este último compuesto fue el único que se purificó mediante recristalización.

Como se mencionó en la literatura, el indol, es favorecido para reaccionar casi exclusivamente en la posición C3 debido a su mayor estabilidad, con base a esto se puede hacer una propuesta del mecanismo de reacción para la síntesis de los derivados del piridinildiindolilmetanos (Esquema 18).

La reacción comienza con la protonación del oxígeno del carbonilo produciendo un carbocatión intermediario, el cual es atacado por el indol que como se mencionó, es favorecido para reaccionar en la posición C3, lo cual produce la pérdida de un átomo de hidrógeno, a continuación el grupo hidroxilo se protona, lo cual genera la salida de agua y la formación de un carbocatión, el cual es atacado por una segunda molécula de indol, formando finalmente la molécula.





*Esquema 18.- Mecanismo de reacción propuesto para la síntesis de piridinilindolilmetanos.*



## Evaluación Antifúngica

### Pruebas cualitativas

Las pruebas cualitativas tienen el objetivo de mostrarnos cuáles productos obtenidos de la síntesis orgánica pueden tener alguna actividad antifúngica. Los compuestos fueron evaluados a una concentración de (2µg/disco), en el caso de levaduras (Figuras 20 y 22), y en el de hongos filamentosos éstos fueron evaluados desde una concentración de (2µg/disco) hasta una concentración máxima de (10µg/disco) (Figura 23). Los resultados obtenidos de dichas pruebas se muestran en la tabla 7. En estas pruebas se aplicó además un control negativo que consistió en el disolvente en el cual fueron disueltos los productos (DMSO), del cual se le agregó a cada disco la cantidad de 10µL.

Tabla 7.- Resultados obtenidos de las pruebas cualitativas a [2µg/disco].				
Producto	Clave	Halo (mm) <i>C. albicans</i> ATCC 10231	Halo (mm) <i>C. neoformans</i>	Halo (mm) <i>A. fumigatus</i>
1	R1	9	10	Sin Inhibición
2	R2	7	8	Sin inhibición
3	R3	7	9	Sin inhibición
4	R4	9	12	Sin inhibición

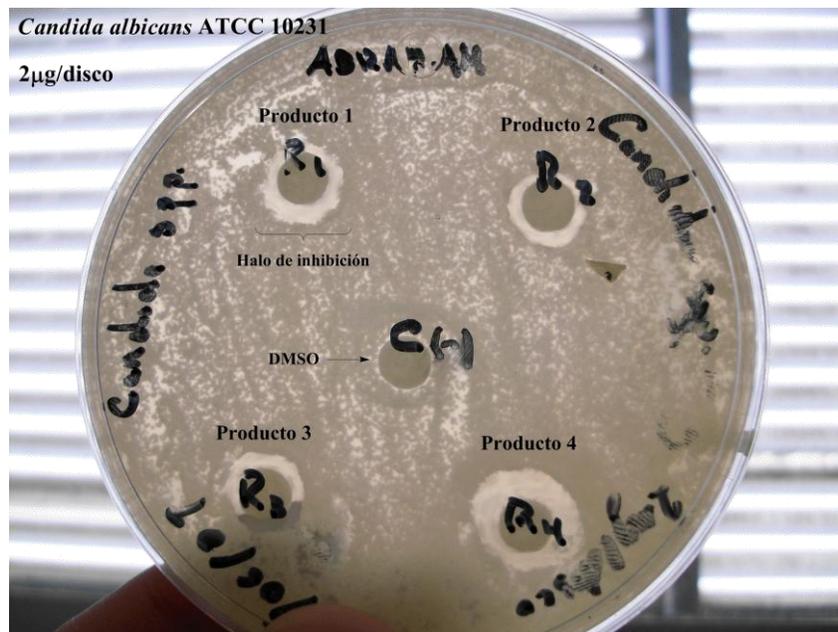


Figura 20.- Prueba de difusión en disco para los cuatro productos a una concentración de 2 µg/disco y como control [-] DMSO frente a *C. albicans* ATCC 10231.



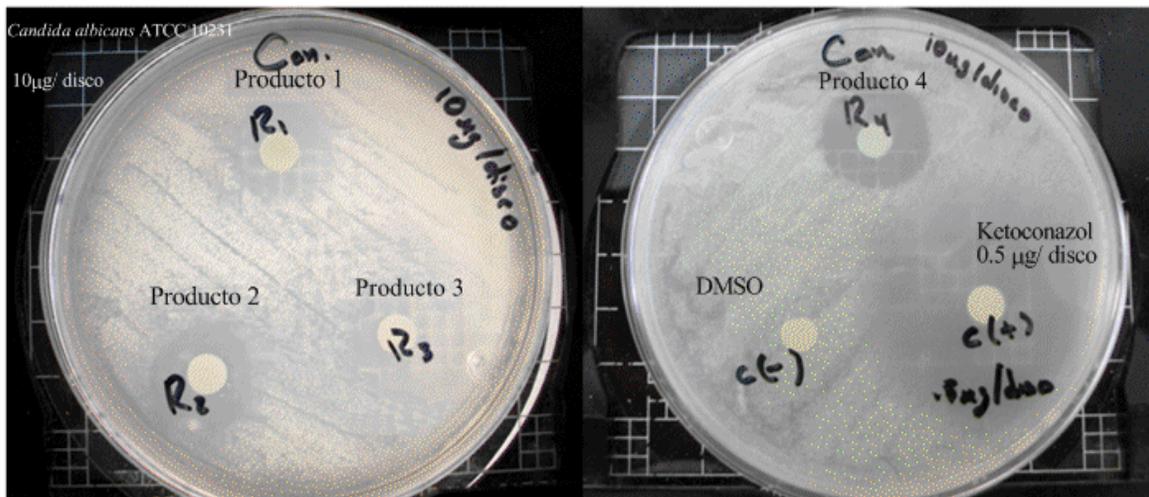


Figura 21.- Prueba de difusión en disco para los cuatro productos a una concentración de 10 g/disco frente a *C. albicans* DMSO como control [-] y como Control [+] Ketoconazol a una concentración de 0.5 g/disco

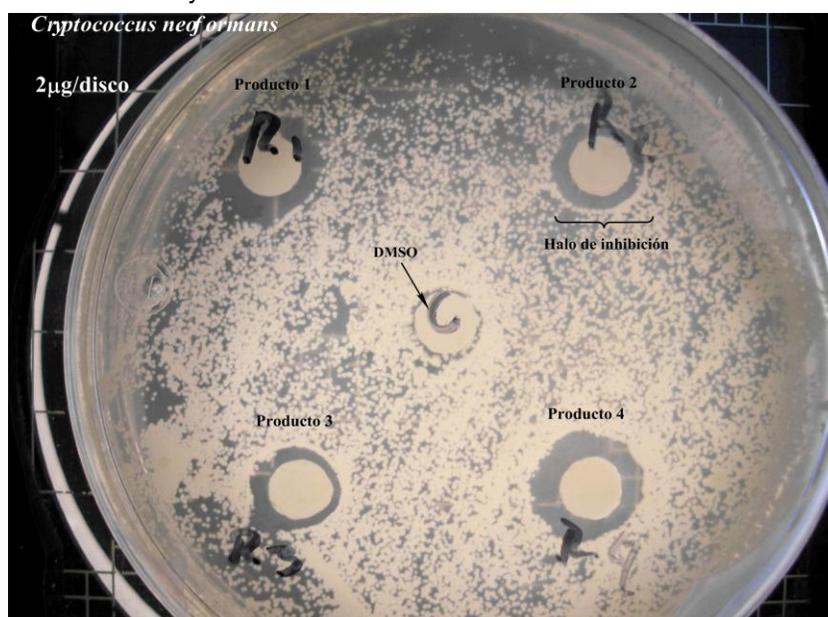


Figura 22.- Prueba de difusión en disco para los cuatro productos a una concentración de 2 g/disco y como control [-] DMSO frente a *C. neoformans*.

Por otro lado, en cuanto a la actividad antifúngica de los compuestos mencionados, con la prueba de difusión en disco, se estudia la sensibilidad de las levaduras contra los antifúngicos en función del halo de inhibición producido por la difusión de los productos sintetizados. Los resultados de esta prueba realizada contra *C. albicans* y *C. neoformans*, mostrados en la tabla 7, nos indican que todos los compuestos sintetizados presentan actividad contra estas cepas, siendo esta actividad, en todos los casos, menos marcada contra *C. albicans* (Figura 20) y más marcada en *C. neoformans* (Figura 22).

De los compuestos sintetizados el que mostró tener más actividad contra las levaduras evaluadas (*C. albicans* y *C. neoformans*) fue el compuesto 4, el cual mostró tener los halos de inhibición más grandes. Esto pudo deberse a la presencia de grupos fenilo que se encuentran como sustituyentes del grupo indólico presente en dicho compuesto, mientras que los compuestos 2 y 3 los cuales presentan un grupo



metilo dentro de su estructura mostraron una actividad semejante contra las levaduras, ya que el halo de inhibición de ambos fue el mismo contra *C. albicans* y casi el mismo contra *C. neoformans*, y puesto que esta actividad fue menor que la obtenida por el compuesto 1, el cual carece de sustituyentes en el grupo indólico, se puede suponer que el grupo metilo presente en el compuesto 2 y 3 debe provocar algún efecto negativo sobre la actividad antifúngica.

Cabe señalar que los disolventes y reactivos utilizados en la síntesis de los productos, también fueron evaluados contra *C. albicans* y *C. neoformans* para descartar su posible influencia.

La prueba de inhibición del crecimiento radial para hongos filamentosos, que en este caso fue *A. fumigatus*, se llevó a cabo a una concentración inicial de (2 µg/disco), y se probó posteriormente a (5 µg y 10 µg/disco). En la figura 23 se observa la evaluación de los productos a la concentración de 10 µg, y el control positivo que en este caso fue ketoconazol, el cual se probó a una concentración de (0.5 µg/disco).

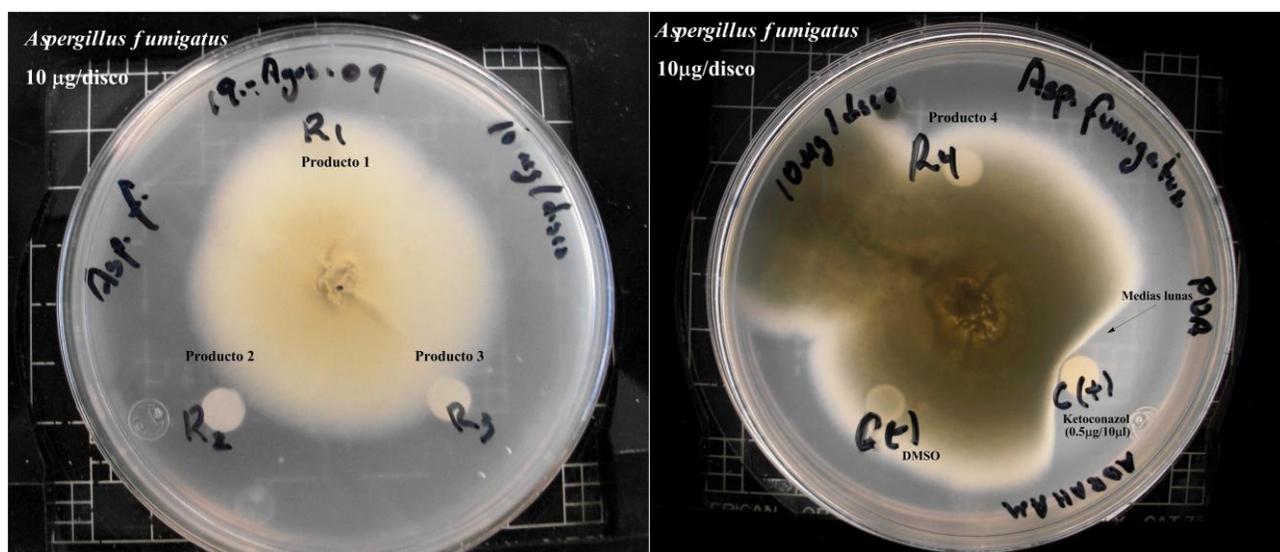


Figura 23.- Prueba de inhibición del crecimiento radial para los cuatro compuestos frente a *A. fumigatus* a (10 µg/disco).

En lo referente a la actividad contra los hongos filamentosos, se realizó el método de inhibición del crecimiento radial, haciendo una modificación al realizado por (Wang and Bun, 2002). En esta prueba se busca la formación de medias lunas con base al crecimiento radial del hongo filamentosos, lo cual nos indicaría cierta actividad contra este tipo de hongos. En esta ocasión, se tomó como hongo representativo de los hongos filamentosos al *Aspergillus fumigatus*, que es causante de la aspergilosis.

Los compuestos sintetizados se evaluaron contra esta cepa inicialmente a una concentración de 2µg y en la cual no se observó indicio alguno de inhibición, especialmente en la formación de las medias lunas. Posteriormente, se evaluaron los compuestos a una concentración de 5 y 10µg, los cuales al igual que la concentración anterior no presentaron la formación de medias lunas. En esta prueba se utilizó como control positivo el ketoconazol a una concentración de 0.5µg/10µL (Figura 23), ya que éste tiene una amplia difusión en el tratamiento de diferentes micosis, incluida la aspergilosis.



## Pruebas cuantitativas

De los resultados obtenidos en las pruebas cualitativas, se procedió a calcular la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los productos que presentaron actividad antifúngica. Se evaluaron los productos primeramente a concentraciones que comprendían los 5  $\mu\text{g}$  a los 3.5  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$ , sin obtener resultados apreciables. Posteriormente, se incrementaron las concentraciones de 6 a 9  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$  en las cuales se pudo observar la reducción del crecimiento de las colonias de *Candida albicans* y la inhibición total para *Cryptococcus neoformans*.

Las figuras 24 a 27, corresponden a la determinación de la CMI de los productos a concentraciones que van de los 6 a los 9  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$ . En la Figura 28 se puede observar los controles tanto positivo como negativo. Los resultados obtenidos para conocer la CMI de estas pruebas expresados en ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8.- Resultados obtenidos de las pruebas cuantitativas.			
Producto	Clave	CMI ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) <i>C. albicans</i> ATCC 10231	CMI ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) <i>C. neoformans</i>
1	P <sub>1</sub>	>900	$\leq 600$
2	P <sub>2</sub>	>900	$\leq 600$
3	P <sub>3</sub>	>900	$\leq 600$
4	P <sub>4</sub>	>900	$\leq 600$

Por otra parte, para tratar de calcular la CMI, la cual es definida como la concentración más baja de un fármaco o agente antimicótico que impide el crecimiento *in vitro* de un microorganismo. Se llevó a cabo la prueba de sensibilidad por dilución en agar, la cual se realizó inicialmente a concentraciones cercanas a los 2 $\mu\text{g}$  (que es la concentración utilizada en la prueba de difusión en disco). Las concentraciones probadas comprendieron el rango de 0.5 a 3.5 $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$ , sin embargo, no se observó ninguna actividad antifúngica a dichas concentraciones por parte de los compuestos ni tampoco se apreció alguna disminución en el número de las colonias o alteración morfológica de las mismas.

Estos resultados negativos de las concentraciones probadas inicialmente, posiblemente tuvieron lugar porque los datos obtenidos respecto a la prueba de difusión en disco no son representativos para poder obtener la CMI, ya que la prueba de difusión en disco sólo nos proporciona una aproximación de la CMI de los compuestos *in vitro*. En consecuencia, se procedió al aumento de las concentraciones de los



compuestos, sin embargo, para optimizar la cantidad de los compuestos que teníamos se procedió a evaluarlos a concentraciones que van de los 6 a 9  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$ .

Tomando esto como base, el compuesto 1, presentó una inhibición total a la concentración más baja valorada que fue de 6  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$  para *C. neoformans*, en contraste, para *C. albicans* sólo se presentó una reducción del crecimiento comparándose la concentración inicial de 6  $\mu\text{g}$  con la final de 9  $\mu\text{g}$ . (Figura 24). Con base a la evaluación registrada anteriormente en la que se tomó un intervalo de concentración 0.5 a 3.5  $\mu\text{g}$  en la cual no se mostró ninguna actividad visible, se puede indicar que la CMI de el producto 1 respecto a *C. neoformans* se encuentra en un intervalo comprendido entre 400-600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , mientras que la CMI de este mismo producto respecto a *C. albicans* se encuentra por encima de los 900  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

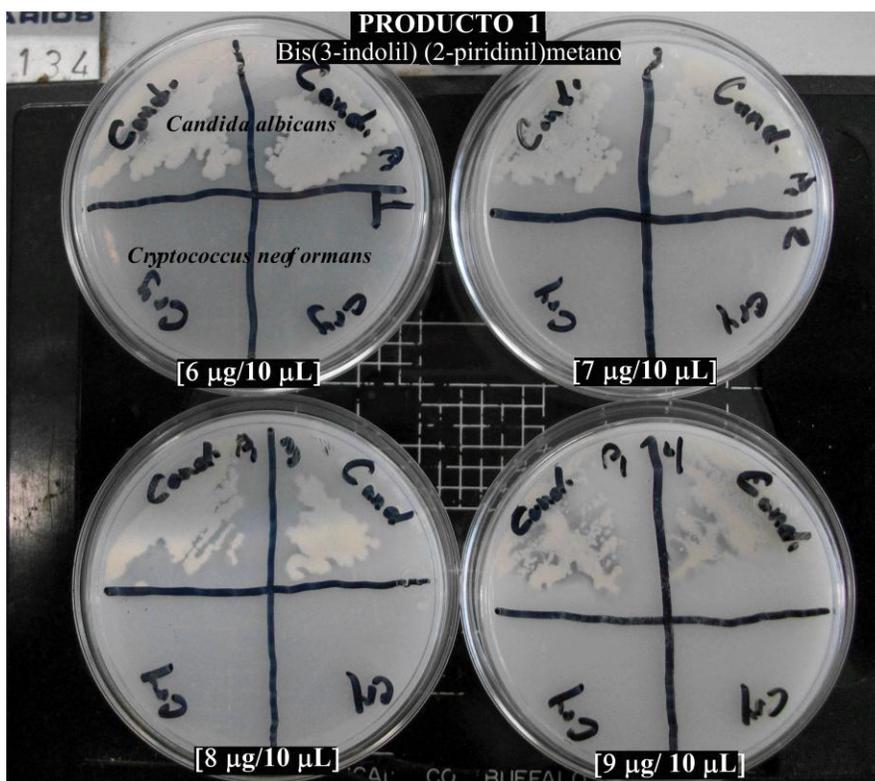
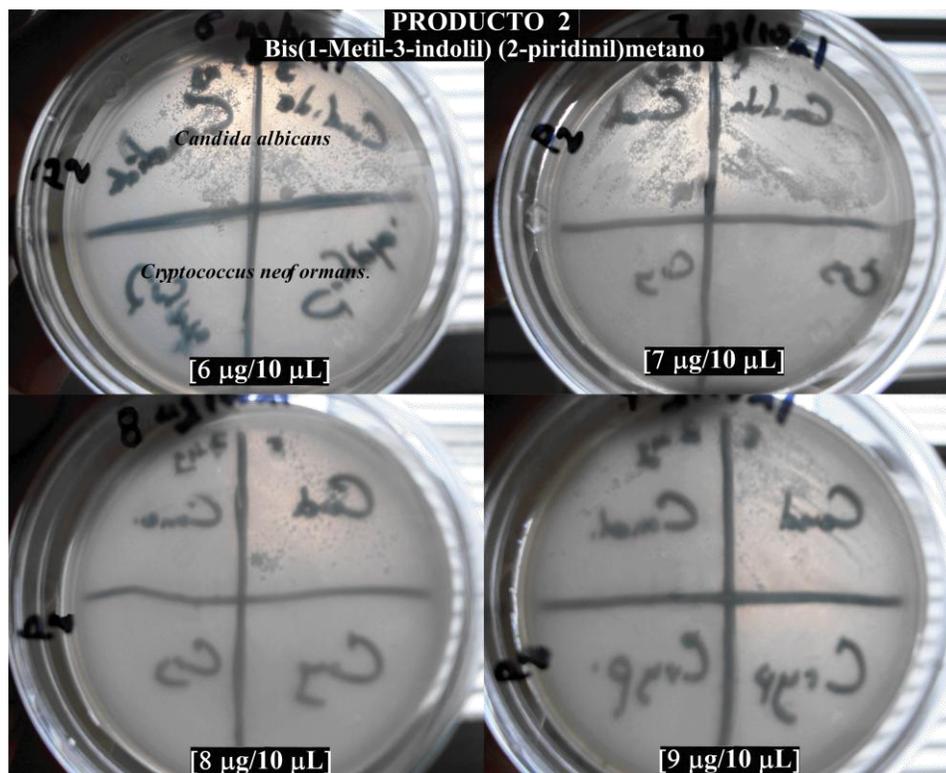


Figura 24.- Prueba de sensibilidad por difusión en agar para el producto 1, contra *C. albicans* ATCC (10231) y *C. neoformans* para la determinación de la CMI, a concentraciones de 6 a 9  $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$ .

En el caso del compuesto 2, éste también mostró una inhibición total a la concentración más pequeña evaluada que fue de 6  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$  para *C. neoformans*; mientras que, para *C. albicans* se observa una inhibición casi total a la concentración más alta que es de 9  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$  (Figura 25). De igual manera debido al resultado negativo del intervalo de concentración 0.5 a 3.5  $\mu\text{g}$ , se puede indicar que la CMI del producto 2 respecto a *C. neoformans*, se encuentra en un rango entre 400-600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , a diferencia de *C. albicans* cuyo resultado nos revela que la CMI está cercana a 900  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .





*Figura 25.- Prueba de sensibilidad por difusión en agar para el producto 2, contra C. albicans ATCC (10231) y C. neoformans para la determinación de la CMI, a concentraciones de 6 a 9 g/10 L.*

El compuesto 3, presenta una inhibición total respecto a *C. neoformans* a la concentración más baja evaluada que fue de  $6\mu\text{g}/10\mu\text{L}$ ; en cambio, para *C. albicans* sólo se observa una disminución gradual en el número de colonias, no llegándose a observar la inhibición total (Figura 26). Así, en base a los resultados de la evaluación anterior y de esta última se puede decir que la CMI del producto 3 respecto a *C. neoformans* se encuentra establecida entre las concentraciones que van de  $400\text{-}600\mu\text{g}/\text{mL}$ ; mientras que, la CMI respecto a *C. albicans* no se pudo establecer siendo ésta mayor a  $900\mu\text{g}/\text{mL}$  la cual fue la concentración más alta evaluada.

En lo que respecta al compuesto 4, igualmente tuvo una inhibición total para *C. neoformans* a la más baja concentración evaluada  $6\mu\text{g}/10\mu\text{L}$ . Al igual que los compuestos anteriores la CMI respecto a *C. neoformans* se encuentra establecida dentro del rango de  $400\text{-}600\mu\text{g}/\text{mL}$ . A diferencia de *C. albicans*, la cual presenta la disminución tanto en el número de colonias así como en el tamaño de las mismas, la cual es visible comparando la concentración inicial y final evaluadas. La inhibición presentada por el compuesto 4 fue casi total para *C. albicans* a la más alta concentración evaluada que fue de  $900\mu\text{g}/\text{mL}$ , por lo que se puede advertir que la CMI respecto a *C. albicans* se encuentra muy cercana a ésta (Figura 27).



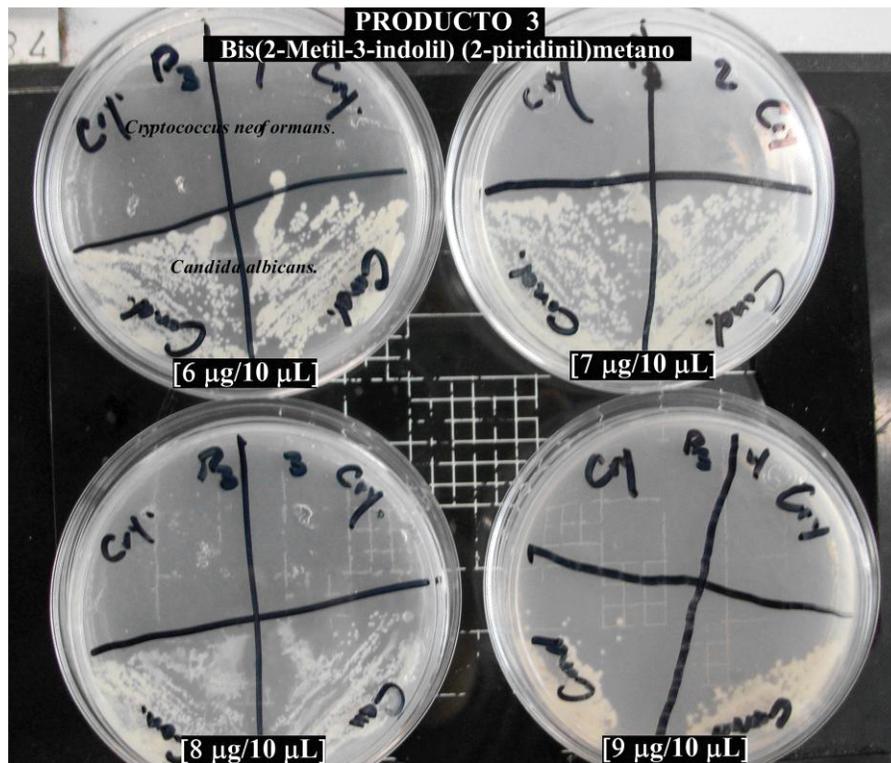


Figura 26.- Prueba de sensibilidad por difusión en agar para el producto 3, contra *C. albicans* ATCC (10231) y *C. neoformans* para la determinación de la CMI, a concentraciones de 6 a 9 g/10 L.

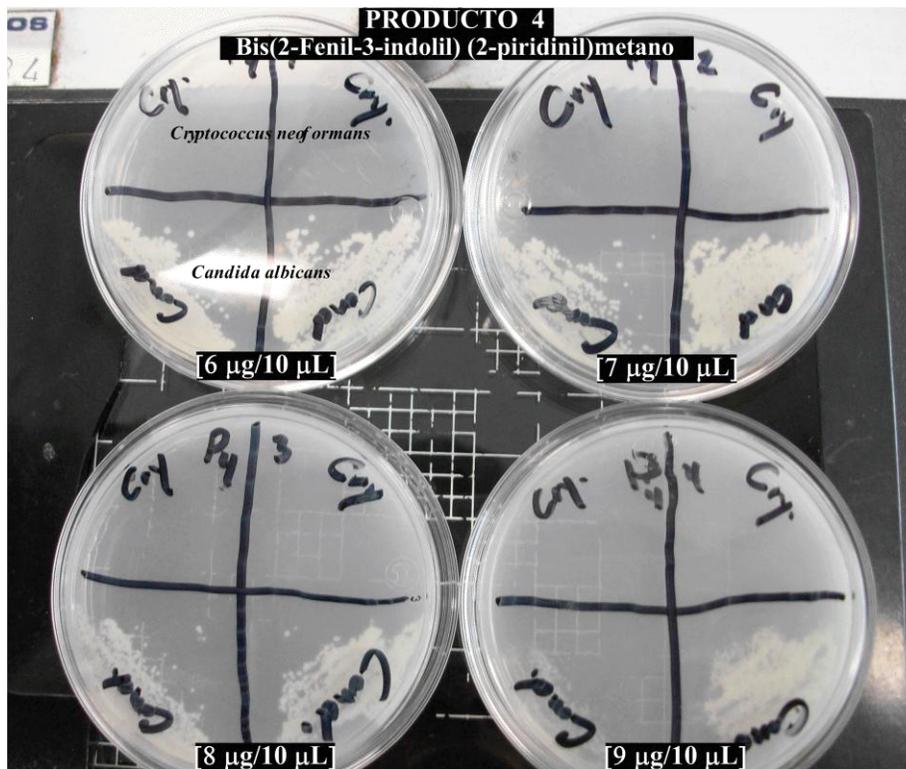
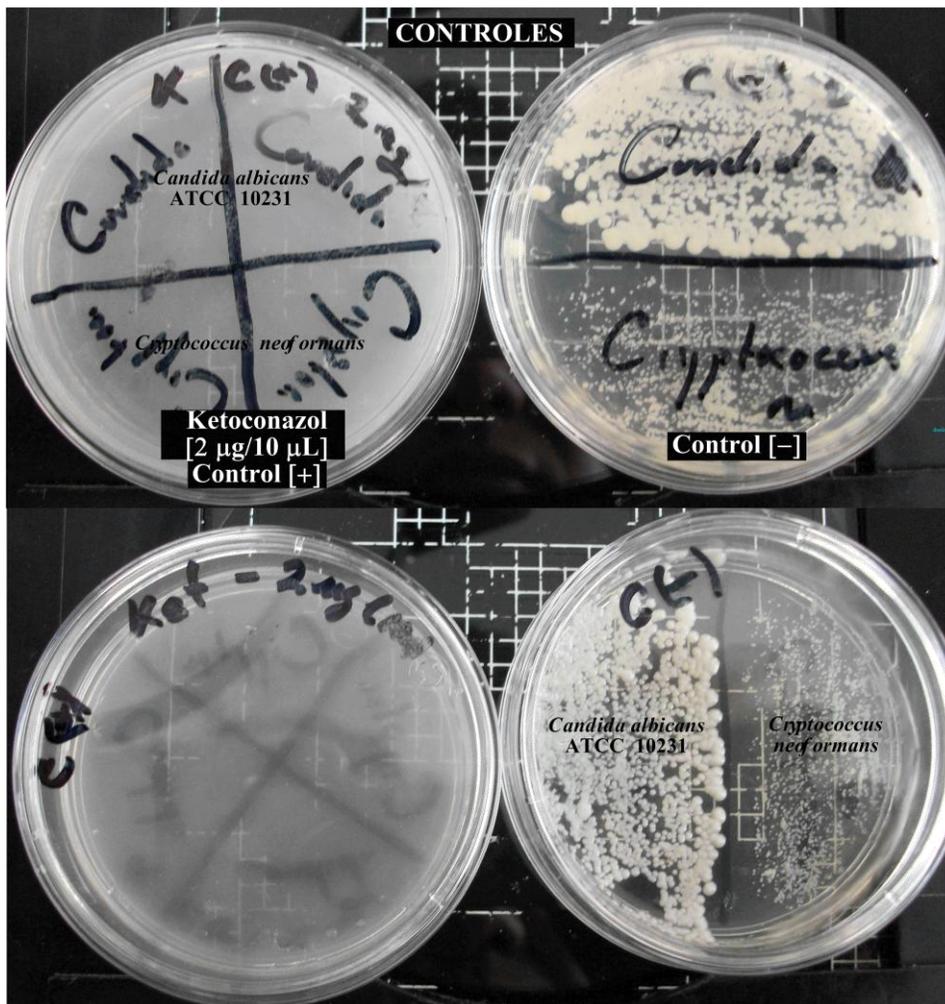


Figura 27.- Prueba de sensibilidad por difusión en agar para el producto 4, contra *C. albicans* ATCC (10231) y *C. neoformans* para la determinación de la CMI, a concentraciones de 6 a 9 g/10 L.





*Figura 28.- Control positivo (Ketoconazol 2 g/10 L) y control negativo (sin compuesto a evaluar), para ambas levaduras (Candida albicans y Cryptococcus neoformans)*

Conforme a lo expuesto, se puede deducir que todos los compuestos sintetizados tienen una actividad antifúngica similar con respecto a *C. neoformans*, ya que todos presentaron una inhibición total a 6 µg/10µL; mientras que para *C. albicans* todos presentaron disminución en el crecimiento. De éstos los productos 2, 3 y 4, presentaron mayor actividad, lo cual provocó una mayor reducción en el crecimiento de las colonias, y en algunos casos se observó la disminución en el tamaño de las mismas (como en el caso del producto 4), lo que puede ser indicio de un cambio morfológico en la estructura del hongo.

Esta diferencia entre la concentración obtenida en la prueba de difusión en disco (2 µg/10µL), en comparación, con la concentración obtenida en la prueba de dilución en agar (6 µg/10µL), posiblemente, ocurrió debido a que como se mencionó los resultados de las pruebas cualitativas no son representativos.

Finalmente, con base a los datos previamente expuestos, se puede deducir que el método de síntesis empleado fue favorable, puesto que en todos los casos se llegó a la formación de los compuestos



conforme a los análisis espectroscópicos realizados. Asimismo, se puede advertir que con el uso de la bentonita, así como de la energía de microondas, provocaron que las reacciones se realizarán en poco tiempo, y en las cuales se redujo el uso de disolventes, así como se pudo prescindir del uso de catalizadores nocivos lo que en consecuencia provocó la disminución de costos, por lo que este método de síntesis contribuye a la conservación del medio ambiente, siguiendo con esto algunos postulados de la “Química Verde”.

De esta manera, la evaluación de la actividad antifúngica de los compuestos, presentó actividad contra levaduras, en contraste con los hongos filamentosos en los cuales no se mostró actividad. Esta actividad contra levaduras no representa una actividad antifúngica importante comparada con los antifúngicos comerciales ya existentes. Sin embargo, estos compuestos si representan una opción para la investigación y desarrollo de nuevos antifúngicos, ya que existen antecedentes en los cuales a partir de metabolitos obtenidos de plantas de la familia de las crucíferas llamados fitoalexinas (que en su mayoría son derivados indólicos), en los cuales se evaluó su actividad antifúngica con resultados alentadores.<sup>40</sup>



# CONCLUSIONES

## Conclusiones

- Se logró la síntesis de compuestos derivados del piridinildiindolilmetano usando una arcilla bentonítica como catalizador, en ausencia de disolventes y la aplicación de microondas como fuente de activación.
- Con base a lo anterior se puede concluir que el método de síntesis empleado es, una alternativa para la síntesis de diindolilmetanos, siendo ésta una opción económica al minimizar el uso de disolventes, además es segura al eliminar el uso de catalizadores tóxicos, así como eficiente y rápida, puesto que los tiempos de reacción fueron cortos en comparación con los citados en la literatura.
- Se logró la purificación de los compuestos derivados del piridinildiindolilmetano y su caracterización mediante técnicas espectroscópicas (RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) a pesar de las impurezas encontradas en los disolventes.
- Se pudo indicar mediante la técnica de difusión en disco, la sensibilidad que presentaron las levaduras *C. albicans* y *C. neoformans* a los compuestos sintetizados, no observando ninguna actividad para hongos filamentosos (*A. fumigatus*).
- Se pudo establecer mediante pruebas de sensibilidad en dilución en agar la CMI contra *C. neoformans* que fue menor a  $600\mu\text{g/mL}$  para todos los compuestos, sin embargo, no fue posible calcularla para *C. albicans*, ya que sólo se pudo realizar una aproximación a ésta que fue mayor a  $900\mu\text{g/mL}$ .
- Finalmente, de la presente investigación se propone realizar estudios de alteración morfológica, así como estudios de sensibilidad contra bacterias y otras cepas de hongos a los compuestos sintetizados.



# REFERENCIAS

## Referencias

1. Lumbreras C.; Lizasoain, M. y Aguado, J.M. “Antifúngicos de uso sistémico”, *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2003, 21(7), pp. 366-380.
2. Carrillo-Muñoz, A.J.; Brió, S; Quindós, G. “Una nueva generación de fármacos antifúngicos”, *Rev Iberoam Micol*, 2001, 18, pp. 2-5.
3. Carrillo-Muñoz A.J.; Giusiano, G.; Ecurra, P.A. and Quindós, G. “Antifungal agents: Mode of action in yeast cells”, *Rev Esp Quimioterap*, 2006, 19(2), pp. 130-139.
4. Teixeira D., Marta; Figueira, G.M.; Sartoratto, A. et al. “Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants”, *J Ethnopharmacol*, 2005, 97, pp. 305-311.
5. Higdon, J.V.; Williams, D. E. et al. “Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis”, *Pharm Res*, 2007, 55(3), pp. 224-236.
6. Nachshon-Kedmi, M.; Yannai, S.; Haj, A. and Fares, F.A. “Indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane induce apoptosis in human prostate cancer cells”, *Food Chem Toxicol*, 2003, 41(6), pp. 745-752.
7. Penieres-Carrillo, José G.; García-Estrada, J. G., et al. “Infrared-assisted eco-friendly selective synthesis of diindolylmethanes”, *Green Chem*, 2003, 5(3), pp. 337-339.
8. [http://www.epa.gov/greenchemistry/pubs/epa\\_gc.html#history](http://www.epa.gov/greenchemistry/pubs/epa_gc.html#history) (extraído el 2 de febrero de 2010, 20.15 hs.).
9. Anastas, P. T. and Warner, J. C. *Green Chemistry: Theory and Practice*, New York: Oxford University Press, 1998, p.30
10. Laguna A., Sandra M. “Síntesis de diindolilalcanos empleando microondas como fuente de energía y una arcilla mexicana como catalizador”, Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México, 2005.
11. Flores C., Alejandra. “Reacción de Perezona en medio seco y con una arcilla bentonítica”, Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México, 2001.
12. Gutiérrez R., José L. “Síntesis selectiva de diindolilmetanos”, Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México, 2000.
13. López C., José G. “Una síntesis rápida y económica de difenilmetanos, bifenilos y análogos respectivos”, Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México, 1997.



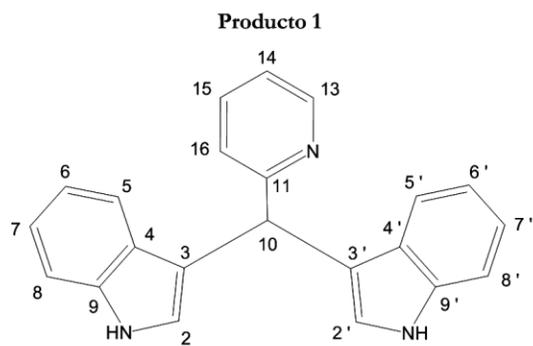
14. Penieres-Carrillo, José G.; García, O; Franco, K. et al. "A modification to the Hantzsch method to obtain pyridines in an one-pot reaction: use of a bentonitic clay in a dry medium", *Heterocycl Commun*, 1996, 2(4), pp. 359-360.
15. Bailey E. Alton. *Aceites y grasas industriales*, Barcelona, Reverte 1984.
16. Valenzuela Calahorro, Cristobal. *Química general: Introducción a la química teórica*, Salamanca: Universidad de Salamanca, 1995.
17. McMurry, John. *Química orgánica*, 6ª ed., México D.F.: International Thomson, 2005.
18. <http://www.explicame.org/content/view/39/30/1/1/> (extraído el 18 de febrero del 2010).
19. Carballido R., M<sup>a</sup> Raquel. "Síntesis asistida por microondas de compuestos de interés biológico e industrial: haloarenos, fulvenos, tricloropirrolidonas, azoles y flavonoides. Modelado de espectros de absorción electrónica de flavonoides". Tesis doctoral, Santiago de Compostela-España: Universidad de Santiago de Compostela, 2008.
20. Ege, Seyhan N. *Química orgánica*, Tomo II; Barcelona-México D.F.: Reverte; 2000.
21. Beyer, Hans and Walter, Wolfgang. *Manual de química orgánica*; Barcelona-México D.F.: Reverte, 1987.
22. Paquette, Leo A. *Fundamentos de química heterocíclica*, México D.F.: Limusa, 2005.
23. Humphrey R. Guy and Jeffrey Kuethe T. J. "Practical Methodologies for the Synthesis of Indoles", *Chem. Rev.*, 2006, 106(7), pp. 2875-2911.
24. Weininger, Stephen J. and Stermitz, Frank R. *Química orgánica*, Barcelona-México D.F.: Reverte, 1988.
25. Morrison, R. Thornton and Boyd, R. Neilson. *Química orgánica*, 5ª ed., México D.F.: Addison-Wesley Longman, 1998.
26. Da-Zhi, Chen; Mei, Qi; Karen J., Auburn and Timothy, H. C. "Indole-3-Carbinol and Diindolylmethane Induce Apoptosis of Human Cervical Cancer Cells and in Murine HPV16-Transgenic Preneoplastic Cervical Epithelium", *J Nutr*, 2001, 131, pp. 3294 -3302.
27. Kamal, A. and Qureshi, A. "Synthesis of some substituted di-indolylmethanes in aqueous medium at room temperature", *Tetrahedron*, 1963, 19(4), pp. 513-520.
28. Chakrabarty M.; Karmakar S. and Harigaya Y. "First Isolation of Both Indolylcarbinols and Diindolylalkanes from Microwave-assisted Acid (Clay)-catalysed Reaction of Indoles with Diethyl Ketomalonate", *Heterocycles*, 2005, 65(2), pp. 37-48.



29. Jackson, Anthony H.; Prasitpan, Noojaree R., et al. "Electrophilic substitution in indoles. Part 15. The reaction between methylenediindoles and *p*-nitrobenzenediazonium fluoroborate", *J Chem Soc Perkin Trans 1*, 1987, pp. 2543–2551.
30. Tay-Zavala, Jorge. *Microbiología y parasitología médicas*, México D.F.: Méndez, 2003.
31. Bonifaz Trujillo, J. Alejandro. *Micología médica básica*, México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana, 2010
32. López Martínez, Rubén et al. *Micología médica: procedimientos para el diagnóstico de laboratorio*; México D.F.: Trillas, 2004.
33. Sánchez Vega, J. Trinidad and Tay-Zavala, Jorge. *Fundamentos de microbiología y parasitología medicas*, México D.F.: Méndez, 2003.
34. Arenas G., Roberto. *Micología médica ilustrada*, México D.F.: McGraw-Hill Interamericana, 2008.
35. Andriole T., Vincent. "Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal agents", *J Antimicrob Chemother*, 1999, 44, pp. 151–162.
36. Ausina R., Vicente; Moreno G., Santiago; Alvar E., Jorge (cord). *Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, Madrid: Médica Panamericana, 2006.
37. Murray R., Patrick; Rosenthal S., Ken and Pfaller, Michael A. *Microbiología médica*, Madrid: Elsevier, 2006.
38. Gennaro R., Alfonso (edit). *Remington farmacia*, Trad. Belluci Sebastian, 20<sup>a</sup> ed, Buenos Aires–México: Medica Panamericana, 2003.
39. Pemán J., Martín-Mazuelos E. Rubio C. *Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica*, Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología, 2001.
40. Pedras, M.S.C; Sarwar, M.G.; Suchy, Mojmir et al. "The phytoalexins from cauliflower, caulilexins A, B and C: Isolation, structure determination, syntheses and antifungal activity", *Phytochemistry*, 2006, 67, pp. 1503–1509.



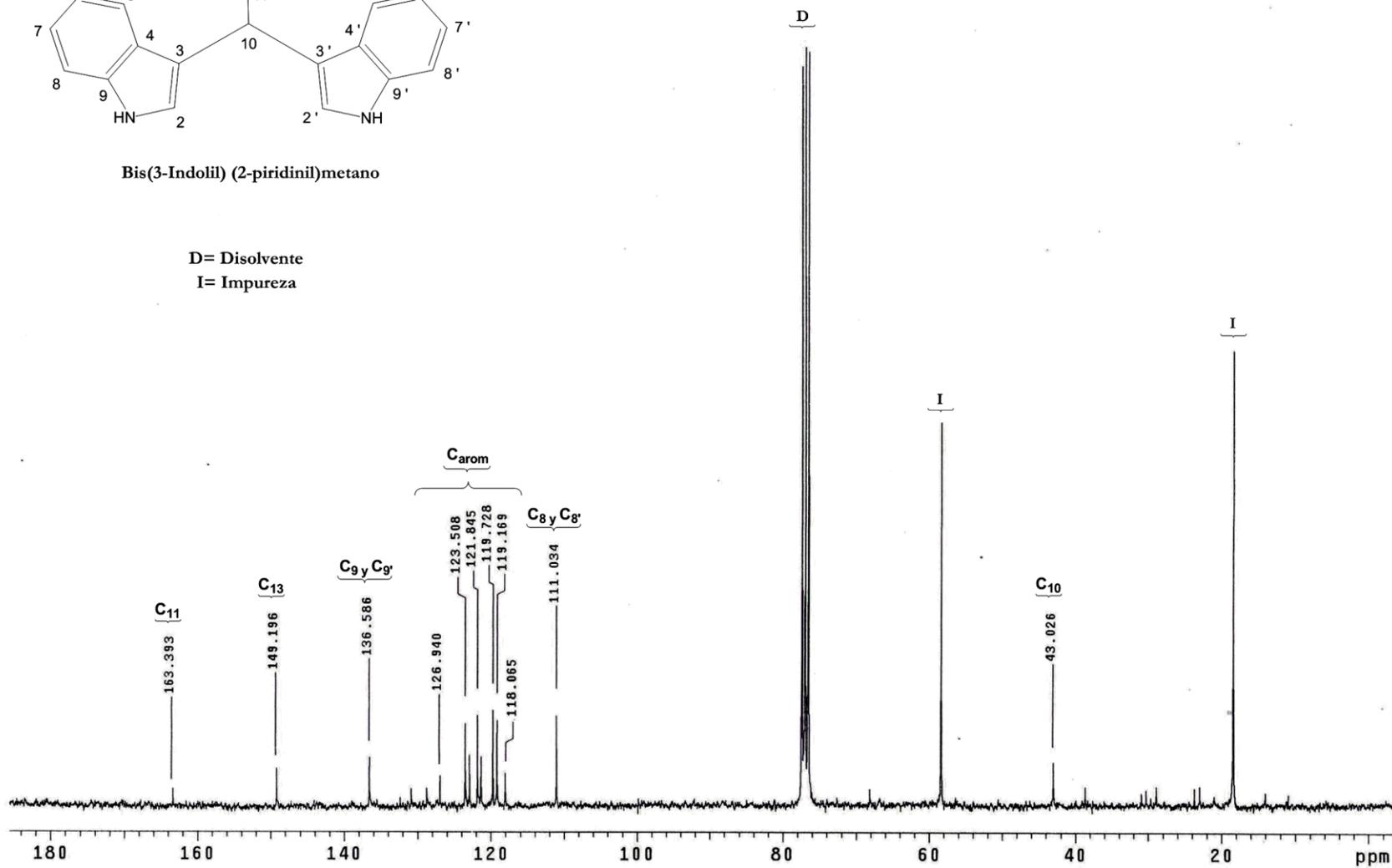
# APÉNDICE



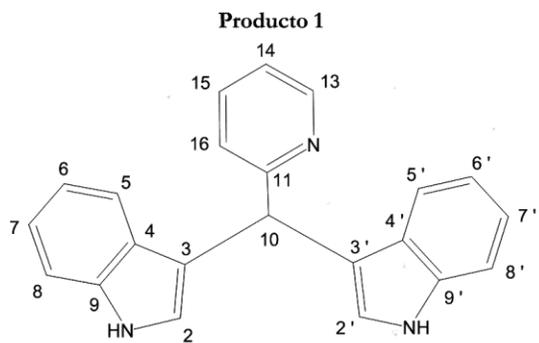
Bis(3-Indolil) (2-piridinil)metano

D= Disolvente  
I= Impureza

~ 69 ~



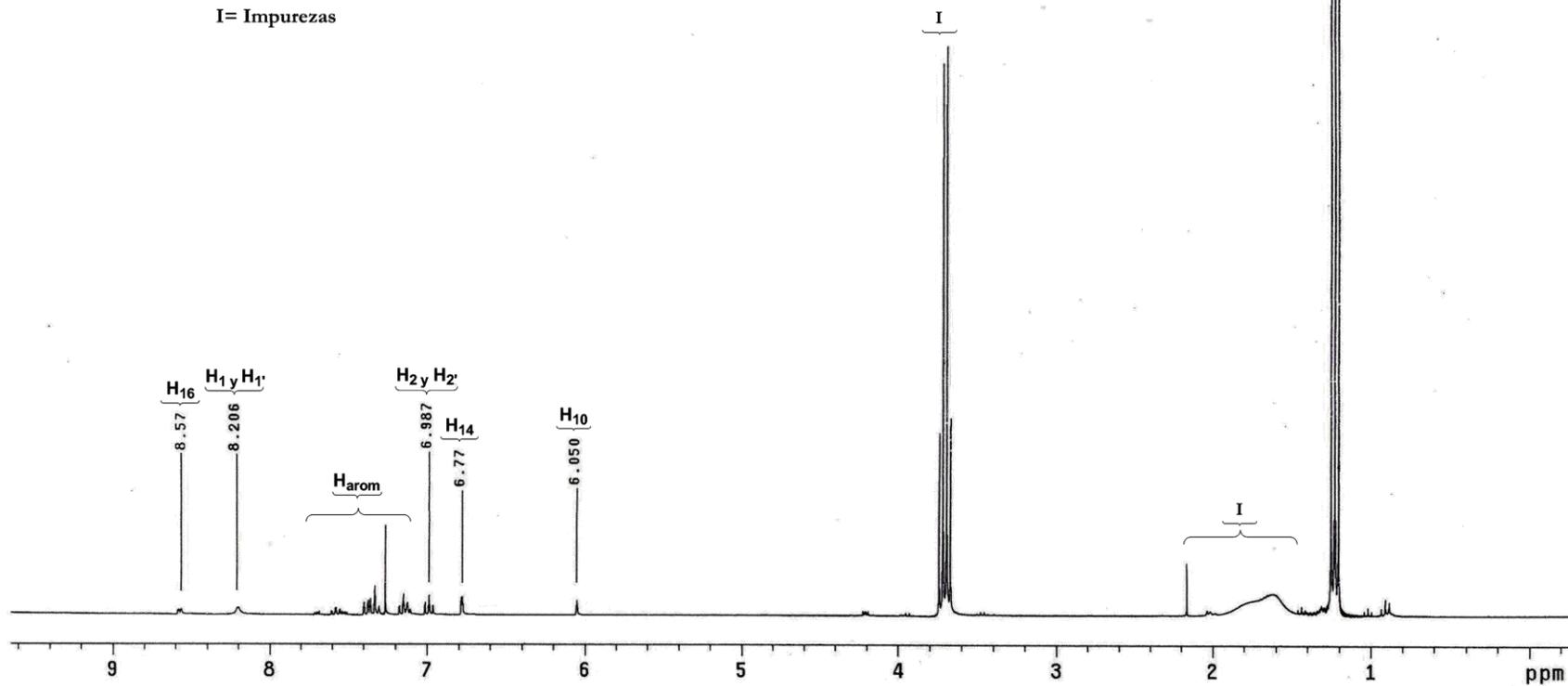
RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) para el Producto 1  
ESPECTRO 1



Bis(3-Indolil) (2-piridinil)metano

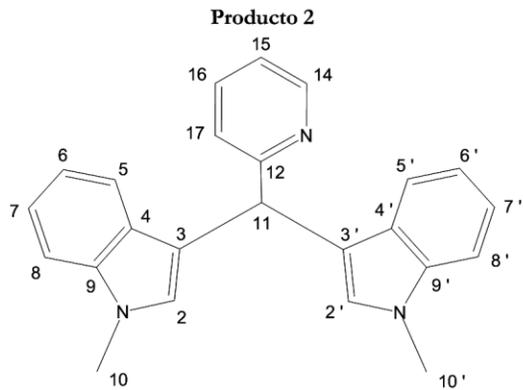
I= Impurezas

~ 70 ~

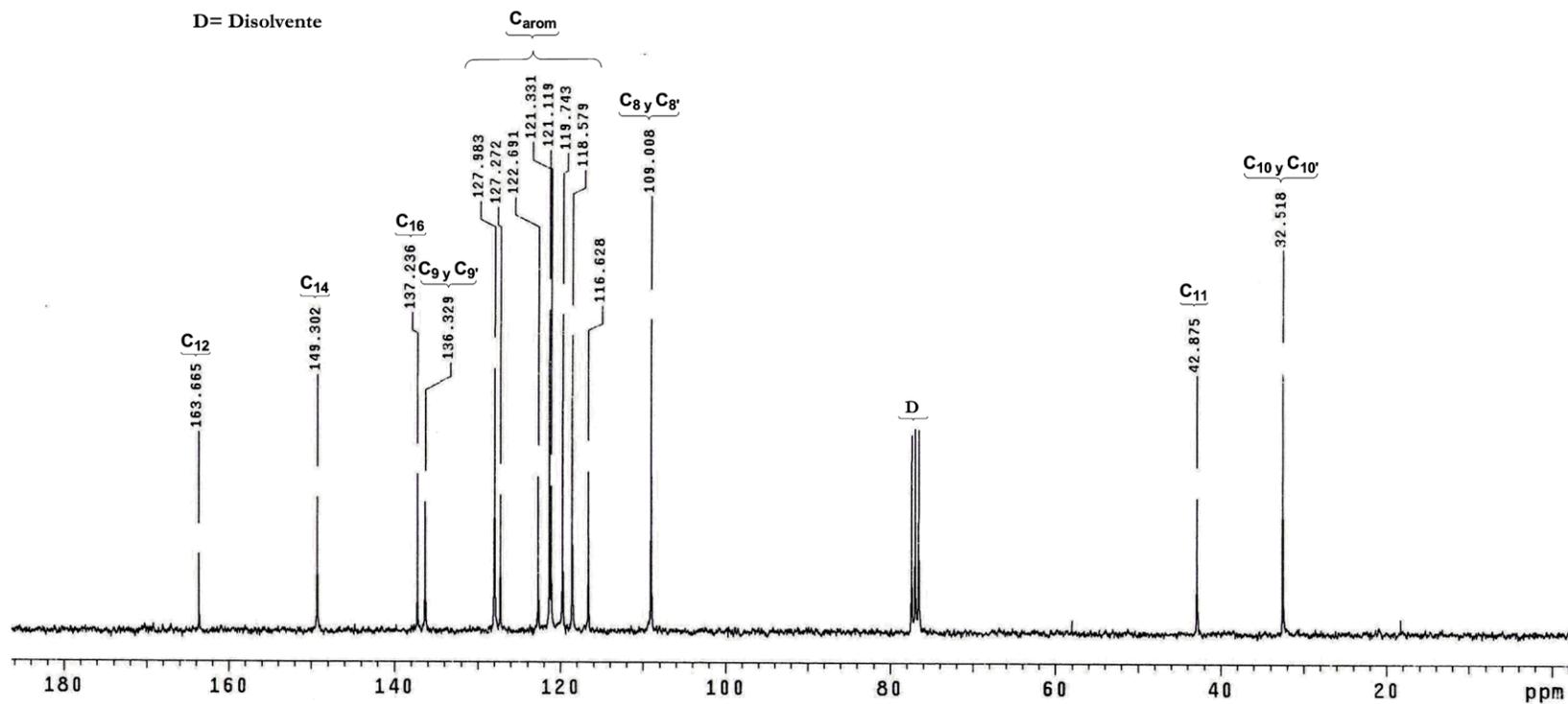


RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) para el Producto 1

ESPECTRO 2



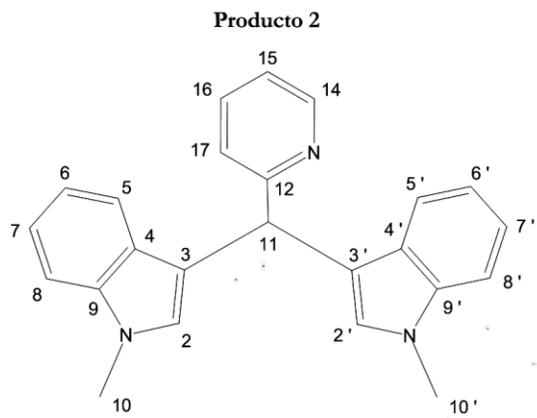
Bis(1-Metil-3-indolil) (2-piridinil)metano



RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) para el Producto 2

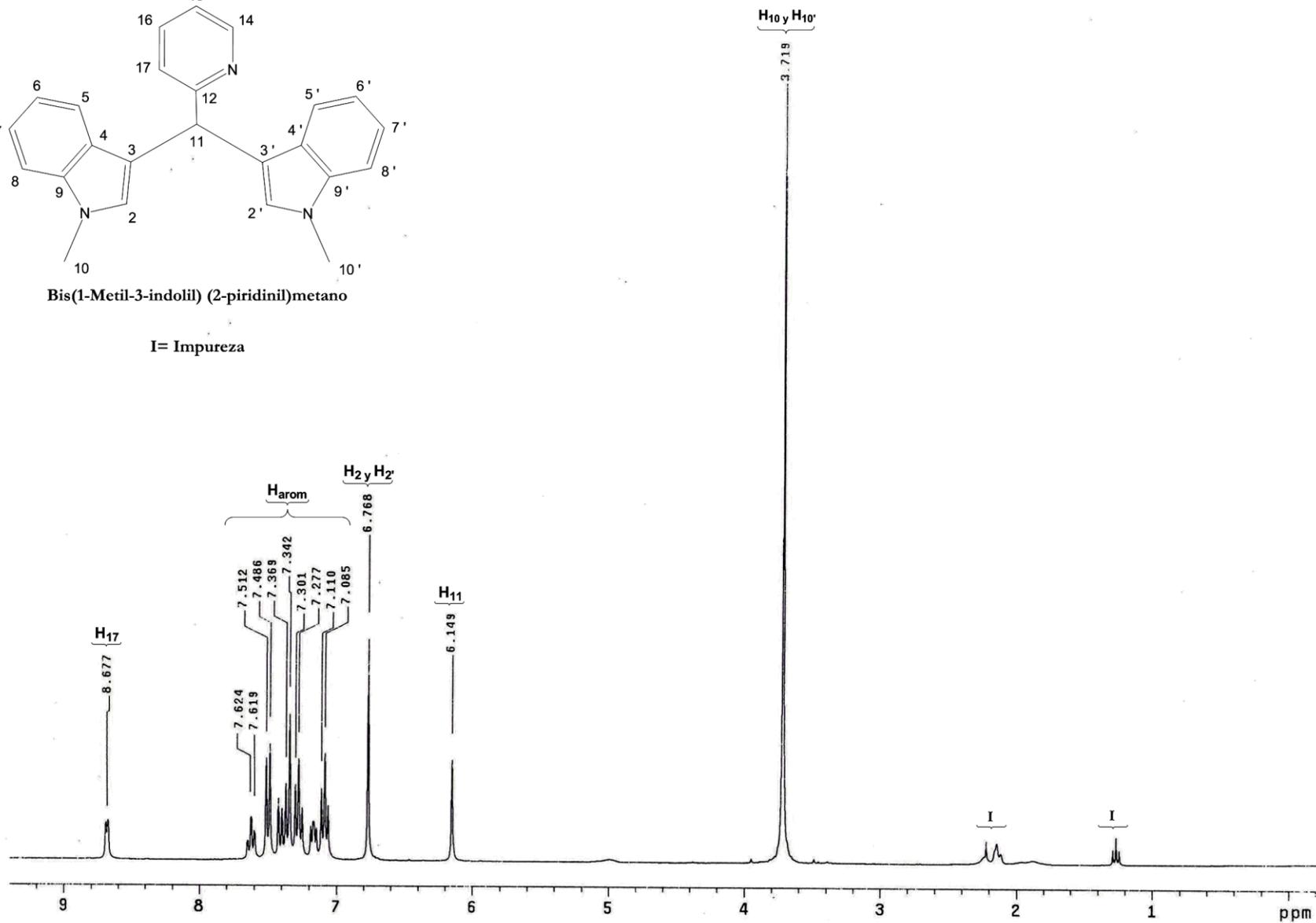
ESPECTRO 3

~ 71 ~



Bis(1-Metil-3-indolil) (2-piridinil)metano

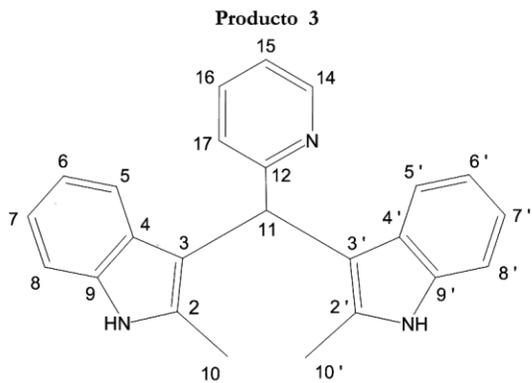
I= Impureza



RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) para el Producto 2

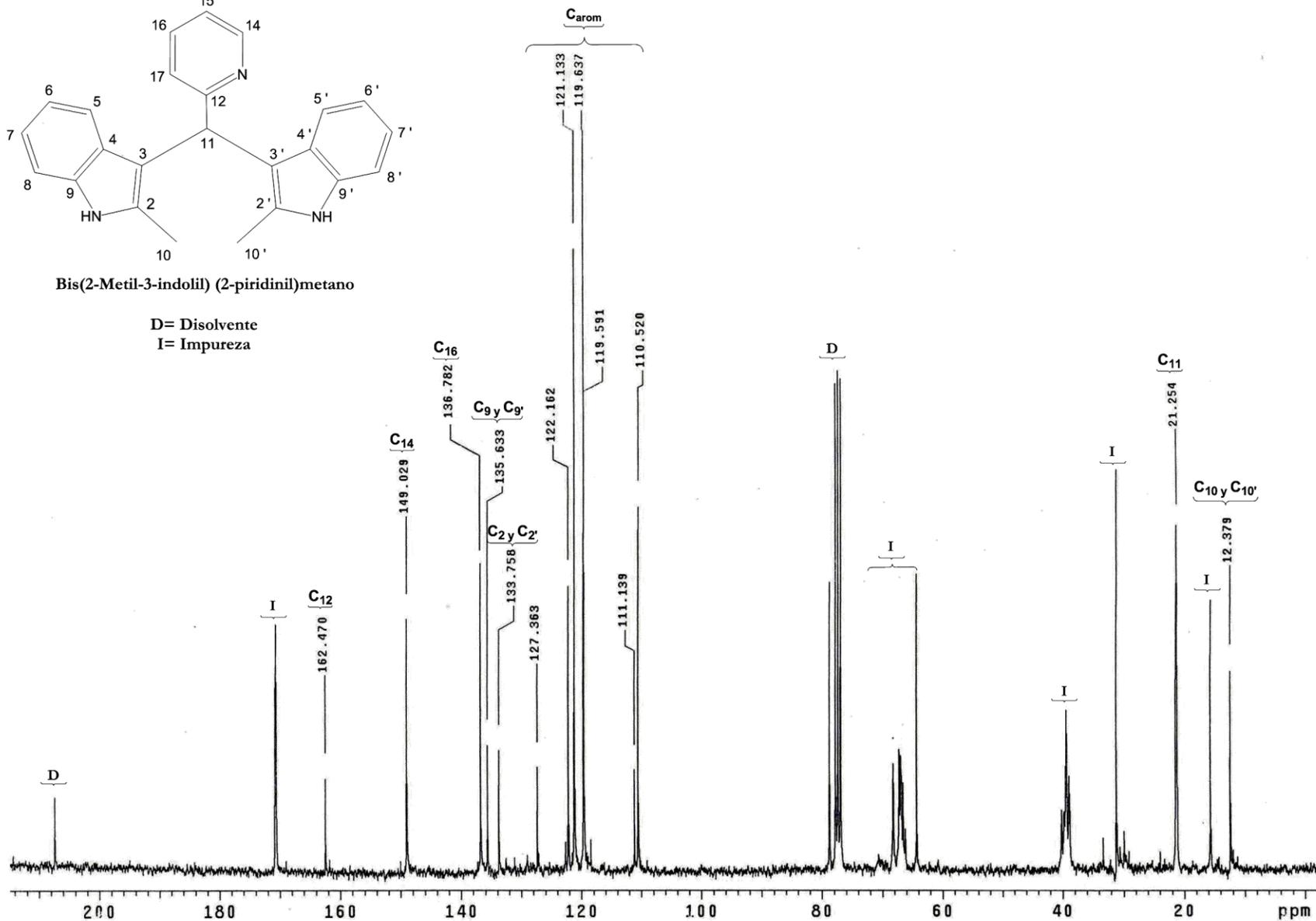
ESPECTRO 4

~72~



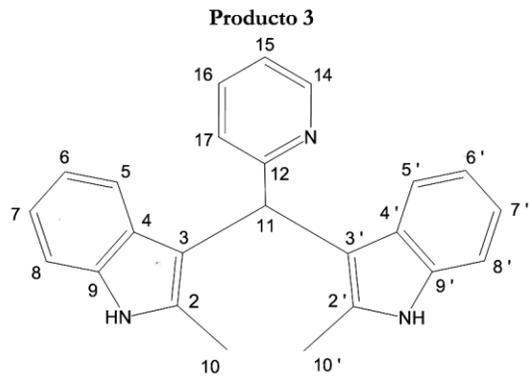
Bis(2-Metil-3-indolil) (2-piridinil)metano

D= Disolvente  
I= Impureza



RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) para el Producto 3

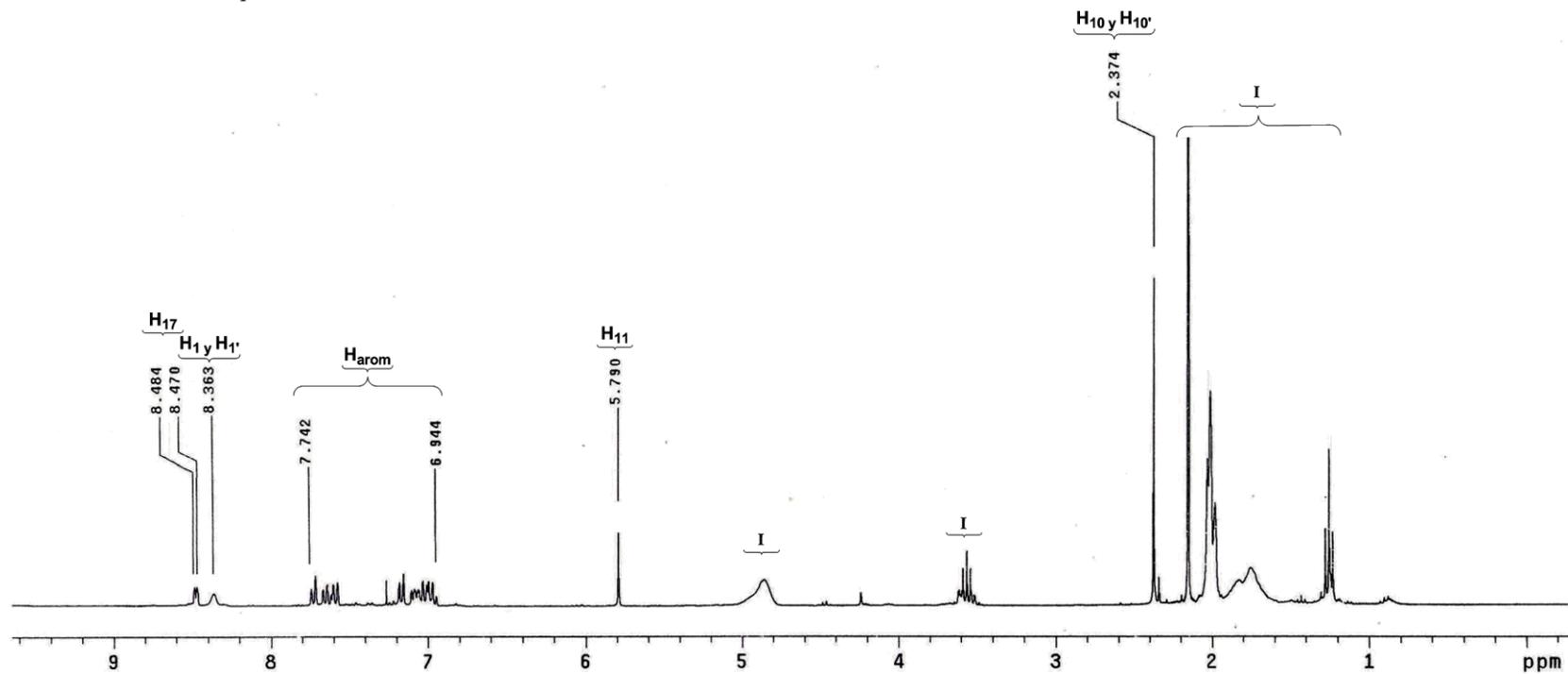
**ESPECTRO 5**



Bis(2-Metil-3-indolil) (2-piridinil)metano

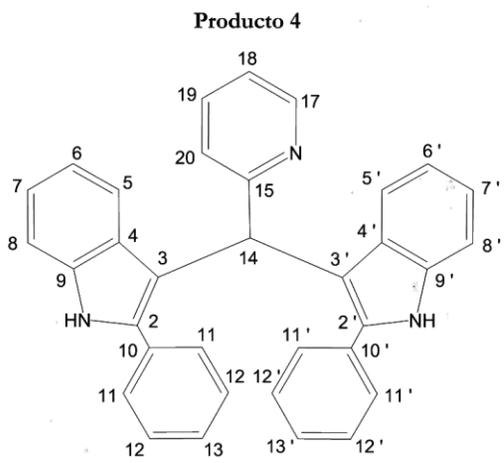
I= Impurezas

~74~



RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) para el Producto 3

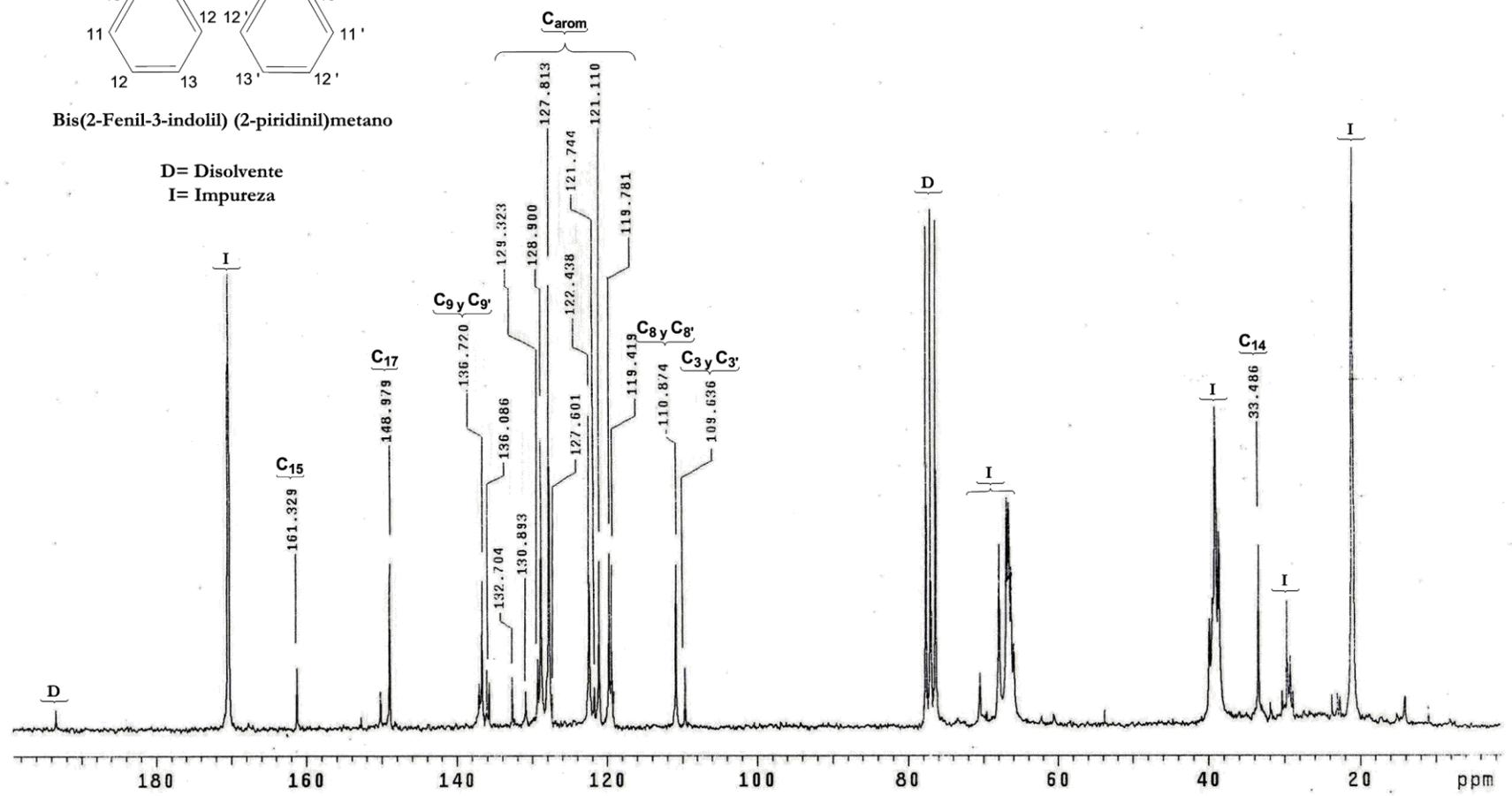
**ESPECTRO 6**



Bis(2-Fenil-3-indolil) (2-piridinil)metano

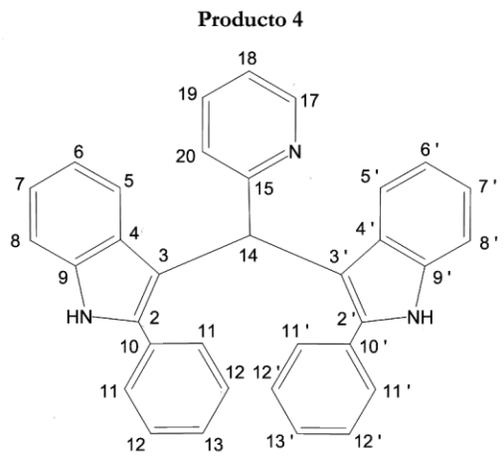
D= Disolvente  
I= Impureza

~ 75 ~



RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) para el Producto 4

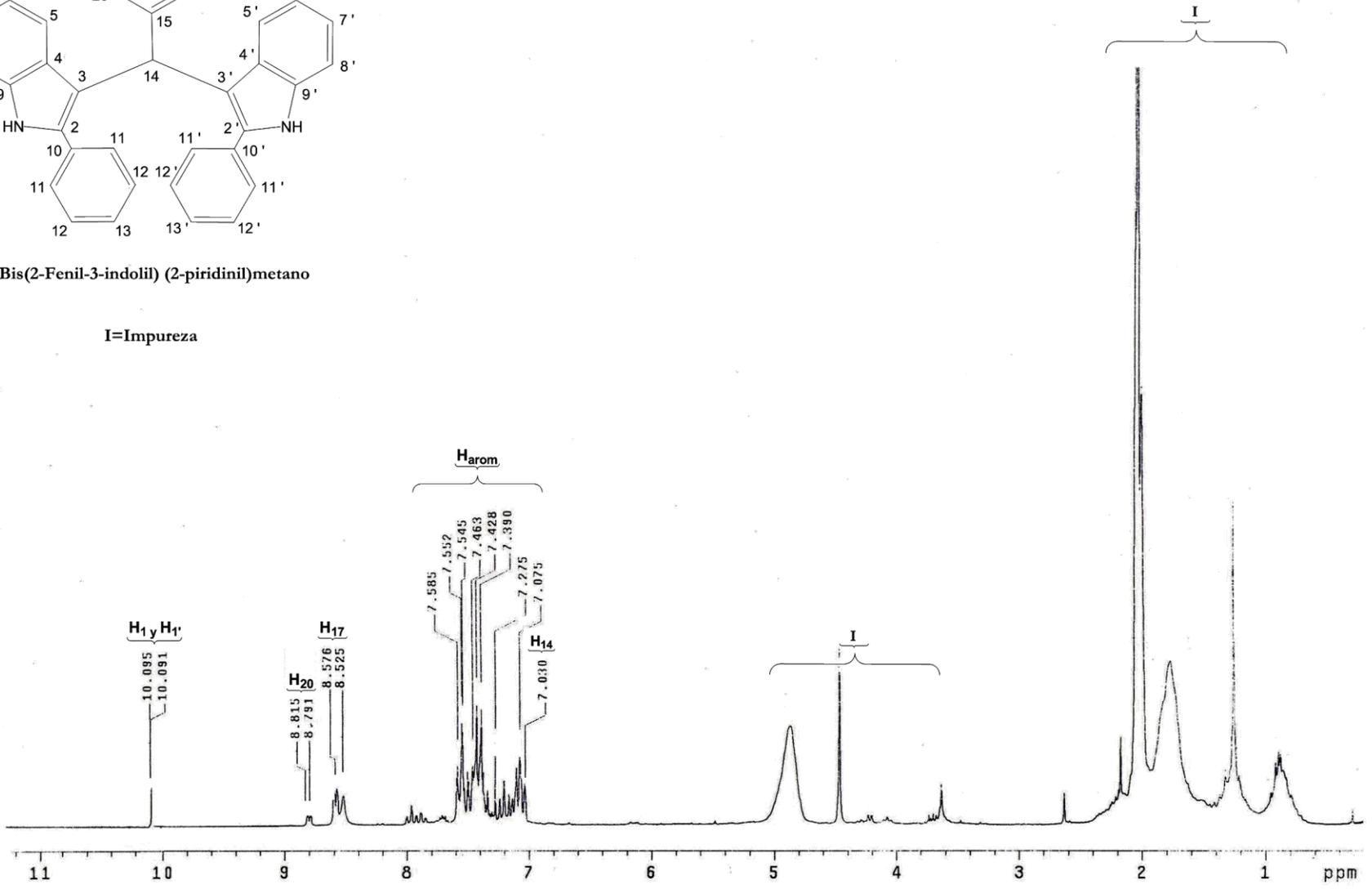
ESPECTRO 7



Bis(2-Fenil-3-indolil) (2-piridinil)metano

I=Impureza

~ 76



RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) para el Producto 4

**ESPECTRO 8**