



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Síntesis de nuevos compuestos de tipo híbrido pirazolina-
diindolilmetano y evaluación de su actividad biológica”

TESIS

Que para obtener el título de Licenciado en Química

Presenta

Alejandro Martínez Zaldívar

Asesor: Dr. José Guillermo Penieres Carrillo

Coasesor externo: Dr. Ricardo Alfredo Luna Mora

Coasesor: Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez

Coasesor: M. C. Nelly Tovar Betancourt

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis.

Síntesis de nuevos compuestos de tipo híbrido pirazolina-diindolimetano y evaluación de su actividad biológica.

Que presenta el pasante: Alejandro Martínez Zaldivar
Con número de cuenta: 309260819 para obtener el título de: Licenciado en Química

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Marzo de 2020.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. René Miranda Ruvalcaba	
VOCAL	Dr. José Guillermo Penieres Carrillo	
SECRETARIO	Dra. Raquel López Arellano	
1er. SUPLENTE	Dr. Benjamín Velasco Bejarano	
2do. SUPLENTE	Q. Karla Paola Hernández Pérez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de química orgánica L-121 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y las pruebas biológicas se realizaron en el laboratorio 6 de la UIM campo 4.

Agradecimientos

A D-s, nuestro creador, Padre y Señ-or. A ti sea la honra, la gloria y el poder. A ti es dedicado este trabajo de tesis.

Quien se hubiera imaginado oh, Padre Eterno que vendría a conocer de ti al final de la carrea o que terminaría convirtiéndome a ti después del tipo de vida que había llevado. Agradezco profundamente el que hayas tenido misericordia y consideración de mi persona y no sólo de mí, sino con toda mi familia, permitiendo a cada uno conocer de tu palabra (al menos los que han sido sensibles a tu voz). Me has mostrado un camino totalmente diferente y has venido a ser luz a mi vida la cual se encontraba perdida y en tinieblas.

Te agradezco la corrección y enseñanza que ha venido a mi vida a través de tu palabra y de las personas que has puesto en mi camino, de tu palabra he aprendido a conducirme y a conocerte mejor (*Jeremías 9:23-24*) y de las personas que Tú has puesto en mi vida, estas han venido a ser ejemplo de superación, dominio propio y constante perseverancia en la palabra, además de una gran ayuda, apoyo y una hermosa familia en los momentos difíciles. (*Salmos 133*)

Y por último y lo más importante Padre Eterno, agradezco el haber tenido la oportunidad de conocer a Tú Hijo Yeshua (Jesús), nuestro Mesías y salvador, ya que a través de Él encontré algo que jamás hubiera imaginado al acercarme a ti, perdón verdadero, arrepentimiento de mis obras, sanación y restauración, para algunos tal vez sea poco, pero para mí lo ha sido todo.

Por eso doy gracias al único D-s verdadero, a Él sea gloria y honra mediante Yeshua. Amén

No encuentro las palabras exactas para poder agradecer tan grandes y sublimes obras en tan poco espacio de tiempo, pero tomo este pasaje escrito por Pablo esperando se pueda entender este sentimiento, espero también que Tú obra en mí no sea vana, si no que persevere de acuerdo a Tú voluntad.

1 Timoteo 1

12 Doy gracias al que me fortaleció, a Cristo Jesús nuestro S-ñor, porque me tuvo por fiel, poniéndome en el ministerio,

13 habiendo yo sido antes blasfemo, perseguidor e injuriador; mas fui recibido a misericordia porque lo hice por ignorancia, en incredulidad.

14 Pero la gracia de nuestro S-ñor fue más abundante con la fe y el amor que es en Cristo Jesús.

15 Palabra fiel y digna de ser recibida por todos: que Cristo Jesús vino al mundo para salvar a los pecadores, de los cuales yo soy el primero.

16 Pero por esto fui recibido a misericordia, para que Jesucristo mostrase en mí el primero toda su clemencia, para ejemplo de los que habrían de creer en él para vida eterna.

17 Por tanto, al Rey de los siglos, inmortal, invisible, al único y sabio D-s, sea honor y gloria por los siglos de los siglos. Amén.

ישוע חי והוא חוזר

A mi familia:

A mi padre **Zavas Martínez Frías**: ya que me has enseñado y aconsejado en bastantes áreas de mi vida, por enseñarme la importancia que tiene la familia sobre todo en los momentos difíciles y más solitarios de la vida, además del valor del trabajo arduo y constante para conseguir las metas que uno se propone y que no a cualquiera se le puede llamar amigo y no en cualquiera se puede confiar en esta vida (aunque D-s me ha mostrado que existen personas bastante valiosas a las cuales sí se les puede llamar amigos y en las cuáles se puede confiar). Porque a pesar de que no has estado de acuerdo con muchas de mis decisiones y aun con esos desacuerdos tu apoyo se ha dejado de ver en mi vida. Porque además de ser mi padre has venido a ser mi amigo y eso es más que nada por obra de D-s que ha actuado en tu vida y espero que siga haciéndolo.

A mi madre **Flora Zaldívar Sandoval**: por haber sido una inspiración en mi vida ya que gracias a aquellas historias de tus días de escuela y las constantes pláticas de la facultad tomé la decisión de estudiar esta carrera, además de ser no solo una inspiración en cuanto a lo escolar si no también como un ejemplo de perseverancia y paciencia ante los momentos difíciles que tiene la vida, gracias por tu constante e incondicional apoyo y a ese ánimo que siempre me dabas cuando me quería dar por vencido sobre todo al continuar con mis estudios, muchos de estos logros son gracias a que a que me impulsaste a seguir adelante. Espero que ese mismo ánimo y perseverancia te ayude a seguir en el camino que D-s te ha mostrado, un camino totalmente diferente al que nos heredaron nuestros antepasados (además de incorrecto).

A mi hermano **Israel Martínez Saldívar**: por ser parte de nuestra pequeña familia, por los buenos y malos momentos que vivimos juntos, también por los recuerdos y experiencias (aunque pocos fueron los años en que estuvimos todos unidos), a pesar de que te encuentres lejos y nuestros caminos totalmente separados espero algún día si es la voluntad de D-s escuches su voz y te acerques a ÉL, no olvides que como familia te queremos mucho.

A mi hermana **Victoria Martínez Zaldívar**: a pesar de que en un principio como en todas las familias hubo muchas peleas entre nosotros sabes que como mi hermana mayor te quiero y te respeto mucho (aunque siempre hubo esa constante riña de quien era el mayor), gracias porque a pesar de toda esa separación que alguna vez hubo entre la familia fuiste un gran apoyo para mamá y para mí. Espero no pongas tú mirada en los problemas y las constates trabas que pone el mundo, ya que lo único que ocasionan es desánimo y tristeza, si no que puedas poner tu corazón y vista en aquel que nos sustenta y nos cuida desde el principio de nuestra existencia, el D-s único de Israel, no endureciendo tu corazón y aprendiendo a perdonar a tus semejante aunque sea difícil de principio ya que de esa manera encontrarás verdadera paz.

A mi ahora familia en D-s (conforme a la costumbre, del mayor al menor)

Ricardo Alfredo Luna Mora (Paul): mi querido hermano y mi gran amigo, D-s te puso en mi camino no sólo para que me enseñarás Torah, si no como ese hermano mayor que estuve buscando y necesite tiempo atrás. A pesar de mi necedad y dureza al momento de conocerte con mucha paciencia y consejo me mostraste al D-s único y verdadero de Israel y a su hijo Yeshua, y como a través de Yeshua podía encontrar perdón de pecados (aunque me costó trabajo entenderlo) y restauración. Me enseñaste que no todo se soluciona con la violencia y que es posible salir de ese mundo y que las personas que D-s te va poniendo son las que verdaderamente permanecen. Te agradezco esas noches en vela, en las que solo estábamos los dos en el departamento platicando y no de cosas vanas sino de como acercarme a D-s y enfrentar mis miedos y cobardía, además de como a otro día no nos podíamos levantar por el cansancio, de verdad gracias por esos días.

Gracias por tenderme esa mano, que, aunque me era difícil aceptarla fue de gran ayuda y aún sigue siéndolo hasta este momento. De igual manera te agradezco por la ayuda en la escuela, desde las enseñanzas de experimentación de la tesis hasta la obtención e interpretación de los espectros y no solo eso, sino también ayuda en materias que no entendía (Fisicoquímica) e incluso ahora esa ayuda y consejos continúan aún en estos pasos de la titulación y espero en D-s puedas estar en los próximos. Espero D-s te siga utilizando como hasta ahora y estemos juntos o separados se puedan seguir predicando las maravillas de D-s a aquellos que quieran escuchar.

Thalía Janice Rojas Álvarez: la primera vez que nos vimos fue en Mahanaim (aunque no lo recuerdes, tu nos repartiste los anuncios) y a partir de ahí poco a poco y a través de los estudios que se daban entre semana, D-s te fue mostrando y aclarando las dudas que para ese momento te aquejaban, aunque ha sido un tiempo relativamente corto has venido a ser parte importante de esta familia. Es cierto que tenemos detalles como todas las personas, pero aun con todo espero puedas confiar en nosotros y podamos trabajar en equipo no solo en lo secular, sino en la obra que D-s nos ha puesto, llevando las cargas los unos de los otros.

Francisco Javier Barrera Téllez: querido amigo Paco a pesar de todo este tiempo que llevamos de conocernos, han sido pocas las veces que dedicamos a platicar y ya sea por trabajo, problemas o pena han sido también pocos los momentos que dedicamos a conocernos mejor, cabe mencionar que me costó bastante abrirme con los demás y contigo, lo que dificultó aún más las cosas, pero gracias a D-s que ha ido trabajando en cada uno de nosotros que permitió que nos uniéramos como familia y no solamente a través de bromas o chistes, si no con un corazón dispuesto y sincero a apoyarnos unos a otros, sin importar las dificultades o los problemas que existan entre nosotros como familia. Doy gracias a D-s que te haya podido conocer y espero podamos seguir adelante en el camino que D-s nos ha puesto creciendo juntamente, agradezco a D-s por tu vida ya que has sido un ejemplo de superación y de constancia y también un amigo en el que puedo confiar.

Linda Lessly Moreno González (LL): mi primer amiga en el laboratorio y mi mejor amiga (aunque no sean nuevas estas palabras y ya no tengan el mismo valor, principalmente por las cosas que han sucedido), la verdad no se por dónde empezar o que escribir, ya hace cuatro años que te conozco y después de mucho platicar las palabras parecieran sobrar y para ti muchas te han de ser conocidas. Han cambiado mucho las cosas desde aquellos días en los que te conocí y agradezco a D-s que te haya puesto en mi camino, me ayudaste a enfrentar muchos miedos y dudas (cabe mencionar que si tal vez no me hubieras animado a mudarme con ustedes tal vez yo seguiría en el mismo camino y lugar), además de que de ti he aprendido valiosas lecciones y a pesar de que a veces chocamos en cuanto a carácter, has demostrado que tu amistad y tu palabra es de valor y sincera. Espero que D-s pueda seguir trabajando en el corazón de cada uno, porque, aunque a veces es doloroso es necesario para seguir creciendo y quitar todo aquello que estorba. No te desanimes ante las dificultades, confía en D-s y en la familia que Él te ha dado. Que D-s te cuide y guíe en el camino por dónde vayas.

Jessica Viridiana González Carrillo: a pesar de que fue poco el tiempo que vivimos juntos en el departamento fueron buenos momentos los que pasamos y llegaste a ser una persona importante en mi vida, no solamente por ser una amiga más, sino por ser parte de mi familia en D-s, aunque ahora te encuentres lejos y tus actividades ya no te permitan estar en Izcalli, espero algún día, así como lo dijiste ya hace un tiempo nos podamos encontrar de nuevo y platicar como en aquellos ayer, de verdad se te extraña Jess y espero más que vuelvas para vernos a nosotros y contarnos las anécdotas de tu trabajo, vuelvas para acercarte de nuevo a D-s y contarle a Él como has estado y como te has sentido en este tiempo lejos de casa, ya que al igual que nosotros ansía tu regreso. No dejes que el mundo y sus afanes te coman y tampoco pienses demasiado las cosas, sabes que las puertas en Izcalli

están abiertas para cuando quieras volver, hasta que llegue ese momento que D-s te guarde y te bendiga.

María de los Ángeles Torres Reyes: aunque somos de la misma generación y tomamos varias clases juntos no fue hasta que llegué al laboratorio y que D-s me permitió ser parte de la familia “Mueganos” que nos conocimos de una manera más formal (eso también por el hecho de que no fui muy constante al tomar mis clases). Aún recuerdo las veces que hablábamos recién cuando llegue y de como me exhortabas a que fuera mas abierto y sincero para con todos, además de que también me instruiste en lo concerniente a la experimentación del laboratorio, te agradezco por los consejos y por todas las veces que me has hecho notar mis errores y no solo a eso si no también a corregirlos, ya que aunque en su momento me pareciste dura, con el tiempo me di cuenta del corazón cálido y generoso que posees, gracias por tu ayuda desinteresada y por brindarme tu mano en estos años, por lo que ahora te has convertido en una amiga muy importante y querida. Que D-s te bendiga y guarde y si así lo permite seguiremos unidos como familia sirviendo y trabajando en la obra de D-s.

A los profesores y compañeros de la UNAM FESC

Dr. José Guillermo Penieres Carrillo: gracias doc por aceptarme en el laboratorio L-121 para poder realizar el laboratorio de paquete terminal, además del apoyo para el proyecto de tesis ya que no solo me permitió aprender y desarrollarme experimentalmente en el área de la química orgánica que me gusta bastante, sino también me permitió desarrollarme en otras áreas siendo ahora el trabajo de tesis multidisciplinario, apreció bastante su ayuda y apoyo, así como sus comentarios y consejos. Que D-s le bendiga.

Prof. Jorge Alfonso Hernández Quezada: Jorge mi estimado amigo y profesor, para mí fue una grata experiencia que me hayas dado la oportunidad de tomar aquellas clases de oyente, ya que no solamente aprobé una materia para poder terminar la carrera, sino que también me diste la oportunidad de trabajar contigo como adjunto y esa experiencia ha sido de ayuda hasta hoy, ya que el trabajar en un área diferente me ayudó a mejorar y aprender cosas nuevas y bastantes interesantes. Que D-s te bendiga a ti y a tú familia.

Nelly Tovar Betancourt y Tonatiuh Cruz Sánchez: por aceptarme en su laboratorio de trabajo y enseñarme a trabajar un área nueva para mí, por la paciencia, apoyo y consejos para la realización de la tesis.

A mis compañeros de carrera y laboratorio en la FESC: María Isabel Damián Reyes, Víctor Osvaldo Lima Hernández, Diego Tapia Rivera, Jonathan Montealegre, Carlos Aboytes Morales, David Alberto Jiménez Mendoza, Fernanda Baltazar, Jocelyn Cuellar Mendoza, Zabdiel Meléndez González, Uriel Valdez Gervacio, Iván Armando Calderón Padilla, Octavio Huerta González y Daniel Antonio Martíz.

Se agradece el apoyo recibido de los proyectos: PAPIIT IN217118 y FESC PIAPI 1802.

Lista de abreviaturas

c = Señal cuádruple

CCF = Cromatografía en capa fina

CDCl_3 = Cloroformo deuterado

d = Señal doble

dd = Señal doble de dobles

$\text{DMSO-}d_6$ = Sulfóxido de dimetilo hexadeuterado

EM = Espectrometría de Masas

Hz = Hertz

IR = Infrarrojo

J = Constante de acoplamiento

m = Señal múltiple

m/z = Relación masa/carga

MHz = Megahertz

q = Señal quintuple

RMN = Resonancia Magnética Nuclear

s = Señal simple

t = Señal triple

td = Señal triple de dobles

TMS = Tetrametilsilano

$\tilde{\nu}$ = Número de onda e inverso de la longitud de onda

δ ppm = Desplazamiento químico en partes por millón

μg = Microgramo (10^{-6} g)

Índice

1 Generalidades	1
1.1 Química verde.....	1
1.1.1 Tendencias en la química verde.....	1
1.1.2 Principios de la química verde.....	2
1.1.3 Desventajas de la química verde.....	5
1.2 Modificación molecular	5
1.2.1 Hibridación molecular.....	5
2 Antecedentes sección química	6
2.1 Indol	6
2.1.1 Productos naturales que contienen indol.....	6
2.1.1.1 Triptófano.....	7
2.1.1.2 Ácido 3-indolacético.....	8
2.1.2 3,3'-Diindolilmetano (DIM).....	8
2.1.2.1 Química.....	9
2.1.2.2 Bioactividad.....	11
2.1.2.2.1 Como antimicrobianos.....	11
2.2 Chalconas.....	12
2.2.1 Chalconas de fuentes naturales.....	12
2.2.2 Síntesis.....	13
2.2.2.1 Biosíntesis.....	13
2.2.2.2 Síntesis química.....	14
2.2.2.2.1 Condición básica.....	15
2.2.2.2.2 Condición ácida.....	15
2.2.2.2.3 Otras condiciones.....	16
2.2.3 Potencial Terapéutico de chalconas.....	16
2.2.3.1 Actividad antimicrobiana.....	17
2.2.4 Chalconas híbridas.....	18
2.2.4.1 Híbridos fusionados.....	18
2.2.4.2 Híbridos utilizando enlazadores	19
2.2.5 Chalconas como sintón en síntesis química.....	21
2.3 Pirazoles.....	22
2.3.1 Química.....	23
2.3.1.1 Diferentes enfoques en la síntesis.....	23
2.3.1.2 Ciclocondensación de hidrazina y sus derivados en sistemas 1,3-difuncionales.....	23
2.3.1.3 A partir 1,3-dicetonas.....	24
2.3.1.4 A partir cetonas acetilénicas.....	24
2.3.1.5 A partir de vinilcetonas.....	24
2.3.1.6 A partir de vinilcetonas que contienen un grupo saliente.....	25
2.3.2 Bioactividad de derivados de pirazol.....	25
2.3.2.1 Como antimicrobianos.....	26
2.4 Referencias.....	27
3 Antecedentes sección biológica	33
3.1 Hongos levaduriformes.....	33
3.1.1 <i>Candida albicans</i>	33
3.1.1.1 Etiología.....	34

3.1.1.2 Patogenia.....	34
3.1.1.3 Factores de virulencia.....	34
3.1.1.4 Membrana plasmática.....	34
3.1.2 Terapia de candidiasis.....	35
3.1.2.1 Quimioterapia.....	35
3.1.2.2 Azoles.....	35
3.1.2.3 Mecanismo de acción de los azoles.....	35
3.2 Bacterias.....	36
3.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	37
3.2.1.1 Patogenia.....	38
3.2.1.2 Factores de virulencia.....	38
3.2.1.3 Resistencia.....	38
3.2.2 <i>Escherichia coli</i>	38
3.2.2.1 Patogenicidad.....	39
3.2.2.2 Factores de virulencia.....	39
3.2.2.3 Resistencia a los antimicrobianos.....	40
3.3 Referencias.....	41
4 Hipótesis.....	43
5 Justificación.....	43
6 Objetivos.....	44
7 Parte experimental.....	45
7.1 Materiales y reactivos sección química.....	45
7.1.1 Metodología sintética.....	45
7.2 Materiales y reactivos sección biológica.....	47
7.2.1 Metodología experimental.....	47
7.2.1.1 Materiales y métodos.....	47
7.2.1.1.1 Antibióticos utilizados.....	47
7.2.1.1.2 Medio de cultivo utilizado.....	47
7.2.1.1.3 Reactivos.....	47
7.2.2 Microorganismos.....	47
7.2.2.1 Preparación de sensibilizados con los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano.....	47
7.2.2.2 Pruebas de inhibición de crecimiento radial (ICR).....	47
8 Resultados y discusión sección química.....	50
8.1 Datos espectroscópicos obtenidos.....	53
8.2 Discusión de espectros.....	65
9 Resultados y discusión sección biológica.....	69
9.1 Pruebas cualitativas para <i>S. aureus</i>	69
9.2 Pruebas cualitativas para <i>C. albicans</i>	72
9.3 Pruebas cualitativas para <i>E. coli</i>	74
10 Conclusiones.....	76
11 Prospectivas.....	76
12 Anexo espectroscópico.....	77

1 Generalidades

1.1 Química verde

Según la definición de la US EPA (del inglés United States Environmental Protection Agency, Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América), la química verde es una química que diseña productos y procesos químicos que son inofensivos para el medio ambiente, evitando así la formación de contaminación.

Los productos químicos deben elaborarse de modo que no permanezcan en el medio ambiente al final de su aplicación y que se descompongan en componentes que sean inocuos para el medio ambiente.

El ahorro basado en una síntesis eficiente sin el uso de reactivos "exóticos", la reducción de la energía requerida y el reemplazo de disolventes orgánicos con agua, son significativos incluso a nivel de laboratorio, mientras que a escala industrial es posible obtener millones de ahorros.¹

La química verde no es una disciplina científica separada, sino un enfoque interdisciplinario responsable de la ciencia, basado en la responsabilidad química, ecológica y social, que permite la creatividad y el avance de la investigación innovadora.² Como área de investigación propulsora, trata de encontrar y mantener un equilibrio entre el uso de los recursos naturales, el crecimiento económico y la conservación del medio ambiente.

1.1.1 Tendencias en la química verde

El programa de química verde para el diseño, desarrollo y aplicación de productos químicos y procesos que reducen o eliminan el uso o la producción de sustancias que son peligrosas para la salud humana y el medio ambiente, y para lograr los objetivos principales del programa ecológico, se presenta a través de varias tendencias dominantes:³

- a) Investigación en el campo de las reacciones catalíticas y biocatalíticas para obtener compuestos puros altamente selectivos sin la formación de subproductos tóxicos;
- b) Búsqueda de nuevas materias primas, inocuas y renovables, como la biomasa;
- c) Diseñar productos químicos eco-compatibles menos tóxicos;
- d) Encontrar y probar nuevos medios de reacción alternativos, no tóxicos y renovables, como agua, líquidos iónicos y fluidos supercríticos.
- e) Encontrar y probar nuevas condiciones de reacción alternativas, como microondas, ultrasonido y reacciones a la luz.
- f) Exploración de rutas alternativas para la purificación de aire y agua envenenados para mejorar su calidad, como las reacciones fotocatalíticas.³

La química verde o la química ecológicamente inocua, inofensiva y sostenible; es la elaboración y aplicación de productos y procesos químicos que reducen o eliminan el uso y la creación de sustancias peligrosas. En lugar de limitar el riesgo al controlar la exposición a químicos dañinos, la química verde busca reducir, y posiblemente eliminar, el peligro, negando la necesidad de controlar la exposición. Si no se usan o producen sustancias peligrosas, el riesgo es cero y no hay necesidad de preocuparse por

eliminar las sustancias peligrosas del ambiente o limitar la exposición a ellas o "La química verde se trata de reducir los desechos, las materias primas tóxicas, los riesgos, la energía y el impacto y el costo medioambiental".³

1.1.2 Principios de la química verde

Paul Anastas y John Warner de la EPA han desarrollado doce principios de la química verde, y en su libro "Teoría y práctica de la química verde", publicado en 1998, explicaron su significado en la práctica.

Los principios de la química verde hablan de la reducción o eliminación de sustancias peligrosas o dañinas de la síntesis, producción y aplicación de productos químicos y, por lo tanto, se reduce o elimina el uso de sustancias peligrosas para la salud humana y el medio ambiente. Al diseñar un proceso de química verde, es imposible cumplir los requisitos de los doce principios del proceso al mismo tiempo, pero intenta aplicar tantos principios como sea posible durante ciertas etapas de síntesis.

1) Prevención

Es mejor prevenir el desperdicio que tratar o limpiar el desecho después de que se haya creado.

El primer principio de la química verde es el principio de prevención, es decir, la prevención de la generación de desechos, que es más favorable para los seres humanos y el medio ambiente y, en última instancia, más económico que tratar los desechos y destruirlos después de que se hayan generado.

La justificación para la introducción de este principio se confirma por el hecho de que alrededor de 12 mil millones de toneladas de desechos, o alrededor de 300 millones de toneladas de desechos peligrosos para la salud humana y el medio ambiente (los llamados desechos peligrosos) se producen anualmente en los Estados Unidos. La industria química produce el 70 % de la cantidad total de desechos peligrosos y los desechos tóxicos orgánicos más altos (alrededor de 150,000 toneladas) con prevalencia de metanol y xilenos.

2) Economía atómica

Los métodos sintéticos deben diseñarse para maximizar la incorporación de todos los materiales utilizados en el proceso al producto final.

El principio de Economía Atómica está lógicamente vinculado al principio de prevención de residuos, ya que requiere que todas las materias primas utilizadas en la producción maximicen la utilización o inclusión en el producto final para, en última instancia, reducir la cantidad de residuos. Esto significa que la síntesis química debe diseñarse de tal manera que el producto final maximice la entrada de materias primas o diseñe tales productos sintéticos que utilizarán todo el material utilizado para la síntesis en el producto final.

3) Síntesis químicas menos peligrosas

Siempre que sea posible, los métodos sintéticos deben diseñarse para usar y generar sustancias que tengan poca o ninguna toxicidad para la salud humana y el medio ambiente.

La mayoría de las reacciones de síntesis química, que generalmente tienen lugar en múltiples etapas, utilizan reactivos tóxicos. Aunque el producto no contiene estas sustancias tóxicas, existe el riesgo de que se contamine y el rediseño de estos procesos es una tarea de la química verde.

Siempre que sea posible, la síntesis química menos peligrosa aboga por la creación de métodos sintéticos para el uso y la creación de sustancias poco o nada tóxicas para la salud humana y el medio ambiente. La sustitución de productos químicos nocivos por enzimas biológicas hace que muchos procesos industriales sean más limpios y baratos.⁴

4) Diseñar productos químicos más seguros

Los productos químicos deben diseñarse para llevar a cabo la función deseada al tiempo que minimizan su toxicidad.

Minimizar la toxicidad, al mismo tiempo que se mantiene la función y la eficiencia, puede ser uno de los aspectos más desafiantes del diseño de productos y procesos más seguros, y lograr ese objetivo requiere comprender no solo la química, sino también los principios de toxicología y ciencia ambiental.

La revista científica “Green Processes: Designing Safer Chemicals” aboga por el diseño de productos químicos de una manera que reduzca su toxicidad y mantenga su eficacia. El objetivo de producir productos químicos seguros (no carcinogénicos, mutagénicos, neurotóxicos) es el equilibrio entre el rendimiento óptimo y la función del producto químico, asegurando que la toxicidad y el riesgo se reduzcan al nivel más bajo posible. En otras palabras, el uso de productos químicos tóxicos debe evitarse y reemplazarse siempre que sea posible, pero se debe tener en cuenta su eficacia.

5) Solventes más seguros y auxiliares

El uso de sustancias auxiliares (por ejemplo, disolventes, agentes de separación, etc.) debe hacerse innecesario cuando sea posible e inócuo cuando se usa.

Las separaciones cromatográficas, donde se utilizan grandes cantidades de disolventes, son problemáticas debido a la contaminación ambiental. La mayoría de los disolventes orgánicos convencionales son tóxicos, inflamables y corrosivos. Su reciclaje está vinculado a un gran gasto energético y con pérdidas considerables y, por lo tanto, es necesario el desarrollo de solventes amigables con el ambiente.

Los disolventes y auxiliares más seguros se recomiendan para que el proceso de síntesis se reduzca al máximo y, siempre que sea posible, se evite el uso de sustancias químicas auxiliares (por ejemplo, disolventes, agentes de separación, etc.) y que cuando se utilicen, deben ser inofensivos. De acuerdo con los principios de la química verde, la elección de sustituciones adecuadas para solventes orgánicos se basa en: la seguridad del trabajador, la seguridad del proceso, la seguridad ambiental y la sostenibilidad del proceso.

El disolvente debe ser química y físicamente estable, de baja volatilidad, fácil de usar y fácil de reciclar. De acuerdo con la conveniencia de uso, los disolventes convencionales pueden ser adecuados, utilizables o indeseables, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Selección de disolventes según su conveniencia de uso.

Adecuados	Utilizables	Indeseables
Metanol	Ciclohexano	Pentano
Etanol	Metilciclohexano	Hexano
Propan-1-ol	Heptano	Diisopropil éter
Propan-2-ol	Isooctano	Diclorometano
Butan-1-ol	<i>t</i> -Butil metil éter	Cloroformo
<i>t</i> -Butanol	Acetonitrilo	Benceno
Acetato de etilo	Tetrahidrofurano	Acetato de metilo
Acetato de isopropilo	Ácido acético	Tetracloruro de carbono
Acetona	Mezcla xilenos	Dimetoxietano
Metil etil cetona	Tolueno	Piridina

6) Diseño para la eficiencia energética

Los requerimientos de energía de los procesos químicos deben ser reconocidos por sus impactos ambientales y económicos y deben minimizarse. Si es posible, los métodos sintéticos deben realizarse a temperatura y presión ambiente.

7) Uso de materias primas renovables

Una materia prima debe ser renovable en lugar de agotarse, siempre que sea técnica y económicamente posible.

8) Reducir los derivados

La derivatización innecesaria (uso de grupos de bloqueo, protección/desprotección, modificación temporal de los procesos físicos/químicos) debe minimizarse o evitarse, si es posible, porque tales pasos requieren reactivos adicionales y pueden generar residuos.

9) Catálisis

Los reactivos catalíticos (lo más selectivos posible) son superiores a los reactivos estequiométricos. Para proteger el medio ambiente, el principio de catálisis promueve el uso de catalizadores biodegradables, que implican un menor consumo de energía, evitando el uso de compuestos organoclorados y reduciendo el uso de agua.

10) Diseño para la degradación

El principio de creación de productos químicos y productos degradables o diseño para degradación, exige la creación de productos químicos que, al terminar su actividad, deben poder convertirse en productos que sean inocuos para el medio ambiente.

11) Análisis en tiempo real para la prevención de la contaminación

Las metodologías analíticas deben desarrollarse más para permitir el monitoreo y control en tiempo real del proceso antes de la formación de sustancias peligrosas.

12) **Química intrínsecamente más segura para la prevención de accidentes**

Las sustancias y la forma de una sustancia utilizada en un proceso químico deben elegirse para minimizar la posibilidad de accidentes químicos, incluidas liberaciones, explosiones e incendios.

Este es el principio de la química intrínsecamente más segura para la prevención de accidentes. El requisito básico es reducir el uso de sustancias en procesos químicos que pueden causar efectos adversos (explosión, incendio y vapor dañino).

La seguridad puede definirse como un control de peligros conocidos al lograr un nivel de riesgo aceptable y se logra en varios niveles del uso más bajo del equipo de protección personal. Luego sigue el nivel de controles administrativos y de buenas prácticas laborales e implica establecer procedimientos efectivos, tareas de rotación de trabajo, ajustar los horarios de trabajo para que los trabajadores no estén sobreexposados al impacto de químicos peligrosos, etc. El siguiente nivel y el más alto de control de seguridad, es el de controles de ingeniería, que implica la implementación de un cambio en el proceso físico para reducir el contacto con químicos peligrosos, aislar el proceso, usar métodos húmedos para reducir la formación de polvos, con excelente ventilación y digestión, entre otras acciones, es decir, crear el procedimiento con alternativas más seguras.

1.1.3 **Desventajas de la química verde**

La tarea básica de la química verde es diseñar productos y procesos químicos que reduzcan o eliminen completamente el uso o la creación de sustancias dañinas y peligrosas.

Este objetivo es también la mayor desventaja: el cambio de un producto o proceso antiguo y convencional a un nuevo producto o proceso "verde" requiere mucho tiempo, el diseño o rediseño de un nuevo producto y proceso suele ser difícil y bastante costoso, además de que hay una falta de unidad en lo que se considera seguro.

1.2 **Modificación molecular**

Por otro lado, la modificación molecular es la enmienda química de un compuesto líder conocido y previamente caracterizado con el propósito de mejorar su utilidad como fármaco.^{5,6} Las modificaciones moleculares de las estructuras prototipo (original) han producido mejoras de nulas o moderadas a significativas en la potencia farmacológica.

La modificación molecular mejora la especificidad de un compuesto líder para un sitio objetivo del cuerpo en particular, aumenta la potencia del compuesto, la velocidad y el grado de absorción, reduce la toxicidad además de modificar las propiedades físico-químicas y biológicas del compuesto principal.

Enfoques de modificación molecular

El enfoque general de la modificación molecular implica:

- **Enfoque de disyunción molecular:** implica la ruptura de moléculas.
- **Enfoque de conjunción molecular:** implica la unión de moléculas.

Tipos de enfoque de conjunción molecular

- **Enfoque de adición molecular:** implica la asociación de dos o más moléculas idénticas o no idénticas a través de fuerzas débiles de atracción.
- **Enfoque de replicación molecular:** implica la asociación de dos o más moléculas idénticas a través de enlaces covalentes.
- **Enfoque de hibridación molecular:** implica la asociación de dos o más moléculas no idénticas a través de su unión covalente.

1.2.1 Hibridación molecular

La hibridación molecular (MH, por sus siglas en inglés) es un proceso que implica la formación de híbridos moleculares a partir de dos o más de dos moléculas no idénticas que tienen características diferentes con la ayuda de un enlace covalente. También se define como una combinación de farmacóforos de dos o más sustancias bioactivas diferentes de origen natural o sintético para producir un compuesto híbrido con afinidad y eficacia mejoradas en comparación con los fármacos originales.

También se le llama diseño híbrido de fármacos, bioterapia covalente, amalgamación molecular, cruce molecular, fusión molecular, asociación molecular, entre otros sinónimos. Los compuestos híbridos se pueden definir como entidades químicas con dos o más restos estructurales con diferentes funciones biológicas.⁶⁻¹⁰ Los compuestos híbridos pueden construirse uniendo subunidades de farmacóforos directa o indirectamente usando enlazadores o espaciadores en la hibridación molecular.

En el diseño de nuevos medicamentos, el concepto de hibridación molecular es una estrategia atractiva, es una herramienta útil en el diseño de nuevos prototipos de fármacos. Estos farmacóforos fusionados se dirigen al sitio activo de diferentes objetivos y ofrecen la posibilidad de superar la resistencia a los medicamentos.

2 Antecedentes, sección química

2.1 Indol

El indol **1**, (**Figura 1**), es un compuesto heterocíclico aromático que contiene nitrógeno, ha recibido una atención significativa debido a su presencia en diversos productos naturales y productos farmacéuticos biológicamente activos. Siendo parte de más de más de 3000 productos naturales, este compuesto policíclico está ampliamente aprobado como un andamio privilegiado. El indol es bien conocido por su amplio espectro de bioactividades como los antimicrobianos, anticancerosos, antiespasmódicos e intercalantes de ADN, entre otras.^{11,12}

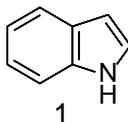


Figura 1 Estructura del indol

2.1.1 Productos naturales que contienen un núcleo de indol

Algunas plantas y hongos son ricos en moléculas que contienen indol, como el indol-3-carbinol **2**, el hermano **3**, el ácido lisérgico **4**, la bufotenina **5**, la serotonina **6** y la triptamina **7**. En contraste, el

potencial anticancerígeno de los derivados de indol presentes en estos vegetales todavía es en gran parte desconocido. **Figura 2**

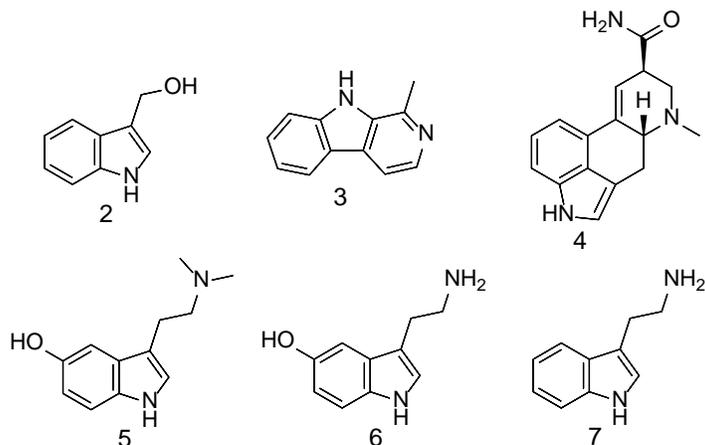
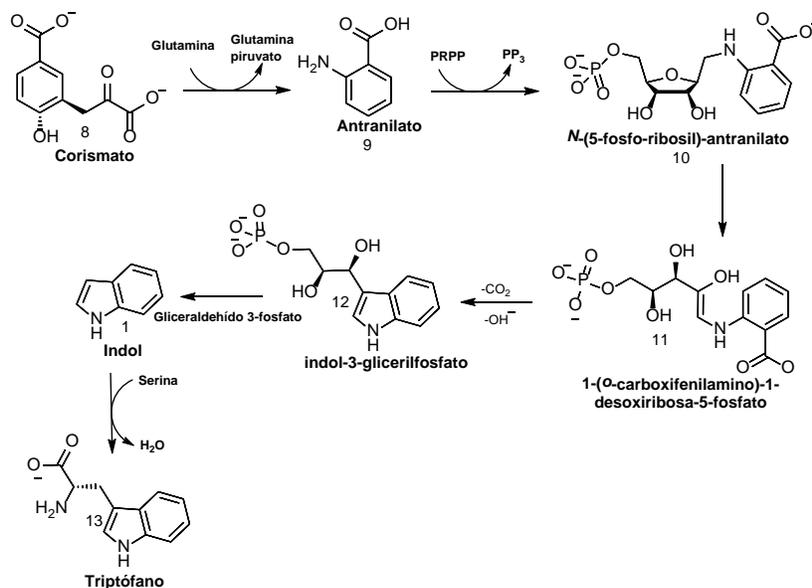


Figura 2 Derivados del indol presentes en vegetales

2.1.1.1 Triptófano

Un derivado sencillo del indol es el triptófano y se trata de uno de los 20 aminoácidos esenciales para el ser humano. Por su distribución en proteínas de plantas y animales, el triptófano es considerado el indol más importante que ocurre en la naturaleza. El triptófano **13** es sintetizado en plantas y microorganismos a partir del antranilato **9** el cual se condensa con el fosforibosilpirofosfato (PRPP) generando pirofosfato como subproducto, posteriormente ocurre la apertura del anillo de la ribosa seguida de la descarboxilación reductiva que da como resultado el indol-3-glicerinafosfato **12**, el cual es convertido a indol **1**. En el último paso la triptófano sintasa cataliza la formación de triptófano a partir del indol y del aminoácido serina, **Esquema 1**.¹³



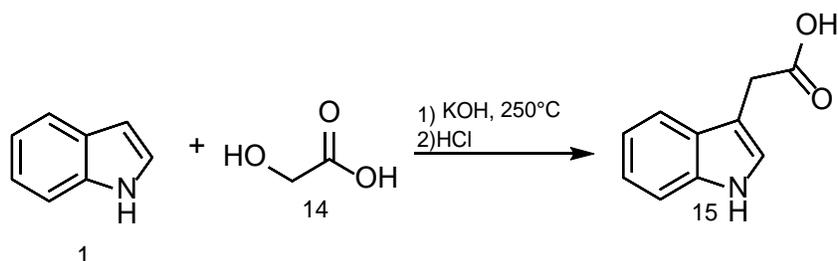
Esquema 1 Biosíntesis del triptófano

El triptófano actúa como constructor de bloques en la biosíntesis de proteínas, ya que funciona como un precursor bioquímico de moléculas importantes como la serotonina, que es un neurotransmisor, que puede ser convertida a melatonina y además participa en la síntesis de niacina y auxina.

2.1.1.2 Ácido 3-indolacético

El ácido 3-indolacético **15** tiene propiedades hormonales en las plantas, es una auxina que participa activamente en la edad temprana de la plántula como hormona del crecimiento.¹⁴

Esta fitohormona puede ser sintetizada por reacción del indol **1** con ácido glicólico **14** en presencia de una base a 250°C, **Esquema 2**.¹⁴



Esquema 2. Síntesis del ácido 3-indolacético

2.1.2 3,3'-Diindolilmetano (DIM)

El 3,3'-diindolilmetano (**Figura 3**) o conocido comúnmente como diindolilmetano (DIM), que forma parte de la familia del indol, es una clase importante de compuesto heterocíclico que consiste en dos restos indol. y un producto de degradación de la glucobrasicina de las plantas crucíferas. El diindolilmetano se encuentra generalmente en verduras como la col de Bruselas, el brócoli, la col, la coliflor y la col rizada.¹⁵ El consumo oral de plantas crucíferas provoca la oligomerización del indol-3-carbinol en condiciones ácidas y, por lo tanto, se convierte en su producto de condensación ácido que es diindolilmetano.^{16,17}

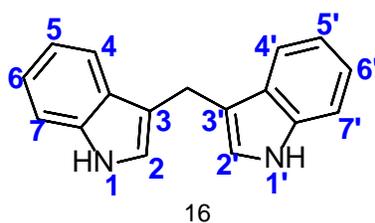


Figura 3 Estructura general y numeración para el diindolilmetano.

El diindolilmetano es aproximadamente el 10-20% de los productos de descomposición del indol-3-carbinol. Según Ahmad *et al.* (2011), 2-24 mg de diindolilmetano al día provienen de la ingestión de indol-3-carbinol.¹⁸ Estudios anteriores sugieren que el diindolilmetano podría actuar como una terapia preventiva eficaz contra varios tipos de cáncer, con efecto anti mutagénico y como agente antioxidante.^{18,19} El diindolilmetano es una de las sustancias más activas que promueve el metabolismo del estrógeno en mujeres y hombres,²⁰ además de tener la capacidad de regular el crecimiento de las plantas;²¹ también, se sabe que el diindolilmetano y algunos de sus derivados inhiben el crecimiento

de varias células cancerosas. El diindolilmetano induce la apoptosis y mejora el metabolismo natural de las hormonas en el cuerpo y promueve los estrógenos esenciales.^{22,23}

El diindolilmetano es un agente quimiopreventivo popular que protege a diversos órganos como la glándula mamaria, el útero, el estómago y el hígado contra la tumorigénesis. Debido a su capacidad para controlar los metabolitos del estrógeno causantes de cáncer, el diindolilmetano podría prevenir el cáncer²⁴ y regular la progresión de células anormales relacionadas con la displasia cervical.²⁵

2.1.2.1 Química

Siendo uno de los andamios más importantes en la química farmacéutica moderna, la síntesis de diindolilmetano y sus derivados ha recibido mucha atención. La síntesis de diindolilmetanos forma un campo moderado pero significativo de la química médica. La química de la síntesis de diindolilmetano ha existido durante más de un siglo y varios descubrimientos se han realizados desde 1990.

Hermann Emil Louis Fischer descubrió la síntesis de diindolilmetano en 1886, llevándola a cabo a través de una reacción de Friedel-Crafts catalizada por ácido entre el indol y un compuesto carbonílico, comúnmente aldehídos y cetonas.²⁶

El mecanismo de reacción propuesto para la síntesis de diindolilmetano (**Figura 4**) implica que el indol **1** reacciona con aldehídos o cetonas aromáticas o alifáticas en presencia de un catalizador ácido para formar la sal de azafulvenio, que pasa por una reacción de adición adicional con una segunda molécula de indol para formar diindolilmetanos **16**.²⁷

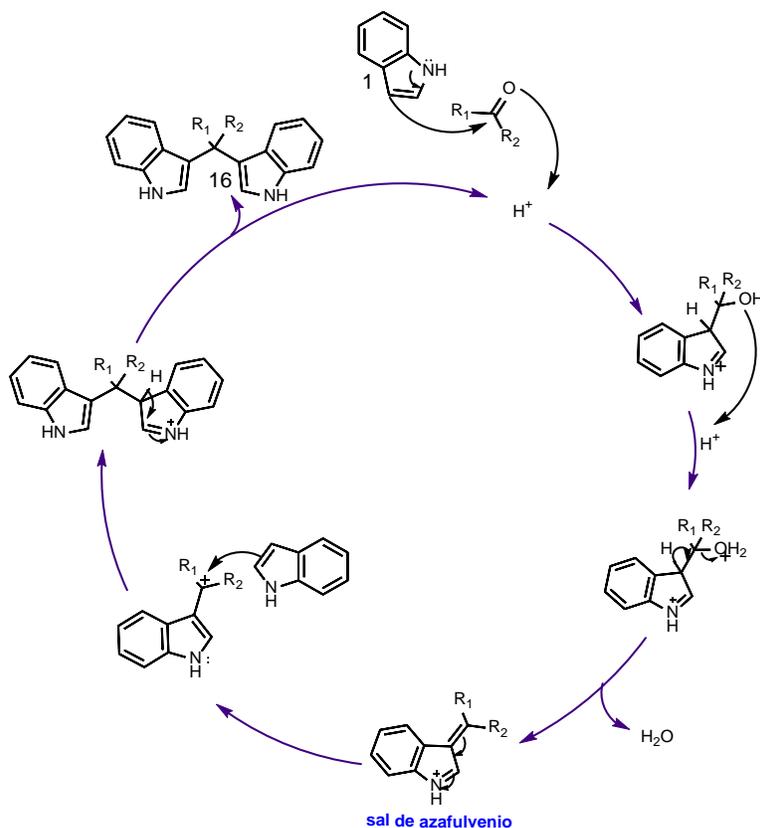


Figura 4 Mecanismo de formación de diindolilmetano catalizado por ácido.

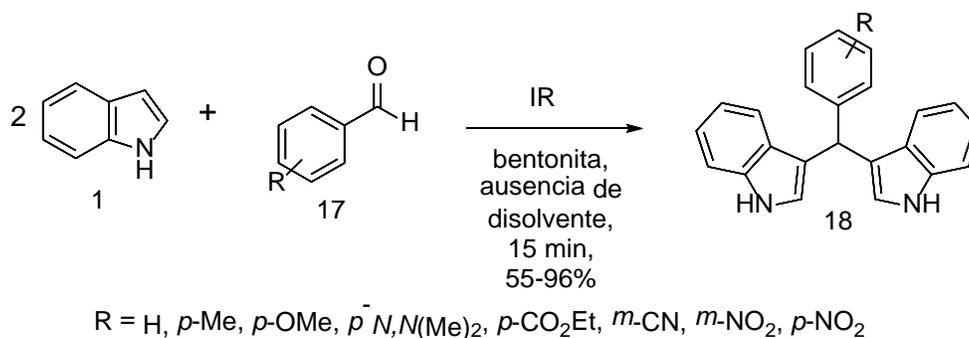
Se han descrito en la literatura varios métodos sobre la síntesis de diindolilmetanos utilizando ácidos de Lewis²⁸ y ácidos próticos²⁹ como catalizadores. Los ácidos de Lewis, como el cloruro de aluminio y el trifluoruro de boro esterato, a menudo generan desechos dañinos, como cationes tóxicos, que tienen problemas ambientales³⁰ que pueden ser desactivados o, a veces, descompuestos por reactivos que contienen nitrógeno.³¹ Incluso si se producen las reacciones deseadas, se requieren ácidos de Lewis en una cantidad mayor para compensar a los atrapados por el nitrógeno.³² Liang *et al.* informaron el uso de bromo molecular como un catalizador robusto para sintetizar diindolilmetanos. En su estudio, Liang afirma que el bromo molecular se requiere en una cantidad baja y que es altamente eficiente contra diversos productos químicos y la reacción puede llevarse a cabo en agua o en disolventes orgánicos.³³

En los últimos años, las condiciones verdes y ecológicas han influido en el desarrollo de la síntesis orgánica. Los líquidos iónicos como disolventes verdes con baja presión de vapor se han convertido en el disolvente de elección en la síntesis de diindolilmetanos.³⁴ Además, las reacciones fueron promovidas por el nitrato de etilamonio (EAN),³⁵ In(OTf)₃,³⁶ FeCl₃·6H₂O³⁷ o LaCl₃·7H₂O.³⁸ En el hallazgo más reciente de Kalla *et al.*, la síntesis de un diindolilmetano también se llevó a cabo utilizando un nuevo líquido iónico súper base, clorosulfonato de tetrametilguanidinio, que puede producir un producto limpio en un corto tiempo de reacción.³⁹

Además de eso, los surfactantes como los dodecilsulfonatos metálicos se han aplicado de manera eficiente en la síntesis de diindolilmetanos.⁴⁰ Se ha informado que el ácido dodecilbencensulfónico y el ácido dodecilsulfónico promueven la producción de diindolilmetano en el agua.⁴¹

El uso de catalizadores ácidos sólidos como zeolitas y tamices moleculares de zeotipos en la fabricación de productos químicos finos e intermedios químicos ha atraído un interés creciente debido a las características especiales como la selectividad de la forma, la variabilidad térmicamente estable y controlada. Sobre todo, la reutilización y la naturaleza respetuosa con el medio ambiente son los personajes más buscados en química verde.⁴²

Un ejemplo de ello es el trabajo realizado por Penieres *et al.* en la FES-Cuautitlán-UNAM, donde se estableció una ruta alternativa para la síntesis selectiva de varios aril-3,3'-diindolilmetanos, a partir de indol y de una serie de aldehídos aromáticos. Las correspondientes reacciones procedieron con buenos rendimientos y en tiempos de reacción cortos, empleando irradiación infrarroja como fuente de activación y bentonita como catalizador en ausencia de disolvente (**Esquema 3**).⁴³



Esquema 3 Obtención de diindolilmetanos utilizando una arcilla bentonítica

2.1.2.2 Bioactividad

Diversos estudios han demostrado que los diindolilmetanos exhiben una amplia variedad de actividades farmacológicas como antimicrobianos,⁴⁴ antioxidantes,⁴⁵ antiinflamatorios,⁴⁶ anticancerígenos,^{47,48} inhibidores enzimáticos,^{49,50} y antihiperlipidémicos.⁵¹ También se usan para tratar fatiga crónica, fibromialgia e intestino irritable.⁴⁷

2.1.2.2.1 Como antimicrobianos

La creciente incidencia de enfermedades infecciosas se está convirtiendo en un problema mundial. El problema de resistencia exige esfuerzos renovados para buscar agentes antimicrobianos que sean efectivos contra microorganismos patógenos resistentes al tratamiento.

Sobre la base de un estudio realizado por Sivaprasad *et al.*, los derivados de diindolilmetano que tienen un resto pirazol mostraron una potente actividad contra tres cepas microbianas patógenas en estudio que son *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*.⁴⁸ El compuesto **19** (Fig. 5) registró actividad inhibitoria entre 20-30 % contra los tres microbianos evaluados, en comparación con el control positivo.

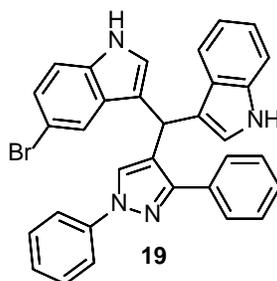


Figura 5 Pirazolildiindolilmetano **19**.

Se observó que ninguno de los derivados de diindolilmetano **20**, **21**, **22**, **23** o **24** (Fig. 6) mostró mejor actividad antibacteriana que la molécula parental diindolilmetano. Sin embargo, la sustitución en el carbono metileno de diindolilmetano mejoró la actividad, como se muestra en (2-hidroxifenil)-di-3,3'-indolilmetano **20** y 3-piridil-di-3-indolilmetano **21**, que dio un valor de CIM que oscila entre 7.5 a 15.5 y de 6.5 a 125 µg/mL, respectivamente, contra cepas Gram-negativas y positivas.

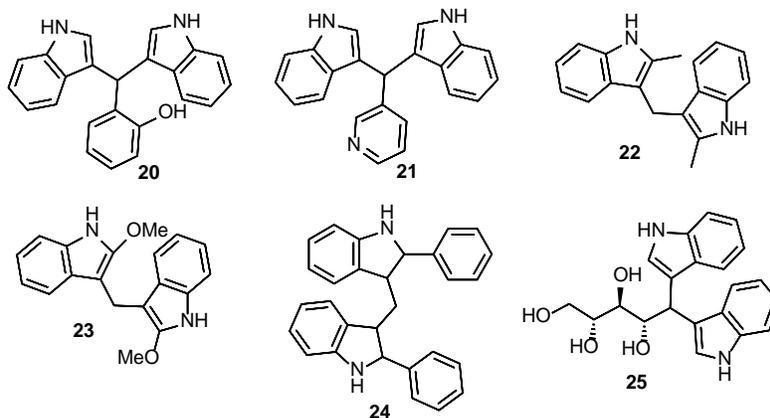


Figura 6 Agentes antimicrobianos.

Del mismo, el estudio realizado por Roy *et al.*⁵² con otros derivados como bisindolilmetanos sustituidos con pentosa, 1-deoxi-1,1-di(3,3'-indolil)-D-ribitol **25**, presentaron mejor MIC en el rango de 15.5-125 µg/mL en comparación con diindolilmetano hexasustituido.

2.2 Chalconas

Un chalcona es un simple andamio químico de muchos compuestos naturales y tiene una amplia distribución en vegetales como frutas, té y otras plantas.⁵³⁻⁵⁵ La palabra “chalcona” se deriva de la palabra griega “*chalcos*”, que significa “bronce”, que resulta de los colores de la mayoría de las chalconas naturales.⁵⁵ Los compuestos de chalcona tienen una estructura química común de 1,3-diaril-2-propen-1-ona, también conocido como chalconoide, que existe como isómeros *trans* y *cis*, siendo el *trans* el isómero termodinámicamente más estable (**Figura 7**).⁵⁵

El anillo fenilo unido al grupo carbonilo se define como el anillo A y el otro anillo de benceno se denomina anillo B (**Figura 7**).

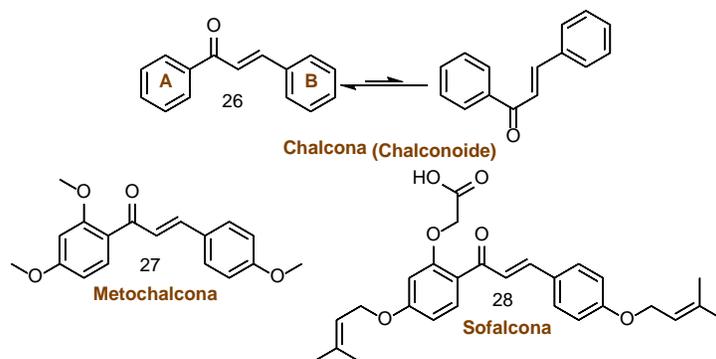


Figura 7 Estructuras de chalcona y dos fármacos basados en chalconas aprobados clínicamente.

La familia de las chalconas ha atraído mucho interés no solo desde las perspectivas sintéticas y biosintéticas, sino también por sus amplias actividades biológicas interesantes. Las aplicaciones terapéuticas de las chalconas se remontan a miles de años a través del uso de plantas y hierbas para el tratamiento de diferentes trastornos médicos, como el cáncer, la inflamación y la diabetes.^{53,54}

Varios compuestos a basados en la chalcona han sido aprobados para uso clínico. Por ejemplo, la metochalcona **27** se comercializó como un fármaco colerético, mientras que la sofalcona **28** se usó previamente como un antiulceroso y un fármaco mucoprotector (**Figura 7**).⁵⁴

2.2.1 Chalconas de fuentes naturales

Las chalconas son el núcleo de muchos compuestos biológicamente interesantes de origen natural y han atraído una gran atención de investigación durante décadas. El término "chalcona" se refiere genéricamente a los productos químicos con un sistema de cetonas α , β -insaturadas. Por lo tanto, la familia de los chalconas tiene una amplia diversidad estructural y puede clasificarse aproximadamente en dos categorías: chalconas simples/clásicas y chalconas híbridas con el andamio central de 1,3-diaril-2-propen-1-ona.

2.2.2 Síntesis

2.2.2.1 Biosíntesis

La Chalcona sintasa (CHS), la primera superfamilia de policétido sintasa de tipo III (PKS), descubierta en la década de los 70,⁵⁶ es una enzima ubicua en las plantas superiores. La CHS también se ha detectado en varias plantas inferiores, como la hepática *Marchantia polymorpha*.⁵⁷ Todos los demás miembros de esta familia están etiquetados como enzimas "similares a CHS". La CHS es responsable de la biosíntesis de diferentes chalconas. Las enzimas de la superfamilia de CHS están asociadas con la biosíntesis de diversos metabolitos secundarios, incluidos los flavonoides, estilbenos y auronas.⁵⁸

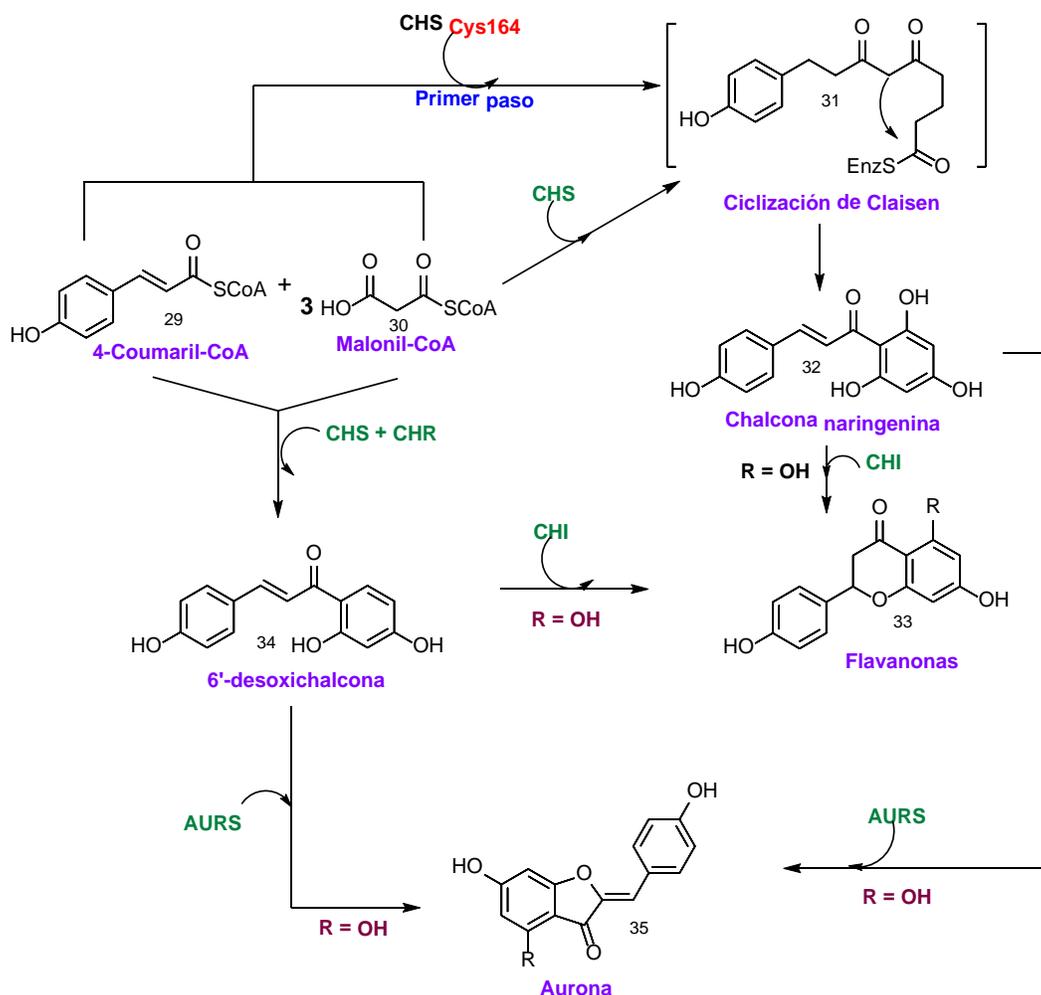
Joseph P. Noel y colaboradores desarrollaron un marco importante para el mecanismo biosintético mediante la cristalización de CHS a partir de la leguminosa *Medicago sativa*, un proceso que proporcionó información estructural clara sobre la biosíntesis de chalcona.⁵⁹

CHS existe como un homodímero, y el tamaño de cada monómero es de aproximadamente 42–45 kDa.⁵⁷ Cys164, Phe215, His303 y Asn336 son los residuos clave del sitio activo y se han conservado entre todos los miembros de CHS y enzimas similares a CHS.

CHS produce chalconas al transferir un resto de cumarilo de una 4-cumaroil-coenzima A (CoA) a Cys164 como primer paso. Posteriormente, tres tioésteres de malonil-CoA forman un intermedio mediante una reacción de policétido (**Esquema 4**).

Después de la generación de un tetracetido ligado a tioéster, se produce una ciclación regioespecífica de tipo Claisen y se forma un nuevo sistema de anillo para generar la chalcona de naringenina (**Esquema 4**).⁵⁷ La chalcona de naringenina se convierte en chalcona de 6'-desoxinaringenina en presencia de chalcona reductasa (CHR) y CHS. Otros metabolitos secundarios de las plantas, como los estilbenos, los fluoroglucinoles, los resorcinoles y las benzofenonas, podrían ser biosintetizados de manera similar con las enzimas catalíticas correspondientes respectivamente, utilizando naringenina chalcona como sustrato.

Los chalconas de naringenina también son los bloques de construcción para la biosíntesis de los compuestos de aurona por una planta catecol oxidasa, aurona sintasa (AURS).⁵⁸ Estas conversiones de chalconas a flavanonas o auronas también podrían realizarse por reacciones químicas, como la reacción Algar-Flynn-Oyamada.⁵⁹ Las chalconas que sirven como precursores han generado una variedad de metabolitos de las plantas, revelando actividades biológicas interesantes. Tomando tal experiencia de la naturaleza, las chalconas simples se han hibridado sintéticamente con otras plantillas, como los estilbenos.

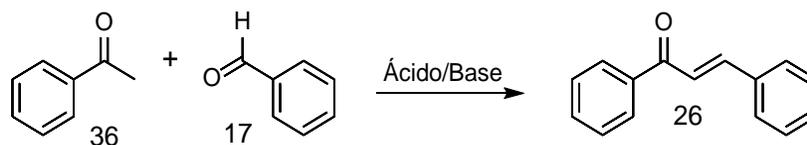


Esquema 4. Biosíntesis de chalconas y vías descendentes.

2.2.2.2 Síntesis química

Condensación Claisen-Schmidt. Visión general.

La reacción de Claisen-Schmidt lleva el nombre de dos investigadores pioneros, R. L. Claisen⁶⁰ y J. G. Schmidt, y describe un proceso en el que se condensan un benzaldehído y una metilcetona en presencia de catalizadores (**Esquema 5**).



Esquema 5. Condensación Claisen-Schmidt de chalconas

Esta reacción se considera una de las más clásicas en química orgánica.⁶¹ Los catalizadores son bases o ácidos fuertes. En el caso de la catálisis básica, la chalcona se genera a partir del producto aldólico mediante la deshidratación en un mecanismo de enolato, mientras que, en el caso de la catálisis ácida, se genera a través de un mecanismo enol.⁶² El principal inconveniente de esta reacción es la lenta

velocidad de reacción. La reacción típicamente necesita varios días para completarse. La reacción también podría dar como resultado una mezcla compleja que contenga el producto deseable, los subproductos y, a veces, los materiales de partida. Por lo tanto, el rendimiento podría variar dramáticamente, dependiendo de los reactivos y catalizadores, variando de <10% a cerca de 100% de conversión.⁶² Sin embargo, esta reacción se ha empleado debido a su simplicidad experimental y la formación altamente eficiente del doble enlace carbono-carbono con poca restricción a la complejidad de las moléculas. Széll *et al* sintetizaron una serie de nitrochalconas y demostraron que la presencia de grupos donadores de electrones en el aldehído favorecía la condensación por ácidos, mientras que los sustituyentes electroattractores favorecían la condensación por condiciones básicas.⁶³ En general, la condición básica es más común en la síntesis de chalconas.

2.2.2.2.1 Condición Básica

La condensación clásica de Claisen-Schmidt se cataliza con base como *t*-butóxido de potasio, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio en metanol o etanol a temperatura ambiente. Esta reacción se ha usado ampliamente para la síntesis de chalconas sustituidas con hidroxilo, típicamente con rendimientos de buenos a excelentes (60-90%)

En algunos casos, el proceso de condensación clásico de Claisen-Schmidt se ha realizado con ligeras modificaciones del catalizador o del sistema de solvente. Por ejemplo, se pueden preparar chalconas β -trifluorometiladas con hidróxidos de metales alcalinotérreos de calcio, bario o estroncio en solventes apróticos para la eliminación fácil del agua.⁶⁴ La eliminación del agua generada es favorable a la reacción, por lo tanto, la condición Dean-Stark que utiliza tolueno como disolvente para eliminar el agua podría acelerar la reacción y se ha confirmado que se obtienen chalconas durante un período más corto y con rendimientos más altos (datos no publicados). La bis(trimetilsilil)amida de litio (LHDMS) también se ha utilizado anteriormente como base para catalizar la condensación y obtener chalconas con menos del 50% de rendimiento.⁶⁵ El sistema NaNO₃ o LiNO₃/fosfato natural/metanol es otro catalizador básico extremadamente eficiente para el proceso de condensación de Claisen-Schmidt a partir del cual se obtienen fácilmente chalconas con altos rendimientos a temperatura ambiente.

2.2.2.2.2 Condición ácida

Aunque los catalizadores básicos se usan generalmente para la síntesis de chalconas, los ácidos de Brønsted-Lowry,⁶³ ácidos de Lewis^{66,67} y diversos sólidos también se han utilizado como catalizadores ácidos.⁶⁸ La aplicación más común que usa etanol saturado con el ácido de Brønsted HCl es marginalmente exitosa, con un rendimiento de solo 10–40%.⁶⁹ Se ha demostrado que el gas HCl seco es más favorable a la reacción porque actúa no solo como un catalizador sino también un absorbente de agua.⁶³

Petrov *et al.* informaron que 16 chalconas, incluida la 4-hidroxichalcona, se sintetizaron en un sistema SOCl₂/etanol con altos rendimientos (73-96%). Se usó⁷⁰ SOCl₂ como una alternativa conveniente al HCl gaseoso en la condensación, donde el HCl se generó *in situ* por la reacción de SOCl₂ con etanol absoluto. También se han obtenido chalconas con ácido *p*-toluensulfónico (*p*-TsOH) como catalizador y ácido acético como disolvente a 70 °C con rendimientos superiores al 70%.⁷¹ Zn(bpy)(OAc)₂, TiCl₄, Cp₂ZrH₂/NiCl₂ y RuCl₃ también se han utilizado como catalizadores ácidos en la condensación.^{72,73}

2.2.2.2.3 Otras Condiciones

La química verde, que ha atraído un interés considerable en la síntesis orgánica,⁷⁴ se ha aplicado recientemente para la síntesis de chalconas. El agua es un disolvente ideal para las reacciones orgánicas, donde las chalconas se preparan en un sistema de agua en presencia de un catalizador de transferencia de fase (PTC). Duan *et al.* informaron una modificación de la condensación de Claisen-Schmidt utilizando agua como disolvente con bromuro de cetiltrimetilamonio (CTMAB) como el PTC y carbonato de potasio como catalizador básico. Se obtuvieron altos rendimientos de las chalconas deseadas en estas condiciones suaves.⁷⁵ En 2013, se obtuvieron chalconas con anillos heterocíclicos utilizando bromuro de tetrabutilamonio (TBAB) como PTC con una solución alcalina inorgánica como base en condiciones de microondas.⁷⁶ También se han utilizado líquidos iónicos, como Wu *et al.* que informaron el uso de tetrafluoroborato de 1,3-dibutil-2-metilimidazolio ([dbmin]BF₄) como el líquido iónico e hidrotalcita como un catalizador ácido sólido para dar chalconas con un rendimiento del 98.5%. El método tiene varias ventajas, como el bajo uso de catalizador, la separación conveniente del producto y el reciclaje del catalizador sin actividad reducida.

2.2.3 Potencial terapéutico de chalconas

La chalcona es una plantilla única que está asociada con varias actividades biológicas (**Fig. 8**) y también es empleada para sintetizar varios compuestos heterocíclicos⁷⁷ y se conoce que la introducción de un halógeno en la parte bencenoide de estas cetonas α , β -insaturadas aumenta su actividad biológica.⁷⁸

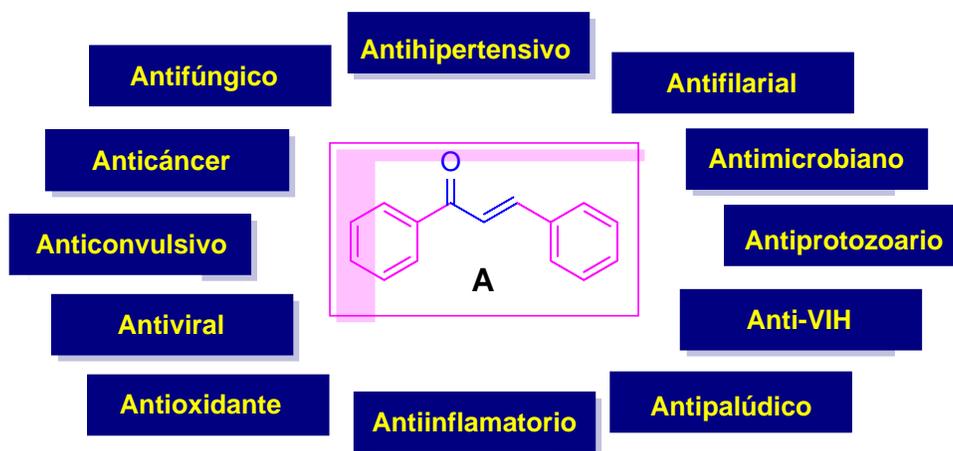


Figura 8. Diferentes actividades biológicas de los análogos de chalcona.

Se ha informado que los compuestos que contienen un arreglo estructural de chalcona poseen actividades biológicas y farmacológicas variadas,⁷⁹ que incluyen antimicrobianos, antiinflamatorios, analgésicos, citotóxicos, antitumorales, antipalúdicos, antituberculosos, antivíricos, anti-VIH, antiulcerativos, antileishmaniales, antiprotozoarios, antioxidantes, actividades antialimentarios, inmunomoduladoras, anticonvulsivas, antihiperlipidémicas, antihiperlipidémicas y antiplaquetarias. Por lo tanto, las chalconas continúan atrayendo una considerable atención científica debido a su asociación con una variedad de actividades biológicas. A continuación, se presenta un breve resumen

de las diversas modificaciones publicadas sobre las chalconas, que dieron lugar a una variedad de actividades biológicas y farmacológicas.

2.2.3.1 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de las chalconas se está documentando cada vez más. Diversos grupos de investigación aislaron o sintetizaron chalconas que poseen actividad antimicrobiana. Se encontró que la presencia de la función ceto α , β -insaturada reactiva en chalconas experimenta una adición conjugada con un grupo nucleofílico como un grupo tiol en una proteína esencial, contribuyendo así en parte a su actividad antimicrobiana, que puede alterarse dependiendo del tipo y posición de los sustituyentes en los anillos aromáticos.

Prasad *et al.*⁸⁰ sintetizaron derivados de 3-[1-oxo-3-(2,4,5-trimetoxifenil)-2-propenil]-2H-1-benzopirán-2-onas **37** que mostraron una actividad antimicrobiana significativa contra *B. subtilis*, *B. pumilis* y *E. coli* cuando se evaluaron a una concentración de 1000 $\mu\text{g/ml}$. El estudio reveló la importancia de los grupos liberadores de electrones, como los grupos hidroxilo y metoxilo, en la mejora de la actividad. Las chalconas con sustituyentes halógeno, como el bromo y el cloro, contribuyeron favorablemente a la actividad antifúngica.

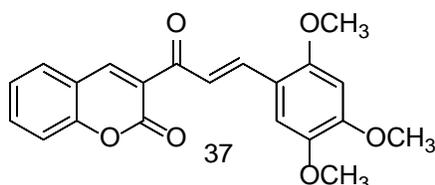


Figura 9 Derivado de 3-[1-oxo-3-(2,4,5-trimetoxifenil)-2-propenil]-2H-1-benzopirán-2-onas

Nielsen *et al.*⁸¹ describieron el reemplazo bioisostérico del grupo 4'-hidroxi esencial en las hidroxichalconas con bioisómeros de diversos grados de acidez que dieron como resultado compuestos más potentes y más solubles. El intercambio del grupo hidroxilo, particularmente con un grupo carboxilo **38** dio como resultado un compuesto potente con una alta solubilidad acuosa. La optimización adicional y el análisis SAR dieron lugar a carboxichalconas solubles y potentes que tienen sustitución dibromo o trifluorometilo en el anillo B. Se encontró que los valores de CIM para estos compuestos eran 2 μM y 40 μM , respectivamente, cuando se probaron contra la bacteria Gram-positiva, *Staphylococcus aureus*. Se encontró que una sustitución dibromo o trifluorometilo en el anillo B realza el carácter lipofílico, mientras que el grupo carboxi en el anillo A contribuía a la solubilidad acuosa requerida.

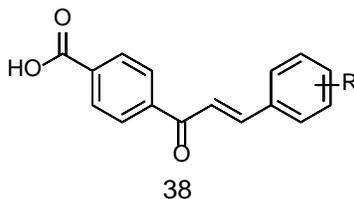


Figura 10 Carboxichalconas

Karthikeyan *et al.*⁸² sintetizaron 3-aril-1-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-2-propen-1-onas **39** que muestran actividad antimicrobiana, lo que también concuerda con las observaciones de que los halógenos poseen un carácter lipofílico favorable requerido para actividad antimicrobiana.

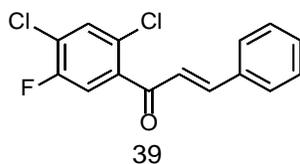


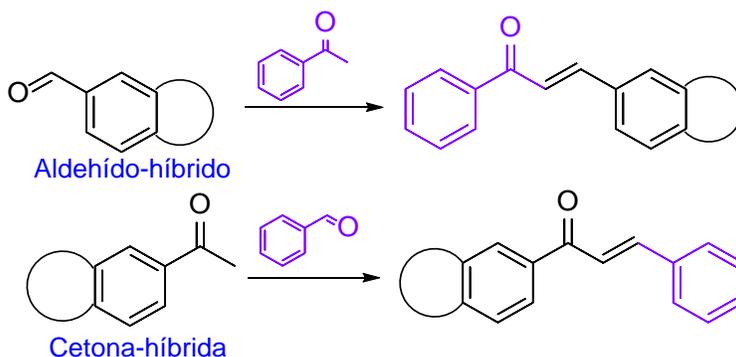
Figura 11 3-aril-1-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-2-propen-1-onas

2.2.4 Chalconas híbridas

La hibridación molecular es una estrategia utilizada para el diseño de nuevas entidades químicas mediante la fusión de dos quimiotipos diferentes. Esta es una alternativa a la quimioterapia de combinación, donde se combinan de manera covalente dos o más fármacos de diferentes mecanismos de acción para el tratamiento.⁸³ Sin embargo, la quimioterapia de combinación simple o física tiene un alto riesgo de interacción fármaco-fármaco.⁸⁴ Las chalconas son reconocidas como un andamio privilegiado para la incorporación de diferentes moléculas o farmacóforos con diversas actividades. La síntesis de estos híbridos o conjugaciones generalmente utiliza la condensación clásica o los métodos de síntesis discutidos anteriormente para construir el núcleo de chalcona. Además de las actividades biológicas para los mecanismos multiobjetivo, las moléculas híbridas también se seleccionan por otras razones, como la mejora de la solubilidad y la biodisponibilidad oral. A continuación, se detallan dos enfoques, la construcción de híbridos de cetona o aldehído y el enlace con chalconas.

2.2.4.1 Híbridos fusionados.

Las chalconas fusionadas se logran fácilmente mediante el proceso de condensación de Claisen-Schmidt utilizando aldehídos o cetonas fusionados (**Esquema 6**). Basados en esta estrategia, se han desarrollado varias chalconas fusionadas (**Figuras 12-13**) con diversas actividades biológicas.



Esquema 6. Estrategia sintética de Chalconas híbridas fusionadas.

Chalconas que contienen boro. El sistema chalcona-benzoxaborol **40**, preparado a partir de los compuestos intermedios 6-formilbenzoxaborol y la cetona correspondiente, recientemente se ha encontrado que inhibe el crecimiento de *Trypanosoma brucei* y posee actividad tripanocida, **Figura 12**⁸⁵ y la chalcona-ácido borónico- **41** se describió a principios de 2002 como una sonda fluorescente para la detección de fluoruros.⁸⁶ El Compuesto **41** se ha descrito como un agente antitumoral que se dirige a la oncoproteína MDM2.⁸⁷ El compuesto **42** puede inducir actividad antitumoral contra líneas celulares de glioma maligno tanto *in vitro* como *in vivo*.⁸⁸ El compuesto **43** muestra una potente actividad contra el cáncer (células HCT116, $IC_{50} = 3.9 \mu M$) junto con actividad inhibitoria de la proteasoma.⁸⁹

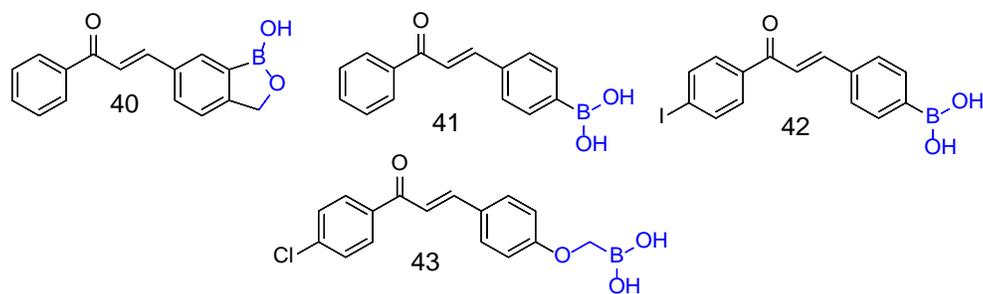


Figura 12 Estructuras de chalconas que contienen boro.

Indol-Chalconas. El indol es un andamio que comúnmente aparece en productos naturales y compuestos sintetizados debido a su amplio espectro de actividad biológica.⁹⁰ Hasta la fecha, se han desarrollado al menos dos tipos de híbridos indol-chalcona (**44-46**, **Figura 13**) con sus actividades biológicas valoradas.^{91,92}

Sashidhara *et al.* obtuvieron fibratos de indol-chalcona a base de fibrato de indol y cumarina-chalcona, y mostraron una potente acción antioxidante *in vitro* e importantes efectos antidislipidémicos *in vivo*.⁹³

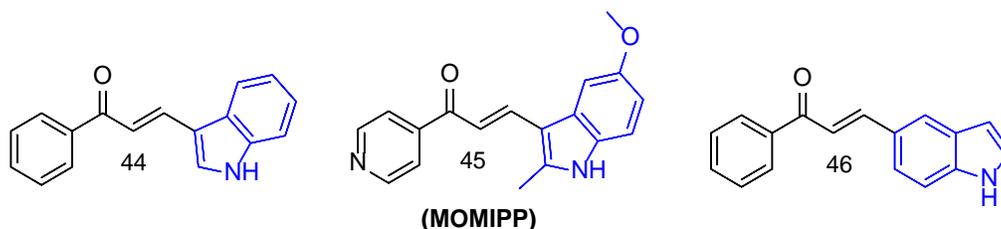


Figura 13. Estructura de indol-chalcona

La arquitectura del compuesto **44** también se ha evaluado en células cancerosas. El 3-(5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-3-il)-1-(4-piridinil)-2-propen-1-ona (**45**, **MOMIPP**) exhibe una actividad inductora de mitosis en concentraciones submicromolares.

2.2.4.2 Híbridos utilizando enlazadores.

El uso de enlazadores es otro método común para conectar chalconas con otros compuestos activos (**Figuras 14-16**). El uso de una conexión directa como un enlace de amida, diol o éster o el uso de un triazol a través de la química de clic son las estrategias más convenientes. Estos híbridos típicamente retienen o mejoran las propiedades biológicas de los chalconas parentales.

Usando una amida como enlazador. Se ha obtenido una serie de α -bromoacrilamido-chalconas (**Figura 14**) mediante la hibridación de un resto α -bromoacrililo y el sistema de cetonas α , β -insaturadas de la estructura de chalcona, donde podrían reaccionar covalentemente con los objetivos.⁹⁴ Los compuestos **47** y **48** exhiben la mayor actividad contra el crecimiento de células tumorales ($IC_{50} < 1 \mu M$) y aumentos de potencia de 10 a 100 veces en comparación con los derivados de amida correspondientes.

El mecanismo de acción solo se ha estudiado de manera preliminar, y los compuestos parecen inducir la apoptosis mediada por la participación de las mitocondrias y la activación de la caspasa-3.

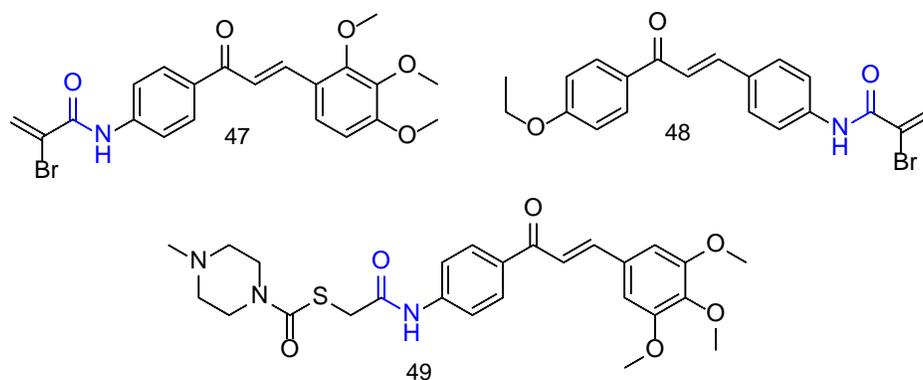


Figura 14. Enlazador amida-chalcona

Usando un diol como enlazador. Un enlazador diol es una de las estrategias más utilizadas para conectar a los farmacóforos en la química médica.⁹⁵ Varios híbridos de chalcona se han diseñado y sintetizado con éxito usando este método (**Figura 15**).

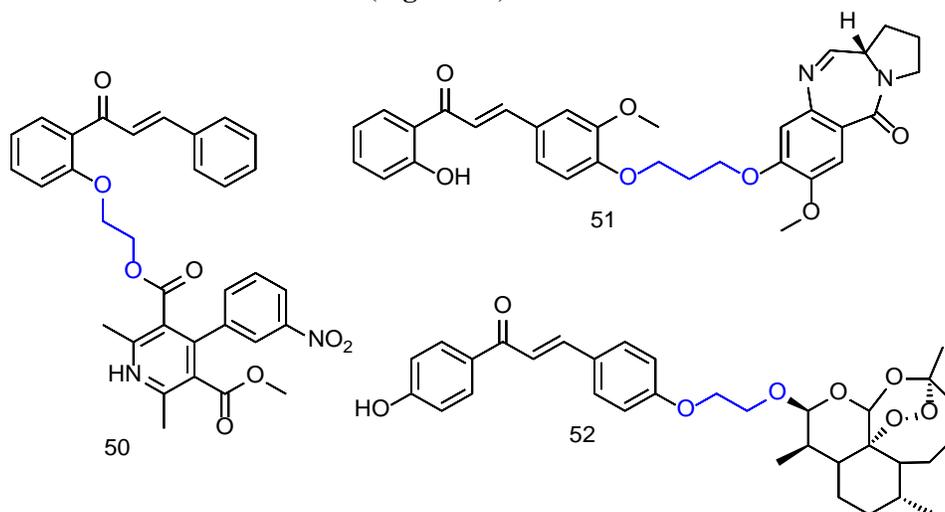
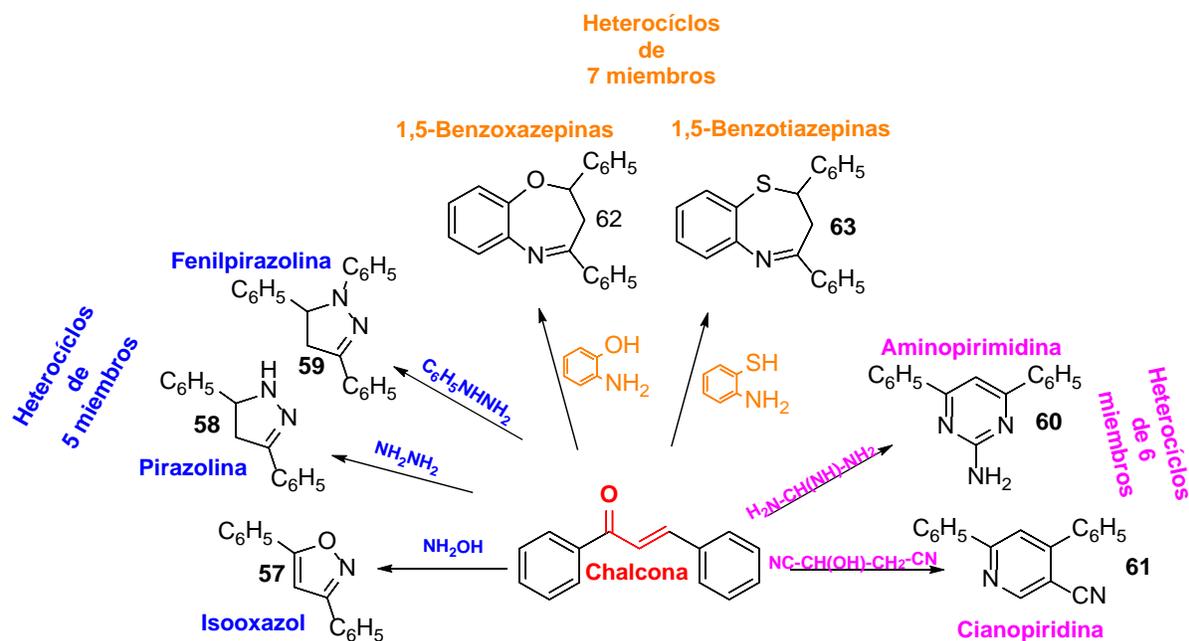


Figura 15 Chalconas enlazadas por dioles

El grupo 1,4-dihidropiridilo es un importante farmacóforo que se ha introducido en moléculas híbridas.⁹⁶ Las 1,4-dihidropiridil-chalconas **50** se pueden sintetizar en glicol y mostrando actividades vasorrelajantes significativas, pero no hay mecanismo de acción ni objetivo(s) de unión se han reportado.⁹⁷

La pirrolobenzodiazepina-chalcona **51** puede prepararse empleando un protocolo sintético en fase sólida a través de una ciclación reductora intramolecular de aza-Wittig. Este compuesto muestra actividad anticancerosa prometedora en un panel NCI-60 y exhibió una afinidad significativa de unión al ADN, según lo determinaron los estudios de desnaturalización térmica.⁹⁸ Recientemente, se informó sobre una serie de novedosas dihidroartemisinina (DHA)-chalconas conectadas por un diol.⁹⁹ El compuesto **52** muestra un valor de CI_{50} de 0.3 μM en la citotoxicidad, que es similar al de la terapia estándar (doxorubicina, $CI_{50} = 0.3 \mu M$), y un aumento de la actividad de 6 veces en comparación con el de DHA.

Usando un éster o éter como enlazador. Usar un éster o éter es una estrategia simple para conectar diferentes farmacóforos al reaccionar directamente con los grupos hidroxilo de una chalcona (**Figura 16**). Por ejemplo, se ha demostrado que los conjugados de chalcona-amidobenzotiazol **53** exhiben



Esquema 7. Potencial sintético de derivados de chalcona para la síntesis de análogos heterocíclicos.

2.3 Pirazoles

Los pirazoles son heterocícl

La presencia del núcleo de pirazol en diferentes estructuras conduce a aplicaciones diversificadas en diferentes áreas tales como tecnología, medicina y agricultura. En particular, se describen como inhibidores de la glucosilación de proteínas, antibacterianos, antifúngicos, anticancerosos, antidepresivos, antiinflamatorios, antituberculosos, antioxidantes y antivirales.¹⁰⁶

Hoy en día, los sistemas de pirazol han atraído más atención debido a sus interesantes propiedades farmacológicas. Este heterocícl

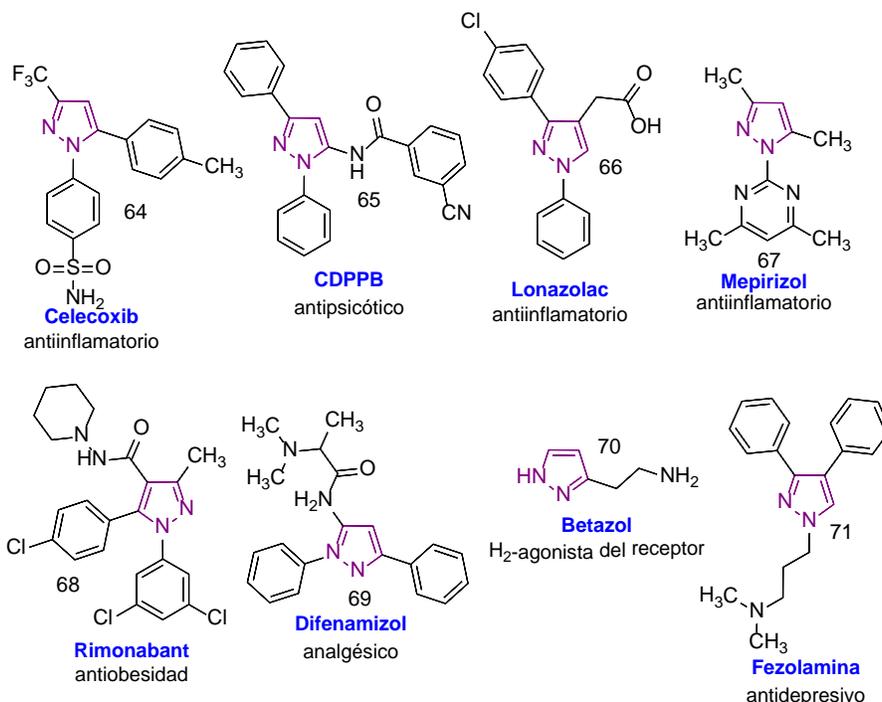


Figura 17 Medicamentos farmacéuticos que contienen al pirazol.

2.3.1 Química

El pirazol **72** es un heterociclo aromático π excesivo. Las reacciones de sustitución electrófila se producen preferentemente en la posición 4 y los ataques nucleófilos en las posiciones 3 y 5 (**Figura 18**).

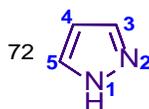


Figura 18 Estructura del pirazol

Los pirazoles sustituidos de forma diversa por grupos aromáticos y heteroaromáticos poseen numerosas actividades biológicas, lo que los hace particularmente interesantes. Las diversas rutas de acceso al núcleo de pirazol han sufrido numerosas modificaciones desde las primeras síntesis descritas por Knorr.¹⁰⁹

2.3.1.1 Diferentes enfoques en la síntesis

A continuación, se presentan los métodos generalmente utilizados para acceder a los pirazoles sustituidos.

2.3.1.2 Ciclocondensación de hidrazina y sus derivados en sistemas 1,3-difuncionales.

El principal método utilizado para obtener pirazoles sustituidos es una reacción de ciclocondensación entre una hidrazina apropiada que actúa como un nucleófilo bidentado y una unidad de carbono como un compuesto 1,3-dicarbonílico o una cetona α , β -insaturada (**Figura 19**).

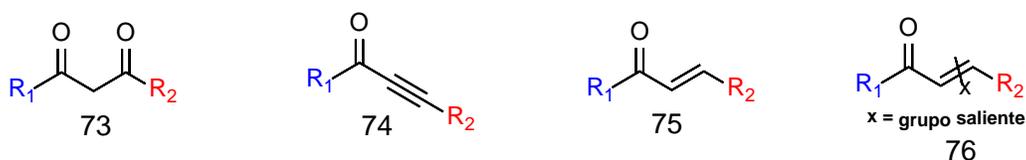
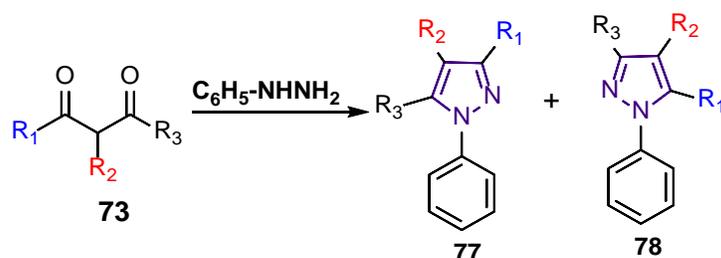


Figura 19 Ejemplos de compuestos carbonilo α,β -insaturados.

2.3.1.3 A partir 1,3-dicetonas

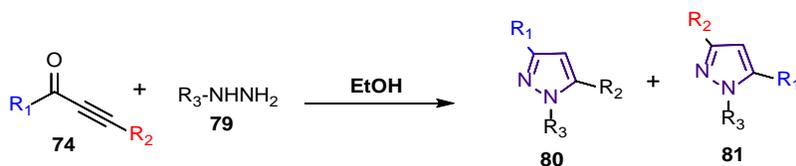
La ciclocondensación de los compuestos 1,3-dicarbonilo con los derivados de hidrazina es un método simple y rápido para obtener pirazoles polisustituídos. La primera síntesis de los pirazoles sustituidos se llevó a cabo en 1883 por Knorr que empleó una β -dicetona **73** con derivados de hidrazina para obtener dos regioisómeros **77** y **78** (Esquema 8).¹⁰⁹



Esquema 8 Síntesis de pirazoles polisustituídos a partir de compuestos de 1,3-dicarbonilo.

2.3.1.4 A partir cetonas acetilénicas

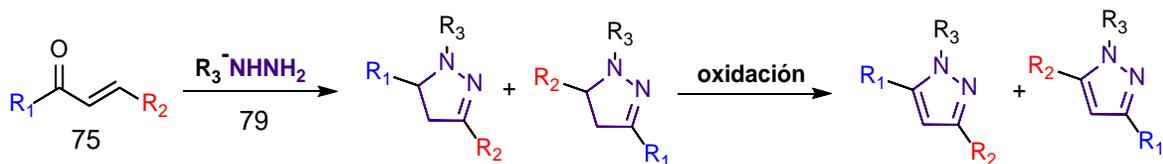
La reacción de ciclocondensación de los derivados de hidrazina **79** con cetonas acetilénicas **80** para formar pirazoles, se conoce desde hace más de 100 años.¹¹⁰ Sin embargo, la reacción nuevamente da como resultado una mezcla de dos regioisómeros **79** y **80** (Esquema 9).



Esquema 9 Síntesis de pirazoles a partir de cetonas acetilénicas

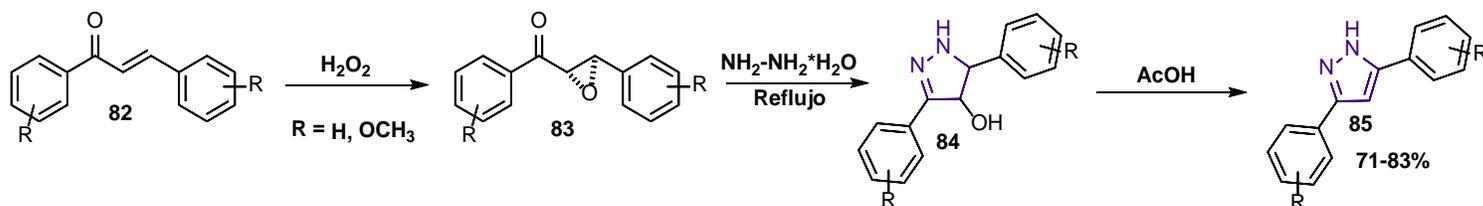
2.3.1.5 A partir de vinilcetonas

La reacción de ciclocondensación entre una cetona α,β -etilénica y un derivado de hidrazina da como resultado la síntesis de pirazolininas que, después de la oxidación, proporcionan el anillo de pirazol (Esquema 10).



Esquema 10 Síntesis de pirazoles por reacción de ciclocondensación de una cetona α,β -etilénica

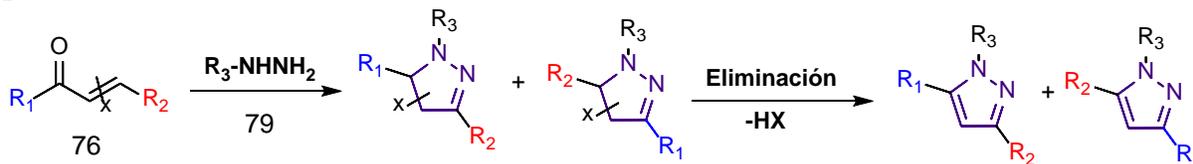
Por otro lado, Bhat *et al.* describieron un método para la síntesis de 3,5-diaril-1*H*-pirazoles a partir de la reacción β -arilchalconas **82** con peróxido de hidrógeno que dio los epóxidos **83**. Luego, la adición de hidrato de hidrazina produjo los productos intermedios de pirazolina **84**, cuya deshidratación produjo los 3,5 diaril-1*H*-pirazoles **85** (Esquema 11).¹¹¹



Esquema 11 Síntesis de 3,5-diaril-1*H*-pirazoles a partir de β -arilchalconas

2.3.1.6 A partir de vinilcetonas que contienen un grupo saliente

Las cetonas α,β -etilénicas que presentan un grupo saliente pueden reaccionar con derivados de hidrazina para formar pirazolinás que, después de la eliminación del grupo saliente, proporcionan los pirazoles deseados (Esquema 12).



Esquema 12 Síntesis de pirazoles a través de la ciclocondensación de cetonas α , β -etilénicas que tienen un grupo saliente

Una de las principales preocupaciones es llegar a establecer rutas sencillas para la síntesis de los derivados de pirazol.¹¹² La otra área importante de investigación en química orgánica sintética es a través de la química verde, aplicando principios establecidos por ella.¹¹³

Una de las posibilidades para contribuir a la química verde es llevar a cabo la síntesis de derivados de pirazol en medio acuoso.¹¹⁴ El uso del agua tiene muchas ventajas, ya que el agua es barata, de fácil acceso, no tóxica y respetuosa con el medio ambiente, por lo que el agua es preferible como disolvente desde un punto de vista económico y ambiental.¹¹⁵ La estructura única y las propiedades fisicoquímicas del agua establecen interacciones particulares de polaridad, enlaces de hidrógeno, efectos hidrófobos además de las interacciones de trans -fase que pueden influir en el curso de una reacción de manera importante.^{116, 117}

Además de lo anterior, el bajo porcentaje de rendimiento es otro desafío importante en la síntesis de pirazoles. Las reacciones sin disolventes son rápidas, regio o quimio-selectivas. Estas reacciones resultan en altos rendimientos y tienen ventajas ambientales y económicas. Estas reacciones sin disolventes representan una posible solución a los desafíos en la síntesis de derivados de pirazol.

2.3.2 Bioactividad de derivados de Pirazol

Varios derivados de pirazol poseen importantes actividades farmacológicas y se han demostrado como materiales útiles en la investigación de fármacos. Estos compuestos tienen diversas actividades biológicas antimicrobianas, anticancerosas, citotóxicas, analgésicas, antiinflamatorias, antihipertensivas, actividad sobre el sistema nervioso central como antiepilépticos, antidepresivos, etc.

Los derivados de pirazol desempeñan un papel importante entre los agentes antitumorales debido a sus buenas actividades inhibitorias contra BRAFV600E, una mutación del carcinoma papilar de tiroides, EGFR receptor de tirosina quinasa que regula la proliferación, diferenciación, migración y supervivencia celular, esta al mutar, se produce tumorigenesis, especialmente en el cáncer de pulmón, las telomerasas son enzimas que ayudan a las células a mantenerse vivas al agregar ADN, las células cancerosas tienen más telomerasa que la mayoría de las células normales y los receptores de ROS, especies reactivas de oxígeno son radicales, iones o moléculas que tienen un solo electrón no apareado en su capa más externa de electrones. Debido a este carácter, los ROS son altamente reactivos.

2.3.2.1 Como antimicrobianos

En 2013, Kale *et al.*¹¹⁸ sintetizaron derivados del 4-azo-3,5-dimetilpirazol (**Figura 20**) y evaluaron su actividad antimicrobiana contra diferentes cepas de bacterias como *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *S. paratyphi* utilizando el método de difusión en agar. De todos los compuestos sintetizados, **86** y **87** indicaron una mejor actividad que la ciprofloxacina (medicamento de referencia).

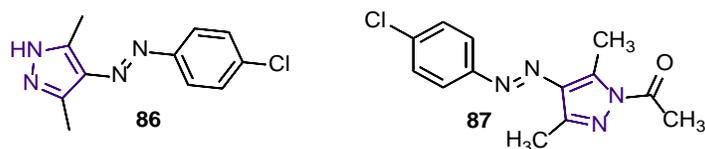


Figura 20 Derivados de 4-azo-3,5-dimetilpirazol

Patil *et al.*¹¹⁹ sintetizaron 5-aryl-3-(5-bromo-3-metilbenzofuran-2-il)-1-(3 o 4-R₂benzoil)pirazoles **88**. Se realizó un análisis antimicrobiano de los compuestos para determinar su actividad antimicrobiana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* ATCC3750, *Salmonella typhi* NCTC786, *Candida albicans* ATCC 10233 y *Aspergillus niger* ATCC 16404 utilizando el método de dilución de tubos y los compuestos ensayados mostraron una actividad significativa.

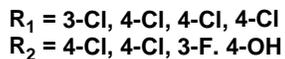
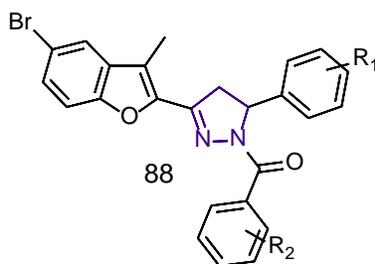


Figura 21 5-aryl-3-(5-bromo-3-metilbenzofuran-2-il)-1-(3 o 4-R₂benzoil)pirazoles

2.4 Referencias

- [1] Vojvodić, V. *Kem Ind*, **2009**, 58(1), 32-33.
- [2] Riđanović, L., Ćatović, F., Riđanović, S. The Green Chemistry-Ecological Revolution in the Classroom. 8th Research/Expert Conference with International Participations "QUALITY 2013", Neum, B&H, **2013**, June 06 – 08, 447-452.
- [3] Jukić, M.; Djaković, S.; Filipović-Kovačević, Ž.; Kovač, V.; Vorkapić-Furač, *J Kem Ind*, **2005**, 54(5), 255-272.
- [4] Ritter, S. K. *Chem Eng News*, **2001**, 79(29), 27-34.
- [5] Thornber, C. W. *Chem Soc Rev*, **1979**, 8, 563-580.
- [6] Pandeya SN, Dimmock JR (1997) *An introduction to drug design*, New Age International. Pag 27.
- [7] Murphy, R.; Kay, C.; Rankovic, Z. *Drug Discov Today*, **2004**, 9, 641-651.
- [8] Murphy, R.; Rankovic, Z. *J Med Chem*, **2005**, 48, 6523-6543.
- [9] Murphy, J. R.; Rankovic, Z. *J Med Chem*, **2006**, 49, 4961-4970.
- [10] Murphy, J. R.; Rankovic, Z. *Drug Discov Today*, **2007**, 12, 156-160.
- [11] Ruiz-Sanchis, P.; Savina, S. A.; Albericio, F.; Álvarez, M. *Chem Eur J*, **2011**, 17(5), 1388-1408.
- [12] Vicente, R. *Org Biomol Chem*, **2011**, 9(19), 6469-6480.
- [13] Radwanski, E. R.; Last, R. L. *Plant Cell*, **1995**, 7, 921-934
- [14] Kogl, F.; Haagen-Smit, A. J.; Erxleben, Z. *Z. Physiol Chem*, **1934**, 228, 90-103
- [15] Poornima, J.; Mirunalini, S. *Mol Cel. Biochem*, **2014**, 385(1-2), 7-15.
- [16] Grose, K. R.; Bjeldanes, L. F. *Chem Res Toxicol*, **1992**, 5(2), 188-193.
- [17] Anderton, M. J.; Manson, M. M.; Verschoyle, R. D.; Gescher, A.; Lamb, J. H.; Farmer, P. B.; Steward, W. P.; Williams, M. L. *Clin Cancer Res*, **2004**, 10(15), 5233-5241.
- [18] Fan, S.; Meng, Q.; Saha, T.; Sarkar, F. H.; Rosen, E. M. *Cancer Res*, **2009**, 69(15), 6083-6091.
- [19] Preobrazhenskaya, M.; Bukhman, V.; Korolev, A.; Efimov, S. *Pharmacol Ther*, **1993**, 60(2), 301-313
- [20] Zeligs, M.A. *J Med Food*, **1998**, 1, 67-82.
- [21] Pal, C.; Dey, S.; Mahato, K.; Vinayagam, J.; Pradhan, P. K.; Giri, S.; Jaisankar, P.; Hossain, T.; Baruri, S.; Ray, D.; Mandal, S. *Bioorg Med Chem Lett*, **2007**, 17, 4924-4928.
- [22] Shiri, M.; Zolfigol, M. A.; Kruger, H. G.; Tanbakouchian, Z. *Chem Rev*, **2009**, 110(4), 2250-2293.
- [23] Michnovicz, J. J.; Bradlow, H. L. *Nutr Cancer*, **1991**, 16(1), 59-66.

- [24] Michnovicz, J.J. Bradlow, H.L. In Food Phytochemicals for Cancer Prevention I: Fruits and Vegetables. Huang, M.T. Ed.; American Chemical Society: Washington, DC, 1994, Vol. 546, pp 282–293.
- [25] Bell, M. C.; Crowley-Nowick, P.; Bradlow, H. L.; Sepkovic, D. W.; Schmidt-Grimminger, D.; Howell, P.; Mayeaux, E.; Tucker, A.; Turbat-Herrera, E. A.; Mathis, J. M. *Gynecol Oncol*, **2000**, 78(2), 123-129.
- [26] Fischer, H. E. *Dtsch Chem Ges*, **1886**, 19, 2988-2991.
- [27] Remers, W. Properties and reactions of indoles, isoindoles, and their hydrogenated derivatives. Chemistry of Heterocyclic Compounds: Indoles, Part One, Houlihan, W.J., Ed.; John Wiley & Sons, 1972, Vol. 25, pp. 1-226.
- [28] Noland, W. E.; Venkiteswaran, M.; Richards, C. *J Org Chem*, **1961**, 26(11), 4241-4248.
- [29] Roomi, M.; MacDonald, S. *Can J Chem*, **1970**, 48(1), 139-143.
- [30] Rao, L. *Resonance*, **2007**, 12(8), 65-75.
- [31] Kobayashi, S. *Pure Appl Chem*, **1998**, 70(5), 1019-1026.
- [32] Kobayashi, S.; Araki, M.; Yasuda, M. *Tetrahedron Lett*, **1995**, 36(32), 5773-5776.
- [33] Liang, D.; Huang, W.; Yuan, L.; Ma, Y.; Ma, J.; Ning, D. *Catal Commun*, **2014**, 55, 11-14.
- [34] Rajendran, A.; Raghupathy, D.; Priyadarshini, M. *Int J Chem Tech Res*, **2011**, 3(1), 298-302.
- [35] Mulla, S. A.; Sudalai, A.; Pathan, M. Y.; Siddique, S. A.; Inamdar, S. M.; Chavan, S. S.; Reddy, R. S. *RSC Adv*, **2012**, 2(8), 3525-3529.
- [36] Ji, S.-J.; Zhou, M.-F.; Gu, D.-G.; Wang, S.-Y.; Loh, T.-P. *Synlett*, **2003**, 2003(13), 2077-2079.
- [37] Ji, S. J.; Zhou, M. F.; Gu, D. G.; Jiang, Z. Q.; Loh, T. P. *Eur. J. Org Chem*, **2004**, 2004(7), 1584-1587.
- [38] Seyed, N.; Saidi, K.; Khabazzadeh, H. *Synth Commun*, **2009**, 39(10), 1864-1870.
- [39] Kalla, R. M. N.; John, J. V.; Park, H.; Kim, I. *Catal Commun*, **2014**, 57, 55-59.
- [40] Zolfigol, M. A.; Salehi, P.; Shiri, M.; Tanbakouchian, Z. *Catal Commun*, **2007**, 8(2), 173-178.
- [41] Hazarika, P.; Sharma, S. D.; Konwar, D. *Synth Commun*, **2008**, 38(17), 2870-2880.
- [42] Sen, S. E.; Smith, S. M.; Sullivan, K. A. *Tetrahedron*, **1999**, 55(44), 12657-12698.
- [43] Penieres, J., Álvarez-Toledano, C., García, J., Gutiérrez, J. *Green Chem*, **2003**, 5, 337-339.
- [44] Vagdevi, H.; Jayanna, N.; Latha, K. *Der Pharma Chemica*, **2012**, 4(4), 1754.
- [45] Benabadji, S. H.; Wen, R.; Zheng, J.-B.; Dong, X.-C.; Yuan, S.-G. *Acta Pharmacol Sin*, **2004**, 25(5), 666-671.

- [46] Sujatha, K.; Perumal, P. T.; Muralidharan, D.; Rajendran, M. *Indian J Chem*, **2009**, *48B*, 267-272.
- [47] Kathleen, A.; Merrill, A.G. PCT. Int. Appl. WO 99. *Chem Abstr*, **1999**, 130, 276765.
- [48] Sivaprasad, G.; Perumal, P. T.; Prabavathy, V. R.; Mathivanan, N. *Bioorg Med Chem Lett*, **2006**, *16*, 6302-6305.
- [49] Sashidhara, K. V.; Kumar, A.; Kumar, M.; Srivastava, A.; Puri, A. *Bioorg Med Chem Lett*, **2010**, *20*(22), 6504-6507.
- [50] Sashidhara, K. V.; Kumar, M.; Sonkar, R.; Singh, B. S.; Khanna, A.; Bhatia, G. *J Med Chem*, **2012**, *55*(6), 2769-2779.
- [51] Imran, S.; Taha, M.; Ismail, N. H.; Fayyaz, S.; Khan, K. M.; Choudhary, M. I. *Bioorg Chem*, **2015**, *62*, 83-93.
- [52] Roy, S.; Gajbhiye, R.; Mandal, M.; Pal, C.; *Med Chem Res*, **2014**, *23*, 1371-1377
- [53] Zhou, B.; Xing, C. *Med Chem*, **2015**, *5*, 388-404.
- [54] Batovska, D. I.; Todorova, I. T. *Curr Clin Pharmacol*, **2010**, *5*, 1-29.
- [55] Sahu, N. K.; Balbhadra, S. S.; Choudhary, J.; Kohli, D. V. *Curr Med Chem*, **2012**, *19*, 209-225.
- [56] Kreuzaler, F.; Hahlbrock, K. *FEBS Lett*, **1972**, *28*, 69-72.
- [57] Austin, M. B.; Noel, J. P. *Nat Prod Rep*, **2003**, *20*, 79-110.
- [58] Molitor, C.; Mauracher, S. G.; Rompel, A. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2016**, *113*, E1806-1815.
- [59] Bennett, M.; Burke, A. J.; O'Sullivan, W. I. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 7163-7178.
- [60] Claisen, L.; Claparède, A. *Ber. Dtsch. Chem Ges*, **1881**, *14*, 2460-2468.
- [61] Powers, D. G.; Casebier, D. S.; Fokas, D.; Ryan, W. J.; Troth, J. R.; Coffen, D. L. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 4085-4096.
- [62] Nielsen, A. T.; Houlihan, W. J. *Org. React*, **2011**, *16*, 1-438.
- [63] Széll, T.; Sohár, I. *Can J Chem*, **1969**, *47*, 1254-1258.
- [64] Patel, D. D.; Lee, J. M. *Chem Rec*, **2012**, *12*, 329-355.
- [65] Daskiewicz, J. B.; Comte, G.; Barron, D.; Di Pietro, A.; Thomasson, F. *Tetrahedron Lett*, **1999**, *40*, 7095-7098.
- [66] Narender, T.; Reddy, K. P. *Tetrahedron Lett*, **2007**, *48*, 3177-3180.
- [67] Iranpoor, N.; Kazemi, F. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 9475-9480.
- [68] Zhuang, C; Zhang, W.; Sheng, C.; Zhang, W.; Xing, C.; Miao, Z. *Chem Rev*, **2017**, *117*, 7762-7810.
- [69] Molitor, C.; Mauracher, S. G.; Rompel, A. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2016**, *113*, E1806-1815.

- [70] Petrov, O.; Ivanova, Y.; Gerova, M. *Catal Commun*, **2008**, *9*, 315–316.
- [71] Hasaninejad, A.; Zare, A.; Balooty, L.; Mehregan, H.; Shekouhy, M. Solvent-Free, *Synth Commun*, **2010**, *40*, 3488–3495.
- [72] Iranpoor, N.; Kazemi, F. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 9475–9480.
- [73] Mazza, L. J.; Guarna, A. *Synthesis*, **1980**, *1980*, 41–44.
- [74] Amde, M.; Liu, J. F.; Pang, L. *Environ Sci Technol*, **2015**, *49*, 12611–12627.
- [75] Duan, H. C.; Jiang, H.; Gong, H. *China Pharm*, **2006**, *15*, 30–31.
- [76] Yang, J.; Ji, G.; Liu, H.; Lian, Y. CN Patent 103408494A, **2013**; *Chem Abstr*, 2013, 160, 33884.
- [77] Geiger, W.B.; Conn, J. E. *J Am Chem Soc*, **1945**, *67*, 112.
- [78] Ambedkar, S.; Venekar, S. S.; Acharya, S.; Rajagopal, S. *J Pharm Pharmacol*, **1961**, *13*, 698–699.
- [79] Dhar, D. N. (1981) in: The chemistry of chalcones and related compounds. New York, Wiley Interscience. Pp. 8-12.
- [80] Prasad, Y. R.; Ravi, K. P.; Asha, D. C. H.; Venkata, R. M. *Asian J Chem*, **2007**, *19*, 4799.
- [81] Nielsen, S. F.; Boesen, T.; Larsen, M.; Schonning, K.; Kromann, H. *Bioorg Med Chem*, **2004**, *12*(11), 3047-3054.
- [82] Karthikeyan, M. S.; Holla, B. S.; Kumari, N. S. *Eur J Med Chem*, **2007**, *42*(1), 30-36.
- [83] Viegas-Junior, C.; Danuello, A.; da Silva-Bolzani, V.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Curr Med Chem*, **2007**, *14*, 1829–1852.
- [84] Kamal, A.; Kashi-Reddy, M.; Viswanath, A. *Expert Opin Drug Discovery*, **2013**, *8*, 289–304.
- [85] Qiao, Z.; Wang, Q.; Zhang, F.; Wang, Z.; Bowling, T.; Nare, B.; Jacobs, R. T.; Zhang, J.; Ding, D.; Liu, Y.; *J. Med Chem*, **2012**, *55*, 3553–3557.
- [86] DiCesare, N.; Lakowicz, J. R. *Tetrahedron Lett*, **2002**, *43*, 2615–2618.
- [87] Kumar, S. K.; Hager, E.; Pettit, C.; Gurulingappa, H.; Davidson, N. E.; Khan, S. R. *J Med Chem*, **2003**, *46*, 2813–2815.
- [88] Sasayama, T.; Tanaka, K.; Mizukawa, K.; Kawamura, A.; Kondoh, T.; Hosoda, K.; Kohmura, E. *J Neuro-Oncol*, **2007**, *85*, 123–132.
- [89] Achanta, G.; Modzelewska, A.; Feng, L.; Khan, S. R.; Huang, P. *Mol Pharmacol*, **2006**, *70*, 426–433.
- [90] Eftekhari-Sis, B.; Zirak, M.; Akbari, A. *Chem Rev*, **2013**, *113*, 2958–3043.
- [91] Wang, G.; Li, C.; He, L.; Lei, K.; Wang, F.; Pu, Y.; Yang, Z.; Cao, D.; Ma, L.; Chen, *J Bioorg Med Chem*, **2014**, *22*, 2060–2079.

- [92] Ozdemir, A.; Altintop, M. D.; Turan-Zitouni, G.; Ciftci, G. A.; Ertorun, I.; Alatas, O.; Kaplancikli, Z. A. *Eur J Med Chem*, **2015**, *89*, 304–309.
- [93] Sashidhara, K. V.; Dodda, R. P.; Sonkar, R.; Palnati, G. R.; Bhatia, G. *Eur J Med Chem*, **2014**, *81*, 499–509.
- [94] Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Carrion, M. D.; Cruz-Lopez, O.; Cara, C. L.; Balzarini, J.; Hamel, E.; Canella, A.; Fabbri, E.; Gambari, R. *Bioorg Med Chem Lett*, **2009**, *19*, 2022–2028.
- [95] Yang, Y.; Hahne, H.; Kuster, B.; Verhelst, S. H. *Mol Cell Proteomics*, **2013**, *12*, 237–244.
- [96] Austin, M. B.; Noel, J. P. *Nat Prod Rep*, **2003**, *20*, 79–110.
- [97] Dong, X.; Du, L.; Pan, Z.; Liu, T.; Yang, B.; Hu, Y. *Eur J Med Chem*, **2010**, *45*, 3986–3992.
- [98] Kamal, A.; Shankaraiah, N.; Prabhakar, S.; Reddy, Ch. R.; Markandeya, N.; Reddy, K. L.; Devaiah, V. *Bioorg Med Chem Lett*, **2008**, *18*, 2434–2439.
- [99] Gaur, R.; Pathania, A. S.; Malik, F. A.; Bhakuni, R. S.; Verma, R. K. *Eur. J Med Chem*, **2016**, *122*, 232–246.
- [100] Kamal, A.; Mallareddy, A.; Suresh, P.; Shaik, T. B.; Lakshma Nayak, V.; Kishor, C.; Shetti, R. V.; Sankara Rao, N.; Tamboli, J. R.; Ramakrishna, S. *Bioorg Med Chem*, **2012**, *20*, 3480–3492.
- [101] Wendel, K. A.; Workowski, K. A. *Clin Infect Dis*, **2007**, *44*(Suppl. 3), S123–S129.
- [102] Anthwal, A.; Rajesh, U. C.; Rawat, M. S.; Kushwaha, B.; Maikhuri, J. P.; Sharma, V. L.; Gupta, G.; Rawat, D. S. *Eur J Med Chem*, **2014**, *79*, 89–94.
- [103] Fathalla, O. A.; Awad, S. M.; Mohamed, M. S. *Arch Pharm Res*, **2005**, *28*(11), 1205–1212.
- [104] Ramiz, M. M.; El-Sayed, W. A.; El-Tantawy, A.; Abdel-rahman, A. A. *Arch Pharm Res*, **2010**, *33*(5), 647–654.
- [105] Braun, R. U.; Zeitler, K.; Mueller, T. *J Org Lett*, **2000**, *2*(26): 4181–4184.
- [106] Fustero, S.; Sánchez-Roselló, M.; Barrio, P.; Simón-Fuentes, A. *Chem Rev*, **2011**, *111*, 6984–7034.
- [107] Steinbach, G.; Lynch, P. M.; Robin, K. S. P.; Wallace, M. H.; Hawk, E.; Gordon, G. B.; Wakabayashi, N.; Saunders, B.; Shen, Y.; Fujimura, T.; Su, L.-K.; Levin, A. B. *N Engl J Med*, **2000**, *342*, 1946–1952.
- [108] Uslaner, J. M.; Parmentier-Batteur, S.; Flick, R. B.; Surles, N. O.; Lam, J. S.; McNaughton, C. H. *Neuropharmacology*, **2009**, *57*, 531–538.
- [109] Knorr, L. *Eur J Inorg Chem*, **1883**, *16*, 2597–2599.
- [110] Moureu, C.; Delange, R. *Soc Chim Fr*, **1901**, *25*, 302–313.
- [111] Bhat, B. A.; Puri, S. C.; Qurishi, M. A.; Dhar, K. L.; Qazi, G. N. *Synth Commun*, **2005**, *35*, 1135–1142.

- [112] Isaad, J.; Perwuelz, A. *Tetrahedron Lett*, **2010**, *51*, 5328-5332.
- [113] Longhi, K.; Moreira, D. N.; Marzari, M. R. B.; Floss, V. M.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Tetrahedron Lett*, **2010**, *51*, 3193-3196
- [114] Mecadon, H.; Rohman, Md.; Rumum, K. I.; Laloo, B. M.; Kharkongor, I.; Rajbanshi, M.; Myrboh, B. *Tetrahedron Lett*, **2011**, *52*, 3228-3231.
- [115] Motamedi, A.; Sattari, E.; Mirzaei, P.; Armaghan, M.; Bazgir, A. *Tetrahedron Lett*, **2014**, *55*, 2366-2368.
- [116] Simon, M. O.; Li, C. *J Chem Soc Rev*, **2012**, *41*, 1415-1427
- [117] Cave, G. W. V.; Raston, C. L.; Scott, J. L. *Chem Commun*, **2001**, *21*, 2159-2169.
- [118] Kale, P. D. *J Chem Pharm Res*, **2013**, *5*(9), 130-134.
- [119] Patil, V.; Asrondkar, A.; Pande, S.; Bobade, A. S.; Chowdhary, A. S. *IOSR-JPBS*, **2013**, *8*(4), 04-08.
- [120] Van Order, R. B.; Lindwall, H. G. *Chem Rev*, **1942**, *30*, 69-96.
- [121] Balseven, H.; Isgor, M. M.; Mert, S.; Alim, Z.; Beydemir, S.; Ok, S.; Kasimogullari, R. *Bioorg Med Chem*, **2013**, *21*, 21-27

3 Antecedentes sección biológica

3.1 Hongos levaduriformes

Los hongos por sus características morfológicas, fisiológicas y ecológicas forman un reino llamado fungi, caracterizado por poseer una estructura celular eucariota, carecen de clorofila, unicelulares (levaduras) o pluricelulares (hongos filamentosos), típicamente inmóviles, de nutrición heterótrofa y de reproducción sexuada y/o asexual.

Los hongos levaduriformes son hongos unicelulares globosos, ovales o alargados de 2–6 μm . que presentan reproducción asexual a través de yemación (Torulopsis, Candida). Las levaduras se desarrollan a temperaturas óptimas entre 25 y 30°C y forman colonias lisas, de textura húmeda, cremosas o membranosas semejantes a las bacterias.

A la observación en fresco, aparecen de mayor tamaño que las bacterias y se observan células en yemación o fisión. Presentan una tinción Gram (+).

3.1.1 *Candida albicans*

Candida albicans es uno de los 200 organismos del género *Candida*.¹⁻³

Candida albicans es un patógeno fúngico oportunista que existe como comensal inofensivo en el tracto gastrointestinal y genitourinario en aproximadamente el 70% de los humanos y aproximadamente el 75% de las mujeres sufren de infección por *Candida* al menos una vez en su vida.⁴⁻⁷

La expresión “oportunistas” se usa para referirse a un grupo de hongos que viven normalmente en humanos y que tienen la capacidad de aumentar en cantidad y transformarse en patógenos bajo determinadas condiciones del huésped, uno de los de mayor importancia en dermatología.⁸

La *C. albicans* pertenece al Reino de los hongos imperfectos, que son hongos filamentosos tabicados y levaduriformes que si bien pueden presentar reproducción sexual (solo algunas especies), la forma asexual es la más importante ya que ésta produce las enfermedades. Figura 1

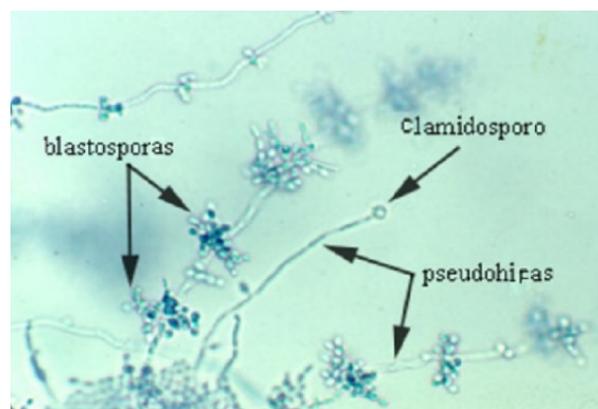


Figura 1 Morfología de un hongo imperfecto (*Candida albicans*).

3.1.1.1 Etiología

De las aproximadamente 200 especies de *Candida*, son menos de 20 las especies asociadas a infecciones en mamíferos. La especie que con mayor frecuencia se relaciona con patologías cutáneas es *C. albicans*.⁹ Las especies de *Candida* son habitantes normales de la mucosa alimentaria, respiratoria superior y genital de los mamíferos y llegan a causar infecciones oportunistas de la piel, las áreas mucocutáneas y el conducto auditivo externo.¹⁰

3.1.1.2 Patogenia

Una vez que estas levaduras se encuentran dentro del organismo, la diseminación de la infección se correlaciona con la inmunocompetencia y la función de los neutrófilos. Las especies de *Candida* producen proteinasas ácidas, queratinasas (degradan el estrato córneo) y fosfolipasas (penetran los tejidos).¹⁰

3.1.1.3 Factores de virulencia

Son muchos los factores que contribuyen a la virulencia de *C. albicans*. Las adhesinas que se localizan en la superficie celular promueven la unión y posiblemente la penetración al tejido del hospedador. Las proteinasas, lipasas y fosfolipasas secretadas proporcionan los nutrientes que la célula necesita y promueven la invasión. Las transiciones morfológicas entre levaduras y pseudohifas o hifas promueven la diseminación y penetración de las células de *C. albicans*. Un factor más es la formación de biopelículas.¹¹

3.1.1.4 Membrana plasmática

La membrana celular de la célula humana, así como la de los hongos, desempeña una importante función en la división celular y en el metabolismo. Las complejas partículas lipídicas llamadas esterolatos, son aproximadamente el 25 % de la membrana celular. Sin embargo, el contenido de esterol de la célula fúngica y mamífera es diferente. En las células de los mamíferos el colesterol **1** es el que predomina y en las células fúngicas el primario es el ergosterol **2**, Figura 2. La diferencia del contenido de esteroides ha sido explotada como blanco de acción en los medicamentos antifúngicos, dentro de los que se tiene a los polienos, azoles y alilaminas.¹²

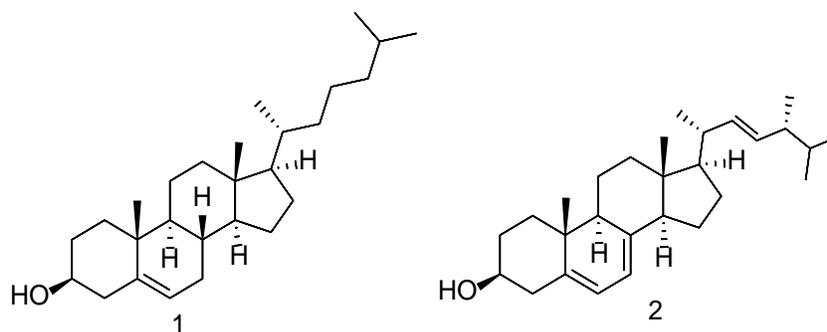


Figura 2. Estructura del colesterol (1) y Ergosterol (2)

3.1.2 Terapia de candidiasis

3.1.2.1 Quimioterapia

Los antimocóticos incluyen una amplia variedad de sustancias con diferentes estructuras químicas y mecanismos de acción. La clasificación se realiza según criterios convencionales que atienden a su estructura en: polienos, azoles, alilaminas, entre otros (**Tabla 1**), con base a su origen en sustancias producidas por organismos vivos o derivados de síntesis química; de acuerdo con su espectro de acción en: amplio o restringido y de acuerdo con el sitio de acción (**Tabla 2**).^{13,14}

Tabla 1. Clasificación de los antifúngicos por su estructura

Polienos	Nisantina, natamicina, anfotericina B
Azoles	Imidazol: miconazol, clotrimazol
	Triazoles: fluconazol, itraconazol, ketoconazol
	Triazoles de segunda generación: voriconazol, ravuconazol, posaconazol
Alilaminas	Terbinafina, naftinina
Lipopéptidos	Paulacandinas
	Triterpenos glicosilados
	Equinocandinas: capsosfungina, anidulofungina, micafungina
Pirimidinas fluoradas	Flucitosina
Otros	Yoduro de potasio, ciclopirox, tolnaftato, griseofulvin

Tabla 2. Clasificación de los antifúngicos por su sitio de acción en el hongo

Antifúngicos actuando en pared celular	Lipopéptidos
Antifúngicos actuando en membrana celular	Polienos, azoles, alilaminas
Antifúngicos actuando en núcleo	Pirimidinas fluoradas

3.1.2.2 Azoles

Varios compuestos que contienen un azol están disponibles para el tratamiento de infecciones por *Candida*, incluidos miconazol, ketoconazol, fluconazol e itraconazol, entre otros, **Figura 3**. Los compuestos azólicos tienen actividad contra la mayoría de *Candida* spp., aunque existen diferencias entre ellos. El ketoconazol tiene una actividad limitada contra *C. tropicalis*, mientras que el fluconazol no. Los aislados de *C. glabrata* tienen susceptibilidades variables a los compuestos azólicos. La resistencia a los compuestos de azol se ha informado con poca frecuencia, pero eso se debe en parte a la poca fiabilidad de las pruebas *in vitro* de estos fármacos.¹⁵

3.1.2.3 Mecanismo de acción de los azoles

La gran similitud entre las células mamíferas y fúngicas resulta un problema al momento de diseñar una molécula antifúngica, pues ésta debe ser selectiva de la célula patógena y no de la célula humana

sana. En la **Figura 4**, se muestra un esquema general del mecanismo de acción de los derivados azólicos.

3.2 Bacterias

La palabra bacteria proviene de un término griego que significa “bastón”. Se trata de un microorganismo unicelular procarionte que puede provocar enfermedades, fermentaciones o putrefacción en los seres vivos o materias orgánicas.

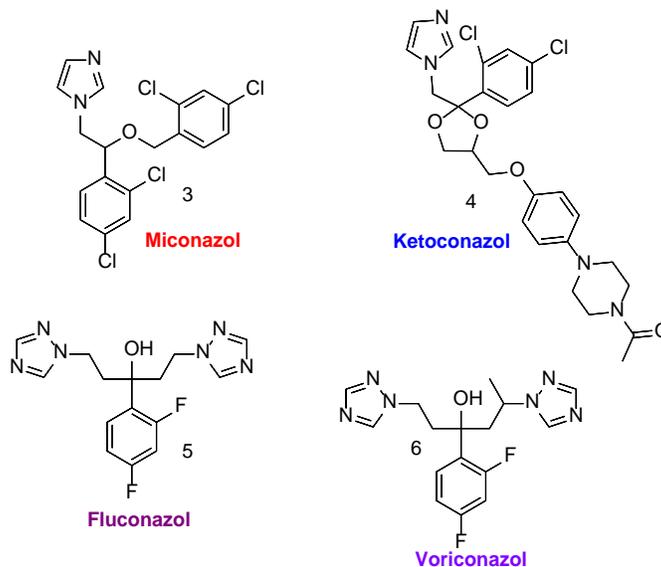


Figura 3 Estructura química de algunos azoles con actividad antimicótica

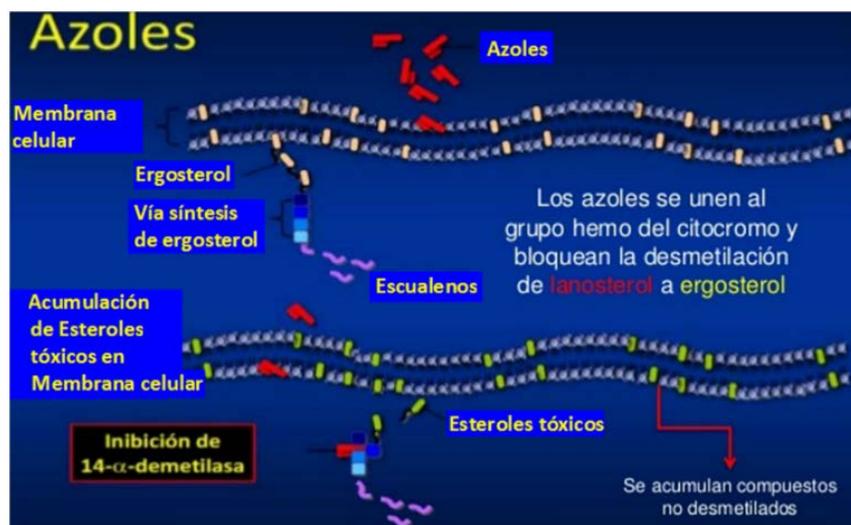


Figura 4. Mecanismo de acción de los fármacos mencionados anteriormente.

Las bacterias presentan una amplia variedad de tamaños y formas. La mayoría presentan un tamaño diez veces menor que el de las células eucariotas, es decir, entre 0,5 y 5 μm . La forma de las bacterias es muy variada y, a menudo, una misma especie adopta distintos tipos morfológicos, lo que se conoce como pleomorfismo. Se pueden distinguir tres tipos fundamentales de bacterias, Figura 5:

Coco (del griego *kókkos*, grano): de forma esférica.

Estreptococo: cocos en cadenas.

Estafilococo: cocos en agrupaciones irregulares o en racimo.

Bacilo (del latín *baculus*, varilla): en forma de bastoncillo.

Formas helicoidales: Vibrio, espirilo y espiroqueta

Vibrio: ligeramente curvados y en forma de cacahuete o arriñonado.

Espirilo: en forma helicoidal rígida o en forma de tirabuzón.

Espiroqueta: en forma de tirabuzón (helicoidal flexible).

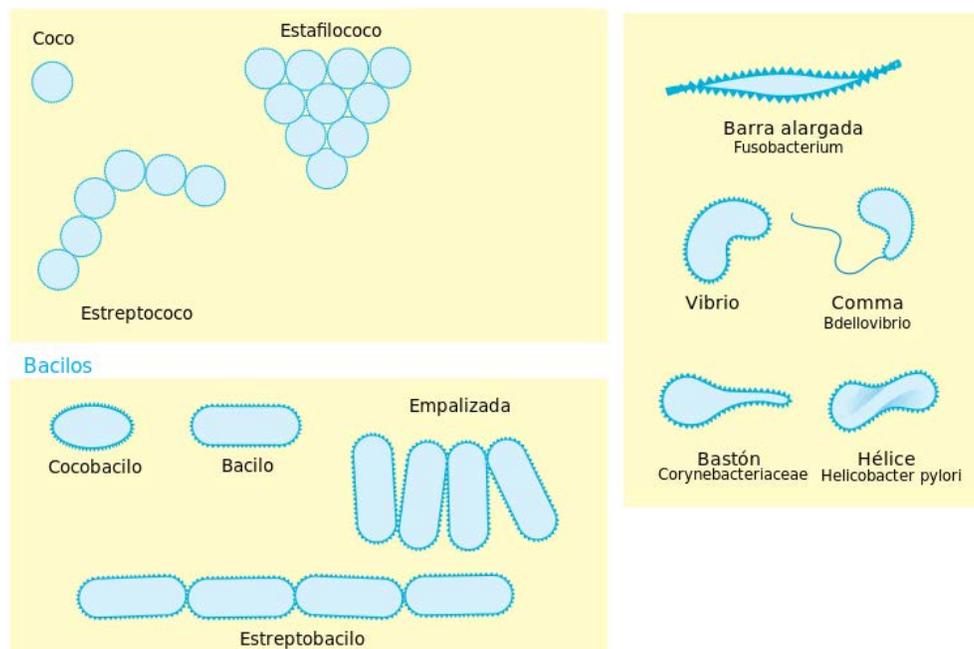


Figura 5. Diversos tipos de bacterias y su morfología.

3.2.1 *Staphylococcus aureus*

Conocido como estafilococo áureo o estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas necesariamente por ella.

En la Figura 5 se muestra la estructura morfológica del *S. aureus*.

3.2.1.1 Patogenia

El *Staphylococcus aureus* puede producir una variedad de procesos infecciosos que van desde las infecciones cutáneas, relativamente benignas, hasta enfermedades sistémicas potencialmente fatales. Las infecciones cutáneas incluyen foliculitis simple y el impétigo (infección superficial de la piel en niños).¹⁶ Es un agente de gran relevancia intrahospitalaria, donde ha adquirido resistencia a la oxacilina. La contaminación intrahospitalaria se lleva a cabo a través de las manos del personal a cargo.

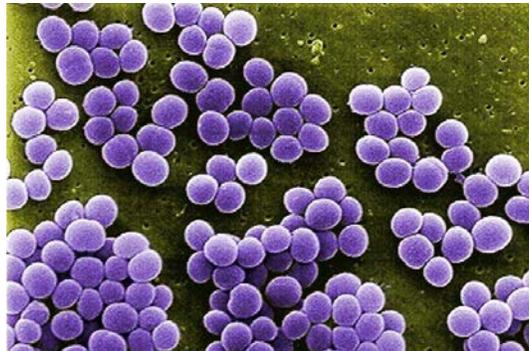


Figura 5 Morfología del *S. aureus*.

3.2.1.2 Factores de virulencia

Los factores de virulencia que presenta *S. aureus*, pueden ser productos extracelulares o propios de la célula bacteriana:

- 1.- Lipasas. Degradan los ácidos grasos presentes en los tejidos cutáneos sanos.
- 2.- Enterotoxinas. Proteínas relativamente estables al calor y resistentes a enzimas proteolíticas. La proteína A y la enterotoxina C, regulan las moléculas de adhesión a los queratinocitos y facilitan la adherencia de las bacterias.
- 3.- Proteína A. Localizada en la superficie de la pared bacteriana, se une a la región Fc de la IgG, inactivándola.
- 4.- Penicilinasas o β -lactamasas. Enzimas que hidrolizan el anillo β -lactámico presente en la estructura molecular de las penicilinas.

3.2.1.3 Resistencia

Tiene resistencia a los antibióticos β -lactámicos mediada por las enzimas (penicilasas o β -lactamasas), también a la meticilina, conferida por una proteína de unión a la penicilina (PBP)¹⁷ y resistencia a la vancomicina, mediada por alteraciones en la pared celular que atrapan el antibiótico antes de llegar al sitio de acción.¹⁸

3.2.2 *Escherichia coli*

Es una bacteria miembro de la familia de las enterobacterias y forma parte del microbiota del tracto gastrointestinal de animales homeotermos, como por ejemplo el ser humano. Es un bacilo

gramnegativo, no exigente, oxidasa negativo, catalasa positivo, anaerobio facultativo, cuya temperatura de crecimiento preferente es a 37 °C y comúnmente es móvil por flagelos peritricos.

La *E. coli* es una bacteria anaerobia facultativa, abunda en el microbiota del tracto gastrointestinal en donde junto con otros microorganismos es esencial para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, también participa en la producción de las vitaminas B y K. Sin embargo, se han descrito diferentes serotipos que por procesos de patoadaptación, han adquirido elementos genéticos o mutaciones que funcionan como factores de virulencia, estos determinan la patogenicidad y virulencia de las cepas en diferentes tipos de enfermedades. Las cepas asociadas a las infecciones gastrointestinales, son denominadas *E. coli* Diarreogénicas o Intestinales, mientras que las asociadas a infecciones en otros aparatos y sistemas, como por ejemplo, el tracto urinario, sanguíneo y nervioso, son denominadas *E. coli* Patogénicas Extraintestinales (ExPEC). La alta morbilidad, así como la variedad en síndromes y cuadros clínicos asociados a las infecciones por *E. coli*, hacen de esta bacteria uno de patógenos más versátiles y de gran relevancia para el ser humano.

En la Figura 6 se muestra la estructura morfológica del *E. coli*.

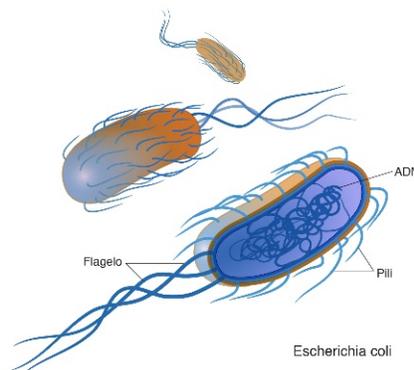


Figura 6 Morfología del *Escherichia coli*.

3.2.2.1 Patogenicidad

La *Escherichia coli* (*E. coli*) forma parte de la flora normal del intestino del ser humano y los animales de sangre caliente.¹⁹ *E. coli* es la especie bacteriana más comúnmente recuperada en los laboratorios clínicos y ha sido relacionada con enfermedades infecciosas e involucradas en sepsis inducida por endotoxinas. Las infecciones del tracto urinario y de las heridas, la neumonía en pacientes hospitalizados inmunosuprimidos y las meningitis en los neonatos, son otras formas comunes de infección causada por *E. coli*.²⁰

3.2.2.2 Factores de virulencia

- Toxinas. LPS, Shiga, LT, ST.
- Plásmido transmisible
- Adhesinas. Capacidad para unirse con los antígenos P del grupo sanguíneo humano y adhesina X.

- Hemolisina
- Bacteriocinas
- Intercambio genético por transducción y conjugación.²¹

3.2.2.3 Resistencia a los antimicrobianos

La resistencia bacteriana está dada principalmente a la ampicilina, eritromicina, penicilina y trimetropim-sulfametoxazol²² por betalactamasas y genes que codifican formas mutantes del enzima blanco en el caso de la trimetropim.²³

La evolución de las cepas resistentes es un fenómeno natural que ocurre cuando los microorganismos se ven expuestos a fármacos antimicrobianos, y es posible un intercambio de características de resistencia entre ciertos tipos de bacterias. El uso inapropiado de medicamentos antimicrobianos acelera este fenómeno natural.²⁴

3.3 Referencias

- [1] Vázquez, J. A.; Sobel, J. D., Candidiasis, In: Dismukes WE, Pappas, P.G., Ed. Clinical Mycology, New York, USA: Oxford University press, 2003, 143-187
- [2] Segal, E; Baum, G. L., Pathogenic Yeasts and Yeast Infections London, CRC Press, 1994
- [3] Sans-Blas, G; Calderone, R. A., Pathogenic Fungi: host fungi interactions and emerging strategies for control Wymondham, UK: Caister Academic press, 2004
- [4] Ruhnke, M.; Maschmeyer, G. *Eu J of Med Res*, **2002**, 7, 227–235.
- [5] Meiller, T. F.; Hube, B.; Schild, L. *PLOS One*, **2009**, 4, 1-9.
- [6] Schulze, J.; Sonnenborn, U. *Deutsches Arzteblatt*, **2009**, 106, 837–842.
- [7] Sobel, J. D. *N. Eng J Med.*, **1997**, 337, 1896–1903.
- [8] Gubelin, W.; De la Parra, R.; Giesen, L. *Rev Med Clin Condes*, **2011**, 22, 804-812.
- [9] López, R., Micología Médica: Procedimientos para el Diagnóstico de Laboratorio., 3a ed. Trillas, México D.F., 2012.
- [10] Scott, D. W.; Muller & Kirk's.; Small Animal Dermatology, 6th ed. W. B. Saunders Co, Philadelphia, 2011.
- [11] Calderone, R. A.; Fonzi, W. *Trends in Microbiology*, **2001**, 9, 327-335.
- [13] Diomedi, A. *Rev Chilena Infectol*, **2004**, 21(2), 89-101.
- [14] Arenas, E. *Rev Ciencia y Trabajo*, **2005**, 15(1), 52-67.
- [15] Kobayashi, G. S.; Spitzer, E. D. *Eur. J Clin Microbiol Infect Dis*, **1989**, 8, 387-389.
- [16] http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57271997000500002 (Consultado 05-07-2020)
- [17] Castellano-González, M. J.; Perozo-Mena, A. J. *Kasmera*, **2010**, 38(1), 18-35.
- [18] Rodríguez, C. A.; Vesga, O. *Biomédica*, **2005**, 25, 575-587.
- [19] Kobayashi, G. S.; Spitzer, E. D. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **1989**, 8, 387-389.
- [20] http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S000406222005000400009&script=sci_arttext (Consultado 22-02-18)
- [21] <http://es.slideshare.net/wao2008/escherichia-coli-presentation> Citado 22-02-18] (Consultado 05-07-2020)
- [22] García-Orozco, A.; Padilla-Arellano, J. J. R.; Orozco-Jáuregui, D. A.; Orozco-Velasco, F.; Rodríguez-Mena, A.;
Mayorga, *J Dermatol Rev Mex*, **2014**, 58, 150-156.

[23] Mosquito, S.; Ruiz, J.; Bauer, J. L.; Ochoa, T. J.; *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, **2011**, 28, 648-56

[24] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/> (Citado 22-02-18)

4 Hipótesis

Si se preparan compuestos híbridos a través de diferentes metodologías sintéticas reportadas en la literatura, estos compuestos novedosos del tipo heterocíclico pirazolina-diindolilmetano, a través del enfoque de la Química Verde, pueden presentar actividad antimicrobiana.

5 Justificación

La resistencia de las bacterias y hongos a los antimicrobianos correspondientes, constituye un grave problema actual de salud. El uso indiscriminado e irracional de estos fármacos conduce al desarrollo de resistencia de los microorganismos, haciendo inconveniente el uso de los agentes disponibles. Sin embargo, se busca el desarrollo de fármacos para combatir bacterias y hongos multirresistentes. Debido a que los compuestos derivados de la pirazolina y del diindolilmetano presentan un amplio espectro de actividad biológica, entre ellos como agentes antimicrobianos, se han desarrollado moléculas híbridas novedosas pirazolina-DIM que puedan mantener o incrementar las características antimicrobianas de las plantillas originales, evaluando *in vitro* los efectos presentados ante *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*.

6 Objetivos

Objetivo General

Realizar la síntesis de una serie de novedosos compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano usando como intermediarios una serie de formildiindolilmetanos e híbridos chalcona-diindolilmetano bajo el contexto de la química verde y la evaluación de su actividad antimicrobiana.

Objetivos Particulares

- 1) Llevar a cabo reacciones de condensación entre un dialdehído aromático y derivados del indol para obtener una serie de formildiindolilmetanos.
- 2) Utilizar las formildiindolilmetanos como intermediarios en la generación de compuestos híbridos chalcona-diindolilmetano.
- 3) Obtener compuestos derivados de la pirazolina mediante una reacción de ciclocodensación entre los derivados de chalcona-diindolilmetano e hidrato de hidrazina.
- 4) Caracterizar mediante técnicas espectroscópicas convencionales a los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano.
- 5) Evaluar, mediante pruebas cualitativas *in vitro*, la actividad biológica de los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano en su acción: contra cepas ATCC de *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*

7 Parte experimental

7.1 Materiales y reactivos sección química

- Las sustancias utilizadas fueron: tereftaldehído, isoftaldehído, acetofenona, 4-metoxiacetofenona, 4-nitroacetofenona, 1*H*-indol, 1 *H*-metilindol, 2-metil-1*H*-indol, hidrato de hidrazina, etanol, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico y ácido *p*-toluensulfónico. Todos los reactivos mencionados son marca Sigma Aldrich®, y se usaron sin previa purificación o tratamiento.
- Para el calentamiento térmico se utilizó una mantilla marca CORNING Mod. PC-410, 120 V, 73 W, 60 Hz.
- Para el calentamiento en MW se utilizó un microondas químico marca CEM Discover ®
- Los cromatofolios, como fase estacionaria para darle seguimiento a las reacciones por cromatografía en capa fina, son marca TLC Sílica Gel 60F254 y la sílice para placas preparativas es marca MN-Kieselgel G/UV254.

La caracterización estructural de los productos de reacción se realizó empleando lo siguiente:

Todos los puntos de fusión se midieron en un aparato de punto de fusión electrotérmico MEL-TEMP II y permanecen sin corregir. Los espectros de RMN ¹H y ¹³C se obtuvieron en DMSO-*d*₆ o CDCl₃ usando un espectrómetro de 300 MHz. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón en relación con el pico de tetrametilsilano utilizado como patrón interno. Los valores de J están en hertz, y los patrones de división se designan de la siguiente manera: s, singulete; d, doblete; t, triplete; m, multiplete; y bs, singulete ancho. Los espectros IR se registraron en un espectrofotómetro FTIR Bruker usando un método de reflexión total atenuada. Los espectros de masas (MS) y los espectros de masas de alta resolución (EMAR) se obtuvieron usando un espectrómetro JEOLJMS-AX505.

7.1.1 Metodología sintética

RUTA A

Síntesis de los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano utilizando como intermediarios formildiindolilmetanos, empleando energía de microondas (Esquema general 1).

1) Síntesis de formildiindolilmetanos

Se colocó 1 equivalente del dialdehído aromático (5 mmol) y 2 equivalentes de 1*H*-indol o derivado del mismo (10 mmol) en 25 mL de etanol, añadiendo ácido *p*-toluensulfónico (APTS) al 10% como catalizador (0.5 mmol). La mezcla de reacción se calentó en un horno de microondas monomodo a una temperatura de 120°C a 150 W, durante 45 min. Terminada la reacción se agregó hielo triturado para favorecer la precipitación. El sólido se filtró a vacío y se purificó mediante placa preparativa.

2) Síntesis de híbridos chalcona-diindolilmetano

Se colocó en un matraz bola un equivalente del correspondiente formildiindolilmetano (5 mmol) y 1 equivalente de acetofenona o derivados de ella (5 mmol), de 50 mL, agregando lentamente 1 equivalente (5 mmol) de hidróxido de sodio en 5 mL de agua agregando 25 mL de etanol. La mezcla de reacción se agitó en un baño de hielo a 0°C durante 24 horas. Terminado el tiempo de reacción, se

agregó 1 equivalente (5 mmol) de ácido clorhídrico acuoso para neutralizar el medio básico y se agregó hielo triturado para favorecer la precipitación. El sólido se filtró a vacío y se purificó mediante cromatografía de placa preparativa.

3) Síntesis de compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano

Se colocaron en un matraz bola de 50 mL, 1 equivalente (5 mmol) del compuesto híbrido chalcona-diindolilmetano y 4 equivalentes (20 mmol) de clorhidrato de hidrazina en 30 mL de etanol, llevando la mezcla de reacción a calentamiento en MW durante 30 min a 120°C y 150 W. Pasado el tiempo de reacción, se agregó hielo molido, el sólido se filtró a vacío y se purificó mediante cromatografía de placa preparativa.

RUTA B

Síntesis de los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano utilizando como intermediario formilchalconas, empleando energía térmica. Esquema general 2

1) Síntesis de chalconas

Se colocó 1 equivalente del dialdehído aromático 0.67 g (5 mmol) y 1 equivalente de la correspondiente acetofenona (5 mmol) en etanol (30 mL) y luego se añadió una solución de NaOH 0.2 g (5 mmol). La mezcla se mantuvo a 0°C durante la adición de la base y a temperatura ambiente por 24 horas, posteriormente se acidificó la mezcla de reacción con HCl 0.15 mL (5 mmol) y se agregó hielo triturado. El sólido se filtró a vacío y se recristalizó en etanol.

2) Síntesis de híbridos chalcona-diindolilmetano

Se colocó un equivalente de la correspondiente chalcona (5 mmol) y 2 equivalentes del indol correspondiente (10 mmol), en un matraz bola de 50 mL agregando APTS al 10%, como catalizador (0.5 mmol), en medio etanólico. La mezcla de reacción se calentó a reflujo de 4-6 horas. Luego se vertió agua helada para favorecer la precipitación del producto. El sólido se filtró a vacío, purificando los compuestos mediante cromatografía de placa preparativa.

3) Síntesis de compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano

Se colocaron en un matraz bola de 50 mL, 1 equivalente (5 mmol) del compuesto híbrido chalcona-diindolilmetano y 4 equivalentes (20 mmol) de clorhidrato de hidrazina en 30 mL de etanol, llevando la mezcla de reacción a reflujo por 4 horas. Pasado el tiempo de reacción, se agregó hielo molido, el sólido se filtró a vacío y se purificó mediante cromatografía de placa preparativa.

7.2 Materiales y reactivos sección biológica. Metodología experimental. Materiales y métodos

7.2.1.1.1 Antibióticos utilizados

Control positivo: Penicilina, Miconazol y Meropenem, para *S. aureus*, *C. albicans* y *E. coli*, respectivamente.

7.2.1.1.2 Medio de cultivo utilizado

- Caldo y agar SDA. BD® Dioxon. Esterilizado previamente en autoclave.
- Agar Mueller-Hinton. BD® Dioxon. Esterilizado previamente en autoclave.

7.2.1.1.3 Reactivos

- Tinción Gram: Cristal violeta al 3%, Lugol al 3%, Alcohol-Acetona 1:1, Safranina al 4% y Aceite de inmersión.
- Disolución de compuestos híbridos sintéticos. Control negativo: Sulfóxido de dimetilo (DMSO).

7.2.2 Microorganismos

Se emplearon las cepas de: *Candida albicans* ATCC 14053, *Escherichia coli* ATCC 1175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, obtenidas del cepario del Laboratorio 6 de Microbiología, de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Para este trabajo se activaron las cepas de levadura y bacterias en cajas Petri con agar Mueller Hinton (MH), dejándolos incubar por 48 horas en el caso de la levadura y 24 horas para las bacterias a 37°C. Al término del tiempo se retiraron las cajas de la estufa y se preparó el inóculo con solución salina fisiológica (SSF) estéril hasta igualar la turbidez al No. 0.5 de McFarland (1×10^8 UFC/mL).

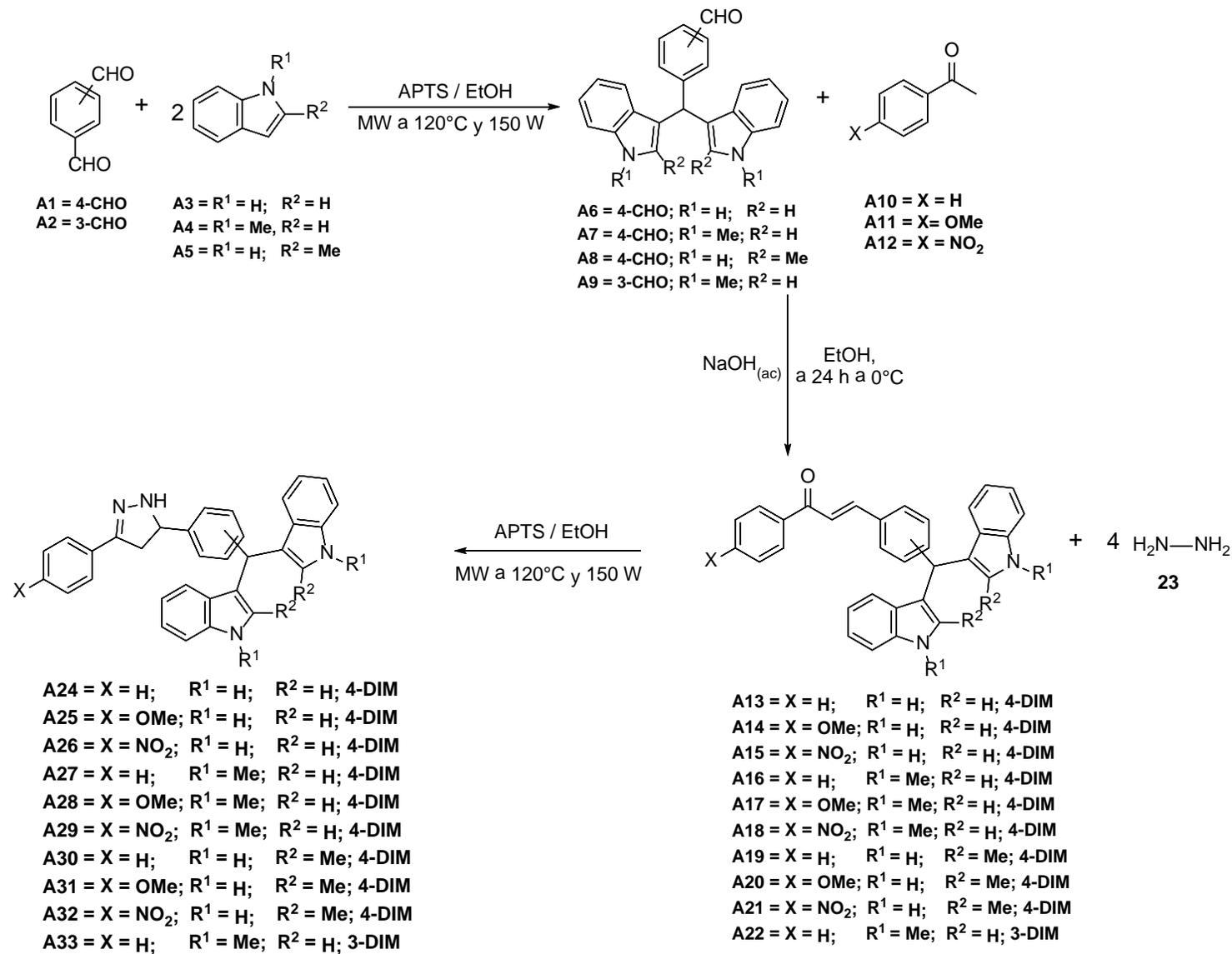
7.2.2.1 Preparación de sensidiscos con los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano

En tubos eppendorf se pesaron 2, 4, 8, 16, 32 y 64 mg de cada uno de los 10 compuestos híbridos sintetizados previamente y se les añadió 1 mL de DMSO como disolvente. Se utilizaron sensidiscos estériles de papel filtro Whatman No. 5, de 6 mm de diámetro y se impregnaron con 10 µL de las concentraciones antes mencionadas de los compuestos a evaluar.

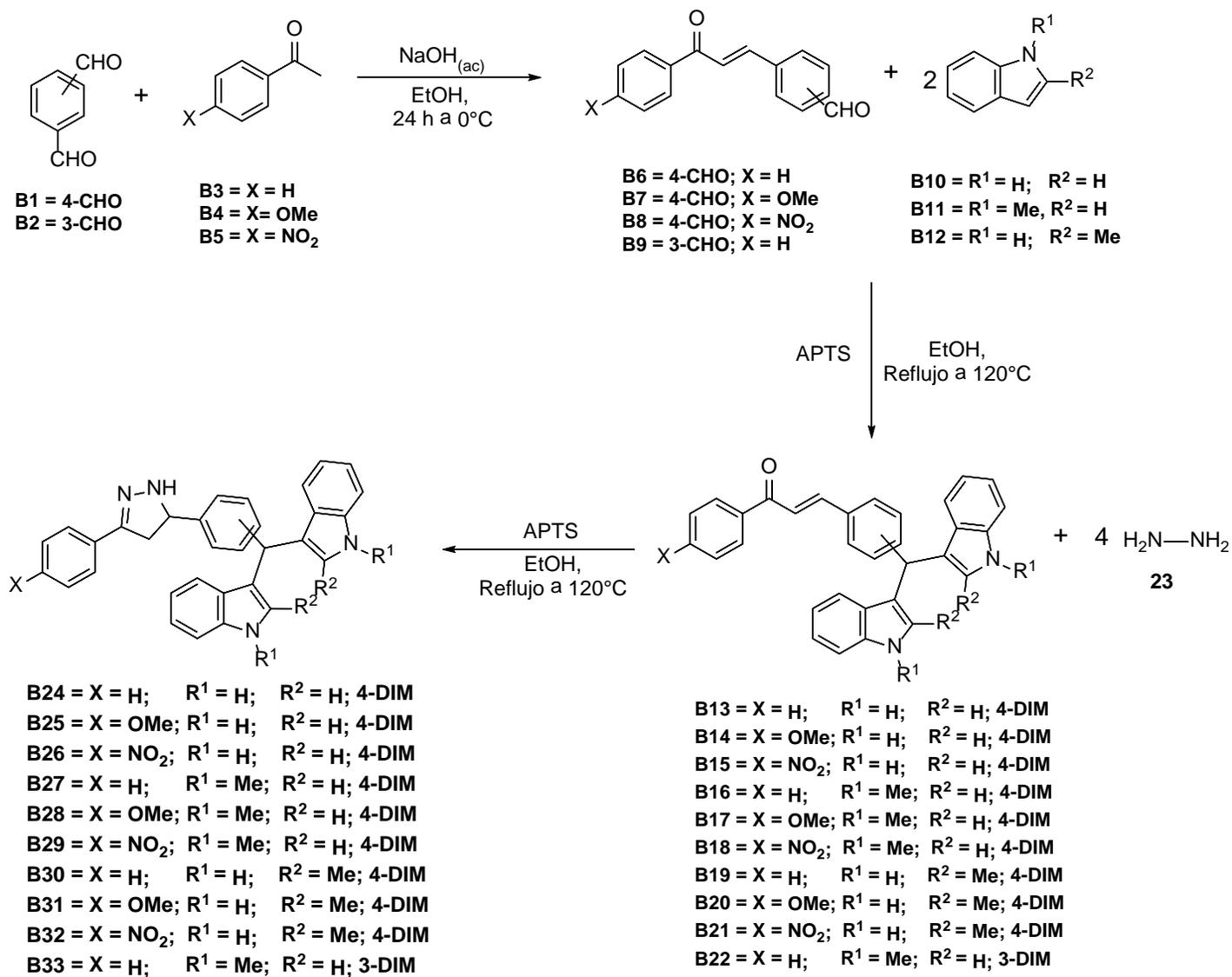
7.2.2.2 Pruebas de inhibición de crecimiento radial (ICR)

Para montar la prueba, a partir del inóculo se realizó por separado un sembrado masivo para los tres microorganismos en cajas Petri en medio de agar MH y posteriormente se colocaron los sensidiscos impregnados a las diferentes concentraciones de los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano y el control negativo. El ensayo se hizo por triplicado.

Las cajas se incubaron durante 24 horas para las bacterias y 48 horas para el caso de la levadura a 37°C, haciendo una revisión a las 24 horas para este último para monitorear la formación de los halos de inhibición. Al terminar el ensayo, los halos fueron medidos con un Vernier. A partir de los resultados obtenidos se determinó el promedio de las medidas obtenidas para cada uno de los compuestos sintéticos que presentaron actividad. Estos resultados se compararon con los obtenidos para miconazol, penicilina y meropenem utilizados como control positivo.



Esquema general 1. Ruta A: Metodología sintética utilizando como fuente de calentamiento energía de microondas

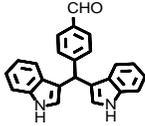
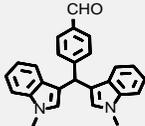
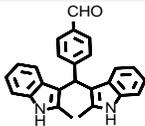
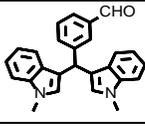


Esquema general 2. Ruta B: Metodología sintética utilizando como fuente de calentamiento energía térmica convencional

8 Resultados y discusión sección química

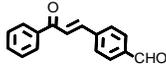
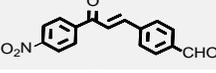
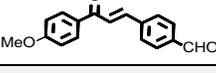
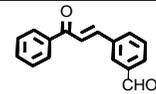
Con base a las reacciones de síntesis realizadas, se presenta a continuación los resultados para cada compuesto formado, Tablas 3-6.

Tabla 3. Características físicas y rendimiento de formildiindolilmetanos

<i>Serie para</i>				
Compuesto	Producto	p.f. (°C)	Color	Rendimiento (%)
A6		253	Naranja	96
A7		231	Rosa	93
A8		127	Morado	94
<i>Serie meta</i>				
A9		139	Violeta	94

Esta serie de compuestos se obtuvo a través de la ruta sintética A

Tabla 4. Características físicas y rendimiento de las formilchalconas

<i>Serie para</i>				
Compuesto	Producto	p.f. (°C)	Color	Rendimiento (%)
B6		160-165	Amarillo	88
B7		208-211	Café	92
B8		> 300	Amarillo opaco	67
<i>Serie meta</i>				
B9		102	Crema	75

Esta serie de compuestos se obtuvo a través de la ruta sintética B

Tabla 5. Características físicas y rendimiento de los híbridos chalcona-diindolilmetano

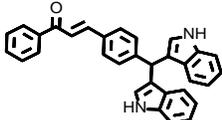
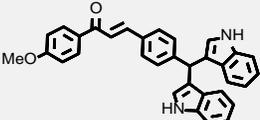
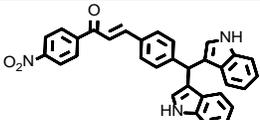
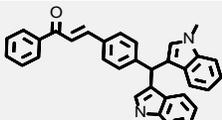
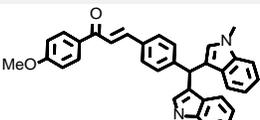
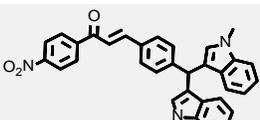
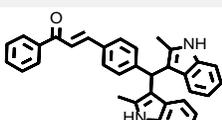
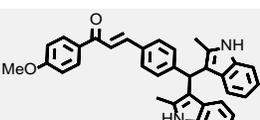
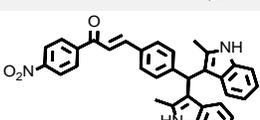
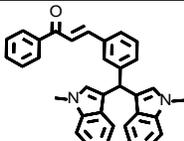
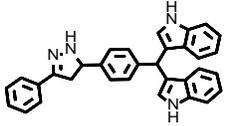
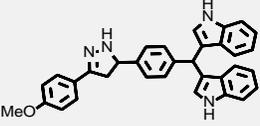
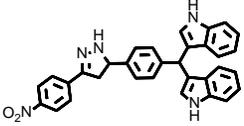
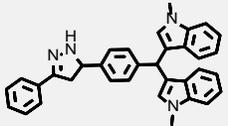
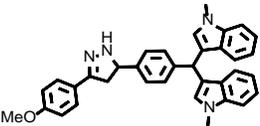
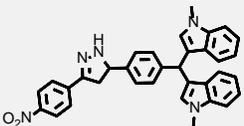
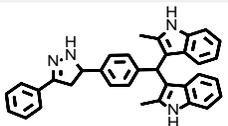
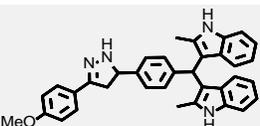
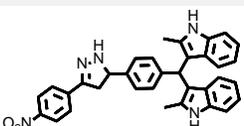
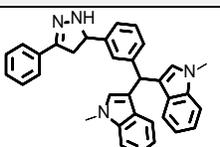
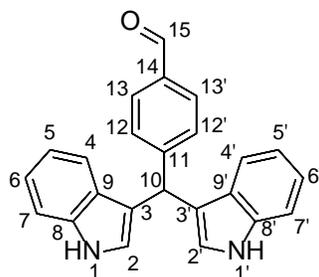
Compuesto	Producto	Serie para			
		p.f. (°C)	Color	Rendimiento A (%)	Rendimiento B (%)
13		> 300	Rojo	72	63
14		170	Rojo	74	65
15		221	Anaranjado	80	70
16		110	Rojo	70	61
17		> 300	Rojo	86	75
18		182	Rojo	89	80
19		123	Rojo	62	54
20		149	Rojo	72	64
21		155	Anaranjado	81	70
Serie meta					
22			Rosa	64	56

Tabla 6. Características físicas y rendimiento de los híbridos pirazolina-diindolilmetano

Compuesto	Producto	Serie para			
		p.f. (°C)	Color	Rendimiento A (%)	Rendimiento B (%)
23		232	Naranja	69	60
24		289	Naranja	74	64
25		267	Naranja	76	66
26		220	Naranja	71	62
27		296	Naranja	72	63
28		256	Naranja	84	75
29			Naranja	91	89
30			Naranja	87	76
31			Naranja	77	67
<i>Serie meta</i>					
32			Naranja	74	65

8.1 Datos espectroscópicos obtenidos



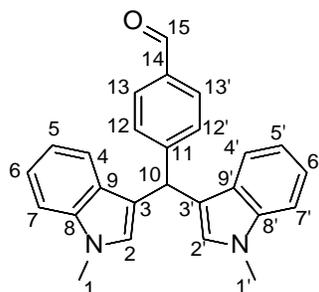
Bis(1*H*-Indol-3-il)(4-formilfenil)metano (6)

IR (KBr, cm^{-1}): 3404 (NH); 3051 (CH metino); 2835 (CH's ar); 1691 (CO aldehído); 1602, 1574 (Sust. Ar); 1415 (CO); 1337 (CH ar-indol); 783 (CH ar-disustituido).

EMAR (DART) $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 351.14974. Encontrado: 351.14995.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS): δ 5.96 (s, 1H, H_{10}); 6.66 (s, 2H, $\text{H}_{2,2'}$); 6.97-7.04 (t, $J = 6$ Hz, 2H, $\text{H}_{5,5'}$); 7.25 (t, $J = 6$ Hz, 2H, $\text{H}_{6,6'}$); 7.36 (t, $J = 6$ Hz, 2H, $\text{H}_{7,7'}$); 7.50-7.52 (d, $J = 7$ Hz, 2H, $\text{H}_{4,4'}$); 7.78-7.81 (d, $J = 8$ Hz, 2H, $\text{H}_{12,12'}$); 7.97 (s, 2H, NH, D_2O); 8.01 (s, 2H, $\text{H}_{13,13'}$); 9.97 (s, 1H, H_{15}).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS): δ 40.4 C_{10} ; 109.3 $\text{C}_{2,2'}$; 117.1 $\text{C}_{7,7'}$; 118.9 $\text{C}_{3,3'}$; 119.8 C_6 ; 121.7 $\text{C}_{4,4'}$; 123.6 $\text{C}_{5,5'}$; 127.2 $\text{C}_{9,9'}$; 129.4 $\text{C}_{12,12'}$; 129.9 $\text{C}_{13,13'}$; 134.8 C_{11} ; 137.5 $\text{C}_{8,8'}$; 151.9 C_{14} ; 192.2 C_{15} .



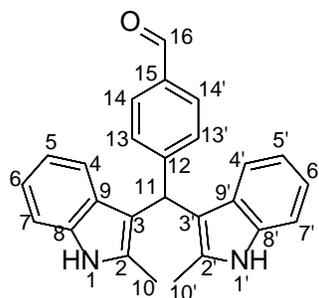
Bis(1-Metil-1*H*-indol-3-il)(4-formilfenil)metano (7)

IR (KBr, cm^{-1}): 3047 (CH metino); 2910 (CH_3); 2878; 2822 (CH's ar); 1698 (CO aldehído); 1610, 1546 (Sust. Ar); 788 (Ar-disust).

EMAR (DART) $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 379.18104. Encontrado: 379.18068.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS): δ 3.69 (s, 6H, $\text{H}_{1,1'}$); 5.95 (s, 1H, H_{10}); 6.54 (s, 2H, $\text{H}_{2,2'}$); 7.00 (ddd, $J = 7$ Hz, 2H, $\text{H}_{5,5'}$); 7.22 (t, $J = 7$ Hz, 2H, $\text{H}_{6,6'}$); 7.32 (d, $J = 7$ Hz, 2H, $\text{H}_{7,7'}$); 7.33 (t, $J = 7$ Hz, 2H, H_{13}); 7.53 (d, $J = 7$ Hz, 2H, $\text{H}_{4,4'}$); 7.80-7.08 (d, $J = 7$ Hz, 2H, $\text{H}_{12,12'}$); 9.98 (s, H, H_{15}).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS): δ 32.8, C_1 ; 40.4, C_{10} ; 109.3, C_2 ; 117.1, C_3 ; 118.9, C_7 ; 119.8, C_6 ; 121.7, C_4 ; 127.2, C_5 ; 128.3, C_9 ; 129.4, C_{12} ; 129.9, C_{13} ; 134.8, C_{11} ; 137.5, C_8 ; 151.9, C_1 ; 192.2, C_{15} .



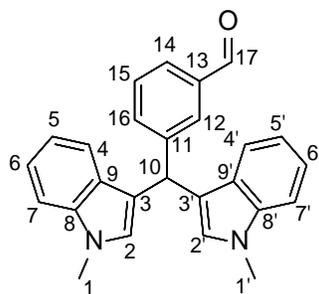
Bis(2-Metil-1H-indol-3-il)(4-formilfenil)metano (8)

IR (KBr, cm^{-1}): 3400 (NH sim); 3302 (NH as); 3052 (CH metino); 2920 (CH_3); 2853 ($\text{CH}'\text{s ar}$); 1684 (CO aldehído); 1601, 1573 (Disust. Ar); 1302 (CH ar-indol); 829; 811 (CH ar indol disustituido).

EMAR (DART) $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 379.18104. Encontrado: 379.18073.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS): δ 2.08 (s, 6H, $\text{H}_{10,10'}$); 6.05 (s, 1H, H_{11}); 6.85 (t, $J = 9$ Hz, 2H, $\text{H}_{6,6'}$); 6.92 (d, $J = 9$ Hz, 2H, $\text{H}_{5,5'}$); 7.05 (d, $J = 6$ Hz, 2H, $\text{H}_{7,7'}$); 7.26 (d, $J = 6$ Hz, 2H, $\text{H}_{13,13'}$); 7.43 (d, $J = 8$ Hz, 2H, $\text{H}_{4,4'}$); 7.76 (d, $J = 5$ Hz, 2H, $\text{H}_{14,14'}$); 7.80 (s, 2H, NH, D_2O); 9.98 (s, 1H, H_{16}).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS): δ 12.4, C_{10} ; 39.9, C_{11} ; 110.2, C_2 ; 112.0, C_9 ; 119.0, C_3 ; 120.6, C_4 ; 128.7, C_5 ; 129.7, C_8 ; 129.8, C_6 ; 132.3, C_{13} ; 134.5, C_{12} ; 135.2, C_{14} ; 151.9, C_{15} ; 192.2, C_{16} .



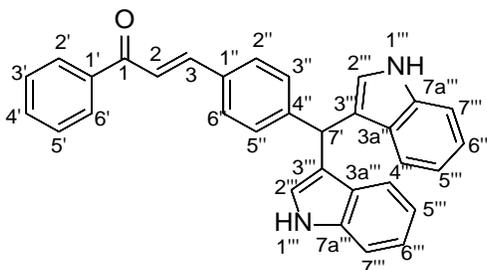
Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(3-formilfenil)metano (9)

IR (KBr, cm^{-1}): 3050 (CH metino); 2931 (CH_3 sim); 2910 (CH_3 as); 2838 (N- CH_3); 2821 ($\text{CH}'\text{s}$); 1687 (CO aldehído); 1687; 1610; 1582; 1546 (Disust. ar); 1327 (CH ar-indol); 794 (CH ar-disustituido).

Composición elemental (FAB $^+$): $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$, Calculado: 378.1732. Encontrado: 378.1729.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS): δ 3.70 (s, 6H, $\text{H}_{1,1'}$); 5.97 (s, 1H, H_{10}); 6.53 (s, 2H, $\text{H}_{2,2'}$); 7.00 (t, $J = 6$ Hz, 2H, $\text{H}_{4,4'}$); 7.24-7.30 (m, 2H, $\text{H}_{5,5'}$); 7.33 (q, $J = 3$ Hz, 2H, $\text{H}_{6,6'}$); 7.37 (t, $J = 3$ Hz, 3H, H_{13} ; H_{15}); 7.64 (t, $J = 6$ Hz, 1H, H_{16}); 7.74 (t, $J = 6$ Hz, 1H, H_{14}); 7.86 (s, 1H, H_{12}); 9.95 (s, 1H, H_{17}).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS): δ 32.4, C_1 ; 40.3, C_{10} ; 109.2, C_7 ; 109.4, C_2 ; 117.1, C_3 ; 118.9, C_6 ; 119.7, C_4 ; 121.3, C_5 ; 127.7, C_9 ; 128.4, C_{15} ; 129.8, C_{14} ; 134.7, C_{12} ; 137.4, C_8 ; 144.5, C_{11} ; 146.0, C_{13} ; 192.0, C_{17} .



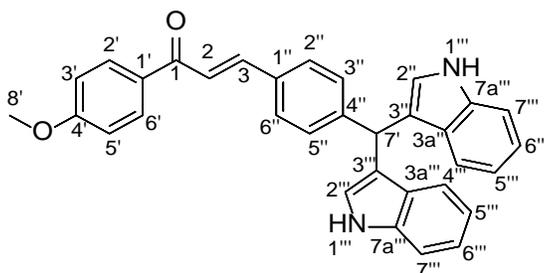
3-(4-(Bis(1H-indol-3-yl)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona (13)

IR (ATR, cm^{-1}): 3407 (NH), 3053 (CH's Ar), 2322, 1908 (C=C α - β insat), 1673 (C=O), 1598 (CH's α - β insat), 738 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{32}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 453.18886. Encontrado: 453.18791

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 6.25 (s, 1H, $\text{H}_{7'}$), 6.99 (s, 2H, $\text{H}_{2''''}$), 7.04-7.35 (m, 14H, $\text{H}_{3',4',5',2'',3'',5'',6'',4''',5''',6''',7''''}$), 7.48 (m, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 7.65 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz, H_2), 7.71 (d, 1H, $J = 12.92$ Hz, H_3), 9.82 (s, 2H, NH, $\text{H}_{1''''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6) δ : 55.8 C_7 ; 109.8, $\text{C}_{7''''}$; 111.6, $\text{C}_{3''''}$; 116.5, $\text{C}_{4''''}$; 118.6, $\text{C}_{5''''}$; 119.2, $\text{C}_{6''''}$; 121.4, C_2 ; 123.8, $\text{C}_{2''''}$; 126.9, $\text{C}_{3\text{a}''''}$; 128.2, $\text{C}_{2',6'}$; 128.7, $\text{C}_{2',6'}$; 129.1, $\text{C}_{3',5'}$; 129.7, $\text{C}_{3',5'}$; 131.8, $\text{C}_{1'}$; 134.5, C_4 ; 137.1, $\text{C}_{7\text{a}''''}$; 147.2, C_3 ; 152.1, $\text{C}_{1',4''''}$; 170.9, C_3 ; 192.7, C_1 .



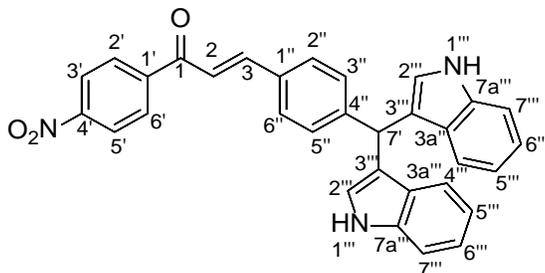
3-(4-(Bis(1H-indol-3-yl)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona (14)

IR (ATR, cm^{-1}): 3404 (NH), 3090, 2933 (CH's Ar), 2323, 2065 (C=C α - β insat), 1653 (C=O), 1595 (CH's α - β insat), 1170 (C-O-C), 816 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 483.18943. Encontrado: 483.19911.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.80 (s, 3H, O- CH_3 , H_8), 5.73 (s, 1H, CH, $\text{H}_{7'}$), 6.87 (s, 2H, $\text{H}_{2''''}$), 6.97-7.023 (m, 4H, $\text{H}_{5''',6''''}$), 7.28-7.35 (m, 8H, $\text{H}_{2',6',3'',5'',4''',7''''}$), 7.71 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, H_2); 7.77 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, H_3), 7.97 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 8.13 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, $\text{H}_{3',5'}$), 10.76 (s, 1H, NH, $\text{H}_{1''''}$), 10.81 (s, 1H, NH, $\text{H}_{1''''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 55.9, $\text{C}_{7'}$; 56.5, $\text{C}_{8'}$; 111.8, $\text{C}_{7''}$; 114.2, $\text{C}_{3''}$; 114.4, $\text{C}_{3',5'}$; 118.5, $\text{C}_{4''}$; 119.5, $\text{C}_{5''}$; 121.2, C_2 ; 122.3 $\text{C}_{6''}$, 123.8, $\text{C}_{2''}$; 127.0, $\text{C}_{3a''}$; 127.8, $\text{C}_{2',6'}$; 128.4, $\text{C}_{3'',5''}$; 130.3, $\text{C}_{1'}$; 130.8, $\text{C}_{2',6'}$; 132.9, $\text{C}_{1''}$; 136.8, $\text{C}_{7a''}$; 136.9, $\text{C}_{4''}$; 143.0, C_3 ; 163.4, C_4 ; 187.9, C_1 .



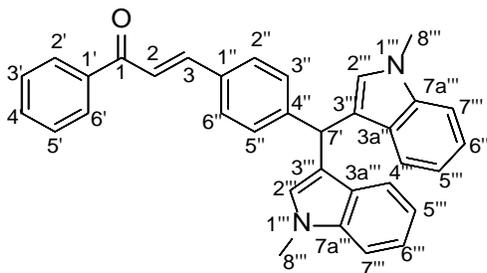
3-(4-(Bis(1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2E-en-1-ona (15)

IR (ATR, cm^{-1}): 3416 (NH), 3049 (CH's Ar), 1682 (C=O), 1600 (CH's α - β insat), 1520, 1344 (NO_2), 742 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{32}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 498.17394. Encontrado: 498.17373

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 5.80 (s, 1H, $\text{H}_{7'}$), 6.42 (s, 2H, $\text{H}_{2''}$), 6.82-6.88 (m, 4H, $\text{H}_{5'',6''}$), 6.98-7.13 (m, 4H, $\text{H}_{3'',5'',4''}$), 7.25-7.40 (m, 4H, $\text{H}_{2',6',7''}$), 7.55 (d, 1H, $J = 12$ Hz, H_2), 7.63 (d, 1H, $J = 12$ Hz, H_3), 7.75 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 7.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, $\text{H}_{3',5'}$), 10.88 (s ancho, 2H, NH, $\text{H}_{1''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 57.2, $\text{C}_{7'}$; 109.6, $\text{C}_{7''}$; 111.0, $\text{C}_{3''}$; 118.4, $\text{C}_{4''}$; 119.1, $\text{C}_{5''}$; 121.1, C_2 ; 122.0, $\text{C}_{6''}$; 124.1, $\text{C}_{2''}$; 126.4, $\text{C}_{3',5'}$; 126.8, $\text{C}_{3a''}$; 128.0, $\text{C}_{2',6'}$; 128.7, $\text{C}_{3'',5''}$; 129.7, $\text{C}_{2',6'}$; 130.0, $\text{C}_{1''}$; 135.6, $\text{C}_{7a''}$; 136.9, $\text{C}_{4''}$; 1425.5, C_1 ; 145.6, C_3 ; 151.3, C_4 ; 188.1, C_1 .



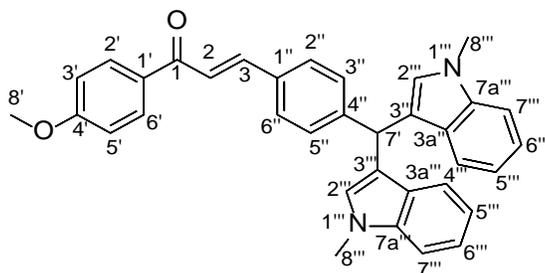
3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona (16)

IR (ATR, cm^{-1}): 3049 (CH's Ar), 2933 (CH_3), 1683 (C=O), 1595 (CH's α - β insat), 736 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 481.22016. Encontrado: 481.21904

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.71 (s, 6H, $\text{H}_{8''}$), 5.81 (s, 1H, CH, $\text{H}_{7'}$), 6.43 (s, 2H, $\text{H}_{2''}$), 7.05 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, $\text{H}_{5''}$), 7.16-7.39 (m, 13H, $\text{H}_{3',4',5',2'',3'',5'',6'',7''}$), 7.56 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, $\text{H}_{2',6'}$), 7.97 (d, 1H, $J = 12.9$ Hz, H_2), 8.00 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H, H_3).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 31.7, CH_3 , $\text{C}_{8''}$; 52.3, CH, $\text{C}_{7'}$; 100.4, $\text{C}_{7''}$; 109.2, $\text{C}_{3''}$; 118.0, $\text{C}_{4''}$; 119.5, $\text{C}_{2''}$; 120.8, $\text{C}_{6''}$; 121.1, C_2 ; 121.6, $\text{C}_{3a''}$; 127.5, $\text{C}_{2',6'}$; 127.6, $\text{C}_{2',6'}$; 127.9, $\text{C}_{3',5'}$; 128.3, $\text{C}_{3'',5''}$; 128.5, C_1 ; 137.2, 145.0, $\text{C}_{4''}$; $\text{C}_{1',4',4'',7a''}$; 145.9, C_3 ; 186.6, C_1 .



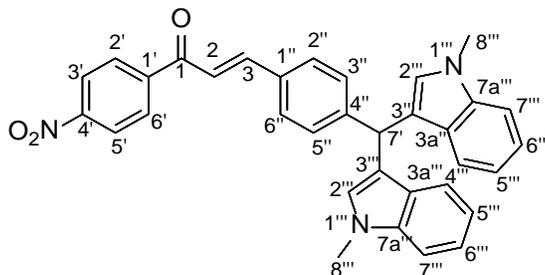
3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona (17)

IR (ATR, cm^{-1}): 3000 (CH's Ar), 2930 (CH_3), 2318, 2070 (C=C α - β insat), 1655 (C=O), 1594 (CH's α - β insat), 1168 (C-O-C), 737 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 511.230.73. Encontrado: 511.23061

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.70 (s, 3H, O- CH_3 , $\text{H}_{8'}$), 3.77 (s, 6H, $\text{H}_{8'''}$), 5.94 (s, 1H, $\text{H}_{7'}$), 6.41 (s, 2H, $\text{H}_{2'''}$), 6.84-6.93 (m, 6H, $\text{H}_{3',5',3'',5'',5''}$), 7.29-7.52 (m, 9H, $\text{H}_{3,2'',6'',4''',6''',7''}$), 7.55 (d, $J = 12$ Hz, 1H, H_2), 7.59 (d, $J = 12$ Hz 1H, H_3), 7.87 (d, $J = 7.5$ HZ, 2H, $\text{H}_{2',6'}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 32.3, $\text{C}_{8'''}$; 55.8, C_7 ; 62.9, C_8 ; 109.8, $\text{C}_{7'''}$; 118.6, $\text{C}_{3'''}$; 119.2, $\text{C}_{3',5'}$; 116.5, $\text{C}_{4'''}$; 118.6, $\text{C}_{5'''}$; 119.2, $\text{C}_{6'''}$; 121.4, C_2 ; 126.9, $\text{C}_{2'''}$; 128.2, $\text{C}_{3a'''}$; 128.7, $\text{C}_{2'',6''}$; 129.1, $\text{C}_{3'',5''}$; 129.7, $\text{C}_{1',2',6'}$; 132.0, $\text{C}_{1''}$; 134.5, C_4 ; 137.1, $\text{C}_{7a'''}$; 142.1, C_3 ; 152.1, C_4 ; 192.7, C_1 .



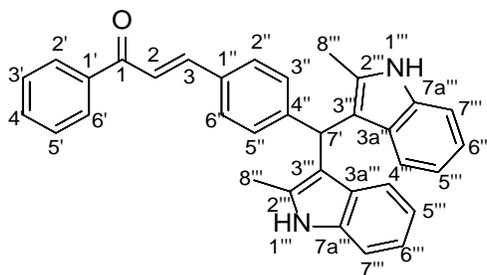
3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2E-en-1-ona (18)

IR (ATR, cm^{-1}): 3051 (CH's Ar), 2924 (CH_3 s), 2935, 2044 (C=C α - β insat), 1966 (CO), 1593 (CN), 1519, 1328 (NO_2), 735 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 526.20524. Encontrado: 526.20442

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.45 (s, 6H, $\text{H}_{8'''}$), 5.76 (s, 1H, $\text{H}_{7'}$), 6.78-6.88 (m, 4H, $\text{H}_{2'',5''}$), 6.98-7.04 (m, 4H, $\text{H}_{3'',5'',6''}$), 7.23-7.38 (m, 9H, $\text{H}_{2',6',2'',6'',4''',7''}$), 7.33 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, H_3), 7.35 (s, 1H, $J = 13.2$ Hz, H_2), 7.97 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, $\text{H}_{3',5'}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 30.6, $\text{C}_{8'''}$; 56.1, C_7 ; 108.9, $\text{C}_{7'''}$; 111.6, $\text{C}_{3'''}$; 117.1, $\text{C}_{4'''}$; 118.4, $\text{C}_{5'''}$; 119.0, $\text{C}_{6'''}$; 121.1, C_2 ; 123.8, $\text{C}_{3',5'}$; 126.5, $\text{C}_{2'''}$; 129.1, $\text{C}_{3a'''}$; 129.6, $\text{C}_{2'',6''}$; 130.8, $\text{C}_{3'',5''}$; 134.3, $\text{C}_{2',6',1''}$; 136.7, $\text{C}_{4',7a'''}$; 143.3, C_1 ; 146.0, C_3 ; 152.3, C_4 ; 192.6, C_1 .



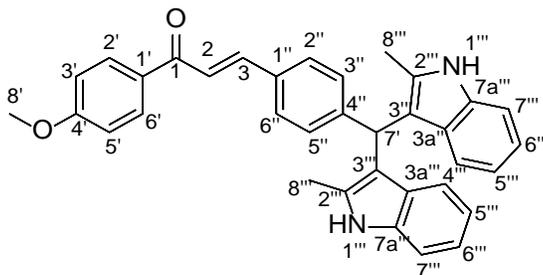
3-(4-(Bis(2-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona (19)

IR (ATR, cm^{-1}): 3398 (NH), 3053, 2909 (CH's Ar, CH_3), 1953, 1916 (C=C α - β insat), 1674 (C=O), 1597, 1580 (CH's α - β insat), 740 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 481.22016. Encontrado: 481.21967

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 2.45 (s, 6H, $\text{H}_{8''''}$), 6.16 (s, 1H, $\text{H}_{7''}$), 6.86-6.99 (m, 6H, $\text{H}_{3''',5''',5''',6''''}$), 7.19-7.33 (m, 10H, $\text{H}_{2,3',4',5',2'',6'',4''',7''''}$), 7.48 (s, 1H, $J = 15$ Hz, H_2), 7.53 (s, 1H, $J = 15$ Hz, H_3) 7.96 (d, $J = 7.2$, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 9.79 (s, 2H, NH , $\text{H}_{1''''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 11.2, $\text{C}_{8''''}$; 11.4, $\text{C}_{7''}$; 42.9, $\text{C}_{7''''}$; 110.0, $\text{C}_{3''''}$; 110.3, $\text{C}_{4''''}$; 118.3, $\text{C}_{5''''}$; 118.9, $\text{C}_{3a''''}$; 119.0, $\text{C}_{6''''}$; 120.0, C_2 ; 127.9, $\text{C}_{2',6'}$; 128.0, $\text{C}_{2'',6''}$; 128.4, $\text{C}_{3'',5''}$; 128.7, $\text{C}_{3',5'}$; 131.6, $\text{C}_{2''''}$; 131.8, $\text{C}_{1''}$; 132.6, C_4 ; 135.5, $\text{C}_{7a''''}$; 135.9, C_4'' ; 137.4, $\text{C}_{1'}$; 142.2, C_3 ; 198.3, C_1 .



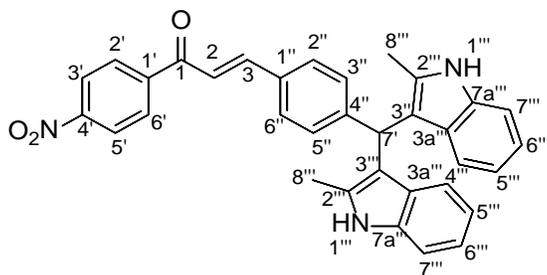
3-(4-(Bis(2-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona (20)

IR (ATR, cm^{-1}): 3393 (NH), 3050 (CH's Ar, CH_3) 2931, 2837 (C=C α - β insat), 1652 (C=O), 1593-1568 (CH's α - β insat), 1169 (C-O-C), 742 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 511.23073. Encontrado: 511.22983.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 2.41 (s, 6H, $\text{H}_{8''''}$), 3.79 (s, 3H, O-CH_3 , $\text{H}_{8'}$), 6.00 (s, 1H, $\text{H}_{7''}$), 6.67-6.73 (m, 4H, $\text{H}_{5''',6''''}$), 7.21-7.24 (m, 4H, $\text{H}_{3',5',3'',5''}$), 7.51 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, H_2), 7.52 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H, $\text{H}_{7''''}$) 7.55 (s, 1H, $J = 12$ Hz, H_3), 7.55 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, H), 7.92-7.96 (m, 6H, $\text{H}_{2',6',2'',4'',6''}$), 9.80 (s, 2H, NH , $\text{H}_{1''''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 11.3, $\text{C}_{8''''}$; 47.3, $\text{C}_{7''}$; 54.9, $\text{C}_{8'}$; 110.1, $\text{C}_{7''''}$; 110.3, $\text{C}_{3''''}$; 113.5, $\text{C}_{3',5'}$; 118.2, $\text{C}_{4''''}$; 118.3, $\text{C}_{1',2',6'}$; 118.9, $\text{C}_{6''''}$; 119.07, $\text{C}_{3a''''}$; 119.8, $\text{C}_{2'',6''}$; 119.9, $\text{C}_{3'',5''}$; 127.3, C_2 ; 128.7, $\text{C}_{2''''}$; 130.2, $\text{C}_{1''}$; 135.5, $\text{C}_{7a''''}$; 135.7, $\text{C}_{4''}$; 142.4, C_3 ; 163.3, C_4 ; 196.9, C_1 .



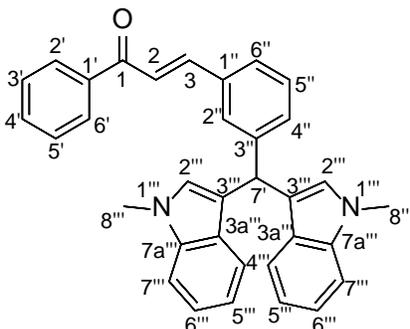
3-(4-(Bis(2-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2E-en-1-ona (21)

IR (ATR, cm^{-1}): 3383 (NH), 3049 (CH's Ar), 2933 (CH_3), 1665 (C=O), 1599 (CH's α - β insat), 1521, 1344 (NO_2), 739 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 525.20524. Encontrado: 525.20521.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 2.09 (s, 6H, $\text{H}_{8''''}$), 6.20 (s, 1H, H_7), 6.62-6.81 (m, 4H, $\text{H}_{5''',6''''}$), 6.83-6.95 (m, 9H, $\text{H}_{2'',3'',5'',6'',4''',7''}$), 7.85 (s, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 8.15 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz, H_2), 8.18 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz, H_3), 8.34 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, $\text{H}_{3',5'}$), 10.81 (s ancho, 2H, NH, $\text{H}_{1''''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 11.9, $\text{C}_{8''''}$; 55.8, C_7 ; 110.4, $\text{C}_{7''''}$; 111.7, $\text{C}_{3''''}$; 118.5, $\text{C}_{4''''}$; 119.8, $\text{C}_{5''''}$; 122.0, C_2 ; 122.3, $\text{C}_{6''''}$; 125.5, $\text{C}_{3',5'}$; 127.4, $\text{C}_{3a''''}$; 128.2, $\text{C}_{2',6'}$; 129.8, $\text{C}_{3'',5''}$; 129.9, $\text{C}_{2',6'}$; 130.9, $\text{C}_{2''''}$; 132.2, $\text{C}_{1''}$; 135.0, $\text{C}_{7a''''}$; 143.9, $\text{C}_{1',4''}$; 145.2, C_3 ; 151.3, C_4 ; 191.0, C_1 .



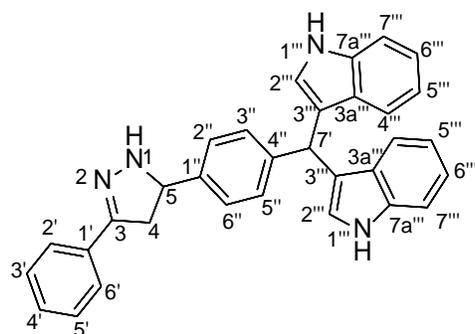
3-(3-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona (22)

IR (ATR, cm^{-1}): 2935, 2839 (CH_3), 1696 (C=O), 1595 (CH's α - β insat), 792 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 481.22016. Encontrado: 481.21904

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.62 (s, 6H, $\text{H}_{8''''}$), 5.95 (s, 1H, H_7), 6.81 (s, 2H, $\text{H}_{2''''}$), 6.86 (t, 2H, $\text{H}_{5''''}$), 7.06 (t, 3H, $\text{H}_{2',4',5''}$), 7.25-7.33 (m, 7H, $\text{H}_{3',5',6',6''',7''}$), 7.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, $\text{H}_{4''''}$), 7.58-7.62 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 7.6 (s, 1H, $\text{H}_{2'}$), 7.63 (s, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7.75 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz, H_2), 7.88 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz, H_3), 7.95 (s, 1H, H_4).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 32.7, $\text{C}_{8''''}$; 44.6, C_7 ; 109.9, $\text{C}_{7''''}$; 118.7, $\text{C}_{3''''}$; 119.5, $\text{C}_{4''''}$; 121.5, C_2 ; 125.7, $\text{C}_{5''',6''''}$; 125.8, C_6 ; 126.6, $\text{C}_{2',2''}$; 128.2, $\text{C}_{3a''''}$; 128.4, $\text{C}_{2',6',4',5''}$; 129.1, $\text{C}_{3',5'}$; 133.5, $\text{C}_{4',1''}$; 145.0, $\text{C}_{1',3''}$; 145.14 $\text{C}_{7a''''}$; 145.16 C_3 ; 198.75, C_1 .



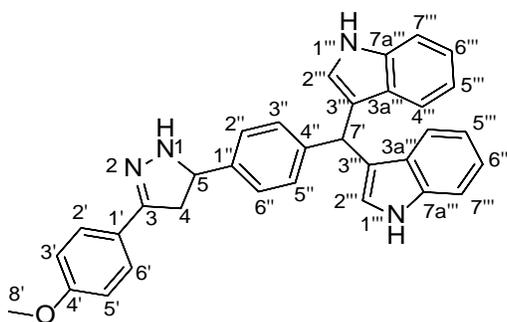
5-(4-(Bis(1H-indol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol (23)

IR (ATR, cm^{-1}): 3411 (NH), 3052, 2836 (CH's Ar), 1602 (CN), 739 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{32}\text{H}_{27}\text{N}_4$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 467.22357. Encontrado: 467.22253.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 4.05 (s, 1H, H_5), 4.2-4.37 (m, 2H, H_4), 5.81 (s, 1H, H_7), 6.61 (s, 2H, $\text{H}_{2''}$), 7.00 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, $\text{H}_{5''}$), 7.10-7.52 (m, 8H, $\text{H}_{2'',3'',5'',6'',4'',6''}$), 7.75-7.8 (m, 5H, $\text{H}_{3',4',5',7''}$), 8.0 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 9.88 (s, 1H, NH, H_1), 10.10 (s, 2H, NH, $\text{H}_{1''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 44.8, C_4 ; 53.5, C_5 ; 63.8, C_7 ; 101.4, $\text{C}_{3''}$; 111.8, $\text{C}_{7''}$; 112.0, $\text{C}_{3''}$; 119.2, $\text{C}_{4''}$; 120.4, $\text{C}_{5''}$; 121.3, $\text{C}_{6''}$; 125.6, $\text{C}_{2'',6''}$; 127.9, $\text{C}_{3a''}$; 128.4, $\text{C}_{2',6'}$; 128.6, $\text{C}_{3',5',3'',5''}$; 133.5, C_4 ; 136.3, C_1 ; 136.7, $\text{C}_{1',4',7a''}$; 146.1, $\text{C}_{1''}$; 148.7, C_3 .



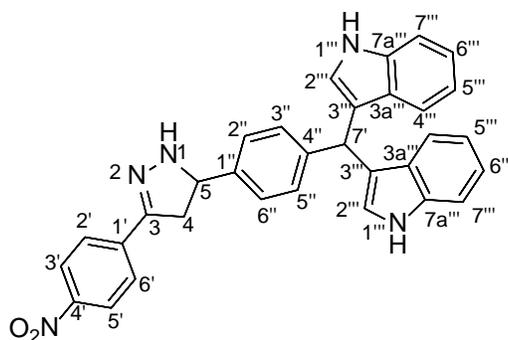
5-(4-(Bis(1H-indol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol (24)

IR (ATR, cm^{-1}): 3525 (NH pirazolina), 3394, 3296 (NH Indol), 3053, 2918 (CH's Ar), 1614 (CN), 1220 (C-O-C), 742 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 497.22631. Encontrado: 497.22599.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.70-3.86 (m, 6H, $\text{H}_{4,5,8'}$), 5.75 (s, 1H, H_7), 6.37 (s, 2H, $\text{H}_{2''}$), 6.95-7.2 (m, 13H, $\text{H}_{3',5',2'',3'',5'',6'',4'',5'',6''}$), 7.88 (s, 2H, $\text{H}_{7''}$), 7.98 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, $\text{H}_{2',6'}$), 9.86 (s, 2H, NH, $\text{H}_{1''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 45.5, C_4 ; 49.8, C_5 ; 55.5, C_7, C_8 ; 101.4, $\text{C}_{7''}$; 110.0, $\text{C}_{3''}$; 111.8, $\text{C}_{3',5'}$; 114.0, $\text{C}_{4''}$; 118.5, $\text{C}_{5''}$; 119.5, $\text{C}_{6''}$; 121.2, $\text{C}_{2''}$; 123.8, $\text{C}_{2'',6''}$; 127.0, $\text{C}_{3a''}$; 128.2, $\text{C}_{3'',5''}$; 128.7, $\text{C}_{2',6'}$; 136.9, C_1 ; 137.3, $\text{C}_{4''}$; 142.1, $\text{C}_{7a''}$; 142.8, $\text{C}_{1''}$; 159.9, C_3 ; 160.8, C_4 .



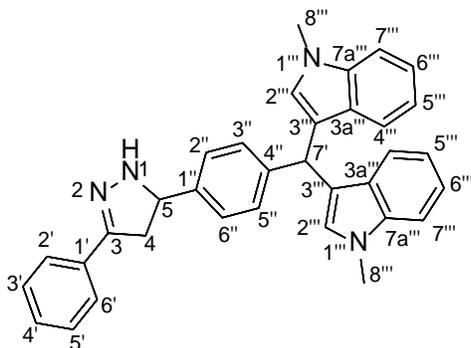
5-(4-(Bis(1H-indol-3-il)metil)fenil)-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol (25)

IR (ATR, cm^{-1}): 3410 (NH), 3053 (CH's Ar), 1595 (CN), 1513, 1538 (NO_2), 740 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 512.20083. Encontrado: 512.19960

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 4.00-4.07 (m, 1H, H_5), 4.25-4.39 (m, 2H, H_4), 5.80 (s, 1H, CH, H_7), 6.43 (s, 2H, $\text{H}_{2''}$), 6.82-6.88 (m, 4H, $\text{H}_{5''',6''}$), 6.98-7.13 (m, 5H, $\text{H}_{4'',2'',6'',5'',1}$), 7.52 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, $\text{H}_{7''}$), 7.73 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, $\text{H}_{2',6'}$), 7.88 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, $\text{H}_{3',5'}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 44.0, C_4 ; 50.8, C_5 ; 56.1, C_7 ; 108.9, $\text{C}_{7''}$; 109.0, $\text{C}_{3''}$; 118.4, $\text{C}_{4''}$; 118.7, $\text{C}_{5''}$; 120.0, $\text{C}_{6''}$; 121.1, $\text{C}_{2''}$; 121.5, $\text{C}_{2',6'}$; 125.3, $\text{C}_{3',5'}$; 127.4, $\text{C}_{2',6',3a''}$; 128.2, $\text{C}_{3',5''}$; 128.3, $\text{C}_{4''}$; 128.3, $\text{C}_{7a''}$; 128.8, $\text{C}_{1''}$; 128.9, C_1 ; 134.7, C_4 ; 137.3, C_3 .



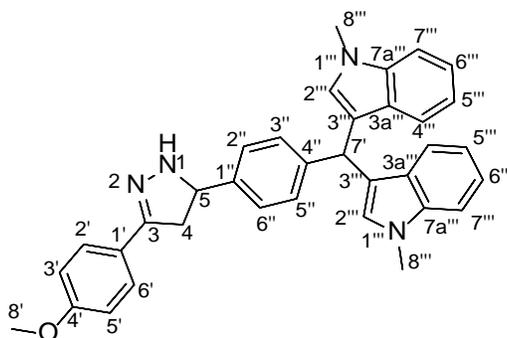
5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol (26)

IR (ATR, cm^{-1}): 3401 (NH), 3052 (CH's Ar), 2913 (CH_3), 1596 (CN), 740 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{N}_4$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 495.24705. Encontrado: 495.24579

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.75 (s, 6H, $\text{H}_{8''}$), 3.77-3.87 (m, 3H, $\text{H}_{4,5}$), 5.72 (s, 1H, H_7), 6.72 (s, 2H, $\text{H}_{2''}$), 7.01-7.09 (m, 8H, $\text{H}_{2'',3'',5'',6'',5''',6''}$), 7.17 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, $\text{H}_{3',5'}$), 7.27-7.35 (m, 4H, $\text{H}_{2',6',7''}$), 7.53 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, $\text{H}_{4''}$), 7.61 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, H_4), 11.06 (s, 1H, NH, H_1).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 32.7, $\text{C}_{8''}$; 44.9, C_4 ; 46.4, C_5 ; 54.6, C_7 ; 63.2, $\text{C}_{7''}$; 109.9, $\text{C}_{3''}$; 111.8, $\text{C}_{4''}$; 118.7, $\text{C}_{5''}$; 119.3, $\text{C}_{6''}$; 121.4, $\text{C}_{2',6'}$; 127.2, $\text{C}_{2''}$; 128.2, $\text{C}_{2',6',3a''}$; 128.4, $\text{C}_{3',5',3'',5''}$; 133.5, C_4 ; 136.2, C_1 ; 137.1, $\text{C}_{4''}$; 137.3, $\text{C}_{7a''}$; 142.7, C_1 ; 150.7, C_3 .



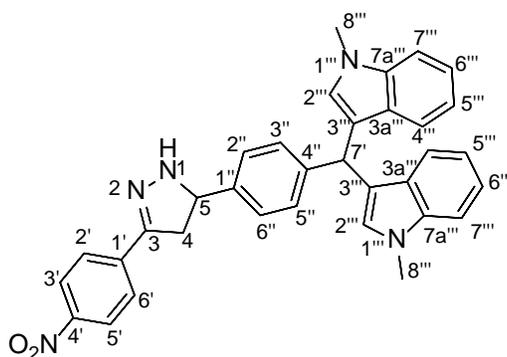
5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol (27)

IR (ATR, cm^{-1}): 3411 (NH), 3053 (CH's Ar), 1617 (CN), 1243 (C-O-C), 739 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 525.25761. Encontrado: 525.25666.

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.58 (s, 6H, $\text{H}_{8''''}$), 3.69 (m, 6H, $\text{H}_{4,5,8'}$), 5.80 (s, 1H, $\text{H}_{7'}$), 6.35 (s, 2H, $\text{H}_{2''''}$), 6.96 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{H}_{5''''}$), 7.21-7.8 (m, 15H, H $_{1,2',3',5',6',2'',3'',5'',6'',4''',6''',7''''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 29.9, $\text{C}_{8''''}$; 40.0, C_4 ; 50.9, C_5 ; 63.6, C_7 ; 63.8, C_8 ; 110.8, $\text{C}_{7''''}$; 111.2, $\text{C}_{3''''}$; 111.4, $\text{C}_{3',5'}$; 118.4, $\text{C}_{4''''}$; 119.5, $\text{C}_{5''''}$; 121.1, $\text{C}_{6''''}$; 123.4, $\text{C}_{2'',6''}$; 123.6, $\text{C}_{2''''}$; 127.4, $\text{C}_{3a''''}$; 128.4, $\text{C}_{2',6',3'',5''}$; 137.0, $\text{C}_{4''}$; 137.1, $\text{C}_{7a''''}$; 143.1, $\text{C}_{1''}$; 152.8, C_3 ; 164.4, C_4 .



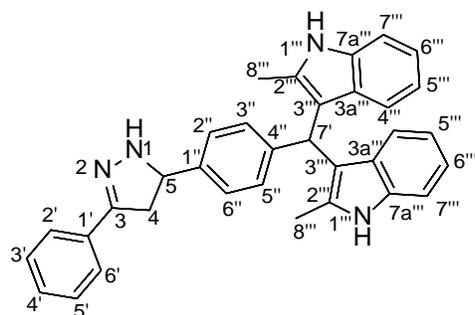
5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol (28)

IR (ATR, cm^{-1}): 3395 (NH), 3052 (CH's Ar), 1595 (CN), 1513, 1341 (NO_2), 741 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 540.23213. Encontrado: 540.23127

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.5 (s, 6H, $\text{H}_{8''''}$), 3.66-3.72 (m, 3H, $\text{H}_{4,5}$), 4.83 (s, 1H, $\text{H}_{7'}$), 6.43 (s, 2H, $\text{H}_{2''''}$), 6.84 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, $\text{H}_{5''''}$), 7.09 (t, 2H, $J = 9.0$ Hz, $\text{H}_{6''''}$), 7.10-7.18 (m, 4H, $\text{H}_{2'',3'',5'',6''}$), 7.58-7.66 (m, 6H, $\text{H}_{2',6',4'',7''''}$), 7.96 (d, $J = 3.2$ Hz, 2H, $\text{H}_{3',5'}$), 11.08 (s, 1H, NH, H_1).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 36.1, $\text{C}_{8''''}$; 43.3, C_4 ; 51.4, C_5 ; 56.1, C_7 ; 111.4, $\text{C}_{7''''}$; 111.5, $\text{C}_{3''''}$; 118.3, $\text{C}_{4''''}$; 119.1, $\text{C}_{5''''}$; 120.8, $\text{C}_{6''''}$; 123.4, $\text{C}_{2'',6''}$; 126.7, $\text{C}_{2''''}$; 126.9, $\text{C}_{3',5'}$; 128.0, $\text{C}_{2',6',3a''''}$; 128.8, $\text{C}_{3'',5''}$; 126.5, $\text{C}_{4''}$; 138.4, $\text{C}_{7a''''}$; 142.3, $\text{C}_{1''}$; 143.8, C_1 ; 150.6, C_4 ; 151.4, C_3 .



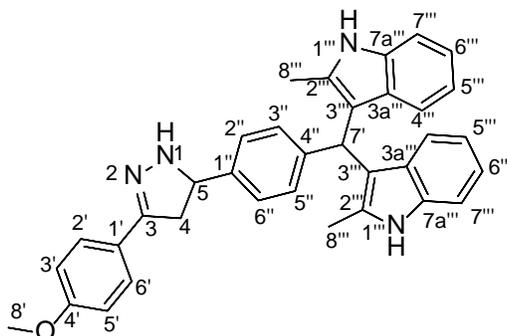
5-(4-(Bis(2metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol (29)

IR (ATR, cm^{-1}): 3356 (NH), 3052 (CH's Ar), 2934 (CH₃), 1680 (CN), 737 (CH's Ar).

EMAR (DART) C₃₄H₃₁N₄ [M+1]⁺: Calculado: 495.24705. Encontrado: 495.24583.

¹H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona-*d*₆): δ 2.49 (s, 6H, H_{8'''}), 3.65 (s, 2H, H₄), 3.97 (s, 1H, H₅), 5.72 (s, 1H, H_{7'}), 6.83-6.92 (m, 4H, H_{5''',6'''}), 7.01-7.06 ESTE ES 4'' Y NO 7''' (t, 2H, H_{4''}), 7.20-7.41 (m, 7H, H_{3',4',5',2'',3'',5'',6''}), 7.57 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, H_{7'''}), 8.11 (d, *J* = 9.0, 2H, H_{2',6'}), 10.8 (s, 2H, NH, H_{1'''}), 10.89 (s, 1H, NH).

¹³C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona-*d*₆): δ 13.5, C_{8'''}; 44.0, C₄; 48.6, C₇; 51.6, C₅; 110.1, C_{7'''}; 112.8, C_{3'''}; 118.1, C_{4'''}; 119.7, C_{5'''}; 121.5, C_{6'''}; 123.1, C_{2'',6''}; 126.6, C_{3a'''}; 128.3, C_{2',6'}; 128.7, C_{3',5'}; 130.3, C_{3'',5''}; 135.6, 4',2''; 136.0, C_{4'',7a'''}; 136.8, C₁; 142.8, C_{1''}; 154.3, C₃.



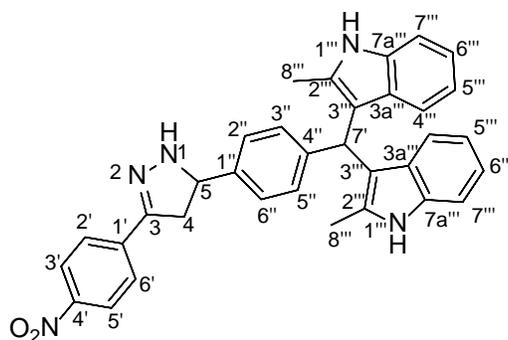
5-(4-(Bis(2-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol (30)

IR (ATR, cm^{-1}): 3343 (NH), 3052 (CH's Ar), 2934 (CH₃), 1604 (CN), 1252 (C-O-C) 735 (CH's Ar).

EMAR (DART) C₃₅H₃₃N₄O [M+1]⁺: Calculado: 525.25761. Encontrado: 525.25676

¹H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona-*d*₆): δ 2.28 (s, 6H, H_{8'''}), 3.8 (s, 2H, H₄), 4.16 (m, 1H, H₅), 4.18 (s, 1H, 3H, O-CH₃, H_{8'}), 5.82 (s, 1H, H_{7'}), 7.00-7.048 (m, 8H, H_{2'',3'',5'',6'',6''',5'''}), 7.23 (d, 2H, *J* = 6.0 Hz, H_{4''}), 7.36 (m, 2H, H_{7'''}), 7.68 (d, 2H, *J* = 2.6 Hz, H_{3',5'}), 8.2 (d, 2H, *J* = 7.0 Hz, H_{2',6'}), 11.635 (s, 1H, NH, H₁).

¹³C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona-*d*₆): δ 11.5, C_{8'''}; 38.9, ; 45.6, C₇; 47.4, C₅; 49.7, C_{8'}; 110.0, C_{7'''}; 113.0, C_{3'''}; 118.2, C_{3',5'}; 119.0, C_{4'''}; 119.8, C_{5''',6'''}; 127.7, C_{2'',6''}; 128.6, C_{3a'''}; 129.4, C_{1,2',6',3'',5''}; 131.8, C_{2'''}; 135.4, C_{7a''',4''}; 141.7, C₁; 158.0, C₃; 163.2, C_{4'}.



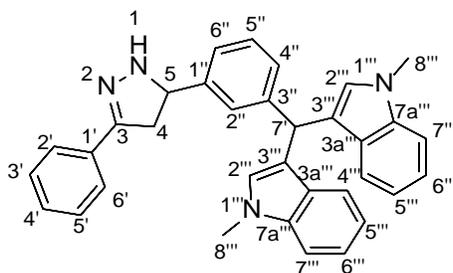
5-(4-(Bis(2-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol (31)

IR (ATR, cm^{-1}): 3404 (NH), 2980 (CH_3), 1601 (CN), 1519, 1343 (NO_2), 817 (CH's Ar).

EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 540.23213. Encontrado: 540.23141

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 2.51 (s, 6H, $\text{H}_{8''''}$), 3.57 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, H_5), 4.06 (c, 2H, $J = 7.2$ Hz, H_4), 5.74 (s, 1H, $\text{H}_{7''}$), 6.72 (d, $J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{5''',6''''}$), 7.00-7.08 (m, 4H, $\text{H}_{2'',3'',5'',6''}$), 7.17-7.20 (m, 4H, $\text{H}_{4''',7''''}$), 7.96 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, $\text{H}_{2',6'}$), 8.25 (s, 2H, $\text{H}_{3',5'}$), 9.79 (s ancho, 3H, NH, $\text{H}_{1,1''''}$).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 11.5, $\text{C}_{8''''}$; 38.9, C_4 ; 47.3, C_7 ; 51.0, C_5 ; 110.0, $\text{C}_{3''',4''',5''',6''''}$, $7''''$; 112.0, $\text{C}_{2'',6''}$; 118.2, $\text{C}_{3\text{a}''}$; 119.0, $\text{C}_{3',5'}$; 127.7, $\text{C}_{2',6'}$; 128.5, $\text{C}_{3'',5''}$; 128.6, $\text{C}_{2''''}$; 131.8, $\text{C}_{4''}$; 135.4, $\text{C}_{7\text{a}''''}$; 141.2, $\text{C}_{1''}$; 147.7, $\text{C}_{1'}$; 147.9, C_4 ; 154.7, C_3 .



5-(3-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol (32)

IR (ATR, cm^{-1}): 3402 (NH), 3055 (CH's Ar), 1605 (CN), 690 (CH's Ar).

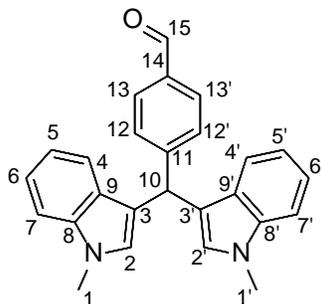
EMAR (DART) $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{N}_4$ $[\text{M}+1]^+$: Calculado: 495.24705. Encontrado: 495.24579

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 3.6 (s, 1H, H_4), 3.68 (s, CH_3 , 6H, $\text{H}_{8''''}$), 3.69-3.76 (m, 2H, H_5), 5.75 (s, 1H, $\text{H}_{7''}$), 6.31 (s, 2H, $\text{H}_{2''''}$), 6.49 (t, 2H, $J = 6.2$ Hz, $\text{H}_{5''''}$), 6.94-7.39 (m, 11H, $\text{H}_{3',4',5',2'',4'',5'',6'',6''',7''''}$), 7.61 (d, 2H, $J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{2',6'}$), 7.72 (d, 2H, $J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{4''''}$), 9.63 (s ancho, 1H, NH, H_1).

^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6): δ 32.6, $\text{C}_{8''''}$; 44.3, C_4 ; 51.3, C_5 ; 55.4, C_7 ; 109.8, $\text{C}_{7''''}$; 110.1, $\text{C}_{3''''}$; 118.7, $\text{C}_{4''''}$; 121.4, $\text{C}_{5''''}$; 125.9, $\text{C}_{6''''}$; 127.0, $\text{C}_{6''}$; 127.3, $\text{C}_{2''''}$; 128.2, $\text{C}_{4''}$; 128.3, $\text{C}_{3\text{a}''''}$; 128.4, $\text{C}_{2',6',5''}$; 133.0, $\text{C}_{3',5'}$; 137.2, $\text{C}_{2''}$; 137.4, C_4 ; 137.8, $\text{C}_{1'}$; 144.7, $\text{C}_{3'',7\text{a}''''}$; 145.9, $\text{C}_{1''}$; 156.0, C_3 .

8.2 Discusión de espectros

A continuación, se discutirán los datos espectrales obtenidos para los compuestos **7**, **17** y **27** de manera representativa:

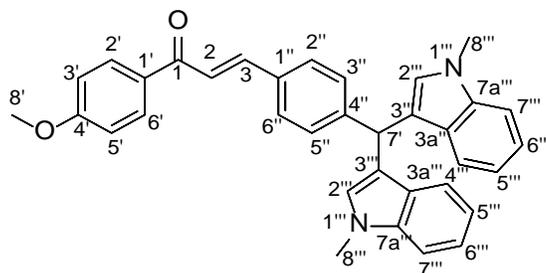


(Bis(1-metil-indol-3-il))(4-formilfenil)metano (**7**)

- Infrarrojo: Se encontró en 3047, 3021 cm^{-1} CH's aromáticos, mientras que los metilos del 1-metilindol aparecen en 2910 y 2878 cm^{-1} , en lo que respecta a CH la banda aparece en 2822 cm^{-1} , mientras que el grupo carbonilo aparece en 1698 cm^{-1} .
- E. Masas: Se encontró un pico con m/z 379.18068, que corresponde a una fórmula mínima de $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}$, lo que indica el ion molecular del (bis(1-metil-indol-3-il))(4-formilfenil)metano.
- RMN:

En lo que respecta a ^1H RMN, se observa una señal simple a 3.69 ppm la cual integra para 6 protones $\text{H}_{1,1'}$, correspondientes a los grupos metilo de cada unidad de 1-metilindol, en 5.95 ppm aparece una señal simple que integra para un protón, que se asigna a H_{10} , mientras que en 6.54 ppm hay otra señal simple que integra para los dos protones $\text{H}_{2,2'}$, en 7.0 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para dos protones, $\text{H}_{5,5'}$, en 7.22 se observa una señal triple para otros dos protones $\text{H}_{6,6'}$, ($J = 7$ Hz), en 7.32 ppm aparece una señal doble correspondiente a los protones $\text{H}_{7,7'}$, ($J = 7$ Hz), en 7.33 ppm se observó una señal triple que integra para dos protones correspondientes a $\text{H}_{13,13'}$, ($J = 7$ Hz), en 7.53 ppm hay una señal doble correspondiente a los protones $\text{H}_{4,4'}$, ($J = 7$ Hz), en el intervalo de 7.80-7.88 ppm hay una señal doble que integra para dos protones asignados a $\text{H}_{12,12'}$, ($J = 7$ Hz) y por último a campo más bajo se encuentra una señal simple a 9.98 ppm asignado a H_{15} , protón correspondiente al aldehído.

En lo concerniente a ^{13}C RMN **A7**, presenta una señal a 32.8 ppm, que se ha asignado a C_1 , correspondiente a los carbonos del metilo del 1-metilindol, a 40.4 ppm se encuentra otra señal asignada a C_{10} , a campo más bajo se encuentra una serie de señales que se han asignado a los átomos de carbono siguientes: 109.3 C_2 , 117.1 C_3 , 118.9 C_7 , 119.8 C_6 , 121.7 C_4 , 127.2 C_5 , 128.3 C_9 , 129.4 C_{13} , 134.8 C_{11} , 137.5 C_8 , 151.9 C_{14} y finalmente una señal en 192.2 ppm correspondiente a C_{15} , el carbono del aldehído.

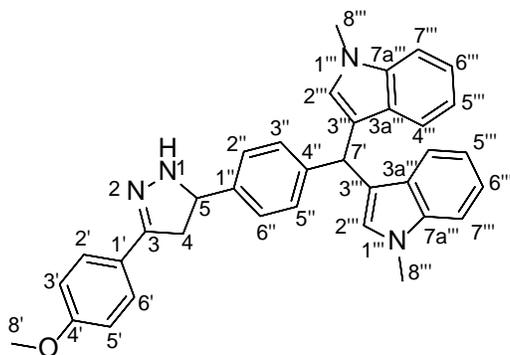


3-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona (17)

- a) Infrarrojo: a 3000 cm^{-1} la banda es asignada a los CH's Ar, en 2930 cm^{-1} la banda para los grupos metilo presentes en el 1-metilindol así como del grupo metoxilo, en 2318 y 2070 cm^{-1} se observan las bandas del enlace C=C del sistema α, β insaturado, además en 1655 cm^{-1} aparece la banda del grupo carbonilo del compuesto, también se observa otra banda a 1594 cm^{-1} correspondiente a los CH's α - β insat y por último a 1168 cm^{-1} la banda correspondiente al enlace C-O-C por la presencia del grupo metoxilo.
- b) E. Masas: Se encontró un pico con m/z 511.23061, que corresponde a una fórmula mínima de $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_2$, lo que indica el ion molecular de la 3-(4-(bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona.
- c) RMN:

Para ^1H RMN se observan dos señales simples a 3.70 y 3.77 ppm las cuales integran para 3 y 6 protones, respectivamente, asignadas a $\text{H}_{8',8''}$ del grupo metoxilo y a los metilos del 1-metilindol, en 5.94 ppm aparece una señal simple que integra para un protón correspondiente al H_7 metino del diindolilmetano, en 6.41 ppm se observa una señal simple que integra para dos protones $\text{H}_{2''}$, en el intervalo de 6.84-6.93 ppm hay una señal múltiple que integra para 6 protones $\text{H}_{5''',3',5',5'',3''}$, en el intervalo de 7.29-7.62 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para 10 protones $\text{H}_{6''',7''',2,3,6'',2'',4''}$ y en 7.70 y 7.87 ppm se encuentran señales dobles que integran para los protones H_2 y H_6 , ($J = 7.2$ y 7.5 Hz) respectivamente.

En lo que respecta a ^{13}C RMN para el compuesto **17** a 32.3 ppm se observa una señal que se ha asignado a $\text{C}_{8''}$, correspondiente a los metilos del 1-metilindol, a 55.8 ppm se encuentra la señal correspondiente al metino, a 62.9 ppm se observa la señal asignada a C_8 del metoxilo, más adelante se encontraron las siguientes señales que se asignaron a los carbonos correspondientes: 109.8 $\text{C}_{7''}$, 112.6 $\text{C}_{3''}$, 113.2 $\text{C}_{3',5'}$, 116.5 $\text{C}_{4''}$, 118.6 $\text{C}_{5''}$, 119.2 C_2 , 121.4 $\text{C}_{6''}$, 126.9 $\text{C}_{2''}$, 128.2 $\text{C}_{3a''}$, 128.7 $\text{C}_{2'',6''}$, 129.1 $\text{C}_{3',5''}$, 129.7 $\text{C}_{1',2',6'}$, 132.0 $\text{C}_{1''}$, 134.5 $\text{C}_{4'}$, 137.1 $\text{C}_{7a''}$, 152.1 C_3 , 165.0 $\text{C}_{4'}$ y en 192.7 ppm C_1 correspondiente al carbono del carbonilo de la chalcona.



5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol (27)

- a) Infrarrojo: Para el compuesto **27** se observó en el espectro de infrarrojo una banda a 3411 cm^{-1} bandas característicos del enlace N-H, en este caso asignado para la pirazolina, a 3053 cm^{-1} se encuentran los CH's Ar, a 1671 cm^{-1} se encuentra la banda correspondiente al enlace CN.
- b) E. Masas: Se encontró un pico con m/z 525.25666, que corresponde a una fórmula mínima de $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}$, lo que indica el ion molecular del 5-(4-(bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol.
- c) RMN

En el espectro de ^1H RMN se encuentra lo siguiente a 3.58 ppm se observa una señal simple que integra para 6 protones $\text{H}_{8''''}$ correspondientes a los metilos del 1-metilindol, a 3.69 ppm se encuentra una señal simple que integra para 6 protones $\text{H}_{4,5,8'}$, señales que se han asignado a la saturación en el anillo de pirazolina y a los protones del metoxilo respectivamente, a un desplazamiento de 5.80 ppm hay una señal simple que integra para un protón H_7 , asignado al metino del diindolilmetano, a 6.35 ppm hay una señal simple que integra para dos protones $\text{H}_{2''''}$, en 6.96 ppm hay una señal triple que integra para dos protones $\text{H}_{5''''}$ ($J = 7.2\text{ Hz}$), en el intervalo de 7.21-7.8 ppm se observa una señal múltiple que integra para 15 protones $\text{H}_{3',5',2'',3'',5'',6'',6''',7''',4'',2',6'}$.

En lo que respecta al espectro de ^{13}C RMN se encontró a 29.9 ppm hay una señal que se ha asignado a los metilos correspondientes el 1-metilindol $\text{C}_{8''''}$, a 40 y 50.9 ppm se encuentran dos señales para el C_4 y C_5 que corresponden a la saturación del anillo de la pirazolina, metileno y metino respectivamente, a 63.6 ppm se encuentra el carbono $\text{C}_{7'}$ un metino, señal característica para los diindolilmetanos, a 63.7 ppm se encuentra la señal correspondiente al C_8' del metoxilo, posteriormente se encontraron las respectivas señales que se asignaron a los carbonos correspondientes en 110.8 $\text{C}_{7''''}$, 111.2 $\text{C}_{3''''}$, 111.4 $\text{C}_{3',5'}$, 118.4 $\text{C}_{4''''}$, 119.5 $\text{C}_{5''''}$, 121.1 $\text{C}_{6''''}$, 123.4 $\text{C}_{2',6'}$, 123.6 $\text{C}_{2''''}$, 127.4 $\text{C}_{3a''''}$, 128.4 $\text{C}_{3'',5'',2',6'}$, 137.0 $\text{C}_{4'}$, 137.1 $\text{C}_{7a''''}$, 143.1 $\text{C}_{1''}$, 152.8 C_3 y en 164.4 ppm a C_4' .

Como se puede observar en la discusión para los espectros del compuesto **17** se muestran señales correspondientes al grupo 4-metoxifenilo y del sistema α , β insaturado de la chalcona, lo que nos indica que efectivamente se llevó a cabo la reacción entre el compuesto **7** y la 4-metoxiacetofenona obteniéndose el compuesto híbrido chalcona-diindolilmetano.

Para el compuesto **27** en los espectros ya no aparecen las señales del carbonilo y del sistema α,β insaturado características de la chalcona, pero si aparecen las señales del grupo NH, además de presentarse la saturación en la posición 4 y 5 propias del anillo de la pirazolina. Cabe mencionar que las señales para el grupo diindolilmetano permanecen constantes en los espectros. Con esto se logra corroborar que se obtuvo el compuesto híbrido pirazolina-diindolilmetano **27**.

Debido a la similitud de las estructuras de los productos obtenidos ya no se discutirá la espectroscopía para los demás compuestos híbridos. Una vez analizados los datos espectroscópicos se llevará a cabo el análisis del rendimiento y de las rutas utilizadas para la síntesis de estos.

Para la obtención de los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano se utilizaron dos rutas sintéticas A y B. En la Ruta A se inicia la síntesis a partir de formildiindolilmetanos utilizando microondas como energía de calentamiento, mientras que en la ruta B se parte de formilchalconas y en este caso se utilizó energía térmica.

Como se puede observar en la tabla 3 de resultados, se dan buenos rendimientos para la síntesis de los formildiindolilmetanos 93-96% en un tiempo de 45 min utilizando energía de microondas, mientras que en la tabla 4 para las formilchalconas los rendimientos van del 67-92 %, la reacción se llevó a cabo a una temperatura de 0°C durante 24 h.

En la tabla 5 se dan los resultados para los híbridos chalcona-diindolilmetano, en donde la ruta A resultó con mejores rendimientos 62-89%, que la ruta B 54-80%. Además, se pudo observar que al utilizar la ruta A como opción de síntesis se reduce la obtención de subproductos, siendo más asequible la purificación de los compuestos finales.

Por último, en la tabla 6 se observa que los rendimientos mejoran ligeramente en la ruta A 69-91% en un tiempo de 30 min, en comparación con la ruta B 50-89% 4 h, aunque no es tan marcada la diferencia en cuanto a los rendimientos, los tiempos de reacción si se ven reducidos, además que de igual manera la purificación de estos compuestos resulta ligeramente más sencilla ya que en la ruta A se disminuye la cantidad de subproductos.

El solvente utilizado para ambas rutas fue etanol, lo que concuerda con el principio 5 de la química verde utilizar sustancias inocuas. Con todo lo anterior mencionado, la ruta A resulta la mejor opción para la síntesis de los compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano ya que además se aplica el principio 6 de la química verde, la eficiencia energética, ya que algunos pasos de la síntesis fueron realizados con energías alternas en este caso microondas, reduciendo costos energéticos, así como tiempos de reacción.

9 Resultados y discusión sección biológica

Se evaluaron 10 novedosos compuestos sintetizados del tipo híbrido pirazolina-diindolilmetano, con la finalidad de determinar sus efectos antimicrobianos. Para ello se utilizaron tres microorganismos a evaluar: *C. albicans* ATCC 14053, *S. aureus* ATCC 6538 y *E. coli* ATCC 1175. Debido a que cada uno es representativo para la familia de los hongos, de bacterias gram positiva y gram negativa, respectivamente.

Para obtener un punto de comparación entre el efecto producido por los antibióticos de uso clínico y el causado por los compuestos sintetizados del tipo híbrido pirazolina-diindolilmetano, se realizaron pruebas de inhibición de crecimiento radial (ICR) correspondientes para cada microorganismo, empleando como control positivo (+) sensibilizadores impregnados con el antibiótico correspondiente, marca Bio-Rad y como control negativo (-) DMSO, el cual no presentó inhibición en todos los casos, además de los compuestos a evaluar a diferentes concentraciones 2, 4, 8, 16, 32 y 64 mg/mL.

9.1 Pruebas cualitativas para *S. aureus*

Para este microorganismo, se utilizó penicilina G (+) [0.67 mg/disco] con un halo de inhibición de 39 mm. La estructura de la penicilina y la prueba ICR se observan en la **Figura 7**.

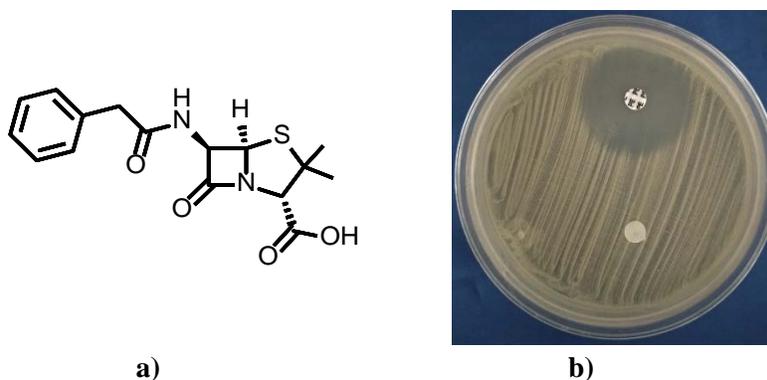
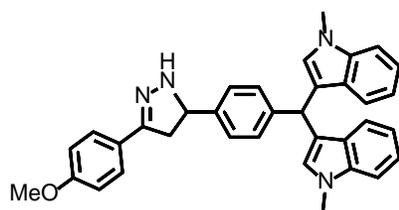


Figura 7 a) Estructura Penicilina G; b) Prueba ICR de Penicilina y DMSO

De los 10 compuestos híbridos pirazolina-diindolilmetano, evaluados a las diferentes concentraciones mencionadas previamente, 4 de ellos mostraron actividad antibacteriana contra *S. aureus*.

Los compuestos **27** y **23** resultaron los más activos, observándose para ambos un halo de inhibición de 13 mm a una concentración de 64 mg/mL. La estructura de ambos compuestos y las pruebas de ICR se muestran en la **Figura 8** y **9**.

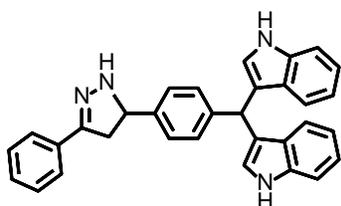


27

Figura 8 Prueba ICR de 27 sobre *S. aureus*

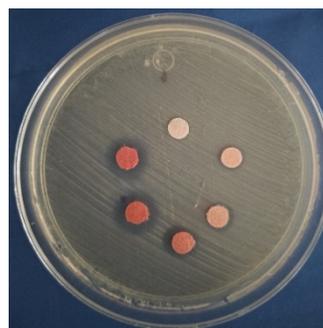


Prueba ICR



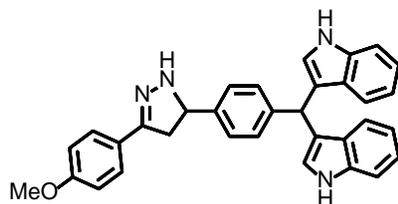
23

Figura 9 Prueba ICR de 23 sobre *S. aureus*



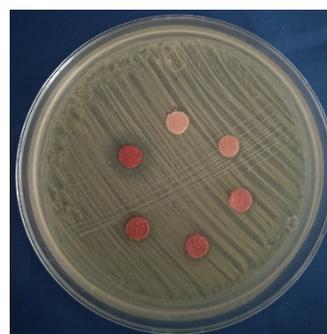
Prueba ICR

Mientras que los compuestos **24** y **25** mostraron una menor actividad con halos de inhibición de 9 y 11 mm, respectivamente a una concentración de 64 mg/mL. Además, el compuesto **24** presentó actividad solo hasta concentraciones de 64 mg/mL, mientras que **25** hasta concentraciones de 32 mg/mL. **Figura 10** y **11**.

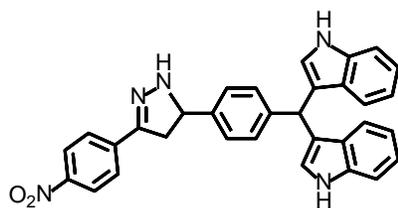


24

Figura 10 Prueba ICR de 24 sobre *S. aureus*



Prueba ICR



25



Prueba ICR

Figura 11 Prueba ICR de 25 sobre *S. aureus*

La actividad antibacteriana para los diversos compuestos sintetizados a sus correspondientes concentraciones se encuentra registrada en la Tabla 7.

Tabla 7. Pruebas de inhibición de crecimiento radial para *S. aureus*

COMPUESTO	CONCENTRACIÓN mg/disco	HALO DE INHIBICIÓN (mm)
23	2	6
	4	7
	8	8
	16	9
	32	11
	64	13
24	64	9
25	32	9
	64	11
27	2	7
	4	8
	8	9
	16	10
	32	11
	64	13
PENICILINA G (+)	0.67	39
DMSO (-)	----	----

*Para los compuestos 24 y 25 las concentraciones no mostradas no presentaron actividad por lo que se omitieron en la tabla, así como los compuestos que no inhibieron a la bacteria a las diferentes concentraciones evaluadas.

Para este caso no se puede hacer la correlación estructura/actividad entre el antibiótico de uso clínico y los compuestos sintetizados debido a que no comparten un núcleo estructural activo, ya que la penicilina G contiene un anillo β -lactámico unido a un anillo tiazolidínico, mientras que para los compuestos híbridos su estructura está conformada de un anillo de 1H-pirazolona sustituido en la

posición 5 por un derivado diindolilmetano y sustituido en la posición 3 por un grupo fenilo-4-sustituido. **Figura 8, 9, 10 y 11.**

Al analizar de manera general las estructuras de los compuestos, se busca relacionar las características de este tipo de moléculas híbridas con la actividad antibacteriana que mostraron, y de lo observado fue que los compuestos que contienen en su estructura al 2-metilindol ninguno presentó actividad, los que contienen al 1*H*-indol todos resultaron activos (**23, 24 y 25**) y de los que poseen al 1-metilindol, solo uno lo fue (**27**). Además, los compuestos sustituidos en la posición 3 del anillo de 1*H*-pirazolina por un grupo 4-metoxifenilo mostraron actividad, tal es el caso de **24 y 27**, con un halo de inhibición de 9 y 13 mm, respectivamente, observándose un ligero aumento de efectividad cuando la estructura contiene al 1-metilindol, dicha actividad puede ser atribuida a una mayor presencia de grupos metilo en la molécula, que podría ser responsable de la metilación del ADN en la bacteria, limitando así la replicación normal de la misma.

Comparando dichos resultados, se puede observar que la acción antibacteriana es más activa en los compuestos que contienen al 1*H*-indol en su estructura, aunque no más efectiva en comparación a los que contienen al 1-metilindol, seguido por los que contienen al 1-metilindol, ya que en este último caso solo uno resultó activo, mientras que los que contienen al 2-metilindol, en donde ninguno presentó inhibición.

A pesar de que estos compuestos resultaron activos, al compararlos con la penicilina, no resultaron tan efectivos ya que mostraron halos de inhibición menores al control (+) a concentraciones mucho mayores, sin embargo, debido al alto porcentaje de estas cepas que presentan resistencia a antibióticos del grupo de las penicilinas, es de importancia el tener nuevos compuestos que sean activos contra este microorganismo, por lo que los compuestos **23, 24, 25 y 27** se podrían considerar como una buena opción para dicho tratamiento.

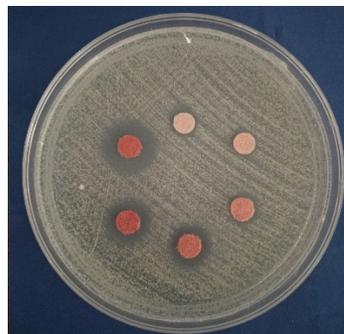
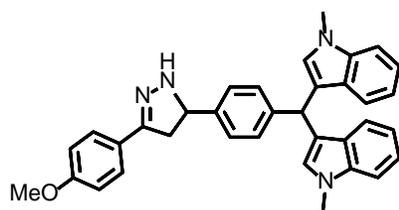
9.2 Pruebas cualitativas para *C. albicans*

Para *C. albicans* se utilizó miconazol (+) a una concentración de [0.05 mg/disco] obteniéndose un halo de inhibición de 31 mm. La estructura del miconazol y la prueba de ICR se encuentran en la **Figura 12.**



Figura 12 a) Estructura Miconazol; b) Prueba ICR de Miconazol y DMSO

De los compuestos evaluados a las diferentes concentraciones, solo el compuesto **27** mostró efectos antifúngicos contra *C. albicans*, observándose un halo de inhibición de 16 mm a una concentración de 64 mg/mL. **Figura 13**



27

ICR

Figura 13 Prueba ICR de 27 sobre *C. albicans*

La actividad antifúngica del compuesto 27 en sus diferentes concentraciones se encuentra en la Tabla 8.

Observando la relación estructura-actividad del miconazol y del compuesto evaluado 27, se encontró que ambos poseen en su estructura un núcleo activo de azol; en el caso del miconazol contiene un grupo imidazol (1,3 azol) que se encuentra enlazado en la posición 1 a otros dos anillos bencénicos 2,4-diclorados, lo que le ayuda a aumentar la respuesta biológica a la molécula, pues los átomos de cloro le confieren lipofilia, mientras que para el compuesto 27 se tiene un anillo de 1*H*-pirazolina (1,2 azol), sustituido en la posición 3 y 5 por un grupo 4-metoxifenilo y un derivado del diindolilmetano, respectivamente, Figura 14.

Tabla 8. Resultados de pruebas de inhibición de crecimiento radial para *C. albicans*

COMPUESTO	CONCENTRACIÓN mg/disco	HALO DE INHIBICIÓN (mm)
27	2	8
	4	9
	8	10
	16	11
	32	13
	64	16
MICONAZOL (+)	0.05	31
DMSO (-)	----	----

*Los compuestos nos mostrados no presentaron inhibición a ninguna concentración

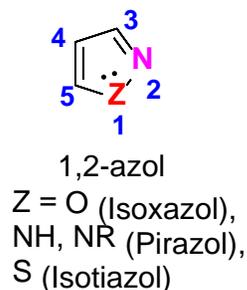
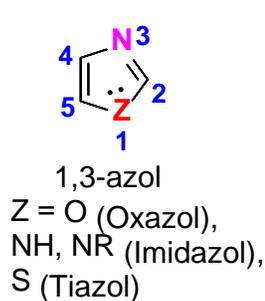


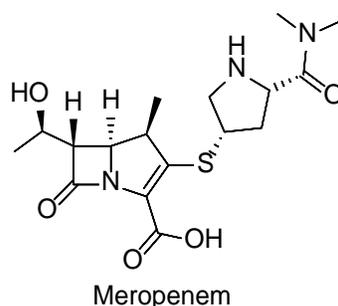
Figura 14 Núcleos de azol

Para el caso de los antifúngicos, la presencia de anillos de 5 miembros en los cuáles el nitrógeno forma parte del ciclo, se consideran grupos farmacóforos, por lo que el análisis anterior nos confirma que la presencia de un grupo azol es el responsable de la actividad antifúngica; además, se puede sugerir un mecanismo de acción del compuesto **27** similar al del miconazol, en donde se conoce que el mecanismo de acción de los azoles sobre los hongos es a través de la inhibición de la síntesis del ergosterol, lo que aumenta la permeabilidad de la membrana y por lo tanto inhibe el crecimiento de ésta.

Comparando la actividad mostrada entre el miconazol y el compuesto **27**, este último fue menos efectivo ya que mostró halos más pequeños que los del control (+) a concentraciones mayores, 64 mg/mL, por lo que se puede considerar al compuesto poco efectivo contra *C. albicans*.

9.3 Pruebas cualitativas para *E. coli*

Por último, se evaluó a *E. coli* utilizando al meropenem, como control (+), observándose un halo de inhibición de 20 mm. El mecanismo de acción del meropenem es a través de la inhibición de la síntesis de la pared celular, produciendo lisis bacteriana, siendo comúnmente bactericida, y actúa atravesando la pared celular.



De los compuestos evaluados contra este microorganismo ninguno presentó actividad, esto puede ser debido a que las bacterias Gram negativas ofrecen mayor resistencia que las Gram positivas a la entrada de antimicrobianos, ya que poseen una membrana celular externa. Esta membrana es una bicapa que, a diferencia de las membranas eucarióticas, desempeña un papel importante de barrera ante la mayoría de los antibióticos, lo que es compatible con nuestros resultados de no actividad en los compuestos sintetizados.

De manera que de los 10 compuestos evaluados contra *S. aureus*, *C. albicans* y *E. coli*, solo 4 de ellos mostraron tener actividad antibacteriana, contra *S. aureus*, **23**, **24**, **25** y **27**, mostrando la mejor actividad los compuestos **23** y **27** con halos de inhibición de 13 mm para ambos, y una menor actividad para **24** y **25** con halos de inhibición de 9 y 11 mm a una concentración de 64 mg/mL respectivamente. El compuesto **27** además de presentar dicha actividad, asimismo presentó actividad antifúngica contra *C. albicans*, mostrando un halo de inhibición de 16 mm a una concentración de 64 mg/mL, siendo el compuesto de mayor interés en la investigación, por otro lado ninguno de los 10 compuestos híbridos presentó actividad con *E. coli*.

Además, se observó el siguiente comportamiento en cuanto a estructura: los compuestos que contenían al 1*H*-indol resultaron más activos en comparación con los otros indoles, siendo el orden de actividad el siguiente: 1*H*-indol>1-metilindol>2-metilindol, analizando a los grupos derivados del

fenilo en la posición 3 enlazado a la 1*H*-pirazolina, mostraron mayor actividad aquellos que contenían al 4-metoxifenilo en comparación con los demás, siendo para este caso el orden de actividad el siguiente: 4-metoxifenilo>4-nitrofenilo>fenilo. Cabe mencionar manera que en el caso de los compuestos que contenían al 2-metilindol ninguno presentó actividad.

Por lo que con lo anterior se puede realizar el siguiente análisis, se ha comprobado que los derivados de diindolilmetano presentan actividad antimicrobiana, actividad ya reportada en la literatura. Por otro lado, es conocido que los derivados de pirazol, son compuestos que comprenden diversas actividades biológicas como, antibacteriano, antifúngico, anticanceroso, citotóxico, antidepresivo, etc.

10 Conclusiones

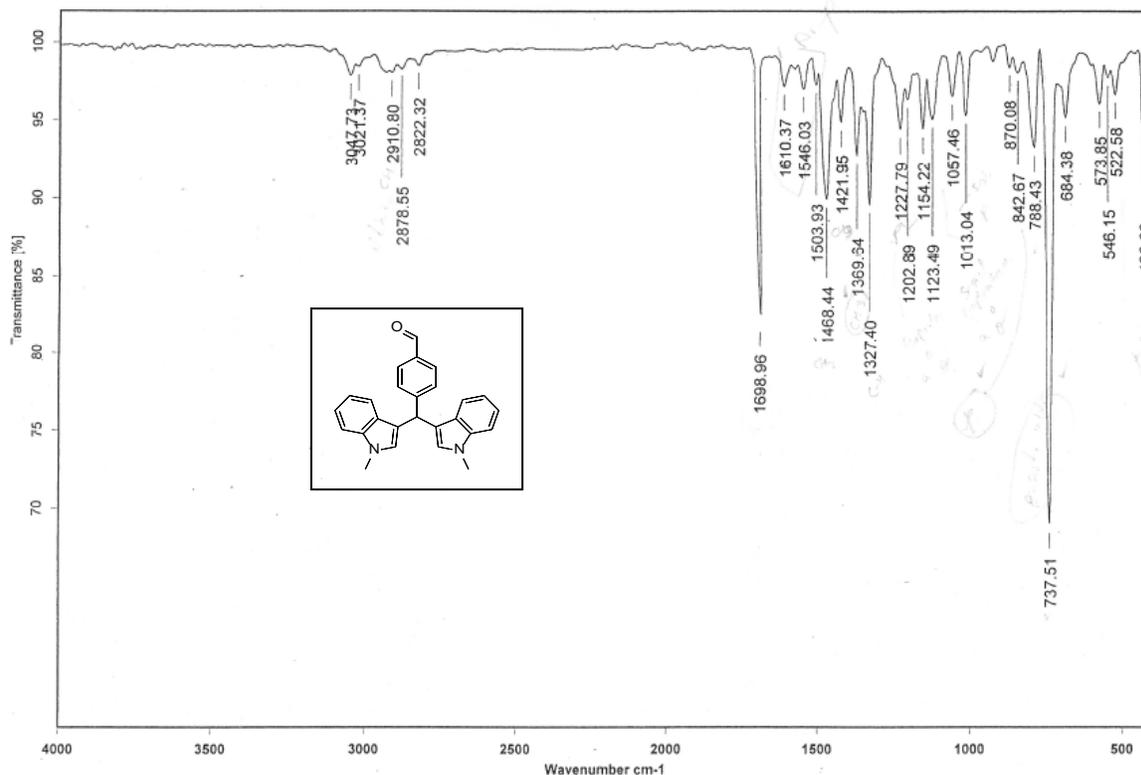
- Se logró sintetizar una serie de 10 novedosos híbridos pirazolina-diindolilmetano con buenos rendimientos, a partir de compuestos híbridos chalcona-diindolilmetano, previamente obtenidas a partir de 4-formildiindolimetanos.
- Todos los compuestos sintetizados fueron caracterizados estructural e inequívocamente mediante las técnicas espectroscópicas y espectrométricas convencionales empleadas.
- Mediante pruebas de inhibición de crecimiento radial, cualitativas, se logró determinar la sensibilidad que presentaron las diferentes cepas utilizadas, *C. albicans* y *S. aureus* a los compuestos híbridos sintetizados, mostrando qué compuestos resultaron activos a dichos microorganismos.
- Al realizar las modificaciones moleculares a través de la hibridación de dos compuestos que presenta actividad biológica ya reportada en la literatura, se logró observar para el caso del compuesto **27**, un aumento en la actividad, y que resultó ser un compuesto de amplio espectro, aunque no comparables con los antibióticos de referencia.
- De la evaluación de la actividad biológica, se obtuvieron resultados satisfactorios con 4 compuestos **23**, **24**, **25** y **27** contra *S. aureus*, donde el último también presentó actividad contra *C. albicans*, siendo **23** y **27** los compuestos que mostraron mayor actividad, aunque menor efectividad que los antibióticos de referencia.
- Para que se pueda considerar **27** como una alternativa de tratamiento para combatir afecciones producidas por *C. albicans* y *S. aureus*, se debe complementar este estudio con pruebas de citotoxicidad y hacer la reproducción de este trabajo contra cepas clínicas de la bacteria y levadura.

11 PROSPECTIVAS

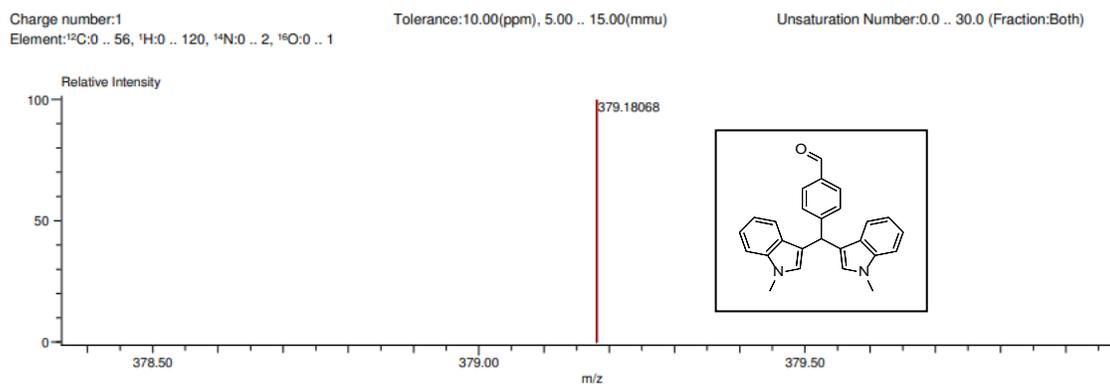
- Se propone utilizar otro tipo de chalconas e indoles como precursores para producir nuevos híbridos chalcona-diindolilmetano, además de llevar a cabo la reacción de ciclación utilizando derivados de hidrazina, para la obtención de una diversidad estructural y, por ende, diversidad funcional.
- En cuanto a actividad biológica, se sugiere que en un futuro próximo se evalúe la acción de los compuestos sintetizados contra otro tipo de microorganismos, además de utilizar cepas clínicas, así como contra células de tipo canceroso.
- Con estos resultados se puede encaminar una línea de investigación para los compuestos híbridos que resultaron activos, al esclarecimiento de su mecanismo de acción y, en general, de otros procesos farmacológicos a evaluar.

12 Anexo espectroscópico

Esta sección contiene los espectros de los compuestos de la serie del 1-metilindol, ya que estos resultaron los productos de mayor interés y se muestran de manera representativa a continuación.

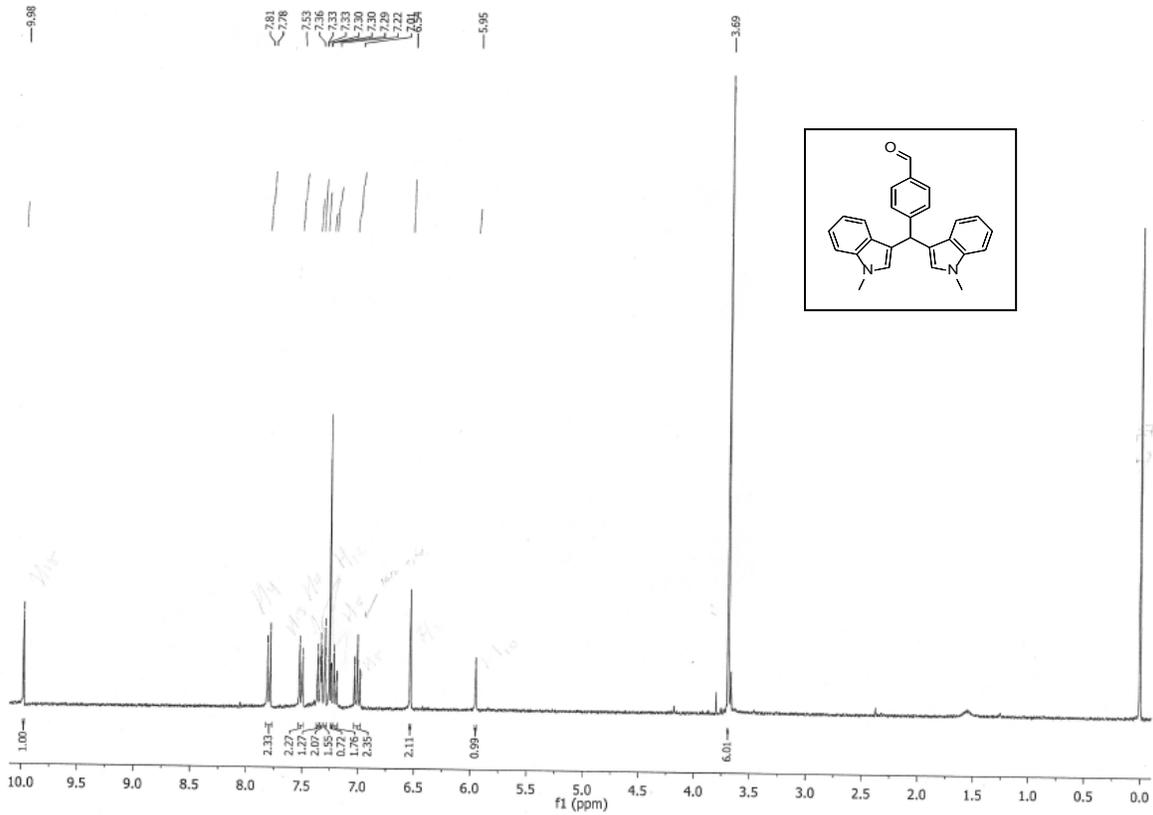


12.1 Espectro de infrarrojo, ATR, Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(4-formilfenil)metano

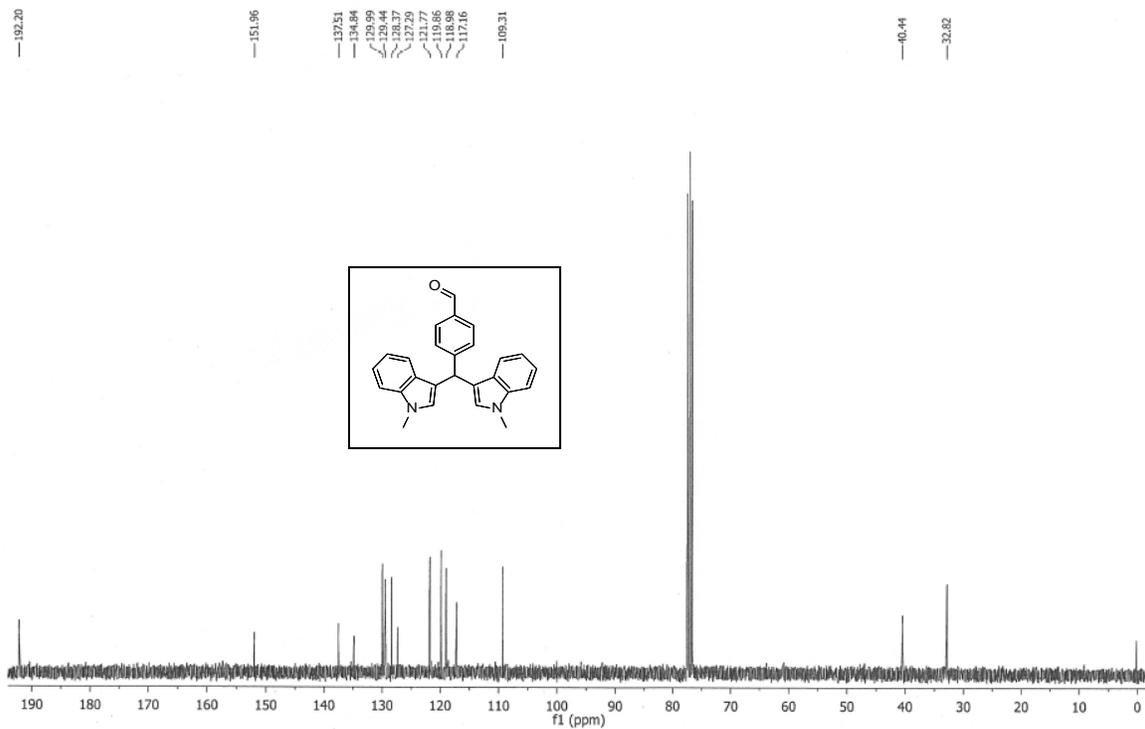


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
379.18068	13748.00	379.18104	-0.36	-0.95	¹² C ₂₆ ¹ H ₂₃ ¹⁴ N ₂ ¹⁶ O ₁	16.5

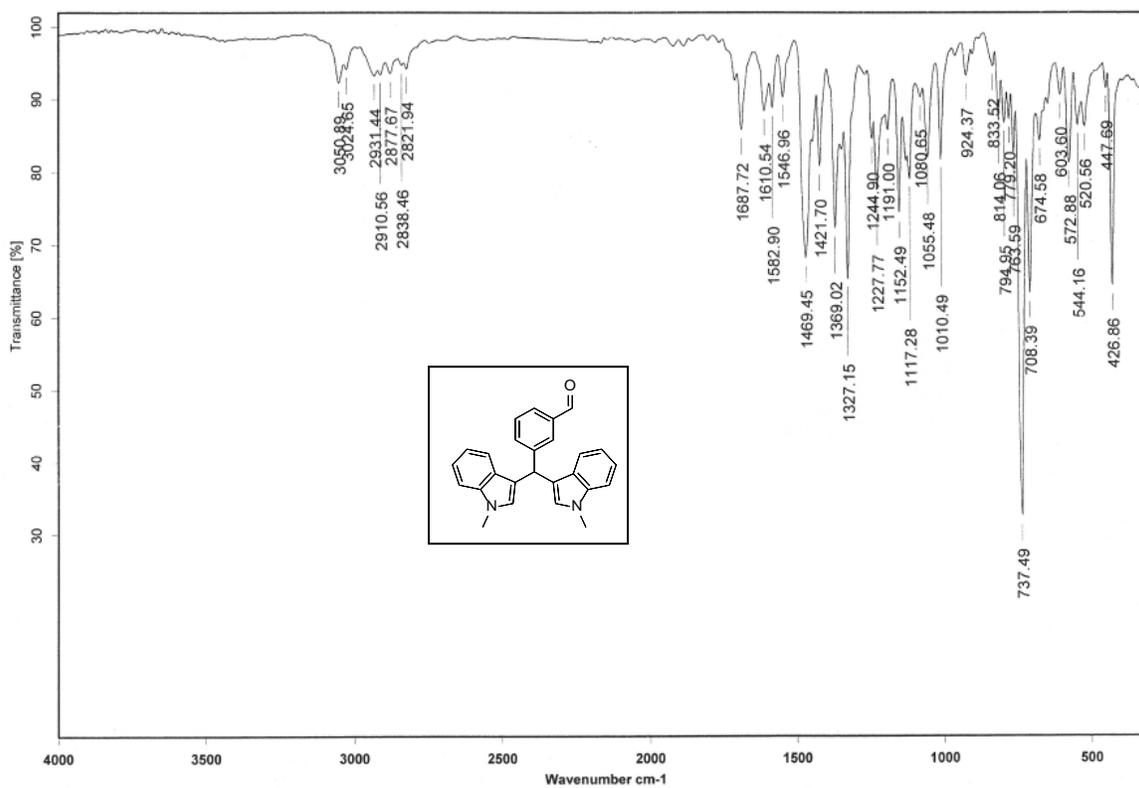
12.2 Espectro de masas, alta resolución, DART, Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(4-formilfenil)metano



12.3 Espectro de ^1H RMN (300 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS), Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(4-formilfenil)metano

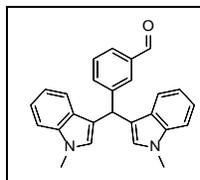


12.4 Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS), Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(4-formilfenil)metano



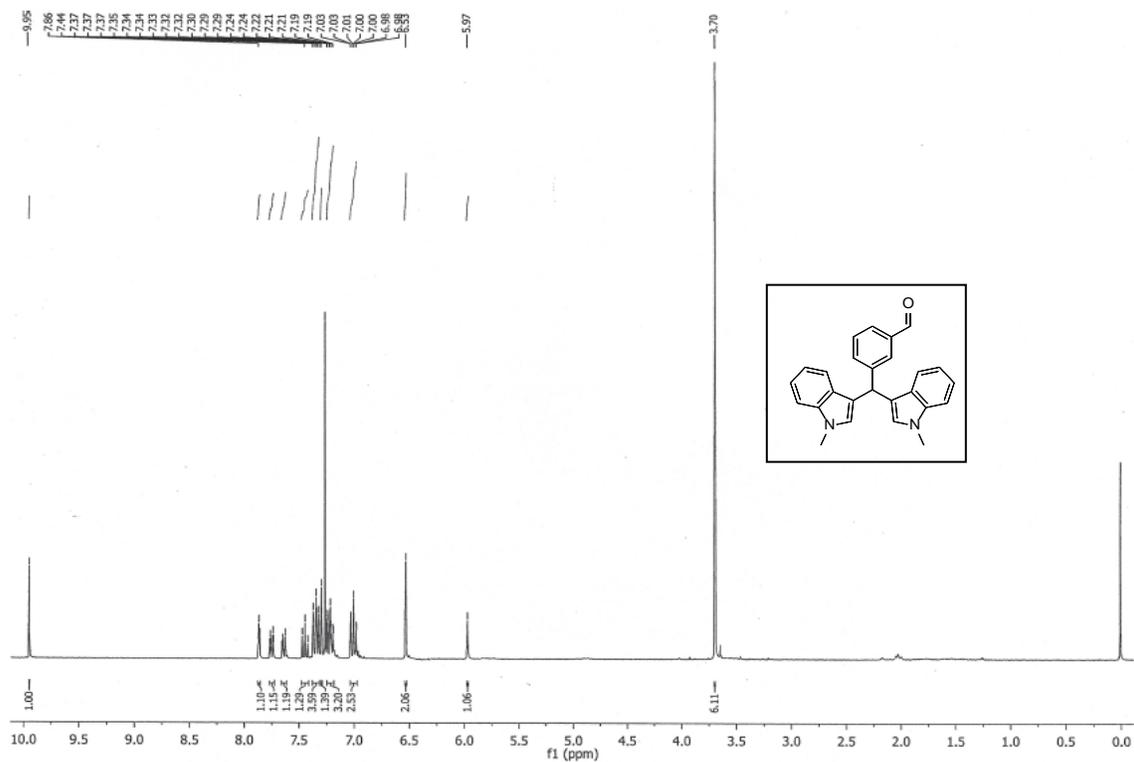
12.5 Espectro de infrarrojo, ATR, Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(3-formilfenil)metano

Inlet : Direct Ion Mode : FAB+
 RT : 0.00 min Scan# : (1,4)
 Elements : C 30/0, H 49/0, N 3/0, O 2/0
 Mass Tolerance : 1000ppm, 1mmu if m/z > 1
 Unsaturation (U.S.) : -0.5 - 23.0

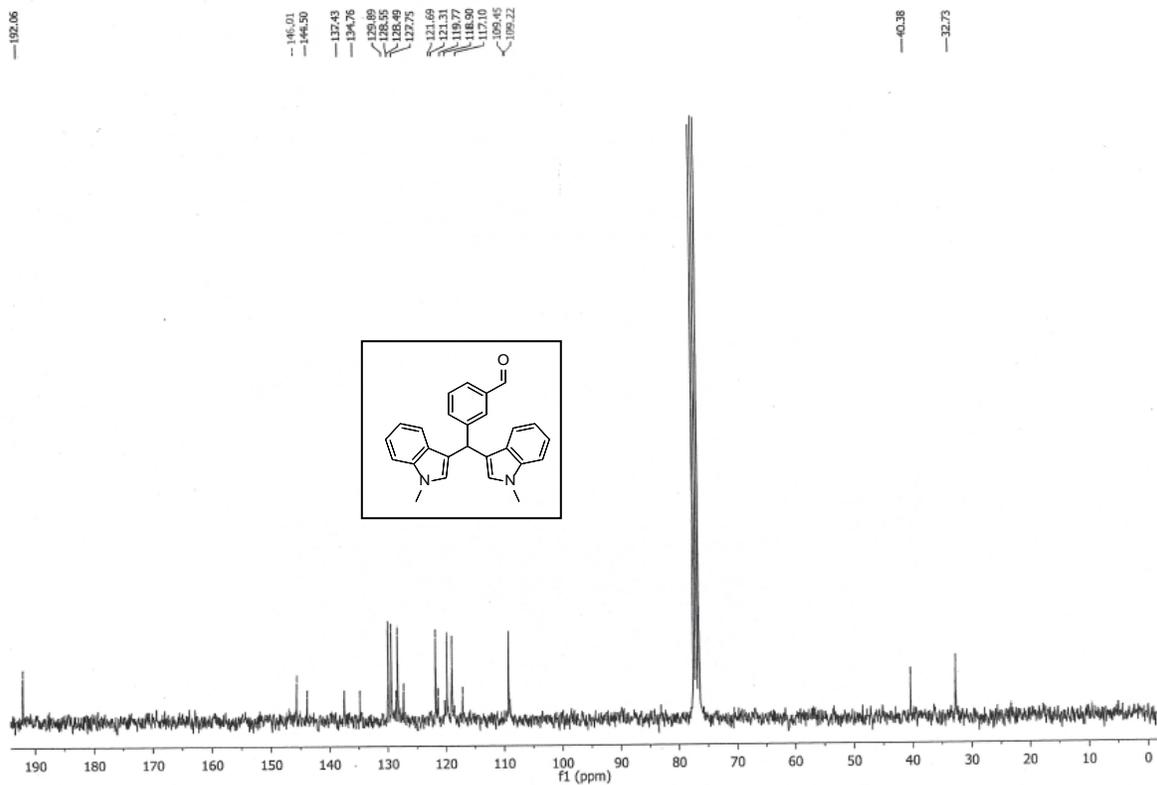


Observed m/z	Int%	Estimated m/z	Err [ppm / mmu]	U.S.	C	H	N	O
378.1729	43.23	378.1732	-0.8 / -0.3	17.0	26	22	2	1

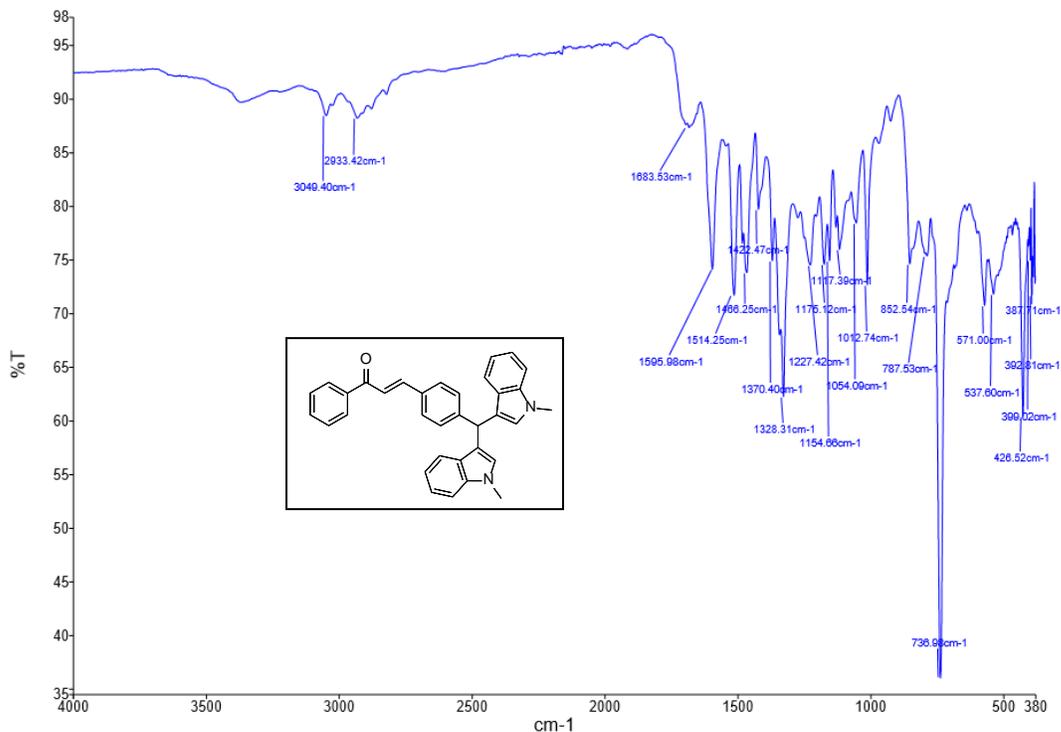
12.6 Análisis elemental (FAB⁺), Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(3-formilfenil)metano



12.7 Espectro de ^1H RMN (300 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS), Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(3-formilfenil)metano

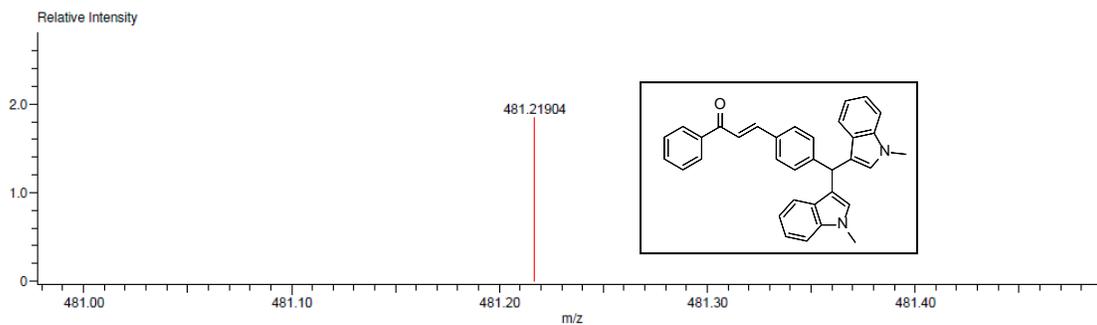


12.8 Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm CDCl_3 , ref TMS), Bis(1-Metil-1H-indol-3-il)(3-formilfenil)metano



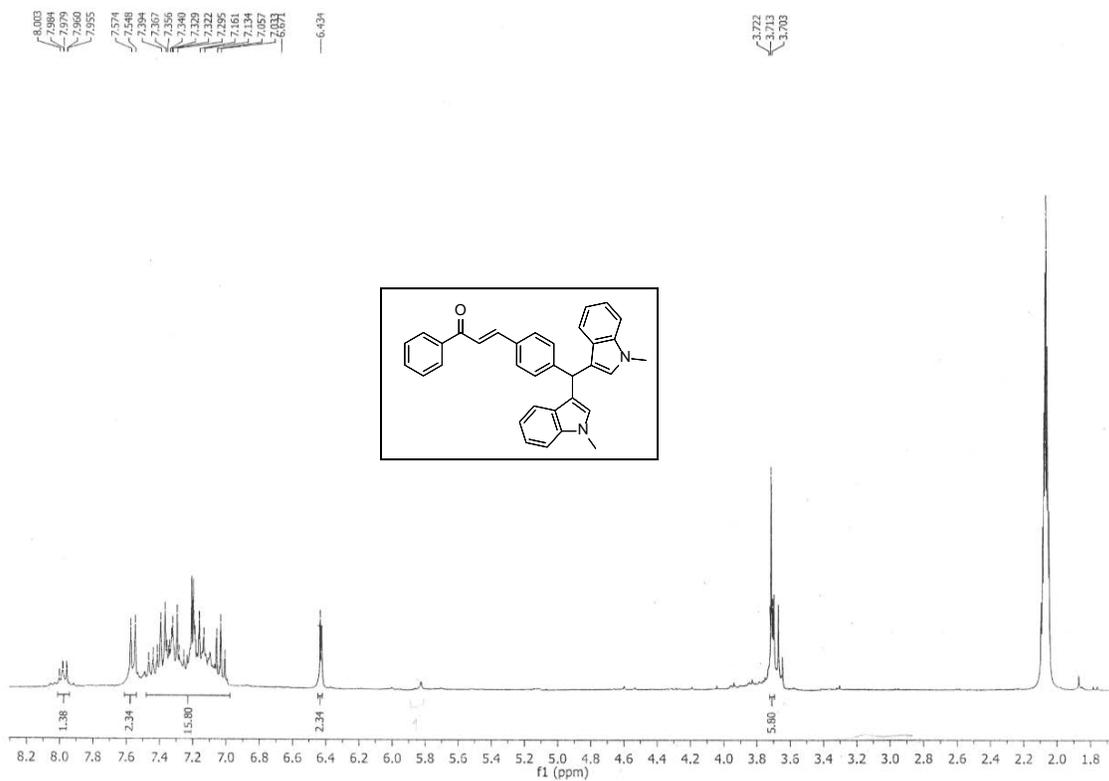
12.9 Espectro de infrarrojo, ATR, 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona

Charge number:1 Tolerance:3.00(mmu) Unsaturation Number:0.0 .. 32.0 (Fraction:Both)
 Element:¹²C:0 .. 100, ¹H:0 .. 100, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:0 .. 3

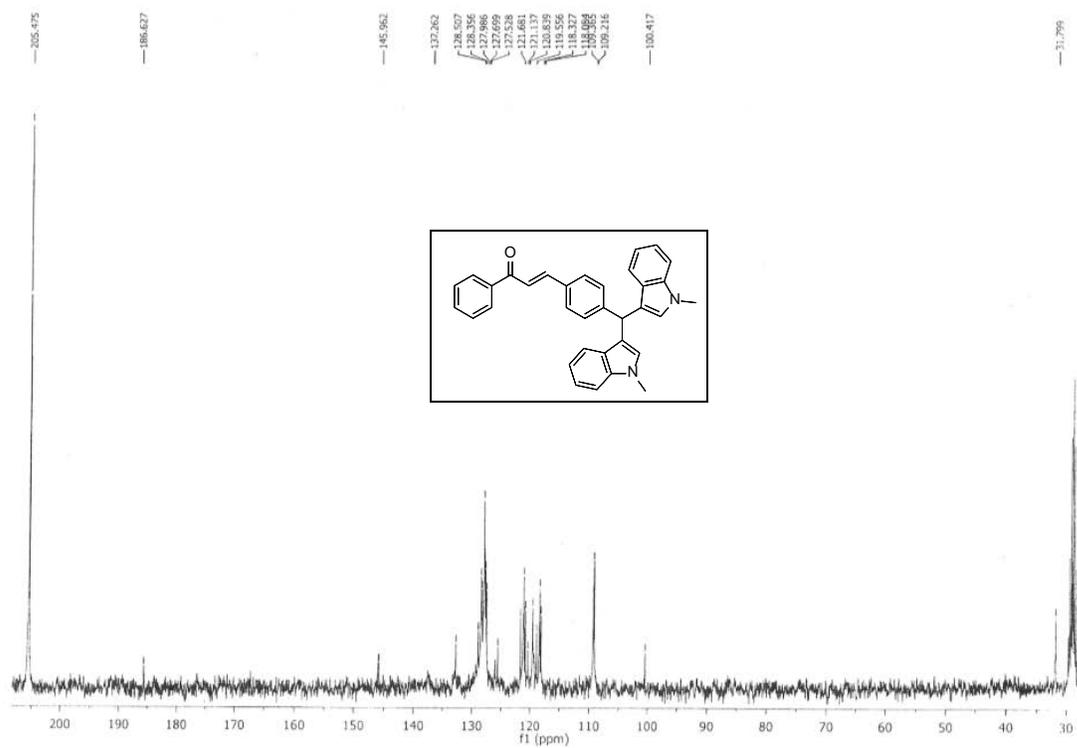


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
481.21904	2134.88	481.22016	-1.12	2.32	¹² C ₃₄ ¹ H ₂₉ ¹⁴ N ₂ ¹⁶ O ₁	21.5

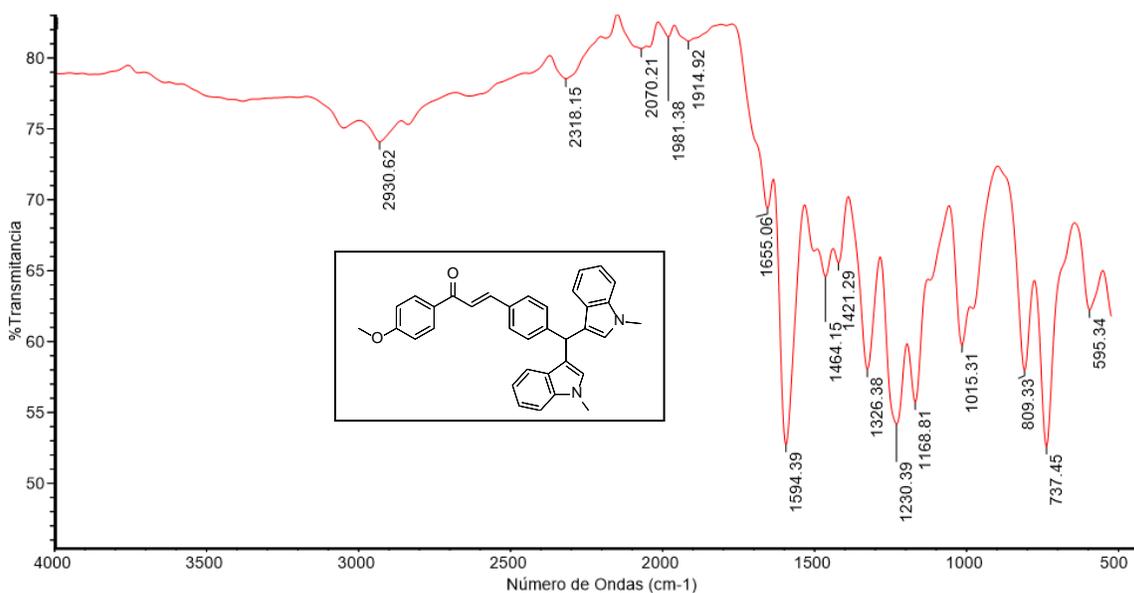
12.10 Espectro de masas, alta resolución, DART, 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona



12.11 Espectro de ^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6), 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona

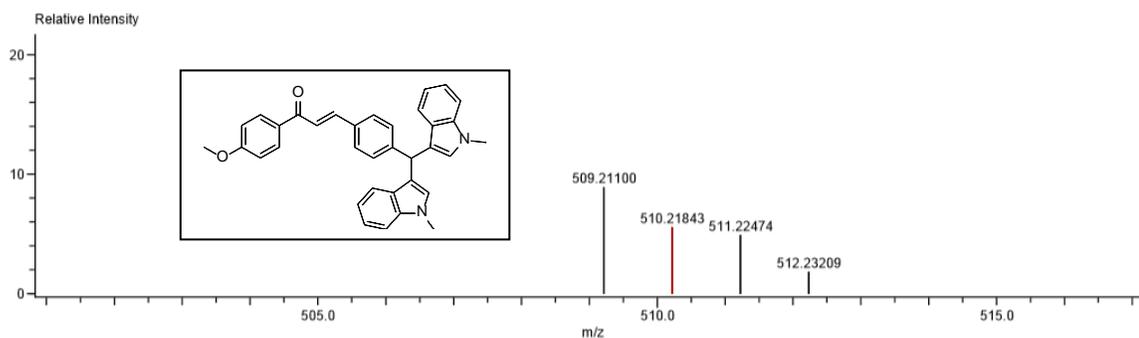


12.12 Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6), 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona



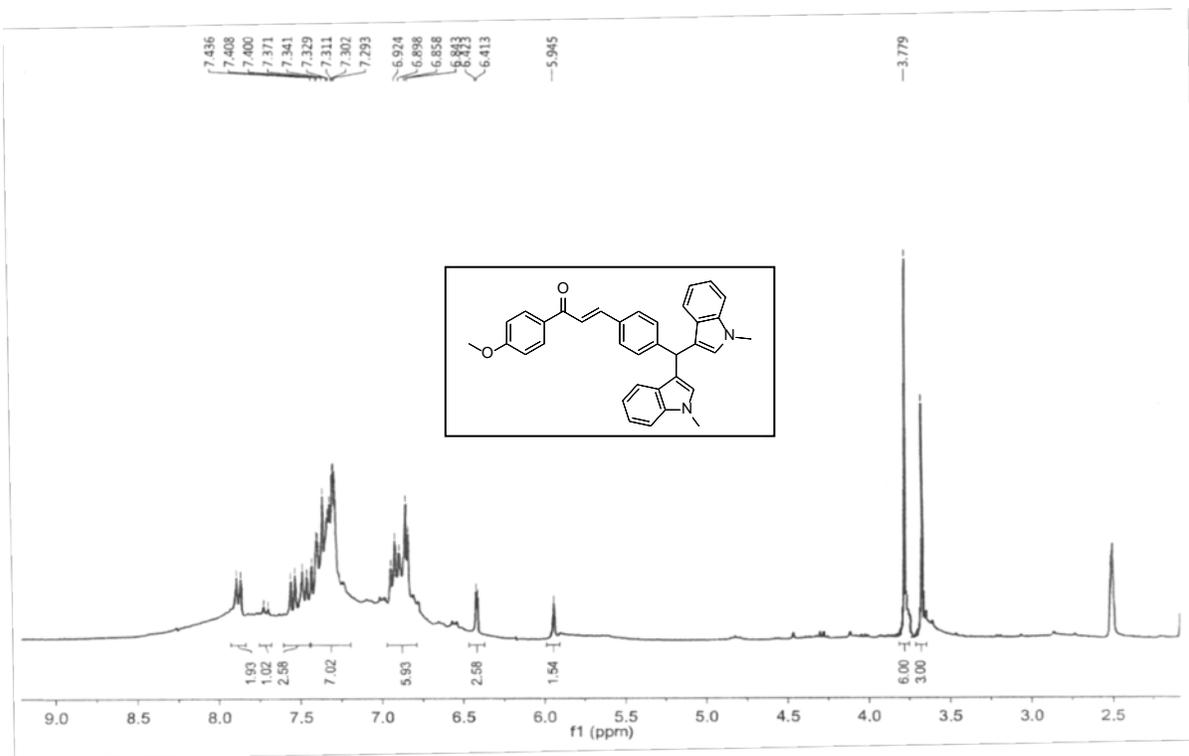
12.13 Espectro de infrarrojo, ATR, 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona

Charge number:1 Tolerance:3.00(mmu) Unsaturation Number:0.0 .. 100.0 (Fraction:Both)
 Element:¹²C:0 .. 40, ¹H:0 .. 50, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:0 .. 3

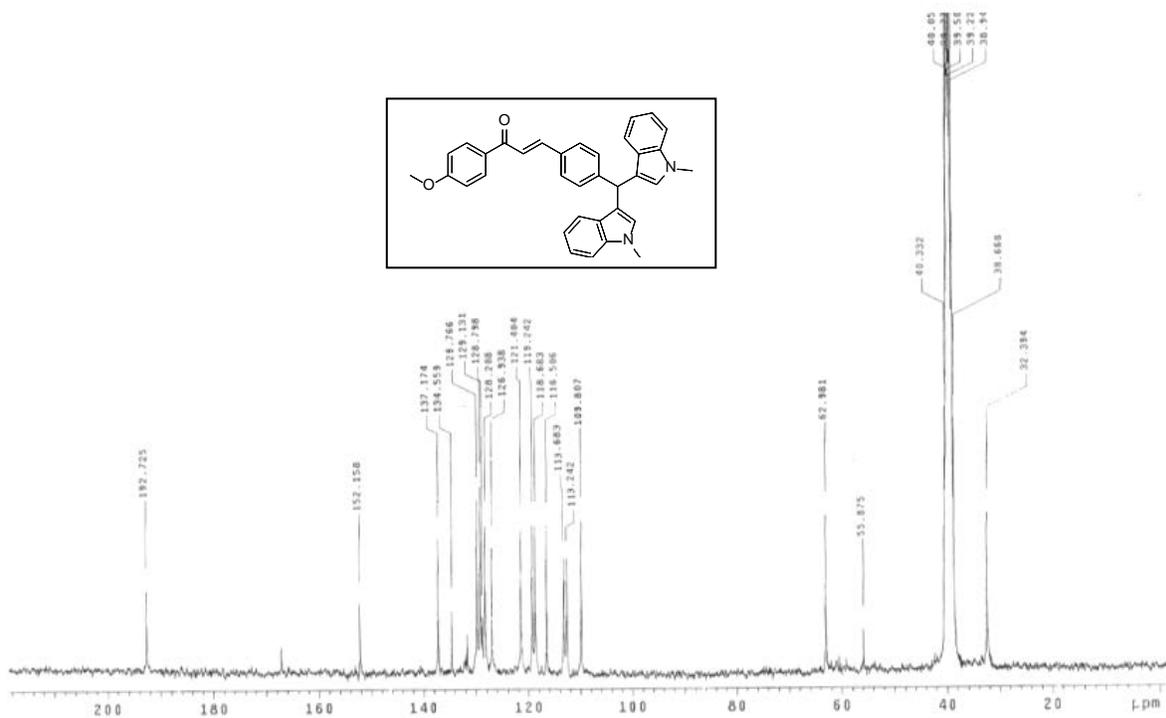


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
510.21843	31984.92	510.21815	0.28	0.54	¹² C ₃₅ ¹ H ₃₉ ¹⁴ N ₂ ¹⁶ O ₂	22.5

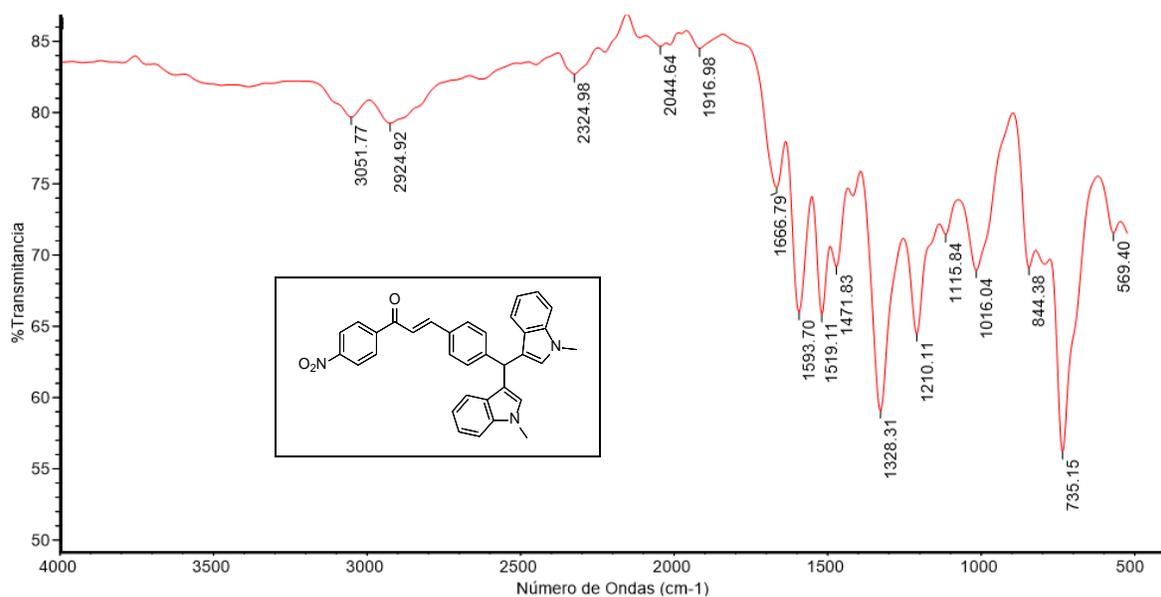
12.14 Espectro de masas, alta resolución, DART, 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona



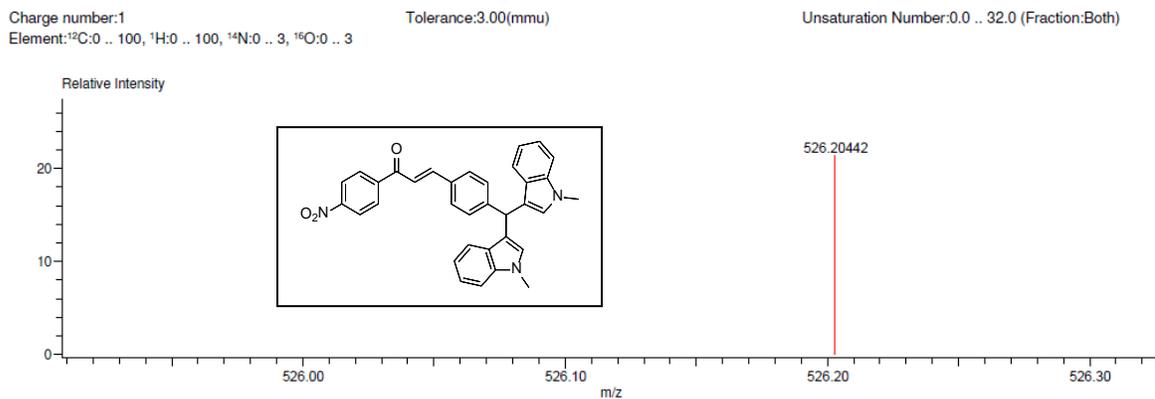
12.15 Espectro de ^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6), 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona



12.16 Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6), 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2E-en-1-ona

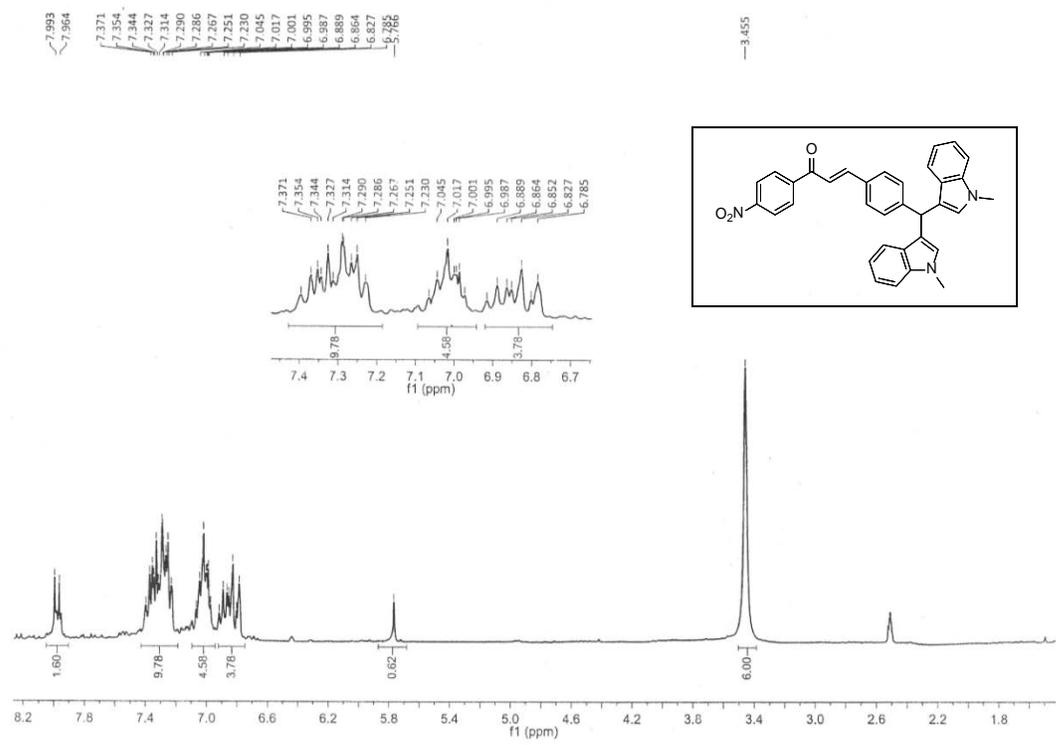


12.17 Espectro de infrarrojo, ATR, 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2E-en-1-ona

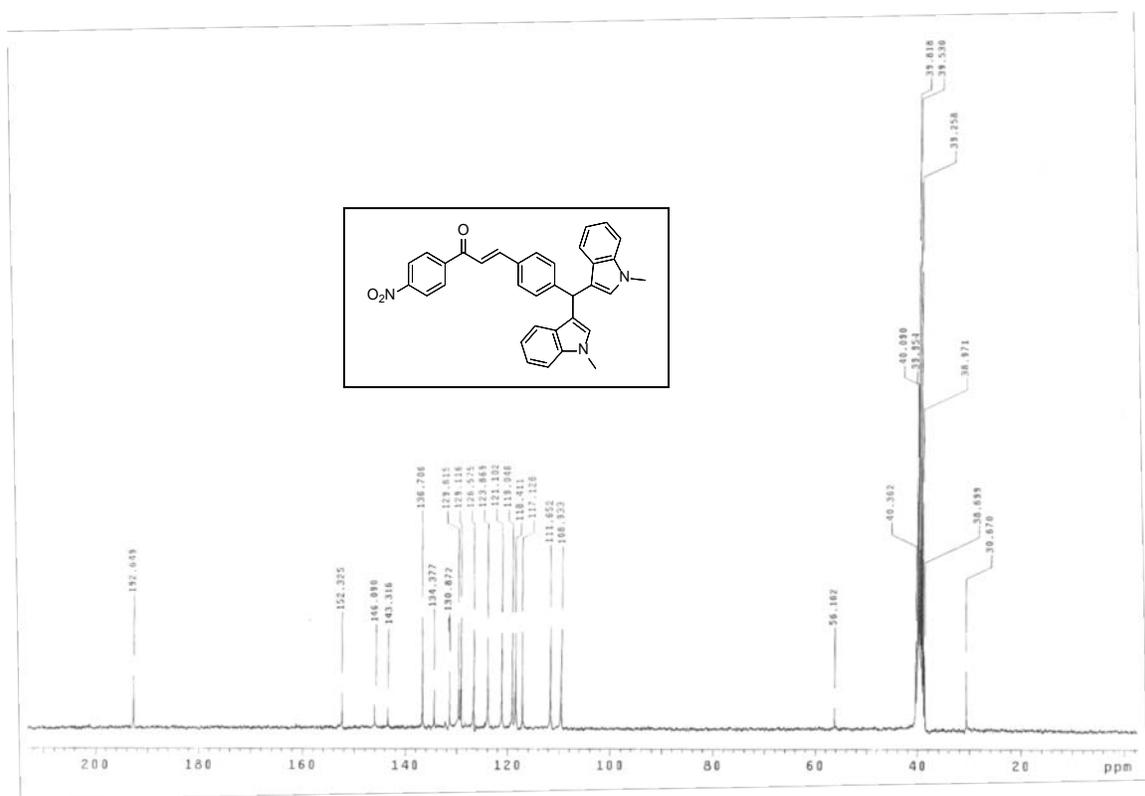


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
526.20442	6693.89	526.20524	-0.82	1.55	¹² C ₃₄ ¹ H ₂₈ ¹⁴ N ₃ ¹⁶ O ₃	21.5

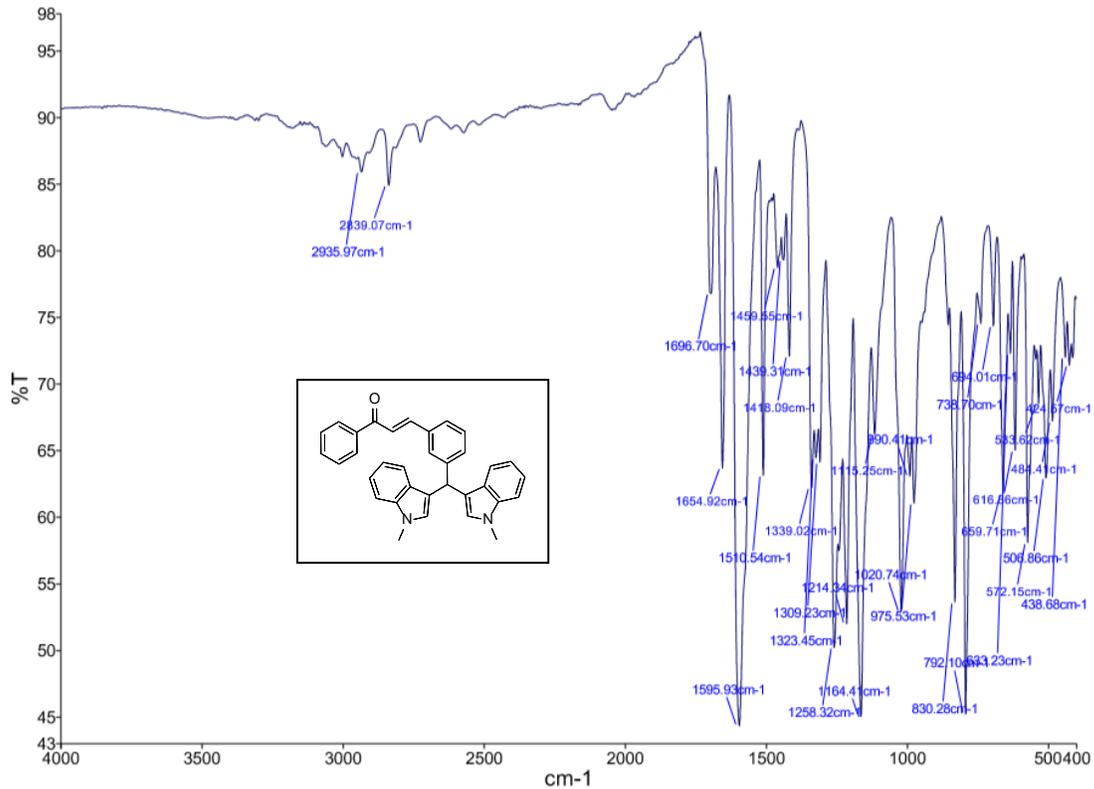
12.18 Espectro de masas, alta resolución, DART, 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2E-en-1-ona



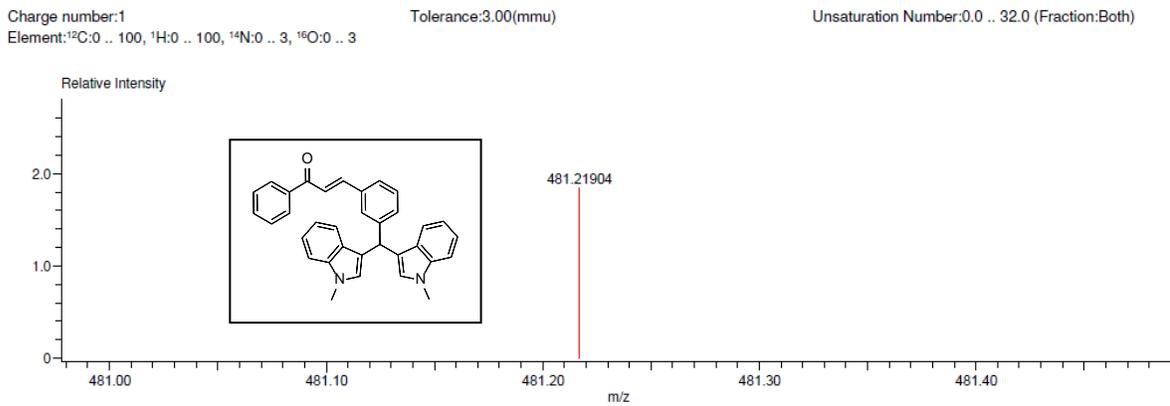
12.19 Espectro de ¹H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona-d₆), 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2E-en-1-ona



12.20 Espectro de ¹³C RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona-d₆), 3-(4-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2E-en-1-ona

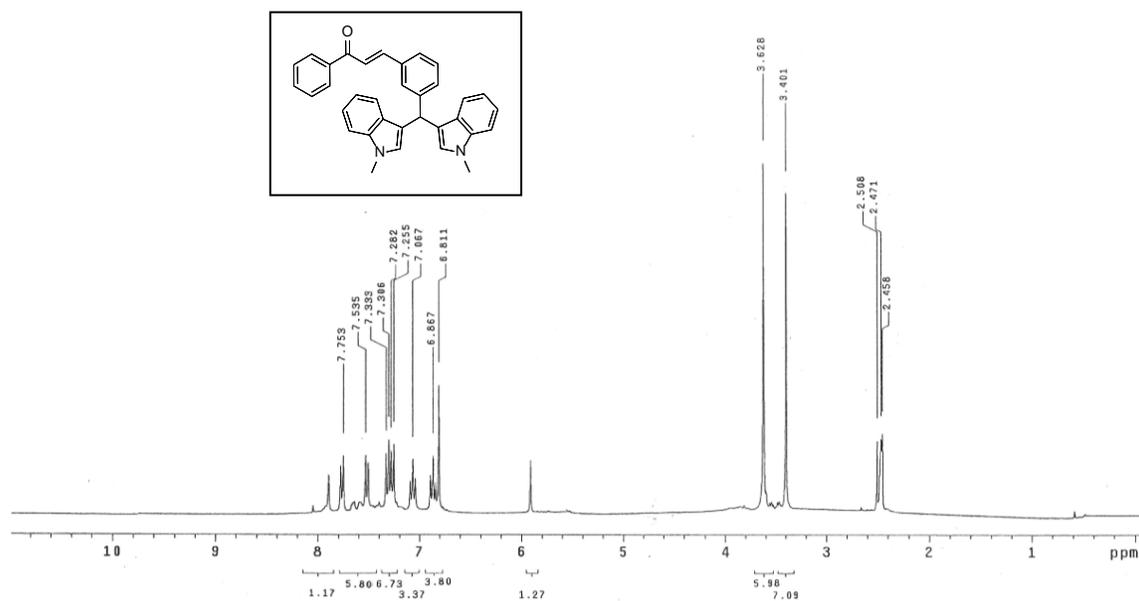


12.21 Espectro de infrarrojo, ATR, 3-(3-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona

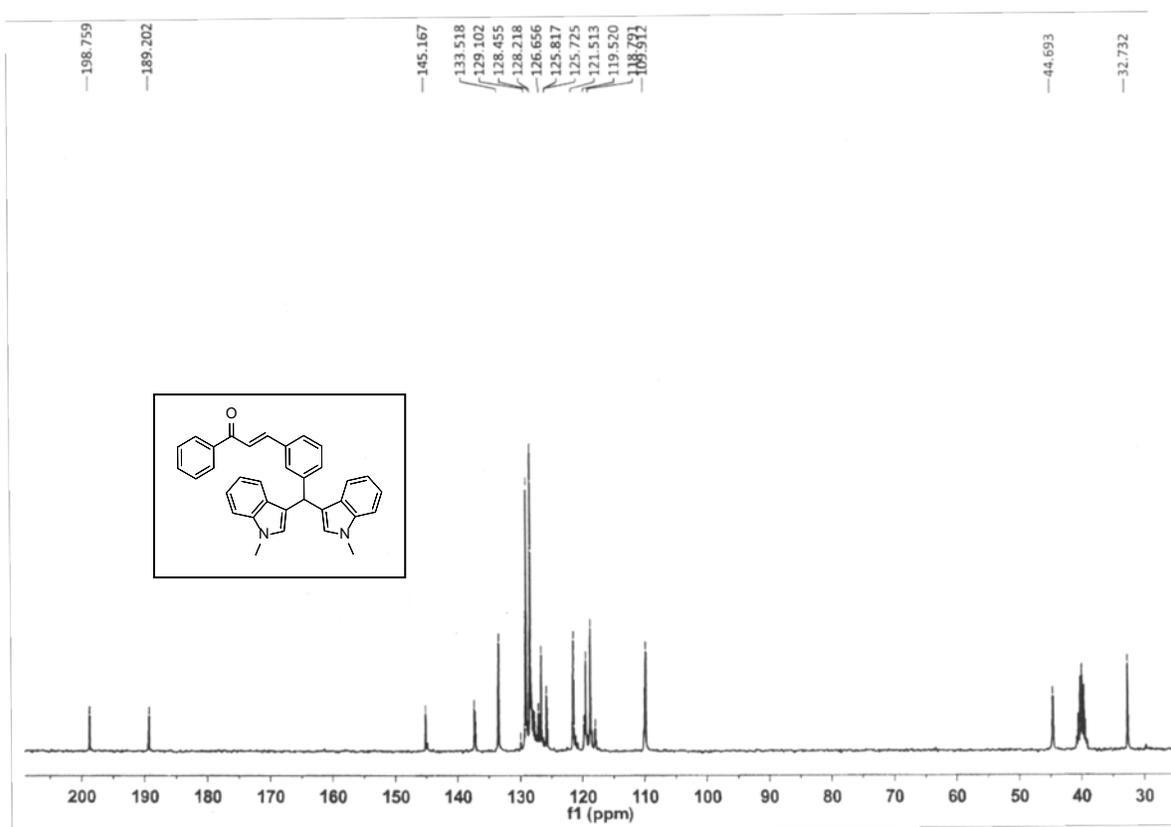


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
481.21904	2134.88	481.22016	-1.12	2.32	¹² C ₃₄ ¹ H ₂₉ ¹⁴ N ₂ ¹⁶ O ₁	21.5

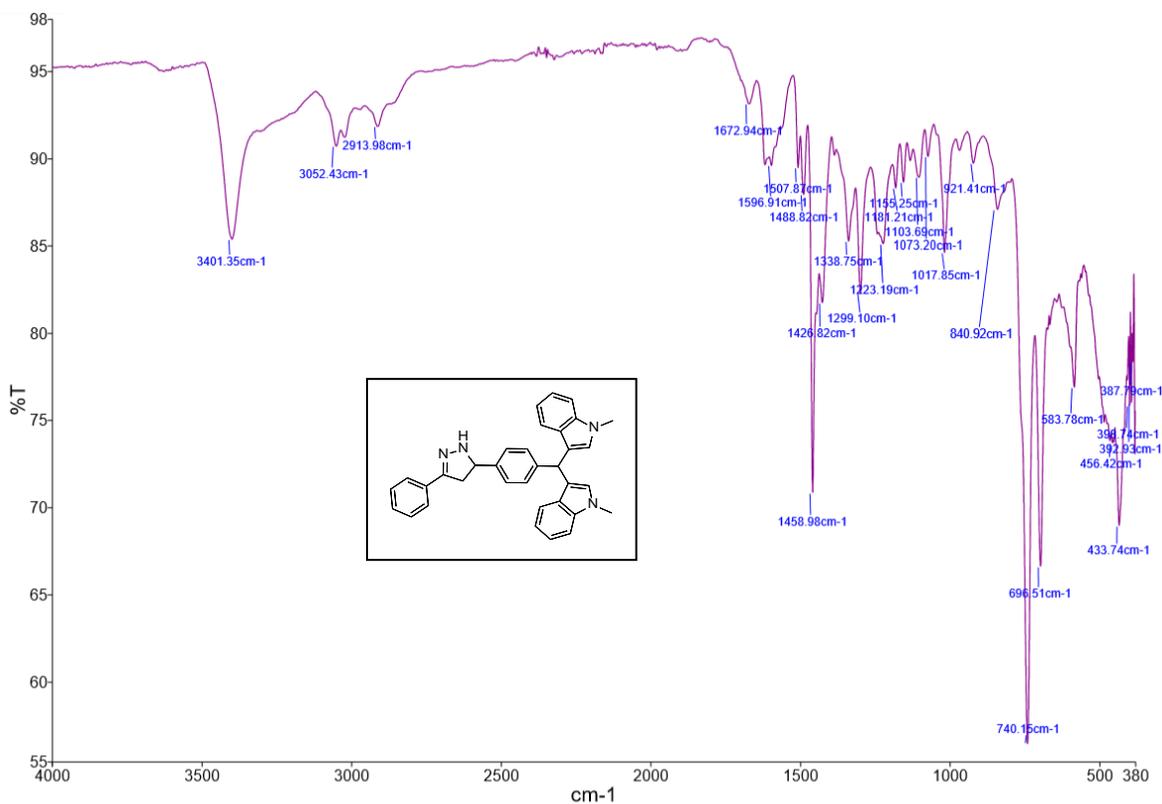
12.22 Espectro de masas, alta resolución, DART, 3-(3-(Bis(1-metil-1H-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2E-en-1-ona



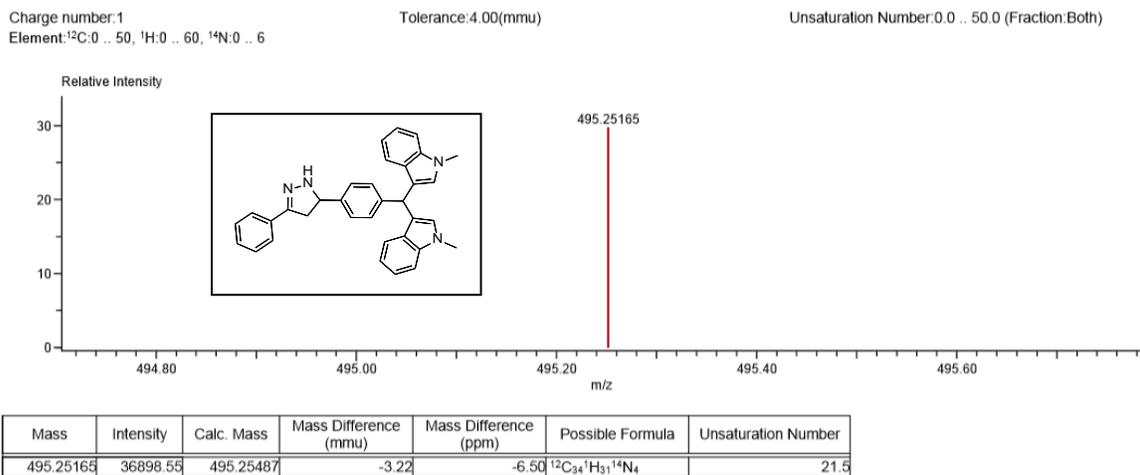
12.23 Espectro de ¹H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona-*d*₆), 3-(3-(Bis(1-metil-1*H*-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2*E*-en-1-ona



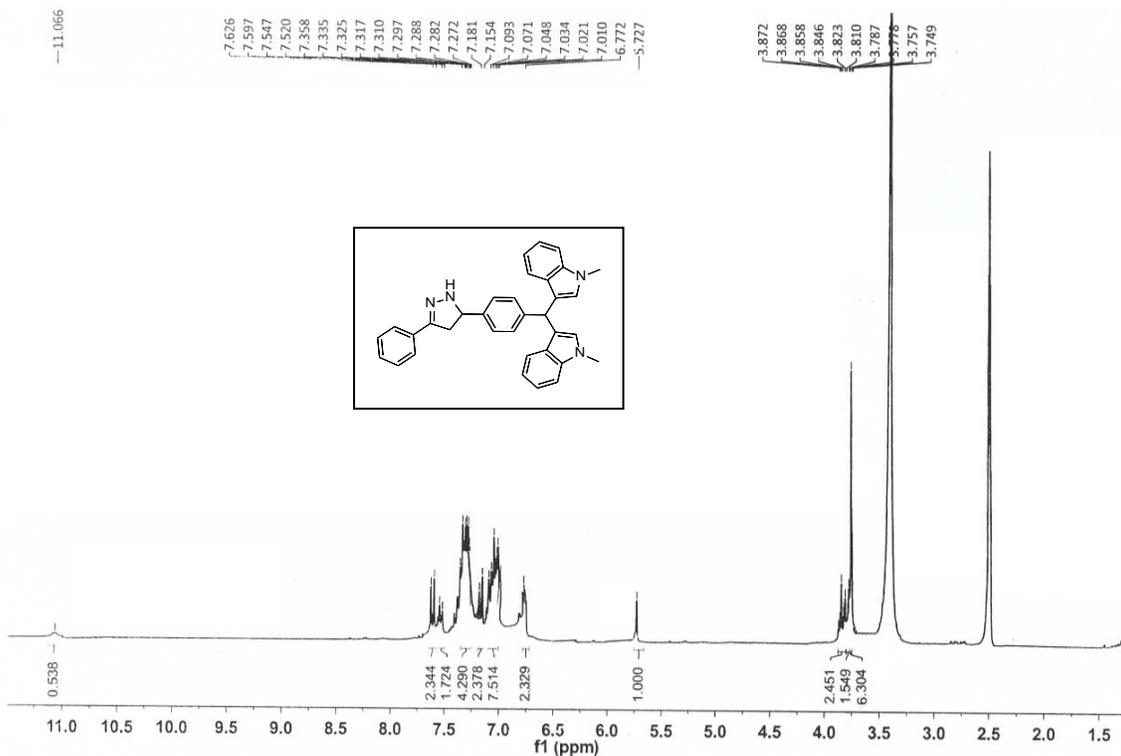
12.24 Espectro de ¹³C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona-*d*₆), 3-(3-(Bis(1-metil-1*H*-indol-3-il)metil)fenil)-1-fenilprop-2*E*-en-1-ona



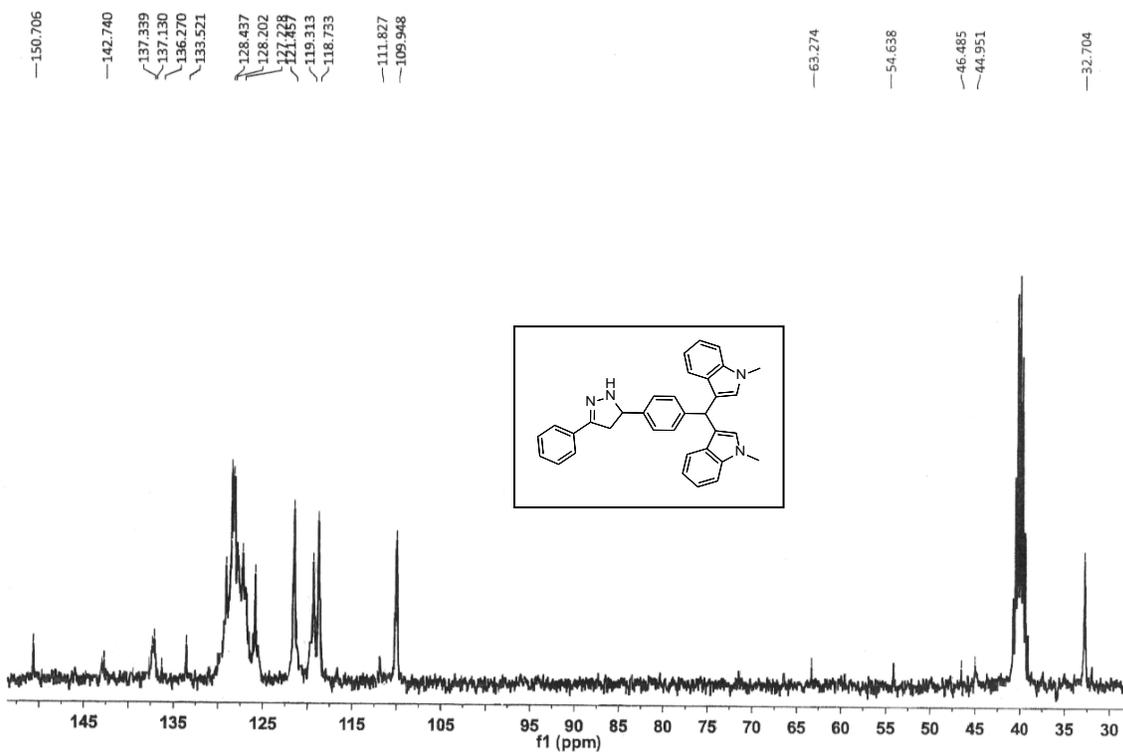
12.25 Espectro de infrarrojo, ATR, 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol



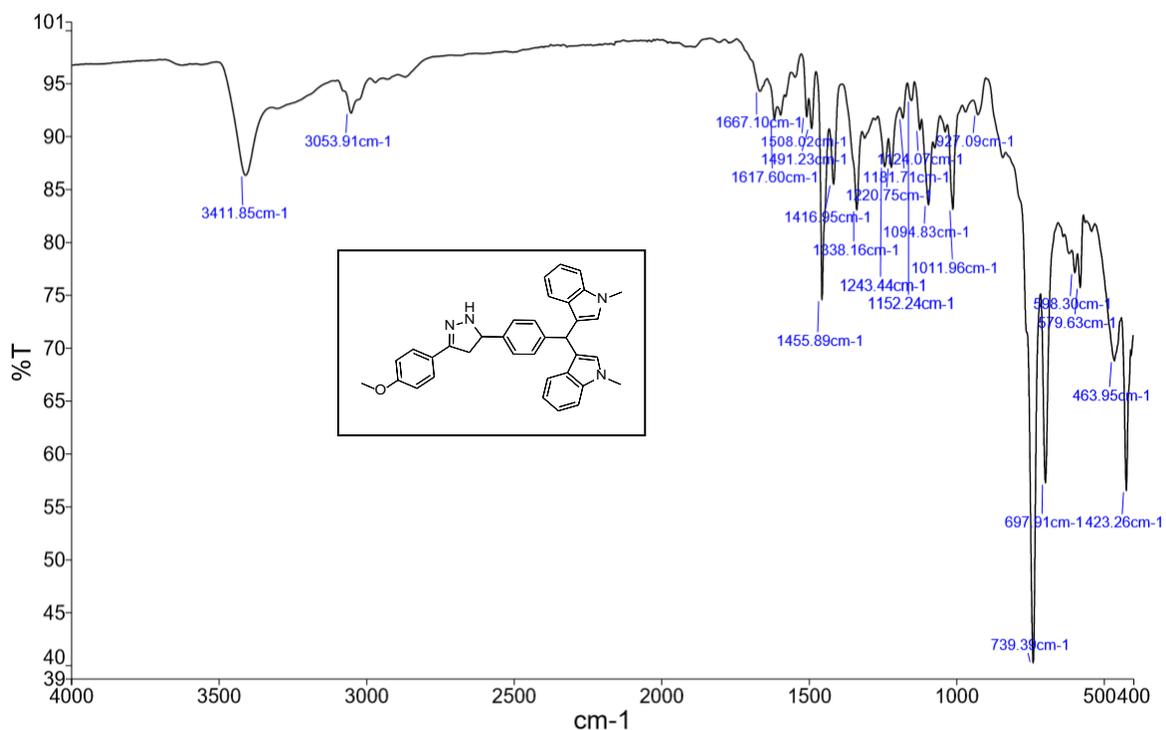
12.26 Espectro de masas, alta resolución, DART, 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol



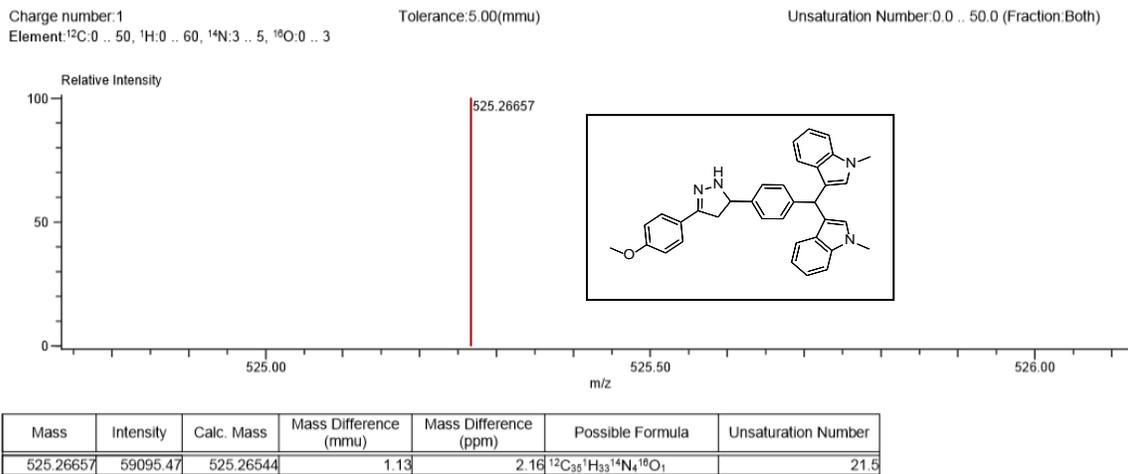
12.27 Espectro de ¹H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona-d₆), 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol



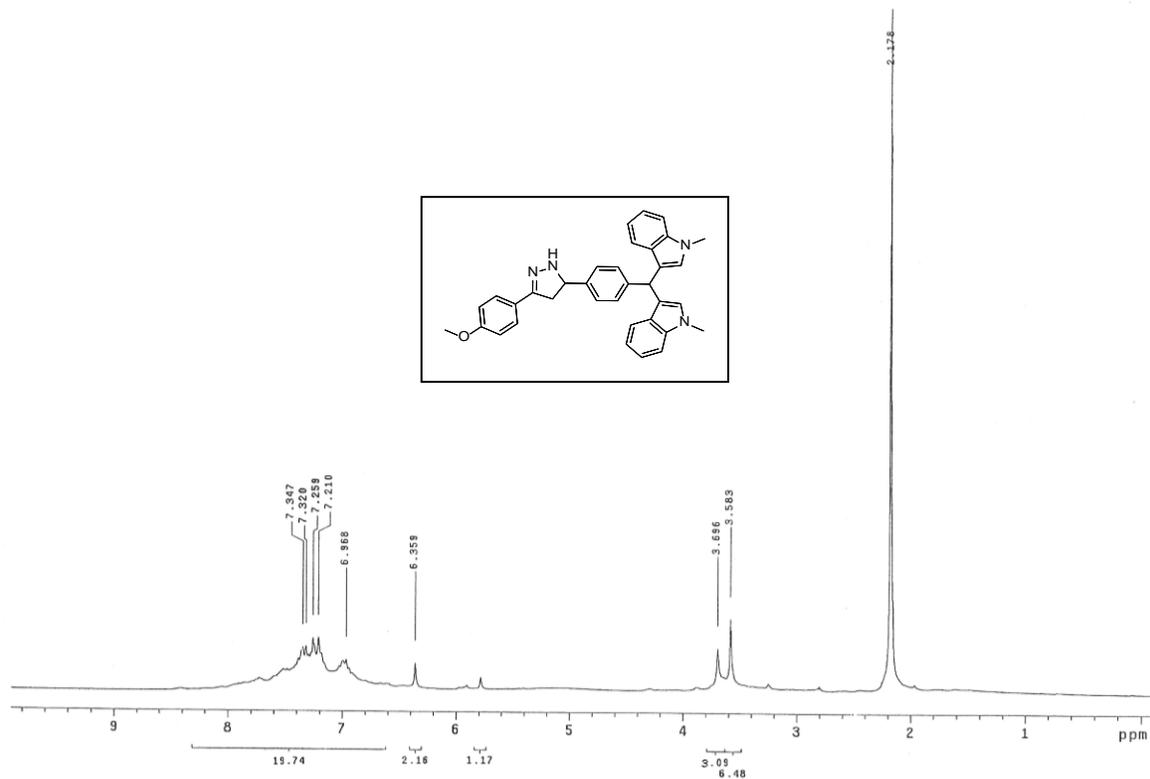
12.28 Espectro de ¹³C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona-d₆), 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol



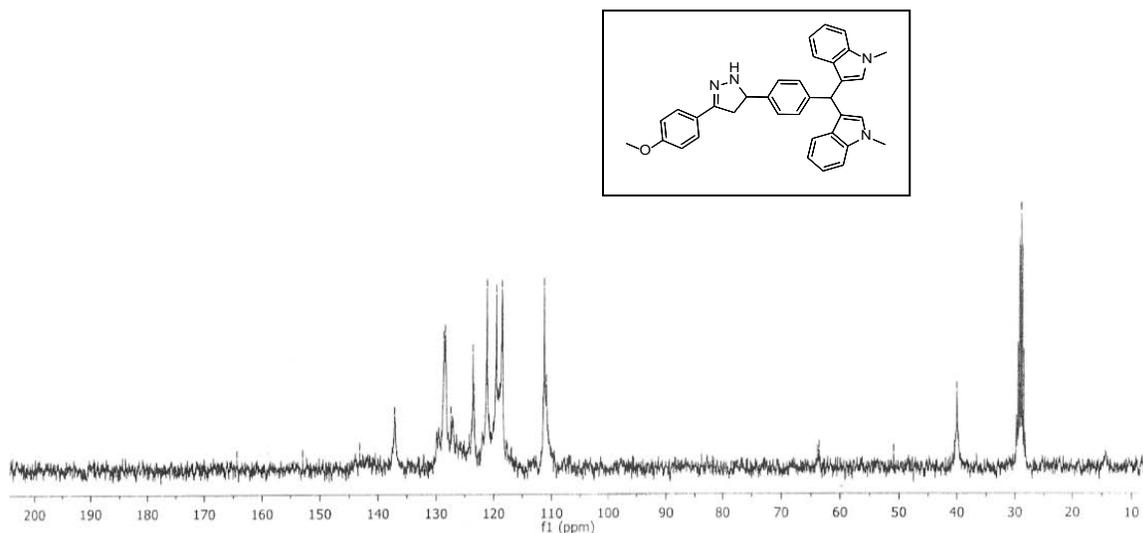
12.29 Espectro de infrarrojo, ATR, 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol



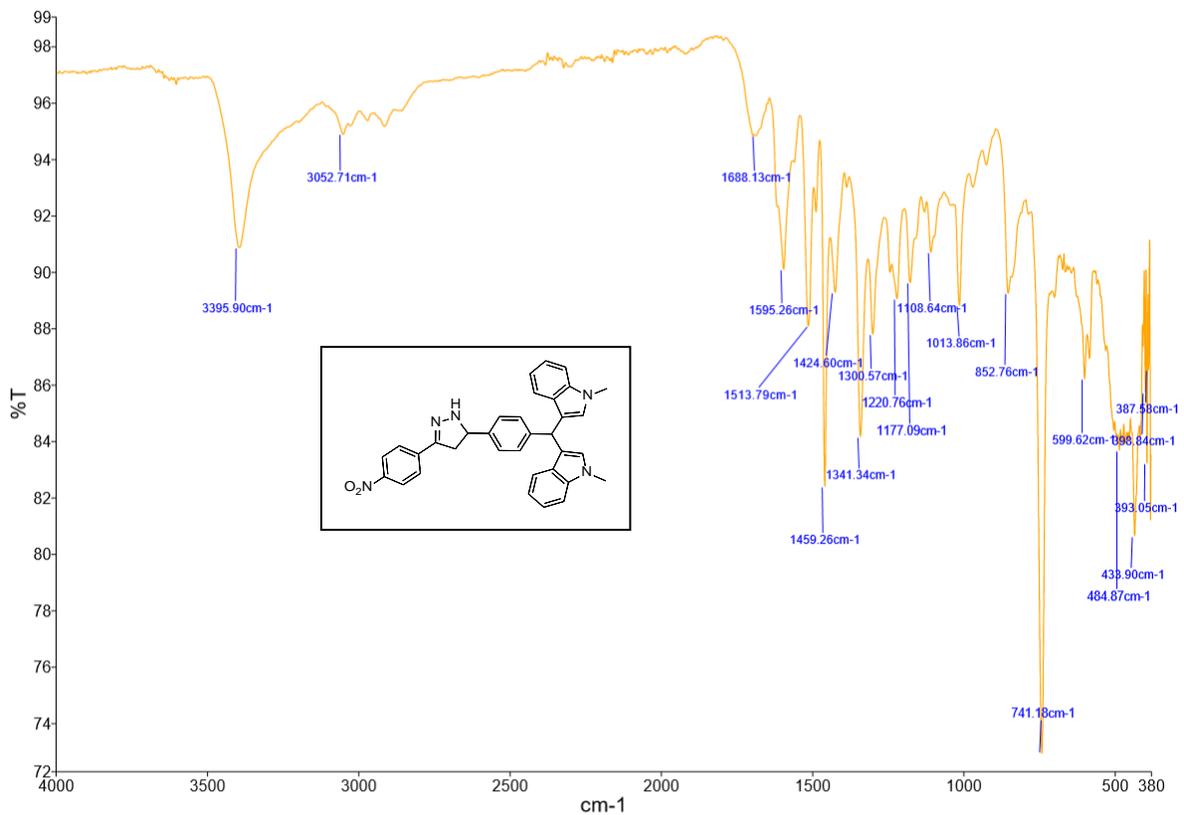
12.30 Espectro de masas, alta resolución, DART, 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol



12.31 Espectro de ¹H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona-d₆), 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol



12.32 Espectro de ¹³C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona-d₆), 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-metoxifenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol

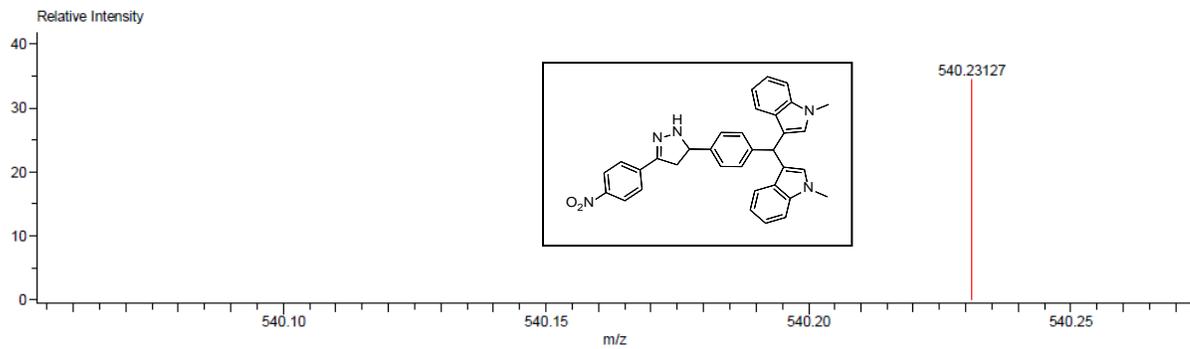


12.33 Espectro de infrarrojo, ATR, 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol

Charge number:1
Element:¹²C:0 .. 50, ¹H:0 .. 100, ¹⁴N:0 .. 3, ¹⁶O:0 .. 4

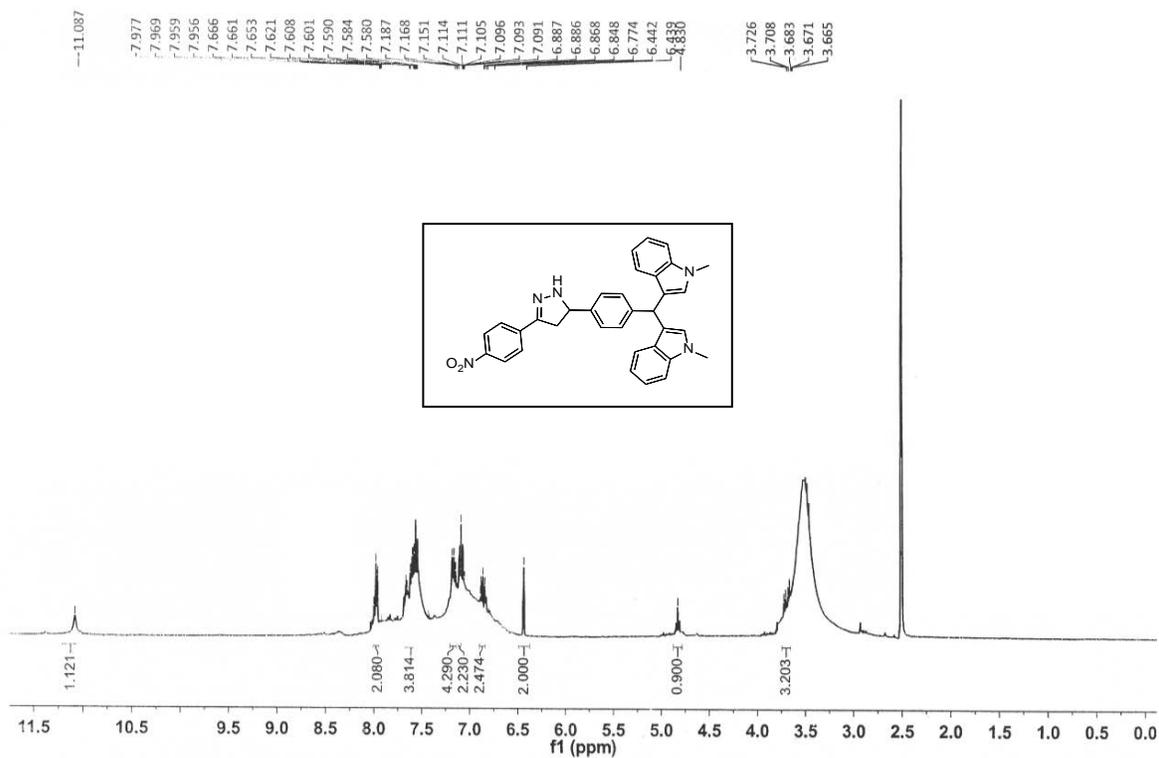
Tolerance:3.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 32.0 (Fraction:.5)

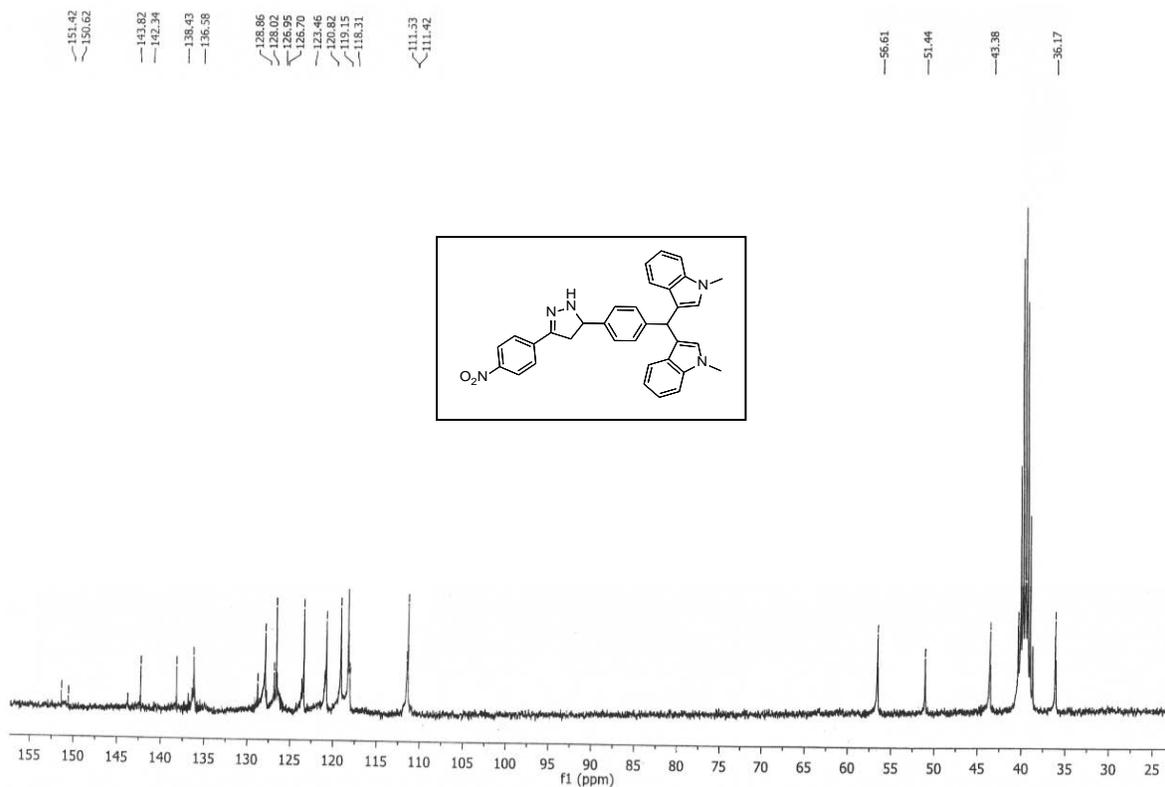


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
540.23127	64425.00	540.23213	-0.86	1.60	¹² C ₃₄ ¹ H ₃₀ ¹⁴ N ₅ ¹⁶ O ₂	21.5

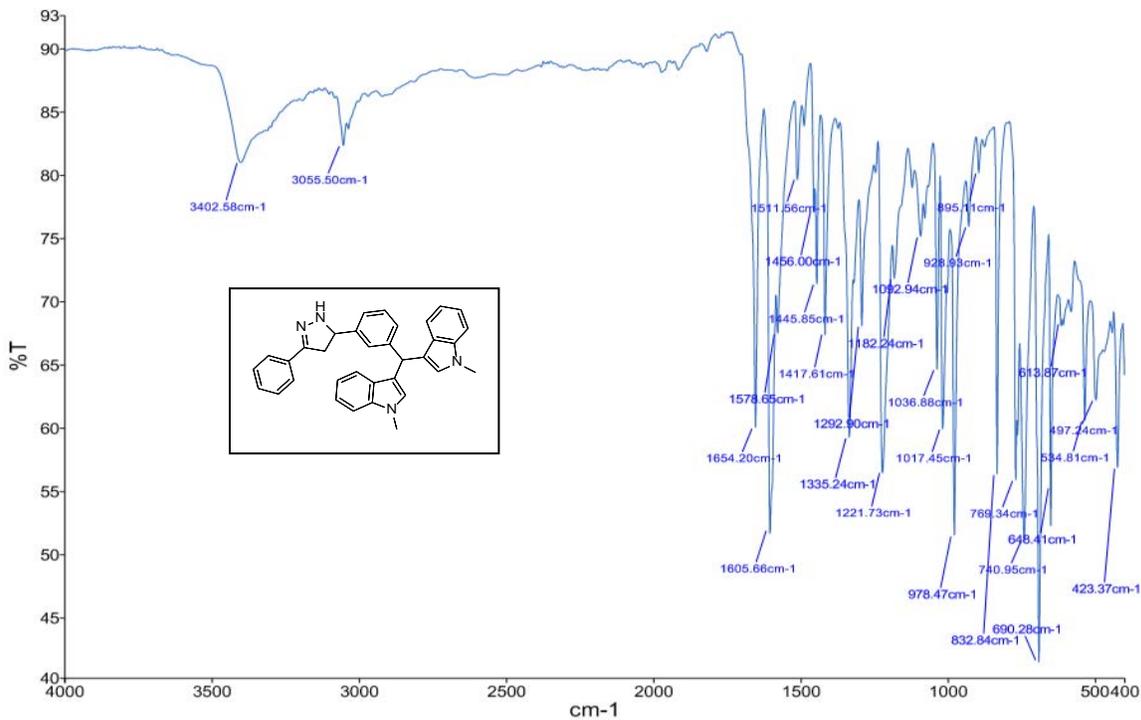
12.34 Espectro de masas, alta resolución, DART, 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol



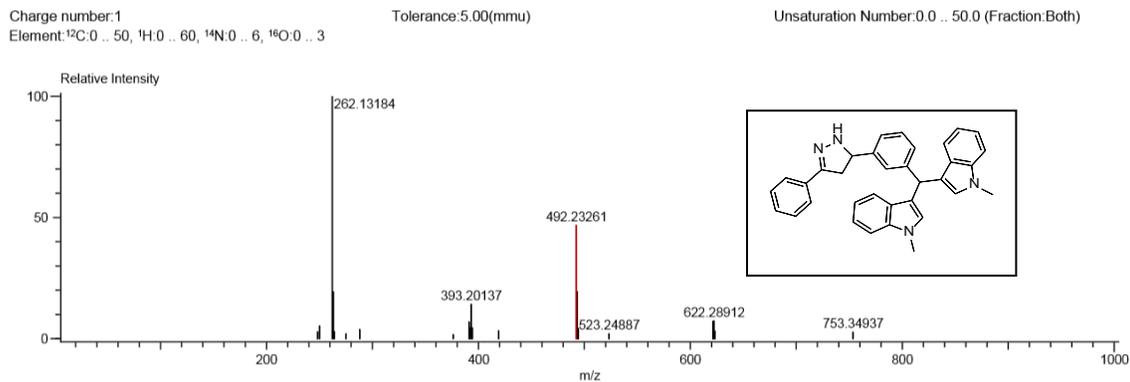
12.35 Espectro de ^1H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona- d_6), 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol



12.36 Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona- d_6), 5-(4-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro 1H-pirazol

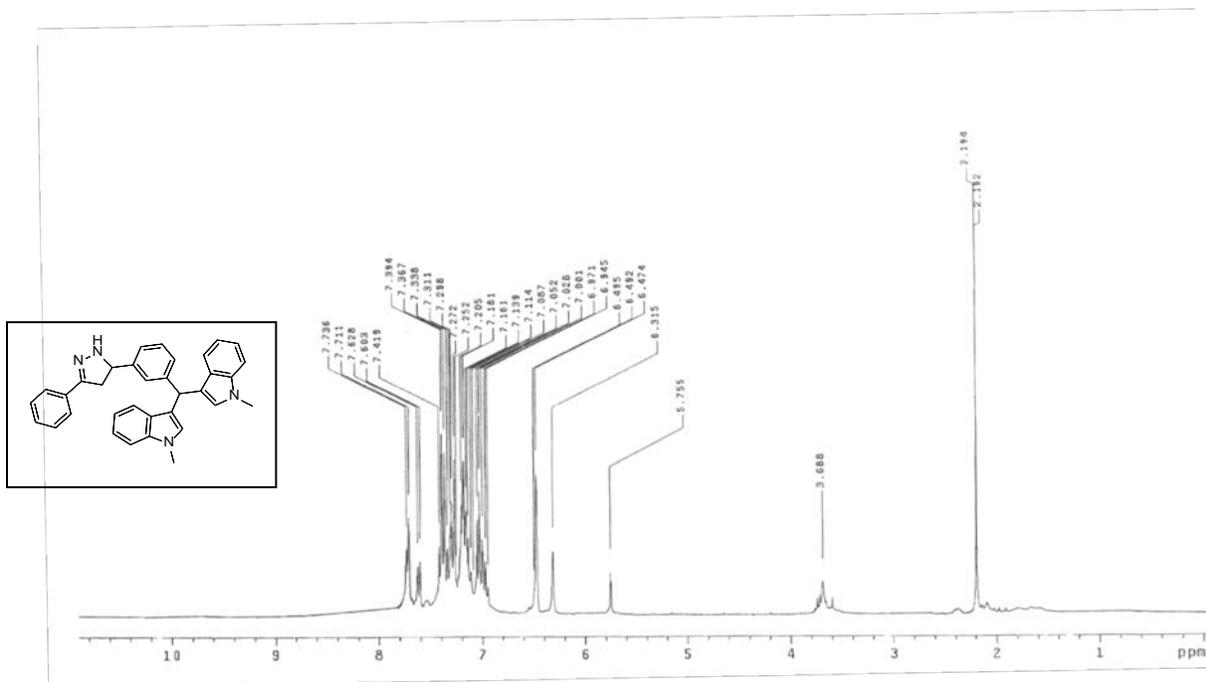


12.37 Espectro de infrarrojo, ATR, 5-(3-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol

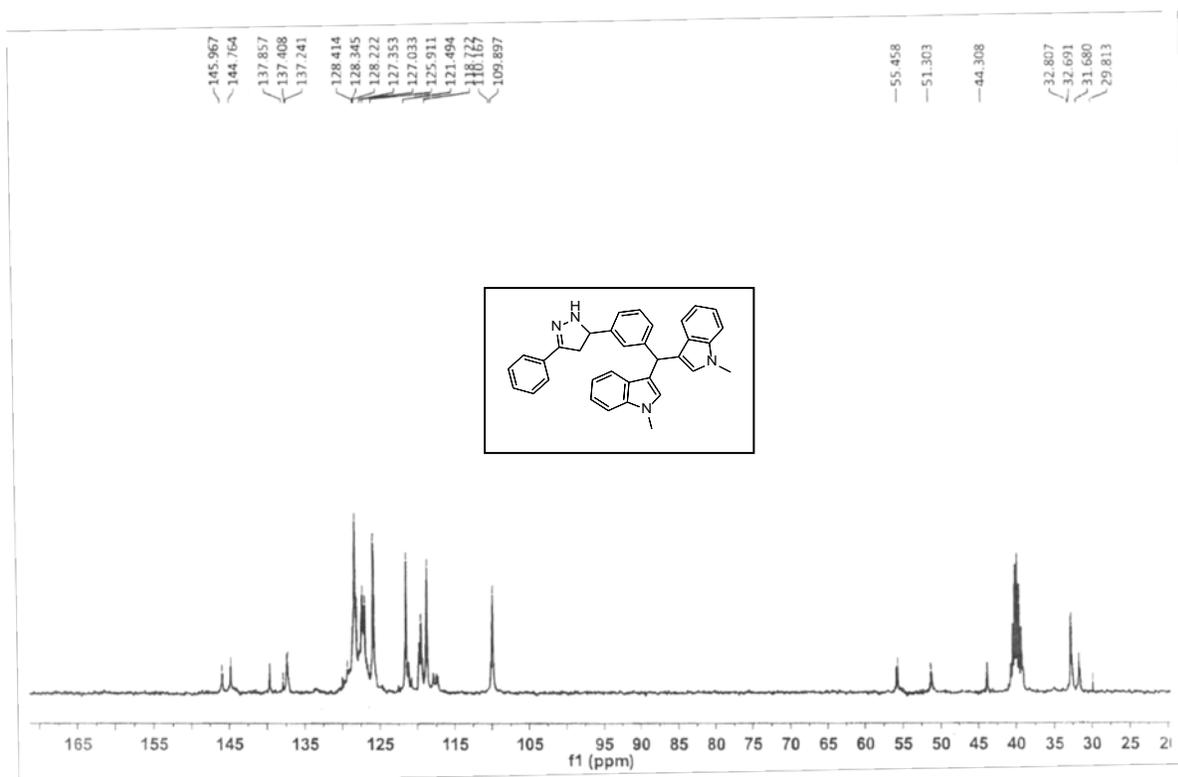


Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
492.23261	431446.29	492.23140	1.21	2.47	¹² C _{34¹H_{28¹⁴N₄}}	23.0

12.38 Espectro de masas, alta resolución, DART, 5-(3-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol



12.39 Espectro de ¹H RMN (300 MHz, δ ppm, Acetona-d₆), 5-(3-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol



12.40 Espectro de ¹³C RMN (75 MHz, δ ppm, Acetona-d₆), 5-(3-(Bis(1-metilindol-3-il)metil)fenil)-3-fenil-4,5-dihidro 1H-pirazol