



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO



División Académica de Ciencias Básicas

Síntesis de Análogos Heteroaromáticos de Chalconas y su
Evaluación Antibiótica *In Vitro*.

TESIS

PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE

**MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA
ORGÁNICA.**

PRESENTA

L.Q. Quirino Torres Sauret

DIRECTORES DE TESIS

Dr. Cuauhtémoc Alvarado Sánchez

Dr. Luis Fernando Roa De La Fuente

Cunduacán, Tabasco, Agosto 2017



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS
Dirección



30 de julio de 2017

Lic. Quirino Torres Sauret

Pasante de la Maestría en Ciencias
con Orientación en Química Orgánica
Presente.

Por medio del presente y de la manera más cordial, me dirijo a Usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado "**Síntesis de análogos heteroaromáticos de chalconas y su evaluación antibiótica in vitro**", en virtud de que reúne los requisitos para el EXAMEN PROFESIONAL para obtener el grado de Maestro en Ciencias con orientación en Química Orgánica.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

Atentamente.

Dr. Gerardo Delgadillo Piñón
Director



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS BÁSICAS

C.c.p.- Archivo
Dr'GDP/Dr'JLSC/emt

Miembro CUMEX desde 2008

Consortio de
Universidades
Mexicanas
UNA ALIANZA DE CALIDAD POR LA EDUCACIÓN SUPERIOR

Km. 1, Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86690, Cunduacán, Tabasco
Tel/Fax (914)3360928, (993)3581500 Ext. 6702



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



CARTA DE AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza el presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesis denominada **"Síntesis de Análogos Heteroaromáticos de Chalconas y su Evaluación Antibiótica *In Vitro*"** de la cual soy autor y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (**RABID**) y a cualquier otra red académica con las que la universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco a los 9 días del mes de Agosto del año 2017.

AUTORIZO

L. Q. Quirino Torres Sauret
142A18001

El presente trabajo de tesis de llevo a cabo en los laboratorios de Química Orgánica y el laboratorio de Microbiología de la **División Académica de Ciencias Básicas (DACB)** de la **Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT)**, bajo la dirección del Dr. Cuauhtémoc y el Dr. Luis Fernando Roa de la Fuente. La caracterización espectroscópica (RMN ^1H y RMN ^{13}C) se realizó en el **Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear (Lab. RMN)** del **Centro de Investigación de Ciencia y Tecnología Aplicada de Tabasco (CICTAT)**.

La realización de esta investigación se desarrolló bajo el apoyo económico recibido con la asignación de una beca CONACYT, con número de registro **633149**.

AGRADECIMIENTO

Este logro que he concluido, se debe a Dios, que me permitió rodearme de gente maravillosa.

A MIS DIRECTORES DE TESIS

Deseo expresar mi gratitud al Dr. Cuauhtémoc Alvarado Sánchez y al Dr. Luis Fernando Roa de la Fuente por los conocimientos brindados, la dedicación, la confianza y la ayuda durante la investigación

A LOS INTEGRANTES DEL COMITÉ REVISOR

Dra. Nancy Romero Ceronio.

Dr. Carlos Ernesto Lobato García.

Dr. Luis Fernando de la Fuente.

Dr. Miguel Ángel Vilchis Reyes

Dr. Ever A. Blé Gonzales.

Gracias por las observaciones, comentarios y la atención brindada durante el proceso de revisión las cuales sirvieron para la mejoría del manuscrito.

De igual manera a todos los profesores que durante la maestría me brindaron su ayuda tanto en lo académico como en lo personal, permitiéndome superarme cada día.

DEDICACIONES ESPECIALES

Agradezco de corazón a la **Dra. Patricia Mendoza Lorenzo** quien me acogiera en su laboratorio para realizar la evaluación biológica de los compuestos obtenidos durante el proceso de síntesis, de igual manera extender mi gratitud por la dedicación y el tiempo que se tomo en la revisión del manuscrito.

A los profesores que me brindaron su amistad, y que aportaron comentarios para hacer de este manuscrito mejor.

M. C. Pascual Pedraza Montero.

M. C. José del Carmen Méndez Moreno.

L.Q. Joel Flores Jiménez.

L.Q. Wilber Pérez Fuente.

Por último, agradezco a cada una de las personas aquí mencionada.

¡Fue, va y será por ustedes!

A TODA MI FAMILIA

Quienes me han apoyado y alentando a continuar con mi vida profesional, por brindarme su cariño, agradezco los consejos que me brindaron.

A MIS PADRES

José Atilo Torres González y Adela Sauret García

Quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación, siendo mí apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en los retos que se me presentaban, sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ello que me he convertido en una persona responsable. Muchas gracias, sin ustedes nunca lo hubiera logrado.

A MIS HERMANOS

Por ser parte esencial de mi vida, cada momento grato que disfrutamos juntos, por las frases que compartirnos para alegrarnos el día, todas esas reuniones en donde la felicidad era el plato principal, y aunque cada uno tuviera carácter diferente, al juntarnos nos transformábamos en un solo compuesto, cuyas cagas formales era igual a cero. Muchas gracias **Adelita, Christian, Carlos y Alfredo.**

A MIS AMIGOS

La vida se enriquece teniendo a compañeros y amigos que nos impulsa a seguir adelante, a demostrar nuestras capacidades al máximo, agradezco a **Angélica Sarahí A. Pérez, Juan Gerardo B. Martínez, Cristina L. García, Paulina C. De la Cruz, Nayely del Carmen C. Agustiniano, Gabriela H. Galicia, Yair L. Domínguez,**

Miguel R. Santiago, César Alberto L. Ruiz, José del Carmen Méndez Moreno y a todos aquellos que no pude recordar, por el apoyo dentro del laboratorio, por escuchar y aconsejarme en los momentos más difíciles de mi vida, a ver mis errores, enseñándome el valor de una amistad.

Sofía del Rosario Muñoz de la Cruz

El camino que hemos recorrido ha sido difícil, pero agradezco los momentos gratos que pasamos, sin importar que tan fuertes sean los obstáculos que enfrentemos, sé que siempre estarás para apoyarme, la pequeña familia que formamos me impulsa a continuar con mi superación. Llenas de alegría mi vida. Gracias por ser mi amiga, mi novia y ahora mi esposa, y sobre todo por haberme dado la dicha de ser padre de una hermosa niña, cuya sonrisa recarga mi energía llenándome de una inmensa felicidad. Las amo *Sofía* y *Montse*.

Agradezco infinitamente a la Familia **Muñoz de la Cruz** por el cariño y el apoyo brindado hacia mi familia.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber”. Albert Einstein

CONTENIDO

ABREVIATURAS	iv
ECUACIONES	vii
ESQUEMAS	vii
FIGURAS.....	viii
GRÁFICAS	ix
SÍMBOLOS	xi
TABLAS	xiii
COMPUESTOS SINTETIZADOS (1).....	xvi
COMPUESTOS SINTETIZADOS (2).....	xvii
RESUMEN	xviii
ABSTRACT	xix
CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2	3
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Actividad biológica de las chalconas	3
2.2 Actividad antimicrobiana de los análogos de chalconas	7
2.3 Las chalconas y su potencial como inhibidores enzimáticos.....	16
CAPÍTULO 3	19
3. MARCO TEÓRICO	19
3.1 Prueba de susceptibilidad bacteriana a antibiótica.	19
3.2 Método cualitativo de detección de difusión en sensidisco (Kirby Bauer).	20
3.3 Resistencia a los antimicrobianos.	22
3.4 Impacto global de la resistencia antimicrobiana.	23

3.5	Estrategias para enfrentar la resistencia microbiana.	24
3.6	Chalconas.....	25
3.7	Síntesis de chalcona.....	26
3.8	Mecanismo de reacción por condensación Claisen-Schmidt.	27
3.9	Parámetros para la estimación de la sostenibilidad.	30
3.10	La ecoescala.....	30
CAPÍTULO 4.....		32
4.	JUSTIFICACIÓN.....	32
CAPÍTULO 5.....		33
5.	OBJETIVOS.....	33
5.1	<i>Objetivo general</i>	33
5.2	<i>Objetivos específicos</i>	33
CAPÍTULO 6.....		35
6.	METODOLOGÍA.....	35
6.1	Métodos generales.....	35
6.2	Proceso de Síntesis.....	36
6.2.1	<i>Método general a:</i>	36
6.2.2	<i>Método general b:</i>	36
6.2.3	<i>Caracterización físico-químico</i>	37
6.2.4	<i>Pruebas de solubilidad</i>	37
6.2.5	<i>Análisis semicuantitativo de la ecoescala</i>	38
6.3	Evaluación antibiótica.....	38
6.3.1	<i>Preparación del medio de cultivo</i>	38
6.3.2	<i>Sensidisco</i>	38
6.3.3	<i>Activación y crecimiento bacteriano</i>	39

6.3.4	Método cualitativo de la susceptibilidad bacteriana (Antibiograma)...	41
CAPÍTULO 7		43
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
7.1	PROCESO DE SÍNTESIS	43
7.1.1	Síntesis de los compuestos sintetizados.	43
7.1.2	Caracterización espectroscópica	46
7.1.3	Prueba de solubilidad	52
7.1.4	Análisis de la ecoescala	53
7.2	Evaluación antibiótica	56
7.2.1	Determinación de la turbidez	56
7.2.2	Método cualitativo de la sensibilidad antibacteriana (Antibiograma)	57
CAPÍTULO 8		67
8.	CONCLUSIÓN	67
CAPÍTULO 9		69
9.	PERSPECTIVAS	69
CAPÍTULO 10		70
10.	BIBLIOGRAFÍA	70
11.	ANEXO	77
I.	Análisis de la Ecoescala	77
II.	Análisis de espectrometría	78
III.	Caracterización estereoscópica de los compuestos sintetizados	85
IV.	Cálculo de la recta de McFarland	87
V.	Análisis de la efectividad de los fármacos de referencia	89
VI.	Actividad antifúngica de la (E)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona (4)	98
VII.	Antibiogramas	100

ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico.
Amp.	Ampicilina
Amox-Ac.	Amoxicilina / ácido clavulánico
ARN	Ácido Ribonucleico.
ARNr	Ácido Ribonucleico ribosómico
<i>A.spp</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>B.subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>B.pumilis</i>	<i>Bacillus pumilis</i>
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CHI	Chalcona isomerasa
CHS	Chalcona sintasa
CIM	Concentración inhibitoria mínima
Clin.	Clindamicina
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute.
CI₅₀	Concentración inhibitoria media
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
EA	Economía atómica
<i>E.carotovora</i>	<i>Erwinia carotovora</i>

<i>E.colí</i>	<i>Escherichia coli</i>
EfA	Eficiencia atómica
<i>E.faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EtOH	Etanol
FR	Fármaco de Referencia
Gen.	Gentamicina
IR	Infrarrojo
<i>K.pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Lid.</i>	<i>Lidocaina</i>
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
<i>N.gonorrhoeae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Nit.</i>	<i>Nitrofurantoina</i>
<i>N.meningitides</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBP	Penicillin binding proteins
PBP2A	Penicillin binding proteins 2A
<i>P.vulgaris</i>	<i>Pseudomonas vulgaris</i>
RMN ¹H	Resonancia magnética nuclear de protón
RMN ¹³C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13

RMSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina
S.aureus	<i>Staphylococcus aureus</i>
S.dysenteriae	<i>Shigella dysenteriae</i>
S.hyicus	<i>Staphylococcus hyicus</i>
S.intermedius	<i>Staphylococcus intermedius</i>
SMSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible a la meticilina
S.pneumoniae	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
S.pyogenes	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
S.typhi	<i>Salmonella typhi</i>
S.typhimurium	<i>Salmonella typhimurium</i>
Tet.	Tetraciclina
V.choloriae	<i>Vibrio cholerae</i>

ECUACIONES

	Página
Ecuación 1.....	31
Ecuación 2.....	40
Ecuación 3.....	40
Ecuación 4.....	40
Ecuación 5.....	40
Ecuación 6.....	41

ESQUEMAS

Esquema 1. Síntesis de derivados de chalconas por Mokle, <i>et al.</i> , 2010.	3
Esquema 2. Síntesis de chalconas mediante condensación de Claisen-Schmidt realizada por Tiwari, <i>et al.</i> , 2010.	5
Esquema 3. Síntesis de chalconas a partir de la 2-acetilpiridina (57) obtenidas por Prasad, <i>et al.</i> , 2008.	8
Esquema 4. Síntesis de análogos de chalcona obtenidos por Sridhar, <i>et al.</i> , 2011.	9
Esquema 5. Síntesis de chalconas obtenidas por Singh, <i>et al.</i> , 2011.	12
Esquema 6. Síntesis de las heterochalconas 73-80 obtenidas por Khan <i>et al.</i> , 2013.	14
Esquema 7. Síntesis de las tiochalconas obtenidas por Ritter, <i>et al.</i> , 2015.	15
Esquema 8. Complejo de β -lactamasa/chalcona 90	17
Esquema 9. Síntesis de chalcona.	27
Esquema 10. Mecanismo de reacción para la obtención de la Chalcona por medio básico.	28
Esquema 11. Mecanismo de reacción para la obtención de la Chalcona por medio ácido.	29
Esquema 12. Esquema general del proceso de síntesis vía condensación Claisen-Schmidt y su evaluación antibacteriana. Reactivos y condiciones i) 2-acetilpirazina, Etanol, dimetilamina. ii) NaOH, Etanol, t. amb.	35

Esquema 13. Ruta sintética para obtener el compuesto 3 , mediante la metodología a	44
Esquema 14. Ruta sintética para la obtención de 3	44

FIGURAS

Figura 1. Derivados de chalconas obtenidas por Bhuiyan, <i>et al.</i> , 2011.....	6
Figura 2. Estructuras de las heterochalconas obtenidas por Tran, <i>et al.</i> , 2011.	10
Figura 3. Estructura general de la chalcona, análogo y derivado.	26
Figura 4. Sitios electrofílicos de la chalcona.	26
Figura 5. Equipo Fisher-Jones para puntos de fusión.	37
Figura 6. Equipo de RMN Bruker Ascend™ 600.	37
Figura 7. Sensidiscos empleados en los antibiogramas.	39
Figura 8. Diagrama de trabajo para la evaluación antibiótica de los compuestos 1-6	42
Figura 9. Turbidez del inoculo de <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Figura 10. Diagrama de trabajo para la evaluación antibacteriana 4	58
Figura 11. Cristales de (<i>E</i>)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona (1).	85
Figura 12. Cristales de (<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-tiofenil)prop-2-en-1-ona (2).....	85
Figura 13. Cristales de (<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-pirazinil)prop-2-en-1-ona (3).....	85
Figura 14. Cristales de (<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-furani)prop-2-en-1-ona (4).	86
Figura 15. Cristales de (<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-piridinil)prop-2-en-1-ona (5).	86
Figura 16. Cristales de (<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (6).....	86
Figura 17. Esquema general para la actividad antifúngica de (<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-furani)prop-2-en-1-ona (4).	98
Figura 18. <i>a</i>) Preparado del medio de cultivo, <i>b</i>) Antibiogramas.	100
Figura 19. Antibiograma 1 (2-300 µg/sensidisco) comparada con Amox-Ac.	101
Figura 20. Antibiograma 2 (2-300 µg/sensidisco) comparada con Amox-Ac.	101
Figura 21. Antibiograma 3 (2-300 µg/sensidisco) comparada con Amox-Ac.	102
Figura 22. Antibiograma 5 (2-300 µg/sensidisco) comparada con Amox-Ac.	102

Figura 23. Antibiograma 4 (2-300 $\mu\text{g/sensidisco}$) comparada con Amp.	103
Figura 24. Antibiograma 4 (100 $\mu\text{g/sensidisco}$) disuelta en los cuatros solvente y la solución de lidocaína comparando con Amox-Ac.	103
Figura 25. Antibiograma 4 (100 $\mu\text{g/sensidisco}$) disuelta en los cuatros solvente y la solución de lidocaína comparando con Clin.	104
Figura 26. Antibiograma de la actividad antifúngica de (<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona (4).	104
Figura 27. Antibiograma 6 (2-300 $\mu\text{g/sensidisco}$) Comparadas con Amox-Ac.	105

GRÁFICAS

Gráfica 1. Evaluación de la actividad antibacteriana de las chalconas obtenida por Bhuiyan, <i>et al.</i> , 2011.	7
Gráfica 2. Recta de la concentración de la escala de McFarland.	57
Gráfica 3. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (10 y 100 $\mu\text{g/sensidisco}$) frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Gráfica 4. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 $\mu\text{g/sensidisco}$) disuelto en DMSO comparadas con los fármacos de referencia.	61
Gráfica 5. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 $\mu\text{g/sensidisco}$) disuelta en DCM comparándola con los fármacos de referencia.	63
Gráfica 6. Diámetro de inhibición (mm) de 1-6 (2-300 $\mu\text{g/sensidisco}$) frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Gráfica 7. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 $\mu\text{g/sensidisco}$) comparada con Amp.	89
Gráfica 8. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 $\mu\text{g/sensidisco}$) comparada frente Amox-Ac.	90
Gráfica 9. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 $\mu\text{g/sensidisco}$) comparada con Clin.	90
Gráfica 10. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 $\mu\text{g/sensidisco}$) comparada con Gen.	91

Gráfica 11. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 μ g/sensidisco) comparada con Tet.....	92
Gráfica 12. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μ g/sensidisco) disuelta DMSO comparada con Amox-Ac.....	93
Gráfica 13. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μ g/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Clin.	93
Gráfica 14. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μ g/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Tet.	94
Gráfica 15. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μ g/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Nit.....	95
Gráfica 16. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μ g/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Amox-Ac.	96
Gráfica 17. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μ g/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Clin.....	96
Gráfica 18. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μ g/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Tet.....	97
Gráfica 19. Diámetro de inhibición (mm) antifúngica de la (E)-3-fenil-1-(2-furani)prop-2-en-1-ona (4) (10 y 100 μ g/sensidisco).	99

SÍMBOLOS

)))	Ultrasonido
δ	Desplazamiento químico
α	Alfa
β	Beta
d	Disco
<i>d</i>	doble
<i>dd</i>	doble de doble
<i>dt</i>	doble de triple
ϵ	Rendimiento
Hz	Hertz
I	Intermedio
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
<i>M</i>	multiplicidad
M	Molaridad
μg	Microgramos
mg	Miligramos
MHz	Megahertz
μm	Micrómetros
mm	Milímetros

μL

Microlitros

mL

Militros

μmol

Micromol

mmol

Milimol

MO

Microondas

ppm

Parte por millón

R

Resistente

S

Sensible

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

TABLAS

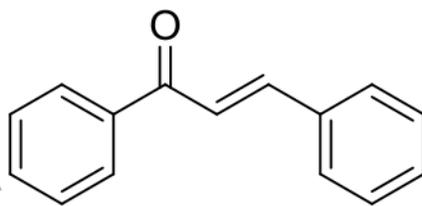
Tabla 1 Evaluación de la actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados por Mokle, <i>et al.</i> , 2010.	4
Tabla 2. Evaluación antibacteriana y antifúngica de las chalconas 24-36 obtenidas por Tiwari, <i>et al.</i> , 2010.	5
Tabla 3. Evaluación de la actividad antibacteriana de los análogos de chalconas obtenidos por Prasad, <i>et al.</i> , 2008.	8
Tabla 4. Actividad antibacteriana de las chalconas obtenidas por Sridhar, <i>et al.</i> , 2011.	10
Tabla 5. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los compuestos sintetizados por Tran, <i>et al.</i> , 2011.	11
Tabla 6. Evaluación de la actividad antibacteriana de las chalconas obtenidas por Singh, <i>et al.</i> , 2011.	13
Tabla 7. Actividad antibacteriana de las heterochalconas 73-80 obtenidas por Khan <i>et al.</i> , 2013.	14
Tabla 8. Determinación de la concentración inhibitoria media (CI ₅₀) de las tiochalconas por Ritter, <i>et al.</i> , 2015.	16
Tabla 9. Concentración y zona de inhibición estandarizada de grupos de fármacos contra <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Tabla 10. Preparación de los estándares de McFarland.	40
Tabla 11. Condiciones de reacción para la obtención del compuesto 3	43
Tabla 12. Datos físico-químicos de los compuestos sintetizados 1-6	45
Tabla 13. Solubilidad de los compuestos sintetizados.	52
Tabla 14. Análisis de la ecoescala de 1, 3, 5-6	53
Tabla 15. Análisis de la ecoescala de las heterochalconas 2 y 4	55
Tabla 16. Absorbancia obtenida de los estándares de McFarland.	56
Tabla 17. Concentración recomendada por la NCCLS de los antibióticos utilizados para la prueba de antibiograma y criterios para considerar a las bacterias como R, I, S de acuerdo al tamaño del diámetro de inhibición.	58
Tabla 18. Diámetro de inhibición de 4 (10 _μ g/sensidisco).	59

Tabla 19. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μg /sensidisco) disuelto en DMSO comparadas con los fármacos de referencia.	60
Tabla 20. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μg /sensidisco) disuelto en DCM comparándola con los fármacos de referencia.	62
Tabla 21. Evaluación de la actividad inhibitoria de 1-3 y 5-6	64
Tabla 22. Análisis de sostenibilidad por la ecoescala desarrollado por Aken, 2016.	77
Tabla 23. Datos de absorbancia obtenidas mediante espectrofotómetro Uv-Vis. ..	87
Tabla 24. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 μg /sensidisco) comparada con Amp.	89
Tabla 25. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 μg /sensidisco) comparada frente Amox-Ac.	89
Tabla 26. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 μg /sensidisco) comparada con Clin.	90
Tabla 27. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 μg /sensidisco) comparada con Gen.	91
Tabla 28. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 μg /sensidisco) comparada con Tet.	91
Tabla 29. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μg /sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Amox-Ac.	92
Tabla 30. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μg /sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Clin.	93
Tabla 31. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μg /sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Tet.	94
Tabla 32. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μg /sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Nit.	94
Tabla 33. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μg /sensidisco) disuelta en DCM comparada con Amox-Ac.	95
Tabla 34. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μg /sensidisco) disuelta en DCM comparada con Clin.	96

Tabla 35. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 μ g/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Tet.	97
Tabla 36. Diámetro de inhibición (mm) antifúngica de 4 (10 μ g/sensidisco).....	98
Tabla 37. Diámetro de inhibición (mm) de la actividad antifúngica de 4 (100 μ g/sensidisco).	99

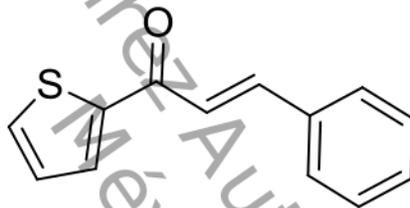
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

COMPUESTOS SINTETIZADOS (1)



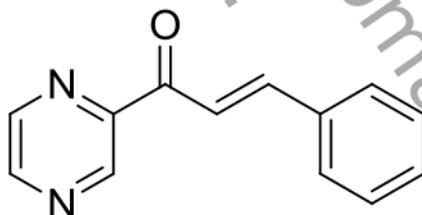
(E)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona

1



(E)-3-fenil-1-(2-tiofenil)prop-2-en-1-ona

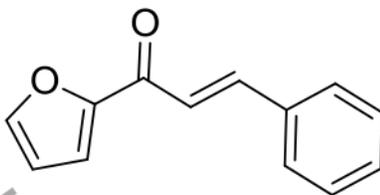
2



(E)-3-fenil-1-(2-pirazinil)prop-2-en-1-ona

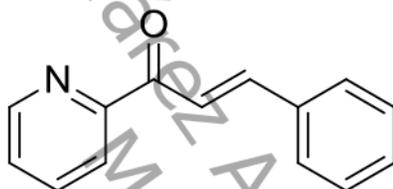
3

COMPUESTOS SINTETIZADOS (2).



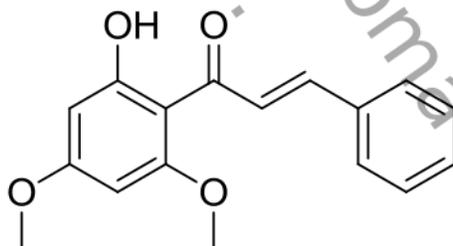
(*E*)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona

4



(*E*)-3-fenil-1-(2-piridinil)prop-2-en-1-ona

5



(*E*)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona

6

RESUMEN

Los derivados y análogos de chalcona están constituidos por dos anillos aromáticos y un sistema α,β -insaturado (enona). A estos compuestos, se les han atribuido diversas propiedades biológicas tales como antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias, etc. En esta investigación, se sintetizaron seis compuesto de tipo chalcona, los cuales fueron obtenidas por condensación de Claisen-Schmidt, evaluando la efectividad de las metodologías mediante los criterios de la ecoescala. Los compuestos sintetizados fueron caracterizados por diversas técnicas espectroscópicas donde se logró elucidar las estructuras correspondientes. La propiedad antibacteriana se evaluó a diez concentraciones (2-300 μg /sensidisco) en ensayos *in vitro* por el método de Kirby Bauer frente a *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) aislada clínicamente, usando ampicilina (10 μg /sensidisco), amoxicilina/ácido clavulánico (31/2.215 μg /sensidisco), clindamicina (2 μg /sensidisco), gentamicina (10 μg /sensidisco) y tetraciclina (30 μg /sensidisco) como fármacos de referencias. La efectividad inhibitoria de los compuestos se determinó por la presencia y el tamaño del diámetro de inhibición. Los compuestos **1-5** mostraron un efecto inhibitorio (7-14 mm) del crecimiento frente a *S.aureus*, una cepa que resultó ser resistente a los fármacos del grupo β -lactámicos y sensible al resto de los fármacos evaluados. El compuesto **6** no presentó un efecto contra *S.aureus*. Los resultados obtenidos son de gran interés en la búsqueda de alternativas farmacológicas para el manejo de microorganismos resistentes

ABSTRACT

Chalcone derivatives and analogues consist of two aromatic rings joined by α , β -unsaturated (enone) system. They have presented various biological properties as antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, etc. In this research, six compounds were synthesized using the well-known Claisen-Schmidt condensation, a simple and low cost method that is amenable to the practice of green chemistry (Ecoscale). The synthesized compounds were characterized by routine spectroscopic techniques that were suitable to elucidate the corresponding structures. The antibacterial properties were assessed at ten concentrations (2-300 $\mu\text{g/sensidisc}$) using the Kirby Bauer method *in vitro* assay against a strain of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) clinically isolated using ampicillin (10 $\mu\text{g/sensidisc}$), amoxicillin/clavulanic acid (31/2,215 $\mu\text{g/sensidisc}$), clindamycin (2 $\mu\text{g/sensidisc}$), gentamicin (10 $\mu\text{g/sensidisc}$) and tetracycline (30 $\mu\text{g/sensidisc}$) as controls drugs. The inhibitory effectivity of the compounds was determined by the presence and size of the inhibition diameter. Compounds **1-5** showed an inhibitory growth effect (7-14 mm) against *S.aureus*, a strain that showed resistance to the drugs of the β -lactam group and sensitive to the rest of the evaluated drugs. Compound **6** showed not inhibitory effect against *S. aureus*. These results are of great interest in the search pharmacological alternatives for the treatment of resistant microorganisms.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

La síntesis orgánica (SO) ha revolucionado el potencial de aplicación de la química orgánica tanto en la industria, como en investigación.¹ Entre sus objetivos principales, se destaca la síntesis de moléculas orgánicas para su aprovechamiento tanto a nivel investigación como en los diversos sectores productivos (farmacéutico, alimentario, ambiental, salud, etc.), optimizando la eficiencia de cada uno de los procesos y reduciendo los costos, riesgos e impactos ambientales adversos.

En investigación, el campo de aplicación de la SO es muy amplio incluyendo la verificación estructural de productos de origen natural, la búsqueda de compuestos con posible actividad biológica, la preparación y evaluación de análogos de productos de actividad conocida, la síntesis de compuestos de especial interés estructural, el desarrollo de nuevas metodologías de síntesis, entre otros.² Dentro de los grupos de estructuras moleculares de mayor interés en el área resalta un conjunto de compuestos orgánicos conocidos como chalconas cuyas propiedades antimicrobianas, antivirales, anticancerígenas, antiinflamatorias, analgésicas, antioxidantes, antipsicóticas y alelopáticas,³⁻⁶ reportadas hasta el momento, la convierten en un excelente modelo de investigación para la búsqueda de moléculas análogas con mayor potencial biológico.

El incremento de las infecciones resistentes a los medicamentos antimicrobianos, identificada durante las últimas décadas, fue declarado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un problema de salud pública global.

En México, la situación no es distinta a la reportada a nivel mundial y aunque los estudios que abordan a esta problemática aún son limitados, la automedicación, la

prescripción inadecuada y nuestro desconocimiento sobre la resistencia antimicrobiana nos convierten en una población vulnerable.⁷

Ante esta problemática generalizada se ha intensificado la búsqueda de moléculas con mayor potencial antimicrobiano. La síntesis de análogos de chalconas nos permitiría introducir una amplia gama de sustituyentes en sus anillos y generar moléculas con una actividad biológica mayor, como posibles candidatos a evitar la propagación de microorganismos patógenos que amenacen la conservación del estado de salud de las poblaciones, lo cual tendría como consecuencia una disminución del gasto público al tener tratamientos eficaces contra estas enfermedades.^{6, 8-9} Es por ello que el presente trabajo tuvo como objetivos sintetizar seis compuestos tipo chalcona sobre la base de la optimización de procesos y la evaluación de la actividad antibacteriana en modelos *in vitro*.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTE

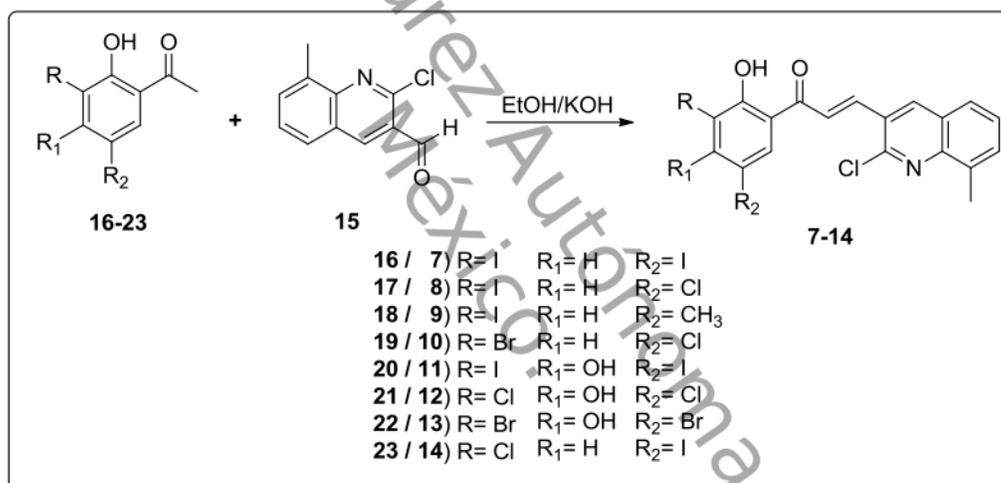
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO 2

2. ANTECEDENTES

2.1 Actividad biológica de las chalconas

La síntesis de chalconas sustituidas en varias posiciones ha generado moléculas con efectos biológicos importantes. En 2010, Mokle, *et al.*, sintetizaron los derivados de chalconas **7-14** a partir de 2-cloro-6-metilquinolina-3-carbaldehído (**15**) y la 2-hidroxiacetofenona, sustituidas en posiciones *meta* y *para* con respecto al grupo acetil **16-23** (Esquema 1).¹⁰



Esquema 1. Síntesis de derivados de chalconas por Mokle, *et al.*, 2010.

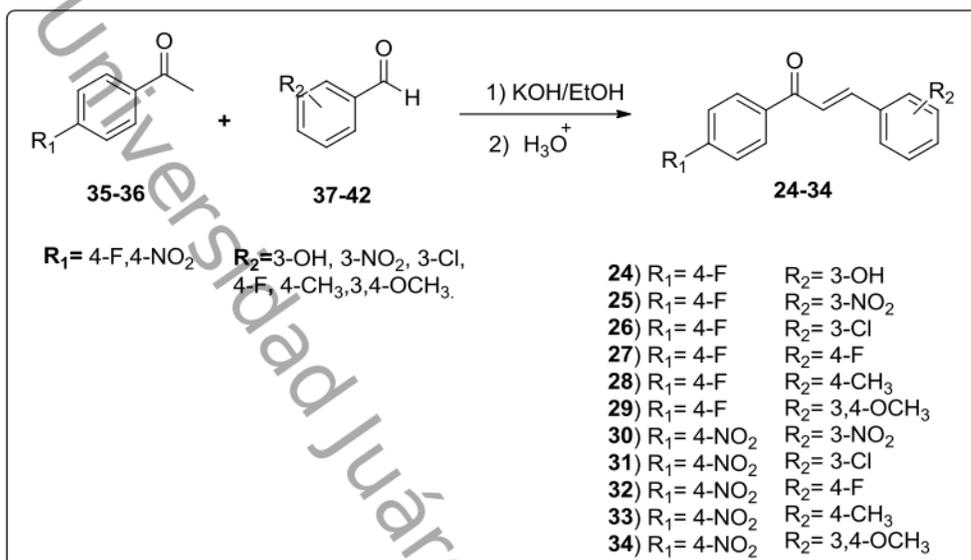
La actividad antibacteriana de estas moléculas se evaluó mediante ensayos *in vitro* usando como modelos de investigación a *Xanthomanas citri*, *Ervinia carotovara*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, se utilizó ampicilina (25 µg/mL) como fármaco de referencia (FR) y dimetilsulfóxido (DMSO) como disolvente para solubilizar a los compuestos **7-14**. La zona de inhibición de los compuestos se reportó en milímetros (mm). De acuerdo con sus resultados, **10** y **11** mostraron una potencia mayor al ser comparado con ampicilina, mientras que los compuestos **8** y **17** mostraron una potencia menor. La efectividad inhibitoria es

atribuida a su composición estructural, observándose un efecto mayor con sustituyentes menos electronegativos (iodo) en *meta* y *para* (Tabla 1).

Tabla 1 Evaluación de la actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados por Mokle, *et al.*, 2010.

Compuesto	Zona de inhibición (mm).			
	<i>X.citri</i>	<i>E.carotovara</i>	<i>E.coli</i>	<i>B.subtilis</i>
07	15	13	16	10
08	18	20	20	22
09	12	14	09	11
10	14	11	13	08
11	25	27	24	27
12	23	25	22	29
13	13	16	11	14
14	18	17	11	15
DMSO	0	0	0	0
Ampicilina (25 µg/mL)	25	28	22	27

En ese mismo año Tiwari, *et al.*,¹¹ sintetizaron mediante la condensación de Claisen-Schmidt las chalconas **24-34**, a partir de 4-fluoroacetofenona (**35**) ó 4-nitroacetofenona (**36**) y seis derivados de benzaldehído con diferentes sustituyentes **37-42**, obteniendo rendimientos del 47 al 79 % (Esquema 2).



Esquema 2. Síntesis de chalconas mediante condensación de Claisen-Schmidt realizada por Tiwari, *et al.*, 2010.

La actividad antibacteriana y antifúngica se evaluó *in vitro* a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ usando como modelos a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*. En el caso de las bacterias se usó agar Muller-Hinton y en el caso de los hongos agar dextrosa Sabouroud. Se usó DMSO como disolvente y, estreptomycin y fluconazol fueron aplicados como FR. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Evaluación antibacteriana y antifúngica de las chalconas 24-36 obtenidas por Tiwari, *et al.*, 2010.

Compuesto	Zona de inhibición (mm)			
	Antibacteriana		Antifúngica	
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.flavus</i>
24	15	14	10	12
25	08	08	12	10
26	12	09	06	08
27	09	10	12	08
28	08	12	11	12
29	08	10	09	12
30	10	10	08	09

31	12	09	12	08
32	10	10	12	13
33	09	08	13	12
34	14	08	11	10
Estreptomina	18	18	---	---
Fluconazol	---	---	14	13

De acuerdo con los datos, **24** y **32** mostraron un efecto tanto antibacteriano, como antifúngico, mientras que las chalconas **26**, **30-32** solamente mostraron efecto antibacteriano, el resto de los compuestos solamente mostraron efecto antifúngico.

En 2011, Bhuiyan, *et al.*,¹² realizaron la síntesis de la chalcona **1** y los derivados **43-50** empleando microondas (MO) como fuente de activación química obteniendo rendimientos del 70 al 98% y una disminución notable del tiempo de reacción con respecto al método convencional (reflujo) (Figura 1).

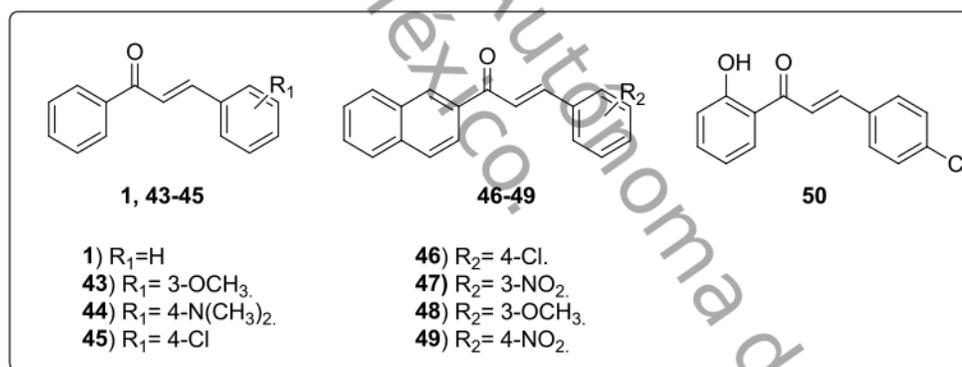
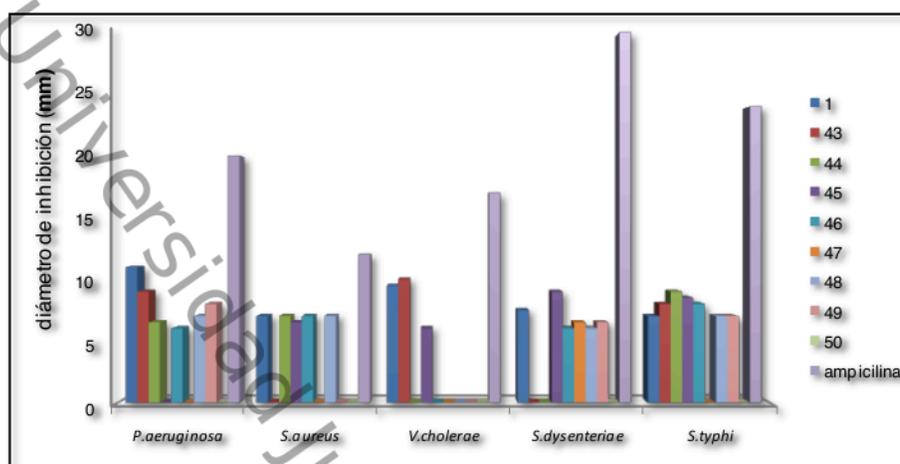


Figura 1. Derivados de chalconas obtenidas por Bhuiyan, *et al.*, 2011.

La actividad antibacteriana se realizó mediante el método de Kirby Bauer, empleando una concentración de 100 μg /disco frente a cinco organismos patógenos: *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae* y *Salmonella typhi*. Se empleó ampicilina como FR. (Gráfica 1)

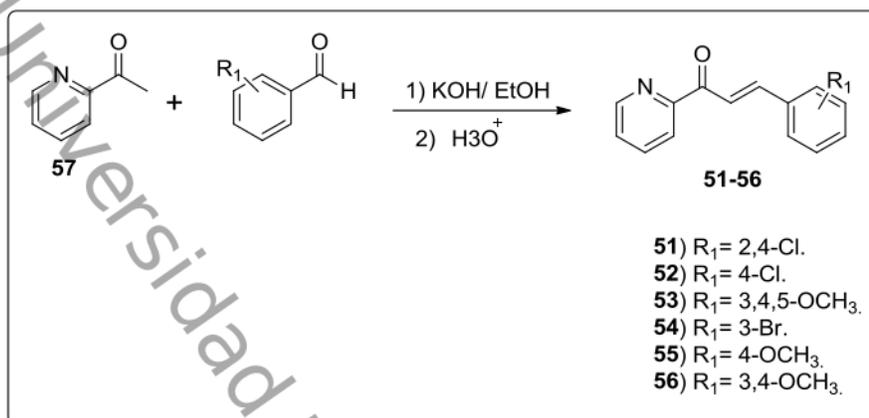


Gráfica 1. Evaluación de la actividad antibacteriana de las chalconas obtenida por Bhuiyan, *et al.*, 2011.

De acuerdo a los datos obtenidos de la evaluación antibacteriana, los compuestos **1**, **43**, **45** y **47** presentaron una inhibición del crecimiento moderada, mientras que **49** no mostró inhibición, siendo *Vibrio cholerae* la cepa bacteriana más resistente frente a la mayoría de los derivados de chalconas.

2.2 Actividad antimicrobiana de los análogos de chalconas

En los últimos años se ha incrementado el interés de los investigadores por sintetizar análogos de chalconas donde el anillo A, el anillo B ó ambos sean compuestos heteroaromáticos, con la finalidad de incrementar su actividad biológica contra diversos microorganismos. Bajo la premisa de la eficiencia en la síntesis de chalconas por condensación de Claisen-Schmidt, Prasad, *et al.*,¹³ reportaron en 2008 la síntesis de seis análogos de chalconas **51-56** a partir de 2-acetilpiridina (**57**) y diversos derivados de benzaldehído en medio básico y a temperatura ambiente, obteniendo rendimientos del 75 al 92 % (Esquema 5).



Esquema 3. Síntesis de chalconas a partir de la 2-acetilpiridina (**57**) obtenidas por Prasad, *et al.*, 2008.

La evaluación antibacteriana de estos análogos se realizó mediante el método de Kirby Bauer a dos concentraciones (50 y 100 µg/sensidisco). Los compuestos fueron disueltos en DMSO y bencilpenicilina se empleó como FR. Los compuestos se evaluaron frente las siguientes cepas bacterianas: *Bacillus pumilis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Proteus vulgaris* (Tabla 3).

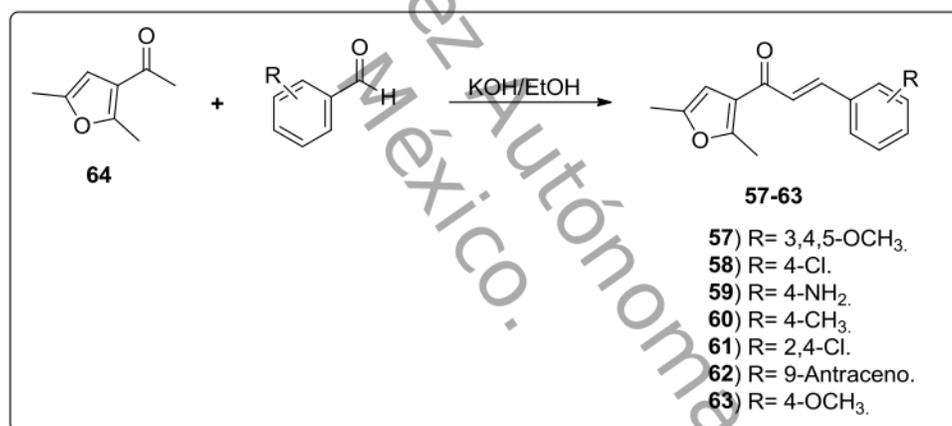
Tabla 3. Evaluación de la actividad antibacteriana de los análogos de chalconas obtenidos por Prasad, *et al.*, 2008.

Compuestos	µg/sensidisco	Zona de inhibición (mm)			
		<i>B.pumilis</i>	<i>B.substilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.vulgaris</i>
51	50	8	8	9	9
	100	10	9	10	11
52	50	9	9	10	11
	100	12	12	12	12
53	50	13	12	14	15
	100	15	15	16	17
54	50	9	9	10	9
	100	11	11	11	11
55	50	12	12	11	12
	100	14	14	14	14

56	50	12	12	13	11
	100	14	14	15	12
DMSO			0		
FR	50	17	18	20	19

Los resultados de esta evaluación mostraron que los análogos de chalconas **52**, **53**, **55**, y **56** mostraron un efecto de inhibición moderado a 100 μg /sensidisco comparando con el fármaco de referencia.

Posteriormente, Sridhar, *et al.*,¹⁴ usando la misma metodología, sintetizaron una serie de análogos de chalconas **57-63** a partir de 3-acetil-2,5-dimetilfurano (**64**) con derivados sustituidos de benzaldehídos (Esquema 4).



Esquema 4. Síntesis de análogos de chalcona obtenidos por Sridhar, *et al.*, 2011.

La actividad antibacteriana de estos compuestos también fue evaluada bajo las mismas condiciones utilizadas por Prasad, *et al.*,¹⁵ solo que en este caso, todos los compuestos mostraron tener un efecto antibacteriano significativo contra las cinco cepas bacterianas a 50 y 100 μg /sensidisco, siendo **59**, **60** y **63** los de mayor potencia (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad antibacteriana de las chalconas obtenidas por Sridhar, *et al.*, 2011.

Compuestos	Zona de inhibición (mm)					
	µg/sensidisco	<i>B. subtilis</i>	<i>B. pumilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>
57	50	12	9	8	11	13
	100	11	10	11	12	8
58	50	12	17	18	14	14
	100	21	20	23	15	18
59	50	16	18	20	18	21
	100	18	23	23	23	26
60	50	20	19	11	18	17
	100	23	16	19	19	18
61	50	11	14	17	12	11
	100	13	14	21	16	14
62	50	14	18	14	15	16
	100	16	23	21	17	20
63	50	19	20	18	16	13
	100	22	24	22	17	16
FR	50	27	30	26	24	27
	100	32	31	29	26	31
DMSO		0				

En el 2011 Tran, *et al.*,¹⁶ sintetizaron nueve chalconas heterocíclicas hidroxil sustituida en las posiciones *orto*, *meta* y *para* 64-66 con rendimientos que oscilaron entre 51 y 62 % (Figura 2).

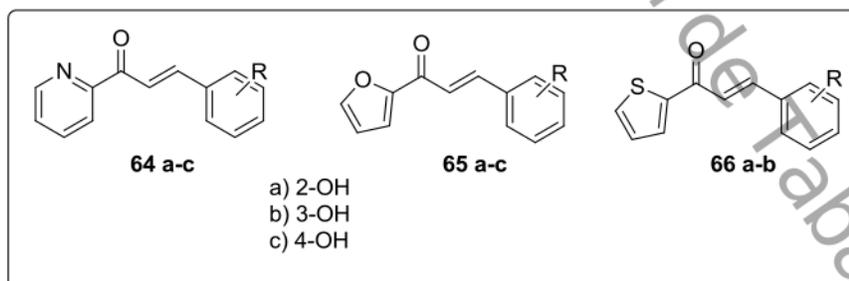


Figura 2. Estructuras de las heterochalconas obtenidas por Tran, *et al.*, 2011.

Estos autores evaluaron la actividad antibacteriana por el método de dilución descrito por el Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (National

Committee for Clinical Laboratory Standards, por sus siglas en Ingles NCCLS) contra las siguientes cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (SA o SMSA, sensible a la meticilina), *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (RMSA, resistente a la meticilina) y *Staphylococcus aureus* previamente aislada de una muestra de origen humano (RMSA aislado, resistente a la meticilina).

Los datos obtenidos de la evaluación del efecto antibacteriano de los análogos de heterochalconas contra las cepas SMSA, RMSA y RMSA aislado se muestran en la Tabla 5.

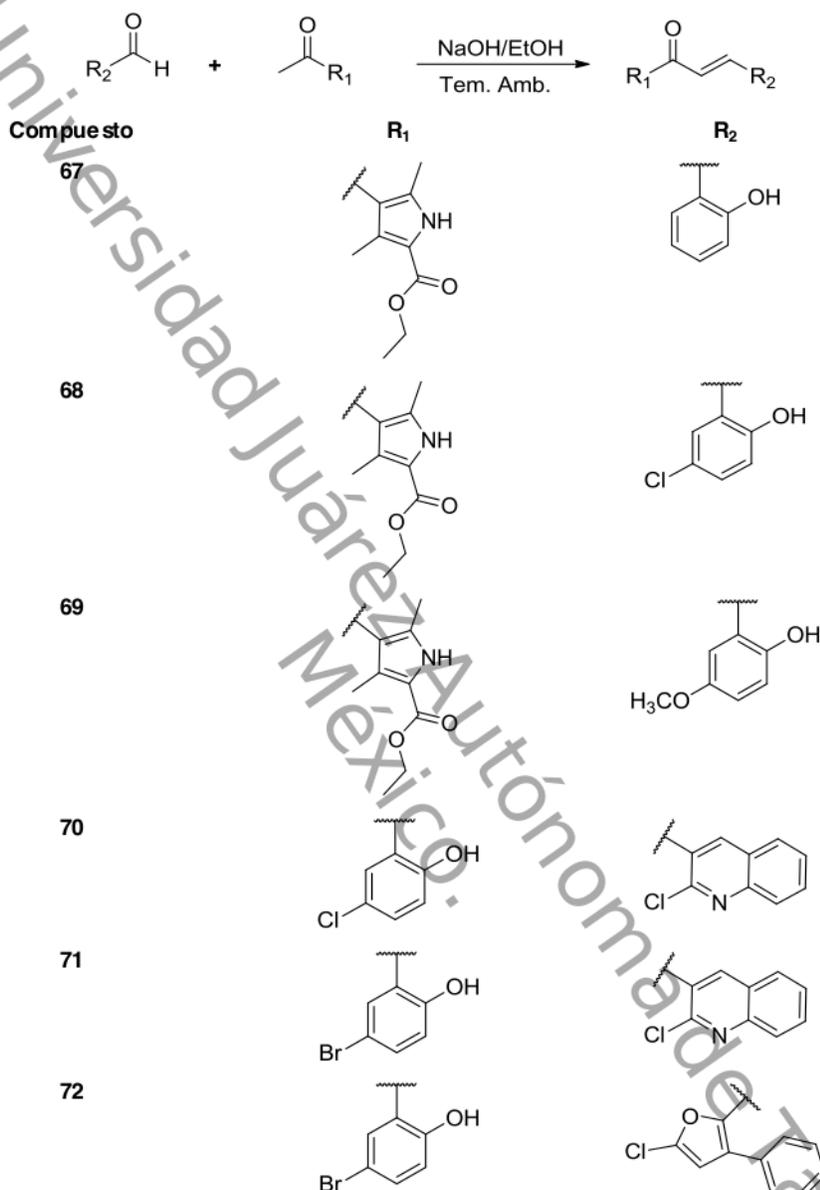
Tabla 5. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los compuestos sintetizados por Tran, *et al.*, 2011

Compuestos	CMI ($\mu\text{g/mL}$)		
	SMSA ATCC 25923	RMSA ATCC 44330	RMSA Aislado
64a	128	128	---
64b	64	128	64
64c	512	512	--
65a	64	64	32
65b	128	128	512
65c	256	256	---
66a	32	64	256
66b	256	128	---

La actividad biológica fue atribuida tanto al grupo hidroxilo en el anillo B como al heterociclo del anillo A. El compuesto con el anillo de furano **65** fue el más potente, seguido de los derivados de 2-tiofenilo **66** y 2-piridinilo **64**.

En ese mismo año Singh, *et al.*,¹⁷ sintetizaron los compuestos **67-72**, variando los heterociclos en el anillo A y en el anillo B, utilizando medio básico a temperatura ambiente (Esquema 5).

1



Esquema 5. Síntesis de chalconas obtenidas por Singh, *et al.*, 2011.

Estas heterochalconas también fueron evaluadas como agentes antibacterianos frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus subtilis* y

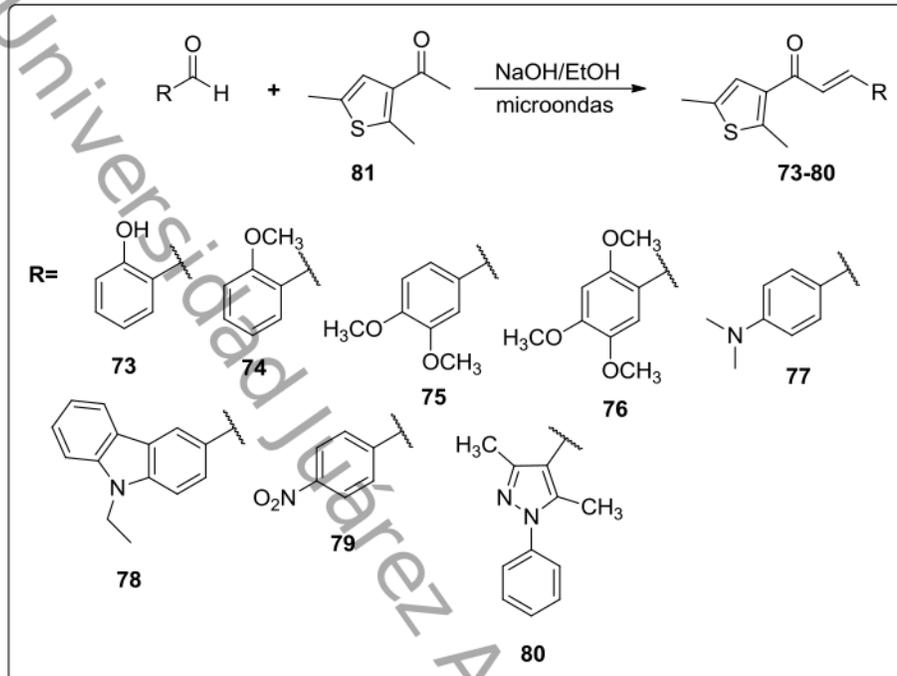
Escherichia coli por el método de Kirby Bauer a 50 y 100 µg/sensidisco usando DMSO como disolvente y ampicilina como FR (Tabla 6).

Tabla 6. Evaluación de la actividad antibacteriana de las chalconas obtenidas por Singh, *et al.*, 2011.

Compuestos	µg/sensidisco	Zona de inhibición (mm)			
		<i>B.substilis</i>	<i>B.pumilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>
67	50	9	9	9	8
	100	13	12	13	13
68	50	8	8	8	8
	100	12	13	11	12
69	50	9	9	9	7
	100	12	12	12	12
70	50	8	8	13	7
	100	13	11	7	11
71	50	6	7	7	8
	100	11	8	10	11
72	50	6	7	7	7
	100	10	10	9	9
FR	50	22	21	22	24
	100	34	32	35	34
DMSO		0			

Los compuestos **67-72** provocaron zonas de inhibición de 7-10 mm a 50 µg/sensidisco y de 11-13 mm a 100 µg/sensidisco como se muestra en la tabla 6. Los datos derivados de esta investigación mostraron que estas heterochalconas poseen una potencia baja contra las cepas bacterianas evaluadas, al registrarse zonas de inhibición inferiores a las obtenidas por el FR (21-24 mm a 50 µg/sensidisco y 32-35 mm a 100 µg/sensidisco).

En el 2013, Khan, *et al.*,¹⁸ sintetizaron las heterochalconas **81-88**, a partir de 3-acetil-2,5-dimetiltiofeno (**89**) con diversos derivados de benzaldehído empleando MO como fuente de activación química, obteniéndose rendimientos del 82 al 90% después de tiempos de reacción muy cortos (30 a 50 segundos) (Esquema 6).



Esquema 6. Síntesis de las heterochalconas **73-80** obtenidas por Khan *et al.*, 2013.

La actividad inhibitoria del crecimiento bacteriano de las chalconas **73-80** fue examinada por el Método de Kirby Bauer contra las bacterias *S.aureus*, *S.pyogenes*, *S.typhimurium* y *E.coli*, como control positivo se usó cloranfenicol (30 μg /sensidisco) y como control negativo DMSO 100%. La susceptibilidad de las bacterias fue determinada por el tamaño de la zona de inhibición (Tabla 7).

Tabla 7. Actividad antibacteriana de las heterochalconas **73-80** obtenidas por Khan *et al.*, 2013.

Compuesto	Zona de inhibición (mm)			
	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E.coli</i>
73	10.1 \pm 0.3	9.8 \pm 0.2	9.2 \pm 0.3	10.3 \pm 0.4
74	11.3 \pm 0.2	11.6 \pm 0.3	10.4 \pm 0.4	12.2 \pm 0.3
75	9.8 \pm 0.2	10.5 \pm 0.4	10.8 \pm 0.2	11.2 \pm 0.5
76	9.6 \pm 0.4	9.2 \pm 0.4	11.9 \pm 0.4	12.2 \pm 0.1
77	10.4 \pm 0.2	11.8 \pm 0.3	11.5 \pm 0.4	12.5 \pm 0.4
78	11.2 \pm 0.4	10.7 \pm 0.4	12.6 \pm 0.5	12.8 \pm 0.5
79	11.4 \pm 0.3	12.4 \pm 0.5	12.8 \pm 0.2	13.4 \pm 0.5
80	18.2 \pm 0.4	18.8 \pm 0.5	20.8 \pm 0.4	22.4 \pm 0.5

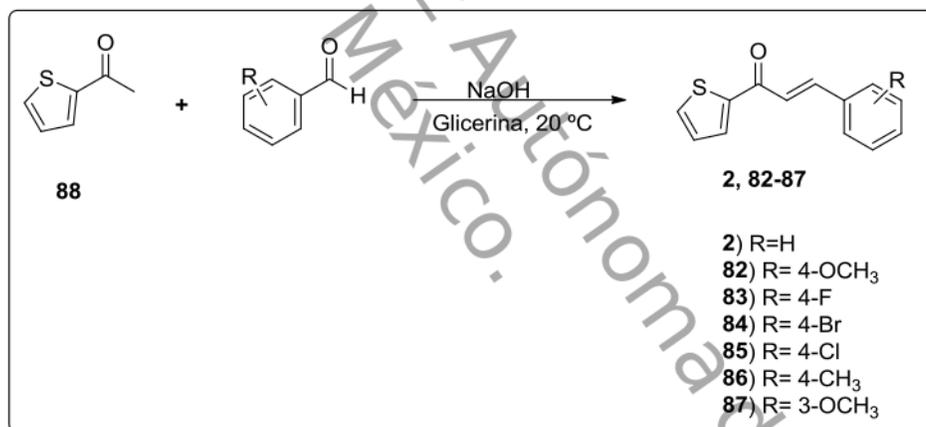
1

Síntesis de análogos heteroaromáticos de chalconas y su evaluación antibiótica *in vitro*

Cloranfenicol	17 ± 0.5	18.2 ± 0.4	17.2 ± 0.8	20 ± 0.2
DMSO	0	0	0	0

De acuerdo con el análisis de los datos, las heterochalconas **77-79** mostraron tener una buena potencia antibacteriana y, el compuesto **80** mostró una potencia mayor al compararla con el FR. De acuerdo a esta investigación las heterochalconas nitrogenadas poseen un mayor efecto antibacteriano comparándolas con las heterochalconas que poseen un heteroátomo diferente.

En el 2015 Ritter, *et al.*,¹⁹ trabajaron en la síntesis de las tiochalconas **2, 82-87** con un enfoque de química verde usando glicerina como disolvente en medio básico, condensando 2-acetiltiofeno (**88**) y siete benzaldehídos sustituidos, obteniendo rendimientos del 78 % al 96 % (Esquema 7).



Esquema 7. Síntesis de las tiochalconas obtenidas por Ritter, *et al.*, 2015.

La actividad antibiótica fue evaluada contra las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis* por el método de microdilución en caldo para determinar la concentración inhibitoria media (CI₅₀) de acuerdo al NCCLS (M7-A7) (Tabla 8).²⁰

Tabla 8. Determinación de la concentración inhibitoria media (CI₅₀) de las tiochalconas por Ritter, *et al.*, 2015

compuestos	CI ₅₀ (µg/mL)			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.faecalis</i>
2	420.5	---	---	471
82	--	--	--	--
83	---	---	---	30.2
84	--	--	--	13.9
85	---	---	---	---
86	--	--	--	--
87	219.1	---	441.9	338.5
Tetraciclina	<1	36.4	<1	<1

(--) mayor a 500 µg/ mL.

De acuerdo con los datos registrados en la Tabla 8 las tiochalconas **2** y **87** sí presentan efecto antibacteriano. **87** mostró efectividad contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis* (CI₅₀ de 219.1 µg/mL, 441.9 µg/mL y 338.5 µg/mL respectivamente). **83-84** mostraron un efecto inhibitorio frente a *Enterococcus faecalis* mientras que el resto de los compuestos sintetizados fueron inactivos.

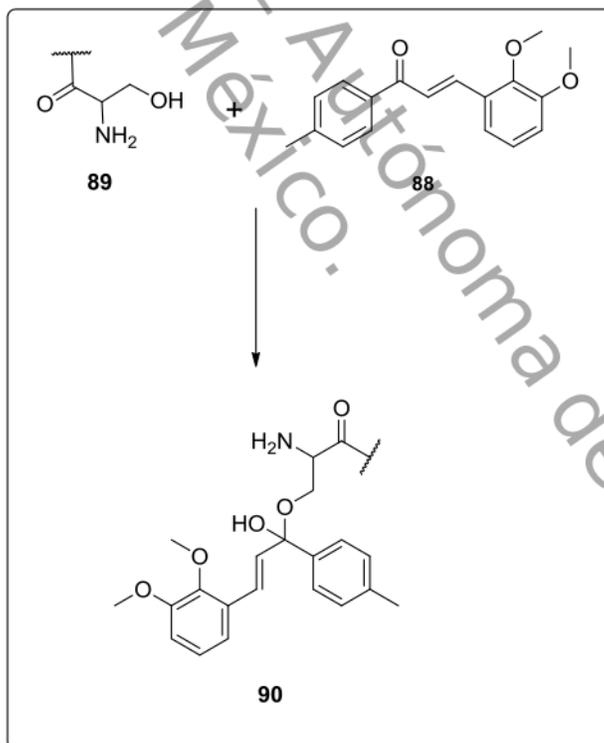
2.3 Las chalconas y su potencial como inhibidores enzimáticos.

Algunas cepas bacterianas han desarrollado mecanismos de resistencia a ciertos antibióticos. Uno de los mecanismos reportados que confieren esta resistencia es a través de la enzima β-lactamasa la cual es capaz de inactivar antibióticos de la familia de los β-lactámicos como las penicilinas y las cefalosporinas entre otros. Esta resistencia adquirida por las bacterias es un reconocido problema mundial de salud pública, al incrementar el riesgo de diseminación de infecciones ocasionadas por microorganismos resistentes y reducirse el número de antibióticos efectivos disponibles para su tratamiento.²¹

Jaramillo *et al.*,²² sintetizaron (*E*)-1-(4-metil-fenil)-3-(2,3-dimetoxifenil)-2-propen-1-ona (**88**) (Esquema 8) a la que le realizaron estudios cinéticos para evaluar su

efecto inhibitor, ya que pretendían comprobar la formación del enlace covalente que se establece entre el carbonilo de **88** y la serina 64 **89** procedente del sitio activo de la enzima β -lactamasa P99 de *Enterobacter cloacae*, y poder corroborar la formación del complejo enzima β -lactamasa-chalcona **90**, la cual disminuye la afinidad de la β -lactamasa por la ampicilina sin afectar la velocidad catalítica de la reacción. Dichos estudios se compararon con el tazobactam como FR (Esquema 8).

El modelado molecular de los complejos mostró que el efecto inductivo de los grupos electrodonadores en la posición *orto* y *meta* del anillo B favorece la interacción con los residuos de lisina-67 y serina-64 presente en el sitio activo, ejerciendo de esta manera la actividad inhibitoria protegiendo la integridad estructural de los antibióticos β -lactámicos.



Esquema 8. Complejo de β -lactamasa/chalcona **90**.

Actualmente es imperativo trabajar en la investigación y desarrollo de nuevos inhibidores de β -lactamasas que puedan extender la vida útil de los fármacos β -lactámicos o bien, proponer moléculas cuyas estructuras químicas incrementen sus propiedades farmacodinámicas y potencien su actividad antibacteriana como una alternativa eficaz al tratamiento de microorganismos resistentes a fármacos comunes, como es el caso de las chalconas, cuya composición química podría inhibir a las enzimas hidrolíticas que puedan alterar la integridad estructural de los fármacos β -lactámicos.²³

La síntesis de compuestos orgánicos cuya estructura contenga uno o más heteroátomos y/o la presencia de grupos que ayuden a aumentar la afinidad, favoreciendo el potencial farmacológico, es un área de mucho interés. Actualmente se ha estado trabajando para la obtención de nuevos análogos con las características establecidas.

CAPÍTULO III

MARCO TEÓRICO

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO 3

3. MARCO TEÓRICO

La mayoría de las enfermedades patógenas son a causa de microorganismos ya sea por bacterias o por hongos. Los antibióticos son la principal herramienta para tratar las infecciones causadas por estos microorganismos, inhibiendo el crecimiento o alterando rutas metabólicas necesarias para su existencia.²⁴ Actualmente, un amplio número de cepas bacterianas han desarrollado diversos mecanismos de resistencia. *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) se incluye entre estos microorganismos resistentes, frente a fármacos de uso común en particular al grupo de los β -lactámicos como penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos.²⁵

La determinación de la susceptibilidad bacteriana se realiza mediante pruebas en ensayos *in vitro*. El método de Kirby Bauer es aceptado por la NCCLS para evaluar la susceptibilidad bacteriana frente a diversos fármacos, clasificándolo a las bacterias como Sensible, Resistente o Intermedio de acuerdo al diámetro de inhibición.²⁰

3.1 Prueba de susceptibilidad bacteriana a antibiótica.

Se desarrolla por ⁶antibiograma, cuyo principal objetivo es evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antibióticos, el resultado de esta prueba es un ²factor predictivo de la eficacia clínica. El antibiograma define la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. El antibiograma puede realizarse por el método de dilución o por el método de difusión.²⁶

Para evaluar en forma cuantitativa la actividad de un antibiótico o de un compuesto químico se debe enfrentar a un microorganismo a una serie de disoluciones con diferentes concentraciones (μg o μM). La concentración más baja

que impide el crecimiento bacteriano después de 24 ± 4 h de incubación a una temperatura de 36 ± 2 °C se considera la concentración mínima inhibitoria (CMI).

3.2 Método cualitativo de detección de difusión en sensidisco (Kirby Bauer).

El antibiograma disco-placa está basado en el trabajo de Bauer, Kirby *et al.*,²⁷ es uno de los métodos que la NCCLS recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar en la superficie de agar de una placa de petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos.

Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde radialmente al agar, formándose un gradiente de concentración.²⁸⁻²⁹ Transcurridas 18-24 horas de incubación, se observa una zona translúcida alrededor del disco donde el crecimiento bacteriano ha sido inhibida (zona de inhibición o diámetro de inhibición), que indica que la cepa bacteriana es sensible al antibiótico. La concentración de antibiótico en la interface entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución.

Sin embargo, los métodos disco-placa no permiten una lectura directa del valor de la CMI. Para cuantificarla, basta con haber contrastado previamente el sistema disco-placa con un gran número de cepas con CMI conocidas que han sido determinadas previamente por otros métodos de susceptibilidad bacteriana como el método de dilución y/o infusión en agar.

Existen diámetros de inhibición, expresados en mm, estandarizados para cada antibiótico. Las bacterias deben clasificarse como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según los criterios establecidos por el NCCLS, basándose en el diámetro de la zona de inhibición. Dichos criterios están determinados para cada cepa bacteriana. En este trabajo se realizó el estudio de la cepa *Staphylococcus*

aureus aislada clínicamente siguiendo las recomendaciones de la NCCSL (Tabla 9).³⁰⁻³¹

Tabla 9. Concentración y zona de inhibición estandarizada de grupos de fármacos contra *Staphylococcus aureus*.

Grupo	Antibióticos	sensidisco (μg)	Criterios para considerar a las bacterias como R, I, S, de acuerdo al tamaño del diámetro de inhibición (mm)		
			R	I	S
A	Penicilina	10	≤ 28	---	≥ 29
	Amoxicilina / ácido clavulánico	20/10	≤ 18	19-21	≥ 22
B	Vancomicina	30	---	---	≥ 15
	Teicoplanina	30	≤ 11	11-13	≥ 14
	Eritromicina	15	≤ 13	14-22	≥ 23
	Claritromicina	15	≤ 13	14-17	≥ 18
	Azitromicina	15	≤ 13	14-17	≥ 18
	Clindamicina	2	≤ 14	15-20	≥ 21
	Trimetoprim/ sulfametoxazol	1.25/23.75	≤ 10	11-15	≥ 16
C	Gentamicina	10	≤ 12	13-14	≥ 15
	Ciprofloxacino	5	≤ 15	16-20	≥ 21
	Ofloxacino	5	≤ 12	13-15	≥ 16
	Levofloxacino	5	≤ 13	14-16	≥ 17
	Cloranfenicol	30	≤ 12	13-17	≥ 18
	Rifampicina	5	≤ 16	17-19	≥ 20
	Tetraciclina	30	≤ 14	15-18	≥ 19
D	Norfloxacino	10	≤ 12	13-16	≥ 17
	Lomefloxacino	10	≤ 18	19-21	≥ 22
	Nitrofurantoina	300	≤ 14	15-16	≥ 17
	Sulfisoxazol	250 o 300	≤ 12	13-16	≥ 17
	Trimetoprim	5	≤ 10	11-15	≥ 16

7 Las bacterias pueden adquirir resistencia a los antibióticos, mediante mutaciones de sus genes y por adquisición de genes resistentes de otras bacterias ó virus.

7 Esta "transferencia" puede ser por transducción o por transformación cuando el

intercambio genético se realiza entre bacterias de la misma especie ó de especies genéticamente muy próximas, y por conjugación cuando se intercambian genes entre diferentes especies, a través de transposones y plásmidos conjugativos.³²

3.3 Resistencia a los antimicrobianos.

La resistencia microbiana se define como la capacidad de los microorganismos para adaptarse y sobrevivir en condiciones ambientales relativamente hostiles como es el caso de la exposición a fármacos. Esta condición de estrés para el microorganismo, trae como resultado la destrucción de las cepas susceptibles, mientras que las cepas resistentes prosperan y ganan predominio. En el caso particular de las enfermedades infecciosas que afectan al hombre, esta reportado que, a mayor exposición al antibiótico mayor es la aparición de cepas resistentes. Actualmente muchos agentes patógenos causantes de infecciones nosocomiales y comunitarias presentan resistencia a diversos antimicrobianos, por lo que se han convertido en un grave problema de salud pública en todo el mundo.³³

Gran parte de la energía y de la capacidad genética de la célula bacteriana se utiliza para resistir activamente a los antibióticos,³⁴ un microorganismo es resistente desde el punto de vista biológico cuando las concentraciones de fármaco necesarias para su inhibición se hacen cada vez mayores y desde el punto de vista farmacológico, cuando se debe aumentar la dosis del antibiótico hasta niveles tan altos que resultarían tóxicos para el paciente.³⁵

Durante años, los laboratorios de microbiología clínica han realizado pruebas de sensibilidad a diversos fármacos en aislamientos bacterianos provenientes de infecciones comunes, evidenciando no solo los microorganismos patógenos asociados a enfermedades específicas, sino su progresiva resistencia a fármacos de uso común para su tratamiento.³⁶

La resistencia se evidencia en enfermedades infecciosas frecuentes que son tratadas con fármacos de uso común y que generalmente afecta a los pacientes más debilitados. Actualmente se considera que la interacción constante entre los

microorganismos y los agentes antibióticos constituyen la principal causa de la aparición de resistencia antimicrobiana.

Durante la vigilancia epidemiológica de resistencia a fármacos es fundamental conocer los patrones de sensibilidad de los patógenos provenientes de las comunidades y de los centros hospitalarios. De acuerdo a los casos clínicos proveniente de comunidades rurales, se han reportado un gran número de aislamiento de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Shigella* y *Salmonella*, mostrando resistencia a diversos tratamientos. Dentro del grupo de bacterias proveniente de aislamiento clínico en hospitales se han reportado *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterococcus spp* como cepas resistentes.³⁷

3.4 Impacto global de la resistencia antimicrobiana.

En la actualidad el tratamiento eficaz de las enfermedades infecciosas constituye uno de los principales retos en el sector salud y en investigación. Desde el descubrimiento de la penicilina en 1940, los avances en ciencia y tecnología farmacéutica han favorecido el desarrollo de antibióticos potentes,³⁸ sin embargo, su uso ejerce una presión de selección que trae consigo la diseminación de microorganismo patógenos con la capacidad de desarrollar mecanismos de resistencia. Este es un fenómeno que conlleva a un incremento constante en la diseminación de enfermedades infecciosas y a una menor disponibilidad de tratamientos eficaces para su tratamiento; una problemática creciente que amenaza la salud de las poblaciones en muchas partes del mundo.³⁹

En gran parte del mundo, se ha presentado una alta prevalencia de las enfermedades infecciosas en la población infantil principalmente afectada por enfermedades respiratorias y gastrointestinales ocasionadas por microorganismos patógenos resistentes.⁴⁰ Dicha resistencia, se atribuye a la enzima β -lactamasa generada por algunas cepas bacterianas tales como *Enterobacter cloacae*, por lo

que se ha trabajado en la búsqueda de compuestos capaces de inhibir dicha enzima.⁴¹

3.5 Estrategias para enfrentar la resistencia microbiana.

Tomando en cuenta que la resistencia es un problema mundial que se presenta actualmente en todos los ámbitos sociales, debido al uso y abuso de fármacos para el tratamiento de infecciones comunes entre la población, la combinación simultánea de diversas sustancias activas y la falta de apego a la terminación de los tratamientos farmacológicos. Esto ha llevado a la implementación de la farmacovigilancia en la distribución de los fármacos antimicrobianos en las instituciones del sector salud.⁴²

Por lo tanto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto algunas estrategias para contener la resistencia a los antibióticos, la cual se describe a continuación: 1) realizar pruebas de susceptibilidad microbiana para el uso adecuado de los antibióticos, evitando prescripciones médicas incorrectas. 2) monitorear el acceso de los antibióticos recetado por los médicos. 3) implementar capacitaciones en los sectores de salud pública sobre el uso adecuado y la administración de los antibióticos. 4) fomentar el desarrollo de nuevos compuestos cuya estructura química incremente sus propiedades farmacodinámicas y potencien su actividad antibiótica. 5) fomentar el desarrollo de nuevos fármacos con capacidad de contrarrestar los mecanismos de resistencia bacteriana. 6) Verificar la administración antibiótica a los animales destinados al consumo humano.⁴³

Llevando a la práctica estas estrategias se puede minimizar la aparición de bacterias resistentes a fármacos.

En las comunidades rurales con escasos recursos económicos y acceso limitado a servicios de salud pública, la población ha recurrido al uso de plantas medicinales como fuentes alternativas para el tratamiento de las enfermedades más

comunes.⁴⁴ De acuerdo a diversas investigaciones, los extractos y/o aceites esenciales de algunas plantas han mostrado poseer propiedades farmacológicas, debido a la existencia de compuestos orgánicos que fungen como principios activos entre los que se encuentran esteroides, alcaloides, flavonoides, encontrando compuestos del tipo chalconas y/o flavononas.⁴⁵

Algunas chalconas con sustituyentes electrodonadores en diversas posiciones han presentado actividad antibacteriana frente a cepas aisladas de *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus subtilis*,⁶ tal efecto se atribuye a la inhibición de la glicoproteína-P, proteína involucrada en la multirresistencia a los fármacos.⁴⁶

3.6 Chalconas.

Químicamente, el esqueleto de la chalcona está constituido por dos anillos aromáticos que están interconectados por tres carbonos que forman un sistema carbonílico α,β -insaturado, su nombre IUPAC es (*E*)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona. Un derivado es un compuesto que mantiene el esqueleto químico intacto y solamente varía la sustitución, mientras que un análogo se define por tener similitud con el compuesto original, variando el esqueleto químico original (Figura 3).

Los derivados y análogos de chalconas poseen una amplia gama de actividad biológica por ejemplo: anti-bacteriana, anti-fúngica y anti-cancerígena.⁴⁷ Los cambios estructurales presentes en las chalconas, le confieren una gran versatilidad para ser explotadas en el desarrollo de nuevos agentes medicinales, que sean más potentes y menos tóxicos.

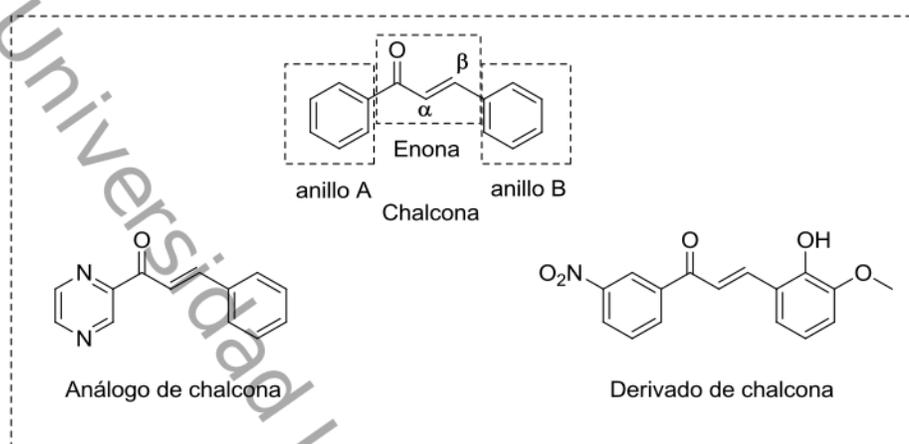


Figura 3. Estructura general de la chalcona, análogo y derivado.

En los últimos años, se han desarrollado muchas estrategias de síntesis principalmente a partir de derivados de acetofenona y aldehídos aromáticos, así como también modificaciones a la estructura fundamental de la chalcona con el propósito de encontrar agentes farmacológicos con alguna actividad específica. Las chalconas poseen dos sitios altamente electrofílicos por lo que son considerados buenos receptores de nucleófilos (Figura 4).⁴⁸

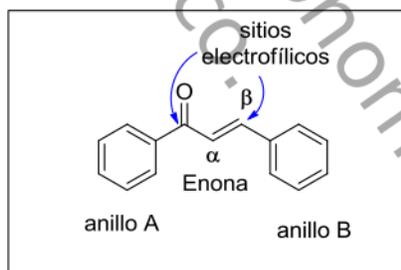
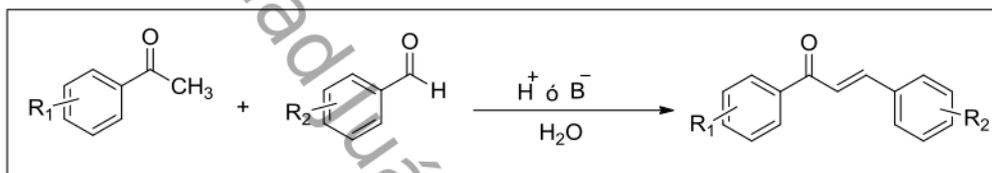


Figura 4. Sitios electrofílicos de la chalcona.

3.7 Síntesis de chalcona.

El primer trabajo de síntesis de chalconas se realizó en el último decenio del Siglo XIX y fue llevado a cabo mediante la condensación de aldehídos aromáticos y derivados de acetofenona, siendo la reacción catalizada tanto por ácidos como por bases en condiciones homogéneas, y fue reportada por Kostanecki, *et al.*, (Esquema 9).⁴⁹

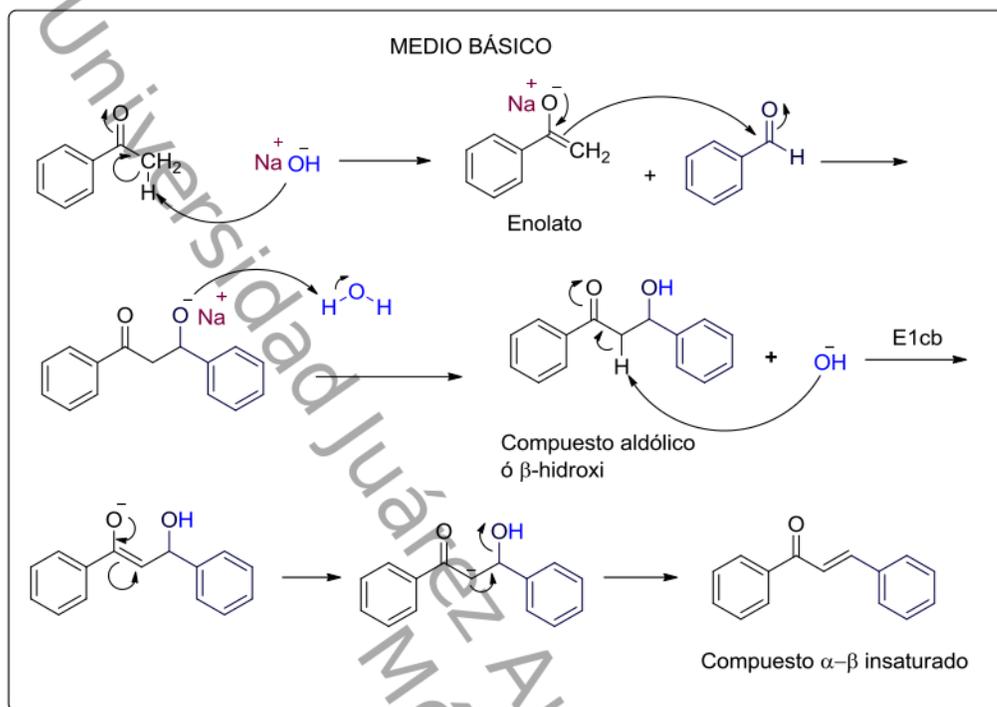
No obstante, esta vía ampliamente utilizada, tiene la desventaja de demandar mucha energía, utilizada en sistemas de reflujos exhaustivos y operaciones de enfriamientos en algunas etapas de síntesis, además del consumo de disolventes para la extracción y purificación del producto los cuales suelen ser residuos tóxicos que hay que tratar antes de desecharlos por el riesgo de contaminar el ambiente.⁵⁰



Esquema 9. Síntesis de chalcona.

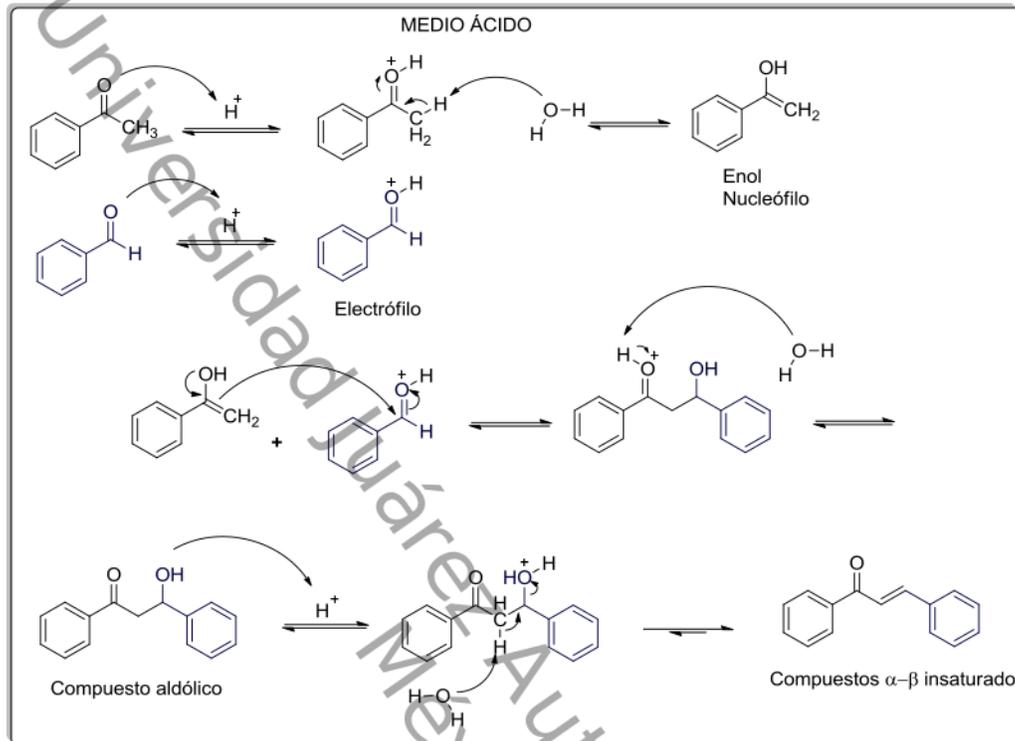
3.8 Mecanismo de reacción por condensación Claisen-Schmidt.

Actualmente, esta reacción y su mecanismo han sido arduamente estudiados. Se conoce que la condensación de aldehídos aromáticos con derivados de la acetofenona puede llevarse ya sea en medio básico (Esquema 10)⁴⁹ como en medio ácido (Esquema 11).



Esquema 10. Mecanismo de reacción para la obtención de la Chalcona por medio básico.

En presencia de una base la reacción aldólica procede por la extracción de un protón α al carbonilo de la acetofenona, formándose un enolato. Este actúa como nucleófilo, que ataca al grupo carbonilo del benzaldehído, formándose un intermediario llamado compuesto aldólico ó β -hidroxilo, que posteriormente se deshidrata para producir el compuesto α,β -insaturado.⁵¹ De igual forma se puede catalizar la reacción en medio ácido, en donde la primera etapa del mecanismo involucra la tautomerización del compuesto carbonílico para formar un intermediario enólico. El ácido también tiene como función activar el grupo carbonílico del aldehído mediante protonación, haciéndolo altamente electrófilo. El compuesto enólico es nucleofílico en el carbono α , permitiéndole atacar al carbonilo del aldehído, conduciendo a un compuesto intermediario aldólico. Éste suele deshidratarse para producir el compuesto α,β insaturado.⁵²



Esquema 11. Mecanismo de reacción para la obtención de la Chalcona por medio ácido.

Durante muchos años la mayoría de los compuestos se obtenían de forma natural y provenían de extracciones de plantas, actualmente el desarrollo tecnológico ha favorecido la síntesis de un gran número de moléculas en el laboratorio. La creciente demanda de fármacos y otros productos farmacéuticos han causado un impacto negativo al medio ambiente, sobre todo por los residuos que se generan durante los procesos de síntesis, producción o como productos de desecho. Esta problemática hace imperativa la generación de métodos más eficientes que minimicen la producción de residuos.⁵³ La química verde busca reducir la cantidad de materiales y energía durante la síntesis de moléculas, reduciendo al mínimo la cantidad de desechos.⁵⁴ Así, se han desarrollado tecnologías para optimizar el uso de energía en los procesos químicos, implementando el uso de ultrasonido y microondas como fuentes alternativas de energía con potencial para acelerar las reacciones químicas.⁵⁵

Entre los objetivos principales de la química verde esta reducir y/o eliminar los disolventes considerados tóxicos por otros ecoamigables como el acetato de etilo y el etanol. Para lograr esto se han generado estrategias de síntesis en ausencia de disolventes sin descuidar el rendimiento de las mismas.⁵⁶

3.9 Parámetros para la estimación de la sostenibilidad.

Existen parámetros que permiten analizar y evaluar el impacto ambiental de un proceso químico. Hay una amplia gama de posibilidades para determinar estos parámetros, sin embargo muchos de ellos consideran variables difíciles de cuantificar. Actualmente los conceptos de residuo o subproducto han sido bien aceptados para determinar el impacto ambiental de un proceso químico. Se considera residuo cualquier disolvente empleado en una síntesis y como subproducto toda sustancia que se genere distinta del producto objetivo.

3.10 La ecoescala.

En el 2006, Aken, *et al.*,⁵⁷ desarrollaron una herramienta de análisis semi-cuantitativa para evaluar la calidad de una reacción basada en parámetros económicos y ecológicos. Para dicha evaluación se usa una escala del 0 al 100, de forma que cero representa una reacción que ha resultado completamente fallida (rendimiento = 0%), mientras que el 100 representa una transformación ideal en la que un sustrato se transforma con un rendimiento del 100%, a partir de reactivos de bajo precio, a temperatura ambiente, con un riesgo mínimo para el operador y un impacto ambiental mínimo.

Se han establecidos seis parámetros que influyen en la calidad de las condiciones de la reacción: 1) rendimiento, 2) precio de reactivos, catalizadores y disolventes, 3) seguridad, 4) manipulación, 5) temperatura/tiempo y 6) procesado y purificación (Tabla 22, en la página 77, Anexo I). A cada uno de estos parámetros se le asignan puntos de penalización, cubriendo las posibles situaciones que se producen en una reacción química a escala laboratorio. La puntuación final de la reacción o ecoescala, viene dada por la ecuación 1:

$$\text{Ecoescala} = 100 - \sum \text{puntos de penalización} (1)$$

Con esa metodología es posible evaluar el impacto ambiental que se produce en la obtención de un compuesto determinado. Si el porcentaje obtenido es mayor que 75, el proceso es calificado como **excelente**, si se sitúa entre 50-74 es **aceptable** y si es menor a 50 es **inadecuado**.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO IV

JUSTIFICACIÓN

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO 4

4. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones provocadas por bacterias son un problema grave de salud pública en todo el mundo. A pesar de la amplia gama de fármacos disponibles para tratamiento de enfermedades infecciosas, su uso inadecuado ha generado la aparición de resistencia en un gran número de microorganismos patógenos dificultando la eficacia de los tratamientos actuales. Es por ello que se requieren nuevas estrategias para la síntesis de nuevas moléculas orgánicas con una mayor efectividad farmacológica aumentando la sostenibilidad de las reacciones.

En la actualidad se reporta un interés creciente por la síntesis de derivados y análogos de chalconas debido a su potencial antibiótico. Es por ello que el presente trabajo propone la síntesis de seis compuestos de tipo chalcona mediante condensación de Claisen-Schmidt siguiendo estrategias de química verde y la evaluación *in vitro* del efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *S.aureus*.

CAPÍTULO V

OBJETIVOS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO 5

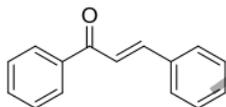
5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

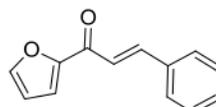
Sintetizar, caracterizar químicamente los análogos de chalcona y evaluar su actividad antibacteriana *in vitro*.

5.2 Objetivos específicos

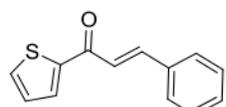
1. Sintetizar los compuestos **1-6**, a partir de benzaldehído y la arilmetilcetona correspondiente, mediante metodología de química verde.



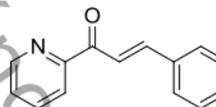
(*E*)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona
1



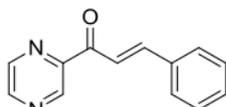
(*E*)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona
4



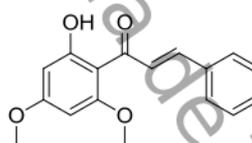
(*E*)-3-fenil-1-(2-tiofenil)prop-2-en-1-ona
2



(*E*)-3-fenil-1-(2-piridinil)prop-2-en-1-ona
5



(*E*)-3-fenil-1-(2-pirazinil)prop-2-en-1-ona
3



(*E*)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona
6

2. Evaluar la sostenibilidad de las metodologías empleadas en la síntesis del derivado y de los análogos de chalconas mediante la ecoescala propuesta por Aken, 2006.⁵⁷

3. Caracterizar los compuestos, mediante análisis fisicoquímico (punto de fusión) y espectroscópicos (RMN ^1H y RMN ^{13}C).
4. Evaluar la actividad antibacteriana de los seis compuestos *in vitro* por el Método de Kirby Bauer.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO VI

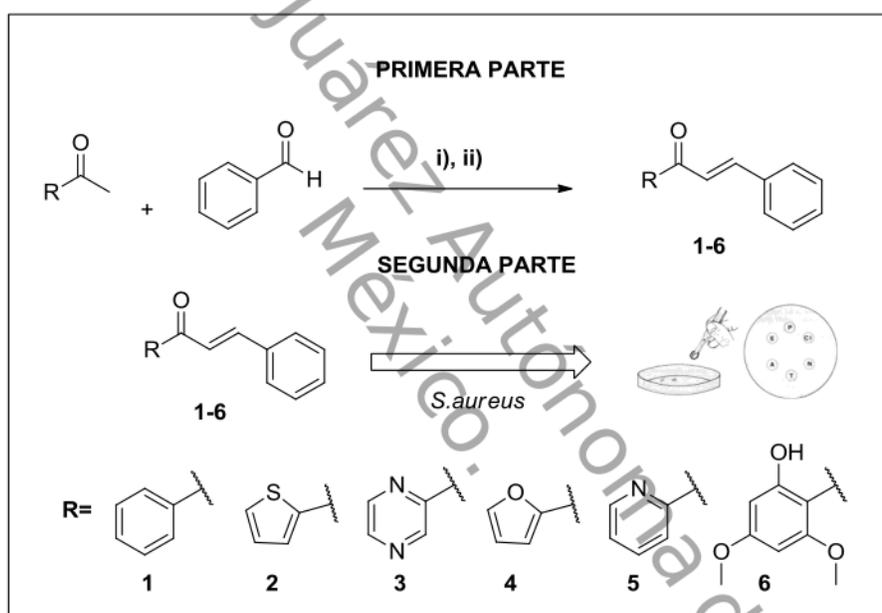
METODOLOGÍA

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO 6

6. METODOLOGÍA

La presente investigación se llevó a cabo en dos etapas: 1) proceso de síntesis, caracterización físico-químico, y el análisis semicuantitativo de la ecoescala y 2) evaluación del efecto inhibitorio sobre crecimiento de *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) por el método de Kirby Bauer (antibiograma) (Esquema 12).



Esquema 12. Esquema general del proceso de síntesis vía condensación Claisen-Schmidt y su evaluación antibacteriana. Reactivos y condiciones i) 2-acetilpirazina, Etanol, dimetilamina. ii) NaOH, Etanol, t. amb.

6.1 Métodos generales

El progreso de todas las reacciones fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF) realizada sobre cromatofolios Merck de gel de sílice 60 (con indicador de fluorescencia de 254 nm y espesor de 0.2 mm), se usó permanganato de potasio (K₂MO₄) como agente revelador. Los compuestos fueron secados en una

estufa marca RIOSSA. Los disolventes de grado técnico fueron destilados antes de su uso.

Los reactivos de partida: 2-acetilpiridina, 2-acetilpirazina, 2-acetiltiofeno, 2-acetilfurano, 1-(2-hidrox-4,5-dimetoxifenil)-etanol, y benzaldehído, se consiguieron comercialmente de la compañía Aldrich.

Para la generación de energía ultrasónica se utilizó un baño de ultrasonido (US) Cole-Palmer modelo 08890-21.

6.2 Proceso de Síntesis

A continuación, se describe la metodología empleada para la obtención de los compuestos sintetizados.

6.2.1 Método general *a*:

En un matraz redondo de 50 mL, se disolvió benzaldehído (0.81 mmol) en 8 mL de etanol. Esta mezcla se agitó constantemente a una temperatura de 0°C. Posteriormente, a esta solución se le agregó la arilmetilcetona correspondiente (0.81 mmol) y 4 mL de una solución 1M de NaOH (0.81 mmol) por goteo.⁴⁸ Esta mezcla se mantuvo en agitación vigorosa hasta alcanzar temperatura ambiente (28±2 °C). El consumo de la materia prima se comprobó por CCF (AcOEt/Hexano 2:8), y se reveló a la luz ultravioleta o con KMnO₄. El sólido formado se separó por filtración, lavó con agua fría y secó a 40 °C. La purificación se realizó por columna cromatográfica (15/85 AcOEt/Hexano) y por cristalización por par de disolventes (diclorometano/hexano).

6.2.2 Método general *b*:

En un matraz balón de 50 mL se adicionó la acetona correspondiente (0.81 mmol) y benzaldehído (0.81 mmol) en 8 mL de etanol, a esta solución se agregaron 0.042 mL de dimetilamina (0.81 mmol) por goteo. Esta mezcla se agitó constantemente hasta solubilizar las materias primas. Posteriormente la mezcla se

activo mediante sonicación ultrasónica por 3 h a 65 °C, se retiró del baño y se agitó constantemente hasta la formación de un sólido.⁵⁸ El sólido formado se separó por filtración, lavó con agua fría y secó a 40 °C, su purificación se realizó por columna cromatográfica (15/85 AcOEt/Hexano).

6.2.3 Caracterización físico-químico

Se determinó punto de fusión de cada compuesto empleando un equipo Fisher – Jones y no están corregidos (Figura 5).



Figura 5. Equipo Fisher-Jones para puntos de fusión.

Para obtener los espectros en RMN ¹H y ¹³C se empleó el espectrómetro modelo Bruker Ascend™ (500 y 600 MHz) (Figura 6).



Figura 6. Equipo de RMN Bruker Ascend™ 600.

6.2.4 Pruebas de solubilidad

Se realizaron pruebas de solubilidad a cada uno de los compuestos sintetizados. Los disolventes que se emplearon fueron solución salina, metanol (MeOH),

diclorometano (DCM), acetato de etilo (AcOEt), dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), cloroformo y etanol (EtOH).

En 8 tubos de ensayo (13 mm X 75 mm) se agregó 20 mg del compuesto a analizar. Posteriormente a cada tubo se le agregó 200 μ L de cada disolvente y se agitó a temperatura ambiente (28 ± 2 °C). En los tubos donde no se disolvió a este volumen, se le añadió solvente en porciones de 200 μ L hasta completar un volumen final de 600 μ L. Los compuestos que no presentaron solubilidad en 600 μ L, se sometieron a calentamiento en baño maría con agitación constante.⁵⁹

6.2.5 *Análisis semicuantitativo de la ecoescala.*

El análisis para determinar la calidad de las reacciones durante el proceso de síntesis se realizó de acuerdo a las indicaciones propuesta por Van Aken en base a la ecoescala. (Sesión 3.10, página 30-31)

6.3 **Evaluación antibiótica.**

6.3.1 *Preparación del medio de cultivo.*

Se usó agar Mueller Hinton deshidratado como medio de cultivo (BD Bioxon, Lot

mm/1/4”), se almacenaron en viales de vidrio de 10 mL y se esterilizaron en autoclave a 15 psi durante 15 minutos. (Figura 7).



Figura 7. Sensidiscos empleados en los antibiogramas.

6.3.3 Activación y crecimiento bacteriano.

Una cepa de *Staphylococcus aureus* proveniente de muestras clínicas, se aisló y activó mediante sembrado por estría simple de acuerdo al método del CLSI (del inglés, *Clinical and Laboratory Standards Institute*). Esta placa se usó como base para el sembrado en los ensayos *in vitro*.

Bajo condiciones asépticas, un inóculo de la cepa bacteriana previamente activada se tomó mediante el uso de un asa bacteriológica. El inóculo se disolvió en 5 mL de solución salina (0.9 %) y su turbidez se cuantificó de acuerdo a la escala de McFarland en un espectrofotómetro Genesys™ 10S Uv-vis (Thermo Fisher Scientific) a 625 nm. Brevemente, se preparó una serie de disoluciones de cloruro de bario 0.48 M (1% p/v) en ácido sulfúrico 0.18 M (1% v/v) generando una curva de calibración ($R^2=0.9949$), sobre la cual se interpoló la absorbancia de la suspensión bacteriana, se procuró una concentración final de $1.5-4 \times 10^8$ UFC/mL por inóculo (Tabla 10).⁶⁰

Tabla 10. Preparación de los estándares de McFarland.

Tubo	Escala McFarland	BaCl 0.048 M (mL)	H ₂ SO ₄ 0.18 M (mL)	UCF/mL (X 10 ⁸)
1	0.5	0.05	9.95	1.5
2	1.0	0.10	9.90	3.0
3	2.0	0.20	9.80	6.0
4	3.0	0.30	9.70	9.0
5	4.0	0.40	9.60	12.0
6	5.0	0.50	9.50	15.0
7	6.0	0.60	9.40	18.0
8	7.0	0.70	9.30	21.0
9	8.0	0.80	9.20	24.0
10	9.0	0.90	9.10	27.0
11	10.0	1.00	9.00	30.0

Para definir la curva de calibración que mejor representa la relación entre la absorbancia (**A**) y la concentración (**C**) se realizó cálculos de regresión lineal como se describe en la ecuación 2:

$$A = mC + b(2)$$

Para obtener la pendiente (**m**) se empleó la siguiente fórmula.

$$m = \frac{n(\sum AC - \sum A \sum C)}{n \sum C^2 - (\sum C)^2} (3)$$

Para la ordenada al origen (**b**) se utilizó la fórmula que se muestra a continuación:

$$b = \bar{A} - m\bar{C}(4)$$

Donde \bar{A} es la media de la absorbancia y \bar{C} es la media de la concentración, para determinar las medias se empleó las siguientes fórmulas:

$$\bar{C} = \frac{\sum C}{n}; \bar{A} = \frac{\sum A}{n} \text{ Donde } n = \text{número de tubos (muestra)} (5)$$

Y por último se empleó la ecuación 6 para determinar el coeficiente de correlación (R^2).

$$R^2 = \frac{[n(\sum CA) - (\sum C)(\sum A)]^2}{[(n(\sum C^2) - (\sum C)^2) * (n(\sum A^2) - (\sum A)^2)]} \quad (6)$$

Todos los valores se corroboraron usando Excel.

6.3.4 Método cualitativo de la susceptibilidad bacteriana (Antibiograma).

Cada evaluación antibiótica se realizó en condiciones asépticas y de acuerdo al método de difusión descrita por Kirby, *et al.*,⁶¹ siguiendo las recomendaciones del CLSI. Esta prueba se realizó en tres etapas, 1) optimización de cuatros disolventes, dimetilsulfóxido (DMSO), diclorometano (DCM), etanol (EtOH), cloroformo (CH_3Cl) y una solución acuosa de lidocaína® (LID), evaluando la toxicidad frente a *S.aureus* y su efecto de solubilidad de 4 (10 y 100 μg /sensidisco), se seleccionó el menos toxico y el más efectivo para solubilizar los compuestos 1-6. Ampicilina (Amp.), amoxicilina/Ácido Clavulánico (Amox-Ac.), clindamicina (Clin.), Gentamicina (Gent.), tetraciclina (Tet.) y nitrofurantoina (Nit.), se emplea como fármacos de referencia.²⁰ 2) Evaluación antibiótica de los compuestos 1-6: se evaluó a diferentes concentraciones (2-300 μg /sensidisco) empleando el disolvente que no presentó inhibición del crecimiento bacteriano. Brevemente, cada placa fue inoculada mediante estriado triple, posteriormente cuatro sensidiscos se distribuyeron sobre la superficie.⁶² Sobre cada uno de estos sensidisco se deposita 10 μL de cada uno de los siguientes compuestos: 1) H_2O , 2) Fármaco de Referencia (FR), 3) solvente y, 4) Compuesto 1-6 (Figura 8).

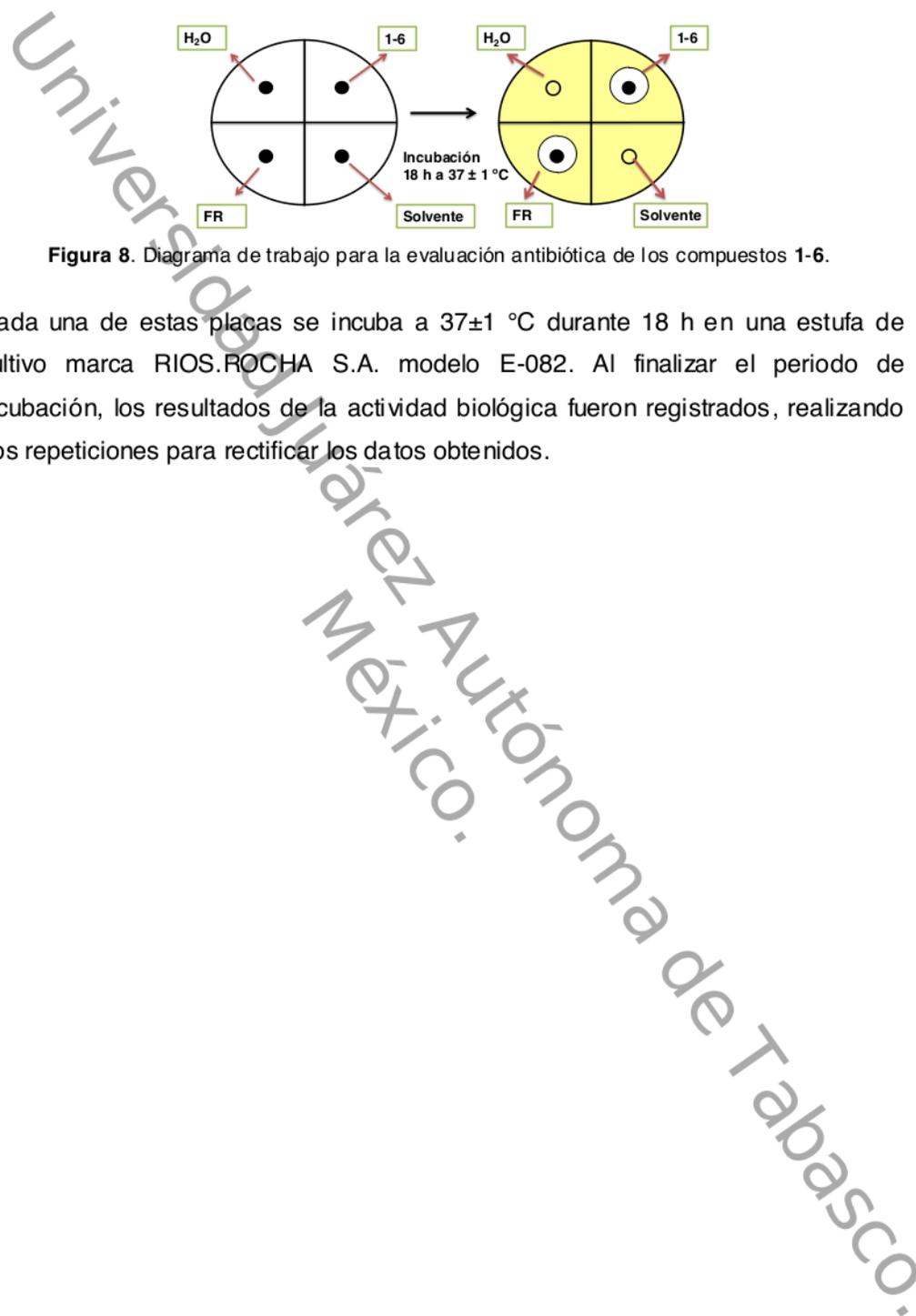


Figura 8. Diagrama de trabajo para la evaluación antibiótica de los compuestos 1-6.

Cada una de estas placas se incubó a 37 ± 1 °C durante 18 h en una estufa de cultivo marca RIOS.ROCHA S.A. modelo E-082. Al finalizar el periodo de incubación, los resultados de la actividad biológica fueron registrados, realizando dos repeticiones para rectificar los datos obtenidos.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

CAPÍTULO VII

RESULTADO Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 7

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 PROCESO DE SÍNTESIS

7.1.1 Síntesis de los compuestos sintetizados.

A excepción del compuesto **3**, todos los compuestos se obtuvieron mediante la metodología **a** (Sección 6.2, página 36, Esquema 13).

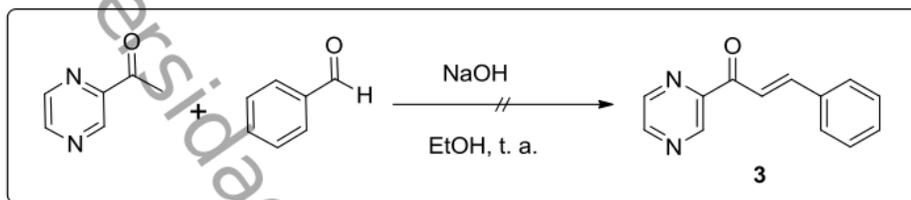
Al tratar de obtener **3** mediante la metodología **a** se obtuvo un polvo blanco con alto punto de fusión (192-194 °C), el cual se le realizaron las caracterizaciones correspondientes (RMN ¹H y ¹³C). El análisis de RMN mostró desplazamiento químico que no corresponde al compuesto de interés. Pensando en activaciones alternas, se probaron ocho condiciones de reacción mediante activación ultrasónica o por microondas, observando nuevamente como producto al sólido no deseado (Condición A-G, Tabla 11).

Tabla 11. Condiciones de reacción para la obtención del compuesto **3**.

Condición	Tiempo	Activación química	Etanol	R% 3	R% de desconocido
A	15min.	Microondas ^a	S/disolvente	0	0
B	4h.	Agitación ^d	1.8ml	0	71.2
C	2.5h.	Agitación ^d	5ml	0	96
D	75min	Ultrasonido ^c	s/disolvente	0	40
E	2h.	Ultrasonido ^c	5ml	0	70
F	10min.	Microondas ^b	7ml	0	75
G	15min.	Microondas ^d	7mL	0	85
H	3 h	Ultrasonido ^e	5 mL	80	0

a) 55 °C, 80% potencia, 1 psi, ácido *P*-TsOH (.5 eq.). b) 55 °C, 80% potencia, 1 psi, 1.5 NaOH (1.5 eq.). c) 60 °C, 1.5M NaOH (1.5 eq.). d) 1.5 M NaOH (1 eq.). e) 1 eq. dimetilamina, etanol, 65 °C.

Los datos espectroscópicos del compuesto desconocido mostraron señales en campos altos (1-4 ppm para CH₃ y CH₂), de acuerdo a la estructura del compuesto **3**, se espera observar desplazamiento en campos bajo (7.3-9.3 ppm).

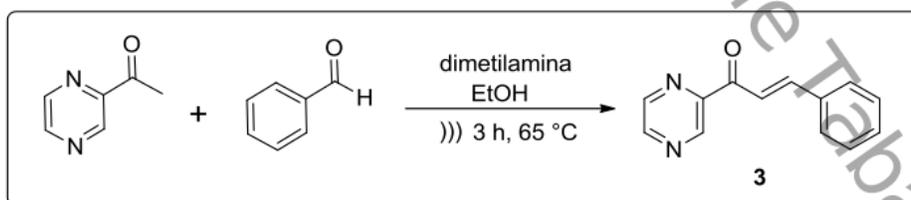


Esquema 13. Ruta sintética para obtener el compuesto **3**, mediante la metodología **a**.

Frente a la problemática presentada, se procedió a la búsqueda bibliográfica donde se describiera una ruta sintética viable para la obtención del compuesto **3**, encontrando que Optelalová, *et al.*,⁵⁸ en el año 2006 reportó la metodología **b** (Sección 6.2, página 36), la cual se reprodujo realizándole algunas modificaciones. (Condición H, Esquema 14)

Debido a la reactividad de la 2-acetilpirazina, se empleó dimetilamina (base débil) para llevar a cabo la reacción, ya que con hidróxido de sodio (base fuerte) se obtenía un compuesto diferente al esperado.

El compuesto **3** se caracterizó mediante técnicas espectroscópica (punto de fusión, RMN ¹H y ¹³C) observándose desplazamiento en 7.40-9.23 ppm y señales dobles (15 Hz) de los protones α y β.

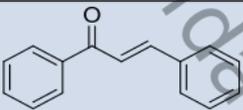
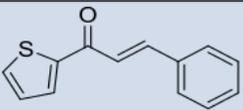
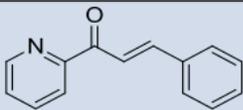
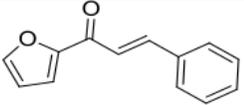
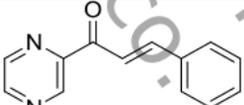
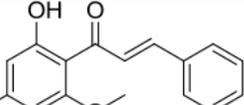


Esquema 14. Ruta sintética para la obtención de **3**.

Las estructuras de los compuestos sintetizados en la presente investigación, propiedades físicas, y rendimientos obtenidos para cada una se presentan en la

Tabla 12. Los rendimientos oscilaron entre 80 y 95%, observándose para cada compuesto un color característico.

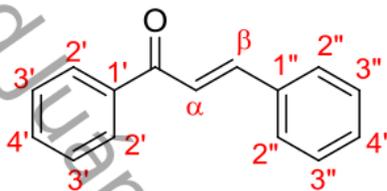
Tabla 12. Datos físico-químicos de los compuestos sintetizados 1-6.

(<i>E</i>)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona 1	(<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-tiofenil)prop-2-en-1-ona 2	(<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-piridinil)prop-2-en-1-ona 3
 	 	 
Sólido blanco Punto de Fusión: 53 °C Rendimiento: 85 %	Sólido blanco Punto de Fusión: 80 °C . Rendimiento: 95 %	Sólido verde. Punto de Fusión: 62-64 °C . Rendimiento: 80%
(<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona 4	(<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-pirazinil)prop-2-en-1-ona 5	(<i>E</i>)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona 6
 	 	 
Sólido blanco Punto de Fusión: 78-82 °C . Rendimiento: 95 %	Sólido amarillo Punto de Fusión: 98-100 °C . Rendimiento: 80 %	Sólido amarillo. Punto de Fusión: 82-84 °C . Rendimiento: 82 %

7.1.2 Caracterización espectroscópica

Los espectros obtenidos nos ayudaron a elucidar y determinar las estructuras **1-6**. A continuación se presentan los datos derivados de la resonancia magnética nuclear ^1H y ^{13}C en cloroformo-D (CDCl_3) o metanol-D₄ (CD_3OD) en el equipo Bruker Ascend™ de 500 o 600 MHz teniendo frecuencia 150 y 125 MHz en ^{13}C .

7.1.2.1 (E)-1,3-difenil-prop-2-en-1-ona (**1**).



PM= 208.26 g/mol

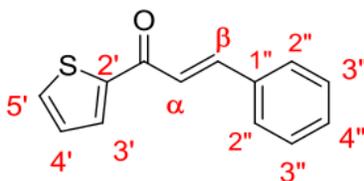
Fórmula= $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$

p.f.= 53 °C

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3)		
δ ppm	I, m, J (Hz)	Asignación
7.40	3H, m	3'' y 4''
7.48	2H, t (7.2, 6.0)	3'
7.52	1H, d (15.6)	α
7.56	1H, t (7.2, 1.5)	4'
7.63	2H, m	2''
7.8	1H, d (15.6)	β
8.02	2H, dd (6.0, 1.5)	2'

RMN ^{13}C (150 MHz)	
δ ppm	Asignación
122.6	α
129.0	2''
129.0	3''
129.2	2'
129.5	3'
131.1	4''
133.3	4'
135.4	1''
138.7	1'
145.4	β
191.0	C=O

7.1.2.2 (E)-3-fenil-1-(2-tiofenil)prop-2-en-1-ona (2).



PM= 214.05 g/mol

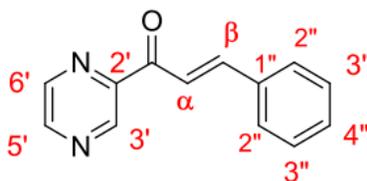
Fórmula = C₁₃H₁₀OS

p.f.=80 °C

RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD)		
δ ppm	I, m, J (Hz)	Asignación
7.28	1H, dd (5.0, 3.8)	4'
7.47	3H, m	3'' y 4''
7.71	1H, d (15.6)	α
7.77	2H, m	2''
7.82	1H, d (15.6)	β
7.91	1H, dd, (5, 1)	5'
8.14	1H, dd (3.8, 1.0)	3'

RMN ¹³ C (125MHz)	
δ ppm	Asignación
121.3	α
128.3	4'
128.4	2''
128.7	3''
130.4	4''
132.9	3'
134.6	5'
134.7	1''
143.9	β
145.3	2'
182.8	C=O

7.1.2.3 (E)-3-fenil-1-(2-pirizil)prop-2-en-1-ona (3).



PM= 210.08 g/mol

Fórmula = C₁₃H₁₀N₂O

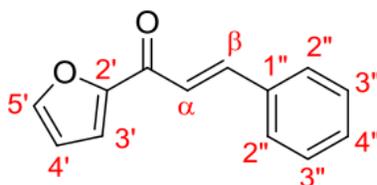
p.f. 98-100 °C

RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD)		
δ ppm	I, m, J (Hz)	Asignación
7.47	3H, m	3'' y 4''
7.77	2H, m	2''
7.96	1H, d (16.0)	β
8.23	1H, d (16.0)	α
8.80	1H, dd (2.5, 1.5)	5'
8.82	1H, d (2.5)	6'
9.28	1H, d (1.5)	3'

RMN ¹³ C (125 MHz)	
δ ppm	Asignación
119.9	α
128.5	2''
128.8	3''
130.8	4''
134.8	1''
143.8	5'
143.9	3'
145.3	β
147.3	6'
148.6	2'
188.5	C=O

1

7.1.2.4 (E)-3-fenil-1-(2-furanyl)prop-2-en-1-ona (4).



PM= 98.07 g/mol

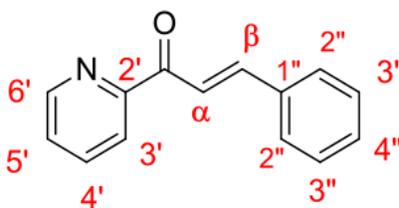
Fórmula= C₁₃H₁₀O₂

p.f.= 82-84 °C

RMN ¹ H (500MHz, CD ₃ OD)		
δ ppm	I, m, J (Hz)	Asignación
6.72	1H, dd (3.6, 1.6)	4'
7.46	3H, m	3'' y 4''
7.59	1H, dd (3.6, 0.6)	3'
7.62	1H, d (15.8)	α
7.75	1H, m	2''
7.85	1H, d (15.8)	β
7.88	1H, dd (1.6, 0.6)	5'

RMN ¹³ C (125 MHz)	
δ ppm	Asignación
112.4	4'
118.7	3'
121	α
128.4	2''
128.7	3''
130.5	4''
134.6	1''
144.0	β
147.8	5'
153.4	2'
178.2	C=O

7.1.2.5 (E)-3-fenil-1-(2-piridinil)prop-2-en-1-ona (5).



PM= 209.08 g/mol

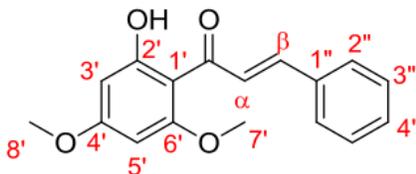
Fórmula = C₁₄H₁₁ON

p.f.=62-64 °C

RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD)		
δ ppm	I, m, J (Hz)	Asignación
7.46	3H, m	3'' y 4''
7.62	1H, ddd, (7.8, 4.7)	5'
7.75	2H, dt, (5.3, 2)	2''
7.9	1H, d, (16)	β
8	1H, td, (7.8, 1.6)	4'
8.16	1H, dd, (7.8, 0.8)	3'
8.29	1H, dd, (16)	α
8.76	1H, ddd, (4.7, 1.6, 0.8)	6'

RMN ¹³ C (125 MHz)	
δ ppm	Asignación
120.6	α
122.6	3'
127.1	5'
128.4	2''
128.7	3''
130.5	4''
135.0	1''
137.4	4'
144.6	β
148.8	6'
153.9	2'
189.4	C=O

7.1.2.6 (E)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (6).



PM= 284.10 g/mol

Fórmula= C₁₇H₁₆O₄

p.f.= 82- 84 °C

RMN ¹ H (500MHz, CD ₃ OD)		
δ ppm	I, m, J (Hz)	Asignación
3.83	3H, S	8'
3.91	3H, S	7'
5.9	1H, d, (2.5)	3'
6.1	1H, d, (2.5)	5'
7.39	3H, m	3'' y 4''
7.6	2H, m	2''
7.7	1H, d, (15.0)	β
7.9	1H, d, (15.0)	α
14.32	1H, S	OH

RMN ¹³ C (125 MHz)	
δ ppm	Asignación
55.6	8'
55.9	7'
91.3	5'
93.8	3'
106.3	1'
127.5	α
128.4	2''
128.9	3''
130.1	4''
135.6	1''
142.4	β
162.5	6'
166.3	2'
168.4	4'
196.7	C=O

Los datos espectroscópicos nos muestran los desplazamientos y las multiplicidades de cada hidrógeno presenten en las estructuras. Los compuestos sintetizados tienen fragmento de sus estructuras similares, teniendo núcleos equivalentes, mostrando desplazamientos, multiplicidad e intensidad en el mismo rango.

Los protones 2", 3" y 4" del anillo aromático (Anillo B), que se visualizan en un desplazamiento de 7.77-7.39 ppm. Los protones α de los compuestos **1-2**, **4** y **6**, se visualizan en campos altos (7.52-7.90ppm) con respecto a los protones β , generado por la protección del heteroátomo en el anillo A (O, S, C). Para los compuestos **3** y **5** los protones α , se visualizan a 8.23 ppm y 8.29 ppm respectivamente, dicho desplazamiento puede ser atribuido a la desprotección generada por efecto inductivo del nitrógeno. La presencia de los protones α y β fue determinada por medio de su multiplicidad (*doblete*) y la constante de acoplamiento (15-16 Hz). Del mismo modo se muestra en ^{13}C , donde el carbono α se visualiza en campos bajos (119.9-127.5 ppm) con respecto al carbono β , los cuales se visualizan en campos altos (142.4-145.4 ppm). Los carbonos 2" se visualizan en campos altos con respecto a los carbonos 3". Los hidrógenos y carbonos no discutidos poseen desplazamientos propios y característicos de acuerdo a la estructura química propuesta.

7.1.3 Prueba de solubilidad

La prueba de solubilidad se realizó de acuerdo al procedimiento mencionado en la sección 6.2.4, página 37 y los resultados se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Solubilidad de los compuestos sintetizados.

Disolvente	1	2	3	4	5	6
Solución salina	-	-	-	-	-	-
Metanol	+ Δ					
Diclorometano	+	+	+	+	+	+
AcOEt	+	+	+	+	+	+
DMSO	+	+	+	+	+	+

DMF	+Δ	+Δ	+Δ	+Δ	+Δ	+Δ
Cloroformo	+	+	+	+	+	+
Etanol	+Δ	+Δ	+Δ	+Δ	+Δ	+Δ

+ (Soluble), +Δ (Soluble en caliente), -(Insoluble).

Los solventes capaces de solubilizar a los compuestos **1-6** fueron diclorometano, AcOEt y DMSO. La solución salina no solubilizó ninguno de los compuestos sintetizados. Todos los compuestos fueron solubles en calientes en los solventes utilizados.

7.1.4 Análisis de la ecoescala

En las siguientes tablas se muestra los análisis efectuados para determinar la calidad de la síntesis de los compuestos **1-6**.

Tabla 14. Análisis de la ecoescala de **1, 3, 5-6**.

Compuesto	1	3	5	6
Parámetros				
1. Rendimiento (ε)	85 %	80 %	80 %	82 %
<i>Ponderación parcial</i>	2.5	10	10	9
2. Precios de los componentes de la reacción	Acetofenona Benzaldehído Etanol NaOH.	2-acetilpirazina Benzaldehído Etanol NaOH.	2-acetilpiridina Benzaldehído Etanol NaOH.	1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)etanol Benzaldehído Etanol, NaOH.
<i>Ponderación parcial</i>	0	0	0	3
3. seguridad	EtOH (F)	EtOH (F)	EtOH (F)	EtOH (F)
<i>Ponderación parcial</i>	5	5	5	5
4. Manipulación convencional	Manipulación común	Tecn. Activ. no convencional	Manipulación común	Manipulación común
<i>Ponderación parcial</i>	0	2	0	0
5. Temperatura/Tiempo	Tem. Amb.< 24	Cal.> 1 h	Tem. Amb.< 24	Tem. Amb.< 24

	h 0°C	Tem. Amb.< 1 h	h 0°C	h 0°C
<i>Ponderación parcial</i>	5	3	5	5
6. Procesado y purificación	C. Cromat. y fil.			
<i>Ponderación parcial</i>	11	11	11	11
Penalización total (Pt)	23.5	31	31	33
Ecoescala= 100-Pt	76.5	69	69	67
Ponderación	Excelente	Aceptable	Aceptable	Aceptable
Economía atómica:	92.92 %	92.04 %	92.07 %	93.97 %
Eficiencia atómica:	78.98 %	73.63 %	73.65 %	77.05 %

De acuerdo a los resultados obtenidos nuestro proceso de síntesis del compuesto **1** tiene una ponderación **Excelente** (76.5), mientras que **3**, **5** y **6** tienen una ponderación **Aceptables** (67-69) con base al rango establecido en la sección 3.6, página 30-31. Estas ponderaciones se obtuvieron debido al uso de EtOH como disolvente ecoamigable y al buen rendimiento. En economía atómica y eficiencia atómica se obtuvieron porcentajes buenos (92.97-93.97%) y moderados (77.05-78.98%).

Para las heterochalconas de cinco miembros en el anillo "A" los resultados finales fueron ponderaciones de **Excelente** para **2** y **Aceptable** para **4**. Las buenas ponderaciones se debieron a que ambos compuestos obtuvieron rendimientos superiores al 95 %. En el caso de **2**, se debió tanto al buen rendimiento como a su pureza, por lo que no fue necesario emplear técnicas de purificación. De igual manera se observó buen resultado en la EfA, obteniendo 91% **2** y 87% **4** (Tabla 15).

Tabla 15. Análisis de la ecoescala de las heterochalconas 2 y 4.

Reacción:

2) X= O
4) X= S

Compuesto	2	4
Parámetros		
1. Rendimiento (ε)	96 %	95 %
<i>Ponderación parcial</i>	2	2.5
2. Precios de los componentes de la reacción	2-acetilfiteno Benzaldehído Etanol NaOH	2-acetilfurano Benzaldehído Etanol NaOH
<i>Ponderación parcial</i>	0	0
3. seguridad	EtOH (F) 2-acetilfiteno (T)	EtOH (F) 2-acetilfurano (N, T)
<i>Ponderación parcial</i>	10	15
4. Manipulación convencional	<i>Manipulación común</i>	<i>Manipulación común</i>
<i>Ponderación parcial</i>	0	0
5. Temperatura/Tiempo	<i>Tem. Amb. < 24 h</i> 0°C	<i>Tem. Amb. < 24 h</i> 0°C
<i>Ponderación parcial</i>	5	5
6. Procesado y purificación	Crist. y fil.	C. Cromat. Crist. y fil.
<i>Ponderación parcial</i>	1	11
Penalización total	18	33.5
Ecoescala= 100- penalización total	82	66.5
Ponderación	Excelente	Aceptable
Economía atómica:	91.36%	91.60 %
Eficiencia atómica:	87.70 %	87.02 %

7.2 Evaluación antibiótica.

7.2.1 Determinación de la turbidez.

Se realizó la curva de calibración, para medir la turbidez siguiendo el procedimiento de McFarland. Se obtuvieron las absorbancias de las diluciones para calcular la ecuación de la recta (Tabla 23, página 87, Anexo IV). La absorbancia de la suspensión bacteriana fue interpolada sobre la curva de calibración, para poder determinar las concentraciones de los inóculos preparados durante las evaluaciones de 1-6 (Tabla 16).

Tabla 16. Absorbancia obtenida de los estándares de McFarland.

Tubo	Escala McFarland	UCF/mL (X10 ⁸)	Absorbancia
1	0.5	1.5	0.146
2	1.0	3.0	0.312
3	2.0	6.0	0.502
4	3.0	9.0	0.627
5	4.0	12.0	0.814
6	5.0	15.0	0.961
7	6.0	18.0	1.124
8	7.0	21.0	1.282
9	8.0	24.0	1.420
10	9.0	27.0	1.570
11	10.0	30.0	1.680
Inoculo		4.99	0.413

Alternamente, la turbidez se determinó visualmente comparando la suspensión bacteriana (Figura 9).

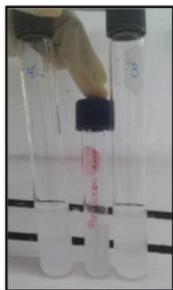
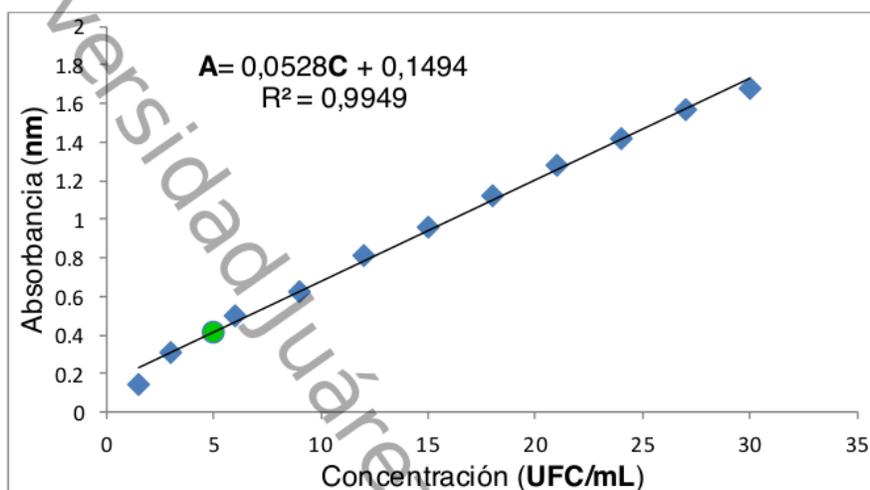


Figura 9. Turbidez del inoculo de *Staphylococcus aureus*.

A continuación, se muestra la curva de calibración y la ecuación de la recta obtenida por mínimos cuadrados. (Gráfica 2)



Gráfica 2. Recta de la concentración de la escala de McFarland.

El punto color verde especifica la concentración y la absorbancia del inóculo de la cepa de *Staphylococcus aureus* obtenida mediante el despeje de la ecuación de la recta.

7.2.2 Método cualitativo de la sensibilidad antibacteriana (Antibiograma).

La efectividad de los compuestos como agente antibiótico fue evaluada por el método de difusión de disco descrita por Kirby Bauer de acuerdo al CLSI.⁶³

7.2.2.1 Evaluación tóxica de las soluciones frente a los fármacos de referencia.

Como primer acercamiento experimental se trabajó con el compuesto **4** usando dos concentraciones (**a**= 10 µg/sensidisco y **b**= 100 µg/sensidisco) empleando los cuatro disolventes DMSO, DCM, EtOH y CH₃Cl y la solución acuosa de lidocaína, evaluando su efecto de solubilidad e inhibidor. Las placas petri fueron divididas en 4 secciones, las cuales fueron rotuladas como se muestra en la Figura 10.

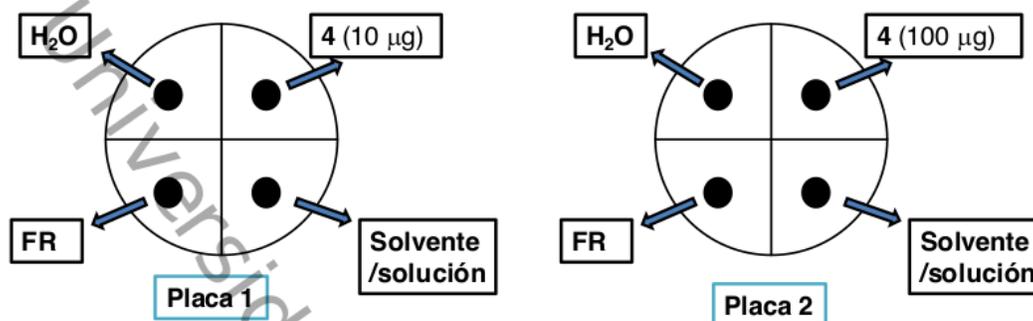


Figura 10. Diagrama de trabajo para la evaluación antibacteriana 4.

Los fármacos empleados como agentes antibióticos de referencia, así como las concentraciones y los rangos de inhibición establecidos por la NCCLS⁶² se muestra en la Tabla 17.

Tabla 17. Concentración recomendada por la NCCLS de los antibióticos utilizados para la prueba de antibiograma y criterios para considerar a las bacterias como R, I, S de acuerdo al tamaño del diámetro de inhibición.

Antibiótico	µg/ sensibilidad	Criterios para considerar a las bacterias R, I, S. (mm)		
		R	I	S
Amp.	10	≤16	---	≥17
Amox-Ac.	31/2.215	≤18	19-21	≥22
Clin.	2	≤14	15-20	≥21
Gent.	10	≤12	13-14	≥15
Tet.	30	≤14	15-18	≥19

La elección del disolvente fue en base a su capacidad de disolver el compuesto 4, así como su toxicidad (inhibición) frente a *Staphylococcus aureus* (Tabla 18).

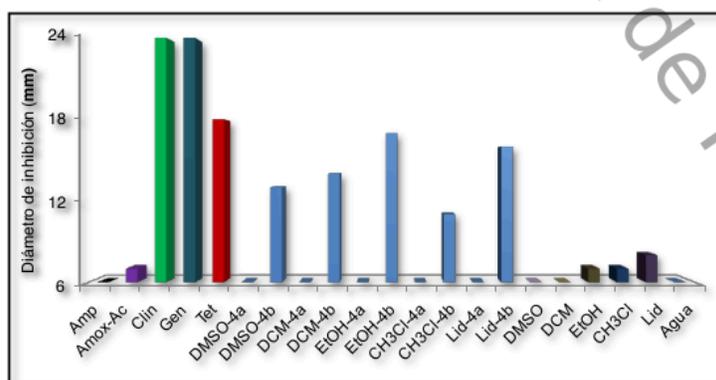
Tabla 18. Diámetro de inhibición de **4** (10 µg/sensidisco).

Solvente/Solución	Compuesto	µg/sensidisco	Diámetro de inhibición (mm)
DMSO	4	10	6*
DCM	4	10	6*
EtOH	4	10	6*
CH ₃ Cl	4	10	6*
Lid.	4	10	6*
DMSO		10 µL	6*
DCM		10 µL	6*
EtOH		10 µL	7
CH ₃ Cl		10 µL	7
Lid.		10 µL	8
Agua		10 µL	6*

*Medida del disco

Como se puede observar en esta tabla, el compuesto **4** a una concentración de 10 µg/sensidisco, no presentó inhibición, *Staphylococcus aureus* resultó ser sensible a EtOH, CH₃Cl y a la solución de Lid., por lo que se descartó para la siguiente fase experimental.

El efecto inhibitorio de **4** se refleja a 100 µg/sensidisco disuelto en cualquier de los cinco disolventes utilizados (Gráfica 3).



Gráfica 3. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (10 y 100 µg/sensidisco) frente a *Staphylococcus aureus*.

El efecto inhibitorio de **4** a 100 µg/sensidisco disuelto en EtOH presentó un efecto inhibitorio (17 mm) más potente frente a *S.aureus* con respecto a los otros solvente (12-15 mm).

S.aureus no presentó sensibilidad hacia DMSO y DCM (Tabla 17), por lo que fueron utilizados en la siguiente fase experimental (evaluaciones de 10 concentraciones, 2-300 µg/sensidisco). *S.aureus* mostró resistencia a los fármacos β-lactámicos (ampicilina y amoxicilina/ácido clavulánico), y resultó susceptible a tetraciclina, gentamicina y Clindamicina.

En la siguiente fase experimental se emplearon Amox-Ac., Clin., Tet. y Nit., como fármacos de referencia. **4** fue evaluado a diferentes concentraciones (2-300 µg/sensidisco), empleando DMSO como disolvente (Tabla 19).

Tabla 19. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelto en DMSO comparadas con los fármacos de referencia.

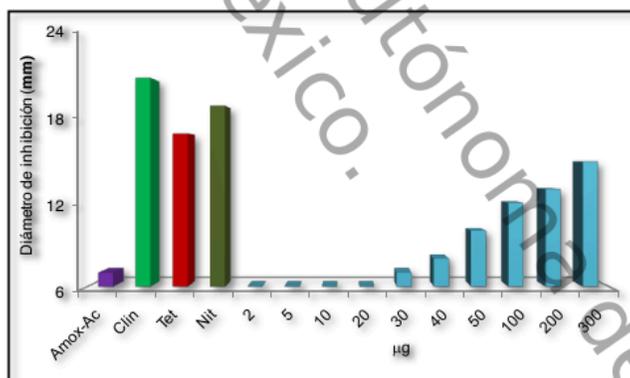
Solvente	Compuesto	µg/sensidisco	Diámetro de inhibición (mm)
Agua	Amox-Ac.	31/2.215	7
Agua	Clin.	2	22±1
Agua	Tet.	30	17±2
Agua	Nit.	300	19±2
DMSO	4	2	6*
DMSO	4	5	6*
DMSO	4	10	6*
DMSO	4	20	6*
DMSO	4	30	7
DMSO	4	40	8
DMSO	4	50	10

DMSO	4	100	12
DMSO	4	200	13
DMSO	4	300	15

*medidas del disco. NE= No Establecido.

Los sensidiscos controles (DMSO y H₂O) no presentaron inhibición.

Los fármacos de referencia mostraron inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* a excepción de Amox-Ac., de los cuales Clin., y Nit., resultaron los más potentes (diámetro de inhibición de 22 mm y 19 mm respectivamente), Tet., resultó de potencia intermedia (diámetro de inhibición de 17 mm) y Amox-Ac., resultó ser el menos potente (Diámetro de inhibición de 7 mm). El efecto inhibitorio causado por **4** se observa a partir de 30 μ g/sensidisco donde se presentó una zona de inhibición de 7 mm, aumentado (8-14 mm) conforme al aumento de la concentración (40-300 μ g/sensidisco). Los sensidisco control no presentaron zona de inhibición (Gráfica 4).



Gráfica 4. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 μ g/sensidisco) disuelto en DMSO comparadas con los fármacos de referencia.

El mismo procedimiento experimental se realizó empleando DCM como disolvente, Amox-Ac., Clin., Tet., como fármacos de referencia. (Tabla 20).

Tabla 20. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelto en DCM comparándola con los fármacos de referencia.

Solvente	compuesto	µg/sensidisco	Diámetro de inhibición (mm)
Agua	Amox-Ac.	31 / 2.215	7
Agua	Clin.	2	28±1
Agua	Tet.	30	16±1
DCM	4	2	6*
DCM	4	5	6*
DCM	4	10	6*
DCM	4	20	6*
DCM	4	30	6*
DCM	4	40	9
DCM	4	50	9
DCM	4	100	9
DCM	4	200	8
DCM	4	300	9

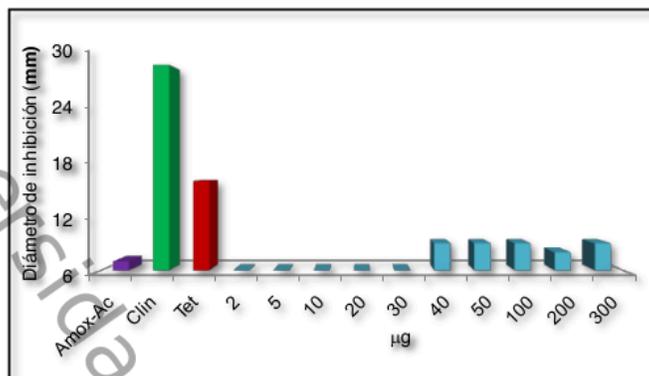
*medidas del disco. NE= No Establecido.

Los sensidiscos controles (DMSO y H₂O) no presentaron inhibición.

Como resultado esperado, *Staphylococcus aureus* mostró susceptibilidad a Clin., y Tet., (Diámetro de inhibición de 24 y 16 mm, respectivamente) mientras que a Amox-Ac., resultó ser resistente.

El efecto inhibitorio del compuesto se presentó una concentración de 40 µg/sensidisco (diámetro de inhibición de 9 mm).

El compuesto **4** ocasionó un diámetro de inhibición de 8-9 mm para las concentraciones de 50-300 µg/sensidisco. Los sensidiscos controles no presentaron diámetro de inhibición (Gráfica 5).



Gráfica 5. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DCM comparándola con los fármacos de referencia.

En esta fase experimental observamos una disminución en los diámetros de inhibición conforme a los resultados anteriores, dicha disminución se debe al punto de ebullición del DCM (40 °C), como se trabajó en un área aséptica (empleando lámpara de alcohol 44±2 °C), el disolvente se evaporaba, lo que impedía tomar adecuadamente las alícuotas e impregnar adecuadamente los sensidisco.

7.2.2.1 Evaluación antibacteriana (*E*)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona (**1**), (*E*)-3-fenil-1-(2-tiofenil)pro-2-en-1-ona (**2**), (*E*)-3-fenil-1-(2-pirazinil)pro-2-en-1-ona (**3**), (*E*)-3-fenil-1-(2-piridinil)pro-2-en-1-ona (**5**), (*E*)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)pro-2-en-1-ona (**6**).

De acuerdo a los datos obtenidos, el DMSO no presentó inhibición frente a *S.aureus*, punto de ebullición superior a 50 °C y su capacidad de solubilizar por lo que se empleó como disolvente para la última fase experimental (Tabla 21).

Tabla 21. Evaluación de la actividad inhibitoria de 1-3 y 5-6.

$\mu\text{g/sensidisco}$	Compuestos					
	Amox-Ac	1	2	3	5	6
31/2.215	7	ND	ND	ND	ND	ND
2	ND	6*	6*	6*	6*	6*
5	ND	6*	6*	6*	6*	6*
10	ND	6*	6*	6*	6*	6*
20	ND	6*	7	6*	6*	6*
30	ND	7	7	12	12	6*
40	ND	9	9	13	14	6*
50	ND	9	9	14	13	6*
100	ND	10	9	15	14	6*
200	ND	10	9	17	11	6*
300	ND	10	8	18	14	6*

*medida del sensidisco. ND= No Determinado.

Los sensidisco controles (DMSO y H₂O) no presentaron inhibición.

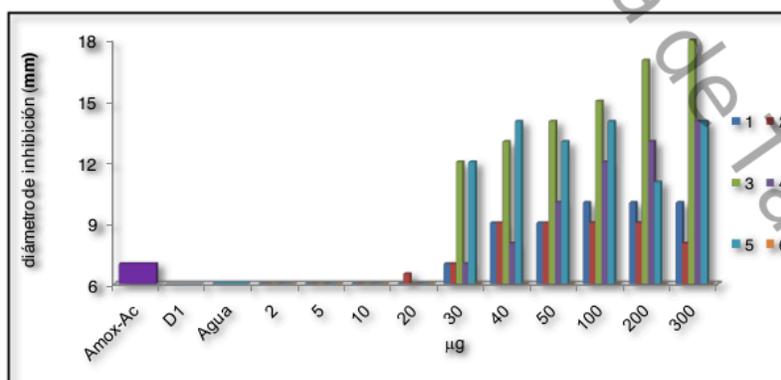
Se ha reportado que más del 80% de las cepas *S.aureus* presentan algún tipo de resistencia a penicilinas, en este caso y de acuerdo a los criterios establecidos por la NCCLS *S.aureus* usada en los ensayos *in vitro* resultó resistente a Amox-Ac., presentando un diámetro de inhibición de 7 mm (Resistencia ≤ 18 mm). Todos los antibiogramas del compuesto **1** registraron inhibición del crecimiento a 30 $\mu\text{g/sensidisco}$ (7 mm) y hasta 300 $\mu\text{g/sensidiscos}$ (10 mm).

El compuesto **2** presentó un diámetro de inhibición de 7 mm a 20 μg /sensidisco y 9 mm a 40 μg /sensidisco permaneciendo constante hasta 200 μg /sensidisco, esto debido a la absorción sobre el sensidisco.

El compuesto **3** mostró un efecto inhibitorio a 30 μg /sensidisco (12 mm), aumentando con forma a la concentración, alcanzando un diámetro de inhibición de 18 mm a 300 μg /sensidisco.

El compuesto **5** mostró un diámetro de inhibición de 12 mm a 30 μg /sensidisco, 14 mm a 40 μg /sensidisco, 13 mm a 50 μg /sensidisco, manteniéndose constante entre 100-200 μg /sensidisco (14 mm).

Por último el compuesto **6** no presentó efecto inhibitorio a las diferentes concentraciones (2-300 μg /sensidisco). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) es prioritario promover la investigación dirigida a la generación de nuevos compuestos con propiedades antibacterianas efectivas contra bacterias con fármacorresistencia creciente. En base a los resultados obtenidos de los antibiogramas realizados (Anexo VII, páginas 100-105), los compuestos **1-5** si mostraron un efecto inhibitor del crecimiento frente a la cepa bacteriana resistente a diferencia de las penicilinas y del compuesto **6** (Gráfica 6).



Gráfica 6. Diámetro de inhibición (mm) de 1-6 (2-300 μg /sensidisco) frente a *Staphylococcus aureus*.

Diversos autores han atribuido el efecto inhibitorio a la composición química de las chalconas y a su sistema α,β -insaturado, cuyo potencial puede ser modificado en función del número de heteroátomos y/o sustituyentes en las diversas posiciones del anillo aromático.

En esta investigación el compuesto **3** resultó ser 15% más efectivo que **5**, 25% más que **4**, 40% que **1** y **2** y 45% más que Amox-Ac. Siendo **3** el compuesto con mayor efecto inhibitorio frente a *S.aureus*. El compuesto **6** no presentó efecto inhibitorio. De acuerdo a la literatura, el compuesto **6** ha mostrado efecto citotóxico, esto debido a su composición estructural.⁶⁴

CAPÍTULO VIII

CONCLUSIÓN

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO 8

8. CONCLUSIÓN

1. Los derivados y análogos de chalconas **1-2**, **4-6** fueron obtenidos mediante la metodología reportada por Matus, *et al.*,⁶⁵ y Gómez, *et al.*,⁶⁶ en tiempo de 3-4 h y rendimiento de 80 al 96 %; la metodología empleada cumple con cuatro principios de la química verde. El compuesto **3** se obtuvo mediante activación ultrasónica bajo las modificaciones de la metodología de Optelalová, *et al.*⁵⁸

2. De acuerdo con el análisis semicualitativo de la ecoescala, las metodologías empleadas resultaron ser aceptables (**3-6**) o excelentes (**1-2**), a pesar de tener penalizaciones altas en los parámetros de procesado y purificación, siendo óptima para reproducción de otros derivados tanto de acetofenona como de benzaldehído. Es importante señalar que se empleó un disolvente ecoamigable (EtOH) durante la reacción, así se reduce el impacto ambiental. En todas las reacciones químicas, se busca la obtención de compuestos puros con rendimiento superiores al 80 %, evitando métodos de purificación para favorecer la metodología.

3. La determinación tanto de la geometría *trans* (notación *E*) del enlace doble, así como la elucidación de los compuestos, se obtuvo a través de las constantes de acoplamiento y los desplazamientos químicos de los hidrógenos α y β del sistema insaturados como los hidrógenos de los ciclos heteroaromáticos, los cuales concordaban con lo reportado en la literatura.⁶⁷

4. Se optimizó el uso del disolvente para determinar el efecto inhibitorio de los compuestos, siendo DMSO y DCM los más eficaces mientras que EtOH, CH₃Cl y la solución acuosa de Lid., presentaron efecto inhibitorio con diámetros de 7-8 mm. Cabe mencionar que los disolventes fueron utilizados al 100% debido a que en diluciones con agua inferiores al 90% se observó la formación de precipitado o difases como fue el caso del DCM.

5. Se usó DMSO y DCM para la disolución de **4**, en la evaluación de las diferentes concentraciones (2-300 μg /sensidisco) comparando los diámetros obtenidos con los fármacos de referencia (Amp., Amox-Ac., Clin., Gen., Tet., y Nit.). DMSO mostró ser el disolvente más eficaz, observándose diámetro de inhibición 30% más amplio que los presentados por DCM.

6. El potencial farmacológico de los compuestos se atribuye a la composición estructural de cada compuesto, ya que la presencia de heteroátomos en el anillo A y el sistema α,β -insaturado determinó la efectividad inhibitoria. El compuesto **3** resultó ser 15% más efectivo que **5**, 25% más que **4**, 40% más que **1** y **2** y 45% más efectivo que Amox-Ac., concluyendo así que el aumento de heteroátomos electronegativos favorece al efecto inhibitorio frente a *S.aureus*. El compuesto **1** mostró ser farmacológicamente activo de acuerdo a lo reportado en la literatura.

7. El estudio mostró que *Staphylococcus aureus* resultó ser susceptible a Clin., Tet., Gen., Nit., mientras que con los fármacos del grupo β -lactámicos presento resistencia, por otro lado los compuestos **1-5** mostraron efecto inhibitorio frente a *S.aureus* observándose diámetros de inhibición del 25-50% con respecto a los fármacos β -lactámicos. Para evaluar el efecto inhibitorio de los compuestos DMSO se usó como disolvente y Amox-Ac., como fármaco de referencia. Estos hallazgos resultan de gran de interés en la búsqueda de fármacos alternativos para el tratamiento de microorganismo resistentes causantes de enfermedades en el ámbito de la salud pública.

8. Como trabajo extra, al compuesto **4** (10 y 100 μg /sensidisco) se le realizó evaluación antifúngica (Tabla 36 y Tabla 37, páginas 98-99, Anexo VI) frente a *Candida Albica*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* y *Candida sp.*, empleando fluconazol como fármacos de referencia, demostrando propiedades antifúngicas a 100 μg /sensidisco para el tratamiento de cepas de hongo resistentes a fármacos de uso común como fluconazol.

CAPÍTULO IX

PERSPECTIVAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
Mexico.

CAPÍTULO 9

9. PERSPECTIVAS

- El éxito en la síntesis de los análogos de chalcona facilita el camino para la obtención de diversos análogos con diferentes sustituyentes, empleando la misma metodología.
- La síntesis química de los análogos y derivados de chalcona es un campo muy estudiado debido a su gran potencial farmacológico, por lo que se está trabajando en la optimización de la metodología para la síntesis de los análogos y derivados de chalconas, procurando la disminución de residuos y técnicas de purificación.
- Debido al potencial farmacológico que presentan estos compuestos, se pretende trabajar en los métodos cuantitativos para la detección de la antibiosensibilidad antimicrobiana y antifúngica de los análogos que aquí se reportan.
- La gran variedad farmacológica que presentan estos compuestos complementada con el análisis de la relación estructura-actividad, representan un campo de estudio completo, por lo que se pretende dar seguimiento.

CAPÍTULO X

BIBLIOGRAFÍA

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
Mexico.

CAPÍTULO 10

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Torres-Sauret, Q. Preparación de sales de Zinke con un enfoque de química verde. Licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Cunduacan, Tabasco, 2015.
2. McMurry, J., *Química Orgánica*. 8ª ed.; México, 2008; p 274.
3. Baviskar, B. A.; Baviskar, B.; Shiradkar, M. R.; Deokate, U. A.; Khadabadi, S. S., Antimicrobial activity of some novel. Benzimidazolyl chalcones. *E-Journal of Chemistry*. **2009**, *6*, 196–200.
4. Hatish, P.; Anshul, C.; Anil, K. S.; Rajeev, K., Chalcone as a versatile moiety for diverse pharmacological activities. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2012**, *3*(7), 1913-1927.
5. Gómez-Rivera, A.; Aguilar-Mariscal, H.; Romero-Ceronio, N.; Fuente, L. F. R.-d. I.; Lobato-García, C. E., Synthesis and anti-inflammatory activity of three nitro chalcones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 5519-5522.
6. Liu, X. L.; Xu, Y. J.; Go, M. L., Functionalized chalcones with basic functionalities have antibacterial activity against drug sensitive *Staphylococcus aureus*. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2008**, *43* (8), 1681-1687.
7. Pérez, D. R. M., Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud* **1998**, *22* (3), 57-67.
8. Gomez-Rivera, A. Un enfoque verde para la síntesis de chalconas nitro sustituidas y evaluación de sus actividad antiinflamatoria. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, 2012.
9. Micetich RG, S. S., Maiti SN, Reddy AVN, Singh R., β -Lactamases and their Inhibitors: An Update. *Current medicinal chemistry anti infective agents* **2002**, *1*, 193-213.

10. Mokle, S. S.; Khansole, S. V.; Patil, R. B.; Vibhte, Y. B., Synthesis and antibacterial activity of some new chalcones and flavones having 2-chloro-8-methoxyquinolinyl moiety. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* **2010**, *1* (1), 1-7.
11. Tiwari, B.; Pratapwar, A. S.; Tapas, A. R.; Butle, S. R.; Vatkar, B. S., Synthesis and antimicrobial activity of some chalcone derivatives. *International Journal of chemTech Research*. **2010**, *2* (1), 499-503.
12. Bhuiyan, M. M. H.; Hossain, M. I.; Mahmud, M. M.; Al-Amin, M., Microwave-assisted efficient synthesis of chalcones as probes for antimicrobial activities. *Journal of Chemistry*. **2011**, *1* (1), 21-28.
13. Prasad, Y. R.; Kumar, P. P.; Kumar, P. R.; Rao, A. L., Synthesis and antimicrobial activity of some chalcones of 2-Acetyl pyridine. *E-Journal of Chemistry*. **2008**, *5* (1), 144-148.
14. Sridhar, S.; Dinda, S. S.; Prasad, Y. R., Synthesis and biological evaluation of some new chalcones containing 2,5-dimethylfuran moiety. *E-Journal of Chemistry*. **2011**, *8* (2), 541-546.
15. Prasad, Y. R.; Rao, A. L.; Rambabu, R., Synthesis and antimicrobial activity of some chalcone derivatives. *E-Journal of Chemistry*. **2008**, *5* (3), 461-466.
16. Tran, T.-D.; Nguyen, T.-T.-N.; Do, T.-H.; Huynh, T.-N.-P.; Tran, C.-D.; Thai, K.-M., Synthesis and antibacterial activity of some heterocyclic chalcone analogues alone and in combination with antibiotics. *Molecules*. **2012**, *17*, 6684-6696.
17. Singh, T.; Lavanya, R.; Merugu, S.; Sudhakar, P.; Yasmeen, S. S., Synthesis, characterization and biological activity of some novel aryl and heteroaril chalcone analogues. *International Research Journal of Pharmacy*. **2012**, *3* (7), 254-256.
18. Khan, S. A.; Asiri, A. M., Green synthesis, characterization and biological evaluation of novel chalcones as anti bacterial agents. *Arabian Journal of Chemistry* **2013**, 1-6.
19. Ritter, M.; Martins, R. M.; Rosa, S. A.; Malavolta, J. L.; Lund, R. G.; Flores, A. F. C.; Pereira, C. M. P., Green synthesis of chalcones and microbiological evaluation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. **2015**, *26* (6), 1201-1210.
20. NCCLS, *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. 6th ed.; Approved standard M7-A6: Wayne, PA, USA, 2013.

21. Fuchs., L. Y.; Chihu., L.; Conde., C.; González., V. M.; Noguez., A. H.; Calderón., E.; Avonce., N.; Ovando., C., Mecanismos moleculares de la resistencia bacteriana. *Salud Pública de México*. **1994**, *36* (4), 428-438.
22. Jaramillo, M. C.; Mora, C.; Velez, L. E.; Quijano, J., Kinetic and Theoretical Study of the Chalcones as Inhibitors of β -Lactamase Enzyme. *Medicinal Chemistry*. **2009**, *5*, 434-439.
23. Fernández, T. A.; Arango, C. L. M.; Salamanca, C. H.; Flórez, M. C. J., Actividad del (2E)-3-(2,3-dimetoxifenil)-1-(4-metilfenil)prop-2-en-1-ona en presencia del poli(ácido maleico-co-2-vinil-pirrolidona) sobre un aislamiento clínico de staphylococcus aureus productor de b-lastmasas. *la treia*. **2012**, *25* (1), 12-19.
24. Moreno, M. C.; González, E. R.; Beltrán, C., Antimicrobial resistance mechanism in respiratory pathogens. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello* **2009**, *69*, 185-192.
25. García Seral, C.; Pardos de la Gándara, M.; Castillo García, F. J., Batalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* **2010**, *28* (1), 12-18.
26. Dharan, M.; Kirchner, M. J. A., *Control de calidad en los laboratorios clínicos*. Reverté: 1982; p 122.
27. Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C.; Turck, M., Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. **1966**, *45* (4), 493-496.
28. Lorian, V., *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins: 2005; p 245-247.
29. Gaibor, U.; David, F. Análisis de los métodos para medir la turbidez de los inóculos y su influencia en el antibiograma de la bacteria e coli en urocultivos. Universidad Técnica De Ambato, Ambato, Ecuador, 2015.
30. Bernal, M. R.; Gúzman, M., El antibiograma de disco. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica*. **1984**, *4* (3-4), 112-121.
31. Picazo, J. J., Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. In *Procedimientos en microbiología clínica*, Madrid, España, 2000; pp 15-20.

32. Chudobova, D.; Dostalavo, S.; Blazkova, I.; Michalek, P.; Ruttkay-Nedechy, B.; Sklenar, M.; Nejd, L.; Kudr, J.; Gumulec, J.; Tmejova, K.; Konecna, M.; Vaculovicova, M.; Hynek, D.; Masarik, M.; Kynicky, J.; Kizek, R.; Adam, V., Effect of Ampicillin, Streptomycin, Penicillin and Tetracycline on Metal Resistant and Non-Resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **2014**, *11* (3), 3233-3255.
33. Levy, S. B., Antibiotic Resistance: Consequences of Inaction. *Clinical Infectious Diseases*. **2001**, *33*, 253-270.
34. Tenover, F. C., Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents: An overview. *Clinical Infectious Diseases*. **2001**, *33*, 108-115.
35. Wright, G. D., Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drugs Delivery Reviews*. **2005**, *57*, 1451-1470.
36. Patiño, N. M., *Farmacología médica / Medical Pharmacology*. Médica Panamericana: 2008; p 570-574.
37. Asensio, J. M., *Guía de antimicrobianos y tratamiento de las infecciones*. Díaz de Santos: 2000; p 59-61.
38. Fridkin, S. K.; Gaynes, R. P., Antimicrobial resistance in intensive care units. *Clinics in chest medicine* **1996**, *20*, 303-315.
39. Gold, H. S.; Moellering, R. C., Antimicrobial-Drug Resistance. *New England Journal Medicine* **1996**, *335*, 1445-1453.
40. Ibarra, F. J. O.; Méndez, I. M.; Acevedo, A. G.; Figueroa, J. R.; Benítez, A.; Velasco, J. A.; Lema, D. L., El reto de la resistencia bacteriana en México: los beneficios de contar con una nueva alternativa de manejo antimicrobiano eficaz. *Medicina Interna de México*. **2009**, *25* (5), 361-371.
41. Villegas, M. V.; A.C., F. P.; Miranda, M. C.; Zuluaga, T.; Quinn, J. P., Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **2004**, *49*, 217-222.
42. Babic, M.; Hujer, A. M.; Bonomo, R. A., What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug Resistance Updates*. **2006**, *9*, 142-156.

43. OMS Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. <http://www.who.int/drugresistance/SpGlobal2.pdf?ua=1> (accessed 05 de Mayo de 2017).
44. Gallegos, Z. M., Medicinal plants: main alternative for health care, in the rural town of Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*. **2016**, 77 (4), 327-332.
45. Peralta, M. A.; Cabrerias, J. L.; Pérez, C., Potencialidad terapéutica de los flavonoides prenilados *Revista de la Facultad de Odontología*. **2013**, 28 (64), 39-46.
46. Bois, F.; Boumendjel, A.; Mariotte, A.-M.; Conseil, G.; Di Petro, A., Synthesis and biological activity of 4-alkoxy chalcones: potential hydrophobic modulators of p-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **1999**, 7(12), 2691-2695.
47. Valdameri, G.; Gauthier, C.; Terreux, R.; Kachadourian, R.; Day, B.; Winnisschofer, S.; Rocha, M. E. M.; Frachet, V.; Ronot, X.; Pietro, A. D.; Boumendjel, A., Investigation of chalcones as selective inhibitors of the breast cancer resistance protein: critical role of methoxylation in both inhibition potency and cytotoxicity. *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, 55 (7), 3193-3200.
48. Matus, E. A. Síntesis y exploración de la adición tipo michael en enonas y determinación de la actividad antiinflamatorio de nitrochalconas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Cunduacán, Tabasco, 2014.
49. Velarde, E.; Gonzalez, A., Reacción de Claisen-Schmidt para la obtención de chalconas. *Revista de Química* **1995**, 9 (2), 137-143.
50. Perozo-Rondón, E.; Martín-Aranda, R. M.; Casal, B.; Durán-Valle, C. J.; Lau, W. N.; Zhang, X. F.; Yeung, K. L., Sonocatalysis in solvent free conditions: An efficient eco-friendly methodology to prepare chalcones using a new type of amino grafted zeolites. *Catalysis Today*. **2006**, 114 (2-3), 183-187.
51. Wade Jr, L. G., *Química orgánica*. 7 ma ed.; México, 2011; Vol. 2, p 782-784.
52. Carey, F. A., *Química Orgánica*. 6 ta ed.; México, 2006.
53. Garnovskii, A. D., Reacciones Orgánicas. *Ciencia*. **2003**, 2, 180-182.
54. Meléndez Pizarro, C. O., Camacho Dávila, A. A, Química verde, la química del nuevo milenio. *Synthesis* **2008**, 45, 1-5.

55. Manahan, S. E. L., I.M., *Introducción a la química ambiental*. Universidad Nacional Autónoma de México: 2007; p 8.
56. Furniss, B. S., *Vogel'S Textbook Of Practical Organic Chemistry, 5/E*. Pearson Education: 1989.
57. Van Aken, K.; Lucjan, S.; Luc, P., EcoScale, a semi-quantitative tool to select an organic preparation based on economical and ecological parameters. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. **2006**, 2, 1-3.
58. Opletalová, V.; Pour, M.; Kunes, J.; Buchta, V.; Silva, L.; Králová, K.; Chulapacova, M.; Meltrova, D.; Peterka, M.; Posledníková, M., Synthesis and biological evaluation of (E)-3-(nitrophenyl)-1-(pyrazin-2-yl)prop-2-en-1-ones. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. **2006**, 71 (1), 44-58.
59. Ávila, Z. G., *Química Orgánica. Experimentos con un enfoque ecológico*. 1ra. ed.; UNAM, Distrito Federal., 2001; p 622.
60. Fernando, P.; Marcelo, G., *Manual de procedimientos sensibilidad a los antimicrobianos en Salmonella, Shigella y E. coli*. 2008; p 11.
61. Elena, S. C. R.; Jorge, V. P., *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*. Ministerio de salud: Lima, Perú, 2002; p 16-19.
62. CLSI, *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement*. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, 2011.
63. NCCLS, *Disk diffusion supplemental tables*. Document M100-S10: Wayne, PA, 2000.
64. Reddy, M. V. B.; Su, C.-R.; Chiou, W.-F.; Liu, Y.-N.; Chen, R. Y.-H.; Bastow, K. F.; Lee, K.-H.; Wu, T.-S., Design, synthesis, and biological evaluation of Mannich bases of heterocyclic chalcone analogs as cytotoxic agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2008**, 16 (15), 7358-7370.
65. Matus, E. A. Síntesis y exploración de la adición tipo michael en enonas y determinación de la actividad antiinflamatoria de nitrochalconas. Maestría, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Cunduacán, Tabasco, 2014.

66. Rivera, A. G. Un enfoque verde para la síntesis de chalconas nitro sustituidas y evaluación de su actividad antiinflamatoria. Maestría, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, 2012.
67. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J., *Spectrometric identification of organic compounds*. 7ma. ed.; New York, USA., 2005; p 502.

CAPÍTULO XI

ANEXO

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

11. ANEXO

En este apartado se muestra la tabla para el análisis de la ecoescala, las RMN ^1H y ^{13}C de los compuestos sintetizados, así como la descripción estereoscópica, la evaluación de la efectividad de los fármacos de referencia, la evaluación antifúngica de **4** y las imágenes de los antibiogramas.

I. Análisis de la Ecoescala.

Tabla 22. Análisis de sostenibilidad por la ecoescala desarrollado por Aken, 2016.

Parámetros	Conceptos	Puntos de penalización (100-%)
1. Rendimiento		
2. Precios de reactivos		
	Barato (<\$10)	0
	Caro (> \$10 y < \$50)	3
	Muy caro (> \$50)	5
3. Seguridad^a		
	N (peligroso para el medio ambiente)	5
	T (toxico)	5
	F (altamente inflamable)	5
	E (explosivo)	10
	F+ (extremadamente inflamable)	10
	T+ (extremadamente toxico)	10
4. Configuración técnica		
	Configuración común	0
	Instrumentos para la adición controlada de	1
	Técnica de activación no convencional ^a	2
	Equipos a presión, > 1 atm ^a	4
	Todo recipiente de vidrio especial adicional	1
	Atmosfera de gas inerte	1
	Guantera	3
5. Temperatura/Tiempo		
	1	
	Temperatura en espacio, < 1 h	0
	Temperatura en espacio, < 24 h	1
	Calentamiento, < 1 h	2
	Calentamiento, > 1 h	3
	Enfriamiento a 0°C	4
	Enfriamiento, < 0°C	5
6. Elaboración/purificación		
	Ninguno	0
	Enfriamiento a temperatura ambiente	0
	Adición de disolvente	0
	Fácil filtración	0
	Separación de disolvente con p.e. < 150°C	0

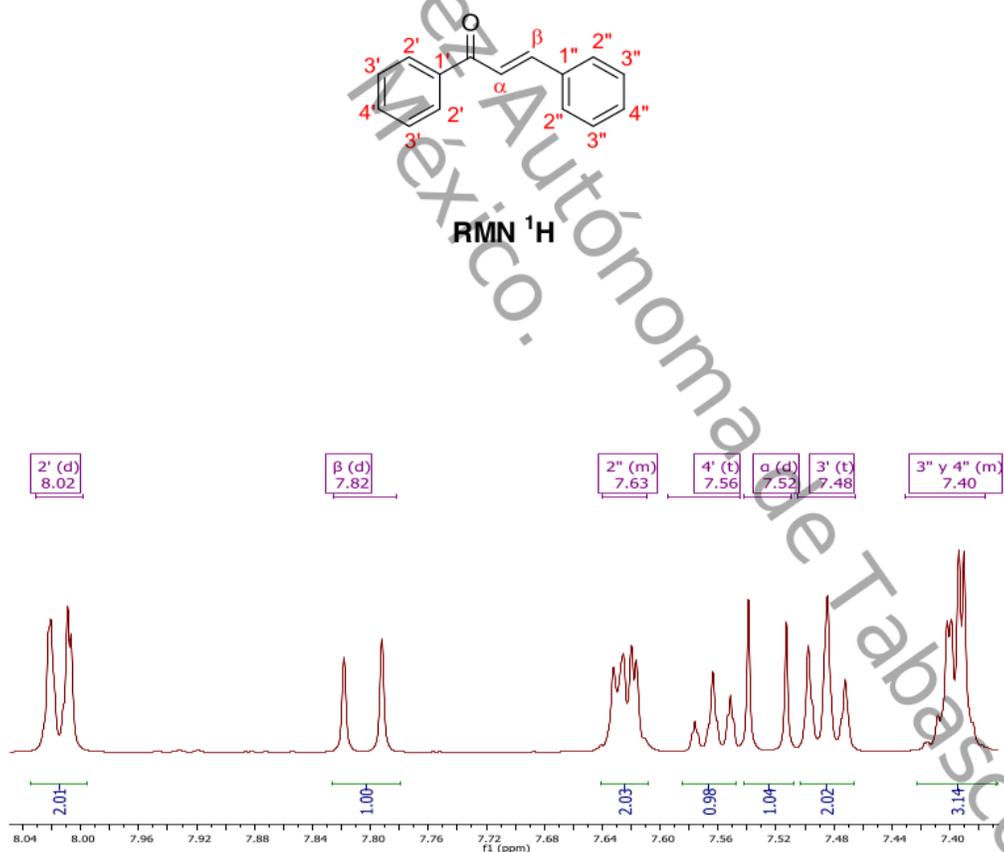
1

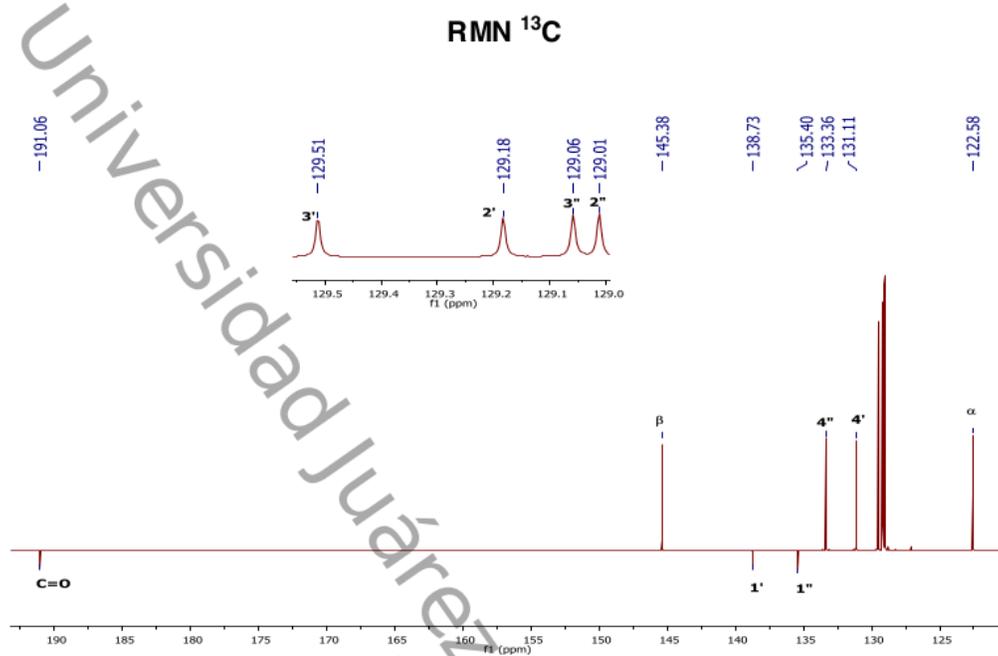
Síntesis de análogos heteroaromáticos de chalconas y su evaluación antibiótica *in vitro*

Cristalización y filtración		1
Separación de disolvente con p.e. > 150°C		2
Extracción de fase sólida		2
Destilación		3
Sublimación		3
Extracción líquido-líquido ^e		3
Cromatografía clásica		10
<p>a. Sobre la base de los símbolos de advertencia de peligro.</p> <p>b. Embudo de goteo, una bomba de jeringa, el regulador de presión de gas, etc.</p> <p>1 La irradiación con microondas, ultrasonido o la activación fotoquímica, etc.</p> <p>d. CO₂ supercrítico, equipo de alta presión de hidrogenación, etc.</p> <p>e. E Si se utiliza, el proceso incluye el sacado de disolvente con el desecante y la filtración de desecante.</p>		

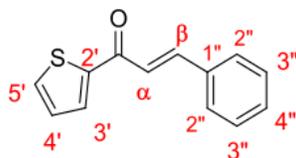
II. Análisis de espectrometría

ESPECTRO DE 1

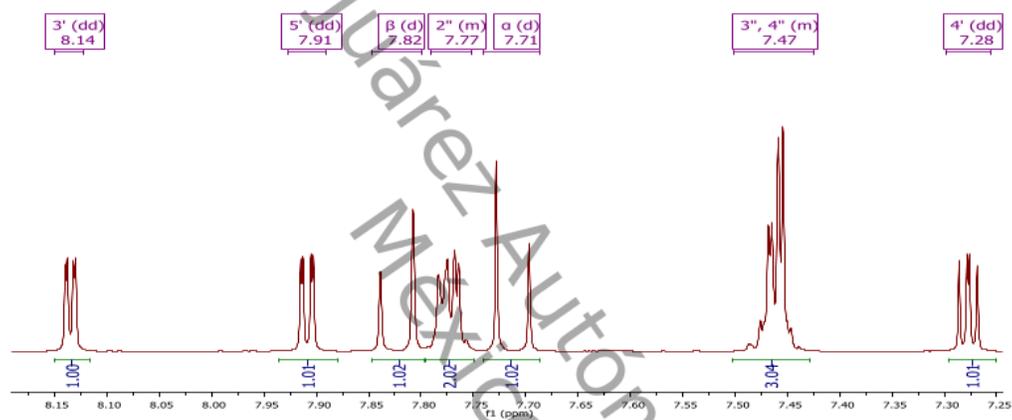




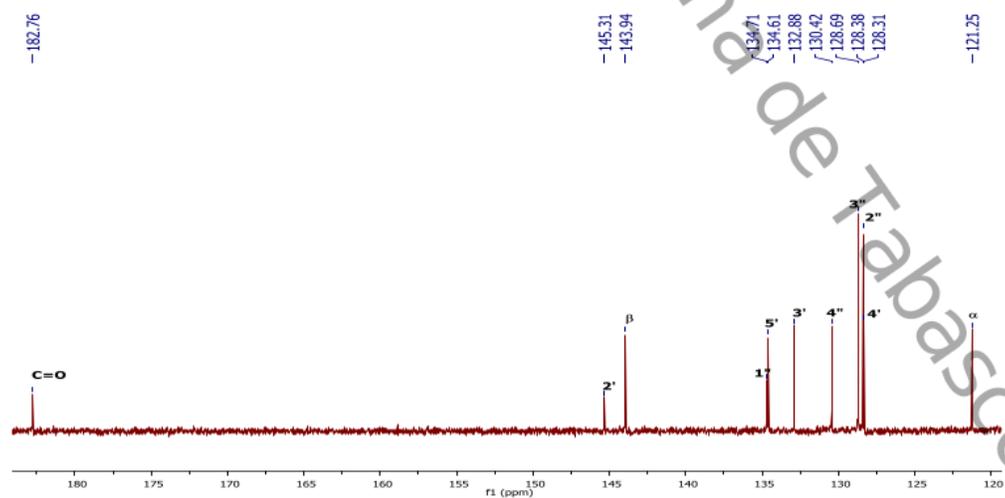
ESPECTRO DE 2



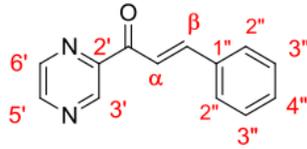
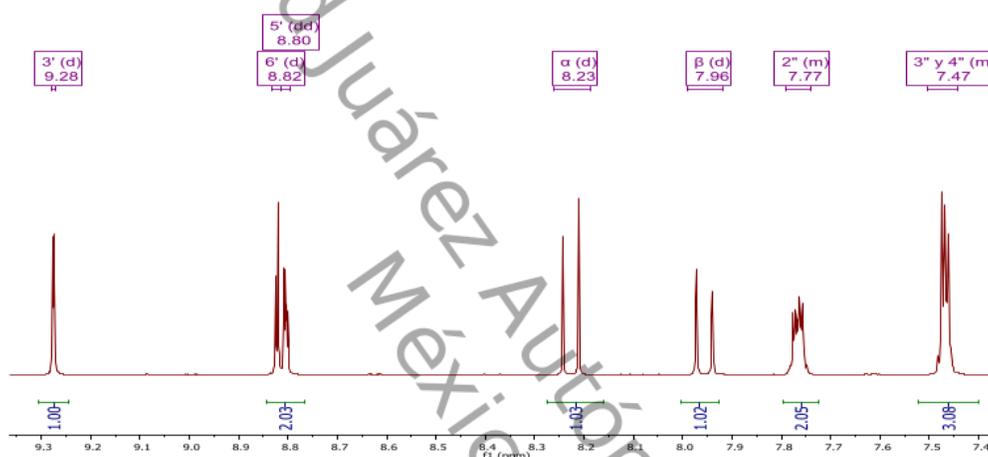
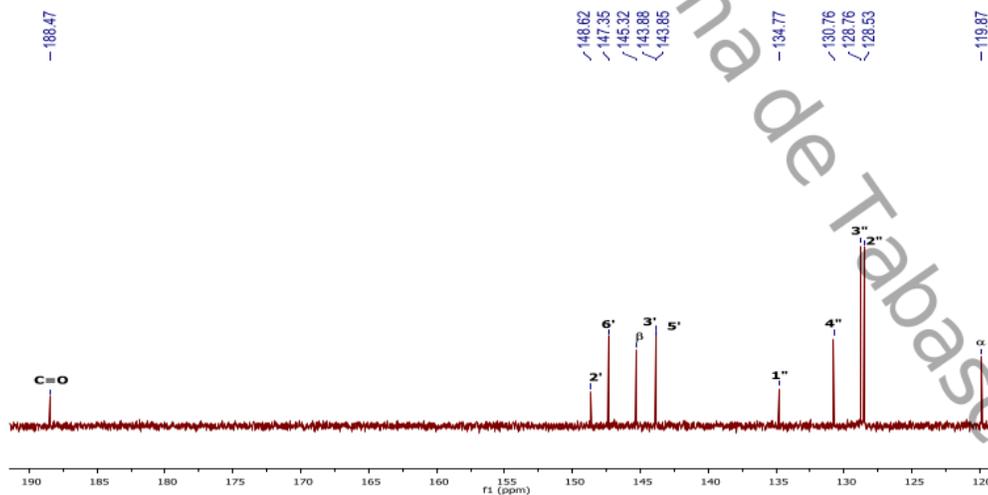
RMN ¹H



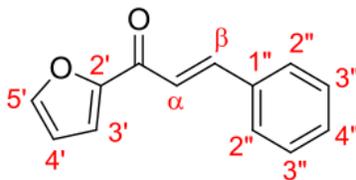
RMN ¹³C



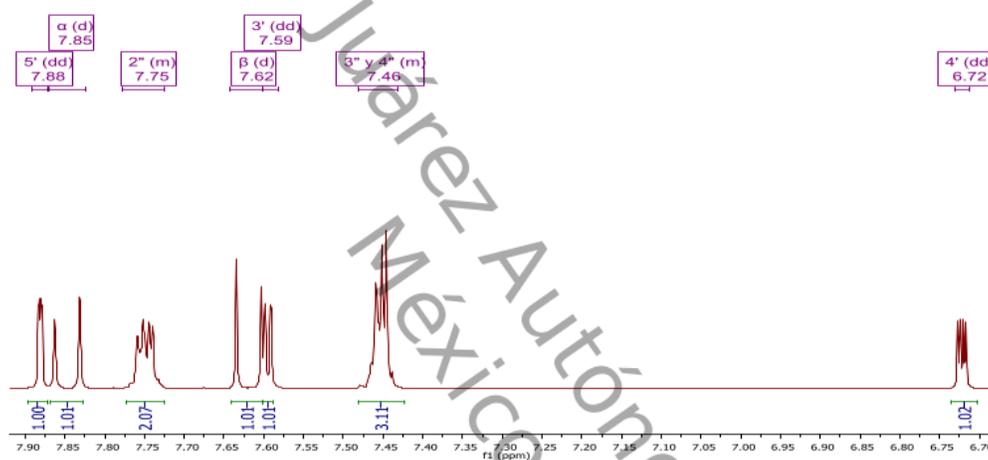
ESPECTRO DE 3

RMN ^1H RMN ^{13}C 

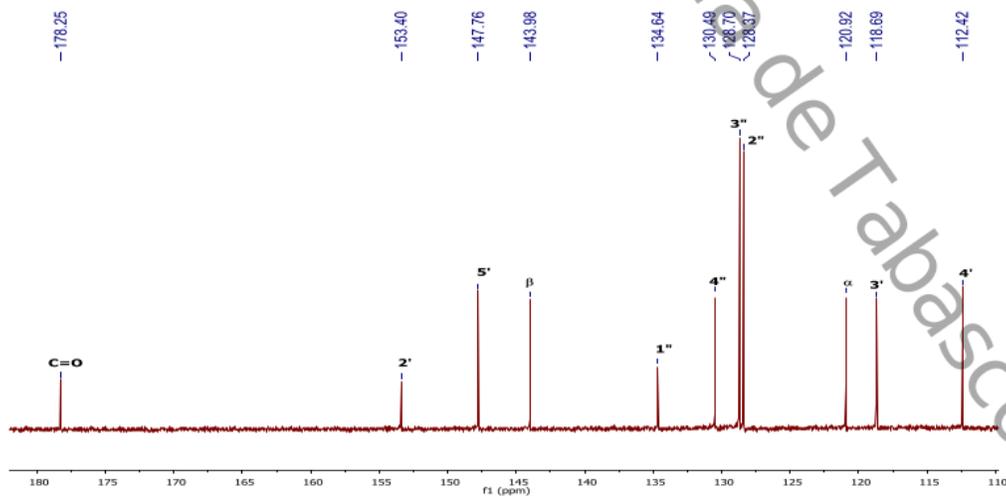
ESPECTRO DE 4



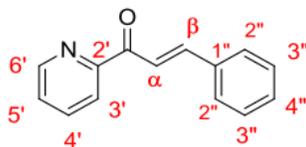
RMN ¹H



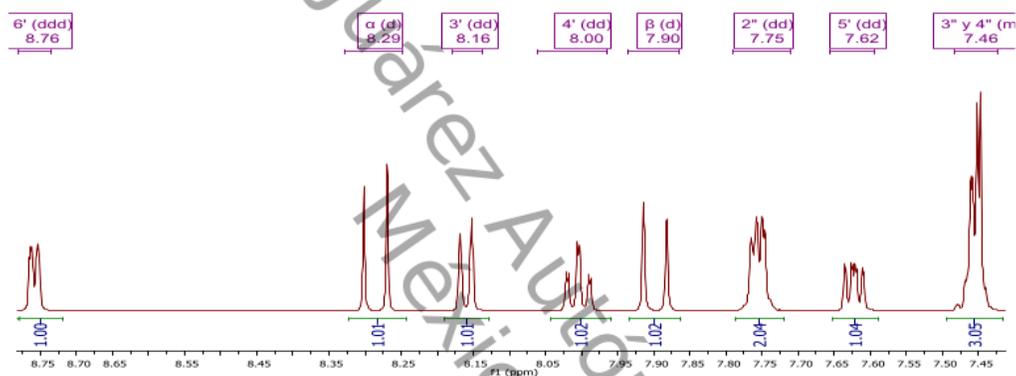
RMN ¹³C



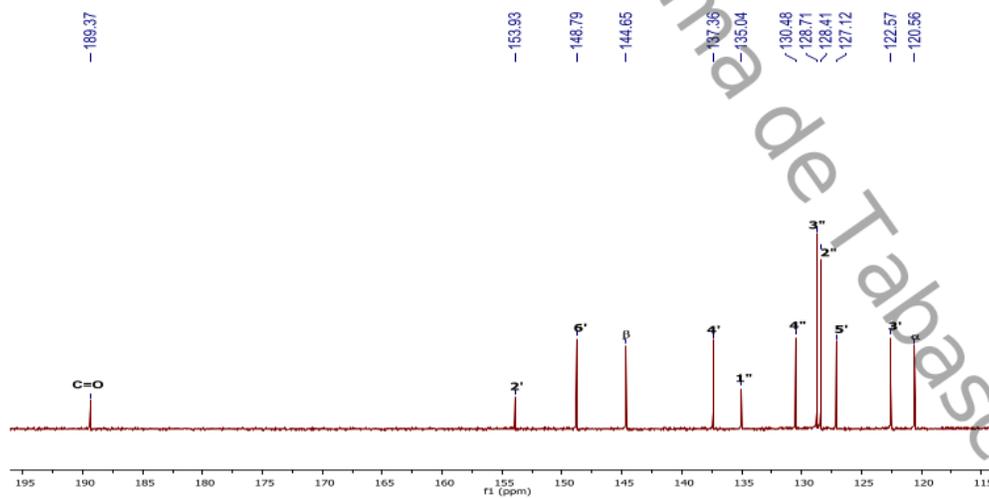
ESPECTROS DE 5



RMN ¹H

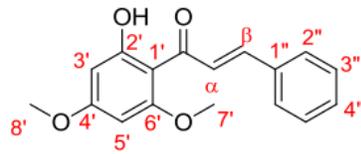
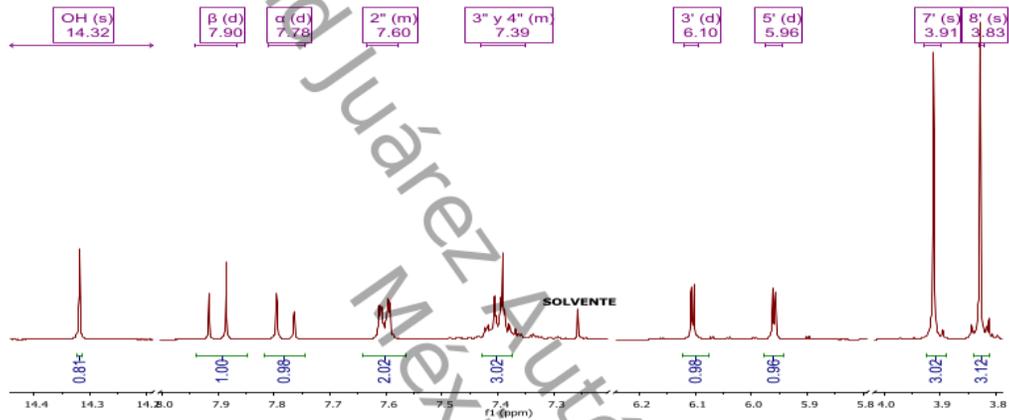
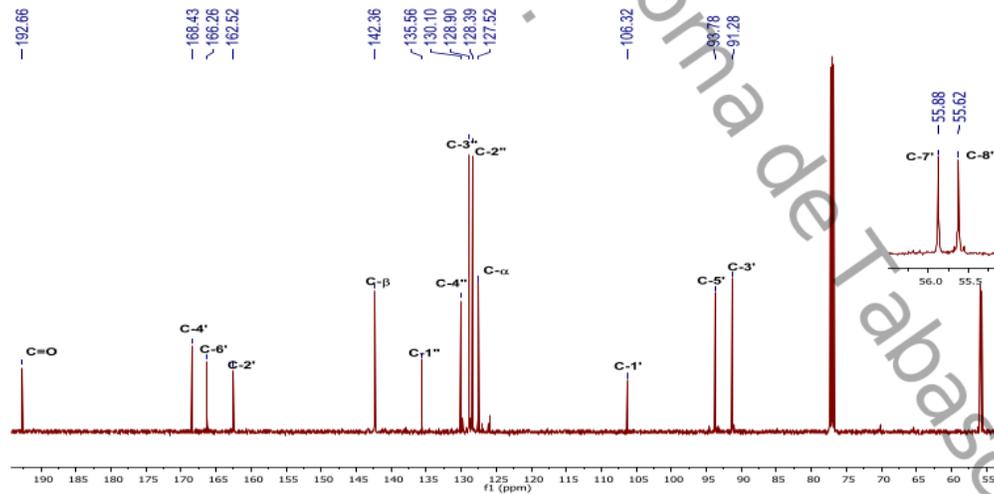


RMN ¹³C



1

ESPECTRO DE 6

RMN ¹HRMN ¹³C

III. Caracterización estereoscópica de los compuestos sintetizados.

1



Figura 11. Cristales de (*E*)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona (1).

2



Figura 12. Cristales de (*E*)-3-fenil-1-(2-tiofenil)prop-2-en-1-ona (2).

3

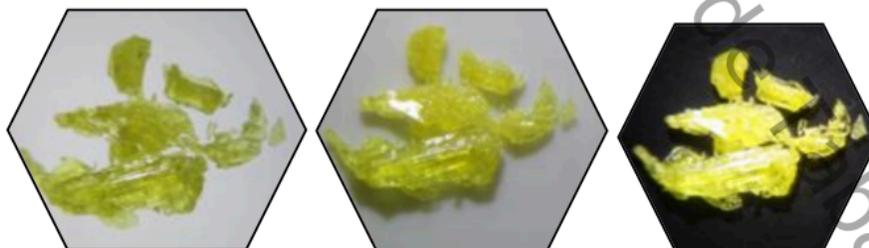


Figura 13. Cristales de (*E*)-3-fenil-1-(2-pirazinil)prop-2-en-1-ona (3).

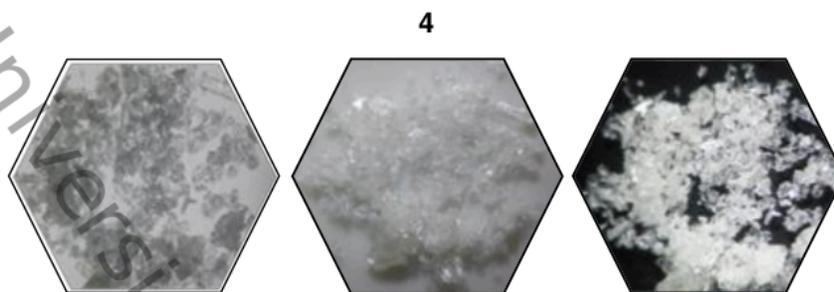


Figura 14. Cristales de (*E*)-3-fenil-1-(2-furanyl)prop-2-en-1-ona (4).

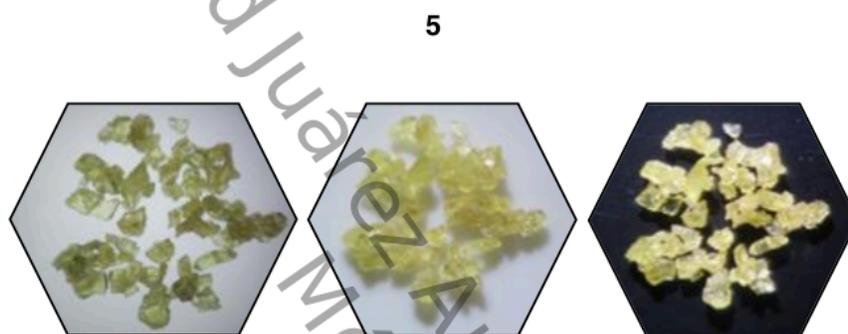


Figura 15. Cristales de (*E*)-3-fenil-1-(2-piridinil)prop-2-en-1-ona (5).

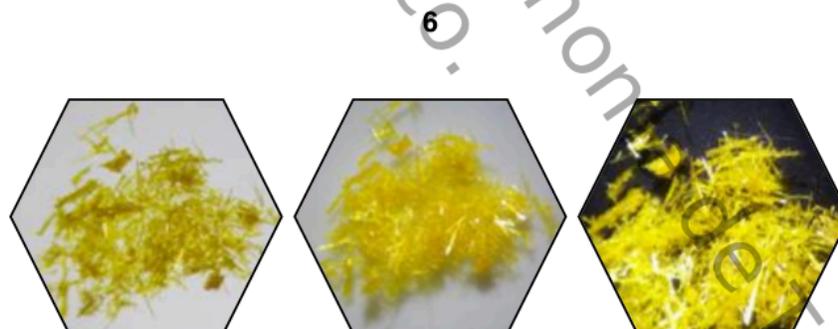


Figura 16. Cristales de (*E*)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (6).

IV. Cálculo de la recta de McFarland.

A continuación se muestran los datos obtenidos en el desarrollo de las fórmulas establecidas en la sección 6.3, en la página 39 para determinar los valores de la ecuación de la recta y emplearla en la comprobación de las concentraciones de la suspensión bacteriana (Tabla 23).

Tabla 23. Datos de absorbancia obtenidas mediante espectrofotómetro Uv-Vis.

Tubos	Escala McFarland	Concentración (C)	Absorbancia (A)	C ²	A ²	C·A
1	0.5	1.5	0.146	2.25	0.021316	0.219
2	1.0	3.0	0.312	9.00	0.097344	0.936
3	2.0	6.0	0.502	36.00	0.252004	3.012
4	3.0	9.0	0.627	81.00	0.393129	5.643
5	4.0	12.0	0.814	144.00	0.662596	9.768
6	5.0	15.0	0.961	225.00	0.923521	14.415
7	6.0	18.0	1.124	324.00	1.263376	20.232
8	7.0	21.0	1.282	441.00	1.643524	26.922
9	8.0	24.0	1.420	576.00	2.016400	34.080
10	9.0	27.0	1.570	729.00	2.464900	42.390
11	10.0	30.0	1.680	900.00	2.822400	50.400
Σ		166.5	10.438	3,467.25	12.56051	208.017

Cálculo de la pendiente

$$m = \frac{11(208.017) - (10.438)(166.5)}{11(3,467.25) - (166.5)^2}$$

$$m = \frac{2,288.187 - 1,737.927}{38,139.75 - 27,722.25}$$

$$m = \frac{550.26}{10,417.5}$$

$$m = 0.0528$$

Cálculo de la ordenada al origen

$$\bar{A} = \frac{10.438}{11} = 0.9489090909 ; \bar{C} = \frac{166.5}{11} = 15.136363636$$

$$b = \bar{A} - m\bar{C}$$

$$b = 0.9489090909 - [(0.0528)(15.136363636)]$$

$$b = 0.9489090909 - 0.7992$$

$$b = 0.1497$$

Cálculo del coeficiente de correlación R^2

$$R^2 = \frac{[11(208.017) - [(166.5)(10.438)]]^2}{[(11(3,467.25) - (166.5)^2) \times (11(12.56051) - (10.438)^2)]}$$

$$R^2 = \frac{(2,288.187 - 1,737.927)^2}{[(38,139.75 - 27,722.25) \times (138.16561 - 108.951844)]}$$

$$R^2 = \frac{(550.26)^2}{(10,417.5)(29.213766)}$$

$$R^2 = \frac{302,786.0676}{304,334.4073}$$

$$R^2 = 0.9949123738$$

Por lo tanto la ecuación de la recta queda de la siguiente manera:

$$A = 0.0528C + 0.1497$$

Para corroborar las concentraciones de los inóculos, sólo se despeja **C** de la ecuación anterior, como se muestra a continuación:

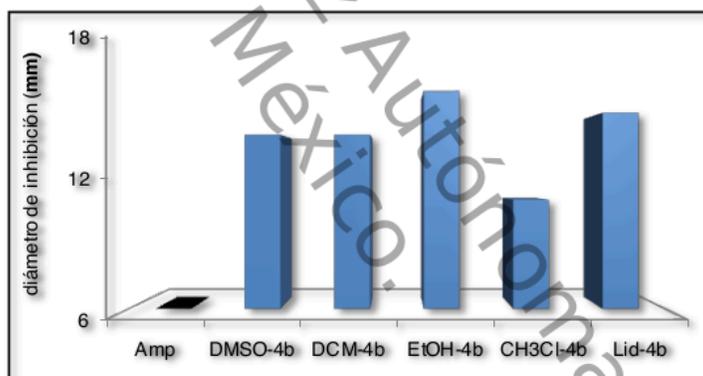
$$C = \frac{A - 0.1497}{0.0528}$$

V. Análisis de la efectividad de los fármacos de referencia.

A continuación se muestran las Tablas y las Figuras obtenidas en la evaluación antibiótica con los diversos disolventes así como las diferentes concentraciones, cabe mencionar que todas la evaluaciones fueron contra *Staphylococcus aureus*.

Tabla 24. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 µg/sensidisco) comparada con Amp.

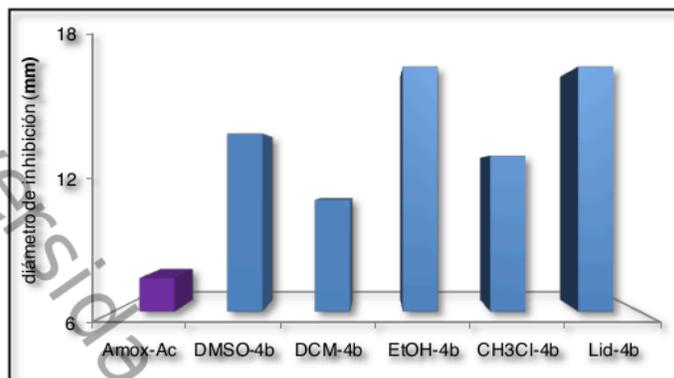
Solvente/ solución	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S. (mm)			Diámetro de inhibición (mm)
			R	I	S	
Agua	Amp.	10	≤16	---	≥17	6*
DMSO	4	100	NE	NE	NE	14
DCM	4	100	NE	NE	NE	14
EtOH	4	100	NE	NE	NE	16
CH ₃ Cl	4	100	NE	NE	NE	11
Lid.	4	100	NE	NE	NE	15



Gráfica 7. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 µg/sensidisco) comparada con Amp.

Tabla 25. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 µg/sensidisco) comparada frente Amox-Ac.

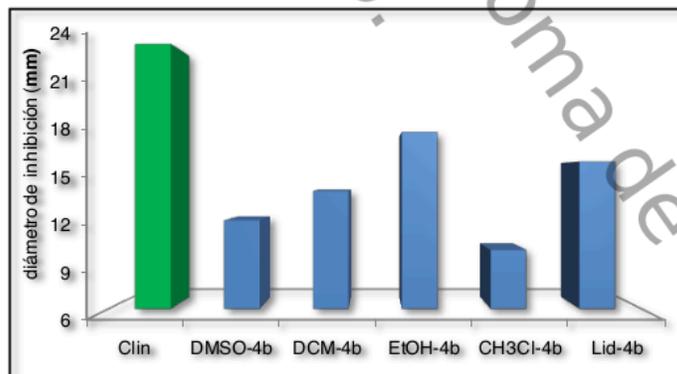
Solvente/ solución	compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S. (mm)			Diámetro de inhibición (mm)
			R	I	S	
Agua	Amox-Ac	31 / 2.215	≤18	19-21	≥22	7±0.05
DMSO	4	100	NE	NE	NE	14
DCM	4	100	NE	NE	NE	11
EtOH	4	100	NE	NE	NE	17
CH ₃ Cl	4	100	NE	NE	NE	13
Lid.	4	100	NE	NE	NE	17



Gráfica 8. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 µg/sensidisco) comparada frente Amox-Ac.

Tabla 26. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 µg/sensidisco) comparada con Clin.

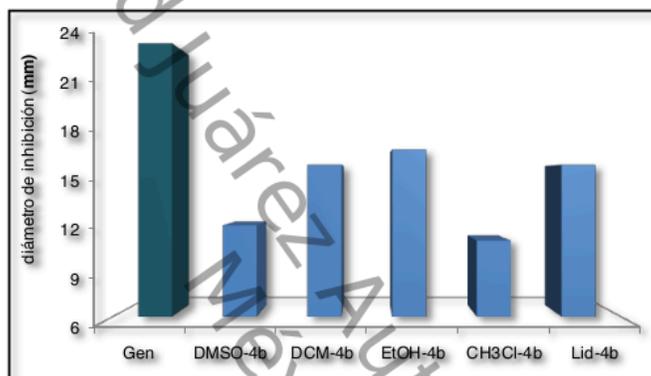
Solvente / solución	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S. (mm)			Diámetro de inhibición (mm)
			R	I	S	
Agua	Clin.	2	≤14	15-20	≥21	24± 3
DMSO	4	100	NE	NE	NE	12
DCM	4	100	NE	NE	NE	14
EtOH	4	100	NE	NE	NE	18
CH ₃ Cl	4	100	NE	NE	NE	10
Lid.	4	100	NE	NE	NE	16



Gráfica 9. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 µg/sensidisco) comparada con Clin.

Tabla 27. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (100 µg/sensidisco) comparada con Gen.

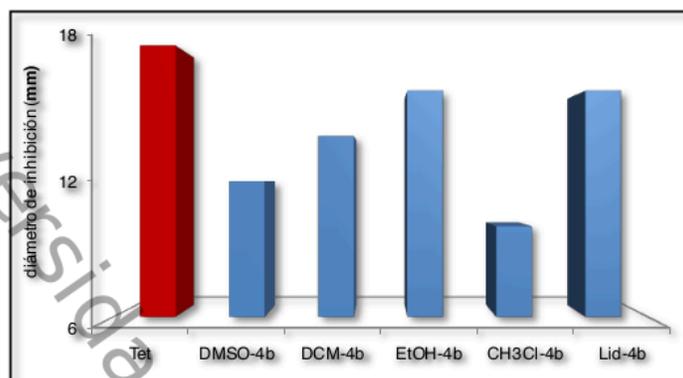
Solvente / solución	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S. (mm)			Diámetro de inhibición (mm)
			R	I	S	
Agua	Gen.	10	≤12	13-14	≥15	24±2
DMSO	4	100	NE	NE	NE	12
DCM	4	100	NE	NE	NE	16
EtOH	4	100	NE	NE	NE	17
CH ₃ Cl	4	100	NE	NE	NE	11
Lid.	4	100	NE	NE	NE	16



Gráfica 10. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (100 µg/sensidisco) comparada con Gen.

Tabla 28. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (100 µg/sensidisco) comparada con Tet.

Solvente / solución	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S. (mm)			Diámetro de inhibición (mm)
			R	I	S	
Agua	Tet.	30	≤14	15-18	≥19	18±2
DMSO	4	100	NE	NE	NE	12
DCM	4	100	NE	NE	NE	14
EtOH	4	100	NE	NE	NE	16
CH ₃ Cl	4	100	NE	NE	NE	10
Lid.	4	100	NE	NE	NE	16

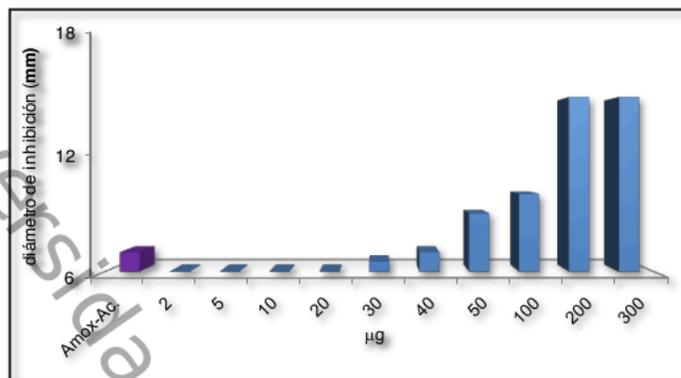


Gráfica 11. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (100 µg/sensidisco) comparada con Tet.

A continuación se muestran los datos obtenidos del efecto inhibitorio 4 (2-300 µg/sensidisco) usando DMSO como disolvente y Amox-Ac., como fármaco de referencia.

Tabla 29. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Amox-Ac.

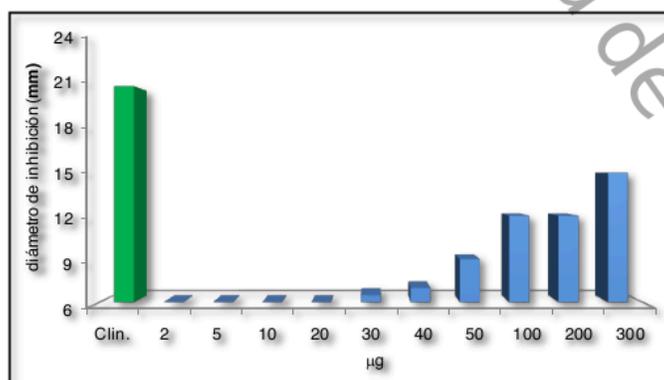
Solvente	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S.			Diámetro de inhibición (mm)
			(mm)			
			R	I	S	
Agua	Amox-Ac.	31/2.215	≤18	19-21	≥22	7
DMSO	4	2	17	NE	NE	6
	4	5	NE	NE	NE	6
	4	10	NE	NE	NE	6
	4	20	NE	NE	NE	6
	4	30	NE	NE	NE	6
	4	40	NE	NE	NE	7
	4	50	NE	NE	NE	9
	4	100	NE	NE	NE	10
	4	200	NE	NE	NE	15
	4	300	NE	NE	NE	15



Gráfica 12. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta DMSO comparada con Amox-Ac.

Tabla 30. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Clin.

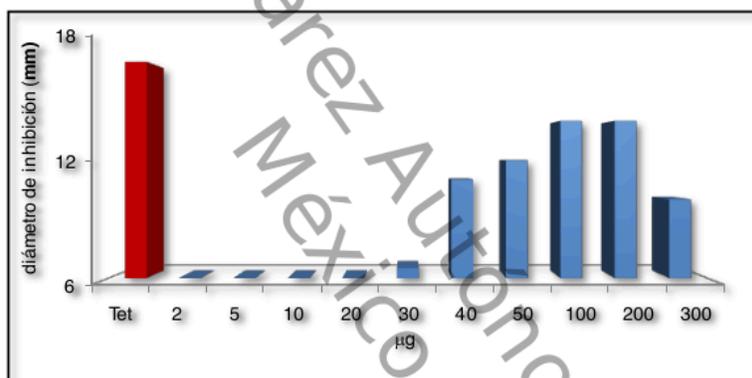
Solvente	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S.			Diámetro de inhibición (mm)
			(mm)			
			R	I	S	
Agua	Clin.	2	≤14	15-20	≥21	22 ± 1
DMSO	4	2	NE	NE	NE	6
	4	5	NE	NE	NE	6
	4	10	NE	NE	NE	6
	4	20	NE	NE	NE	6
	4	30	NE	NE	NE	6
	4	40	NE	NE	NE	7
	4	50	NE	NE	NE	9
	4	100	NE	NE	NE	12
	4	200	NE	NE	NE	12
	4	300	NE	NE	NE	15



Gráfica 13. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Clin.

Tabla 31. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Tet.

Solvente	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S.			Diámetro de inhibición (mm)
			(mm)			
			R	I	S	
Agua	Tet.	30	≤14	15-18	≥19	17 ± 2
DMSO	4	2	NE	NE	NE	6
	4	5	NE	NE	NE	6
	4	10	NE	NE	NE	6
	4	20	NE	NE	NE	6
	4	30	NE	NE	NE	6
	4	40	NE	NE	NE	11
	4	50	NE	NE	NE	12
	4	100	NE	NE	NE	14
	4	200	NE	NE	NE	14
	4	300	NE	NE	NE	10

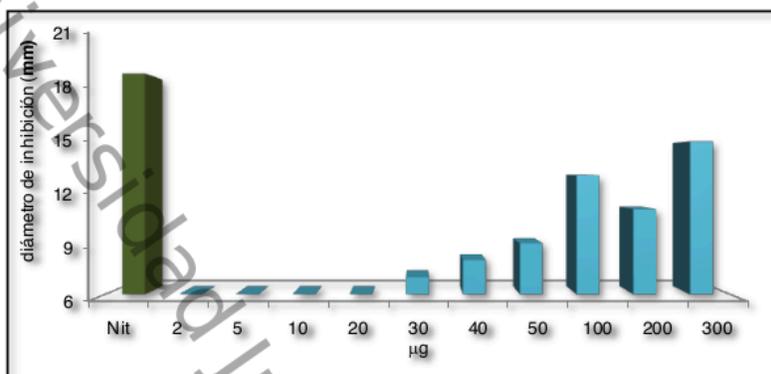


Gráfica 14. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Tet.

Tabla 32. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Nit.

Solvente	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S.			Diámetro de inhibición (mm)
			(mm)			
			R	I	S	
Agua	Nit.	300	≤14	15-16	≥17	19 ± 2
DMSO	4	2	NE	NE	NE	6
	4	5	NE	NE	NE	6
	4	10	NE	NE	NE	6
	4	20	NE	NE	NE	6
	4	30	NE	NE	NE	7
	4	40	NE	NE	NE	8
	4	50	NE	NE	NE	9
	4	100	NE	NE	NE	13

	4	200	NE	NE	NE	11
	4	300	NE	NE	NE	15

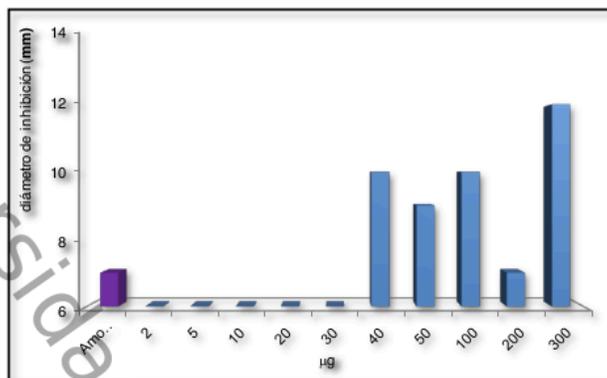


Gráfica 15. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DMSO comparada con Nit.

A continuación se muestran los datos obtenidos del efecto inhibitorio 4 (2-300 µg/sensidisco) usando DCM como disolvente y Amox-Ac., Clin., Gen., como fármaco de referencia.

Tabla 33. Diámetro de inhibición (mm) de 4 (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Amox-Ac.

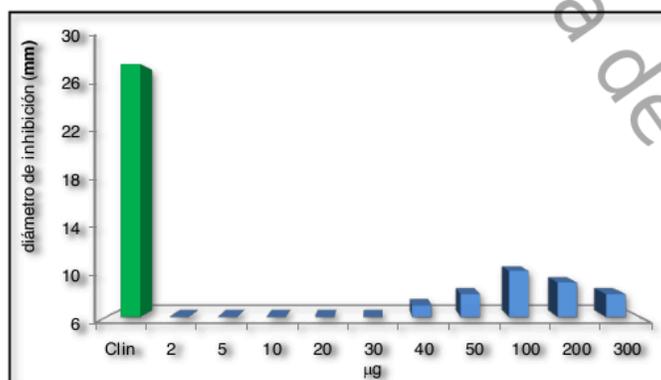
Solvente	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S.			Diámetro de inhibición (mm)
			(mm)			
			R	I	S	
Agua	Amox-Ac.	31 / 2.215	≤18	19-21	≥22	7
DCM	4	2	---	---	---	6
	4	5	---	---	---	6
	4	10	---	---	---	6
	4	20	---	---	---	6
	4	30	---	---	---	6
	4	40	---	---	---	10
	4	50	---	---	---	9
	4	100	---	---	---	10
	4	200	---	---	---	7
	4	300	---	---	---	12



Gráfica 16. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Amox-Ac.

Tabla 34. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Clin.

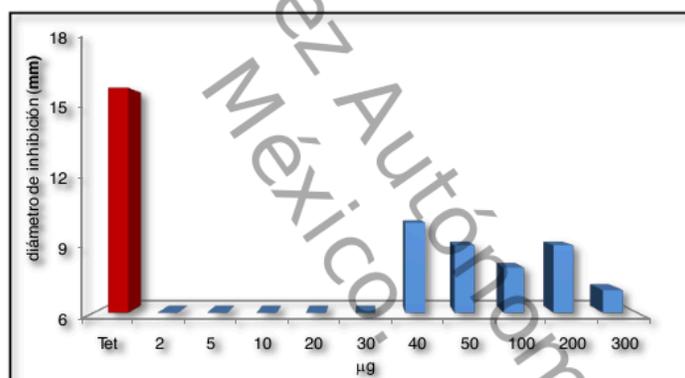
Solvente	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S. (mm)			Diámetro de inhibición (mm)
			R	I	S	
Agua	Clin	2	≤14	15-20	≥21	28 ± 1
DCM	4	2	NE	NE	NE	6
	4	5	NE	NE	NE	6
	4	10	NE	NE	NE	6
	4	20	NE	NE	NE	6
	4	30	NE	NE	NE	6
	4	40	NE	NE	NE	7
	4	50	NE	NE	NE	8
	4	100	NE	NE	NE	10
	4	200	NE	NE	NE	9
	4	300	NE	NE	NE	8



Gráfica 17. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Clin.

Tabla 35. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Tet.

Solvente	Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a la bacteria R, I, S. (mm)			Diámetro de inhibición (mm)
			R	I	S	
Agua	Tet.	30	≤14	15-18	≥19	16 ± 1
DCM	4	2	NE	NE	NE	6
	4	5	NE	NE	NE	6
	4	10	NE	NE	NE	6
	4	20	NE	NE	NE	6
	4	30	NE	NE	NE	6
	4	40	NE	NE	NE	10
	4	50	NE	NE	NE	9
	4	100	NE	NE	NE	8
	4	200	NE	NE	NE	9
	4	300	NE	NE	NE	7



Gráfica 18. Diámetro de inhibición (mm) de **4** (2-300 µg/sensidisco) disuelta en DCM comparada con Tet.

VI. Actividad antifúngica de la (*E*)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona (**4**).

Como trabajo extra, se realizó la actividad antifúngica de **4** (10 µg/sensidisco y 100 µg/sensidisco), usando cuatro disolventes y una solución de lidocaína 10 g/ 100 mL, para solubilizar al compuesto, mismo que fueron empleados en la evaluación antibacteriana (Figura 17).

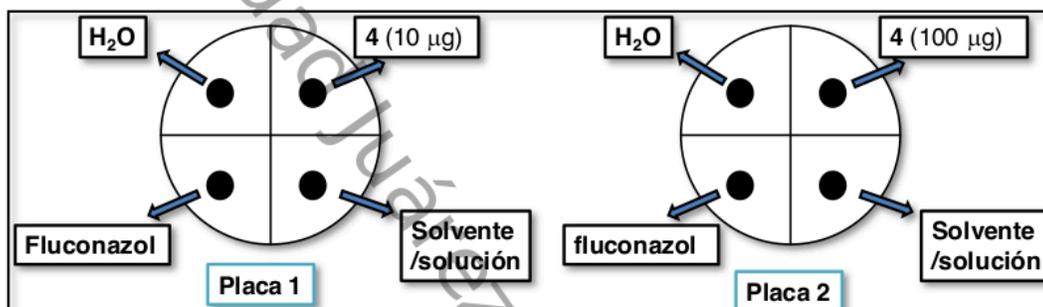


Figura 17. Esquema general para la actividad antifúngica de (*E*)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona (**4**).

La Tabla que se muestra a continuación, muestra los resultados obtenidos en la evaluación a 10 µg/sensidisco.

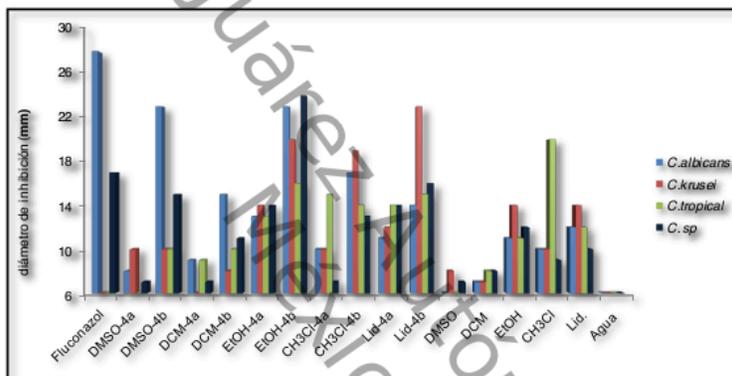
Tabla 36. Diámetro de inhibición (mm) antifúngica de **4** (10 µg/sensidisco).

Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a los hongos R, I, S.			Diámetro de inhibición (mm)			
		R	I	S	<i>C.albicans</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.tropical</i>	<i>C.sp</i>
		(mm)						
Fluconazol	25	≤14	15-18	≥19	28 ±1	6	6	17 ±3
DMSO-4	10	NE	NE	NE	8	10	6	7
DCM-4	10	NE	NE	NE	9	6	9	7
EtOH-4	10	NE	NE	NE	13	14	13	14
CH ₃ Cl-4	10	NE	NE	NE	10	10	15	7
Lid-4	10	NE	NE	NE	11	12	14	14
DMSO	10 µL	NE	NE	NE	6	8	6	7
DCM	10 µL	NE	NE	NE	7	7	8	8
EtOH	10 µL	NE	NE	NE	11	14	11	12
CH ₃ Cl	10 µL	NE	NE	NE	10	10	20	9
Lid.	10 µL	NE	NE	NE	12	14	12	10
Agua	10 µL	NE	NE	NE	6	6	6	6

En la siguiente Tabla se muestran los resultados obtenidos en la evaluación a 100 µg/sensidisco.

Tabla 37. Diámetro de inhibición (mm) de la actividad antifúngica de **4** (100 µg/sensidisco).

Compuesto	µg/sensidisco	Criterio para considerar a los hongos R, I, S.			Diámetro de inhibición (mm)			
		R	I	S	<i>C.albicans</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.tropical</i>	<i>C.sp</i>
Fluconazol	25	≤14	15-18	≥19	26 ±2	6	14 ±1	16 ±1
DMSO-4	100	NE	NE	NE	23	10	10	15
DCM-4	100	NE	NE	NE	15	8	10	11
EtOH-4	100	NE	NE	NE	23	20	16	24
CH ₃ Cl-4	100	NE	NE	NE	17	19	14	13
Lid-4	100	NE	NE	NE	14	23	15	16

Gráfica 19. Diámetro de inhibición (mm) antifúngica de la (*E*)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona (**4**) (10 y 100 µg/sensidisco).

VII. Antibiógramas



Figura 18. a) Preparado del medio de cultivo, b) Antibiógramas.

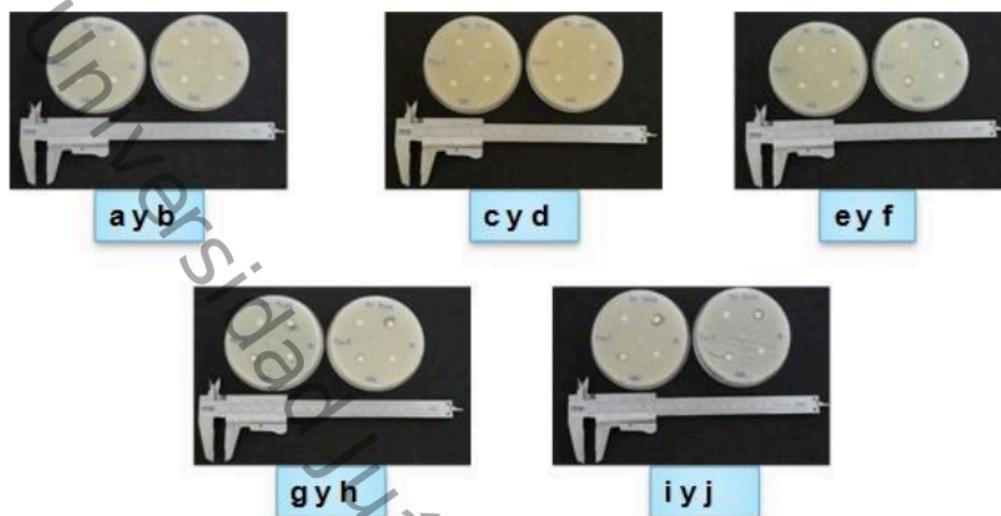


Figura 19. Antibiograma 1 (2-300 μ g/sensidisco) comparada con Amox-Ac.

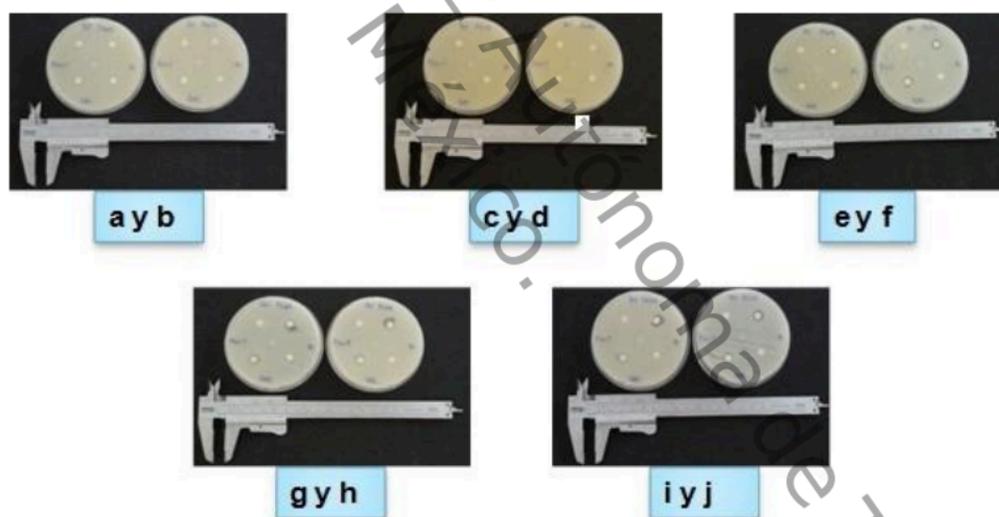


Figura 20. Antibiograma 2 (2-300 μ g/sensidisco) comparada con Amox-Ac.

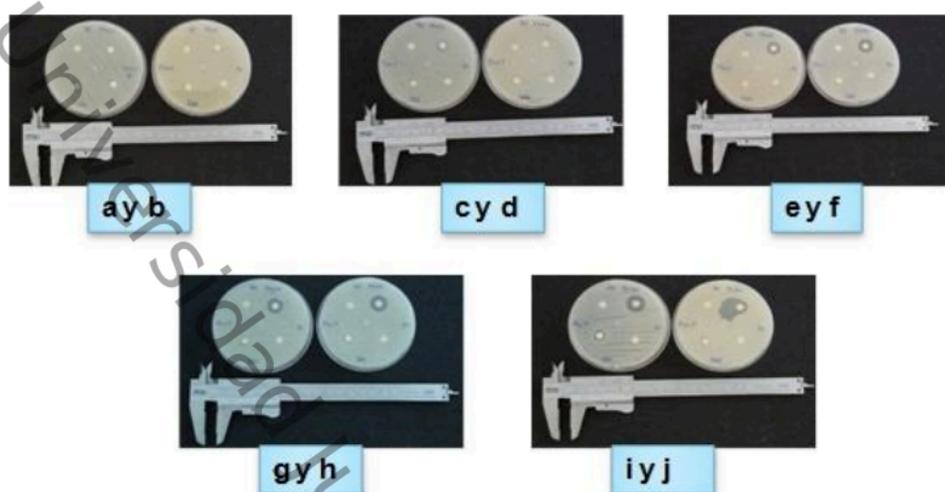


Figura 21. Antibiograma 3 (2-300 μg /sensidisco) comparada con Amox-Ac..

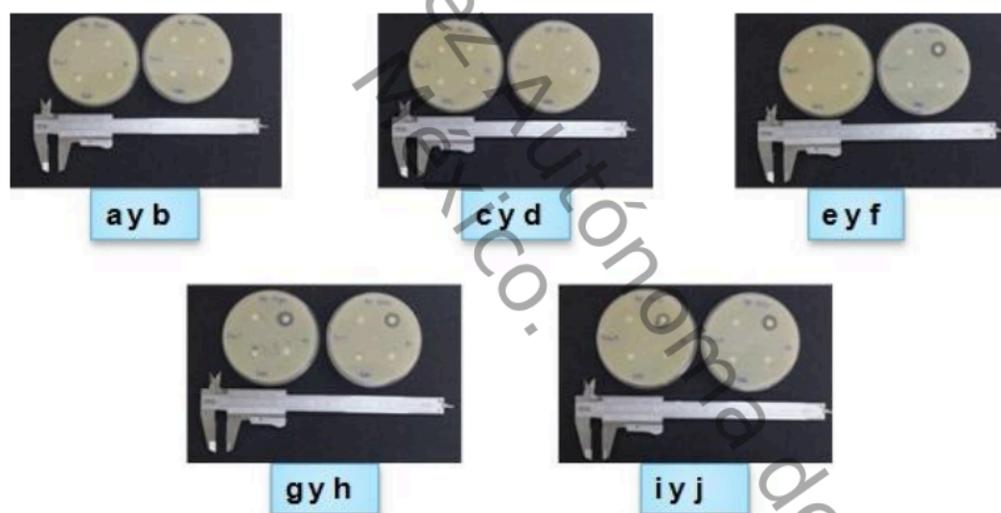


Figura 22. Antibiograma 5 (2-300 μg /sensidisco) comparada con Amox-Ac.

Síntesis de análogos heteroaromáticos de chalconas y su evaluación antibiótica *in vitro*

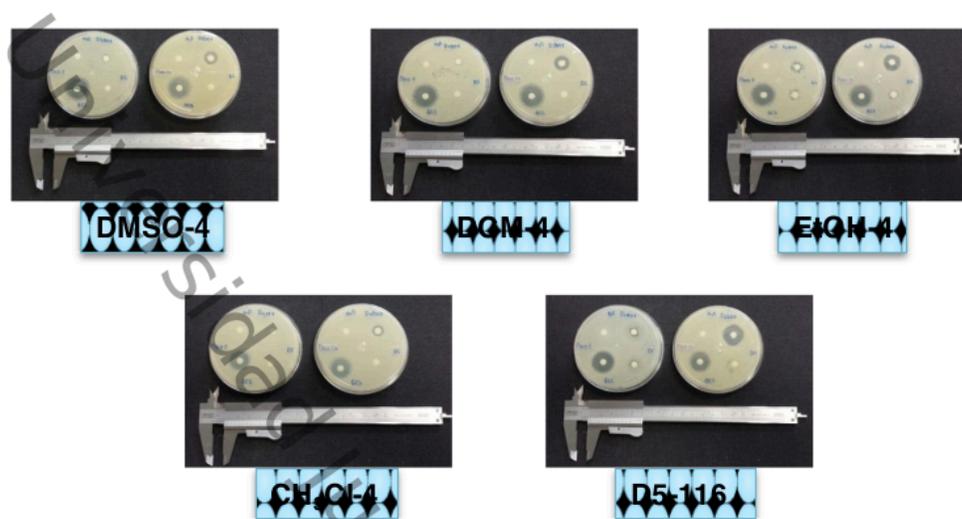


Figura 25. Antibiograma 4 (100 µg/sensidisco) disuelta en los cuatro solvente y la solución de lidocaína comparando con Clin.

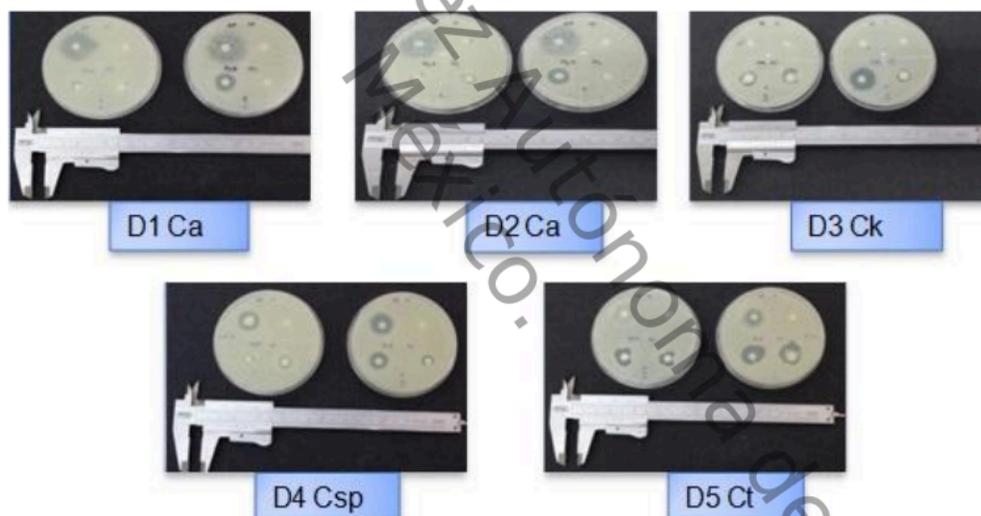


Figura 26. Antibiograma de la actividad antifúngica de (E)-3-fenil-1-(2-furanil)prop-2-en-1-ona (4).

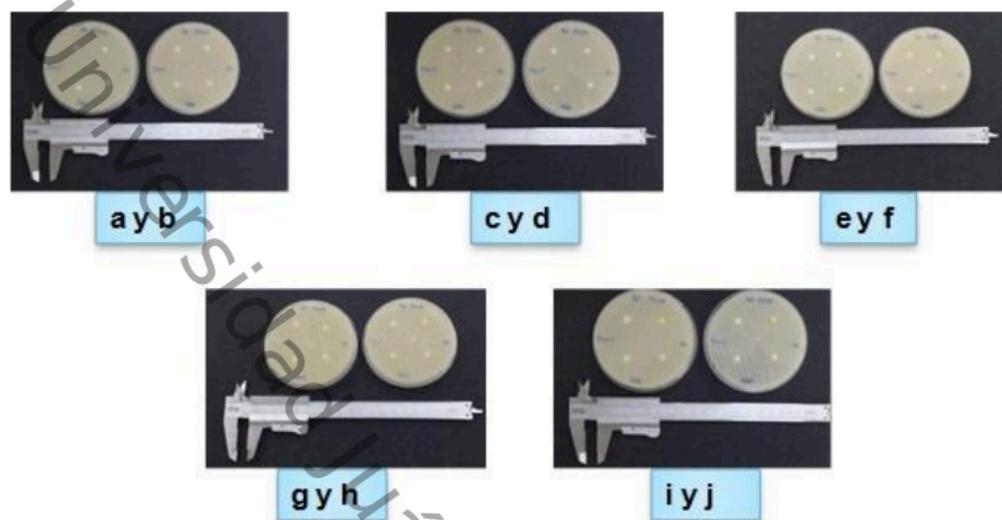


Figura 27. Antibiograma 6 (2-300 μg /sensidisco) Comparadas con Amox-Ac.

Síntesis de Análogos Heteroaromáticos de Chalconas y su Evaluación Antibiótica In Vitro.

ORIGINALITY REPORT

8%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	archivos.ujat.mx Internet	851 words — 4%
2	www.scribd.com Internet	146 words — 1%
3	core.ac.uk Internet	138 words — 1%
4	edoc.tips Internet	100 words — < 1%
5	www.mdpi.com Internet	51 words — < 1%
6	hdl.handle.net Internet	50 words — < 1%
7	up-rid.up.ac.pa Internet	45 words — < 1%
8	Constain Salamanca, Cristhian Yarce, Yony Roman, Andrés Davalos, Gustavo Rivera. "Application of Nanoparticle Technology to Reduce the Anti-Microbial Resistance through β -Lactam Antibiotic-Polymer Inclusion Nano-Complex", Pharmaceuticals, 2018 Crossref	37 words — < 1%

9	sphinxsai.com Internet	36 words — < 1%
10	rnlkwc.ac.in Internet	31 words — < 1%
11	revistas.ujat.mx Internet	29 words — < 1%
12	www.eurekaselect.com Internet	29 words — < 1%
13	getjson.sid.ir Internet	25 words — < 1%
14	www.medigraphic.com Internet	25 words — < 1%
15	Frédéric Bois, Ahcène Boumendjel, Anne-Marie Mariotte, Gwenaëlle Conseil, Attilio Di Petro. "Synthesis and biological activity of 4-alkoxy chalcones: potential hydrophobic modulators of p-glycoprotein-mediated multidrug resistance", <i>Bioorganic & Medicinal Chemistry</i> , 1999 Crossref	22 words — < 1%
16	escholarship.org Internet	20 words — < 1%
17	www.juntadeandalucia.es Internet	20 words — < 1%
18	dspace.uniandes.edu.ec Internet	19 words — < 1%
19	Shin-Moo Kim. "Isolation and Antimicrobial Susceptibility of Mupirocin-Resistant and	18 words — < 1%

Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Clinical Samples", Journal of Bacteriology and Virology, 2011

Crossref

20 Simon F. Nielsen, Mogens Larsen, Thomas Boesen, Kristian Schønning, Hasse Kromann. 18 words — < 1%

"Cationic Chalcone Antibiotics. Design, Synthesis, and Mechanism of Action", Journal of Medicinal Chemistry, 2005

Crossref

EXCLUDE QUOTES ON

EXCLUDE SOURCES OFF

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE MATCHES < 18 WORDS