



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS



**SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN
AZODERIVADO OBTENIDO A PARTIR DE 4-AMINOCHALCONA
Y ÁCIDO SALICÍLICO COMO PROFÁRMACO POTENCIAL**

Tesis

Para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA
ORGÁNICA**

Presenta

MOISÉS HUMBERTO ALEJANDRO BROCA

Directores de tesis

DR. MIGUEL ÁNGEL VILCHIS REYES

DR. EVER ARQUÍMEDES BLÉ GONZÁLEZ

Cunduacán, Tab.

Junio 2023



DIRECCIÓN

División
Académica
de Ciencias
Básicas



29 de mayo de 2023

ING. MOISÉS HUMBERTO ALEJANDRO BROCA
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 y actividad antimicrobiana de un azoderivado obtenido a partir de 4-aminochalcona y ácido salicílico como profármaco potencial"**, 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 más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE.

DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL
DIRECTORA



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS BÁSICAS

C.c.p.- Archivo

DIR'DRA.HPV//JP'DRA.EAM/jkal

CARTA DE AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesis de maestría denominada **"SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN AZODERIVADO OBTENIDO A PARTIR DE 4-AMINOCHALCONA Y ÁCIDO SALICÍLICO COMO PROFÁRMACO POTENCIAL"**, 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 para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Cunduacán, Tabasco a los 01 días del mes de Junio del 2023.

Autorizó

Moisés Humberto Alejandro Broca

202A18001

Agradecimientos

Al CONACYT, por la Beca Nacional **773597** otorgada a un servidor.

A la UJAT, por la oportunidad de poder desarrollarme profesionalmente en el área de ciencias básicas.

A la División Académica de Ciencias Básica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por permitirme desarrollar el trabajo experimental dentro de las instalaciones del Laboratorio de Química Orgánica del CICTAT.

Al laboratorio de Microbiología 1 (LQFB1), por el apoyo al realizar el análisis microbiológico.

Al comité revisor de tesis; Dra. Nancy Romero Ceronio, Dr. Cuauhtémoc Alvarado Sánchez, Dr. Carlos Ernesto Lobato García, Dr. Luis Fernando Roa de la Fuente, por sus aportaciones al crecimiento y formación profesional de un servidor como investigador.

A mi director de tesis, Dr. Miguel Ángel Vilchis Reyes y mi Codirector de tesis, Dr. Ever Arquímedes Blé Gonzalez, por su apoyo, paciencia, consejos, dirección, preocupación, tiempo y formación profesional, académica y personal.

Al M.C. Quirino Torres Sauret, por el apoyo, paciencia, consejos y amistad.

Dedicatoria

A Dios, porque Él es bueno y para siempre es su misericordia.

A mi padre, Moisés Alejandro Cordova, porque en con sus últimas palabras, me expreso que creía en Dios y en mí.

A mi madre, María del Pilar Dolores Broca Quevedo, porque me ama y sigue apoyando y aconsejando y por ser una mujer virtuosa que me acerca a Dios.

A mi hermana, Iracema Josefina Alejandro Broca, porque ella me ama y me jala las orejas.

A mi esposa, Vidaura de Jesús Campos Olán, porque nos encontramos en medio del camino mientras estudiaba este posgrado, y hasta este momento me sigue apoyando, acercándome a Dios y amándome.

A mi hermano Roky Alejandro Correa, a mi Cuñado Salomón Gibran Lastra Ross, a mis sobrinos Julio Moisés, Jonathan, Evelyn y Melissa; a Vidaura y Ximena y en especial a Moisés Gibran, porque en él veo al hijo que Dios no me permitió tener, pero que entiendo perfectamente.

Por todo a todos, y sobre todo y todos a Dios, porque me permitió tenerlos en mi vida.

Contenido

Abreviaturas.....	8
1. Introducción.....	10
2. Marco teórico.....	13
2.1 Microbiota del sistema gastrointestinal.....	13
2.2 Colon.....	14
2.3 Fármacos para el tratamiento de las EII.....	17
2.4 Ácido 5-amino salicílico.....	18
2.5 Profármaco.....	19
2.5.1 Profármacos como sistemas de liberación dirigida a colon.....	24
2.6 Azoderivados como profármacos.....	25
2.6.1 Azoderivados.....	28
2.7 Chalconas.....	29
2.7.1 Aminochalconas.....	30
2.7.2 Condensación de Claisen-Schmidt: síntesis de chalconas.....	31
2.8 Método de disco difusión para determinar la sensibilidad antibiótica.....	33
4. Justificación.....	35
5. Hipótesis.....	38
6. Objetivos.....	38
6.1 Objetivo General.....	38
6.2 Objetivos Específicos.....	38
7. Discusión y resultados.....	40
7.1 Parte Química.....	40
7.1.1 Síntesis de las chalconas y caracterización.....	40
7.1.2 Caracterización de los intermediarios y del compuesto 1.....	44
7.1.2.1 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear.....	45
7.2 Actividad antimicrobiana.....	56
7.2.1 Ensayo de Kirby - Bauer.....	56
Conclusiones.....	63
Perspectivas.....	65

BIBLIOGRAFÍA	67
Apéndice 1: Anatomía y fisiología del tracto gastrointestinal	74
<i>Anatomía del tracto GI</i>	74
<i>Fisiología del tracto GI</i>	77
<i>Estómago</i>	77
<i>Duodeno</i>	77
<i>Yeyuno</i>	78
Apéndice 2. Parte química	80
Metodología para la obtención de los compuestos 1 y 5	81
Obtención de la 4-aminoacetofenona (3).....	81
Obtención de la 4-aminochalcona (5).....	82
Síntesis del compuesto 1 a partir de 5	83
Síntesis del compuesto 7	83
Síntesis del compuesto 1 a partir del compuesto 7	85
Apéndice 3. Parte biológica	86
Procedimiento para comprobar la actividad antimicrobiana de 1 y 5	86
Apéndice 4. Espectroscopía	87
Espectroscopía de intermediarios y compuesto final	87
Compuesto 1	87
Compuesto 3	88
Compuesto 5	89
Compuesto 6	91
Compuesto 7	92

Índice de Figuras

Figura 1. Endoscopias de Colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (EC), donde se observa la presencia de úlceras que alteran la mucosa del colon.....	17
Figura 2. Clasificación esquemática de objetivos en la investigación de profármacos, orientados por objetivos relacionados con las fases farmacéutica (FF), farmacocinética (FC) y farmacodinámica (FD).....	21
Figura 3. Representación esquemática de algunos profármacos diseñados para eludir una membrana.	22
Figura 4. Clasificación de los profármacos bioprecusores en función de sus mecanismos de activación.....	23
Figura 5. Estructura química del 5-ASA y vinculación con agentes químicos para el diseño de profármacos.	24
Figura 6. Estructura molecular de balsalazida.	24
Figura 7. Moléculas que sufren reducciones enzimáticas usadas como profármacos para el tratamiento de enfermedades.	26
Figura 8. Mecanismo propuesto para la reducción de colorantes azoicos por azo-reductasas, proceso mediado por un derivado de la nicotinamida.....	27
Figura 9. Síntesis de compuesto azo.....	29
Figura 10. Estructura de las chalconas. a) <i>trans</i> -1,3-diaril-2-propen-1-ona, b) <i>cis</i> -1,3-diaril-2-propen-1-ona y c) metochalcona, fármaco usado clínicamente como medicamento colerético.	29
Figura 11. 4-aminochalcona.	30
Figura 12. Condensación de Claisen – Schmidt para la formación de chalcona.....	32
Figura 13. Prueba de Kirby-Bauer.....	33
Figura 14. Propuesta de los productos esperados de la reducción metabólica microbiana del compuesto 1 en el colon.	36
Figura 15. Estructura del compuesto 1	38
Figura 16. Análisis retrosintético observando dos posibles alternativas para la síntesis del compuesto 1	40
Figura 17. Primera ruta sintética para la obtención del compuesto 1	41
Figura 18. Ruta alterna para la obtención del conjugado azo en posición <i>para</i>	42
Figura 19. Comparación de las rutas sintéticas empleadas para la obtención del compuesto 1	43
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 3 (600 MHz, CDCl ₃).	45
Figura 21. Espectro de RMN DEPTQ del compuesto 3 (150.92 MHz, CDCl ₃).	46
Figura 22. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 5 (600MHz en DMSO- <i>d</i> ₆).	47
Figura 23. Espectro de RMN DEPTQ del compuesto 5	48
Figura 24. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 1	50
Figura 25. Espectro de RMN ¹³ C de la molécula 1	51
Figura 26. Espectro de UV – Vis del compuesto 1	52

Figura 27. Espectro de RMN ¹ H de la molécula 7	53
Figura 28. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 7	54
Figura 29. Espectro de UV – Vis de la molécula 7	55
Figura 30. Gráfica del antibiograma de los compuesto 1 y 5 contra las cepas de <i>S. aureus</i>	57
Figura 31. Antibiograma del compuesto 1 contra <i>S. aureus</i>	57
Figura 32. Gráfica. Antibiograma del compuesto 5 contra diversas cepas bacterianas.	58
Figura 33. Evidencia fotográfica de los antibiogramas del compuesto 5 contra cepas de a) <i>S. aureus</i> ATCC 25923, b) <i>S. aureus</i> aislado clínico, c) <i>S. epidermis</i>	58
Figura 34. Antibiograma del compuesto 1 contra diversas cepas bacterianas.	59
Figura 35. Antibiograma del compuesto 5 y del compuesto 1 contra <i>C. albicans</i>	60
Figura 36. a) Evidencia fotográfica del antibiograma del compuesto 1 contra la cepa de <i>C. albicans</i> . b) antibiograma del compuesto 5 contra <i>C. albicans</i>	60
Figura 37. Descripción de las partes anatómicas del intestino.....	74
Figura 38. Composición anatómica del intestino.....	75
Figura 39. El duodeno y yeyuno en el sistema digestivo.....	78
Figura 40. Reducción de la 4-nitroacetofenona a 4-aminoacetofenona.....	81
Figura 41. Condensación de Claisen-Smith entre 4-aminoacetofenona (3) y benzaldehído (4) para la obtención de 4-aminochalcona (5).....	82
Figura 42. Acoplamiento azo entre las moléculas de 4-aminochalcona y el ácido salicílico. ...	83
Figura 43. Acoplamiento azo entre las moléculas de 4-aminoacetofenona y el ácido salicílico.	84
Figura 44. Condensación de Claisen-Smith entre azoderivado de 4-aminoacetofenona (7) y benzaldehído (4) para la obtención de azoderivado de 4-aminochalcona (1).	85

Índice de tablas

Tabla 1. Enfermedades inflamatorias intestinal en México en 2015: relación de pacientes atendidos, pacientes hospitalizados y muertes por causa específica por cada cien mil habitantes.....	17
Tabla 2. Recursos de diseño para conseguir atributos de calidad en los medicamentos.	20
Tabla 3. Ejemplos selectos de profármacos y objetivo pretendido.....	22
Tabla 4. Prueba de solubilidad de los compuestos con diferentes disolventes.....	44

6

1

Abreviaturas

5-ASA – Ácido 5-aminosalicílico

ACC – Aminochalcona

Ar – Arilo

ASP – Amisulprida

CCF – Cromatografía en Capa Fina

CU – Colitis Ulcerosa

CUCI – Colitis Ulcerosa Crónica Idiopática

EC – Enfermedad de Crohn

EII – Enfermedades Inflammatorias Intestinales

FC – Farmacocinética

FD – Farmacodinámica

FF – Fase farmacéutica

I.V. – Intravenosa

MepA - Gen que codifica proteínas de membrana participantes en los procesos de expulsión que pueden dar lugar a resistencias en *S. aureus*

MIC – Concentración mínima inhibitoria

NorA – Gen que codifica proteínas de membrana participantes en los procesos de expulsión que pueden dar lugar a resistencias en *S. aureus*

RMN – Resonancia Magnética Nuclear

ufc – Unidad formadora de colonias

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) son un conjunto de enfermedades crónicas del tracto gastrointestinal y los factores que intervienen en su etiología y patogenia son numerosos, siendo sus formas más comunes la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU)¹.

Son diversas las causas determinantes que pueden desencadenar el comienzo de las EII, donde destaca una gran influencia genética, tanto a nivel del sistema inmune y adaptativo, cambios en la microbiota intestinal y factores ambientales. Con las investigaciones cromosómicas y genéticas, se pueden observar las mutaciones del gen NOD2 (*nucleotide oligomerization domain 2*) (asociada a la genética de las EII), en el cromosoma 16, las cuales están relacionadas con el aumento de la susceptibilidad en el desarrollo de las EII y que muestra un reconocimiento deficiente de productos bacterianos, teniendo así la importancia de la microbiota en la patogenia de las EII¹.

Las influencias ambientales están implicadas en el incremento de las EII, a causa del mundo en vía de desarrollo. En lo cual, la etiología bacteriana conlleva un énfasis importante, ya que ha detonado la disminución drástica en la microbiota intestinal y un aumento excesivo de las Gammaproteobacteria, haciendo que la alfa diversidad (o el total de las especies), se encuentre muy escasa en la EII cuando esta activa¹.

A causa de la baja tasa de efectividad de algunos fármacos, los profármacos se han creado con la visión de mejorar propiedades del compuesto farmacéutico en cuestiones como biodisponibilidad, especificidad, problemas de formulación; entre otros, conservando así la actividad deseable al ser liberado el fármaco en el organismo mediante metabolismo del profármaco. Además, los profármacos se han utilizado con éxito como sistemas de liberación para un órgano específico, un caso particular es la liberación a nivel de colon de compuestos de azoderivados como la

sulfazalazina, balsalazida, olsalazina e ipsalazida, profármacos ampliamente usados en el tratamiento de las EII².

La 4-aminochalcona (4-ACC)³ y el ácido 5-aminosalicílico (5-ASA)² son fármacos que permiten la mejora en las EII, sin embargo, estos fármacos no llegan al colon al ser administrados por vía oral². Es por lo que en este proyecto se pretende una alternativa atractiva de solución química que implica un enfoque de profármaco. La reducción enzimática de los azoderivados permitiría la liberación de los fármacos conjugados por este enlace, lo cual ocurre mediante la enzima azoreductasa contenida en la flora intestinal, permitiendo la acción de las propiedades características de los fármacos en el organismo, como las propiedades antibacterianas de la 4-ACC y las propiedades analgésicas y antiinflamatorias del 5-ASA. Siendo el conjugado 4-ACC – azo - 5-ASA, un posible profármaco de gran alcance para el tratamiento de las EII, con la finalidad de aportar una terapia alterna con respecto a mejorar la calidad de vida de personas que padecen EII.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

MARCO TEÓRICO

2. Marco teórico

El sistema gastrointestinal es responsable de la digestión y absorción de los nutrientes y xenobióticos administrados por vía oral en el organismo⁴⁻⁶ y para entender el objetivo del presente trabajo de investigación es necesario conocer la microbiota y el papel del colon en el sistema gastrointestinal. En el Apéndice 1 se presenta una descripción de la anatomía del tracto gastrointestinal.

2.1 Microbiota del sistema gastrointestinal

El ser humano es considerado un holobionte o superorganismo debido a la totalidad de microorganismos que hospeda y con los cuales establece relaciones que influyen sobre su fisiología y salud. La microbiota del tracto gastrointestinal es muy compleja, ya que contiene varios microorganismos aeróbicos y anaeróbicos⁵⁻⁷ que son fundamentales para conservar la homeostasis corporal. Por lo tanto, cuando hay una pérdida de equilibrio entre la microbiota intestinal y las células del sistema gastrointestinal, proceso conocido como disbiosis intestinal, puede dar lugar a una patogenicidad intestinal⁷.

La saliva humana contiene un aproximado de 10^7 unidades formadoras de colonias (ufc)/mL de bacterias aeróbicas y anaeróbicas. Estas pueden entrar en el estómago cuando se ingiere la saliva o alimentos y, debido a la disminución drástica del pH en el estómago, el número de ufc disminuye a alrededor de $10^2 - 10^3$ ufc/mL de bacterias principalmente aeróbicas.

La microbiota (bacterias, principalmente) en el intestino delgado proximal es similar a la del estómago y aumenta exponencialmente en el intestino inferior (íleon, colon y recto) a entre $10^{10} - 10^{11}$ ufc/mL, predominando las bacterias anaeróbicas. Aproximadamente un tercio del peso seco de la materia fecal consiste en bacterias, en las que se pueden encontrar hasta 400 especies diferentes. Los géneros predominantes en el colon son *Bacteroides*, *Bifidobacterium* y *Eubacterium*. Varias enzimas producidas por estas juegan un rol importante en el metabolismo de compuestos endógenos y exógenos⁸⁻¹⁵, por ejemplo, en el colon podemos

encontrar células bacterianas que expresan una enzima llamada azoreductasa, capaz de reducir compuestos de tipo diazoico a dos compuestos aminados, que es encontrada únicamente en esta parte del sistema digestivo, por lo que se ha aprovechado esta característica para la elaboración de profármacos con grupos diazo que sean metabolizados en el colon^{9,14,15}.

2.2 Colon

El colon está dividido en varias regiones denominadas como ascendente, transverso, descendente y sigmoide. La función primordial del colon es asimilar agua, sales, algunos elementos esenciales liposolubles y vitaminas. Su tiempo de vaciado es de unos 1000 minutos^{7,8,14}.

La relevancia fisiológica y farmacológica del colon es de suma importancia para la absorción de nutrientes y fármacos en el organismo, siendo que sin el cuidado correcto y oportuno el colon sufre padecimientos graves como las enfermedades inflamatorias intestinales (EII), que pueden llegar a causar grandes estragos en la salud de los individuos.

Aunque la fisiopatología de las EII es compleja, se ha observado que son dos factores principales los que influyen en la etiología de las EII, los cuales son factores genéticos, que regulan el sistema inmune, y la influencia ambiental.

Se ha comprobado que las influencias ambientales son importantes para el rápido crecimiento en el número de casos de las EII en el mundo actual¹. Se especula que el cambio epidemiológico se ha derivado de factores genéticos y ambientales junto con la microbiota. Entre los factores perjudiciales para el desarrollo y evolución de las EII se encuentran la calidad de sueño, la contaminación y la urbanización, la obesidad, el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINE), el uso de antibióticos, el padecimiento de gastroenteritis infecciosa, el uso anticonceptivos orales, condiciones de hipoxia por estar a una altura mayor a 2,000 metros sobre el nivel del mar, estrés y factores anímicos, dieta, etcétera¹⁶. Según un estudio de asociación del genoma completo (GWAS, *Genome-wide association studies*), se sugirió que la composición y función de la microbiota existente en el intestino es un

44

30

7

factor preponderante en la patogenia de las EII. La gran mayoría de las rutas simbióticas homeostáticas, que son las encargadas del reconocimiento y la respuesta a microbios intestinales específicos para la preservación de la homeostasis, se modifican en las EII, dando por resultado una merma en la tolerancia a la microbiota intestinal¹.

La microbiota intestinal normal se compone de cuatro familias de bacterias, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y, en menor concentración *Actinobacteria* y *Proteobacteria*. La concentración de la microbiota aumenta del estómago hacia el colon, donde se encuentra la mayor densidad bacteriana (1,012 células/gramo de contenido luminal). Las bacterias mencionadas arriba tienen diversas funciones que envuelven el sistema inmune de la mucosa como, por ejemplo, la resistencia a la colonización del intestino por parte de la bacteria *Clostridium difficile*, un microorganismo patógeno. En un estudio hecho en ratones se demostró que los individuos libres de la microbiota intestinal son más susceptibles a desarrollar EII. Cuando se presentan cuadros de EII se han identificado cambios extremos en la microbiota, siendo los más importantes la disminución de *Bacteroides* y *Firmicutes* y un aumento extremo de *Gammaproteobacteria*. La alfa diversidad, o la totalidad de especies bacterianas, esta disminuida cuando la EII se encuentra activa¹.

Las EII más prominentes son la colitis ulcerosa crónica idiopática (CUCI) y la EC (Figura 1) y son una inflamación crónica en el intestino^{2,17}. En la Tabla 1 se muestran los indicadores del número de casos de EC y CUCI en México.

El cuadro clínico de las EII difiere en cada individuo, y en un 10% de casos es de difícil distinción. La colitis ulcerativa afecta exclusivamente al colon y el recto y presenta como síntomas principales diarrea con sangrado y dolor abdominal. En casos graves hay deposiciones líquidas con sangrado y pus, cólicos agudos, signos de deshidratación, anemia, fiebre y disminución de peso, en la afección rectal puede observarse estreñimiento en vez de diarrea.

La enfermedad de Crohn se caracteriza por una afectación total o parcial del tracto digestivo, por lo tanto, las manifestaciones clínicas dependen del sitio o sitios involucrados. Frecuentemente se observa fiebre, dolor abdominal, diarrea (mayormente sin sangre), pérdida de peso y fatiga asociada. Cuando la parte

afectada es el colon se manifiesta diarrea y dolor, con hemorragias rectales poco frecuentes; en las complicaciones anorrectales podemos observar fistulas, fisuras y abscesos perirectales. Si el intestino delgado es el afectado, hay disminución de peso, malestar o dolor en la fosa iliaca derecha y diarrea; ocasionalmente hay febrícula, anorexia, náuseas y vómito¹⁸.

Según los registros del *Global Cancer Repository* (2018)¹⁹, el cáncer de colon es uno de los más mortales y ocupa el tercer lugar de incidencia a nivel mundial; a nivel nacional, el cáncer colorrectal ha pasado del cuarto al tercer lugar en los últimos años^{20,21}. El desarrollo de cáncer colorrectal (CCR) ha sido relacionado con la presencia de EII, pues los episodios crónicos de inflamación de la mucosa intestinal tienen un claro papel en la etiología de este tipo de cáncer. Varios estudios epidemiológicos han encontrado que existe un aumento en la incidencia del CCR debido a las EII; por ejemplo, un metaanálisis realizado sobre la población de Estados Unidos, Canadá y Europa arrojó como resultado que el riesgo de padecer CCR aumenta por cada cinco años de vida del individuo a partir de los 15 años y que cambios seculares en el tratamiento de las EII contribuyen en la reducción aparente del riesgo de padecer CCR¹⁹.

La introducción de terapias de mantenimiento por tiempos prolongados para suprimir la inflamación crónica usando ácido 5-aminosalicílico, agentes antifactor de necrosis tumoral, inmunomoduladores y, recientemente, terapias antintegrinas pueden reducir las incidencias del CCR. Por otro lado, en estudios realizados sobre biopsias de cáncer colorrectal se ha encontrado que existe un aumento de la expresión de la enzima sintasa de óxido nítrico, lo que está relacionado con un incremento de la concentración local de especies reactivas de oxígeno, que pueden generar cuadros de estrés oxidativo y alteración de las funciones del intestino¹⁹.

6

Tabla 1. Enfermedades inflamatorias intestinal en México en 2015: relación de pacientes atendidos, pacientes hospitalizados y muertes por causa específica por cada cien mil habitantes¹⁷.

	EC		CUCI	
	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres
Pacientes atendidos	5,009	4,994	17,177	15,883
Pacientes hospitalizados	332	298	467	124
Hospitalizaciones	1,097	5,345		
Tasas de muerte	32	36	267	186
Pacientes (x 100,000 habitantes) ^a	8.1	8.4	27.7	26.9
Pacientes hospitalizados (x 100,000 habitantes) ^b	0.54	0.50	1.76	1.80
Hospitalizaciones (pacientes/año) ^c	1.74	2.48		
Mortalidad (x 100,000 habitantes - año) ^d	0.52	0.61	4.31	3.15

^a Pacientes atendidos x 100,000 habitantes – año. ^b Pacientes hospitalizados x 100,000 habitantes – año. ^c Promedio de hospitalización x paciente hospitalizado – año. ^d Mortalidad específica x 100,000 habitantes – año.



Figura 1. Endoscopias de Colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (EC)¹⁸, donde se observa la presencia de úlceras que alteran la mucosa del colon.

2.3 Fármacos para el tratamiento de las EII

Los fármacos convencionales utilizados en el tratamiento de las EII se dirigen a inducir y mantener al paciente en un estado de remisión y mejorar los efectos secundarios de la enfermedad, en lugar de alterar o revertir los mecanismos de acción de los patógenos. Los objetivos de la farmacoterapia de las EII abordan desde la agudización de la enfermedad, mantener la remisión y atender

complicaciones como fístulas. Los fármacos específicos pueden ser adecuados para uno o más de los objetivos mencionados anteriormente¹.

Uno de los retos más importantes para el tratamiento por vía oral de las EII es que el fármaco llegue al colon con una concentración terapéutica adecuada sin ser absorbido por el intestino delgado (lo que podría dar lugar a efectos tóxicos sistémicos indeseados), por ese motivo la administración del medicamento debe ser local, dando por resultado poca adherencia del paciente al tratamiento. Se han creado agentes de liberación de fármacos específicos para el colon, entre ellos tenemos a los profármacos que contienen grupos diazo, que incrementan la eficacia y disminuyen los efectos adversos¹⁸.

2.4 Ácido 5-amino salicílico

El tratamiento intrarrectal con anestésicos locales, probablemente disminuyendo la hiperactividad de los nervios autónomos y la respuesta inmune no regulada, alivia la inflamación colónica en modelos de colitis animal. El ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) o mesalazina se usa ampliamente para el tratamiento de la CU o la EC activa, de leve a moderada²².

La absorción rápida y extensa de 5-ASA en el intestino delgado impide el uso terapéutico por vía oral como fármaco anti-EII. Además de la baja concentración alcanzada en colon del 5-ASA para el tratamiento de la EII por vía oral, los efectos adversos del 5-ASA absorbido sistémicamente, como el síndrome nefrótico, requieren que se administre de manera local en el intestino grueso donde se produce principalmente la inflamación, lo que se logra mediante formulación farmacéutica o enfoque de profármaco. Mediante el uso de diferentes formas farmacéuticas, el 5-ASA puede liberarse a lo largo del tracto gastrointestinal mediante cápsulas de liberación retardada que se liberan en cualquier lugar desde el yeyuno hasta el recto. Utilizando sistemas de liberación dependientes de pH el 5-ASA se puede liberar desde el íleon hasta el recto, los enemas de 5-ASA se aplican en el colon distal y el recto y los supositorios de 5-ASA se pueden aplicar sólo en el recto²².

Utilizando la estrategia de profármaco de 5-ASA, como en sulfasalazina, se puede liberar el fármaco desde el colon proximal hasta el recto, aprovechando los sistemas enzimáticos bacterianos.

2.5 Profármaco

Un fármaco es una sustancia con cierta composición química, ya sea de origen vegetal, animal, mineral o sintético, especializado para producir efectos intencionados sobre un área de la fisiología del cuerpo humano, con tasas de absorción y distribución óptima, mostrado así en la relación de acción y respuesta en el paciente. Según la Ley General de Salud²³ un fármaco es *“toda sustancia natural, sintética o biotecnológica que tenga alguna actividad farmacológica y que se identifique por sus propiedades físicas, químicas o acciones biológicas, que no se presente en forma farmacéutica y que reúna condiciones para ser empleada como medicamento o ingrediente de un medicamento”*.

Con base a la especialidad química mostrada en la Tabla 2 y con la necesidad de encontrar nuevas formas para mejorar la acción de los fármacos, se ha pensado en el recurso de profármacos.

Tabla 2. Recursos de diseño para conseguir atributos de calidad en los medicamentos²⁴.

Especialidad	Recursos Investigados
Química	Moléculas Nuevas
	Síntesis de análogos
	Profármacos
	Polímeros y adyuvantes nuevos
Biología	Moléculas nuevas (biotecnología)
	Liposomas
	Anticuerpos y anticuerpos monoclonales
Biofarmacia	Vía de administración
	Coadministración de fármacos
Física (mecánica)	Bombas preprogramadas
	Bombas de retroalimentación
Farmacia	Selección y modificación física del fármaco
	Selección y formación física de la forma farmacéutica
	Sistemas terapéuticos novedosos
	liberación sostenida o controlada
	Formulación, proceso y equipo
	Adyuvantes para facilitar penetración
Calidad de diseño y de desarrollo	

Un profármaco se define como *“una molécula que no tiene ninguna actividad biológica intrínseca pero que es capaz durante las diferentes fases de su metabolismo de generar un fármaco biológicamente activo”*²⁵. Según esta definición, un profármaco es cualquier compuesto que debe sufrir metabolismo antes de presentar efectos farmacológicos. Por lo cual, los profármacos pueden ser fármacos con grupos protectores (que no deben poseer toxicidad al ser removidos) utilizados de forma provisional para afectar o erradicar propiedades inoportunas en la sustancia activa²⁶. Por otra parte, un profármaco puede ser definido como un compuesto conjugado sintetizado por adición química de otro biológicamente activo, que será liberado *in vivo* por medio de una reacción redox o hidrolítica^{25,27}.

La bioactivación, o metabolismo, necesario para modificar al profármaco a su forma de fármaco, es catalizada por enzimas que actúan sobre grupos funcionales específicos, siendo las enzimas más comunes las hidrolasas, idealmente esto debería suscitarse de forma selectiva en el tejido objetivo para nulificar reacciones secundarias inoportunas. El concepto de profármaco ha sido utilizado para cubrir una gama de objetivos biológicos y fisicoquímicos, que en diferentes situaciones estos objetivos pueden ser contradictorios. Algunos de esos objetivos pueden ser la

permeabilidad celular, solubilidad, estabilidad enzimática o química, biodisponibilidad, toxicidad y penetración de la barrera hematoencefálica los cuales pueden estar entrelazados (Figura 2)²⁸.

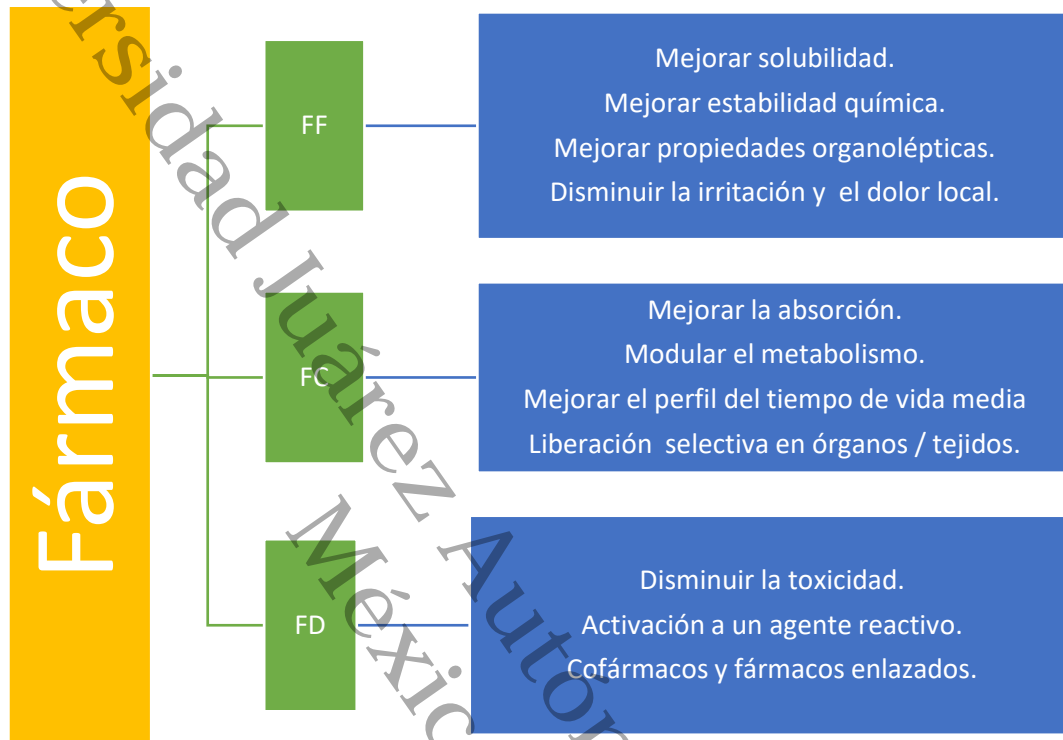


Figura 2. Clasificación esquemática de objetivos en la investigación de profármacos, orientados por objetivos relacionados con las fases farmacéutica (FF), farmacocinética (FC) y farmacodinámica (FD)²⁶.

Un profármaco idealmente debe vencer los factores que le imposibilitan su actividad, debe ser considerablemente lipofílico para pasar una membrana o barrera metabólica (Figura 3) y, a la vez, debe ser considerablemente hidrofílico para poseer los estándares de solubilidad, biodisponibilidad y transporte²⁶.

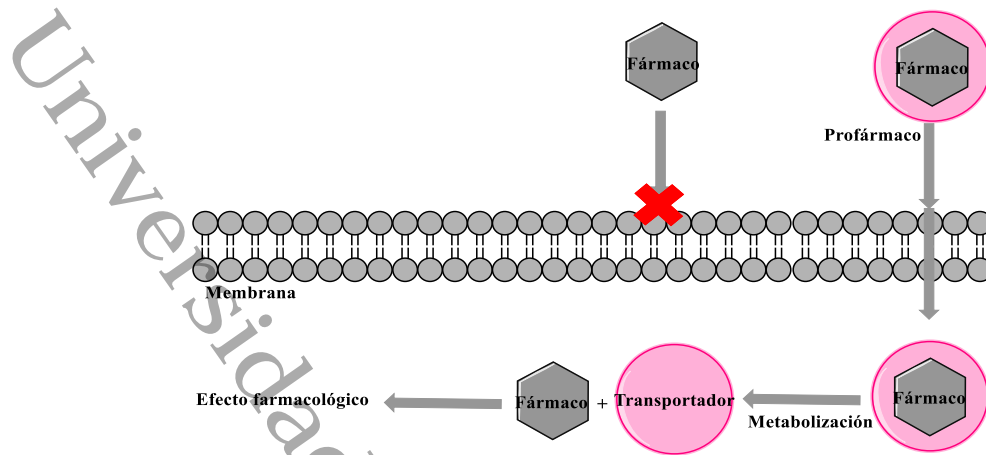


Figura 3. Representación esquemática de algunos profármacos diseñados para eludir una membrana²⁶.

El objetivo del uso de profármacos para la administración oral es maximizar la absorción intestinal o nulificar los efectos colaterales focalizados, e. g. cómo evitar la irritación gastrointestinal que provoca el ácido salicílico (Tabla 3) mediante la acetilación del fenol para generar el ácido acetilsalicílico que es más tolerado²⁵. Los principales objetivos del enfoque de profármacos se pueden resumir de la siguiente manera: i) mejorar la solubilidad en agua del fármaco, ii) mejorar la absorción y la permeabilidad de la membrana, iii) la liberación dirigida a un órgano específico, iv) disminución del metabolismo y v) disminución de los efectos secundarios, teniendo en cuenta que en algunos casos dos o más objetivos están interrelacionados (Figura 4, Tabla 3)²⁶.

Tabla 3. Ejemplos selectos de profármacos y objetivo pretendido²⁴.

Molécula original	Profármaco	Vía de administración	Objetivo
Ácido salicílico	Aspirina	Oral	Menos efectos colaterales
Ampicilina	Becampicina	Oral	Biodisponibilidad más completa
Cloramfenicol	Palmitato	Oral	Prologar acción
			Enmascarar sabor amargo
Dopamina	L-dopa	I.V.	Absorción en el cerebro
	L-dopa-trigonelina		Prolongar la acción

Uno de los enfoques más tempranos para la administración de 5-ASA (Figura 5) en el colon ha sido el diseño de profármacos a través del grupo funcional diazo

de un resto activo o inactivo al 5-ASA. La sulfapiridina se han copulado a 5-ASA para producir el profármaco comercializado como balsalazida (Figura 6).

La azoreductasa bacteriana en la región colónica es capaz de reducir el grupo funcional diazo y causar la formación de 5-ASA. La reducción del grupo diazo de sulfazalazina, balsalazida y olsalazina (Figura 6) por las bacterias del contenido del colon fue estudiada por Sousa et al²⁹ y encontró que la tasa de reducción era un factor importante para el efecto terapéutico.

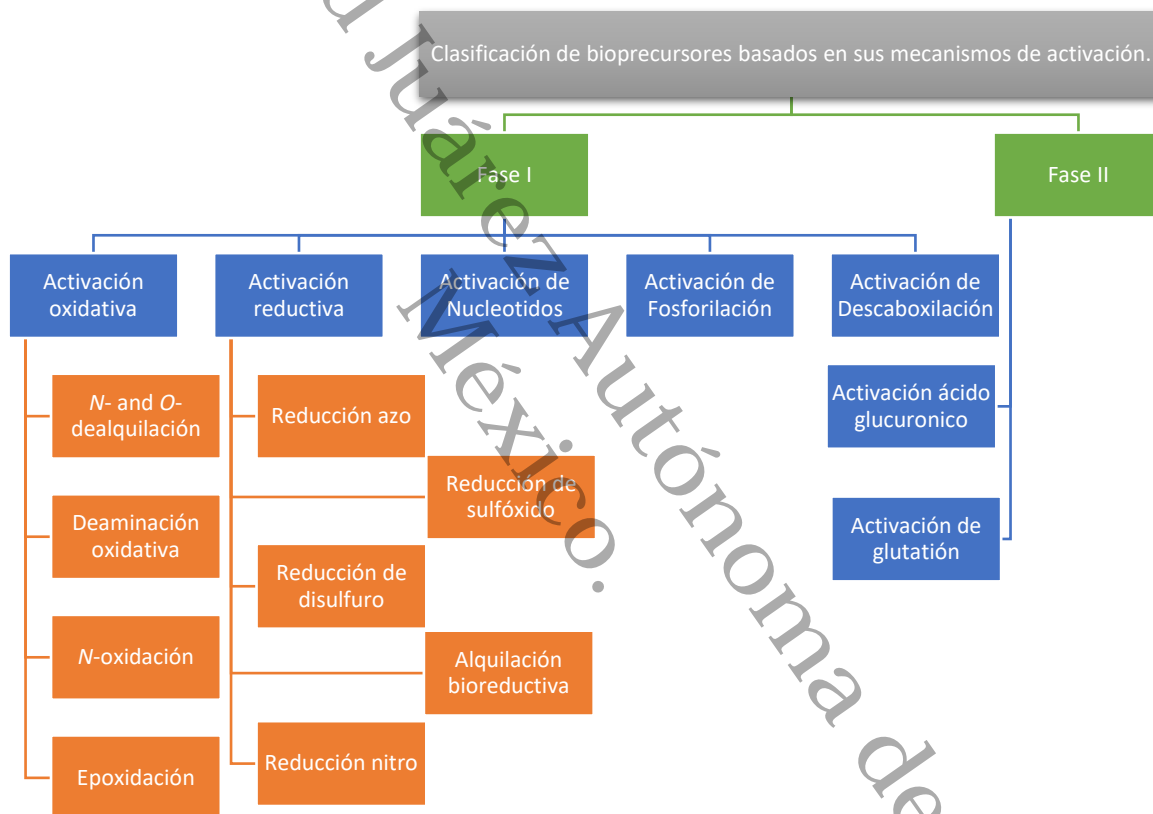


Figura 4. Clasificación de los profármacos bioprecursores en función de sus mecanismos de activación²⁶.

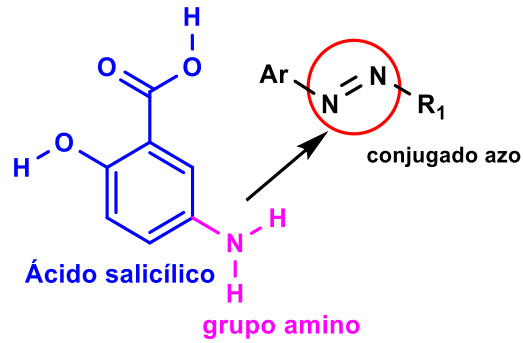


Figura 5. Estructura química del 5-ASA y vinculación con agentes químicos para el diseño de profármacos²⁹.

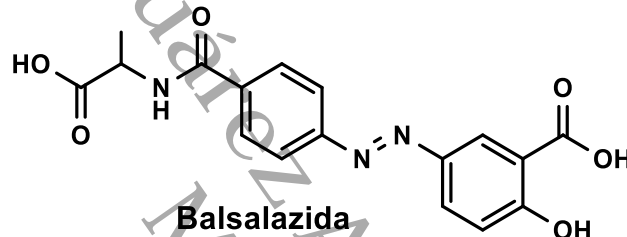


Figura 6. Estructura molecular de balsalazida²⁹.

2.5.1 Profármacos como sistemas de liberación dirigida a colon

El objetivo primordial de la administración de fármacos de administración oral de liberación dirigida a colon es eludir la absorción y biodegradación de estos en el tracto gastrointestinal superior, donde los fármacos son lábiles a ácidos o enzimas, y completar la entrega específica en el sitio deseado (colon)⁸. La absorción de fármacos es un fenómeno complejo que comienza en el yeyuno y termina en el colon, a través del paso (en flujo a contracorriente) de la sangre^{30,31}. Este comportamiento es el más interesante durante las fases de diseño y desarrollo de fármacos. La absorción de un fármaco viene dada por la interacción sinérgica entre el transporte activo, en algunos casos, y la difusión pasiva a través de la pared intestinal, adicionalmente, el vaciado del estómago determina sensiblemente el tiempo de absorción y la biodisponibilidad final³².

Los azoderivados aromáticos pueden ser reducidos a hidrazoderivados y posteriormente a aminas primarias. Dicha reducción es llevada a cabo por la microflora colónica, pues se ha establecido la presencia de agentes reductores dentro y fuera de las paredes de las células bacterianas intestinales. Esto basado en la observación de que algunos azoderivados, que no pueden penetrar la pared bacteriana son sensibles a la reducción en el colon facilitada por enzimas extracelulares o de membrana bacterianas. Teniendo en cuenta lo anterior, se han aislado algunas azo reductasas aeróbicas, pero como no se ha encontrado evidencia de la existencia de enzimas anaeróbicas, es posible que la reducción azoica anaeróbica ocurra a través de una reacción co-metabólica que involucra flavinas solubles que actúan como transbordadores de electrones entre la forma reducida de flavoproteínas ligadas al fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido y otros aceptores de electrones. La viabilidad de la reducción azoica por enzimas no específicas se ha demostrado en experimentos utilizando una serie de cultivos de una sola especie de microorganismos intestinales (*Clostridium sp.*, *Salmonella sp.*, *Bacillus sp.*, *Eubacterium sp.* y *Escherichia coli*), en los cuales se observó que todos catalizan la hidrogenación del grupo diazo¹⁹.

La reducción azoica es posible por dos vías, mediante la transferencia de dos electrones a través de un intermediario hidrazoico o, alternativamente, un mecanismo de transferencia de un electrón. Las consideraciones de diseño molecular para los compuestos azoicos farmacéuticamente aceptables están impuestas no sólo por la necesidad de lograr buenas tasas de reducción, sino también por la necesidad de evitar la toxicidad potencial debido a que algunas aminas aromáticas derivadas de la reducción de compuestos azoicos pueden metabolizarse a derivados electrofílicos capaces de unirse covalentemente al ADN³³.

2.6 Azoderivados como profármacos

Los azoderivados son un grupo de profármacos que contienen un enlace covalente doble nitrógeno – nitrógeno. Este grupo se reduce enzimáticamente por la flora

intestinal obteniendo por producto dos compuestos aminados que pueden presentar efectos farmacológicos²⁵. Ejemplos de moléculas que deben sufrir estas reducciones enzimáticas son la balsalazida (Figura 6) sulfasalazina e ipsalazida (Figura 7) empleadas en el tratamiento medicinal de artritis reumatoide dando como producto el antiinflamatorio 5-ASA y otras aminas^{8,25,34}.

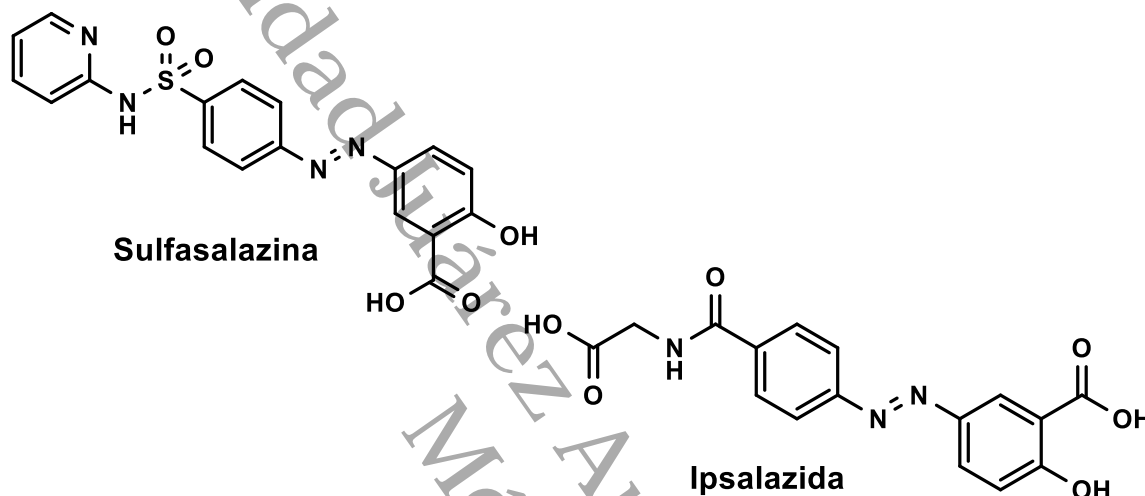


Figura 7. Moléculas que sufren reducciones enzimáticas usadas como profármacos para el tratamiento de enfermedades, contienen las tres el compuesto 5-ASA: ácido 5-aminosalicílico³⁵.

La reducción enzimática es llevada a cabo por la enzima azoreductasa, que se encuentra en la zona del colon, donde es de vital importancia para la reducción metabólica del profármaco y pueda realizar la liberación del antiinflamatorio ácido 5-aminosalicílico, un mecanismo propuesto de la reducción del grupo diazo se presenta en la Figura 8³⁶.

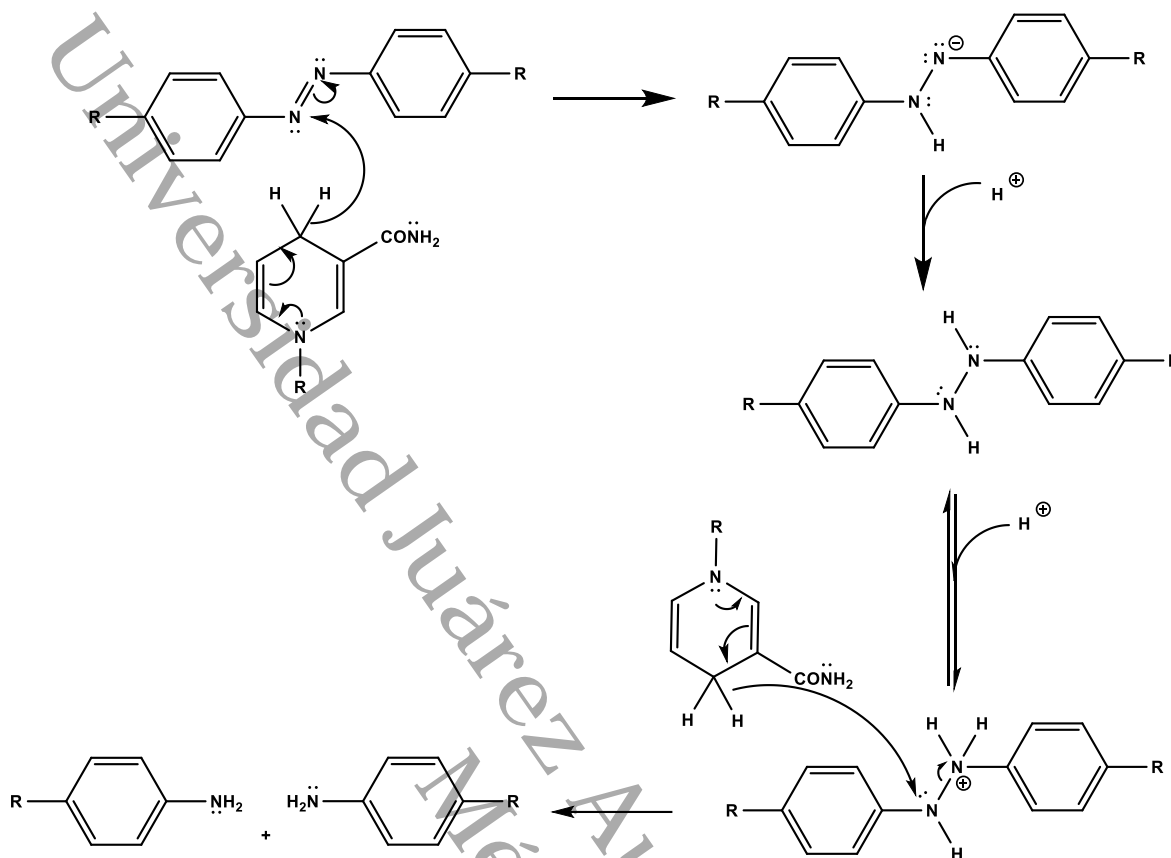


Figura 8. Mecanismo propuesto para la reducción de colorantes azoicos por azo-reductasas, proceso mediado por un derivado de la nicotinamida³⁷.

Con el uso de profármacos de ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) de tipo diazoico se otorga una ventaja terapéutica importante, ya que la absorción prematura del 5-ASA en el intestino delgado es minimizado debido al incremento del peso molecular y de la hidrofobicidad del profármaco. Para la sulfasalazina, uno de los profármacos 5-ASA comercializados, se ha demostrado que la absorción intestinal superior del agente activo se limita a ~ 12% de la dosis administrada. La olsalazina, profármaco con una estructura simétrica, fue diseñada para reducir los efectos secundarios de la sulfapiridina, pero no es un tratamiento tan eficaz para la CU como la sulfasalazina, probablemente por la degradación más lenta del grupo diazo. En un intento por mejorar la eficacia de 5-ASA, el fármaco se conjugó con ácido 4-aminofenilacético (un fármaco antiinflamatorio que actúa por un mecanismo diferente)³³.

2.6.1 Azoderivados

Basado en su importancia estructural, Warder (2012), sugiere que ligandos del tipo azoimina podrían ser responsables para la actividad biológica de algunas bases de Schiff. Además, diferentes colorantes de tipo azoico han sido estudiados como posibles inhibidores del VIH. Por otro lado, diferentes tipos de compuestos unidos mediante un grupo funcional diazo han mostrado actividad antibacterial y pesticida³⁸.

Otra área de aplicación de los azoderivados es en la preparación de material semiconductor orgánico, conjugado con moléculas pequeñas que poseen grupos atractores de electrones como el nitro, que presenta una estabilidad térmica mayor a 277°C, lo que se considera como una buena estabilidad al calor³⁹.

Por su parte, la chalcona obtenida mediante la copulación de 8-hidroxiquinolina y 4-aminoacetofenona, para la formación del azoderivado, y posterior condensación con 4-metoxibenzaldehído ha sido aplicada en películas delgadas en la fabricación de células solares con potencial a ser candidatas para su uso en equipos optoelectrónicos debido a su band gap óptico y espectro de absorción óptico⁴⁰. Otro uso potencial de los azoderivados de chalconas, en particular la 4-aminochalcona conjugada al 2-naftol, como agente que forma complejos solubles en agua de diversos iones metálicos para su cuantificación⁴¹. Por su parte, también se ha investigado al respecto de las propiedades antiinflamatorias de los conjugados azo, caso como este es el presentado por Rohini (2015), el cual en la búsqueda de diferentes tipos de chalconas mono sustituidas y conjugados azo, se encontró que ciertos grupos funcionales tienen preminencia en relación con la habilidad antiinflamatoria encontrando que el conjugado azo de la 4-aminochalcona mono sustituido en el anillo B con grupos NH₂, OCH₃, CH₃, C₆H₅-OH, y el anillo A con NO₂, OCH₃, CH₃, OH mostraron actividad antiinflamatoria de moderada a buena³⁸.

Las sales de diazonio actúan como electrófilos débiles en las sustituciones electrofílicas aromáticas. Debido a esto, las sales de diazonio reaccionan sólo con

anillos fuertemente activados (como los derivados de anilina y fenol) para obtener como resultados compuestos azo, $\text{Ar-N=N-Ar}'$, de colores brillantes (Figura 9)⁴².

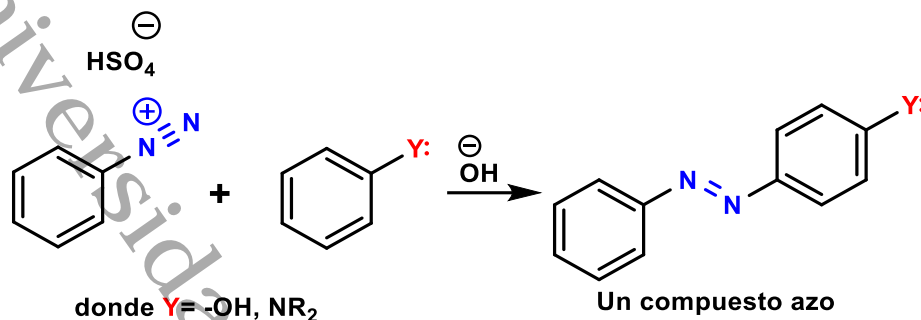


Figura 9. Síntesis de compuesto azo⁴².

2.7 Chalconas

Una chalcona es la base estructural de una amplia variedad de compuestos presentes en la naturaleza. El término chalcona es un derivado del vocablo griego *chalcos* que significa bronce, el cual es el color más común de estos compuestos.

Las chalconas tienen una base química común de 1,3-diaril-2-propen-1-ona, también conocido como chalconoide, este existe como isómeros *trans* y *cis*, con el isómero *trans* siendo termodinámicamente más estable. El grupo arilo unido al grupo carbonilo es nombrado anillo A y el otro arilo es denominado como anillo B (Figura 10)⁴³. Las chalconas son el núcleo de muchos compuestos biológicamente interesantes y han atraído una considerable atención de la investigación durante décadas⁵⁴.

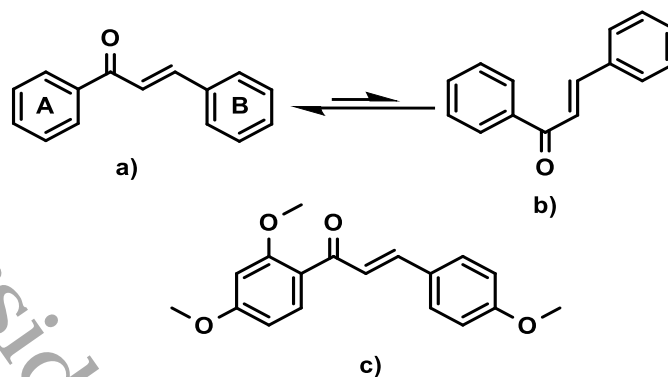


Figura 10. Estructura de las chalconas. a) *trans*-1,3-diaril-2-propen-1-ona, b) *cis*-1,3-diaril-2-propen-1-ona y c) metochalcona, fármaco usado clínicamente como medicamento colerético⁴³.

2.7.1 Aminochalconas

Las investigaciones realizadas por diferentes autores describen a las aminochalconas con un solo grupo amino como compuestos prometedores con actividad antitumoral⁴⁴, antimicrobiana³, antioxidante⁴⁴, antifúngica³ y antiinflamatoria⁴⁴. Los estudios realizados para la eliminación de radicales libres⁴⁴ han probado la habilidad de la 2-aminochalcona (2-ACC) y la 4-aminochalcona (4-ACC, Figura 11) en este renglón.

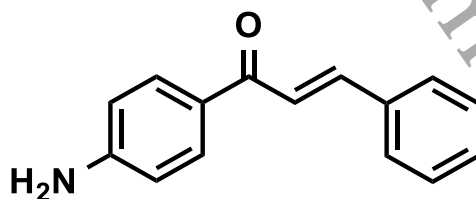


Figura 11. 4-aminochalcona.

Por otro lado, la presencia de pocos donantes y aceptores de puentes de hidrógeno en su estructura química, peso molecular inferior a 500 Da y un coeficiente de partición octanol-agua (logP) no mayor de 5, son parámetros consistentes con la regla de Lipinski e indica la viabilidad de las ACC como candidatos a ser fármacos. Haciendo más interesantes a las ACCs, técnicas de

modelación molecular confirman el potencial de estas chalconas y su utilidad como agentes antiinflamatorios⁴⁵.

Debido a que la resistencia bacteriana a los antibióticos se ha estimado como un problema alarmante de salud pública mundial, es crítico hallar nuevos compuestos con capacidad de nulificar la resistencia bacteriana⁴⁴. La clase aminochalcona es una alternativa novedosa a este problema, particularmente la chalcona (2E)-1-(4-aminofenil)-3-(fenil)prop-2-en-1-ona (4-aminochalcona o 4-ACC) (Figura 11). Respecto a la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus*, la 4-ACC presenta sinergismo con gentamicina y antagonismo con penicilina; esto es, la 4-ACC redujo la concentración mínima inhibitoria (MIC) de gentamicina en casi un 70% mientras que la MIC de penicilina aumentó⁴⁵.

En la evaluación de la inhibición de la actividad de bomba de eflujo (bombas de expulsión activa o MDR), la 4-ACC presenta un efecto sinérgico con norfloxacin y ciprofloxacino contra a *S. aureus*. El efecto de la 4-ACC es observable contra la cepa K2068 (sobreexpresor de la bomba de eflujo MepA), con efectos sinérgicos tanto con ciprofloxacina como con bromuro de etidio. Los resultados de *docking* también muestran que ambos compuestos se unen aproximadamente a la misma región del sitio de unión (aminoácidos Ser214, Ser218, Asn204) de la proteína de eflujo NorA sobreexpresado en cepa 1199B, y que esta región se solapa con la región de unión preferida de norfloxacin. La 4-ACC puede contribuir a la prevención o el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por *S. aureus* resistente a múltiples fármacos⁴⁵.

2.7.2 Condensación de Claisen-Schmidt: síntesis de chalconas

La reacción de Claisen-Schmidt para la formación de chalconas describe un proceso en el que una molécula de benzaldehído y una molécula de acetofenona se condensan en presencia de catalizadores ácidos o básicos (Figura 12)⁴⁶.

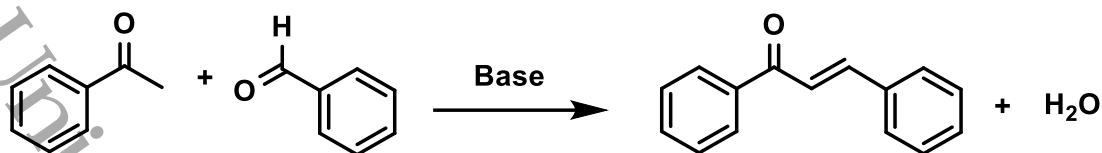


Figura 12. Condensación de Claisen – Schmidt para la formación de chalcona⁴⁶.

En la catálisis básica (Figura 12), la chalcona se genera a partir del producto aldólico mediante deshidratación por un mecanismo de enolato (E1cB)⁴⁷. La catálisis básica de la condensación de Claisen – Schmidt se emplea comúnmente en gran parte de publicaciones debido a su sencillez experimental y formación eficiente del sistema α , β -insaturado y con pocas restricción estructurales con respecto a las materias primas que se pueden utilizar.

Szell y colaboradores⁴³, sintetizaron una serie de nitrochalconas y demostraron que la presencia de grupos donadores de electrones en el aldehído favorecía la condensación en medio ácido, mientras que los sustituyentes aceptores de electrones favorecían la condensación en condiciones básicas⁴⁶. La condensación de Claisen – Schmidt puede ser catalizada por bases como *tert*-butóxido de potasio, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio en metanol o etanol a temperatura ambiente.

Esta reacción se ha utilizado ampliamente para la síntesis de chalconas sustituidas con hidroxilo, normalmente con rendimientos de buenos a excelentes (60 – 90%)^{43,48–51}. En algunos casos, el proceso de condensación clásica de Claisen – Schmidt Claisen se ha realizado con ligeras modificaciones del catalizador o del sistema disolvente como un incremento de la temperatura al igual que la modificación de la base a emplear^{43,52,53}. Por su parte, para la condensación ácida se emplean ácidos de Brønsted; ácidos de Lewis que son utilizados como catalizadores ácidos con rendimientos variables de 10 – 40%.

2.8 Método de disco difusión para determinar la sensibilidad antibiótica

Método cualitativo caracterizado por la facilidad de estandarizar y está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido. El antibiograma basado en el trabajo de Kirby – Bauer, es uno de los tantos métodos avalados por el NCCLS para la determinación de la sensibilidad por parte de las bacterias y hongos a los antibióticos.

El método consiste en colocar en la superficie de una placa de agar Müller Hinton, previamente inoculada con el microorganismo a estudiar, discos de papel filtro (sensidiscos) impregnados con los diferentes antibióticos y compuestos a analizar. Al momento de colocar en la superficie del agar el sensidisco impregnado, este absorbe agua y el compuesto se difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurrido el tiempo de incubación, que generalmente oscila entre las 18 y 24 horas, pueden o no presentarse alrededor de los sensidiscos una zona de inhibición de crecimiento bacteriano, cuyo diámetro es directamente proporcional a la potencia antimicrobiana del compuesto analizado⁵⁴.



Figura 13. En la prueba de Kirby-Bauer, los sensidiscos blancos con antibiótico son colocados en una placa con bacterias. Los halos donde se observa ausencia de crecimiento bacteriano sugieren susceptibilidad al antibiótico evaluado.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

JUSTIFICACIÓN

4. Justificación

La etiología de la EII es multifactorial, pero se ha visto que la microbiota intestinal juega un papel importante, pues la microbiota normal se encuentra disminuida por la inflamación (disbiosis) dando lugar al desarrollo de patobiontes. La EII también es originada por influencias ambientales y genéticas sobre mecanismos que controlan el sistema inmune¹ y se hace presente con síntomas intestinales como diarrea, sangre en las heces y dolor abdominal. También se presentan síntomas extraintestinales tales como fatiga, disminución de peso y dolor articular¹⁸. Toda esta sintomatología tiene como resultado una merma en la calidad de vida de la persona que padece EII¹⁷, disminución de su productividad, carga económica para el paciente o sistemas de salud y, si los periodos de inflamación son frecuentes, un aumento en la probabilidad de padecer cáncer colorrectal^{17,19}.

En México se reportó en 2015 una prevalencia por cada 100,000 habitantes de 8.1 y 8.4 para la EC y de 26.9 y 27.7 para la CU en hombres y mujeres respectivamente, y se ha observado una tendencia a la alta en la prevalencia de estas enfermedades en México y en países en vías de desarrollo¹⁷.

El tratamiento para las EII va desde aminosalicilatos tópicos u orales; esteroides sistémicos administrados por vía oral o rectal; inmunomoduladores; inmunosupresores; tratamientos biológicos y tratamiento quirúrgico, los cuales sólo están enfocados en la parte inflamatoria de las EII⁵⁵; sin embargo, no se ha dado mucha importancia en solucionar la disbiosis intestinal mediante el uso de antibióticos, pues se actúa con cautela para no favorecer la resistencia a antibióticos; a pesar de que se ha observado una mejora en la remisión al usar antiinflamatorios y antibióticos en conjunto por vía oral en el tratamiento de las EII⁵⁶. También se postula que los antibióticos podrían disminuir la invasión bacteriana en los tejidos, curar microabscesos y prevenir la diseminación sistémica de las bacterias⁵⁷. Adicionalmente, hay datos que indican que en pacientes con EII la presencia de patobiontes resistentes a antibióticos es mayor que en personas que no padecen la enfermedad⁵⁷, por lo que nuevas alternativas de agentes antibióticos es imperante.

Las aminochalconas son compuestos que tienen actividad antimicrobiana³, como la 2- y la 4-aminochalcona⁴⁴. Adicionalmente, se les ha atribuido la capacidad de inhibir bombas de eflujo relacionadas con la multirresistencia, lo que ha resultado en la potenciación de algunos antibióticos cuando se coadministran con la chalcona; de este modo, la síntesis de una molécula quimérica entre la aminochalcona y 5-ASA, unidas por un grupo funcional diazo, generaría un compuesto de mayor peso molecular y menor solubilidad en agua que impediría la absorción en el tracto intestinal superior y, por lo tanto, después de la administración oral, ambas moléculas serían generadas en el colon por acción de las reductasas bacterianas.

Por ello, en este proyecto se explora la síntesis de azoderivados provenientes de 4-aminochalcona y ácido salicílico, el cual podría liberar en el colon a la 4-aminochalcona y el 5-ASA; por lo que este proyecto es una prueba de concepto de que es posible sintetizar azoderivados a partir de chalconas.

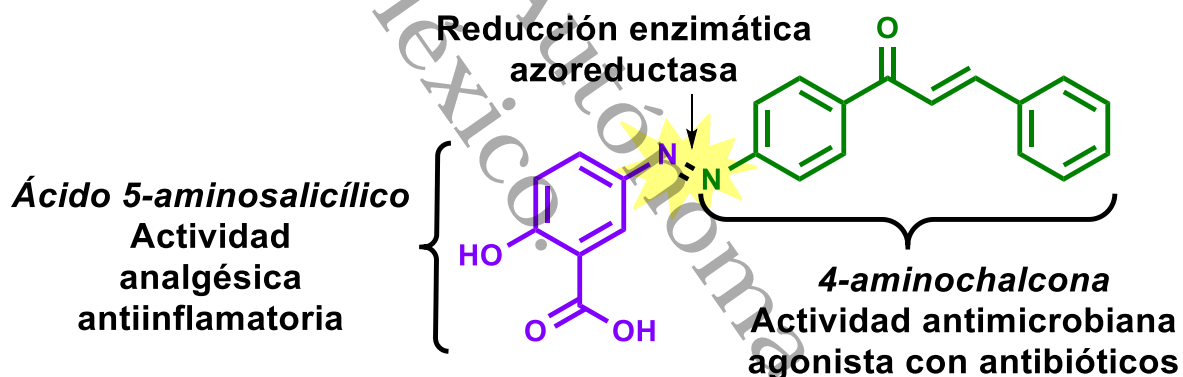


Figura 14. Propuesta de los productos esperados de la reducción metabólica microbiana del compuesto 1 en el colon. Fármacos obtenidos: ácido 5-aminosalicílico, agente con actividad analgésica y antiinflamatoria²⁹; 4-aminochalcona, agente antimicrobiano³ con efecto antiinflamatorio⁵⁸ y agonista con otros antibióticos⁴⁵.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

5. Hipótesis

Es posible sintetizar el azoderivado de 4-aminochalcona y ácido salicílico mediante reacciones químicas convencionales, el cual no poseerá actividad antimicrobiana significativa.

6. Objetivos

6.1 Objetivo General.

Sintetizar el compuesto ácido 5-((*E*)-(4-cinamoilfenil)diazenil)-2-hidroxibenzóico (**1**) y evaluar su actividad antimicrobiana.

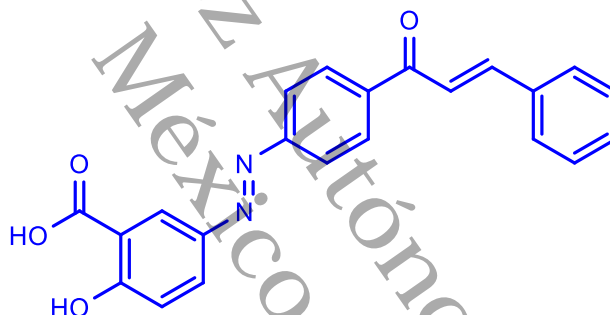


Figura 15. Estructura del compuesto 1.

6.2 Objetivos Específicos.

- Sintetizar el compuesto **1** mediante dos rutas sintéticas y compararlas.
- Caracterizar el compuesto **1** mediante RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y espectrometría UV-Vis.
- Evaluar la actividad de los compuestos **1** y de 4-aminochalcona (**5**) por el método de disco difusión en *Staphylococcus aureus* (un aislado clínico y en la cepa ATCC 25923), *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y en la levadura *Candida albicans*.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7. Discusión y resultados.

7.1 Parte Química

7.1.1 Síntesis de las chalconas y caracterización.

En un primer acercamiento, para la obtención del compuesto **1** se realizó un análisis retrosintético y se contemplaron dos posibles metodologías (Figura 16).

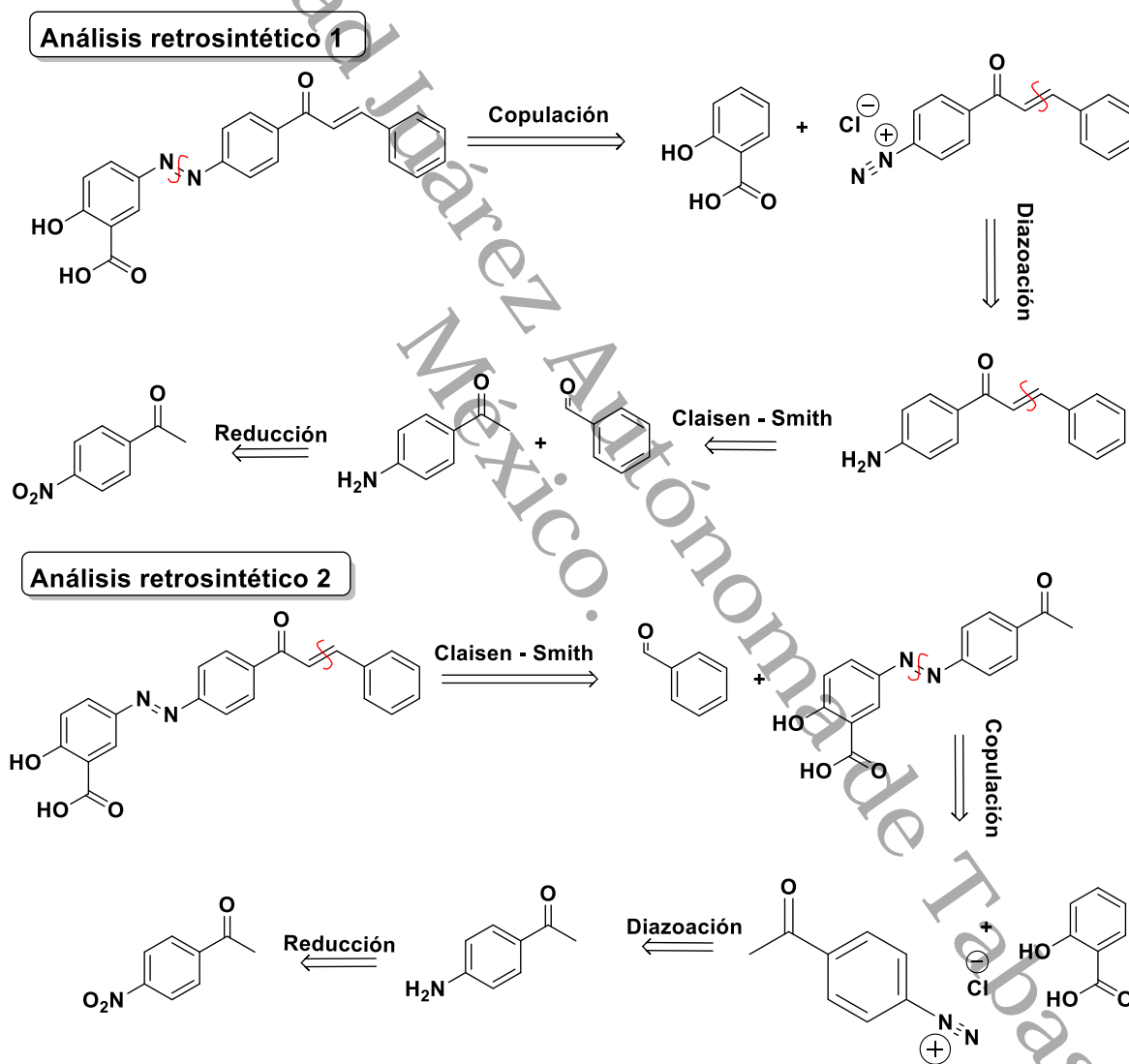


Figura 16. Análisis retrosintético observando dos posibles alternativas para la síntesis del compuesto **1**.

De acuerdo con el análisis retrosintético (Figura 16), podemos observar que se puede abordar la síntesis del compuesto **1** desde dos perspectivas. En una de ellas, se realiza primero la reacción de condensación de Claisen–Schmidt entre aminoacetaldehído y benzaldehído y posteriormente se forma la sal de diazonio, la cual sería copulada con ácido salicílico para obtener el compuesto **1**. En el segundo enfoque, primero se forma la sal de diazonio con la aminoacetofenona y se lleva a cabo la copulación con ácido salicílico, seguido de la condensación de Claisen-Schmidt con benzaldehído para obtener **1**.

La síntesis de los conjugados azo se planeó a partir de reacciones conocidas con el objetivo de optimizar los rendimientos de reacción y así tener precedentes para futuras investigaciones. En la Figura 17 se presenta la primera ruta empleada para la síntesis del compuesto **1**.

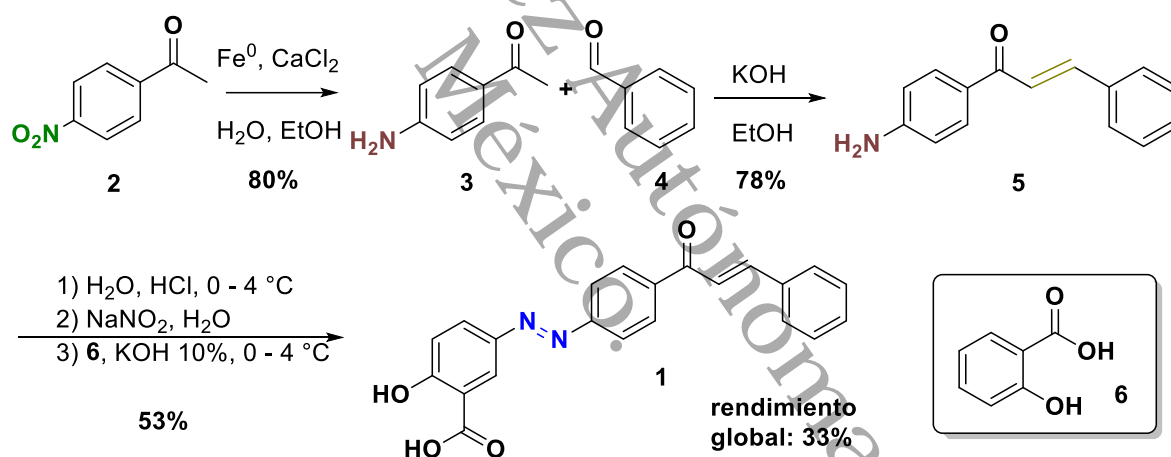


Figura 17. Primera ruta sintética para la obtención del compuesto **1**.

La reducción de la 4-nitroacetofenona (**2**) utilizando Fe⁰ y CaCl₂ fue seleccionada como un acercamiento inicial para analizar y comparar los antecedentes existentes⁵⁹. Por lo cual, se realizó primero la reducción del grupo nitro del compuesto **2** calentado a reflujo, como fuente de energía para la activación de la reacción. Se redujo primero el grupo nitro para evitar realizar la condensación de Claisen-Schmidt en presencia de un grupo electroattractor (rendimientos de 68%)⁶⁰, pues la presencia de un grupo electrodonador, en este caso un grupo amino, propicia a tener mejores rendimientos de reacción (se obtuvo un 80% de rendimiento) y al hacer uso de las condiciones características para la condensación

aldólica, se obtuvo rendimientos buenos en la obtención de la 4-aminochalcona (**5**) (78%, Figura 17), además, al estar el grupo amino en la posición *para*, no existen factores estéricos que dificulten la reacción. Una vez obtenida la chalcona **5** correspondiente, se realizó primero la reacción de diazoación seguida de la reacción de copulación con ácido salicílico (**6**), los dos procesos se llevaron a cabo a una temperatura de 0 -5 °C.

La segunda ruta sintética propuesta se muestra en la Figura 18, donde se aprecia que se forma primero el azoderivado (**7**) y posteriormente la chalcona **1**.

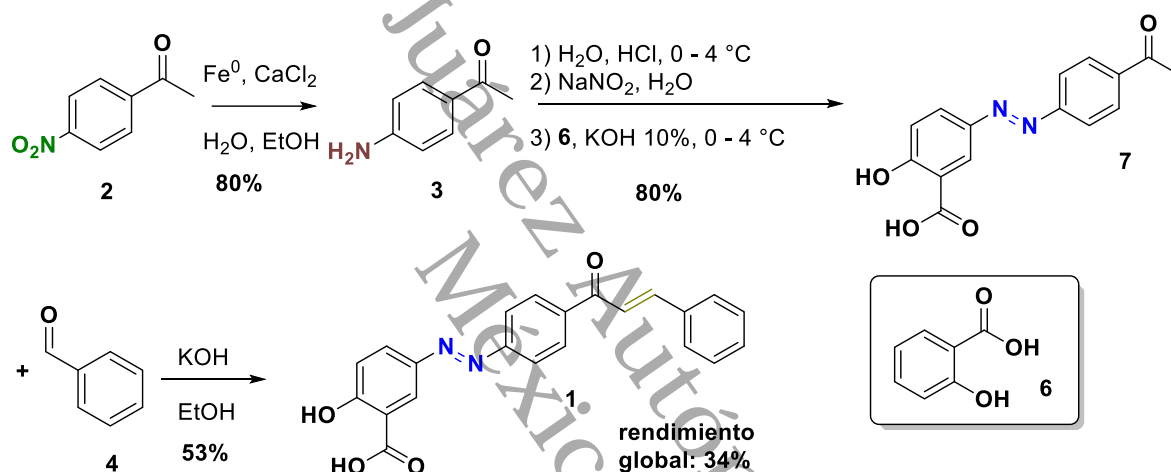


Figura 18. Ruta alterna para la obtención del conjugado azo en posición *para*-.

De manera general, las reacciones realizadas para la obtención del compuesto **1**, transcurrieron de manera adecuada y sin mayor complicación en ambas rutas sintéticas, cabe mencionar que, al momento de finalizar la reacción de copulación, se debe agregar ácido acético al medio de reacción para acidificar el medio y lograr que el producto precipite, y a través de filtración por gravedad, lavando con abundante H₂O, con obtención del compuesto puro.

La recristalización por par de disolventes (MeOH:H₂O) es otra opción para la obtención de producto puro. Esta pureza es observable al momento de realizar los análisis en el equipo de RMN y encontrar solo señales en el espectro asignables al compuesto **1**.

En la Figura 19, se muestran los rendimientos obtenidos en ambas rutas sintéticas propuestas para cada etapa, observándose que los rendimientos en

ambos casos son similares, por lo que cualquiera de las rutas sintéticas que se eligiera tendría resultados similares en cuanto a rendimiento.

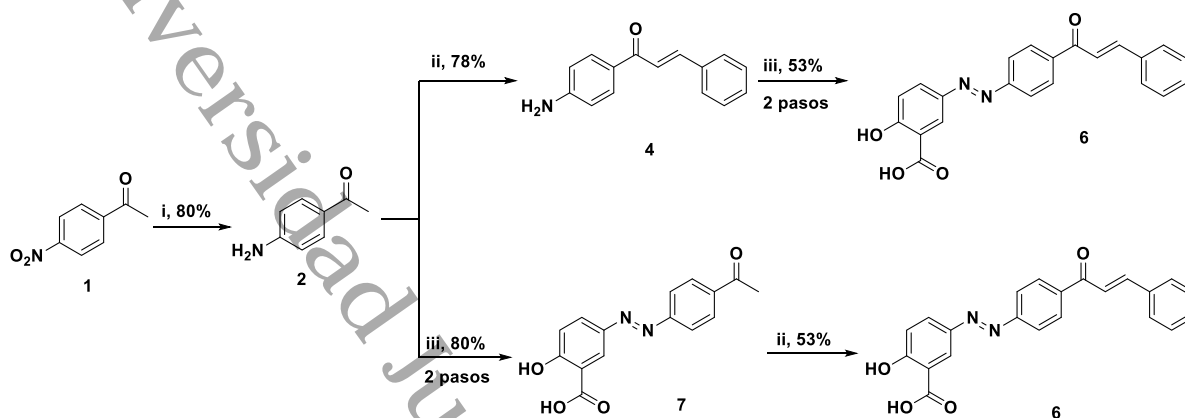
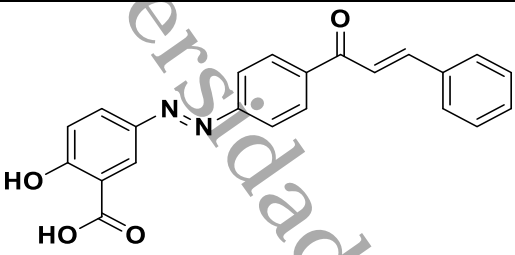
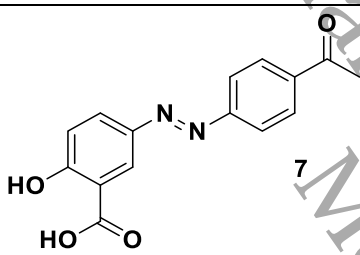


Figura 19. Comparación de las rutas sintéticas empleadas para la obtención del compuesto 1.

Los resultados de las pruebas de solubilidad correspondiente se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Prueba de solubilidad de los compuestos con diferentes disolventes.

Compuesto	Solvente	Frío	Caliente
 <p style="text-align: center;">1</p>	EtOH	Poco Soluble	Soluble
	CHCl ₃	Poco Soluble	Soluble
	MeOH	Poco Soluble	Soluble
	Acetonitrilo	Soluble	Soluble
	DMSO	Soluble	Soluble
	DCM	Poco Soluble	Soluble
	Hexano	Insoluble	Soluble
	Acetona	Poco Soluble	Soluble
	AcOEt	Soluble	Soluble
 <p style="text-align: center;">7</p>	EtOH	Poco Soluble	Soluble
	CHCl ₃	Poco Soluble	Poco Soluble
	MeOH	Poco Soluble	Soluble
	Acetonitrilo	Soluble	Soluble
	DMSO	Soluble	Soluble
	DCM	Soluble	Soluble
	Hexano	Insoluble	Soluble
	Acetona	Soluble	Soluble
	AcOEt	Soluble	Soluble

Con dicha información se procedió a elegir el disolvente deuterado para las pruebas de RMN, el cual fue el DMSO-*d*₆.

7.1.2 Caracterización de los intermediarios y del compuesto 1.

En los párrafos siguientes se discute la caracterización de los compuestos mediante espectroscopía de RMN ¹H y DEPTQ para la molécula objetivo **1** e intermediarios. Para efectos de elucidación de los compuestos se usa la numeración proporcionada por el software Chemdraw, y no corresponde a la numeración recomendada por la IUPAC.

7.1.2.1 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

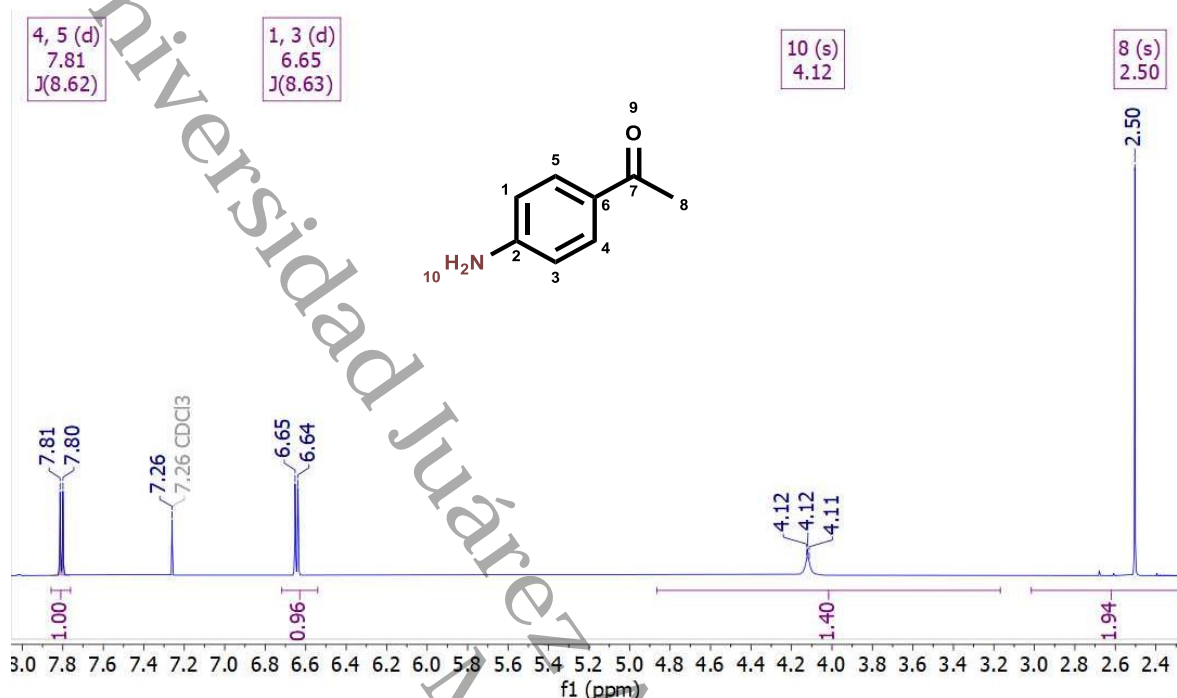


Figura 20. Espectro de RMN ^1H del compuesto **3** (600 MHz, CDCl_3).

En la Figura 20 se observan las señales originadas por los hidrógenos presentes en el compuesto **3**, de los cuales los poco protegidos los identificamos en frecuencias bajas. Las señales en el espectro se elucidaron como se presenta ahora: para el anillo bencénico de la acetofenona, se encontraron dos señales que refieren a un sistema *para* en 7.81 y 6.65 ppm observando señales acopladas y son dobletes aparentes. En frecuencias altas encontramos a los hidrógenos posicionados en C-4 y C-5 (7.81 ppm, $J= 8.62$ Hz) debido a la desprotección que sufren a causa del carbonilo de cetona y en frecuencias bajas encontramos a los hidrógenos posicionados en C-1 y C-3 (6.65 ppm, $J= 8.63$ Hz), ya que al estar más alejados del carbonilo de cetona y cerca del grupo amino el efecto de desprotección es menos intenso en ellos. Además, encontramos un singulete en 2.50 ppm que corresponde al metilo de cetona (C-8). Por último, se muestra una señal ancha a 4.12 ppm que integra para dos hidrógenos y corresponde a la señal originada por el grupo amino.

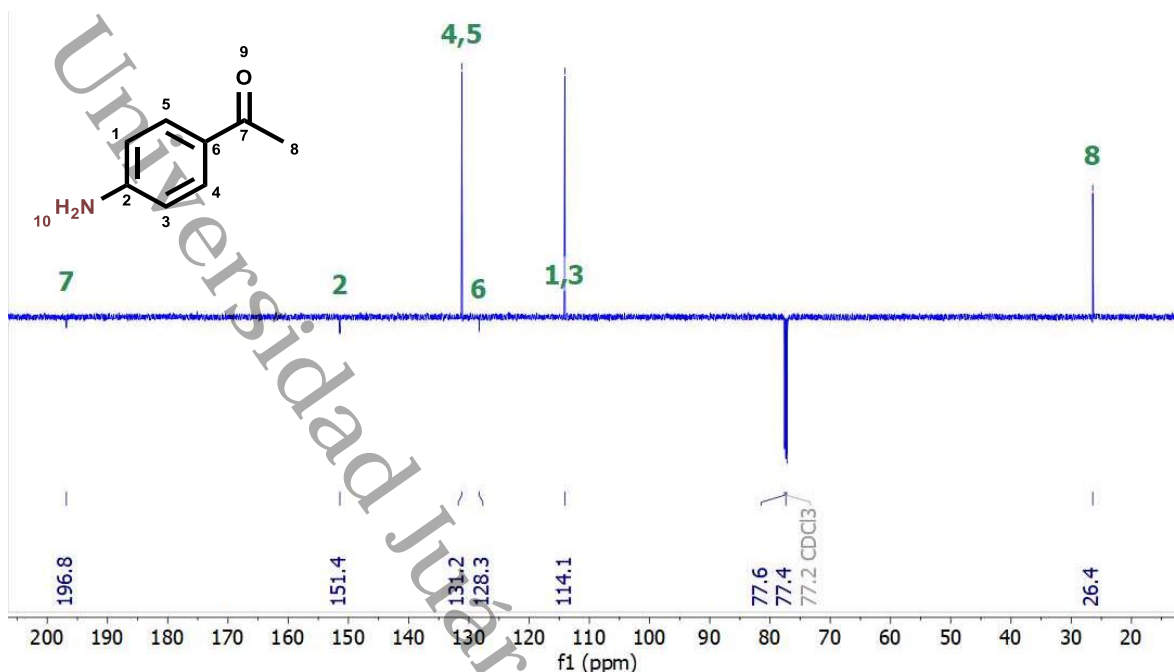


Figura 21. Espectro de RMN DEPTQ del compuesto **3** (150.92 MHz, CDCl_3).

Las señales presentes en el espectro DEPTQ del compuesto **3** (Figura 21) que son generadas por carbonos que no poseen hidrógeno o metilenos se reflejan como señales negativas, los cuales se especifican colocando el símbolo (-) inmediatamente después de la frecuencia, mientras que los metinos y los metilos se reflejan como señales positivas, con esta información podemos elucidar las señales a frecuencias bajas para el carbonilo de cetona (C-7) la cual se encuentra a 196.8 (-) ppm. Además, se presentan otros carbonos que no poseen hidrógenos, en este caso C-2 y C-6, los cuales fueron asignados como las señales presentes en 151.4 (-) y 128.3 (-) ppm respectivamente. Para los carbonos con número de hidrógeno impar se realizó la asignación de la siguiente forma: para el C-8, correspondiente a la metilcetona, se asignó la señal en 27.9 ppm, para los átomos de carbono C-4 y 5 se asignó la señal a 130.5 ppm y para C-1 y C-3 la señal a 123.4 ppm.

Compuesto **3** (1-(4-aminofenil)etan-1-ona): Rendimiento: 80%, color amarillo, sólido, punto de fusión: 96 – 101 °C ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.81 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.12 (s, 1H), 2.50 (s, 2H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3 , DEPTQ) δ 196.8 (-), 151.4 (-), 131.2, 128.3 (-), 114.1, 26.4.

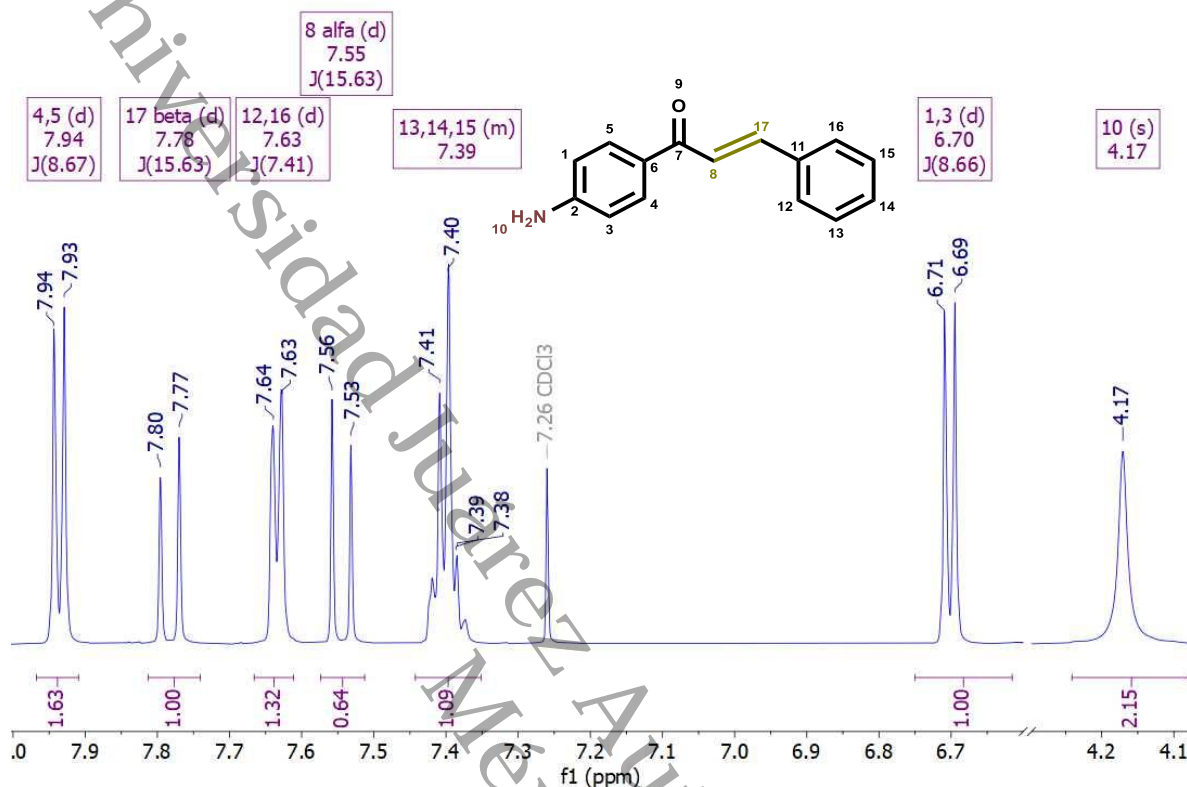


Figura 22. Espectro de RMN ^1H del compuesto **5** (600 MHz en $\text{DMSO}-d_6$).

En la Figura 22 se observan las señales producidas por los hidrógenos presentes en el compuesto **5** en RMN ^1H , de los cuales los poco protegidos se observan en frecuencias bajas. Las señales en el espectro se elucidaron como se presenta a continuación: las señales que se encuentran en 7.54 y 7.78 ppm integran para un protón cada uno, y sus constantes de acoplamiento son alrededor de 15 Hz, por lo cual entendemos que estos son los hidrógenos del sistema α, β insaturado respectivo del doble enlace que contiene la chalcona. Y debido a que el hidrógeno β (C-17) es el más desprotegido lo encontramos a frecuencias altas y fue asignado al doblete centrado en 7.78 ppm, respecto al hidrógeno α (C-8), que al estar más blindado que su contraparte β encontramos su señal como un doblete a 7.54 ppm. Ahora nos centramos en las asignaciones faltantes para la parte del anillo proveniente de la acetofenona (anillo A) y del anillo originario del benzaldehído (anillo B). Para el anillo A, se presentan dos sistemas de señales que aparentan ser

dobletes y que refieren a un sistema *para* las cuales se encuentran en 7.94 y 6.70 ppm. En frecuencias altas encontramos a los hidrógenos posicionados en C-4 y C-5 debido a la desprotección que sufren a causa del carbonilo de cetona y en frecuencias bajas encontramos a los hidrógenos posicionados en C-1 y C-3, ya que al estar más alejados del carbonilo de cetona y cerca del grupo amino el efecto de desprotección es menos intenso en ellos. Las señales correspondientes a los protones del anillo B sobre C-12 y C-16 generan un sistema con una multiplicidad de doble de dobles (*d*) a 7.63 ppm con $J = 7.57$ y proponemos que la señal encontrada a 7.40 ppm sea asignada a los protones en 13, 14 y 15, donde se puede observar un multiplete (*m*) con $J = 7.60$ y 2.73 Hz para 7.69 ppm. Por último, se muestra un singulete a 4.17 ppm que integra para dos hidrógenos y se propone la asignación para los hidrógenos en el grupo NH_2 .

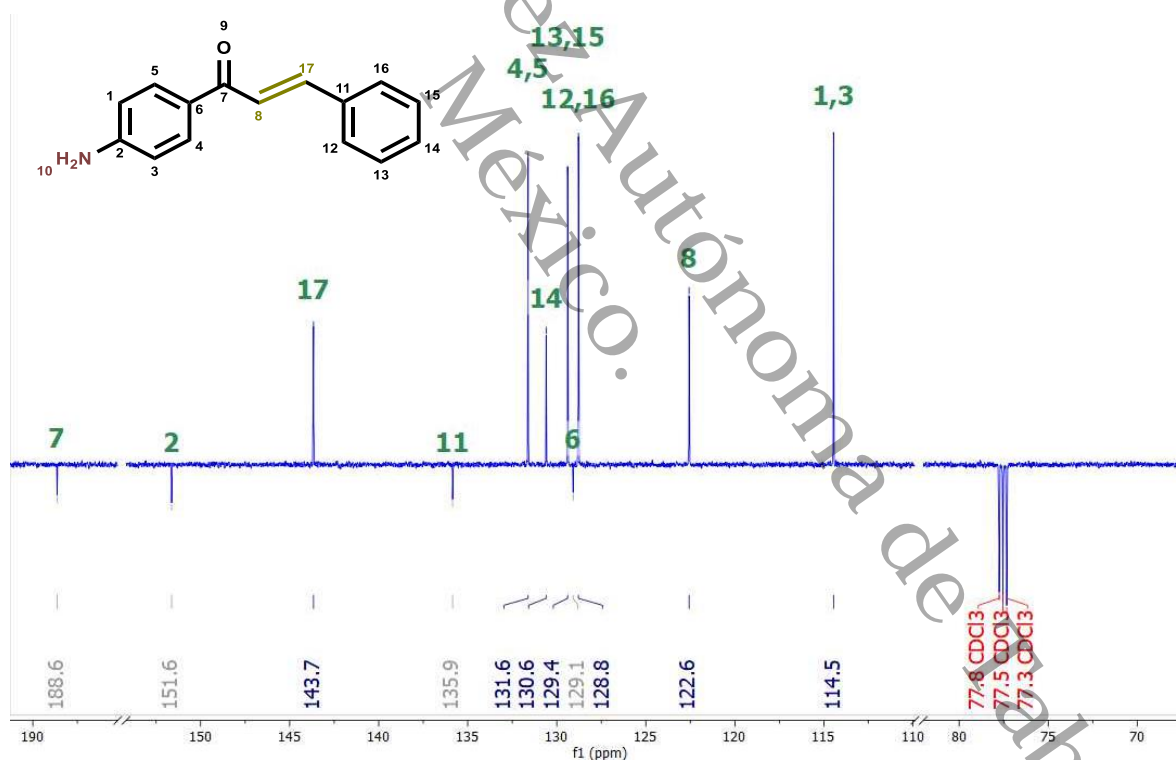


Figura 23. Espectro de RMN DEPTQ del compuesto **5** (150.92 MHz en $\text{DMSO-}d_6$).

Las señales presentes en el espectro DEPTQ del compuesto **5** (Figura 23) se describen a continuación. La señal a frecuencia más baja se asignó al carbono del carbonilo, C-7, la cual se presenta a 188.3 (–) ppm. Por otro lado, para C-2 se asignó la señal a 151.2 (–) ppm y la señal generada por C-11 se asignó a la presente

en 135.5 (–) ppm y, por último, para el C-6 se designó la señal a 128.7 (–) ppm. Para los carbonos CH se realizó la asignación de la siguiente forma: la señal correspondiente a C-17 se asignó a la señal a 143.3 ppm, para C-8 a 122.2 ppm, para los carbonos C-4 y C-5 la señal a 131.2 ppm y para los carbonos, con ambiente químico y magnético similar del anillo A, C-1 y C-3 se asignó la señal a 114.1 ppm. Las señales generadas por C-13 y C-15 corresponden a la señal presente a 129.0 ppm, mientras que para C-12 y C-16 se asignó la señal presente a 128.4 ppm. Finalmente, la señal generada por C-14 se encuentra presente a 130.2 ppm.

17 **Compuesto 5** ((*E*)-1-(4-aminofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona): Rendimiento: 80%, color amarillo, sólido, punto de fusión: 106 – 108 °C $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7.94 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.78 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J = 7.6, 1.9$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.40 (td, $J = 7.6, 2.7$ Hz, 3H), 6.70 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.17 (s, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3 , DEPTQ) δ 188.3 (–), 151.2 (–), 143.3, 135.5 (–), 131.2, 130.2, 129.0, 128.7 (–), 122.2, 114.1.

Compuesto 1 (ácido 5-((*E*)-(4-cinamoilfenil)diazenil)-2-hidroxibenzóico): Esta espectroscopía se realizó a 600MHz en $\text{DMSO}-d_6$. El espectro de la molécula **1** y la elucidación de ^1H y DEPTQ se presentan a continuación en la Figura 27 y 28, además se muestra el espectro de UV – Vis en la Figura 29.

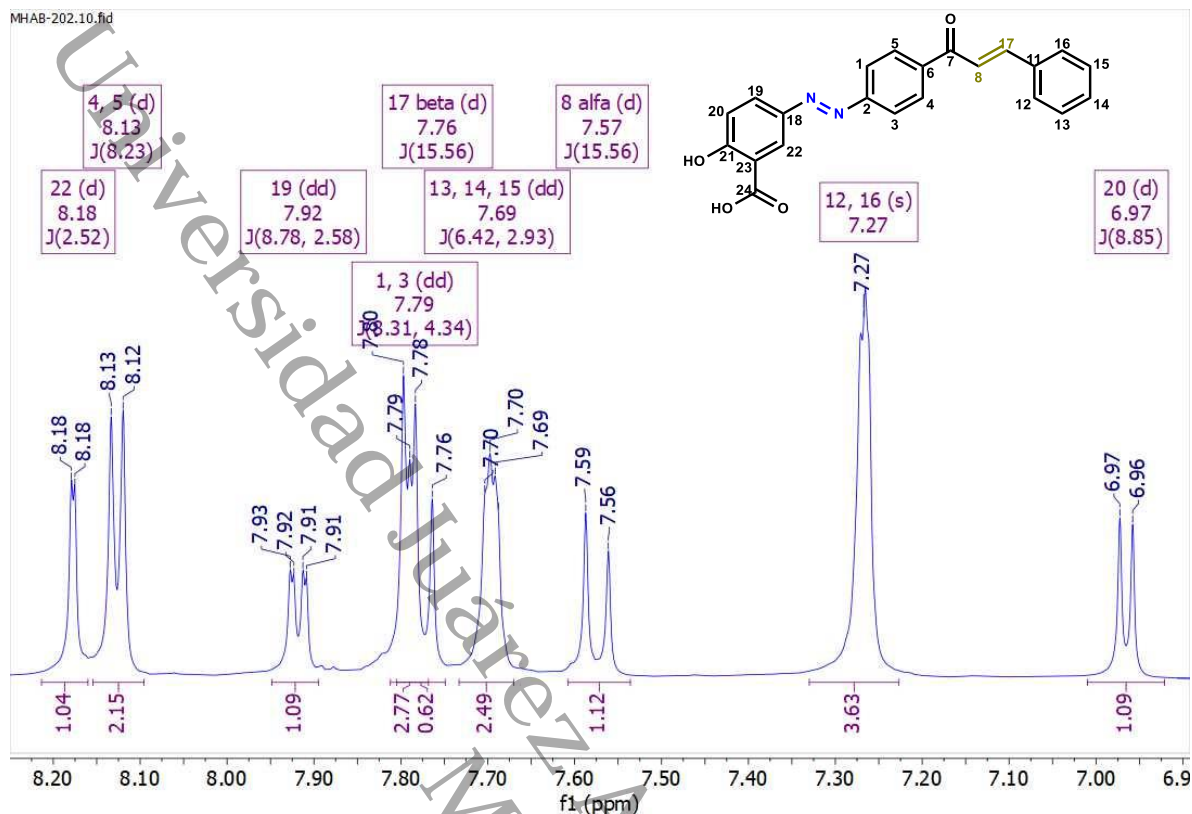


Figura 24. Espectro de RMN ^1H del compuesto **1** (600 MHz en $\text{DMSO-}d_6$).

En la Figura 24 se observan las señales generadas por los hidrógenos presentes en el compuesto **1**, de los cuales los poco protegidos los identificamos en frecuencias bajas. Las señales que se encuentran en 7.57 y 7.76 ppm integran para un protón cada una, y sus constantes de acoplamiento tienen un valor de 15.56 Hz, por lo cual entendemos que estos son los hidrógenos del sistema α , β insaturado respectivo del doble enlace que contiene la chalcona. Debido a que el hidrógeno β es el más desprotegido (con menor densidad electrónica) lo encontramos a frecuencias altas en 7.76 ppm (doblete), denominándolo C-17, respecto al hidrógeno α (C-8) que, al estar más blindado (con mayor densidad electrónica), lo encontramos a 7.57 ppm. Posteriormente, nos centramos en el doble de dobles ubicado en 7.92 ppm, señal característica del espectro del ácido salicílico, además tiene dos constantes de acoplamientos con valores de 8.78 y 2.58 Hz, por lo cual asignamos esta señal al hidrógeno en el C-19. Al enfatizar las señales provenientes del ácido salicílico, encontramos que las señales más pronunciadas a frecuencias bajas y altas correspondían a los protones respectivos del ácido salicílico, por lo

cual identificamos los desplazamientos químicos, 8.18 ppm y 6.97 ppm, y sus respectivas constantes de acoplamiento de 2.52 Hz y 8.85 Hz respectivamente, para elucidar y así asignar a la señal presente en 8.18 ppm como C-22 y la señal en 6.97 ppm como el protón sobre C-20. Una vez elucidada la sección respectiva del ácido salicílico, nos centramos en las asignaciones faltantes para la parte del anillo proveniente de la acetofenona y del anillo originario del benzaldehído. Para el anillo de la acetofenona debemos encontrar dos señales que refieren a un sistema *para*, estas las podemos encontrar en 8.13 y 7.79 ppm, esta última se observa como una señal traslapada. En frecuencias altas encontramos a los hidrógenos posicionados en C-4 y C-5 debido a la desprotección que sufren a causa del carbonilo de cetona y en frecuencias bajas encontramos a los hidrógenos posicionados en C-1 y C-3, ya que al estar más alejados del carbonilo de cetona y cerca del conjugado azo, el efecto de desprotección es menos intenso en ellos. Por último, observamos las señales correspondientes para el anillo proporcionado por el benzaldehído, en 7.69 y 7.27 ppm que presenta señal para cinco hidrógenos, una señal en 7.69 ppm que integra para dos protones y un multiplete en 7.27 ppm que integra para tres protones.

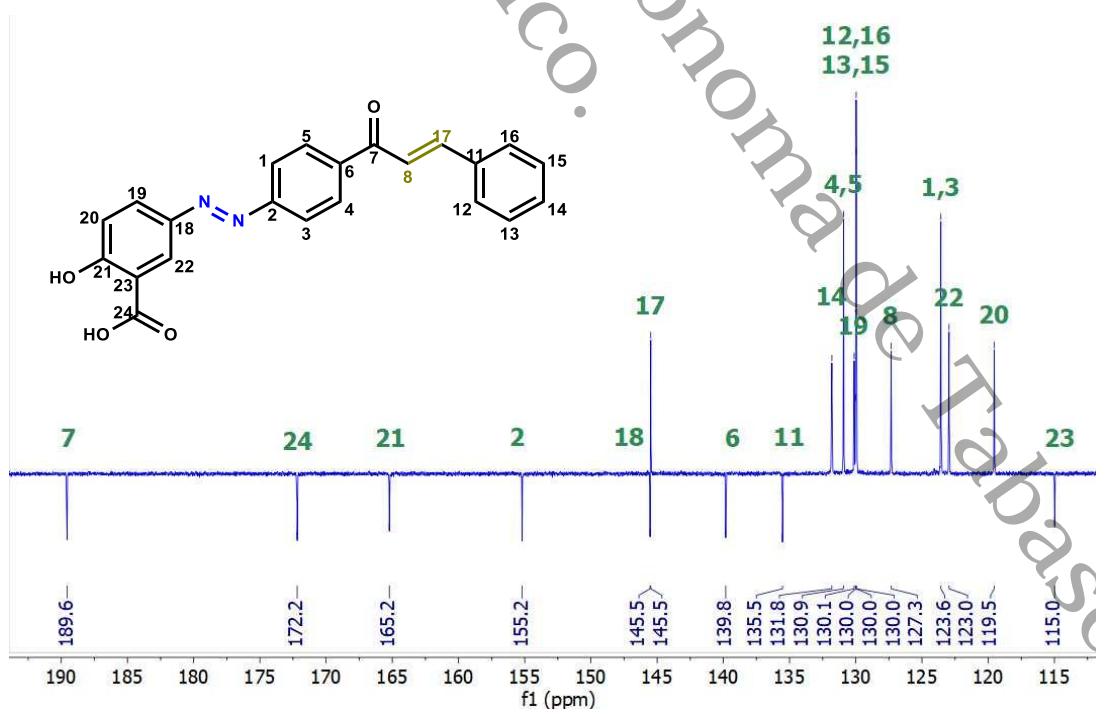


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C de la molécula 1 (150.92 MHz en $\text{DMSO}-d_6$).

Las señales presentes en el espectro DEPTQ (Figura 25) para los carbonilos de cetona C-7 y de ácido carboxílico C-24 del compuesto **1** se presentan a 189.6 (–) ppm y a 172.2 (–) ppm respectivamente. La señal de C-6 se presenta a 139.8 (–) ppm, la señal en 155.2 (–) ppm se asignó a C-2; asimismo, la señal en 145.5 (–) ppm se asignó a C-18, la señal presente en 165.2 (–) ppm fue asignada a C-21, la señal a 115.0 (–) ppm corresponde a C-23 y la señal de C-11 es la presente a 135.5 (–) ppm. Para los carbonos CH, se realizó la asignación de la siguiente forma: para el carbono C-17 se asignó la señal a 145.5 ppm, correspondiente al carbono β , la señal de C-8 fue asignada a 127.3 ppm, y es la correspondiente para el carbono α ; las señales generadas por C-4 y C-5 fueron asignadas a 130.9 ppm, pues los carbonos poseen un ambiente químico y magnético similar, y la señal originada por C-1 y C-3 fue asignada a 123.6 ppm, la señal generada por C-19, C-20 y C-22 se asignaron a 130.1, 119.5 y 123.0 ppm respectivamente. Y en el anillo B de la chalcona, podemos encontrar señales para C-13 y C-15 a 130.0 ppm y las de C-12 y C-16 a 130.0 ppm.

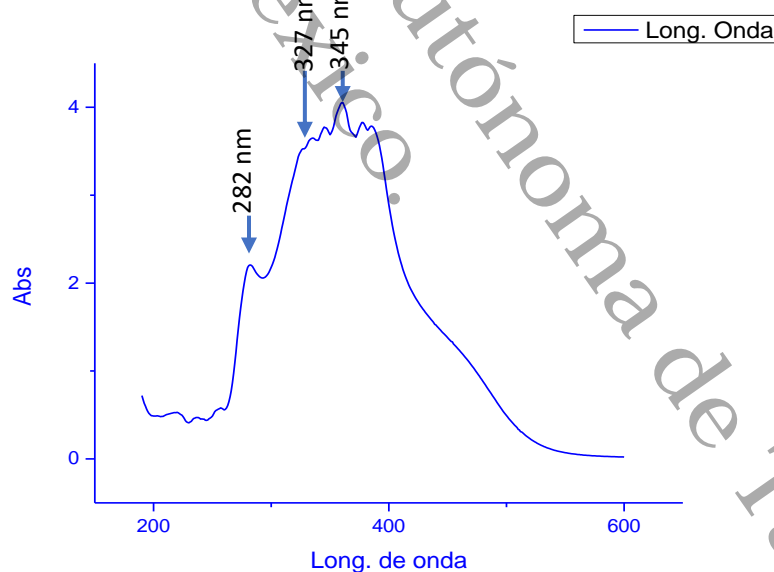


Figura 26. Espectro de UV – Vis del compuesto **1**. (DMSO)

Al realizar un barrido espectral entre los 200 y 600 nm, se encontró que las absorbancias máximas obtenidas (Figura 26) concuerdan con las longitudes de

onda de grupo carbonilo a 282 nm, de anillos aromáticos a 327 nm y para el grupo diazo a 345 nm⁶¹.

Compuesto **1** (ácido 5-((E)-(4-cinnamoilfenil)diazenil)-2-hidroxibenzoico):
 Rendimiento: 53%. Color: rosa claro, sólido. Punto de fusión: 288 – 290 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.18 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.92 (dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 8.3, 4.3 Hz, 3H), 7.76 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.69 (dd, *J* = 6.4, 2.9 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.27 (s, 4H), 6.97 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 189.6 (–), 172.2 (–), 165.2 (–), 155.2 (–), 145.5 (–), 145.5, 139.8, 135.5 (–), 131.8, 130.9, 130.1, 130.0, 130.0, 130.0, 127.3, 123.6, 123.0, 119.5, 115.0 (–). Uv–Vis λ max (DMSO): 282, 327, 335, 345, 360, 377, 378.

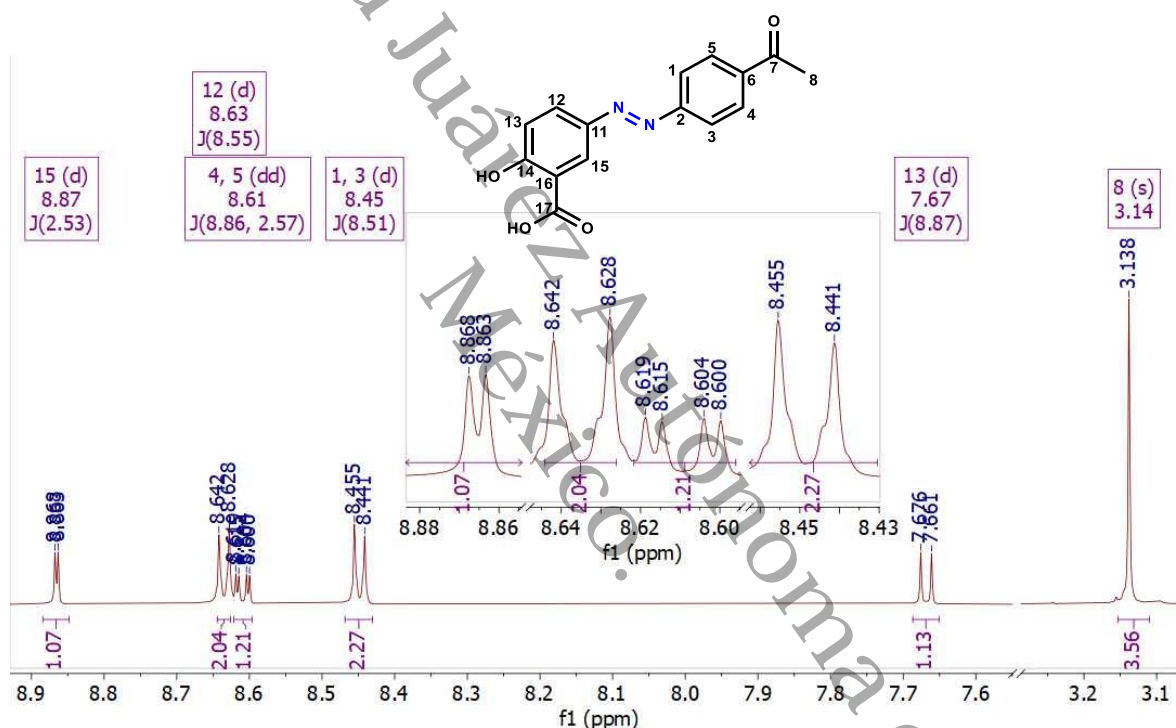


Figura 27. Espectro de RMN ¹H de la molécula **7** (600 MHz en DMSO-*d*₆).

En la Figura 27 se muestra el espectro de RMN ¹H de las señales generadas por los átomos de hidrógeno presentes en la molécula **7**. Para el sustituyente metilo en la molécula, C-8, se asignó al singulete en 3.14 ppm. Posteriormente identificamos las señales características del ácido salicílico, para el protón sobre C-15 se observa un doblete con una constante de acoplamiento de 2.55 Hz en 8.87 ppm, para C-13 se observa un doblete con una *J* = 8.87 Hz en 7.67, señales y constantes de acoplamiento características para hidrógenos en posición 4 y 6 en el anillo del ácido salicílico; de tal manera que la señal característica para un hidrógeno

que tiene acoplamiento con otro protón en posiciones con *orto* y *meta* lo observamos como un doble de dobles, y este es el correspondiente a C-12 presente a 8.64 ppm con constantes de acoplamiento de 8.85 y 1.81 Hz. Una vez identificados los protones provenientes del anillo correspondiente al ácido salicílico, se asignan los protones provenientes del anillo de la acetofenona, los cuales nos muestran sistema características de una disustitución *para* de los protones sobre C-4 y C-5 en 8.61 ppm con constantes de acoplamiento de 8.86 y 2.57 Hz en frecuencias más altas a comparación de sus vecinos, los protones sobre C-1 y C-3 en 8.45 ppm con constantes de acoplamiento iguales a 8.51 y 1.97 Hz.

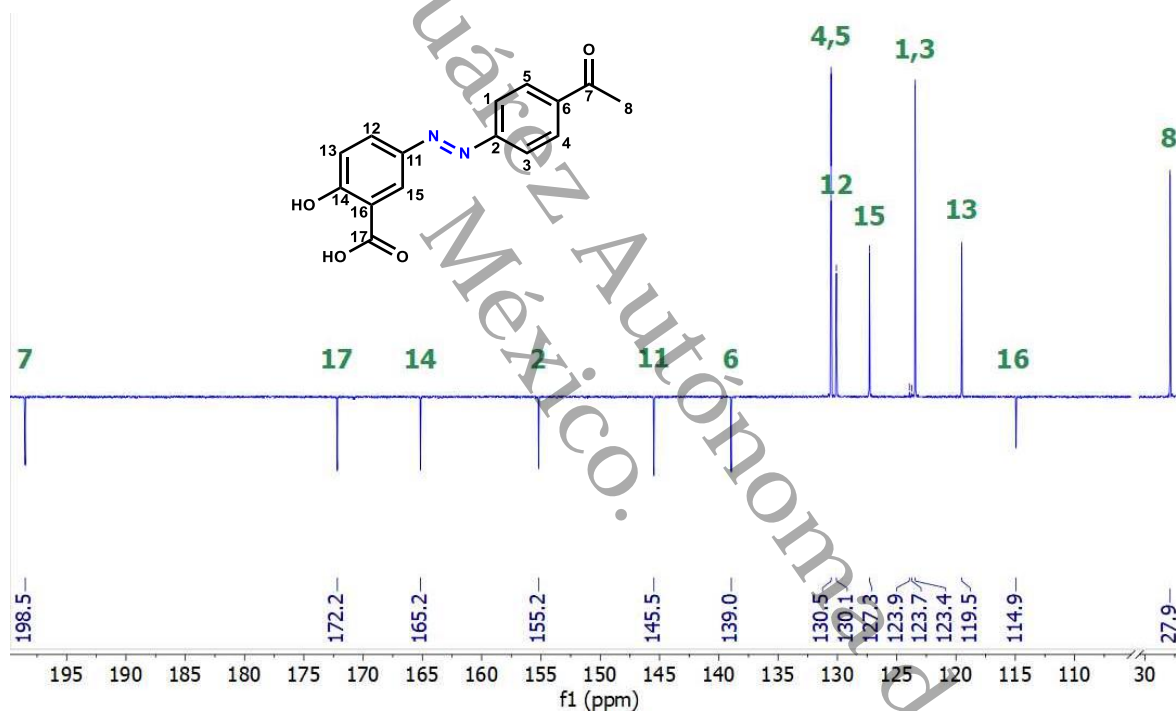


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **7** (150.92 MHz en $\text{DMSO-}d_6$).

Las señales presentes en el espectro DEPTQ del compuesto **7** (Figura 28) pertenecientes a carbonos totalmente sustituidos, cuaternarios, carbonilos y CH_2 se reflejan con picos hacia abajo del espectro y los CH y CH_3 se reflejan hacia arriba, con esta información podemos elucidar las señales a frecuencias bajas para carbonilos de cetona y de ácido, la señal 198.5 (–) ppm fue asignada al carbonilo de cetona C-7 y la señal a 172.2 (–) ppm se asignó para el carbonilo de ácido carboxílico C-17. Además, se presentan otros carbonos cuaternarios, carbonos

deshidrogenados, los cuales se les dio la asignación de C-6 a 139.0 (–) ppm al carbono del anillo aromático cercano al carbonilo de cetona, y la señal generada en C-2 se asignó a 155.2 (–) ppm al carbono del anillo aromático unido al nitrógeno del conjugado azo, la señal generada en C-11 se asignó a 145.5 (–) ppm del carbono del ácido salicílico unido al nitrógeno del conjugado azo, la señal en C-14 se asignó a 165.2 (–) ppm es el carbono unido al grupo hidroxilo, y la señal correspondiente a C-16 se asignó a 114.9 (–) ppm asignado al carbono unido al ácido carboxílico. Para los carbonos CH y CH₃, se realizó la asignación de la siguiente forma: la señal generada a C-8 se asignó a 27.89 ppm para el grupo metilo; la señal generada a C-4, C-5 se asignó a 130.53 ppm asignaciones para los carbonos con ambiente químico y magnético similar del anillo de acetofenona y la señal generada a C-1, C-3 se asignó a 123.44 ppm del mismo anillo; la señal para C-12 se asignó a 130.53 ppm, la señal para C-13 se asignó a 119.51 ppm y la señal para C-15 se asignó a 127.30 ppm asignado al carbono del ácido salicílico.

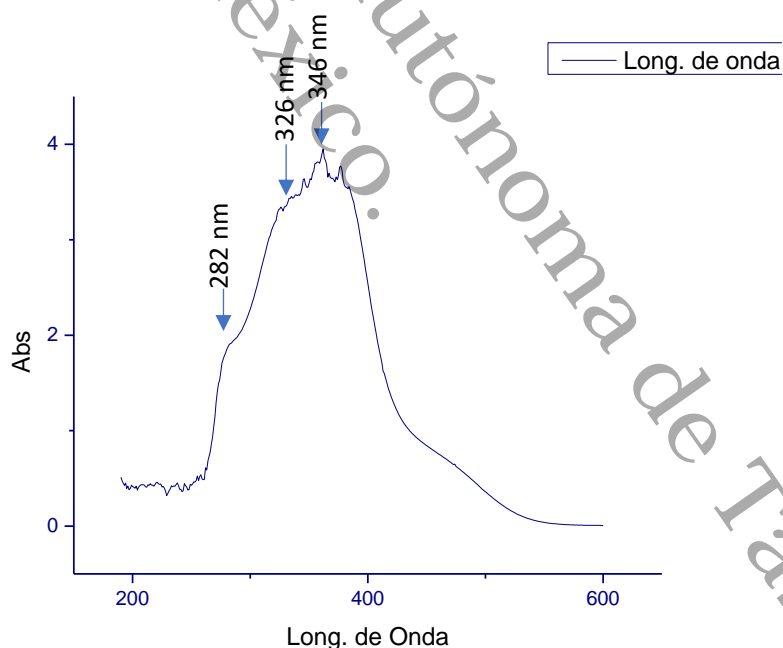


Figura 29. Espectro de UV – Vis de la molécula 7 (DMSO).

Los picos de absorbancia obtenidos (Figura 29) representan las longitudes de onda de los cromóforos de grupo carbonilo en 283 nm, para grupos azo en 346 nm, para aromáticos en 326 nm.

41 Compuesto **7** (ácido (E)-5-((4-acetilfenil)diazenyl)-2-hidroxibenzoico): Rendimiento: 80%. Color: rojo opaco, sólido en grumos. Punto de fusión: 278 – 280 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.87 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, J = 8.5, 1.8 Hz, 2H), 8.61 (dd, J = 8.9, 2.6 Hz, 1H), 8.45 (dd, J = 8.5, 2.0 Hz, 3H), 7.67 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 3.14 (s, 4H). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 198.5 (–), 172.2 (–), 165.2 (–), 155.2 (–), 145.5 (–), 139.0 (–), 130.5, 130.1, 127.3, 123.9, 119.5, 114.9 (–), 27.9. Uv – Vis λ max (DMSO): 283, 326, 335, 339, 341, 346, 351, 357, 362, 367, 370, 373, 377, 384.

7.2 Actividad antimicrobiana.

7.2.1 Ensayo de Kirby - Bauer.

La actividad antimicrobiana de los compuestos **1** y **5** se evaluó en las bacterias *Staphylococcus aureus* (cepa ATCC 25923 y un aislado clínico), *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y en la levadura *Candida albicans*. En el ensayo realizado se manejaron concentraciones de 25, 50, 100, 200 y 400 µg/sensidisco, demostrando para el compuesto **1** que en ninguna de las concentraciones resultó ser activo (Figura 30, Figura 31), resultado esperado para un profármaco, pero que, en las mismas concentraciones, el compuesto **5** inhibió el crecimiento bacteriano a partir de 100 µg/sensidisco excepto para las bacterias *S. epidermis*, *E. Coli*, *K. pneumoniae* que no presentó inhibición (Figura 32). Como control positivo se usó cefalexina (30 µg) y ampicilina (25 µg) para bacterias y fluconazol (25 µg) para *C. albicans*.

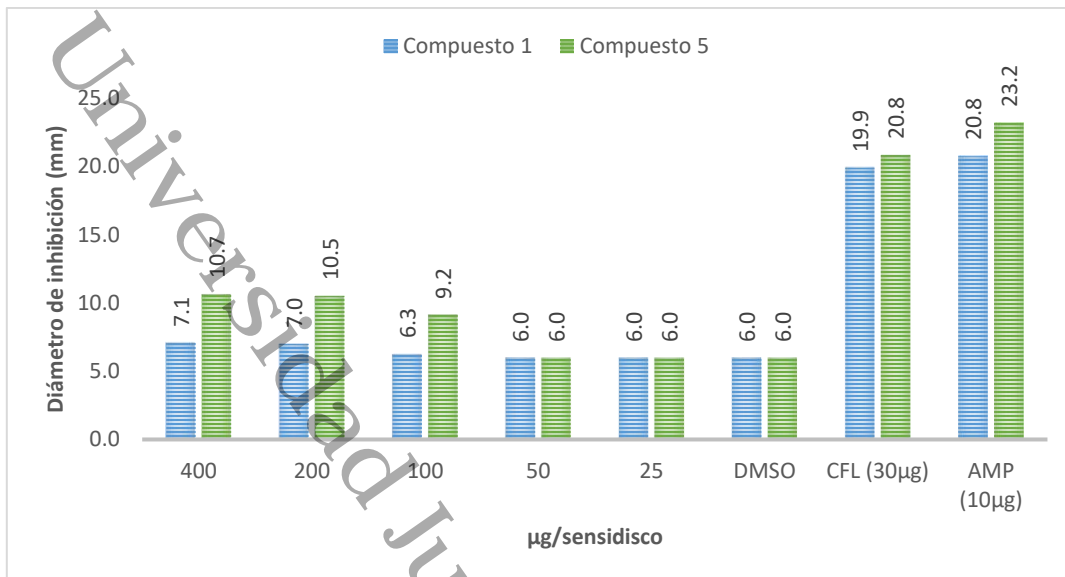


Figura 30. Gráfica del antibiograma de los compuesto 1 y 5 contra las cepas de *S. aureus*. DMSO fue utilizado como solvente para los compuestos 1 y 5, y como control negativo. CFL (cefalexina) y AMP (ampicilina) fueron utilizados como controles positivos. El diámetro del sensidisco es de 6.0 mm.



Figura 31. Antibiograma del compuesto 1 contra *S. aureus*. DMSO fue utilizado como solvente y como control negativo. CFL 30 µg (cefalexina) y AMP 20 µg (ampicilina) fueron utilizados como controles positivos. Las concentraciones fueron de 25, 50, 100, 200 y 400 µg/sensidisco.

En la Figura 32 observamos los datos de halos de inhibición (expresado en mm) del compuesto 5, con lo cual analizamos la eficacia del compuesto contra diferentes cepas de bacterianas. El compuesto 5 presenta inhibición moderada

contra la cepa ATCC 25923 de *S. aureus* y en el aislado clínico de *S. aureus* a partir de concentraciones de 100 µg/sensidisco, pero para las cepas de *S. epidermis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*, observamos que no presentan sensibilidad al compuesto.

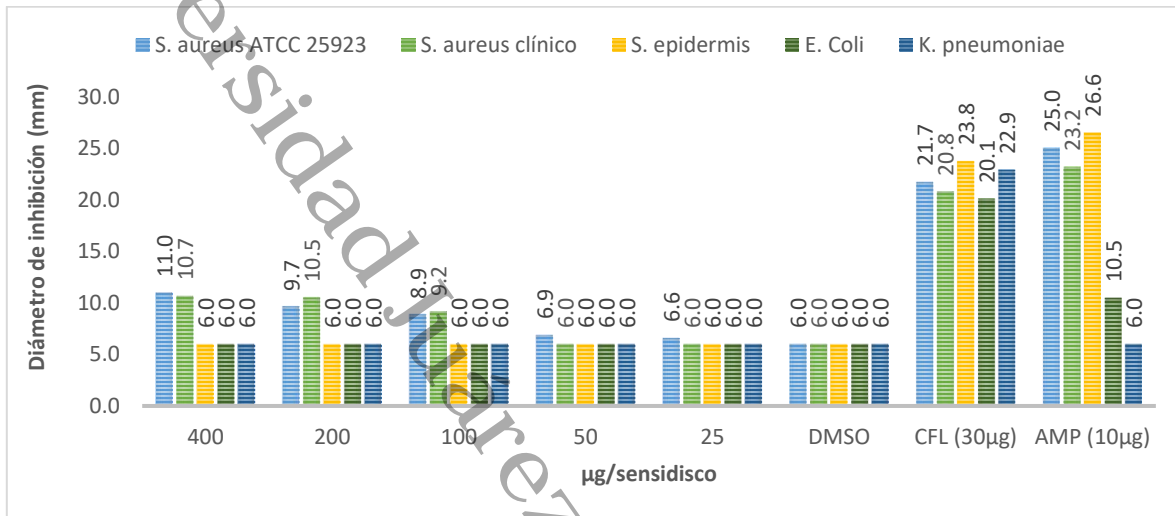


Figura 32. Gráfica. Antibiograma del compuesto 5 contra diversas cepas bacterianas. DMSO fue utilizado como solvente y como control negativo. CFL (cefalexina) y AMP (ampicilina) fueron utilizados como controles positivos. El diámetro del sensidisco es de 6.0 mm.



Figura 33. Evidencia fotográfica de los antibiogramas del compuesto 5 contra cepas de a) *S. aureus* ATCC 25923, b) *S. aureus* aislado clínico, c) *S. epidermis*. En las fotos a) y b), siguiendo el sentido de las manecillas del reloj, se observan CFL (cefalexina) y AMP (ampicilina) utilizados como controles positivos, DMSO como control negativo, concentraciones de 25, 50, 100, 200 y 400 µg/sensidisco del compuesto 5 y a partir de los 100 µg/sensidisco observamos halos de inhibición. En la foto c), siguiendo el sentido de las manecillas del reloj, se observan CFL (cefalexina) y AMP (ampicilina) utilizados como controles positivos, DMSO como control negativo observando que no se presenta inhibición en las concentraciones de 25, 50, 100, 200 y 400 µg/sensidisco del compuesto 1.

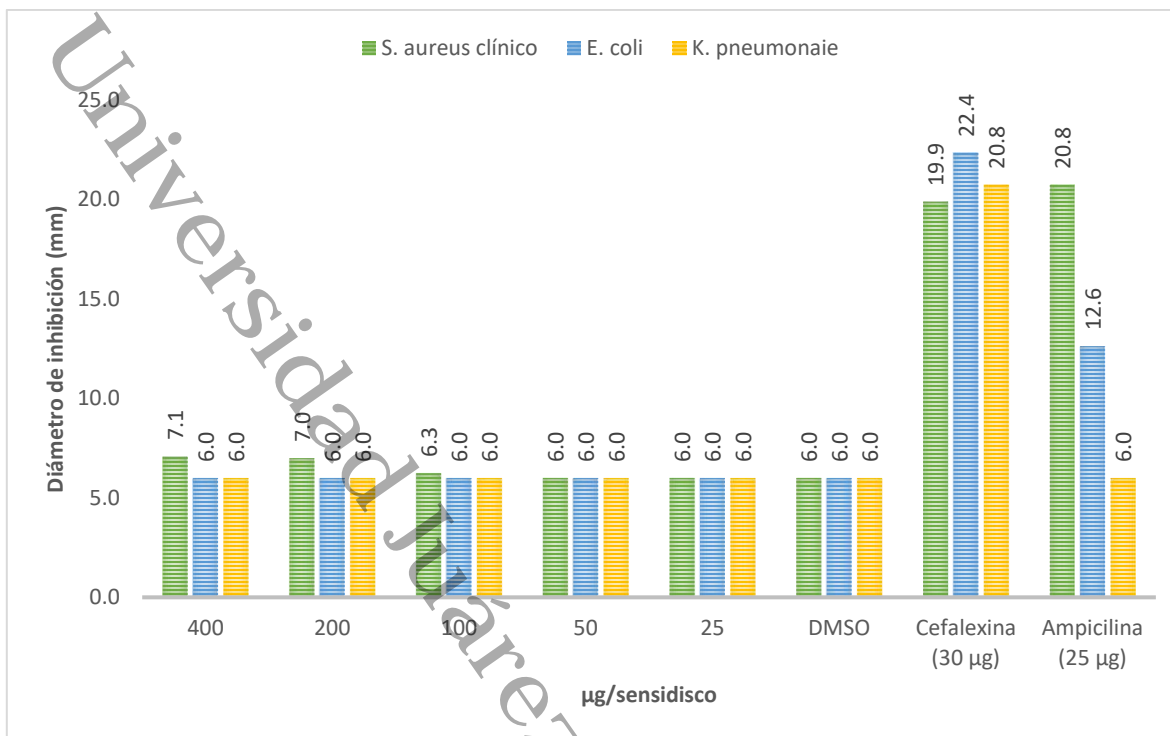


Figura 34. Antibiograma del compuesto 1 contra diversas cepas bacterianas. DMSO fue utilizado como solvente y como control negativo. CFL (cefalexina) y AMP (ampicilina) fueron utilizados como controles positivos. El diámetro del sensidisco es de 6.0 mm.

En las Figura 30 y Figura 35 se presentan los datos de inhibición en los cuales el compuesto 1, al no presentar halos de inhibición, se cumple con el concepto básico de profármaco en cepas de *S. aureus* ATCC 25923 al no presentar actividad biológica, por otro lado, *S. aureus* aislado clínico y *C. albicans*, y en las mismas gráficas se observa que estas cepas presentan sensibilidad al compuesto 5.

En el gráfico de la Figura 35 se puede observar los datos de inhibición, en mm, del compuesto 5 contra *Candida albicans*, por lo cual, podemos afirmar que la sensibilidad microbiana comienza desde los 25 µg/sensidisco, y para el compuesto 1, se cumple de igual forma el concepto básico de profármaco puesto que no se observa sensibilidad bacteriana al compuesto.

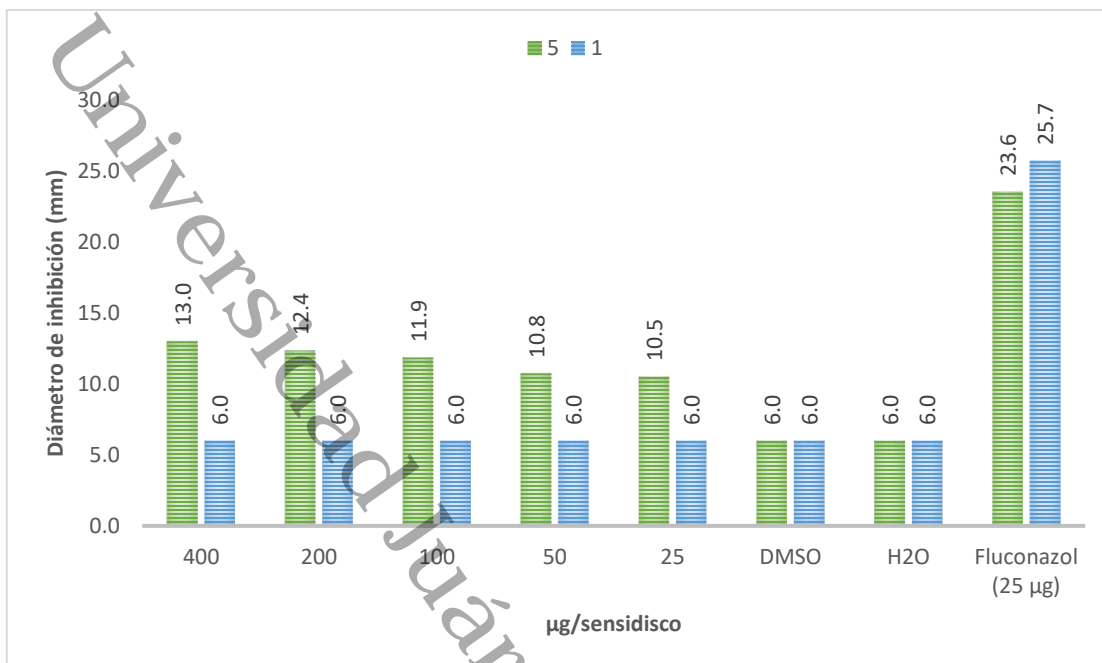


Figura 35. Antibiograma del compuesto **5** y del compuesto **1** contra *C. albicans*. DMSO fue utilizado como solvente para todos los compuestos **1** y **5** y como control negativo. Fluconazol fue utilizado como control positivo.

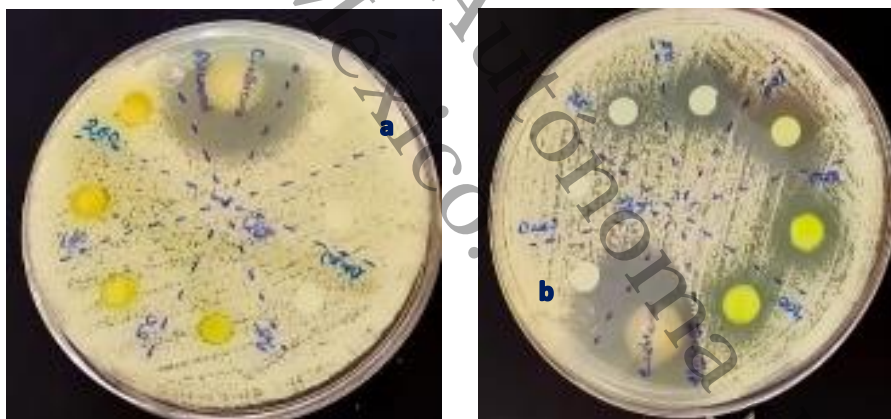


Figura 36. a) Evidencia fotográfica del antibiograma del compuesto **1** contra la cepa de *C. albicans*. b) antibiograma del compuesto **5** contra *C. albicans*. DMSO fue utilizado como solvente para todos los compuestos **1** y **5** y como control negativo. Fluconazol fue utilizado como control positivo. En la foto a), siguiendo el sentido de las manecillas del reloj, se observan Fluconazol utilizado como control positivo, DMSO como control negativo, observando que no se presenta inhibición concentraciones de 25, 50, 100, 200 y 400 µg/sensidisco del compuesto **1** y a partir de los 100 µg/sensidisco observamos halos de inhibición, y en la foto b), siguiendo el sentido de las manecillas del reloj, se observan Fluconazol utilizado como control positivo, DMSO como control negativo, concentraciones de 25, 50, 100, 200 y 400 µg/sensidisco del compuesto **5**, y a partir de los 25 µg/sensidisco observamos halos de inhibición.

Con los datos obtenidos de los antibiogramas se deduce que hay actividad antimicrobiana significativa por parte del compuesto **5** a partir de tener el grupo -NH₂ libre, de igual forma se deduce que no todas las cepas son sensibles al compuesto **5**, puesto que se observó que en *S. epidermis*, *E. coli* y *K. pneumoniae* el compuesto **5** no presentó actividad antimicrobiana. Cabe mencionar que al comparar los resultados obtenidos en cepas que son inhibidas por el compuesto **5**, no presentaron sensibilidad al compuesto **1**, de esta manera se confirma que el concepto de profármaco se ve logrado en los antibiogramas analizados para actividad antimicrobiana. Además, es apreciable la efectividad antifúngica del compuesto **5** en contra parte a la antimicrobiana.

Para poder determinar si el compuesto **1** es posible candidato a ser un profármaco, se necesita determinar si es susceptible para ser reducido en el tracto gastrointestinal por azoreductasas para liberar al 5-ASA y al compuesto **5**.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
MÉXICO.

CONCLUSIONES

Conclusiones

El compuesto **1** ha sido sintetizado a través de dos rutas diferentes obteniendo rendimientos globales de 33% y 34%, por lo que ambas rutas presentan la misma eficacia.

La caracterización y elucidación de los intermediarios y el compuesto final se realizó a través de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C , con lo cual podemos observar la geometría *trans* del doble enlace, proporcionado por las constantes de acoplamiento y los desplazamientos químicos correspondientes para el sistema de hidrógenos α y β insaturados, así como los sistemas para de los ciclos heterocromáticos.

En el ensayo de la actividad antimicrobiana de los compuestos **1** y **5**, realizado por antibiograma, se observó una potencia antimicrobiana moderada del compuesto **5** (se observaron halos de inhibición a partir de 100 μg /sensidisco para cepas bacterianas y a partir de 25 μg /sensidisco para *C. albicans*). Al enmascarar el grupo amino con un grupo azo, mediante copulación con ácido salicílico para generar el compuesto **1** (posible profármaco), muestra pérdida de la actividad biológica, lo cual es congruente con el concepto de profármaco.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

PERSPECTIVAS

Perspectivas

La síntesis de azoderivados de aminochalconas con diversos fármacos es un campo de estudio reciente, en el cual no se ha estudiado a fondo con otros fármacos para dejar antecedentes de la parte química y biológica, por lo cual, se pretende proponer otras aminochalconas y otros fármacos para estudios de azoderivados.

La actividad antimicrobiana obtenida en el análisis de la 4-aminochalcona abre la oportunidad de estudio del grupo $-NH_2$ en diferentes posiciones de los anillos A y B, con lo cual podremos estudiar las mejores opciones para síntesis de profármacos.

Los diferentes fármacos existentes poseen diversas propiedades biológicas de interés, por lo cual se puede plantear el estudio de actividades antiinflamatorias, analgésica y el sinérgico con otros antibióticos.

Se necesita realizar pruebas de actividad antibacteriana en gamma proteobacterias y estudios de estabilidad metabólica en contenido de colon, para determinar si el compuesto es reducido en este sitio anatómico de interés.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Silva, F.; Gatica, T.; Pavez, C. Etiología Y Fisiopatología De La Enfermedad Inflamatoria Intestinal. *Revista Médica Clínica Las Condes* **2019**, 30(4), 262–272.
- (2) Kim, W.; Kim, D.; Jeong, S.; Ju, S.; Lee, H.; Kim, S.; Yoo, J. W.; Yoon, I. S.; Jung, Y. Conjugation of Amisulpride, an Anti-Psychotic Agent, with 5-Aminosalicylic Acid via an Azo Bond Yields an Orally Active Mutual Prodrug against Rat Colitis. *Pharmaceutics* **2019**, 11 (11), 12.
- (3) Irfan, R.; Mousavi, S.; Alazmi, M.; Shah, R.; Saleem, Z. A Comprehensive Review of Aminochalcones. *Molecules* **2020**, 25, 76.
- (4) Elashoff, J. D.; Reedy, T. J.; Meyer, J. H. Analysis of Gastric Emptying Data. *Gastroenterology* **1982**, 83 (6), 1306–1312.
- (5) Hirtz, J. The Gastrointestinal Absorption of Drugs in Man: A Review of Current Concepts and Methods of Investigation. *Br J Clin Pharmacol* **1985**, 19 (2 S), 77S-83S.
- (6) Prabu, S. L.; Suriyaprakash, T. N. K.; Ruckmani, K.; Thirumurugan, R. Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. In *Basic Pharmacokinetic Concepts and Some Clinical Applications*; InTech, 2015.
- (7) Sebastián Domingo, J. J.; Sánchez Sánchez, C. De La Flora Intestinal al Microbioma. *Revista española de enfermedades digestivas* **2018**, 110 (1), 51–56.
- (8) Hirayama, F.; Uekama, K. Colonic Delivery. In *Prodrugs. Biotechnology: Pharmaceutical Aspects*; Springer, New York, NY, 2007; Vol. 5, pp 683–698.
- (9) Marcello, P.; Capocelli, M.; Piemonte, V. Membrane Bioreactors for Digestive System to Study Drugs Absorption and Bioavailability. In *Current Trends and Future Developments on (Bio-) Membranes*; Elsevier, 2020; pp 215–236.
- (10) Marquez Ruiz, J. F.; Kedziora, K.; O'Reilly, M.; Maguire, J.; Keogh, B.; Windle, H.; Kelleher, D. P.; Gilmer, J. F. Azo-Reductase Activated Budesonide Prodrugs for Colon Targeting. *Bioorg Med Chem Lett* **2012**, 22 (24), 7573–7577.
- (11) Kim, W.; Nam, J.; Lee, S.; Jeong, S.; Jung, Y. 5-Aminosalicylic Acid Azo-Linked to Procainamide Acts as an Anticolitic Mutual Prodrug via Additive Inhibition of Nuclear Factor KappaB. *Mol Pharm* **2016**, 13 (6), 2126–2135.
- (12) Sharma, R.; Rawal, R. K.; Gaba, T.; Singla, N.; Malhotra, M.; Matharoo, S.; Bhardwaj, T. R. Design, Synthesis and Ex Vivo Evaluation of Colon-Specific Azo Based Prodrugs of Anticancer Agents. *Bioorg Med Chem Lett* **2013**, 23 (19), 5332–5338.

- (13) Hall, J. E. ;; Hall, M. E. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. *Elsevier* **2021**, 14 (202093).
- (14) Carlson, B. M. The Digestive System. In *The Human Body*, Elsevier, 2019; pp 321–355.
- (15) Kleiveland, C.; Lea, T.; Mackie, A.; Requena, T.; Swiatecka, D.; Wichers, H. *The Impact of Food Bioactives on Health In Vitro and Ex Vivo Models*, 1st ed.; Springer: Switzerland, 2015; Vol. 1.
- (16) Meligrana, N.; Quera, R.; Figueroa, C.; Ibáñez, P.; Lubascher, J.; Kronberg, U.; Flores, L.; Simian, D. Factores Ambientales En El Desarrollo y Evolución de La Enfermedad Inflamatoria Intestinal. *Rev Med Chile* **2019**, 147, 212–220.
- (17) Yamamoto-Furusho, J. K.; Bosques-Padilla, F. J.; Charúa-Guindic, L.; Cortés-Espinosa, T.; Miranda-Cordero, R. M.; Saez, A.; Ledesma-Ororio, Y. Epidemiología, Carga de La Enfermedad y Tendencias de Tratamiento de La Enfermedad Inflamatoria Intestinal En México. *Rev Gastroenterol Mex* **2020**, 85 (3), 246–256.
- (18) Castillo-Martínez, D.; Rosas-Barrientos, J. V.; Serrano-López, A.; Amezcua-Guerra, L. M. Enfermedad Inflamatoria Intestinal. *Revista de Especialidad Médica-Quirúrgicas* **2005**, 10, 10–20.
- (19) Stidham, R. W.; Higgins, P. D. R. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease. *Clin Colon Rectal Surg* **2018**, 31 (3), 168–178.
- (20) Ferlay, J.; Ervik, M.; Lam, F.; Colombet, M.; Mery, L.; Piñeros, M.; Znaor, A.; Soerjomataram, I.; Bray, F. *Global Cancer Observatory. Mexico*; Lyon, France, 2018. [chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-fact-sheets.pdf](https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-fact-sheets.pdf) (accessed 2022-11-01).
- (21) Aldaco-Sarvide, F.; López-Cruz, L.; Erazo-Valle-Solís, A. A.; Cervantes-Sánchez, G.; Cárdenas-Cárdenas, E.; Torrecillas-Torres, L. *Correspondencia: Mortalidad Por Cáncer Colorrectal En México Mortality from Colorectal Cancer in Mexico*; 2020. www.remq-issste.com.
- (22) Collins, P.; Rhodes, J. Ulcerative Colitis: Diagnosis and Management. *Br Med J* **2006**, 333 (7563), 340–343.
- (23) Diputados, C. de. *Diario Oficial de La Federación*; Diario oficial de la federación: México, 2009; pp 1–180.
- (24) Román, F. D. *Innovación y Desarrollo Farmacéutico*; Mexicana, A. F., Ed.; 1990.
- (25) Rodríguez Romero, V. Diseño de Profármacos Azoico-Glicosídicos Doblemente Específicos. Thesis, Instituto Politécnico Nacional, México, 2009.

31

13

35

- (26) Abet, V.; Filace, F.; Recio, J.; Alvarez-Builla, J.; Burgos, C. Prodrug Approach: An Overview of Recent Cases. *Eur J Med Chem* **2017**, *127*, 810–827.
- (27) Remington, R. W., Folk, C. L., Johnston, J. C. Involuntary Covert Orienting Is Contingent on Attentional Control Settings - PubMed. *J Exp Psychol Hum Percept Perform* **1992**, *18(4)*, 1030–1044.
- (28) Silverman, Richard B., Holladay, M. W. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Third Edit.; Elsevier. Book Aid International, Ed.; 2014.
- (29) Shahdadi Sardo, H.; Saremnejad, F.; Bagheri, S.; Akhgari, A.; Afrasiabi Garekani, H.; Sadeghi, F. *A Review on 5-Aminosalicylic Acid Colon-Targeted Oral Drug Delivery Systems*; Elsevier B.V., 2019; Vol. 558.
- 4 (30) Takahashi, M.; Washio, T.; Suzuki, N.; Igeta, K.; Yamashita, S. Investigation of the Intestinal Permeability and First-Pass Metabolism of Drugs in Cynomolgus Monkeys Using Single-Pass Intestinal Perfusion. *Biol Pharm Bull* **2010**, *33 (1)*, 111–116.
- (31) Wang, Y.; Brasseur, J. G.; Banco, G. G.; Webb, A. G.; Ailiani, A. C.; Neuberger, T. A Multiscale Lattice Boltzmann Model of Macro-to Micro-Scale Transport, with Applications to Gut Function. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **2010**, *368 (1921)*, 2863–2880.
- (32) Ferrua, M.J., & Paul Singh, R. *Human gastric simulator (Riddet model)*. Cham Heidelberg New York Dordrecht London: Springer. [chapter 7]. [https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Human gastric simulator \(Riddet Model\)&author=M.J. Ferrua&publication_year=2015](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Human+gastric+simulator+(Riddet+Model)&author=M.J.+Ferrua&publication_year=2015) (accessed 2021-02-03).
- 10 (33) Roldo, M.; Barbu, E.; Brown, J. F.; Laight, D. W.; Smart, J. D.; Tsibouklis, J. Azo Compounds in Colon-Specific Drug Delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. September 2007, pp 547–560.
- (34) Mahkam, M. Novel PH-Sensitive Hydrogels for Colon-Specific Drug Delivery. *Drug Deliv* **2010**, *17 (3)*, 158–163.
- (35) Kim, W.; Kim, D.; Jeong, S.; Ju, S.; Lee, H.; Kim, S.; Yoo, J. W.; Yoon, I. S.; Jung, Y. Conjugation of Amisulpride, an Anti-Psychotic Agent, with 5-Aminosalicylic Acid via an Azo Bond Yields an Orally Active Mutual Prodrug against Rat Colitis. *Pharmaceutics* **2019**, *11*.
- 42 (36) Laurence L. Brunton, John S. Lazo, K. L. P. *Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica de Goodman & Gilman*, undécima.; Brunton, L. L., Ed.; McGraw-Hill: Colombia, 2007; Vol. 11.
- 24 (37) Bulacio Gil, N. M. Mecanismos Involucrados En La Biodecoloración de Efluentes Con Levaduras Del Género Trichosporon. Thesis, Universidad

28 Nacional de Tucuman, Tucumán, 2018.
https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/78893/CONICET_Digital_Nro_219bd000-0e8b-4ca0-89b4-af07b0b731f5_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y.

(38) Rohini, R. M.; Devi, K.; Devi, S. Synthesis of Novel Phenyl Azo Chalcone Derivatives for Antitubercular, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity. *Scholars Research Library Der Pharma Chemica* **2015**, 7 (1), 77–83.

(39) Liu, Q.; Jin, L. X.; Lu, J. F. The Electric Memory Properties of Azo-Chalcone Derivatives Based on Different Film Forming Processes. *J Mol Struct* **2021**, 1228.

18 (40) Makhlof, M. M.; Radwan, A. S.; Aly, M. R. E. Synthesis, Physicochemical and Spectroscopic Characterizations of Azochalcone Derivative Thin Films towards Solar Cells Application. *J Photochem Photobiol A Chem* **2017**, 332, 465–474.

(41) Mahdi, S. M.; Aliway, R. I. *Preparation and Identification of a New Azo-Chalcone Ligand (VACAN) and Its Complexes with Some Divalent Transition Metal Ions*; 2015; Vol. 15. <http://iqnjc.com/Default.aspx>.

(42) Wade, L. *Química Orgánica. Volumen 2*, Séptima.; México, 2011.

(43) Zhuang, C.; Zhang, W.; Sheng, C.; Zhang, W.; Xing, C.; Miao, Z. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chem Rev* **2017**, 117 (12), 7762–7810.

(44) Kozłowska, J.; Potaniec, B.; Baczyńska, D.; Zarowska, B.; Anioł, M. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Aminochalcones as Potential Anticancer and Antimicrobial Agents. *Molecules* **2019**, 24 (22), 1–18.

2 (45) Siqueira, M. M. R.; Freire, P. de T. C.; Cruz, B. G.; de Freitas, T. S.; Bandeira, P. N.; Silva dos Santos, H.; Nogueira, C. E. S.; Teixeira, A. M. R.; Pereira, R. L. S.; Xavier, J. da C.; Campina, F. F.; dos Santos Barbosa, C. R.; Neto, J. B. de A.; da Silva, M. M. C.; Siqueira-Júnior, J. P.; Douglas Melo Coutinho, H. Aminophenyl Chalcones Potentiating Antibiotic Activity and Inhibiting Bacterial Efflux Pump. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2021**, 158 (December 2020).

(46) Széll, T.; Sohár, I. New Nitrochalcones. *Can J Chem* **1969**, 47 (April 1), 5.

4 (47) Nielsen, Arnold T., Houlihan, W. J. The Aldol Condensation. *Organic Reactions* **2011**, 16, 438.

(48) Ren, Y.; Yuan, C.; Qian, Y.; Chai, H. B.; Chen, X.; Goetz, M.; Kinghorn, A. D. Constituents of an Extract of *Cryptocarya Rubra* Housed in a Repository with Cytotoxic and Glucose Transport Inhibitory Effects. *J Nat Prod* **2014**, 77 (3), 550–556.

- 11 (49) Kil, Y. S.; Choi, S. K.; Lee, Y. S.; Jafari, M.; Seo, E. K. Chalcones from *Angelica Keiskei*: Evaluation of Their Heat Shock Protein Inducing Activities. *J Nat Prod* **2015**, *78* (10), 2481–2487.
- (50) Armesto, D.; Horspool, W. M.; Martin, N.; Ramos, A.; Seoane, C. Synthesis of Cyclobutenes by the Novel Photochemical Ring Contraction of 4-Substituted 2-Amino-3,5-Dicyano-6-Pheny-4H-Pyrans. *Journal of Organic Chemistry* **1989**, *54* (13), 3069–3072.
- (51) Song, Q. B.; Li, X. N.; Shen, T. H.; Yang, S. D.; Qiang, G. R.; Wu, X. L.; Ma, Y. X. Synthesis of Novel Chalcone Analogues of Ferrocene Biarenes. *Synth Commun* **2003**, *33* (22), 3935–3941.
- (52) Patel, D. D.; Lee, J. M. Applications of Ionic Liquids. *Chemical Record* **2012**, *12* (3), 329–355.
- 32 (53) Kumar, S. K.; Hager, E.; Pettit, C.; Gurulingappa, H.; Davidson, N. E.; Khan, S. R. Design, Synthesis, and Evaluation of Novel Boronic-Chalcone Derivatives as Antitumor Agents. *J Med Chem* **2003**, *46* (14), 2813–2815.
- (54) Taroco, R.; Seija, V.; Vignoli, R. Métodos de Estudio de Sensibilidad Antibiótica. In *Temas de bacteriología y virología médica*; 2006; pp 663–671.
- (55) Yamamoto Furusho, J. K.; Bosques Padilla, F.; de Paula, J.; Galiano, M. T.; Ibañez, P.; Juliao, F.; Kotze, P. G.; Rocha, J. L.; Steinwurz, F.; Vetitia, G.; Zaltman, C. Diagnóstico y Tratamiento de La Enfermedad Inflamatoria Intestinal: Primer Consenso Latinoamericano de La Pan American Crohn's and Colitis Organisation. *Rev Gastroenterol Mex* **2016**, 1–39.
- (56) Turner, D.; Levine, A.; Kolho, K. L.; Shaoul, R.; Ledder, O. Combination of Oral Antibiotics May Be Effective in Severe Pediatric Ulcerative Colitis: A Preliminary Report. *J Crohns Colitis* **2014**, *8* (11), 1464–1470.
- 39 (57) Ledder, O. Antibiotics in Inflammatory Bowel Diseases: Do We Know What We're Doing? *Transl Pediatr* **2019**, *8* (1), 42–55.
- 21 (58) Iqbal, H.; Prabhakar, V.; Sangith, A.; Chandrika, B.; Balasubramanian, R. Synthesis, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Ring-a-Monosubstituted Chalcone Derivatives. *Medicinal Chemistry Research* **2014**, *23* (10), 4383–4394.
- 14 (59) Chandrappa, S.; Vinaya, K.; Ramakrishnappa, T.; Rangappa, K. S. An Efficient Method for Aryl Nitro Reduction and Cleavage of Azo Compounds Using Iron Powder/Calcium Chloride. *Synlett* **2010**, *14* (20), 3019–3022.
- 9 (60) Sabará da Cruz, R. Síntese de Aminochalconas e Nitrochalconas Como Potenciais Inibidores de Alfa-Glicosidasas. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Sao Paulo, 2013.
- 26 (61) Simon, W.; Clerc, T. *Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos Por Métodos Espectroscópicos*; Alhambra, 1980; Vol. 1.

(62) Marieb, E. N. *Anatomía y Fisiología Humana*, 9th ed.; Pearson Educación: Madrid, 2008.

(63) Narváez Sánchez Raúl; Chuaire, L.; Sánchez, M. C.; Bonilla, J. Circulación Intestinal: Su Organización, Control y Papel En El Paciente Crítico. *Colomb Med* **2004**, 35, 231–244.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

APÉNDICE

Apéndice 1: Anatomía y fisiología del tracto gastrointestinal

Anatomía del tracto GI

El tracto gastrointestinal está compuesto por diferentes órganos siendo la boca, el estómago, el duodeno, el yeyuno, el íleon y el colon sus partes más relevantes (Figura 37) y las características más importantes se describen brevemente en los siguientes párrafos^{8,13}.

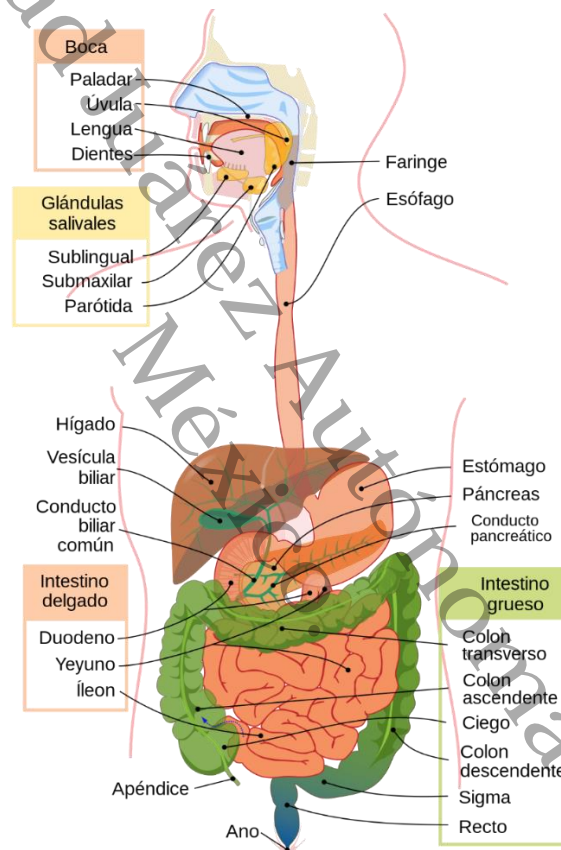


Figura 37. Descripción de las partes anatómicas del intestino⁶².

La *boca* es la única parte del tracto gastrointestinal con esqueleto óseo. Tiene treinta y dos dientes permanentes que son capaces de masticar y desintegrar la comida. Las glándulas salivales, para lubricar el bolo al estómago, producen 0,5 L por día de saliva (sin estimulación). Las enzimas presentes en la saliva son α -amilasa (para iniciar la digestión de carbohidratos), lipasa ácida (para iniciar la digestión de los triglicéridos y actúa en el estómago donde el pH ácido) y

ribonucleasa (para iniciar la digestión del ARN). El sistema parasimpático controla la secreción de las glándulas salivales por medio de estimulaciones que pueden ser táctiles, olfativas o visuales¹³⁻¹⁵.

El **estómago**, Figura 38, es dividido en nueve zonas anatómicas diferentes como cardias, fundus, serosa, cuerpo, ruga, antro, canal, esfínter, píloro¹³⁻¹⁵.

El estómago mide unos 25 cm de largo, 12 cm de ancho y 8 cm de grosor. Con estas dimensiones, podría almacenar aproximadamente 1,5 L de bolo alimenticio. La porción proximal es donde se recolecta el bolo de entrada; mientras la porción distal es donde se lleva a cabo la contracción muscular útil para desintegrar el bolo. El bolo se mueve mediante ondas peristálticas coordinadas con el píloro (la válvula del estómago).

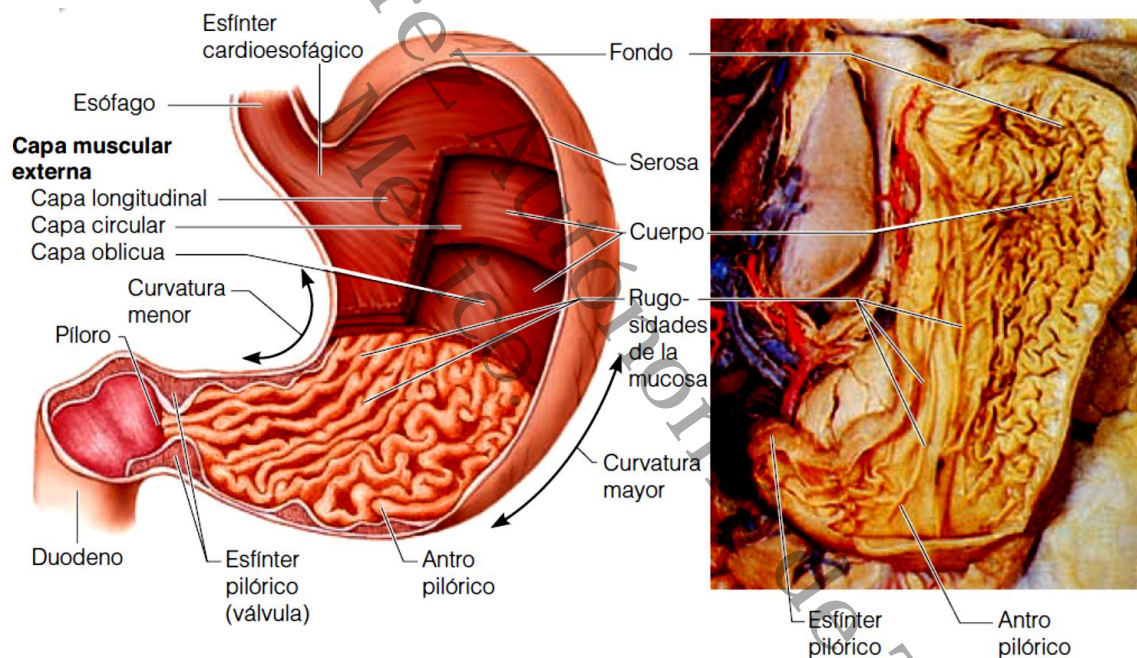


Figura 38. Composición anatómica del intestino⁶².

Las células gástricas pueden producir alrededor de dos litros de jugo gástrico (HCl), lo que hace que el pH oscile entre 1 y 7 (en función de la fase de digestión). La producción de HCl puede incrementar por la estimulación de receptores de membrana (con gastrina, por ejemplo). La somatostatina es un inhibidor del bombeo de protones y es liberado por las células D del estómago y el duodeno.

El pepsinógeno es el zimógeno (proteasa que contiene una porción inhibidora de su función) más importante producido por el estómago, el cual es activado para formar la proteasa pepsina que posee un pH óptimo de actividad entre 1.8 y 3.5, por encima de un pH de 3.5 se inactiva de forma reversible y por encima del pH neutro la inactivación es irreversible¹³⁻¹⁵.

El intestino (Figura 37) se divide en duodeno, yeyuno, íleon y colon⁸. El duodeno se encuentra después del estómago y mide de 20 a 25 cm de largo con diámetro de 2.5 cm aproximadamente. Esta porción del intestino está conectada al páncreas y a la vesícula biliar a través de la papila duodenal mayor, que es el sitio de entrada del jugo pancreático y la bilis. El jugo pancreático contiene proteasas (tripsina, quimotripsina y aminopeptidasa), amilasa pancreática, lipasa pancreática, colesterol esterasa y fosfolipasa. La bilis tiene como objetivo facilitar la digestión y absorción de grasas mediante su emulsificación, aumentando el área de contacto entre los lípidos y las enzimas que se encargan de su digestión, que son hidrosolubles y solo pueden actuar en la interfase agua-gota de lípido. El pH del duodeno es de aproximadamente 5.0 y está determinado por la presencia de bicarbonato de sodio en los jugos pancreáticos y la bilis, donde el bicarbonato de sodio neutraliza el jugo gástrico, evitando de esta manera daños en el tejido intestinal¹³⁻¹⁵.

El yeyuno es la segunda parte del intestino delgado y mide unos 2.5 m de largo con 2.5 cm de diámetro. Su superficie interna está cubierta por vellosidades intestinales que aumentan considerablemente el área efectiva disponible para la absorción de nutrientes y xenobióticos¹³⁻¹⁵.

El íleon es la última parte del intestino delgado y tiene una longitud que varía entre 2 y 4 m con un diámetro de 2.5 cm¹³⁻¹⁵.

La última parte del intestino es el colon que mide aproximadamente 1.5 m de largo con un diámetro de en su parte inicial de 7.5 cm y en la parte final de 4 a 2.5 cm, anatómicamente se divide en colon ascendente, transverso y descendente y una porción que tiene forma de "s" que se denomina el segmento sigmoideo antes de terminar en el recto y el ano¹³⁻¹⁵.

37

Fisiología del tracto GI

La interacción sinérgica entre diferentes órganos le da al sistema gastrointestinal las habilidades para realizar tres funciones importantes: (i) almacenaje, (ii) digestión, y (iii) absorción¹³⁻¹⁵. En esta sección, se describen algunos aspectos fisiológicos fundamentales del sistema gastrointestinal durante las funciones mencionadas anteriormente. La función de la boca no se describe, porque su función principal es desintegrar la comida y mezclarla con saliva con el propósito de prepararla para ser deglutida.

Estómago

Las funciones más importantes del estómago son almacenar, desintegrar, vaciar y en menor medida digerir el bolo alimenticio en el duodeno, que después de su paso por el estómago se denomina quimo. La musculatura del estómago permite que el estómago almacene una gran cantidad de bolo alimenticio, el volumen máximo del estómago es de aproximadamente 1.5 L (en promedio), pero potencialmente puede almacenar el doble de este valor.

La función de digestión viene dada por mecanismos secretores, humorales (regulados por hormonas como la gastrina y la somatostatina) y de motilidad (para desintegrar y mover el bolo). Las fases de secreción ácida presentan una fase inter digestiva donde hay una secreción basal de ácido clorhídrico, una fase cefálica que puede comenzar con la idea de comer y una fase gástrica que comienza con la digestión de los alimentos. El vaciado del estómago lo permite el tono muscular en la región proximal del estómago, si el vaciado es lento los nutrientes (o xenobióticos) se liberarán lentamente en el intestino por lo que su absorción se retrasará. El duodeno, de hecho, permite la liberación de quimo del estómago. Sólo al final de su ciclo de digestión. Entonces, si el duodeno tiene una digestión lenta, el vaciado del estómago será lento y la posible absorción de un fármaco también se ralentizará¹³⁻¹⁵.

Duodeno

El duodeno (Figura 39) tiene tres funciones importantes¹³⁻¹⁵ que son regular el vaciado del estómago, digerir el quimo (que después de combinarse con los jugos pancreáticos y biliares se denomina quilo) y el vaciado en el yeyuno.

La señal de vaciado controlada por el duodeno se genera a una frecuencia tal que el quimo en la entrada no es más alto que el quilo absorbible o digerible. El duodeno, de hecho, se llena a su máxima capacidad de quimo en la salida del estómago. Después de eso, comienza la digestión del quilo y, en conclusión, se vacía al yeyuno mientras envía una señal de vaciado al estómago. Tanto el vaciado duodenal como estomacal están controlados por factores como el volumen de quilo en el duodeno, el pH del contenido duodenal, el nivel de irritación de la mucosa duodenal y la presencia de algunos productos de digestión final¹³⁻¹⁵.

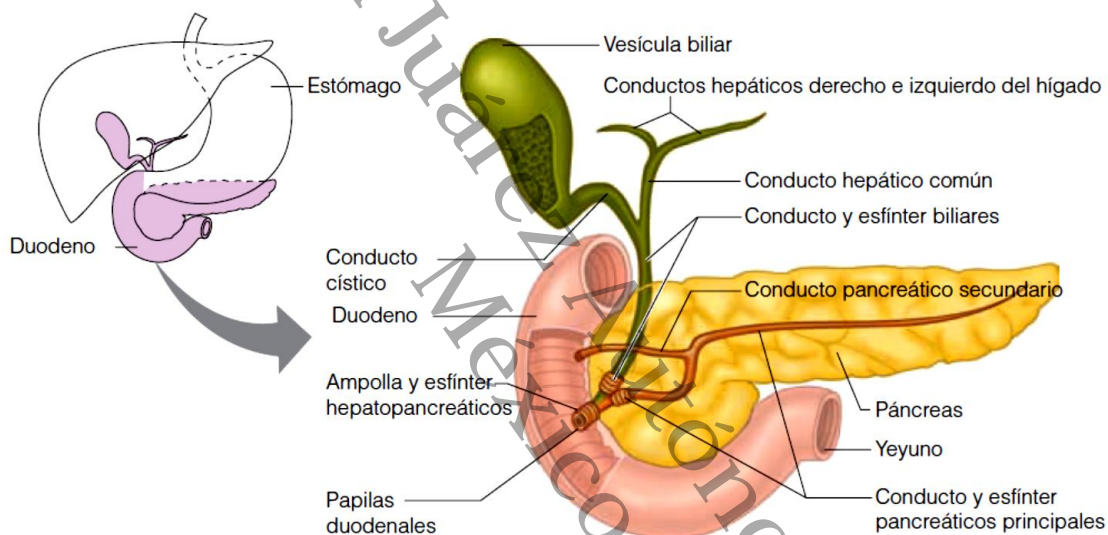


Figura 39. El duodeno y yeyuno en el sistema digestivo ⁶².

Yeyuno

El yeyuno es la parte principal del intestino delgado donde los nutrientes y los xenobióticos son absorbidos (Figura 39). De los 4 L/s que alimenta la aorta, 0.7 L/s son suministrados al intestino delgado y colon proximal, de los cuales el gradiente de flujo sanguíneo por gramo de tejido (ml/100 g/min) en promedio⁶³, y el tiempo de vaciado es de unos 100 min. La absorción de nutrientes y xenobióticos se realiza mediante difusión pasiva (dirigida por un gradiente de concentración a través de la membrana del epitelio) y mediante transporte activo (que va acompañado de la hidrólisis de ATP); estos dos mecanismos de transporte le dan al yeyuno una gran

capacidad de absorción. Todos los productos útiles del quilo que no se absorben en el yeyuno son absorbido en el íleon¹³⁻¹⁵.

Íleon

El íleon tiene la función de absorber algunas vitaminas, la bilis y los productos contenidos en el quilo no absorbidos durante su paso por el yeyuno. Su tiempo de vaciado es de unos 77 minutos, y se considera que la capacidad del íleon para absorber nutrientes y xenobióticos es muy similar a la del yeyuno¹³⁻¹⁵.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Apéndice 2. Parte química

El seguimiento de las reacciones y su purificación fueron observados por cromatografía en capa fina (CCF), aprovechando cromatofolios de gel de sílice de marca Merk 60 con indicador de fluorescencia y espesor de 0.2 mm. El monitoreo se realizó por desactivación (“quenching”) de la fluorescencia, al irradiar con luz ultravioleta a 254 o 365 nm, o mediante el uso de reveladores indicados en la sección correspondiente.

40 Para la determinación del punto de fusión se utilizó un aparato de Fisher Johns modelo A50360.

Durante la obtención de los espectros de RMN se emplearon tubos marca Aldrich de 5 mm de diámetro y 7 pulgadas de longitud. Se pesaron 5 mg del compuesto para su análisis y se disolvieron en 0.5 mL del disolvente deuterado apropiado. Los espectros de RMN de ^1H y DEPTQ, COSY Y HSQC se realizaron en un espectrómetro de RMN Bruker Ascend™ 600 de 600 MHz. Los desplazamientos químicos(δ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

Para la obtención de los espectros de absorción UV-visible se utilizó un equipo GENESYS 10S UV-Vis.

Metodología para la obtención de los compuestos **1** y **5**.

A continuación, se describen los procedimientos experimentales seguidos para la síntesis del compuesto **1**.

Obtención de la 4-aminoacetofenona (**3**)

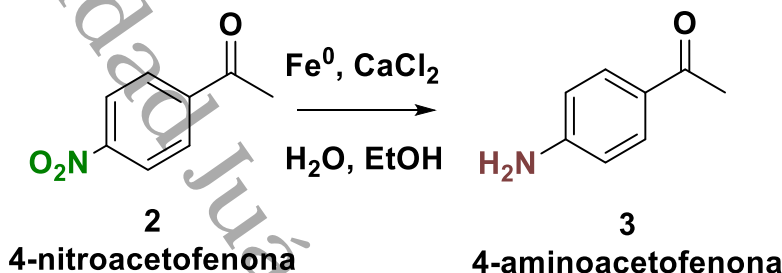


Figura 40. Reducción de la 4-nitroacetofenona a 4-aminoacetofenona.

En un matraz de 50 mL con dos bocas, adaptado con agitación magnética, termómetro y refrigerante en posición de reflujo, se agregó una suspensión de 50 mg de 4-nitroacetofenona (0.3 mmol) en una mezcla de EtOH (18 mL) y H₂O (3 mL). Posteriormente, se adicionaron 50 mg Fe⁰ (0.9 mmol) y 33 mg de CaCl₂ (10 mmol), la mezcla se agitó vigorosamente y calentó a reflujo durante 30 min. El progreso de la reacción se monitoreo por CCF (Hexano-AcOEt 7:3). Después de agotada la materia prima, la mezcla de reacción se separó mediante filtración al vacío para eliminar los residuos de hierro, que se lavaron con AcOEt (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos se juntaron, lavaron con H₂O (3 x 10 mL) seguido de salmuera (2 x 10 mL) y secaron sobre Na₂SO₄. Los volátiles se evaporaron utilizando un rotavapor y una vez concentrado se procedió a purificar el compuesto mediante cromatografía en columna (Hexano - AcOEt 9:1). Finalmente, el producto obtenido se recristalizó por par de disolventes (diclorometano-hexano). Se obtuvieron 40 mg (80%) de un compuesto sólido en forma de cristales color naranja con punto de fusión 96 - 101 °C.

19

9

34

Obtención de la 4-aminochalcona (5)

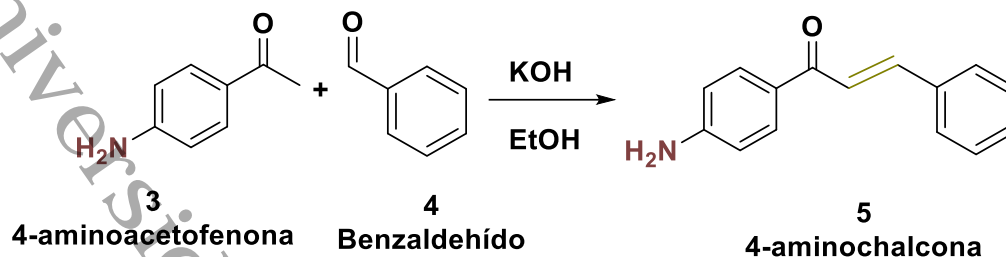


Figura 41. Condensación de Claisen-Smith entre 4-aminoacetofenona (3) y benzaldehído (4) para la obtención de 4-aminochalcona (5).

8 En un matraz balón de 50 mL, acondicionado con agitación magnética y baño de agua-hielo, se adicionaron 41 mg de 4-aminoacetofenona (0.3 mmol) y 18 mL de etanol. A continuación, se adicionaron 32 mg de benzaldehído (0.3 mmol, 31 μ L) en una sola porción y la mezcla se dejó agitar hasta alcanzar ≈ 4 $^{\circ}$ C. Al alcanzar la temperatura deseada, se adicionaron mediante goteo lento 3.0 mL de una disolución acuosa 1.0M de KOH (0.3 mmol) cuidando que la temperatura no sobrepasara los 5 $^{\circ}$ C. Al finalizar la adición de la disolución de KOH, se agitó la mezcla de reacción por 5 horas adicionales, durante este tiempo la reacción se atemperó lentamente y se monitoreó el progreso de la reacción mediante CCF (Hexano - AcOEt 7:3). Al consumirse las materias primas, la mezcla se refrigeró durante toda la noche y el sólido formado se separó por filtración y lavó con agua destilada fría. El sólido obtenido se dejó secar a temperatura ambiente y posteriormente se recrystalizó por par de disolventes utilizando diclorometano y etanol. Los cristales obtenidos se secaron a 70 $^{\circ}$ C y almacenaron en vial de 25 mL a temperatura ambiente y en lugar oscuro antes de su caracterización por métodos físicos y espectroscópicos. Se obtuvieron 52 mg (78%) de un compuesto sólido, de cristales amarillo, con punto de fusión de 106 - 108 $^{\circ}$ C

Síntesis del compuesto 1 a partir de 5

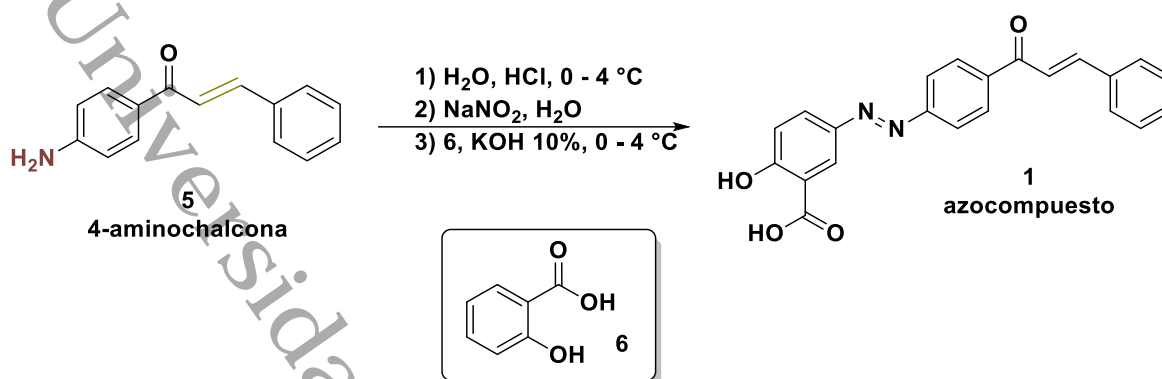


Figura 42. Acoplamiento azo entre las moléculas de 4-aminochalcona y el ácido salicílico.

En un matraz balón de 25 mL, acondicionado con agitación magnética, se agregaron 67 mg de 4-aminochalcona (5) (0.3 mmol), 1.1 mL de H₂O y 0.27 mL de HCl concentrado. La mezcla se agitó por 30 minutos y cuando se disolvió la 4-aminochalcona (5) la disolución fue enfriada utilizando un baño de hielo-agua. Cuando la disolución alcanzó una temperatura de 0 - 5°C, se agregó por goteo una disolución fría de 21 mg de NaNO₂ (0.3 mmol) en 1.1 mL de H₂O e inmediatamente después se adicionó una solución de 42 mg de ácido salicílico (0.3 mmol) disueltos en 200 µL de KOH al 10%. La solución resultante se agitó vigorosamente a 0 - 5 °C durante 3 h y posteriormente se refrigeró durante la noche. El producto crudo se purificó por par de disolventes MeOH: H₂O. Se obtuvieron 55 mg (52%) de un compuesto sólido color rosa, con punto de fusión de 288 - 290 °C.

Síntesis del compuesto 7

Dentro de la ruta para mejorar los productos, se realizó el previo acoplamiento de las aminoacetofenonas trabajadas con el ácido salicílico a través de un conjugado azo. A continuación, se describe la síntesis realizada.

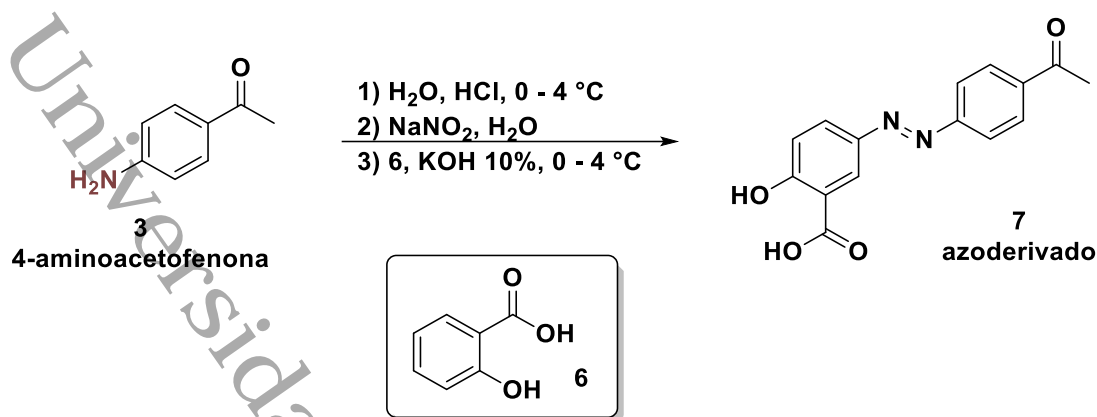


Figura 43. Acoplamiento azo entre las moléculas de 4-aminoacetofenona y el ácido salicílico.

En un matraz balón de 25 mL, acondicionado con agitación magnética, se agregaron 183 mg de 4-aminoacetofenona (1.35 mmol) a la cual se le adicionó 3.46 mL de H_2O y por goteo 0.86 mL de HCl , se dejó mezclar por 30 minutos colocado en un baño de hielo $0 - 5^\circ\text{C}$, trascurrido el tiempo, se le agregó mediante goteo 93 mg de una solución acuosa fría de NaNO_2 (1.35 mmol, 3.43 mL) e inmediatamente terminado de agregar el NaNO_2 se adicionó una solución de 187 mg de ácido salicílico (1.35 mmol) disueltos en KOH al 10% (3.0 mL). La solución resultante se agitó vigorosamente a $0 - 5^\circ\text{C}$ durante 3 h. La mezcla de reacción se mantuvo durante la noche en un refrigerador. El producto crudo se recrystalizó por par de disolventes $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ caliente para producir productos puros. Se obtuvieron 299 mg (78%) de un compuesto sólido color rosa, con punto de fusión de $278 - 280^\circ\text{C}$.

Síntesis del compuesto 1 a partir del compuesto 7

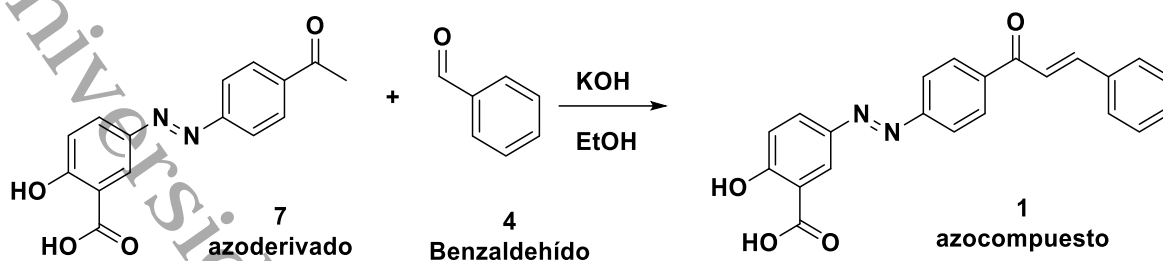


Figura 44. Condensación de Claisen-Smith entre azoderivado de 4-aminoacetofenona (7) y benzaldehído (4) para la obtención de azoderivado de 4-aminochalcona (1).

En un matraz balón de 50 mL, acondicionado con agitación magnética y baño de agua-hielo, se adicionaron 50 mg de 7 (0.17 mmol) y 352 μ L de etanol. A continuación, se adicionaron 19 mg de benzaldehído (0.17 mmol, 31 μ L) en una sola porción y la mezcla se dejó agitar hasta alcanzar ≈ 4 $^{\circ}$ C. Después, se adiciono mediante goteo lento 176.0 μ L de una disolución acuosa 1.0M de KOH (0.17 mmol) cuidando que la temperatura no sobrepasara los 5 $^{\circ}$ C. Al finalizar la adición, se agitó la mezcla de reacción por 5 horas adicionales. Durante este tiempo, la reacción se atemperó lentamente y se monitoreó el progreso de la reacción mediante CCF (Hexano - AcOEt 7:3). Al consumirse las materias primas, la mezcla se refrigeró durante toda la noche y el sólido formado se separó por filtración y lavó con agua destilada fría. El sólido obtenido se dejó secar a temperatura ambiente y posteriormente se recrystalizó por par de disolventes utilizando MeOH: H₂O. Los cristales obtenidos se secaron a temperatura ambiente y almacenaron en vial de 25 mL a temperatura ambiente y en lugar oscuro antes de su caracterización por métodos físicos y espectroscópicos. Se obtuvieron 27 mg (52%) de un compuesto sólido color rosa, con punto de fusión de 288 - 290 $^{\circ}$ C.

Apéndice 3. Parte biológica

Procedimiento para comprobar la actividad antimicrobiana de **1** y **5**.

La sensibilidad de las cepas utilizadas frente a los compuestos **1** y **5** fue determinada a través del método de Kirby-Bauer, el cual se describe brevemente a continuación.

Se uso el medio Müller Hilton de acuerdo con las recomendaciones emitidas por Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing. Se midieron 400 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer y se calentaron sobre una parrilla eléctrica con agitación constante. Se pesaron 38g de agar Müller Hilton y se adicionaron al matraz. Se mantuvo la mezcla en agitación constante hasta disolver, se agregaron 500 ml de agua destilada y se aforo a 1 L y calentó a ebullición durante 1 minuto. Se colocó un algodón envuelto en gasa y una protección con papel estraza. Se procedió a esterilizar el medio en la autoclave (15 psi durante a 15 min.). Una vez estéril, se colocó en una zona limpia y aséptica, sin flujo de aire y se dejó enfriar unos minutos. Se agito suavemente y se llenaron cajas Petri de 10 x 10 cm a un volumen aproximado de 25 mL. Se dejaron reposar las cajas Petri hasta su solidificación.

Se utilizaron sensidiscos de papel filtro del número 3 (Whatman® Life Sciences), esterilizados y almacenados en viales de vidrio de 25 mL. Se preparó a través de alícuotas de Cefalexina (30 µg), Ampicilina (10 µg), Fluconazol (25 µg). Compuesto **1** y compuesto **5**, alícuotas de (400 µg, 200 µg, 100 µg, 50 µg, 25 µg).

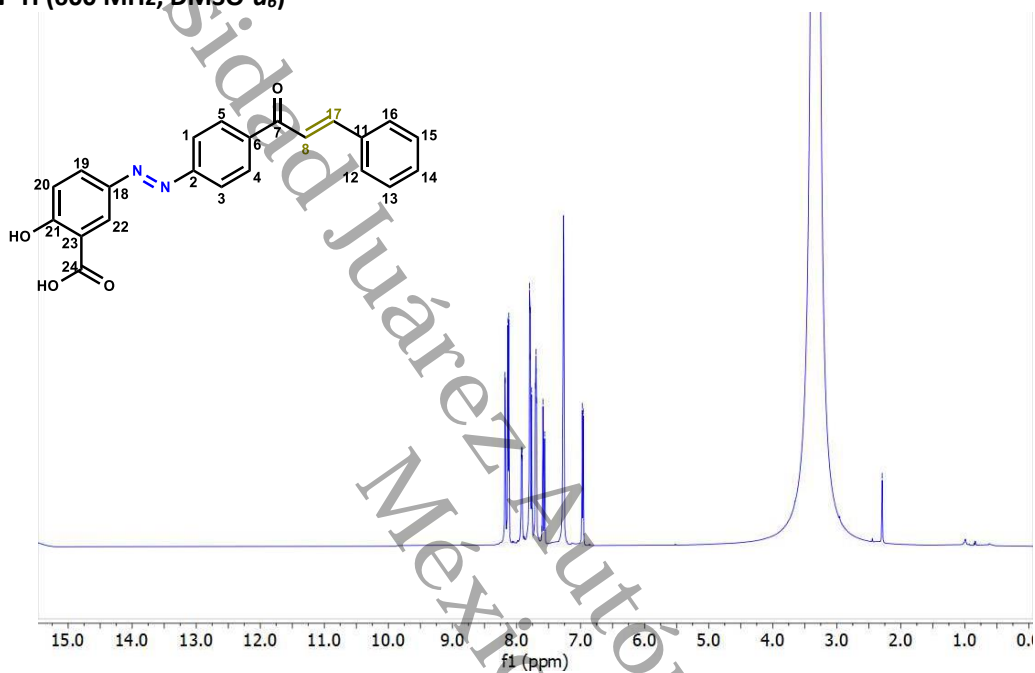
Con la ayuda de una asa bacteriana se sembraron las cepas de las bacterias *Staphylococcus aureus* (cepa ATCC 25923 y un aislado clínico), *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y la levadura *Candida albicans*, siguiendo la técnica de triple estriado. Una vez sembradas las cepas de interés, se colocaron los sensidiscos sobre la superficie del agar. A continuación, se colocaron 10 µL de cada uno de los stocks preparados. Cada antibiograma se incubó a 37 °C por 24 horas. Al concluir el periodo de incubación se procedió a realizar la medición en mm de los halos de inhibición.

Apéndice 4. Espectroscopía.

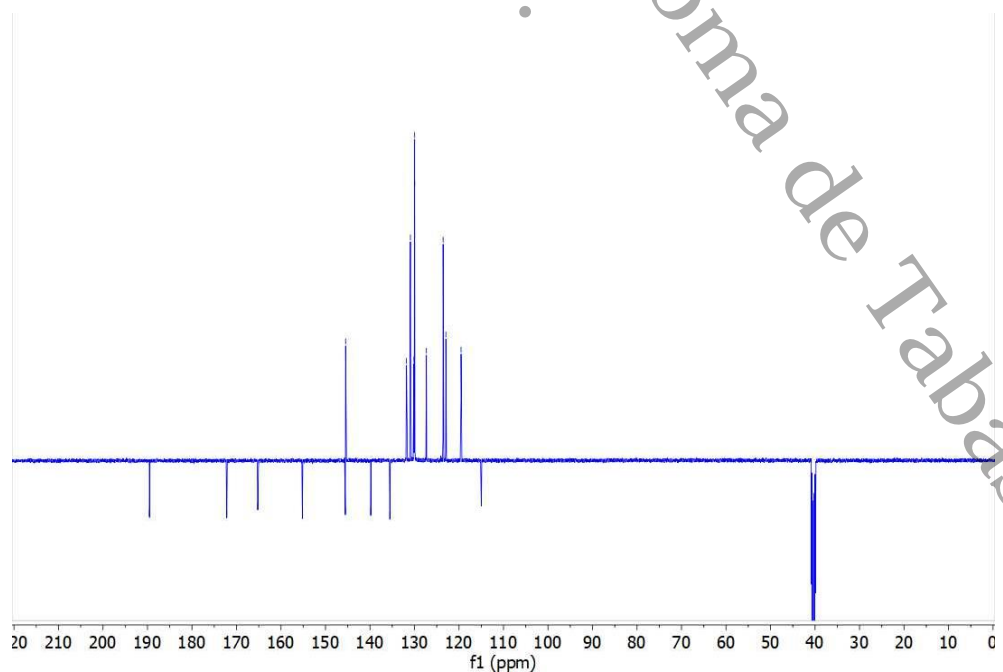
Espectroscopía de intermediarios y compuesto final

Compuesto 1

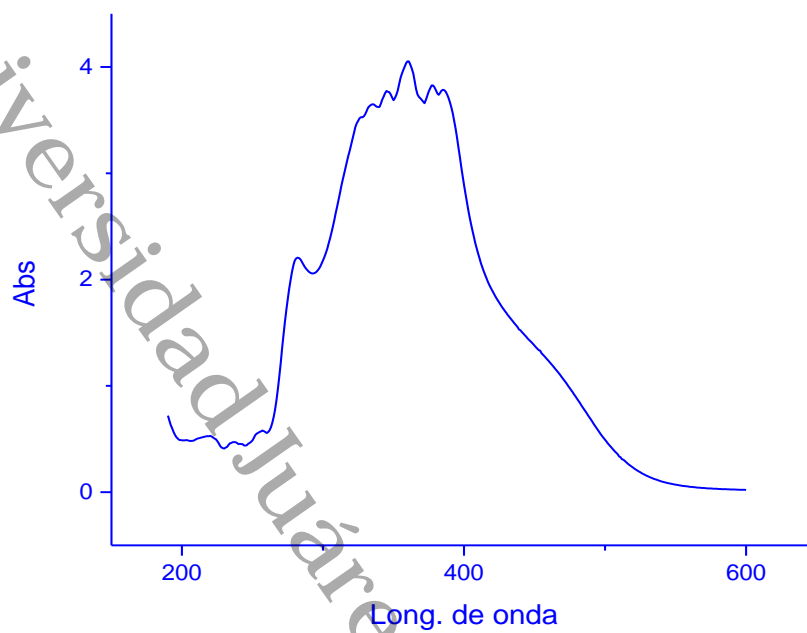
RMN ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



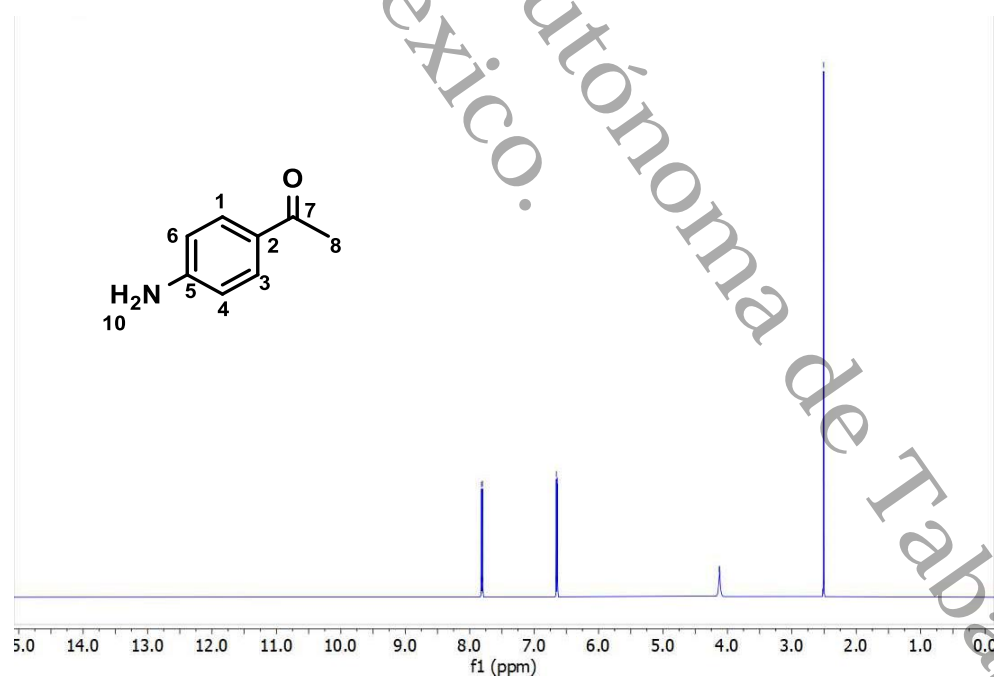
RMN DEPTQ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

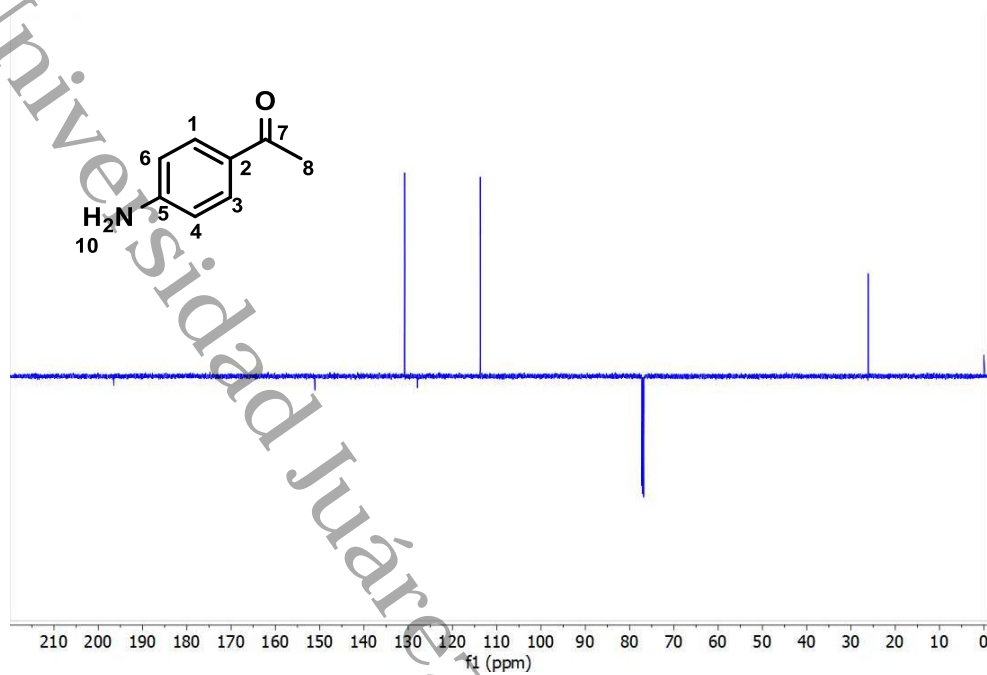


Uv-Vis (DMSO)

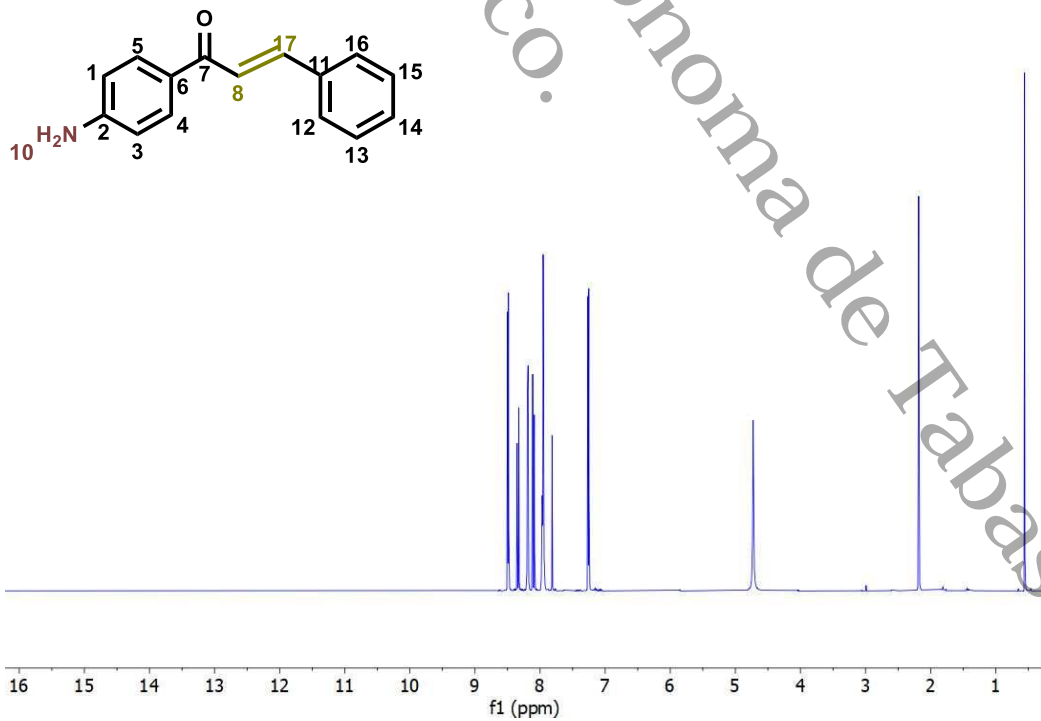


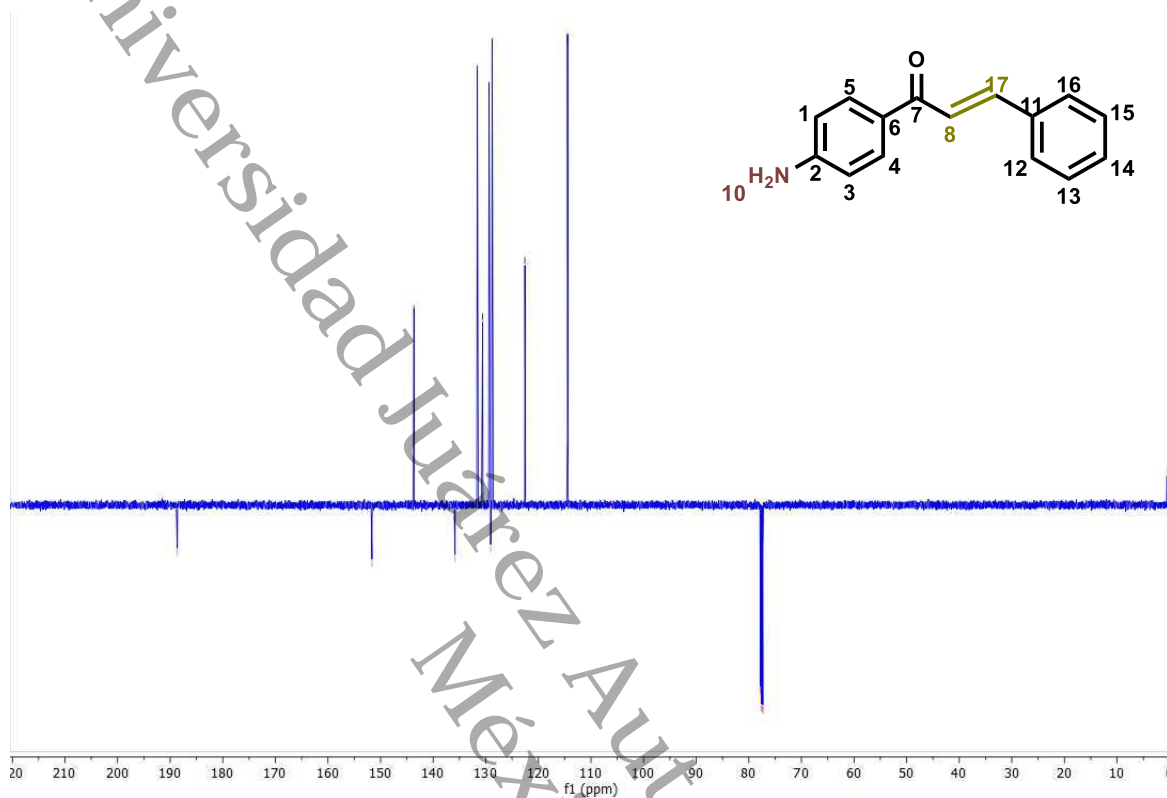
Compuesto 3

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3)

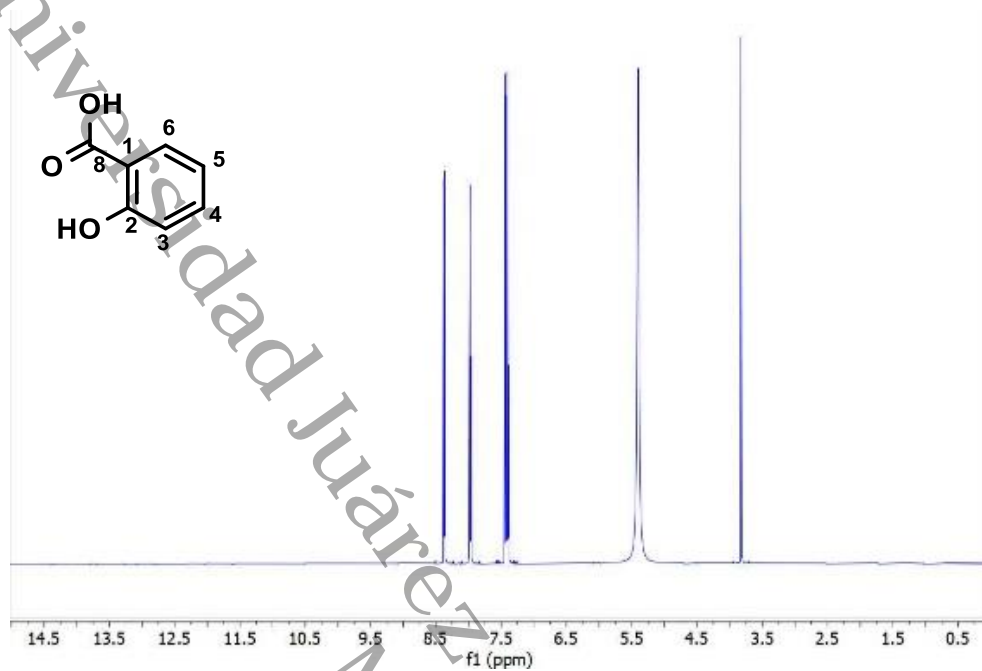
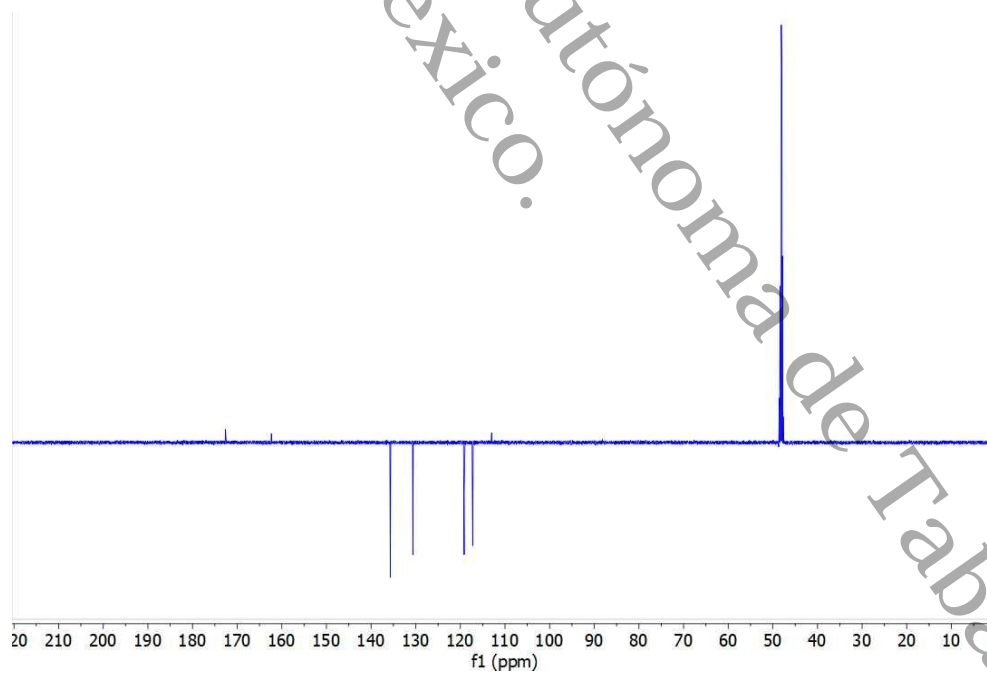
RMN DÉPTQ (151 MHz, CDCl₃)

Compuesto 5

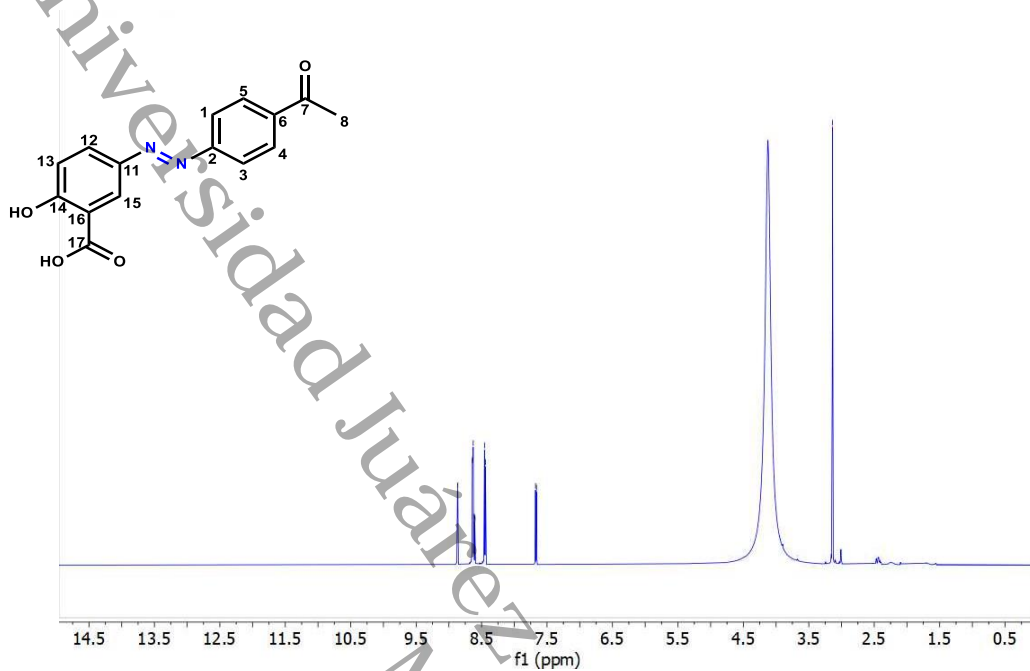
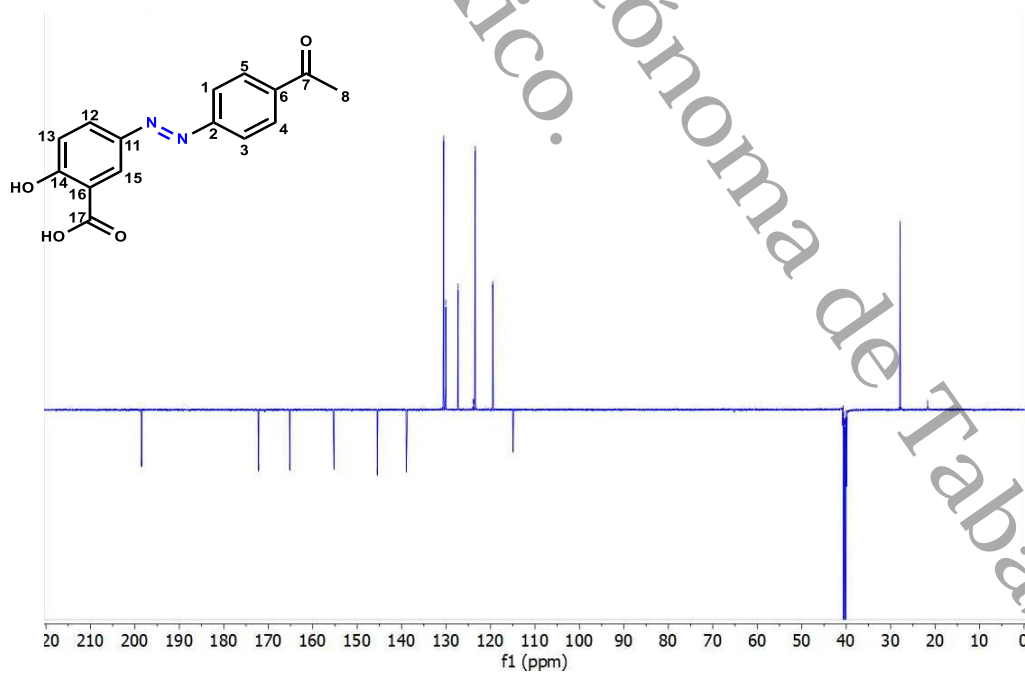
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃)

RMN DEPTQ (151 MHz, CDCl₃)

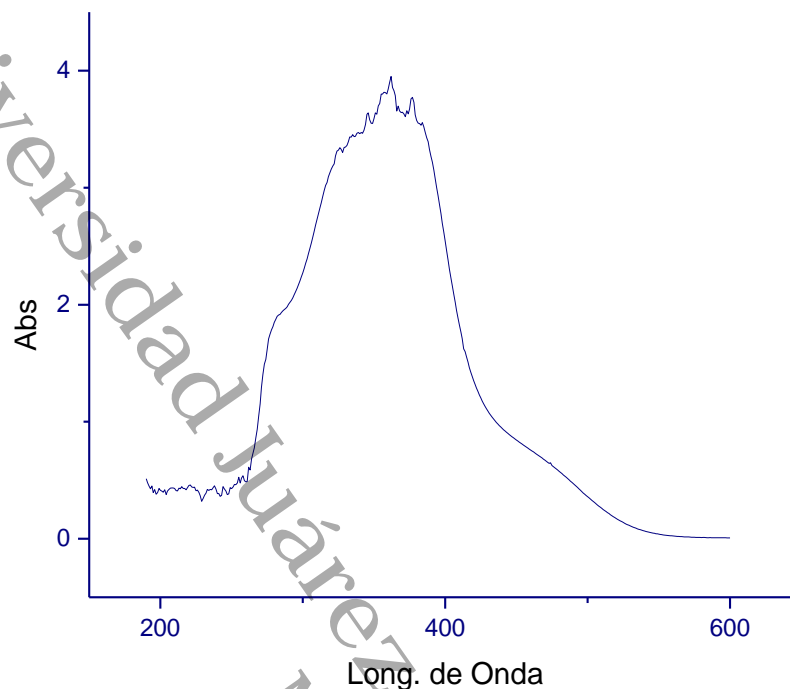
Compuesto 6

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3)RMN DEPTQ (151 MHz, CDCl_3)

Compuesto 7

RMN ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)RMN DEPTQ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

UV - Vis (DMSO)



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Moisés Humberto Alejandro Broca.pdf

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:579944014

Fecha de entrega

17 abr 2026, 3:56 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

17 abr 2026, 4:42 p.m. GMT-6

Nombre del archivo

Moisés Humberto Alejandro Broca.pdf

Tamaño del archivo

3.3 MB

95 páginas

15.519 palabras

107.069 caracteres




7% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe



- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)
- ▶ Abstract

Fuentes principales

- 7%  Fuentes de Internet
- 4%  Publicaciones
- 1%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad




N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
151 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**
702 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

- 7%  Fuentes de Internet
- 4%  Publicaciones
- 1%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	tesis.ipn.mx	<1%
2	Publicación	Emanuel Paula Magalhães, Naiara Dutra Barroso Gomes, Tiago Araújo de Freitas, ...	<1%
3	Internet	ri.ujat.mx	<1%
4	Internet	pmc.ncbi.nlm.nih.gov	<1%
5	Trabajos entregados	Universidad Juárez Autónoma de Tabasco on 2025-09-11	<1%
6	Internet	www.revistagastroenterologiamexico.org	<1%
7	Publicación	Felipe Silva, Tomás Gatica, Carolina Pavez. "ETIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA DE LA ...	<1%
8	Publicación	Otermin Esteras, Ane. "Nuevas aproximaciones a compuestos policíclicos complej...	<1%
9	Internet	hdl.handle.net	<1%
10	Internet	eprints.brighton.ac.uk	<1%
11	Internet	mcphs.access.preservica.com	<1%

12	Internet	docplayer.es	<1%
13	Internet	revistaenfoques.ciatej.mx	<1%
14	Internet	www.bdttd.ueg.br	<1%
15	Internet	es.scribd.com	<1%
16	Internet	www.dovepress.com	<1%
17	Internet	mafiadoc.com	<1%
18	Publicación	Ankit S. Patel, Poonam D. Patel, Sangita Sharma. "Anticancer Activity, DFT Calcula...	<1%
19	Internet	patents.google.com	<1%
20	Internet	refubium.fu-berlin.de	<1%
21	Internet	tp.amegroups.com	<1%
22	Internet	www.seq.es	<1%
23	Internet	onlinelibrary.wiley.com	<1%
24	Internet	revistas.unal.edu.co	<1%
25	Internet	pt.slideshare.net	<1%

26	Internet	rid.unam.edu.ar	<1%
27	Publicación	El Moussaoui El Masnaoui, Salima. "Design and Characterization of Topical Ketoro...	<1%
28	Internet	chucaleza.wordpress.com	<1%
29	Internet	eprints.uanl.mx	<1%
30	Internet	laboratorium.eus	<1%
31	Internet	smb.org.mx	<1%
32	Internet	www.eurekaselect.com	<1%
33	Internet	espanol.libretexts.org	<1%
34	Internet	ri.ues.edu.sv	<1%
35	Internet	www.wondertxt.com	<1%
36	Internet	archivos.ujat.mx	<1%
37	Internet	de.slideshare.net	<1%
38	Internet	dspace.univ-tiaret.dz	<1%
39	Internet	files01.core.ac.uk	<1%

40	Internet	ia903401.us.archive.org	<1%
41	Internet	patents.glgoo.top	<1%
42	Internet	submission.quimicanova.s bq.org.br	<1%
43	Internet	www.coursehero.com	<1%
44	Internet	www.scielo.cl	<1%