

Heterochalconas de pirazina “sobre-agua”: enfoque bioisostérico y su actividad antimicrobiana *in vitro*

Izaflor Alvarado Méndez^{1*}, Miguel Ángel Vilchis Reyes¹, Jorge Cortez Elizalde¹, Nancy Romero Ceronio¹, Alam Yair Hidalgo de los Santos², Quirino Torres Sauret^{1*}

¹⁾ División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Cunduacán-Jalpa Km. 0,5, Cunduacán 86690, Tabasco, México.

²⁾ Departamento de Ciencias Básicas, Instituto Tecnológico de Comalcalco, Carretera Vecinal, Comalcalco-Paraíso Km 2, R/a Occidente 3ra Sección, Comalcalco 86650, Tabasco, México.

(*) quirino.torres@ujat.mx; izaalme370@gmail.com

Recibido: 29/08/2025

Revisado: 04/11/2025

Aceptado: 19/11/2025

Resumen

Se sintetizaron cinco heterochalconas (**PI-1** a **PI-5**) mediante reacción de Claisen-Schmidt “sobre-agua”, un sistema heterogéneo con sustratos insolubles y base miscible, alcanzando rendimientos de 67 a 79%. La elucidación estructural se realizó por RMN ¹H y ¹³C. La actividad antimicrobiana se evaluó frente a *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Escherichia coli*, observándose inhibición solo en las dos primeras. Los halos de inhibición fueron mayores en *C. albicans* ($12,2 \pm 0,3$ a $23,4 \pm 0,6$ mm) que en *S. aureus* ($10,2 \pm 0,6$ a $16,7 \pm 0,9$ mm). Los bioisósteros clásicos (sustitución de hidrógeno por flúor) aumentaron la eficiencia farmacológica, mientras que los no clásicos (fenil por pirrol) la redujeron.

Palabras claves: Antibacteriano; Antifúngico; Bioisosterismo; Heterochalconas; Sobre-agua.

Abstract

Pirazine's heterochalcones “On water”: bioisosteric approach and their *in vitro* antimicrobial activity. Five heterochalcones (**PI-1** to **PI-5**) were synthesized through the “on-water” Claisen-Schmidt condensation, a heterogeneous system with insoluble substrates and a miscible organic base, achieving a yield of 67 to 79%. Structural elucidation was performed by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. Antimicrobial activity was evaluated against *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, and *Escherichia coli* with inhibition observed only for the first two microorganisms. Inhibition halos were greater against *C. albicans* ($12,2 \pm 0,3$ to $23,4 \pm 0,6$ mm) compared to *S. aureus* ($10,2 \pm 0,6$ to $16,7 \pm 0,9$ mm). Pharmacological efficiency increased with classical bioisosteres (hydrogen to fluorine substitution), whereas non-classical replacements (phenyl to pyrrole) resulted in reduced activity.

Keywords: Antibacterial; Antifungal; Bioisosterism; Heterochalcones; On-water.

Introducción

En las últimas décadas, la síntesis orgánica ha sido objeto de una profunda autor revisión, especialmente en lo que respecta al impacto ambiental de sus metodologías tradicionales que, sue- len implicar el uso intensivo de disolventes orgánicos volátiles, tóxicos o de origen fósil y bases inorgánicas corrosivas, así como la generación de grandes volúmenes de residuos. Estos procesos no solo incrementan los costos operativos debido al tratamiento y disposición de los desechos, sino que también contribuyen significativamente a la huella ambiental de la actividad química¹.

Las condiciones típicas de reacción, donde se utilizan, altas temperaturas, tiempos prolongados, catalizadores costosos, disolventes cancerígenos o tóxicos implican riesgos, tanto para el entorno como para la seguridad del personal en el laboratorio². Como respuesta a todas las problemáticas planteadas anteriormente, se propuso el modelo de la química verde, que emergió

como una estrategia integral orientada a rediseñar los procesos sintéticos mediante la aplicación de doce principios fundamentales. Entre ellos, destacaremos el reemplazo de disolventes tóxicos, minimizar los residuos y el diseño de reacciones en condiciones suaves, preferentemente a temperatura ambiente y presión atmosférica³. Este enfoque ha impulsado el desarrollo de rutas sintéticas más sostenibles, promoviendo la búsqueda activa de alternativas al uso de disolventes orgánicos convencionales y bases inorgánicas, a fin de reducir el impacto ambiental sin comprometer la eficacia ni la viabilidad del proceso⁴.

En los últimos años, se han desarrollado diversos procedimientos de síntesis para la obtención de (*E*)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona (chalcona), los cuales comúnmente requieren el uso de un disolvente orgánico y una base inorgánica, tales como hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de sodio (NaOH) o hidróxido de bario [Ba(OH)₂], bajo condiciones de condensación de Claisen-Schmidt⁵. Las chalconas son ampliamente investiga-

das en el campo de la química medicinal debido a su destacada y diversa actividad farmacológica, especialmente por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias, antitumorales, antiparasitarios, por mencionar algunos^{6,7}. Estas propiedades se atribuyen al sistema α,β -insaturado, cuyo potencial farmacológico pueden modificarse mediante la introducción de distintos sustituyentes en los anillos aromáticos, permitiendo dirigir hacia una actividad farmacológica específica, lo que puede resultar en el descubrimiento de compuestos con un potencial farmacológico que pueda ser usado como tratamiento alterno sustituyendo a los actuales que han presentado ineficiencia o que pueden ocasionar un efecto secundario indeseable⁸.

Diversos estudios han demostrado que las modificaciones estructurales permiten optimizar su perfil farmacológico y ampliar su espectro de acción biológica. Algunos ejemplos con propiedades relevantes se muestran en la figura 1.

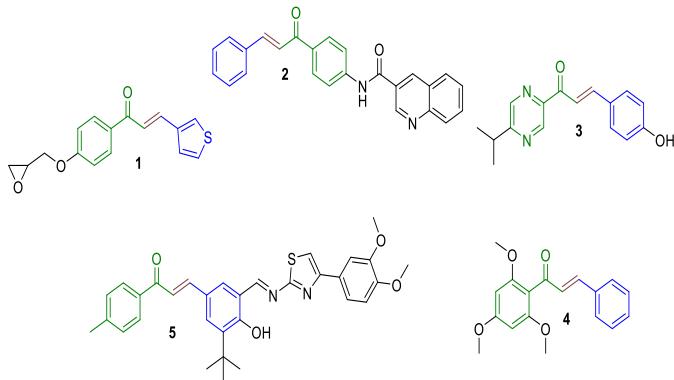


Fig. 1: Compuesto de tipo chalconas con actividades biológicas.

De los compuestos mostrados en la figura, el compuesto **1** mostró actividad citotóxica frente a células MDA-MB-213, con un valor de $IC_{50} = 11,07 \pm 0,04 \mu\text{M}^9$. Por su parte, el compuesto **2** actuó como inhibidor de la acetilcolinesterasa (AChE), con un $IC_{50} = 7,50 \pm 0,011 \mu\text{M}^{10}$, mientras que el compuesto **3** exhibió una inhibición significativa de la aldosa reductasa (ALR2), con un $IC_{50} = 18,59 \pm 1,81 \mu\text{M}^{11}$. En cuanto al compuesto **4**, presentó actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, inhibiendo su crecimiento a una dosis de $5,8 \mu\text{g/mL}^{12}$, y el compuesto **5** inhibió a una dosis de $31,25 \mu\text{g/mL}$. Todos los ensayos fueron realizados mediante estudios *in vitro*¹³.

En conjunto, estas investigaciones destacan la relevancia estructural y farmacológica de las chalconas como andamiajes versátiles en el diseño de nuevos agentes terapéuticos. Su capacidad de interactuar con distintos blancos biológicos refuerza su valor en la química medicinal. No obstante, la optimización de las condiciones de síntesis sigue siendo un desafío fundamental para mejorar los rendimientos y favorecer su aplicación a nivel experimental y farmacológico.

En este contexto, en 2005, Chlupacova *et al.*¹⁴ reportaron la síntesis de derivados nitrados de chalconas con anillos de pirazina (pirachalcona) utilizando piridina como solvente y dietilamina como base orgánica, a temperaturas entre 80 y 120 °C, obte-

niendo rendimientos inferiores al 43%. Años más tarde, en 2016¹⁵ y 2018, Opletalová *et al.*¹⁶, prepararon seis análogos adicionales a partir de 2-acetilpirazina y diferentes benzaldehídos, empleando las mismas condiciones descritas previamente, sin lograr superar el 50% de rendimiento (véase en la figura 2).

Según los criterios establecidos por las farmacéuticas Pfizer y GlaxoSmithKline (GSK), la piridina se clasifica como solvente indeseable debido a sus efectos adversos sobre la salud humana y el medio ambiente, lo cual limita significativamente su aplicación en procesos químicos sostenibles¹⁷. En contraste, la dietilamina ha sido evaluada como una base orgánica aceptable bajo los parámetros de química limpia (Clean Chemistry, por su nombre en inglés) y por valoraciones ambientales, de acuerdo con el enfoque propuesto por Henderson en el 2015¹⁸.

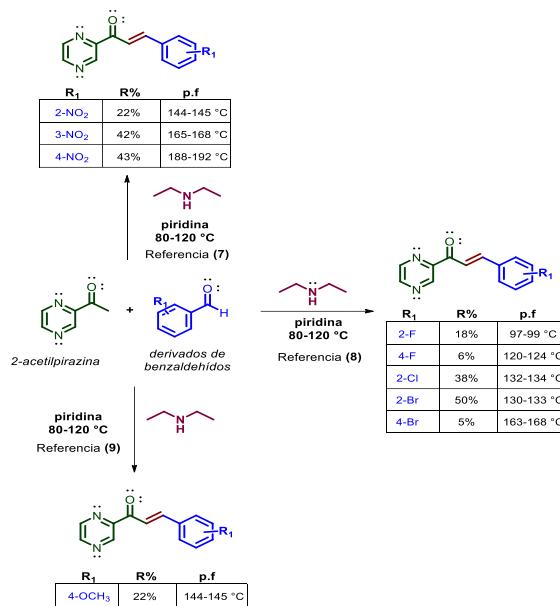


Fig. 2: Ruta sintética para la obtención de análogos de chalcona a partir de 2-acetilpirazina.

En este trabajo se plantea como objetivo, proponer y evaluar una ruta sintética sostenible para la obtención de una serie de derivados de chalcona:

(*E*)-3-fenil-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (**PI-1**),
 (*E*)-3-(2-fluorofenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (**PI-2**),
 (*E*)-3-(4-fluorofenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (**PI-3**),
 (*E*)-3-(4-metoxifenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (**PI-4**) y
 (*E*)-1-(2-pirazinil)-3-(1H-pirrol-2-il)-prop-2-en-1-ona (**PI-5**), mediante un procedimiento que cumpla con los principios de química verde. Asimismo, se busca evaluar la relación estructura-actividad (**SAR**) de los compuestos obtenidos, a través de la determinación de los halos de inhibición (expresados en milímetros) frente a *Candida albicans* (*C. albicans*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, gram positiva) y *Escherichia coli* (*E. coli*, gram negativa), utilizando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer, con el propósito de establecer correlaciones entre las modificaciones estructurales y los efectos inhibitorios observados¹⁹.

Metodología experimental

Síntesis de (*E*)-3-fenil-1-(pirazinil)-prop-2-en-1-ona **PI-1** y derivados

Los reactivos 2-acetilpirazina, benzaldehído, 2-fluorobenzaldehído, 4-fluorobenzaldehído, 4-metoxibenzal-dehído, pirrol-2-carboxaldehído y trietilamina, fueron obtenidos comercialmente de Sigma-Aldrich (Toluca, México).

El seguimiento de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina (CCF) sobre cromatofolios Merck de gel de sílice 60 (254 nm y espesor de 0,2 mm), visualizando la placa mediante la desactivación de la fluorescencia bajo luz ultravioleta y como agente revelador se utilizó permanganato de potasio (KMnO_4). La cromatografía en columna se realizó con gel de sílice 60 de alto grado de pureza (malla 70-230). Los compuestos fueron secados en una estufa marca RIOSSA (Ecatepec, Estado de México). Los puntos de fusión fueron determinados mediante un equipo Fisher-Jhons (Scorpion Scientific, Massachusetts, Estados Unidos) y no están corregidos.

Los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C , se registraron a 25 °C en un espectrómetro Bruker AscendTM 600 (Massachusetts, Estados Unidos) a 600 MHz para RMN ^1H y 150 MHz para carbono-13. Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en partes por millón (ppm) en relación con el tetrametil-silano (TMS) utilizando como estándar interno (0,00 ppm), los valores de constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz. Las multiplicidades de las señales se describen como *s* (singu-lete), *d* (doblete), *dd* (doblete de dobletes), *dt* (doblete de tripletes), *t* (triplete), *q* (cuarteto) o *m* (multiplete)²⁰.

En un matraz redondo de 5 mL se colocó 2-acetilpirazina (0,5 mmol) y el correspondiente benzaldehído (0,5 mmol) en 3 mL de agua destilada. Esta mezcla se agitó por cinco minutos y, posteriormente, se adicionó trietilamina (0,55 mmol) por goteo. Al finalizar la adición, la mezcla se mantuvo en agitación vigorosa por 20 h. El consumo de la materia se comprobó por CCF utilizando 20% de acetato de etilo en hexano como fase móvil. El compuesto se purificó mediante cromatografía en columna (10% acetato de etilo en hexano)²¹ (Fig. 3).

Cálculo computacional de energía relativa de los compuestos **PI-1** a **PI-5**

El análisis conformacional y el cálculo de energía relativa entre los isómeros geométricos *E* y *Z* se realizaron empleando el software Chem3D (PerkinElmer, versión 20,0,0,41).

Las estructuras moleculares correspondiente a cada isómero fueron construidas en el entorno gráfico del programa, asegurando la correcta asignación de la estereoquímica (*E* o *Z*) en el doble enlace. Posteriormente, se efectuó una minimización de energía molecular utilizando el campo de fuerza MM2 (Molecular Mechanics 2), incorporado en el software, hasta alcanzar el criterio de convergencia por defecto (rms gradient <0,01 kcal/mol.Å).

Una vez obtenidas las geometrías optimizadas, se registraron

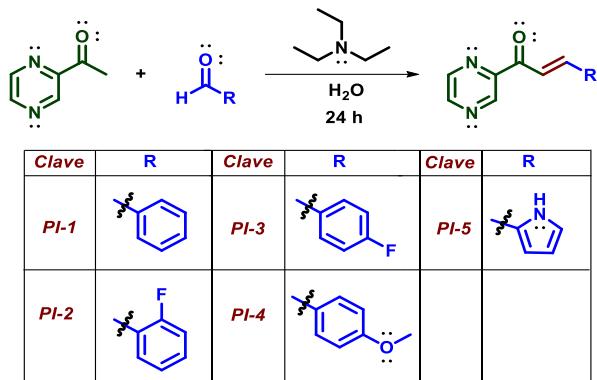


Fig. 3: Procedimiento general para la obtención de **PI-1** a **PI-5**.

las energías potenciales totales de cada conformación. La diferencia entre estos valores permitió determinar las energías relativas de estabilidad entre los isómeros *E* y *Z*, expresadas en kcal/mol.

Este procedimiento, de carácter semi empírico y basado en mecánica molecular, permite una estimación comparativa de la estabilidad termodinámica entre estereoisómeros, aportando información complementaria a los estudios espectroscópicos y experimentales²².

Cálculo computacional de lipofilicidad (ClogP) de los compuestos **PI-1** a **PI-5**

El cálculo de los valores de lipofilicidad expresados como ClogP se realizó mediante el software ChemDraw (Perkin-Elmer, versión 20,0,0,41). Cada compuesto se representa digitalmente utilizando las herramientas de edición molecular asegurando la correcta orientación estereoquímica correspondiente. Para asegurar la correcta orientación, se aplicaron las funciones de “Check Structure” y “Clean Up Structure” para corregir posibles errores, garantizando una representación adecuada de los compuestos. Después de asegurar la orientación estructural, se accedió a la opción “show chemical properties window” del menú “view”.

Dentro de las propiedades, seleccionar el valor de lipofilicidad (ClogP), estimado a partir de un algoritmo fragmental integrado en el software.

Método cualitativo de la susceptibilidad bacteriana y fúngica de los compuestos **PI-1** a **PI-5**

Como primer paso en el análisis microbiológico, se llevó a cabo un ensayo *in vitro* mediante el método de Kirby Bauer o difusión en disco, el cual es de carácter cualitativo y permite determinar la susceptibilidad de *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans* frente a los compuestos **PI-1** a **PI-5**²³.

Los compuestos evaluados presentaron solubilidad en dicloro-metano (DCM), acetato de etilo (AcOEt) y dimetilsulfóxido (DMSO). Considerando estudios previos sobre la actividad antimicrobiana de moléculas con características similares, se seleccionó el DMSO como vehículo para los compuestos **PI-1** a **PI-5**, debido a que este solvente no interfiere ni inhibe el crecimiento microbiano en los ensayos en placa²⁴.

Los microorganismos utilizados fueron aislados de muestras clínicas, siguiendo las recomendaciones e indicaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) para la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

Los fármacos utilizados como controles positivos fueron adquiridos bajo prescripción médica en su presentación comercial en cápsulas, lo que permitió preparar las diluciones ($\mu\text{g}/\text{sensidiscos}$) correspondientes de acuerdo con las recomendaciones establecidas por CLSI para la interpretación de la sensibilidad antimicrobiana²⁵.

Bajo condiciones asépticas, se prepararon los inóculos de las cepas analizadas (*S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*), de acuerdo con las indicaciones del CLSI²⁶. El inóculo se preparó en 5 mL de solución salina (0,9%) y la turbidez se cuantificó según la escala de McFarland en un espectrofotómetro Genesys™ 10S Uv-vis (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos) a 625 nm. Para realizar la curva de McFarland y medir la concentración de los inóculos preparados para los ensayos, se tuvieron que preparar una serie de disoluciones de cloruro de bario 0,48 M (1% p/v) y ácido sulfúrico 0,18 M (1% v/v) generando una curva de calibración ($R^2 = 0,996$), sobre la cual se interpoló la absorbancia de la suspensión microbiana, procurando una densidad óptica equivalente al estándar de McFarland 0,5. Concentración final de $1,5\text{-}2 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$ por inóculo (tabla 1).

Tabla 1. Absorbancia obtenida de los estándares de McFarland.

BaCl 0,48 M (mL)	H ₂ SO ₄ 0,18 M (mL)	Escala McFarland	UCF/mL (x10 ⁸)	Absorbancia
0,025	4,975	0,5	1,5	0,146
0,5	4,95	1,0	3,0	0,312
0,1	4,9	2,0	6,0	0,502
0,15	4,85	3,0	9,0	0,627
0,2	4,8	4,0	12,0	0,814
0,25	4,75	5,0	15,0	0,961
0,3	4,7	6,0	18,0	1,124
0,35	4,65	7,0	21,0	1,282
0,4	4,6	8,0	24,0	1,420
0,45	4,55	9,0	27,0	1,570
Inóculo bacteria (<i>S. aureus</i>)			0,218	
Inóculo bacteria (<i>E. coli</i>)			0,359	
Inóculo hongo (<i>C. albicans</i>)			0,38	

Evaluación de la actividad antibacteriana

Se utilizó agar Mueller-Hinton BD Bioxon deshidratado como medio de cultivo para los antibiogramas de bacterias preparado de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

La cepa bacteriana de *S. aureus* y *E. coli* fueron tomadas con un asa bacteriológica y suspendidas en 4 mL de solución salina al 0,9%, ajustando la densidad a una concentración final de $1,5\text{-}3 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$.

Los ensayos se realizaron siguiendo el método de difusión en disco. Como controles positivos se emplearon amoxicilina para

S. aureus (gram positiva), mientras que para *E. coli* (gram -negativa) se utilizó amikacina. El agua destilada (H₂O) se utilizó como vehículo para los fármacos de referencia, mientras que el dimetilsulfóxido (DMSO) se empleó como solvente para las diluciones de los compuestos **PI-1** a **PI-5** a 25, 50, 100, 200 y 400 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$ ²⁷.

Evaluación de la actividad antifúngica

Se utilizó agar Mueller-Hinton BD Bioxon suplementado con 2% p/v de glucosa (Meyer) y 0,01% v/v de azul de metileno (5 mg/mL, Meyer) como medio de cultivo para los antibiogramas de hongos²⁸.

Bajo condiciones de esterilidad, la cepa de *C. albicans* fue activada en agar dextrosa y papa DIBICO®, mediante siembra por estría simple. Posteriormente, un raspado de la cepa activada se tomó con un asa bacteriológica, y suspendida en 4 mL de solución salina al 0,9%, ajustando la concentración final a $3 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$. Los ensayos se llevaron a cabo siguiendo el método de difusión en disco. Como control positivo se empleó fluconazol (25 μg), mientras que los compuestos **PI-1** a **PI-5** fueron preparados como se describe anteriormente.

En cada placa, previamente sembrada por el método de triple estría con el inóculo de la cepa estudiada, se colocaron ocho sensidiscos de 6 mm de diámetro. Cada sensidisco fue impregnado con 10 μL de agua destilada (control negativo), DMSO (control negativo), solución del fármaco (control positivo) y las diferentes disoluciones de **PI-1** a **PI-5**. Posteriormente, los sensidiscos se distribuyeron uniformemente sobre la superficie de la placa. Todos los ensayos se realizaron por triplicado (véase figura 4)²⁹.

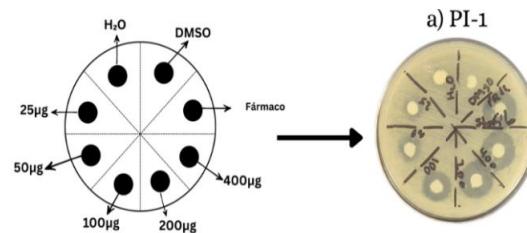


Fig. 4: Esquema general de la distribución de los sensidiscos.

Todas las placas fueron incubadas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 48 h para *C. albicans* y 24 h para las bacterias (*S. aureus* y *E. coli*), en una estufa de cultivo RIOS ROCHA® S.A (RiosSA). Los resultados de los antibiogramas fueron registrados como inhibición del crecimiento (mm), utilizando un calibrador Haimo D150, Vernier digital (Texas, USA)³⁰.

Resultados y discusión

Síntesis y caracterización estructural

Durante el desarrollo del presente proyecto, se estableció un protocolo sintético para la obtención de heterochalcona derivadas de 2-acetilpirazina, incorporando principios de la química verde. Entre estos principios destacan la reducción en la generación de residuos, así como la reutilización tanto del medio de dispersión como de la base empleada. Se considera este pro-

ceso, un sistema heterogéneo en los cuales los sustratos son insolubles en el medio de dispersión (agua destilada), mientras que, la base (etriamina) es soluble, formando una interfase entre los sustratos-agua. De este modo, se cumple con el principio “Green Chemistry”, al aplicar una perspectiva económica y ecológica. Así mismo, los compuestos fueron diseñados mediante el enfoque bioisostérico³¹.

El monitoreo de la reacción reveló un consumo completo de los sustratos a las 20 h. No obstante, el análisis por cromatografía en capa fina indicó la presencia de dos compuestos. El primero, de mayor polaridad, mostró un factor de retención (*R_f*) de 0,1 utilizando un sistema de elución de acetato de etilo al 10% en hexano. El segundo compuesto se detectó con un *R_f* de 0,7.

Posteriormente, se realizó una separación mediante cromatografía en columna, seguida de un análisis espectroscópico. Los resultados permitieron confirmar que el compuesto con *R_f* = 0,7 correspondía a la heterochalcona **PI-1**. La constante de acoplamiento obtenida en el espectro de RMN ¹H de dos hidrógenos con una multiplicidad doble, mostró un valor de 16,0 Hz, lo que sugiere la formación de un sistema α,β -insaturado con configuración geométrica trans del doble enlace.

Esta configuración se da al final del mecanismo de la condensación Claisen-Schmidt, por un mecanismo de eliminación unimolecular de base conjugada (E1cB), como parte de la formación de la respectiva heterochalcona. Esto sugiere que se forma un carbanión intermedio con hibridación sp^2 facilitando la formación del doble enlace a través de la interacción del par de electrones con el orbital de antienlace del grupo saliente (-OH).

Esto se sustenta con los datos obtenidos del análisis de la minimización de energía molecular (expresadas en kcal/mol) entre los isómeros geométricos *E* y *Z* realizados mediante el software Chem3D (PerkinElmer, versión 20.0,0,41). Dicho análisis demostró que el isómero *E* es más estable, lo cual indica que las condiciones experimentales favorecen la formación de un compuesto cinético (**PI-1**) (Fig. 5).

Los espectros de RMN ¹H y ¹³C fueron fundamentales para la elucidación estructural de los compuestos obtenidos. Se analizaron los desplazamientos químicos, las integraciones, las multiplicidades y las constantes de acoplamiento de las señales observada.

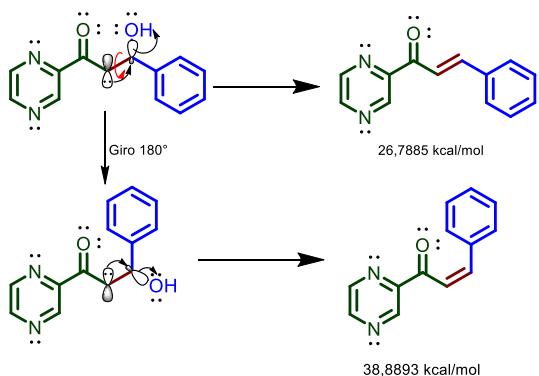
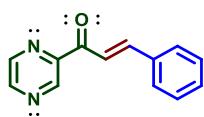
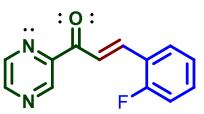


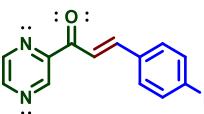
Fig. 5: E1cB para la formación de α,β -insaturado.



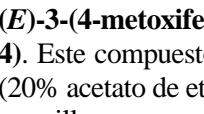
(E)-3-fenil-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (PI-1). Este compuesto se purificó por cromatografía en columna (20% acetato de etilo en hexano) para obtener un sólido verde-amarillo con un rendimiento del 75%, p.f. 106-108°C. **RMN ¹H** ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 9,38 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz); 8,77 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz); 8,70 (dd, 1H, *J* = 2,4; 1,5 Hz), 8,18 (d, 1H, *J* = 16,0 Hz); 7,99 (d, 1H, *J* = 16,0 Hz); 7,80 – 7,67 (m, 2H); 7,46 – 7,38 (m, 3H); **RMN ¹³C** ($CDCl_3$, 150 MHz): δ 188,6; 148,5; 147,5; 145,8; 144,9; 143,4; 134,8; 131,0; 128,99; 128,97; 120,1.



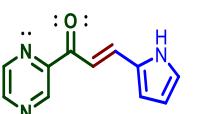
(E)-3-(2-fluorofenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (PI-2). Este compuesto se purificó por cromatografía en columna (20% acetato de etilo en hexano) para obtener un sólido verde-amarillo con un rendimiento del 72%, p.f. 108-110°C. **RMN ¹H** ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 9,37 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz); 8,77 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz); 8,70 (dd, 1H, *J* = 2,4; 1,5 Hz); 8,24 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz); 8,12 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz); 7,76 (td, 1H, *J* = 7,6; 1,8 Hz); 7,41 (dd, 1H, *J* = 8,3; 7,1; 5,2; 1,8 Hz); 7,21 (td, 1H, *J* = 7,7; 1,2 Hz); 7,14 (dd, 1H, *J* = 8,3; 1,2 Hz). **RMN ¹³C** ($CDCl_3$, 151 MHz): δ 189,1; 162,5 (d, *J* = 255,2 Hz); 148,9; 148,0; 145,4; 143,9; 138,6 (d, *J* = 3,2 Hz); 132,9 (d, *J* = 9,1 Hz); 130,0 (d, *J* = 3,0 Hz); 125,0 (d, *J* = 4,0 Hz); 123,5 (d, *J* = 11,8 Hz); 123,0 (d, *J* = 6,4 Hz); 116,8 (d, *J* = 22,1 Hz).



(E)-3-(4-fluorofenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (PI-3). Este compuesto se purificó por cromatografía en columna (20% acetato de etilo en hexano) para obtener un sólido verde-amarillo con un rendimiento del 76%, p.f. 118-120°C. **RMN ¹H** ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 9,37 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz); 8,77 (d, 1H, *J* = 2,4 Hz); 8,68 (dd, 1H, *J* = 2,4; 1,5 Hz); 8,10 (d, 1H, *J* = 16,0 Hz); 7,94 (d, 1H, *J* = 16,0 Hz); 7,71 (dd, 2H, *J* = 8,6; 5,5 Hz); 7,12 (t, 2H, *J* = 8,6 Hz). **RMN ¹³C** ($CDCl_3$, 151 MHz): δ 188,5; 164,4 (d, *J* = 252,7 Hz); 148,5; 147,5; 144,9; 144,4; 143,4; 131,1 (d, *J* = 3,5 Hz); 130,9 (d, *J* = 8,5 Hz); 119,9 (d, *J* = 2,3 Hz); 116,2 (d, *J* = 21,8 Hz).



(E)-3-(4-metoxifenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (PI-4). Este compuesto se purificó por cromatografía en columna (20% acetato de etilo en hexano) para obtener un sólido verde-amarillo con un rendimiento del 79%, p.f. 101-103°C. **RMN ¹H** ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 9,36 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz); 8,75 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz); 8,68 (dd, 1H, *J* = 2,5; 1,5 Hz); 8,05 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz); 7,95 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz); 7,68 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz); 6,94 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz); 3,86 (s, 3H). **RMN ¹³C** ($CDCl_3$, 151 MHz): δ 189,0; 162,6; 149,3; 147,7; 146,2; 145,3; 143,8; 131,3; 128,1; 118,3; 115,0; 56,0.



(E)-1-(2-pirazinil)-3-(1H-pirrol-2-il)-prop-2-en-1-ona (PI-5). Este compuesto se purificó por cromatografía en columna (20% acetato de etilo en hexano) para obtener un sólido verde-amarillo con un rendimiento del 75%, p.f. 118-120°C. **RMN ¹H** ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 9,37 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz); 8,77 (d, 1H, *J* = 2,4 Hz); 8,68 (dd, 1H, *J* = 2,4; 1,5 Hz); 8,05 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz); 7,95 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz); 7,68 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz); 6,94 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz); 3,86 (s, 3H). **RMN ¹³C** ($CDCl_3$, 151 MHz): δ 189,0; 162,6; 149,3; 147,7; 146,2; 145,3; 143,8; 131,3; 128,1; 118,3; 115,0; 56,0.

miento del 67%. La siguiente información, se obtuvo de la simulación realizada en el software MestReNova Research, versión 14.2.0-26256. **RMN ^1H** (500 MHz, CDCl_3) δ 10,0 (d, J = 6,8 Hz, 1H); 9,5 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 8,5 (dd, J = 3,5; 1,3 Hz, 1H); 8,1 (d, J = 15,9 Hz, 1H); 7,6 – 7,5 (m, 1H); 6,9 (ddd, J = 6,8; 3,3; 1,7 Hz, 1H); 6,9 – 6,8 (m, 1H); 6,3 (dd, J = 6,6; 3,1 Hz, 1H).

Cabe destacar que todos los compuestos aislados presentan un fragmento estructural común correspondiente al anillo heterocíclico de pirazina, lo que confiere similitud en la intensidad, integridad y multiplicidad de las señales en los espectros analizados.

Se plantea que el mecanismo de reacción inicia en la interfase sustrato-agua, donde la trietilamina actúa como base extrayendo un hidrógeno en posición α al carbonilo de la 2-acetilpirazina, generando así el anión enolato (**I**). Este intermedio se encuentra estabilizado por interacciones de puentes de hidrógeno por las moléculas de agua.

A continuación, el enolato (**I**) realiza un ataque nucleofílico al carbonilo del benzaldehído, originando un intermediario de tipo alcóxido (**II**). Este también es estabilizado mediante puentes de hidrógeno con el medio acuoso. Posteriormente, la trietilamina protonada (Et_3NH^+), transfiere un hidrógeno al oxígeno del alcóxido, formando así el producto de adición aldólica (**III**).

Finalmente, se lleva a cabo una eliminación de tipo E1cB (**IV**), donde un hidrógeno en C- α es abstraído por la base orgánica, lo que conduce a la eliminación (**V**) del grupo hidroxilo (-OH) y la formación del sistema α,β -insaturado característico de las heterochalconas (compuestos **PI-1** a **PI-5**). Como resultado de esta transformación, la molécula adquiere un carácter hidrofóbico, provocando su precipitación desde la fase líquida.

En el 2019, Kobayashi *et al.*³², propusieron criterios para clasificar reacciones en las que el agua participa como medio de dispersión, considerando la compleja dinámica de las interfaces involucradas. Durante el transcurso de la reacción se pueden distinguir una fase acuosa, una fase orgánica y una sólida. Al completarse la síntesis, sólo permanecen visibles la fase acuosa y la fase sólida correspondiente al producto precipitado (Fig. 6).

Fig. 6: Propuesta de mecanismo de reacción para la obtención de **PI-1**⁴.

A partir de esta observación, los autores definen tres tipos y siete subtipos de reacciones en agua, tomando en cuenta parámetros como la solubilidad de los sustratos y del catalizador, la adición o no de surfactantes y, en consecuencia, la interfase en la que la reacción se lleva a cabo. Así, las reacciones tipo uno corresponde a sistemas donde todos los sustratos son solubles en agua; las de tipo dos a aquellas en las que alguno de los sustratos forma micelas o se adicionan surfactantes; mientras que las de tipo tres se asocian a suspensiones acuosas de los sustratos.

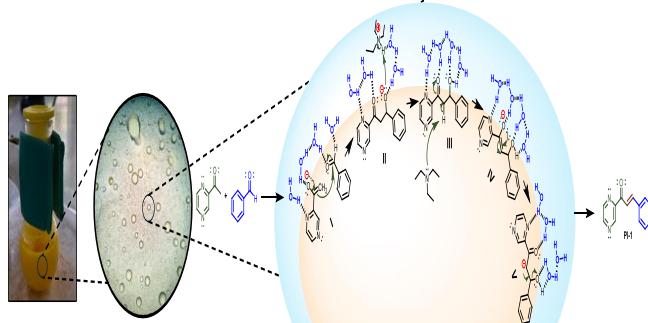
Los resultados observados en este proyecto, nos indica que la reacción presentada puede clasificarse como una reacción tipo 3a, también denominada “sobre-agua”. Este subtipo describe sistemas heterogéneos en los cuales los sustratos son insolubles en agua, pero la base orgánica es miscible con el medio, lo que favorece la formación de una interfase reactiva entre el sustrato, el agua y la base. Dicho comportamiento respalda la hipótesis de que la eficiencia de la reacción no depende únicamente de la solubilidad de los componentes, sino también de la contribución catalítica de la interfase, en concordancia con lo señalado por Kobayashi.

Actividad antimicrobiana

Los microorganismos empleados en este estudio fueron aislados a partir de muestras clínicas. En la tabla 2, se presenta la descripción correspondiente de cada uno de ellos.

La cepa de *S. aureus* se obtuvo de un aislamiento clínico proveniente de una herida en el antebrazo con signos de infección. En la tinción de Gram se observaron cocos violetas dispuestos en racimos, morfología característica del género *Staphylococcus*. Este resultado se explica por la estructura de su pared celular, rica en peptidoglucano, que retiene el cristal violeta y le confiere la coloración típica de las bacterias gram positivas. Para su identificación se emplearon los medios Vogel Jonhson y *Staphylococcus* N°110. En el medio Vogel Johnson, *S. aureus* fermentó el manitol, generando una coloración amarilla, mientras que en *Staphylococcus* N°110 se observó un crecimiento abundante, confirmando su capacidad de desarrollarse en medios selectivos para este género. La prueba de catalasa resultó positiva, evidenciada por la liberación inmediata de burbujas tras el contacto con peróxido de hidrógeno, lo que confirma la presencia de la enzima catalasa. La prueba de KOH fue negativa (sin formación de hilos viscosos), consistente con su naturaleza gram positiva, y que el hidróxido de potasio no lisa la pared celular gruesa de *S. aureus*³³.

En el caso de *E. coli*, su aislamiento proviene de una muestra de orina asociada a una infección urinaria. En la tinción Gram observaron bacilos rosados, indicativos de bacterias gram negativas, cuya pared delgada de peptidoglucano se encuentra entre una membrana lipídica interna y una externa, permitiendo la pérdida del cristal violeta y la retención del colorante de contraste (safranina). Como medios de identificación se utilizaron



MacConkey y Eosina Azul de Metileno (EMB). En MacConkey, *E. coli* formó colonias de color rosado intenso, demostrando su naturaleza gram negativa.

Tabla 2. Descripción microbiológica de las cepas problema.

Microorganismo	Tinción Gram	Prueba catalasa	Prueba KOH (4%)	Medios de cultivos selectivos*	Muestra clínica
<i>S. aureus</i>	+	+	-	Vogel Johnson	Se recibió una muestra clínica proveniente de un paciente masculino de 34 años con herida en antebrazo derecho, con signos locales de infección.
<i>E. coli</i>	+	+	+	MacConkey EMB	Se recibió una muestra de orina de chorro medio de una paciente femenina de 28 años, sexualmente activa, con problemas urinarios.
<i>C. albicans</i>	+	No aplica	No aplica	PDA EMB	Muestra ungueal proveniente de paciente femenina adulta mayor con diagnóstico clínico de onicomicosis en el dedo pulgar de la mano

* Izquierda, control negativo; derecha, crecimiento bacteriano.

trando su capacidad para fermentar lactosa y producir ácido, lo que provoca el cambio de color del indicador de pH. En el medio EMB, las colonias presentaron un brillo metálico verde, resultado de la fuerte acidificación del medio por fermentación de lactosa, patrón característico de esta especie. Las pruebas bioquímicas complementarias mostraron resultados concordantes: la prueba de catalasa fue positiva, mientras que en la prueba de KOH se formó un hilo viscoso al levantar el asa bacteriológica, confirmando su naturaleza gram negativa, consecuencia de la lisis celular²⁹.

Por último, *C. albicans*, se obtuvo del aislamiento de una muestra ungueal con diagnóstico clínico de onicomicosis. En la observación microscópica, las levaduras se tiñeron de color violeta en la tinción de Gram y de azul con azul de lactofenol o azul de metileno, debido a la estructura de su pared compuesta por quitina y glucanos, que facilita la retención de los colorantes.

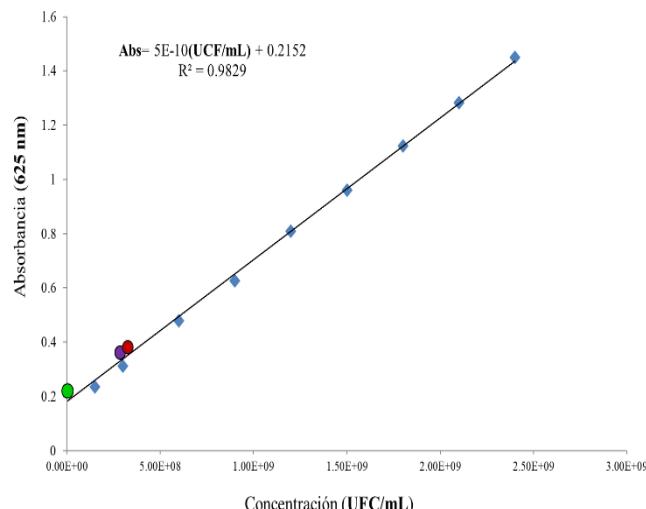
El aislamiento se realizó en agar Papa Dextrosa (PDA), permitiendo el crecimiento de colonias con un aspecto cremosas, lisas y color blanco, morfología típica de *C. albicans*. En el medio EMB se observaron colonias de color rosado pálido, concordantes con lo descrito en la ficha técnica del medio para esta levadura. Las pruebas de catalasa y KOH no fueron aplicadas, dado que se utilizan principalmente para la diferenciación bacteriana y no para hongos levaduriformes³⁴.

Una vez aisladas e identificadas, las cepas fueron reactivadas mediante siembre por estría triple y empleadas en la preparación de los inóculos experimentales. A las suspensiones resultantes se les determinó la absorbancia, interpolando los valores

obtenidos en la curva patrón de McFarland para estimar la concentración aproximada de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) (véase Gráfica 1).

El punto circular de color verde representa el valor promedio de las dosis y absorbancias correspondientes a *S. aureus*; el punto morado corresponde a *E. coli*; y el círculo rojo indica la concentración de *C. albicans*, obtenidas a partir del cálculo mediante la ecuación de la recta.

El análisis de la actividad antimicrobiana de los compuestos PI-1 a PI-5 reveló bio-selectividad. A continuación, se describen los resultados obtenidos de la actividad antibacteriana y antifúngica, por separados.



Gráfica 1. Curva de McFarland.

Actividad antibacteriana

Como se puede observar en la figura 7, el efecto inhibitorio frente a *E. coli* de los compuestos **PI-1** a **PI-5**, fueron escasos, probablemente debido a las particularidades de la membrana celular, siendo una bacteria gram negativa. De acuerdo con Thomas *et al.*³⁵, las bacterias gram negativas presentan membrana citoplasmática interna (bicapa fosfolipídica), una capa delgada de peptidoglucano y membrana externa. La membrana externa está compuesta por fosfolípidos, lo que actúa como una barrera impermeable para las moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas. Esto podría relacionarse con la falta de actividad observada en el efecto inhibitorio de los compuestos frente a la cepa.

Como comparación, se empleó amikacina como referencia, dado que este antibiótico actúa inhibiendo el crecimiento de bacterias gram negativas, como *Escherichia coli*.

En la Gráfica 2, se observa que la amikacina presentó una excelente actividad antibacteriana, la dosis de 25 µg, generó un halo de inhibición a 20 mm, incrementándose progresivamente hasta alcanzar un halo de 30 mm a una dosis de 400 µg. Esto indica que la amoxicilina inhibe escasamente el crecimiento de

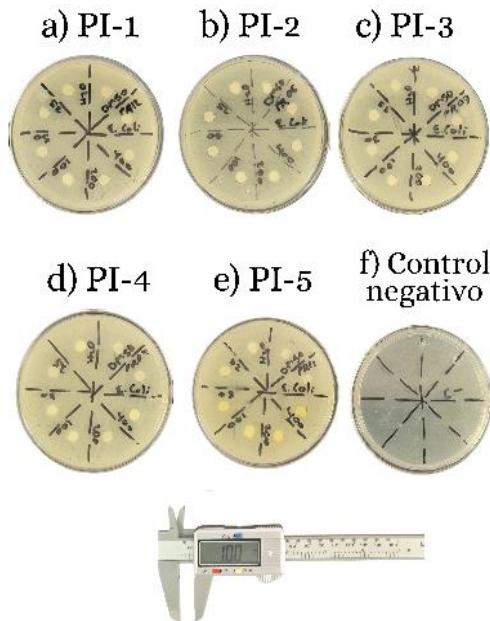
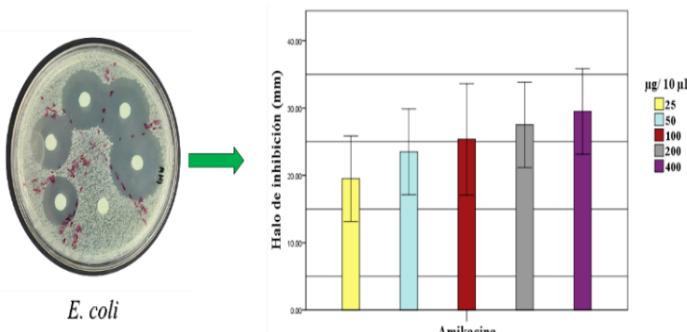
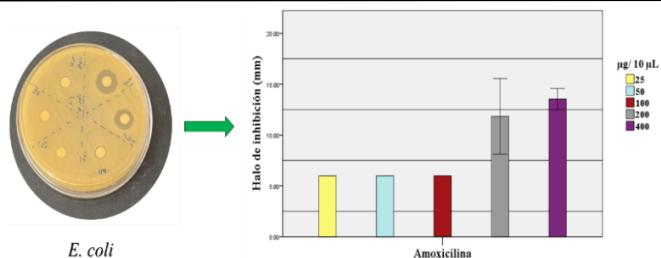


Fig. 7. (a-e) Efecto antibacteriano de los compuestos **PI-1** a **PI-5** frente a *E. coli*, f) placa sin crecimiento.



Gráfica 2: Halos de inhibición de la Amikacina frente a *E. coli*. Cada barra representa el promedio ± la desviación estándar ($n=3$).



Gráfica 3: Halos de inhibición de la Amoxicilina frente a *E. coli*. Cada barra representa el promedio ± la desviación estándar ($n=3$).

E. coli, mientras que la amikacina sí es capaz de inhibir ampliamente su crecimiento.

En contraste, al evaluar la amoxicilina, antibiótico de referencia frente a bacterias gram positivas, se observó una baja efectividad contra *E. coli*. A dosis de 25-100 100 µg/sensidisco, el halo de inhibición no superó el diámetro del sensidisco (6 mm), indicando ausencia de actividad inhibitoria. Solo a dosis elevadas (200 y 400 µg) se registró inhibición moderada, con halos de entre 12 y 14 mm (Gráfica 3).

Por otro lado, los compuestos **PI-1** – **PI-4** mostraron capacidad inhibitoria frente a *S. aureus*, bacteria gram positiva que carece de membrana externa. Esta característica facilita el acceso de los compuestos lipofílicos a través de la pared celular rica en peptidoglucano, lo que podría explicar la actividad observada (véase figura 8).

El efecto antibacteriano que tiene los compuestos de tipo chalcona sobre algunas bacterias, se debe a la alteración de la integridad de la membrana plasmática³⁶. En el 2019, Dieter *et al.*³⁷, estudiaron el efecto antibacteriano de la chalcona xantoangelol (figura 9) frente a *S. aureus* (gram positiva), observando una interacción específica en la membrana plasmática, inhibiendo el crecimiento bacteriano, interacción que no ocurre con las bacterias gram negativas. Esta información coincide con nuestros resultados. Los compuestos **PI-1** a **PI-4**, presentaron inhibición contra *S. aureus*.

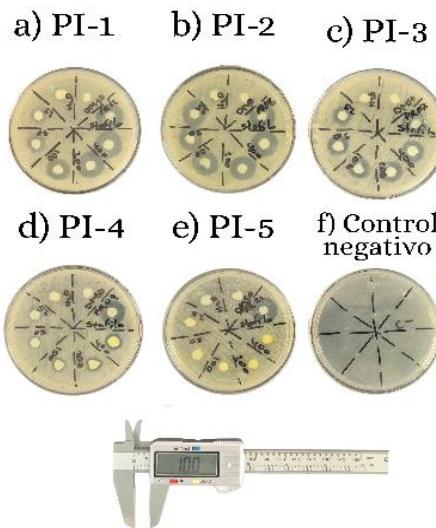


Fig. 8: (a-e) Efecto antibacteriano de los compuestos **PI-1** a **PI-5** frente a *S. aureus*, f) placa sin crecimiento.

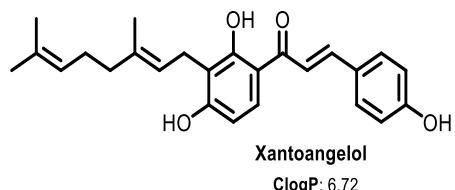


Fig. 9: Composición estructural y su valor de ClogP del xantoangelol.

Estos compuestos son lipofílicos, presentando valores de ClogP mayores a 1,90; a diferencia de **PI-5** que presenta un valor de ClogP a 0,60. Esta propiedad parece estar correlacionada con su capacidad inhibitoria, es decir, interactuar con la membrana plasmática e impedir la proliferación bacteriana. Véase en la figura 10.

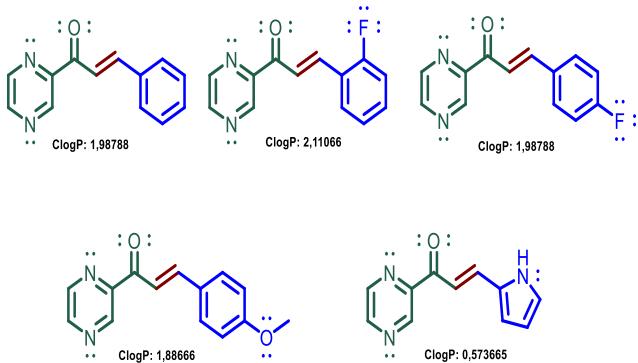


Fig. 10: Valores de ClogP de los compuestos **PI-1** a **PI-5**, calculados por el software ChemDraw Perkin Elmer.

En el 2023, Thebti *et al.*¹⁹ relacionaron el carácter lipofílico con la actividad antimicrobiana, sugiriendo que los compuestos con mayor valor de ClogP suelen ser capaces de atravesar la membrana celular, facilitando así su acción farmacológica.

En este contexto, los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que el compuesto **PI-1** presentó actividad inhibitoria a partir de 25 µg con un halo de $9,8 \pm 0,7$ mm, a esa misma dosis se observó un halo de $10,4 \pm 0,1$ mm para **PI-3**, y $14,5 \pm 2,3$ mm para **PI-2**, mientras que **PI-4** y **PI-5** no mostraron inhibición en el crecimiento.

Al incrementar la dosis a 50 µg, la efectividad aumentó de manera gradual; **PI-4** generó un halo de inhibición de $7,9 \pm 0,5$ mm, **PI-3** uno de $10,8 \pm 0,6$ mm, **PI-1** uno de $12,2 \pm 1,6$ mm, **PI-2** uno de $15,8 \pm 1$ mm, y **PI-5** continuó sin causar inhibición del crecimiento bacteriano.

A dosis de 100, 200 y 400 µg, la inhibición del crecimiento prácticamente se mantuvo, siendo el más efectivo **PI-4** seguido de **PI-3**, **PI-2**, **PI-1**. Por último, **PI-5** continuó sin inhibición.

Los mismos fármacos empleados como referencia frente a *E. coli* se utilizaron para la evaluación contra *S. aureus*. La amoxicilina mostró una elevada efectividad, con una clara relación dosis-dependiente. Desde la dosis más baja (25 µg) generó halos de inhibición considerables (aproximadamente 13-14 mm), aumentando progresivamente hasta superar los 20 mm a una dosis de 400 µg. De manera similar, la amikacina presentó una

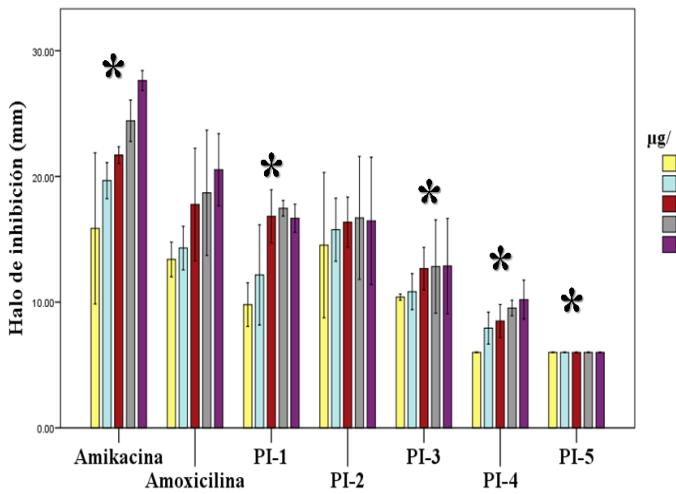
actividad bacteriana favorable, con un comportamiento dosis-dependiente bien definido, iniciando con halos cercanos a 15 mm a 25 µg y alcanzando valores de 27-28 mm en la dosis más alta.

Estos resultados concuerdan con el espectro de acción, ya que *S. aureus* es una bacteria gram positiva cuya pared celular está compuesta principalmente por peptidoglucano y carente de membrana externa, facilitando la difusión de los antibióticos. Esta característica estructural podría explicar la elevada susceptibilidad observada frente a amoxicilina y amikacina, incluso a dosis bajas.

Comparativamente, los compuestos **PI-1** a **PI-4** mostraron una actividad inhibitoria menor que los antibióticos de referencias; sin embargo, su efecto fue selectivo frente a *S. aureus*, lo que sugiere un posible mecanismo de acción asociado a la naturaleza lipofílica y a la presencia del anillo heterocíclico en su estructura. Este comportamiento diferencial evidencia el potencial de las heterochalconas sintetizadas como andamios estructurales prometedores para el diseño de nuevos agentes antimicrobianos con especificidad hacia microorganismos gram positivo (Gráfica 4).

Se realizó un análisis de varianza de dos vías comparando el efecto inhibitorio de los fármacos y los compuestos evaluados a diferentes dosis (25, 50, 100, 200 y 400 µg/10 µL) frente a *S. aureus*, ya que los compuestos **PI-1** a **PI-4**, solo mostraron inhibición frente a esta bacteria.

El análisis mostró diferencias altamente significativas ($*p > 0,05$) tanto entre los compuestos como entre las dosis. Las pruebas post hoc de Tukey evidenciaron diferencias significativas ($*p > 0,05$) en la mayoría de los pares de comparación. Solo la combinación Amoxicilina ($\bar{x} = 16,94$ mm) y **PI-2** ($\bar{x} = 15,96$ mm) no presentaron diferencia ($p = 0,197$), lo que sugiere que ambos tratamientos ejercen un efecto inhibitorio estadísticamente similar sobre *S. aureus*.



Gráfica 4: Halos de inhibición de Amikacina, Amoxicilina y los compuestos **PI-1** a **PI-5** frente a *S. aureus*. Cada barra representa el promedio \pm la desviación estándar ($n=3$). *Diferencia estadísticamente significativa ($*p < 0,05$; ANOVA-Tukey).

La efectividad antimicrobiana sigue el siguiente orden: Amikacina ($\bar{x} = 21,86$ mm) > Amoxicilina ($\bar{x} = 16,94$ mm) > PI-2 ($\bar{x} = 15,96$ mm) > PI-1 ($\bar{x} = 14,72$ mm) > PI-3 ($\bar{x} = 11,92$ mm) > PI-4 ($\bar{x} = 8,43$ mm) > PI-5 ($\bar{x} = 6$ mm), mostrando una disminución progresiva en la efectividad antimicrobiana. La Amikacina fue el fármaco con mayor respuesta ($p < 0,001$), generando halos mayores a la Amoxicilina.

Respecto al factor dosis, la prueba Tukey mostró que el halo de inhibición aumentó de manera significativa conforme se incrementó la dosis del producto, evidenciando una clara dosis ($\mu\text{g}/10\mu\text{L}$)-dependiente (halo de inhibición, mm) ($p < 0,001$).

Actividad antifúngica

Los halos de inhibición en el crecimiento de *C. albicans* pueden ser visualizadas en la figura 11. Los compuestos **PI-1** a **PI-4** demuestran un efecto inhibitorio, sin embargo, el compuesto **PI-5**, resulta incapaz de inhibir el proceso de crecimiento del hongo estudiado.

La cuantificación del efecto antifúngico observada en la gráfica 5, muestran que **PI-1** presentó el mayor efecto inhibitorio frente a *C. albicans*, con halos de inhibición entre $14,6 \pm 0,5$ y $23,4 \pm 0,6$ mm en el rango de dosis de 25 a 400 μg . **PI-2** también es capaz de inhibir el crecimiento en este mismo rango de dosis con halos de inhibición entre $13,8 \pm 0,3$ y $18,0 \pm 0,2$ mm, seguido de **PI-3**, con halos entre $14,4 \pm 0,5$ y $17,6 \pm 0,5$ mm, continuando **PI-4** con halos de inhibición entre $9,0$ y $12,2 \pm 0,3$ mm y, por último, **PI-5**, el cual no presentó la capacidad de inhibir el crecimiento fúngico. En comparación, el fármaco de referencia (Fluconazol) presentó un halo de inhibición de $11,4 \pm 1,9$ mm a una dosis de 25 μg (Gráfica 5).

El análisis de varianza de dos factores mostró que la dosis ($F = 202,71$; $p < 0,001$) como el compuesto ($F = 1999,28$; $p < 0,001$) ejercieron un efecto altamente significativo sobre la inhibición microbiana. Además, se detectó una interacción significativa entre ambos factores ($F = 38,86$; $p < 0,001$), lo que indica que la respuesta inhibitoria depende no solo de la naturaleza del compuesto, sino también de la dosis empleada.

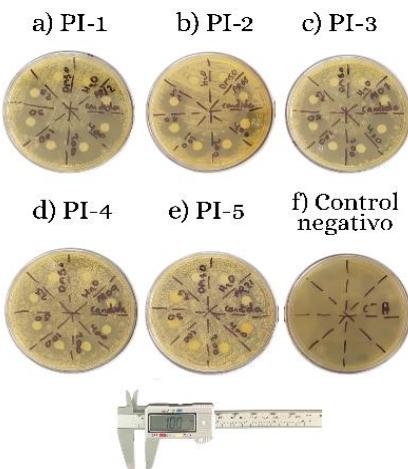
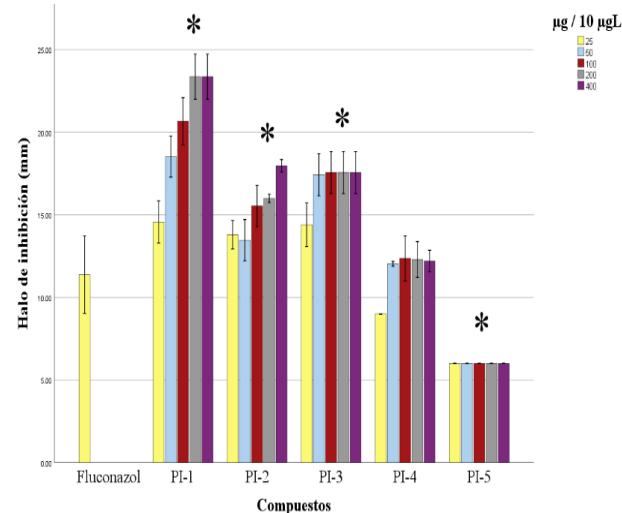


Fig. 11: (a-e) Efecto antifúngico de los compuestos **PI-1** a **PI-5** frente a *C. albicans*, f) placa sin crecimiento.



Gráfica 5: Halos de inhibición del Fluconazol y de los compuestos **PI-1** a **PI-5** frente a *C. albicans*. Cada barra representa el promedio \pm la desviación estándar ($n = 3$). *Diferencia estadísticamente significativa ($*p < 0,05$; ANOVA-Tukey).

Las comparaciones de la prueba Tukey revelaron diferencias significativas entre los compuestos evaluados ($p < 0,05$). Mientras que, el fluconazol mostró un comportamiento diferenciado: siendo más efectivo que **PI-4** y **PI-5**, pero significativamente menos activo que **PI-1**, **PI-2** y **PI-3**. En términos de potencia relativa, se ordena de la siguiente manera, **PI-4** \approx Fluconazol $>$ **PI-1** $>$ **PI-2** $>$ **PI-3** $>$ **PI-5**.

De acuerdo con Duhita *et al.*³⁷, la membrana celular de los hongos representa un objetivo fundamental en la actividad antimicrobiana debido a su composición y estructura. Dicha membrana está enriquecida por diversos lípidos, dentro de los cuales los esterolos tienen mayor relevancia, aunque también podemos encontrar glicerol-fosfolípidos y esfingolípidos. Por lo tanto, la presencia de una amplia cantidad de lípidos vuelve a la membrana inherentemente lipofílica, lo cual facilita la interacción con compuestos de naturaleza similar, de hecho, la composición lipídica explica por qué muchos fármacos antifúngicos exitosos actúan afectando la integridad de la membrana celular. De este modo, los resultados obtenidos se encuentran relacionado con los valores del ClogP, o bien, la lipofilicidad de los compuestos mencionada anteriormente (Fig. 12).

Costa *et al.*³⁸ (2016) sugieren que los derivados de chalconas ejercen su acción farmacológica mediante un mecanismo de acción primario, que involucra la inhibición de enzimas clave para el ciclo de vida de los hongos. La β -(1,3)-glucano y quitina sintasas son las más fundamentales, ya que, al interferir con estas enzimas, estos compuestos alteran decisivamente la biosíntesis de polímeros esenciales, debilitando la integridad celular.

Así mismo, Mellano *et al.*³⁹ sugieren que la actividad antifúngica de las chalconas depende de la carga electrónica del carbonílico, y consideran que el sistema α,β -insaturado juega un papel significativo en el mecanismo de acción. En algunos casos, una mayor densidad electrónica en el sistema α,β -insaturado induce a una mayor actividad antifúngica.

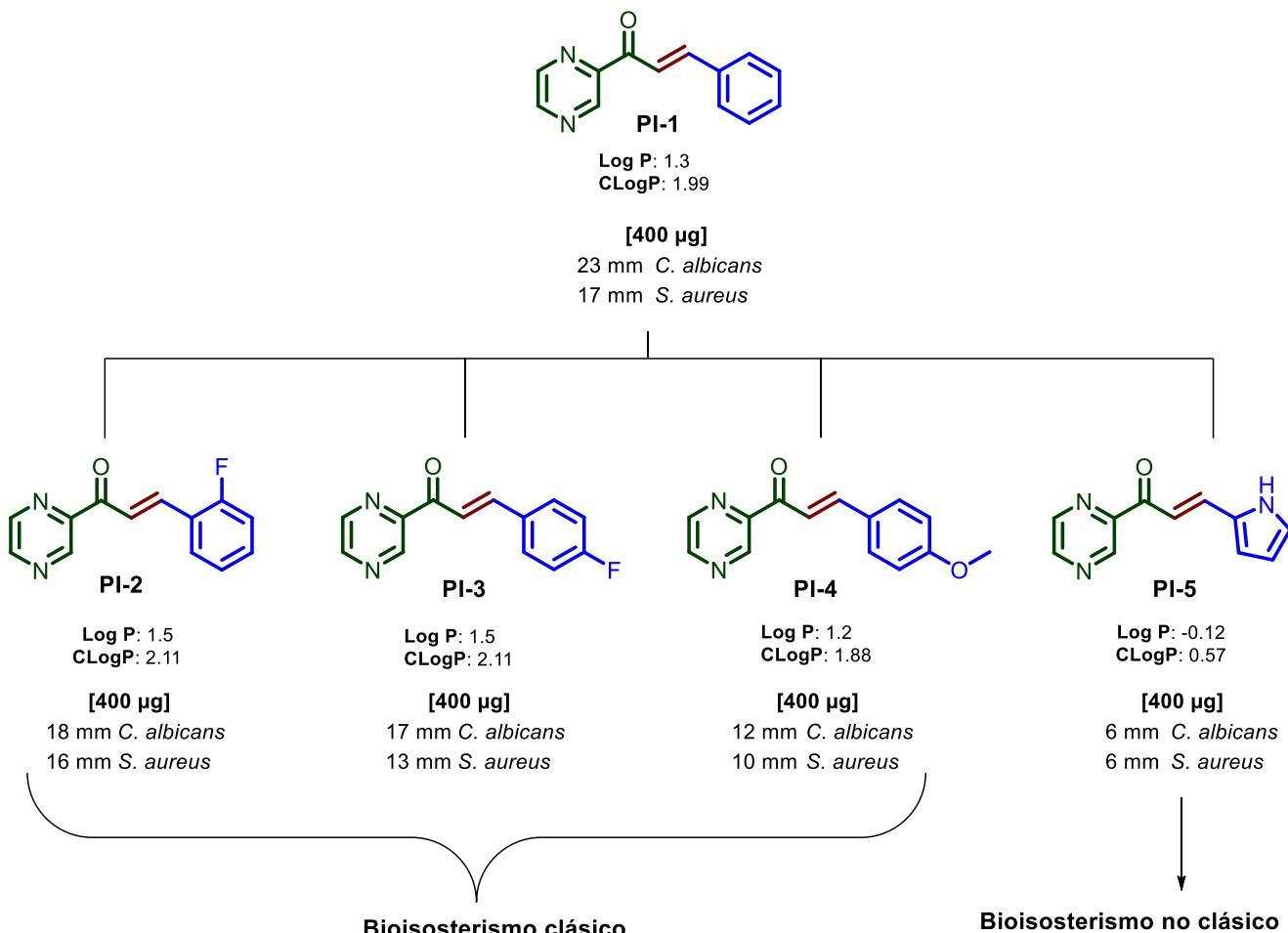


Fig. 12. Comparación de la actividad antifúngica y antibacteriana⁴⁰.

La efectividad presentada, se ve relacionado con su estructura (relación estructura-actividad, SAR). Asimismo, como se mencionó anteriormente, la eficacia antifúngica igual puede atribuirse a los valores de ClogP.

Conclusiones

Se sintetizaron cinco heterochalconas mediante una condensación tipo Claisen-Schmidt en condiciones heterogéneas, clasificadas como reacción de tipo 3a o “sobre-agua”⁴¹, con rendimientos que van del 67% al 79%. La elucidación estructural se realizó mediante RMN ¹H y RMN ¹³C, confirmando la formación del isómero *trans* en el sistema α,β -insaturado, conformación respaldada por simulaciones computacionales realizadas con Chem3D y ChemDraw de la marca Perkin Elmer (versión 20,0,0,41).

Desde el punto de vista biológico, los compuestos **PI-1** a **PI-4** mostraron una tendencia decreciente en la actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* y *C. albicans*, lo que demuestra una clara relación entre la estructura molecular y la respuesta biológica. Las modificaciones estructurales introducidas influyen directamente en su perfil antimicrobiano, viendo una baja efectividad con un enfoque bioisostérico no clásico frente a un enfoque clásico (Fig. 12).

Los análisis ANOVA confirmaron diferencias significativas ($p < 0,001$) tanto en la variable de la dosis como en el tipo de compuesto, evidenciando una interacción dosis-molécula. La efectividad frente a *S. aureus* sigue el siguiente orden: Amikacina > Amoxicilina > **PI-2** > **PI-1** > **PI-3** > **PI-4** > **PI-5**, observándose una disminución progresiva en la potencia biológica.

Los compuestos evaluados mostraron actividad frente a *S. aureus* (gram positiva) y fueron inactivos contra *E. coli* (gram negativa), comportamiento coherente con los fármacos de referencia. Esta selectividad sugiere que las heterochalconas actúan preferentemente sobre bacterias gram positivas, posiblemente debido a la mayor permeabilidad de su pared peptidoglucánica en comparación con la barrera externa de las gram negativas.

En *C. albicans*, se observó una mayor sensibilidad antifúngica, donde **PI-4** alcanzó una actividad similar al **Fluconazol**, mientras que **PI-1** a **PI-3** presentaron efectos intermedios y **PI-5** fue el menos activo.

En general, los compuestos **PI-1** a **PI-4**, mostraron bioselectividad antifúngica, con halos de inhibición de 12 mm a 23 mm, superiores a los observados frente a *S. aureus* (10 a 17 mm). **PI-5**, no presentó efecto farmacológico en diferentes dosis frente a los microorganismos.

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que la estrategia sintética aplicada cumple con los principios de química verde y que las modificaciones estructurales realizadas permiten establecer correlaciones claras en la relación estructura-actividad (**SAR**). Asimismo, respaldan el potencial de optimización estructural de las heterochalconas como andamios moleculares prometedores para el diseño racional de nuevos agentes con selectividad frente a microorganismo gram positivos y hongos, aportando una base sólida para futuros estudios de derivatización estructural y evaluación farmacológica.

Agradecimientos

I.A.M. agradece a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) por el espacio otorgado dentro del Verano de la Investigación Científica edición 2025; a la División Académica de Ciencias Básicas (DACP), en especial al Laboratorio de microbiología (LQFB-1), por las facilidades permitidas para concluir la parte experimental; al estudiante Moisés Arredondo Marín y a la estudiante Raquel Chablé Juárez por el apoyo técnico durante el proceso de evaluación antimicrobiana en modelo *in vitro*.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Referencias

1. S. Narayan, V. V. Fokin, K. B. Sharpless. Chemistry “on water”- Organic Synthesis in Aqueous Suspension. Wiley online library. Editor U. Marcus Lindstrom. (2007). <https://doi.org/10.1002/9780470988817.ch11>.
2. C Capello, U Fischer & K Hungerbühler. What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents. **Green Chemistry**, **9**, 927 (2007). <https://doi.org/10.1039/b617536h>.
3. R Kamboj, G Sharma, D Kumar, R Arora, C Sharma, K R Aneja. An environmentally sound approach for the synthesis of some flavanones and their antimicrobial activity. **International Journal of ChemTech Research**, **3**, 901-910 (2011). https://www.researchgate.net/publication/288102730_An_environmentally_sound_approach_for_the_synthesis_of_some_flavanones_and_their_antimicrobial_activity.
4. Q Torres-Sauret, M A Vilchis-Reyes, R Martinez, N Romero-Ceronio, E Alarcon-Matus, O Hernandez-Abreu, et al. Crossing borders: On-Water Synthesis of Flavanones. **ChemistrySelect**, **7**, (2022). <https://doi.org/10.1002/slct.202202567>.
5. Q Torres-Sauret, C A Sánchez, L F Roa de la Fuente, P P Montero, M T Flores Dorantes, J C Méndez-Moreno, et al. Síntesis de (*E*)-1,3-difenil-prop-2-en-1-ona y su evaluación sobre el crecimiento de una cepa de *S. aureus* fármacoresistente. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, **48**, 67-74 (2017). <https://www.re-dalyc.org/pdf/579/57956616008.pdf>.
6. E. Charris, M. C. Monasterios, M. E. Acosta, M. A. Rodríguez, N. D. Gamboa, G. P. Martínez, et al. Antimalarial, antiproliferative, and apoptotic activity of quinoline-chalcone and quinoline-pyrazoline hybrids. A dual action. **Med Chem Res** (2019), **28**:2050. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02435-0>.
7. H. Ramírez, J. Domínguez, E. Fernández-Moreira, J. Rodrigues, M. Rodríguez, J. Charris. Synthesis of 4-benzylsulfanyl and 4-benzylsulfonyl chalcones. Biological evaluation as antimalarial agents. **Farmacía** (2022), **70**, 1, 30-41. <https://doi.org/10.31925/farmacía.2022.1.5>.
8. F H Hernández, Q Torres-Sauret, N Romero-Ceronio, M A Vilchis-Reyes, A G Rivera, C L E García. Efecto bioisósterico para la actividad antimicótica y antioxidante de cuatro tiofenilchalconas. **Journal of Basic Sciences**, **9**, 77-86 (2023). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9493699>.
9. K H Jeon, H B Yu, S Y Kwak, Y Kwon, Y Na. Synthesis and topoisomerases inhibitory activity of heteroaromatic chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, **24**, 5921-5928, (2016). <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.09.051>.
10. E Polo, N Ibarra-Arellano, L Prent-Peña, A Morales-Bayuelo, J Henao, A Galdámez, M Gutiérrez. Ultrasound-assisted synthesis of novel chalcone, heterochalcone and bischalcone derivatives and the evaluation of their antioxidant properties and as acetylcholinesterase inhibitions. **Bioorganic Chemistry**, **90**, (2019). <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103034>.
11. M Kucerova-Chlupacova, M Dosedel, J Kunes, M Soltesova-Prnova, M Majekova, M Stefk. Chalcones and their pyrazine analogs: synthesis, inhibition of aldose reductase, antioxidant activity, and molecular docking study. **Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly**, **12**, 20, 1104-17 (2025). <https://doi.org/10.3390/molecules20011104>.
12. S Burmaoglu, O Algul, A Gobek, D A Anil, M Ulger, B G Erturk, E Kaplan, A Dogen, G Aslan. Design of potent fluoro-substituted chalcones as antimicrobial agents. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, **32**, 1, 490-496, (2017). <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.12617>.
13. K V Sashidhara, K B Rao, P Kushwaha, R K Modokuri, P Singh, I Soni, P K Shukla, S Chopra, M Pasupuleti. Chalcone-Thiazole Staphylococcus aureus. **American Chemical Society Medical Chemistry Letters**, **6**, 7, 809-13, (2015). <https://doi.org/10.1021/acsmmedchemlett.5b00169>.
14. M Chlupacova, V Opletalova, J Kunes, L Silva, V Buchta, L Dusko, et al. Synthesis and biological evaluation of some ring-substituted (*E*)-3-aryl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ones. **Folia Pharmaceutica Universitatis Carolinae**, **33**, 31-43 (2005). Available at: https://www.researchgate.net/publication/292475861_Synthesis_and_biological_evaluation_of_some_ring-substituted_E-3-aryl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ones.
15. M Kucerova-Chlupacova, V Vyskovska-Tyllova, L Richterova-Finkova, J Kunes, V Buchta, M Vejsova, et al. Novel Halogenated Pyrazine-Based Chalcones as Potential Antimicrobial Drugs. **Molecules**, **21**, 1421 (2016). <https://doi.org/10.3390/molecules2111421>.
16. M Kucerova-Chlupacova, M Dosedel, J Kunes, M S Prnova, M Majeková, M Stefk. Chalcones and their pyrazine analogs: synthesis, inhibition of aldose reductase, antioxidant activity, and molecular docking study. **Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly**, **149**, 921-929 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00706-018-2146-6>.
17. F P Byrne, S Jin, G Paggiola, T H M Petchey, J H Clark, T J Farmer, et al. Tools and techniques for solvent selection: green

- solvent selection guides. **Sustainable Chemical Processes**, **4**, 7 (2016). <https://doi.org/10.1186/s40508-016-0051-z>.
18. R Q Henderson, A P Hill, A M Redman, H F Sneddon. Development of GSK's acid and base selection guides. **Green Chemical**, **17**, 945–949 (2015). <https://doi.org/10.1039/C4GC01481B>.
19. A Thebti, A Meddeb, I B Salem, C Bakary, S Ayari, F Rezgui, et al. Antimicrobial Activities and Mode of Flavonoid Actions. **Antibiotics**, **12**, 225 (2023). <https://doi.org/10.3390/antibiotics1220225>.
20. A C S. NMR Guidelines for ACS Journals. *ACS publications* (2013). <https://doi.org/10.1021/acscatal.3c00995>.
21. Q Torres-Sauret. Síntesis de Análogos Heteroaromáticos de Chalconas y su Evaluación Antibiótica in vitro. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Tabasco, México (2017). <https://ri.ujat.mx/items/424c3bbc-18a6-4349-a5c6-87f03e81dec1>.
22. PerkinElmer. *PerkinElmer Chem3D* (2020). Disponible en: <https://www.perkinelmer.cas.org/>.
23. I. Gajic, J. Kabic, D. Kekic, M. Jovicevic, M. Milenkovic, D. Mitic Culafic, et al. Antimicrobial Susceptibility Testing: A comprehensive Review of Currently used Methods. **Antibiotics**, **11**, 4 (2022). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427>.
24. M Yaseen Mowlana, A J Abdul Naseer, S J Sathik. Synthesis, Characterization and biological activity of some Heterocyclic Derivatives. **International Journal of Scientific and Research Publications**, **7**, 7, 2250-3153, (2017). <https://www.chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcgclefind-mkaj/https://www.ijsrp.org/research-paper-0717/ijsrp-p6782.pdf>.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute. M11-A8 Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard-Eighth Edition. Available at: www.clsi.org. Publicado: 02/2012. Disponible en: https://www.chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcgclefindmkaj/https://webstore.ansi.org/preview-pages/CLSI/preview_CLSI+M11-A8.pdf.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. Publicado: 06/2012. Available at: <https://www.clsi.org/shop/standards/m07/>.
27. I R López Solano, L F Roa-de la Fuente, C Alvarado Sánchez., J A González Garrido, Q Torres-Sauret. Efecto bactericida de (E)-3-fenil-1-(2-furanil)-prop-2-enona y (E)-3-fenil-1-(2-tiofenil)-prop-2-en-1-ona frente a Klebsiella pneumoniae. in *XIV Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica* (2018). <https://doi.org/10.33263/BRIAC93.912918>.
28. M. F. Varela, J. Stephen, M. Lekshmin, M. Ojha, N. Wenzel, L. M. Sanford, et al. Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. **Antibiotics**, **10**, 5 (2021). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050593>.
29. B Germán, Fernandez-Olmo Ana, G Celia, Sáez-Nieto Juan A, V Sylvia. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. **Enfermedades Clínicas y Microbiología Clínica**, **29**, 8, (2011). <https://doi.org/10.1016/j.eimc2011.03.012>.
30. G A March Rosselló, M A Bratos Pérez. Antibiograma rápido en Microbiología Clínica. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, **34**, 61–68 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.eimc2014.11.014>.
31. Sebas M C. A Brief Review on Bioisosterism in Drug Design and Designing of Advanced Drugs. **International Journal of Research and Review**, **11**, 341–348 (2024). <https://doi.org/10.52403/ijrr.20240836>.
32. T Kitanosono, S Kobayashi. Reactions in Water Involving the “On-Water” Mechanism. **Chemistry – A European Journal**, **26**, 9408–9429 (2020). <https://doi.org/10.1002/chem.201905482>.
33. H B Oscar, U C Yaidimi, R M Douglas, del Carmen G María. *Staphylococcus aureus y su identificación en los laboratorios microbiológicos. Revisión bibliográfica*. **Scientific Electronic Library Online**, **9**, 1, (2025). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552005000100016.
34. E Ebreu, S G Jülide, H I Elvan, Y Sükran, T Alper, Y Yasemin, C K Zeynep. Medically important *Candida* spp. Identification: an era beyond traditional methods. **Turkish Journal of Medical Sciences**, **52**, 3 834-840, (2022). <https://doi.org/10.55730/1300-0144.5380>.
35. T J Silhavy, D Kahne, S Walker. The Bacterial Cell Envelope. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, **2**, a000414–a000414 (2010). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>.
36. M Kucerova-Chlupacova, M Dosedel, J Kunes, M Soltesova-Prnova, M Majekova, M Stefek. Chalcones and their pyrazine analogs: synthesis, inhibition of aldose reductase. Antioxidant activity, and molecular docking study. **Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly**, **12**, 20, 1104-17, (2025). <https://doi.org/10.3390/molecules20011104>.
37. D Meier, M V Hernández, L V Geelen, R Muharini, P Proksch, J E Bandow, et al. The plant-derived chalcone Xanthoangelol targets the membrane of Gram-positive bacteria. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, **27**, 115151 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115151>.
38. G M Costa, E H Endo, D A G Cortez, C V Nakamura, P B Días Hijo. Antimicrobial effects of *Piper hispidum* extract, fractions and chalcones against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. **Medical Mycology Journal**, **26**, 217–226 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.03.002>.
39. M Mellado, L Espinoza, A Madrid, J Mella, E Chávez-Weisser, K Díaz, et al. Design, synthesis, antifungal activity, and structure–activity relationship studies of chalcones and hybrid dihydrochromane–chalcones. **Molecular Diversity**, **24**, 603–615 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11030-019-09967-y>.
40. A Patel, I Panchal, I Parmar, B Mishtry. Synthesis of new flavonoid and chalcone derivatives as antimicrobial agent by green chemistry approach. **International Journal Pharmaceutical Sciences and Research**, **8**, 6, 2725-2730 (2017). <https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232>.
41. D Prat, O Pardigon, Hans-Wolfram F, S Letestu, V Ducandas, P Isnard, et al. Sanofi's Solvent Selection Guide: A Step Toward More Sustainable Processes. **Organic Process Research & Development**, **17**, 1517–1525 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.opr.2013.03.005>.