



Avances en Química

Volumen 20

Número 3

Septiembre-diciembre, 2025

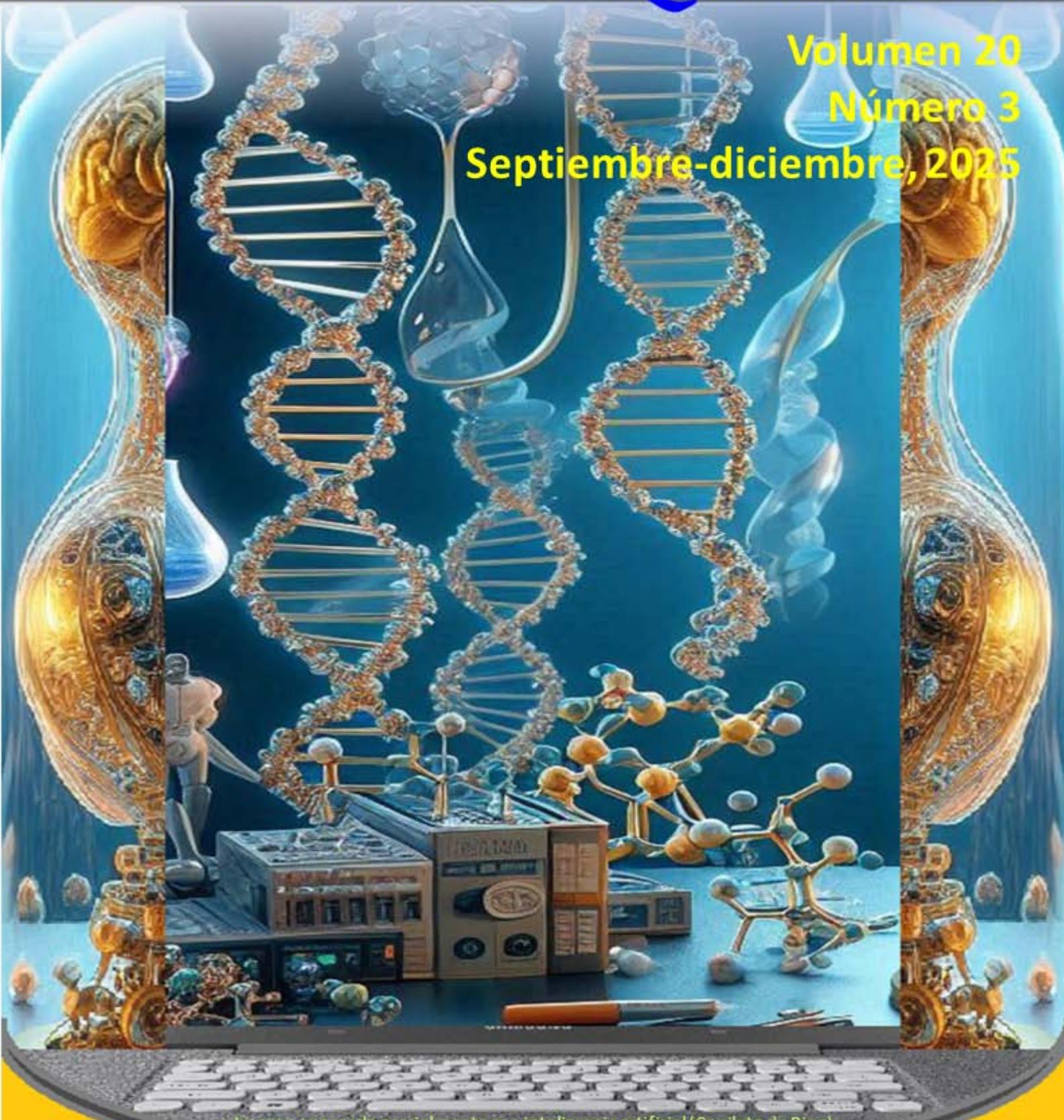
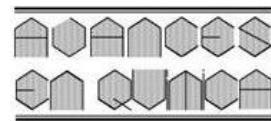
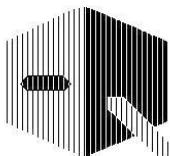


Imagen generada parcialmente con inteligencia artificial (Copiloto de Bing)



Estabilidad microbiológica de una crema de uso cosmético basada en aceites amazónicos

Luisa Mayra Vera Cabezas¹, Jannys Lizeth Rivera Barreto², Abdel Bermúdez del Sol³, Johana Aracely Cadena Peralta², Sting Brayan Luna Fox⁴, Luis Ramón Bravo Sánchez^{2*}

¹⁾ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

²⁾ Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Estatal Amazónica, Puyo, Ecuador.

³⁾ Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Regional Autónoma de Los Andes, Ambato, Ecuador.

⁴⁾ Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Universidad Nacional de Mar del Plata. Argentina.

(*) lbravo@uea.edu.ec

Recibido: 25/05/2025

Revisión 1: 04/07/2025

Revisión 2: 25/09/25

Aceptado: 10/11/2025

Resumen

El uso de cremas cosméticas con componentes naturales es cada vez más valorado por sus beneficios para la piel y menor impacto ambiental. En este estudio se desarrolló una crema cosmética utilizando materias primas de la Amazonía ecuatoriana (aceites de ungurahua, atamuyo y morete) como base emulsionable, enriquecida con una mezcla conservante de Sharomix y aceites esenciales de jengibre, hierbaluisa y canela amazónica. Se evaluó el crecimiento de mesófilos totales, mohos y levaduras. Mediante un diseño experimental de mezclas, se optimizaron dos formulaciones: una para control de mesófilos (0,248 g Sharomix + 0,103 g hierbaluisa + 0,242 g jengibre + 0,407 g canela) y otra para mohos y levaduras (0,435 g Sharomix + 0,125 g hierbaluisa + 0,017 g jengibre + 0,423 g canela). Los ensayos durante 90 días demostraron que estos compuestos naturales poseen propiedades conservantes efectivas, manteniendo la estabilidad microbiológica del producto en este periodo de tiempo.

Palabras claves: Atamuyo; base emulsionada; canela amazónica; diseño de mezclas; morete; ungurahua.

Abstract

Microbiological stability of a cosmetic cream based on Amazonian oils. The use of cosmetic creams with natural ingredients is increasingly valued for their benefits to the skin and lower environmental impact. In this study, a cosmetic cream was developed using raw materials from the Ecuadorian Amazon (ungurahua, atamuyo, and morete oils) as an emulsifiable base, enriched with a preservative mixture of Sharomix and essential oils of ginger, lemongrass, and Amazonian cinnamon. The growth of total mesophiles, molds, and yeasts was evaluated. Through an experimental mixture design, two formulations were optimized: one for mesophile control (0.248 g Sharomix + 0.103 g lemongrass + 0.242 g ginger + 0.407 g cinnamon) and another for molds and yeasts (0.435 g Sharomix + 0.125 g lemongrass + 0.017 g ginger + 0.423 g cinnamon). The 90-day trials demonstrated that these natural compounds have effective preservative properties, maintaining the microbiological stability of the product over this period of time.

Keywords: Atamuyo; Emulsified base; Amazonian cinnamon; Mix design; Morete; Ungurahua

Introducción

Las plantas han sido siempre un elemento fundamental en la elaboración de productos de gran beneficio, mientras que los aceites esenciales se destacan como auténticos tesoros, ofreciendo una riqueza de beneficios para la salud¹. A lo largo de la historia, los seres humanos han descubierto y aprovechado las propiedades terapéuticas y aromáticas de estos aceites. Los aceites esenciales exhiben una potente actividad antimicrobiana y antioxidante, lo que los convierte en una alternativa natural eficaz para controlar una amplia variedad de patógenos bacterianos y fúngicos². Estas sustancias naturales han sido empleadas para combatir bacterias, virus y hongos, debido a la variedad de beneficios ofrecidos que abarcan desde el cuidado cutáneo hasta el apoyo emocional, brindan una experiencia de

bienestar que trasciende lo físico para nutrir el cuerpo, la mente y el alma^{3,4}. Los aceites esenciales de *Mespilodaphne quixos* (canela amazónica), *Cymbopogon citratus* (hierbaluisa) y *Zingiber officinale* (jengibre) no solo ofrecen una experiencia aromática agradable, sino que también aportan beneficios para la salud, lo que incluye propiedades antibacterianas que pueden ser valiosas en la prevención de enfermedades y el mantenimiento del bienestar general.

En la búsqueda continua de productos de cuidado de la piel que sean eficaces y respetuosos con el entorno, el interés en el uso de las cremas faciales orgánicas ha experimentado un auge importante. A medida que la conciencia sobre los riesgos de utilizar ingredientes artificiales o sintéticos crecen, los consumidores buscan alternativas que ofrezcan beneficios reales sin com-

prometer la salud de su piel ni el ambiente. En este contexto, los aceites esenciales han surgido como una alternativa natural y desempeñan un papel destacado como conservantes naturales⁵.

Entre los diversos conservantes que se utilizan en la industria cosmética, los parabenos, el fenoxietanol y el alcohol bencílico han sido tradicionalmente opciones comunes. Sin embargo, la creciente demanda de alternativas naturales y la búsqueda de ingredientes eficaces y seguros dan lugar al desarrollo de conservantes innovadores. Sharomix se destaca como una solución confiable y eficiente en el campo de conservantes para productos cosméticos con certificación orgánica⁶. Estos conservantes se desarrollan con precisión, ofrecen una protección robusta contra el crecimiento de microorganismos no deseados y aseguran la integridad del producto.

El jengibre, conocido por su componente activo zingibereno, demuestra actividades antimicrobianas contra diversos patógenos entre los que se incluyen bacterias y hongos, lo que sugiere su capacidad para inhibir el crecimiento microbiano⁷. Por otro lado, la hierbaluisa, rica en compuestos como el geranial, ha exhibido propiedades antimicrobianas que pueden contribuir a la protección contra microorganismos indeseados⁸. La canela amazónica, reconocida por su contenido de cinamaldehído, también ha demostrado tener actividad antimicrobiana, mostrando potencial contra bacterias y levaduras⁹.

Los aceites fijos de morete (*Mauritia flexuosa*), atamuyo (*Fevillea cordifolia*) y ungurahua (*Oenocarpus bataua*) provienen de especies nativas de la Amazonía reconocidas por su alto valor nutricional y funcional. El morete y el ungurahua, en particular, son palmas cuyas frutas se utilizan tradicionalmente para la extracción de aceites ricos en ácidos grasos insaturados, carotenoides, tocoferoles y compuestos antioxidantes, lo que les confiere propiedades beneficiosas para la alimentación y aplicaciones cosméticas y farmacéuticas¹⁰. Además, la utilización de estos aceites contribuye a la valorización de la biodiversidad amazónica y promueve prácticas de manejo sostenible que pueden beneficiar tanto a las comunidades locales como a la conservación del ecosistema¹¹. Aunque la información sobre el atamuyo es más limitada, su inclusión en formulaciones cosméticas responde al interés creciente por explorar nuevas fuentes amazónicas de compuestos bioactivos.

Los cosméticos al estar elaborados con ingredientes naturales pueden ser más propensos a la proliferación de microorganismos. Por ello, el análisis microbiológico resulta esencial para garantizar tanto la calidad de estas cremas como la capacidad antioxidante y antibacteriana de los aceites esenciales que contienen. Esto contribuye a preservar la integridad del producto durante toda su vida útil. Además, este análisis es esencial para

cumplir con las normativas regulatorias y para generar confianza en los consumidores respecto a la seguridad y la calidad de los productos cosméticos¹².

El objetivo del estudio fue determinar la capacidad conservante de los aceites esenciales de hierbaluisa (*Cymbopogon citratus*), canela amazónica (*Mespilodaphne quixos*) y jengibre (*Zingiber officinale*), en combinación con Sharomix, al ser agregados solo o mezclados en diferentes proporciones a las cremas cosméticas de base emulsionada preparadas a partir de aceites amazónicos fijos de morete (*Mauritia flexuosa*), atamuyo (*Fevillea cordifolia*) y ungurahua (*Oenocarpus bataua*).

Parte experimental

Materias primas y obtención de los aceites

Los aceites esenciales de hierbaluisa (*Cymbopogon citratus*), canela amazónica (*Mespilodaphne quixos*) y jengibre (*Zingiber officinale*), así como los aceites fijos de morete (*Mauritia flexuosa*), atamuyo (*Fevillea cordifolia*) y ungurahua (*Oenocarpus bataua*) se adquirieron en el mercado “Los plátanos” de la ciudad de Puyo, Amazonía ecuatoriana. Los aceites esenciales (AEs) se extrajeron por arrastre de vapor en un equipo semiindustrial durante 2,5 h, separándose luego del hidrolato mediante decantación, mientras que los aceites fijos se obtuvieron por prensado en frío a 40 °C usando una prensa CGOLDENWALL (1500 W). Todos los aceites se envasaron en recipientes oscuros y se almacenaron a 5 ± 1 °C hasta su uso posterior.

Elaboración de la crema base

Se formuló según las proporciones indicadas en la tabla 1, tomando como referencia 100 g de producto final. El preservante consistió en Sharomix en combinación con aceites esenciales, asegurando que la suma total de ambos siempre fuera 1 g por cada 100 g de crema. Esta proporción se mantuvo constante para garantizar la estabilidad microbiológica del producto sin modificar el balance total de la formulación.

El proceso de elaboración de la crema se llevó a cabo combinando los componentes en dos fases distintas, en la fase acuosa se utilizó agua destilada, mientras que en la fase oleosa se incorporaron los emulsificantes, manteca de cacao y los aceites fijos de atamuyo, morete y ungurahua. Ambas fases se calentaron por separado en vasos de precipitación a baño María hasta alcanzar 70 °C¹³. Una vez homogenizadas térmicamente, se combinaron mediante un emulsionador (SilentCrusher) con agitación constante hasta obtener una emulsión homogénea y estable. Posteriormente, una vez obtenida la emulsión y durante la fase de enfriamiento (36-38°C), se añadieron los aceites esenciales y el Sharomix a la formulación base bajo agitación constante para garantizar una distribución homogénea. La cre-

Tabla 1. Formulación base de la crema cosmética elaborada con aceites fijos y esenciales amazónicos.

Emulsificante (g)	Manteca de cacao (g)	Agua purificada (g)	Atamuyo (g)	Morete (g)	Ungurahua (g)	Preservante (g)
4,4	15	64,6	0,45	4,35	10,2	1

ma obtenida fue envasada en recipientes de plástico con tapa hermética, asegurando su estabilidad durante los posteriores análisis.

Diseño experimental para optimizar la adición de preservantes a las cremas cosméticas

Se planteó un diseño de mezclas con 23 formulaciones (tabla 2). Se aplicó un análisis de varianza ($p < 0,05$) para evaluar el efecto de la adición de AEs y Sharomix sobre el crecimiento de aerobios mesófilos totales y el desarrollo de mohos y levaduras en las cremas. La validación del modelo se realizó mediante el análisis de los coeficientes R^2 , R^2 ajustado, R^2 predicho, y se analizó la falta de ajuste del valor p del modelo. Las condiciones óptimas se determinaron aplicando la ecuación generada por el diseño de mezclas, verificando posteriormente la concordancia entre los valores experimentales y los predichos. En todos los análisis se empleó el software Design Expert versión 10 (versión de prueba, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, EE. UU.).

Tabla 2. Diseño de mezclas para optimizar la adición del Sharomix y aceites esenciales (hierba luisa, jengibre y canela amazónica) como conservantes en las cremas cosméticas.

Experimento	A: Sh (g)	B: HL (g)	C: J (g)	D: CA (g)
1	0	0	1	0
2	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,125	0,125	0,125	0,625
4	0,5	0,5	0	0
5	0	0	0,5	0,5
6	0,5	0	0,5	0
7	0,5	0	0,5	0
8	0,5	0	0	0,5
9	0,25	0,25	0,25	0,25
10	0,5	0,5	0	0
11	0,125	0,625	0,125	0,125
12	0	0,5	0	0,5
13	0	0,5	0	0,5
14	0,625	0,125	0,125	0,125
15	0	0	0	1
16	0	0	0,5	0,5
17	0,125	0,125	0,625	0,125
18	0,333	0	0,333	0,333
19	1	0	0	0
20	0	1	0	0
21	0	0,5	0,5	0
22	0	0,5	0,5	0
23	0,25	0,25	0,25	0,25

Sh-Sharomix, HL-hierba luisa, J-jengibre, CA-canela amazónica.

Análisis de aerobios mesófilos totales

Previo al proceso de siembra, se esterilizaron los tubos de ensayo y puntas de micropipeta en autoclave (HMC Hiyama) mediante tratamiento a 121°C y 15 psi durante 20

min. Para la preparación de muestras, se realizó una dilución inicial 1:10 (p/v) homogenizando 1 g de cada formulación de crema con 9 mL de agua estéril.

La siembra microbiológica se realizó en cámara de flujo laminar (marca Biomedis® ESCO) mediante inoculación de 1 mL de la dilución 1:10 (p/v) de cada formulación en placas Compact dry TCR, las cuales contienen un medio de cultivo cromogénico deshidratado que permite el recuento de microorganismos mesófilos aerobios sin requerir preparación adicional. Posteriormente, las placas se colocaron en una incubadora (marca Memmert) a 35 ± 2°C durante 48 h. Finalizado el periodo de incubación, se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC).

Análisis de mohos y levaduras

La siembra se realizó en placas Compact Dry YM y se siguió el mismo protocolo de descrito anteriormente. Las muestras se incubaron a 25 ± 2°C en un periodo de 3 a 7 días, registrándose las UFC al finalizar el período de incubación.

Conteo de UFC en las placas Compact dry

Los análisis de aerobios mesófilos totales, mohos y levaduras en las cremas se midieron a los 7, 30 y 90 días después de haber sido envasados en su recipiente final. Las UFC se calcularon mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{UFC}{g} = \frac{A}{V} * Df \quad (1)$$

donde A = recuento promedio de colonias dentro de la misma dilución y muestra; V = volumen colocado en placa y Df = factor de dilución

Resultados y discusión

Efecto de la adición de Sharomix y AEs sobre el crecimiento de aerobios mesófilos totales

Para la optimización de las variables de respuesta, se compararon cuatro modelos matemáticos (tabla 3) generados por el software Design Expert. Los resultados mostraron que el modelo cúbico fue el más adecuado para describir el comportamiento de los datos en todos los tiempos de evaluación (7, 30 y 90 días), como lo indican los resultados de p-valor los cuales fueron altamente significativos ($p < 0,0001$). Además, este modelo presentó los mejores indicadores de ajuste, con valores de R^2 , R^2 -ajustado y R^2 -predicho cercanos a 0,99.

Los resultados del ANOVA (tabla 4) confirmaron el efecto significativo ($p < 0,0001$) del Sharomix y los AEs de hierbabuena, jengibre y canela amazónica sobre el crecimiento de aerobios mesófilos totales en las cremas a los 7, 30 y 90 días de evaluación. La falta de ajuste no resultó significativa en ningún tiempo de evaluación ($p > 0,05$), lo que respalda la adecuación del modelo para explicar la variabilidad en los datos.

Tabla 3. Efecto de la adición de Sharomix y aceites esenciales sobre el crecimiento de aerobios mesófilos totales: Comparación de modelos matemáticos generados para la optimización de una formulación cosmética, mostrando los valores p secuenciales y de falta de ajuste, y los coeficientes de determinación (R^2 ajustado y R^2 predicho) para cada modelo (lineal, 2FI, cuadrático y cúbico) en los tiempos de evaluación de 7, 30 y 90 días.

7 días	Secuencial	Falta de ajuste	R^2	
	p-valor	p-valor	Ajustado	Predicho
Lineal	0,1457	0,0025	0,3774	0,1424
2FI	0,0274	0,0067	0,8144	0,1225
Cuadrático	0,1784	0,0078	0,3874	0,2141
Cúbico	< 0,0001	0,0548	0,9930	0,9881

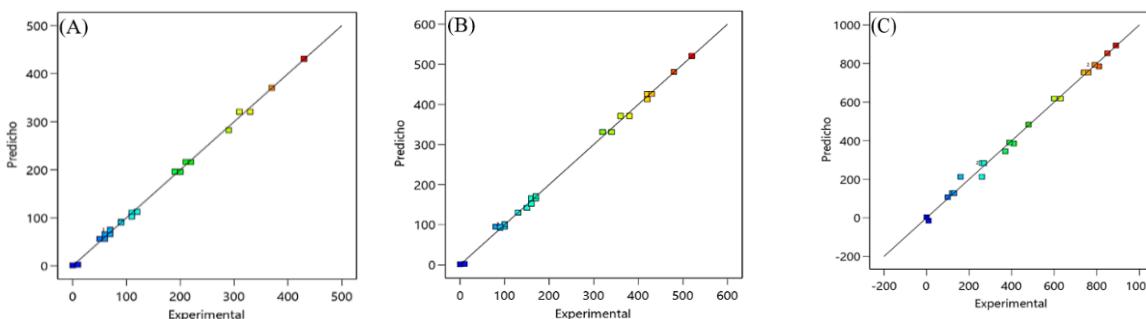
30 días	Secuencial	Falta de ajuste	R^2	
	p-valor	p-valor	Ajustado	Predicho
Lineal	0,1654	0,0024	0,3747	0,1778
2FI	0,2470	0,0077	0,2615	0,2084
Cuadrático	0,1754	0,0068	0,4548	0,3126
Cúbico	< 0,0001	0,1073	0,9971	0,9946

90 días	Secuencial	Falta de ajuste	R^2	
	p-valor	p-valor	Ajustado	Predicho
Lineal	0,1644	0,0029	0,3751	0,1974
2FI	0,0107	0,0098	0,2212	0,3230
Cuadrático	0,1901	0,0021	0,5512	0,2148
Cúbico	< 0,0001	0,0757	0,9942	0,9937

Tabla 4. ANOVA para el efecto de la adición de Sharomix y aceites esenciales (hierbaluisa, jengibre y canela amazónica) sobre el crecimiento de aerobios mesófilos totales en cremas cosméticas a los 7, 30 y 90 días.

7 días		SC	CM	F-value	p-value
Modelo		3,212E+05	22944,19	261,08	< 0,0001 significativo
A-Sh		7323,41	7323,41	83,33	< 0,0001
B-HL		7329,79	7329,79	83,40	< 0,0001
C-J		7345,53	7345,53	83,58	< 0,0001
D-CA		7321,12	7321,12	83,31	< 0,0001
Falta de ajuste		303,06	303,06	5,30	0,0548 no significativa
30 días		SC	CM	F-value	p-value
Modelo		5,639E+05	40280,93	309,58	< 0,0001 significativo
A-Sh		20238,07	20238,07	155,54	< 0,0001
B-HL		20249,89	20249,89	155,63	< 0,0001
C-J		20276,77	20276,77	155,84	< 0,0001
D-CA		20238,99	20238,99	155,55	< 0,0001
Falta de ajuste		340,91	340,91	3,41	0,1073 no significativa
90 días		SC	CM	F-value	p-value
Modelo		1,901E+06	1,358E+05	116,27	< 0,0001 significativo
A-Sh		76014,47	76014,47	65,10	< 0,0001
B-HL		76035,60	76035,60	65,12	< 0,0001
C-J		76091,47	76091,47	65,17	< 0,0001
D-CA		75961,83	75961,83	65,06	< 0,0001
Falta de ajuste		3574,52	3574,52	4,34	0,0757 no significativa

Sh-Sharomix, HL-Hierbaluisa, J-Jengibre, CA-canela amazónica, SC-suma de cuadrados, CM-cuadrados



La figura 1 muestra una comparación entre los valores experimentales y los predichos por el modelo cúbico, demostrando un alto grado de concordancia entre ambos conjuntos de datos. Los recuentos microbianos mostraron un incremento a lo largo del tiempo, registrándose valores entre 10-430 UFC/g a los 7 días, 10-520 UFC/g al día 30, y 10-890 UFC/g al día 90. Mediante el modelo de optimización, se identificó la combinación óptima de ingredientes para garantizar la estabilidad microbiológica de la crema, minimizando significativamente el recuento de aerobios mesófilos totales. La formulación más efectiva consistió en: 0,248 g de Sharomix, 0,103 g de AE de hierbaluisa, 0,242 g de AE de jengibre y 0,407 g de AE de canela amazónica. En estas condiciones se demostró el mejor efecto inhibitorio, logrando reducir hasta en un 89,76% el crecimiento microbiano.

Efecto de la adición de Sharomix y AEs sobre el crecimiento de mohos y levaduras en las cremas formuladas

El modelo de interacción bifactorial (2FI) demostró ser el más adecuado para evaluar el efecto inhibitorio del Sharomix y los AEs sobre el crecimiento de mohos y levaduras durante los períodos de estudio (tabla 5). Este modelo presentó una buena capacidad predictiva, con valores de R^2 , R^2 -ajustado y R^2 -predicho superiores a 0,83 en todos los tiempos evaluados junto con p-

Fig. 1: Correlación entre los valores experimentales y predichos de aerobios mesófilos totales en las cremas formuladas. Resultados a los 7 (A), 30 (B) y 90 (C) días de almacenamiento

Tabla 5. Efecto de la adición de Sharomix y aceites esenciales sobre el crecimiento de mohos y levaduras: Comparación de modelos matemáticos generados para la optimización de una formulación cosmética, mostrando los valores p secuenciales y de falta de ajuste, y los coeficientes de determinación (R^2 ajustado y R^2 predicho) para cada modelo (lineal, 2FI, cuadrático y cúbico) en los tiempos de evaluación de 7, 30 y 90 días.

7 días	Secuencial	Falta de	R^2	R^2	Sugerido
	p-valor	ajuste p-valor	Ajustado	Predicho	
Lineal	0,0141	0,0011	0,1862	0,0371	
2FI	0,0006	0,3593	0,8714	0,8641	Sugerido
Cuadrático	0,3141	0,0022	0,2952	0,0192	
Cúbico	0,1545	0,014	0,0142	0,0121	
30 días	Secuencial	Falta de	R^2	R^2	Sugerido
	p-valor	ajuste p-valor	Ajustado	Predicho	
Lineal	0,4128	0,0121	0,5455	0,0254	
2FI	< 0,0001	0,0077	0,8875	0,8781	Sugerido
Cuadrático	0,325	0,0052	0,3225	0,3359	
Cúbico	0,3871	0,0047	0,3942	0,0158	
60 días	Secuencial	Falta de	R^2	R^2	Sugerido
	p-valor	ajuste p-valor	Ajustado	Predicho	
Lineal	0,3717	0,0837	0,4482	0,5489	
2FI	0,0017	0,4307	0,8341	0,8329	Sugerido
Cuadrático	0,0782	0,0005	0,0489	0,4498	
Cúbico	0,0847	0,7012	0,1003	0,2591	

Tabla 6. ANOVA para el efecto de la adición de Sharomix y aceites esenciales (hierbaluisa, jengibre y canela amazónica) sobre el crecimiento de mohos y levaduras en cremas cosméticas a los 7, 30 y 90 días.

7 días	SC	CM	F-value	p-value	
Modelo	2,859E+05	28592,02	8,85	0,0006	Significativo
A-Sh	21215,39	21215,39	6,57	0,0264	
B-HL	21051,73	21051,73	6,52	0,0269	
C-J	21082,41	21082,41	6,53	0,0268	
D-CA	21089,14	21089,14	6,53	0,0268	
Falta de ajuste	15088,86	3772,22	1,29	0,3593	no significativa
30 días	SC	CM	F-value	p-value	
Modelo	4,860E+05	48599,46	32,04	< 0,0001	Significativo
A-Sh	11703,66	11703,66	7,72	0,0180	
B-HL	11543,47	11543,47	7,61	0,0186	
C-J	11565,16	11565,16	7,63	0,0185	
D-CA	11572,44	11572,44	7,63	0,0185	
Falta de ajuste	9132,71	2283,18	2,12	0,1818	no significativa
90 días	SC	CM	F-value	p-value	
Modelo	1,147E+09	1,147E+08	7,01	0,0017	significativo
A-Sh	5,508E+06	5,508E+06	0,3367	0,5734	
B-HL	5,538E+06	5,538E+06	0,3385	0,5724	
C-J	5,557E+06	5,557E+06	0,3397	0,5718	
D-CA	5,580E+06	5,580E+06	0,3411	0,5710	
Falta de ajuste	6,903E+07	1,726E+07	1,09	0,4307	no significativa

Sh-Sharomix, HL-Hierbaluisa, J-Jengibre, CA-canela amazónica, SC-suma de cuadrados, CM-cuadrados medios

valores significativos ($p<0,002$) que validan su robustez estadística.

El ANOVA (tabla 6) demostró que la adición de Sharomix y

los AEs tuvieron un efecto significativo en la inhibición del crecimiento de mohos y levaduras en las cremas formuladas. El modelo mostró valores de p significativos ($p<0,05$) y estadísticos F elevados en todos los tiempos de evaluación. La falta de ajuste no fue significativa ($p>0,05$) en todos los casos, lo que valida la adecuación del modelo seleccionado para representar los datos experimentales.

La figura 2 muestra una correlación significativa entre los valores experimentales y los predichos por el modelo 2FI. Los recuentos de mohos y levaduras variaron entre 20-450 UFC/g a los 7 días, 60-570 UFC al día 30 y 200-26000 UFC/g a los 90 días. El análisis de mezclas identificó como formulación óptima la combinación de 0,435 g de Sharomix, 0,125 g de hierbaluisa, 0,017 g de jengibre y 0,423 g de canela amazónica, la cual demostró una inhibición de hasta el 92,47% contra mohos y levaduras. Estos resultados confirman que el modelo 2FI es una herramienta confiable para optimizar formulaciones cosméticas con aceites amazónicos, equilibrando precisión estadística y aplicabilidad práctica.

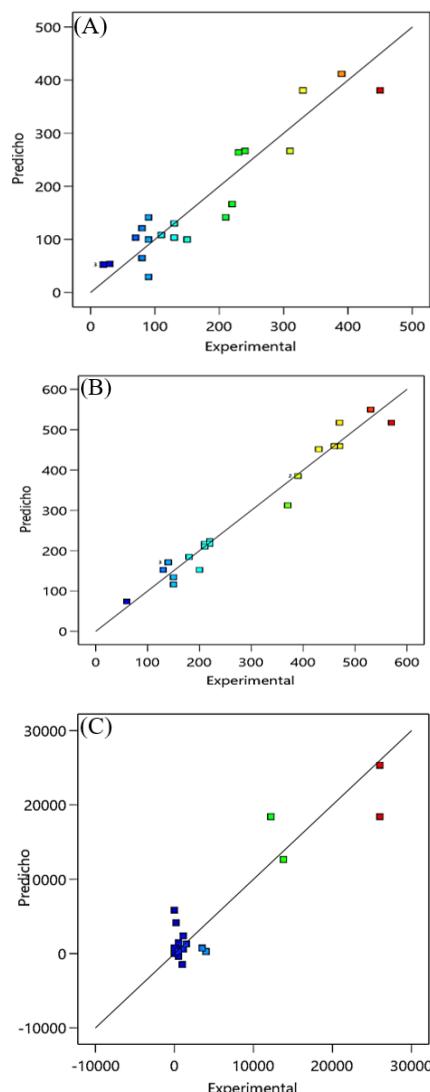


Fig. 2: Correlación entre los valores experimentales y predichos de mohos y levaduras en las cremas formuladas. Resultados a los 7 (A), 30 (B) y 90 (C) días de almacenamiento.

Discusión

La evidencia científica sustenta las propiedades antimicrobianas de los AEs¹⁴, hallazgo que se confirma en el presente estudio al observar que la incorporación de AEs de hierbaluisa, jengibre y canela amazónica ejercieron un efecto inhibitorio significativo sobre el desarrollo de microorganismos mesófilos totales, hongos y levaduras en las formulaciones cosméticas evaluadas.

Las cremas desarrolladas cumplieron con los parámetros microbiológicos establecidos en el “Reglamento Técnico Andino sobre Especificaciones Técnicas Microbiológicas de Productos Cosméticos”¹⁵, manteniendo los recuentos de microorganismos aerobios totales por debajo del límite máximo permitido (5×10^3 UFC/g). Este efecto inhibitorio puede atribuirse principalmente a la acción sinérgica de los componentes mayoritarios de los AEs, especialmente terpenos y compuestos fenólicos los cuales interfieren con procesos metabólicos esenciales de los microorganismos en las formulaciones¹⁶.

En estudios previos^{17,18} se ha identificado al geranal como compuesto mayoritario en el AE de hierbaluisa con concentraciones que varían entre 18,7 y 37,22%. Este monoterpeno aldehído ha demostrado actividad inhibitoria frente a bacterias (*Bacillus cereus*, *Propionibacterium acnés*, *Streptococcus pyogenes*) y hongos (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*), debido a su capacidad para desestabilizar membranas celulares y alterar la permeabilidad de la pared microbiana^{16,19}. Su mecanismo de acción tiene diferentes aspectos, primero interrumpe la integridad de la membrana celular microbiana al unirse a fosfolípidos y aumenta la permeabilidad, provocando la lisis celular. Además, inhibe la síntesis de ergosterol en hongos, componente crítico para su pared celular; y actúa como prooxidante, generando estrés oxidativo en microorganismos sensibles^{20,21}. Además, el geranal exhibe un efecto sinérgico con otros componentes minoritarios del aceite, como el citral, potenciando su espectro antimicrobiano¹⁷. Esta sinergia es relevante en formulaciones cosméticas, donde la combinación de metabolitos secundarios puede superar la resistencia microbiana. De hecho, un estudio reciente demostró que mezclas de geranal y citral proporcionaron evidencia sólida de que la actividad fungicida aguda de estos compuestos contra las células de *Saccharomyces* implica la pérdida de la integridad de la membrana y la pared celular, lo que resulta en una muerte celular apoptótica/necrótica dependiente de la dosis²⁰.

El AE de jengibre ha demostrado actividad antimicrobiana en diversos estudios científicos. En la investigación realizada por Alberca-Torres & Dilas-Castillo²² confirmaron su eficacia antimicótica contra *Candida albicans*, mientras que otros trabajos han documentado su capacidad para inhibir el crecimiento de *Colletotrichum sp.*²³. Adicionalmente, se ha reportado su efecto inhibitorio contra bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*²⁴, destacando su amplio espectro de acción. Diversos estudios han demostrado que el AE de jengibre presenta una composición química compleja y variable, donde se han identificado diferencias significativas en sus componentes mayoritarios

dependiendo de factores como la variedad botánica, condiciones de cultivo y método de extracción. Los análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) han reportado al zingibereno como componente principal en concentraciones que varían entre 8,6 y 24,1%^{25,26}. Sin embargo, otras investigaciones han encontrado al β-pineno como metabolito dominante (44,9%) en ciertos ecotipos, lo que muestra una notable variabilidad quimiotípica²⁷. Esta diversidad composicional podría explicar las diferencias en la actividad antimicrobiana reportada en la literatura, aunque en todos los casos se mantiene un efecto inhibitorio contra microorganismos contaminantes. Los sesquiterpenos como el zingibereno, monoterpenos y el β-pineno han demostrado capacidad para interactuar con las membranas celulares microbianas, aunque sus mecanismos específicos de acción aún requieren mayor caracterización²⁸.

La actividad antimicrobiana del AE de canela amazónica también ha sido validada en estudios previos, destacando su eficacia contra diversos microorganismos^{26,27}. Además, investigaciones recientes han demostrado su particular efectividad contra hongos fitopatógenos de importancia agroindustrial, mostrando una inhibición superior al 90% en el crecimiento de *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger*²⁸. La acción antifúngica observada se atribuye fundamentalmente a la presencia del cinnamaldehído, compuesto mayoritario que constituye entre el 16,62% y 30,69% de la composición del aceite esencial^{29,30}. Este aldehído aromático ha demostrado en múltiples estudios una buena capacidad antimicrobiana, particularmente contra cepas fúngicas de importancia industrial y cosmética^{31,32,33}. Su mecanismo de acción implica la desnaturización de proteínas de membrana la peroxidación lipídica y la inhibición de la biosíntesis de ergosterol, generando un efecto biocida de amplio espectro. La estabilidad química de este compuesto en emulsiones, sumada a su baja toxicidad dérmica reportada, lo posicionan como un activo ideal para garantizar la integridad microbiológica de productos de cuidado personal durante su vida útil.

Conclusiones

Los aceites esenciales estudiados demostraron un potente efecto antimicrobiano, inhibiendo eficazmente el crecimiento de microorganismos mesófilos, hongos y levaduras en las cremas cosméticas formuladas. Este hallazgo no solo valida su uso como conservantes naturales, sino que abre nuevas posibilidades para el desarrollo de cosméticos más seguros y sostenibles.

Referencias

1. N Gupta, H Patelet, J Taylor, J Borin, K Jacobsohn, S Kenfield, *et al.* Systematic review of the impact of a plant-based diet on prostate cancer incidence and outcomes. *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, 25, 444–452 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41391-022-00553-2>
2. D Sousa, R Oliveira, R Amorati, H Elshabrawy, R Castro, D Bezerra, *et al.* Essential Oils: Chemistry and Pharmacological

- Activities. **Biomolecules**, **13**, 1144 (2023). <https://doi.org/10.3390/biom13071144>
3. V Kumar, R Islam, R Shams, A Dar. A comprehensive review on the application of essential oils as bioactive compounds in Nano-emulsion based edible coatings of fruits and vegetables. **Appl. Food Res.**, **2**, 100042 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100042>
4. R Matera, E Lucchi, L Valgimigli. Plant Essential Oils as Healthy Functional Ingredients of Nutraceuticals and Diet Supplements: A Review. **Molecules**, **28**, 901 (2023). <https://doi.org/10.3390/molecules28020901>
5. F Islam, F Saeed, A Imran, U Shehzadi, R Ali, F Nosheen, *et al.* Bio-preservatives and essential oils as an alternative to chemical preservatives in the baking industry: a concurrent review. **J. Food Sci. Technol.**, **61**, 609–620 (2024). <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05762-8>
6. M Sayasneh, A Ruban, O Kovalevska, N Khokhlenkova. Selection of antimicrobial substances in the rectal cream composition containing thick extract of carrot and rutin. **Ann. Mechanikov's Inst.**, **13**, 13–17 (2024). <https://doi.org/10.5281/zenodo.10838408>
7. A Khan, S Ullah, M Khalid, B Uzair, F Menaa, V Braga. Fabrication, Physical Characterizations, and In Vitro, In Vivo Evaluation of Ginger Extract-Loaded Gelatin/Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogel Films Against Burn Wound Healing in Animal Model. **AAPS PharmSciTech**, **21**, 1–10 (2020). <https://doi.org/10.1208/s12249-020-01866-y>
8. R Falcon, S Fahrenbach, J Feliciano, B Micah, A Dida, E Domingo, *et al.* Antifungal properties of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf—A scoping review. **South African J. Bot.**, **170**, 425–442 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.05.042>
9. N Rasool, Z Saeed, M Pervaiz, F Ali, U Younas, R Bashir, *et al.* Evaluation of essential oil extracted from ginger, cinnamon and lemon for therapeutic and biological activities. **Biocatal. Agric. Biotechnol.**, **44**, 102470 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.biab.2022.102470>
10. A Ibiapina, L da Silva, B Barros, B Catarina, G Aparecida, A Alves. Essential and fixed oils from Amazonian fruits: properties and applications. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, **62**, 8842–8854 (2022). <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1935702>
11. M Gonçalves, D Gonçalves, O Sampaio, A Meirelles, E Batista, C Sampaio, *et al.* Valorization of Amazonian buriti (*Mauritia flexuosa*) semi-defatted residual cake as a circular economy strategy: A techno-economical analysis. **Ind. Crops Prod.**, **226**, 120629 (2025). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.120629>
12. M Alshehrei. Microbiological Quality Assessment of Skin and Body care Cosmetics by using Challenge test. **Saudi J. Biol. Sci.**, **31**, 103965 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103965>
13. N Thuy, H Ha, N Tai. Effect of emulsifiers on viscosity and emulsion stability of the cocoa powder mixture. **Food Res.**, **4**, 2306 - 2312 (2020). [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).377](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).377)
14. B Soulaimani. Comprehensive Review of the Combined Antimicrobial Activity of Essential Oil Mixtures and Synergism with Conventional Antimicrobials. **Nat. Prod. Commun.**, **20**, 1–22 (2025). <https://doi.org/10.1177/1934578X251328241>
15. Reglamento Técnico Andino sobre Especificaciones Técnicas Microbiológicas de Productos Cosméticos. https://www.mincetur.gob.pe/reglamentostecnicos/inventario_reglamentos_tecnicos/inventario.html?c=I_reglamentos_tecnicos_andinos. Archivado: 21/10/2022
16. S Dangol, D Kumar, P Kumar, S Maharjan, A Poudel, R Satyal, *et al.* Essential Oil Composition Analysis of *Cymbopogon* Species from Eastern Nepal by GC-MS and Chiral GC-MS, and Antimicrobial Activity of Some Major Compounds. **Molecules**, **28**, 543 (2023). <https://doi.org/10.3390/molecules28020543>
17. R Sprea, L Fernandes, T Pires, R Calhelha, P Rodrigues, J Amaral. Volatile Compounds and Biological Activity of the Essential Oil of *Aloysia citrodora* Palau: Comparison of Hydrodistillation and Microwave-Assisted Hydrodistillation. **Molecules**, **28**, 4528 (2023). <https://doi.org/10.3390/molecules28114528>
18. N Al-Maharik, Y Salama, N Al-Hajj, N Jaradat, N Thaer, I Warad, *et al.* Chemical composition, anticancer, antimicrobial activity of *Aloysia citriodora* Palau essential oils from four different locations in Palestine. **BMC Complement. Med. Ther.**, **24**, 1–13 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04390-9>
19. M Maleki, Z Hadian, K Abdi, P Koohy-Kamaly, F Bahmanyar. Study of the Physicochemical Properties and Antimicrobial Activities of Nanoparticles Containing β-Cyclodextrin and Geranial. **J. Nanostructures**, **11**, 189–201 (2021). <https://doi.org/10.22052/JNS.2021.01.020>
20. J Scariot, M Pansera, A Delamare, S Echeverrigaray. Citral and geraniol induce necrotic and apoptotic cell death on *Saccharomyces cerevisiae*. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, **37**, 1–10 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03011-8>
21. P Gupta, H Gupta, K Poluri. Geraniol eradicates *Candida glabrata* biofilm by targeting multiple cellular pathways. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, **105**, 5589–5605 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11397-6>
22. E Alberca-Torres, R Dilas-Castillo. Evaluación del Potencial Antimicótico del Aceite Esencial de *Zingiber Officinale* frente a cepas de *Candida albicans*. Estudio in Vitro. **Rev. Científica Epistemia**, **8**, 1–12 (2024). <https://doi.org/10.26495/erc.2785>
23. A Cordero, L Anaya, J Gomez. Inhibición de *Colletotrichum gloeosporioides* en cultivos de nañe en el Caribe colombiano usando aceites esenciales de *Curcuma longa* y *Zingiber officinale*. **Cienc. en Desarrollo**, **12**, 1–12 (2021). <https://doi.org/10.19053/01217488.v12.n1.2021.10510>
24. K Ahón-Ríos, S Iglesias-Osoro. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Zingiber officinale* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 MRSA. **Med. Natur.**, **15**, 23–26 (2021). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7998124>
25. S Zhang, L Zhang, M Yu, D Luo, S Chen, W Liu, *et al.* Essential oils of *Zingiber officinale*: Chemical composition, in vivo alleviation effects on TPA induced ear swelling in mice and in vitro bioactivities. **Front. Nutr.**, **9**, 1043175 (2022). <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1043175>
26. D Kumar, S Dangol, A Rokaya, S Maharjan, P Kumar, J Rana, *et al.* Quality Assessment of *Zingiber officinale* Roscoe Essential Oil from Nepal. **Nat. Prod. Commun.**, **17**, (2022). <https://doi.org/10.1177/1934578X221080322>
27. D Tuan, D Dinh, T Nam, T Viet, D viet, N Trong, *et al.* Chemical Composition of Essential Oil from the *Zingiber monophyllum* (Zingiberaceae) from Vietnam. **J. Essent. Oil Bear. Plants**, **25**,

987–993 (2022). <https://doi.org/10.1080/0972060X.2022.2132835>

28. H Li, X Song, H Li, L Zhu, S Cao, J Liu. Sesquiterpenes and Monoterpene from the Leaves and Stems of *Illicium simonsii* and Their Antibacterial Activity. **Molecules**, **27**, 1115 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27031115>

29. L Sosa, Therapeutic Applications of Essential Oils from Native and Cultivated Ecuadorian Plants: Cutaneous Candidiasis and Dermal Anti-Inflammatory Activity. **Mol**, **28**, 5903 (2023). <https://doi.org/10.3390/molecules28155903>

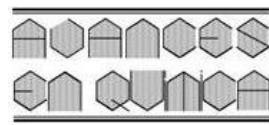
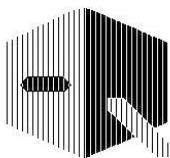
30. M Rambo, K Daian, L Jacobi, D Flores, S Augusto, A Meneguello, *et al.* Biological activities of essential oils from six genotypes of four *Ocotea* species. **Brazilian J. Pharm. Sci**, **58**, e181097 (2022). <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e181097>

31. L Scalvenzi, B Yaguache-Camacho, P Cabrera- Martínez, A Guerrini. Actividad antifúngica in vitro de aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. y *Piper aduncum* L. **Bioagro**, **28**, 039–046 (2016). https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612016000100005&script=sci_abstract&tlang=pt

32. P Noriega, T Mosquera, E Paredes, M Parra, M Zappia M Herrera, *et al.* Antimicrobial and antioxidant bioautography activity of bark essential oil from *Ocotea quixos* (Lam.) kosterm. **JPC - J. Planar Chromatogr. - Mod. TLC**, **31**, 163–168 (2018). <https://doi.org/10.1556/1006.2018.31.2.11>

33. M Friedman. Chemistry, Antimicrobial Mechanisms, and Antibiotic Activities of Cinnamaldehyde against Pathogenic Bacteria in Animal Feeds and Human Foods. **J. Agric. Food Chem**, **65**, 10406–10423 (2017). <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04344>

34. J Sim, M. Khazandi, H Pi, H Venter, D Trott, P Deo. Antimicrobial effects of cinnamon essential oil and cinnamaldehyde combined with EDTA against canine otitis externa pathogens. **J. Appl. Microbiol**, **127**, 99–108 (2019). <https://doi.org/10.1111/jam.14298>



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.

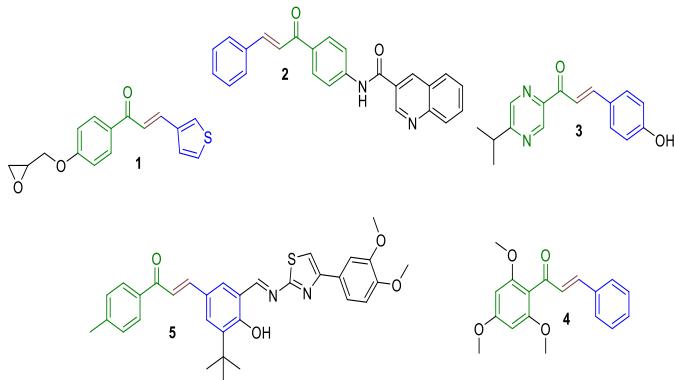


Fig. 1: Compuesto de tipo chalconas con actividades biológicas.

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.

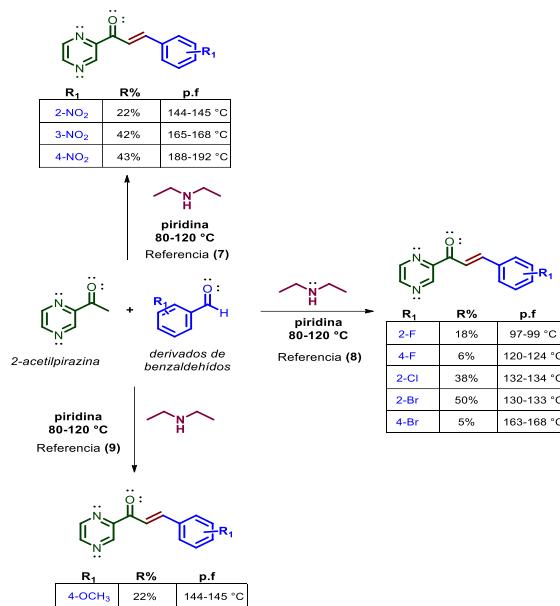


Fig. 2: Ruta sintética para la obtención de análogos de chalcona a partir de 2-acetilpirazina.

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

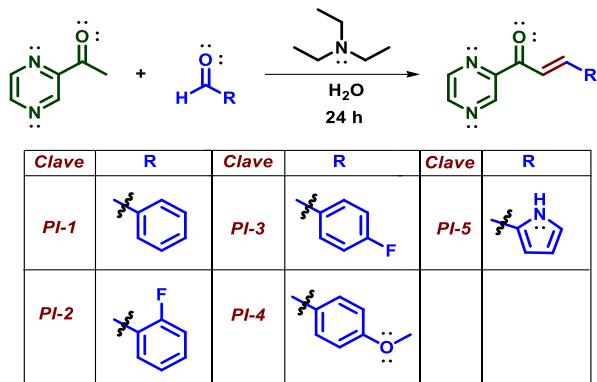


Fig. 3: Procedimiento general para la obtención de **PI-1** a **PI-5**.

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.

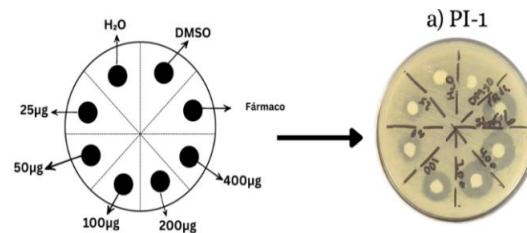


Fig. 4: Esquema general de la distribución de los sensidiscos.

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.

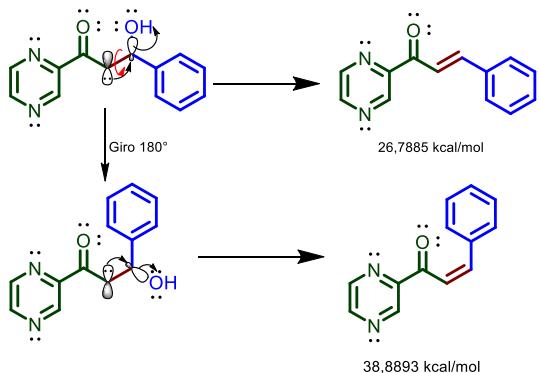
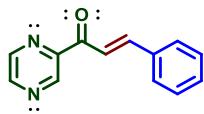
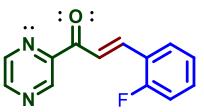


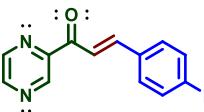
Fig. 5: E1cB para la formación de α,β -insaturado.



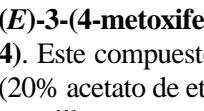
(*E*)-3-fenil-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (PI-1). Este compuesto se purificó por cromatografía en columna (20% acetato de etilo en hexano) para obtener un sólido verde-amarillo con un rendimiento del 75%, p.f. 106-108°C. **RMN ¹H** ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 9,38 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz); 8,77 (d, 1H, *J* = 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.



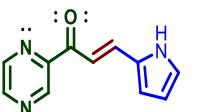
(*E*)-3-(2-fluorofenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (PI-2). Este compuesto se purificó por cromatografía en columna (20% acetato de etilo en hexano) para obtener un sólido verde-amarillo con un rendimiento del 72%, p.f. 108-110°C. **RMN ¹H** ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 9,37 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz); 8,77 (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. 106-108°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), 8,18 (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.

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 intermedio 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.

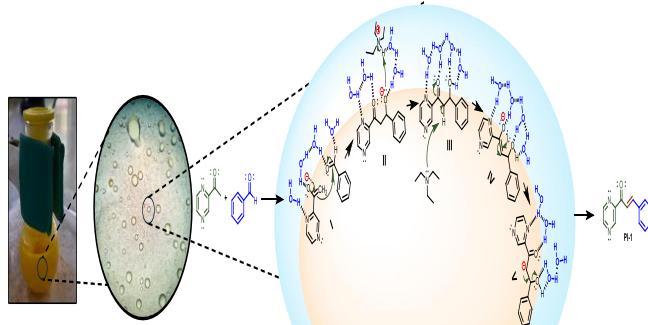
Los resultados observados en este proyecto, nos indica que la reacción presentada puede clasificarse como una reacción tipo 3a, también denominada “sobre-agua”. Este subtipo describe sistemas heterogéneos en los cuales los sustratos son insolubles en agua, pero la base orgánica es miscible con el medio, 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.

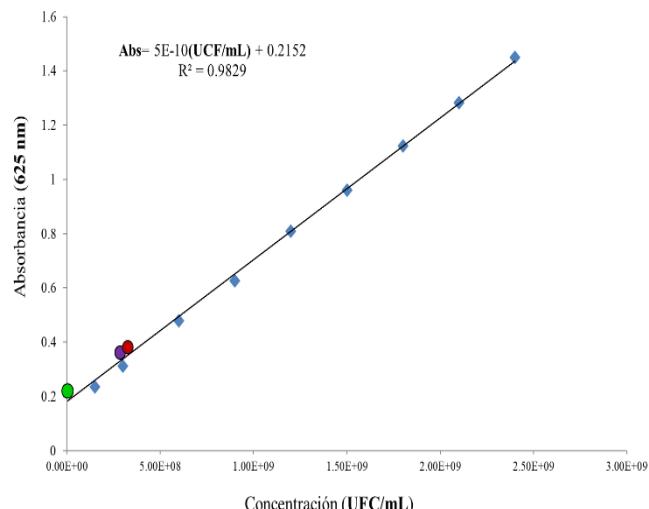
El aislamiento se realizó en agar Papa Dextrosa (PDA), permitiendo el crecimiento de colonias con un aspecto cremosas, lisas y color blanco, morfología típica de *C. albicans*. En el medio EMB se observaron colonias de color rosado pálido, concordantes con lo descrito en la ficha técnica del medio para 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

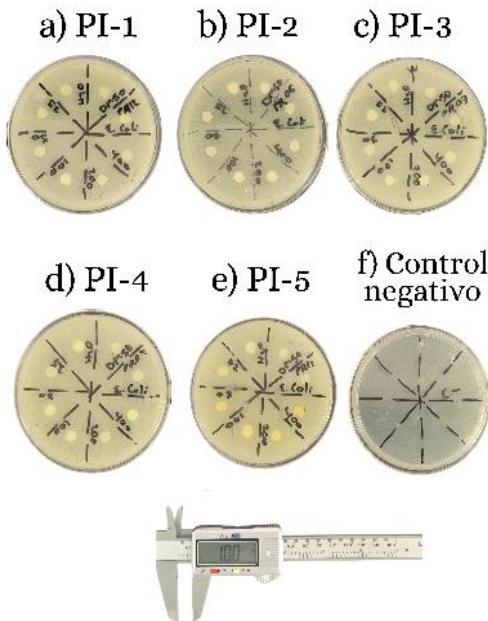
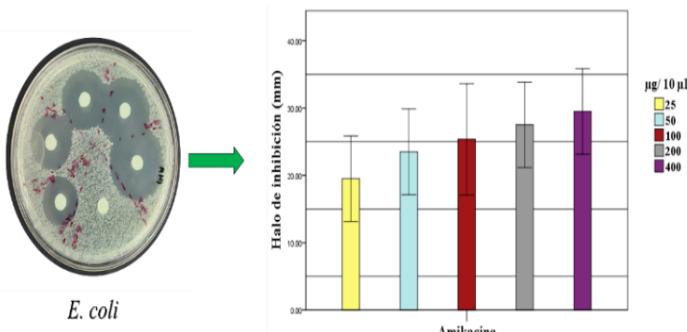
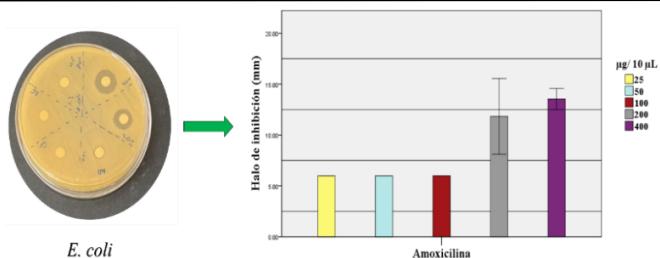


Fig. 7. (a-e) Efecto antibacteriano de los compuestos **PI-1** a **PI-5** frente a *E. coli*, f) placa sin crecimiento.



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*.

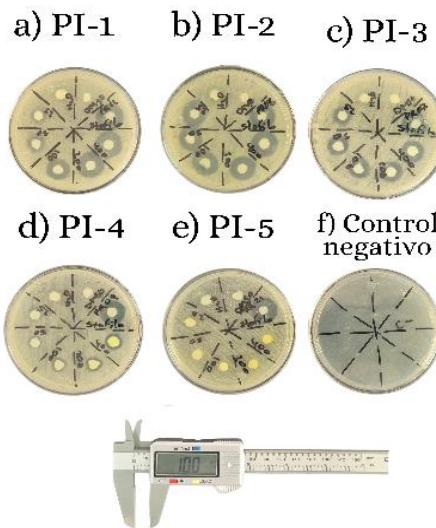


Fig. 8: (a-e) Efecto antibacteriano de los compuestos **PI-1** a **PI-5** frente a *S. aureus*, f) placa sin crecimiento.

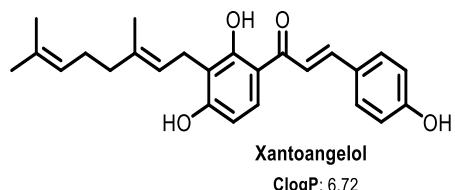


Fig. 9: Composición estructural y su valor de ClogP del xantoangelol.

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.

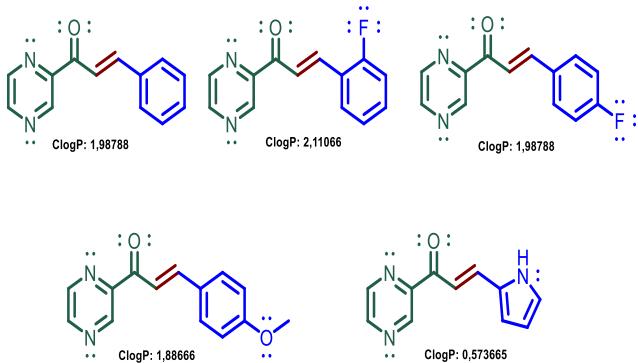


Fig. 10: Valores de ClogP de los compuestos **PI-1** a **PI-5**, calculados por el software ChemDraw Perkin Elmer.

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

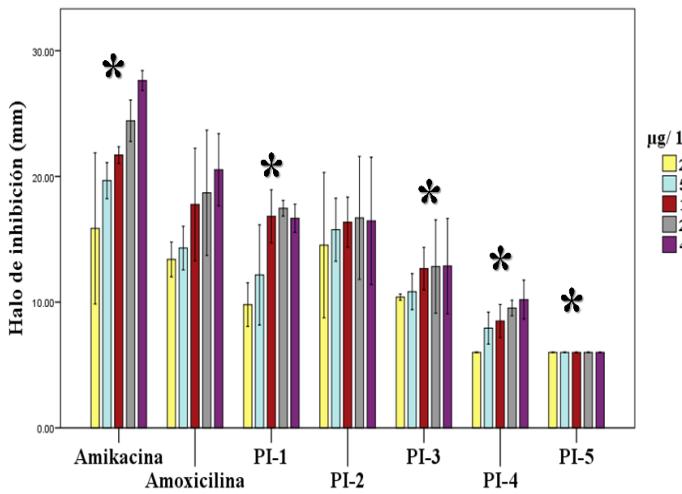
actividad bacteriana favorable, con un comportamiento dosis-dependiente bien definido, iniciando con halos cercanos a 15 mm a 25 µg y alcanzando valores de 27-28 mm en la dosis más alta.

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.

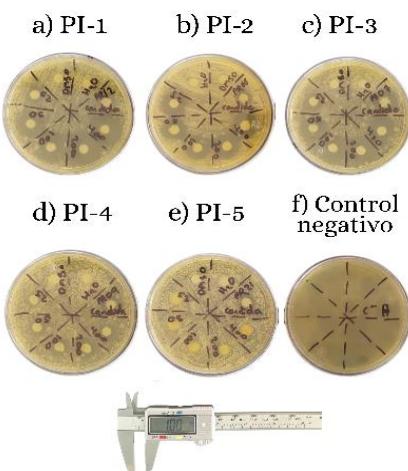
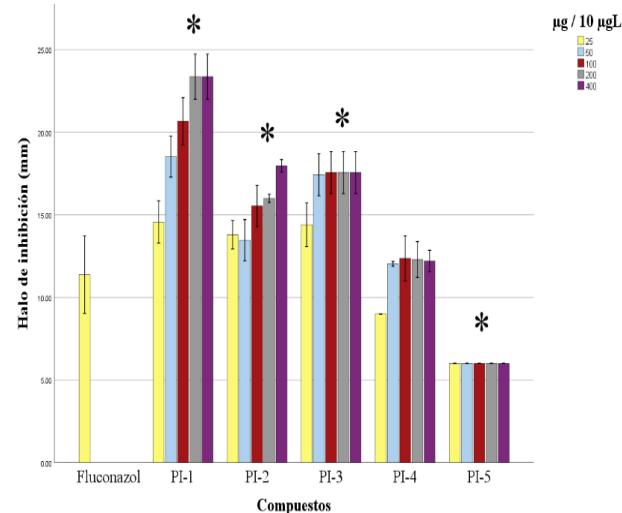


Fig. 11: (a-e) Efecto antifúngico de los compuestos **PI-1** a **PI-5** frente a *C. albicans*, f) placa sin crecimiento.



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.

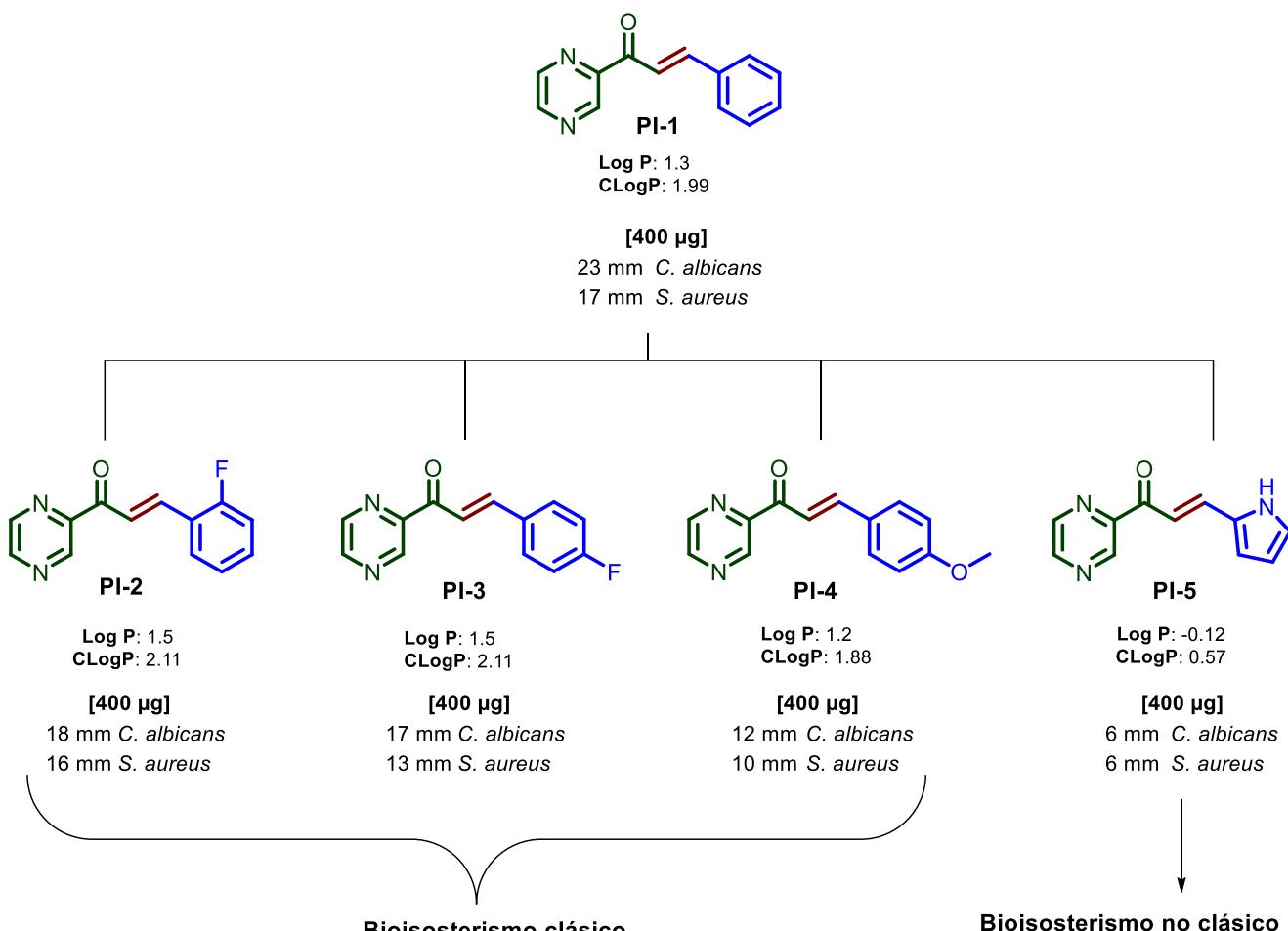


Fig. 12. Comparación de la actividad antifúngica y antibacteriana⁴⁰.

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*.

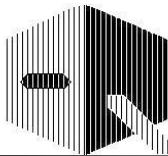
Conflicto de intereses

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* fármacorresistente. **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.eimc.2014.11.014>.
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/10.1021/330p4002565>.



Síntesis y caracterización estructural de un complejo de cobre(II) con imidazol y 5-metil-5-fenil-hidantoína

Jesús A. Rodríguez¹, Jesús M. Rojas¹, Gerson Márquez², Gerzon E. Delgado^{1*}

¹⁾ Laboratorio de Cristalografía, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela

²⁾ Instituto de Energías Renovables, Universidad Tecnológica del Perú, Arequipa 04001, Perú

(*) gerzon@ula.ve

Recibido: 13/09/2025

Revisión 1: 17/11/2025

Revisión 2: 27/11/2025

Aceptado: 03/12/2025

Resumen

En este trabajo se presenta la síntesis y caracterización del complejo 5-metil-5-fenil-hidantoína-imidazol-cobre(II) hidratado. El material cristalizado se caracterizó por espectroscopía infrarroja, análisis termogravimétrico y difracción de rayos-X. Se analizaron las bandas de absorción características de los grupos funcionales presentes por espectroscopía infrarroja permitiendo caracterizar tanto el ligante como el complejo. El análisis térmico permitió confirmar la presencia de agua de red en la estructura del complejo de Cu(II). El patrón de difracción en polvo confirma la formación del complejo. La estructura cristalina del complejo se determinó mediante la técnica de difracción de rayos-X en monocristal. El complejo 5-metil-5-fenil-hidantoína-imidazol-cobre(II) hidratado cristaliza en el sistema monoclinico con grupo espacial $P2_1/c$. La geometría alrededor del átomo de Cu(II) es planar cuadrada. El empaquetamiento cristalino se rige por enlaces de hidrógeno del tipo O--H···O y N--H···O, en donde se involucra la molécula de agua de red, formando patrones de enlace descritos por los grafos $R^2_2(10)$ y $C^2_2(6)$.

Palabras clave: hidantoínas; complejos de cobre(II); difracción de rayos-X

Abstract

Synthesis and characterization of a copper (II) complex with hydantoin and imidazole. In this work, we present the synthesis and characterization of the complex 5-methyl-5-phenyl-hydantoin-imidazole-copper(II) hydrate. The obtained product was characterized by IR spectroscopy, thermogravimetric analysis, and X-ray diffraction. The characteristic absorption bands of the functional groups present were analyzed by infrared spectroscopy, allowing the characterization of both the ligand and the complex. The thermal analysis confirmed the presence of network water in the structure of the complex. The powder X-ray pattern confirms the complex formation. The crystalline structure of the complex was determined by the single-crystal X-ray diffraction technique. The 5-methyl-5-phenyl-hydantoin-imidazole-copper(II) hydrated complex crystallizes in the monoclinic system with space group $P2_1/c$. The geometry around the Cu(II) atom is square planar. The crystalline packing is ruled by hydrogen bonds of the type O--H···O and N--H···O, where the network water molecule is involved, forming bond patterns described by the graphs $R^2_2(10)$ and $C^2_2(6)$.

Keywords: Hydantoins; copper (II) complexes; X-ray diffraction

Introducción

Los compuestos imidazolidina-2,4-diona, conocidos como hidantoínas, son heterociclos de cinco miembros con un anillo imidazol que posee grupos ceto en las posiciones 2 y 4, formando un núcleo altamente reactivo con cuatro posibles puntos de sustitución. El número de posibles sitios para sustituciones conduce a una diversidad en la actividad biológica, lo que convierte a los derivados de hidantoína en objetivos sintéticos atractivos principalmente debido a la variedad de propiedades bioquímicas y farmacológicas que poseen^{1,2}. Algunas de las hidantoínas más representativas son aquellas con disustitución en la posición 5 como son la fenitoína 5,5-difenil-hidantoína, la mefenitoína 3-metil-5-etil-5-fenil-hidantoína, y la fosfenoína ácido 5,5-difenil-hidantoínametoxifosfónico. Estos compuestos son conocidos por sus propiedades anti convulsionantes y

otras aplicaciones en farmacología tales como agentes antifúngicos, herbicidas, antiinflamatorios y anti-HIV, las cuales dependen de la sustitución de la posición 5 en el anillo hidantoíco^{3,4}. Además, también han sido evaluados por sus propiedades anticancerígenas⁵.

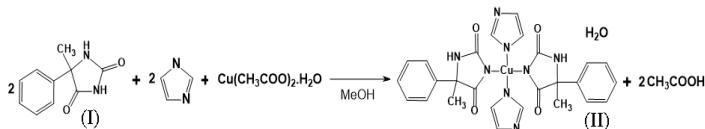
Las hidantoínas también pueden coordinarse con metales de transición formando complejos metálicos con excelentes actividades biológicas. Los diferentes estudios sobre la química de coordinación de los derivados de hidantoína han demostrado que pueden coordinarse con metales de transición en forma mono o bidentadas⁶⁻⁹. También pueden actuar como ligante puente entre dos iones metálicos, en los que unen varias cadenas y forman un polímero de coordinación unidimensional¹⁰. Entre los diversos compuestos con iones de metales de transición y derivados de hidantoína reportados, los complejos de

Pd(II) y Pt(II) muestran actividad antitumoral contra diferentes tumores celulares¹¹⁻¹².

En investigaciones anteriores relacionadas con el estudio estructural de pequeñas moléculas biológicamente activas con potenciales actividades farmacéuticas, se han sintetizado y caracterizado diferentes derivados hidantoínicos¹³⁻¹⁹. Como continuación de esta línea de investigación, en este trabajo se presenta la preparación y caracterización de un nuevo complejo de cobre(II) partiendo del imidazol y la 5-metil-5-fenil-hidantoína.

Parte experimental

La hidantoína 5-metil-5-fenilhidantoína se sintetizó utilizando el método de Bucherer-Bergs y se recristalizó en metanol caliente para su análisis posterior¹³. La síntesis del compuesto de coordinación de cobre(II) se realizó mezclando 0.50 mmol de la hidantoína, 0.50 mmol del imidazol (Aldrich 99%), junto con 0.25 mmol de la sal metálica $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Aldrich 99%), empleando como disolvente 5.0 mL de metanol (Aldrich 99,8%). A la disolución resultante se le ajustó el pH en 8 manteniendo constantes la agitación y la temperatura de 60 °C. La disolución se evaporó hasta la mitad del disolvente y por último se dejó reposar a temperatura ambiente hasta la aparición de cristales de color azul claro y con un tamaño comprendido entre 0.3-0.5 mm para ser resueltos por cristalografía de rayos-X en monocristal. El esquema 1 muestra la síntesis del compuesto **II**.



Esquema 1: Síntesis del compuesto de cobre **II** partir de la 5-metil-5-fenil-hidantoína **I**.

Las temperaturas de fusión se midieron en un aparato Electothermal modelo 9300. Los espectros infrarrojos FT-IR se midieron, utilizando pastillas de KBr, en un equipo Perkin-Elmer 1600. El análisis térmico se realizó en un equipo Perkin-Elmer TGA-7. El termograma para el compuesto **II** se obtuvo con un programa de calentamiento de 10 °C/min, bajo un flujo de N_2 de 50 ml/min, con una masa inicial de 4.82 mg. La estructura cristalina de **II** se determinó utilizando difractometría de monocristal. La toma de datos de intensidad, a temperatura ambiente, se realizó en un difractómetro Bruker Smart Apex II equipado con radiación de $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Los marcos de difracción se integraron utilizando el software APEX-III y los datos se corrigieron por efectos de absorción y polarización con SADABS. Los datos de difracción de rayos-X en muestra policristalina se midieron en un difractómetro con goniómetro Philips PW1050/25 utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$). Los mismos se midieron en el rango de 5-65° en 2θ , con un tamaño de paso de 0.02° y un tiempo de conteo de 10s por paso. Se utilizó silicio como estándar externo. Las Figuras se generaron utilizando el programa Diamond²⁰. Para el análisis de las interacciones intermoleculares se utilizó el programa Platon²¹.

Resultados y discusión

Las temperaturas de fusión medidas en el fusiómetro para los reactivos fueron: **I** 195-197 °C, imidazol 89-91 °C, y **II** 290-292 °C. Estas diferencias indican la reacción de ambos reactivos y la probable formación del complejo de cobre.

Espectroscopía infrarroja

En la figura 1 se muestran los espectros infrarrojos para **I** y **II**. Se observan claramente las señales generadas por los grupos funcionales presentes en ambos compuestos. En el espectro de **I** se observan las bandas vibracionales que corresponden a la tensión del grupo N-H, desdoblada en dos señales en 3283 y 3207 cm^{-1} . También aparecen las bandas de vibración de tensión del enlace C=O en 1771 y 1717 cm^{-1} , y la señal de flexión débil del grupo N-H con frecuencia de 1494 cm^{-1} . En el espectro de **II** la principal diferencia radica en que desaparece la banda de tensión N-H del grupo imido y sólo se observa la banda fuerte que corresponde a la tensión del grupo N-H situada fuera de las bandas de los grupos carbonilos del anillo hidantoico con una frecuencia de 3212 cm^{-1} . Esto indica que el nitrógeno de imida coordina al centro metálico cobre(II). Además, se observa una banda en 3451 cm^{-1} , solapada con la señal de tensión del grupo N-H, que corresponde a la tensión O-H de una molécula de agua presente en el compuesto. También se aprecian otras bandas de vibración de tensión del enlace C=O en 1705 y 1647 cm^{-1} , pertenecientes a los carbonilos que forman parte del grupo imida; así como la señal de flexión con intensidad media del grupo N-H con frecuencia de 1492 cm^{-1} . Las señales en 1325 y 1070 cm^{-1} corresponden al enlace C-N debidas a la coordinación del metal con el ligante.

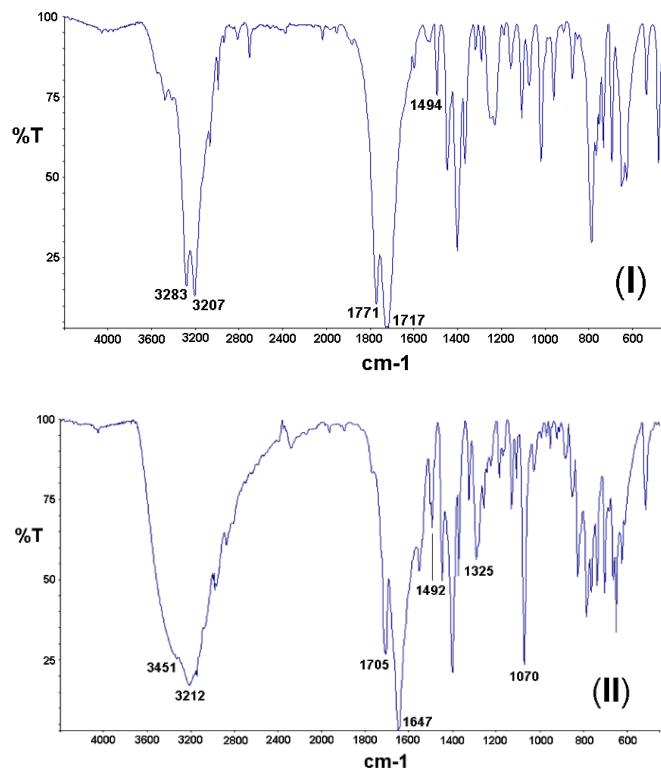


Fig. 1: Espectros infrarrojos del ligante **I** y el complejo de cobre **II**.

Análisis térmico

El termograma medido para **II** se muestra en la figura 2. Las curvas del análisis termogravimétrico (ATG) y su derivada (DATG) indican que la descomposición térmica de **II** ocurre en dos etapas. Se evidencia que en 176 °C se produce una pérdida de masa de 11,6 % en peso que corresponde a una molécula de agua producto de la deshidratación. La segunda pérdida de masa, 88,4 % en peso, aparece en 291 °C y se atribuye a la fusión y descomposición de **II**. Este resultado concuerda con la temperatura medida en el fusiómetro. Se puede inferir que el agua juega un papel estabilizador en la estructura cristalina del compuesto en estudio dado que una vez desprendida la molécula de agua el complejo empieza a descomponerse. Por tanto, en el complejo de Cu(II) existe agua incorporada a la estructura cristalina y este resultado concuerda con el obtenido mediante espectroscopía infrarroja.

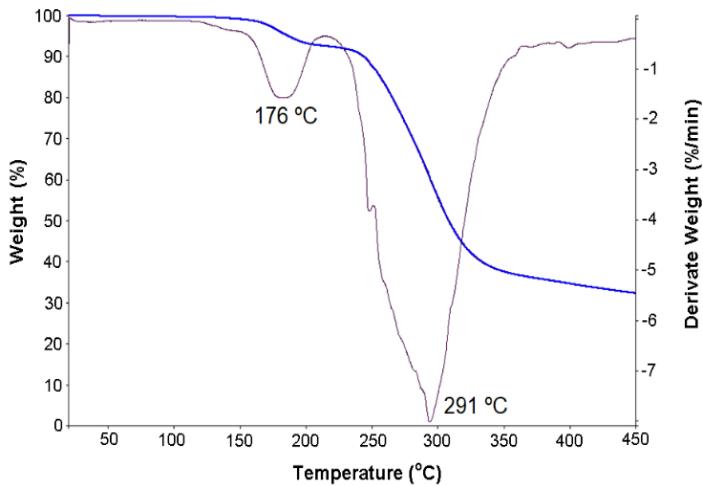


Fig. 2: Termogramas (ATG-DATG) del complejo **II**.

Difracción de rayos-X de monocristal

La estructura cristalina de **II** se determinó por métodos directos empleando el programa SHELXS²² y se refinó mediante cálculos de mínimos cuadrados de matriz completa utilizando el programa SHELXL²³. Los átomos de hidrógeno unidos a los nitrógenos y al oxígeno del agua se ubicaron en el mapa de diferencias de Fourier. Los demás átomos unidos a los carbonos se colocaron en posiciones calculadas y tratados usando un modelo rígido con distancias C-H 0.96-0.98 Å y $U_{iso}(H) = 1,2 U_{eq}(C)$. Los datos cristalográficos aquí reportados se depositaron en la base de datos CSD (2364604)²⁴. En la tabla 1 se muestran los

datos cristalográficos del complejo **II**.

La figura 3 muestra la unidad asimétrica de **II**. El ligante, 5-metil-5-fenilhidantoína, cristaliza en un grupo espacial quiral $P2_1$ ¹³, lo cual constituye un ejemplo para el estudio de la óptica no lineal en compuestos orgánicos. En este caso, el empaquetamiento cristalino se encuentra gobernado por enlaces intermoleculares tipo enlace de hidrógeno N–H···O mostrados en la tabla 2, reforzados por enlaces intramoleculares C–H···O y C–H···N. La estructura se encuentra estabilizada por la formación de anillos de 12 miembros formados por tres moléculas de hidantoína (figura 4), descritos por el grafo (graph-set) $R^3_3(12)$ ²⁵. También se forman cadenas paralelas al eje *b*, unas cadenas lineales con grafos C(4) y C(5) y otras cadenas sinusoidales descritas por el grafo $C^2_2(8)$ ¹³.

El compuesto **II** cristaliza en el sistema monoclínico $P2_1/c$ y su unidad asimétrica consta de una molécula de la hidantoína 5-metil-5-fenilhidantoína, una molécula de imidazol, un átomo de Cu(II), y se confirma la aparición de una molécula de agua de cristalización. El átomo de cobre está apostado sobre un centro de inversión, en una posición especial, de manera que este centro de inversión genera la otra mitad del complejo como se muestra en la Figura 3. La geometría alrededor del átomo central de Cu(II) es planar cuadrada con una coordinación [CuN₄] formada por dos ligantes hidantóicos y dos ligantes imidazol. Para verificar la geometría tetraédrica, se aplicó la definición de Yang-Powell-Houser²⁶ según la cual se establece un parámetro $\tau_4 = 360^\circ - (\alpha + \beta)/360^\circ - 2\theta$, donde α y β son los ángulos de mayor valor que rodean el átomo central y 2θ es el ángulo tetraédrico ideal (109.47°). La geometría será tetraédrica para valores que tiendan a $\tau_4 = 1$ y planar cuadrada para valores que tiendan a $\tau_4 = 0$. El valor calculado para **II** fue de $\tau_4 = 0.135$. En la tabla 2 se muestran las distancias y ángulos de enlace más relevantes de **II**.

Se realizó una búsqueda en la base de datos CSD (ConQuest, versión 6.1 noviembre 2025)²⁴ y se encontraron 16 estructuras reportadas de complejos con hidantoínas conteniendo Cu(II) como centro metálico y diferentes aminas como segundo ligante. En 14 de los complejos se utilizó la 5,5-difenil-hidantoína y en los otros dos la 5,5-dimetil-hidantoína. En todas las estructuras la coordinación del Cu(II) es planar cuadrada, incluyendo un complejo 5,5-difenil-hidantoína-Cu(II)-imidazol hidratado²⁷. La estructura cristalina del compuesto **II** se rige por cuatro interacciones fuertes de enlaces de hidrógeno del tipo

Tabla 1. Información cristalográfica del complejo de cobre **II**.

Formula Química	C ₂₆ H ₃₀ N ₈ O ₆ Cu	Temperatura (K)	295
Peso fórmula	614,13	Z	2
Sistema cristalino	monoclínico	Pcalc (g/cm³)	1.477
Grupo espacial	$P2_1/c$ (Nº14)	μ (mm⁻¹)	0.847
a (Å)	8,564(3)	F(000)	638
b (Å)	9,613(2)	S (GoF)	1,1
c (Å)	17,074(4)	R(F²) [I > 2σ(I)]	0,0844
β (°)	100,76(2)	wR(F²) [I > 2σ(I)]	0,1235
V (Å³)	1380,9(7)		

O–H···O y N–H···O (tabla 3), entre las moléculas que conforman el complejo metálico. La figura 4 muestra los enlaces de hidrógeno con el patrón Ow–Hw···O presente en la estructura, descrito por el grafo de primer orden $R^2(10)$. Además, se puede apreciar un patrón de enlaces de hidrógeno que involucra al grupo de átomos N1–H1···Ow, y se describe con el grafo de segundo orden $C^2(6)$. De manera que la molécula de agua de red está involucrada en los cuatro enlaces de hidrógeno.

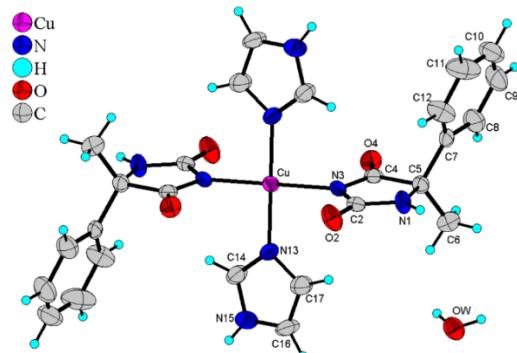


Fig. 3: Unidad asimétrica del complejo **II**.

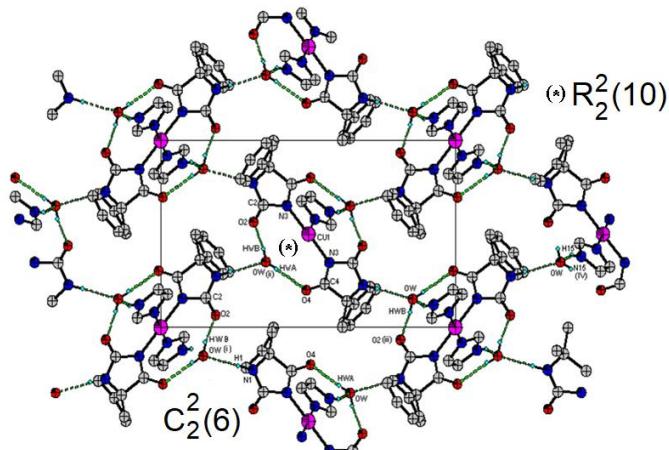


Fig. 4: Empaquetamiento cristalino de **II** mostrando los grafos formados.

Tabla 2. Distancias y ángulos de enlaces en la estructura de **II**.

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
Cu-N3	1,962(4)	N3-Cu-N13	89,5(2)
Cu-N13	2,008(4)	N3-Cu-N3a	180,0(2)
N3-C2	1,394(6)	N3-Cu-N13a	90,5(2)
N3-C4	1,339(7)	C2-N1-C5	112,3(5)
N13-C17	1,364(7)	Cu1-N3-C4	127,1(3)
N13-C14	1,311(6)	C2-N3-C4	108,9(4)
N15-C14	1,329(7)	Cu-N3-C2	124,0(3)
N15-C16	1,344(8)	Cu-N13-C17	127,3(3)
O2-C2	1,230(7)	C14-N13-C17	104,1(5)
O4-C4	1,221(6)	Cu1-N13-C14	128,5(4)

Tabla 3. Parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno presentes en **II**.

D–H···A	D–H (Å)	H···A (Å)	D···A (Å)	D–H···A (°)
N3–H1···Ow	0,86	2,08	2,917(7)	164(1)
N13–H13···Ow	0,86	2,05	2,858	156(1)
Ow–Hwa···O4	0,77(8)	2,03(8)	2,777(6)	165(2)
Ow–Hwb···O2	0,86(7)	1,84(7)	2,691(7)	171(2)

Difracción de rayos-X en muestras policristalinas (XRPD)

En la figura 5 se muestra el patrón de difracción de rayos-X en muestra policristalina medida para el complejo 5-metil-5-fenilhidantoína-Cu(II)-imidazol hidratado (**II**). En el difractograma del complejo no se detectó la presencia de los reactivos de partida. El patrón se indexó, utilizando el software Dicvol04²⁸, y cristaliza en una celda monoclinica con parámetros de celda unidad similares a los encontrados por difractometría de monocristal. Con el propósito de confirmar la simetría y los parámetros de celda unidad, se realizó un refinamiento *Le Bail*²⁹ utilizando el programa Fullprof³⁰. En la figura 5 se muestra el resultado del refinamiento donde se observa un buen ajuste entre los patrones observados y calculados. Las figuras de mérito del refinamiento del complejo son $R_{\text{exp}} = 6,5$; $R_p = 6,9$; $R_{\text{wp}} = 8,1$ y $S = 1,3$. Este resultado es un indicativo de la homogeneidad del producto cristalizado.

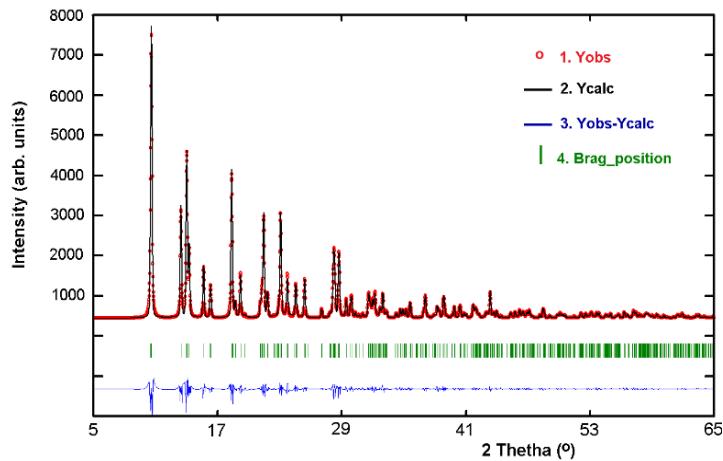


Fig. 5: Gráfica del refinamiento por el método de *Le Bail* observándose el buen ajuste entre los patrones observados y calculados en el complejo **II**.

Conclusiones

Se logró sintetizar el complejo 5-metil-5-fenilhidantoína-Cu(II)-imidazol hidratado a partir de la 5-metil-5-fenilhidantoína, imidazol y una sal de cobre(II). El complejo **II** se caracterizó mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), termogravimetría (ATG) y difracción de rayos-X de monocristal. Se analizaron las bandas de absorción características de los grupos funcionales presentes por espectroscopía infrarroja permitiendo identificar las diferencias entre el ligante y el complejo. Se confirmó la presencia de una molécula de agua de red en el complejo metálico de cobre(II) mediante el estudio termogravimétrico. El estudio mediante difracción de rayos-X en monocristal permitió determinar la estructura cristalina y molecular del complejo, confirmada por el patrón de difracción de polvo. El complejo 5-metil-5-fenilhidantoína-Cu(II)-imidazol hidratado cristaliza en el sistema monoclinico con grupo espacial $P2_1/c$, y presenta una geometría planar cuadrada alrededor del átomo central de cobre. El empaquetamiento cristalino se rige por interacciones intermoleculares de enlaces de hidrógeno del tipo O–H···O y N–H···O. El agua de red presenta una

geometría tetraédrica, involucrada como un grupo aceptor de hidrógeno en dos enlaces del tipo N--H···O y como donador de hidrógeno en dos enlaces del tipo O--H···O; como consecuencia de esto, el agua satisface completamente su capacidad aceptora y donadora de hidrógeno. Este estudio aporta la síntesis y caracterización estructural de un nuevo derivado metálico contenido hidantoínas, las cuales son estudiadas por su contribución a la química medicinal.

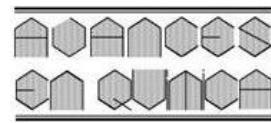
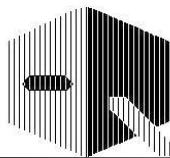
Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias al CDCHT-ULA.

Referencias

- SH Cho, SH Kim, D Shin, Recent applications of hydantoin and thiohydantoin in medicinal chemistry. *Eur. J. Med. Chem.*, **164**(2), 517-545 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.12.066>
- S Wadghane, R Bhor, G Shinde, M Kolhe, R Pooja. A Review on the some biological activities of the hydantoin derivatives. *J. Drug Delivery Ther.*, **13**(1), 171-178 (2023). <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v13i1.50904>
- JC Thenmozhiyal, PT Wong, WK Chui, Anticonvulsant activity of phenylmethylene hydantoins: a structure-activity relationship study. *J. Med. Chem.*, **47**(6), 1527-1535 (2004). <https://doi.org/10.1021/jm030450c>
- T Dyla, M Zygmunt, D Maciag, J Handzlik, M Bednarski, B Filipek *et al.* Synthesis and evaluation of in vivo activity of diphenylhydantoin basic derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, **39**(12), 10131027 (2004). <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2004.05.008>
- G Spengler, M Evaristo, J Handzlik, J Seryl, J Molnar, M Viveirosi *et al.* Biological activity of hydantoin derivatives on P-glycoprotein of mouse lymphoma cells. *Anticancer Res.*, **30**, 4867-4872 (2010). <https://ar.iuarjournals.org/content/30/12/4867.full>
- K Oyaizu, Y Ohtani, A Shiozawa, K Sugawara, T Saito, M Yuasa. Highly stable gold(III) complex with a hydantoin ligand in alkaline media. *Inorg. Chem.*, **44**, 6915-6917 (2005). <https://doi.org/10.1021/ic050515x>
- M Puszyńska-Tuszkanow, T Grabowski, M Daszkiewicz, J Wietrzyk, B Filip, G Maciejewska *et al.* Silver(I) complexes with hydantoins and allantoin: Synthesis, crystal and molecular structure, cytotoxicity and pharmacokinetics. *J. Inorg. Biochem.*, **105**(1), 17-22 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.09.013>
- A Bakalova, R Buyukliev, G Momekov. Synthesis, DFT calculations and cytotoxic investigation of platinum complexes with 3-thiolanespiro-5'-hydantoin and 4-thio-1*H*-tetrahydropyranespiro-5'-hydantoin. *J. Mol. Struct.*, **1091**, 118-124 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.02.055>
- MHC Dewi, H Syaima, S Wahyuningsih, WW Lestari, SB Rahrardjo. Synthesis and characterization of complex of copper(II) with hydantoin. *J. Phys.: Conf. Ser.*, **2556**, 012009 (2023). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2556/1/012009>
- L Vatannavaz, SJ Sabounchei, A Sedghi, R Karamian, SHM Fa rida, N Rahmani. New nickel, palladium and platinum complexes of hydantoin derivative: Synthesis, characterization, theoretical study and biological activity. *Polyhedron*, **181**, 114478 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.poly.2020.114478>
- P Marinova, M Marinov, M Kazakova, Y Feodorova, P Penchev, V Sarafian *et al.* Synthesis and in vitro activity of platinum(II) complexes of two fluorenylspirohydantoins against a human tumour cell line. *Biotechnol. Biotec.*, **28**(2), 316-321 (2014). <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.910363>
- MN Živanović, JV Košarić, B Šmit, DS Šeklić, RZ Pavlović, SD Marković. Novel seleno-hydantoin palladium(II) complex – antiinflammatory, cytotoxic and prooxidative potential on human colon HCT-116 and breast MDA-MB-231 cancer cells. *Gen. Physiol. Biophys.*, **36**, 187-196 (2017). https://doi.org/10.4149/gpb_2016_036
- GE Delgado, JA Rodríguez, AJ Mora, J Bruno-Colmenárez, J Uzcátegui, C. Chacón. Supramolecular structure of 5-methyl-5-phenyl hydantoin and hydrogen-bonding patterns in 5, 5'-substituted hydantoins. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **629**(1), 96-104 (2016). <https://doi.org/10.1080/15421406.2015.1107745>
- GE Delgado, AJ Mora, LE Seijas, R Almeida, C Chacón, L Azotla-Cruz *et al.* N-acetyl-5-isopropyl-2-tioxoimidazolidin-4-one: Synthesis, spectroscopic characterization, crystal structure, DFT calculations, Hirshfeld surface analysis and energy framework study. *J. Mol. Struct.*, **1219**(1), 128630(13) (2020). <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128630>
- GE Delgado, AJ Mora, LE Seijas, L Rincón, G Marroquin, J Cisterna *et al.* Combined DFT calculation, Hirshfeld surface analysis, and Energy framework study of non-covalent interactions in the crystal structure of (Z)-5-ethylidene-2-thiohydantoin determined by powder X-ray diffraction. *J. Mol. Struct.*, **1236**(1), 130361 (11) (2021). <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130361>
- R Márquez, LM Belandria, M Guillen, T González, AJ Mora, GE Delgado. Síntesis y caracterización estructural del compuesto hidantoína de *D,L*-valina. *Av. Quím.*, **16**(3), 49-55 (2021). <https://doi.org/10.53766/AVANQUIM/2011.08.02.01>
- GE Delgado, C Chacón, G Marroquin, J Cisterna, I Brito. X-ray powder diffraction data for the two new polymorphs of 1-methylhydantoin. *Powder Diffr.*, **37**(2), 108-114 (2022). <https://doi.org/10.1017/S0885715622000136>
- GE Delgado, AJ Mora, P Narea, C Chacón, G Marroquin, B Hernández *et al.* Synthesis, crystal structure, hydrogen bond patterns and Hirshfeld surface analysis of (*S*)-5-(4-hydroxybenzyl)-imidazolidine-2,4-dione. *J. Mol. Struc.*, **1250**(1), 131757(7) (2022). <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131757>
- JL Fonseca, AJ Mora, GE Delgado. Caracterización estructural por métodos espectroscópicos y difracción de rayos-X de un nuevo compuesto hidantoína. *Av. Quím.*, **18**(2), 61-66 (2023). <https://doi.org/10.53766/AVANQUIM/2023.18.02.02>
- K Brandenburg. Diamond version 2.0. Crystal Impact GbR, Bonn, Alemania (1998).
- AL Spek. Single-crystal structure validation with the program PLATON. *J. Appl. Cryst.*, **36**, 7-13 (2003). <https://doi.org/10.1107/S0021889802022112>

-
22. GM Sheldrick. A short history of SHELX. **Acta Cryst. A****64**, 112-122 (2008). <https://doi.org/10.1107/S0108767307043930>.
 23. GM Sheldrick. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Cryst. C****71**(1); 3-8 (2015). <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
 24. CR Groom, IJ Bruno, M.P. Lightfoot, S.C. Ward. The Cambridge structural database. **Acta Cryst. B****72**, 171-179 (2016). <https://doi.org/10.1107/S2052520616003954>.
 25. MC Etter, JC MacDonald, J Bernstein. Graph-set analysis of hydrogen-bond patterns in organic crystals. **Acta Cryst., B****46**(2), 256-262 (1990). <https://doi.org/10.1107/S0108768189012929>.
 26. L Yang, D Powell, RP Houser. Structural variation in copper(i) complexes with pyridylmethylamide ligands: Structural analysis with a new four-coordinate geometry index, t4. **Dalton Trans.**, **9**, 955-964 (2007). <https://doi.org/10.1039/b617136b>
 27. XY Xu, TT Xu, H Ma, X Hu, D Wang. Bis(5,5-diphenylhydantoato- kN^3)bis(1H-imidazole- kN^3)copper(II) monohydrate. **Acta Cryst., E****62**, m1956 (2006). <https://doi.org/10.1107/S1600536806028509>
 28. A Boultif, D Löuer. Powder pattern indexing with the dichotomy method. **J. Appl. Cryst.** **37**, 724-731 (2004). <https://doi.org/10.1107/S0021889804014876>
 29. A Le Bail. Whole powder pattern decomposition methods and applications: A retrospection. **Powder Diffr.** **20**, 316-326 (2005). <https://doi.org/10.1154/1.2135315>
 30. J Rodriguez-Carvajal. Fullprof, version 8.0, LLB, CEA-CNRS, France (2025).



La metformina reduce la expresión de los genes ABCB1 y Bcl-2 en células derivadas de leucemias

Mauricio Niño-Montalvo¹, Adolfo Martínez-Tovar², Rubén Ruiz-Ramos^{3*}

¹⁾ Facultad de Bioanálisis Región Veracruz, Universidad Veracruzana. Calle Agustín de Iturbide S/N, Zona Centro, 91700 Veracruz, Ver., México.

²⁾ Laboratorio de Biología Molecular, Unidad de Hematología, Hospital General de México. Doctor Balmis No.148, Col. Doctores, 06726 Alcaldía Cuauhtémoc, CDMX, México

³⁾ Facultad de Medicina, Universidad Veracruzana. Calle Agustín de Iturbide S/N, Zona Centro, 91700 Veracruz, Ver., México

(*) ruruiz@uv.mx

Recibido: 08/08/2025

Revisado: 20/10/2025

Aceptado: 09/12/2025

Resumen

Las leucemias mieloideas afectan diferenciación, supervivencia y muerte celular de la serie mieloide, que ocasiona el acúmulo de células indiferenciadas e hiper longevas en la médula ósea y sangre circulante. La regresión de la enfermedad con los actuales fármacos no es eficiente, por lo que se buscan tratamientos alternos. El presente trabajo evaluó mediante RT-PCR la expresión de los genes *ABCB1* y *Bcl-2* a distintos tiempos de exposición a metformina, fármaco antidiabético con antecedentes para el tratamiento de cáncer de mama, en dos líneas celulares de leucemia mieloide aguda. Los resultados mostraron que la metformina modificó la expresión de ambos genes disminuyéndola.

Palabras clave: leucemia mieloide aguda; metformina; *ABCB1*; *Bcl-2*; ROS

Abstract

Metformin reduces the expression of the ABCB1 and Bcl-2 genes in leukemia-derived cells. Myeloid leukemias affect the differentiation, survival, and cell death of the myeloid line, leading to the accumulation of undifferentiated and hyper-long-lived cells in the bone marrow and circulating blood. The regression of the disease with current drugs is not efficient, which is why alternative treatments are being sought. The present work evaluated the expression of the *ABCB1* and *Bcl-2* genes at different exposure times to metformin, an antidiabetic drug with a history of use in breast cancer treatment, in two cell lines of acute myeloid leukemia, using RT-PCR. The results showed that metformin modified the expression of both genes by decreasing it.

Keywords: Acute myeloid leukemias; Metformin; *ABCB1*; *Bcl-2*; ROS

Introducción

Los actuales tratamientos para la leucemia incluyen una variedad de estrategias para controlar la enfermedad. De manera general, el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA) tiene dos fases: 1) La primera fase consiste en el tratamiento terapéutico de inducción de la remisión. El propósito de esta estrategia es eliminar las células leucémicas de la sangre y la médula ósea para llevar a la remisión de la enfermedad. 2) La segunda fase del tratamiento consiste en la terapia de consolidación. Una vez que la leucemia está en remisión, comienza esta segunda fase que tiene el propósito de eliminar cualquier célula leucémica restante, incluso que tal vez podría no estar activa, pero, sin embargo, podría volver a multiplicarse y causar una recaída. A esta fase también se conoce como terapia de continuación de la remisión¹. Estos tratamientos muchas veces resultan ser contraproducentes para la salud de los pacientes, algunos de ellos pueden provocar, incluso, alteraciones fisiológicas como caída del cabello, lesiones en la piel e infecciones¹⁻⁵.

Estos efectos secundarios en muchos casos suelen ser desmotivantes para los pacientes que requieren dichos tratamientos. Particularmente, el tratamiento para la LMA depende de diferentes factores como el subtipo de la enfermedad, la edad, el estado de salud y estos factores influyen en el pronóstico y las opciones más viables para llevar a cabo un tratamiento. El objetivo principal de un tratamiento para la LMA, además de inducir la regresión de la enfermedad, con el propósito de restaurar la hematopoyesis normal, debe ser evitar que la salud del paciente se deteriore y que se produzcan futuras recaídas. Por lo anterior, se busca emplear fármacos que no causen efectos tóxicos secundarios en el paciente. Interesantemente, desde inicios de la década de 1970, Dilman y Anisimov⁶⁻⁹ del Instituto de Oncología Petrov, en San Petersburgo, Rusia, desarrollaron la hipótesis de que las biguanidas antidiabéticas poseían efectos protectores antienvejecimiento y anticancerosos por medio de una "rehabilitación metabólica". Con dicha hipótesis, a principios de la década del 2000, Anisimov^{10,11} demostró experimentalmente que el tratamiento crónico de ratones transgénicos

hembra *HER2-/neu* con metformina tiene un efecto significativo en la incidencia y la disminución del tamaño de los adenocarcinomas mamarios y además aumentó la latencia media de los tumores¹⁰⁻¹².

Uno de los fármacos que se ha observado que tiene un efecto positivo en el empleo de quimioterapias contra el cáncer de mama, es la metformina, una biguanida que principalmente es utilizada como un anti hiperglucemiantre. Estudios realizados *in vitro*, han mostrado que este fármaco actúa deteniendo el crecimiento de tumores de mama, por medio de la activación de proteínas cinasas¹³. La actividad de la metformina dentro de la célula es la activación de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK), un complejo que tiene entre sus acciones, la inducción a la apoptosis, ya que dentro de las células ocurre una remodelación metabólica, la cual favorecería diferentes mecanismos que permiten la regresión del cáncer. Una segunda diana molecular de la metformina en las mitocondrias es la enzima glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial (mGPDH), la cual juega un papel clave en el transporte de glicerofosfato. Este transporte de oxidoreducción entre el citosol y la mitocondria es necesario para la producción de la forma oxidada de las coenzimas necesarias para las reacciones bioquímicas, como la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) en las reacciones gluconeogénicas. La metformina inhibe la actividad de la mGPDH, lo que provoca la supresión de las reacciones gluconeogénicas, incluida la conversión de lactato en piruvato¹⁴. Siendo la metformina un fármaco con menores riesgos a la salud y un efecto promisorio para el tratamiento sobre células neoplásicas, por lo que se piensa que sería un buen inductor para la regresión de las leucemias, en combinación con los fármacos descritos actualmente para quimioterapias de LMA, tales como ciclofosfamida, daunorubicina, doxorrubicina, vin-cristina, citarabina, metotrexato, etopósido, 6-mercaptopurina, entre otros¹⁵. Los oncogenes son genes relacionados con el crecimiento de células malignas, por lo que cuando se sobreexpresan, causan enfermedades como diversos tipos de cáncer. Las proteínas nucleares, que regulan las vías de señalización citoplasmáticas, los receptores de membrana y otras proteínas, son codificadas por protooncogenes. En condiciones normales, estas proteínas participan en la homeostasis celular, que significa mantener las funciones celulares en equilibrio, por lo que su nivel de expresión está estrictamente regulado. Por lo anterior, se estudiarán dos protooncogenes que codifican para proteínas de membrana, las cuales son responsables de alteraciones que dan lugar a las células neoplásicas y están relacionadas con el desarrollo de las leucemias. Tanto *Bcl-2* y *ABCB1* son genes que tienen relación en la expresión de proteínas que permiten la supervivencia de las células neoplásicas, ya que las proteínas antiapoptóticas BCL-2 desempeñan un papel fundamental en la protección celular en los cánceres humanos, impidiendo que se comprometan a procesos de muerte celular irreversible, ya que dichas células suelen estar marcadas para activar la apoptosis. Por lo anterior, *Bcl-2* se clasifica como oncogén y de hecho la FDA (USA) aprobó inhibidores selectivos de estas proteínas, como venetoclax (ABT-199), para tratar ciertas leucemias

como la leucemia linfocítica crónica (LLC)¹⁶. Adicionalmente, se ha descrito que *BCL-2* participa en el desarrollo de resistencia a los agentes quimioterapéuticos, lo que ha motivado esfuerzos para orientar terapias para el tratamiento del cáncer dirigidas contra dicho gen. En ese sentido, se han desarrollado enfoques para bloquear o modular la producción del mARN a partir del gen *Bcl-2* mediante oligonucleótidos anti sentido o a nivel de proteína con inhibidores de BCL-2, como el novedoso ABT-737¹⁷. Por su parte, el gen *ABCB1 (MDR1)* codifica una proteína transportadora multi-fármacos transmembrana denominada glicoproteína P (P-gp) que constituye uno de los principales mecanismos de resistencia a múltiples fármacos (MDR) en los cánceres humanos y que se expresa, por lo tanto, en muchos tejidos cancerosos y en normales. Adicionalmente, se ha asociado a estas proteínas con la inestabilidad genómica de las células cancerosas. Dado que P-gp desempeña un papel muy importante en la distribución y excreción de medicamentos, también está involucrada en la resistencia intrínseca y adquirida a los fármacos quimioterapéuticos contra algunos cánceres¹⁸. Por lo anterior, en el presente trabajo se estudió la expresión de estos genes en un modelo celular de leucemia mieloide aguda (Kasumi-1) y leucemia promielocítica (HL-60), bajo la exposición de metformina a distintas dosis y tiempos. En ese contexto, se analizó la expresión de dichos genes mediante la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa en Tiempo Real (RT-qPCR), lo que nos permitió cuantificar los cambios bajo dichos esquemas de tratamientos.

Parte experimental

Cultivo de células Kasumi-1 y HL-60

Los medios RPMI-1640, Dulbecco modificado por Iscove y la metformina (clorhidrato de metformina) se adquirieron de Merck KGaA, (Darmstadt, Alemania). El suero fetal bovino (FBS) se compró en Gibco (Grand Island, EE. UU.).

Se realizaron los cultivos celulares siguiendo las indicaciones del proveedor (ATCC). Para el caso de las células HL-60, las cuales son promielocitos obtenidos de una leucemia promielocítica aguda, se cultivaron en medio Dulbecco modificado por Iscove. Los cultivos de células Kasumi-1; las cuales son mieloblastos aislados de sangre periférica de un paciente asiático con leucemia mieloblástica aguda, se cultivaron en medio RPMI-1640 modificado. Ambos cultivos fueron realizados en cajas desechables para cultivo celular p100 (Corning, NY, EE. UU.) y ambos medios fueron suplementados con suero fetal bovino (SFB) inactivado por calor al 10 %, piruvato de sodio 1 mM, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina y 0,3 mg/ml de glutamina. siguiendo las indicaciones ATCC (American Type Culture Collection) (Manassas, VA) en atmósfera húmeda a 37 °C con 5 % de CO₂. Con dichas condiciones, se realizaron ensayos de curvas dosis-respuesta para evaluar viabilidad celular con las siguientes concentraciones: Control (0 mM) (solo PBS); metformina (MF) 1, 5, y 10 mM, a 24 y 48 h. con el propósito de seleccionar condiciones con viabilidades ≥ 90% para realizar los ensayos de exposición para evaluaciones

por RT-qPCR. El análisis se realizó por duplicado.

Extracción de RNA

Para la extracción de RNA, después de las exposiciones a MF, se empleó la técnica basada en el uso del reactivo TRIzolTM (InvitrogenTM). Las muestras se precipitaron añadiendo 150 μ L de acetato de sodio, 400 μ L de fenol y 200 μ L de cloroformo; las muestras se incubaron 4° C durante 15 min y posteriormente se centrifugaron a 12000 rpm x 15 min en una microcentrifuga refrigerada a 4° C para separar el sobrenadante y decantar. Separada la fase acuosa se agregaron 700 μ L de isopropanol al 100 %. Las muestras se incubaron a 4° C durante 30 – 60 min y a continuación se centrifugó a 12000 RPM por 15 min para decantar el sobrenadante. Se realizaron dos lavados más con isopropanol al 100 %. Se desechó el isopropanol y se secaron durante 5 a 8 min. Se agregaron de 10 a 15 μ L de agua MiliQ libre de nucleasas. Obtenidas las muestras se cuantificaron en un equipo Nano-drop 2000 para determinar la pureza (ratio 260 / 280 nm) y concentración (abs 260 nm) y se realizaron electroforesis para evaluar la integridad.

Técnica de PCR cuantitativa de transcripción inversa de dos pasos (two-step RT-qPCR)

Se aisló el ARN celular total de las muestras crío-preservadas, por medio del método de Trizol, cloroformo, alcohol isoamílico. A partir de 1 μ g de ARN se sintetizó el ADN complementario (cADN) por adición de 1 μ l de oligo dT, buffer de reacción (200 mM Tris HCl, pH 8,4, 500 mM KCl, 25 mM MgCl₂), 1 μ l de la mezcla de dNTP, 10 mM y 1 μ l de enzima super-transcriptasa (200 U/ μ l) (Gibco BRL). Los perfiles térmicos de la reacción fueron 37 °C por 50 min para la realización de cADN y 70 °C por 10 min para desactivar la enzima super transcriptasa. El cADN se almacenó a –20 °C hasta su uso.

La amplificación de los genes se realizó mediante la técnica de RT-qPCR utilizando 2 μ l de cADN, 20 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP, 1 μ M de cada oligo para *MDR-2* Forward Sequence: AAACTCGAGCCCAGTG-AAAAATGTTGCCAT y Reverse Sequence: GCCAGGA-GAAATCAAACAGAGGC y *BCL-2* Forward Sequence: AT-CGCCCTGTGGATGACTGAGT y Reverse Sequence: GCC-AGGAGAAATCAAACAGAGGC y 1,25 unidades de polimerasa de ADN Gold AmpliTaq (Roche, Branchburg, NJ, EE. UU.), 10 nM de fluoresceína y SYBR Green-I 1:50000 (Roche, Indianapolis, IN, EE. UU.) en una reacción de 25 μ l. La mezcla se calentó a 95 °C durante 7 min; Posteriormente, se realizó la amplificación en un sistema de detección Step One (Applied Biosystems) durante 50 ciclos (1 min a 94 °C, 1 min a 60 °C y una extensión de 4 min a 72 °C). Todas las reacciones se realizaron por triplicado y se estableció un rango dinámico con cada gen. Para el control positivo se utilizó la línea celular HeLa, la cual presenta los genes a estudiar dentro de su genoma.

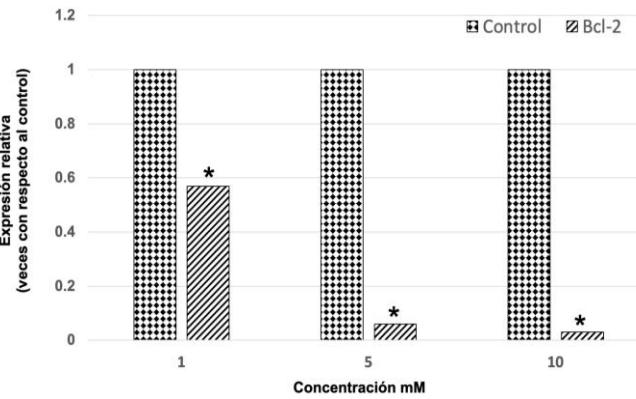
Pruebas estadísticas

El análisis estadístico de los valores obtenidos para la expresión de los genes *Bcl-2* y *ABCB1*, comparados con los valores del

gen constitutivo *GUSB* utilizando el método $\Delta\Delta CT$, fueron realizados mediante el programa IBM SPSS Statistics utilizando la prueba de t de dos colas. Los valores considerados $p < 0,01$ fueron considerados significativos.

Resultados y discusión

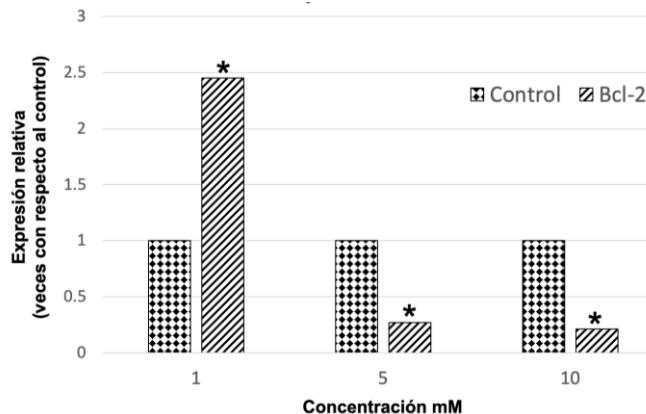
El análisis de los efectos de la metformina sobre la expresión génica, utilizando el método $\Delta\Delta CT$, para caso del gen *Bcl-2*, durante una exposición del fármaco a 24 h mostró cambios en la expresión en células HL-60 de manera dependiente de la concentración. Los resultados mostraron que la exposición en tal periodo de tiempo con una concentración de 1 mM, indujo una disminución de la expresión de dicho gen de un 43 % aprox. Mientras que la exposición a concentraciones de 5 mM provocó una disminución en la expresión del mismo gen de aproximadamente un 94 %, y concentraciones de 10 mM indujeron una disminución en la expresión de un 97 %, lo cual resultó estadísticamente significativo ($p < 0,01$) para todos los casos (Gráfica 1).



Gráfica 1. Expresión del gen *Bcl-2* en células HL-60 expuestas a metformina. La gráfica muestra los cambios en la expresión relativa del gen *Bcl-2* en células expuestas a 1, 5 y 10 mM durante 24 h. Para las tres concentraciones se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$).

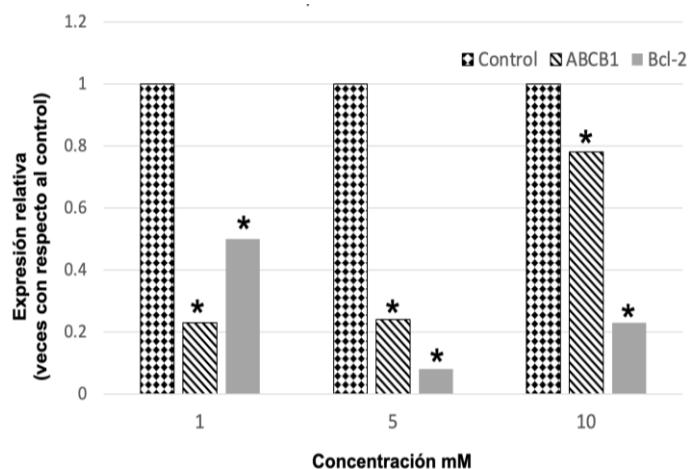
Para el caso de la exposición de células HL-60 a metformina (1, 5 y 10 mM) durante 48 h., los resultados mostraron también cambios en la expresión del gen *Bcl-2*. Sin embargo, bajo estas condiciones experimentales la exposición a concentraciones de 1 mM promovió un aumento de 2,45 veces con respecto al gen constitutivo *GUSB*, mientras que las concentraciones de 5 y 10 mM indujeron la disminución de la expresión génica en un 73 y 79 % respectivamente. En todos los casos las diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,01$) (Gráfica 2).

Con base en los resultados anteriores, se decidió realizar el mismo esquema de exposición a 24 hrs con las células Kasumi-1, ya que con dichas condiciones se observó el mayor efecto inhibitorio de la expresión génica de *Bcl-2*. Adicionalmente, dadas las implicaciones de la inhibición en los niveles de expresión de un gen regulador negativo de los procesos de muerte celular apoptótica, se decidió también explorar los niveles de expresión de un gen que se ha implicado en procesos de resistencia farmacológica, así como también de muerte celular apoptótica, como es el gen *ABCB1*.



Gráfica 2. Expresión del gen *Bcl-2* en células HL-60 expuestas a metformina. La gráfica muestra los cambios en la expresión relativa del gen *Bcl-2* en células expuestas a 1, 5 y 10 mM durante 48 h. Para las tres concentraciones se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$).

Los resultados de dicho esquema de exposición (1, 5 y 10 mM durante 24 h) en células Kasumi-1 mostraron también efectos inhibitorios de la metformina sobre el gen *Bcl-2* del 50 % al ser expuestas a 1 mM, de un 92 % con 5 mM y del 77 % con 10 mM, mostrando significancia estadística en su conjunto ($p < 0,01$) (Gráfica 3). Por otro lado, el mismo esquema de exposición para la evaluación de la expresión del gen *ABCB1* permitió observar que la concentración de metformina 1 mM promovió un efecto inhibitorio de un 77 %, mientras que la exposición a 5 mM inhibió la expresión génica en un 76 %, y finalmente, concentraciones de 10 mM indujeron una disminución en los niveles de expresión de un 22 %, resultando todas ellas estadísticamente significativas ($p < 0,01$) (Gráfica 3).



Gráfica 3. Expresión de los genes *Bcl-2* y *ABCB1* en células Kasumi-1 expuestas a metformina. La gráfica muestra los cambios en la expresión relativa de los genes *Bcl-2* y *ABCB1* en células expuestas a 1, 5 y 10 mM durante 24 h. Para ambos genes y para las tres concentraciones se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$).

Los cambios en la expresión del protooncogén humano *Bcl-2*, observados como una regulación negativa, tanto en células HL-60 (promielocitos), como Kasumi-1 (mieloblastos), sugieren

que la metformina podría tener potencial farmacológico en pacientes que padecen LMA, ya que este gen codifica una proteína crucial de la membrana de la envoltura nuclear, de las membranas del retículo endoplásmico y membrana externa mitocondrial que bloquea una vía final común que conduce a la muerte celular apoptótica, por lo que un aumento en su expresión impide que ciertas células, como los linfocitos, monocitos y diversos tipos celulares, activen mecanismos de muerte apoptótica. Dado que se ha descrito que este gen sobreexpresado en neoplasias reduce la liberación de calcio mitocondrial, lo que la vuelve impermeable, además que, a nivel lisosomal, la proteína Bcl-2 evita que la membrana de este organelo se lise, impiéndole también la liberación mitocondrial de peróxidos y del citocromo c, lo cual, a su vez, inhibe la activación de caspasas y por lo tanto, la activación de la cascada apoptótica¹⁹. Por lo anterior, este protooncogén se expresa en más de la mitad de los cánceres humanos de mama y así mismo, su expresión constitutiva, como en el caso de su translocación al locus de la cadena pesada de IgG, se cree que es la razón por la que se produce el linfoma folicular, de tal forma que se ha reportado una reducción en la inmunotinción de Bcl-2 en el cáncer invasivo de mama y las lesiones mamarias pre invasivas, en comparación con los epitelios de mama normales y debido a la principal característica de la proteína Bcl-2, como inhibidor de la muerte celular por apoptosis, ésta se relaciona con características tumorales altamente agresivas y con resistencia a la terapia hormonal/citotóxica²⁰.

Debido a que la metformina inhibe la gluconeogénesis, es posible también considerar sus efectos directos sobre la activación de la cinasa respondiente a la 5'-adenosina monofosfato (AMPK) en las células tumorales, ya que esta cinasa de serina/treonina se encuentra cascada abajo como sustrato del supresor tumoral LKB1, lo que a su vez inhibe a la molécula diana de rapamicina en células de mamífero 1 (mTORC1), misma que actúa como un importante regulador del crecimiento y de la división celular^{21,22}. Particularmente, en células tumorales, el complejo mTOR se encuentra activo de manera anómala y actúa promoviendo su crecimiento, aunque también se ha observado que la desregulación de la vía de señalización mTOR está implicada en otras patologías humanas, tales como la diabetes mellitus, e incluso en enfermedades neurodegenerativas^{23,24}. Por lo anterior, el tratamiento de dichas células con metformina puede favorecer una disminución de la síntesis proteica. Sin embargo, a pesar de que la metformina inhibe mecanismos de crecimiento, invasivos y metastásicos tumorales, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*, como se ha observado y reportado en modelos tumorales de ratón para carcinoma hepatocelular, melanoma ocular, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, así como de cáncer de mama, entre otros. No obstante, actualmente se sigue considerado que todos los estudios existentes no han sido suficientes para establecer de manera clara y formal que la metformina pueda ser considerada como un agente anticancerígeno²⁵. Por lo anterior, los resultados presentados en el presente trabajo sugieren que la metformina tiene un efecto importante sobre mecanismos que le confieren supervivencia a las

células al verse disminuidos, lo cual puede constituir un efecto positivo en la terapia contra la LMA, e incluso contra varios tipos de cáncer.

Adicionalmente, los cambios en los niveles de expresión del gen *ABCA1* observados en células Kasumi-1, también pueden contribuir notablemente a los efectos farmacológicos en contra de la LMA, ya que dicho gen codifica para una proteína ATPasa que funciona como una bomba de eflujo de xenobióticos que depende de ATP y que forma parte de la superfamilia de transportadores del casete de unión a ATP (ABC), que se localizan en la membrana celular. Las proteínas ABC transportan varias moléculas a través de las membranas extracelulares e intracelulares, de manera unidireccional y en contra de gradientes de concentración, tales como aminoácidos, péptidos, proteínas, iones metálicos, varios lípidos, sales biliares y muchos compuestos hidrofóbicos, y de manera particular a muchos fármacos. No obstante, de igual manera se relaciona con el transporte de sustancias hacia el interior de compartimentos intracelulares como peroxisomas, mitocondrias o retículo endoplasmático^{26,27}, por lo que estas moléculas son responsables también de reducir la acumulación de fármacos en células que adquieren resistencia a múltiples moléculas con actividad tóxica o farmacológica y con frecuencia, median el desarrollo de resistencia a los fármacos anticancerígenos. Por lo anterior, estas proteínas sirven como transportadores y se expresan ampliamente en muchos tejidos sanos, como la barrera hematoencefálica, el hígado, los riñones y el tracto gastrointestinal y, precisamente por dicha función de eliminación de xenobióticos, que incluyen fármacos y toxinas, también les confiere a las células resistencia a la colchicina, doxorubicina y vinblastina, entre otros. Por otra parte, las mutaciones en estos genes están relacionadas con diversas enfermedades, tales como la enfermedad inflamatoria intestinal, la fibrosis quística, la enfermedad de Tangier, el síndrome de linfocitos desnudos tipo I y la anemia sideroblástica con ataxia ligada a X son algunos de los trastornos genéticos que pueden ser causados por mutaciones en al menos 13 de estos genes, de tal forma que se ha encontrado una correlación entre la sobreexpresión de *ABCB1* y el desarrollo de resistencia a la quimioterapia en estos cánceres²⁸⁻³¹. No obstante, que se ha reportado que *ABCB1* puede inducir resistencia a las antraciclinas utilizadas como terapia de primera línea en la mayoría de los protocolos de tratamiento actuales en casos de LMA en todo el mundo, Boyer *et al.* (2019)³² mostraron resultados que implican que evaluar el nivel de expresión de *ABCB1* puede ser relevante, ya que aunque reportaron en una cohorte de 161 pacientes adultos con LMA que *ABCB1* no medió directamente en la resistencia a la quimioterapia *ex vivo* e *in vivo*, ellos demostraron que la actividad y expresión de *ABCB1* se relacionó con un peor pronóstico y, por lo tanto, concluyen que evaluar su actividad o expresión en el momento del diagnóstico aún puede ser importante, ya que la adición de Gemtuzumab ozogamicina mostró un beneficio clínico en la baja expresión de *ABCB1*. No obstante, los autores también concluyeron que se requieren más estudios para comprender mejor la relación específica entre los trans-

portadores ABC y los fenotipos de células madre y que la evaluación del fenotipo *ABCB1* puede ayudar a refinar el tratamiento de la LMA.

Otros mecanismos importantes en los que participan estos transportadores son los procesos de apoptosis. Dicha función la logran a través de la presentación de la molécula de señalización fosfatidilserina por parte de las células apoptóticas. Esta fosfatidilserina transferida a la cara externa de la membrana plasmática se considera uno de los mecanismos universales de reconocimiento. En los últimos años, ha habido un creciente interés en otro miembro de la subfamilia, la proteína *ABCA7*, que es el homólogo más cercano de *ABCA1* y tiene algunas similitudes en sus funciones, ya que realiza el transporte de lípidos y participa en la formación de HDL³³. Adicionalmente, la proteína *CED-7* en el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, funciona tanto en células fagocíticas como apoptóticas y es necesaria para la agrupación de *CED-1*, un receptor transmembranal fagocítico que reconoce las células apoptóticas e inicia su endocitosis. Se ha demostrado que *CED-7* participa en la exposición de ligandos fosfolípidos en la superficie de las células apoptóticas y sorprendentemente se demostró que *ABCA7* tiene una alta similitud de secuencias con *CED-7* y es necesario para una fagocitosis efectiva de las células apoptóticas^{34,35}. Basados en lo anterior, los resultados observados con respecto a la aparente regulación negativa del gen *ABCB1* en células Kasumi-1, podría sugerir que el tratamiento con metformina podría jugar un papel importante ya que la sobreexpresión del gen y de las proteínas codificadas por el mismo, confieren resistencia a la acción de múltiples fármacos y a la muerte celular apoptótica, mientras que su regulación negativa, como la observada durante la exposición evaluada, estaría relacionada con los eventos contrarios y con un efecto sinérgico en la respuesta farmacológica. Adicionalmente, los resultados observados para la regulación de la expresión de *ABCB1* son consistentes con los resultados obtenidos para la expresión del gen anti apoptótico *Bcl-2*, considerando que una regulación negativa de estos genes estaría relacionada con un desbalance entre proteínas pro apoptóticas y anti apoptóticas, mismo que favorecería el proceso de muerte celular apoptótica. Se ha demostrado que la metformina tiene actividad citostática que puede fortalecer el efecto quimioterapéutico. Además, se ha utilizado como terapia sinérgica para el cáncer, ya que mejora la sensibilidad a la radioterapia, la quimioterapia y la inmunoterapia, además de que disminuye los efectos secundarios a dosis terapéuticas más bajas de tratamientos contra el cáncer^{36,37}. También induce la generación de ROS en células de cáncer de mama y de osteosarcoma, en parte provocando su efecto anti carcinogénico a través de la remodelación redox. Con respecto a la investigación de la leucemia, se ha demostrado que también sensibiliza las líneas celulares de LMA a la citarabina y venetoclax, inhibiendo ligeramente la proliferación celular de los pacientes y reduciendo la tasa de fosforilación oxidativa *ex vivo*, a través de la inhibición del complejo respiratorio mitocondrial I, lo cual provoca una reducción de la eficiencia de la producción de ATP³⁸⁻⁴⁰.

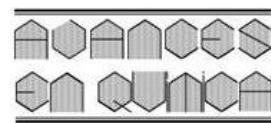
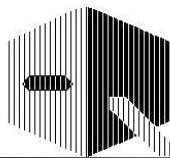
Conclusiones

Los resultados reportados en el presente trabajo muestran cambios significativos en los niveles de expresión de los genes *Bcl-2* y *ABCB1*, los cuales juegan un papel relevante en mecanismos de muerte celular apoptótica, pero también, en el caso de este último, de resistencia farmacológica. Dichos cambios observados con diferentes dosis de metformina (1-10 mM), mostraron significancia estadística a 24 h de exposición, lo cual sugiere que este fármaco puede tener potencial terapéutico en el tratamiento de las leucemias. Evidencias de trabajos previos han mostrado su potencial farmacológico en el tratamiento del síndrome de ovario poliquístico, pero también de algunos tipos de cáncer, ya que se ha descrito que este fármaco actúa como inhibidor de la proteína anti apoptótica MCL1 y tiene poder citostático, de esta manera puede fortalecer también el efecto quimioterapéutico. Adicionalmente, estudios previos, realizados en células humanas de cáncer de mama y osteosarcoma demostraron que la metformina induce la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), por lo que se considera que éste contribuye con su efecto anti carcinogénico al promover la remodelación redox. Además, se ha demostrado también que la metformina sensibiliza las líneas celulares de LMA a la catarabina, lo cual tuvo un efecto inhibitorio en la proliferación celular, además que se redujo la fosforilación oxidativa de estas líneas celulares. Con base en lo anterior, los resultados obtenidos sugieren que la metformina tiene un efecto regulador negativo sobre la expresión de los genes *BCL-2* y *ABCB1*; no obstante, es necesario realizar más estudios que incluyan otras concentraciones y tiempos de exposición, así como otros modelos celulares, incluso modelos *in vivo*, ya que las evidencias actuales sugieren que este fármaco puede ser utilizado para controlar y erradicar el cáncer.

Referencias

1. Instituto Nacional del Cáncer (NIH). Tratamiento de la leucemia mieloide aguda (PDQ®)–Versión para pacientes. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia/paciente/tratamiento-lma-adultos-pdq>
2. J Stentofi. The Toxicity of Cytarabine. **Drug-Safety**, **5**, 7-27 (1990). <https://doi.org/10.2165/00002018-199005010-00003>
3. J Parigger, CM Zwaan, D Reinhardt, GJL Kaspers. Dose-related efficacy and toxicity of gemtuzumab ozogamicin in pediatric acute myeloid leukemia. **Expert Rev. Anticancer Ther.**, **16**, 137-146 (2016). <https://doi.org/10.1586/14737140.2016.1129903>
4. WJ Baker, GL Royer, RB Weiss. Cytarabine and Neurologic Toxicity. **J. Clin. Oncol.**, **9**, 679-693 (1991). <https://doi.org/10.1200/JCO.1991.9.4.679>
5. H He, X Wen, H Zheng. Efficacy and safety of venetoclax-based combination therapy for previously untreated acute myeloid leukemia: a meta-analysis. **Hematology (United Kingdom)**, **29**, 2343604 (2024). <https://doi.org/10.1080/16078454.2024.2343604>
6. VM Dilman. Age-associated elevation of hypothalamic, threshold to feedback control, and its role in development, ageing and disease. **Lancet**, **1**, 1211-1219 (1971). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(71\)91721-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(71)91721-1)
7. VM Dilman, LM Berstein, MN Ostromova, SN Fedorov, TE Porochnina, EV Tsyrliina *et al.* Metabolic immunodepression and metabolic immunotherapy: an attempt of improvement in immunologic response in breast cancer patients by correction of metabolic disturbances. **Oncology**, **39**, 13-19 (1982). <https://doi.org/10.1159/000225596>
8. VM Dilman, LM Bernstein, TP Yevtushenko, YV Tsyrliina, MN Ostromova, YuF Bobrov *et al.* Preliminary evidence on metabolic rehabilitation of cancer patients. **Arch. Geschwulstforsch**, **58**, 175-183 (1988). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3415435/>
9. VN Anisimov, AV Semenchenko, AI Yashin. Insulin and longevity: antidiabetic biguanides as geroprotectors. **Biogerontology**, **4**, 297-307 (2003). <https://doi.org/10.1023/A:1026299318315>
10. VN Anisimov, IN Alimova, DA Baturin, IG Popovich, MA Zabechinski, KG Manton *et al.* The effect of melatonin treatment regimen on mammary adeno-carcinoma development in HER-2/neu transgenic mice. **Int. J. Cancer**, **103**, 300-305 (2003). <https://doi.org/10.1002/ijc.10827>
11. VN Anisimov, LM Bernstein, PA Egormin, TS Piskunova, IG Popovich, MA Zabechinski *et al.* Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. **Exp. Gerontol.**, **40**, 685-693 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.exger.2005.07.007>
12. B Martin-Castillo, A Vazquez-Martin, C Oliveras-Ferraro, JA Menendez. Metformin and cancer doses, mechanisms and the dandelion and hormetic phenomena. **Cell Cycle**, **9**, 1057-1064 (2010). <https://doi.org/10.4161/cc.9.6.10994>
13. M Zakikhani, R Dowling, IG Fantus, N Sonenberg, M Pollak. Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. **Cancer Res.**, **66**, 10269-10273 (2006). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-1500>
14. TE Lamoia, GI Shulman. Cellular and Molecular Mechanisms of Metformin Action. **Endocr. Rev.**, **42**, 77-96 (2021). <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa023>
15. CO Ramos-Peñaflor, C Martínez-Murillo, A Santoyo-Sánchez, F Jiménez-Ponce, E Rozen-Fuller, J Collazo-Jaloma *et al.* Metformina adicionada a la quimio-terapia contra la leucemia linfoblástica aguda. **Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.**, **52**, 270-275 (2014). <https://www.medicgraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=49666>
16. RS Soderquist, L Crawford, E Liu, M Lu, A Agarwal, GR Anderson *et al.* Systematic mapping of BCL-2 gene dependencies in cancer reveals molecular determinants of BH3 mimetic sensitivity. **Nature Communications**, **9**, 3513 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05815-z>
17. AS Ebrahim, H Sabbagh, A Liddane, A Raufi, M Kandouz, A Al-Katib. Hematologic malignancies: newer strategies to counter the BCL-2 protein. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, **142**, 2013-2022 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00432-016-2144-1>
18. KG Chen, BI Sikic. Molecular pathways: regulation and therapeutic implications of multidrug resistance. **Clin. Cancer Res.**, **18**, 1863-1869 (2012). <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1590>

19. S Qian, Z Wei, W Yang, J Huang, Y Yang, J Wang. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. **Front. Oncol.**, **12**, 985363 (2022). <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>
20. GJ Zhang, I Kimijima, A Tsuchiya, R Abe. The role of bcl-2 expression in breast carcinomas (Review). **Oncol. Rep.**, **5**, 1211-1216 (1998). <https://doi.org/10.3892/or.5.5.1211>
21. YK Choi, KG Park. Metabolic roles of AMPK and metformin in cancer cells. **Mol. Cells**, **36**, 279-287 (2013). <https://doi.org/10.1007/s10059-013-0169-8>
22. M Jansen, JP Ten Klooster, GJ Offerhaus, H Clevers. LKB1 and AMPK family signaling: The intimate link between cell polarity and energy metabolism. **Physiol. Rev.**, **89**, 777-798 (2009). <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2008>
23. M Laplante, DM Sabatini. mTOR signaling in growth control and disease. **Cell**, **149**, 274-293 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.017>
24. YC Kim, KL Guan. MTOR: A pharmacologic target for autophagy regulation. **Journal of Clinical Investigation**, **125**, 25-32. (2015). <https://doi.org/10.1172/JCI73939>
25. Y Hua, Y Zheng, Y Yao, R Jia, S Ge, A Zhuang. Metformin and cancer hallmarks: shedding new lights on therapeutic repurposing. **J. Transl. Med.**, **21**, 403, (2023). <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04263-8>
26. PM Jones, AM George. The ABC transporter structure and mechanism: Perspectives on recent research. **Cellular and Molecular Life Sciences**, **61**, 682-699 (2004). <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3336-9>
27. AL Davidson, E Dassa, C Orelle, J Chen. Structure, Function, and Evolution of Bacterial ATP-Binding Cassette Systems. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, **72**, 317-364 (2008). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-07>
28. I Klein, B Sarkadi, A Värdi. An Inventory of the Human ABC Proteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, **1461**, 237-262 (1999) [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(99\)00161-3](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(99)00161-3)
29. K Ueda, C Cardarelli, MM Gottesman, I Pastan. Expression of a Full-Length cDNA for the Human "MDR1" Gene Confers Resistance to Colchicine, Doxorubicin, and Vinblastine (P-Glycoprotein/Actinomycin D/Chemotherapy/Multidrug Resistance/Retrovirus). **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **84**, 3004-3008 (1987). https://staging.europepmc.org/backend/picrender.fcgi?accid=PM_C304789&blobtype=pdf
30. E Zintzaras. Is there evidence to claim or deny association between variants of the multidrug resistance gene (MDR1 or ABCB1) and inflammatory bowel disease? **Inflamm. Bowel Dis.**, **18**, 562-572 (2012). <https://doi.org/10.1002/ibd.21728>
31. G Ayaz, B Batar, G Kanigur, M Guven, I Onaran, B Karadag *et al.* The association of MDR1 C3435T and G2677T/A polymorphisms with plasma platelet-activating factor levels and coronary artery disease risk in Turkish population. **Gene**, **527**, 301-305, (2013). <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.06.046>
32. T Boyer, F Gonzales, A Barthélémy, A Marceau-Renaut, P Peyrouze, S Guihard *et al.* Clinical Significance of ABCB1 in Acute Myeloid Leukemia: A Comprehensive Study. **Cancers (Basel)**, **11**, 1323 (2019). <https://doi.org/10.3390/cancers11091323>
33. J Neumann, D Rose-Sperling, UA Hellmich. Diverse relations between ABC transporters and lipids: An overview. **Biochim. Biophys. Acta Biomembr.**, **1859**, 605-618 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.09.023>
34. AW Jehle, SJ Gardai, S Li, P Linsel-Nitschke, K Morimoto, WJ Janssen *et al.* ATP-binding cassette transporter A7 enhances phagocytosis of apoptotic cells and associated ERK signaling in macrophages. **Journal of Cell Biology**, **174**, 547-556 (2006). <https://doi.org/10.1083/jcb.200601030>
35. T Aikawa, ML Holm, T Kanekiyo. ABCA7 and pathogenic pathways of Alzheimer's disease. **Brain Sci.**, **8**, 27 (2018). <https://doi.org/10.3390/brainsci8020027>
36. L Zhu, K Yang, Z Ren, D Yin, Y Zhou. Metformin as anticancer agent and adjuvant in cancer combination therapy: Current progress and future prospect. **Transl. Oncol.**, **44**, 101945 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2024.101945>
37. E Amengual-Cladera, PM Morla-Barcelo, A Morán-Costoya, J Sastre-Serra, DG Pons, A Valle *et al.* Metformin: From Diabetes to Cancer-Unveiling Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies. **Biology (Basel)**, **13**, 302 (2024). <https://doi.org/10.3390/biology13050302>
38. P Sharma, S Kumar. Metformin inhibits human breast cancer cell growth by promoting apoptosis via a ROS-independent pathway involving mitochondrial dysfunction: pivotal role of superoxide dismutase (SOD). **Cellular Oncology**, **41**, 637-650 (2018). <https://doi.org/10.1007/s13402-018-0398-0>
39. IS Grønningæter, H Reikvam, E Aasebø, S Bartaula-Brevik, TH Tvedt, Ø Bruserud *et al.* Targeting cellular metabolism in acute myeloid leukemia and the role of patient heterogeneity. **Cells**, **9**, 1155 (2020). <https://doi.org/10.3390/cells9051155>
40. I Krastinaite, S Charkavliuk, R Navakauskiene, VV Borutinskaite. Metformin as an Enhancer for the Treatment of Chemoresistant CD34⁺ Acute Myeloid Leukemia Cells. **Genes (Basel)**, **15**, 648 (2024). <https://doi.org/10.3390/genes15050648>



Sesquiterpenos halogenados en algas del género *Laurencia*: diversidad, biosíntesis y aplicaciones terapéuticas

Carolina Serrano-Salas¹, Sara García-Davis², Ramón Rodríguez-Garza¹,
Vianey González-Villasana¹, Ezequiel Viveros-Valdez^{1*}.

¹⁾ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Pedro de Alba S/N, San Nicolás de los Garza, 66450, Nuevo León, México. Tel: 81 8329 4110

²⁾ Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas S/N. Col. Playa Palo de Santa Rita, Instituto Politécnico Nacional, 23096 La Paz, Baja California Sur, México. Tel: 612 123 0350

(*) jose.viverosvld@uanl.edu.mx

Recibido: 01/09/2025

Revisado: 06/12/2025

Aceptado: 29/12/2025

Resumen

Los sesquiterpenos constituyen una clase diversa de terpenoides de 15 átomos de carbono con relevancia biológica y farmacológica. El objetivo de esta revisión es analizar de manera crítica la clasificación estructural, las rutas biosintéticas y los mecanismos celulares de acción de sesquiterpenos halogenados aislados de algas rojas del género *Laurencia*. Se integran evidencias experimentales que describen la inducción de apoptosis dependiente de p53, la inhibición de angiogénesis mediada por VEGF, la supresión de migración e invasión celular asociada a MMPs e IL-8, así como la alteración del metabolismo energético y el estrés oxidante. En particular, compuestos como el laurinterol muestran perfiles bioactivos consistentes, aunque dependientes del modelo experimental. En conjunto, estos hallazgos posicionan a los sesquiterpenos de *Laurencia* como candidatos relevantes para el desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en productos naturales marinos, destacando la necesidad de estudios preclínicos que validen sus mecanismos de acción y seguridad.

Palabras clave: *Laurencia*; laurinterol; sesquiterpenos; mecanismos celulares; productos naturales marinos.

Abstract

Halogenated sesquiterpenes in algae of the genus *Laurencia*: diversity, biosynthesis, and therapeutic applications. Sesquiterpenes constitute a diverse class of terpenoids containing 15 carbon atoms with significant biological and pharmacological relevance. The aim of this review is to critically analyze the structural classification, biosynthetic pathways, and cellular mechanisms of action of sesquiterpenes halogenated compounds isolated from red algae of the genus *Laurencia*. Experimental evidence describing p53-dependent apoptosis induction, VEGF-mediated angiogenesis inhibition, suppression of cell migration and invasion associated with MMPs and IL-8, as well as alterations in energy metabolism and oxidative stress, is integrated. Notably, compounds such as laurinterol exhibit consistent bioactive profiles, although these effects are dependent on the experimental model. Overall, these findings position *Laurencia*-derived sesquiterpenes as relevant candidates for the development of marine-based therapeutic strategies, underscoring the need for further preclinical studies to validate their mechanisms of action and safety.

Keywords: *Laurencia*; Laurinterol; Sesquiterpenes; Cellular mechanisms; Marine natural product

Introducción

Los productos naturales han sido una fuente clave en la identificación de nuevas moléculas con aplicaciones biomédicas. Dentro de estos, los terpenos constituyen una de las familias más diversas, con más de 70,000 compuestos identificados, de los cuales aproximadamente 7,000 corresponden a sesquiterpenos. Estas moléculas, formadas por tres unidades de isopreno, exhiben una notable diversidad estructural y funcional, con actividades biológicas que incluyen efectos antibacterianos, antifúngicos, antivirales, insecticidas, citotóxicos, antitumorales e inmunosupresores¹.

Si bien, las plantas terrestres han sido ampliamente estudiadas, los organismos marinos representan una fuente igualmente relevante de metabolitos con propiedades bioactivas, lo que ha

permitido el descubrimiento de nuevas estrategias terapéuticas². Esto se refleja en los más de 36,000 compuestos aislados a partir de microorganismos y macroorganismos marinos. Además, entre 2010 y 2020, se desarrollaron y comercializaron 10 nuevos productos naturales de origen marino con aplicaciones en el tratamiento de distintos tipos de cáncer, lo que subraya el potencial terapéutico de estos compuestos frente a enfermedades oncológicas³. De acuerdo con la base de datos *Comprehensive Marine Natural Products Database*, se han descrito más de 6,000 terpenoides de origen marino, de los cuales más de 2,400 corresponden a sesquiterpenoides⁴.

En particular, las algas rojas del género *Laurencia* se han caracterizado como una fuente prolífica de estos compuestos, con 575 sesquiterpenos aislados para el 2023, distribuidos en más de 50 esqueletos de carbono distintos^{5,6}. Estos compuestos han

sido objeto de especial interés debido a su capacidad para biosintetizar sesquiterpenos halogenados, predominantemente bromados y clorados, los cuales exhiben estructuras químicas únicas y una amplia gama de actividades biológicas⁷.

En la presente revisión, se discute la diversidad estructural, biosíntesis y propiedades farmacológicas de los sesquiterpenos marinos, con especial énfasis en aquellos aislados del género *Laurencia*. Se analizan sus potenciales aplicaciones terapéuticas, particularmente en el tratamiento del cáncer.

Aspectos fundamentales

Definición y clasificación de los sesquiterpenos

Los sesquiterpenos constituyen el grupo más abundante de metabolitos secundarios presentes en las plantas. Están formados por tres unidades de isopreno y corresponden estructuralmente a terpenoides de 15 átomos de carbono. Se encuentran tanto en forma de hidrocarburos como en derivados oxigenados, incluyendo alcoholes, cetonas, aldehídos, ácidos y lactonas. Son constituyentes clave de los aceites esenciales, los cuales poseen aplicaciones en formulaciones terapéuticas. Según su estructura, los sesquiterpenos se clasifican en diferentes tipos, dependiendo de si presentan una configuración lineal o cíclica. Aunque existen formas acíclicas como el farneseno y algunos sesquiterpenoides irregulares, la mayoría de los sesquiterpenos poseen estructuras cíclicas⁸. Dado que los océanos cubren aproximadamente el 70 % de la superficie terrestre, presentan una gran biodiversidad y, por ende, una notable quimiodiversidad. Esta riqueza química se refleja en la amplia variedad de metabolitos secundarios, incluidos los sesquiterpenos marinos, cuya clasificación comprende diversos tipos estructurales con potencial bioactivo relevante (ver figura 1, 2 y 3).

Importancia de los sesquiterpenos en la naturaleza

En la naturaleza, la síntesis de metabolitos secundarios como los sesquiterpenos se desencadena frecuentemente como respuesta adaptativa a condiciones bióticas y abióticas. Entre las condiciones bióticas se incluyen interacciones con otros orga-

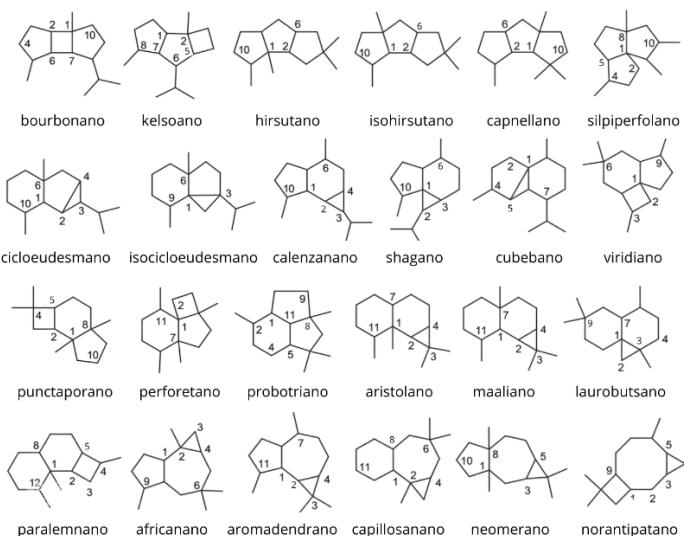


Fig. 1: Esqueletos químicos de sesquiterpenos fusionados⁹.

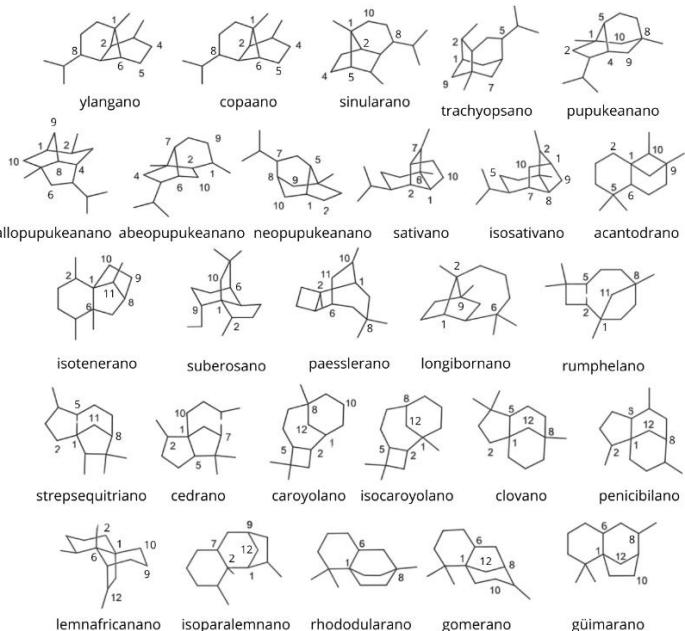


Fig. 2: Esqueletos químicos de sesquiterpenos con puentes⁹.

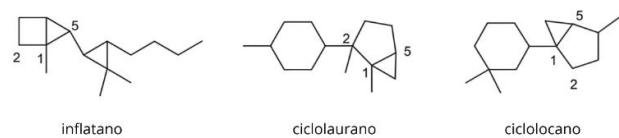


Fig. 3: Esqueletos de sesquiterpenos misceláneos⁹.

nismos como patógenos, bacterias, hongos, etc. Por otro lado, las condiciones abióticas abarcan factores físicos y químicos pertenecientes al ambiente, como lo son la radiación UV, temperaturas extremas o cambiantes y estrés salino. La capacidad para producir estos metabolitos representa una ventaja, ya que le permiten sobrevivir, competir y reproducirse en entornos cambiantes¹⁰.

Fuentes de obtención de sesquiterpenos

Los sesquiterpenos constituyen un amplio y estructuralmente diverso grupo de metabolitos secundarios que se encuentran en organismos terrestres y marinos. A continuación, se describen algunos ejemplos de organismos de que producen sesquiterpenos (figura 4).

Fuentes terrestres: Las plantas son la principal fuente terrestre de sesquiterpenos, entre las que destacan algunas especies de Asteraceae y Myrtaceae. Este grupo de plantas presenta una distribución global, importancia ecológica y medicinal. Además, son ricas en metabolitos secundarios, entre los que destacan los sesquiterpenos que se caracterizan por presentar actividades biológicas como la antiplasmódica presentada por la artemisinina que corresponde a un endoperóxido de lactona sesquiterpénica extraída de *Artemisia annua* (Asteraceae)¹¹.

Así como los sesquiterpenos con estructuras tricíclicas de *Melampodium leucanthum* que presentan citotoxicidad significativa frente a líneas celulares tumorales como PC-3 y DU 145 (próstata), así como HeLa (cérvicouterino), con valores de concentración inhibitoria media (IC_{50}) en el rango micromolar¹².

Por su parte, la familia Myrtaceae, ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales del mundo, posee gran relevancia ecológica, económica y medicinal, atribuida principalmente al potencial biológico de sus aceites esenciales. En especies de *Psidium* se han reportado monoterpenos y sesquiterpenos con esqueletos acíclicos (C-10 y C-15), destacando p-mentano, pinano, bisabolano, germacrano, cariofilano, cadinano y aromadendrano, con actividades antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas, fitotóxicas, larvicidas, antiinflamatorias y citotóxicas¹³.

Fuentes marinas: Las principales fuentes marinas de sesquiterpenos corresponden a esponjas, algas y corales. Entre las que destacan las algas rojas del género *Laurencia* (Rhodomelaceae) que pertenecen al orden Ceramiales como fuente más prolífica y estudiada de sesquiterpenos marinos. Este género es reconocido por su capacidad para biosintetizar sesquiterpenos halogenados con gran diversidad estructural, incluyendo esqueletos de tipo laurano, ciclolaurano, cuparano y chamigrano.

Entre los sesquiterpenos más representativos de *Laurencia* se encuentran dos sesquiterpenos bromados tales como el laurinterol y aplysina con actividad antibacteriana⁷. Así como laurequinona, debromolaurinterol e isolaurinterol, con efecto sobresaliente sobre parásitos cinetoplástidos, lo que los posiciona como promisorios agentes terapéuticos¹⁴.

Además de *Laurencia*, otros géneros de algas rojas son capaces de producir sesquiterpenos, aunque con menor frecuencia o diversidad. Mientras que, en algas pardas y verdes los sesquiterpenos son menos comunes. En algas pardas, se han descrito un total de 51 sesquiterpenos aislados, con esqueletos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos, así como 23 sesquiterpenoides con diversas estructuras químicas¹⁰.

Otras fuentes marinas relevantes incluyen a las esponjas del género *Spongia* (Spongidae), las cuales producen una amplia variedad de metabolitos secundarios, entre ellos sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos, meroterpenos, furanoterpenos lineales, esteroides y alcaloides, con notable actividad citotóxica, antibacteriana y antiinflamatoria¹⁵.

Asimismo, los corales blandos han demostrado ser fuentes importantes de sesquiterpenos con esqueletos únicos. Por ejemplo, en el género *Lemnalia* (Nephtyidae) se han identificado compuestos de tipo nardosinano y neolemnano, con propiedades citotóxicas, antiinflamatorias, antiangiogénicas y neuroprotectoras¹⁶.

Finalmente, los moluscos heterobranquios, como nudibranquios, sacoglosos y anaspídeos, han sido reconocidos como reservorios de sesquiterpenoides bioactivos. Estos compuestos pueden ser adquiridos a través de la dieta, bio-transformados a partir de metabolitos precursores o incluso sintetizados *de novo*. La diversidad estructural de sus terpenoides, que abarca desde monoterpenos hasta tetraterpenos, los convierte en modelos interesantes en el estudio de interacciones tróficas y química ecológica¹⁷.

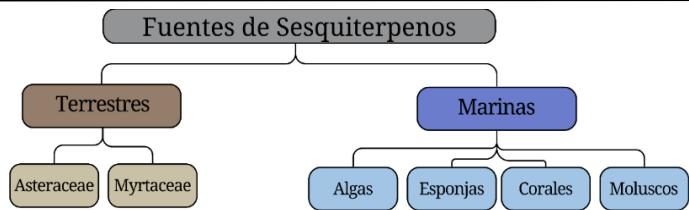


Fig. 4: Principales fuentes terrestres y marinas de sesquiterpenos. Mientras que las plantas superiores representan una fuente tradicional de estos metabolitos, los organismos marinos —incluyendo algas, esponjas, corales y moluscos— destacan por la producción de sesquiterpenos con mayor diversidad estructural.

Sesquiterpenos de Laurencia y sus actividades biológicas

Las especies del género *Laurencia* se han consolidado como una de las fuentes más relevantes de metabolitos secundarios marinos y son reconocidas por la producción de sesquiterpenos halogenados, junto con diterpenos y acetogeninas C-15, con una notable diversidad estructural y bioactividad.

Hasta la fecha, se han aislado más de 575 sesquiterpenos a partir de especies de *Laurencia*. Estos sesquiterpenos se agrupan en diferentes familias estructurales, de acuerdo con sus esqueletos carbonados. Entre los principales tipos estructurales destacan los esqueletos tipo laurano, ciclolaurano, cuparano, chamigrano, snyderano, selinano, farnesano y bisabolano⁶.

Asimismo, los compuestos aislados del género *Laurencia* han demostrado una amplia variedad de actividades biológicas (Tabla 1), que incluyen efectos antibacterianos, insecticidas, antifúngicos, antivirales, así como actividad inhibidora de tirosina y modulación de la apoptosis, tanto inductora como supresora¹⁸. Por lo tanto, las especies de *Laurencia* representan una fuente prometedora para el desarrollo de agentes terapéuticos.

Biosíntesis

Los sesquiterpenos son compuestos terpénicos formados por 15 átomos de carbono, derivados de la condensación de tres unidades de isopreno (C₅). Su biosíntesis en organismos marinos, incluyendo las algas del género *Laurencia*, puede originarse tanto por la vía del mevalonato (MVA) como por la vía del 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato (MEP/DOXP). Ambas rutas generan como intermediarios clave el isopentenil pirofosfato (IPP) y el dimetilalil pirofosfato (DMAPP), que actúan como precursores clave en la biosíntesis terpénica. Mediante una serie de reacciones de condensación, estas unidades se convierten en farnesil pirofosfato (FPP), un intermediario central en la síntesis de sesquiterpenos.

A partir del FPP, la formación del núcleo carbonado del laurinterol se lleva a cabo mediante una serie de ciclizaciones enzimáticas, catalizadas por sesquiterpeno sintasas específicas. Estas enzimas son responsables de generar esqueletos chamigranoides, característicos de numerosos metabolitos secundarios aislados de *Laurencia*³⁰.

Una vez formado el esqueleto básico, este es sometido a diversas transformaciones oxidativas, tales como hidroxilaciones y

Tabla 1. Especies del género *Laurencia* productoras de sesquiterpenos bioactivos.

Espece de <i>Laurencia</i>	Compuestos identificados	Actividad biológica	Referencias
<i>L. okamurae</i>	<ul style="list-style-type: none"> Laureno Acetato de alolaurinterol 10-bromo-7α,8α-epoxychamigr-1-en-3-ol 10-bromo-β-chamigren-8-ol 10-bromo-3-chlorocupar-5-en-2-ol 	<ul style="list-style-type: none"> Antibacteriana Citotóxica 	19, 20
<i>L. mariannensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> 9-desoxielatol Isodactiloxeno 	<ul style="list-style-type: none"> Antibacteriana Antifúngica 	21
<i>L. tristicha</i>	<ul style="list-style-type: none"> Tristicona A Tristicona B Tristicol B Tristicol D Laur-11-en-2,10-diol Laur-11-en-1,10-diol Cyclolauren-2-ol Laurentristich-4-ol 	<ul style="list-style-type: none"> Antibacteriana Antiinflamatoria 	22, 23
<i>L. obtusa</i>	<ul style="list-style-type: none"> 8-bromo-10-epi-beta-snyderol 8-bromo-beta-snyderol 5-bromo-3-(3'-hidroxi-3'-metilpent-4'-enilideno)-2,4,4-trimetilciclohexanona Alfa-snyderol Acetato de alfa-snyderol 	<ul style="list-style-type: none"> Antipalúdica Citotóxica 	24, 25
<i>L. dendroidea</i>	<ul style="list-style-type: none"> Elatol Obtusol Cartilagineol 	<ul style="list-style-type: none"> Inhibición de la producción de óxido nítrico (NO) Antibacteriana 	26
<i>L. majuscula</i>	<ul style="list-style-type: none"> Isolaureno Isolauraldehído Laur-2-eno-3,12-diol Cupareno-3,12-diol β-snyderol 2,10-dibromo-3-cloro-α-chamigreno Laurecomina C Laurokamina A 	<ul style="list-style-type: none"> Antiinflamatoria 	27
<i>L. similis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Isopalisol Luzonensol Palisadina B Aplysistatina Palisadina A 4-hidroxil-palisudina Aristol-8-en-1-ona Aristofone 	<ul style="list-style-type: none"> Citotóxica 	28
<i>L. johnstonii</i>	<ul style="list-style-type: none"> Laurinterol Isolaurinterol Laurequinona Debromolaurinterol Aplysina 	<ul style="list-style-type: none"> Antibacteriana Antiparasitaria Citotóxica 	7, 14
<i>L. snackeyi</i>	<ul style="list-style-type: none"> Sankeol Snakedio (R,Z)-33-dimetil-5-metilen-4-(3-metilpenta-24-dien-1-il)ciclohex-1-eno Palisol Pacifigorgiol Palisadina A Palisadina B Palisadina D 5-acetoxipalisadina B Debromolaurinterol α-bromocuparano 	<ul style="list-style-type: none"> Antibacteriana 	29

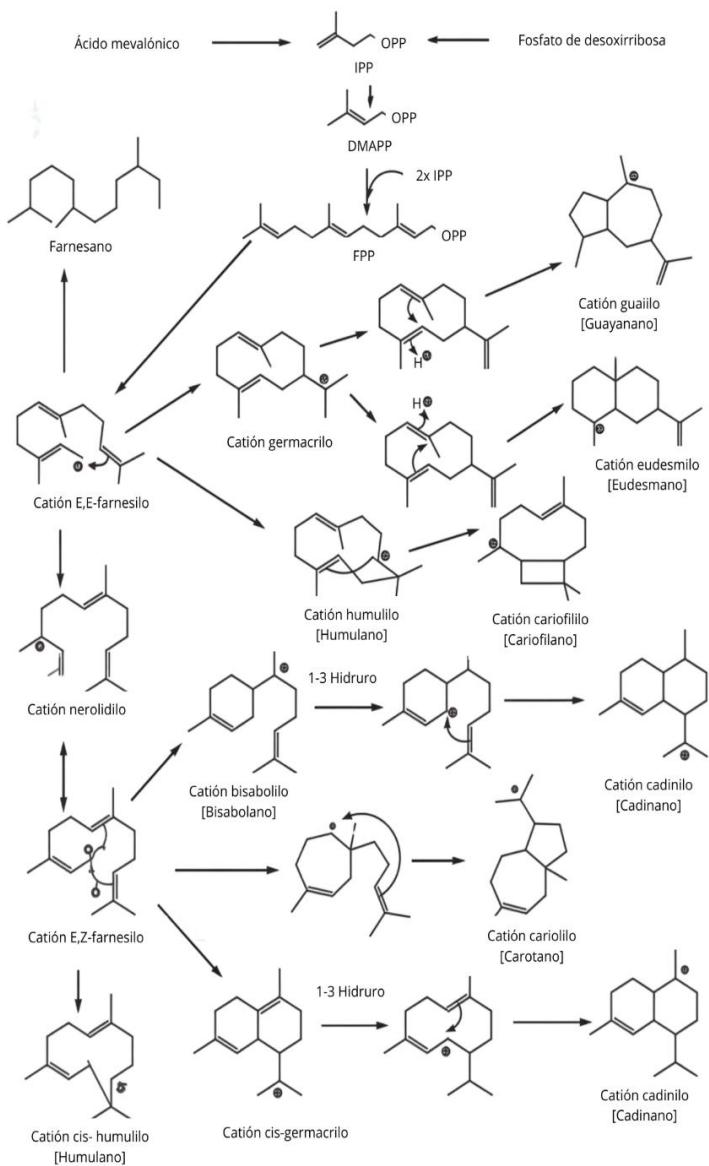


Fig. 5: Ruta biosintética de sesquiterpenos a partir del farnesil pirofosfato (FPP), mostrando la formación de carbocationes intermedios y su reorganización hacia esqueletos como cadinano, eudesmano y humulano³¹.

halogenaciones. Estas últimas son catalizadas por haloperoxidasas dependientes de vanadio, las cuales permiten la incorporación de átomos halógenos de cloro o bromo que modulan la bioactividad del metabolito final³⁰.

Este conjunto de transformaciones enzimáticas da lugar a una amplia diversidad estructural y funcional de sesquiterpenos marinos, convirtiéndolos en una fuente valiosa de compuestos bioactivos para la investigación farmacológica y biotecnológica (ver figura 5).

Mecanismos celulares

Diversos sesquiterpenos inducen efectos citotóxicos mediante la modulación de múltiples procesos celulares involucrados en la progresión tumoral, la metástasis y la angiogénesis. En particular, se ha demostrado que citocinas proinflamatorias como

la interleucina-1 β (IL-1 β) favorecen la transición epitelio-mesénquima (EMT), facilitando la migración e invasión celular. En este contexto, distintos sesquiterpenos interfieren con estas rutas mediante mecanismos específicos que se describen a continuación.

Inhibición de migración, invasión

En células de cáncer de mama triple negativo, el sesquiterpeno zerumbona, de tipo monocíclico y aislado de *Zingiber zerumbet*, ha sido evaluado en líneas MDA-MB-231 y Hs578T. Bajo estimulación con IL-1 β , la zerumbona inhibe la expresión de metaloproteinasa-3 (MMP-3), MMP-2 e interleucina-8 (IL-8), lo que se asocia con una reducción significativa de la migración e invasión celular inducidas por esta citocina proinflamatoria³². Estudios posteriores sin estimulación inflamatoria externa reportaron que la zerumbona ejerce principalmente efectos antiproliferativos y proapoptóticos, más que inhibición directa de la migración celular. En células MCF-7 y MDA-MB-231, indujo apoptosis y redujo la viabilidad sin activación previa de IL-1 β . (Eid *et al.*, 2019)³³.

Inhibición de la angiogénesis

La angiogénesis constituye otro proceso clave modulado por sesquiterpenos. En estudios *in vivo* se ha demostrado que el α -zingibereno recuperado de hojas de *Casearia sylvestris* disminuye significativamente los vasos sanguíneos medios, la activación de macrófagos y la actividad de las MMP-2/9. Por lo tanto, disminuye la invasión celular³⁴. En el contexto de cáncer, también se ha evaluado el α -zingibereno en la línea celular SiHa (carcinoma cervical humano), observando fragmentación del ADN, aumento de la población sub-G1 y otros cambios compatibles con apoptosis, lo que apoya su potencial citotóxico selectivo no solo en angiogénesis³⁵.

De forma complementaria, el ácido cóstico, un sesquiterpeno del tipo eudesmano aislado de *Nectandra barbellata*, mostró una reducción en el número de vasos sanguíneos, así como en el contenido de hemoglobina y en los niveles de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), evidenciando su actividad antiangiogénica³⁶. A diferencia del α -zingibereno, cuyo efecto antiangiogénico parece estar mediado principalmente por la modulación de la inflamación y las MMPs, el ácido cóstico actúa de manera más directa sobre factores proangiogénicos como VEGF. Esta comparación sugiere que, aunque ambos sesquiterpenos convergen en la inhibición de la angiogénesis, lo hacen a través de mecanismos parcialmente distintos, dependientes del microambiente tisular y del modelo experimental.

Inducción de muerte celular y apoptosis

Diversos compuestos aislados de *Laurencia obtusa* y *Laurencia microcladlia* han sido evaluados en líneas celulares como K562 (leucemia mieloide crónica), MCF-7 (adenocarcinoma mamario), PC3 (adenocarcinoma de próstata), HeLa (cervicouterino) y A431 (carcinoma epidermoide), destacando la actividad citotóxica de laurinterol, 7-hidroxilaurano y (E)-2-tride-

cil-2heptadecenal, sugiriendo que la presencia de átomos de bromo podría estar involucrada con el aumento de la actividad citotóxica contra estas líneas celulares, sin embargo, no todos los compuestos halogenados muestran la misma potencia, lo que indica que la actividad depende también del esqueleto sesquiterpénico y de la posición de los sustituyentes funcionales³⁷.

Estudios más específicos de *Laurencia johnstonii* permitieron caracterizar el efecto citotóxico tanto del extracto crudo como de laurinterol sobre células MCF-7, exhibiendo alteraciones morfológicas compatibles con muerte celular apoptosis. El tratamiento con extracto crudo provocó la aparición de vacuolas citoplasmáticas, ruptura parcial de la monocapa y disminución de la prominencia nuclear. En contraste, el laurinterol indujo un efecto más marcado, caracterizado por la ruptura completa de la monocapa, contracción celular, pérdida de la relación núcleo-citoplasma y pycnosis nuclear³⁸. Estos hallazgos concuerdan con reportes que señalan la capacidad de laurinterol para inducir apoptosis a través de una vía dependiente de p53, resaltando su potencial como agente antitumoral³⁹.

Estrés oxidante y alteración del metabolismo energético

Más allá de los modelos tumorales, el laurinterol ha demostrado actividad antiparasitaria en *Naegleria fowleri* destacable mediante la inhibición de la ATPasa Na^+/K^+ , lo que conduce a una reducción significativa de la producción de ATP (hasta un 99%), provocando un desequilibrio energético celular. Esto, favorece la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales generan daño en el ADN y activan rutas moleculares que culminan en apoptosis⁴⁰. Aunque este mecanismo ha sido caracterizado principalmente en modelos antiparasitarios, resulta relevante compararlo con los efectos observados en modelos tumorales, donde el estrés oxidante y el colapso energético también son vías reconocidas de inducción de apoptosis.

En conjunto, la identificación de los mecanismos celulares implicados en la actividad biológica de laurinterol reviste gran relevancia, ya que permite comprender no solo los efectos observados, sino también las rutas moleculares responsables de su acción. Estos estudios permiten orientar investigaciones futuras hacia la validación de estas rutas, el diseño de estudios combinatorios y la predicción de limitaciones.

A pesar de la evidencia creciente sobre los mecanismos celulares asociados a la actividad biológica de los sesquiterpenos revisados, es importante considerar ciertas limitaciones metodológicas. La mayoría de los estudios se basa en modelos *in vitro* y en condiciones experimentales específicas, lo que condiciona la magnitud y el tipo de respuesta observada. Asimismo, el uso heterogéneo de extractos crudos frente a compuestos aislados, así como la falta de estandarización en concentraciones, tiempos de exposición y biomarcadores evaluados, limita la comparación directa entre estudios y la extrapolación de los resultados a contextos biológicos más complejos.

Discusión

Los sesquiterpenos marinos representan una clase de metaboli-

tos secundarios con amplio potencial farmacológico, caracterizados por una elevada diversidad estructural derivada de la formación de distintos esqueletos carbocíclicos a partir del farnesil pirofosfato. Esta plasticidad biosintética se refleja en una amplia gama de actividades biológicas, que incluyen efectos citotóxicos, antimicrobianos, antiinflamatorios, antiparasitarios y antiangiogénicos, lo que posiciona a estos compuestos como candidatos relevantes en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

Entre los sesquiterpenos marinos mejor caracterizados, el laurinterol destaca por su capacidad para inducir muerte celular mediante mecanismos asociados a la alteración del metabolismo energético y al estrés oxidante. En modelos antiparasitarios, este compuesto inhibe la ATPasa Na^+/K^+ y promueve la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), conduciendo a daño en el ADN y a la activación de rutas de muerte celular programada. La presencia de mecanismos similares en otros sesquiterpenos ampliamente estudiados, como la partenolide y la artemisinina, sugiere la existencia de vías conservadas relacionadas con disfunción mitocondrial y estrés oxidante como ejes centrales de su actividad biológica.

Más allá de la citotoxicidad directa, diversos estudios han demostrado que los sesquiterpenos modulan procesos clave asociados a la progresión tumoral, incluyendo migración, invasión y angiogénesis. En modelos de cáncer de mama triple negativo, compuestos como la zerumbona y el α -zingibereno reducen la expresión de metaloproteínas de matriz (MMPs), IL-8 y VEGF, lo que se traduce en una disminución de la capacidad invasiva y angiogénica. Estos efectos sugieren que los sesquiterpenos no solo actúan como agentes antiproliferativos, sino también como moduladores de etapas tempranas del proceso metastásico, ampliando su potencial terapéutico.

No obstante, al interpretar estos resultados es necesario considerar el contexto experimental en el que fueron obtenidos. La mayoría de los estudios disponibles se basa en modelos *in vitro* y condiciones controladas, mientras que son aún limitados los trabajos que abordan parámetros como farmacocinética, toxicidad sistémica y eficacia *in vivo*. Asimismo, la variabilidad estructural característica de los sesquiterpenos marinos, influenciada por factores ambientales, geográficos y estacionales, representa un desafío adicional para la reproducibilidad experimental y la estandarización de estos metabolitos bioactivos.

En este escenario, resulta pertinente considerar nuevos enfoques metodológicos que permitan superar estas limitaciones y fortalecer la transición desde la exploración química hacia aplicaciones terapéuticas. Desde la perspectiva de la bioingeniería, el avance en la elucidación de rutas biosintéticas abre la posibilidad de implementar estrategias de producción heteróloga mediante sistemas microbianos o algales modificados genéticamente, lo que permitiría obtener sesquiterpenos específicos de manera reproducible y sostenible, reduciendo la dependencia de la biomasa natural.

De forma complementaria, la incorporación de principios de

química verde en los procesos de extracción, purificación y transformación de sesquiterpenos representa una vía prometedora para optimizar su obtención, minimizando el uso de solventes tóxicos y etapas sintéticas innecesarias. Estos enfoques son particularmente relevantes en el contexto de productos naturales marinos, donde la sostenibilidad y el impacto ambiental constituyen consideraciones fundamentales.

Asimismo, la metabolómica emerge como una herramienta clave para el estudio integral de los sesquiterpenos marinos, al permitir la correlación entre perfiles químicos complejos y respuestas biológicas específicas. Este enfoque resulta especialmente valioso en organismos del género *Laurencia*, donde los extractos crudos pueden contener múltiples metabolitos con posibles efectos sinérgicos, facilitando la identificación de compuestos clave y la comprensión de la variabilidad bioactiva observada entre estudios.

En conjunto, la integración de enfoques mecanísticos, analíticos y tecnológicos posiciona a los sesquiterpenos marinos como una fuente prometedora de moléculas terapéuticas multifuncionales. Su estudio sistemático, apoyado por estrategias de bioingeniería, química verde y metabolómica, será fundamental para avanzar hacia una validación preclínica más robusta y para evaluar su viabilidad en el desarrollo de terapias complementarias o alternativas, particularmente en el contexto del cáncer.

Consideraciones finales y perspectivas

Los sesquiterpenos marinos del género *Laurencia* constituyen una fuente relevante de metabolitos bioactivos, caracterizados por una elevada diversidad estructural y un notable potencial terapéutico, particularmente en el contexto oncológico. Aunque la elucidación completa de sus rutas biosintéticas aún se encuentra en desarrollo, la identificación de intermediarios clave y de procesos de ciclación ha permitido avanzar en la comprensión de su origen y de la generación de estructuras químicas complejas.

Compuestos representativos, como el laurinterol, han mostrado efectos citotóxicos, antiinflamatorios y antiparasitarios en distintos modelos experimentales, asociados a mecanismos celulares como la inducción de apoptosis, la inhibición de migración e invasión celular, la modulación de la angiogénesis y la alteración del metabolismo energético. No obstante, la evidencia disponible se basa mayoritariamente en modelos *in vitro* y en condiciones experimentales específicas, lo que subraya la necesidad de profundizar en la validación de estos mecanismos y en la evaluación de su reproducibilidad en sistemas biológicos más complejos.

En este sentido, futuras investigaciones deberán enfocarse en estudios preclínicos integrales que permitan validar los mecanismos de acción propuestos y evaluar la eficacia, seguridad y viabilidad terapéutica de los sesquiterpenos marinos. De manera paralela, el desarrollo de estrategias sostenibles para su ob-

tención será fundamental para reducir la dependencia de la biomasa natural y facilitar su eventual aplicación farmacológica.

Agradecimientos

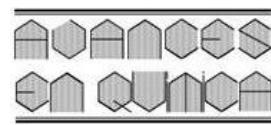
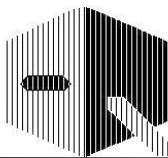
Serrano-Salas Carolina agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado mediante la beca de maestría.

Referencias

1. H Bartikova, V Hanusova, L Skalova, M Ambroz, I Bousova. Antioxidant, pro-oxidant and other biological activities of sesquiterpenes. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **14**, 2478–2494 (2014). <https://doi.org/10.2174/156802661466141203120833>
2. M Jaspars, D De Pascale, JH Andersen, F Reyes, AD Crawford, A Ianora. The marine biodiscovery pipeline and ocean medicines of tomorrow. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **96**, 151–158 (2016). <https://doi.org/10.1017/S0025315415002106>
3. M Barreca, V Spanò, A Montalbano, M Cueto, AR Díaz Marrero, I Deniz, *et al.* Marine Anticancer Agents: An Overview with a Particular Focus on Their Chemical Classes. *Marine Drugs*, **18**, 619 (2020). <https://doi.org/10.3390/md18120619>
4. Comprehensive Marine Natural Products Database. Structural Classification. Disponible en: <https://www.cmnpd.org/visualization> Achieved: 25/08/2025
5. M Harizani, E Ioannou, V Roussis. The *Laurencia Paradox*: An Endless Source of Chemodiversity. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, **102**, 91–252 (2016). https://doi.org/10.1007/978-3-319-33172-0_2
6. I Arberas-Jiménez, N Nocchi, J Chao-Pellicer, I Sifaoui, AR Soares, AR Díaz-Marrero *et al.* Sesquiterpenos tipo chamigrana de *Laurencia dendroidea* como compuestos de plomo contra *Naegleria fowleri*. *Marine Drugs*, **21**, 224 (2023). <https://doi.org/10.3390/md21040224>
7. S García-Davis, K Leal-López, CA Molina-Torres, L Vera-Cabrera, AR Díaz-Marrero, JJ Fernández *et al.* Antimycobacterial Activity of Laurinterol and Aplysin from *Laurencia johnstonii*. *Marine Drugs*, **18**, 287 (2020). <https://doi.org/10.3390/md18060287>
8. I Merfort. Review of the analytical techniques for sesquiterpenes and sesquiterpene lactones. *Journal of Chromatography A*, **967**, 115–130 (2002). [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)01560-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)01560-6)
9. F Le Bideau, M Kousara, L Chen, L Wei, F Dumas. Tricyclic Sesquiterpenes from Marine Origin. *Chemical Reviews*, **117**, 6110–6159 (2017). <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00502>
10. I Moreno-Gutiérrez, S Berenguel-Gómez, M Muñoz-Dorado, M Álvarez-Corral, I Rodríguez-García. Sesquiterpenes from Brown Algae. *Marine Drugs*, **23**, 210 (2025). <https://doi.org/10.3390/23050210>
11. DK Ro, EM Paradise, M Ouellet, KJ Fisher, KL Newman, JM Ndungu *et al.* Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. *Nature*, **440**, 940–943 (2006). <https://doi.org/10.1038/nature04640>

12. AJ Robles, J Peng, RM Hartley, B Lee, SL Mooberry. *Melampodium leucanthum*, a source of cytotoxic sesquiterpenes with anti-mitotic activities. **Journal of Natural Products**, **78**, 388–395 (2015). <https://doi.org/10.1021/np500768s>
13. RCE Silva, JSD Costa, RO Figueiredo, WN Setzer, JKRD Silva, JGS Maia *et al.* Monoterpenes and Sesquiterpenes of Essential Oils from *Psidium* Species and Their Biological Properties. **Molecules**, **26**, 965 (2021). <https://doi.org/10.3390/molecules26040965>
14. S García-Davis, A López-Arencibia, CJ Bethencourt-Estrella, D San Nicolás-Hernández, E Viveros-Valdez, AR Díaz-Marrero *et al.* Laurequinone, a Lead Compound against Leishmania. **Marine Drugs**, **21**, 333 (2023). <https://doi.org/10.3390/md21060333>
15. QB Yang, LF Liang. *Spongia* Sponges: Unabated Sources of Novel Secondary Metabolites. **Marine Drugs**, **22**, 213 (2024). <https://doi.org/10.3390/md22050213>
16. A Koutsaviti, M Kvasnicová, G Gonzalez, T Štenclová, S Agusti, CM Duarte *et al.* Isolation and Bioactivity Evaluation of Sesquiterpenes from an Alcyonarian of the Genus *Lemnalia* from the Saudi Arabian Red Sea. **Chemistry & Biodiversity**, **21**, e202400235 (2024). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202400235>
17. C Avila. Terpenoids in Marine Heterobranch Molluscs. **Marine Drugs**, **18**, 162 (2020). <https://doi.org/10.3390/md18030162>
18. LR De Carvalho, JN Farias, P Riul, MT Fujii. Una descripción general de la distribución global de los diterpenos sintetizados por el complejo de algas rojas *Laurencia* (Ceramiales, Rhodomelaceae). **Marine Algae Extracts: Processes, Products, and Applications**, **14**, 245–266 (2015). <https://doi.org/10.1002/9783527679577.ch14>
19. XD Li, FP Miao., K Li, NY Ji. Sesquiterpenes and acetogenins from the marine red alga *Laurencia okamurae*. **Fitoterapia**, **83**, 518–522 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.12.018>
20. MM Kim, E Mendis, SK Kim. *Laurencia okamurae* extract containing laurinterol induces apoptosis in melanoma cells. **Journal of Medicinal Food**, **11**, 260–266 (2008). <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.575>
21. NY Ji, XM Li, K Li, LP Ding, JB Gloer, BG Wang. Diterpenes, sesquiterpenes, and a C15-acetogenin from the marine red alga *Laurencia mariannensis*. **Journal of Natural Products**, **70**, 1901–1905 (2007). <https://doi.org/10.1021/np070378b>
22. JY Chen, CY Huang, YS Lin, TL Hwang, WL Wang, SF Chiou *et al.* Halogenated Sesquiterpenoids from the Red Alga *Laurencia tristicha* Collected in Taiwan. **Journal of Natural Products**, **79**, 2315–2323 (2016). <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00452>
23. J Sun, D Shi, M Ma, S Li, S Wang, L Han *et al.* Sesquiterpenes from the red alga *Laurencia tristicha*. **Journal of Natural Products**, **68**, 915–919 (2005). <https://doi.org/10.1021/np050096g>
24. G Topcu, Z Aydogmus, S Imre, AC Gören, JM Pezzuto, JA Clement *et al.* Brominated sesquiterpenes from the red alga *Laurencia obtusa*. **Journal of Natural Products**, **66**, 1505–1508 (2003). <https://doi.org/10.1021/np030176p>
25. JRB Monteiro, RP Rodrigues, AC Mazzuco, R de Cassia Ribeiro Gonçalves, AF Bernardino, RM Kuster *et al.* *In Vitro* and *In Silico* Evaluation of Red Algae *Laurencia obtusa* Anticancer Activity. **Marine Drugs**, **21**, 318 (2023). <https://doi.org/10.3390/21060318>
26. TL Biá Ventura, FL da Silva Machado, MH de Araujo, LM de Souza Gestinari, CR Kaiser, F de Assis Esteves *et al.* Nitric Oxide Production Inhibition and Anti-Mycobacterial Activity of Extracts and Halogenated Sesquiterpenes from the Brazilian Red Alga *Laurencia dendroidea* J. Agardh. **Pharmacognosy Magazine**, **11**, 611–618 (2015). <https://doi.org/10.4103/0973-1296.172972>
27. MA Tammam, MG Daskalaki, N Tsoureas, O Kolliniati, A Mahdy, SC Kampranis *et al.* Secondary Metabolites with Anti-Inflammatory Activity from *Laurencia majuscula* Collected in the Red Sea. **Marine Drugs**, **21**, 79 (2023). <https://doi.org/10.3390/21020079>
28. H Su, DY Shi, J Li, SJ Guo, LL Li, ZH Yuan *et al.* Sesquiterpenes from *Laurencia similis*. **Molecules**, **14**, 1889–1897 (2009). <https://doi.org/10.3390/molecules14051889>
29. T Kamada, CS Vairappan. Non-halogenated new sesquiterpenes from Bornean *Laurencia snackyi*. **Natural Product Research**, **31**, 333–340 (2017). <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1241996>
30. LS De Oliveira, DA Tschoeke, AS de Oliveira, LJ Hill, WC Paradis, LT Salgado *et al.* New Insights on the terpenome of the red seaweed *Laurencia dendroidea* (Florideophyceae, Rhodophyta). **Marine Drugs**, **13**, 879–902 (2015). <https://doi.org/10.3390/21020879>
31. MD Awouafack, P Tane, V Kuete, JN Eloff. 2 - Sesquiterpenes from the Medicinal Plants of Africa. **Medicinal Plant Research in Africa**, 33–103 (2013). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00002-3>
32. J Han, SY Bae, SJ Oh, J Lee, JH Lee, HC Lee *et al.* Zerumbone suppresses IL-1 β -induced cell migration and invasion by inhibiting IL-8 and MMP-3 expression in human triple-negative breast cancer cells. **Phytotherapy Research**, **28**, 1654–1660 (2014). <https://doi.org/10.1002/ptr.5178>
33. E al-Adha, AS Alanazi, S Koosha, AA Alrasheedy, F Azam, IM Taban *et al.* Zerumbone Induces Apoptosis in Breast Cancer Cells by Targeting $\alpha v\beta 3$ Integrin upon Co-Administration with TP5-iRGD Peptide. **Molecules (Basel, Switzerland)**, **24**, 2554. (2019) <https://doi.org/10.3390/molecules24142554>
34. BA Ferreira, RF Silva, FBR de Moura, CT Narduchi, SR Deconte, P Sartorelli *et al.* α -Zingiberene, a sesquiterpene from essential oil from leaves of *Casearia sylvestris*, suppresses inflammatory angiogenesis and stimulates collagen deposition in subcutaneous implants in mice. **Natural Product Research**, **36**, 5858–5862 (2022). <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2019729>
35. Y Lee. Cytotoxicity Evaluation of Essential Oil and its Component from *Zingiber officinale* Roscoe. **Toxicological Research**, **32**, 225–230. (2016). <https://doi.org/10.5487/TR.2016.32.3.225>
36. BA Ferreira, FBR Moura, IS Cassimiro, VS Londero, MM Gonçalves, JHG Lago *et al.* Cistic acid, a sesquiterpene from *Nectandra barbellata* (Lauraceae), attenuates sponge implant-induced inflammation, angiogenesis and collagen deposition *in vivo*. **Fitoterapia**, **175**, 105939 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.105939>

37. M Kladi, H Xenaki, C Vagias, P Papazafiri, V Roussis. New cytotoxic sesquiterpenes from the red algae *Laurencia obtusa* and *Laurencia microcladlia*. **Tetrahedron**, **62**, 182–189 (2006). <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.09.113>
38. S García-Davis, E Viveros-Valdez, AR Díaz-Marrero, JJ Fernández, D Valencia-Mercado, O Esquivel-Hernández *et al.* Efecto antitumoral del laurinterol en cultivo 3D de explantes de cáncer de mama. **Drogas Marinas**, **17**, 201 (2019). <https://doi.org/10.3390/md17040201>
39. J Elia, K Petit, JM Huvelin, M Tannoury, M Diab-Assaf, D Carboneille *et al.* Acetone Fraction of the Red Marine Alga *Laurencia papillosa* Reduces the Expression of Bcl-2 Anti-apoptotic Marker and Flotillin-2 Lipid Raft Marker in MCF-7 Breast Cancer Cells. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, **19**, 321–330 (2020). <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.1100933>
40. I Arberas-Jiménez, S García-Davis, A Rizo-Liendo, I Sifaoui, EQ Morales, JE Piñero *et al.* Cyclolauranes as plausible chemical scaffold against *Naegleria fowleri*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, **149**, 112816 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112816>



Copper(II) triflate in Catalysis: A benchmark tool for Organic Synthesis

Ricardo R. Contreras^{1*}

Laboratorio de Organometálicos, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de Los Andes. Mérida – 5101 - Venezuela

(*) ricardo@ula.ve; ricardo.r.contreras@gmail.com

Recibido: 23/09/2025

Revisado: 18/11/2025

Aceptado: 30/12/2025

Abstract

Copper(II) triflate ($\text{Cu}(\text{OTf})_2$), whose early mechanistic foundations were established by the pioneering studies of Jay K. Kochi in 1972 and subsequently popularized in the field of catalysis, has emerged as a powerful tool in modern synthetic chemistry. Its physicochemical properties, well-defined $\text{Cu}(\text{II})/\text{Cu}(\text{I})$ redox behavior, stability in organic media, and compatibility with a wide range of functional groups make it a highly effective platform for homogeneous transformations. This review examines its preparation, reactivity profile, and role in a broad spectrum of transformations, including coupling reactions (Ullmann, Sonogashira, Chan–Lam), Friedel–Crafts reactions, Lewis-acid-mediated cyclizations, aminations, cycloadditions, and radical processes. In addition, its utility in multicomponent reactions (MCRs), asymmetric synthesis, and heterogeneous catalytic systems supported on silica, zeolites, or nanotubes (HTNT) is examined. Applications in unconventional media such as ionic liquids, deep eutectic solvents, and solvent-free conditions, as well as in microwave- and ultrasound-assisted reactions and in photocatalysis, further highlight its catalytic versatility. Recent bibliometric analyses indicate a steady rise in publications involving $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, reinforcing its position as a benchmark catalyst. Moreover, its successful use in total syntheses and one-pot procedures, often consistent with green chemistry principles, underscores its potential as a valuable system for diverse catalytic transformations in contemporary organic synthesis.

Keywords: Copper(II) triflate; Homogeneous catalysis, C–H activation; C–C bond formation; Green chemistry

Resumen

El triflato de cobre (II) en catálisis: una herramienta de referencia para la síntesis orgánica. El triflato de cobre(II) ($\text{Cu}(\text{OTf})_2$), cuyas bases mecanísticas fueron establecidas por los estudios pioneros de Jay K. Kochi en 1972 y posteriormente popularizado en el campo de la catálisis, se ha consolidado como una herramienta poderosa en la síntesis química moderna. Sus propiedades fisicoquímicas, un comportamiento redox $\text{Cu}(\text{II})/\text{Cu}(\text{I})$ bien definido, su estabilidad en medios orgánicos y su compatibilidad con una amplia gama de grupos funcionales lo convierten en una plataforma altamente eficaz para transformaciones homogéneas. Esta revisión examina su preparación, su reactividad y su papel en un amplio espectro de transformaciones, incluyendo reacciones de acoplamiento (Ullmann, Sonogashira y Chan–Lam), reacciones de Friedel–Crafts, ciclaciones mediadas por ácidos de Lewis, aminaciones, ciclo-adiciones y procesos radicalarios. Asimismo, se analiza su utilidad en reacciones multicomponente (MCRs), síntesis asimétrica y sistemas catalíticos heterogéneos soportados sobre sílice, zeolitas o nanotubos (HTNT). Sus aplicaciones en medios no convencionales, como líquidos iónicos, disolventes eutécticos profundos y condiciones libres de disolvente, así como en reacciones asistidas por microondas y ultrasonido y en procesos de fotocatálisis, ponen de manifiesto su versatilidad catalítica. Estudios bibliométricos recientes indican un incremento sostenido de las publicaciones que involucran al $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, lo que refuerza su posición como catalizador de referencia. Además, su uso exitoso en síntesis totales y procedimientos tipo *one-pot*, frecuentemente de acuerdo con los principios de la química verde, subraya su potencial como un valioso sistema para diversas transformaciones catalíticas en la síntesis orgánica contemporánea.

Palabras clave: Triflato de cobre(II); catálisis homogénea; activación C–H; formación de enlaces C–C; química verde

Introduction

Catalysis plays a central role in the development of efficient, sustainable, and economically viable chemical processes¹. More than 80%² of modern industrial operations, as well as a substantial proportion of synthetic transformations in fine chemistry³, rely at some stage on catalytic activity. In the field of organic synthesis, catalysis has enabled selective access to diverse classes of compounds through covalent bond activation, the controlled formation of new C–C and C–X bonds (X = N, O, S), and the development of reaction pathways governed by regio- and stereoselectivity. Within this wide range of cata-

lytic tools, Lewis's acids, whether employed as additives or co-catalysts, have been particularly valued for their ability to activate substrates and steer reaction pathways in complex organic transformations⁴.

In this context, copper(II) triflate, $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ (Fig. 1a), combines the redox versatility of copper with the advantages of the trifluoromethanesulfonate anion (OTf^-), which, although often described as weakly coordinating, can exhibit moderate coordination and generate HOTf *in situ*, thereby enhancing the electrophilicity of the metal center and facilitating the generation of catalytically active species in solution⁵. The accessible oxida-

tion states Cu(0), Cu(I) and Cu(II) (with possible Cu(III) intermediates under oxidative conditions), together with its stability in organic media, have established Cu(OTf)₂ as an efficient, economical, and selective catalyst for a broad array of transformations (Fig. 1b)^{6,7}, including cross-couplings, mild oxidations, cyclization, and radical reactions⁸. These features contribute to its broad applicability, although direct replacement of noble-metal catalysts must be evaluated case-by-case.

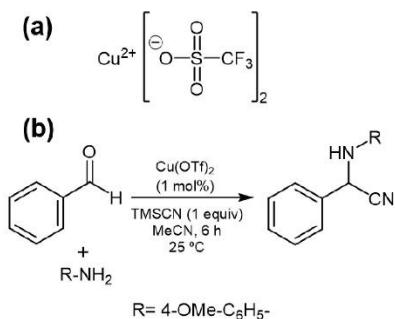


Fig. 1: (a) Structure of copper(II) trifluoromethanesulfonate, Cu(OTf)₂. (b) Representative three-component synthesis of α -amino nitriles catalyzed by Cu(OTf)₂, performed under mild conditions with a high yield (95%). Note: This reaction involves Cu(II) specifically and should not be confused with Cu(I) triflate.

The development of copper(II) triflate as a catalyst traces back to the pioneering work of Jay Kazuo Kochi⁹ (1927–2008), who in 1972, at Indiana University, demonstrated its efficacy in olefin oxidation¹⁰, highlighting a distinctive redox behavior compared to other copper compounds. His studies clarified the involvement of ionic and radical pathways in Cu(II)/Cu(I) redox processes; however, the specific role of the trifluoromethanesulfonate counterion was not explicitly recognized at that stage. Subsequent investigations revisited this assumption and showed that the anion can actively modulate catalytic behavior, thereby setting the stage for later developments in homogeneous copper catalysis.

Cu(OTf)₂ has demonstrated remarkable versatility in homogeneous catalysis, enabling C–C and C–N couplings (Ullmann¹¹ and Chan–Lam¹² variants), C–H activation in arylation¹³, alkylation¹⁴, and amination¹⁵, as well as intramolecular cyclizations and heterocyclizations relevant to the synthesis of bioactive heterocycles¹⁶. It has also proven effective in nucleophilic addition and substitution reactions, allowing the formation of acetals, ethers, esters, and azides in the presence of diverse functional groups, including multicomponent transformations under mild Lewis-acid conditions^{17,18}.

This review aims to provide a comprehensive perspective on copper(II) triflate as a homogeneous catalyst, addressing its preparation, physicochemical characteristics, and representative catalytic applications, from the mechanistic insights established by Kochi to more recent developments. Current trends in homogeneous, heterogeneous, and asymmetric catalysis are also discussed, emphasizing its potential in emerging synthetic strategies within the context of milder and more sustainable reaction conditions¹⁹. The goal is to provide an updated frame-

work for future research on Cu(OTf)₂ catalysis.

Methodology

The methodology of this review was based on a structured literature analysis, with the aim of examining copper(II) triflate and its relevance in catalysis applied to the synthesis of high-value organic compounds. Databases and recognized academic sources were consulted, including ACS Publications, Google Scholar, ScienceDirect, Scopus, Wiley Online Library, as well as technical catalogs from Strem Chemicals and Sigma-Aldrich (Merck KGaA®). Priority was given to original research articles, specialized reviews, and book chapters published between 1972 and 2024, starting from the seminal study of Jay K. Kochi (1972)¹⁰. The literature selection considered both experimental and theoretical studies providing relevant information on its catalytic behavior. Search terms included combinations such as “copper triflate”, “copper(II) triflate catalysis”, “Cu(OTf)₂ organic synthesis”, “copper triflate reactions”, and “copper-catalyzed C–N/C–C bond formation”, adjusted according to the filters of each database. Boolean operators (AND, OR, quotation marks) were applied for exact searches, along with filters for language and document type. Additionally, a keyword co-occurrence analysis was carried out using the VOSviewer software (version 1.6.20)²⁰ based on a Scopus database search with “copper(II) triflate” as the keyword. A total of 760 records were retrieved, filtered by relevance, and clustered using the program’s algorithm. The resulting map revealed color-coded thematic clusters, highlighting research areas associated with copper triflate catalysis.

Results and Discussion

Copper as a catalyst: strategic foundations

The appeal of copper as a catalytic metal arises from a well-balanced combination of structural, electronic, and economic factors that make it an attractive option in catalysis²¹. From a chemical standpoint, copper belongs to the d block, which in catalytic systems gives access predominantly to Cu(I) ($3d^{10}$) and Cu(II) ($3d^9$) species. Nevertheless, recent advances have demonstrated that higher oxidation states, including Cu(III) ($3d^8$)²², can be stabilized in well-defined molecular complexes under specific ligand and solvation environments, thereby broadening the range of mechanistic scenarios proposed for copper-mediated transformations²³, although the precise nature of high-valent copper intermediates under catalytic conditions remains the subject of ongoing discussion^{24,25}.

The Cu(II)/Cu(I) redox couple has a standard reduction potential of +0.16 V in aqueous solution, indicating the relative ease with which Cu(I) can be oxidized to Cu(II), although these values are strongly influenced by solvent effects and ligand coordination under catalytic conditions. As a consequence, Cu(I) is thermodynamically unstable in aqueous media and tends to disproportionate into Cu(0) and Cu(II), with an overall potential of $E^\circ = -0.37$ V²⁶. However, in organic media or in the presence of stabilizing ligands such as Cl⁻, Br⁻, CN⁻, OTf⁻, or OR⁻,

Cu(I) species can be effectively stabilized and actively participate in catalytic cycles, as evidenced in numerous copper-mediated C–N and C–C bond-forming reactions.

Remarkably, this redox flexibility of copper, combined with its ability to engage in both single-electron transfer processes (as in radical reactions) and two-electron mechanisms (such as Chan–Lam couplings^{27,28}), renders it a particularly efficient and adaptable transition metal for diverse catalytic contexts.

On the other hand, the ability of copper to form coordination compounds with oxygenated ligands²⁹ (e.g., salen-type³⁰), nitrogenated³¹, sulfur-based³², phosphine (as in the Stryker reagent³³), or N-heterocyclic carbene ligands³⁴, together with its behavior as a soft Lewis acid in the Cu(I) state and as a borderline Lewis acid in the Cu(II) state, depending on the ligand field, according to the Pearson scale³⁵, favors the selective activation of multiple bonds, heteroatoms, and leaving groups. Moreover, unlike noble metals such as palladium or platinum, copper is relatively abundant in the Earth's crust (~100 ppm)³⁶, its salts are inexpensive³⁷ and display lower toxicity³⁸, reinforcing its position as an excellent candidate for catalyst-based strategies.

Catalytic role of trifluoromethanesulfonate as a non-coordinating ligand

Trifluoromethanesulfonate ($[\text{CF}_3\text{SO}_3^-]$, OTf $^-$, triflate) is derived from trifluoromethanesulfonic acid ($\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$, triflic acid), a superacid ($\text{pK}_a = -12$)³⁹ stronger than pure sulfuric acid. While it must be handled with extreme care, it provides unique opportunities for the generation of valuable products^{40,41}. Owing to its structural features, the triflate anion is bulky, highly electronegative, and of low nucleophilicity, properties that make it ideal for homogeneous catalysis, particularly when highly electrophilic and reactive metal species are required in solution. Although traditionally regarded as a non-coordinating ligand, several studies⁴² have highlighted that its influence can extend beyond simple ionic equilibria and may involve transient or weak inner-sphere interactions with the metal center or substrate, depending on the medium and the catalytic environment.

From a coordination chemistry perspective, the triflate anion is classified as a non-coordinating or weakly coordinating ligand, whose interaction with the metal center is predominantly electrostatic rather than covalent. This lability is one of its most valued features in synthesis, as it keeps the metal center coordinatively unsaturated, thereby facilitating the entry of auxiliary ligands (e.g., water, pyridine, or phosphines) through displacement of OTf^- (e.g., $\text{M}(\text{OTf}) + \text{L} \rightarrow \text{M}(\text{L}) + \text{OTf}^-$). Its low nucleophilicity and limited tendency to form covalent bonds also make it an excellent counterion, particularly useful for stabilizing highly electrophilic cationic species, as commonly observed in reactions requiring highly electrophilic or coordinatively unsaturated metal centers, such as in heterolytic H_2 activation processes⁴³. Moreover, its perfluorinated structure confers high solubility in both aqueous and organic media⁴⁴, good

thermal stability, and low reactivity toward atmospheric moisture, thereby preserving a high Lewis acidity at the metal center, an aspect crucial in homogeneous catalysis, especially in redox transformations.

Taken together, these features make OTf⁻ a suitable substitute for perchlorate, tetrafluoroborate, and hexafluorophosphate anions in catalysis. Nevertheless, it has been documented that in highly polar media or in the absence of competitive ligands, OTf⁻ may remain within the inner coordination sphere, as observed in complexes of Cu(II), Ru(II), and other d-block metals⁴⁵. In the specific case of copper(II) trifluoromethanesulfonate, OTf⁻ modulates the reactivity of the catalytic center by maintaining the metal center coordinatively accessible, thereby favoring the formation of active species in solution and enabling C–N and C–C couplings, C–H activations, and radical transformations under mild conditions with broad functional group tolerance.

Synthesis of copper(II) triflate: strategies and experimental considerations

A commonly employed method for preparing metal triflates involves the direct reaction of metal chlorides (MCl_x) with trifluoromethanesulfonic acid (CAS: 1493-13-6) under anhydrous conditions, followed by precipitation of the product with dry diethyl ether. This procedure is successfully applied to Cu(II) salts as well as triflates of other transition metals, including Pd(II), Pt(II), M(III) ($M = Co, Rh, Ir, Ru, Os$), and Pt(IV), among others⁴⁶, as illustrated in reaction 1.



The synthesis is typically carried out under a nitrogen atmosphere and in a fume hood owing to the release of HCl vapors. The product is isolated by careful addition of dry diethyl ether, which induces precipitation of the corresponding triflate salt. The resulting solids are typically crystalline, soluble in polar organic solvents such as acetonitrile (although in some cases the triflate anion may be displaced by this ligand), and display good stability.

A practical route to metal trifluoromethanesulfonates, particularly useful for acid-sensitive compounds, involves the reaction of a metal sulfate ($M(SO_4)_x$) with a stoichiometric amount of barium triflate (CAS: 2794-60-7) in aqueous solution, as shown in reaction 2.



Barium sulfate, being insoluble, precipitates and is removed by filtration, while the metal triflate remains in solution. The solvent is removed by rotary evaporation under reduced pressure, yielding the product as a solid that can be purified by recrystallization if necessary. This methodology avoids the use of strong acids and is compatible with thermally or chemically sensitive systems, making it especially valuable for substrates prone to decomposition under acidic conditions.

An alternative route involves treatment of metal halides (MCl_x)

with silver triflate (CAS: 2923-28-6) in aqueous solution, as shown in reaction 3.



When the dissolved metal halide is mixed with a stoichiometric amount of $Ag(CF_3SO_3)$, a silver chloride precipitate forms immediately and is removed by vacuum filtration. The metal triflate remains in solution and is recovered by solvent evaporation. This method is particularly useful for preparing metal triflates from poorly water-soluble halides because it avoids the need for strong acids and is compatible with acid-sensitive substrates.

The procedure originally introduced by Jay K. Kochi¹⁰ for the preparation of $Cu(OTf)_2$ involves the acid–base reaction of copper carbonate (5 g, 0.0405 mol) with trifluoromethanesulfonic acid (12 g, 0.080 mol) in 200 mL of acetonitrile, as shown in reaction 4.



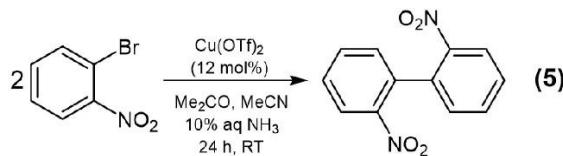
The trifluoromethanesulfonic acid is added slowly owing to vigorous CO_2 release. After 0.5 h of stirring, the mixture is filtered and the blue solid is concentrated to dryness. The crude product is washed with petroleum ether, redissolved in acetonitrile, and precipitated by addition of diethyl ether. Cooling to $-20^{\circ}C$ affords a light-blue solid, which is dried under vacuum at $130^{\circ}C$ for 8 h to yield 8 g of purified $Cu(OTf)_2$.

Currently, copper(II) triflate is commercially available at reasonable cost from major chemical suppliers. Its CAS number is 34946-82-2, with catalog entries such as Sigma-Aldrich 45,908-9 (99.99%), 28,367-3 (98%), and Strem Chemicals 29-5000 (98%). It is typically supplied as an anhydrous light-blue solid with purities above 98%, soluble in polar organic solvents such as acetonitrile and dichloromethane. The compound is corrosive and hygroscopic and should be handled under an inert atmosphere, as it readily absorbs moisture and undergoes slow hydrolysis, which can compromise stability and catalytic performance.

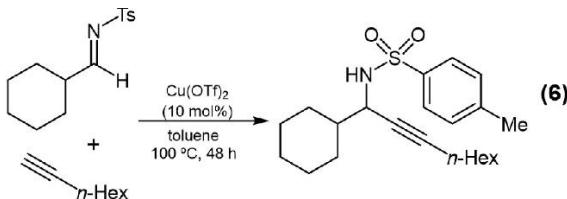
Selected catalytic applications of copper(II) triflate in organic synthesis

During the last five decades, copper(II) triflate has proven to be a versatile and efficient catalyst across a broad range of organic transformations, particularly in homogeneous catalysis. Its ability to activate C–C and C–N bonds under mild conditions, together with its compatibility with diverse functional groups, has driven its application in the synthesis of high-value products, including pharmaceuticals, functional materials, and natural products. Among these, C–C coupling reactions represent a prominent field of application. For instance, Ullmann-type couplings, which typically involve the formation of C–C, C–N, C–O, or C–S bonds and are traditionally catalyzed by metallic copper or Cu(I) species⁴⁷ under harsh conditions at elevated temperatures ($>200^{\circ}C$), can also be carried out efficiently with $Cu(OTf)_2$ under milder conditions. Notably, the $Cu(OTf)_2$ -cat

alyzed homocoupling of 2-bromonitrobenzene at room temperature affords the corresponding nitro-substituted biphenyl in 79% yield, as shown in reaction 5⁴⁸.



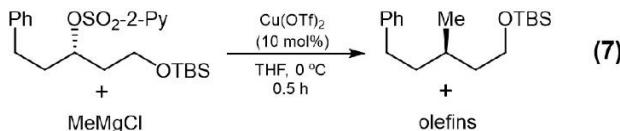
Another notable case is the Sonogashira-type coupling⁴⁹, which traditionally involves the reaction of terminal alkynes with aryl or vinyl halides to form conjugated C≡C–C bonds, typically requiring Pd/Cu catalytic systems. Importantly, a palladium-free variant has been developed in which $Cu(OTf)_2$ serves as the sole catalyst, efficiently promoting C(sp)–C(sp²) coupling under milder and more economical conditions. The catalytic activity of $Cu(OTf)_2$ is attributed to its Lewis acidity, which facilitates aryl halide activation and alkyne deprotonation, generating key copper–acetylide intermediates for transmetalation. As illustrated in reaction 6^{50,51}, this strategy enables the synthesis of sulfonyl-substituted propargylamines, with the product obtained in 63% yield, underscoring the ability of $Cu(OTf)_2$ to activate alkynes under neutral conditions without the need for palladium.



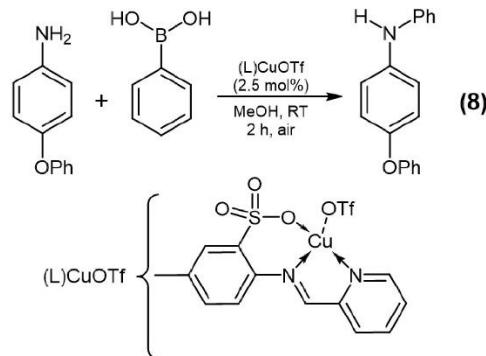
A synthetic approach of particular interest involves cross-coupling reactions between aryl halides (or their functional equivalents) and highly reactive carbon nucleophiles. These transformations enable efficient couplings between readily available nucleophiles (e.g., Grignard reagents) and activated alkyl electrophiles, thereby facilitating the construction of C(sp³)–C(sp³) bonds, even at stereogenic centers. In this context, $Cu(OTf)_2$ has proven to be an effective catalyst, capable of activating both the halide and the nucleophile simultaneously. Its high electrophilicity, combined with the lability of the trifluoromethanesulfonate anion, favors the transient formation of organocopper species that participate in the coupling step, even in the absence of strong bases or strictly anhydrous conditions.

A representative example is the coupling between an O-alkyl-2-pyridinesulfonate and the Grignard reagent $MeMgCl$, as exemplified by reaction 7⁵², forming a C–C bond via an S_N2^{53} substitution with inversion at the chiral center. The transformation proceeds with high yields and enantioselectivities in short reaction times. Interestingly, the OSO_2-2-Py group acts as a pseudo-halogen. The reaction also generates a mixture of olefins ($PhCH_2CH=CH(CH_2)_2OTBS$ and $Ph(CH_2)_2CH=CHCH_2OTBS$; OTBS = O-tert-butyldimethylsilyl). Remarkably, no additives such as TMEDA (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine) or LiOMe are required, highlighting the intrinsic ability

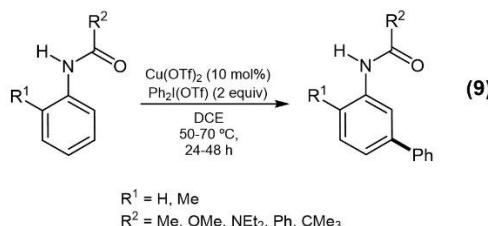
of $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ to promote the coupling without the assistance of external ligands or bases.



Copper-catalyzed aminations represent one of the most effective strategies for C–N bond formation under mild conditions. Among them, Chan–Lam reactions⁵⁴ have gained particular prominence for their ability to couple nitrogen nucleophiles (e.g., amines, amides, or azoles) with arylboronates or other organic nucleophiles, using copper(II) triflate catalysts under air and without auxiliary ligands or additional oxidants. A particularly effective strategy in these transformations is the preformation of $\text{LCu}(\text{OTf})$ complexes, in which an appropriate ligand (L) stabilizes the metal center while OTf^- serves as a non-coordinating counterion. These preformed complexes modulate the reactivity of the system, enabling highly selective and efficient couplings. As demonstrated in reaction 8^{55,56}, a Chan–Lam amination between 4-phenoxyaniline and phenylboronic acid catalyzed by preformed $\text{LCu}(\text{OTf})$ achieves conversions above 99%, demonstrating the high reactivity of well-defined Cu(II)–ligand complexes in oxidative coupling pathways.



In addition to coupling processes, $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ has also been employed in oxidative C–H functionalization reactions that are not accessible through purely Lewis acidic triflate systems. A representative example is the arylation of simple arenes catalyzed by copper(II) triflate using diphenyliodonium triflate as the arylating agent⁵⁷. As illustrated in reaction 9, the catalyst (typically 10 mol%) was used in combination with $\text{Ph}_2\text{I}(\text{OTf})$ (2 equiv), enabling direct arylation of electron-rich arenes. The reactions were conducted at 50–70 °C in 1,2-dichloroethane (DCE) and afforded the corresponding arylated products in moderate to good yields, with a marked preference for substitution patterns governed by the electronic nature of the substrate.



The mechanistic proposal⁵⁸, as shown in Fig. 2, underscores the involvement of high-valent organocopper species and suggests that interaction between the diaryliodonium salt and a reduced copper species leads to the formation of a formal aryl Cu(III) intermediate. A key feature of this transformation is the direct transfer of an aryl group to a C–H bond at the *meta* position of the arene ring, a site that is difficult to functionalize by conventional Friedel–Crafts reactions (Gaunt's proposal)⁵⁹. The initial mechanistic interpretation invoked an anti-oxocupration pathway involving aryl Cu(III) species; however, subsequent, and more detailed DFT studies disfavored this scenario and instead supported an alternative mechanism involving initial metal attack at the *ortho* position, followed by a four-membered transition state that ultimately delivers arylation at the *meta* position (Wu's proposal)⁶⁰. Further studies demonstrated that the presence of a carbonyl group plays a decisive role in controlling regioselectivity, enabling *meta* arylation even in electronically neutral arenes, whereas substrates lacking such directing groups preferentially undergo para or *ortho* functionalization. This transformation illustrates a key advantage of $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ over non-redox-active triflates (e.g., $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ or $\text{X}(\text{OTf})_3$, where $\text{X} = \text{La, Sc, Bi}$), while also indicating that important questions remain regarding the nature and lifetime of high-valent copper intermediates in copper mediated oxidative and C–H functionalization processes.

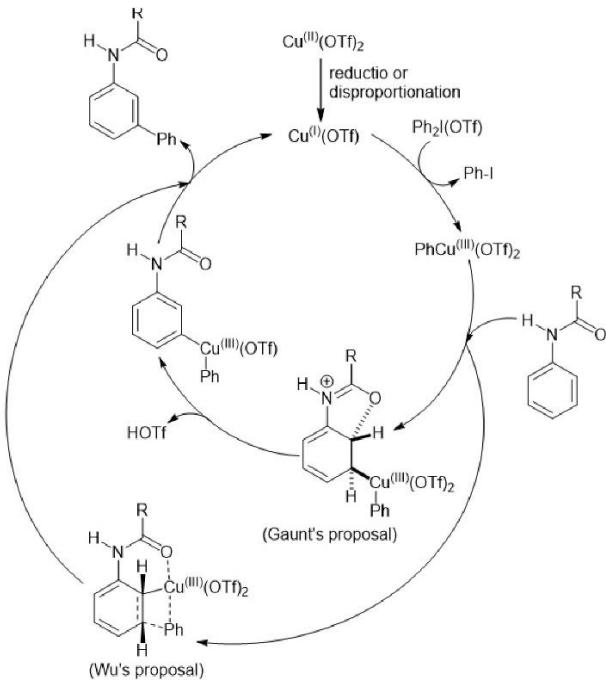
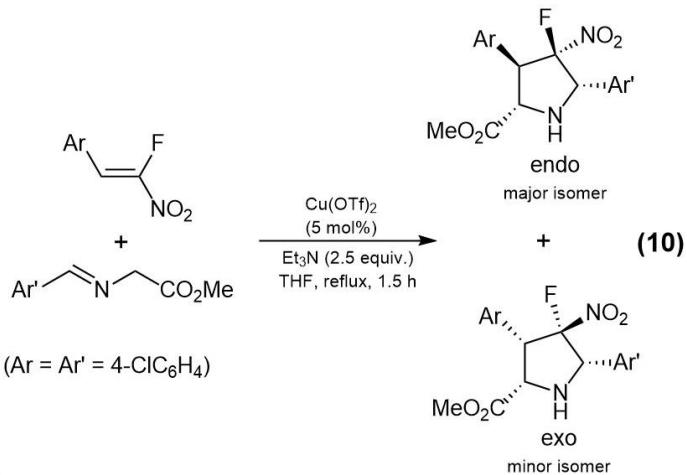


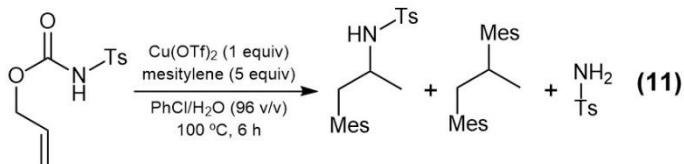
Fig. 2: Mechanistic proposals for the *meta* arylation of arenes catalyzed by $\text{Cu}(\text{OTf})_2$. The originally proposed anti-oxocupration pathway (Gaunt) and the alternative DFT-supported *ortho* metalation mechanism leading to *meta* functionalization (Wu) are shown. Adapted from Ref. 58. $\text{R} = \text{Me, OMe, NEt}_2, \text{Ph}$.

Beyond the couplings discussed above, copper(II) triflate has also proven to be a remarkably versatile catalyst in other synthetically valuable transformations. Among these, the [3+2] cycloaddition of diazo compounds with alkenes or alkynes enables the efficient generation of nitrogen heterocycles under

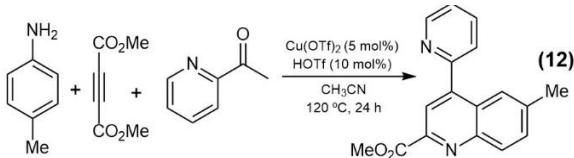
mild conditions with high diastereo- and enantioselectivity. In the example shown in reaction 10⁶¹, the [3+2] cycloaddition of a nitrostyrene and an N-aryldiazo ester affords the corresponding pyrrolidines in 88% yield with excellent diastereoselectivity ($dr = 10:1$ endo:exo). This transformation represents an efficient strategy for the construction of tetrasubstituted pyrrolidines with potential pharmacological value.



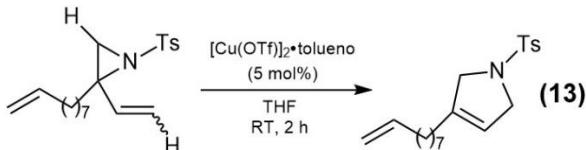
Copper(II) triflate has successfully replaced classical Lewis acid catalysts such as $AlCl_3$ or BF_3 in Friedel–Crafts-type reactions, offering milder conditions and greater functional group compatibility. A representative example is a cascade sequence promoted by $Cu(OTf)_2$, initiated by a decarboxylative and acid-mediated dealkylative Friedel–Crafts alkylation, followed by cationic rearrangements whose course depends on the substrate. In reaction 11⁶², $Cu(OTf)_2$ catalyzes the alkylation of a tosyl-protected allyl carbamate with mesitylene ($Mes = 1,3,5$ -trimethylbenzene), delivering the product in 70% overall yield without the need for intermediate steps.



$Cu(OTf)_2$ has also found application in multicomponent reactions (MCRs), such as Mannich-type processes⁶³, enabling the one-step construction of complex nitrogen-containing scaffolds with high regio- and stereoselectivity. As demonstrated in reaction 12^{64,65}, the synthesis of 2,4-disubstituted quinolines from *p*-toluidine, DMAD (dimethyl acetylenedicarboxylate), and 2-acetylpyridine in acetonitrile proceeds in 97% yield, underscoring the ability of copper triflate to orchestrate sequential condensation and cyclization steps within a single multicomponent process.



In some catalytic protocols, copper(I) triflate is preferably used in the form of complexes with aromatic solvents, such as $[Cu(OTf)_2] \cdot$ toluene (CAS: 48209-28-5). This formulation improves experimental handling, enhances solubility in organic media, and prevents the formation of inactive aggregates. In specific systems⁶⁶, such as the one shown in reaction 13⁶⁷, this form provides higher yields, reaching 90%, compared to anhydrous $Cu(OTf)_2$, underscoring its technical advantages under demanding catalytic conditions.



These and many other applications of $Cu(OTf)_2$ ⁶⁸, well documented in the literature, not only consolidate its role as a front-line catalyst in organic synthesis but also open up new opportunities for the construction of complex molecular architectures through advanced synthetic strategies aimed at the preparation of compounds of biomedical, pharmaceutical, and agrochemical interest⁶⁹. Notably, a significant number of mechanistic proposals for $Cu(OTf)_2$ catalysis invoke Cu(III) intermediates^{70–78}, although their precise role under catalytic conditions remains a matter of ongoing discussion, defining an open mechanistic landscape that warrants further investigation^{24,25}.

Copper(II) triflate in the total synthesis of bioactive molecules

As outlined above, copper(II) triflate catalyzes a wide variety of coupling and functional group transformation reactions, making it a valuable alternative for the total synthesis of high-value molecules. Numerous alkaloids with antioxidant, anxiolytic, antimicrobial, anti-HIV, antiparasitic, anti-inflammatory, and antidepressant activities have been reported whose synthesis relies on copper(II) catalysis, particularly $Cu(OTf)_2$. Notable examples include calothrixins A and B, (+)-cladoniamide F and G, (+)-naseazaines A and B, and quebrachamine⁷⁹.

The scope of $Cu(OTf)_2$ catalysis further extends to (–)-alliacyl A⁸⁰, a sesquiterpene of interest for its antimicrobial activity; anibamine B⁸¹, a natural product with potent antiplasmodial activity; members of the azepane family⁸²; cephalostatin 1⁸³, a powerful antitumor agent; and barringtonogenol C, noted for its anti-inflammatory and vasoprotective properties. Additional applications include lissodendrolide A⁸⁴, with potential activity against Parkinson’s disease, and the antibiotic tiacumicin B⁸⁵, of therapeutic interest in central nervous system (CNS) disorders as well as for its antitumor and antibiotic activities.

Products synthesized using $Cu(OTf)_2$ also include (+)-brasiliyne⁸⁶, investigated for its antiproliferative activity; diazamide A⁸⁷, a natural product with cytotoxic and antitumor properties; himalensine A⁸⁸, an alkaloid studied for potential antioxidant, antitumor, and anti-HIV activity; (–)-lycoperine A⁸⁹, with potential against neurodegenerative diseases; (±)-merillactone A⁹⁰, a natural product of therapeutic interest for Alzheimer’s and Parkinson’s disease; mescengricin⁹¹, a metabolite

with potential neuroprotective activity; spirooxindole derivatives⁹², valued for their antitumor, antimicrobial, anti-HIV, and anti-inflammatory properties; onoseriolide-lactone derivatives⁹³, a sesquiterpenoid with antitumor potential; olopanadiol⁹⁴, a natural product with antimicrobial activity; and (+)-pleuromutilin⁹⁵, a diterpenoid antibiotic.

The chemical structures of selected high-value bioactive molecules whose total synthesis features copper(II) triflate catalysis are shown in Fig. 3.

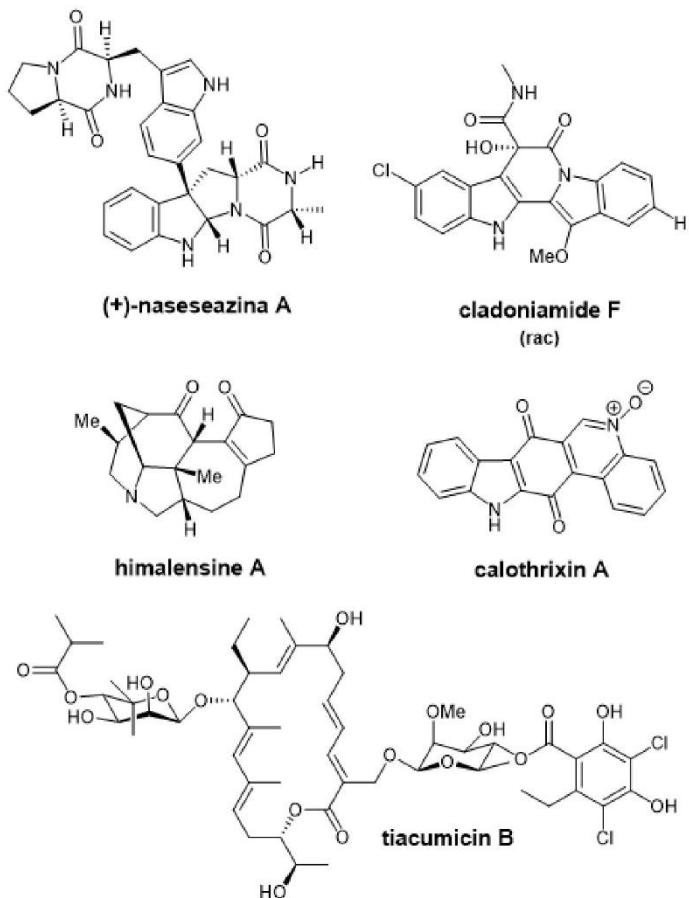


Fig. 3: High-value bioactive molecules that have featured copper(II) triflate catalysis in their total synthesis.

Copper(II) triflate in emerging applications

The chemistry of metal triflates extends well beyond Cu(OTf)₂, with several other species proving useful in organic synthesis as Lewis acid catalysts⁹⁶. These include copper(I) triflate (CuOTf)⁴⁸, silver (AgOTf; CAS 2923-28-6)⁹⁷, iron(III) (Fe(OTf)₃)⁹⁸, lanthanum (La(OTf)₃; CAS: 52093-26-2)⁹⁹, scandium (Sc(OTf)₃; CAS: 144026-79-9)¹⁰⁰, zinc (Zn(OTf)₂; CAS: 54010-75-2)¹⁰¹, indium (In(OTf)₃)¹⁰², bismuth (Bi(OTf)₃)¹⁰³, and several rare-earth triflates¹⁰⁴. Nevertheless, copper(II) triflate has emerged as one of the most versatile and effective, owing to its balanced combination of reactivity and stability together with its broad catalytic scope.

Reflecting current directions in sustainable catalysis, new modes of applying Cu(OTf)₂ have been developed, including heterogeneous systems in which it is supported on solid mate-

rials as well as its use in unconventional reaction media. These strategies improve recyclability, selectivity, and efficiency in synthetic processes. For instance, Cu(OTf)₂ supported on silica (SiO₂•Cu(OTf)₂) has proven effective in the cationic polymerization of styrene¹⁰⁵, Mannich reactions¹⁰⁶, and Diels–Alder cycloadditions¹⁰⁷. It has also been combined with zeolite Y for the enantioselective aziridination of styrene¹⁰⁸. In the field of nanotechnology, Cu(OTf)₂ has been incorporated into tritanate nanotubes (HTNT) for the synthesis of furo[2,3-b]quinoxalines¹⁰⁹, and used to prepare *N*-(cycloalkyl)aziridinofullerenes¹¹⁰.

Further catalytic applications include the hydration of arylacetylenes¹¹¹ and Friedel–Crafts acylation, both performed under microwave irradiation¹¹². Cu(OTf)₂ has also been applied in ultrasound-assisted reactions, such as the synthesis of indenonaphthopyrans¹¹³. In addition, its use in ionic liquids ([BMIM]X, X = [BF₄], [PF₆]) has been explored for transformations including the asymmetric cyclopropanation of styrene with ethyl diazoacetate¹¹⁴, the benzylation of anilides¹¹⁵, and the synthesis of 1,3,5-triarylpizoles¹¹⁶. Moreover, the possibility of employing deep eutectic solvents (DES)¹¹⁷ remains an established and valid option for many metal triflates.

Under solvent-free conditions, Cu(OTf)₂ has been applied in the synthesis of quinolines¹¹⁸, vinyl sulfones¹¹⁹, α -acetoxyphosphonates¹²⁰, aryl/heteroaryl-4-quinolones¹²¹, and as a metal source in chiral Schiff-base complexes for the preparation of β -nitroalcohols¹²². In photocatalysis, it has been employed in the synthesis of quinoline derivatives, where Cu(OTf)₂ acts as an additive and the photocatalyst is a Ru(bpy)₃Cl₂ complex¹²³.

In terms of alignment with green chemistry, the various catalytic methodologies developed for Cu(OTf)₂ catalysis address several core concepts of sustainable synthesis, including efficiency, process intensification, and reduced waste generation. Given the diversity of catalytic platforms, reaction media, and activation modes described above, quantitative green metrics such as E-factors¹²⁴ are not systematically reported for Cu(OTf)₂ systems, which limits direct numerical comparison across studies. Nevertheless, these systems may be regarded as suitable candidates for future comparative sustainability studies, particularly when heterogeneous approaches, solvent-free conditions, deep eutectic solvents or ionic liquids, and alternative energy inputs (microwave and ultrasound) are employed, as discussed in this section.

Taken together, these strategies illustrate the synthetic potential of Cu(OTf)₂ and justify its position as a valuable tool in the design of increasingly efficient, selective, and sustainable catalytic processes.

Bibliometric analysis of copper(II) triflate research

A review of bibliometric data for copper(II) triflate during the period 1972–2024 reveals sustained growth in the number of scientific publications reporting its use as a catalyst across a

wide variety of reaction systems, as illustrated in Fig. 4. The graph, based on data from Google Scholar, ScienceDirect, ACS Publications, and Scopus, reflects a steady increase in research activity starting in 1972, followed by a pronounced acceleration from the early 2000s onward and reaching a peak between 2019 and 2024. This evolution can be broadly divided into three phases: an initial exploratory stage (1972–1990), characterized by sporadic reports following the seminal work of Kochi; a consolidation phase (1990–2010), during which $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ became increasingly adopted as a reliable Lewis acid and redox-active catalyst; and a rapid expansion phase after 2010, coinciding with its incorporation into multicomponent reactions, asymmetric catalysis, heterogeneous systems, and reactions conducted under unconventional or green conditions. Google Scholar reports the highest number of entries due to its broader coverage, which includes journal articles, books, theses, patents, and preprints. ScienceDirect and Scopus display similar growth trends with lower absolute counts, reflecting their more selective indexing criteria, while ACS Publications shows a more limited but consistent representation that nevertheless mirrors the same overall increase in research output. The sharp rise observed in the last decade points to a diversification and maturation of research on $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, with increasing emphasis on complex reaction manifolds, multicomponent processes, and advanced catalytic strategies, rather than solely on its initial use as a classical Lewis acid.

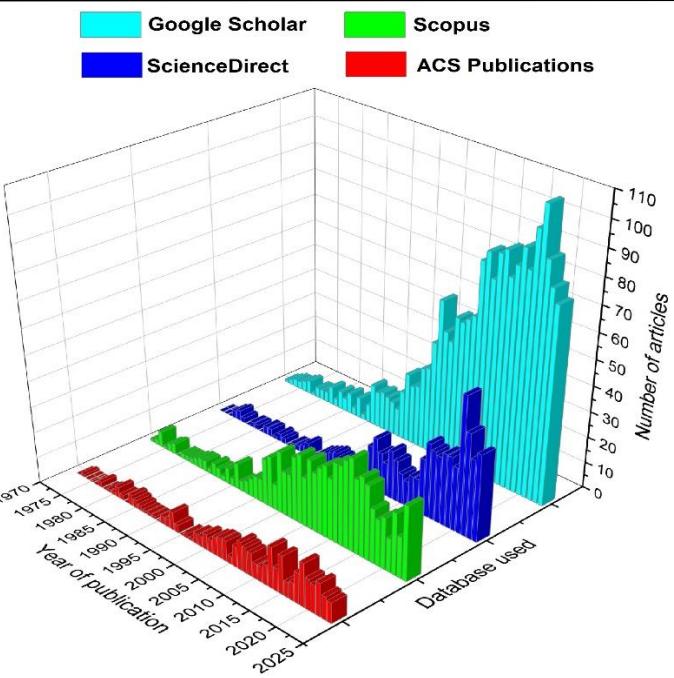


Fig. 4. Evolution of scientific publications involving $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ between 1972 and 2024, based on data retrieved from multiple bibliographic databases. After filtering duplicate records, 1955 entries were obtained from Google Scholar, 587 from ScienceDirect, 760 from Scopus, and 280 from ACS Publications, using “copper(II) triflate” as the search term.

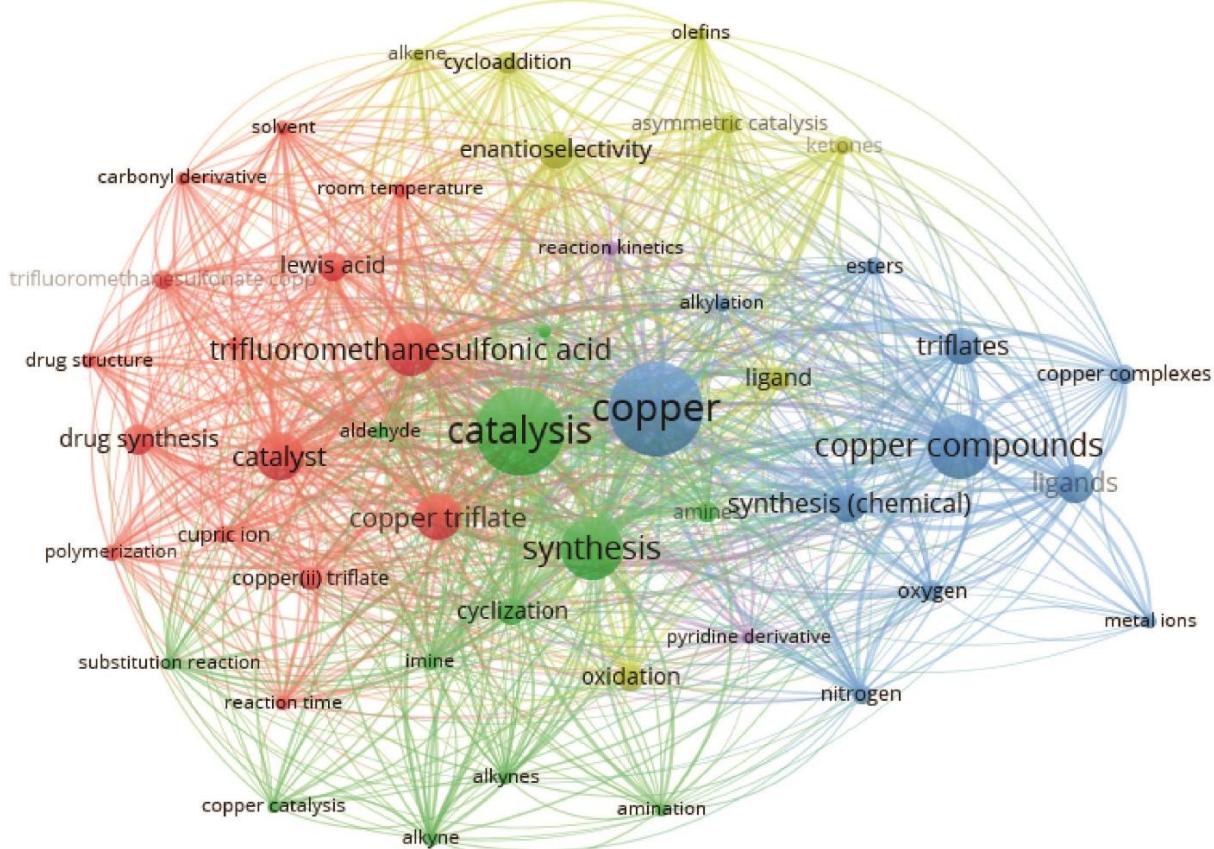


Fig. 5. Keyword co-occurrence map for “copper(II) triflate”, generated with VOSviewer using 760 Scopus records. Colors indicate thematic clusters: red (catalysis in organic synthesis), green (oxidations), blue (coordination chemistry), and yellow (asymmetric catalysis). Node size reflects term frequency, and connecting lines visualize co-occurrence.

Based on the 760 Scopus records, a keyword co-occurrence map was generated using the VOSviewer software (Fig. 5). The analysis revealed four main thematic clusters. The red cluster highlights applications of $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ as a Lewis acid in drug synthesis and in catalysis in organic media. The green cluster groups terms related to homogeneous catalysis, oxidations, and cyclization reactions. The blue cluster focuses on coordination chemistry, emphasizing the association of the triflate with ligands, complexes, or metal ions. Finally, the yellow cluster links the use of $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ to enantioselective processes, cycloadditions, and asymmetric catalysis. The distribution of co-occurrences shows that copper(II) triflate is a key reagent both in the development of synthetic methodologies and in the mechanistic study of reactions, spanning coordination chemistry, catalysis, pharmaceutical synthesis, and fine chemistry. The analysis supports the positioning of $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ as a reference catalytic system across multiple fronts of contemporary organic synthesis.

Conclusions

Since the seminal mechanistic studies of Jay K. Kochi five decades ago, copper(II) triflate has established itself as a highly versatile and relevant catalytic tool in modern organic synthesis. Its combination of Lewis acidity, redox capability, stability in organic media, functional group tolerance, and ease of experimental handling makes it an especially attractive catalyst when compared with other, more costly or less sustainable catalytic systems. As outlined in this review, $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ participates in a wide range of transformations, including Ullmann-, Sonogashira-, and Chan–Lam-type couplings, intramolecular cyclizations, Mannich, Friedel–Crafts, and Ugi reactions; cycloadditions, oxidations, C–H activation, aziridination, and multicomponent and asymmetric syntheses. Its efficiency under mild conditions, with excellent substrate-to-catalyst ratios (typically 0.5–20 mol%), together with its ability to modulate reactivity through preformed complexes or supported systems, reinforces its role as a benchmark catalyst and a valuable platform for the total synthesis of structurally complex and high-value molecules. Emerging trends highlight a shift toward more sustainable and reusable media, including heterogeneous systems on silica, zeolites, or nanotubes (HTNT), alternative solvents such as ionic liquids and deep eutectic solvents, solvent-free reactions, and its integration into microwave- and ultrasound-assisted reactions, as well as photocatalysis. The bibliometric analysis confirms its sustained growth as both a subject of study and a versatile catalytic system, reflecting the increasing interest of the scientific community in methodological developments based on this compound. In summary, copper(II) triflate emerges as a catalyst well suited to the demands of more efficient and selective organic synthesis, in accordance with the principles of green chemistry. Its study and application will continue providing valuable opportunities for the rational construction of complex molecular architectures, both in fundamental research and in the development of compounds of pharmacological, agrochemical, and materials interest.

Acknowledgements

This work was supported by the Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA-ULA) under Grant No. C-2010-25-08-B. The author also thanks Domingo Contreras Rosales, CEO of DomeSmart, Trujillo, Peru.

References

1. RR Contreras. Catálisis homogénea con metales de transición: transformando el mundo de la química. Parte 1. Mérida: Publicaciones CDCHTA–ULA (2021). <https://doi.org/10.53766/BA/LIBULA/CatalisisI.2021>
2. X Hu, AC Yip. Heterogeneous catalysis: enabling a sustainable future. *Frontiers in Catalysis*, **1**, 667675 (2021) <https://doi.org/10.3389/fctls.2021.667675>
3. R Ciriminna, C Della Pina, R Luque, M Pagliaro. The fine chemical industry, 2000–2024. *Organic Process Research & Development*, **29(5)**, 1191–1196 (2025). <https://doi.org/10.1010/acs.oprd.5c00010>
4. J Becica, GE Dobereiner. The roles of Lewis acidic additives in organotransition metal catalysis. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **17(8)**, 2055–2069 (2019). <https://doi.org/10.1039/C8OB02856G>
5. J Xu, X Zhang, Y Cao, X Jian, L Song, W Xie. Counter anions modulate selectivity in the divergent copper-catalyzed dehydrogenation of cyclohexanones. *Cell Reports Physical Science*, **5(7)**, 102050 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.xrph.2024.102050>
6. S Colombo, C Loro, EM Beccalli, G Broggini, M Papis. $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ -catalyzed multicomponent reactions. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, **21(1)**, 122–145 (2025). <https://doi.org/10.3762/bjoc.21.7>
7. AS Paraskar, A Sudalai. $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ or Et_3N -catalyzed three-component condensation of aldehydes, amines and cyanides: a high yielding synthesis of α -aminonitriles. *Tetrahedron Letters*, **47(32)**, 5759–5762 (2006). <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.06.008>
8. K Wu, L Xing, Y Ji. Synthesis and Applications of Copper-Based Catalysts. *Catalysts*, **13(6)**, 973 (2023). <https://doi.org/10.3390/catal13060973>
9. JP Fackler Jr. In memoriam—Jay K. Kochi (1927–2008). *Comments on Inorganic Chemistry*, **29(5–6)**, 130–131 (2008). <https://doi.org/10.1080/02603590802518644>
10. CL Jenkins, JK. Kochi. Homolytic and ionic mechanisms in the copper(II) trifluoromethanesulfonate catalyzed oxidation of olefins by peresters. *Journal of the American Chemical Society*, **94(3)**, 856–865 (1972). <https://doi.org/10.1021/ja00758a025>
11. L Grigorjeva, O Daugulis. Copper-Catalyzed C–H Functionalization Reactions. In: Q Liao (Ed.), *Copper Catalysis in Organic Synthesis*, Chapter 11. Weinheim: Wiley-VCH GmbH (2020). <https://doi.org/10.1002/9783527826445.ch11>
12. S Raju, PE Sheridan, AK Hauer, AE Garrett, DE McConnell, JA Thornton, *et al.* Cu-Catalyzed Chan–Evans–Lam Coupling Reactions of 2-Nitroimidazole with Aryl Boronic Acids: An Effort toward New Bioactive Agents against *S. pneumoniae*.

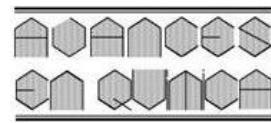
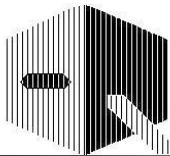
- Chemistry & Biodiversity**, **19(8)**, e202200327 (2022). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200327>
13. CMA Afsina, T Aneeca, M Neetha, G Anilkumar. Copper-Catalyzed Cross-Dehydrogenative Coupling Reactions. **Euro-pean Journal of Organic Chemistry**, **2021(12)**, 1776–1808. (2021). <https://doi.org/10.1002/ejoc.202001549>
14. K Zhou, RR Wu, XR Zhong, J Pu, X Yang, K Liu, *et al.* CH Functionalisation of [2.2] Paracyclophane under Copper catalysis. **Chemical Communications**, **61**, 11665–11668 (2025). <https://doi.org/10.1039/D5CC02283E>
15. MY Bhat, S Ahmed, QN Ahmed. Tf₂O-and Cu(OTf)₂-Assisted Acylation Reaction of Unactivated Alcohols with Nitriles: A One-Pot P(IV) Activation, Stereoretention in Cycloalkanols and Deprotection Approach. **The Journal of Organic Chemistry**, **87(17)**, 11608–11624 (2022). <https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c01251>
16. KF Wei, Q Liu, G Ma, XL Jiang, XH Zhu, GX Ru, *et al.* Regioselective access to polycyclic N–heterocycles via homogeneous copper-catalyzed cascade cyclization of allenynes. **Communications Chemistry**, **6(1)**, 104 (2023). <https://doi.org/10.1038/s42004-023-00910-9>
17. R Sala, C Loro, F Foschi, G Broggini. Transition metal catalyzed azidation reactions. **Catalysts**, **10(10)**, 1173 (2020). <https://doi.org/10.3390/catal10101173>
18. ZY Mao, XD Nie, YM Feng, CM Si, BG Wei, GQ Lin. Cu(OTf)₂ catalyzed Ugi-type reaction of N,O-acetals with isocyanides for the synthesis of pyrrolidinyl and piperidinyl 2-carboxamides. **Chemical Communications**, **57(73)**, 9248–9251 (2021). <https://doi.org/10.1039/D1CC03113A>
19. RR Contreras. Química Verde. Caracas: Fondo Editorial OPSU (2017).
20. VOSviewer (version 1.6.20, October 31, 2023). Centre for Science and Technology Studies, Leiden University, The Netherlands. <https://www.vosviewer.com>
21. G Anilkumar, S Saranya (Eds.). Copper catalysis in organic synthesis. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH (2020).
22. V Motornov, M Procházka, N Alpuente, P Salvador, P Slavíček, B Klepetářová, *et al.* Introducing Weakly Ligated Tris (trifluoromethyl) copper(III). **ChemistryEurope**, **2(2)**, e202400004 (2024). <https://doi.org/10.1002/ceur.202400004>
23. X Ribas, R Xifra, X Fontrodona. Bis-Phenoxy-CuII₂ Complexes: Formal Aromatic Hydroxylation via Aryl-CuIII Intermediate Species. **Molecules**, **25(20)**, 4595 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25204595>
24. IM DiMucci, JT Lukens, S Chatterjee, KM Carsch, CJ Titus, SJ Lee, *et al.* The myth of *d*⁸ copper(III). **Journal of the American Chemical Society**, **141(46)**, 18508–18520 (2019). <https://doi.org/10.1021/jacs.9b09016>
25. SJ Li, Y Lan. Is Cu(III) a necessary intermediate in Cu-mediated coupling reactions? A mechanistic point of view. **Chemical Communications**, **56(49)**, 6609–6619 (2020). <https://doi.org/10.1039/D0CC01946A>
26. FA Cotton, G Wilkinson, CA Murillo, M Bochmann. Advanced Inorganic Chemistry. Sixth Edition. New York: John Wiley & Son (1999).
27. L Zhang, G Zhang, M Zhang, J Cheng. Cu(OTf)₂-mediated Chan–Lam reaction of carboxylic acids to access phenolic esters. **The Journal of Organic Chemistry**, **75(21)**, 7472–7474 (2010). <https://doi.org/10.1021/jo101558s>
28. JC Vantourout, HN Miras, A Isidro-Llobet, S Sproules, AJ Watson. Spectroscopic studies of the Chan–Lam amination: A mechanism-inspired solution to boronic ester reactivity. **Journal of the American Chemical Society**, **139(13)**, 4769–4779 (2017). <https://doi.org/10.1021/jacs.6b12800>
29. CE Elwell, NL Gagnon, BD Neisen, D Dhar, AD Spaeth, GM Yee, *et al.* Copper–oxygen complexes revisited: structures, spectroscopy, and reactivity. **Chemical Reviews**, **117(3)**, 2059–2107 (2017). <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00636>
30. RR Contreras, Y. Rojas-Pérez. Ligandos tipo salen en química de coordinación. Una breve revisión. **Revista Ciencia e Ingeniería**, **39(3)**, 307–314 (2018). <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/cienciaeingenieria/article/view/12994>
31. IS Fomenko, MI Gongola, LS Shul’pina, GB Shul’pin, NS Ikonnikov, YN Kozlov, *et al.* Copper(II) complexes with BIAN-type ligands: Synthesis and catalytic activity in oxidation of hydrocarbons and alcohols. **Inorganica Chimica Acta**, **565**, 121990 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.ica.2024.121990>
32. S Hazra, BG Rocha, MFC Guedes da Silva, A Karmakar, AJ Pombeiro. Syntheses, structures, and catalytic hydrocarbon oxidation properties of *N*-heterocycle-sulfonated Schiff base copper(II) complexes. **Inorganics**, **7(2)**, 17 (2019). <https://doi.org/10.3390/inorganics7020017>
33. RR Contreras. Polihidruros de cobre: una poderosa herramienta en síntesis química. El reactivo de Stryker en perspectiva. **Avances en Química**, **16(2)**, 39–48 (2021). <https://doi.org/10.53766/AVANQUIM/2021.16.02.01>
34. AA Danopoulos, T Simler, P Braunstein. N-heterocyclic carbene complexes of copper, nickel, and cobalt. **Chemical Reviews**, **119(6)**, 3730–3961 (2019). <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00505>
35. CE Housecroft, AG Sharpe. Inorganic Chemistry (Fifth edition). Harlow, England: Pearson Education (2018).
36. JB Peng, FP Wu, XF Wu. First-row transition-metal-catalyzed carbonylative transformations of carbon electro-philes. **Chemical Reviews**, **119(4)**, 2090–2127 (2018). <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00068>
37. Y Kim, WJ Jang. Recent advances in electrochemical copper catalysis for modern organic synthesis. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, **21(1)**, 155–178 (2025). <https://doi.org/10.3762/bjoc.21.9>
38. I Kostova. The role of complexes of biogenic metals in living organisms. **Inorganics**, **11(2)**, 56 (2023). <https://doi.org/10.3390/inorganics11020056>
39. E Raamat, K Kaupmees, G Ovsjannikov, A Trummal, A Kütt, J

- Saame, *et al.* Acidities of strong neutral Brønsted acids in different media. **Journal of Physical Organic Chemistry**, **26**(2), 162–170 (2013). <https://doi.org/10.1002/poc.2946>
40. OJ Stang, MR White. Triflic Acid and Its Derivatives. **Acta**, **16**(1), 15–22 (1983).
41. K Ritter. Synthetic transformations of vinyl and aryl triflates. **Synthesis**, **1993**(08), 735–762 (1993). <https://doi.org/10.1055/s-1993-25931>
42. B Dhakal, L Bohé, D Crich. Trifluoromethanesulfonate Anion as Nucleophile in Organic Chemistry. **The Journal of Organic Chemistry**, **82**(18), 9263–9269 (2017). <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b01850>
43. JS Sapsford, D Csokas, DJ Scott, RC Turnell-Ritson, AD Piascik, I Papai, *et al.* Establishing the role of triflate anions in H_2 activation by a cationic triorganotin(IV) Lewis acid. **ACS Catalysis**, **10**(14), 7573–7583 (2020). <https://doi.org/10.1021/acscatal.0c02023>
44. S Kobayashi, K Manabe. Green Lewis acid catalysis in organic synthesis. **Pure and Applied Chemistry**, **72**(7), 1373–1380 (2000). <https://doi.org/10.1351/pac200072071373>
45. T Hayashida, H Kondo, JI Terasawa, K Kirchner, Y Sunada, H Nagashima. Trifluoromethanesulfonate (triflate) as a moderately coordinating anion: Studies from chemistry of the cationic coordinatively unsaturated mono- and diruthenium amidinates. **Journal of Organometallic Chemistry**, **692**(1–3), 382–394 (2007). <https://doi.org/10.1016/j.jorgchem.2006.08.069>
46. NE Dixon, GA Lawrence, PA Lay, AM Sargeson, H Taube. Trifluoromethanesulfonates and Trifluoromethanesulfonato-O Complexes. **Inorganic Syntheses: Reagents for Transition Metal Complex and Organometallic Syntheses**, **28**, 70–76 (1990). <https://doi.org/10.1002/9780470132593.ch16>
47. T Cohen, I Cristea. Kinetics and mechanism of the copper(I)-induced homogeneous Ullmann coupling of *o*-bromo-nitrobenzene. **Journal of the American Chemical Society**, **98**(3), 748–753 (1976). <https://doi.org/10.1021/ja00419a018>
48. RG Salomon, P Dauban, RH Dodd. Copper(I) Trifluoromethanesulfonate. In: *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*. New York: John Wiley & Sons (2005). <https://doi.org/10.1002/047084289X.rc251>
49. K Sonogashira, Y Tohda, N Hagihara. A convenient synthesis of acetylenes: catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromo-pyridines. **Tetrahedron Letters**, **16**(50), 4467–4470 (1975). [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)91094-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)91094-3)
50. CE Meyet, CJ Pierce, CH Larsen. A single Cu(II) catalyst for the three-component coupling of diverse nitrogen sources with aldehydes and alkynes. **Organic Letters**, **14**(4), 964–967 (2012). <https://doi.org/10.1021/ol2029492>
51. TD Suja, RS Menon. Cu-Catalyzed Multicomponent Reactions. In: G. Anilkumar, S. Saranya (Eds.). *Copper Catalysis in Organic Synthesis*, Chapter 10 (209–237). Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH (2020). <https://doi.org/10.1002/9783527826445.ch10>
52. R Shinohara, M Morita, N Ogawa, Y Kobayashi. Use of the 2-pyridinesulfonyloxy leaving group for the fast copper-catalyzed coupling reaction at secondary alkyl carbons with Grignard reagents. **Organic Letters**, **21**(9), 3247–3251 (2019). <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b00976>
53. S Mori, E Nakamura, K Morokuma. Mechanism of S_N2 alkylation reactions of lithium organocuprate clusters with alkyl halides and epoxides. Solvent Effects, BF_3 effects, and trans-diaxial epoxide opening. **Journal of the American Chemical Society**, **122**(30), 7294–7307 (2000). <https://doi.org/10.1021/ja0002060>
54. PY Lam, CG Clark, S Saubern, J Adams, MP Winters, DM Chan, *et al.* New aryl/heteroaryl C–N bond cross-coupling reactions via arylboronic acid/cupric acetate arylation. **Tetrahedron Letters**, **39**(19), 2941–2944 (1998). [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)00504-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)00504-8)
55. V Hardouin Duparc, A Thouvenin, F Schaper. Anion influences on the structures of pyridyl-iminosulfonate copper(II) complexes and their reactivity in Chan–Lam couplings. **Canadian Journal of Chemistry**, **98**(9), 502–510 (2020). <https://doi.org/10.1139/cjc-2020-0003>
56. V Hardouin Duparc, GL Bano, F Schaper. Chan–Evans–Lam couplings with copper iminoarylsulfonate complexes: scope and mechanism. **ACS Catalysis**, **8**(8), 7308–7325 (2018). <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b01881>
57. RJ Phipps, MJ Gaunt. A meta-selective copper-catalyzed C–H bond arylation. **Science**, **323**(5921), 1593–1597 (2009). <https://doi.org/10.1126/science.1169975>
58. A Casitas, X Ribas. The role of organometallic copper(III) complexes in homogeneous catalysis. **Chemical Science**, **4**(6), 2301–2318 (2013). <https://doi.org/10.1039/C3SC21818J>
59. RJ Phipps, NP Grimster, MJ Gaunt. Cu(II)-catalyzed direct and site-selective arylation of indoles under mild conditions. **Journal of the American Chemical Society**, **130**(26), 8172–8174 (2008). <https://doi.org/10.1021/ja801767s>
60. B Chen, XL Hou, YX Li, YD Wu. Mechanistic understanding of the unexpected meta selectivity in copper-catalyzed anilide C–H bond arylation. **Journal of the American Chemical Society**, **133**(20), 7668–7671 (2011). <https://doi.org/10.1021/ja201425e>
61. VA Motornov, AA Tabolin, YV Nelyubina, VG Nenajdenko, SL Ioffe. Copper-catalyzed [3+2]-cycloaddition of α -halonitro-alkenes with azomethine ylides: facile synthesis of multisubstituted pyrrolidines and pyrroles. **Organic & Biomolecular Chemistry**, **19**(15), 3413–3427 (2021). <https://doi.org/10.1039/D1OB00146A>
62. C Loro, J Oble, F Foschi, M Papis, EM Beccalli, S Giofrè, *et al.* Acid-mediated decarboxylative C–H coupling between arenes and O-allyl carbamates. **Organic Chemistry Frontiers**, **9**(6), 1711–1718 (2022). <https://doi.org/10.1039/D2QO00114D>
63. S Kobayashi, R Matsubara, Y Nakamura, H Kitagawa, M Sugiyura. Catalytic, asymmetric Mannich-type reactions of N-acylimino esters: Reactivity, diastereo- and enantio-selectivity, and application to synthesis of N-acylated amino acid derivatives. **Journal of the American Chemical Society**, **125**(9), 2507–2515 (2003). <https://doi.org/10.1021/ja0281840>

64. A Mandal, AT Khan. Recent advancement in the synthesis of quinoline derivatives via multicomponent reactions. **Organic & Biomolecular Chemistry**, **22**(12), 2339–2358 (2024). <https://doi.org/10.1039/D4OB00034J>
65. W Wu, Y Guo, X Xu, Z Zhou, X Zhang, B Wu, W Yi. One-pot regioselective synthesis of 2,4-disubstituted quinolines via copper(II)-catalyzed cascade annulation. **Organic Chemistry Frontiers**, **5**(10), 1713–1718 (2018) <https://doi.org/10.1039/C8QO00052B>
66. F Li, GA Zhang, Y Liu, B Zhu, Y Leng, J Wu. Cu-catalyzed dehydrogenative olefinsulfonation of alkyl arenes. **Organic Letters**, **22**(22), 8791–8795 (2020). <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c03146>
67. E Tosi, K Spielmann, RM de Figueiredo, JM Campagne. Copper-Catalyzed Ring Expansion of Vinyl Aziridines under Mild Conditions. **Synlett**, **32**(05), 517–520 (2021). <https://doi.org/10.1055/s-0040-1706007>
68. KK. Laali, VD. Sarca, T Ollevier. Copper(II) Trifluoro-methanesulfonate. In: *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*. New York: John Wiley & Sons (2016). <https://doi.org/10.1002/9780470842898.rc250.pub2>
69. Q Yang, Y Zhao, D Ma. Cu-mediated Ullmann-type cross-coupling and industrial applications in route design, process development, and scale-up of pharmaceutical and agrochemical processes. **Organic Process Research & Development**, **26**(6), 1690–1750 (2022). <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.2c00050>
70. A Kumar, V Sridharan. Transition Metal-Catalyzed Synthesis of 1,2-Diketones: An Overview. **Asian Journal of Organic Chemistry**, **10**(7), 1619–1637 (2021). <https://doi.org/10.1002/ajoc.202100307>
71. K Aradi, Z Novák. Copper-Catalyzed Oxidative Ring Closure of ortho-Cyanoanilides with Hypervalent Iodonium Salts: Arylation–Ring Closure Approach to Imino-benzoxazines. **Advanced Synthesis & Catalysis**, **357**(2-3), 371–376 (2015). <https://doi.org/10.1002/adsc.201400763>
72. JD Cope, HU Valle, RS Hall, , KM Riley, E Goel, S Biswas, *et al.* Tuning the Copper(II)/Copper(I) Redox Potential for More Robust Copper-Catalyzed C–N Bond Forming Reactions. **European Journal of Inorganic Chemistry**, **2020**(14), 1278–1285 (2020). <https://doi.org/10.1002/ejic.201901269>
73. SH Cho, J Yoon, S Chang. Intramolecular oxidative C–N bond formation for the synthesis of carbazoles: comparison of reactivity between the copper-catalyzed and metal-free conditions. **Journal of the American Chemical Society**, **133**(15), 5996–6005 (2011). <https://doi.org/10.1021/ja111652y>
74. AE King, LM Huffman, A Casitas, M Costas, X Ribas, SS Stahl. Copper-catalyzed aerobic oxidative functionalization of an arene C–H bond: evidence for an aryl-copper (III) intermediate. **Journal of the American Chemical Society**, **132**(34), 12068–12073 (2010). <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.5c06066>
75. A Casitas, M Canta, M Sola, M Costas, X Ribas. Nucleophilic aryl fluorination and aryl halide exchange mediated by a CuI/CuIII catalytic cycle. **Journal of the American Chemical Society**, **133**(48), 19386–19392 (2011). <https://doi.org/10.1021/ja2058567>
76. LM Huffman, SS Stahl. Carbon–nitrogen bond formation involving well-defined aryl–copper (III) complexes. **Journal of the American Chemical Society**, **130**(29), 9196–9197 (2008). <https://doi.org/10.1021/ja802123p>
77. SV Ley, AW Thomas. Modern Synthetic Methods for Copper-Mediated C(aryl)–O, C(aryl)–N, and C(aryl)–S Bond Formation. **Angewandte Chemie International Edition**, **42**(44), 5400–5449 (2003). <https://doi.org/10.1002/anie.200300594>
78. T Cohen, I Cristea. Copper (I)-induced reductive dehalogenation, hydrolysis, or coupling of some aryl and vinyl halides at room temperature. **The Journal of Organic Chemistry**, **40**(25), 3649–3651 (1975). <https://doi.org/10.1021/jo00913a007>
79. MM Heravi, N Abedian-Dehaghani, V Zadsirjan, Y Rangraz. Catalytic Function of Cu(I) and Cu(II) in Total Synthesis of Alkaloids. **ChemistrySelect**, **6**(34), 9230–9287 (2021). <https://doi.org/10.1002/slct.202101130>
80. J Mihelcic, KD Moeller. Oxidative cyclizations: The asym-metric synthesis of (–)-alliocal A. **Journal of the American Chemical Society**, **126**(29), 9106–9111 (2004). <https://doi.org/10.1021/ja048085h>
81. R Lavernhe, Q Wang, J Zhu. Terminal Alkynes as One-Carbon Donors in [5+1] Heteroannulation: Synthesis of Pyridines via Ynimine Intermediates and Application in the Total Synthesis of Anibamine B. **Angewandte Chemie International Edition**, **62**(22), e202303537 (2023) <https://doi.org/10.1002/anie.202303537>
82. S Nicolai, J Waser. (4+3) Annulation of Donor-Acceptor Cyclopropanes and Azadienes: Highly Stereoselective Synthesis of Azepanones. **Angewandte Chemie**, **134**(36), e202209006 (2022). <https://doi.org/10.1002/ange.202209006>
83. Z Wang, C Hui. Contemporary advancements in the semi-synthesis of bioactive terpenoids and steroids. **Organic & Biomolecular Chemistry**, **19**(17), 3791–3812 (2021). <https://doi.org/10.1039/D1OB00448D>
84. FM Ippoliti, LG Wonilowicz, NJ Adamson, ER Darzi, JS Donaldson, DJ Nasrallah, *et al.* Total synthesis of lisso-dendoric acid A. **Angewandte Chemie**, **136**(32), e202406676 (2024). <https://doi.org/10.1002/anie.202406676>
85. E Messé, A Labrunie, V Servajean, C Rubéru, L Jeanne-Julien, JF Gallard, S Norsikian. Successive β -Glycosylations of Tiacumicinone: Formal Total Synthesis of Tiacumicin B and Access to ad-Mannoside Analog. **European Journal of Organic Chemistry**, **27**(7), e202301098 (2024). <https://doi.org/10.1002/ejoc.202301098>
86. C Lim, J Ahn, J Sim, H Yun, J Hur, H An, *et al.* Total synthesis of (+)-brasiliene via concise construction of an oxonane framework containing a 1, 3-cis, cis-diene. **Chemical Communications**, **54**(5), 467–470 (2018). <https://doi.org/10.1039/C7CC08329G>
87. N David, R Pasceri, RR Kitson, A Pradal, CJ Moody. Formal total synthesis of diazonamide A by indole oxidative rearrangement. **Chemistry—A European Journal**, **22**(31), 10867–10876 (2016). <https://doi.org/10.1002/chem.201601605>

88. J Zhong, K Chen, Y Qiu, H He, S Gao. A unified strategy to construct the tetracyclic ring of calyciphylline A alkaloids: Total synthesis of himalensine A. *Organic Letters*, **21**(10), 3741–3745 (2019). <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b01184>
89. Y Nakamura, AM Burke, S Kotani, JW Ziller, SD Rychnovsky. Total synthesis of (–)-lycoperine A. *Organic Letters*, **12**(1), 72–75 (2010). <https://doi.org/10.1021/o1902389e>
90. W He, J Huang, X Sun, AJ Frontier. Total synthesis of (±)-merilactone A. *Journal of the American Chemical Society*, **130**(1), 300–308 (2008). <https://doi.org/10.1021/ja0761986>
91. K Ichikawa, SX Lin, T Söhnel, J Sperry. Support studies toward the alkaloids mescengrinic and lysiformine focused on oxazole-olefin cycloadditions. *Tetrahedron*, **158**, 133992 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.tet.2024.133992>
92. C Wu, J Liu, D Kui, Y Lemao, X Yingjie, X Luo, *et al.* Efficient multicomponent synthesis of spirooxindole derivatives catalyzed by copper triflate. *Polycyclic Aromatic Compounds*, **42**(1), 277–289 (2021). <https://doi.org/10.1080/10406638.2020.1726976>
93. B Du, C Yuan, T Yu, L Yang, Y Yang, B Liu, *et al.* Asymmetric total synthesis of onoseriolide, bolivianine, and isobolivianine. *Chemistry—A European Journal*, **20**(9), 2613–2622 (2014). <https://doi.org/10.1002/chem.201304378>
94. BS Reddy, RN Rao, B Kumaraswamy, JS Yadav. Stereoselective total synthesis of oplopandiol, oploxyne A, and oploxyne B. *Tetrahedron Letters*, **55**(33), 4590–4592 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.06.054>
95. M Zeng, SK Murphy, SB Herzon. Development of a modular synthetic route to (+)-pleuromutilin, (+)-12-epi-mutilins, and related structures. *Journal of the American Chemical Society*, **139**(45), 16377–16388 (2017). <https://doi.org/10.1021/jacs.7b09869>
96. L Massi, J. F Gal, E Duñach. Metal triflates as catalysts in organic synthesis: determination of their Lewis acidity by mass spectrometry. *ChemPlusChem*, **87**(6), e202200037 (2022). <https://doi.org/10.1002/cplu.202200037>
97. G Rakesh, VV Reddy, A Vinaykumar, BS Reddy. AgOTf-catalyzed three-component coupling for the synthesis of C-alkynyl iminosugars. *Tetrahedron Letters*, **152**, 155326 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2024.155326>
98. S Lauzon, M Li, H Keipour, T Ollevier. Fe(OTf)₂-Catalyzed Thia-Michael Addition Reaction: A Green Synthetic Approach to β-Thioethers. *European Journal of Organic Chemistry*, **2018**(33), 4536–4540 (2018). <https://doi.org/10.1002/ejoc.201800780>
99. Z Li, Y Zhang, M Sun, Y Zhang, Z Lu, Y Deng, *et al.* La(OTf)₃-Catalyzed [3+2] cycloaddition reactions for the synthesis of benzo[d]oxazoles/benzofurans. *The Journal of Organic Chemistry*, **89**(6), 3809–3820 (2024). <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c02641>
100. LS Longo Jr, FA Siqueira, NS Anjos, GF Santos. Scandium(III)-Triflate-Catalyzed Multicomponent Reactions for the Synthesis of Nitrogen Heterocycles. *ChemistrySelect*, **6**(20), 5097–5109 (2021). <https://doi.org/10.1002/slct.202101032>
101. S Yorimoto, A Tsubouchi, H Mizoguchi, H Oikawa, Y Tsunekawa, T Ichino, *et al.* Zn(OTf)₂-mediated annulations of *N*-propargylated tetrahydrocarbolines: divergent synthesis of four distinct alkaloidal scaffolds. *Chemical Science*, **10**(22), 5686–5698 (2019). <https://doi.org/10.1039/C9SC01507H>
102. J Zhang, J. Y Su, H Zheng, H Li, WP Deng. In(OTf)₃-Catalyzed (3+3) Dipolar Cyclization of Bicyclo [1.1.0] butanes with *N*-Nucleophilic 1,3-Dipoles: Access to 2,3-Diazabicyclo [3.1.1]heptanes, 2,3-Diazabicyclo[3.1.1] hepte-nes, and Enantiopure 2-Azabicyclo[3.1.1]heptanes. *ACS Catalysis*, **14**(23), 17837–17849 (2024). <https://doi.org/10.1021/acscatal.4c05622>
103. ED Anderson, JJ Ernat, MP Nguyen, AC Palma, RS Mohan. Environment friendly organic synthesis using bismuth compounds. An efficient method for carbonyl-ene reactions catalyzed by bismuth triflate. *Tetrahedron Letters*, **46**(45), 7747–7750 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.09.035>
104. YH Wu, LY Zhang, NX Wang, Y Xing. Recent advances in the rare-earth metal triflates-catalyzed organic reactions. *Catalysis Reviews*, **64**(4), 679–715 (2022). <https://doi.org/10.1080/01614940.2020.1831758>
105. V Sage, J H Clark, DJ Macquarrie. Supported copper triflate as catalyst for the cationic polymerization of styrene. *Journal of Catalysis*, **227**(2), 502–511 (2004). <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2004.08.013>
106. SD Dindulkar, VG Puranik, YT Jeong. Supported copper triflate as an efficient catalytic system for the synthesis of highly functionalized 2-naphthol Mannich bases under solvent free condition. *Tetrahedron Letters*, **53**(33), 4376–4380 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.06.022>
107. M Ahuja, GK Reen, A Kumar, P Sharma. A typical NEDDA cycloaddition strategy between C-3-and N-substituted indoles and butadienes using silica-supported copper triflate as an efficient catalytic system: A correlative experimental and theoretical study. *Chemistry Letters*, **45**(7), 752–754 (2016). <https://doi.org/10.1246/cl.160155>
108. L Jeffs, D Arquier, B Kariuki, D Bethell, PCB Page, GJ Hutchings. On the enantioselectivity of aziridination of styrene catalysed by copper triflate and copper-exchanged zeolite Y: consequences of the phase behaviour of enantiomeric mixtures of *N*-arene-sulfonyl-2-phenyl-aziridines. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **9**(4), 1079–1084 (2011). <https://doi.org/10.1039/C0OB00724B>
109. BRP Reddy, SS Reddy, PVG Reddy. Cu(OTf)₂ loaded protonated tritanate nanotubes catalyzed reaction: a facile method for the synthesis of furo[2,3-*b*] quinoxalines. *New Journal of Chemistry*, **42**(8), 5972–5977 (2018). <https://doi.org/10.1039/C8NJ00287H>
110. AR Akhmetov, AR Tuktarov, UM Dzhemilev. Cycloaddition of alkyl azides to fullerene C₆₀ in the presence of Cu(OTf)₂. *Mendeleev Communications*, **25**(5), 346–347 (2015). <https://doi.org/10.1002/chin.201548110>
111. M Jha, GM Shelke, K Pericherla, A Kumar. Microwave assisted copper triflate-catalyzed rapid hydration of aryl acetylenes. *Tetrahedron Letters*, **55**(34), 4814–4816 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.06.116>

112. MJ Gronnow, DJ Macquarrie, JH Clark, P Ravenscroft. A study into the use of microwaves and solid acid catalysts for Friedel–Crafts acylations. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, **231(1-2)**, 47–51 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2004.12.030>
113. K Turhan, A Ozturkcan, M Uluer, Z Turgut. One-pot synthesis of indenonaphthopyrans catalyzed by copper(II) triflate: a comparative study of reflux and ultrasound methods. **Acta Chimica Slovenica**, **61(3)**, 623–628 (2014).
114. B Karimi, M Tavakolian, M Akbari, F Mansouri. Ionic liquids in asymmetric synthesis: An overall view from reaction media to supported ionic liquid catalysis. **ChemCatChem**, **10(15)**, 3173–3205 (2018). <https://doi.org/10.1002/cctc.201701919>
115. PH Tran, HQ Phung, PE Hansen, HN Tran, TN Le. Efficient Friedel–Crafts benzoylation of aniline derivatives with 4-fluorobenzoyl chloride using copper triflate in the synthesis of amino-benzophenones. **Synthetic Communications**, **46(10)**, 893–901 (2016). <https://doi.org/10.1080/00397911.2016.1148164>
116. VK Rao, R Tiwari, BS Chhikara, AN Shirazi, K Parang, A Kumar. Copper triflate-mediated synthesis of 1,3,5-triaryl-pyrazoles in $[\text{bmim}][\text{PF}_6]$ ionic liquid and evaluation of their anti-cancer activities. **RSC Advances**, **3(35)**, 15396–15403 (2013). <https://doi.org/10.1039/C3RA41830H>
117. MTT Nguyen, N Le, HT Nguyen, TDV Luong, VKT Nguyen, Y Kawazoe, *et al.* Mechanism of Friedel–Crafts acylation using metal triflate in deep eutectic solvents: An experimental and computational study. **ACS Omega**, **8(1)**, 271–278 (2022). <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c03944>
118. A Kumar, TM Dhameliya, K Sharma, KA Patel, RV Hirani. Environmentally benign approaches towards the synthesis of quinolines. **ChemistrySelect**, **7(22)**, e202201059 (2022). <https://doi.org/10.1002/slct.202201059>
119. GM Shelke, VK Rao, K Pericherla, A Kumar. An Efficient and Facile Synthesis of Vinyl Sulfones via Microwave-Assisted Copper Triflate Catalyzed Hydrosulfonylation of Alkynes. **Synlett**, **25(16)**, 2345–2349 (2014). <https://doi.org/10.1055/s-0034-1378546>
120. H Firouzabadi, N Iranpoor, S Sobhani, Z Amoozgar. Copper triflate as a useful catalyst for the high-yielding preparation of α -acetoxyphosphonates under solvent-free conditions. **Synthesis**, **2004(02)**, 295–297 (2004). <https://doi.org/10.1055/s-2003-815919>
121. P Singh, S Kumar Sahoo, N Sridhar Goud, B Swain, V Madhavi Yaddanapudi, M Arifuddin. Microwave-Assisted Copper-Catalyzed One-Pot Synthesis of 2-Aryl/Heteroaryl-4-Quinolones via Sequential Intramolecular Aza-Michael Addition and Oxidation. **Asian Journal of Organic Chemistry**, **11(7)**, e202200181 (2022). <https://doi.org/10.1002/ajoc.202200181>
122. G Öztürk, M Çolak, N Demirel. Solvent-free synthesis of chiral Schiff-base ligands based on ferrocene under microwave irradiation and application to enantioselective nitroaldol (Henry) reaction. **Chirality**, **23(5)**, 374–378 (2011). <https://doi.org/10.1002/chir.20934>
123. X Yang, L Li, Y Li, Y Zhang. Visible-light-induced photocatalytic aerobic oxidative $\text{Csp}^3\text{--H}$ functionalization of glycine derivatives: Synthesis of substituted quinolines. **The Journal of Organic Chemistry**, **81(24)**, 12433–12442 (2016). <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b02683>
124. RA Sheldon, ML Bode, SG Akakios. Metrics of green chemistry: Waste minimization. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, **33**, 100569 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100569>



Aflatoxinas: un problema de salud pública e inocuidad alimentaria en México

José C. Cadena-Alcaraz¹, Sandra Loera-Serna², María G. Sánchez-Otero¹, Rubén Ruiz-Ramos^{3*}

¹⁾ Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana, Calle Agustín de Iturbide S/N,
Zona Centro, 91700 Veracruz, Ver., México;

²⁾ Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Azcapotzalco, Av. San Pablo 420, Col. Nueva El Rosario,
Alcaldía Azcapotzalco, Ciudad de México C.P. 02128, México;

³⁾ Facultad de Medicina, Universidad Veracruzana, Calle Agustín de Iturbide S/N,
Zona Centro, 91700 Veracruz, Ver., México

(*) ruruiz@uv.mx

Recibido: 19/08/2025

Revisado: 17/09/2025

Aceptado: 10/11/2025

Resumen

Las aflatoxinas (AFs) representan un problema de salud pública en México y en el mundo, particularmente en regiones tropicales y subtropicales. Las AFs son producidas por diversas especies de hongos que infectan cultivos de importancia para los humanos, entre las que destacan especies del género *Aspergillus*, tales como *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nonius*, así como *Penicillium* y *Emericella* sp. Cuando se consumen alimentos, tales como algunos cereales, oleaginosas, especias y algunos productos arbóreos contaminados con aflatoxina B₁, ésta es metabolizada a nivel hepático dando origen al metabolito aflatoxina M₁, el cual presenta efectos hepatocarcinogénicos en humanos. Así mismo, cuando animales de granja son alimentados con piensos o granos contaminados con AFs, los productos alimenticios obtenidos de éstos, como leche o productos lácteos derivados, así como carne, huevos, vísceras, etc., también presentan concentraciones variables de dicha micotoxina, la cual finalmente llega a los seres humanos que se alimentan de dichos productos.

Palabras claves: Aflatoxinas, Cáncer, México, Salud pública, Inocuidad alimentaria

Abstract

Aflatoxins: a public health and food safety problem in Mexico. Aflatoxins (AFs) represent a public health problem in Mexico and around the world, particularly in tropical and subtropical regions. AFs are produced by various species of fungi that infect crops of importance to humans, among which species of the genus *Aspergillus* stand out, such as *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nonius*, as well as *Penicillium* and *Emericella* sp. When foods such as certain cereals, oilseeds, spices, and some tree products contaminated with aflatoxin B₁ are consumed, it is metabolized at the hepatic level, leading to the formation of the metabolite aflatoxin M₁, which has hepatocarcinogenic effects in humans. Likewise, when farm animals are fed with feed or grains contaminated with AFs, the food products obtained from them, such as milk or dairy products, as well as meat, eggs, viscera, etc., also present variable concentrations of this mycotoxin, which ultimately reaches humans who consume these products.

Keywords: Aflatoxins, Cancer, Mexico, Public Health, Food Safety

Introducción

De entre las diversas toxinas de interés humano conocidas, las aflatoxinas (AFs) podrían ser consideradas como un problema de salud pública en México y en otros países con economías emergentes. Estas micotoxinas son producidas por diversas especies de hongos, tales como *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, *A. nonius*, *Eurotium herbariorum*, *Rhizopus* spp, así como por *Emericella* sp. (las especies de *Emericella* son los estados sexuales de las especies de *Aspergillus*) y otros hongos del género *Penicillium*, como *P. verrucosum* que infectan cultivos, sobre todo en regiones tropicales y subtropicales. Una AF muy común y ubicua que se encuentra contaminando forrajes, alimentos de animales de crianza

y para consumo humano es la aflatoxina B₁ (AFB₁)¹. Cuando son consumidos algunos alimentos contaminados con dicha toxina, ésta es metabolizada principalmente a nivel hepático y uno de sus metabolitos, la aflatoxina M₁ (AFM₁) se ha descrito que posee un efecto hepato-carcinogénico en humanos y se ha asociado con el desarrollo de cáncer de páncreas, pulmón, colorrectal y cervicouterino¹. La principal exposición humana a dichas toxinas ocurre al ingerir alimentos contaminados entre los que destacan algunos cereales como: maíz, trigo, arroz, sorgo y mijo; oleaginosas como: el olivo, soya, girasol, algodón y cacahuate (maní); especias como: chile, pimienta negra, coriandro (cilantro), *Curcuma longa* (cúrcuma) y *Zingiber officinale* (jengibre); productos de al-

gunos árboles, tales como: *Prunus dulcis* (almendro), *Pistacia vera* (pistache), *Juglans regia* (nuez de Castilla) y *Cocos nucifera* (coco). Cabe mencionar que entre las características de las AF destaca que son incoloras, inodoras e insípidas. No obstante, cuando los animales son alimentados con piensos o granos contaminados tanto en la avicultura, la porcicultura o la crianza de ganado vacuno, genera que los seres humanos estemos expuestos a estas toxinas al ingerir una cantidad variable de AF, al consumir alimentos contaminados como, leche o productos lácteos y otros productos de origen animal como carne, huevos, vísceras, etc.².

Regulación de AFs en alimentos de consumo humano

En ese sentido, la oficina de Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de Norteamérica (EUA) (FDA; por sus siglas en inglés de *Food and Drug Administration*) es la responsable de la regulación de alimentos, medicamentos (humanos y veterinarios), cosméticos, compuestos médicos biológicos (incluyendo derivados sanguíneos) y vacunas, entre otros, establece que el nivel máximo aceptable de la AFM₁ en la leche es de 0,5 µg/kg, mientras que la Unión Europea (UE), establece límites más estrictos de 0,05 µg/kg^{3,4}. Por su parte, en México también existe una normativa al respecto, la Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010 establece límites máximos de AFM₁ en leche de 0,5 mg/L; sin embargo, esto solo abarca leche de consumo, fórmula láctea y producto lácteo combinado, lo que incluye productos pasteurizados, ultra pasteurizados, esterilizados y / o deshidratados, no leche materna⁵. La Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002⁶ y la NOM-247-SSA1-2008⁷ establecen 20 µg/kg el límite máximo de aflatoxinas totales en cereales y en la primera de las dos normas mexicanas se menciona que “*En el caso de observarse concentraciones desde 21 y hasta 300 µg/kg, el cereal únicamente podrá utilizarse para consumo animal, de acuerdo con el Apéndice Normativo A*”, es decir, se permite que los cereales con niveles de contaminación de aflatoxinas 15 veces más elevados que lo permitido para consumo humano, sea de consumo animal, lo cual favorece que los productos animales de consumo humano presenten niveles variables de contaminación de aflatoxinas (considerando que la normatividad mexicana permite niveles de AFM₁ de 1000 veces más que en EUA y 10000 veces más que la UE).

Lactancia materna y exposición a AF

El hecho de que la AFM₁ sea un producto secundario del metabolismo hepático de la AFB₁ y que pueda ser excretada a través de la leche de los mamíferos que han consumido alimentos contaminados con el hongo *A. flavus* u otras especies de hongos, representa un grave problema, no solo de inocuidad alimentaria sino por las repercusiones en la salud poblacional, debido a que esta toxina podría ser trasferida de la madre al hijo durante la lactancia, ya que en los humanos la AFM₁ se excreta a través de la leche materna, exponiendo de esta forma a los recién nacidos a las aflatoxinas². Pokharel

et al. (2021)⁸ determinaron mediante cromatografía líquida de ultra alto rendimiento (UHPLC) la prevalencia de AFM₁ en leche materna de 1675 muestras obtenidas de madres lactantes, 3 meses después del nacimiento de sus bebés, en el distrito de Banke, en la región suroeste de Nepal. El estudio mostró que aproximadamente el 94 % de las muestras presentaron niveles detectables de AFM₁ (promedio aritmético de 4,46 ng/L). Adicionalmente, se determinaron positivamente como factores asociados a dichos niveles de AFM₁ en la leche materna al consumo de alimentos como el yogur, la leche, el aceite hidrogenado y la calabaza madura. Así mismo, también se estableció la influencia estacional, ya que se observaron niveles de AFM₁ significativamente más altos en leche materna colectada en las temporadas de verano, pre-invierno e invierno, en comparación con la primavera. Otro factor que mostró de manera significativa una asociación positiva con el nivel de AFM₁ en el cuantil 75, fue el índice de masa corporal (IMC) de la madre. Así mismo, se determinó que alrededor del 2,5 % de las muestras superaron el nivel máximo designado por la UE de 25 ng/L en alimentos para bebés. Estos resultados sugieren la probabilidad de una exposición dietética de AFs en la cadena de suministro de alimentos en Banke, Nepal, lo que implica que los bebés amamantados por mujeres lactantes en dicha región pueden estar expuestos de manera crónica, tanto a AFB₁ como a AFM₁ a través de la leche materna. Además, se debe considerar que cuando se evalúa la ingesta de leche por kg de peso corporal, esta será mayor en los bebés comparada con otros grupos de edad⁹. Adicionalmente a su menor peso corporal, los bebés también son más susceptibles a los efectos de las micotoxinas por su capacidad reducida para desintoxicar agentes peligrosos, porque tienen una dieta más restringida y porque su tasa de crecimiento es más rápida y una de las consecuencias de la exposición, es la inhibición de la síntesis de proteínas, además del daño hepático que es más severo que en los adultos.

No obstante lo anterior, en el transcurso de los primeros meses de vida, entre los 4 a 6 meses, los bebés requieren el reemplazo gradual de la leche materna con otros productos alimenticios que son la primera comida sólida en la alimentación infantil. Habitualmente muchos de estos alimentos se elaboran a base de cereales sin gluten, hechos de arroz y maíz. En una etapa subsecuente, se administran gradualmente productos elaborados a base de múltiples cereales. En consecuencia, la exposición a las AFs pareciera inevitable, ya que entre los productos susceptibles de ser infectados y contaminados se encuentran cereales mixtos que están presentes en los alimentos para bebés. En ese sentido, Herrera et al. (2019)¹⁰ analizaron 60 muestras de alimentos para infantes. De 27 muestras sin gluten, para bebés de 4 a 6 meses, basadas principalmente en maíz, arroz y mijo, 10 muestras resultaron positivas para al menos una micotoxina (4 AFs). Estos alimentos contenían los siguientes cereales: arroz (10 muestras), maíz (7), mijo (1) o quinoa (1). Por otro lado, de 33 muestras de productos multicereales (para bebés de 7 a

12 meses), éstos contenían trigo, cebada, avena, espelta y centeno. De éstas, 14 muestras resultaron positivas para al menos una micotoxina (8 para AF). Las muestras positivas dentro de este grupo contenían los siguientes cereales: trigo (11 muestras), arroz (10), avena (10), cebada (9), centeno (8), maíz (7), mijo (6), sorgo (3), trigo sarraceno (2) y espelta (1). En cuanto a otros ingredientes, también se determinó que el cacao estaba presente en cuatro muestras de multi cereales positivas para AF, mientras que la miel apareció también en dos de ellas. Por lo tanto, diferentes ingredientes pueden estar involucrados en la contaminación por AF en los alimentos para bebés. En dicho estudio se estableció también que el patrón de contaminación no fue muy diferente entre ambos tipos de muestra: 23 muestras que contenían cereales orgánicos y 37 muestras hechas de cereales convencionales. Adicionalmente, la incidencia de AFs fue menor en muestras orgánicas (solo 2 positivas) que en las convencionales (10 positivos). No obstante, la concentración de AFs fue similar en muestras orgánicas y convencionales. Cuando las muestras de alimentos para bebés se clasificaron en dos grupos según la presencia de ingredientes integrales (24 muestras) o ingredientes refinados (36 muestras), tampoco se observaron diferencias notables entre ambos grupos y la incidencia de AF en dichas muestras fue la siguiente: AFB₁ 18,3 %, AFG₁ 10 % y AFB₂ y AFG₂ 1,7 %. Finalmente, se estableció que el 10 % de las muestras de alimentos para bebés analizadas superaron el nivel máximo de aflatoxina B₁.

Por lo anterior, la AF en la leche debe considerarse un peligro para la salud, particularmente para los infantes, cuya dieta es básica y exclusivamente de leche materna. Dicha exposición tiene importantes consecuencias, ya que además de los efectos hepato-carcinogénicos que pueden inducir el desarrollo de carcinoma hepatocelular, también existen otras complicaciones para la salud de los lactantes, debido a que el sistema inmunológico se encuentra en una etapa temprana de desarrollo, además de su asociación con el desarrollo de encefalopatía hepática, degeneración de la grasa visceral, así como problemas en el desarrollo¹¹.

El caso de México: aspectos que favorecen la presencia de AFs en alimentos

En ese sentido, las particularidades dietarias de los mexicanos favorecen y aumentan el riesgo de que exista una exposición constante e inadvertida a dichas toxinas, ya que el maíz, a pesar de ser originario de Mesoamérica, fue domesticado por los habitantes del eje neo volcánico de México desde hace doce mil años aproximadamente, constituyéndose en un alimento base en la dieta de los mexicanos. Lo anterior fue fundamental para que esta gramínea se propagara hacia todo el continente americano, mucho tiempo antes de que los europeos arribaran a estas tierras. A su vez, la conquista favoreció que estas semillas fueran llevadas a Europa en el siglo XVI. Desde entonces el maíz ha sido el cereal que a nivel mundial ha alcanzado los más altos volúmenes de producción, seguido por el trigo y el arroz¹². En el

caso particular de México, los pequeños productores contribuyen con un 60 % de la producción de granos de maíz y la producción de los medianos productores es de hasta 10 toneladas/hectárea (tn/ha), siendo la superficie sembrada de hasta un 91 %. Por lo anterior, es posible considerar que estos dos sectores juntos aportan alrededor del 75 % de la producción nacional de maíz. Se ha calculado que, en el año 2019, la superficie sembrada fue de más de 7 millones de hectáreas (mht) y el estado de Sinaloa (norte de México) fue el productor líder con más de 6 millones de toneladas. La superficie con rendimiento de maíz grano menor a 5 tn/ha sumó alrededor del 84 % de la superficie cultivada, de la cual se obtuvieron 14789348 tn de un total de 27228242 tn, por lo que México se constituyó como el séptimo productor mundial de maíz. Para el 2020, se pronosticó un incremento del 5 %, estimándose 28 millones de toneladas (mtn) de maíz¹³. Para el 2024, se calculó una producción de cerca de 35 mtn y un consumo nacional de 23,13 mtn de maíz blanco, que representa el 86,94 % de la producción de maíz grano destinado principalmente a consumo humano, mientras que para el 2030 se proyecta una producción potencial de 42,82 mtn con un consumo estimado de 22,86 mtn. Mientras que el maíz amarillo representa cerca de un 24 % y se destina principalmente a la industria o a la fabricación de alimentos balanceados para la producción pecuaria, se calculó en el 2024 una producción de 4,34 mtn y un consumo nacional de 19,19 mtn; para 2030 se proyecta una producción de 4,92 mtn y un consumo de 23,28 mtn¹⁴.

Se ha observado un aumento en el consumo promedio de maíz blanco, ya que en el año 2000 se calculó una tasa de consumo promedio *per cápita* de maíz de más de 100 kg/año, para el 2016 el consumo promedio *per cápita* fue de 196,4 kg/año, principalmente en tortillas, que además representa aproximadamente el 21 % del gasto total en alimentos realizado por las familias mexicanas¹⁴. Esto también tiene implicaciones en la capacidad de estos sectores para modernizar sus sistemas pre y postcosecha, como acondicionar bodegas, realizar pruebas de detección de contaminantes, tales como plaguicidas, fumonisinas y AFs, así como tratamientos para evitar la contaminación por diversas especies de hongos y otras plagas, ya que actualmente estas capacidades son limitadas y esto repercuten y tiene un impacto directo en la calidad de los granos que son consumidos a nivel nacional. Lo anterior, con base en evidencias de que la contaminación del maíz ocurre de manera importante durante el periodo de cultivo y de almacenamiento^{15,16}.

Particularmente en México, se cuenta con información de detección de contaminación con AFs en algunos periodos de cultivo de maíz¹⁷. Por ejemplo, en 1989 en Tamaulipas (noreste de México), se detectó maíz contaminado desde el campo, mediante muestreos previos al proceso de almacenamiento. Las concentraciones de AFB₁ reportadas fueron del rango de 45-65 mg/kg; sin embargo, el mismo maíz, después de un periodo de almacenamiento en condiciones de alta

temperatura y humedad durante dos meses, alcanzó concentraciones que superaron los 250 mg/kg de AFB₁^{17,18}. Lo anterior, a su vez, incide en los niveles de AFs que pueden detectarse en productos derivados de dichos granos. Cabe mencionar que las AFs son moléculas con alta estabilidad térmica que les permite, incluso conservar su estructura química al ser sometidas a temperaturas que oscilan entre los 260 y los 320°C. Lo anterior, tiene un gran impacto en la contaminación de alimentos, pues dichas características evitan su eliminación en procesos alimentarios ordinarios e industriales. Se ha documentado que incluso los tratamientos térmicos como la pasteurización de la leche han demostrado tener baja efectividad en la degradación de las AFs. También, procesos de fermentación o la nixtamalización que consiste en el tratamiento térmico y alcalino para ablandar los granos de maíz para modificar sus características físicas y químicas e incrementar las propiedades nutritivas de este cereal, no son suficientes ni efectivos para la eliminación de las AFs¹⁹. En ese sentido, diversos estudios también han aportado evidencias de la presencia de AFs en diversos tipos de alimentos de consumo frecuente por la población mexicana, como es el caso del análisis de 43 muestras de manteca de cacahuate adquiridas en San Pedro Atocpan, Ciudad de México (CDMX). En el 44 % de las muestras (19) se detectaron AFs y en 11 de éstas se detectó AFB₁ (0,71 – 16,06 µg/Kg)²⁰. Por otro lado, un estudio reciente realizó la determinación de AFs en 80 muestras de cacao (*Theobroma cacao*) y productos derivados procedentes de todos los estados mexicanos que lo producen (Tabasco, Oaxaca, Chiapas, Guerrero y Veracruz). El análisis mostró positividad para la presencia de alguna de los 8 tipos de AFs en el 100 % de las muestras. La AF más frecuente (62,5% de las muestras) y más concentrada (promedio de 40,4 µg/Kg) fue la AFB₁ y menor para AFM₁ (16,25 % con 5,9 µg/kg promedio). Para los diferentes tipos de muestras, las aflatoxinas totales (AFt) fueron de mayor a menor concentración en el siguiente orden: granos de cacao (303,9 µg/kg), cáscaras (292,10 µg/kg), nibs (236,55 µg/kg), mazorcas (223,03 µg/kg), chocolate artesanal (128,95 µg/kg), pasta (122,66 µg/kg), dulces (35,20 µg/kg), polvo (26,88 µg/kg), manteca (25,85 µg/kg) y bebidas (10,67 µg/kg). La mayoría de las muestras rebasó los límites tolerados por la normatividad nacional²¹. Otro estudio orientado a la detección de AFs en muestras de granos de café, obtenidos de diferentes lugares, mostraron positividad en el 100 % de las mismas. Los resultados arrojaron un valor promedio general de 56,17 µg/Kg con un rango 19-130 µg/Kg, distribuidos de la siguiente manera: muestras de granos adquiridos en centros comerciales (4) presentaron valores de 25 – 63 µg/Kg; adquiridas en tiendas especializadas (4) mostraron valores de 19 – 130 µg/Kg y obtenidas de comercio “en línea” (4) mostraron valores de 19 – 100 µg/Kg. En todos los casos los valores rebasaron los límites establecidos en la normatividad y códigos de prácticas internacionales (5 µg/Kg), mientras que el 83,3% (10/12 muestras) es

tuvieron por encima de los valores establecidos en la normatividad nacional (20 µg/Kg)²². Estudios adicionales dirigidos a determinar la presencia de AFs en 66 muestras de diferentes marcas y lotes de golosinas consumidas por niños y adultos, como el mazapán de cacahuate y de nuez adquiridos en el estado de Jalisco, México [54 de cacahuate y 12 de almendra y nuez (AN)] determinaron que el 100 % de las muestras resultaron positivas para dicha micotoxina. Las mayores concentraciones promedio se observaron en las muestras elaboradas con cacahuate (9,25 µg/kg), comparadas con las elaboradas con AN (1,17 µg/kg) y los mayores niveles promedio de AFB₁ encontrados en 2 marcas comerciales de los primeros (19,8 µg/kg – 144,17 µg/kg), que superan el límite establecido por la legislación internacional para los países exportadores de productos alimenticios a base de cacahuate (15 mg/kg)²³. Otros estudios que realizaron el análisis de 40 muestras de cereales de consumo infantil de venta a granel y de marcas registradas (arroz inflado sabor chocolate, hojuelas de maíz azucaradas, bolitas de maíz y arroz sabor chocolate, avena instantánea sabor miel con nuez, aros de cereal, hojuelas de maíz sabor chocolate, etc.) adquiridas en Cuautitlán Izcalli, Estado de México, se determinó la presencia de AFs en un 25% con concentraciones entre 0,536 µg/kg y 2 µg/kg²⁴. Por su parte, un estudio realizado en Aguascalientes, México con 77 muestras de marcas comerciales de alimentos secos para perros, mostró que el 100 % de las muestras resultaron positivas a la presencia de AFs con niveles promedio de 14,8 ± 0,3 µg/kg (rango 8,6 – 22,2 µg/kg) con un 11 % que excedió el límite máximo permitido sugerido por la normatividad mexicana (20 µg/Kg)²⁵. No obstante, también existen otros estudios que detectaron la presencia de AFt en especias, ingredientes y mezclas de especias utilizadas para la formulación de productos cárnicos y en productos cárnicos comercializados en la CDMX. Para ello, se analizaron 50 muestras. El 61 % de las especias e ingredientes fueron positivos para las AFt en concentraciones de 0,07 a 4,24 µg/kg, mientras que el 75 % de las mezclas de especias fueron también positivas, en concentraciones de 0,6 a 1,9 µg/kg y solo el 3,5 % de los productos cárnicos fueron positivos. Las muestras con mayor prevalencia de AFt fueron chile y pimentón. Los autores declararon que los resultados mostraron concentraciones por debajo del límite máximo establecido por la UE (10 a 20 µg/kg) para las AFt, lo que no constituye un problema actual de salud pública en las condiciones analizadas²⁶.

Aspectos de toxicidad de la AFB₁

Una vez que las AFs ingresan al organismo, son absorbidas y pasan a la circulación sanguínea. De esta forma, son incorporadas a nivel hepático, donde sufren las primeras transformaciones químicas durante la fase I del metabolismo de xenobióticos, por acción de las enzimas de la familia del citocromo P450 (CYP450). Esta actividad enzimática genera al menos dos metabolitos: la isoforma 3A4 del CYP450

(CYP3A4) que interviene en la producción de un isómero exo-epóxido y el metabolito denominado aflatoxina Q₁ (AFQ₁). Otra isoforma del CYP450 denominada 1A2 (CYP1A2) da origen mayormente a la forma isomérica endo-epóxido y a la aflatoxina M₁ (AFM₁), misma que la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer de EUA (IARC; por sus siglas en inglés de *International Agency for Research on Cancer*) la ha clasificado como carcinógeno humano del grupo 1²⁷. Adicionalmente, el isómero exo-epóxido presenta una gran afinidad de acoplamiento a la molécula de ADN, lo que favorece la formación de aductos. Estos complejos formados entre las moléculas de ADN y los isómeros metabólicos provocan cambios estructurales en el ADN y alteran su función, impidiendo que se lleve a cabo correctamente el proceso replicativo. Además de formar estos aductos con el N⁷ de los residuos guanil, que son químicamente inestables y pueden desacoplarse del ADN nuevamente, dando como resultado sitios apurínicos o bien el anillo imidazol se abre, se hidroliza y forma otro aducto ligado a las pirimidinas, llamado 8,9 dihidro-8-(N⁵-formil-2,5,6-triamino-4-oxo-N⁵-pirimidil)-9-hidroxilafatoxina-B1 (AFB₁-FAPY) (Fig. 1), mismos que pueden acumularse por años provocando mutaciones en el codón 249 del gen supresor de tumores p53; alteración propia de varios carcinomas, pero particularmente encontrada en los carcinomas hepáticos en humanos²⁸⁻³¹.

Si las células que han sufrido la formación de aductos no son capaces de reparar su ADN de manera eficaz, podrían iniciar un proceso mutagénico y generar un episodio de carcinogénesis³⁰. Adicionalmente, después de la formación de la molécula reactiva AFB₁-epóxido, también es posible la formación de otros metabolitos como los dihidrodióles (8,9-dihidro-8,9-dihidroxi-aflatoxina-B₁), que tienen la capacidad de generar bases de Schiff, lo cual les permite unirse a proteínas e inducir daño celular y, a su vez, estos mecanismos

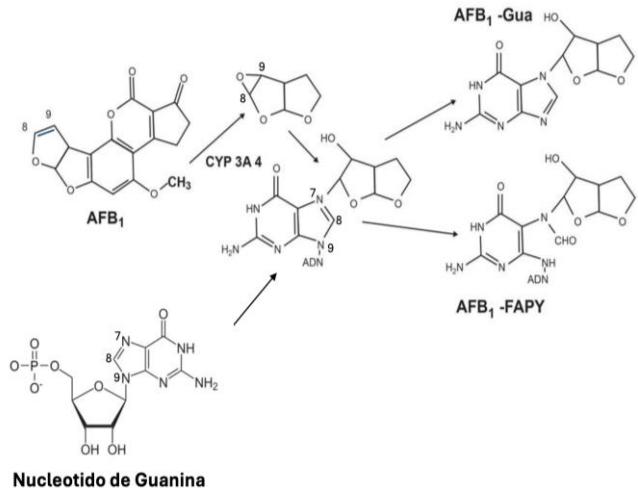


Fig. 1: Activación de la AFB₁ por el CYP3A4 para formar el aducto entre el metabolito intermedio 8,9-AFB₁-epóxido con la el N⁷ de guanina en el ADN llamado aducto 8,9-dihidro-8-(N⁷-guanil)-9-hidroxilafatoxina B₁ (AFB₁-Gua). Otro aducto ligado a las pirimidinas es el 8,9 dihidro-8-(N⁵-formil-2,5,6-triamino-4-oxo-N⁵-pirimidil)-9-hidroxilafatoxina B₁ (AFB₁-FAPY). Estructura parcial de los dos aductos más abundantes (figura modificada de ref. 31).

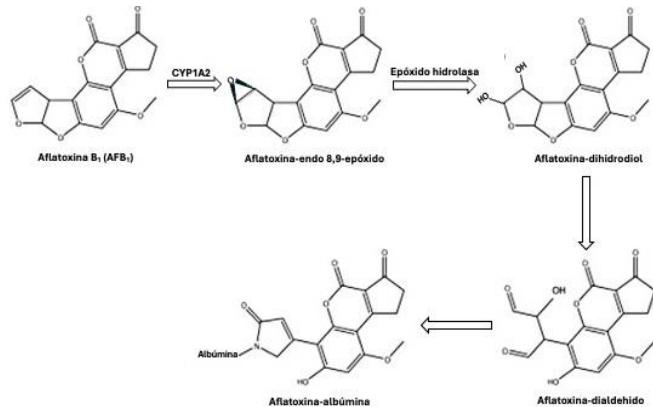


Fig. 2: Activación de la AFB₁ por el CYP1A2 para formar el aducto entre el metabolito intermedio AFB₁-dialdehido y la albúmina sérica humana (HAS) (AFB₁-HAS) (figura modificada de ref. 32).

podrían inducir la muerte celular; un ejemplo de esto ocurre cuando la AFB₁-epóxido forma aductos con algunas proteínas celulares, como en el caso de la albúmina a través de sus residuos de lisina^{31,32} (Fig. 2).

La albúmina sérica humana (HAS) es la principal proteína de la sangre (3,5 – 5,0 g/dL); considerando que un adulto posee entre 4,5 – 6 L de sangre en su cuerpo, la concentración oscilaría entre 210 – 300 g y se ha calculado que alrededor del 5 % de una dosis de AFB₁ ingerida se une a la albúmina; en ese sentido, Bagheri y Fatemin (2018)³³ demostraron a nivel atómico las interacciones entre la AFB₁ y HAS, concluyendo que la HAS tiene posibilidades de interactuar, particularmente en el sitio I del subdominio IB, por interacciones hidrofóbicas con los siguientes aminoácidos: Met123, Phe134, Leu135, Tyr138, Leu139, Ile142, Ala158, Tyr161, Phe165, Leu182, además de formar un puente de hidrógeno con el aminoácido Arg117, proponiendo además que el reconocimiento e interacción de AFB₁-HAS son espontáneos y que las principales fuerzas que participan en dichas interacciones son fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno³³.

Estas alteraciones estructurales se asocian con daños de tipo agudo en órganos como hígado, donde se produce la albúmina, lo cual tiene como consecuencias la generación de hígado graso, hepatitis aguda, cirrosis, síndromes de Reye y de Kwashiorkor (particularmente en niños que viven en los trópicos), y a largo plazo se ha descrito que se presentan efectos estrogénicos, teratogénicos, inmuno-tóxicos, mutagénicos y carcinogénicos con inducción de tumores, nefrotóxicos y neurotóxicos, como edema cerebral severo^{34,35} (Fig. 3).

El cáncer hepático en México

En un periodo de poco más de cinco lustros, entre los años 1990 al 2016, se estimó que hubo un incremento del 114 % en los casos de cáncer hepatocelular en todo el mundo, ya que pasó de 471000 a 1007800 casos³⁶. Seis años después, en el año 2022 la IARC declaró que el cáncer hepático fue el tercer tipo de cáncer que más defunciones provocó, con un promedio de 758725 muertes registradas^{37,38}. Cabe sub-

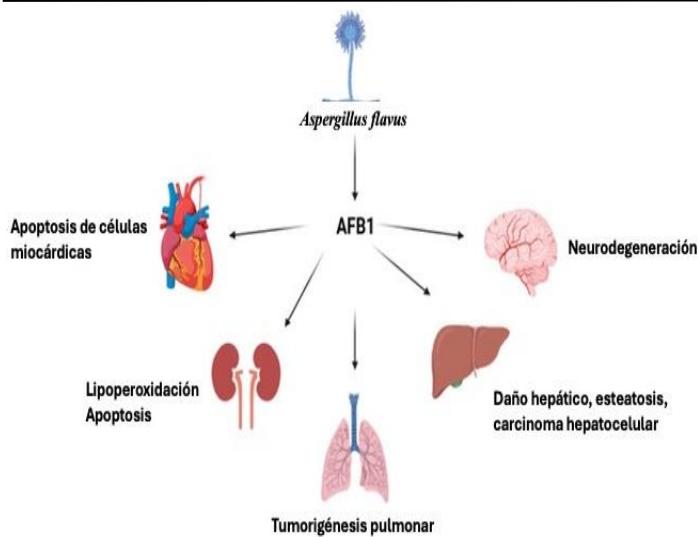


Fig. 3: Diagrama del origen de la AFB_1 y sus efectos en diferentes órganos del cuerpo humano. El hongo *A. flavus* y otras especies del género *Aspergillus* sintetizan la AFB_1 , misma que al ser metabolizada produce daños multiorgánicos en el cuerpo humano, causando diferentes lesiones (figura modificada de ref. 35).

rayar que el carcinoma hepatocelular es considerado el tipo de cáncer más común en adultos y que el Instituto Nacional del Cáncer de EUA (NCI; por sus siglas en inglés de National Cancer Institute) refiere, entre los factores de riesgo para el desarrollo de esta patología el consumo de alimentos contaminados con AFB_1 ^{38,39}.

De manera particular, México también tuvo un incremento en la tasa de mortalidad por este tipo de cáncer, se calculó que para el año 2000 de cada 100000 habitantes (habs.), este cáncer fue mortal para 4,1 casos/100000 habs, mientras que en 2006 la cifra ascendió a 4,7 casos/100000 habs. y para 2015 fallecieron a causa de esta patología 5,2/100000 habs., lo que representó un incremento aproximado de un 27 % en un periodo de 15 años, comprendido del año 2000 al 2015³⁶. Específicamente, las zonas que han registrado una mayor incidencia en casos por la ingesta de alimentos contaminados con AFs son las regiones con climáticas tropicales o subtropicales como aquellos países de África subsahariana en la costa este, como Kenia, Tanzania en la parte de África Central, Malawi en el sureste africano y el sudeste asiático, como Malasia y Vietnam (Fig. 4)^{41,42}.

Méndez-Sánchez *et al.*⁴³ en 2005 realizaron proyecciones de la tendencia y prevalencia de la enfermedad hepática en México, del mismo año al 2050, con base en datos de mortalidad. Esos estudios revelaron que se esperan casi dos millones de casos de enfermedad hepática crónica (EHC) durante ese período. Además, se mantiene la tendencia de las enfermedades hepáticas relacionadas con el consumo de alcohol, las cuales siguen siendo las causas más importantes de EHC, proyectándose alrededor de un millón de casos (996255) para el 2050. También, es importante considerar un síndrome emergente como la enfermedad hepática no alcohólica, la cual será aún más importante que las enfermedades

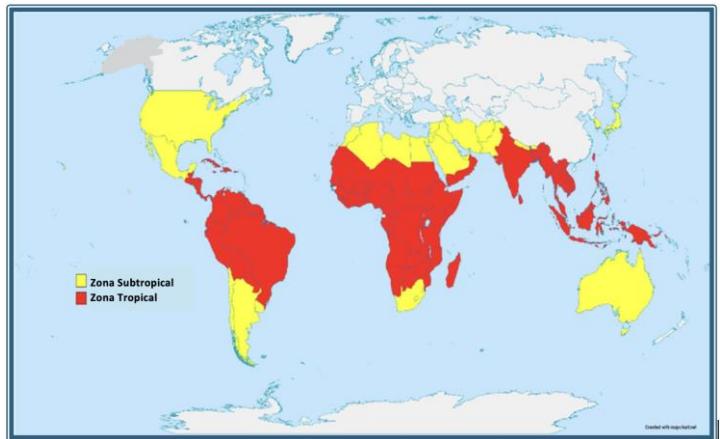


Fig. 4. Zonas tropicales y subtropicales del mundo. El mapa indica las zonas tropicales y subtropicales donde la contaminación por aflatoxinas es una preocupación recurrente (figura modificada de ref. 42).

hepáticas infecciosas (823,366 frente a 46,992 casos esperados, respectivamente). Por lo anterior, se considera que el carcinoma hepatocelular será la tercera causa principal de enfermedad hepática. Es decir, la EHC será una causa importante de morbilidad y mortalidad en el futuro.

Se ha descrito que la hepatitis B es la principal causa para el desarrollo de hepatocarcinoma; sin embargo, también se ha asociado la exposición continua a las AFs. Existe una sinergia entre la hepatitis B y las AFs que inducen una mayor velocidad en la evolución del cáncer como se demostró en el trabajo de investigación realizado en ratones transgénicos con sobreexpresión de un polipéptido de envoltura grande del virus de hepatitis humana tipo B (HBV). En dicho trabajo se reportó que se produjeron displasias de hepatocitos más rápidas y extensas en el grupo de organismos expuestos a AFB_1 comparados con el grupo control⁴⁴.

Detección de AFs en México

Salas *et al.* (2022)⁴⁵ realizaron un estudio para analizar la presencia de AFs en muestras de leche materna de 123 mujeres lactantes en la ciudad de Monterrey, en el estado de Nuevo León, al noreste mexicano. Los resultados mostraron que el 100 % de las muestras analizadas estaban contaminadas con AFM_1 ; los niveles promedio reportados fueron de 17,04 ng/L, con un rango de 5,0 – 66,23 ng/L, y el 13 % de las muestras excedían el límite establecido por la regulación de la UE (25 ng/L).

Otros estudios realizados en el estado de Veracruz con el objetivo de detectar la presencia de AFs en alimentos producidos con granos contaminados, dadas las condiciones climatológicas de calor y humedad ambientales, reportaron que de 120 muestras de tortillas analizadas, adquiridas en diversos establecimientos en diferentes zonas de la ciudad, el 85 % presentaron contaminación con niveles promedio de 22,17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFs totales⁴⁶ superando los niveles máximos permitidos en cereales por las Normas Oficiales Mexicanas, NOM-188-SSA1-2002 y la NOM-247-SSA1-2008 (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y que el Apéndice Normativo A estipula que el cereal

únicamente podrá utilizarse para consumo animal cuando sean detectadas concentraciones desde 21–300 µg/kg, como se mencionó previamente. También son rebasados los niveles máximos permitidos estipulados por la FAO [1 a 20 µg/kg o 1 – 20 ppb (parte por billón) en los alimentos y de 5 a 50 µg/kg (5 – 50 ppb) en alimento para el ganado]⁴⁷. Dado lo anterior, estos niveles reportados sugieren que, con tan solo un alimento básico y cotidiano para la población mexicana, se estarían consumiendo una concentración de AFs mayor a la considerada como segura para la salud humana, por lo que también es posible suponer que los niveles de AFs a los que estaría expuesta la población veracruzana y de otras regiones mexicanas, tanto los adultos como los niños y lactantes, pueden ser elevados y riesgosos⁴⁸.

Por su parte, Vargas-Ortiz *et al.* (2017)⁴⁹ reportaron la presencia de AFs en otro producto alimenticio de alto consumo en México, como es el queso, ya que este derivado lácteo forma parte importante de la cultura culinaria nacional, su alta demanda es debido a su elevado consumo en diferentes formas. La percepción generalizada de este alimento por la población es debido a que se considera una fuente asequible de proteínas, en comparación con la carne o los mariscos. El queso es un producto lácteo muy nutritivo, elaborado a partir de leche de vaca u otros mamíferos (cabras, ovejas, camellos, búfalos, etc.) y es rico en proteínas, grasas y micronutrientes importantes, posee altas cantidades de vitaminas de los grupos A y B como riboflavina y cobalamina (B₁₂), además de contener niveles significativos de calcio, zinc y fósforo. Un porcentaje alto de su producción se lleva a cabo a nivel industrial y su comercialización es través de los canales formales, esto hace que la información mayormente sea sobre la presencia de AFs en dichos productos industrializados. Sin embargo, el queso tipo Oaxaca que es una de las variantes más consumidas en México y que generalmente este está hecho de manera artesanal, no existe información sobre los niveles de AFs en estos tipos de queso, ni de las cantidades vendidas en el país.

Además, debe considerarse que las AFs se unen a las proteínas, por lo que, en el caso de los quesos, ricos en la proteína caseína, estas toxinas forman complejos mediados a través de interacciones hidrofóbicas⁵⁰, lo que favorece la presencia de estas toxinas, como la AFM₁ en el queso. Por lo anterior, se evaluaron los niveles de AFs en 30 muestras de quesos artesanales tipo Oaxaca adquiridos en diferentes regiones de la ciudad de Veracruz, México. Los resultados de dicho análisis mediante HPLC mostraron que el 100 % de las muestras contenían diferentes niveles de AFs totales, con un promedio de 33,9 µg/Kg (rango de 2,5 – 123,5 µg/Kg); sin embargo, la AFB₁ fue detectada en el 76,7 % de las muestras con niveles promedio de 14,6 µg/Kg (rango de 0,02 – 48 µg/Kg), mientras que la AFM₁ fue detectada en poco más de la mitad de las muestras (53,3 %) con concentraciones promedio de 5,6 µg/Kg (rango de 0,01– 41,8 µg/Kg), además de que el 36,7 % de las muestras rebasaron el límite establecido por la

UE, en rangos que van de 0,1 – 41,8 µg/Kg, es decir, desde dos hasta 836 veces el valor máximo establecido para leche (0,050 µg/Kg). Por su parte, Carbajal-Moreno *et al.* (2019)⁵¹ reportaron resultados del análisis mediante HPLC de 30 muestras de quesos industrializados tipo Oaxaca de marcas comerciales que fueron adquiridos en distintos comercios de la Ciudad de México. En comparación con las concentraciones promedio de AFB₁ reportadas en quesos artesanales, éstas fueron menores (66,4 veces menos) en los quesos tipo Oaxaca industrializados (0,22 µg/kg) (rango de 0,04 – 0,5 µg/kg) y solo fueron detectadas en un 20 % de las muestras, mientras que la AFM₁ fueron detectadas en casi un 60 % de las muestras que mostraron concentraciones promedio de 3 µg/kg con un rango de 1,2 – 5 µg/kg. Las AFs totales también fueron reportadas en el 100 % de las muestras con concentraciones promedio de 15,6 µg/kg, es decir, 2,2 veces menos que en quesos artesanales (rango de 3,2 – 29,3 µg/kg).

Lafont *et al.* (1980)⁵² reportaron resultados obtenidos de 16 vacas holandesas de 5 a 11 años de un mismo rebaño y que no habían consumido harina de cacahuate, al menos desde los 10 a 16 meses de edad, agrupadas en 4 lotes. Cada lote incluía cuatro animales en diferentes períodos de lactancia (dos animales que habían parido en un periodo menor a 60 días, y dos animales en el octavo o noveno mes de lactancia). Los organismos fueron alimentados cada 12 h durante ocho días con una ración diaria máxima de 2 kg por día y por animal de harina de cacahuate contaminada de manera natural con AFs (0,09, 0,18, 0,86 y 2,58 mg/día/animal). Los resultados del análisis cromatográfico y fluoro densito-métrico de la AFM₁ en la leche indicaron que los niveles de dicho metabolito no estuvieron influenciados por el volumen de la secreción diaria de leche, sino que la cantidad (expresada como porcentaje de la toxina parental) puede variar de 0,14 a 0,34 % en aquellos animales al final de la lactancia, y de 0,66 a 0,95 % en las vacas que producen aproximadamente 20 L de leche/día. De esta manera se estableció que para alcanzar un límite de tolerancia de 20 ng/kg de AFM₁ en la leche (límite de seguridad por debajo del marcado por la UE), la ingesta diaria de micotoxinas por las vacas no debe exceder de 90 – 100 µg/animal.

Adicionalmente, otro estudio descriptivo recientemente publicado por Monge *et al.* (2023)⁵³ reportó la presencia del aducto AFB₁-lys en muestras de sangre, analizadas mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución y detección mediante espectrometría de masas de tiempo de vuelo acoplada a un sistema de espectrometría de masas en tandem. (UPLC-TOF-MS/MS), obtenidas de adultos habitantes de las regiones oriental y suroriental de México. Dicho estudio seleccionó aleatoriamente a 952 adultos mayores de 40 años provenientes de los cinco estados mexicanos con mayor índice de mortalidad por carcinoma hepatocelular (Veracruz, Chiapas, Tamaulipas, Campeche y Yucatán), con intervalos de confianza del 95 %. El estado donde se encontró mayor presencia de dicho aducto fue Veracruz, con una fre-

cuencia del 95,3 %, con una media de 0,361 pg/μL. De manera paralela, también se reportó que el valor de la media del aducto AFB₁-Lys fue tres veces mayor en población de áreas rurales, comparado con población de áreas urbanas. Por lo anterior, los autores sugieren que los niveles en las zonas rurales fueron considerablemente mayores debido a las carencias de los pobladores de estas zonas y las dificultades asociadas para acceder a dietas más variadas⁵³. Pero también es de suma importancia considerar las condiciones en las que se almacenan, se transportan y se procesan los granos cosechados.

Conclusiones y perspectivas

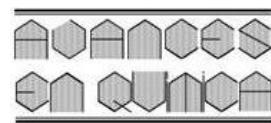
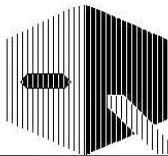
Es obvio que la inocuidad alimentaria en México, así como en otros países que comparten características económicas y sociodemográficas, no solo del continente, sino de otros también, al menos en lo que respecta al tema de las AFs sigue siendo una asignatura pendiente. Es claro que no resulta un tema fácil, ya que implica invertir en sistemas de cosecha, almacenamiento apropiado, procesamiento y detección eficiente de contaminantes como las AFs, fumonisinas, ocratoxinas o plaguicidas. No obstante, resulta primordial para la salud poblacional considerar seriamente el problema de la contaminación de granos, hortalizas y otros productos alimentarios por estas micotoxinas y otras. Lo anterior, debido a que somos consumidores finales, no solo de cereales y granos, sino de productos derivados de los mismos, pero también de productos alimenticios derivados de animales de granja que son alimentados con dichos granos y piensos. Particularmente los infantes representan el sector más vulnerable a la exposición a dichas toxinas, ya que, para lactantes, las micotoxinas son trasferidas a través de la leche materna y para menores que se encuentran en etapas de reemplazo gradual de alimentación infantil, de la leche materna a alimentos que constituyen sus primeros productos sólidos, éstos son elaborados a base de múltiples cereales. Estas dietas restringidas combinadas con su menor peso corporal, sus tasas de crecimiento más rápidas y su menor capacidad de detoxificación aumentan las concentraciones por kg de peso corporal, comparados con otros grupos de edad. El daño hepático destaca entre las consecuencias reportadas por la exposición a AFs. Por todo lo anterior, es importante la implementación y regulación estricta de los niveles máximos permitidos, reconociendo al mismo tiempo que su aplicación podría tener implicaciones para la seguridad del suministro alimentario y, por lo tanto, de la salud humana, aunque la exposición a estas toxinas también puede ocurrir por inhalación debido a exposiciones de tipo laboral o incluso profesional, por lo que se debe considerar también el monitoreo ambiental en áreas de riesgo.

Referencias

1. S Marchese, A Polo, A Ariano, S Velotto, S Costantini, L Seve-rino. Aflatoxin B1 and M1: Biological Properties and Their Involvement in Cancer Development. *Toxins*, **10**, 214 (2018). <https://doi.org/10.3390/toxins10060214>
2. MO Moss. Mycotoxin review - 1. Aspergillus and Penicillium. *Mycologist*, **16**, 116-119 (2002). <https://doi.org/10.1017/S0269915X02003014>
3. Food and Drug Administration (FDA). Compliance Program Guidance Manual FDA: Silver Spring, MD, USA (2005). <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/cpg-sec-527400-whole-milk-lowfat-milk-skim-milk-aflatoxin-m1>
4. European Commission Regulation (EC) No 1881/2006 (2006). Disponible en: <https://www.legislation.gov.uk/eur/2006/1881> Achieved: 01/08/2025.
5. Secretaría de Salud (SSA) NOM-243-SSA1-2010 Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba, Ciudad de México, SSA (2010). <https://dof.gob.mx/normasOficiales/4156/salud2a/salud2a.htm>
6. Secretaría de Salud (SSA) NOM-188-SSA1-2002 Productos y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias, Ciudad de México, SSA (2002). http://www.diariooficial.gvamundial.com.mx/historico/2002/Octubre/ss15_1.pdf
7. Secretaría de Salud (SSA) NOM-247-SSA1-2008 Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinillas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinillas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Ciudad de México, SSA (2008). <https://sidof.segob.gob.mx/notas/docFuente/5100356>
8. A Pokharel, P Webb, J Andrews-Trevino, A Lamichhane, R Shrestha, S Acharya, *et al.* Prevalence and associated factors of breastmilk Aflatoxin M1 levels in mothers from Banke, Nepal. *Food Control*, **126**, 108069. (2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108069>
9. FSCJ, Food Safety Commission of Japan, Risk assessment report; Natural toxins and mycotoxins FS/526/2013. Aflatoxin M1 in Milk and AflatoxinB1 in Feeds. *Official Journal of Food Safety Commission* (2013). https://www.fsc.go.jp/english/evaluation-reports/nm_toxins/aflatoxin_m1_b1_fs526.pdf
10. M Herrera, N Bervis, JJ Carramíñana, T Juan, A Herrera, A Ariño, *et al.* Occurrence and Exposure Assessment of Aflatoxins and Deoxynivalenol in Cereal-Based Baby Foods for Infants. *Toxins (Basel)*, **11**(3), 150 (2019). <https://doi.org/10.3390/toxins11030150>
11. RA Doğan, M Afacan, MT Özdemir. Determination of aflatoxin M1 in breast milk and related factors. *Revista Da Associacao Medica Brasileira*, **68**, 1000-5 (2022). <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20211077>
12. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Disponible en: <https://www.gob.mx/infap/articulos/el-maiz-base-en-la-seguridad-alimentaria-del-mundo-agricultura?idiom=es> Achieved: 11/08/2025

13. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-el-cultivo-de-mexico?idiom=es> Achieved:11/08/2025
14. SAGARPA (Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) Planación Agrícola Nacional 2017-2030, Maíz grano blanco y amarillo mexicano, SAGARPA. Ciudad de México, México. 1-28 (2017). Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B_sico-Ma_z_Grano_Blanco_y_Amarillo.pdf
15. KF Cardwell, A Desjardins, HS Henry, G Munkvold, J Robens. Mycotoxins: The cost of achieving food security and food quality. *APSnet Features*, American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA (2001). <https://doi:10.1094/APSNetFeature-2001-0901>
16. NW Widstrom. The aflatoxin problem with corn grain. En: *Advances in agronomy*. Sparks DL, Ed. Nueva York: Academic Press, 219-280 (1996). [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60183-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60183-2)
17. D Guzmán-De Peña. Estudio de las aflatoxinas en México. En: *Perspectivas de la microbiología en México*. Guzmán-De Peña D, Ruiz-Herrera J, Peña-Cabriales JJ, Eds. México, D.F. 181-199 (1997)
18. JD Figueroa. La tortilla vitaminada. **Avance y Perspectiva**, 18, 149-158 (1999)
19. JC Assaf, S Nahle, A Chokr, N Louka, A Atoui, A Khoury. Assorted methods for decontamination of aflatoxin M1 in milk using microbial adsorbents. **Toxins**, 11, 304 (2019). <https://doi.org/10.3390/toxins11060304>
20. R Martínez-Flores, R Alvarez-Romero, G García-Aguirre. Microbiota y Aflatoxinas en mantequilla de cacahuate. **Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México. Ser. Bot.**, 62(2), 107-114 (1991). <https://www.anales.ib.unam.mx/index.php/SerBot/article/view/2251/2297>
21. GA Mota-Rodríguez. Identificación y cuantificación de los mutágenos y cancerígenos llamados aflatoxinas, en cacao (*Theobroma cacao L*) y sus derivados artesanales. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 1-67 (2025). <https://ru.dgb.unam.mx/server/api/core/bitstreams/e28e60bf-0487-4442-aa8f-07474d6e1988/content>
22. P Fernandez-Ramírez. Detección de aflatoxinas y ocratoxina en granos de café mexicano. Tesis de Ingeniería en alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 1-89 (2020). <https://tesiunamdocumentos.dgb.unam.mx/ptd2021/julio/0813614/Index.html>
23. LA Jiménez-Ortega, BY Cuevas-Sánchez, P Martínez-Severiano, E Albarán-Rodríguez, LF Gozález-Zamora, WP Reyes-Velázquez. Determination of total Aflatoxins (AFs) and AFB₁ in sweets type “marzipan” of peanut and walnut marketed in Metropolitan zone of Guadalajara, Jalisco. **e-CUCMA Revista Electrónica de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**, 15(8), 21-32. (2021). <https://doi.org/10.32870/e-cucba.v0i15.176>
24. JA Reyes-Pérez. Determinación de Aflatoxinas en cereales de consumo infantil comercializados en cuautitlán izcalli, Edo de Mex. Tesis de Ingeniería Agrícola. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 1-82 (2021). <https://ru.dgb.unam.mx/server/api/core/bitstreams/f632440a-4d68-48a7-a9ea-01a2fcc28685/content>
25. L Martínez-Martínez. Presencia de Aflatoxinas y *Aspergillus flavus* en alimentos secos comerciales para perros en Aguascalientes, México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Aguascalientes. México. 1-153 (2023). <http://bdigital.dgse.aaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/2497/463491.pdf?sequence=1>
26. ML Ríos-Barragán, JF González-Sánchez, R Gutierrez-Tolentino, AC Escobar-Medina. JJ Pérez-González, S Vega y León. Determination of aflatoxins in spices, ingredients and spice mixtures used in the formulation of meat products marketed in Mexico City. **Rev. Mex. Cienc. Pecu.**, 12(3), 944-957.
27. IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans. Disponible en: <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications> Acceso:11/08/2025
28. M Hollstein, D Sidransky, B Vogelstein, CC Harris, p53 mutations in human cancers, **Science**, 253, 49-53 (1991). <https://doi:10.1126/science.1905840>
29. LS Lino-Silva, M Lajous, M Brochier L. Santiago-Ruiz, J Melchor-Ruan, Y Xie, *et al.*, Aflatoxin levels and prevalence of TP53 aflatoxin-mutations in hepatocellular carcinomas in Mexico, **Salud Pública Mex.**, 64, 35-40 (2022). <https://doi.org/10.21149/13189>
30. AM Jeffrey, GM Williams. Risk assessment of DNA-reactive carcinogens in food. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 207, S628-S635 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.03.024>
31. M Carvajal. Transformación de la aflatoxina B₁ de alimentos en el cancerígeno humano, aducto AFB₁-ADN. **IP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, 16(2), 109-120, (2013). [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(13\)72082-5](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72082-5)
32. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization), Aflatoxins. Safety evaluation of certain contaminants in food: prepared by the eighty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series, No 74, 2-280 (2018). <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/70ef1d06-9535-4154-9bdb-4d5acc848883/content>
33. M Bagheri, MH Fatemi. Fluorescence spectroscopy, molecular docking and molecular dynamic simulation studies of HSA-Aflatoxin B1 and G1 interactions, **Journal of Luminescence**, 202, 345-353 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2018.05.066>
34. J Tortajada, J García, OB Tornero, SC Gimeno. Micotoxinas y cáncer pediátrico. **Rev. Esp. Pediatr.**, 57, 279-280 (2001). <https://www.pehsu.org/cancer/cancerpdf/micotoxinasycancer.pdf>
35. A Pożarska, K Karpiesiuk, W Kozera, U Czarnik, M Dąbrowski, Ł Zielonka. AFB₁ Toxicity in Human Food and Animal Feed Consumption: A Review of Experimental Treatments and Preventive Measures. **International Journal of Molecular Sciences**, 25, 5305 (2024). <https://doi.org/10.3390/ijms25105305>
36. LE Cisneros-Garza, MS González-Huezo, C Moctezuma-Velázquez, LL De Guevara-Cetina, M Vilatobá, I García-Juárez, *et al.* II Consenso Mexicano de Cáncer Hepatocelular. Parte I: Epidemiología y diagnóstico. **Revista de Gastroenterología de Mé**

37. xico, **87**, 216-34 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2021.10.002>
38. Internaciona Agency For Research of Cancer (IARC). https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/bars?mode=cancer&key=total&group_populations=1&types=1&sexes=0&sort_by=value1&populations=900&multiple_populations=0&values_position=out&cancers_h=39 Acceso:11/08/2025
39. Organización Panamericana de la Salud. (OPS) [https://www.paho.org/es/temas/cancer#:~:text=Los%20tipos%20de%20c%C3%ZA1ncer%20con,p%C3%A1ncreas%20\(7%C2%25\)](https://www.paho.org/es/temas/cancer#:~:text=Los%20tipos%20de%20c%C3%ZA1ncer%20con,p%C3%A1ncreas%20(7%C2%25)) Acceso:11/08/2025
40. Instituto Nacional del Cáncer (NIH) <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/higado/que-es-cancer-de-higado> Acceso:11/08/2025
41. Instituto Nacional del Cáncer (NIH) [https://www.cancer.gov/espanol/tipos/higado/que-es-cancer-de-higado/causas-factores-de-riesgo#:~:text=El%20carcinoma%20hepatocelular%20\(CHC\)%20es,de%20la%20hepatitis%20o%20cirrosis](https://www.cancer.gov/espanol/tipos/higado/que-es-cancer-de-higado/causas-factores-de-riesgo#:~:text=El%20carcinoma%20hepatocelular%20(CHC)%20es,de%20la%20hepatitis%20o%20cirrosis) Acceso: 11/08/2025
42. A Filazi, U Tansel. Occurrence of Aflatoxins in Food, Aflatoxins - Recent Advances and Future Prospects. *InTech* (2013) <https://www.intechopen.com/chapters/38172>
43. O Kolawole, W Siri-Anusornsak, A Petchkongkaw, J Meneely, C Elliott. The Efficacy of Additives for the Mitigation of Aflatoxins in Animal Feed: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Toxins*, **14**, 707 (2022). <https://doi.org/10.3390/toxins14100707>
44. N Méndez-Sánchez, AR Villa, NC Chávez-Tapia, G Ponciano-Rodríguez, P Almeda-Valdés, D González, *et al.* Trends in liver disease prevalence in Mexico from 2005 to 2050 through mortality data. *Annals of Hepatology*, **4**(1), 52-55 (2005). [https://doi.org/10.1016/S1665-2681\(19\)32086-1](https://doi.org/10.1016/S1665-2681(19)32086-1)
45. S Sell, JM Hunt, HJ Dunsford, FV Chisari. Synergy between hepatitis B virus expression and chemical hepatocarcinogens in transgenic mice. *Cancer Res.*, **51**, 1278-1285 (1991). <https://aacrjournals.org/cancerres/article/51/4/1278/497320/Synergy-between-Hepatitis-B-Virus-Expression-and>
46. R Salas, N Acosta, A De Jesús Garza, A Tijerina, R Dávila, Z Jiménez-Salas, *et al.* Levels of Aflatoxin M1 in Breast Milk of Lactating Mothers in Monterrey, Mexico: Exposure and Health Risk Assessment of Newborns. *Toxins*, **14**, 19 (2022). <https://doi.org/10.3390/toxins14030194>
47. HA Wall-Martínez, A Ramírez-Martínez, N Wesolek, C Brabet, N Durand, GC Rodríguez-Jimenes, *et al.* Risk assessment of exposure to mycotoxins (aflatoxins and fumonisins) through corn tortilla intake in Veracruz City (Mexico). *Food Additives & Contaminants: Part A*, **36**, 929-939 (2019). <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1588997>
48. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization), Aflatoxins. Safety evaluation of certain contaminants in food: prepared by the eighty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series, No 74; 2-280 (2018). <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/70ef1d06-9535-4154-9bdb-4d5acc848883/content>
49. HY Martínez Padrón, S Hernández Delgado, CA Reyes Méndez, G Vázquez Carrillo. El Género Aspergillus y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, **31**, 126-146 (2013). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200005
50. M Vargas-Ortiz, M Carvajal-Moreno, E Hernández-Camarillo, S Ruiz-Velasco, F Rojo-Callejas. Unreported Aflatoxins and Hydroxylate Metabolites in Artisanal Oaxaca Cheese from Veracruz, Mexico. *Biochem. Anal. Biochem.*, **6**, 322 (2017). <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000322>
51. RE Brackett, EH Marth. Association of aflatoxin M1 with casein. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **174**, 439-441 (1982). <https://doi.org/10.1007/BF01042721>
52. M Carvajal-Moreno, M Vargas-Ortiz, E Hernández-Camarillo, S Ruiz-Velasco, F Rojo-Calleja. Presence of unreported carcinogens, Aflatoxins and their hydroxylated metabolites, in industrialized Oaxaca cheese from Mexico City. *Food and Chemical Toxicology*, **124**, 128-138 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.046>
53. P Lafont, J Lafont, S Mousset, C Frayssinet. Etude de la contamination du lait de vache lors de l'ingestion de faibles quantités d'aflatoxine [Contamination of cow's milk during ingestion of small quantities of aflatoxin]. *Ann. Nutr. Aliment.*, **34**, 699-707 (1980). <https://www.jstor.org/stable/45123663>
54. A Monge, M Romero, JD Groopman, KA McGlynn, L Santiago, S Villalpando-Hernández, *et al.* Aflatoxin exposure in adults in southern and eastern Mexico in 2018: a descriptive study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **253**, 114249 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.ijeh.2023.114249>



El acoplamiento molecular de los trímeros de quitina y quitosano como un ejemplo de investigación interdisciplinaria de actualidad

Cristóbal Lárez Velásquez*¹, Maura Rojas Pirela²

¹⁾ Grupo de Polímeros, Departamento de Química, Facultad de Ciencias
Universidad de los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

²⁾ Laboratorio de Enzimología de Parásitos, Departamento de Biología,
Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

(*) clarez@ula.ve

Recibido: 29/10/2025

Revisado: 20/11/2025

Aceptado: 17/12/2025

Resumen

En el presente trabajo se hace uso del acoplamiento molecular (*docking*) para exponer el apoyo que pueden brindar estos procedimientos computacionales en diversos aspectos de investigaciones química interdisciplinarias en áreas como la agricultura, medicina, ciencia de materiales, entre otras. Se discuten algunos resultados obtenidos mediante este sistema informático sobre la energía de afinidad de los ocho quitoooligosacáridos trímeros de quitina y quitosano hacia una lectina presente en el floema de la planta de pepino (*Cucumis sativus*). Se destaca el valor predictivo y educativo que puede tener el *docking* como una poderosa técnica complementaria para el estudio de estos biomateriales. De los trímeros estudiados, se pudo perfilar el ADD_r como el mejor candidato para estudios en aplicaciones agrícolas, como la preservación de frutos de pepino cortado propuesta, mostrando así la versatilidad de estos estudios. Adicionalmente, este trabajo aporta información básica, en idioma español, para ayudar a fomentar el interés por el uso de esta metodología entre estudiantes e investigadores hispanoparlantes.

Palabras claves: acoplamiento molecular; quitotriosa; lectinas; trímeros

Abstract

The molecular docking of the chitin and chitosan trimers as an example of current interdisciplinary research. This paper uses molecular docking to expose how these computational procedures can support various aspects of interdisciplinary chemical research in fields such as agriculture, medicine, and materials science. Some results obtained using this informatic system regarding the affinity energy of eight chitin and chitosan trimers of chitoooligosaccharides towards a lectin present in the phloem of the cucumber plant (*Cucumis sativus*) are discussed. The predictive and educational value of docking as a powerful complementary technique for studying these biomaterials is highlighted. Of the trimers studied, ADD_r emerged as the best candidate for studies in agricultural applications, such as the proposed preservation of cut cucumber fruit, thus demonstrating the versatility of these studies. Additionally, this paper provides basic information in Spanish to help foster interest in the use of this methodology among Spanish-speaking researchers.

Keywords: Molecular docking; Chitotriose; Lectins; Trimers

Introducción

La quitina y el quitosano son biopolímeros que se pueden obtener de una amplia variedad de fuentes naturales^{1,2} y que han encontrado aplicaciones novedosas en múltiples áreas del quehacer humano. Algunas de sus propiedades han sido aprovechadas desde tiempos remotos para aplicaciones biomédicas como, por ejemplo, su centenario empleo para acelerar la cicatrización de heridas por los coreanos, quienes utilizaron durante mucho tiempo la pluma del calamar como fuente de quitina para el tratamiento de abrasiones corporales; igualmente, los antiguos mexicanos usaban algunos hongos (cuyas paredes celulares contienen quitina) para acelerar la curación de heridas causadas por machetes³.

Oligómeros de quitina y quitosano

En muchísimas investigaciones con la quitina, y especialmente con el quitosano y sus derivados, se ha observado una fuerte

dependencia de sus propiedades, especialmente de sus actividades biológicas, con parámetros fisicoquímicos tales como el grado de polimerización (GP) –relacionado directamente con el peso molecular (PM)–, la fracción de unidades acetiladas o grado de acetilación (GA) y la distribución de las unidades acetiladas a lo largo de la cadena, que se ha comenzado a conocer como el patrón de acetilación (PA). Así, de manera empírica, se ha llegado a comprobar que dichas propiedades se pueden revelar incluso para especies moleculares pequeñas de estos biopolímeros, es decir, sus especies oligoméricas. Para definir estas especies, denominadas usualmente como quito-oligosacáridos (en inglés COS), en este trabajo se hará referencia a los hetero-quitoooligosacáridos (H-COS), que son especies moleculares de entre 2-10 unidades repetitivas que contienen unidades glucosamina (GlcN, D) y al menos una unidad N-acetil-glucosamina (GlcNAc, A) en la cadena, y a los homo-quitoooligosacáridos, que son también especies de 2-10 unidades repetitivas

conformadas solo por unidades A (A-COS) o solo por unidades D (D-COS).

Por otro lado, la mayoría de los estudios de la relación estructura/bioactividad con los COS se han desarrollado utilizando muestras que, por lo general, son mezclas de especies moleculares con distintos valores de GP, GA y PA. Esta es una práctica muy usual debido a la dificultad de obtener y separar una especie pura de un COS, con una estructura específica y bien caracterizada, a partir de las complejas mezclas que normalmente producen los diversos métodos de síntesis⁴. Por ello, la búsqueda de procesos físicos, químicos y/o enzimáticos que permitan producir estos materiales puros, de manera sencilla y sustentable, es un área de intensa actividad, incluyendo el desarrollo de métodos de separación y caracterización más eficientes⁵. Afortunadamente, en los últimos tiempos se han obtenido logros destacables debido al avance de las distintas estrategias que se han abordado para lograr la síntesis más efectiva de algunos COS, los cuales se pueden resumir en: a) la síntesis de COS a partir de sus unidades repetitivas mediante reacciones puramente químicas⁶ o enzimáticas, especialmente con quitinasas obtenidas a partir de microorganismos mutados que se han denominado “glicosintasas”⁷; b) la disponibilidad actual de un arsenal de herramientas para la despolimerización de quitina y quitosano, incluyendo métodos físicos, químicos y biológicos⁵, destacando entre los métodos biológicos la obtención creciente de enzimas cada vez más específicas a través de la ingeniería genética⁸; c) el perfeccionamiento reciente de algunos métodos de separación de estos materiales, como la cromatografía de intercambio iónico (IEC), la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), la cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC), etc., que son métodos de amplio uso⁹, especialmente cuando están acoplados a técnicas de caracterización poderosas como la espectrometría de masas¹⁰, entre otras.

Con todos estos avances, han comenzado a aflorar resultados que evidencian la especificidad individual de muchos de estos COS para las distintas bioactividades que se les han venido descubriendo, lo que ha impulsado recientemente un mayor énfasis en investigar, producir y comercializar estos atractivos biomateriales¹¹⁻¹⁵. Entre algunos resultados que apuntan fuertemente en este sentido, se puede mencionar los siguientes: a) la efectividad de la inducción de un cebado positivo en semillas de arroz cuando se aplican H-COS con DP = 4 que poseen una sola unidad GlcNAc, la cual ha mostrado ser dependiente de la posición de dicha unidad¹⁶; b) se ha demostrado que el A-COS pentamérico suprime la proliferación de células HepG2 por inducción de la apoptosis vía ruta intrínseca y por afectación de su autofagia protectora, mostrando su potencial como agente antitumoral frente a células de carcinoma hepatocelular¹⁷; c) se han encontrado ejemplos de bioactividades específicas gobernadas por el PA para COS con DP mayores que los dos mencionados anteriormente, como el favorecimiento de algunos parámetros del crecimiento en semilleros de trigo por COS hexámeros¹⁸, aunque todos los hexámeros estudiados en dicho trabajo mostraron mejores prestaciones que las observadas en los

estudios de control, el hexámero DDDDDDD tuvo mayores efectos positivos que los del AAAAAA, mientras que un hexámero con un tercio de sus unidades acetiladas por vía química mostró resultados intermedios entre los observados para AAAAAA y DDDDDDD; d) estudios de perfiles metabólicos han mostrado que el heptámero DDDDDDD podría actuar como un potenciador metabólico de plantas de trigo, al modular pleitrópicamente (cuando un gen influye en dos o más rasgos fenotípicos aparentemente no relacionados) su metabolismo del C y N. La fijación fotosintética de carbono fue potenciada por DDDDDDD, con incremento de la fosfato-sacarosa sintasa y de la fructosa 1,6-2 fosfatas¹⁹.

Estudios de acoplamiento molecular de COS

La diversidad de especies químicas de COS que pueden obtenerse, considerando solo los oligómeros con $GP \leq 10$, es muy grande. Debido a que son posibles sólo dos unidades repetitivas en ellos, es posible calcular el número de especies (N_{DP}) que pueden existir para un valor de DP determinado. Así, este valor vendría dado por $N_{DP} = 2^{DP}$. En la tabla 1 se pueden observar los resultados para valores de DP entre 2-10. Si adicionalmente se considera que la unidad terminal reductora (GlcNAc o GlcN) de cada una de estas especies puede existir también como estructura abierta, el número de especies se duplica.

Tabla 1. Número teórico de especies posibles para los COS en función de su grado de polimerización.

DP	2	3	4	5	6	7	8	9	10
N_{DP}	4	8	16	32	64	128	256	512	1024

En búsqueda de un manejo más práctico de la voluminosa información que podría obtenerse en los estudios de estos materiales, y ante la poca cantidad de información experimental disponible en la actualidad, los COS también han venido siendo objeto de estudios de simulación computacional. Adicionalmente, estos métodos también permiten manejar modelos teóricos que facilitan el entendimiento de las complejas relaciones que tienen parámetros como el PM, el DA y el PA sobre sus propiedades fisicoquímicas y sus bioactividades. Los resultados de varios estudios experimentales de titulación calorimétrica isotérmica, microscopía de fuerza atómica y electroforesis, sobre los sitios de unión de una lectina obtenida del floema exudado de los frutos inmaduros de la calabaza de hiedra (*Coccinia indica*), han permitido establecer que dicha proteína tiene marcadas diferencias en sus afinidades por COS de distintos DP; el trabajo fue complementado con estudios de simulación computacional, incluyendo “experimentos” de acoplamiento molecular (*molecular docking*), modelado por homología y dinámica molecular, que han apoyado estos resultados, generando información adicional o complementando la existente²⁰. La información sobre este tipo de proteínas, que se encuentran en el floema de diversas plantas y son conocidas como PP1 y PP2, así como de sus mecanismos de defensa (PPD por sus siglas en inglés para *protein plant defense*), como la formación de estructuras filamentosas extendidas que facilitan el sellado

de las heridas relacionadas con ataques de insectos y patógenos²¹, puede resultar de mucha utilidad para la aplicación agrícola de los COS más adecuados.

Paralelamente, los métodos informáticos para analizar modelos moleculares, combinados con técnicas bio-analíticas, se han convertido en una estrategia alternativa prometedora para ampliar la información existente sobre la unión de ligandos a proteínas del plasma sanguíneo en humanos²². Estos estudios pueden generar información nueva sobre la distribución y el comportamiento cinético de fármacos, permitiendo estimar previamente las posibles consecuencias de su acción farmacológica; no obstante, esta información necesita ser confirmada posteriormente porque algunos estudios han señalado que los COS también podrían generar efectos toxicológicos, como la inhibición del transporte de aniones orgánicos por péptidos, la afectación del receptor andrógeno, cardiotoxicidad y fosfolipodisis²³, etc. En el caso de los COS, estos estudios se han vuelto cada vez más relevantes, especialmente debido a que existe poca información sobre su distribución en los seres humanos, la cual depende fundamentalmente de la afinidad de los COS para unirse a las proteínas del plasma, especialmente a la albúmina del suero (HSA) y a la α -1-ácido glicoproteína (AGP)²⁴.

Los estudios de acoplamiento molecular tienen como objetivo principal proponer modelos de unión entre dos moléculas, usualmente una proteína y una molécula pequeña (denominada ligando), mediante el análisis de las fuerzas envueltas en las interacciones que originan dicha unión. Diversos trabajos describen los primeros pasos necesarios para iniciarse en estos estudios²⁵⁻²⁸, mostrando comparaciones de los diversos programas que se han venido desarrollando; igualmente, existen diversos sitios en línea que permiten realizar este tipo de estudios.

Algunas aplicaciones de los estudios de acoplamiento molecular a proteínas

A continuación, se resumen tres de las innumerables aplicaciones que pueden obtenerse usando estudios de acoplamiento molecular relacionados con proteínas:

i) Estudios de unión de fármacos a proteínas del plasma (PPB en inglés): usualmente se realizan para HSA y AGP. Estas interacciones afectan considerablemente la distribución y el comportamiento farmacocinético de los medicamentos, con consecuencias en la acción farmacológica general²². Se han reportado algunos estudios de *docking* para la unión de COS con HSA que indican que ésta resulta más fuerte que la unión con AGP²⁴ y que la fuerza de la unión depende del PM y del GD de los COS. Las interacciones de los COS con AGP y/o HSA tienen un impacto potencial en su biodisponibilidad, distribución, depuración, eficacia y seguridad como agentes antimicrobianos. Los COS unidos a las proteínas plasmáticas no estarán disponibles para el metabolismo de primer paso, llevando entonces a un menor volumen de COS disponible para las proteínas diana. Por otro lado, conocer los residuos de AGP y HSA responsables de la unión/estabilización de los COS con diversos PM, den-

sidad de nucleótidos y densidad de ácido láctico (DAP) es importante en los campos de la química y la medicina clínica, ya que permite diseñar COS con las propiedades deseadas de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET). Otra consecuencia de la unión de los COS a las proteínas plasmáticas es su posible efecto inhibidor de las interacciones de estas proteínas con otros compuestos, ya que se sabe que estas proteínas se unen a una amplia diversidad de ligandos endógenos y exógenos.

ii) Los estudios de acoplamiento molecular también constituyen una metodología didáctica eficaz y motivante para el aprendizaje de este tipo de interacciones y su relación con el diseño de inhibidores enzimáticos. Un buen ejemplo es el trabajo sobre la generación y visualización del complejo acetilcolinesterasa-tacrina para facilitar la comprensión estudiantil de conceptos como estructuras de las proteínas, interacciones proteína/ligando, fuerzas de interacción de los inhibidores enzimáticos²⁹, entre otros.

iii) Estudios para investigar el efecto sobre las propiedades catalíticas de las enzimas luego de mutaciones controladas: se ha encontrado que la quitosanasa BaCsn46A de *Bacillus amyloliquefaciens* posee buenas propiedades catalíticas para generar COS por hidrólisis de quitosano; ahora bien, la quitosanasa expresada tras una mutación por saturación mostró un aumento de alrededor de 120% en la actividad enzimática específica, y su estabilidad térmica resultó mucho mayor. Los estudios de acoplamiento molecular con el trímero AAA indicaron que el tipo de aminoácido en el sitio 196 afecta los enlaces de hidrógeno y que la disminución de los enlaces desfavorables con el sustrato resulta la principal causa de la mejora en las propiedades enzimáticas³⁰. Estos resultados permiten apreciar claramente el gran potencial del *docking* en estudios de ingeniería genética relacionados con mutaciones y con optimización de las actividades enzimáticas, entre otros.

Algunos ejemplos de aplicaciones que pueden encaminarse mediante estudios de docking con COS

A continuación, se presentan ejemplos de estudios de *docking* usando COS con el fin de obtener información preliminar para su potencial aplicación en áreas específicas:

a) Agricultura: se ha propuesto que la unión de los COS a lectinas del floema de algunas plantas puede ejercer un efecto importante en las respuestas de éstas a los patógenos, así como en la cicatrización de sus heridas²¹, entre otras. Tales hallazgos han impulsado el estudio de tales interacciones en búsqueda de posibles aplicaciones en sectores como el agrícola y el alimentario. Así, se ha encontrado que el trímero AAA, a 18 °C, posee una constante de unión con la lectina del floema de exudado de calabaza de $3,24 \times 10^5$, mayor a la del tetrámero AAAA ($1,26 \times 10^5$) y del pentámero AAAAA ($1,65 \times 10^5$), aunque apreciablemente menor que la del hexámero AAAAAA ($90,1 \times 10^5$), confirmando que esta constante es dependiente del GP y perfilando al hexámero como

un mejor candidato para estudios en la protección de plantas.

b) Medicina: aunque hasta la fecha no se ha comprobado que los seres humanos produzcan quitina de alto PM, estudios recientes han mostrado que poseen al menos dos quitinasas: la quitotriosidasa humana (HCHT por su nombre en inglés) y la quitinasa ácida de mamífero (AMCase), así como también ciertas proteínas similares a quitinasas (en inglés CLP). Estas enzimas se han asociado a algunas enfermedades y en la actualidad se consideran biomarcadores y dianas terapéuticas; se cree que juegan un papel importante en la respuesta antiparasitaria del sistema inmune innato de los seres humanos³¹. Entre las enfermedades con las que se han asociado están incluidos algunos desórdenes de almacenamiento lisosomal, sarcoidosis y enfermedades del sistema respiratorio tales como el asma, la obstrucción pulmonar crónica y la fibrosis idiopática crónica³². Afortunadamente, el creciente acceso digital a grandes bibliotecas de compuestos y fármacos comienza a permitir su cribado virtual, mediante *docking* frente a dianas moleculares, lo cual ha permitido identificar posibles fármacos como candidatos para enfermedades específicas. Adicionalmente, el acoplamiento inverso, que se basa en la búsqueda de dianas biológicas que puedan interactuar con sustancias específicas de interés, integrando datos estructurales de proteínas con información química, también permite obtener resultados prometedores, como en el caso revisado recientemente de las enfermedades parasitarias desatendidas³³.

Entre las aplicaciones propuestas en este campo para los COS se pueden mencionar la inhibición del crecimiento tumoral y la inflamación inducida por TH2 en el asma, así como su uso para el fortalecimiento óseo en la osteoporosis,

como vector para la administración de genes, agente antibacteriano, antifúngico, antipaludico o agente hemostático en apósitos para heridas³⁴. El uso de mezclas de COS bien definidos podría ayudar a comprender mejor los mecanismos relacionados con sus bioactividades en estas aplicaciones. Así, por ejemplo, se ha reportado que un pretratamiento con derivados per-acetilados de COS (en los cuales todos los grupos -OH y -NH₂ del COS han sido acetilados y que son denominados genéricamente como PACOS) inhibe notoriamente la muerte de células PC12 inducida por exposición a glutamato, de manera dosis dependiente y mostrando una baja citotoxicidad³⁵.

c) Separación y purificación de biomateriales: la N,N',N''-triacetilquitotriosa (AAA) ha sido utilizada para la modificación de Sepharosa con el fin favorecer la separación y purificación de proteínas del tipo lectinas³⁶.

Por otro lado, en la tabla 2 se presentan algunos de los estudios reportados sobre los COS trímeros. En ella se puede observar que también existe interés en su uso en áreas como la agricultura, la medicina, biomateriales, entre otras.

Como se puede apreciar de la resumida información mostrada en las subsecciones anteriores, existen numerosos frentes de trabajo que necesitan ser abordados interdisciplinariamente en el insurgente campo de los COS individuales. Estos incluyen desde sus métodos de preparación, los cuales comienzan a tener en consideración la sustentabilidad ambiental, incluyendo conceptos como economía circular y fábricas celulares, pasando por procesos de separación y caracterización que requieren de procedimientos y técnicas avanzadas, hasta llegar a la realización de estudios de aplicación en diferentes campos, como la medicina, la agricultura, la nutraceutica, el sector alimentario,

Tabla 2. Estudios relacionados con las bioactividades de los trímeros de GlcNAc y GlcN encontrados durante la revisión.

PA	Bioactividades observadas
DDD _r	<ul style="list-style-type: none"> - Ha mostrado una ligera actividad para favorecer la germinación y crecimiento posterior de semillas de trigo, aunque mucho menor que los hexámeros y heptámeros desacetilados³⁷. Ha sido separado de otros COS de diferentes tamaños por cromatografía de intercambio iónico³⁸. - Mostró cierta bioactividad para mejorar la tolerancia al estrés por el frío en plántulas de trigo; se propone que algunos COS modulan las actividades de las enzimas antioxidantes en las plántulas, las cuales desempeñan un papel clave en sus respuestas defensivas bajo estrés por frío³⁹. - La suplementación con quitotriosa favorece la actividad antitumoral del fármaco Doxorubicina⁴⁰.
DDA _r	- Como antioxidante por su capacidad para atrapar radicales hidroxilo y superóxido, mostrando una actividad algo mayor que el trímero DDD ⁴¹
DAD _r	- Su presencia ha sido reportada en la mezcla de acetilación de la quitotriosa, aunque no pudo ser separado de ésta ⁴¹ .
ADD _r	- Similarmente al isómero DAD, su presencia ha sido reportada en la mezcla de acetilación de la quitotriosa, aunque no pudo ser separado de ésta ⁴¹ .
DAA _r	<ul style="list-style-type: none"> - Comparado con la especie trímera DDD, ha mostrado una actividad notoria como agente para atrapar radicales hidroxilos y superóxidos⁴¹. - Resultó resistente a la hidrólisis con la lisozima⁴².
ADA _r	<ul style="list-style-type: none"> - Se ha observado su formación en proporciones apreciables dentro de la fracción de trímeros obtenidos durante la hidrólisis de quitosano (GD = 0,659) con quitinasas de <i>Serratia marcescens</i>, especialmente para altos valores de escisión⁴³. - Se ha encontrado que se une a la α-glicoproteína ácida y a la albúmina del suero humano²².
AAD _r	- Se ha mostrado que la lisozima puede hidrolizar este trímero por su extremo no reductor, pero no por su otro extremo, en contraste con el trímero AAA _r que puede ser hidrolizado por ambos extremos ⁴² .
AAA _r	<ul style="list-style-type: none"> - Se ha reportado su unión moderada ($K_b = 3,24 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ a 25 °C) a una lectina obtenida del exudado de calabazas⁴⁴. - Se une a la quitotriosidasa humana ($K_d = 9,9 \pm 0,8 \text{ mM} \rightarrow K_b = 1 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$), como algunos otros COS, lo cual podría potenciar la respuesta inflamatoria contra patógenos que contienen quitina mediante la liberación de COS inmunogénicos, actuando como un catalizador inmunitario que puede conducir al reclutamiento de agentes inmunitarios adicionales⁴⁵. - Ha sido utilizada en la modificación del adsorbente Sefarosa para la separación y purificación de proteínas del tipo lectinas³⁶.

etc. Frecuentemente, los estudios de COS con bioactividades potenciales pueden complementarse con métodos de simulación computacional. Por ello, en el presente trabajo se presentan los pasos necesarios para realizar un estudio preliminar de acoplamiento molecular de los COS trímeros con una de las proteínas presentes en el floema exudado del pepino (*Cucumis sativus*), la cual ha sido caracterizada como una lectina y se ha relacionado con mecanismos de defensa de estas plantas⁴⁶. Algunos de los resultados obtenidos son discutidos brevemente con relación a su potencialidad para ser aplicados en el área de protección de plantas y/o alimentos, para mostrar el soporte que pueden brindar estos estudios computacionales.

Procedimientos

Obtención de las estructuras de la proteína y los COS trímeros

La información sobre la lectina del floema de *Cucumis sativus* se obtuvo de la base de datos de acceso abierto *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>), en la cual aparece con el identificador PDB ID: 7sv6 para su forma nativa, con un PM reportado de 17 kDa. Sin embargo, debido a que se encontró un nuevo archivo que presenta mejoras en la resolución de la estructura tridimensional, código PDB ID 7YAQ (<https://files.rcsb.org/download/7YAQ.pdb>), se usó este último para todos los estudios de acoplamiento. Las estructuras de los trímeros DDD_r y AAA_r se obtuvieron mediante el programa Avogadro⁴⁷, usando los identificadores SMILES (*simplified molecular-input line-entry system*) obtenidos de la base de datos PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) para los compuestos codificados como CID 3086191 y CID 444514, respectivamente. Ambas estructuras fueron optimizadas con el mismo programa usando el campo de fuerza MMFF94 hasta minimizar su energía y se obtuvieron como archivos *.pdb. Las restantes seis estructuras trímeras se construyeron modificando la estructura bidimensional del trímero AAA_r en el sitio CB-Dock2 (solo para sustituir los grupos acetilos necesarios por hidrógeno –equivalente a una reacción de desacetilación– y dejando iguales el resto de las uniones) para obtener sus identificadores SMILES, con los cuales se procedió a construir y optimizar sus estructuras tridimensionales, como archivos *.pdb, usando igualmente el programa Avogadro. Se obtuvieron las energías de todas las estructuras optimizadas.

Estudios de acoplamiento

Se accede a la plataforma de CB-Dock2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/>) y se ejecutan los siguientes pasos: i) car-gar el archivo PDB correspondiente a la proteína y esperar que el programa indique que ha sido preparado para activar el estudio, ii) cargar el archivo del ligando que será evaluado y esperar su revisión por el programa, luego de lo cual se confirmar en el botón enviar, iii) iniciar la búsqueda de los sitios de unión de la proteína y el estudio de acoplamiento del ligando en dichos sitios. Al finalizar el proceso, se pueden analizar los resultados en el sitio; el programa también envía automáticamente los re-

sultados al correo electrónico indicado y un enlace que permite consultarlos en la plataforma durante un período de 48 horas. Cada uno de los estudios de acoplamiento se realizó por quintuplicado para mejorar el nivel de confianza de los valores de la energía de afinidad (con respecto a los de un solo experimento), recordando que en cada corrida el programa generará valores para el confórmero que haya logrado la mayor afinidad.

Resultados y discusión

Sitios de unión de la proteína

De acuerdo con la información obtenida del estudio de detección de cavidades en el sitio web de CB-Dock2, la lectina mostró 5 sitios de unión, cuyos volúmenes y coordenadas centrales son detallados en la tabla 2. Estos sitios se pueden apreciar de manera más gráfica en las vistas frontal y posterior de la lectina (figura 1a y 1b, respectivamente), donde el sustrato DDD_r, representado en color fucsia, se observa unido a cada uno de ellos. La identificación de varios sitios de unión en la lectina parece justificar lo que se ha mencionado en algunos estudios acerca de que estas proteínas cumplen varias funciones relacionadas con los mecanismos de defensa basados en el floema de la planta^{21,46,48} (PBD en inglés). Así mismo, este hallazgo apoyaría su consideración como una lectina con sitios de unión promiscuos debido a que puede interactuar con una intrigante variedad de carbohidratos⁴⁶.

Estudios de acoplamiento con los COS trímeros

Como se estableció anteriormente (tabla 1), el número de especies trímeras (DP = 3) distintas que son posibles para la combinación de GlcNAc (A) y GlcN (D) es $N_{DP} = 2^{DP} = 8$. En la tabla 3 se resume la información química y estructural obtenida para cada una de estas especies.

Por otro lado, los estudios de acoplamiento proteína/ligando realizados a través del sitio CB-Dock2 proporcionan un valor conocido como puntaje Vina (VS por *Vina Score*), el cual está relacionado con la energía libre de la unión del ligando al sitio o cavidad de unión, donde un valor Vina más negativo indica una mayor afinidad del ligando por dicho sitio^{49,50}. Este valor se obtiene en CB-Dock2 ejecutando el motor de acoplamiento molecular AutoDock Vina sobre los sitios de unión predichos para la proteína; combina términos de interacción (hidrofóbicos, de hidrógeno, electrostáticos, etc.) así como también penalizaciones conformacionales. La tabla 4 presenta los puntajes

Tabla 2. Cavidades de unión de la proteína PP2 del floema exudado de la *Cucumis sativus*, obtenidas mediante el estudio de determinación de cavidades realizado en el sitio CB-Dock2.

Sitio o cavidad	Volumen de la cavidad (Å ³)	Coordinadas del centro (x, y, z)
C1	109	3, 8, -5
C2	71	8, -8, -9
C3	58	20, 23, 4
C4	57	6, 11, -14
C5	55	16, 28, -5

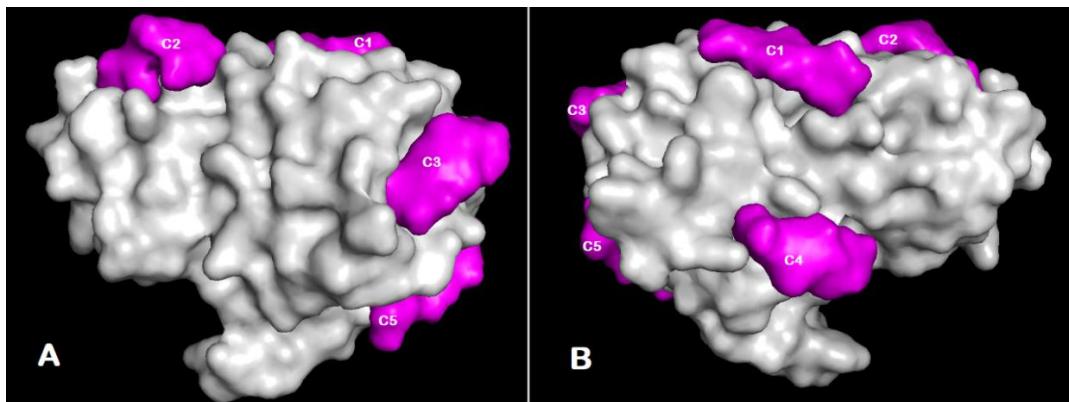


Fig. 1: Vista frontal (A) y posterior (B) de la ubicación de los sitios de unión en la lectina 7YAQ (color gris). Se muestra el ligando DDD_r unido a cada uno de los sitios (en color morado y con el número del sitio), lo que permite la observación conjunta de las cavidades. Resultados obtenidos en el sitio web de CB-Dock2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/>).

Tabla 3. Resumen de los datos y estructuras de los COS trímeros estudiados.

Trímero	PM (Da)	GA	Formula química e identificador Smiles	Energía* (kJ.mol ⁻¹)	Estructura 3D**
DDD _r	501,51	0,00	$\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_{13}$ <chem>C([C@H]1[C@H]([C@H]([C@H]([C@H](O1)O[C@H]2[C@H](O[C@H]([C@H]([C@H]2O)N)O[C@H]3[C@H](O[C@H]([C@H]([C@H]3O)N)O)CO)CO)N)O)O</chem>	1190	
DDA _r	543,55	0,33	$\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_{14}$ <chem>CC(=O)N[C@H]3[C@H](O)O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]2O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]1O[C@H](CO)[C@H](O[C@H](O[C@H]1N)[C@H](O)[C@H]2N)C@H]3O</chem>	1075	
DAD _r	543,55	0,33	$\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_{14}$ <chem>CC(=O)N[C@H]2[C@H](O)[C@H](O[C@H]1O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]1O[C@H](N)[C@H](O)[C@H]3CO)O[C@H]2O[C@H]3[C@H](O)C@H](N)[C@H](O)[C@H]3CO</chem>	1159	
ADD _r	543,55	0,33	$\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_{14}$ <chem>CC(=O)N[C@H]1[C@H](O)[C@H](O[C@H](CO)[C@H]1O[C@H]3[C@H](O)[C@H](N)[C@H](O)[C@H]2CO)O[C@H]3CO</chem>	1152	
DAA _r	585,59	0,67	$\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{15}$ <chem>CC(=O)N[C@H]3[C@H](O)O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]2O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]1O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]1N)[C@H](O)[C@H]2NC(C)=O)C@H]3</chem>	856	
ADA _r	585,59	0,67	$\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{15}$ <chem>CC(=O)N[C@H]3[C@H](O)O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]2O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]1O[C@H](CO)[C@H](O[C@H]1NC(C)=O)[C@H](O)[C@H]2N)C@H]3O</chem>	1002	
AAD _r	585,59	0,67	$\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{15}$ <chem>CC(=O)N[C@H]1[C@H](O)[C@H](O)[C@H](CO)[C@H](O[C@H]1O[C@H]2[C@H](O)[C@H](N)[C@H](O)[C@H]2CO)O[C@H]3CO</chem>	994	
AAA _r	627,63	1,00	$\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{16}$ <chem>CC(=O)N[C@H]1[C@H](O[C@H]([C@H](O[C@H](O[C@H]1O)CO)O[C@H]2[C@H](O[C@H]([C@H](O[C@H]([C@H](O[C@H](O2)CO)O[C@H]3[C@H](O[C@H]([C@H](O[C@H](O3)CO)O)O)NC(=O)C)O)N(C(=O)C)O</chem>	819	

* Energía potencial de los trímeros calculadas con el programa Avogadro luego de optimizada su geometría.

** Obtenidas con el programa Avogadro luego de optimizada la geometría de los trímeros.

Tabla 4. Resumen de los valores de VS obtenidos en los estudios de acoplamiento molecular de los trímeros estudiados con los sitios de unión de la lectina (PP2) del floema de *Cucumis sativus*.

Sitio o cavidad	Puntaje Vina (Vina score) (kcal.mol ⁻¹)							
	AAA _r	DAA _r	ADA _r	AAD _r	DDA _r	DAD _r	ADD _r	DDD _r
C1	-5,5 ± 0,1	-5,5 ± 0,2	-5,5 ± 0,2	-5,4 ± 0,1	-5,5 ± 0,2	-5,2 ± 0,1	-5,1 ± 0,2	-5,1 ± 0,2
C2	-5,0 ± 0,2	-5,1 ± 0,3	-5,1 ± 0,3	-4,9 ± 0,1	-5,4 ± 0,4	-5,0 ± 0,1	-4,9 ± 0,2	-5,2 ± 0,2
C3	-5,9 ± 0,2	-5,7 ± 0,3	-5,8 ± 0,1	-5,7 ± 0,1	-5,9 ± 0,3	-5,5 ± 0,1	-5,6 ± 0,1	-5,6 ± 0,3
C4	-5,7 ± 0,3	-5,8 ± 0,5	-5,8 ± 0,2	-5,4 ± 0,2	-5,7 ± 0,3	-5,4 ± 0,1	-5,4 ± 0,1	-5,3 ± 0,2
C5	-5,7 ± 0,1	-5,5 ± 0,1	-5,6 ± 0,2	-5,4 ± 0,2	-6,0 ± 0,2	-5,7 ± 0,1	-5,3 ± 0,4	-5,7 ± 0,2

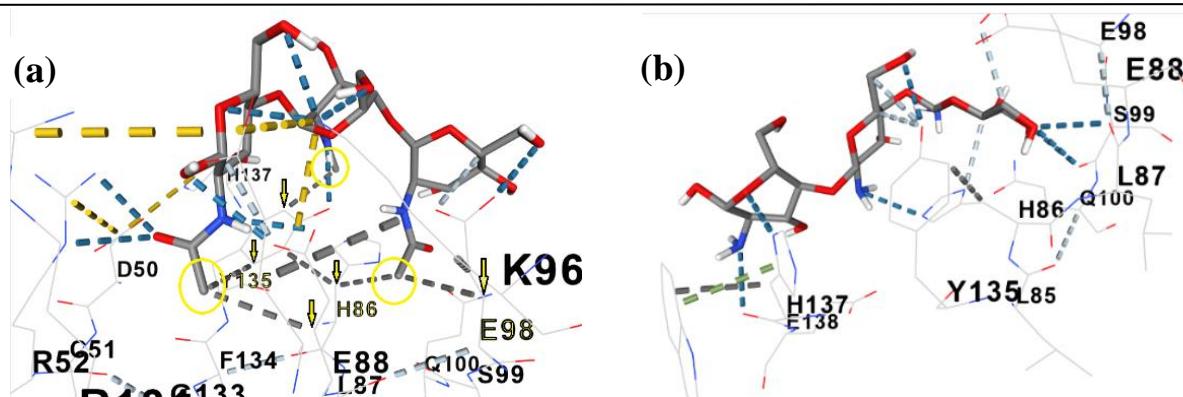


Fig. 2: Interacciones de la lectina 1YAQ en el sitio C1 con: a) el trímero AAA_r (las flechas amarillas muestran las interacciones hidrofóbicas de los grupos metilos mostrados en círculos amarillos), b) el trímero DDD_r. Resultados obtenidos en el sitio web CB-Dock2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/>).

Vina obtenidos durante el acoplamiento de los trímeros estudiados (ligandos) con cada uno de los sitios encontrados para la lectina.

De la tabla 4 se obtiene información relevante sobre la afinidad de los trímeros por cada uno de los sitios de unión de la proteína. Entre los hallazgos más evidentes, sin pretender hacer una evaluación exhaustiva por no ser el objetivo del trabajo, se pueden destacar los siguientes:

- Los trímeros AAA_r y DDD_r mostraron una energía de afinidad ligeramente diferente (pero estadísticamente significativa) por el sitio C1, observándose una afinidad mayor para AAA_r que para DDD_r (VS = $-5,5 \pm 0,1$ y $-5,1 \pm 0,2$ kcal.mol⁻¹, respectivamente). Debido al carácter más hidrofóbico del trímero AAA_r, este resultado sugiere que las interacciones hidrofóbicas en el sitio C1 podrían ejercer una contribución importante en la afinidad de unión, aunque el valor de VS para AAA_r está algo alejado de un valor experimental reportado para el complejo AAA-lectina de *Cucumis sativus* ($\Delta G_b = -6,88$ kcal.mol⁻¹)⁵¹. Por otro lado, a pesar de que C1 es el sitio con mayor volumen (109 Å³), teniendo por ello posibilidades de unir cada uno de estos trímeros (por separado) mediante distintos tipos de interacciones, los valores de VS obtenidos indicarían que las interacciones hidrofóbicas definen la afinidad de este sitio. Los análisis de las interacciones predichas para los trímeros AAA_r y DDD_r con los residuos en C1 apoyan esta proposición, como puede observarse para AAA_r en la figura 2a, donde se señalan con flechas amarillas cinco interacciones hidrofóbicas de los tres grupos metilos con distintos residuos (dos con Y135, una con E98, una con E88 y una con H86), las cuales no son posibles para DDD_r (figura 2b) al carecer de grupos metilos. Un punto importante es el hecho de que en C1 los trímeros más acetilados mostraron valores de VS ligeramente más negativos que aquellos menos acetilados, con excepción de DDA_r, lo que confirmaría la influencia de las interacciones hidrofóbicas en este sitio.
- De los sitios de unión encontrados para la lectina, el C2 mostró la menor afinidad para prácticamente todos los trí-

meros, lo cual no parece estar relacionado con su volumen debido a que ocupa el segundo lugar en tamaño. En este sitio se obtuvieron valores de VS muy similares para todos los trímero, obteniéndose también los menores valores de afinidad observados (VS = $-4,9$ kcal.mol⁻¹ para AAD_r, ADD_r) entre todos los trímeros y en todos los sitios. En lo que respecta a su mayor afinidad, ésta fue para DDA_r (VS = $-5,4 \pm 0,4$ kcal.mol⁻¹). Este hecho parece apuntar a que este sitio poseería menor hidrofobicidad que el sitio C1 y que todos los demás sitios.

- En términos generales se puede indicar que los trímeros más acetilados poseen valores de VS ligeramente más negativos que los menos acetilados para casi todos los sitios de la lectina, excepto para C5. En este último sitio, el trímero DDD_r logró su valor de VS más negativo ($-5,7 \pm 0,2$ kcal.mol⁻¹), sugiriendo así un modo de unión distinto al de los sitios C1, C2 y C4, pero probablemente similar al del sitio C3 (VS = $5,6 \pm 0,3$ kcal.mol⁻¹). Sin embargo, para corroborarlo, es necesario profundizar en el estudio de las interacciones de este trímero con los diversos residuos en cada sitio de la lectina.

Estudios de acoplamiento molecular como sondeos preliminares en posibles aplicaciones de los COS con GP = 3

En relación con potenciales aplicaciones de estos trímeros en el área de la agricultura, los resultados obtenidos no parecen perfilar claramente alguno de ellos, como candidato sobresaliente sobre el resto, para la inhibición de los sitios de la enzima estudiada, aun cuando se podría generalizar indicando que los trímeros más acetilados ofrecen mejores perspectivas al poseer afinidades ligeramente más altas por la mayoría de sus sitios. A pesar de esto, el trímero DDA_r, que resultó ser la excepción a la menor afinidad de los trímeros menos acetilados por el sitio C1, que obtuvo el valor de VS más negativo ($-5,4 \pm 0,4$ kcal.mol⁻¹) en el sitio con la menor afinidad general (C2) y que, además, logró el valor de afinidad de unión más alto de todos los trímeros para cualquier sitio de la enzima (VS = $-6,0 \pm 0,2$ kcal.mol⁻¹ para C5), debería ser el primer candidato de ensayo, entre estas especies, como inhibidor de la lectina estudiada. Claramente, es necesario obtener información adicional sobre

el papel de ésta en los mecanismos PPD de las plantas o en sus frutos.

Por ello, en el caso de demostrarse la participación de esta lectina en los mecanismos de defensa en los frutos de esta planta, estos resultados dejarían abierta la puerta para investigar los efectos del trímero DDA, como un potencial preservante de alimentos, como, por ejemplo, preservante de ensaladas que contengan pepinos cortados. Obviamente, dichas investigaciones deberían incluir ensayos sobre las dosis necesarias para tales fines, sus efectos organolépticos y, muy importante, sus posibles efectos en los consumidores.

Conclusiones

El estudio de los oligómeros de quitina y quitosano, actualmente definidos en la literatura especializada como quitoooligosacáridos o COS, ha comenzado a revelarse como un área de intensa actividad debido a los beneficios que pudieran derivarse de desarrollos exitosos de sus aplicaciones. Las posibilidades de investigación en estos materiales incluyen su producción por métodos físicos, químicos y biológicos (y/o sus combinaciones), su separación y caracterización, aprovechando los nuevos desarrollos de técnicas cada vez más novedosas y poderosas, y su aplicación en diversos campos como la medicina, agricultura, alimentos, entre otros. Así, estos estudios pueden ser considerados ahora como parte de un campo interdisciplinario independiente, o tal vez complementario, al de sus progenitores, donde la simulación computacional también tiene mucho que aportar, especialmente debido a que algunos avances recientes, como la inteligencia artificial, vienen permitiendo mayores niveles de accesibilidad mediante artilugios informáticos. Los resultados obtenidos del sencillo estudio de acoplamiento molecular mostrado en este trabajo permiten apreciar claramente la potencialidad que tienen estas técnicas, cada vez más novedosas, para vislumbrar aplicaciones de un ligando, o una enzima, en áreas que *a priori* resultarían difíciles de considerar. En el caso específico de los quitoooligosacáridos trímeros se ha perfilado el trímero ADD, como la especie con mejores perspectivas para ensayos en algunas aplicaciones agrícolas relacionadas con la lectina de *Cucumis sativus* estudiada.

Referencias

1. BT Iber, NA Kasan, D Torsabo, JW Omuwa. A review of various sources of chitin and chitosan in nature. **J. Renewable Materials**, **10(4)**, 1097–1123 (2022). <https://doi.org/10.32604/jrm.2022.018142>
2. C Lárez-Velásquez. Chitosan: An overview of its multiple advantages for creating sustainable development poles. **Polímeros**, **33(1)**, e20230005 (2023). <https://doi.org/10.1590/0104-1428.20220103>
3. GG Allan, LC Altman, RE Bensinger, DK Ghosh, Y Hirabayashi, AN Neogi *et al.* Biomedical applications of chitin and chitosan. En: *Chitin, chitosan, and related enzymes*. Ed. JP Zikakis, pp. 119–133, Academic Press. (1984). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-780950-2.50013-7>
4. N Míguez, P Kidibule, M Minguet-Lobato, H Soto, E Jiménez, P Santos-Moriano *et al.* Estrategias para la producción enzimática de diferentes tipos de quitoooligosacáridos a partir de quitina y quitosano. XXVIII Congreso Nacional de Microbiología, España, 28 de junio a 2 de julio de 2021, formato virtual. <https://digital.csic.es/handle/10261/248868>
5. C Lárez-Velásquez, F López. Chito-oligosaccharides: A mini-review on sources, production, and agricultural applications. **Adv. Modern Agriculture**, **5(3)**, 2730 (2024). <https://doi.org/10.54517/ama.v5i3.2730>
6. M Panza, SG Pistorio, KJ Stine, AV Demchenko. Automated chemical oligosaccharide synthesis: novel approach to traditional challenges. **Chemical Reviews**, **118(17)**, 8105-8150 (2018). <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00051>
7. SN Das, J Madhuprakash, PV Sarma, P Purushotham, K Suma *et al.* Biotechnological approaches for field applications of chito-oligosaccharides (COS) to induce innate immunity in plants. **Critical Reviews in Biotechnology**, **35(1)**, 29–43 (2015). <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.798255>
8. Z Mészáros, N Kulik, L Petrásková, P Bojarová, M Texidó, AK Planas *et al.* Three-step enzymatic remodeling of chitin into bioactive chitoooligomers. **J. Agric. Food Chem.**, **72(28)**, 15613-15623 (2024). <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c03077>
9. M Abla, C Ladavière, S Trombotto. Impact of HILIC amino-based column equilibration conditions on the analysis of chitoooligosaccharides. **Chromatographia**, **85(1)**, 55–63 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10337-021-04109-9>
10. S Cord-Landwehr, P Ihmor, A Niehues, H Luftmann, BM Moerschbacher, M Mormann. Quantitative mass-spectrometric sequencing of chitosan oligomers revealing cleavage sites of chitosan hydrolases. **Analytical Chemistry**, **89(5)**, 2893–2900 (2017). <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04183>
11. C Castañeda-Ramírez, NM de la Fuente-Salcido, RP Cano, T Ortiz-Rodríguez, JE Corona. Potencial de los quitoooligosacáridos generados de quitina y quitosana. **Acta Universitaria**, **21(3)**, 14-23 (2011). <https://www.actauniversitaria.ugto.mx/index.php/acta/article/view/16/pdf>
12. LE Ibáñez, MS Puig, F Lorenzo, R Bertó, FJ Gavilá. Revalorización de quito-oligosacáridos obtenidos a partir de subproductos de la industria pesquera como antimicrobianos naturales. **Nereis**, **(13)**, 173-186 (2021). <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8171760.pdf>
13. PaCosValor. Producción biotecnológica de oligosacáridos de quitosano con estructura definida como inmunoestimulantes. <https://iqs.edu.es/investigacion/proyectos-investigacion/pacosvalor-produccion-biotecnologica-de-oligosacaridos-de-quitosano-con-estructura-definida-como-inmunoestimulantes/>
14. Húmico. Explorando el potencial de uso de los oligosacáridos de quitosano. <https://es.ihumico.com/chitosan-oligosaccharide-uses/>
15. Chitosanlab. Venta de COS para agricultura y para alimentos. <https://chitosanlab.com/es/oligomeros-de-quitosano/>
16. S Basa, M Nampally, T Honorato, SN Das, AR Podile, NE El Gueddari *et al.* The pattern of acetylation defines the priming ac-

- tivity of chitosan tetramers. **J. Am. Chem. Soc.**, **142**(4), 1975–1986 (2020). <https://doi.org/10.1021/jacs.9b11466>
17. C Zhu, M Zhao, L Fan, X Cao, Q Xia, J Zhou *et al.* Chitopentaose inhibits hepatocellular carcinoma by inducing mitochondrial mediated apoptosis and suppressing protective autophagy. **Biore-sources and Bioprocessing**, **8**(1), 12 pages (2021). <https://doi.org/10.1186/s40643-020-00358-y>
18. KC Li, XQ Zhang, Yu Yu, RE Xing, S Liu, S., PC Li. Effect of chitin and chitosan hexamers on growth and photosynthetic characteristics of wheat seedlings. **Photosynthetica**, **58**(3), 819–826 (2020). <https://doi.org/10.32615/ps.2020.027>
19. X Zhang, K Li, R Xing, S Liu, P Li. Metabolite profiling of wheat seedlings induced by chitosan: revelation of the enhanced carbon and nitrogen metabolism. **Front. Plant Sci.**, **8**, 13 pages (2017). <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02017>
20. KB Bobbili, B Singh, A Narahari, G Bulusu, A Surolia, MJ Swamy. Chitooligosaccharide binding to CIA17 (*Coccinia indica agglutinin*): Thermodynamic characterization and formation of higher order complexes. **Int. J. Biol. Macromol.**, **137**, 774–782 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.211>
21. MJ Swamy, KB Bobbili, S Mondal, A Narahari, D Datta. Cucurbitaceae phloem exudate lectins: Purification, molecular characterization, and carbohydrate binding characteristics. **Phytochemistry**, **201**, 113251 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113251>
22. G Lambrinidis, T Vallianatou, A Tsantili-Kakoulidou. In vitro, in silico and integrated strategies for the estimation of plasma protein binding: A review. **Adv. Drug Delivery Reviews**, **86**, 27–45 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.02.005>
23. DL Roman, M Roman, C Som, M Schmutz, E Hernandez, P Wick *et al.* Computational assessment of the pharmacological profiles of degradation products of chitosan. **Front. Bioeng. Biotechnol.**, **7**, 214 (2019). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00214>
24. DL Roman, V Ostafe, A Isvoran. Computational assessment of chito-oligosaccharides interactions with plasma proteins. **Marine Drugs**, **19**(3), 120 (2021). <https://doi.org/10.3390/md19030120>
25. FD Prieto-Martínez, M Arciniega, JL Medina-Franco. Acoplamiento Molecular: Avances Recientes y Retos. **TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, **21**, 65–87 (2018). <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143>
26. C Yang, EA Chen, Y Zhang. Protein–ligand docking in the machine-learning era. **Molecules**, **27**(14), 4568 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27144568>
27. PC Agu, CA Afiukwa, OU Orji, EM Ezech, IH Ofoke, CO Ogbu *et al.* Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. **Scientific Reports**, **13**(1), 13398 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>
28. ES Istifli. Introductory chapter: Molecular docking—The transition from the micro nature of small molecules to the macro world. En: *Molecular Docking—Recent Advances*. IntechOpen (2023). <https://doi.org/10.5772/intechopen.106750>
29. A Rudnitskaya, B Török, M Török. Molecular docking of enzyme inhibitors: A computational tool for structure-based drug design. **Biochem. Mol. Biol. Educ.**, **38**(4), 261–265 (2010). <https://doi.org/10.1002/bmb.20392>
30. G Jing, W Gao, Y Wang, K Xu, W Luo, T Hong *et al.* Enhancing enzyme activity and thermostability of *Bacillus amyloliquefaciens* chitosanase BaCsn46A through saturation mutagenesis at Ser196. **Current Microbiology**, **80**(5), 180 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03281-5>
31. LW Stockinger, KB Eide, AL Dybvik, H Sletta, KM Vårum, VG Eijsink *et al.* The effect of the carbohydrate binding module on substrate degradation by the human chitotriosidase. **Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics**, **1854**(10), 1494–1501 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2015.06.008>
32. Ö Kurç, N Rähse, H Gohlke, J Cramer. Human chitinases and chitinase-like proteins as emerging drug targets—a medicinal chemistry perspective. **RSC Medicinal Chemistry**, **16**(6), 2388–2402 (2025). <https://doi.org/10.1039/D4MD01050G>
33. RM de Angelo, LA Nascimento, JP Encide, H Barbosa, JH Lago, F da Silva Emery *et al.* Advances and Challenges in Molecular Docking Applied to Neglected Tropical Diseases. **Current Medicinal Chemistry**, **32**(28), 5939–5959 (2025). <https://doi.org/10.2174/0109298673327352240930040103>
34. BB Aam, EB Heggset, AL Norberg, M Sørlie, KM Vårum, VG Eijsink. Production of chitooligosaccharides and their potential applications in medicine. **Marine Drugs**, **8**(5), 1482–1517 (2010). <https://doi.org/10.3390/md8051482>
35. C Hao, L Gao, Y Zhang, W Wang, G Yu, H Guan *et al.* Acetylated chitosan oligosaccharides act as antagonists against glutamate-induced PC12 cell death via Bcl-2/Bax signal pathway. **Marine Drugs**, **13**(3), 1267–1289 (2015). <https://doi.org/10.3390/med13031267>
36. NN Desai, AK Allen. The purification of potato lectin by affinity chromatography on an N,N',N"-triacetylchitotriose-Sepharose matrix. **Analytical Biochemistry**, **93**(1), 88–90 (1979). [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(79\)80120-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(79)80120-7)
37. X Zhang, K Li, S Liu, R Xing, H Yu, X Chen, P Li. Size effects of chitooligomers on the growth and photosynthetic characteristics of wheat seedlings. **Carbohydrate Polymers**, **138**, 27–33 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.050>
38. KC Li, S Liu, RE Xing, HH Yu, Y Qin, RF Li *et al.* High-resolution separation of homogeneous chitooligomers series from 2-mers to 7-mers by ion-exchange chromatography. **Journal of Separation Science**, **36**(8), 1275–1282 (2013). <https://doi.org/10.1002/jssc.201201038>
39. P Zou, X Tian, B Dong, C Zhang. Size effects of chitooligomers with certain degrees of polymerization on the chilling tolerance of wheat seedlings. **Carbohydrate Polymers**, **160**, 194–202 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.12.058>
40. H Li, K Ji, P Liu, Y Geng, J Gong, C Zhang *et al.* Chitotriose Enhanced Antitumor Activity of Doxorubicin through Egr1 Up-regulation in MDA-MB-231 Cells. **Marine Drugs**, **22**, 26 (2024). <https://doi.org/10.3390/md22010026>
41. K Li, S Liu, R Xing, Y Qin, P Li. Preparation, characterization and antioxidant activity of two partially N-acetylated chito-triose.

-
- Carbohydrate Polymers, 92(2)**, 1730–1736 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.038>
42. KI Amano, E Ito. The action of lysozyme on partially deacetylated chitin. **Eur. J. Biochemistry**, **85(1)**, 97–104 (1978). <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1978.tb12216.x>
43. SJ Horn, M Sørlie, G Vaaje-Kolstad, AL Norberg, B Synstad, KM Vårum *et al.* Comparative studies of chitinases A, B and C from *Serratia marcescens*. **Biocatalysis and Biotransformation**, **24(1–2)**, 39–53 (2006). <https://doi.org/10.1080/10242420500518482>
44. A Narahari, H Singla, PK Nareddy, G Bulusu, A Surolia, MJ Swamy. Isothermal titration calorimetric and computational studies on the binding of chitooligosaccharides to pumpkin (*Cucurbita maxima*) phloem exudate lectin. **J. Phys. Chem., B** **115(14)**, 4110–4117 (2011). <https://doi.org/10.1021/jp110468n>
45. O Crasson, G Courtade, RR Léonard, FL Aachmann, F Legrand, R Parente *et al.* Human chitotriosidase: catalytic domain or carbohydrate binding module, who's leading HCHT's biological function. **Scientific Reports**, **7(1)**, 2768 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02382-z>
46. KB Bobbili, N Sivaji, B Priya, K Suguna, A Surolia. Structure and interactions of the phloem lectin (phloem protein 2) Cus17 from *Cucumis sativus*. **Structure**, **31(4)**, 464–479 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.str.2023.02.008>
47. Avogadro: an open-source molecular builder and visualization tool. Version 1.2.0. <http://avogadro.cc/>
48. VJ Osterne, KS Nascimento, BS Cavada, EJ Van Damme. The future of plant lectinology: Advanced technologies and computational tools. **BBA Advances**, **7**, 100145 (2025). <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2025.100145>
49. Y Liu, X Yang, J Gan, S Chen, ZX Xiao, Y Cao. CB-Dock2: improved protein–ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting. **Nucleic Acids Res.**, **50(W1)**, W159–W164 (2022). <https://doi.org/10.1093/nar/gkac394>
50. Y Liu, Y Cao. Protein–Ligand Blind Docking Using CB-Dock2. En: *Computational Drug Discovery and Design. Methods in Molecular Biology*, Vol 2714, Eds. M Gore, M. y UB Jagtap. Humana, New York, USA, (2024). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3441-7_6
51. PK Nareddy, KB Bobbili, MJ Swamy. Purification, physico-chemical characterization and thermodynamics of chitooligosaccharide binding to cucumber (*Cucumis sativus*) phloem lectin. **Int. J. Biol. Macromol.**, **95**, 910–919 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.078>