

**SÍNTESIS DE DERIVADOS INDÓLICOS Y ESTUDIO DE LOS ÍNDICES
LOCALES DE REACTIVIDAD FUKUI**

NANCY MONTES VALENCIA



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
SEDE MEDELLÍN
2009**

**SÍNTESIS DE DERIVADOS INDÓLICOS Y ESTUDIO DE LOS ÍNDICES
LOCALES DE REACTIVIDAD FUKUI**

NANCY MONTES VALENCIA

Tesis presentada como requisito final para optar al título de
Magíster en Ciencias-Química

Directora

ANGELINA HORMAZA ANAGUANO, Ph. D
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA-SEDE MEDELLÍN
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
SEDE MEDELLÍN
2009

DEDICATORIA

A Dios, porque me sustentó, me dio las fuerzas, el valor y el amor para avanzar en esta etapa de mi vida.

A mi abuela, por el ejemplo de vida, por su cariño y todos los momentos compartidos, siempre te llevaré en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora, Angelina Hormaza por su asesoría, orientación y tiempo dedicado durante la realización de este trabajo.

Al Docente Jairo Quijano Tobón, por su valiosa colaboración, apoyo, servicio e interés en este proyecto, además de poner a disposición el laboratorio de fisicoquímica orgánica para el estudio computacional. A Juliana Murillo estudiante de ingeniería biológica e integrante del grupo de Investigación en Fisicoquímica orgánica, por su oportuna ayuda.

A la docente Claudia Janeth Sánchez, por su asesoría y colaboración prestada.

A Oscar Felipe Arbelaez, por su amistad, paciencia y compañía.

A mi amiga, hermana y compañera de maestría Sandra Borja por su amistad, respaldo y confianza.

A todos los integrantes del Grupo de investigación en Síntesis y Reactividad de Compuestos Orgánicos, SYRCOR, especialmente a la profesora Cristina Valencia y al estudiante Edgar Suárez García, por su apoyo durante la realización de este trabajo.

Al Laboratorio de alimentos, cuyo director es Benjamín Rojano, por permitirme usar los equipos de separación y a Paula Galeano por su colaboración y ayuda.

También al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, por los servicios prestados en la toma de los espectros para la caracterización de los compuestos.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABLAS	viii
RESUMEN	9
SUMMARY	11
1. INTRODUCCIÓN	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo General	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
4. MARCO TEÓRICO	18
4.1 Generalidades del indol	18
4.2 Compuestos indólicos aplicados a nivel medicinal	19
4.3 Condensación aldólica	21
4.4 Reacciones concertadas	23
4.4.1 Reacción de electrociclación	24
4.4.2 Reacciones sigmatrópicas	25
4.5 Estados de transición	27
4.6 Índices locales de reactividad fukui	29
4.7 Estado del arte	33
5.0 METODOLOGÍA	38
5.1 Primera etapa: síntesis de los compuestos 15a-b y 16	40
5.1.1 Obtención de las chalconas indólicas 15a-b	40
5.1.2 Síntesis del derivado indólico 16	41
5.1.3 Caracterización espectroscópica	42
5.2.1 Cálculo de las propiedades termodinámicas y estados de transición	43
5.2.2 Cálculo de los índices locales de reactividad Fukui	43
6.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
6.1 Síntesis de los productos 15a-b y 16	45

6.1.1	Síntesis de las chalconas indólicas 15a-b	45
6.1.2	Síntesis del derivado indólico 16	46
6.2	Mecanismo y caracterización de las moléculas sintetizadas 15a-b y 16	47
6.2.1	Mecanismo y caracterización de las chalconas indólicas 15a-b	47
6.2.2	Mecanismo y caracterización del derivado indólico 16	56
6.3	Cálculos computacionales	63
6.3.1	Propiedades termodinámicas ΔH , ΔS , ΔG y constantes de equilibrio	63
6.3.2	Propiedades geométricas	65
6.3.3	Propiedades electrónicas: cargas de Mulliken	67
6.3.4	Propiedades cinéticas: Constantes de velocidad k (349K)	68
6.3.5	Análisis de los índices locales de reactividad Fukui	70
7.0	CONCLUSIONES	73
8.0	RECOMENDACIONES	75
9.0	BIBLIOGRAFÍA	76
	Anexo 1: Prueba biológica realizada al compuesto 16	82

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Molécula del indol	18
Figura 2	Estructuras resonantes del indol	18
Figura 3	Sustitución electrofílica del indol	19
Figura 4	Estructuras del triptófano y de la serotonina	19
Figura 5	Estructura de la melatonina	20
Figura 6	Estructuras de los fármacos indometacina y tenidap	20
Figura 7	Estructuras de la moléculas psilocin e indol-3-carboxaldehído	21
Figura 8	Condensación aldólica cruzada	21
Figura 9	Reacción general de la condensación de Claisen-Schmidt	22
Figura 10	Mecanismo general de la condensación de Claisen-Schmidt para la formación de los compuestos carbonílicos α,β -insaturados	23
Figura 11	Electrociclación del 1,3-butadieno	24
Figura 12	Proceso (a) conrotatorio térmico y (b) disrotatorio fotoquímico en la electrociclación del 1,3-butadieno	25
Figura 13	Estado de transición para la formación del ciclobuteno	25
Figura 14	Ejemplo de rearreglo sigmatrópico de hidrógeno (1,3)	26
Figura 15	Estereroquímica de una transposición de orden (1,3) antarafacial	26
Figura 16	Perfil de energía potencial para una reacción exotérmica en un solo paso	28
Figura 17	Especie química que reacciona con un nucleófilo	31
Figura 18	Especie química que reacciona con un electrófilo	31
Figura 19	Síntesis de derivados indólicos 3a-k	34
Figura 20	Síntesis de las chalconas indólicas 6a-e a partir del 3-acetoindol y aldehídos aromáticos	35
Figura 21	Condensación entre el indol-3-carboxaldehído con anilina y <i>p</i> -aminobenzoato	36
Figura 22	Síntesis de la dipopazina (13)	37
Figura 23	Obtención de las chalconas indólicas 15a-b	40
Figura 24	Obtención del derivado indólico 16	42
Figura 25	Mecanismo para la formación de los compuestos 15a-b	48
Figura 26	Espectro de ^1H -RMN del producto 15a	49
Figura 27	Expansión de la región aromática de ^1H -RMN para la chalcona 15a	50
Figura 28	Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 15a	51

Figura 29	Espectro de masas para el producto 15a	52
Figura 30	Fragmentación sugerida para el producto 15a	53
Figura 31	Espectro general de ¹ H-RMN para el compuesto 15b	54
Figura 32	Expansión de la región aromática de ¹ H-RMN para el producto 15b	55
Figura 33	Espectro de ¹³ C-RMN del compuesto 15b	56
Figura 34	Mecanismo propuesto para la formación del producto 16	57
Figura 35	Espectro general de ¹ H-RMN para el compuesto 16	58
Figura 36	Región alifática expandida para el producto 16	59
Figura 37	Región aromática expandida para el derivado indólico 16	60
Figura 38	Espectro de ¹³ C- RMN para el producto 16	61
Figura 39	Espectro de masas para el producto 16	62
Figura 40	Fragmentación sugerida para el producto 16	62
Figura 41	Etapas de electrociclación para formar los productos 16a-c	63
Figura 42	Etapas de formación de las chalconas indólicas	64
Figura 43	Distancias de enlace en el fragmento C1-C4 para un estado de transición sugerido en los compuestos 15a-c	65
Figura 44	Estructuras de los estados de transición correspondientes a la electrociclación de las chalconas indólicas 15a-c	68
Figura 45	Etapas para formar el producto 16	69
Figura 46	Estructura de las cetonas α,β -insaturadas	71

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Actividades antiproliferativas del 2-fenilindol-3-carboxaldehído sustituido 1a-b y algunos de sus derivados	Pag. 34
Tabla 2.	Sustituyentes, rendimiento y actividad antiinflamatoria de las chalconas 6a-e sintetizadas	35
Tabla 3.	Datos experimentales de los compuestos 15a-b y 16	46
Tabla 4.	Propiedades termodinámicas y constantes de equilibrio para los compuestos 15a-c , calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d)	64
Tabla 5.	Distancias de enlace, Å, de las chalconas 15a-c en el estado fundamental y en el estado de transición, calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d)	66
Tabla 6.	Cargas de Mulliken en los carbonos C1-C4 de los compuestos 15a-c	67
Tabla 7.	Parámetros de activación y constantes de velocidad en el proceso de formación del producto 16 , calculadas al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d)	69
Tabla 8.	Indices de Fukui donadores f_x^- y aceptores f_x^+ en las moléculas 15a-c y 18 , al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d)	72

RESUMEN

En este trabajo se buscó correlacionar los resultados experimentales con un soporte teórico a través de la realización de cálculos computacionales, específicamente, la síntesis de compuestos derivados del indol con el estudio de los índices locales de reactividad Fukui para predecir los sitios más reactivos y la influencia de diferentes sustituyentes sobre dicha reactividad. Además, se realizó el análisis de las propiedades termodinámicas, se calcularon los estados de transición involucrados y las distancias de enlace que apoyan el mecanismo propuesto para la formación del compuesto inesperado **16**.

Los compuestos sintetizados, cetonas aromáticas α,β -insaturadas **15a-b**, conocidas comúnmente como chalconas se obtuvieron por medio de la condensación de Claisen-Schmidt a partir del indol-3-carboxaldehído y cetonas aromáticas *p*-sustituidas. Un tercer compuesto **16**, generado de forma imprevista se explica como resultado de una posterior electrociclación de la chalcona indólica esperada **15c**.

Las mejores condiciones de reacción encontradas para llevar a cabo la condensación de Claisen-Schmidt involucraron un medio básico, reflujo a temperatura aproximada de 75°C, agitación magnética constante y tiempo promedio de reacción de 14 horas. La separación y purificación se efectuó a través de cromatografía preparativa para los productos **15a-b** y por medio de una columna cromatográfica para el compuesto **16**.

La caracterización espectroscópica de los compuestos **15a-b** y **16** fue alcanzada a través de técnicas como la resonancia magnética nuclear (^1H - y ^{13}C -RMN) y cromatografía de gases acoplada a masas.

Con respecto al estudio teórico, los cálculos se realizaron al nivel de teoría Semiempírico AM1 utilizando el paquete computacional Spartan-Pro para el análisis conformacional de reactivos, estados de transición y productos. Para

sus posteriores optimizaciones se empleó el programa Gaussian 98 al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d). Para el cálculo de los índices locales de reactividad Fukui, se implementó el software diseñado por el Doctor Eduardo Chamorro Jiménez, integrante del Grupo de Fisicoquímica Molecular de la Universidad Andrés Bello, Santiago de Chile, logrando identificar los sitios más reactivos susceptibles de adiciones nucleofílicas y electrofílicas en los productos **15a-b** y **15c** (producto intermedio en la formación del producto obtenido **16**).

Palabras clave: Indol-3-carboxaldehído, compuestos carbonílicos α,β -insaturados, índices locales Fukui, estados de transición.

SUMMARY

In this work it's sought to correlate the experimental results with theoretical support by carrying out computer calculations, specifically, the synthesis of derivative compounds from indole with the study of local reactivity Fukui index to predict the most reactive centers and the influence of different substituents on the reactivity. Furthermore, the thermodynamic properties, the transition states involved and the bond distances that support the proposed mechanism for the formation of the unexpected compound **16** were calculated and analyzed.

The synthesized compounds, unsaturated- α,β aromatic ketones **15a-b**, commonly known as chalcones were obtained through the Claisen-Schmidt condensation from indole-3-carboxaldehyde and *p*-substituted aromatic ketones. **16** A third compound, unexpectedly generated is explained as a result of a subsequent electrocyclization of the provided indolic chalcone **15c**.

The best reaction conditions found to carry out the Claisen-Schmidt condensation involved a basic medium, reflux near to 75 °C, constantly magnetic stirring and an average reaction time of 14 hours. Separation and purification were reached using preparative chromatography for the products **15a-b** and through a chromatographic column for the compound **16**.

The spectroscopic characterization of compounds **15a-b** and **16** was achieved through techniques such as nuclear magnetic resonance (^1H -and ^{13}C -NMR) and gas chromatography coupled to mass.

With regard to the theoretical study, calculations were performed at the semiempiric level of theory AM1 using Spartan-Pro computational package for the conformational analysis of reactants, transition states and products. For subsequent optimizations it was used the Gaussian 98 program at the level of theory B3LYP/6-31G (d). For the calculation of the local reactivity Fukui index was implemented a software designed by Dr. Eduardo Chamorro Jimenez,

member of the Group of Molecular Physical Chemistry, University Andres Bello, Santiago, Chile, it was achieved to identify the most reactive sites likely of nucleophilic and electrophilic additions in products **15a-b** and **15c** (an intermediate in the formation of the product **16**).

Keywords: Indole-3-carboxaldehyde, carbonyl compounds α,β -unsaturated, local Fukui index, transition state.

. INTRODUCCIÓN

Los compuestos heterocíclicos son unidades estructurales importantes encontradas frecuentemente en productos naturales, entre estos cabe mencionar quinolinas, piridinas, pirazoles, pirroles e indoles, la mayoría de los cuales exhiben una importante actividad biológica y/o farmacológica.^{i, ii, iii}

El amplio rango de actividad biológica asociada con muchos derivados del indol, aislados de productos naturales, ha estimulado el interés por el desarrollo de estrategias sintéticas orientadas a la síntesis de sistemas heterocíclicos que involucran el anillo indólico.^{iv} Junto con la implementación de metodologías eficientes y versátiles para su obtención, las investigaciones también se han enfocado al estudio de su reactividad y a la evaluación de su posible actividad biológica.

Particularmente, en el área farmacéutica el indol y sus derivados tienen una gran aplicación para el tratamiento de enfermedades como el cáncer,^v la neuropatía periferal y alteraciones neurodegenerativas.^{vi} Así mismo, los anillos indólicos N-sustituidos son clasificados como inhibidores de enzimas o agentes antiinflamatorios, analgésicos, antirreumáticos y antihipertensivos.^{vii} También se ha reportado que el indol posee una amplia variedad de propiedades anticonvulsivas, cardiovasculares y antibacteriales.⁴

Por su parte el indol-3-carboxaldehído aislado del hongo YL185, mostró ser inhibidor de la tirosinasa, enzima clave en la biosíntesis de la melanina en plantas, microorganismos y células de mamíferos,^{viii} en tanto que alcaloides de núcleo indólico presentaron moderada actividad antimalárica.^{ix}

Cuando uno de los anillos aromáticos de las chalconas es sustituido por el anillo indólico, se generan las denominadas chalconas indólicas. En la búsqueda de una potencial actividad biológica para estos derivados del indol,

las investigaciones se han orientado al diseño de metodologías para su preparación.

Al respecto, la literatura disponible para la síntesis de estos compuestos a través de la condensación de Claisen-Schmidt es limitada. Consecuentes con la necesidad de generar moléculas potencialmente útiles y continuando con la línea de investigación en síntesis orgánica del Grupo SIRYTCOR, se delineó este trabajo investigativo, el cual comprendió una primera etapa que es la síntesis de cetonas aromáticas α,β -insaturadas, para las cuales se espera una posible actividad biológica y/o farmacológica; que alternativamente pueden ser implementadas como precursores para el diseño de sistemas heterocíclicos de mayor tamaño y potencial actividad.

Es de resaltar que investigaciones previas del Grupo han utilizado benzaldehídos sustituidos en diferentes posiciones ^{x, xi} para la obtención de este tipo de compuestos, por ello, en el presente trabajo se implementó el uso de un aldehído aromático que incluye en su estructura el núcleo indólico, motivados por la actividad biológica y/o farmacológica mencionada anteriormente para este anillo.

De otro lado, la química computacional a través de la modelación permite predecir los sitios más reactivos de un sistema molecular, determinando ciertos índices que relacionan la posición en una molécula con su reactividad, ellos se denominan índices locales y quizá uno de los más importantes, son los índices locales de reactividad Fukui.^{xii}

En el Grupo también se han llevado a cabo estudios teóricos orientados a la elucidación de un mecanismo concertado de cicloadición 1,3-dipolar para la formación de pirroles,^{xiii} sin embargo no se ha abordado la evaluación de los índices locales de reactividad en compuestos carbonílicos α,β -insaturados, razón por la cual en una segunda fase del proyecto se realizó la determinación de los índices locales de reactividad Fukui sobre el centro de reacción de los derivados indólicos obtenidos, con el propósito de establecer sus sitios más reactivos. De igual forma, se evaluaron algunas propiedades termodinámicas

como entalpía, entropía y energía libre de Gibbs para los compuestos sintetizados.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Sintetizar una serie de derivados indólicos por medio de la condensación de Claisen-Schmidt entre el indol-3-carboxaldehído y acetofenonas *p*-sustituidas y llevar a cabo el estudio teórico de los índices locales de reactividad Fukui y de algunas propiedades termodinámicas involucradas en la formación de los compuestos carbonílicos α,β -insaturados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Preparar los compuestos carbonílicos α,β -insaturados **15a-c** a partir de la reacción de condensación entre el indol-3-carboxaldehído y acetofenonas *p*-sustituidas.
2. Separar, purificar y caracterizar espectroscópicamente los compuestos anteriormente obtenidos.
3. Llevar a cabo el estudio teórico de los índices locales de reactividad Fukui sobre las moléculas sintetizadas para verificar sus sitios más reactivos.
4. Establecer una correlación entre los parámetros termodinámicos calculados teóricamente con la estructura obtenida para los compuestos formados.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente, se importan a nuestro país grandes cantidades de medicamentos, así en el año 2005 el valor de estas importaciones en millones de dólares ascendió a US\$135.90, en el 2006 a US\$169.85 y en el 2007 a US\$216.18, en contraste con el promedio de exportación de medicamentos que para el período 2005-2007 fue solo de US\$136.821.^{xiv}

De otro lado, enfermedades tales como la malaria,^{xv} la artritis^{xvi} y el cáncer⁴ representan una grave y actual problemática de salud nacional y mundial, reclamando urgentemente la gran necesidad de estimular el diseño y producción de moléculas que posteriormente puedan ser implementadas como fármacos para el tratamiento de algunas enfermedades, así como fortalecer el estudio de compuestos naturales en el control de la sintomatología de algunas afecciones.

La síntesis de compuestos heterocíclicos surge como una alternativa para dar solución a dicho problema; específicamente se ha encontrado que el núcleo del anillo indólico es el constituyente fundamental de un gran número de productos naturales y sintéticos con amplio rango de actividad biológica.^{xvii} Entre las propiedades señaladas para este compuesto cabe destacar su actividad antiinflamatoria, anticonvulsiva, cardiovascular y antibacteriana.^{xviii} Para sus derivados se ha registrado una importante actividad: anticancerígena, antibiótica, antihistamínica, analgésica, antirreumática, antihipertensiva,⁶ antimicrobiana¹⁵ y antimalárica.⁸ Ellos también se han utilizado como agentes neuroprotectores para el tratamiento de enfermedades como la neuropatía periférica y lesiones neurodegenerativas.⁵

Por otro lado, las chalconas al poseer el fragmento carbonílico α,β -insaturado, constituyen moléculas de gran interés sintético, al convertirse en eslabones para la generación de diversos tipos de compuestos heterocíclicos que incluyen anillos de 5, 6 ó más miembros, cada uno de ellos con una actividad biológica particular que puede ser aprovechada en campos como la medicina^{xix}, la industria^{xx} o el fortalecimiento a la ciencia básica.^{xxi}

Uno de los métodos clásicos más reconocidos para la obtención de chalconas es la condensación aldólica,^{xxii} metodología que ha sido implementada con éxito en investigaciones anteriores del grupo.^{9,12} Continuando con esta línea de trabajo y a la expectativa de las potenciales propiedades biológicas de derivados del indol, se propone en el siguiente trabajo la síntesis de una nueva serie de chalconas indólicas, a partir del indol-3-carboxaldehído y diferentes acetofenonas sustituidas en *p*-posición, esperando que el fragmento enónico y el anillo indólico impriman sobre estas nuevas moléculas una valiosa actividad biológica ó farmacéutica, como las citadas anteriormente.

En el Grupo de investigación se han venido realizando estudios computacionales relacionados con el mecanismo de reacción concertado de cicloadición 1,3-dipolar,^{xxiii} pero no se han estudiado los índices locales de reactividad Fukui sobre los compuestos carbonílicos α,β -insaturados, parámetros de gran relevancia en la determinación de los sitios con mayor nucleofilicidad y electrofilicidad. Dado que las chalconas indólicas a sintetizar poseen en su estructura sustituyentes que pueden influenciar el fragmento enónico, es importante determinar sus sitios más reactivos y su tendencia hacia un ataque electrofílico o nucleofílico para su posterior transformación, por ello, en la segunda etapa de este proyecto se evaluaron dichos índices sobre el centro de reacción de las moléculas sintetizadas.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 Generalidades del indol

El indol y los alquilindoles son sólidos cristalinos incoloros que tienen diferentes olores, por ejemplo el anillo indólico se caracteriza por su olor a naftaleno. Muchos indoles simples son comercialmente disponibles y se obtienen por metodologías sintéticas optimizadas; la mayoría de ellos son muy estables al aire con excepción de aquellos que llevan un grupo alquílico en la posición dos. Con respecto a su preparación, este compuesto heterocíclico fue obtenido por primera vez en 1886 por destilación del oxindol en arena de zinc.^{xxiv}

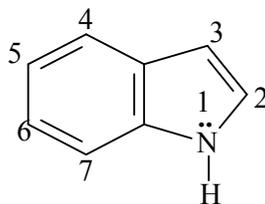


Figura 1. Molécula del indol

Como se muestra en la Figura 1, el indol es un benzopirrol, es decir un pirrol unido a un benceno, generando para la molécula varias posibles formas de resonancia. Algunas de ellas perturban el sistema cíclico de seis electrones π del anillo bencénico fusionado, indicando el efecto electrón-donador del heteroátomo,^{xxv} Figura 2.

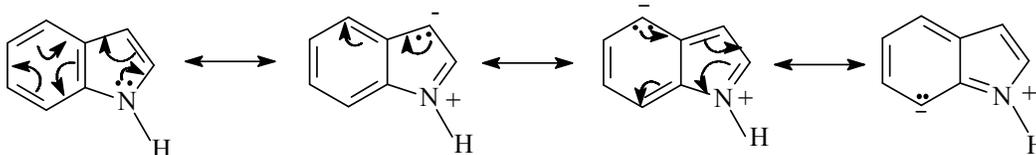


Figura 2. Estructuras resonantes del indol

El indol tiene un nitrógeno no básico ($K_b = 2 \times 10^{-12}$) y presenta reacciones de sustitución electrofílica con más facilidad que el benceno. La sustitución se efectúa principalmente en el carbono 3 del anillo pirrólico, rico en electrones, que en lugar de las diferentes posiciones del anillo bencénico,^{xxvi} Figura 3.

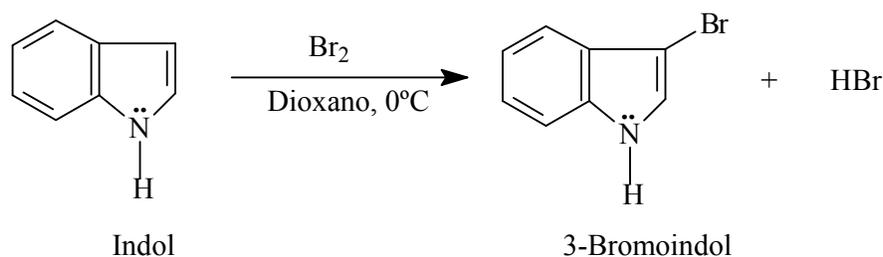


Figura 3. Sustitución electrofílica del indol

4.2 Compuestos indólicos aplicados a nivel medicinal

El triptófano es un derivado del indol y al ser un aminoácido esencial constituyente de la mayoría de proteínas y cumple un papel fundamental como precursor biosintético para una amplia variedad de triptaminas. La serotonina, (5-hidroxitriptamina), otro derivado indólico, es un neurotransmisor muy importante tanto en el sistema nervioso central como en el sistema gastrointestinal y cardiovascular.⁵ Sus estructuras se representan en la Figura 4.

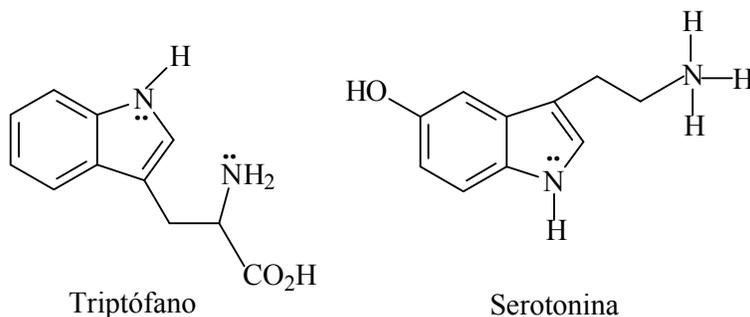
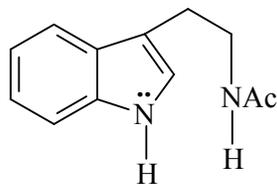


Figura 4. Estructuras del triptófano y de la serotonina

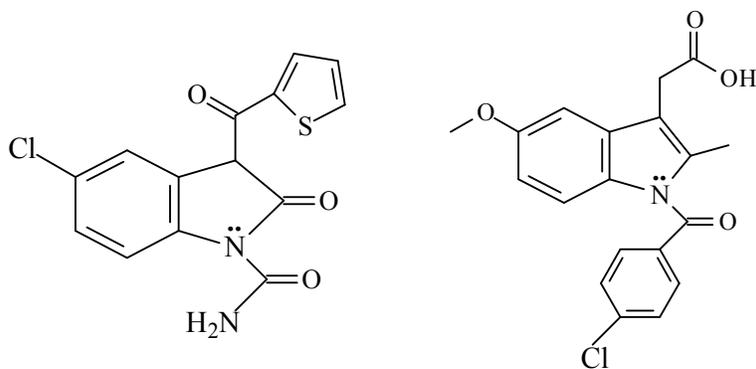
Por otro lado, la hormona melatonina, que contiene igualmente en su estructura el núcleo indólico, es responsable de controlar el ritmo diurno de las funciones fisiológicas.^{xxvii} Figura 5.



Melatonina

Figura 5. Estructura de la melatonina

Otras moléculas de gran importancia a nivel medicinal son la indometacina y el tenidap, las cuales son empleadas como potentes agentes antiinflamatorios. El tenidap se usa particularmente, en el tratamiento de la artritis reumatoidea y la osteoartritis,¹⁵ en tanto que la indometacina extiende sus beneficios para el tratamiento de la bursitis, tendinitis y como analgésico.^{xxviii} Figura 6.



Tenidap

Indometacina

Figura 6. Estructuras de los fármacos indometacina y tenidap

Por su parte, el indol 3-carboxaldehído es un precursor para la síntesis del psilocin, medicamento que posee adecuados efectos farmacológicos en el tratamiento de enfermedades psicóticas como la depresión, la esquizofrenia y mal de Alzheimer.^{xxix} Figura 7.

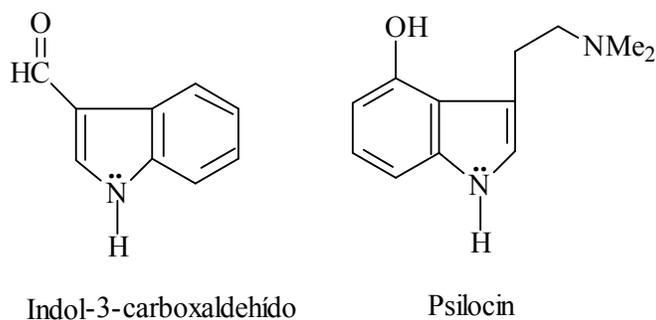


Figura 7. Estructuras de la moléculas psilocin e indol-3-carboxaldehído

4.3 Condensación aldólica

La acidez de los hidrógenos α de los compuestos carbonílicos ha tenido una gran utilización en reacciones de condensación. Un ejemplo particular es la condensación aldólica, donde aldehídos y cetonas o una mezcla de ellos, permiten incrementar el tamaño de las cadenas carbonadas o formar estructuras cíclicas, si la condensación aldólica tuviese lugar de forma intramolecular. Esta reacción se puede llevar a cabo en medio ácido ó básico, sin embargo las condiciones básicas son las más comúnmente utilizadas.

La condensación aldólica entre dos compuestos carbonílicos que posean hidrógenos alfa conduce a la formación de una mezcla de productos, pero alternativamente la condensación aldólica cruzada favorece la formación de un producto principal, dado que una sola molécula reactante posee hidrógenos alfa, lo cual disminuye las dificultades experimentales,^{xxx} Figura 8.

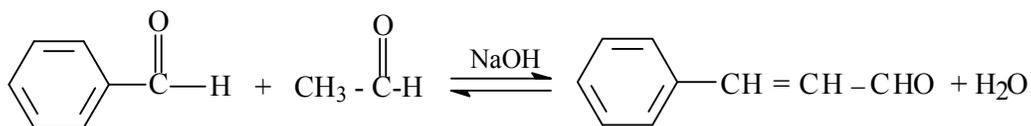


Figura 8. Condensación aldólica cruzada

Con relación al mecanismo y de forma general, en medio básico la condensación aldólica se efectúa por la adición nucleofílica del ión enolato de la molécula sobre la cual se removi6 el hidr6geno α sobre el grupo carbonilo de la segunda molécula reactante. La formaci6n del intermedio tetraédrico constituye la etapa irreversible e impulsora de la reacci6n, con la eliminaci6n final de una molécula de agua que conduce a la generaci6n del compuesto carbonílico α,β -insaturado.³⁰

La reacci6n de Claisen-Schmidt es un tipo de condensaci6n ald6lica cruzada, donde un aldehído aromático reacciona con una cetona para dar lugar a las cetonas α,β -insaturadas. Como el aldehído aromático no tiene hidr6genos en posici6n alfa, no puede funcionar como el componente nucleofílico, al ser incapaz de enolizarse y por ello tampoco puede autocondensarse, pero reacciona f6cilmente con la cetona presente. La deshidrataci6n final es usualmente, favorable ya que la enona resultante est6 conjugada con el anillo aromático.²⁴ Figura 9.

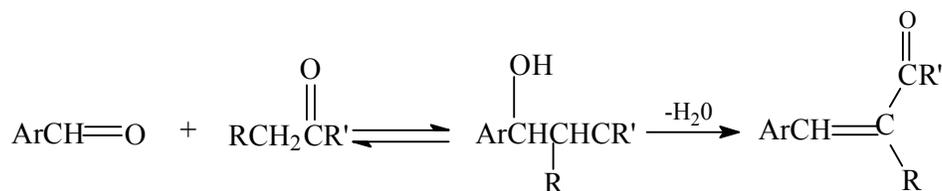


Figura 9. Reacci6n general de la condensaci6n de Claisen-Schmidt

El mecanismo general para la formaci6n de los compuestos carbonílicos α,β -insaturados mediante la condensaci6n de Claisen-Schmidt, se presenta a continuaci6n, Figura 10.

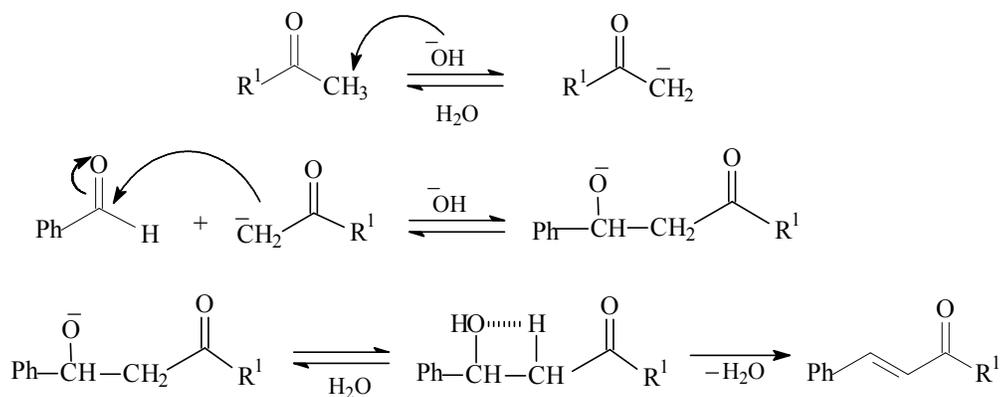


Figura 10. Mecanismo general de la condensación de Claisen-Schmidt para la formación de los compuestos carbonílicos α,β -insaturados

4.4 Reacciones concertadas

Las reacciones concertadas se caracterizan por ocurrir sin la presencia de un intermedio, por una estructura de transición que involucra tanto la ruptura como la formación de un enlace y por la mínima influencia de solventes sobre su velocidad de reacción. Este tipo de reacciones pueden ser de naturaleza unimolecular o bimolecular. Un grupo importante de ellas son las denominadas reacciones pericíclicas, las cuales se identifican con una continua reorganización de electrones a través de estructuras cíclicas de transición altamente ordenadas. ^{xxxi}

De acuerdo a su especificidad las reacciones pericíclicas se clasifican en: Cicloadiciones ([4+2] conocida como Diels-Alder y [2+2], entre otras), reacciones electrocíclicas y rearrreglos sigmatrópicos.

Dado que en esta investigación se obtuvo de forma imprevista un nuevo producto cíclico, cuya formación es sustentada a través de una electrociclación y posterior rearrreglo sigmatrópico 1,3 de Hidrógeno, se describe a continuación las generalidades de estos dos tipos de reacciones concertadas.

4.4.1 Reacción de electrociclación

En este tipo de reacción ocurre la ciclación intramolecular de un polieno que contiene n enlaces dobles, dando lugar a un compuesto con $(n-1)$ enlaces dobles, el proceso inverso de apertura es competitivo con la ciclación, en la Figura 11 se observa la ciclación del 1,3-butadieno para generar el respectivo ciclobuteno.³¹

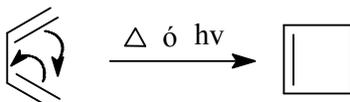


Figura 11. Electrociclación del 1,3-butadieno

Las reacciones electrocíclicas pueden efectuarse térmica o fotoquímicamente, en todos los casos conocidos se conserva una estereoespecificidad. Si el número de electrones involucrados en la reacción es $4n$, como en el caso de la formación del ciclobuteno a partir del 1,3-butadieno, la electrociclación deberá ser conrotatoria por vía térmica y disrotatoria por vía fotoquímica, Figura 12. El principio de microreversibilidad microscópica requiere que el proceso inverso (apertura del anillo), también sea conrotatorio.³¹

La ciclación conduce a la formación de un enlace sigma (σ) entre los extremos del polieno, para lo cual se requiere que interaccionen los orbitales moleculares enlazantes a través del solapamiento de los lóbulos del mismo signo. Para ello es necesario que la simetría se conserve a lo largo del transcurso de la reacción, es decir que los lóbulos no cambien de signo.³⁰

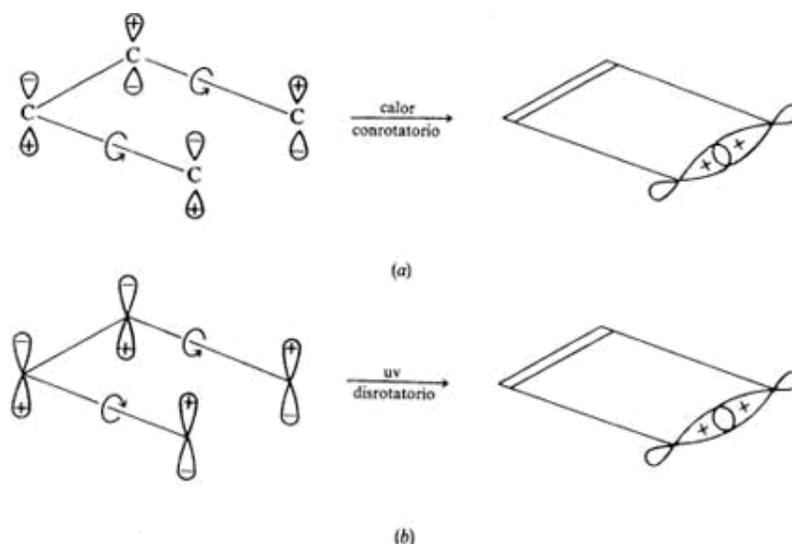


Figura 12. Proceso (a) conrotatorio térmico y (b) disrotatorio fotoquímico en la electrociclación del 1,3-butadieno

Como la electrociclación térmica del 1,3-butadieno a ciclobuteno es conrotatoria habrá una interacción antarafacial, su estado de transición será de tipo Möbius, siendo por lo tanto favorecido por ser aromático.³¹ Figura 13.

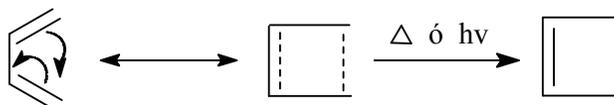


Figura 13. Estado de transición para la formación del ciclobuteno

4.4.2 Reacciones sigmatrópicas

Una transposición sigmatrópica implica la migración de un enlace σ a la parte terminal de un sistema π adyacente. En forma general las reacciones sigmatrópicas se denotan con los subíndices (i, j), siendo i = el número de átomos migrantes y j = número de átomos π involucrados en el enlace.³¹

Como ocurre con otras reacciones concertadas, la topología de los orbitales interactuantes rigen la facilidad de los rearrreglos sigmatrópicos y la estereoquímica. Específicamente para este tipo de reacción hay dos procesos topológicos distintos por los cuales la migración sigmatrópica puede ocurrir. Si el grupo migrante permanece asociado con la misma cara al sistema π conjugado, es denominado rearrreglo sigmatrópico suprafacial, en tanto que la migración a la cara opuesta del sistema π genera el llamado rearrreglo sigmatrópico antarafacial.³⁰

Esta migración es usualmente experimentada por átomos de hidrógeno y grupos alquílicos en las posiciones 1,3; 1,5 y 1,7 ; siendo la 1,3-H la más común debido a los mínimos requerimientos espaciales, la Figura 14 representa este tipo de rearrreglo.³⁰

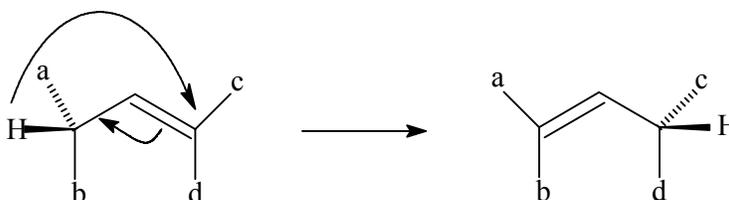


Figura 14. Ejemplo de rearrreglo sigmatrópico de hidrógeno (1,3)

La estereoquímica de la transposición (1,3) está regida por un proceso antarafacial, Figura 15, dado que cumple $j = 4n-1$. De tal forma que el átomo de hidrógeno pasa del semiespacio superior al semiespacio inferior, dando lugar a un estado de transición con un plano de simetría de orden 2.³¹

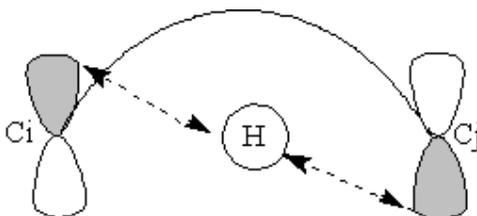


Figura 15. Estereroquímica de una transposición de orden (1,3) antarafacial

En el caso del desplazamiento sigmatrópico 1,5-H el rearreglo suprafacial es el permitido y para el 1,7-H el desplazamiento permitido es el antarafacial.

4.5 Estado de transición

Un estado de transición se define como una configuración crucial donde las moléculas reaccionantes llegan a tal grado de proximidad y de distorsión que cualquier otra pequeña alteración las conduce hacia los productos, permitiendo que ocurran las reacciones químicas, también se define como el punto silla en una superficie de energía ^{xxxii}. Para ilustrar mejor este concepto, se supone que está transcurriendo la siguiente reacción:



Donde se identifican los reactivos A y B que mediante el estado de transición AB^\ddagger forman el producto C:



La especie AB^\ddagger se caracteriza por tener una energía más alta que los reactivos y productos, por ello es menos estable ^{xxxiii}, Figura 16. En ésta se aprecia el valor energético correspondiente a la energía de activación (E_a) y la magnitud para la energía libre de Gibbs que señala una reacción espontánea.

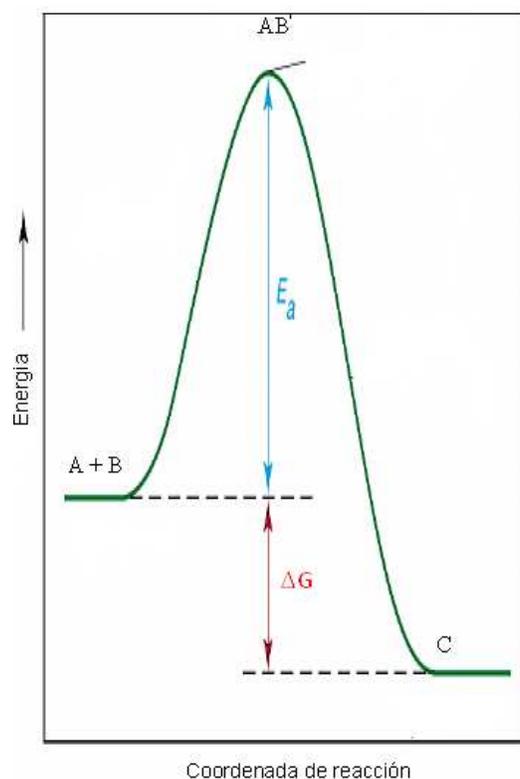


Figura 16. Perfil de energía potencial para una reacción exotérmica en un solo paso (Teoría del estado de transición. México D.F: Universidad Nacional autónoma de México.2005. 1,2 y 5. Diapositivas: col.)

Para cualquier reacción química debe existir por lo menos un estado de transición involucrado en la interconversión de una geometría molecular de equilibrio en otra. En el caso de reacciones que ocurren a través de varios pasos, se considera un estado de transición para cada uno de ellos siendo el más lento el que determina la velocidad global de la reacción y recibe el nombre de etapa determinante de la reacción.³²

Inherente a la teoría del estado de transición, el principio de reversibilidad microscópica establece que dichos intermedios en una reacción son cinéticamente equivalentes en el sentido inverso dado que la reacción transcurre siguiendo la misma trayectoria.³²

Según la teoría clásica del estado de transición, los parámetros cinéticos se calculan mediante la ecuación 1. La constante de velocidad $k(T)$, para cada etapa de una reacción se determina suponiendo que el coeficiente de

transmisión es igual a la unidad $(Q^\ddagger/Q_A Q_B)=1$, donde Q^\ddagger es la función de partición del estado de transición, Q_A es la función de partición vibracional y Q_B es la función de partición rotacional.³³

$$k(T) = \left(\frac{k_B T}{h} \right) \left(\frac{Q^\ddagger}{Q_A Q_B} \right) \exp\left(\frac{-\Delta G^\ddagger(T)}{RT} \right) \quad (1)$$

Aplicando dicha suposición la expresión resultante se convierte en la siguiente relación, ecuación 2

$$k(T) = \left(\frac{k_B T}{h} \right) \exp\left(\frac{-\Delta G^\ddagger(T)}{RT} \right) \quad (2)$$

Siendo k_B , h y R las constantes de Boltzman, Plank y Universal de los gases respectivamente.

4.6 Índices locales de reactividad Fukui

La teoría de funcionales de densidad (DFT) proviene de la investigación de la mecánica cuántica desarrollada en 1920, especialmente del modelo de Thomas-Fermi- Dirac y del trabajo en química cuántica de Slater de los años 50. La aproximación de DFT está basada en una estrategia de modelamiento de correlación de electrones vía funcionales generales de la densidad electrónica.^{xxxiv} Tales métodos tienen sus orígenes modernos en el teorema de Hohenberg-Kohn, publicado en 1964, el cual demostró la existencia de un único funcional que determina la energía del estado basal y densidad exacta.

xxxv

En la DFT la reactividad química queda caracterizada a través de un conjunto de propiedades electrónicas globales y locales, las cuales son intrínsecas del sistema e indican su disponibilidad para que ocurra un cambio químico.^{xxxvi}

El potencial químico y la dureza son índices globales, es decir, son constantes que tienen el mismo valor en todo el espacio. El potencial químico representado por μ es una propiedad que mide la tendencia de escape de los electrones del sistema en equilibrio, de manera que los electrones fluyen desde regiones de alto potencial químico hacia regiones de bajo potencial químico, este flujo ocurrirá hasta que μ sea constante a través de todo el sistema.^{xxxvii} El valor de esta propiedad se determina a través de la expresión:

$$\mu = \left[\frac{\partial E}{\partial N} \right]_v \quad (3)$$

Donde E es la energía del sistema y N es el número de electrones del sistema.

La dureza química η es una propiedad global del sistema y mide la resistencia impuesta por éste al cambio en su distribución electrónica, su magnitud viene descrita por la ecuación 4:

$$\eta = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(r)} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad (4)$$

Por otro lado, la función de Fukui basada en teoría DFT³⁶, permite el cálculo de propiedades locales y se describe a través de la ecuación 5:

$$f(r) = \left[\frac{\delta \mu}{\delta v(r)} \right]_N = \left[\frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right]_v \quad (5)$$

Representa la sensibilidad del potencial químico frente a una perturbación externa

Representa el cambio de la densidad electrónica cuando el número de electrones cambia

En donde N es el número de electrones, $v(\mathbf{r})$ es el potencial actuando en un electrón debido a todo el núcleo, μ es el potencial químico y ρ es la densidad electrónica.³⁵

Las funciones de Fukui se utilizan para calcular el índice de reactividad de las moléculas y con ello elucidar los centros más reactivos; es decir los sitios de las moléculas que interactuarán más rápido con una sustancia.^{xxxviii}

Cuando una especie química reacciona con un nucleófilo su densidad electrónica aumenta ya que recibe electrones, Figura 17. De forma opuesta, si una molécula reacciona con un electrófilo pierde electrones y su densidad electrónica experimenta una disminución, Figura 18. Así, La variación de la densidad electrónica, generada por la agregación o sustracción de electrones define la capacidad electrofílica o nucleofílica de una especie química³⁵.

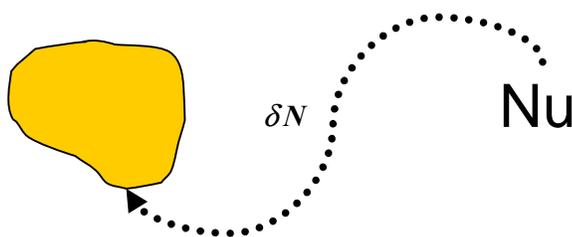


Figura 17. Especie química que reacciona con un nucleófilo*

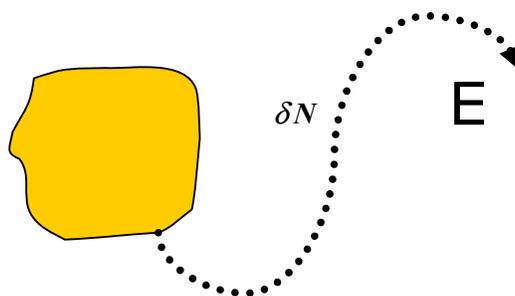


Figura 18. Especie química que reacciona con un electrófilo*

* TORO-LABBÈ, Alejandro. Química computacional: desde la teoría al experimento. Laboratorio de química teórica computacional, Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La función de Fukui $f(r)$ representa un cambio del potencial químico producido por una perturbación externa, mientras mayor sea este cambio, más reactivo

será el sistema en el punto r , ya que se generará un gradiente de potencial químico que inducirá una mayor transferencia de carga. Los sitios de mayor reactividad frente a una perturbación externa son aquellos que presentan un valor grande de $f(r)$.³⁵

El otro índice de reactividad local es la blandura local $s(r)$, expresada por la relación **6**:

$$s(r) = \left(\frac{\partial \rho(r)}{\partial \mu} \right)_v \quad \text{(6)}$$

En tanto que la blandura global de una molécula se define como:

$$S = \int s(r) dr \quad \text{(7)}$$

Es importante resaltar que la función de Fukui es un parámetro de medición directo de blandura local, lo cual generalmente sirve para comparar la reactividad en una serie de moléculas, ecuación **8**:

$$f(r) = \frac{S}{s(r)} \quad \text{(8)}$$

En lugar de utilizar $f(r)$ y $s(r)$ es más conveniente condensar sus valores alrededor de cada átomo en un valor simple que caracteriza al átomo en la molécula. Dependiendo del tipo de transferencia electrónica, se tienen tres tipos de funciones de Fukui, así usando una aproximación de diferencias finitas, ecuaciones **9a**, **9b** y **9c**:

$$f^+(r) = \rho_{N+1}(r) - \rho_N(r) \quad \text{(9a) Para ataque nucleofílico}$$

$$f^-(r) = \rho_N(r) - \rho_{N-1}(r) \quad \text{(9b) Para ataque electrofílico}$$

$$f^0(r) = [\rho_{N+1}(r) - \rho_{N-1}(r)] / 2 \quad \text{(9c) Para ataque radicalario}$$

Donde ρ son las densidades electrónicas para la molécula negativa, neutra y positiva, respectivamente, todas ellas tienen la misma estructura geométrica.

xxxix

Yang y Mortier han proporcionado un método simple para calcular las funciones de Fukui condensadas usando aproximaciones de diferencias finitas,³⁹ de tal forma que la condensación sobre sitios específicos en la molécula produce los índices de Fukui³⁷, expresiones **10a**, **10b** y **10c**:

$$f_x^- = [q_x(N) - q_x(N-1)] \quad (10a)$$

$$f_x^+ = [q_x(N+1) - q_x(N)] \quad (10b)$$

$$f_x^0 = \left[\frac{f_x^- + f_x^+}{2} \right] = \left[\frac{q_x(N+1) - q_x(N-1)}{2} \right] \quad (10c)$$

En donde q_x es la carga del átomo x en la molécula y puede ser determinada por varios procedimientos dentro de la estructura de la teoría del orbital molecular. La función f_x^+ está asociada con el orbital molecular de más baja energía desocupado (LUMO) y mide la reactividad hacia un reactivo donador, la función f_x^- está asociada con el orbital molecular de más alta energía (HOMO) y mide la reactividad hacia un reactivo aceptor y el promedio de ambos f_x^0 mide la reactividad hacia un radical.

Así, de acuerdo a la aproximación de diferencias finitas, las funciones de Fukui de un centro atómico x, se calculan como diferencias entre las cargas netas en el centro atómico de la molécula neutra y del respectivo ión que se forma cuando se agrega o se retira un electrón.³⁶

4.7 Estado del arte

Como se ha mencionado previamente el indol y muchos de sus derivados indólicos han mostrado una interesante actividad biológica y/o farmacológica de utilidad en la medicina.

A continuación se señalan algunos de los trabajos relacionados con la preparación de este tipo de compuestos.

Vogel et al,^{x1} utilizaron un aldehído indólico sustituido (2-fenilindol-3-carboxaldehído) **1a-d** de comprobada actividad anticancerígena como precursor para obtener junto con la hidrazina **2a-g** una serie de derivados indólicos **3a-k**. Figura 19.

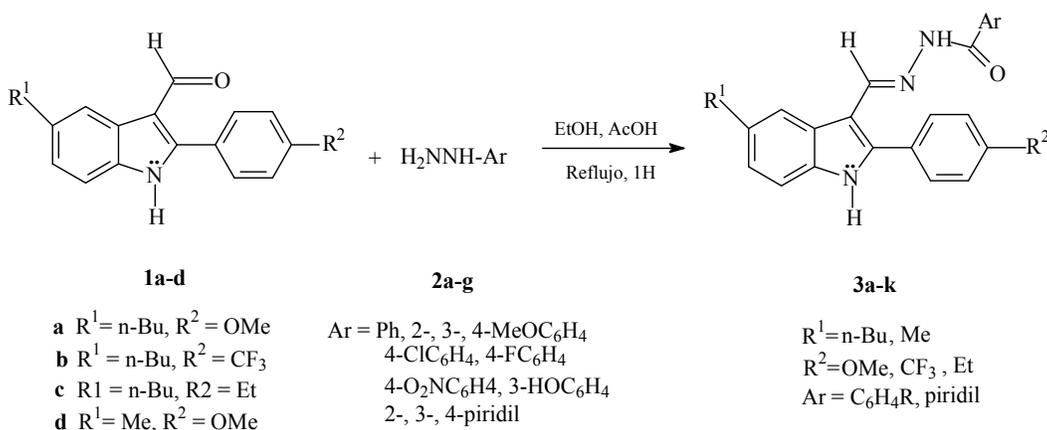


Figura 19. Síntesis de derivados indólicos **3a-k**

En la Tabla 1. Se reportan algunas actividades antiproliferativas de los derivados obtenidos y de la serie del 2-fenilindol-3-carboxaldehído **1a-d**, como se observa aumentó la actividad anticancerígena en los derivados, especialmente en el compuesto **3k**.

Tabla 1. Actividades antiproliferativas del 2-fenilindol-3-carboxaldehído sustituido **1a-b** y algunos de sus derivados

Compuesto	Rd ¹	R ²	Célula MDA-MB 231 ^a IC ₅₀ (nM)	Célula MCF-7 ^b IC ₅₀ (nM)
1a	n-Bu	OMe	6.7	22
1b	n-Bu	CF ₃	33	66
3d	4-Cl	CF ₃	329	1062
3e	4-F	OMe	19	84
3g	4-OMe	CF ₃	284	618
3k	4-NO ₂	CF ₃	2035	6335

^a Inhibición del crecimiento celular determinado después de la incubación por 4 días.

^b Experimentos análogos realizados con las células MCF-7, con tiempo de incubación de 5 días.

Dentro de la metodología descrita para la obtención de chalconas indólicas cabe mencionar la implementada por Rani, P. et al ^{xii} quienes a partir del 3-acetoindol en reacción con diferentes aldehídos aromáticos produjeron las correspondientes chalconas, ellos utilizaron metanol como disolvente, condiciones básicas NaOH al 2% (5mL), un tiempo aproximado de 12 horas de reacción, logrando aislar las respectivas chalconas con un rendimiento promedio de 56%, Figura 20.

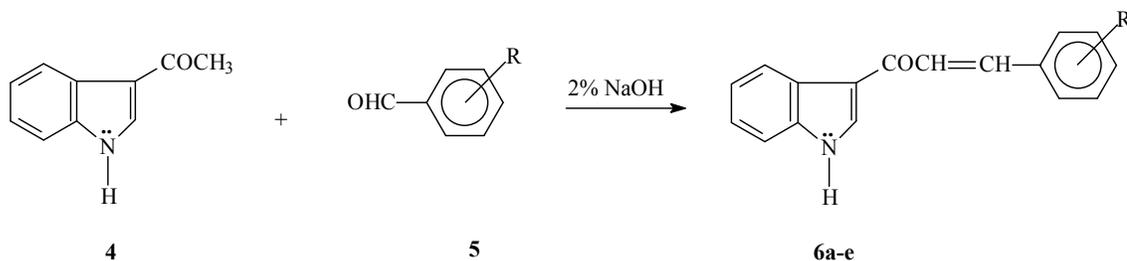


Figura 20. Síntesis de las chalconas indólicas **6a-e** a partir del 3-acetoindol y aldehídos aromáticos

En la tabla 2. se reportan los sustituyentes utilizados sobre el benzaldehído, los rendimientos obtenidos, así como el porcentaje encontrado para la evaluación de la actividad antiinflamatoria.

Tabla 2. Sustituyentes, rendimiento y actividad antiinflamatoria de las chalconas **6a-e** sintetizadas

Número del compuesto	R	% de rendimiento	% Actividad antiinflamatoria
6 ^a	<i>m</i> -OCH ₃	75	20
6b	<i>p</i> -OH	50	18
6c	H	40	16
6d	<i>p</i> -(NCH ₃) ₂	60	15
6e	<i>p</i> -OCH ₃	55	18

El rango de actividad antiinflamatoria considerado significativo en esta investigación oscila entre 14-47%, por lo tanto, las chalconas obtenidas presentan una actividad antiinflamatoria moderada, siendo la mayor para el compuesto 6a y la menor para el compuesto 6d. ⁹

En la búsqueda de agentes radioprotectores, para organismos expuestos a rayos X y radiación gamma, se ha empleado el indol-3-carboxaldehído, el cual en reacción con anilina y *p*-aminobenzoato, da lugar a las bases de Schiff, que a su vez reaccionan con el fosfito de hidrógeno de bis (trimetilsilil) para producir sales de sodio solubles en agua, que son considerados como potenciales agentes radioprotectores.^{xlii} Figura 21.

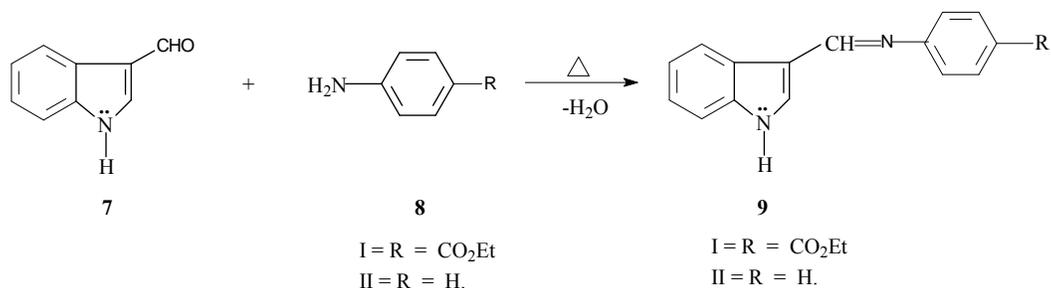


Figura 21. Condensación entre el indol-3-carboxaldehído con anilina y *p*-aminobenzoato.

Jhonson et al^{xliii}, utilizaron derivados del indol-3-carboxaldehído para la generación de chalconas indólicas. En particular, la condensación del (1-bencensulfonil) indol-3-carboxaldehído (**10**) con la 1,4-diacetil-2,5-piperazidona (**11**), permitió obtener el compuesto carbonílico α,β -insaturado (**12**). Las condiciones de reacción empleadas fueron un medio básico producido por carbonato de cesio, el cual permitió generar el isómero geométrico Z con un rendimiento del 77%. La etapa final de síntesis requirió la remoción de los grupos protectores, usando para ello NaOH en solución etanólica, que condujo a la dipopazina (**13**) con un rendimiento del 53%, Figura 22.

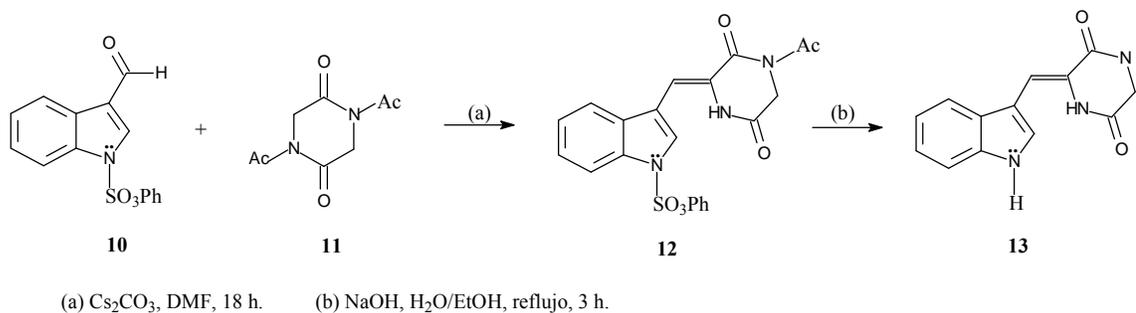


Figura 22. Síntesis de la dipopazina (**13**)

El panorama anterior muestra que la obtención de chalconas indólicas a través de reacciones de condensación ha sido poco explorado. Por ello, nuestro interés en preparar una nueva serie de chalconas indólicas radica no solo en la profundización de un conocimiento básico relacionado con la condensación de Claisen-Schmidt, sino en la eventual actividad biológica que puedan mostrar esta clase de moléculas. Además, no se conocen reportes de investigaciones previas, donde el indol-3-carboxaldehído haya sido sintetizado, junto con acetofenonas para generar las respectivas chalconas. Por tanto, el presente trabajo es novedoso y las moléculas a sintetizar podrían exhibir una interesante actividad biológica al poseer el anillo indólico.

5. METODOLOGÍA

Esta sección inicia con una introducción sobre las condiciones y equipos utilizados denominada generalidades. A continuación se describen las dos etapas comprendidas en este trabajo; la primera relacionada con la síntesis y caracterización espectroscópica de las chalconas **15a-b** y el derivado indólico **16**, en la cual se especifican las mejores condiciones encontradas para su obtención y la segunda etapa que corresponde a la realización de cálculos teóricos, específicamente la determinación de las propiedades termodinámicas, parámetros cinéticos y estados de transición involucrados en la formación de las moléculas obtenidas, así como los índices locales de reactividad Fukui.

Generalidades

El progreso de las reacciones fue controlado por cromatografía de capa delgada (CCF) con placas de sílica gel 60F 254 con espesor 0.2 mm (Merck), empleando como revelador una lámpara manual Entela UVGL-58 con dos longitudes de onda (254 y 365 nm).

La separación y purificación de los productos se alcanzó de la siguiente forma: la separación del producto **15a** se realizó mediante cromatografía preparativa con placas de sílica gel 60F 254 con espesor 0.2 mm (Merck), el compuesto **15b** fue purificado por cromatografía de columna, utilizando sílica gel 60 con las siguientes especificaciones: (70-230 mesh ASTM) (0.063-0.200 mm) (Merck) y finalmente el producto **16** fue separado por medio de cromatografía preparativa con placas de sílica gel 60F 254 con espesor 1 mm (Merck). Los solventes empleados en las técnicas cromatográficas fueron: tolueno, acetato de etilo, cloroformo y metanol.

Con respecto a los equipos utilizados, los puntos de fusión de los compuestos sintetizados fueron medidos en un fusiómetro electrónico modelo IA9100 Barnstead/electrothermal y no fueron corregidos.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H - y ^{13}C -RMN fueron tomados en un espectrofotómetro Bruker Avance de 400 MHz, usando como solventes dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-d_6) y metanol deuterado (MeOH-d_4); el tetrametilsilano (TMS) fue empleado como patrón de referencia, estos espectros fueron tomados en el Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Universidad Nacional de Colombia Sede-Bogotá.

La medición de la cantidad requerida de reactivos y productos obtenidos fue determinada en una balanza analítica Adventurer OHAUS con las siguientes especificaciones 9.5-20V y una precisión de 0.0001g. El calentamiento y agitación continua fueron proporcionados por un agitador magnético con calentamiento, marca Velp Científica de 115V. El rotaevaporador Heidolph que permitió separar la muestra del solvente tiene las siguientes características: 115V, 50/60 Hz y un rango de temperatura que oscila entre 30-180°C.

Los espectros de masas fueron tomados en un cromatógrafo de gases acoplado a masas Agilent 6890, en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín.

Los cálculos teóricos se llevaron a cabo utilizando el paquete computacional Spartan-Pro para el análisis conformacional de reactantes, estados de transición, intermedios y productos. Posteriormente se utilizó el software Gaussian 98 para optimizar las moléculas y determinar las propiedades termodinámicas y las constantes de velocidad de las reacciones de los compuestos involucrados en la síntesis. Para el cálculo de los índices locales de reactividad Fukui se usó el Software diseñado por el Doctor Eduardo Chamorro Jiménez, integrante del Grupo de Físicoquímica Molecular de la Universidad Andrés Bello, Santiago de Chile – Chile.

5.1 Primera etapa: síntesis de los compuestos 15a-b y 16

5.1.1 Obtención de las chalconas indólicas **15a-b**

La obtención de los compuestos carbonílicos α,β -insaturados **15a-b**, Figura 23 se realizó mediante la reacción de condensación de Claisen-Schmidt entre el indol-3-carboxaldehído **7** y las acetofenonas *p*-sustituidas **14a-b**, solubilizados en etanol, utilizando como catalizador una solución de NaOH 1.5 N, bajo reflujo aproximado entre 70-80°C, durante un tiempo promedio de 14 horas. Los reactantes se añadieron en un balón de fondo redondo de dos bocas en una relación molar 1.1:1 de aldehído y cetonas *p*-sustituidas, respectivamente.

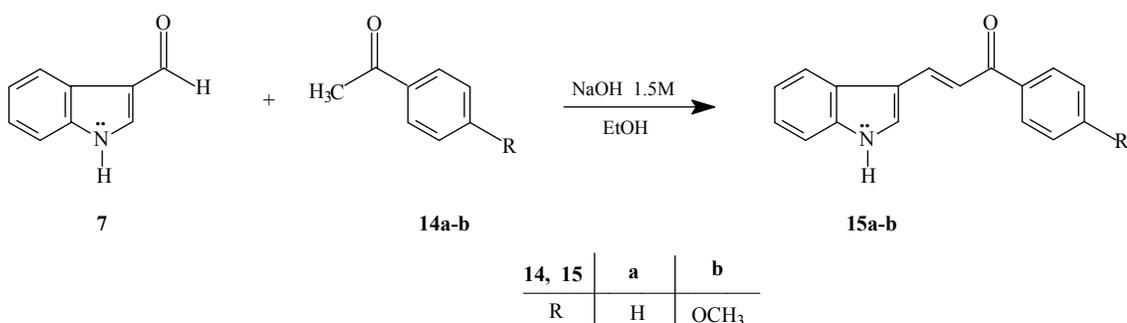


Figura 23. Obtención de las chalconas indólicas **15a-b**

Las mejores condiciones de reacción para estas dos moléculas se detallan a continuación:

Obtención de la chalcona indólica 15a

Una mezcla de indol-3-carboxaldehído (102 mg, 0.703 mmol) y acetofenona (0.750 μ L, 0.65 mmol) se disolvió en etanol (4 mL), se agitó magnéticamente en forma constante bajo reflujo a una temperatura aproximada de 75°C durante 14 horas. Periódicamente se adicionaron gotas de la solución de NaOH 1.5 N (3.6 mL) a la mezcla reaccionante y su avance se verificó con CCF.

Una vez transcurrido este tiempo, el solvente se evaporó a temperatura ambiente y la purificación del producto se alcanzó por cromatografía

preparativa usando la mezcla eluente tolueno: acetato de etilo (4:1). El producto fue separado de la sílica por disolución en metanol, posterior filtración y evaporación del solvente a temperatura ambiente.

Obtención de la chalcona indólica 15b

Una mezcla de indol-3-carboxaldehído (102 mg, 0.703 mmol) y *p*-metoxiacetofenona (99 mg, 0.66 mmol) se disolvió en etanol (5 mL) y fue sometida a reflujo con agitación permanente durante 14 horas. Como en el caso anterior, la solución de NaOH 1.5 N (2 mL) fue adicionada secuencialmente y la reacción fue controlada con CCF. Una vez finalizada la reacción la *p*-metoxiacetofenona fue retirada por recristalización con metanol y el producto fue purificado mediante cromatografía preparativa utilizando una mezcla eluente cloroformo: metanol (93:7). El procedimiento posterior es similar al descrito en el compuesto **15a**

5.1.2 Síntesis del derivado indólico 16

El derivado indólico **16**, Figura 24, fue obtenido de forma inesperada a través de un procedimiento similar al descrito para las chalconas indólicas **15a-b**. La formación imprevista del producto **16**, se sugiere tiene lugar a través de una electrociclación [2+2] para formar un ciclobuteno, el cual después de experimentar un rearrreglo sigmatrópico de hidrógeno [1,3-H], genera el compuesto indólico **16**, cuya estructura fue establecida con ayuda de técnicas espectroscópicas que se detallan en el apartado de resultados y discusión.

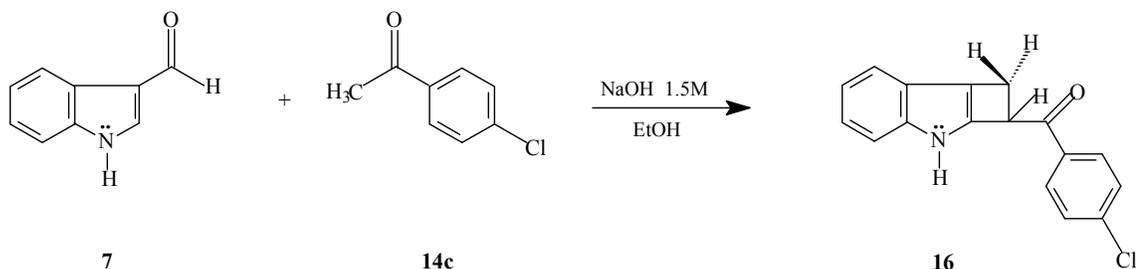


Figura 24. Obtención del derivado indólico 16

Así, se disolvió una mezcla de indol-3-carboxaldehído (102 mg, 0.703 mmol) y *p*-cloroacetofenona (99 mg, 0.64 mmol) en 5 mL de etanol y se sometió a reflujo a una temperatura entre 70-75°C, con agitación constante durante 14 horas. Se adicionó 1.5 mL de una solución 1.5 N de NaOH durante el tiempo de la síntesis. La *p*-Cloroacetofenona remanente fue removida por recristalización con metanol y posteriormente la separación del producto se alcanzó por cromatografía de columna usando sílica gel como fase estacionaria y como eluente una mezcla tolueno: acetato de etilo (1:1). Los solventes fueron rotaevaporados obteniendo como producto final un sólido de color anaranjado.

5.1.3 Caracterización espectroscópica

La caracterización espectroscópica de los compuestos **15a-b** y **16** se realizó mediante resonancia magnética nuclear de ^1H - y ^{13}C -RMN y los espectros de masas fueron tomados en un cromatógrafo de gases acoplado a masas.

Los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN fueron realizados en el Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá empleando dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO- d_6) como solvente para los compuestos **15b** y **16**, mientras que el compuesto **15a** se midió en metanol deuterado (MeOH- d_4). Los desplazamientos químicos fueron referenciados con el patrón interno TMS.

5.2 Segunda etapa: realización de cálculos teóricos

5.2.1 Cálculo de las propiedades termodinámicas y estados de transición

Los cálculos teóricos se llevaron a cabo utilizando inicialmente el paquete computacional Spartan-Pro para el análisis conformacional de los reactivos,

estados de transición y productos. Posteriormente se utilizó el software Gaussian 98, para optimizar las moléculas al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d). Se calcularon las propiedades termodinámicas entalpía (H) y entropía (S), luego a partir de estos valores se calculó la energía libre de Gibbs (G) y la constante de equilibrio (K) de las reacciones implicadas:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

$$K = \exp\left(\frac{-\Delta G}{RT}\right)$$

La constante de velocidad se calculó a partir de la siguiente expresión:

$$k(T) = \left(\frac{k_B T}{h}\right) \exp\left(\frac{-\Delta G^\ddagger(T)}{RT}\right)$$

En estos cálculos se usó un factor de escalamiento de 0.9804 para las energías vibracionales del punto cero y se aplicaron correcciones térmicas a los valores de la entalpía y la entropía a la temperatura experimental de 349K. Además, de las estructuras optimizadas se analizó las distancias de enlace y las cargas de Mulliken para correlacionar sus valores con el proceso de electrociclación observado en el derivado indólico **16**.

5.2.2 Cálculo de los índices locales de reactividad Fukui

Para la evaluación de los índices locales de reactividad Fukui, se utilizó el software diseñado por el Doctor Eduardo Chamorro Jiménez. Los índices locales de reactividad Fukui se expresan a través de las siguientes correlaciones:

$$f_x^- = [q_x(N) - q_x(N-1)]$$

$$f_x^+ = [q_x(N+1) - q_x(N)]$$

f_x^- es el índice de reactividad para átomos que realizan ataques electrofílicos y f_x^+ es el índice de reactividad para centros en los cuales ocurren adiciones

nucleofílicas. Los índices que presenten mayor reactividad frente a una perturbación externa son aquellos que presentan un valor grande de $f(r)$, por lo tanto, teniendo en cuenta lo anterior, se seleccionaron los mayores valores de f_x^- y f_x^+ en los resultados obtenidos, siendo estos los lugares específicos de las moléculas que interaccionarán más rápido con determinadas sustancias. Los valores explícitos de estos cálculos se detallan en el capítulo de resultados y discusión.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo se dividen en dos partes, la primera abarca la síntesis y caracterización de los derivados indólicos y la segunda se enfoca en la determinación de las propiedades termodinámicas y cinéticas involucradas en los estados de transición de los productos sintetizados y en el estudio de los índices locales de reactividad Fukui.

6.1 Síntesis de los productos 15a-b y 16

En esta sección se presentan las mejores condiciones empleadas para sintetizar los productos **15a-b** y la obtención de un tercer producto **16** con una estructura inesperada. También se señalan las modificaciones realizadas a las condiciones de reacción en la búsqueda de resultados más satisfactorios.

6.1.1 Síntesis de las chalconas indólicas 15a-b

La primera etapa de este trabajo comprendió la síntesis de las chalconas indólicas **15a-b** (Figura 23) mediante la condensación de Claisen-Schmidt a partir de una relación molar 1.1:1 entre el indol-3-carboxaldehído **7** y las cetonas aromáticas *p*-sustituidas **14a-b**, catalizada por una solución de NaOH 1.5 M, bajo reflujo entre 70-80 °C.

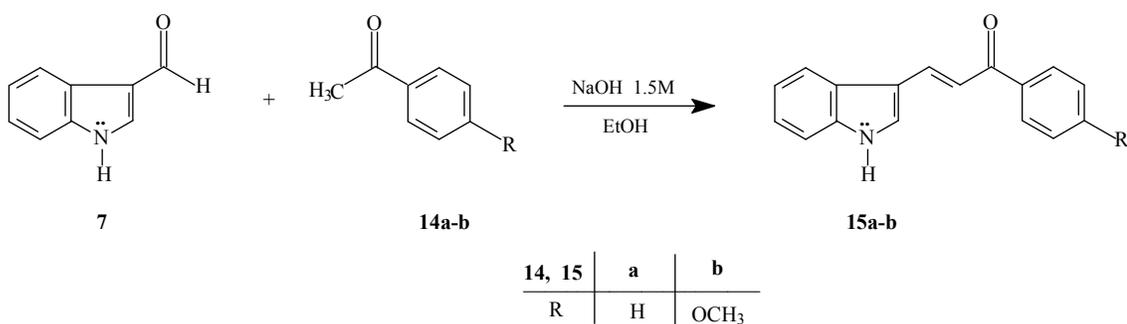


Figura 23. Obtención de las chalconas indólicas **15a-b**

La tabla 3 contiene los puntos de fusión y resume las mejores condiciones de reacción encontradas para sintetizar las chalconas **15a-b** y el derivado indólico **16**; se observa que la chalcona **15b** presenta el mayor punto de fusión y la chalcona **15a** muestra el mayor porcentaje de rendimiento.

Tabla 3. Datos experimentales de los compuestos **15a-b** y **16**

Compuesto	P.f. (°C)	Rendimiento (%)	Tiempo de Reacción (h)	Volumen NaOH (ml)	Color
15a	180 (d)	15	14	3.6	Amarillo
15b	355 (d)	12	14	2	Beige
16	190	10	14	1.5	Anaranjado

A pesar de las modificaciones realizadas sobre las condiciones de reacción las cuales implicaron cambio de base (KOH y NaH), variación de temperatura y tiempo de reacción, concentración molar de reactivos, así como el uso de un catalizador ácido (ácido clorhídrico y nítrico diluidos), no se logró mejorar notablemente los resultados. Con la utilización de NaH se observó la aparición de subproductos y de forma general, muy poco avance en las reacciones cuando se aplicaron las modificaciones mencionadas.

Las chalconas indólicas **15a-b** fueron purificadas por medio de cromatografía preparativa con la mezcla de eluentes tolueno: acetato de etilo (4:1) y cloroformo: metanol (93:7), respectivamente.

6.1.2 Síntesis del derivado indólico 16

Bajo las mismas condiciones de reacción utilizadas para la síntesis de los compuestos **15a-b**, se intentó obtener otra chalcona indólica, pero de forma inesperada se aisló el producto ciclado, Figura 24.

En La tabla 3 se incluyen las mejores condiciones de reacción empleadas para su obtención.

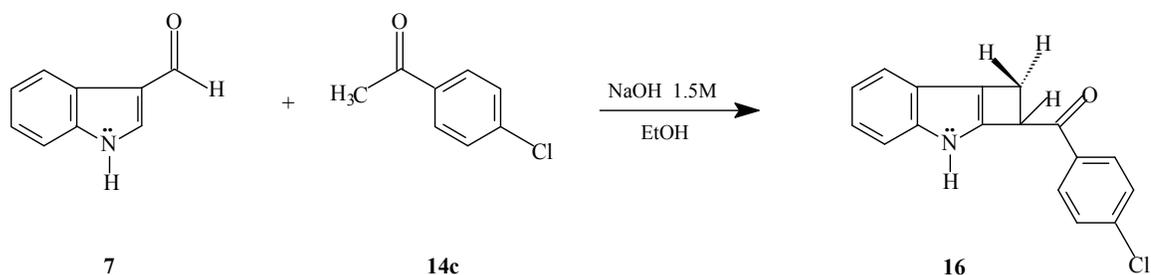


Figura 24. Obtención del derivado indólico **16**

La purificación de este compuesto se realizó por medio de cromatografía de columna utilizando como eluyente una mezcla tolueno: acetato de etilo (1:1). Se utilizó una relación molar 1.1:1 entre el indol-3-carboxaldehído **7** y la *p*-Cloro acetofenona **14c**.

6.2 Mecanismo y caracterización de las moléculas sintetizadas **15a-b** y **16**

En este apartado se presenta el mecanismo de formación de los derivados indólicos y una discusión del análisis espectroscópico ($^1\text{H-RMN}$ y $^{13}\text{C-RMN}$) y del espectro de masas con sus posibles fragmentaciones, sobre la cual se apoya la elucidación estructural de los compuestos sintetizados.

6.2.1 Mecanismo y caracterización de las chalconas indólicas **15a-b**

Mecanismo de las chalconas indólicas **15a-b**

La formación de las chalconas indólicas **15a-b** corresponde al mecanismo de condensación de Claisen-Schmidt esperado, el cual consta de varias etapas.

La primera es la abstracción del hidrógeno ácido de las cetonas aromáticas *p*-sustituidas por la base, esto origina la formación del carbanión, el cual a continuación se condensa sobre el carbono carbonílico del indol-3-carboxaldehído, dando lugar a un producto intermedio que al protonarse forma una β -hidroxi cetona que finalmente pierde una molécula de agua para generar la respectiva chalcona indólica, tal como se observa en la Figura 25.

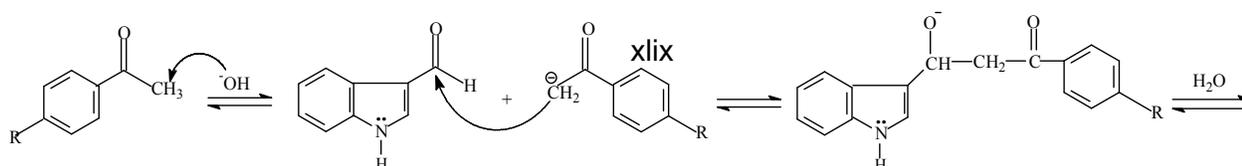


Figura 25. Mecanismo para la formación de los compuestos **15a-b**

Caracterización espectroscópica de los compuestos carbonílicos α,β -insaturados 15a-b

Las estructuras de los nuevos derivados indólicos fueron confirmadas por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^1H - y ^{13}C -RMN) y espectrometría de masas. A continuación se describe la caracterización de estos compuestos.

Caracterización espectroscópica para el producto 15a

Análisis del espectro de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN

La medición espectroscópica del compuesto carbonílico α,β -insaturado **15a** se realizó en metanol deuterado (MeOH-d_4), cuya señal está ubicada a $\delta = 4.9$ ppm, la elucidación estructural de este compuesto se apoya en la respectiva simulación que concuerda con las señales encontradas. En la Figura 26, se observa el espectro general de ^1H -RMN, donde se aprecia una señal correspondiente al grupo NH del anillo indólico a $\delta = 9.25$ ppm, entre 8.30- 7.20 ppm se encuentran las señales correspondientes a la región aromática y los protones vinílicos.

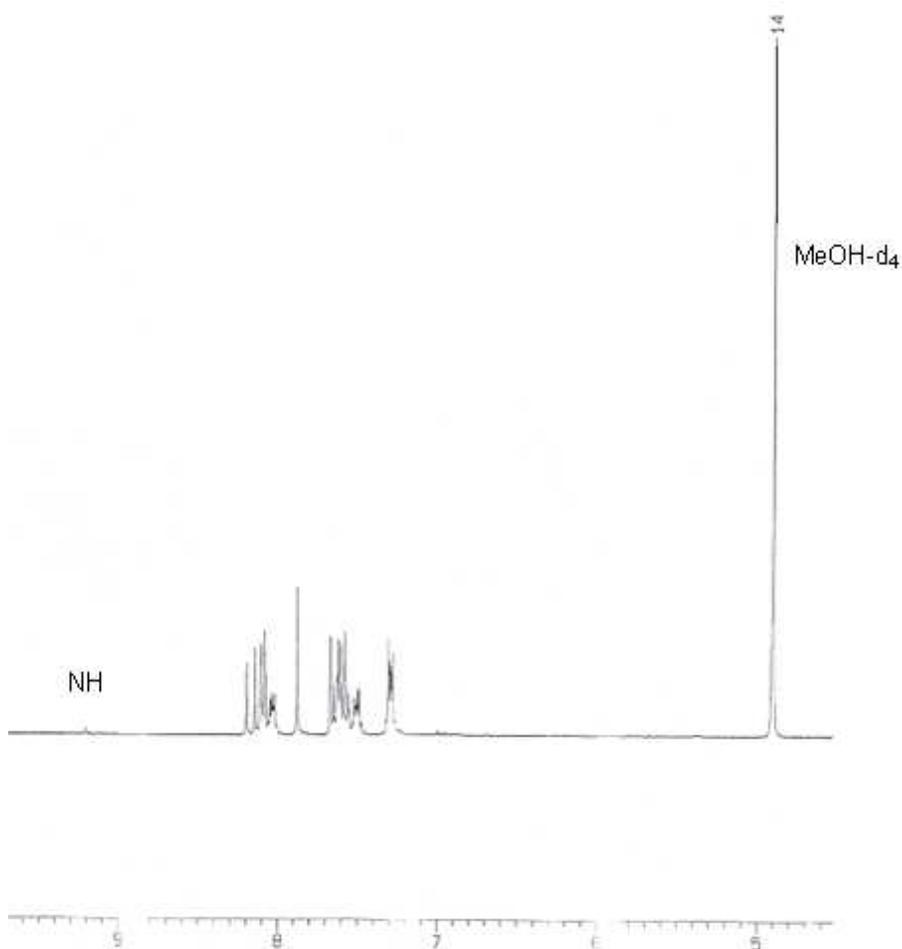


Figura 26. Espectro de ¹H-RMN del producto **15a**

La Figura 27, corresponde al espectro expandido de la región aromática. Cabe resaltar la señal de dos dobletes, con constantes de acoplamiento vecinal cuya magnitud para H_β es de J= 15.2 Hz y para H_α es de J=15.6 Hz, características de un sistema olefínico cuyos protones están en posición trans. El hidrógeno H_α aparece a δ = 7.59 ppm, mientras que el hidrógeno H_β aparece desplazado a campo ligeramente más bajo a δ = 8.13 ppm, debido al efecto anisotrópico ejercido por su cercanía con el grupo carbonilo.

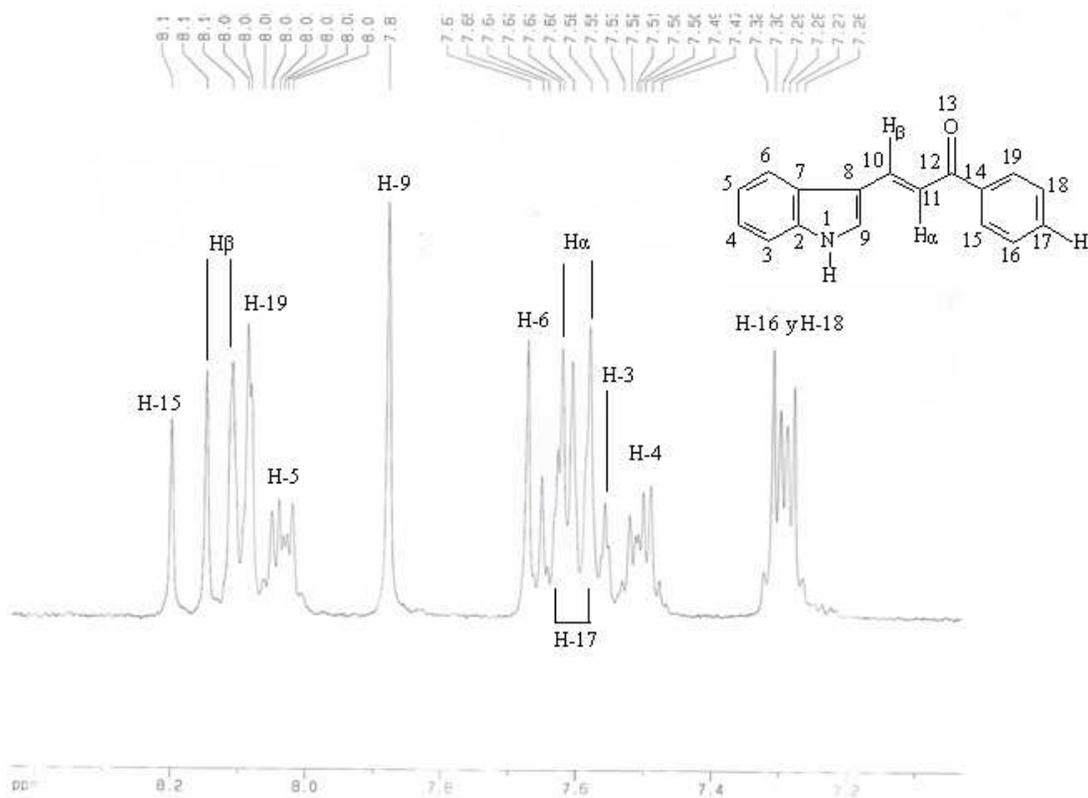


Figura 27. Expansión de la región aromática de ¹H-RMN para la chalcona **15a**

Las señales asignadas al grupo benzoilo son las siguientes, a $\delta = 8.2$ ppm y a $\delta = 8.1$ ppm se encuentran los protones H-15 y H-19, desprotegidos por la cercanía al grupo carbonilo, en tanto que los protones H-16 y H-18 aparecen como dobles dobles a $\delta = 7.29$ ppm.

A campo un poco más bajo se observan las señales para el anillo indólico, así, a $\delta = 8.03$ ppm un multiplete que corresponde al protón H-5, a $\delta = 7.87$ ppm un singlete del protón H-9, a $\delta = 7.66$ ppm un doblete del protón H-6, a $\delta = 7.55$ ppm un multiplete del protón H-3 y por último, la señal a $\delta = 7.51$ ppm registrada como un multiplete para el protón H-4.

Análisis del espectro de ¹³C-RMN

La Figura 28 muestra el espectro general de ^{13}C -RMN obtenido con la técnica ATP para el compuesto **15a**, todas las señales registradas concuerdan con las esperadas. En él se pueden distinguir las señales correspondientes al grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) $\delta = 194$ ppm y cuatro señales para los carbonos cuaternarios C-14, C-2, C-7 y C-8, localizadas en la parte superior. En la parte inferior se encuentran los carbonos vinílicos C_α y C_β a $\delta = 145$ y a $\delta = 120$ ppm, respectivamente, las señales restantes corresponden a los carbonos aromáticos CH.

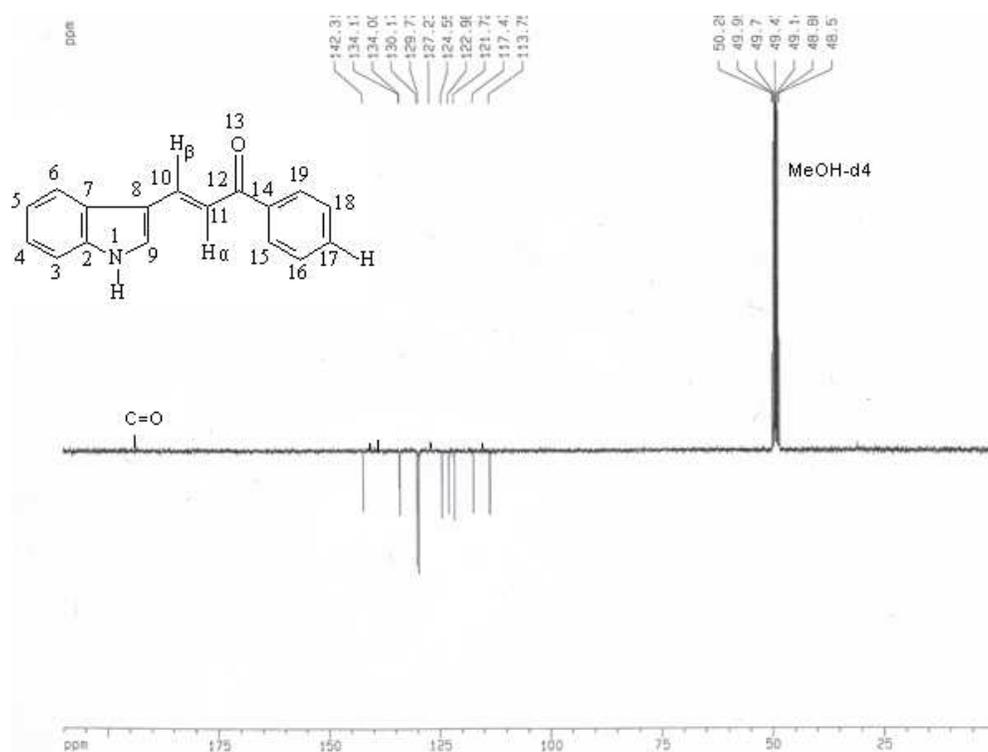


Figura 28. Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto **15a**

Señales en el espectro de masas

El espectro de masas para la chalcona **15a** (Figura 29) se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a masas, en él se observa tres picos principales, el ión molecular con una relación a $m/z = 247$, el cual corresponde

al peso molecular esperado, el pico originado por la pérdida del grupo fenílico a $m/z = 170$ y el pico formado por la pérdida del fragmento $C_3H_2O^+$ a $m/z = 115$. El patrón de fragmentación sugerido se puede observar en la Figura 30.

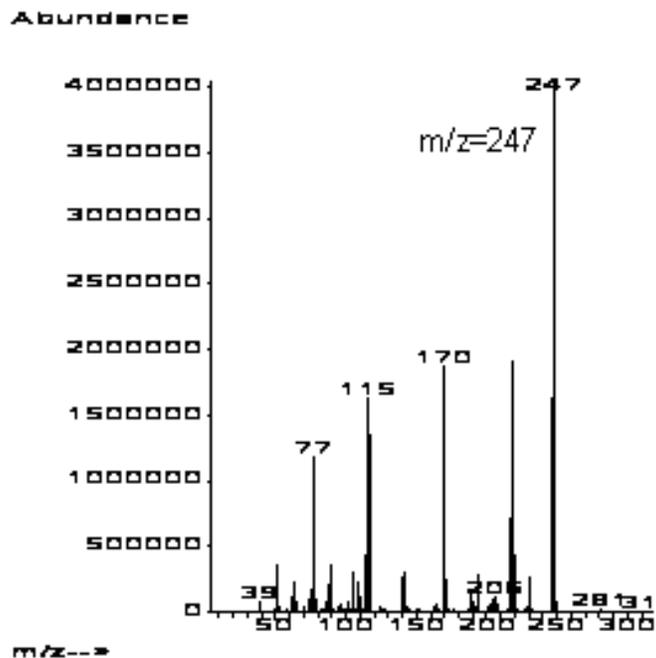


Figura 29. Espectro de masas para el producto **15a**

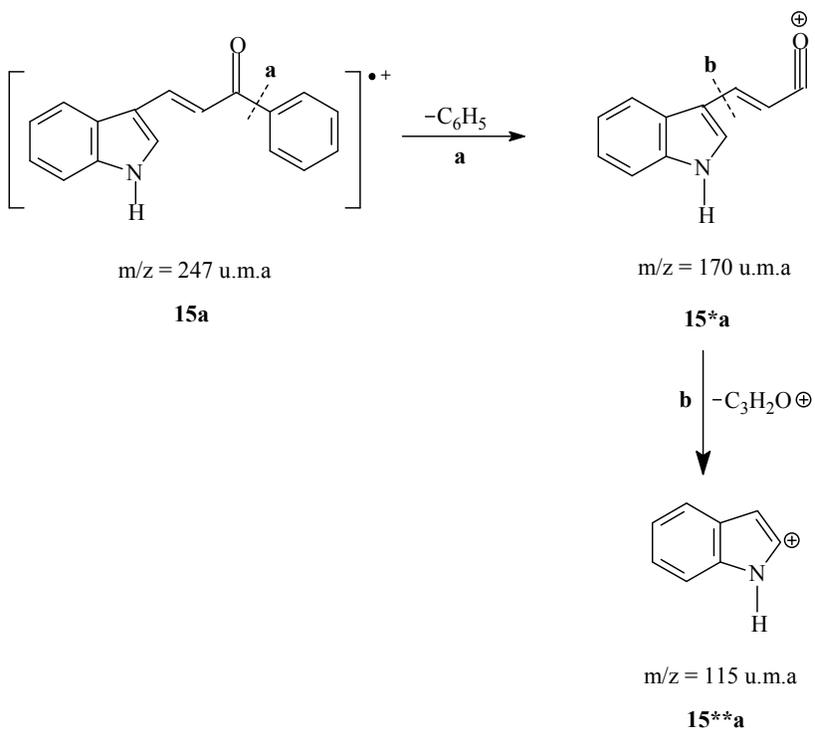


Figura 30. Fragmentación sugerida para el producto **15a**

Caracterización espectroscópica para el producto **15b**

Análisis del espectro de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN

La medición espectroscópica para la chalcona indólica **15b** se realizó en dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6). En el espectro general de ^1H -RMN se observa, Figura 31, a $\delta = 8.85$ ppm una señal que corresponde al grupo NH del anillo indólico, entre $\delta = 8.50$ - 7.10 ppm se encuentran las señales correspondientes a los protones aromáticos y vinílicos y a $\delta = 3.8$ ppm se observa un singlete que integra para tres protones correspondiente al grupo metoxi (OCH_3), sustituyente del anillo bencénico.

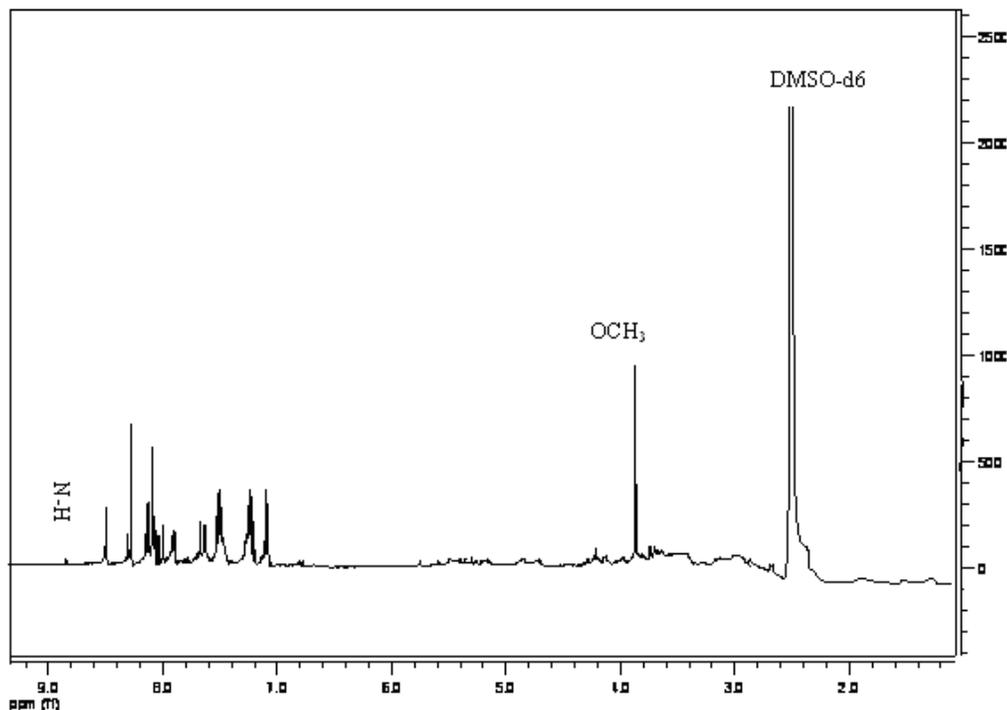


Figura 31. Espectro general de ^1H -RMN para el compuesto **15b**

El espectro de la región aromática expandida se encuentra en la Figura **32**, en esta se pueden observar dos dobletes, el primero corresponde al

desdoblamiento del hidrógeno H_β, el cual aparece desplazado a campo más bajo a δ = 8.01 ppm, el otro doblete se atribuye al hidrógeno H_α y aparece a δ= 7.65 ppm. Estos protones tienen igual constante de acoplamiento vecinal J= 15.6 Hz, característica de un sistema olefínico cuyos protones están en posición trans. A campo más bajo se registran las siguientes señales, a δ= 8.5 ppm un singlete para el protón H-9 ubicado en esta posición debido a la influencia del nitrógeno del indol, a δ= 8.59 ppm y a δ= 8.22 ppm dos dobletes para los protones H-15 y H-19 respectivamente, que hacen parte del grupo benzoilo y se encuentran desprotegidos por la presencia del grupo carbonilo y a δ= 8.09 ppm un doblete para el H-6 del indol.

A campo ligeramente más alto, a δ= 7.51 ppm, se aprecia un multiplete correspondiente a los protones H-4 y H-5 del núcleo indólico, a δ=7.45 ppm un multiplete perteneciente a los protones H-3 y H-16. El protón H-6 está protegido por encontrarse en una posición *orto* respecto al sustituyente electrón donador metoxi (OCH₃), finalmente a δ=7.2 ppm un doblete para H-18, también protegido por este grupo electrón donador.

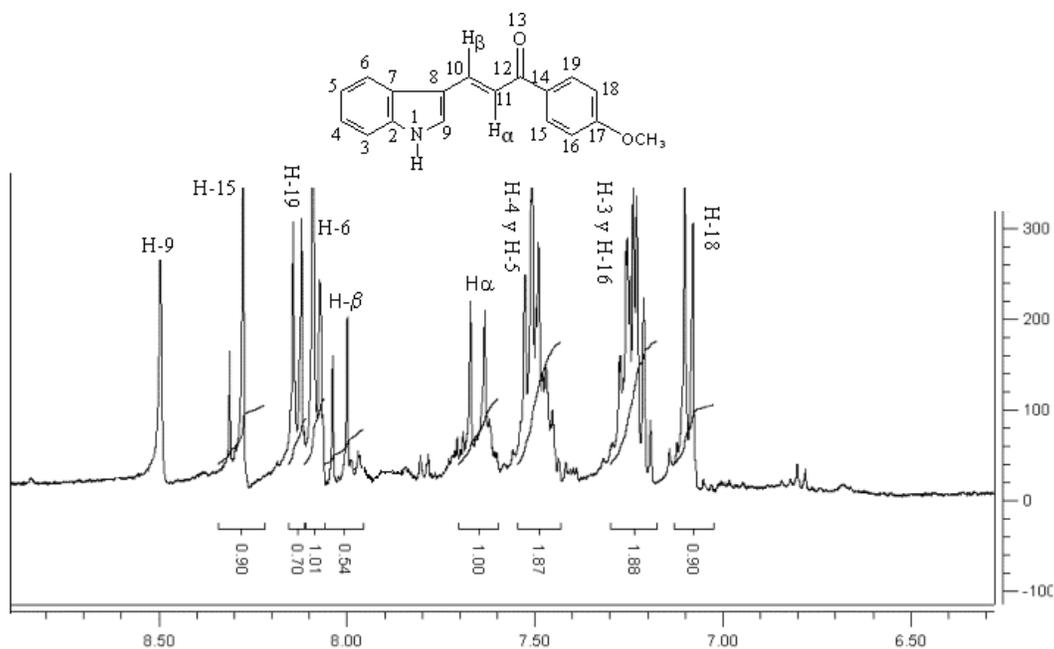


Figura 32. Expansión de la región aromática de ¹H-RMN para el producto **15b**

Análisis del espectro de ^{13}C -RMN

En la Figura 33 se muestra el espectro general de ^{13}C -RMN para el compuesto α,β -insaturado **15b**. Su elucidación estructural se apoya en la respectiva simulación que concuerda con las señales encontradas. Así, a $\delta=188$ ppm se encuentra la señal correspondiente al carbonilo (C=O), entre 163-117 ppm se localizan los cinco carbonos cuaternarios (C-2, C-14, C-7, C-8 y C-17) y los carbonos aromáticos, a $\delta=57$ ppm el carbono del grupo metoxi.

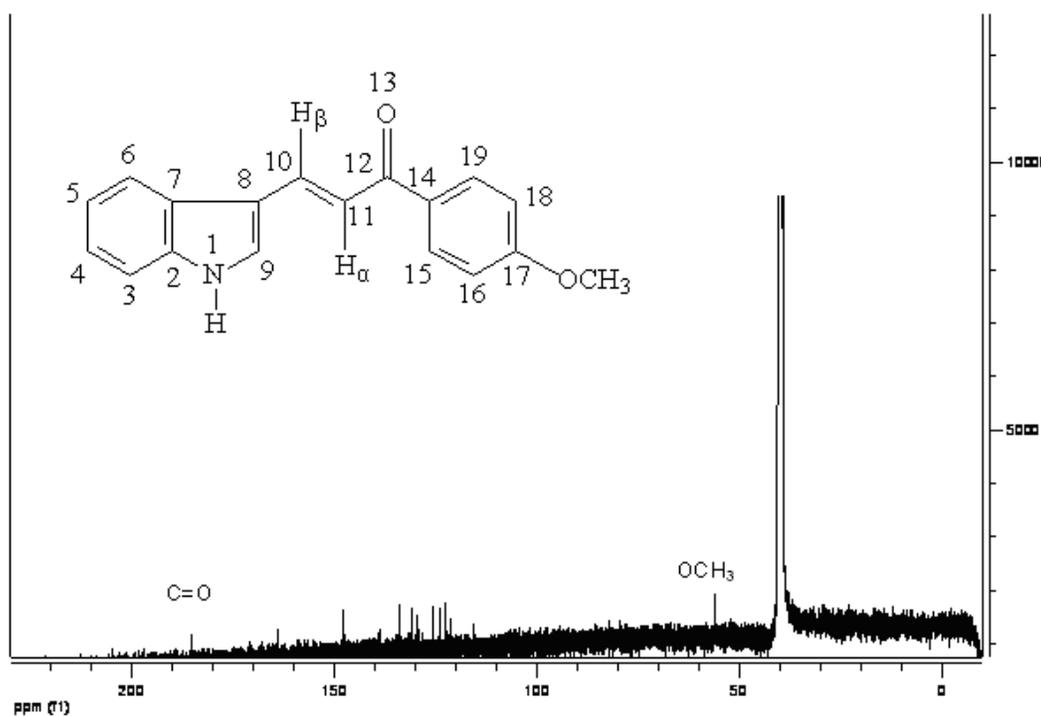


Figura 33. Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto **15b**

6.2.2 Mecanismo y caracterización del derivado indólico **16**

Mecanismo de formación del derivado indólico **16**

El mecanismo de formación de la molécula **16**, transcurre de forma análoga al descrito para los dos compuestos anteriores hasta la formación de la chalcona, luego se sugiere una electrociclación [2+2] dando lugar a un producto

intermedio **16*** el cual por medio de una migración sigmatrópica de hidrogeno [1,3-H] genera el producto inesperado, en el cual se restablece la aromaticidad del anillo indólico, Figura 34.

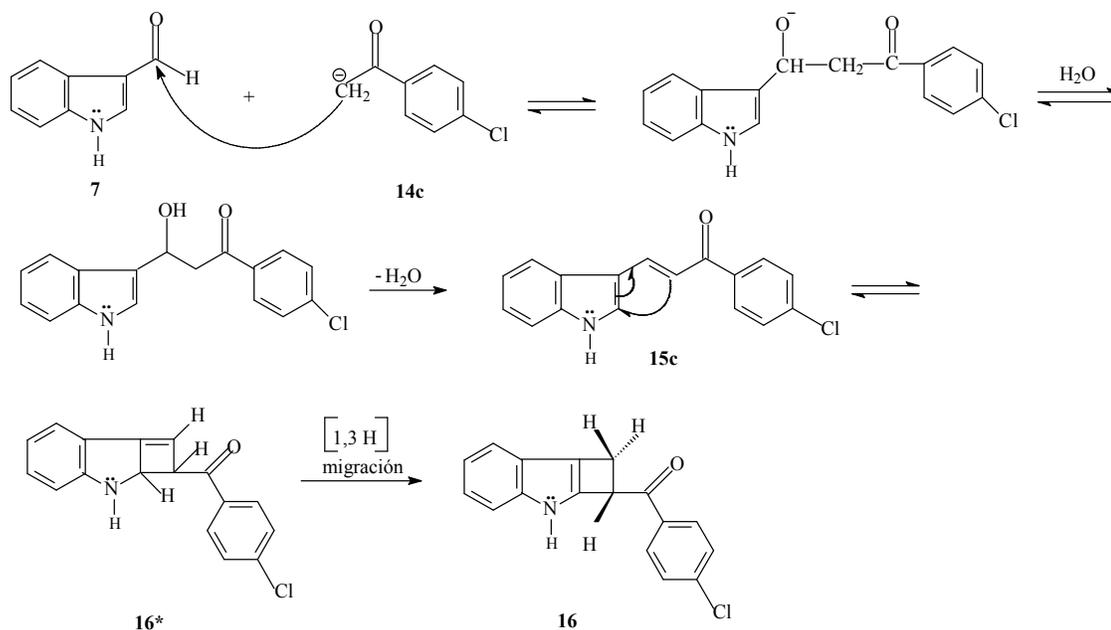


Figura 34. Mecanismo propuesto para la formación del producto **16**

Caracterización espectroscópica del derivado indólico **16**

Análisis del espectro de ^1H -RMN

El espectro de ^1H -RMN del producto **16** fue tomado en dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-d_6). Su caracterización estructural está apoyada en la simulación y todas las señales concuerdan con los resultados obtenidos. Se observan multipletes en la región alifática $\delta = 3.80 - 5.30$ ppm y la señal para el protón NH como un singlete ancho a $\delta = 8.88$ ppm identificando al anillo indólico, Figura 35.

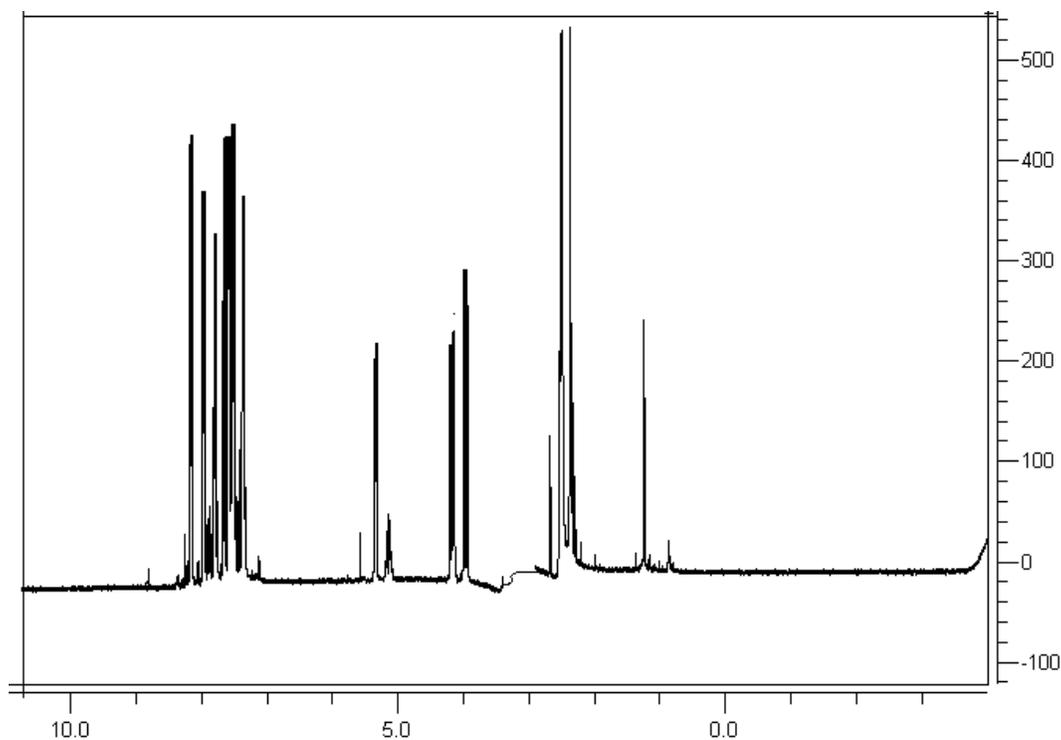


Figura 35. Espectro general de ^1H -RMN para el compuesto **16**

La expansión de la región alifática del producto **16** muestra tres multipletes, Figura 36, se atribuyen a los protones metilénicos 10CH_2 y al protón metínico 11CH . Los protones metilénicos aparecen como dobles dobletes y presentan un acoplamiento geminal a ^2J como un sistema AB y un acoplamiento vecinal a ^3J con el protón X del carbono quiral C-11.

La primera señal a $\delta = 3.97$ ppm aparece como un doble doblete con constante $J_{\text{gem}} = 4.0$ Hz y $J_{\text{trans}} = J_{\text{ax}} = 18$ Hz y es asignada para el protón Ha. La segunda señal a $\delta = 4.17$ ppm corresponde al protón H-11 y se registra como un doble doblete con constantes de acoplamiento $J_{\text{trans}} = J_{\text{xa}} = 18.2$ Hz y $J_{\text{cis}} = J_{\text{xb}} = 9.2$ Hz. A un desplazamiento de $\delta = 5.34$ ppm se encuentra la señal para el protón Hb, también como un doble doblete con constantes de acoplamiento $J_{\text{gem}} = 4.0$ Hz y $J_{\text{cis}} = J_{\text{bx}} = 9.2$ Hz.

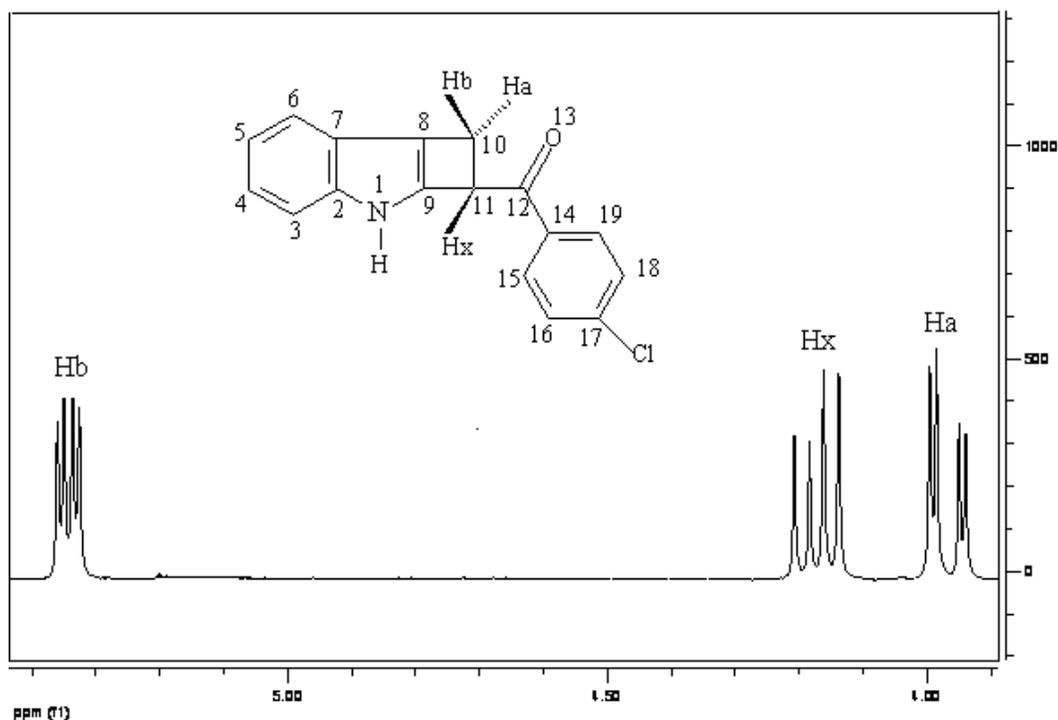


Figura 36. Región alifática expandida para el producto **16**

La expansión de la región aromática se muestra en la Figura 37. A campo más alto, se observan tres señales, a $\delta = 7.36$ ppm un doblete para el protón H-3 protegido por el efecto β del nitrógeno del núcleo indólico, a $\delta = 7.52$ ppm un triplete asignado al protón H-5, a $\delta = 7.57$ ppm, los protones H-16 y H-18, los cuales son químicamente equivalentes y aparecen como multipletes. A campo ligeramente más bajo se registran cuatro señales, a $\delta = 7.67$ ppm un triplete correspondiente al protón H-4, a $\delta = 7.79$ ppm un doblete perteneciente al H-6 y finalmente los protones H-15 y H-19 del grupo benzoilo aparecen como dobletes debido a su diferente ambiente químico a $\delta = 7.96$ y $\delta = 8.17$ ppm, respectivamente.

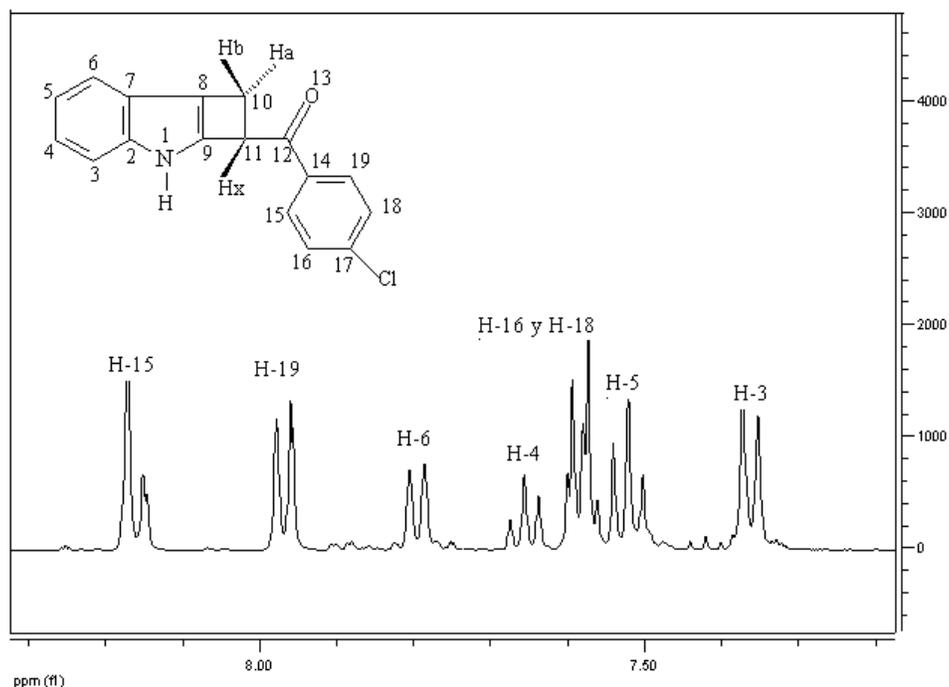


Figura 37. Región aromática expandida para el derivado indólico **16**

Análisis del espectro de ^{13}C -RMN

El espectro de ^{13}C -RMN fue tomado en dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-d_6), y muestra claramente señales de carbonos alifáticos y aromáticos. Entre las señales más importantes cabe destacar la del carbono C-12, localizada a $\delta=198$ ppm, que corresponde al grupo carbonilo $\text{C}=\text{O}$, a $\delta=68$ ppm se encuentra un carbono metínico ($-\text{CH}-11$) y a $\delta=30.7$ ppm se ubica el carbono metilénico ($-\text{CH}_2$). Las señales restantes, entre $\delta=148$ y $\delta=120$ ppm, corresponden a los carbonos cuaternarios y aromáticos, Figura 38.

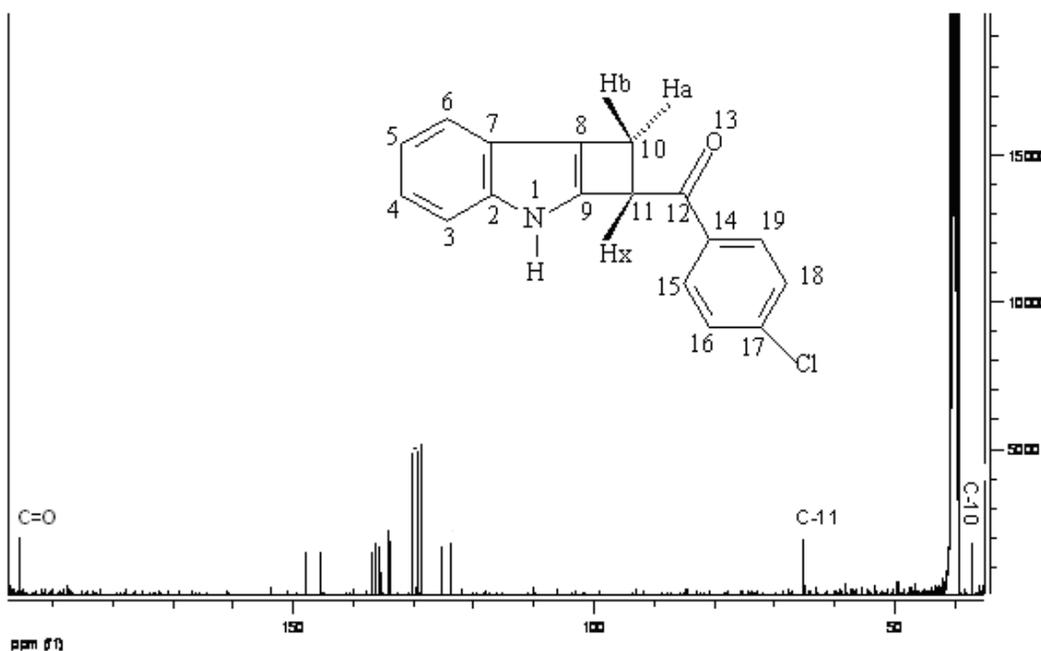


Figura 38. Espectro de ¹³C- RMN para el producto 16

Señales en el espectro de masas

El espectro de masas para este compuesto fue tomado utilizando un cromatógrafo de gases acoplado a masas. En el patrón de fragmentación aparecen cuatro picos; el del ión molecular con una relación a $m/z=281$ correspondiente al peso molecular esperado, el pico por la pérdida del cloro a $m/z = 246$, el correspondiente a la ruptura α al carbonilo a $m/z = 170$ y el pico a $m/z = 115$ originado por la pérdida de la región alifática y el grupo carbonilo, Figura 39, El patrón de fragmentación planteado para este compuesto se presenta en la Figura 40.

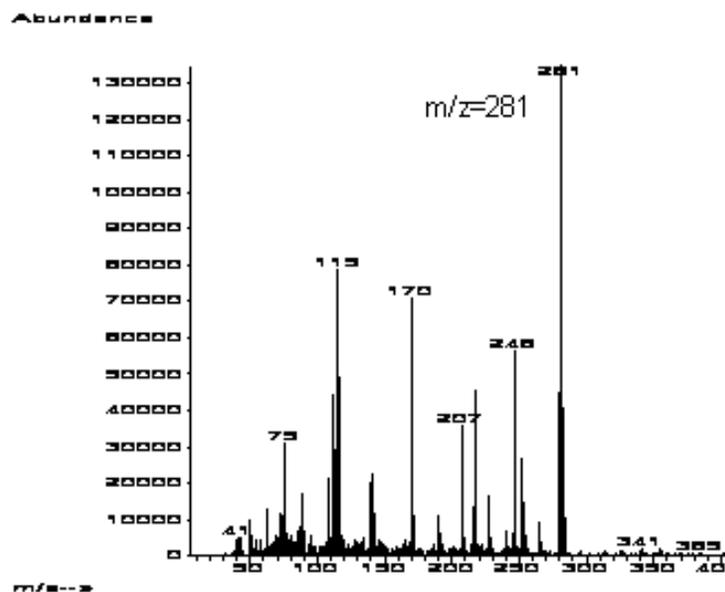


Figura 39. Espectro de masas para el producto 16

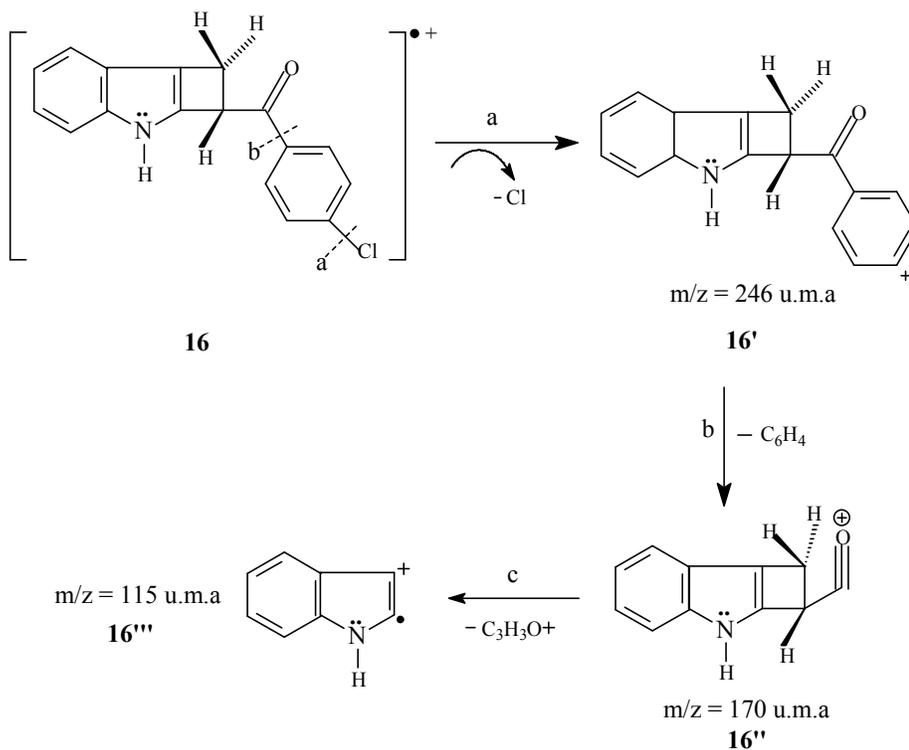


Figura 40. Fragmentación sugerida para el producto 16

6.3 Cálculos computacionales

En esta sección se describe el análisis de algunas propiedades termodinámicas, geométricas, electrónicas y cinéticas, así como los índices locales de reactividad local Fukui de las moléculas obtenidas. Algunos parámetros fueron seleccionados en la búsqueda de soporte teórico que sustente la ciclación ocurrida en el compuesto **16**.

6.3.1 Propiedades termodinámicas ΔH , ΔS , ΔG y constantes de equilibrio

En este apartado se calculó la constante de velocidad y las propiedades termodinámicas ΔH , ΔS , ΔG para la etapa de electrociclación en las chalconas indólicas **15a-c**, suponiendo que las cetonas α,β -insaturadas **15a-b** se ciclan, Figura 41. También se calcularon estos parámetros para la etapa de formación de las chalconas indólicas **15a-b** y la esperada **15c** que dió origen al derivado indólico **16**, Figura 42.

En la tabla 4, se aprecian los valores para el cambio en la energía de Gibbs, ΔG los cuales son positivos, señalando que las reacciones no son espontáneas. En cuanto a la variación de la entalpía, ΔH , todos los valores son positivos, indicando que las reacciones transcurren de forma endotérmica. Con relación al cambio de entropía, ΔS , todos los valores son negativos, mostrando que los productos poseen menor entropía que los reactivos, lo que implica un mayor orden en su estructura.

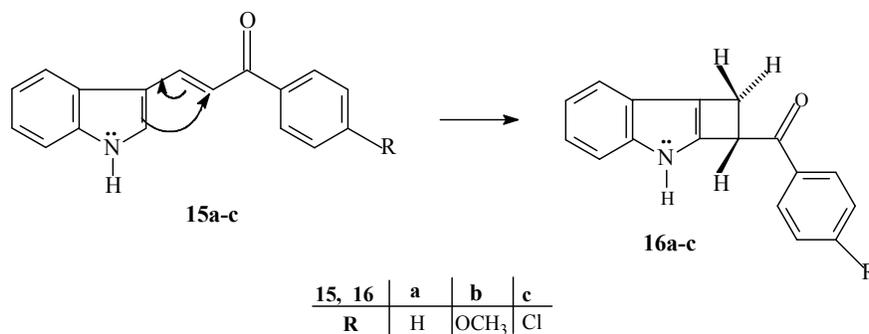


Figura 41. Etapa de electrociclación para formar los productos **16a-c**

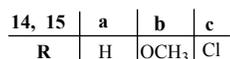
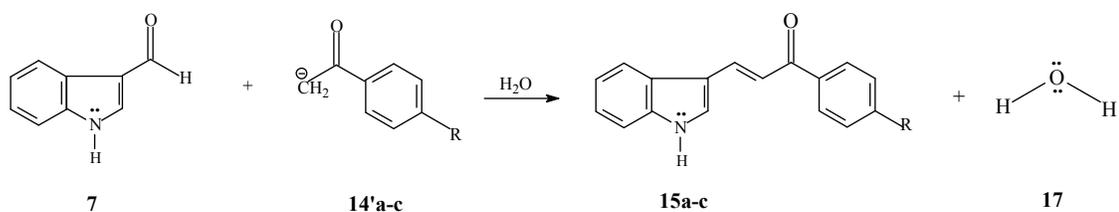


Figura 42. Etapa de formación de las chalconas indólicas **15a-c**

Tabla 4. Propiedades termodinámicas y constantes de equilibrio para los compuestos **15a-c**, calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d)

Etapas de formación de las chalconas indólicas				
Compuesto	ΔG (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/molK)	K_{equilibrio(349K)}
15a	62,266	0,319	-20,3	4,781E-10
15b	60,746	0,318	-21,7	8,088E-10
15c	60,321	0,316	-20,1	9,365E-10
Etapas de electrociclación				
16a	140,132	2,120E-4	-19,4	1,061E-21
16b	138,401	2,053E-4	-27,4	1,927E-21
16c	139,226	2,118E-4	-20,2	1,441E-21

Los valores calculados para las constantes de equilibrio $K_{\text{equilibrio (349K)}}$, no permiten inferir que el compuesto sustituido con cloro **15c**, se vea favorecido hacia una posterior ciclación dado que las constantes de equilibrio, son similares para las tres chalconas indólicas. Además, los signos positivos de ΔG explican el bajo orden de las constantes de equilibrio calculadas.

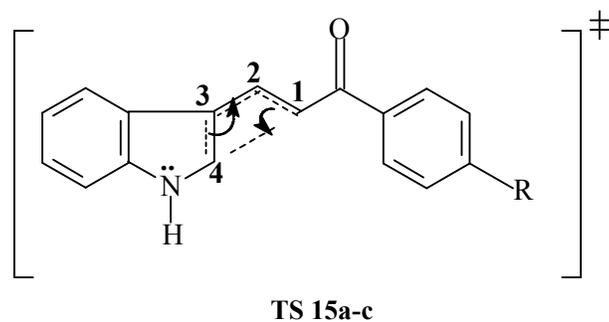
La ciclación registrada para el compuesto **15c**, se puede entonces argumentar como resultado de la influencia intrínseca de reactividad de esta molécula por la presencia del sustituyente Cl.

6.3.2 Propiedades geométricas

Análisis de las distancias de enlace de los compuestos carbonílicos α,β -insaturados 15a-c

El análisis de esta variable se realizó con el fin de buscar un soporte computacional al resultado experimental obtenido con la ciclación de la chalcona indólica **15c** hacia el derivado indólico **16**.

En la Tabla 5, Se registran las distancias atómicas del fragmento **C1-C4**, que está directamente implicado en el proceso de electrociclación hacia la formación del derivado del ciclobuteno. La Figura 43, presenta los átomos del fragmento señalado para el estado de transición esperado de acuerdo al mecanismo sugerido.



14, 15	a	b	c
R	H	OCH ₃	Cl

Figura 43. Distancias de enlace en el fragmento **C1-C4** para un estado de transición sugerido en los compuestos **15a-c**

Tabla 5. Distancias de enlace, Å, de las chalconas **15a-c** en el estado fundamental y en el estado de transición, calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d)

Chalcona	Distancia, Å			
	C1-C2	C2-C3	C3-C4	C4-C1
15a	1.354	1.440	1.380	3.135
TS 15a	1.463	1.376	1.457	1.978
15b	1.353	1.440	1.380	3.137
TS 15b	1.461	1.367	1.465	2.000
15c	1.354	1.440	1.380	3.135
TS 15c	1.464	1.376	1.458	1.976

Así, al comparar el enlace entre C1-C2 y C3-C4 en la chalcona **15c** se tiene el valor esperado para un doble enlace (1.35 y 1.38 Å, respectivamente) cuyos valores aumentan a 1.46 Å en el estado de transición, señalando su elongación hacia un enlace sencillo. La distancia del enlace entre **C2-C3** es de 1.40 Å en el estado fundamental de la chalcona **15c**, el cual experimenta un acortamiento en el estado de transición a 1.37 Å, permitiendo inferir la formación de un enlace doble.

Quizá el valor que más respalda la electrociclación de **15c** es la distancia atómica entre C1-C4, cuya longitud cambia de 3.13 Å (estado fundamental) a 1.96 Å en el estado de transición. Esta disminución de distancia significativa sugiere la notable aproximación de estos átomos, lo cual correlaciona con el mecanismo de ciclación propuesto.

Las tendencias anteriores son similares para las chalconas **15a-b**, excepto para la variación en la longitud del enlace C1-C4 del estado fundamental al estado de transición en la chalcona **15c**, este enlace se acorta a un valor un poco menor comparado con las otras dos chalconas, señalando para este caso que la ciclación es ligeramente favorecida.

6.3.3 Propiedades electrónicas: cargas de Mulliken

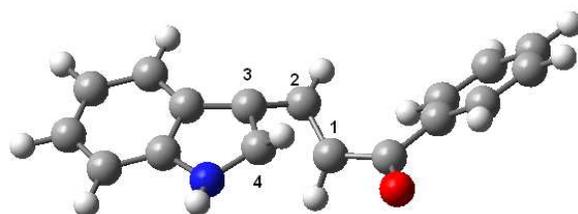
El análisis de las cargas de Mulliken se realizó en el fragmento C1-C4 de las chalconas **15a-c** y en sus respectivos estados de transición, Figura 44, que generan los compuestos posteriores a la electrociclación. Encontrándose que en los carbonos C1 de las moléculas mencionadas y sus correspondientes estados de transición, hay una concentración de carga negativa lo que podría favorecer el proceso de electrociclación, Tabla 6.

Tabla 6. Cargas de Mulliken en los carbonos C1-C4 de los compuestos **15a-c**

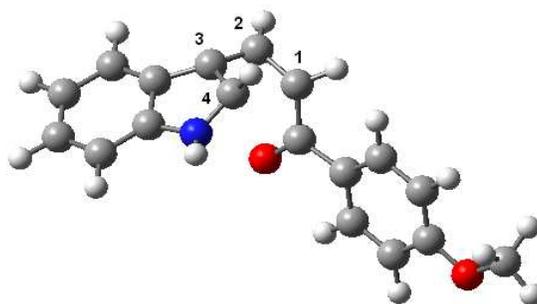
Molécula	C1	C2	C3	C4	N
15a	-0.250	-0.132	0.065	0.021	-0.688
15b	-0.213	-0.134	0.066	0.020	-0.689
15c	-0.215	-0.131	0.064	0.023	-0.687
TS 15a	-0.285	-0.163	0.038	0.011	-0.672
TS 15b	-0.327	-0.121	0.061	0.006	-0.658
TS 15c	-0.288	-0.164	0.039	0.013	-0.671

La comparación de las cargas en los carbonos C3 y C4 de los compuestos **15a-c**, muestran una similitud y signo positivo, lo que da indicios sobre un déficit de carga negativa en estas posiciones debido al movimiento electrónico.

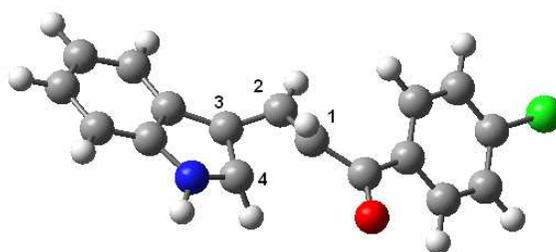
La carga de Mulliken sobre el átomo de nitrógeno muestra valores muy uniformes, lo que sugiere que los sustituyentes no influyen sobre la carga de este átomo debido a la separación espacial entre ellos.



TS 15a



TS 15b



TS 15c

Figura 44. Estructuras de los estados de transición correspondientes a la electrociclación de las chalconas indólicas **15a-c**

6.3.4 Propiedades cinéticas: Constantes de velocidad k (349K)

También se calcularon las constantes de velocidad para la electrociclación de la chalcona indólica **15c**, proceso transcurrido a través de una ciclación [2+2] y el rearreglo sigmatrópico de [1,3-H], en la Figura 45 se muestran las estructuras del estado de transición para el proceso de ciclación. En la Tabla 7, se presentan estos valores, de donde se puede inferir que la ciclación es la etapa rápida y la migración es el paso determinante de esta reacción. Las magnitudes de estas constantes de velocidad son muy bajas mostrando que los parámetros cinéticos no explican la formación del derivado indólico **16**.

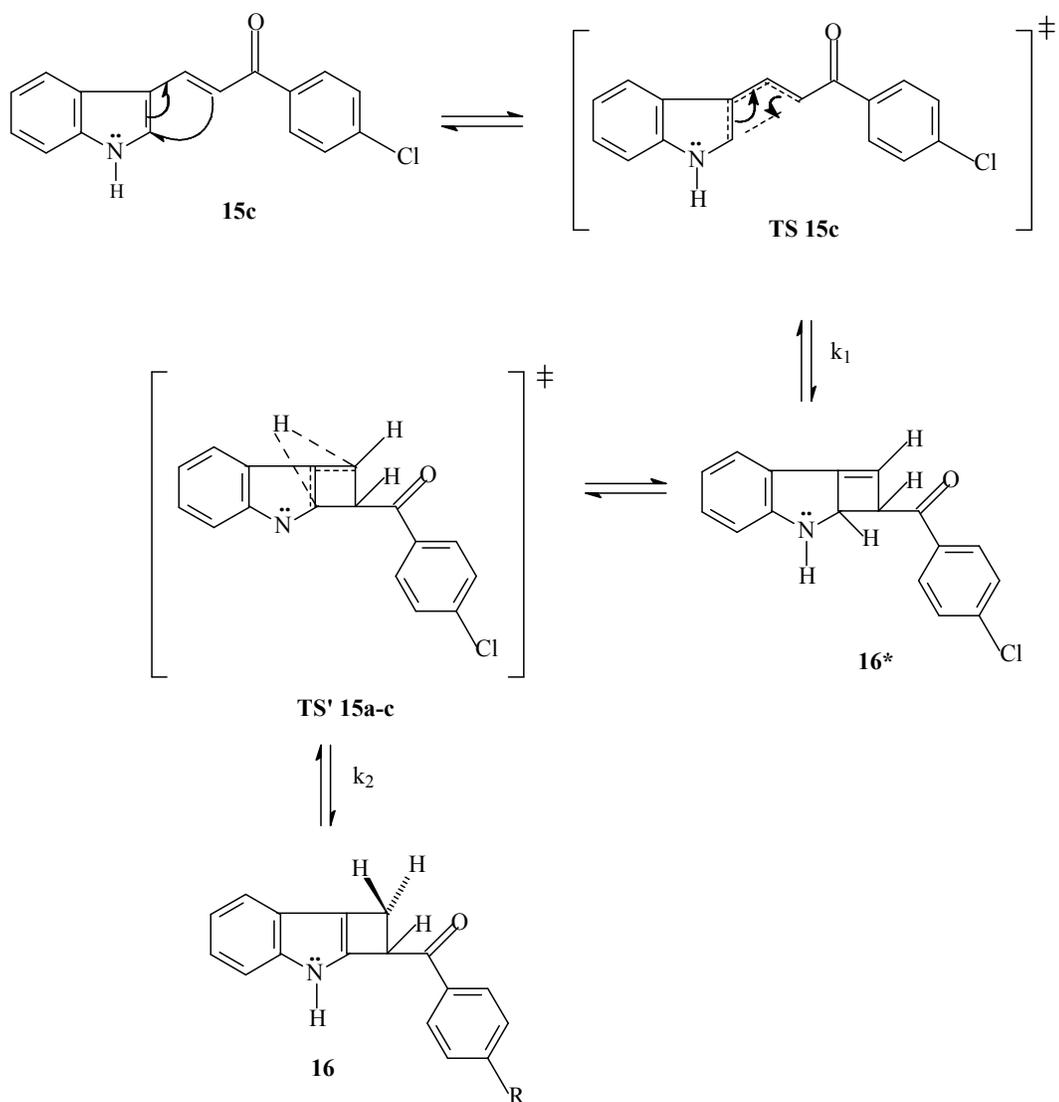


Figura 45. Etapas para formar el producto **16**

Tabla 7. Parámetros de activación y constantes de velocidad en el proceso de formación del producto **16**, calculadas al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d)

Etapa	ΔH^\ddagger (kJ/mol)	ΔS^\ddagger (J/mol K)	ΔG^\ddagger (kJ/mol)	k_{349K} (s ⁻¹)
Electrociclación	240,76	-28,74	250,79	2,11E-25
Sigmatrópica	54,257E-5	-5,28	342,30972	4,23E-39

En la tabla anterior se observa que las entropías de activación ΔS^\ddagger son negativas, esto indica que el estado de transición (**TS 15c**) correspondiente a la etapa de electrociclación es más organizado que el reactivo (**15c**), debido a

que la estructura del **TS 15c** es un ciclo de cuatro miembros que se caracteriza por ser rígido, confiriéndole poco movimiento y por lo tanto más orden.

De forma similar, la entropía de activación ΔS^\ddagger es negativa para la etapa del rearreglo sigmatrópico, indicando que el estado de transición (**TS' 15c**) es más organizado que el reactivo (**16***). Lo anterior se explica como consecuencia del menor número de grados de libertad rotacionales en la estructura del **TS' 15c** que le proporcionan más orden.

6.3.5 Análisis de los índices locales de reactividad Fukui

En este apartado se compararon los índices locales de reactividad Fukui de las chalconas indólicas sintetizadas **15a-b** y de las chalconas **15c** y **18**. La **15c** corresponde al producto esperado de una condensación aldólica entre el indol-3-carboxaldehído y la *p*-cloroacetofenona, pero en este caso particular se sugiere como el producto intermedio en la formación de la molécula obtenida **16**, según el mecanismo sugerido Figura 34. La molécula **18** corresponde a una chalcona clásica, resultado de la condensación entre el benzaldehído y la *p*-cloroacetofenona cuya estructura permite comparar la influencia de la presencia del anillo pirrólico. Las chalconas mencionadas anteriormente se muestran en la Figura 46.

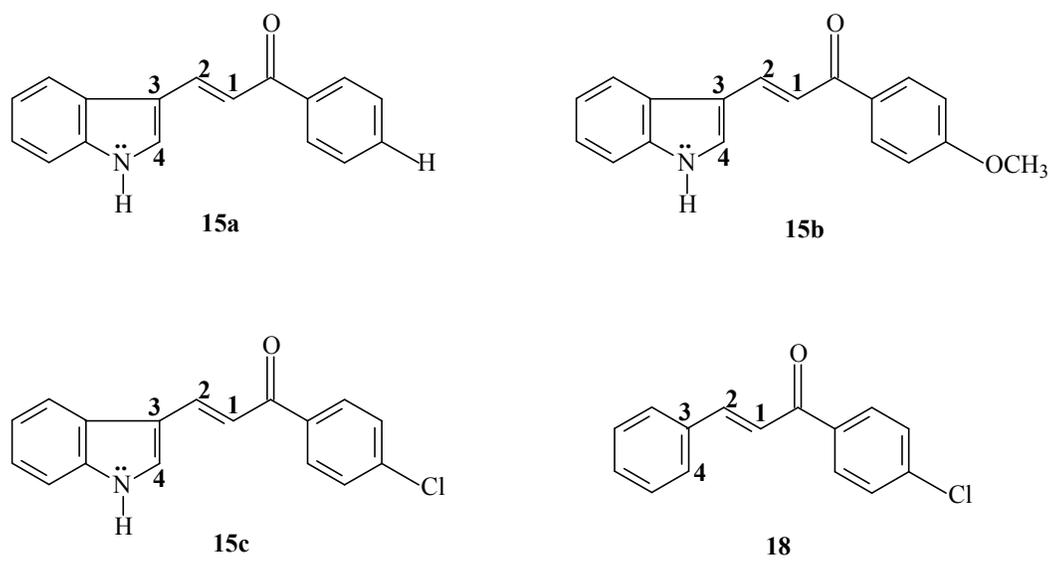


Figura 46. Estructura de las cetonas α,β -insaturadas

En particular se analizaron las cargas del segmento que participa en la electrociclación cuyos átomos están marcados con los números 1-4, en la Tabla 8, se puede observar que el índice de Fukui para adiciones electrofílicas en el átomo **C3** es del mismo orden en las chalconas indólicas, siendo ligeramente mayor el valor de la chalcona **15c** (f_x^-) (0.1845); el cual puede sugerir que un par electrónico se está deslocalizando en ese sentido para electrociclarse. Al comparar el valor del centro donador **C4** entre la chalcona **15c** y la chalcona **18** se observa que el índice de Fukui (f_x^-) es mayor para la molécula **15c** (0.1383), la concentración de carga negativa en este átomo es un punto de apoyo para suponer el favorecimiento de un subsecuente proceso de electrociclación para la molécula **15c**, cuyo posterior rearrreglo sigmatrópico permite que se recupere la aromaticidad del anillo pirrólico para generar el derivado indólico **16**.

Tabla 8. Índices de Fukui donadores f_x^- y aceptores f_x^+ en las moléculas **15a-c** y **18**, al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d)

Molécula	C1/ f_x^-	C2/ f_x^+	C3/ f_x^-	C4/ f_x^-	N/ f_x^-	C=O (f_x^+)
15a	0.1940	0.2108	0.1837	0.1406	0.1078	0.1637
15b	0.1947	0.2143	0.1813	0.1418	0.1073	0.1598
15c	0.1910	0.2034	0.1845	0.1383	0.1076	0.1637
18	0.2727	0.1952	0.1457	0.0820	-----	0.1577

De otro lado, al comparar los valores de las cargas de Fukui en los carbonos C1 y C2 que corresponden a los C_α y C_β , respectivamente, se puede ver que el mayor índice de Fukui para adiciones electrofílicas está en la chalcona **18** f_x^- (0,2727) y el menor índice para centros aceptores también se encuentra en esa chalcona f_x^+ (0,1952), puede deducirse que la presencia del anillo pirrol en la estructura de las chalconas indólicas afecta la distribución de cargas en los carbonos C_α y C_β y que la reacción más favorecida para las chalconas clásicas es la adición de tipo Michael, la cual ocurre en dicho enlace olefínico por su marcada diferencia en la distribución electrónica.

Con relación a la carga del grupo carbonilo, se aprecia que la chalcona clásica **18** posee la menor electrofilia, lo cual se puede atribuir a la ausencia del anillo pirrólico presente en **15a-c**.

Finalmente, la nucleofilicidad sobre el átomo de nitrógeno en **15a-c** es similar, resultado que se explica debida a la mínima influencia del sustituyente del anillo aromático ubicado en *p*-posición por la considerable separación espacial.

7. CONCLUSIONES

1. Se demostró que el indol-3-carboxaldehído reacciona con acetofenonas *p*-sustituidas mediante la condensación de Claisen-Schmidt, permitiendo obtener dos compuestos carbonílicos α,β -insaturados **15a-b**, cuya estructura fue confirmada a través de la información espectral de resonancia magnética nuclear (^1H - y ^{13}C -RMN) y el peso molecular. Las mejores condiciones de reacción se establecieron como resultado de la variación de diferentes variables.

2. El compuesto ciclado **16**, obtenido de forma inesperada, se explica como resultado de la particular reactividad química e influencia del sustituyente cloro en **15c**. Para su generación se sugiere tras la formación de la chalcona esperada, un proceso de electrociclación [2+2], cuyo intermedio experimenta un rearrreglo sigmatrópico [1,3-H], que permite el restablecimiento de la aromaticidad en el anillo indólico. Su elucidación se apoyó en análisis espectroscópicos.

3. La separación y purificación de las chalconas **15a-b** y del derivado indólico **16** se alcanzó con la ayuda de diferentes metodologías tales como recristalización, cromatografía de columna y cromatografía preparativa.

4. El índice local de reactividad Fukui para adiciones electrofílicas (f_x^-) en el átomo de C3 de la chalcona indólica **15c**, especie intermedia en la formación de la molécula **4**, es ligeramente superior con respecto al de las chalconas **15a-b**, esto permite inferir que un par electrónico se está deslocalizando en un sentido que favorece una posterior electrociclación.

5. La comparación del valor del centro donador (f_x^-) en el átomo de C4 de la chalcona clásica **18** y la chalcona indólica **15c**, señala que la carga negativa

es mayor en el compuesto carbonílico α,β -insaturado **15c**, sugiriendo la posible ocurrencia de un proceso de electrociclación que conduce al producto obtenido

6. De los distintos parámetros teóricos calculados, la longitud de enlace entre los átomos que participan directamente en la ciclación desde las chalconas hasta el compuesto **16**, es el resultado computacional que brinda más soporte a la tendencia de esta molécula hacia un posterior proceso de electrociclación, dado el acortamiento observado entre sus carbonos extremos **C1** y **C4**.

8. RECOMENDACIONES

1. Utilizar un mayor número de sustituyentes electrón-atrayentes y electrón donadores en la síntesis de las chalconas indólicas para determinar su efecto en la reactividad de estos compuestos.
2. Para alcanzar una mayor coherencia entre los resultados teóricos y experimentales, se sugiere llevar a cabo la optimización y modelación de las especies involucradas en la formación de los compuestos obtenidos, con la ayuda de paquetes computacionales que tengan en cuenta el efecto del solvente, así como la implementación de otros niveles de teoría.
3. Dada la naturaleza de los compuestos sintetizados **15a-b** y **16**, que incluyen en su estructura el anillo indólico y diferentes sustituyentes, se sugiere evaluar la actividad biológica, en particular la actividad antifúngica o citotóxica.

9. BIBLIOGRAFÍA

- ⁱ Abonia, R.; Albornoz, A.; Insuasty B.; Quiroga, J.; Meier, H.; Hormaza, A.; Nogueras, M.; Sánchez, A.; Cobo, J.; Low, J. *Synthesis of novel 1,2,5,6-tetrahydro-4H-pyrrolo[3,2,1-ij]-quinolines via benzotriazole methodology*. *Tetrahedron* **2001**, 57, 4933-4938.
- ⁱⁱ Hür, D.; y Gûven, A. *The acidities of some indoles*. *Journal of molecular structure (Teochem)* **2002**, 583, 1-18
- ⁱⁱⁱ Hormaza, A.; Hineschiedts, M. *Gekreuzt konjugierte oligomere aus pyrrol-, benzol-und carbonyl bausteinen*. *Tetrahedron* **2004**, 60, 229-233.
- ^{iv} Bashford, K.; Cooper, A.; Kane, P.; Moody, C. *A new protecting – group strategy for indoles*. *Tetrahedron letters* **2002**, 43, 135-137.
- ^v Weng, J.; Tsai, T.; Chen-hsun, K.; CHEN, C. *Indole-3-carbinol as a chemopreventive and anticancer agent*. *Cancer Letters* **2008**, 262, 153-163.
- ^{vi} Bratulescu, G. *A new and efficient one-pot synthesis of indoles*. *Tetrahedron letters* **2008**, 49, 984-986.
- ^{vii} Jorapur, Y.; Jeong, J.; Chi, D. *Potassium carbonate as a base for the N-alkylation of indole and pyrrole in ionic liquids*. *Tetrahedron letters* **2006**, 47, 2435-2438.
- ^{viii} Shimisu, K.; Geng, X.; HASHIGUCHI, M.; SUHARA, H.; Fukunaga, S.; Yasutake, S.; Kondo, R.; Tsutsui, M.; Sato, I. *Indole- 3-carbaldehyde: a tyrosinase inhibitor from fungus YL185*. *Journal of wood science* **2003**, 49, 349-354.

-
- ^{ix} Sun, J.; Lou, H.; Lou; Dai, S.; Xu, H.; Zhao, F.; Liu, K. *Indole alkaloids from Nauclea officinalis with weak antimalarial activity*. *Phytochemistry* **2008**, 69, 1405-1410.
- ^x Hormaza, A.; Sanchez, C.; Suarez, E. *Synthesis of new series of pyrroles using an efficient methodology from chalcones and tosylmethilisocyanide (TOSMIC)*. *European Journal of chemistry*. En revisión.
- ^{xi} Arbeláez, O. *Síntesis de derivados pirrólicos y estudio teórico del efecto Hammett de diferentes sustituyentes*. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín **2009**.
- ^{xii} Chamorro, E.; Chattaraj, P. y Fuentealba, P. *Variation of the electrophilicite index along the reaction path*. *Journal physical chemistry* **2003**, 36, 7068-7072.
- ^{xiii} Hormaza, A.; Sanchez, C.; Suarez, E.; Vanegas, N. *Sintesis de compuestos pirrólicos a través de cetonas aromáticas α,β -insaturadas y TOSMIC*. *Revista Dyna* . En revisión.
- ^{xiv} DIAN-DANE. Oficina de estudios económicos, estadísticas económicas. Sección 10: importaciones y exportaciones de Colombia. Ministerio de comercio, industria y turismo. **2007**. p.64
- ^{xv} López, R. *Las enfermedades tropicales, un grave problema de salud pública* Madrid (citado 7 de Noviembre de **2008**).
<http://www.elmundo.es/elmundosalud/2008/11/13/saludinternacional/>
- ^{xvi} Radwan, M.; Ragab, E.; Sabry, N.; El-shenawy, S. *Synthesis and biological evaluation of new 3-substituted indole derivatives as potential anti-inflammatory and analgesic agents*. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2007**,15, 3832-3841.

^{xvii} Lee, K.; Moon, S.; Ha, D.; Lee, K.; Gong, Y.; Lee, J. *Solid phase synthesis of 7-hydroxy-3,10-dihydro -1-H-[1,4]diazepino[5,6-b]indol-2-ones*. *Bulletin Korean chemistry society* **2006**, 27, 974-975.

^{xviii} Tahir, R.; Banert, K.; Solhy, A.; Sebti, S. *Zinc bromide supported on hydroxyapatite as a new and efficient solid catalyst for Michael addition of indoles to electron-deficient olefins*. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2006**, 246, 39–42.

^{xix} Singh, N.; Kumar, B.; Sudhir, K. *Thiazolyl/oxazolyl formazanyl indoles as potent anti-inflammatory agents*. *European journal of medicinal chemistry*. Article in press **2008**, 1-13.

^{xx} De-peng, Q.; Wan-guo, H. *Synthesis and characterization of indole-3-butyric acid/hydroxycalcite-like compound nanohybrids*. *Colloids and Surfaces A: physicochemical and Engineering Aspects* **2009**, 336, 12–17.

^{xxi} Shimazaki, Y.; Yajima, T.; Nakabayashi, Y.; Naruta Y.; Yamauchi O. *Synthesis and characterization of platinum(II) complexes of 2N1O-donor ligands with a pendent indole ring*. *Inorganica Chimica Acta* **2009**, 362, 887–893.

^{xxii} Powers, D.; Casebier, D.; Fokas, D.; Ryan, J.; Coffen, D. *Automated Parallel Synthesis of Chalcone-based Screening libraries*. *Tetrahedron* **1998**, 54, 4085

^{xxiii} Hormaza, A.; Sánchez, C., Notario, R. *Propuesta teórica del mecanismo de cicloadición 1,3-dipolar para la formación de pirroles*. *Revista Colombiana de Química*. Mayo de **2008** en revisión.

^{xxiv} Joule, J.A y Mills, K. *Indoles: reactions and synthesis*. *Heterocyclic chemistry*. New York: Blackwell publishing science, **2004**

^{xxv} Vollhardt, K.; Schore, N. *Organic chemistry Structure and function*. New York: University of California W.H Freeman and company. **1999**

^{xxvi} McMurry John. Química orgánica internacional. Madrid: International Thomson editores, **2000**

^{xxvii} Sinha, D.; Tiware, A.; Singh, S.; Shukla, G.; Mishra, P.; Chandra, H.; Mishra, A. *Synthesis, characterization and biological activity of Schiff base analogues of indole-3-carboxaldehyde*. European journal of medicinal chemistry **2008**, *43*, 160-165.

^{xxviii} Yoko, K.; Masao, T.; Jun, Y.; Tomoko, T.; Seiji, H.; Junko, K. *Pharmaceutical and pharmacological evaluations of "indometacin M ointment" as a pharmacy preparation*. Japanese journal of pharmaceutical health care and sciences **2008**, *34*, 174-180.

^{xxix} Yamada, F.; Tamura M.; Hasegawa, A.; Somei M. *Synthetic studies of psilosin analogs having either a formyl group or bromine atom at the 5-or 7-position*. Chemical farmaceutical bulletin **2002**, *50*, 92-99.

^{xxx} Carey, S. Advanced Organic Chemistry. Part B, Reactions and synthesis. Virginia:Plenun Press. **1990**

^{xxxi} Trong, N. Las reglas de Woodward-Hoffmann. Barcelona: Editorial Reverté, S.A. **1974**

^{xxxii} Gandour, R. y Schowen, R. Transitions states of biochemical processes. New York: Plenum Press.**1978**

^{xxxiii} Teoría del estado de transición. México D.F: Universidad Nacional autónoma de México. **2005**. 1,2 y 5. Diapositivas: col.

^{xxxiv} Fuentealba, P.; Pérez, P.; Contreras, R. *On the condensed Fukui function*. Journal of chemical physics **2000**, *113*(7), 2544-2551.

^{xxxv} Foresman, James B.; FRISCH, Eelen. Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods. 2 ed. Pittsburg (USA): Gaussian, Inc. **1996**

^{xxxvi} Toro-labbè, A. Química computacional: desde la teoría al experimento. Laboratorio de química teórica computacional, Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile **2000**

^{xxxvii} Guerra, D.; Fuentealba P. Aplicaciones a reactividad química. Capítulo 8. <http://www.nucleomileniocuantica.cl/personal/pfuentealba>. **2003**

^{xxxviii} Popa, V. *La cuantificación de los sitios activos en las bases de DNA y RNA utilizando las funciones de Fukui condensadas*. Revista mexicana de física **2007**, 53, 241-253.

^{xxxix} Sivanesan, D.; Amutha, R.; Subramanian, V.; Nair, B.U; Ramasami, T. *Assessment of the importance of the solvent in the calculation of condensed Fukui function : a self- consistent reaction field calculation study*. Chemical physics letters **1999**, 308, 223-228.

^{xl} Vogel, S.; Haufmann, D.; Pojarová, M.; Müller, C.; Pfaller, T.; Kuhne, S.; Bednarsky, P.; Angerer, E. *Aroyl hidrazones of 2-phenylindole-3-carbaldehydes as novel antimetabolic agents*. Bioorganic & medicinal chemistry. Article in press **2008**.

^{xli} Rani, P.; Srivatava, V.; Kumar, A. *Synthesis and antiinflammatory activity of heterocyclic indole derivatives*. European journal of medicinal chemistry **2004**,39, 449-452.

^{xlii} Sal'keeva, L.; Nurmaganbetova, M.; Kurmanaliev, O.; Gazizov, T. *Aminophosphonates in the synthesis of new radioprotecting agents*. Russian journal of organic chemistry **2002**,38, 760-762.

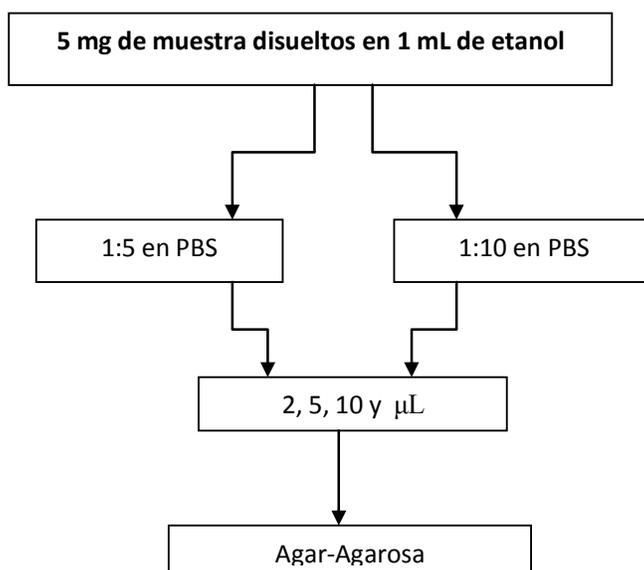
^{xliii} Jhonson, A.; Janosik, T.; Bergman, J. Synthesis of the diketopiperazine dipodazine. *ARKIVOC* **2002**, 8, 57-61.

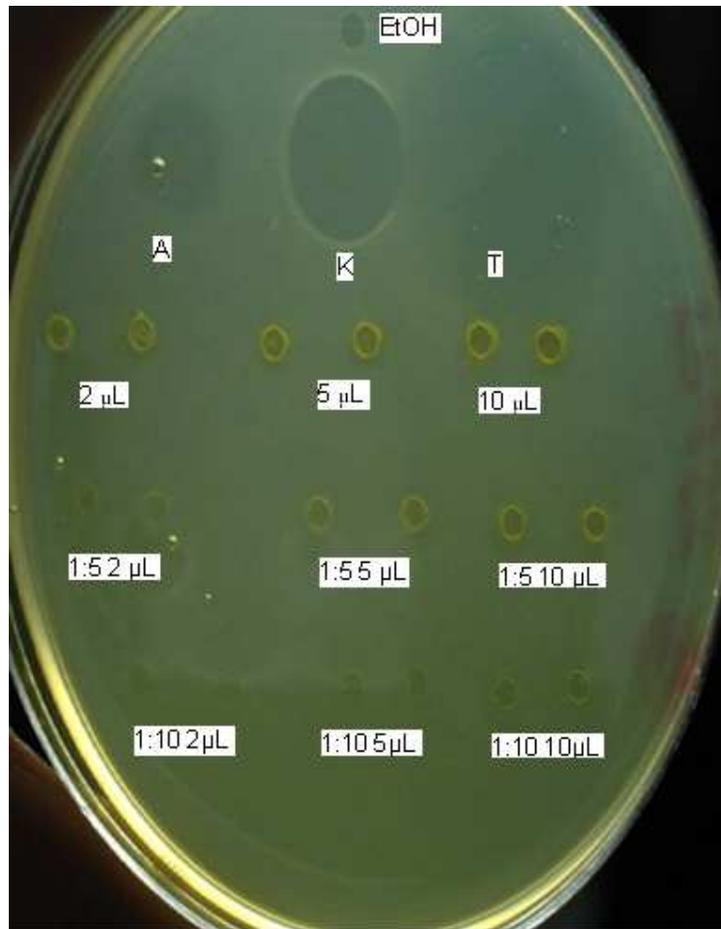
ANEXO 1
Prueba biológica realizada al compuesto 16

El derivado indólico **16** presentó actividad inhibitoria para el crecimiento del microorganismo *E. coli*, ésta prueba fue realizada por medio del Dr José Manuel Lozano en la fundación Instituto de Inmunología de Colombia-**FIDIC**.

En el Instituto se utilizó un protocolo estandarizado, mediante el cual prepararon un patrón disolviendo 5 mg de la muestra en un mL de etanol y a partir de éste se hicieron dos diluciones 1:5 y 1:10 en PBS (buffer de fosfato salino). De las dos concentraciones anteriores se aplicaron 2,5 y 10 μL en pozos de siembra sobre agar- agarosa. La evaluación de la actividad antimicrobiana se hizo contra blancos positivos de Ampicilina (A), kanamicina (K) y tetraciclina (T) y etanol (EtOH).

A continuación se resume la metodología empleada en la actividad antimicrobiana:





En la caja de petri pueden notarse tres halos producidos por los antibióticos Ampicilina (A), kanamicina (K) y tetraciclina (T) y varios halos generados por diferentes concentraciones de la muestra 1:5 y 1:10 en buffer fosfato salino (PBS), observándose que se forman halos muy pequeños en las concentraciones 1:10 2 µL y 1:5 2 µL y por consiguiente se deduce que el derivado indólico **16** presenta una actividad marginal que inhibe el crecimiento de la cepa *E. coli*.

