

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



SÍNTESIS DE DERIVADO DE EUGENOL Y EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA

Trabajo de graduación presentado por Diego Fernando Aguilar Recinos para optar al grado
académico de Licenciado en Química

Guatemala
2025

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades




SÍNTESIS DE DERIVADO DE EUGENOL Y EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA


Trabajo de graduación presentado por Diego Fernando Aguilar Recinos para optar al grado
académico de Licenciado en Química


Guatemala
2025


Vo. Bo. :

(f) 
Ph.D. Byron José López Mayorga
Asesor

Tribunal Examinador:

(f) 
Ph.D. Byron José López Mayorga
Asesor

(f) 
M.Sc. Edgar Saúl Loaiza Salguero
Revisor

(f) 
M.A Irma Patricia Orellana Catalán
Directora
Departamento de Química

Fecha de aprobación: Guatemala, 20 de junio de 2025

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por haberme dado el don de vivir y por las bendiciones que he tenido durante toda mi vida y brindarme todas las capacidades y fuerzas para esta investigación

A mis padres, Elman y Nidia, que han sacrificado todo por mi educación y me han apoyado como ninguna persona lo ha hecho en mi vida. A mis hermanos, Gaby, Julio, César y Dulce, que me han apoyado durante toda mi vida, a Javier y Ana Paula por su amor y apoyo. Así como a Nico que ha sido otro hermano para mí y ha estado a mi lado durante estos últimos 10 años, en estos últimos viajes desde la secundaria hasta la universidad.

A mis amigos químicos, con quienes atravesé la universidad y se han convertido en mi segunda familia, Hugo, Javier, Cam, Sof, Mario y Pau. Y a todos esos amigos que me apoyaron durante mi transcurso en la universidad: Mimi, Ana, Sofí, Vale, Santi, Diana, Leo, Luirro, Tato, Adrián, Herrera, Kiara, Sofy y muchos otros que me han mostrado su lealtad y me han apoyado durante mi tesis.

A mi asesor, el Ph.D. Byron López, por haber sido mi mentor, un amigo y una figura a seguir, haberme enseñado tanto y darme la oportunidad de investigar junto a él, además de compartir su conocimiento en Química Orgánica.

A la Ph.D. María del Carmen Ortega y al departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por el apoyo con el análisis de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

A la M.A. Irma Orellana, directora del departamento de Química, por todo el apoyo durante estos últimos años e incentivar mi amor por la ciencia y la docencia.

A todos aquellos docentes que apoyaron en mi formación profesional, Michael, Majo, Ronald, Mario, Chiquín, Ángel, Allan, Krisztina, Felipe, Saúl y Hugo, que motivan a sus estudiantes a ser mucho mejores personas y profesionales, e irradian pasión por lo que enseñan.

A la Lic. Ana Luisa Mendizábal, por su apoyo en el laboratorio de Análisis Instrumental Avanzado con el análisis de FTIR y GC-MS.

A Shirley, Alexa y Daniella, por su apoyo en las pruebas microbiológicas, al Lic. Andrés Say y la Lic. Christa Contreras, así como al departamento de Bioquímica y Microbiología & Biotecnología Molecular por todo su apoyo en esta investigación.

Finalmente, a mis alumnos, Erica M., Manolo E., Guayo Q., Gaby D., Gaby A., Pablo R., Andrea T., Valeria S., Celeste D., Mafer G., Juanma C., Javier M., Mateo R., Marcelino V. y muchos más, quienes se han convertido en mis amigos, y me han inspirado a ser un mejor profesor y científico y quienes espero sigan mi legado apoyando y enseñando a los más jóvenes.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	i
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE CUADROS	v
RESUMEN.....	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	3
IV. HIPÓTESIS.....	4
V. JUSTIFICACIÓN.....	5
VI. MARCO TEÓRICO.....	6
A. Resistencia antimicrobiana	6
1. Antibióticos.....	6
2. Tipos de resistencia a antibióticos	7
3. Origen de la resistencia a antibióticos	9
4. Nuevos antibióticos desarrollados	10
B. Compuestos naturales.....	11
1. Extracción de compuestos naturales.....	12
2. Compuestos naturales con propiedades antibacterianas	12
C. Eugenol	15
1. Extracción de eugenol	15
2. Propiedades farmacológicas del eugenol.....	16
3. Derivados del eugenol	17
D. Síntesis orgánica.....	19
1. Síntesis de aminas primarias.....	19

2.	Síntesis de pirroles.....	20
3.	Determinación de estructuras orgánicas.....	21
VII.	METODOLOGÍA.....	23
A.	Sujeto de estudio.....	23
B.	Diseño, enfoque y tipo de investigación.....	23
C.	Tipo y tamaño de muestra.....	23
D.	Criterios de inclusión y exclusión.....	23
E.	Variables.....	24
F.	Instrumentos de medición.....	24
G.	Metodología.....	25
1.	Síntesis de acetileugenol.....	25
2.	Síntesis de pirrol de eugenol.....	26
3.	Pruebas antibacterianas.....	27
H.	Análisis de datos.....	28
VIII.	RESULTADOS.....	29
IX.	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	37
A.	Síntesis de derivados de eugenol.....	37
B.	Ensayos de Kirby-Bauer.....	41
X.	CONCLUSIONES.....	46
XI.	RECOMENDACIONES.....	47
XII.	REFERENCIAS.....	48
XIII.	ANEXOS.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estructura de un flavonoide.....	13
Figura 2 Estructura base del fenilpropano	14
Figura 3 Estructura del eugenol.....	15
Figura 4 Estructura del epóxido de eugenol	17
Figura 5 Estructura de un éster de eugenol.....	18
Figura 6 Estructura del glicol de eugenol	18
Figura 7 Estructura del pirrol de eugenol	19
Figura 8 Ejemplo de mecanismo de la síntesis de pirroles de Hantzsch	20
Figura 9 Mecanismo general de la síntesis de Paal-Knoor.....	21
Figura 10 Metodología de la investigación	25
Figura 11 Síntesis de acetileugenol	25
Figura 12 Síntesis del pirrol de eugenol	26
Figura 13 Espectro IR del eugenol	29
Figura 14 Espectro de masas del eugenol.....	29
Figura 15 Espectro IR del nitro eugenol.....	30
Figura 16 Espectro de masas del nitro eugenol	30
Figura 17 Espectro IR del amino eugenol	30
Figura 18 Espectro de masas del amino eugenol.....	30
Figura 19 Espectro HNMR del amino eugenol	31
Figura 20 Espectro IR del acetil eugenol.....	32
Figura 21 Espectro de masas del acetil eugenol	32
Figura 22 Espectro IR del pirrol de eugenol.....	33
Figura 23 Espectro de masas del pirrol de eugenol	33
Figura 24 Espectro HNMR del pirrol de eugenol.....	34
Figura 25 Cromatograma del nitro eugenol.....	57
Figura 26 Placa para <i>P. aureginosa</i>	58
Figura 27 Placa 2 para <i>P. aureginosa</i>	58
Figura 28 Placa para <i>S. aureus</i>	58
Figura 29 Placa 2 para <i>S. aureus</i>	59
Figura 30 Placa para <i>E. coli</i>	59
Figura 31 Placa para <i>K. pneumoniae</i>	59
Figura 32 Placa para <i>B. subtilis</i>	60

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1 Tipos de antibióticos	6
Cuadro 2 Variables de estudio	24
Cuadro 3 Instrumento de medición para la síntesis	24
Cuadro 4 Instrumento de medición para los ensayos en bacterias	25
Cuadro 5 Resultados de la síntesis.....	35
Cuadro 6 Factor de retención de los compuestos	35
Cuadro 7 Resultados antibiogramas	36

RESUMEN

En el siguiente trabajo se sintetizó un compuesto derivado del eugenol (2 metoxi-4-(2-propenil) fenol), el cuál es un metabolito secundario, fenilpropanoide, presente en diversas plantas como el *Syzygium aromaticum*. Se encuentra en una proporción de más del 80% en el aceite esencial de dicha planta y ha mostrado una intensa actividad farmacológica, entre ellas, un potente efecto inhibidor del crecimiento bacteriano, inhibido las enzimas proteasas, carboxilasas y amilasas, además de inducir la lisis celular.

Los compuestos derivados de dicho compuesto han presentado un incremento en la actividad antibacteriana en grampositivos y gramnegativos. Los grupos funcionales usados para la síntesis han sido el hidroxilo fenólico y el alqueno alílico para crear compuestos como ésteres, éteres, epóxidos, dioles, entre otros grupos funcionales. Los derivados nitrogenados han presentado una intensa actividad antibacteriana por lo cual en este trabajo se realizó la síntesis del 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-6-metoxi-4-(prop-2-en-1-il) fenol, como nuevo derivado nitrogenado.

Se evaluó la actividad antibacteriana de dicho compuesto, por medio de un ensayo de Kirby-Bauer, usando como control positivo ampicilina y como control negativo el solvente. Se determinó la zona de inhibición para *E. coli*, *S. aureus*, *P. aureginosa*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*. Se determinó una intensa actividad inhibitoria para *S. aureus* y *P. aureginosa*, lo que implica un posible uso del compuesto como antiséptico.

I. INTRODUCCIÓN

El eugenol es un compuesto fenólico natural, ampliamente presente en diversas plantas como el clavo de olor, la canela y el orégano, conocido por sus propiedades farmacológicas y su uso en la medicina tradicional. Su estructura química, compuesta por un anillo aromático con un grupo hidroxilo y una cadena propílica, le otorga características hidrofóbicas que facilitan su interacción con diversas estructuras biológicas. En la actualidad, el eugenol y sus derivados han sido objeto de numerosos estudios debido a sus potentes efectos antibacterianos, antioxidantes, antiinflamatorios y anticancerígenos.

En esta investigación, se sintetizó un nuevo derivado de eugenol, 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-6-metoxi-4-(prop-2-en-1-il) fenol, utilizando la reacción de Paal-Knorr con la anilina de eugenol. La estructura y pureza del producto final fueron confirmadas mediante espectroscopía FTIR, que permitió identificar los grupos funcionales clave, espectrometría de masas (GC-MS), que reveló el ion molecular y las diversas fragmentaciones, y espectroscopía de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (HNMR), donde se observaron las señales correspondientes a los diversos protones de la molécula.

El pirrol eugenol (2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-6-metoxi-4-(prop-2-en-1-il) fenol) y otros derivados sintetizados en este estudio fueron evaluados mediante un ensayo de Kirby-Bauer frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis*. Los resultados obtenidos sugieren que la adición del anillo pirrol en la estructura del eugenol incrementa su actividad antibacteriana en comparación con el compuesto original, especialmente contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*, lo que abre nuevas posibilidades para el desarrollo de su uso antimicrobiano. Este fenómeno se explica por las interacciones apolares y polares de los nuevos derivados, que facilitan la permeabilización de la membrana celular bacteriana.

Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio destacan la importancia de optimizar las condiciones de síntesis y el uso de solventes adecuados, ya que el tipo de solvente influye significativamente en la actividad antibacteriana de los compuestos. Además, se sugieren futuras investigaciones que incluyan ensayos *in silico* y la evaluación de nuevos grupos funcionales, como el imidazol, que podrían mejorar aún más la actividad antibacteriana de los derivados del eugenol. Estos estudios podrían allanar el camino para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos frente a infecciones bacterianas resistentes.

II. OBJETIVOS

A. Objetivo general

- Sintetizar un nuevo derivado del eugenol mediante una reacción de Paal Knorr, y evaluar su actividad antibacteriana frente a cepas bacterianas seleccionadas, con el fin de determinar su potencial como agente antimicrobiano.

B. Objetivos específicos

- Agregar un grupo pirrol a la molécula de eugenol en la posición aromática y crear el 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-6-metoxi-4-(prop-2-en-1-il)fenol.
- Analizar los efectos antibacterianos del derivado del eugenol sintetizado, a través de un ensayo antibiograma y comparar con eugenol y acetileugenol.
- Caracterizar la molécula sintetizada a través de propiedades fisicoquímicas y espectroscopia infrarroja, espectrometría de masas y espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué efecto tiene el cambio de grupo funcional en la estructura del eugenol sobre su actividad antibacteriana?

IV. HIPÓTESIS

El cambio en el grupo funcional en la molécula de eugenol aumentará su actividad antibacteriana en comparación con el eugenol original.

V. JUSTIFICACIÓN

La resistencia antimicrobiana es un fenómeno que ocurre cuando un organismo cambia en un periodo de tiempo y los medicamentos usados para combatirlo se vuelven inútiles hacia él. Esto genera una resistencia ante dichas sustancias y ocurre en bacterias, virus, hongos y parásitos. La resistencia a antibióticos es un fenómeno que se ha agravado en las últimas décadas y se ha vuelto una emergencia sanitaria a nivel mundial, pues muchas infecciones han logrado incrementar su mortalidad dada la pérdida de eficacia de los antibióticos. Lo que anualmente en Estados Unidos mueran más de 25 mil personas por infecciones relacionadas con resistencia de antibióticos (OMS, 2020).

La investigación sobre nuevos fármacos contra bacterias en conjunto con una mejor administración de dichas sustancias es un tema de investigación actual. Algunas sustancias con potencial antibiótico provienen de origen vegetal, pues muchas de estas sustancias son sintetizadas por las plantas como mecanismos de defensa ante otros patógenos. Entre estos se encuentra el eugenol, 4-alil-2-metoxifenol (Vimal et al., 2018).

Es un metabolito secundario procedente de algunas plantas como el clavo de olor, canela y pimienta. En algunos aceites esenciales su concentración alcanza el 90% (p/p). Ha demostrado que posee múltiples propiedades farmacológicas, como lo puede ser su acción en contra de ciertas bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Vimal et al., 2018).

Dicho metabolito tiene una baja estabilidad química, es sensible a la oxidación y a diversas interacciones químicas, por lo que los cambios estructurales del eugenol son una estrategia útil para mejorar la actividad biológica y obtener nuevos análogos con efectos secundarios reducidos. La síntesis de estos compuestos puede ser realizadas con pocas reacciones y sus cambios estructurales pueden ser monitoreados por espectroscopía infrarroja y espectroscopía de masas.

Por lo cual la síntesis de un derivado del eugenol puede ser usada para analizar sus efectos antimicrobianos a través de ensayos de toxicidad en distintas especies de bacterias. Para conocer su potencial como compuesto antibacteriano para el desarrollo de antibióticos y la comparación de actividad antibacteriana con otros derivados conocidos.

VI. MARCO TEÓRICO

A. Resistencia antimicrobiana

1. Antibióticos

Los antibióticos, son sustancias químicas que son capaces de inhibir el crecimiento o destruir a una bacteria u otros microorganismos, alterando o dañando procesos celulares esenciales para la supervivencia de la bacteria. Pueden ser extraídos naturalmente de medios como las plantas u hongos, o incluso otros microorganismos, o pueden ser sintetizados artificialmente en totalidad o derivarse de un compuesto natural (Begum et al., 2021). Dichos medicamentos pueden ser clasificados de diversas maneras según su estructura, su mecanismo de acción, o su espectro de actividad, según su estructura pueden ser: β -lactámicos, macrólidos, tetraciclinas, quinolonas y aminoglucósidos. Las principales clases de antibióticos se pueden observar en el Cuadro no. 1.

Cuadro 1 Tipos de antibióticos

Tipo de antibiótico	Mecanismo de acción	Ejemplo
β-lactámicos	Inhibición de la síntesis de pared celular	Penicilina
Macrólidos	Inhibición de la síntesis de proteínas	Eritromicina
Tetraciclinas	Inhibición de la síntesis de proteínas	Doxiciclina
Quinolinas	Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos	Ciprofloxacina
Aminoglucósidos	Inhibición de la membrana celular	Estreptomicina

Adaptado de (Begum et al., 2021).

Estos fármacos pueden interactuar de distinta manera con las bacterias, lo que permiten combatir enfermedades provocadas por dichos microorganismos. Algunos mecanismos de acción consisten en: daños al ADN, donde diversos fármacos son capaces de reaccionar con las bases nitrogenadas impidiendo que el ADN pueda replicarse; inhibición de la síntesis de membrana celular lo que provoca la lisis de la célula; desnaturalización de las proteínas, interrumpiendo su síntesis o dañando su estructura, como sus enlaces de disulfuro o de hidrógeno; o el bloqueo de reacciones enzimáticas de las rutas metabólicas de las células (Brooks *et al.*, 2010).

2. Tipos de resistencia a antibióticos

La resistencia a antibióticos es un fenómeno que ocurre cuando las sustancias usadas para combatir bacterias pierden su efectividad con el tiempo o simplemente no causan efecto alguno en el microorganismo. Lo cual se convierte en un problema, pues muchas infecciones bacterianas que hace algunas décadas eran fáciles de combatir han desarrollado la capacidad de sobrevivir ante ciertos tratamientos, haciéndolos inefectivos. Según datos de la OMS, en Estados Unidos anualmente, más de 2 millones de personas sufren infecciones gracias a bacterias resistentes a antibióticos, donde más de 25 mil personas mueren anualmente dadas infecciones poco tratables por la ineficacia de los antibióticos actuales (Blair *et al.*, 2014).

Para el desarrollo de nuevos medicamentos es sumamente importante conocer la forma en la que un microorganismo puede desarrollar resistencia ante un antibiótico. Dichas formas en las que una bacteria desarrolla resistencia ante un fármaco pueden darse por cambios a nivel genético y bioquímico. A nivel general la resistencia a los antibióticos se puede clasificar de cuatro maneras:

- a. Resistencias intrínsecas: consiste en la ineficacia natural del fármaco ante el microorganismo. Esto puede deberse a la función del antibiótico y que no afecte a la estructura de la bacteria ya que el objetivo del antibiótico no se encuentra en la bacteria. Este fenómeno afecta a diversos antibióticos, como el triclosán, el cual afecta a bacterias grampositivas, pero no es capaz de afectar algunas bacterias gramnegativas dado que actúa sobre una enzima llamada enoyl-ACP-reductasa, la cual no se encuentra en este tipo de bacterias (Blair *et al.*, 2014).
- b. Límite de acceso: consiste en la disminución de la cantidad de antibiótico que entra a la bacteria. Esto puede darse a través de diversos mecanismos, como la reducción de

permeabilidad de la membrana celular, mecanismos que ocurre con más frecuencia en las gramnegativas, dada su delgada membrana. Lo que reduce la capacidad del antibiótico para entrar en la célula bacteriana. Otro mecanismo es mejorar el transporte de sustancias dentro y afuera de la célula, que permite el intercambio de compuestos a través de canales en las células, algunas bacterias son capaces de desarrollar canales a través de mutaciones que puedan permitir la liberación del antibiótico y el transporte de otras sustancias, reduciendo su concentración, dicho fenómeno ha sido más estudiadas en bacterias gramnegativas como *E. coli* y *Salmonella* (Blair et al., 2014).

- c. Modificación del objetivo: consiste en el cambio de la sustancia a la cual el antibiótico se une o enlaza, para que sea menos afín al fármaco y así no pueda tener la misma acción antibacteriana, diversas mutaciones permiten proteger la molécula objetivo o modificarla para que cumpla la misma función aun con una estructura distinta para no unirse al antibiótico. Por ejemplo, en el caso de *S. aureus* resistentes a meticilina, han desarrollado una proteína a través de una mutación la cual se capaz de participar en la síntesis de pared celular a pesar de estar unido a la penicilina (Peterson & Kaur, 2018). Otro mecanismo consiste en el cambio directo del objetivo, como en la eritromicina ribosoma metilasa, la cual metila en ARN Ribosomal, impidiendo la unión de los macrólidos, aminoglucósidos y otros antibióticos inhibidores de proteínas a dicho ARN. Finalmente, otro mecanismo puede darse cuando se desarrollan proteínas que son más afines a los antibióticos que los propios objetivos y son capaces de desviar el antibiótico de su molécula de inhibición (Blair et al., 2014)

- d. Degradación del fármaco: consiste en la destrucción o modificación del fármaco por la propia bacteria, lo que disminuye su actividad ya que pierde su capacidad de atacar a la bacteria. Algunas reacciones que suelen ocurrir son la hidrólisis, la cuál es común para los antibióticos β -lactámicos, pues al contar con un enlace amida pueden ser hidrolizadas por ciertas enzimas, denominadas como β -lactamasas (Peterson & Kaur, 2018). Un mecanismo diferente es la transferencia de grupo, que ocurre especialmente en los aminoglucósidos, los cuales pueden ser acetilados, fosforilados, metilados, entre otros. Lo que permite que no sean capaces de unirse al ARN ribosomal,

modificando la capacidad del antibiótico de enlazarse y por ello disminuyendo su afinidad (Blair et al., 2014).

3. Origen de la resistencia a antibióticos

La resistencia a los antibióticos es un fenómeno que es recurrente actualmente en la medicina moderna. Muchas veces el origen de la resistencia a dichos fármacos es relacionado con una mala medicación por parte de los pacientes infectados con diversas enfermedades que no son tratadas completamente. Lo que permite la posibilidad del desarrollo de mutaciones en las bacterias que les permitan adquirir resistencia ante dichos fármacos. Dichas mutaciones se han reportado desde el inicio de la era de los antibióticos en los años 40, con las primeras bacterias resistentes a las sulfonamidas, además de reportes de bacterias resistentes a las penicilinas en la misma época (Frieri et al., 2017). Adicionalmente algunos factores ambientales y evolutivos han aportado al desarrollo de las resistencias (Muteeb et al., 2023).

Algunos de esos factores ambientales pueden ser la exposición a antibióticos naturales que rodean a las bacterias, llevando a la evolución de dichas bacterias para el desarrollo de genes de resistencia a los antibióticos (Larsson & Flach, 2021). Sin embargo, la principal causa del desarrollo de resistencia a los antibióticos en la actualidad es de origen de antropogénico. Algunas de las causas principales del desarrollo de la resistencia a antibióticos son:

a. Tratamiento de aguas residuales

Uno de los factores que más resistencia generan es la contaminación de diversas fuentes acuosas por restos de antibióticos no tratados. Estas fuentes pueden llegar a una concentración mínima inhibitoria de los antibióticos incitando el desarrollo de genes de resistencia. Algunas de las fuentes más comunes donde ocurre este fenómeno es plantas de tratamiento de aguas municipales, desechos hospitalarios, y desechos industriales no tratados, llegando en ciertos lugares a concentraciones mayores de 10 µg/L (Larsson & Flach, 2021).

b. Industria de alimentos

Otra de las industrias que más generan este fenómeno es la agricultura y la industria de la carne. Los antibióticos generalmente se utilizan para el tratamiento y prevención de enfermedades tanto en cultivos, como en crianza de ciertos animales, como bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, aves y peces. Se han reportado concentraciones elevadas de ciertos medicamentos como las tetraciclinas o macrólidos en los tejidos de dichos animales, así como los entornos donde se crían, lo que ha llevado a la regulación de ciertos fármacos para el uso

agrícola en países como Estados Unidos o China (Chen et al., 2020). Permitiendo únicamente ciertos derivados de las tetraciclinas y sulfonamidas con determinada concentración para evitar el consumo humano de concentraciones inhibitorias de antibióticos que puede llegar a producir resistencia a los antibióticos en el microbiota intestinal de los consumidores (Pan et al., 2014).

En el contexto centroamericano, diversos estudios han sido realizado para medir la resistencia a antibióticos en la región determinando una incidencia en la presencia de *Salmonella* y *K. pneumoniae*, como bacterias presentes en Honduras, Guatemala y Costa Rica, donde dichos organismos presentan resistencia a las tetraciclinas. Así como presencia de cepas de *E. coli* resistentes a β -lactámicos en Nicaragua. Esto implica una resistencia a las bacterias para las tetraciclinas y los β -lactámicos a los antibióticos en la región, lo que implica que es importante la investigación de dichos fármacos para el combate de dichos microorganismos (O'Neal et al., 2020).

4. Nuevos antibióticos desarrollados

La investigación de nuevos antibióticos es un tema de importancia a nivel mundial. Algunos de los fármacos más estudiados en la actualidad son los glucopéptidos y lipopéptidos, los cuales son más sensibles ante bacterias grampositivas porque actúan sobre la pared celular. Gracias a que tienen múltiples grupos carboxílicos en sus moléculas son capaces de unirse a diversas estructuras bacterianas de la célula (Blaskovich et al., 2018). Por otro lado, los derivados de glucósidos han demostrado la actividad antibacteriana más prometedora al intervenir en la síntesis de la pared celular, uniéndose a diversos lípidos que participan en la síntesis de peptidoglicanos (Butler et al., 2023). En la actualidad, se encuentra el desarrollo de la segunda generación de glucopéptidos, sintetizando derivados con distintos grupos funcionales para aumentar la afinidad a los lípidos (Blaskovich et al., 2018b).

Otro tipo de antibióticos investigados provienen de productos naturales, siendo principalmente aceites esenciales donde diversos metabolitos secundarios como flavonoides y otro tipo de fenilpropanoides han demostrado una intensa actividad antibacteriana (Morehouse et al., 2023). Así como compuestos naturales provenientes de diversas algas como tolypocaiboles provenientes de algas rojas que han mostrado capacidad antibacteriana en diversas especies (Wei et al., 2022).

a. Pruebas de susceptibilidad de antibióticos

Para la determinación de nuevas sustancias antibacterianas existen diversos ensayos que brindan información sobre la capacidad de un compuesto de inhibir el crecimiento de bacterias. Entre ellos la más usada es la prueba de Kirby-Bauer, esta fue desarrollada durante la década de 1950 luego del surgimiento de los antibióticos beta-lactámicos. Consiste en una prueba donde un disco impregnado de una sustancia se coloca en una placa inoculada con bacterias, luego de incubar la placa durante un tiempo determinado, se puede observar si una sustancia fue capaz de inhibir el crecimiento bacteriano y medir la zona de inhibición para comparar con otras sustancias conocidas (Hudzicki, 2009).

Al momento de realizar un ensayo de susceptibilidad, es importante controlar otras variables como el medio en el que crecen las bacterias y la fuente donde provienen las bacterias. Entre los medios más utilizados para este tipo de análisis se usa el medio Muller- Hinton, el cual consiste en una mezcla de diversos extractos de alimentos, que proporcionan proteínas y carbohidratos a las bacterias de fácil crecimiento. Por otro lado, las fuentes donde provienen las bacterias o inóculos deben poseer una turbidez adecuada para que las bacterias presentes para evitar complicaciones en el crecimiento de estas. Es por esto por lo que se compara la turbidez de un inóculo con un estándar, denominado como estándar de McFarland, el cual es una solución de sales ácidas que permite comparar la densidad óptica con respecto al cultivo de bacterias a utilizar (Hudzicki, 2009).

B. Compuestos naturales

Los compuestos naturales son aquellos metabolitos secundarios provenientes de las plantas, son compuestos que las plantas sintetizan, pero no son parte de su metabolismo primario. Estos compuestos pueden venir de diversas rutas, como la ruta del acetato, shikimato, mevalonato, entre otras. Se encuentran presentes en diversas especies de plantas, localizándose en diversas partes de las plantas, como el tallo, raíz, hojas o flor. Muchos de estos compuestos son sintetizados por las plantas como un mecanismo de defensa ante depredadores o patógenos, como lo pueden ser insectos, bacterias, virus, otras plantas o animales (Dewick, 2009).

Todos estos compuestos se les denominan como fitoquímicos, son compuestos de alta relevancia para la investigación médica. Muchos de ellos tienen propiedades como antioxidante, antialérgica, antisépticas, analgésicos, anticáncer y antibacterianas. Algunos antibióticos han sido desarrollados a partir de compuestos naturales sintetizados por plantas u hongos. Por lo que es sumamente importante la extracción y purificación de estos compuestos (Dewick, 2009).

Otros compuestos naturales de interés farmacéutico son: carotenoides, los cuales se derivan del isopreno y dan color a las plantas; polifenoles, los cuales poseen múltiples grupos aromáticos y suelen tener propiedades antioxidantes; fitoesteroles y saponinas los cuales son compuestos poco polares con propiedades anticáncer. Dichos compuestos pueden ser extraídos de diversas especies, usando distintos solventes, además se pueden crear derivados a partir de ellos, los cuales aumentan la actividad farmacológica, siendo más afines para la unión a ciertos receptores o enzimas (Kumar et al., 2023).

1. Extracción de compuestos naturales

Existen diversos métodos para la extracción de fitoquímicos entre ellos se encuentran: maceración, que consiste en sumergir la droga vegetal en un solvente, agitarlo y presionar para extraer la mayor cantidad de fitoquímicos; la extracción por reflujo, donde se evapora y condensa el solvente para que con la temperatura sea más fácil extraer los fitoquímicos; líquido presurizado, donde se usan solventes a altas presiones para aumentar la temperatura y promover la transferencia; extracción asistida por microondas, donde ondas de micro frecuencia e infrarrojas promueven la transferencia de fitoquímicos; extracción con ultrasonido, donde se aplica un principio similar al microondas por con ondas de sonido en lugar de luz (Kumar et al., 2023).

2. Compuestos naturales con propiedades antibacterianas

Como se mencionó anteriormente, varios grupos de compuestos naturales presentan propiedades farmacológicas, entre ellas, antibacteriana, lo que ha sido ampliamente estudiado en los últimos años dada la crisis actual de antibióticos. Se han estudiado diversas especies de plantas y sus extractos en diversos solventes para el uso farmacéutico, determinando diversas concentraciones inhibitorias en varias familias de plantas como *Myrtaceae*, *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Anacardiaceae*, *Apiaceae*, entre otras con propiedades farmacológicas en sus extractos (Chassagne et al., 2021).

Algunos de los alcaloides que más actividad antibacteriana han demostrado han sido:

a. Alcaloides

Algunos de los compuestos que han demostrado una mayor actividad antibacteriana han sido los alcaloides, los cuales son compuestos nitrogenados que provienen de la síntesis de aminoácidos en las plantas. Dichos compuestos se pueden clasificar dependiendo del grupo funcional nitrogenado que contenga, siendo las clasificaciones más comunes como alcaloides de

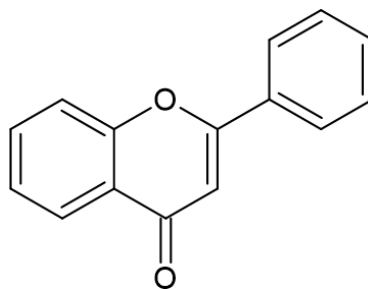
piperidina, de quinolina, de piridina, de pirrol, de indol, entre otros. Los alcaloides han demostrado una intensa actividad antibacteriana en diversas especies de bacterias (Yan et al., 2021).

Los alcaloides y derivados de alcaloides que han presentado una mayor actividad antibacteriana son los derivados del indol y el pirrol, presentando una fuerte actividad antibacteriana contra *E. coli* y MRSA. Lo que implica actividad contra bacterias grampositivas y gramnegativas. Donde se ha determinado que dichos alcaloides actúan en la inhibición de síntesis de proteínas e inhibición de síntesis de ácidos nucleicos. Además de interferir en el metabolismo antibacteriano y en las bombas de eflujo impidiendo el transporte celular (Yan et al., 2021).

b. Flavonoides

Son compuestos fenólicos, estructurados por anillos aromáticos unidos por una cadena de 3 carbonos con un heterociclo de oxígeno, como se puede observar en la figura no. 1. Diversas investigaciones han revelado la capacidad de los flavonoides de suprimir la síntesis de ácidos nucleicos e inhibir las funciones de la membrana citoplasmática contra *S. aureus* resistente a penicilina (Shamsudin *et al.*, 2022). Además, la combinación de diversos sustituyentes hidroxilos, alquilo o incluso glucósidos en la molécula han incrementado su actividad farmacológica en otras especies de bacterias como *M. tuberculosis* (Pancu *et al.*, 2021).

Figura 1 Estructura de un flavonoide

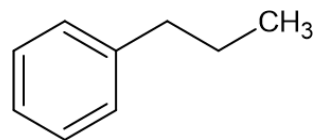


En general los compuestos polifenólicos han demostrado un amplio potencial antibacteriano, así como otras propiedades farmacológicas, siendo algunos de los compuestos con mayor actividad antimicrobiana estudiados actualmente dada su versatilidad para crear derivados por la reactividad de sus grupos aromáticos. Viéndose implicados de diversos procesos celulares de las bacterias por su interacción con receptores, enzimas y transcritores con una capacidad para inhibir dichos procesos celulares (Pancu et al., 2021) (Shamsudin et al., 2022).

c. Fenilpropanoides

Son compuestos orgánicos formados por un anillo aromático unido a una cadena propílica. Pueden ser compuestos de origen vegetal o sintético a partir de derivados del petróleo. Para el origen vegetal, se sintetizan a partir de la ruta del Ácido Shikímico, donde provienen de los aminoácidos aromáticos como la fenilalanina o la tirosina. Son la base para la síntesis de flavonoides, lignanos y cumarinas, con una estructura base de C₆C₃ por la cadena propílica y el grupo aromático, suelen ser bastante reactivos dada la presencia de sustituyentes hidroxilos (Neelam et al., 2019). Su estructura base se puede ver en la Figura no. 2

Figura 2 Estructura base del fenilpropano



Dichos compuestos aromáticos han mostrado diversas actividades farmacológicas, sobre todo actividad anticáncer, antibacteriana y antidiabética. Se ha estudiado la actividad farmacológica de diversos derivados del ácido cinámico (un fenilpropanoide) demostrando actividad antibacteriana comparable a antibióticos β -lactámicos en varias especies de bacterias como *Bacillus cerus*, MRSA y *E. coli*, con diversos mecanismos que pasan principalmente por la inhibición de bombas de eflujo en las bacterias (Neelam et al., 2019) (Nogueira et al., 2021).

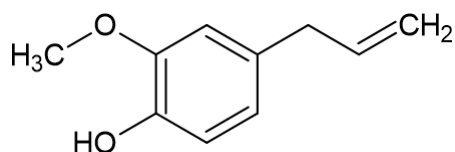
Otros derivados de los fenilpropanos que han sido aislados con intensa actividad antibacteriana son el eugenol, isoeugenol, estragol, ácido cafeico y ácido ferúlico. Estos compuestos aislados de plantas como la *Ballota nigra*, han mostrado actividad antibacteriana

contra especies tanto grampositivas, como gramnegativas, así como derivados glucosídicos de dichos compuestos. El análisis de estas moléculas puede ser realizado con espectroscopía de resonancia magnética nuclear de hidrógeno, espectroscopía de masas y espectroscopía infrarroja. Por lo cual el estudio de los fenilpropanos con actividad antibacteriana es un área novedosa de estudio para futuros antibióticos (Wan et al., 2022) (Auezova et al., 2020).

C. Eugenol

El eugenol, (4-alil-2-metoxifenol) es un hidroxifenil propano de origen natural (figura 3), cuya fórmula molécula es $C_{10}H_{12}O_2$, a condiciones ambientes se presenta como un líquido amarillo, poco soluble en agua. Su origen es principalmente vegetal y algunas de las familias donde se encuentran son *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae* y *Myristicaceae*, se encuentra en altas concentraciones en aceites esenciales de ciertas plantas como el clavo de olor, canela, cúrcuma, albahaca, orégano, entre otras... (Khalil et al., 2017).

Figura 3 Estructura del eugenol



La principal fuente de eugenol en las plantas es su aceite esencial, en algunos casos como el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). El eugenol puede llegar a componer casi el 90% de su aceite esencial y en el caso de la canela (*Cinnamomum verum*) hasta un 50% de su aceite (Overly, 2019). Diversos extractos de plantas pueden ser analizados usando CG-MS (cromatografía de gases con espectroscopía de masas) para identificar la presencia de dicho compuesto, al igual que el uso de TLC (Cromatografía de Capa Fina) para su identificación cualitativa (Khalil et al., 2017).

1. Extracción de eugenol

Puede ser aislado por destilación de arrastre de vapor, usando agua como solvente, donde el aceite esencial es tratado con agua básica para formar la sal fenólica y luego acidificarla y extraerla con un solvente orgánico. Otro método usado para aislar el eugenol es

la extracción Soxhlet con solventes orgánicos como diclorometano, éter de petróleo, hexano, etanol y metanol, sin embargo, este método puede dar lugar a múltiples residuos orgánicos en el extracto (Khalil et al., 2017). Algunos métodos más modernos usados hoy en día pueden ser la extracción asistida con microondas y asistida por ultrasonido, que evita fenómenos como hidrólisis o degradación térmica que pueden dañar los extractos (Just et al., 2015).

2. Propiedades farmacológicas del eugenol

El eugenol es un compuesto de alta relevancia en la investigación científica de los últimos años dadas sus diversas propiedades farmacológicas por su intervención en diversos procesos celulares. Algunas de las propiedades más estudiadas de dicha sustancia son su capacidad antioxidante, donde es capaz de inhibir la peroxidación de lípidos y el estrés oxidativo; actividad anticáncer, donde induce la apoptosis en células de cáncer de mama humano, así como la inhibición de producción de prostaglandinas y reducción la oxidación de ADN; actividad antiinflamatoria, donde ha demostrado la capacidad de inhibir la expresión de inflamación de citoquinas y suprimir la síntesis de prostaglandinas; anti diabetes, en la inhibición de las α -glucosidasas, y previniendo la unión de glucosa a la seroalbúmina (Khalil et al., 2017).

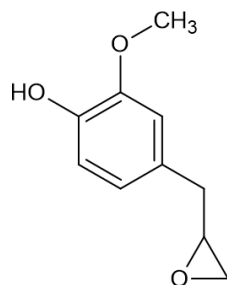
Por otro lado, una de las propiedades biológicas más estudiadas de esta sustancia ha sido su capacidad antibacteriana, donde diversos mecanismos han sido estudiados en varias cepas de bacterias grampositivas y negativas. Algunas de sus propiedades antimicrobianas estudiadas han sido su capacidad de inducir la lisis celular en grampositivas y negativas, dañando la pared celular, siendo muy efectivo contra MRSA. Demostrando también con otros estudios que es más sensible contra bacterias grampositivas tanto en biofilms, cultivos e incluso en ensayos de inocuidad en comida, usando como antiséptico con una dosis inhibitoria menor del 1% (Catherine et al., 2012) (Wang et al., 2021).

Otros mecanismos estudiados del eugenol ha sido su capacidad de promover el estrés oxidativo en las células bacterianas, la inhibición de enzimas bacterianas como proteasas, carboxilasas y amilasas, además de dañar el ADN de las células bacterianas (Wang et al., 2021). Sin embargo, su capacidad de permeabilizar la membrana celular es la más estudiada en bacterias, donde algunos de los métodos más usados para intensificar su actividad antibacteriana es la síntesis de nanopartículas de eugenol unidas a enzimas lisozimas, donde han mostrado una intensa actividad contra bacterias grampositivas por la estructura de su pared celular (Marchese et al., 2017).

3. Derivados del eugenol

La síntesis de derivados de eugenol ha sido tema bastante recurrente en los últimos años, dada las propiedades farmacológicas descritas del eugenol y la presencia de diversos grupos funcionales como aromático, alqueno, hidroxilo y éter. Se han propuesto y creado diversos compuestos derivados del eugenol con cambios en estos grupos funcionales, los cuales han tenido efectos inhibitorios en diversas enzimas humanas, con potenciales actividades cancerígenas, siendo capaces de inhibir enzimas presentes en eritrocitos humanos. Estos derivados fueron creados usando una reacción de apertura de epóxidos (figura 4), creando un epóxido con un éter presente en la cadena alílica, agregando diversos grupos fenólicos como éteres (Topal et al., 2017).

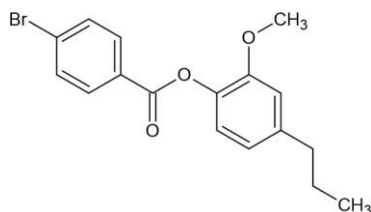
Figura 4 Estructura del epóxido de eugenol



Dicho epóxido sintetizado ha sido de los derivados con más frecuencia en los diversos estudios, pues permite agregar nucleófilos a la cadena propílica, donde el propio epóxido presenta toxicidad ante el *S. aureus* y la apertura del anillo con diversos grupos funcionales como éteres de diversas cadenas y acetilaciones del epóxido, además de una reacción de gamma lactonización en la cadena propílica la cual mostraron la capacidad de inhibir la acetilcolinesterasa en humanos (Abdou et al., 2021b).

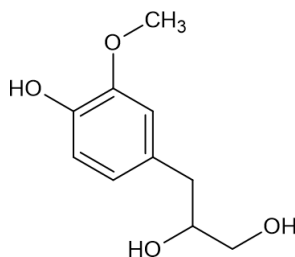
Las reacciones más comunes realizadas sobre dicha molécula son las esterificaciones y síntesis de éteres a partir del hidroxilo fenólico de la molécula, usando diversas cadenas de carbono, desde acetilación hasta cadenas de carbono incluyendo grupos aromáticos con diversos sustituyentes en el benceno. De los cuales los ésteres aromáticos probaron tener la mayor capacidad inhibitoria en bacterias gramnegativas y grampositivas, mientras que otros derivados no demostraron la misma capacidad inhibitoria para ambos tipos de bacterias. Además de mostrar una alta citotoxicidad en células cancerígenas y en diversas especies de hongos, específicamente los ésteres aromáticos con halógenos en la posición meta (Figura 5) (Rahim et al., 2017b) (Martins et al., 2016) (De Almeida et al., 2019).

Figura 5 Estructura de un éster de eugenol



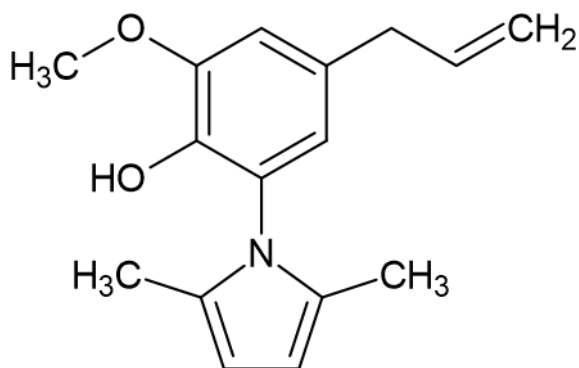
Otros derivados que han mostrado una alta eficacia han sido a partir de la sustitución del alqueno terminal de la cadena propílica, donde reacciones de doble hidratación formando un glicol (Figura 6), para usar éteres y esterés con buenos rendimientos y una acción inhibitoria contra *Streptococcus* y *B. cerus*. Además, algunos derivados nitrogenados y oxigenados como las oxipropanolaminas con diversas cadenas de carbono, han obtenido inhibición del crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* (Da Silva *et al.*, 2018) (Abdou *et al.*, 2021a).

Figura 6 Estructura del glicol de eugenol



La síntesis de nuevos derivados del eugenol es un campo muy amplio para la investigación científica, siendo los derivados nitrogenados algunos de los más efectivos para la inhibición de crecimiento bacteriano, el propósito de la siguiente investigación es la síntesis de un derivado del eugenol con un grupo funcional nunca probado como lo puede ser un anillo pirrólico (Figura 7) , el cuál es un heterociclo aromático nitrogenado de 5 miembros, en la posición aromática, donde otros derivados nitrogenados han tenido éxitos al incrementar su actividad antibacteriana. Además, dicho grupo funcional se encuentra presente en diversas moléculas biológicas, así que su presencia en otros antibióticos, así como compuestos naturales con propiedades antibacterianas es común (Abdou *et al.*, 2021a) (Heo *et al.*, 2023).

Figura 7 Estructura del pirrol de eugenol



D. Síntesis orgánica

1. Síntesis de aminas primarias

Las aminas son grupos funcionales nitrogenados, comunes en moléculas de interés biológica, por lo que sintetizar una amina primaria es un sumamente importante para la investigación de nuevos fármacos, agroquímicos y productos biológicamente activos. Sin embargo, un problema para la síntesis de aminas primarias es la poca selectividad, pues al ser las aminas sumamente reactivas es posible que reaccionen con compuestos de su entorno para dar productos secundarios (Murugesan et al., 2020).

Una de las reacciones más útiles para la síntesis de aminas primarias es la aminación reductiva. La cuál es una reacción donde un grupo funcional carbonilo, reacciona con una amina, como lo puede ser el amonio, el cuál forma una imina que puede ser reducida por medio de un agente reductor como NaBH_4 . Esta reacción se conoce desde hace bastantes décadas y en los últimos años se han planteado diversas variaciones de la reacción usando catalizadores y agentes reductores distintos, para mejorar su rendimiento y quimio selectividad (Murugesan et al., 2020).

Otro método para sintetizar aminas primarias es mediante la reducción del grupo nitro, esto funciona especialmente para aminas aromáticas, pues el grupo nitro RNO_2 , es un grupo funcional fácil de agregar a anillos aromáticos por medio de una reacción de nitración. Dicho grupo funcional es capaz de ser reducido por diversas reacciones, una de las más utilizadas implica el uso de Fe (hierro) y HCl, conocido como el proceso de Bechamp. Dicho proceso ha sido utilizado ampliamente en los últimos años para la síntesis industrial de

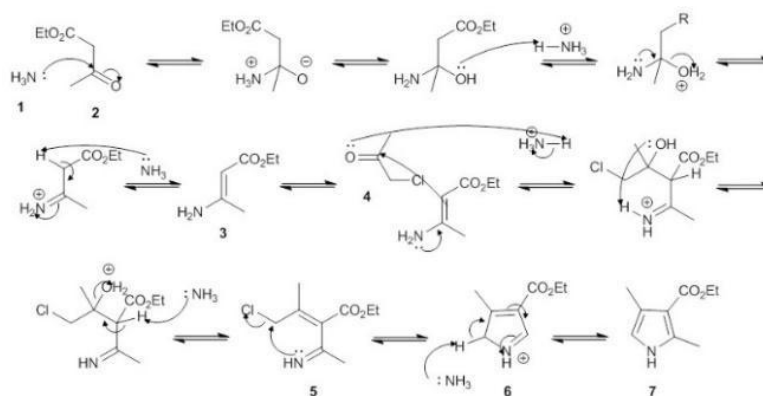
aminas aromáticas con diversas variaciones en el metal usado y las condiciones de reacción (Formenti et al., 2018) (Umar & Luo, 2023).

2. Síntesis de pirroles

El pirrol es un heterociclo aromático nitrogenado, el cual consta de 5 miembros. Esta presente como grupo funcional en diversas moléculas de interés biológicos, como porfirinas, alcaloides, vitaminas, aminoácidos y fármacos, Por lo cual su síntesis de suma importancia para la investigación farmacéutica y biológica, siendo que existen diversas rutas sintéticas para este grupo funcional (Akelis et al., 2015).

Existen 2 métodos bastante usados para la síntesis de pirroles, el primero es la síntesis de pirroles de Hantzsch, la cual consta de una reacción entre una base de Schiff y un β -cetoéster que permite una condensación carbonílica para la ciclación, dado en condiciones ácidas, permite crear pirroles sustituidos, puede usaras también para la síntesis de piridinas, siendo usado para la síntesis de dichos grupos aromáticos en sus aplicaciones farmacéutica (Akelis et al., 2015). El mecanismo se muestra en la Figura 8

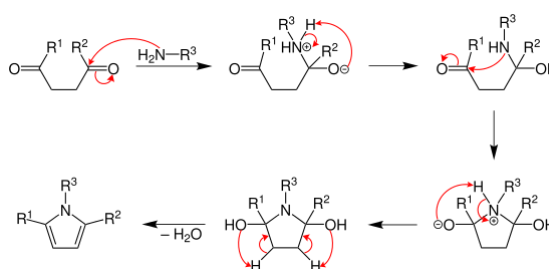
Figura 8 Ejemplo de mecanismo de la síntesis de pirroles de Hantzsch



Fuente: Li, JJ (2009)

Otro método de síntesis de pirroles en la síntesis de Paal-Knoor, la cual consiste en una reacción entre aminas primarias y una 1,4-dicetona, que permite crear pirroles simples y sustituidos bajo condiciones ácidas. Múltiples catalizadores han sido usados para mejorar la eficiencia de dicha reacción que suele encontrarse en el 60% según la literatura, el uso de bases de Lewis inorgánicas como nanopartículas de óxidos metálicos, ha permitido disminuir tiempos de reacción, así como aumentar la eficiencia de las reacciones (Balakrishna et al., 2018). El mecanismo se muestra en la Figura 9.

Figura 9 Mecanismo general de la síntesis de Paal-Knoor



Fuente: Li, JJ (2009)

3. Determinación de estructuras orgánicas

Para la síntesis orgánica, determinar la estructura de un compuesto químico es sumamente importante. Existen diversos métodos de análisis químico para determinar la estructura molécula de un compuesto. Estos proporcionan información sobre los enlaces presentes en la molécula, el número de átomos e incluso la estereoquímica de la molécula, por ello son ampliamente usados en síntesis orgánica. Entre ellos se encuentran:

a. Espectroscopía infrarroja

Consiste en un método para medir la interacción de la luz infrarroja con la materia. La luz infrarroja es aquella cuya longitud de onda oscila entre $8 \cdot 10^{-5}$ cm a $1 \cdot 10^{-2}$ cm. Dicha luz no es capaz de generar transiciones en los niveles electrónicos de los átomos, sin embargo, es capaz de causar vibraciones en los enlaces de la molécula. Dichas vibraciones pueden ser simétricas o asimétricas, y varía la longitud de onda en la que dicha vibración ocurre, dependiendo del enlace, lo que permite identificar qué tipo de enlace está presentes en las moléculas (Wade, 2010).

El espectro infrarrojo es una gráfica que representa la energía absorbida por la muestra en función de la longitud de onda. En dicho espectro es posible identificar los tipos de enlaces presentes en la molécula al tener distintas formas en el espectro a diversas longitudes de onda. Esto provee información bastante útil para identificar un compuesto orgánica, además de confirmar el éxito de una síntesis orgánica, pues permite diferenciar y determinar la presencia de grupos funcionales (Wade, 2010).

b. Espectrometría de masas

Consiste en un método para determinar la masa de las moléculas, pues permite detectar la masa de un ion. Permite fragmentar una molécula gracias a la colisión de ésta con partículas de alta energía, siendo estos electrones. Los iones son separados por deflexión magnética, lo que permite detectar iones de distinto tamaño que pasan por un detector (Wade, 2010).

Esto permite conocer el espectro de masas que da información sobre las fragmentaciones de la molécula, pues dependiendo de los grupos funcionales y la estructura se favorecerán diversas fragmentaciones. Al conocerse el valor de la masa de los átomos (generalmente carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre en moléculas orgánicas) se puede reconocer la estructura de la molécula. Dicha sensibilidad también permite identificar la presencia de isótopos de los átomos presentes (Wade, 2010).

c. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear

Es el método que más información proporciona para la identificación de compuestos orgánicos. Consiste en la medición de la resonancia de los núcleos atómicos ante la presencia de un campo magnético y luz de frecuencia de radio. Dicho fenómeno se presenta únicamente en núcleo atómicos con cantidad impar de protones y neutrones, donde la presencia de un campo magnético alinea el spin de los núcleos en dos direcciones, a favor del campo magnético (α) y en contra (β). Ante luz de frecuencia de radio dichos estados se intercambian en una resonancia que emite energía y puede ser medida por un detector (Wade, 2010).

Esto permite identificar moléculas con núcleos orgánicos, en el caso de la síntesis orgánica al ser las moléculas hechas de ^1H y ^{13}C . Dependiendo de los átomos que rodeen al núcleo, este resonará a una frecuencia distinta. Lo que brinda información sobre los entornos de los átomos, como grupos funcionales cercanos, dicha información es útil en la síntesis orgánica para confirmar el cambio de un grupo funcional o la adición de un nuevo núcleo atómico (Wade, 2010)

VII. METODOLOGÍA

A. Sujeto de estudio

Se analizó el derivado eugenol sintetizado y sus efectos antibacterianos para comparar con otro derivado conocido y eugenol puro.

B. Diseño, enfoque y tipo de investigación

Diseño: Exploratorio

Enfoque: Mixto

Tipo: Experimental

C. Tipo y tamaño de muestra

Se realizó un ensayo para cada bacteria en el antibiograma de Kirby-Bauer usando *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa*

D. Criterios de inclusión y exclusión

Para la selección de derivado de eugenol se excluyeron todos aquellos derivados reportados anteriormente en la literatura. La síntesis orgánica únicamente incluyó reacciones que hayan demostrado un alto rendimiento en la literatura y cuyos recursos estuvieran disponibles en la Universidad del Valle de Guatemala. Para los ensayos de toxicidad únicamente se llevaron a cabo ensayos en aquellos organismos que hayan probado susceptibilidad en el pasado. Entre ellos se encuentra *S. aureus*, *E. Coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa*.

E. Variables

Cuadro 2 Variables de estudio

Variable	Naturaleza	Nivel de medición	Definición
Grupo funcional	Cualitativa	Nominal	Estructura del compuesto evaluado en su actividad antibacteriana
Rendimiento de reacción	Cuantitativa	Razón	Cantidad de producto obtenido en una reacción en comparación con el producto teórico.
Factor de retención	Cuantitativa	Razón	Distancia recorrida por un componente en comparación con la distancia recorrida por el disolvente.
Zona de inhibición	Cuantitativa	Razón	Área entorno a un antibiótico donde los microorganismos no crecen.

F. Instrumentos de medición

Para la síntesis de los compuestos se midió los resultados de acuerdo con el Cuadro no. 3.

Cuadro 3 Instrumento de medición para la síntesis

Reacción	Rendimiento	Aspecto producto
-	-	-

Para los ensayos antibacterianos se recopilaron los resultados de acuerdo con el Cuadro no. 4.

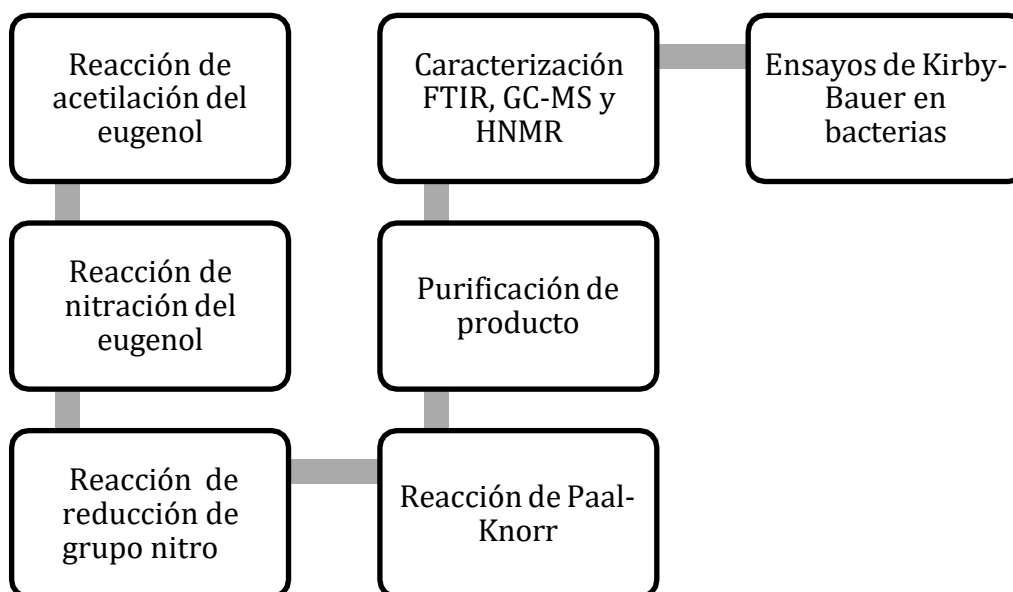
Cuadro 4 Instrumento de medición para los ensayos en bacterias

Especie	Zona de inhibición	Concentración
-	-	-

G. Metodología

La metodología se resume en la siguiente Figura (10).

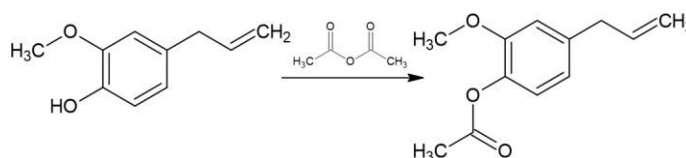
Figura 10 Metodología de la investigación



1. Síntesis de acetileugenol

La síntesis se puede observar en la Figura no. 11.

Figura 11 Síntesis de acetileugenol



Fuente: Elaboración propia

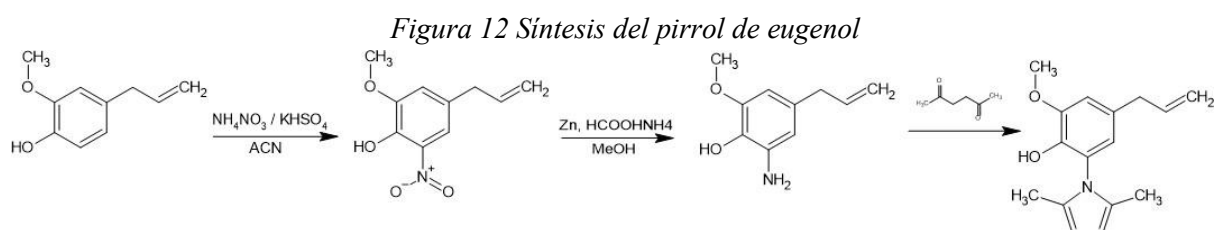
a. Esterificación del eugenol

Se realizó la reacción de esterificación de Manoppo et al. (2011). En un balón de fondo redondo de 250 mL se agregaron 33 g de anhídrido acético con 13.5 g de acetato de sodio anhidro con 26.5 g de eugenol. Se calentó a reflujo durante 3 horas, luego se enfrió y mezcló con una

solución de bicarbonato saturada para neutralizar el ácido acético. Luego se realizó una extracción líquido-líquido con éter de petróleo, se agregó sulfato de sodio anhidro y se destiló al vacío el solvente. Se monitoreo la reacción con TLC usando hexano: acetato de etilo (70:30). Se analizó con TLC, FTIR y GC-MS.

2. Síntesis de pirrol de eugenol

La síntesis se puede observar en la Figura no. 12.



Fuente: Elaboración propia

a. Nitración de eugenol

Se realizó la reacción de nitración de Sudarma et al. (2014). En un balón de fondo redondo de 100 mL, se agregaron 10 g de eugenol puro, con 75 mL de acetonitrilo y se agitó por 5 minutos. Luego se añadieron 6.5 g de KHSO₄ y 10 g de NH₄NO₃, se mezcló durante media hora a temperatura ambiente y luego se refluxó durante 5 horas. Luego se extrajo 2 veces usando 20 mL de acetonitrilo para luego remover el solvente por destilación al vacío. Posteriormente se separó el compuesto del alquitrán formado usando 200 ml de hexano y se destiló el solvente al vacío. Se monitoreo la reacción con TLC usando hexano: acetato de etilo (70:30). Se analizó el producto con TLC, FTIR, GC-MS.

b. Reducción de nitro

Se realizó la reacción de reducción de Olea et al. (2019). En un balón de fondo redondo se colocaron 450 mg de nitro eugenol impuro disueltos en 15 mL de metanol, posteriormente se agregó 1 mL de ácido fórmico junto a 2 mL de amoniaco concentrado. El progreso de la reacción se monitoreo con TLC bajo luz UV, usando hexano: acetato de etilo (70:30) hasta la desaparición del reactivo. Posteriormente se filtró la mezcla de la reacción al vacío y se evaporó el metanol con destilación al vacío. El crudo de la reacción se disolvió en 25 mL de acetato de etilo y se extrajo con salmuera (2x30 mL). Se evaporó el acetato de etilo para posteriormente filtrar al vacío el crudo con sílica gel, el filtrado se disolvió en etanol y se acidificó con HCl concentrado hasta llevar a un pH de

1, se realizó una extracción con acetato de etilo, descartando la fase orgánica y elevando el pH de la fase acuosa con amoníaco hasta 6, luego se extrajo nuevamente con acetato de etilo y finalmente se evaporó el solvente para dar el producto deseado. Se confirmó la pureza usando TLC, FTIR, GC-MS, HNMR y punto de fusión.

c. Síntesis de Paal-Knorr

Usando el procedimiento de Lai y Li (2025). Se añadió en un balón de fondo redondo 100 mg del producto previo junto a 60 mg de 2,5-hexanodiona con 15 mL de etanol y se elevó la temperatura a 60°C y se agitó la muestra durante 4 horas. El producto obtenido fue extraído con diclorometano y HCl 2 N, posteriormente se destiló al vacío el solvente y el sólido obtenido se filtró con sílica gel y zeolita, posteriormente se evaporó el solvente. Se analizó el progreso de la reacción con TLC usando fase móvil 70/30 hexano: acetato de etilo. Se analizó el producto con FTIR, GC-MS y HNMR y punto de fusión.

3. Pruebas antibacterianas

Se usó el protocolo de ensayo de Kirby-Bauer de la American Society for Microbiology (2009). Se realizó la prueba en *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa*.

a. Preparación del inóculo

Se preparó un estándar de McFarland para medir la densidad óptica. Añadiendo 0.5 mL de una alícuota de BaCl₂ 0.048 M a 99.5 mL de una solución de H₂SO₄ al 1% (v/v). Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 625 nm para comprobar que se encontrará entre valores de 0.08 y 0.13. Para el inóculo, se suspendió en 2 mL de solución salina, colonias aisladas de los organismos usados para la prueba. Ajustando la turbidez con más microorganismos hasta obtener una densidad óptica y turbidez similar al estándar de McFarland preparado.

b. Preparación de las placas

Se disolvió el medio Muller-Hinton en agua, agitando y calentando, después se colocó en la autoclave a 121 °C por 15 minutos para colocar el medio en placas de 100 mm. Se dejó reposar hasta que se solidificará durante 15 minutos. Luego se procedió a tomar una muestra de inóculo con un hisopo estéril y se sembró en la placa para reposar durante 5 minutos para que se absorbiera el inóculo.

c. Discos de difusión

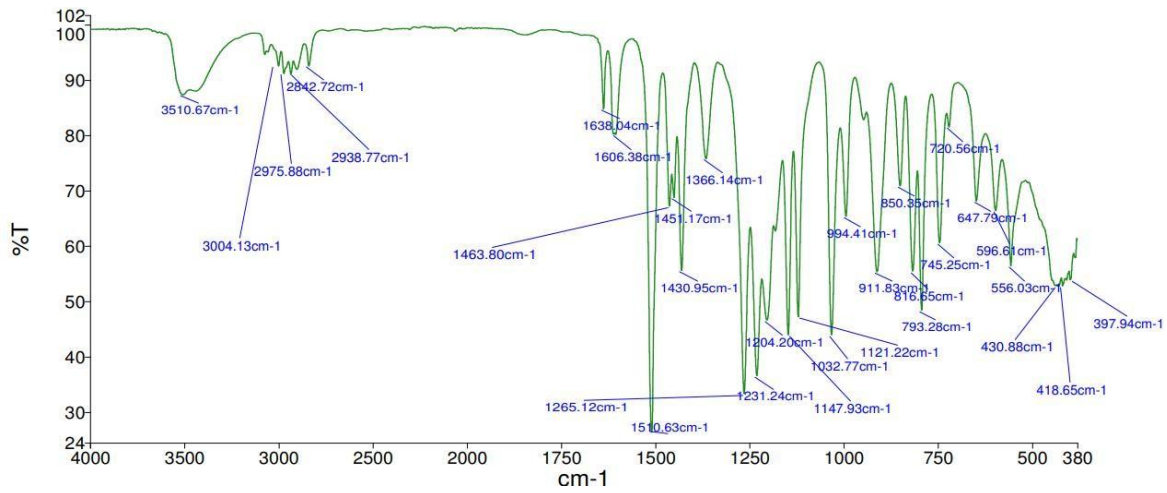
Se utilizaron discos de papel previamente esterilizados con luz UV. Se impregnaron los discos con una solución de eugenol, acetileugenol y eugenol pirrol en metanol a las siguientes concentraciones: 2 mg/mL y 10 mg/mL. Como control negativo se usó metanol y como control positivo se usó ampicilina. Se colocaron los discos con en la placa y se cerró para incubarse a 35 °C durante 24 horas. Posteriormente se midió el radio de inhibición del crecimiento bacteriano para determinar la zona de inhibición y la concentración más baja a la cual se inhibió el crecimiento.

H. Análisis de datos

Se analizó la zona de inhibición del producto en las especies de bacterias usadas en el estudio. Describiendo toda la estadística descriptiva y comparando los datos con la zona de inhibición del control positivo, el eugenol puro y acetileugenol.

VIII. RESULTADOS

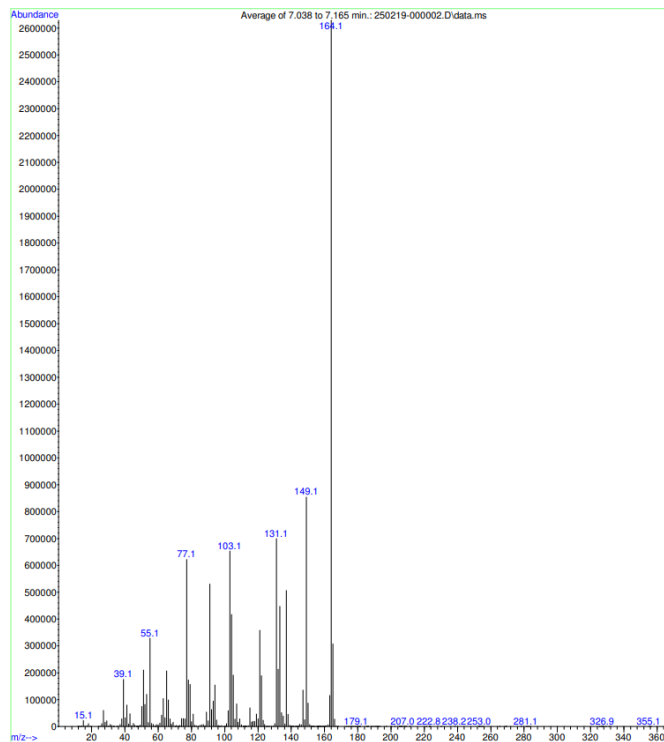
Figura 13 Espectro IR del eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro IR presentó picos en 3500 cm^{-1} (-OH), además de un pico alrededor de 3000 cm^{-1} (C=C) y un pico en 1460 cm^{-1} (C-O)

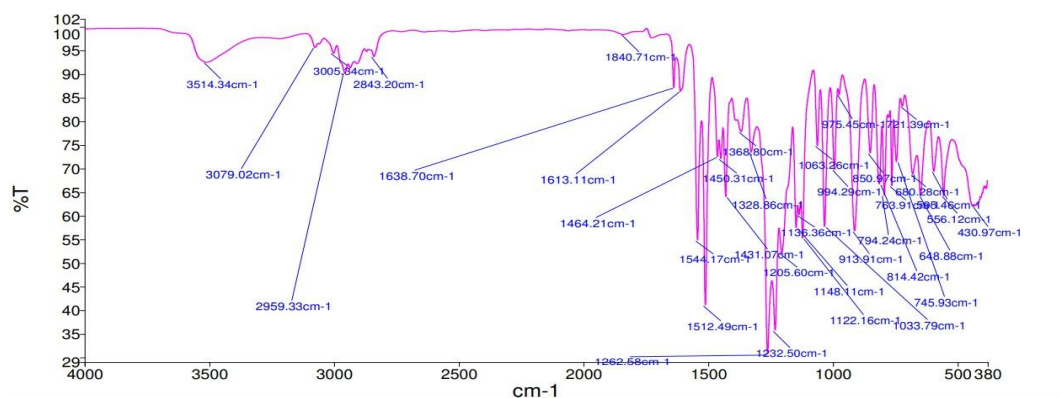
Figura 14 Espectro de masas del eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro presentó un ion molecular y pico base en 209, además de picos característicos en 149, 131, 109 y 91.

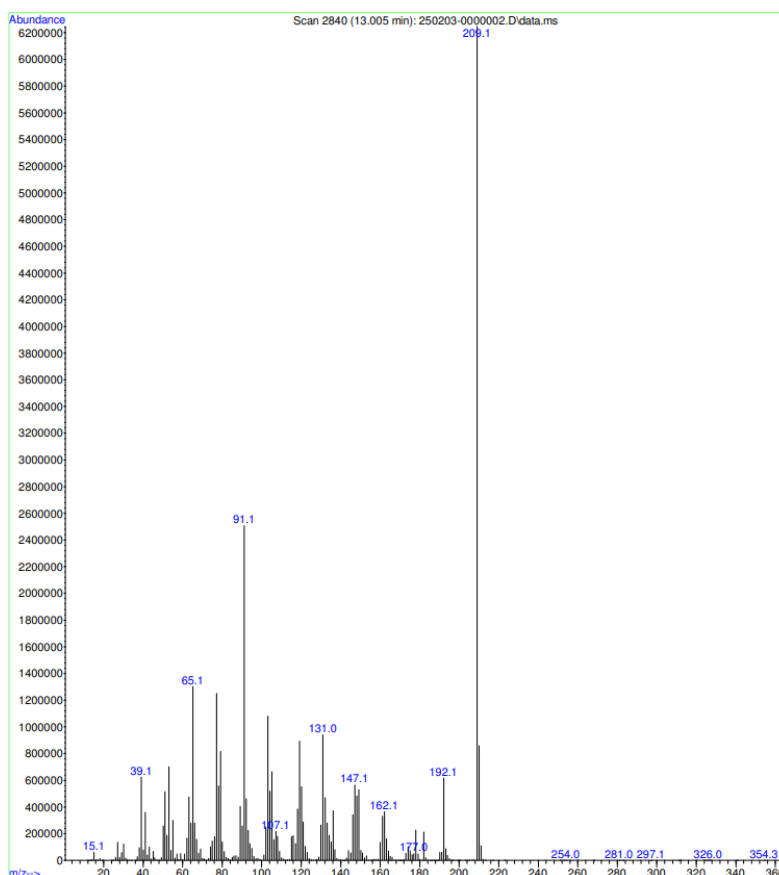
Figura 15 Espectro IR del nitro eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro IR presentó picos característicos en 1300 cm⁻¹ y 1500 cm⁻¹, que son característicos del grupo nitro, además de picos en 3500 cm⁻¹, 3079 cm⁻¹, 1613 cm⁻¹, 1512 cm⁻¹

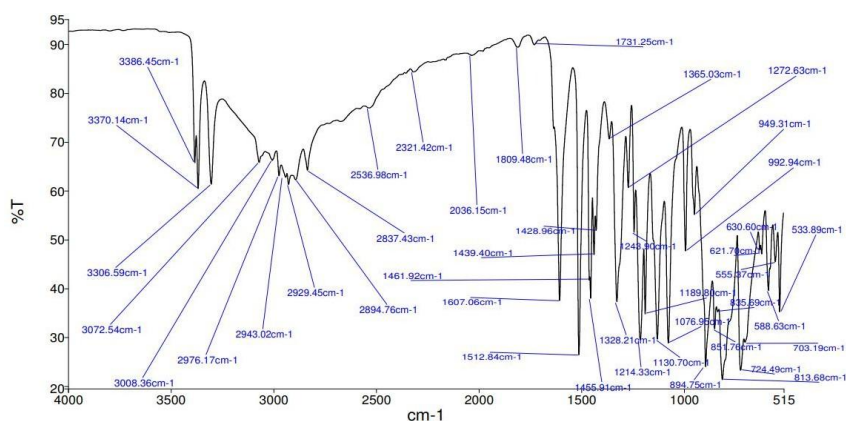
Figura 16 Espectro de masas del nitro eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro presentó un ion molecular y pico base en 209, además de picos característicos en 149, 131, 109 y 91.

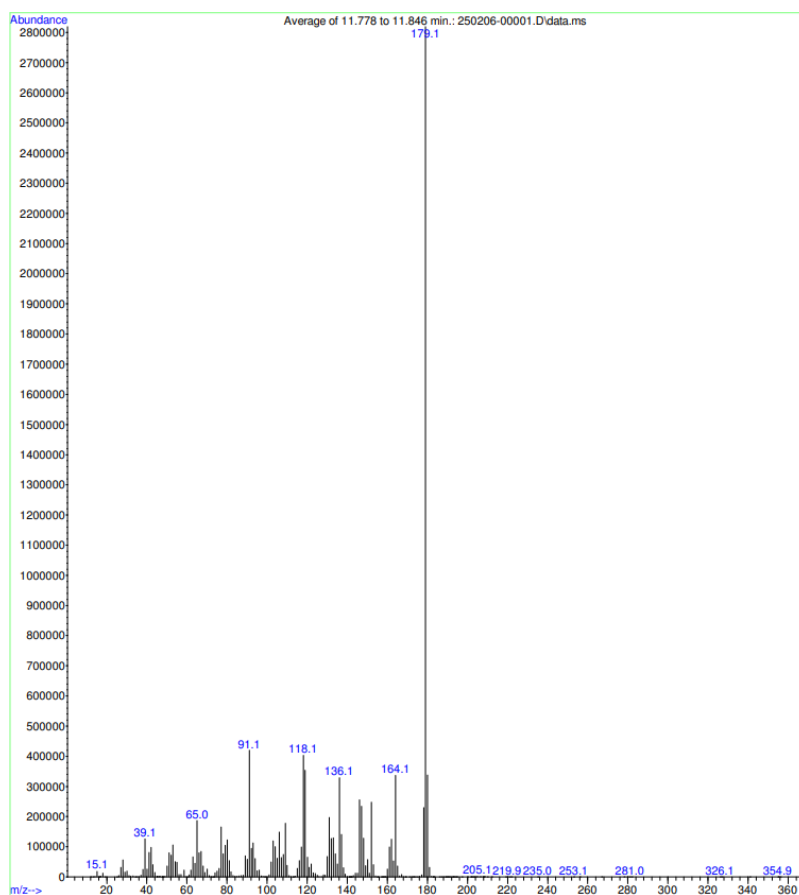
Figura 17 Espectro IR del amino eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro IR reveló un pico en 3372 cm⁻¹ (NH₂) y 1214 cm⁻¹ (CN), en 3308 cm⁻¹ (Ar-OH) y 3072 cm⁻¹ (CH=CH₂).

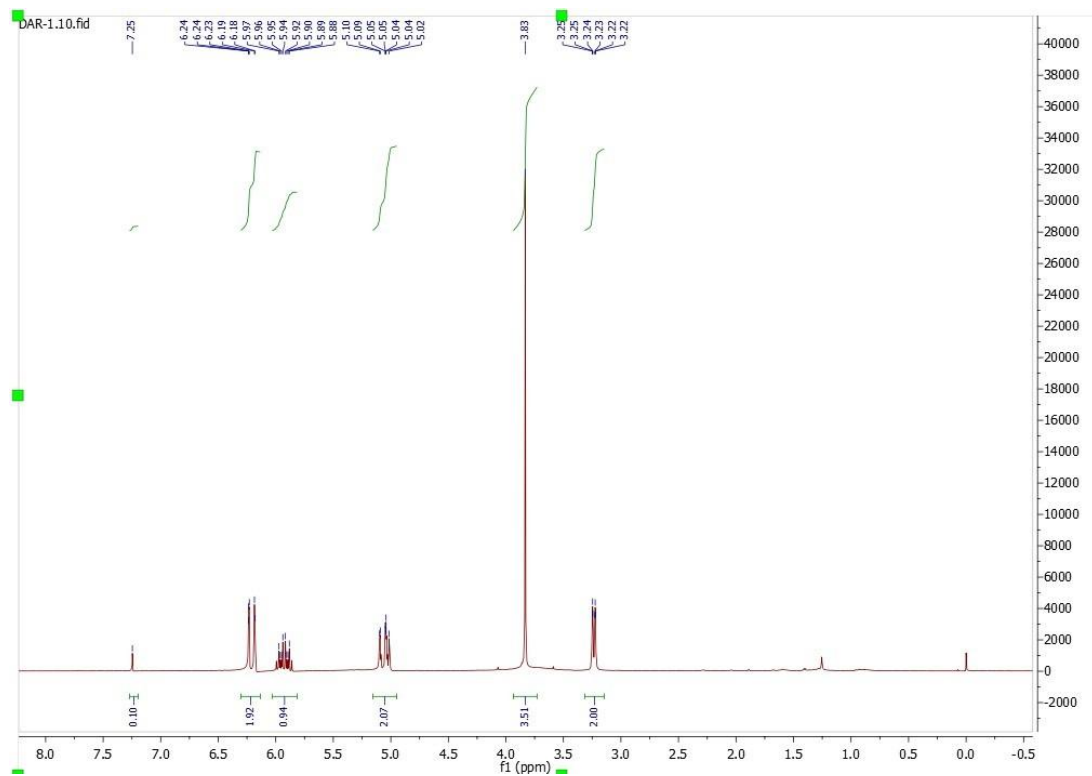
Figura 18 Espectro de masas del amino eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro de masas reveló un pico base y ion molecular en 179, además de otros picos relevantes en 164, 136, 118 y 91.

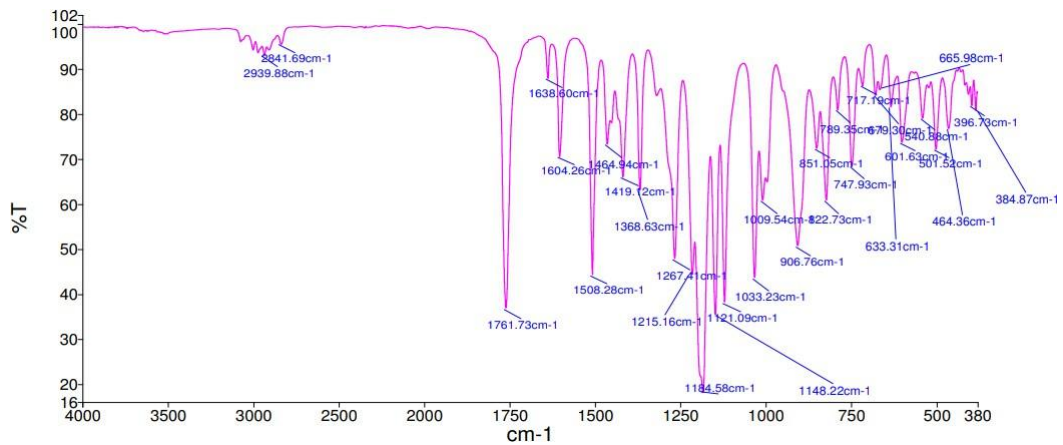
Figura 19 Espectro HNMR del amino eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro de HNMR reveló señales en 3.2 ppm, 3,8, 5.0, 5.9 y 6.2 ppm.

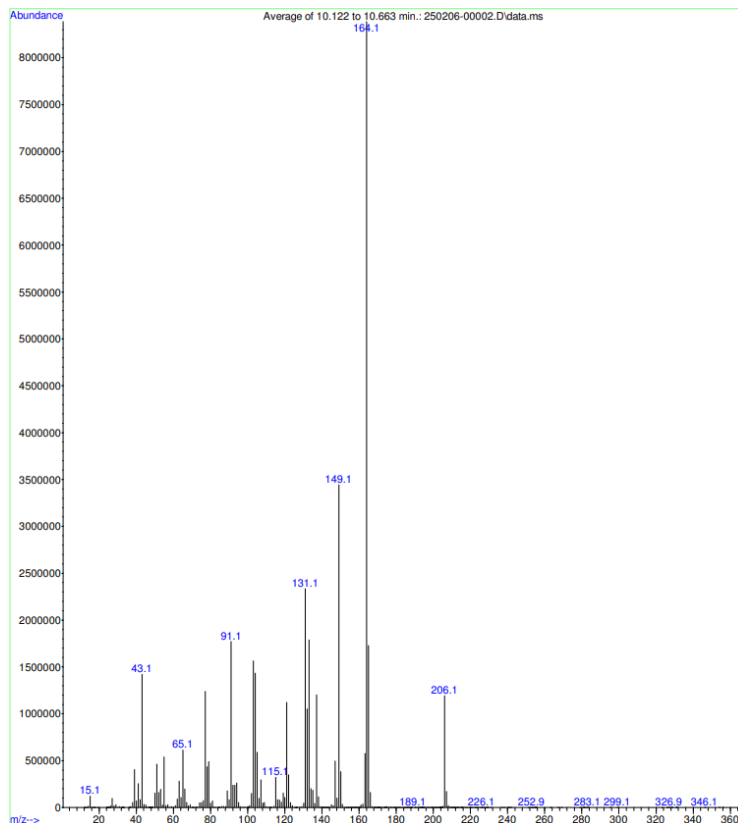
Figura 20 Espectro IR del acetil eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro reveló picos en 1761 cm⁻¹ (C=O), además de un pico alrededor de 3000 cm⁻¹ (C=C) y un pico en 1460 cm⁻¹ (C-O)

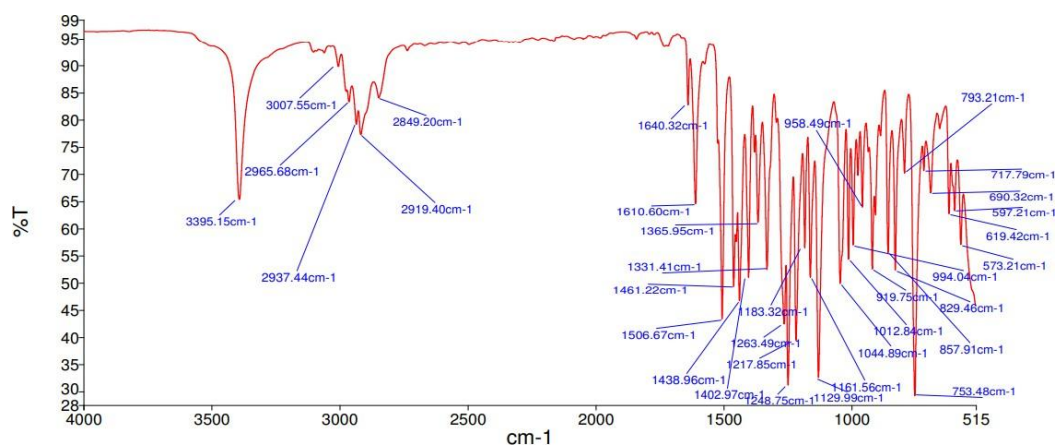
Figura 21 Espectro de masas del acetil eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro reveló un ion molecular en 206 m/z, además de un pico base en 164 y picos en 149, 131 y 91.

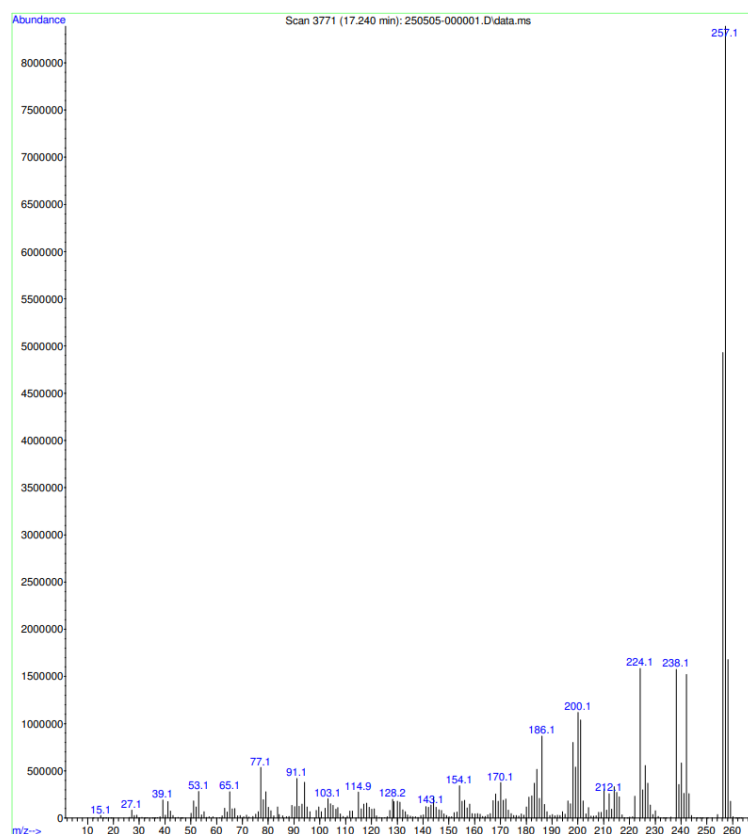
Figura 22 Espectro IR del pirrol de eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro IR reveló picos en 3395 cm⁻¹ (OH), además de picos en 1331 cm⁻¹ (CN) y de 3000 cm⁻¹ (C=C) y un pico en 1460 cm⁻¹ (C-O)

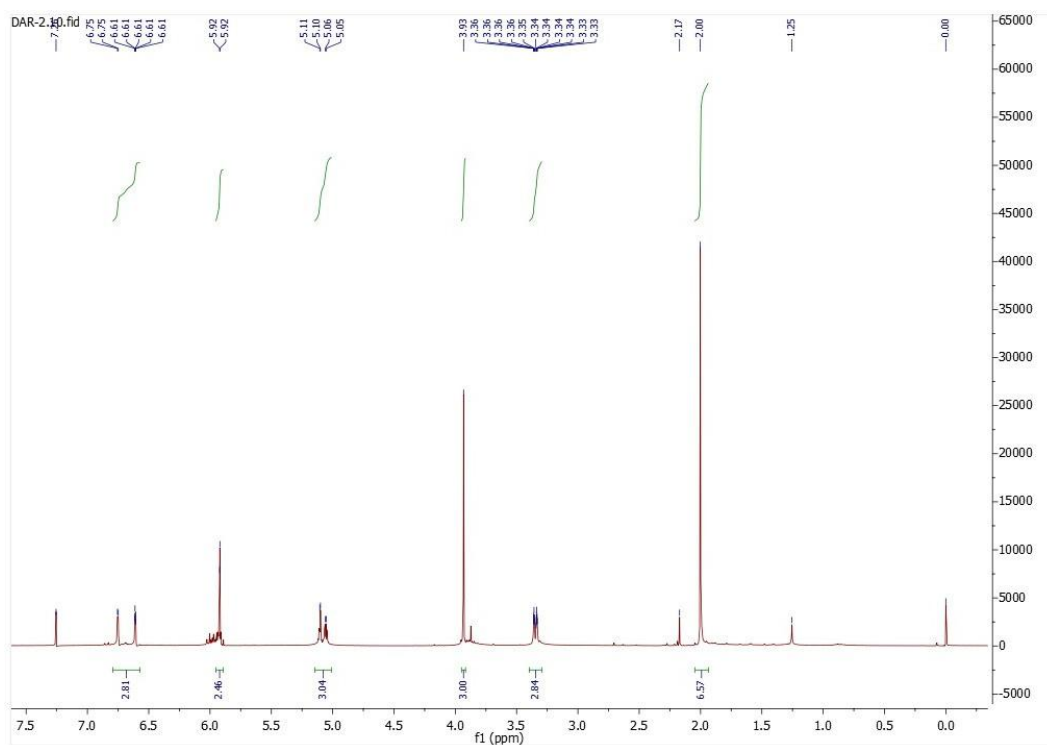
Figura 23 Espectro de masas del pirrol de eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro revela un ion molecular y pico base en 257 m/z, además de picos en 238, 224, 212 y 200.

Figura 24 Espectro HNMR del pirrol de eugenol



Nota. Elaboración propia.

El espectro de HNMR reveló señales en 2.0, 3.4, 3.93, 5.1, 5.9, 6.6 y 6.7 ppm.

Cuadro 5 Resultados de la síntesis

Reacción	Rendimiento (%)	Aspecto producto	Punto de fusión (°C)
Acetilación	85	Líquido aceitoso, incoloro, con un leve olor a eugenol	N/A
Nitración	79	Líquido amarillo intenso con un aroma similar el eugenol	
Reducción	29	Sólido blanco cristalino	105 – 107
Paal-Knoor	63	Sólido blanco cristalino	95 - 97
Síntesis total	15	N/A	N/A

Nota. N/A significa no aplica.

Fuente: Elaboración propia.

En el cuadro anterior se puede observar los rendimientos de las reacciones realizadas y sus rendimientos.

Cuadro 6 Factor de retención de los compuestos

Producto	Rf	Fase Móvil
Eugenol	0.85	Hexano: Acetato de etilo (7:3)
Acetil eugenol	0.91	
Nitro eugenol	0.67	
Amino eugenol	0.42	
Pirrol eugenol	0.73	

Nota. Las TLC fueron realizadas usando placas Silica gel 60 F₂₅₄ marca Merck

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro anterior se puede observar el factor de retención de los compuestos involucrados en la síntesis.

Cuadro 7 Resultados antibiogramas

Tratamiento	Concentración	Zona de inhibición (cm)				
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aureginosa</i>
Ampicilina	0.1 mg/mL	4.1	4.0	4.0	1.0	3.0
Metanol	Puro	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0
Dimetilsulfóxido	Puro	0.0	0.0	N/A	N/A	0.0
Eugenol	2 mg/mL	1.0	N/A	N/A	N/A	N/A
	10 mg/mL	1.0	1.0	0.0	0.9	1.0
Acetil eugenol	10 mg/mL	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4
Amino eugenol	2 mg/mL	0.8	0.0	N/A	N/A	2.0
	10 mg/mL	1.0	1.0	0.2	1.0	1.0
Pirrol eugenol	2 mg/mL	0.8	1.0	N/A	N/A	2.0
	10 mg/mL	1.2	2.1	0.0	0.0	2.3

Fuente: Elaboración propia

El cuadro anterior muestra los resultados de los ensayos de Kirby-Bauer.

IX. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A. Síntesis de derivados de eugenol

El objetivo de la investigación fue comparar la actividad antibacteriana del eugenol, un derivado conocido como el acetil eugenol y el pirrol eugenol sintetizado. La identidad de los compuestos fue confirmada usando espectrometría de masas y espectroscopía FTIR. Mientras que los ensayos en Kirby-Bauer revelaron diversas intensidades en la inhibición de bacilos gramnegativos y grampositivos.

Para la molécula inicial, eugenol, se caracterizó usando FTIR, TLC y GC-MS, en su espectro IR (Figura 13) presentó picos en 3500 cm^{-1} correspondientes al fenol presente en la molécula, además de un pico alrededor de 3000 cm^{-1} por la presencia de un doble enlace terminal, pico en 1460 cm^{-1} por el enlace C-O. Por otro lado, el espectro de masas reveló un ion molecular de 164 m/z que es a su vez, el pico base, este fenómeno implica lo que concuerda con el espectro de masas reportado en la literatura, con picos característicos en 149, 131 y 91. Además, posee un R_f de 0.85 en un TLC con fase móvil de hexano: acetato de etilo (70:30), lo que concuerda con lo esperado dada su baja polaridad por la presencia de anillo aromático y cadena propílica (Wade, 2010).

El acetil eugenol fue sintetizado para comparar la actividad antibacteriana con los otros derivados, ya que ésta se encontraba reportada. La reacción fue exitosa obteniendo un rendimiento del 80% aproximadamente, que coincide con el reportado en la literatura. El espectro IR reveló un pico de carbonilo en 1767 cm^{-1} , como estaba reportado en la literatura, además de desaparecer el pico de OH en 3300 cm^{-1} perteneciente al fenol del eugenol. Además, el espectro de masas indicó un ion molecular de 206 m/z , con un pico base en 164 m/z , indicando la presencia de un ion acetilo en la molécula del eugenol cuya masa es de 164, además de picos característicos en 149, 131, 91 y 43 (Da Silva et al., 2018).

El compuesto acetilado se encuentra con una pureza de más del 90% según reveló el GC-MS y la TLC. La principal contaminación es la isomerización del eugenol y su posterior acetilación según reveló el GC-MS, esta reacción pudo haber ocurrido por las condiciones ácidas del medio, con las cuales isomerizó el eugenol, además el compuesto sintetizado tuvo un R_f de 0.91, en una fase móvil de hexano y acetato de etilo (70:30), el cual fue mayor al R_f del eugenol de 0.85, el cual concuerda con lo esperado, al reaccionar el grupo OH, se pierde polaridad por los puentes de hidrógeno, por lo cual la TLC resultó efectiva para analizar el compuesto antes de usar GC-MS. Por otro lado, algunas recomendaciones para mejorar la

pureza y rendimiento de la reacción sería usar una base fuerte como la piridina para eliminar el ácido formado y evitar su reacción con eugenol, como ha sido realizado en otros estudios donde han usado esta reacción (Da Silva et al., 2018).

En el caso de la reacción de nitración, ésta fue realizada usando sales de nitrato y sulfato para reemplazar la mezcla de ácidos habitual en esta reacción, los cuales resultaron ser muy oxidantes. Este cambio permitió tener una reacción más controlada y reducir la oxidación y carbonización de los sustratos, permitiendo un reflujo que dio como lugar un rendimiento considerable comparado con otros estudios donde la reacción de nitración tradicional del eugenol obtiene un rendimiento menor al 60%. Mientras que se ha confirmado que la nitración usando sales ácidas ha obtenido un rendimiento mayor al 80%, por lo cual el rendimiento reportado coincide con la literatura (Sudarma *et al.*, 2014).

Las propiedades del producto coinciden con las reportadas en la literatura al obtener un líquido aceitoso de coloración roja en estado puro y amarillo al disolverse, es soluble en acetato de etilo, cloroformo y etanol, y medianamente soluble en hexano. Quedaron algunas impurezas en el producto final, pues el análisis con TLC y GC-MS indicó la presencia de eugenol sin reaccionar y otras impurezas como se puede observar en el anexo 1, obteniendo una pureza del 50%. Estas impurezas pueden ser principalmente oxidación de la materia orgánica por la presencia de ácidos, así como una posible polimerización del eugenol, esto generó que únicamente el hexano pudiera separar el producto final del alquitrán formado. Se recomienda el uso de cromatografía de columna para aislar el nitro eugenol como se ha realizado en otros estudios, sin embargo, para fines de la síntesis no se realizó dicha purificación pues la reacción posterior no necesitaba del sustrato puro (Sudarma *et al.*, 2014).

Por otro lado, los espectros IR y masas confirmaron finalmente la identidad del compuesto. Específicamente el espectro IR presentó picos característicos en 1300 cm^{-1} y 1500 cm^{-1} , que son característicos del grupo nitro, además de picos en 3500 cm^{-1} , 3079 cm^{-1} , 1613 cm^{-1} , 1512 cm^{-1} , que provienen de los grupos funcionales característicos del eugenol como fenol, alqueno, éter y aromático. En cuanto al espectro de masas, mostró un ion molecular con una masa que coincide con la esperada de 209, además de fragmentos característicos en 192, 162, 147, 131 y 91 que coinciden con el espectro reportado en la literatura. Con esta información se confirma la presencia del nitro eugenol en el producto de la reacción a pesar de las impurezas (Sudarma *et al.*, 2014).

La reacción de reducción mostró un menor rendimiento, del 30% aproximadamente, la mezcla usada de Zn y HCOONH_4 fue efectiva para evitar la formación de subproductos considerables como la reducción del alqueno terminal, o la formación de oximas e

hidroxilaminas en la reducción del nitro, como se pudo observar con la TLC y GC-MS, lo que concuerda con lo esperado según la literatura. El aislamiento de la anilina usando su forma de clorhidrato implicó no usar cromatografía de columna, obteniendo un rendimiento ligeramente menor al de la literatura del 55%, esto implica que el método usado fue eficiente para la purificación del compuesto, aunque haya implicado un menor rendimiento (Olea *et al.*, 2019).

Las propiedades de la anilina sintetizada concuerdan con las esperadas, al ser un sólido blanco poco soluble en agua y soluble en solventes orgánicos. Su R_f en una fase móvil de hexano: acetato de etilo (7:3) es de 0.42, menor al compuesto nitro y el eugenol, lo que coincide con su polaridad esperada dada la presencia de un grupo amino que puede formar puentes de hidrógeno con la sílice, lo que también explica el aumento de su punto de fusión con respecto al nitro eugenol, que resulta más apolar.

En cuanto a la caracterización instrumental, el espectro IR reveló un pico en 3372 cm^{-1} proveniente de la tensión NH y 1214 cm^{-1} de la tensión C-N, característicos de una anilina, así como picos característicos del eugenol como la tensión Ar-OH en 3308 cm^{-1} , tensión CH=CH₂ en 3072 cm^{-1} , entre otros picos característicos que coinciden con la literatura (Olea *et al.*, 2019). Por otro lado, el espectro de masa reveló un ion molecular con una m/z de 179, que coincide con la esperada en teoría, además de otros picos relevantes en 164, correspondiente al eugenol, 136, 118 y 91. Finalmente el punto de fusión del compuesto coincide con el reportado en la literatura entre $105\text{ }^{\circ}\text{C} - 107\text{ }^{\circ}\text{C}$, lo que confirma la pureza del compuesto (Olea *et al.*, 2019).

Finalmente, el espectro de HNMR, confirmó completamente la identidad del producto, obtenido protones de éter con un δ de 3.83, con una multiplicación de singlete y una proporción de 3. Una señal en δ 3.24 con un duplete correspondientes a hidrógenos de metileno, con una proporción de 2, una señal en un δ de 5.0 con un triplete, correspondiente al vinilo del eugenol, con una proporción de 2, una señal en un δ de 5.9 de un singlete que corresponde al hidrógeno del alqueno y 2 hidrógenos en singlete en un δ de 6.19 y 6.25 correspondientes a los hidrógenos aromáticos del amino eugenol. Es importante mencionar que no aparecen los hidrógenos del fenol ni la anilina en el espectro medido, dichos hidrógenos pueden ser intercambiados con el protón deuterado del solvente en distintas condiciones como humedad o restos de ácido, lo que impide su aparición en el espectro NMR, sin embargo, los demás protones concuerdan en el δ con lo esperado en la literatura por lo cual el espectro tiene sentido (Olea *et al.*, 2019). Para mejorar la eficiencia de la reacción podría aumentar el tiempo de reacción para asegurar la máxima conversión del sustrato, así como optimizar la temperatura, tomando en cuenta que en otros

sustratos la reacción se lleva a cabo a temperatura en reflujo. Asimismo, podría usarse otras mezclas reductoras químico selectivas, que eviten la reducción del alqueno terminal, mientras permitan un rendimiento más alto en la formación de anilina, como se ha estudiado en la literatura, usando una mezcla ácida y metálica con otros metales como Sn o Fe con asistencia de microondas o ultrasonido para aumentar la eficiencia de la reacción (Orlandi et al., 2016).

Finalmente, la reacción de Paal-Knorr permitió obtener el pirrol dimetilado, como se pudo confirmar con el análisis instrumental. La reacción obtuvo un rendimiento aproximado del 63%, se monitoreó la conversión de anilina a pirrol usando TLC, donde el pirrol obtuvo un R_f de 0.73, dado que se polaridad disminuyó debido a la sustitución de hidrógenos con carbono en la amina, eliminando los puentes de hidrógeno. Este fenómeno se refleja a su vez en el punto de fusión del compuesto, que resultó ser menor a la anilina de eugenol, entre 95 °C – 97 °C, dado a la disminución de la polaridad del compuesto resultando en fuerzas intermolecular menos intensas.

El compuesto fue caracterizado con FTIR (Figura 21), donde se observa un pico en 3395 cm^{-1} , correspondiente a la vibración OH, se puede observar a su vez que el pico correspondiente al enlace NH_2 en el amino eugenol desapareció, implicando la presencia de una amina terciaria, que se confirma con el pico en 1331 cm^{-1} , correspondiente a la C-N, pico que también aparece en espectro del amino eugenol. Posterior a dichos picos, el espectro IR presenta picos característicos del eugenol como en 3007 cm^{-1} correspondiente a la tensión C-H del vinilo, en 1506 cm^{-1} , correspondiente a compuestos aromáticos, entre otros en 1610 cm^{-1} y 1265 cm^{-1} (Wade, 2010).

Por otro lado, el espectro de masas (Figura 23) confirmó la identidad del compuesto, con un ion molecular de 257, coincidiendo con la masa reportada del compuesto. Además, se observa la presencia de picos en 242, 227, 213, 199, 185 y 171 por la pérdida de metilos y metilenos presente en el anillo heterocíclico. Por ello, se determina que el método de GC-MS resultó eficiente para la detección e identificación del compuesto.

Finalmente, el espectro de HNMR reveló la identidad del compuesto al tener señales para los protones presentes en este, como se puede ver en la Figura 24, una señal en 2.0 ppm reveló los hidrógenos de los metilos del R- CH_3 del pirrol, siendo un singlete al no haber otros protones que le hagan acoplamiento, mientras que en 3.3 se puede ver un multiplete con una multiplicidad de 2, relacionado a los hidrógenos del carbono alfa al vinilo del eugenol, que tienen los hidrógenos del doble enlace. En 3.9 se encuentra un singlete con multiplicidad de 3 indicando tres hidrógenos relacionados al metóxido del eugenol. En 5.1 se encuentra un

multiplete correspondientes a 3 hidrógenos relacionados al alqueno terminal del eugenol. En 5.9 se encuentra un singlete de dos hidrógenos relacionados a los hidrógenos del pirrol. Finalmente, la señal de singlete en 6.6 y 6.7 se debe a 2 hidrógenos aromáticos. Por lo cual cuadra el espectro con la estructura sintetizada (Wade, 2010).

Una posterior filtración con sílica permitió obtener un sólido blanco, similar en color a derivados de los pirroles de anilina. El rendimiento fue aproximadamente al 60%, que es menor al reportado en la literatura para la síntesis de pirroles con anilinas con otros sustituyentes, lo que podría influir en el tiempo para completar la reacción, la TLC reveló la presencia de anilina en la mezcla de reacción aun después de 4 horas, por lo que es posible que un mayor tiempo de reacción podría aumentar el rendimiento de la reacción, en diversos sustratos se ha llegado a 24 horas de reacción (Cho et al., 2014).

Por otro lado, la reacción fue eficiente sin el uso de catalizador, tomando en cuenta que las anilinas y sus derivados son menos nucleofílicos que las aminas aromáticas, el uso de catalizadores ácidos podrían activar los carbonilos de la dicetona, aumentando la eficiencia de la reacción, sin embargo, debe ser un ácido débil o un ácido de Lewis para evitar la protonación de la anilina, impidiendo la reacción, ácido cítrico, acético o FeCl_3 han estado reportados para una reacción con alto rendimiento en pirroles de anilina, por lo que podría ser un cambio realizado en futuros estudios (Akelis et al., 2015) (Zhang et al., 2017).

Sin embargo, es importante mencionar que el compuesto es altamente sensible a las condiciones ambientales, con una posible oxidación, para su potencial aplicación debe de ser almacenado junto a un agente oxidante, además, para posteriores estudios se recomienda un análisis más exhaustivo de la sensibilidad utilizando agentes oxidantes o voltamperometría cíclica para determinar la sensibilidad del compuesto. Es importante mencionar que los pirroles suelen ser estables a condiciones ambientes, sin embargo, la presencia de dos sustituyentes con oxígeno como el fenol y metóxido, pueden incitar la oxidación del pirrol en forma de polimerización, aunque esto suele ocurrir en el carbono alfa al nitrógeno, en este caso, dicho carbono está metilado, lo que dificultaría dicho proceso, por lo cual un estudio más completo de esta propiedad es relevante para evaluar otras propiedades (Ram et al., 2019).

B. Ensayos de Kirby-Bauer

Se cumplió el objetivo específico de la investigación al evaluar la actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados en 5 bacterias diferentes. El pirrol eugenol y

acetil eugenol no presentaron actividad contra *K. pneumoniae*, el eugenol y amino eugenol presentaron una ligera actividad antibacteriana, con un halo de inhibición de 0.9 y 1 cm a una concentración de 10 mg/mL, mientras que el estándar de ampicilina únicamente presentó un halo de inhibición de 1 cm.

El resultado del estándar concuerda con lo esperado, pues esta especie de bacteria es naturalmente resistente a los beta-lactámicos por su capacidad de producir enzimas que los degraden. En cuanto a los compuestos que presentaron actividad, se ha reportado actividad antibacteriana por parte del eugenol, donde se ha determinado que diversas interacciones hidrofóbicas son las que predominan entre el eugenol y diversas proteínas presentes en la bacteria, además de un puente de hidrógeno formado por el fenol y residuos de aminoácidos (Qian et al., 2019).

Por lo tanto, al agregar un grupo ligeramente polar como el pirrol, las interacciones hidrofóbicas del anillo aromático disminuyen, lo que explica su baja actividad a esa concentración, al igual que el acetil eugenol, donde se bloquean los enlaces de hidrógeno del fenol. Esos mismos enlaces de hidrógeno, explicarían el aumento en actividad del amino eugenol, provenientes del R-NH₂ de la anilina (Elken et al., 2022).

Al haber presentado una actividad tan baja, no se realizó un antibiograma a una menor concentración, sin embargo, otros ensayos podrían dar más información sobre la forma de actuar de los compuestos sintetizados en la bacteria como una curva de crecimiento bacteriano para determinar si los compuestos usados impiden el crecimiento en tiempo real. Por otro lado, se sugiere que una funcionalización del alqueno terminal de la molécula podría dar lugar de una mayor actividad antibacteriana, como se ha reportado en la literatura en diversos estudios (Da Silva et al. 2018).

En cuanto al *B. subtilis*, la ampicilina resultó ser efectiva como control positivo, esto era esperado, pues ha resultado ser un antibiótico más eficiente contra esta especie, aunque diversas cepas han desarrollado resistencia con la producción de β -lactamasas, donde logró inhibir 4 cm. En cuanto a los compuestos sintetizados, ninguno resultó efectivo para inhibir el crecimiento de la bacteria, este resultado concuerda con el esperado, pues a la concentración evaluado el eugenol y sus derivados, sus efectivos son bacteriostáticos, sin embargo, el compuesto debería haber dado una mayor inhibición, podría usarse otro solvente, más inerte a la bacteria, como DMSO que fue usado posteriormente con otras bacterias, pues el metanol incentiva el crecimiento de dicha bacteria (Gan et al., 2023).

El único que mostró actividad bajo este solvente fue el amino eugenol, podría deberse a las interacciones de hidrógeno entre en fenol y la anilina con residuos de ácido aspártico y

glutámico presentes en diversas enzimas encargadas de la producción de amilasas y proteasas en la bacteria. Por ello se recomienda un ensayo con otro solvente más inerte para medir la inhibición, además de ensayos computacionales para verificar la interacción con residuos de aminoácidos en las enzimas (Nejad et al., 2017).

Para la *E. coli*, el estándar de ampicilina fue efectivo, inhibiendo más de 4 cm en la placa, lo que concuerda con lo esperado, pues la bacteria es muy susceptible a antibióticos β -lactámicos. Los solventes usados, metanol y DMSO, presentaron poca o nula actividad en contra del microorganismo, incluso podría incentivar su crecimiento en el caso del DMSO. Sin embargo, en este caso, los derivados sintetizados presentaron una ligera inhibición de la bacteria (Jeyakumar & Lawrence, 2020).

En el caso del eugenol, a la concentración usada permitió inhibir 1 cm en la placa, mucho menor al reportado para la inhibición de otros antibióticos en esta especie, el resultado difiere ligeramente de lo reportado en la literatura, pues se ha reportado una mayor actividad inhibitoria dada su capacidad de inhibir enzimas relevantes en el metabolismo de la *E. coli*, así como alterar la permeabilidad de la membrana. Estas interacciones se deben a la polaridad del fenol y la poca polaridad del anillo aromático y cadena propílica, por lo cuál un grupo pirrol permitió aumentar ligeramente la actividad inhibitoria del compuesto, como se puede observar en el cuadro 7. Asimismo, el amino eugenol y acetil eugenol mantienen resultados similares a los esperados, donde el acetil eugenol no presentó actividad significativa, mientras el amino eugenol presentó una actividad similar al eugenol (Jeyakumar & Lawrence, 2020).

Sin embargo, los resultados de esta bacteria no son completamente concluyentes y se sugiere utilizar concentraciones mayores, así como otros solventes para tener una mayor certeza sobre la actividad presenté en la bacteria, así como el uso métodos computacionales que permitan ver la inhibición de enzimas reportadas con interacción entre eugenol y sus derivados.

Para la *P. aureginosa*, la ampicilina resultó menos efectiva como control positivo que en otras bacterias, principalmente por la capacidad de éstas de producir enzimas que degradan el antibiótico, así como su poca permeabilidad en la membrana, lo que impide su entrada en la célula. En cuanto a los compuestos sintetizados, el eugenol presentó una leve actividad antibacteriana con un halo de inhibición de 1 cm, esto concuerda con lo esperado, pues la hidrofobicidad de la molécula le permite penetrar la membrana glucolipídica de la bacteria para la inhibición de amilasas y proteasas dada sus interacciones de hidrógeno por el fenol (Ulanowska & Olas, 2021).

Por lo tanto, al remover el grupo OH en el acetil eugenol, provocó una disminución en su actividad como se puede observar en el Cuadro 7, lo cuál era esperado, mientras que la adición de un grupo polar como la amina, permitió aumentar la inhibición del crecimiento bacteriano. Es importante mencionar que la inhibición del amino eugenol resultó mayor a una concentración de 2 mg/mL que a 10 mg/mL, este fenómeno podría ser explorado con más atención en ensayos de curva de crecimiento bacteriano, sin embargo, el fenómeno, común entre algunos antibióticos usados en la clínica, podría ocurrir dada la alta polaridad de la amina, lo que podría impedir su ingreso en la membrana celular a una alta concentración, lo que le impediría inhibir enzimas presentes en la bacteria, mientras que una baja concentración las interacciones polares no serían tan fuertes permitiendo su permeabilidad en la célula (Pernin et al., 2019).

En consecuencia, a este fenómeno, el pirrol, al poseer una polaridad menor a la amina, pero con la posibilidad de tener interacciones polares por el nitrógeno, pudo ser más eficaz para inhibir a las *Pseudomonas*. Su zona de inhibición es comparable a la zona reportada para antibióticos usados en la clínica, como fluoroquinolonas y aminoglucósidos, precisamente por las interacciones polares y apolares de estos compuestos. Además, es importante mencionar que los derivados de pirrol con otros grupos funcionales precisamente han demostrado una actividad intensa en contra de esta especie, por lo que este derivado podría ser candidato a ser estudiado para una posible aplicación clínica, posterior de más estudios referentes a su mecanismo de acción contra las bacterias antes mencionadas (Rusu et al., 2024) (CLSI, 2025).

Finalmente, la bacteria en la cual más actividad presentó el compuesto sintetizado fue contra *Staphylococcus aureus*. En este organismo, la ampicilina resultó efectiva como control positivo con un halo de inhibición de más de 4 cm, mientras que el eugenol logró inhibir en su concentración alta, 1 cm. Dicha inhibición ya se encuentra reportada, al igual que en otras bacterias, el grupo hidroxilo del compuesto permite interactuar con residuos de aminoácidos de enzimas presentes en dicha bacteria, lo que resultó en una ligera inhibición, usando metanol como solvente.

Por otro lado, el acetil eugenol, como se esperaba, obtuvo una menor actividad en esta especie, dada la disminución en su polaridad por el enlace éster. Mientras que el derivado de la anilina obtuvo una inhibición similar el eugenol, sin embargo, dicha inhibición se dio con mayor intensidad en una concentración más baja, al igual que con las *Pseudomonas*, esto puede explicarse por la naturaleza de la membrana lipídica de los bacilos grampositivos, que dificulta la difusión de compuestos más polares, por lo cual se explica su baja actividad a una concentración más alta, aunque dicho fenómeno podría seguir siendo estudiado a posteriori.

En el caso del pirrol eugenol obtuvo una zona de inhibición similar al de las pseudomonas, con 2.1 cm de halo, lo que implica que es más eficiente para inhibir dicha bacteria. Las interacciones apolares entre la membrana y el pirrol, permitirían la difusión en la célula para la posterior inhibición enzimática, estrés oxidativo y alteración de la membrana celular, sumando que los derivados de pirrol han mostrado actividad en contra del *S. aureus*. Dicha inhibición es comparable a la inhibición de algunos antibióticos β -lactámicos en *S. aureus*, cabe recalcar que se está comparando con la inhibición del antibiótico a una menor concentración. Sin embargo, se puede considerar que el *S. aureus* es sensible al pirrol eugenol y puede ser posteriormente estudiado para posibles aplicaciones clínicas o antisépticas (Rusu et al., 2024) (CLSI, 2025).

En conclusión, la adición del grupo pirrol a la molécula resultó efectiva contra algunas bacterias, esto podría implicar que el uso de derivados de compuestos naturales con grupos apolares y polares podría aumentar considerablemente la actividad antibacteriana, donde algunos grupos como imidazol o piridina podrían dar lugar a compuestos antibacterianos a partir del eugenol u otro tipo de compuestos fenólicos de origen natural (Rusu et al., 2024).

X. CONCLUSIONES

- Se logró con éxito la síntesis del compuesto 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-6-metoxi-4-(prop-2-en-1-il) fenol, partiendo de 4-alil-2-metoxifenol, mediante una reacción de Paal-Knorr. La estructura y pureza del producto final fueron confirmadas por cromatografía en capa fina (TLC), espectroscopía FTIR y espectrometría de masa y espectroscopía de resonancia magnética nuclear de Hidrógeno (HNMR) cumpliendo así con los criterios establecidos para la caracterización estructural.
- El producto obtenido fue un sólido blanco con punto de fusión entre 95 y 97 °C, soluble en disolventes orgánicos apolares y susceptible a la oxidación, lo que implica consideraciones importantes para su almacenamiento y manipulación.
- El proceso sintético tuvo un rendimiento total del 15%, destacando la eficiencia relativa de cada etapa. La nitración con sales ácidas resultó ser la más eficiente, pese a generar impurezas. En contraste, la reducción del grupo nitro con Zn y HCOONH₄ presentó el menor rendimiento (~30%), probablemente debido al bajo poder reductor de la mezcla utilizada y a un tiempo de reacción insuficiente.
- La reacción de Paal-Knorr, clave en la formación del anillo pirrólico, demostró ser efectiva con un rendimiento del 60%, consolidando su viabilidad para la obtención de heterociclos funcionalizados derivados del eugenol.
- En cuanto a la evaluación biológica, el compuesto sintetizado mostró una actividad antibacteriana superior al eugenol frente a bacterias grampositivas como *Staphylococcus aureus* y algunas gramnegativas como *Pseudomonas aeruginosa*. En cambio, su efecto fue leve en *Escherichia coli* y nulo en *Klebsiella pneumoniae* y *Bacillus subtilis* bajo las condiciones ensayadas, lo que sugiere que su eficacia puede depender del tipo de microorganismo y del solvente utilizado.
- Se infiere que la incorporación del anillo pirrol al núcleo fenólico del eugenol mejoró su capacidad de interacción con membranas y enzimas bacterianas, posiblemente a través de mecanismos de permeabilización y acoplamiento hidrofóbicos/hidrofílicos, lo que explica el aumento en su actividad antimicrobiana.
- En conjunto, estos resultados sugieren que el compuesto sintetizado tiene potencial como agente antiséptico, particularmente frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa*, abriendo nuevas posibilidades para el diseño de derivados del eugenol con aplicaciones en el control de infecciones bacterianas.

XI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda probar métodos más eficientes para la purificación de nitro eugenol, como cromatografía de columna, o en su caso, utilizar un método distinto para la nitración del eugenol.
- Se sugiere aumentar el tiempo de reacción para la reducción de nitro para mejorar el rendimiento. O en su caso, aplicar otro método que permita la reducción del R-NO₂ sin afectar el doble enlace terminal del eugenol.
- Sería posible estudiar la optimización de la síntesis del pirrol por medio de la reacción de Paal-Knorr utilizando condiciones ligeramente ácidas para aumentar el rendimiento y reducir el tiempo de reacción.
- Tomando en cuenta el efecto de diversos solventes orgánicos en el crecimiento de bacterias, se recomienda estudiar más a profundidad el efecto del compuesto sintetizado en las especies *B. subtilis* y *K. pneumoniae*, para tener más certeza sobre el efecto de los derivados del eugenol en dichos compuestos.
- Considerando la actividad presentada en *S. aureus* y *P. aureginosa*, se recomienda estudiar a través de ensayos in silico e in vitro el efecto del pirrol eugenol sobre proteasas y amilasas en las bacterias antes mencionadas.
- Con base en el efecto que la adición del grupo pirrol tuvo sobre la actividad antibacteriana del eugenol, se sugiere que la síntesis de un derivado con un grupo con más capacidad de formar puentes de hidrógeno como el imidazol, podría aumentar aún más la actividad antibacteriana contra las bacterias evaluadas.

XII. REFERENCIAS

- Abdou, A., Elmakssoudi, A., Amrani, A. E., Jamaledine, J., & Dakir, M. (2021b). *Recent advances in chemical reactivity and biological activities of eugenol derivatives*. Medicinal Chemistry Research, 30(5), 1011-1030.
- Akelis, L., Rousseau, J., Juškėnas, R., Dodonova, J., Rousseau, C., Manuel, S., Prévost, D., Tumkevičius, S., Monflier, É., & Hapiot, F. (2015). *Greener Paal–Knorr Pyrrole Synthesis by Mechanical Activation*. European Journal Of Organic Chemistry, 2016(1), 31-35. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201501223>
- Auezova, L., Najjar, A., Kfoury, M., Fourmentin, S., & Greige-Gerges, H. (2020). *Antibacterial activity of free or encapsulated selected phenylpropanoids against Escherichia coli and Staphylococcus epidermidis*. Journal Of Applied Microbiology, 128(3), 710-720.
- Azizi, N., Khajeh-Amiri, A., Ghafari, H., Bolourtchian, M., & Saidi, M. R. (2009). *Iron-Catalyzed Inexpensive and Practical Synthesis of N-Substituted Pyrroles in Water*. Synlett, 2009(14), 2245-2248. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1217799>
- Balakrishna, A., Aguiar, A., Sobral, P. J. M., Wani, M. Y., Silva, J. A. E., & Sobral, A. J. F. N. (2018). *Paal–Knorr synthesis of pyrroles: from conventional to green synthesis*. Catalysis Reviews, 61(1), 84-110. <https://doi.org/10.1080/01614940.2018.1529932>
- Begum, S., Begum, T., Rahman, N., & Khan, R. A. (2021). *A review on antibiotic resistance and way of combating antimicrobial resistance*. GSC Biological And Pharmaceutical Sciences, 14(2), 087-097.
- Bichler, K. A., Van Ornum, S. G., Franz, M. C., Imhoff, A., & May, C. M. (2015c). *Investigation of the Regioselectivity of Alkene Hydrations for the Undergraduate Organic Laboratory*. Journal Of Chemical Education, 92(8), 1426-1428. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00266>
- Blaskovich, M. A. T., Hansford, K. A., Butler, M. S., Jia, Z., Mark, A. E., & Cooper, M. A. (2018). *Developments in Glycopeptide Antibiotics*. ACS Infectious Diseases, 4(5), 715-735. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00258>

- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2014). *Molecular mechanisms of antibiotic resistance*. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42-51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
- Brooks, G., Carroll, K. C., Butel, J., Morse, S., & Mietzner, T. (2010). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, Twenty-Fifth Edition*. McGraw-Hill Medical.
- Butler, M. S., Henderson, I. R., Capon, R. J., & Blaskovich, M. A. T. (2023). *Antibiotics in the clinical pipeline as of December 2022*. *The Journal Of Antibiotics*, 76(8), 431-473.
- Catherine, A. A., Deepika, H., & Negi, P. S. (2012). *Antibacterial activity of eugenol and peppermint oil in model food systems*. *Journal Of Essential Oil Research*, 24(5), 481-486. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.703513>
- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J. T., Dettweiler, M., Marquez, L., Salam, A. M., Shabih, S., Farrokhi, D. R., & Quave, C. L. (2021). *A Systematic Review of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective*. *Frontiers In Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.586548>
- Chen, J., Sun, R., Pan, C., Sun, Y., Mai, B., & Li, Q. X. (2020). *Antibiotics and Food Safety in Aquaculture*. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 68(43), 11908- 11919.
- Cho, B. T., & Kang, S. K. (2005). *Direct and indirect reductive amination of aldehydes and ketones with solid acid-activated sodium borohydride under solvent-free conditions*. *Tetrahedron*, 61(24), 5725-5734. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.04.039>
- Cho, H., Madden, R., Nisanci, B., & Török, B. (2014). *The Paal–Knorr reaction revisited. A catalyst and solvent-free synthesis of underivatized and N-substituted pyrroles*. *Green Chemistry*, 17(2), 1088-1099. <https://doi.org/10.1039/c4gc01523a>.
- CLSI (2025). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* 35th ed. CLSI standard M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Da Silva, F. F. M., Monte, F. J. Q., Lemos, T. L. G., Nascimento, P. G. G. D., De Medeiros Costa, A. K., & De Paiva, L. M. M. (2018). *Eugenol derivatives: synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antioxidant activities*. *Chemistry Central Journal*, 12(1).

David, O. S. D., & Vanessa, B. A. D. (2023, 17 noviembre). Extracción y polimerización del eugenol obtenido del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), evaluación de su actividad antimicrobiana y antioxidante. Repositorio Institucional Unicordoba. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/7934>

De Almeida, A. L., Caleffi-Ferracioli, K. R., De Lima Scodro, R. B., Baldin, V. P., Montaholi, D. C., Spricigo, L. F., Nakamura-Vasconcelos, S. S., Hegeto, L. A., Sampiron, E. G., Costacurta, G. F., Yamazaki, D. A. D. S., Gauze, G. F., Siqueira, V. L., & Cardoso, R. F. (2019). *Eugenol and derivatives activity against Mycobacterium tuberculosis, nontuberculous mycobacteria and other bacteria*. *Future Microbiology*, 14(4), 331-344. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0333>.

Dewick, P. M. (2009). *Medicinal natural products: A Biosynthetic Approach*. Wiley.

Elken, E. M., Tan, Z., Wang, Q., Jiang, X., Wang, Y., Wang, Y., & Ma, H. (2022). *Impact of Sub-MIC Eugenol on Klebsiella pneumoniae Biofilm Formation via Upregulation of rcsB*. *Frontiers In Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.945491>.

Formenti, D., Ferretti, F., Scharnagl, F. K., & Beller, M. (2018). *Reduction of Nitro Compounds Using 3d-Non-Noble Metal Catalysts*. *Chemical Reviews*, 119(4), 2611- 2680. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00547>.

Gan, Y., Meng, X., Gao, C., Song, W., Liu, L., & Chen, X. (2023). *Metabolic engineering strategies for microbial utilization of methanol*. *Engineering Microbiology*, 3(3), 100081. <https://doi.org/10.1016/j.engmic.2023.100081>.

Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. (2017). *Antibiotic resistance*. *Journal Of Infection And Public Health*, 10(4), 369-378. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>.

Heo, C., Kang, J. S., Kwon, J., Van Anh, C., & Shin, H. J. (2023). *Pyrrole-Containing Alkaloids from a Marine-Derived Actinobacterium Streptomyces zhaozhouensis and Their Antimicrobial and Cytotoxic Activities*. *Marine Drugs*, 21(3), 167. <https://doi.org/10.3390/md21030167>.

Hudzicki, J. (2009). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. American Society for Microbiology. <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>.

- Jeyakumar, G. E., & Lawrence, R. (2020). *Mechanisms of bactericidal action of Eugenol against Escherichia coli*. *Journal Of Herbal Medicine*, 26, 100406. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2020.100406>.
- Just, J., Bunton, G. L., Deans, B. J., Murray, N. L., Bissember, A. C., & Smith, J. A. (2015). *Extraction of Eugenol from Cloves Using an Unmodified Household Espresso Machine: An Alternative to Traditional Steam-Distillation*. *Journal Of Chemical Education*, 93(1), 213-216. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00476>
- Khalil, A. A., Rahman, U. U., Khan, M. R., Sahar, A., Mehmood, T., & Khan, M. (2017). *Essential oil eugenol: sources, extraction techniques and nutraceutical perspectives*. *RSC Advances*, 7(52), 32669-32681. <https://doi.org/10.1039/c7ra04803c>
- Kumar, A., Nirmal, P., Kumar, M., Jose, A., Tomer, V., Öz, E., Proestos, C., Zeng, M., Elobeid, T., Sneha, K., & Öz, F. (2023). *Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Method*. *Molecules*, 28(2), 887. <https://doi.org/10.3390/molecules28020887>.
- Lai, W., & Li, B. (2025). *A Green Synthesis of Pyrrole Derivative and Green Chemistry Learning for Beginners in Undergraduate Organic Chemistry Curriculum*. *Journal Of Chemical Education*. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.4c00863>.
- Li, J.J. *Name Reactions*; 4th ed.; Springer-Verlag: Berlin, Germany, 2009
- Larsson, D. G. J., & Flach, C. (2021). *Antibiotic resistance in the environment*. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 257-269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>.
- Manoppo, Y., Sohilit, H. J., & Kainama, H. (2011). ISOLASI EUGENOL DARI BUNGA CENGKEH DAN SINTESIS EUGENIL ASETAT (2-METHOXY-4-(2-PROPEN-1-YL)-PHENYL ACETATE). *Molluca Journal Of Chemistry Education (MJoCE)*, 1(1), 54-63.
- Marchese, A., Barbieri, R., Coppo, E., Orhan, İ. E., Daglia, M., Nabavi, S. F., Izadi, M., Abdollahi, M., & Ajami, M. (2017). *Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint*. *Critical Reviews In Microbiology*, 43(6), 668-689. <https://doi.org/10.1080/1040841x.2017.1295225>

- Martins, R. M., Farias, M. D., Nedel, F., Pereira, C. M. P., Lencina, C. L., & Lund, R. G. (2016). *Antimicrobial and cytotoxic evaluation of eugenol derivatives*. *Medicinal Chemistry Research*, 25(10), 2360-2367. <https://doi.org/10.1007/s00044-016-1682-z>
- Morehouse, N. J., Flewelling, A. J., Liu, D. Y., Cavanagh, H. D., Linington, R. G., Johnson, J. A., & Gray, C. A. (2023). *Tolypocaibols: Antibacterial Lipopeptaibols from a Tolypocladium sp. Endophyte of the Marine Macroalga Spongomorpha arcta*. *Journal Of Natural Products*, 86(6), 1529-1535. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.3c00233>.
- Murugesan, K., Senthamarai, T., Chandrashekhar, V. G., Natte, K., Kamer, P. C. J., Beller, M., & Jagadeesh, R. V. (2020). *Catalytic reductive aminations using molecular hydrogen for synthesis of different kinds of amines*. *Chemical Society Reviews*, 49(17), 6273-6328. <https://doi.org/10.1039/c9cs00286c>.
- Muteeb, G., Rehman, T., Shahwan, M., & Aatif, M. (2023). *Origin of Antibiotics and Antibiotic Resistance, and Their Impacts on Drug Development: A Narrative Review*. *Pharmaceuticals*, 16(11), 1615. <https://doi.org/10.3390/ph16111615>.
- Neelam, Khatkar, A., & Sharma, K. K. (2019). *Phenylpropanoids and its derivatives: biological activities and its role in food, pharmaceutical and cosmetic industries*. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 60(16), 2655-2675. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1653822>.
- Nejad, S. M., Özgüneş, H., & Başaran, N. (2017). *Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol*. *Turkish Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 201-206. <https://doi.org/10.4274/tjps.62207>.
- Neochoritis, C. G., Zarganes-Tzitzikas, T., Stotani, S., Dömling, A., Herdtweck, E., Khoury, K., & Dömling, A. (2015). *Leuckart–Wallach Route Toward Isocyanides and Some Applications*. *ACS Combinatorial Science*, 17(9), 493-499. <https://doi.org/10.1021/acscombsci.5b00066>.
- Nogueira, J. o. E., Campolina, G. A., Batista, L. R., Alves, E., Caetano, A. R. S., Brandão, R. M., Nelson, D. L., & Cardoso, M. D. G. (2021). *Mechanism of action of various terpenes and phenylpropanoids against Escherichia coli and Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*, 368(9). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab052>.

Olea, A. F., Bravo, A., Martínez, R., Thomas, M., Sedan, C., Espinoza, L., Zambrano, E., Carvajal, D., Silva-Moreno, E., & Carrasco, H. (2019). *Antifungal Activity of Eugenol Derivatives against Botrytis Cinerea*. *Molecules*, 24(7), 1239. <https://doi.org/10.3390/molecules24071239>.

O'Neal, L., Álvarez, D., Mendizábal-Cabrera, R., Ramay, B. M., & Graham, J. P. (2020). *Community-Acquired Antimicrobial Resistant Enterobacteriaceae in Central America: A One Health Systematic Review*. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 17(20), 7622. <https://doi.org/10.3390/ijerph17207622>.

Orlandi, M., Brenna, D., Harms, R., Jost, S., & Benaglia, M. (2016). *Recent Developments in the Reduction of Aromatic and Aliphatic Nitro Compounds to Amines*. *Organic Process Research & Development*, 22(4), 430-445. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.6b00205>.

Overly, K. R. (2019). *Microwave-Assisted Isolation of Eugenol from Cloves*. *Journal Of Chemical Education*, 96(11), 2665-2667. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.8b01022>.

Pan, M., Wong, C. K. C., & Chu, L. (2014). *Distribution of Antibiotics in Wastewater-Irrigated Soils and Their Accumulation in Vegetable Crops in the Pearl River Delta, Southern China*. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 62(46), 11062-11069. <https://doi.org/10.1021/jf503850v>.

Pancu, D. F., Scurtu, A., Macaşoi, I., Marti, D., Mioc, M., Şoica, C., Coricovac, D., Horhat, D. I., Poenaru, M., & Dehelean, C. (2021). *Antibiotics: Conventional Therapy and Natural Compounds with Antibacterial Activity—A Pharmaco-Toxicological Screening*. *Antibiotics*, 10(4), 401. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040401>.

Pernin, A., Bosc, V., Maillard, M., & Dubois-Brissonnet, F. (2019). *Ferulic Acid and Eugenol Have Different Abilities to Maintain Their Inhibitory Activity Against Listeria monocytogenes in Emulsified Systems*. *Frontiers In Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00137>.

Peterson, E., & Kaur, P. (2018). *Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Relationships Between Resistance Determinants of Antibiotic Producers, Environmental Bacteria, and Clinical Pathogens*. *Frontiers In Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02928>.

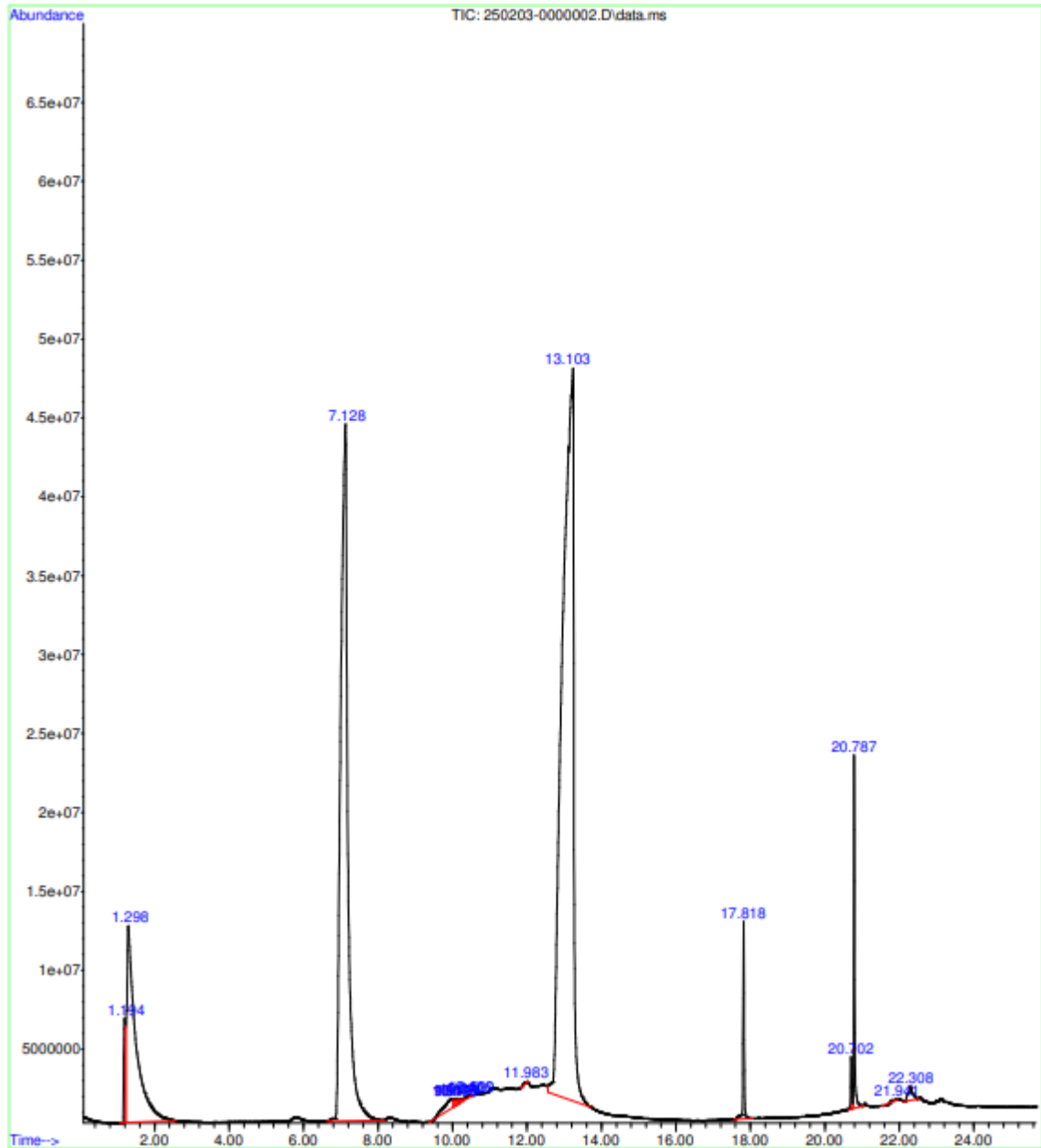
- Qian, W., Sun, Z., Wang, T., Yang, M., Liu, M., Zhang, J., & Li, Y. (2019). *Antimicrobial activity of eugenol against carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae and its effect on biofilms*. *Microbial Pathogenesis*, 139, 103924. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103924>.
- Rahim, N. H. C. A., Asari, A., Ismail, N. W., Abdullah, F., Osman, H., & Tahier, S. S. M. (2017b). *Synthesis and Antibacterial Study of Eugenol Derivatives*. *Asian Journal of Chemistry*, 29(1), 22-26. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2017.20100>.
- Ram, V. J., Sethi, A., Nath, M., & Pratap, R. (2019). *Five-Membered heterocycles*. En Elsevier eBooks (pp. 149-478). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101033-4.00005-x>.
- Rusu, A., Oancea, O., Tanase, C., & Uncu, L. (2024). *Unlocking the Potential of Pyrrole: Recent Advances in New Pyrrole-Containing Compounds with Antibacterial Potential*. *International Journal Of Molecular Sciences*, 25(23), 12873. <https://doi.org/10.3390/ijms252312873>.
- Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Shah, S. A. A., Khatib, A., Mukhtar, S., Alsharif, M. A., Parveen, H., & Zakaria, Z. A. (2022). *Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation*. *Molecules*, 27(4), 1149. <https://doi.org/10.3390/molecules27041149>.
- Sudarma, I., Wazni, N., Wildawaty, N., Yuanita, E., & Suana, I. (2014). *An Efficient Method on Nitration of Eugenol Using NH₄NO₃ and KHSO₄*. *Asian Journal Of Chemistry*, 26(1), 173-175. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.15367>.
- Topal, F., Gülçın, İ., Daştan, A., & Güney, M. (2017). *Novel eugenol derivatives: Potent acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors*. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 94, 845-851. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.096>.
- Ulanowska, M., & Olas, B. (2021). *Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol—A Review*. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(7), 3671. <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>.
- Umar, Q., & Luo, M. (2023). *A Brief Review: Advancement in the Synthesis of Amine through the Leuckart Reaction*. *Reactions (Basel)*, 4(1), 117-147. <https://doi.org/10.3390/reactions4010007>.

- Vimal, A., Jha, A., & Kumar, A. (2018). *Eugenol derivatives prospectively inhibit l-asparaginase: A heady target protein of Salmonella typhimurium*. *Microbial Pathogenesis*, 114, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.009>.
- Vitaku, E., & Christie, H. S. (2019c). *Improved Procedure for Bleach-Based Alcohol Oxidation in Undergraduate Laboratories*. *Journal Of Chemical Education*, 96(5), 1042-1045. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.8b00710>
- Wade, L. G. (2010). *Organic Chemistry*. Prentice Hall.
- Wan, S., Ren, H., Jiang, J., Xu, G., Xu, Y., Chen, S., Chen, G., Zheng, D., Yuan, M., Zhang, H., & Xu, H. (2022). *Two Novel Phenylpropanoid Trimers From Ligusticum chuanxiong Hort With Inhibitory Activities on Alpha-Hemolysin Secreted by Staphylococcus aureus*. *Frontiers In Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.877469>.
- Wang, Y., Yang, X., Bi, Q., Qin, D., Du, Q., & Jin, P. (2021). *Enhanced antibacterial activity of eugenol-entrapped casein nanoparticles amended with lysozyme against gram-positive pathogens*. *Food Chemistry*, 360, 130036. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130036>
- Wei, S., Tian, Q., Zhao, X., Liu, X., Husien, H. M., Liu, M., Bo, R., & Li, J. (2022). *Tea Tree Oil Nanoemulsion Potentiates Antibiotics against Multidrug-Resistant Escherichia coli*. *ACS Infectious Diseases*, 8(8), 1618-1626. <https://doi.org/10.1021/acsinfectdis.2c00223>
- Wilckens, K., Lentz, D., & Czekelius, C. (2011). *Synthesis of Gold Complexes Bearing Sterically Highly Encumbered, Chiral Carbene Ligands*. *Organometallics*, 30(6), 1287-1290. <https://doi.org/10.1021/om101192k>
- World Health Organization: WHO. (2020, 31 julio). Resistencia a los antibióticos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., & Li, M. (2021). *Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review*. *Antibiotics*, 10(3), 318. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030318>.

Zhang, L., Zhang, J., Ma, J., Cheng, D., & Tan, B. (2017). *Highly Atroposelective Synthesis of Arylpyrroles by Catalytic Asymmetric Paal–Knorr Reaction*. *Journal Of The American Chemical Society*, 139(5), 1714-1717. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b09634>.

XIII. ANEXOS

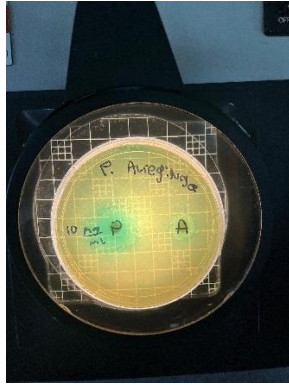
Figura 25 Cromatograma del nitro eugenol



Nota. Elaboración propia.

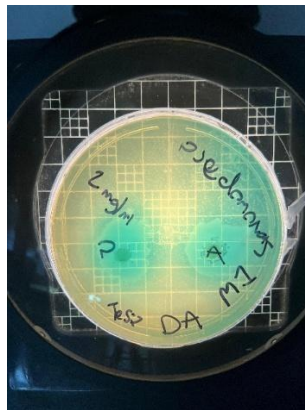
En la figura anterior se muestra el cromatograma para analizar la pureza del nitro eugenol.

Figura 26 Placa para *P. aureginosa*



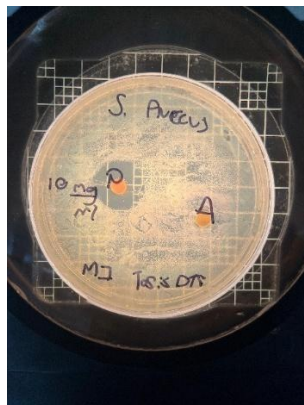
Nota. Elaboración propia.

Figura 27 Placa 2 para *P. aureginosa*



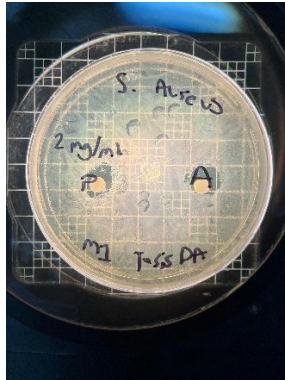
Nota. Elaboración propia.

Figura 28 Placa para *S. aureus*



Nota. Elaboración propia.

Figura 29 Placa 2 para *S. aureus*



Nota. Elaboración propia.

Figura 30 Placa para *E. coli*



Nota. Elaboración propia.

Figura 31 Placa para *K. pneumoniae*



Nota. Elaboración propia.

Figura 32 Placa para B. subtilis



Nota. Elaboración propia.