PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, NATURALES Y AMBIENTALES

CARRERA DE QUÍMICA

Análisis de la actividad biológica de moléculas heterocíclicas sintéticas basadas en núcleo de fenazina

MONOGRAFÍA PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE QUíMICO

DOMÉNICA STEFANÍA VÉLEZ MORA

Quito, 2026

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Monografía de Química, de la Srta Doménica Stefanía Vélez Mora ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fernanda Pilaquinga

Firmante digital: Fernanda Pilaquinga
DN:C=EC, E=mfpilaquingaf@puce.edu.ec, O=PUCE, CN=Fernanda Pilaquinga
Fecha:2026.06.16 11:25:37 -05:00

Firma Tutora

María Fernanda Pilaquinga Flores

Quito, 15 de junio de 2026

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi mamá, por ser un ejemplo de fortaleza, responsabilidad y amor incondicional, por su apoyo constante, por cada sacrificio realizado en silencio y por motivarme a seguir adelante incluso en los momentos difíciles. Gracias por nunca soltar mi mano. A mi papá, por ser un ejemplo de esfuerzo y constancia, por su confianza, paciencia y apoyo incondicional. Gracias por creer en mí. A mi hermano, quien a pesar de la distancia siempre ha estado presente en mi vida, por ser un ejemplo de perseverancia y sacrificio. Gracias por acompañarme en todo momento, por escucharme y hacerme sentirte cerca, tu apoyo ha significado más de lo que imaginas. A mi ñaña, por sus consejos, su ayuda, sus palabras de ánimo y comprensión durante este proceso. Gracias por enseñarme el valor de la dedicación. También dedico este logro a mis abuelitos, tías, primos y a mi familia que, desde el cielo cuida de mí y me acompaña en cada paso que doy.

Gracias por estar presentes, creer en mí y formar parte de este sueño alcanzado. Este logro también les pertenece a ustedes.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN 1
2. ABSTRACT 2
3. INTRODUCCIÓN 3
4. OBJETIVOS
    4.1. Objetivo General 5
    4.2. Objetivos Específicos 5
5. DESARROLLO TEÓRICO
    5.1. Pirazina 5
    5.2. Fenazina 6
    5.3. Métodos de síntesis para los derivados de fenazina 10
    5.4. Técnicas de análisis de fenazinas 14
6. RESULTADOS 19
7. CONCLUSIONES 38
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 40

RESUMEN

Las fenazinas son compuestos heterocíclicos bioactivos que presentan interés farmacológico gracias a sus propiedades anticancerígenas, antibacterianas y antifúngicas. Las fenazinas naturales son producidas principalmente por bacterias como Pseudomonas spp. y Streptomyces spp. El objetivo de estudio se basa en revisar derivados sintéticos basados en núcleos de fenazina, usando como base de datos PubMed, ScienceDirect y Google Scholar de artículos publicados entre 2014 y 2025, para posteriormente comparar sus métodos de síntesis como Beirut, Suzuki, Friedel-Crafts y las técnicas analíticas de FTIR, RMN, HPLC, MS y UV-VIS que se aplican a las moléculas, las cuales se destacan por su importante potencial redox y generación de especies reactivas de oxígeno en la actividad biológica presente. La síntesis verde surge como alternativa sostenible para poder obtener derivados de fenazina. A los derivados sintéticos se les puede modificar su solubilidad, estabilidad y selectividad biológica, obteniendo así varios métodos que presentan una mayor selectividad y mejor rendimiento, de los cuales se adquieren valores de MIC e IC_{50} para poder comparar el potencial biológico de los compuestos estudiados. Como ejemplo de esto se puede mencionar a la piocianina, la molécula más destacada de la actividad antibacteriana, puesto que contiene un MIC de 0,35 – 0,71 µg/mL; el ácido 5-metilfenazina-1-carboxílico el más importante de la actividad anticancerígena, debido a su IC_{50} de 458,6 nM y el derivado 1,6-dihidroxifenazina 5,10-dióxido el más relevante de la actividad antifúngica ya que arrojó un MIC de 0,71 µg/mL. Sin embargo, los derivados cromeno-fenazinas también presentaron potencial antioxidante y antiproliferativo, por lo que, se concluye que las fenazinas representan un escenario prometedor para el desarrollo de nuevos fármacos, incitando a continuar investigaciones con respecto a su relación-actividad y optimización sintética, con la finalidad de diseñar moléculas más eficientes, para futuras aplicaciones en química farmacéutica y síntesis orgánica.

Palabras clave: Actividad biológica, fenazinas, heterociclos, métodos de síntesis, técnicas analíticas

2 ABSTRACT

Phenazines are bioactive heterocyclic compounds of pharmacological interest due to their anticancer, antibacterial, and antifungal properties. Natural phenazines are primarily produced by bacteria such as Pseudomonas spp. and Streptomyces spp. This study aims to review synthetic derivatives based on phenazine nuclei, using PubMed, ScienceDirect, and Google Scholar databases for articles published between 2014 and 2025. Subsequently, the study compares their synthesis methods (Beirut, Suzuki, and Friedel-Crafts) and the analytical techniques (FTIR, NMR, HPLC, MS, and UV-VIS) applied to these molecules, which are notable for their significant redox potential and generation of oxygen reactive species in their biological activity. Green synthesis emerges as a sustainable alternative for obtaining phenazine derivatives. The solubility, stability, and biological selectivity of synthetic derivatives can be modified, resulting in various methods that offer greater selectivity and better performance. MIC and IC50 values are obtained from these methods to compare the biological potential of the studied compounds. Examples include pyocyanin, the most prominent molecule for antibacterial activity, with an IC50 of 0.35–0.71 µg/mL; 5-methylphenazine-1-carboxylic acid, the most important for anticancer activity, with an IC50 of 458.6 nM; and 1,6-dihydroxyphenazine 5,10-dioxide, the most relevant for antifungal activity, with an IC50 of 0.71 µg/mL. However, chromeno-phenazine derivatives also showed antioxidant and antiproliferative potential, so it is concluded that phenazines represent a promising scenario for the development of new drugs, encouraging further research regarding their activity-relationship and synthetic optimization, with the aim of designing more efficient molecules for future applications in pharmaceutical chemistry and organic synthesis.

Keywords: Biological activity, phenazines, heterocycles, synthesis methods, analytical techniques.

3 INTRODUCCIÓN

Las fenazinas constituyen una gran familia de compuestos heterocíclicos aromáticos planos que contienen nitrógeno y la estructura central más importante es un sistema tricíclico con un anillo de pirazina y dos bencenos (Blankenfeldt & Parsons, 2014). Se ha estudiado su potencial para inhibir enzimas clave como la tirosina quinasa y la topoisomerasa, lo que los hace atractivos para el desarrollo de fármacos (Khalili et al., 2024).

Fueron descubiertas partir de microorganismos marinos y terrestres, desempeñando un rol importante especialmente en la formación de biopelículas, lo cual ayuda a la supervivencia y persistencia de las rizobacterias (Wang et al., 2021). Dentro de los microorganismos estudiados se mencionan a *Pseudomonas* spp., Streptomyces spp. y Actinomycetes spp., las cuales poseen diversas actividades biológicas (Tagele et al., 2019).

En 1859 se describe por primera vez la fenazina al observar una coloración azul-verdosa, la cual estaba asociada a heridas graves en procedimientos quirúrgicos y recibió el nombre de piocianina, sin embargo, 65 años después se logró identificar que era un derivado de fenazina y desde entonces se han logrado describir alrededor de 150 derivados naturales y más de 6000 derivados sintéticos (Yan et al., 2021). Se sospecha que sus actividades biológicas se dan a partir de la capacidad que tienen para formar especies reactivas de oxígeno (ROS), así como también la facilidad de generar energía, la morfogénesis de biopelículas y su participación en la homeostasis de hierro, mediante la reducción de Fe^{3+}. (Guttenberger et al., 2017).

Los derivados de fenazina presentan diversidad estructural, por lo que se diferencian en sus propiedades químicas y físicas dependiendo de la naturaleza y posición de los grupos funcionales presentes (Yan et al., 2021).

Las fenazinas y sus derivados pueden ser usadas como profármacos, ya que presentan una amplia gama de actividad biológica, incluidas actividades anticancerígenas,

antibacterianas, antifúngicas, antioxidante, antiparasitarias, neuroprotectoras, insecticidas y antiinflamatorias (Makgatho & Mbajiorgu, 2017). Además, cuentan con actividad antiproliferativa contra varias líneas celulares cancerosas, por lo cual, diferentes grupos de investigación se han dedicado a proponer diferentes estrategias sintéticas para la construcción de nuevos derivados con potencial actividad biológica. Se han reportado estudios de moléculas basadas en núcleo de fenazina, con actividad anticancerígena desde 1959 (Yao et al., 2015).

Un ejemplo representativo de estos derivados es la clofazimina, la cual se emplea como fármaco en el tratamiento de la lepra y la tuberculosis. Ha sido ampliamente utilizada gracias a sus propiedades antimicrobianas e inmunosupresoras, y además presenta efectos anticancerígenos que se atribuyen a su estructura de arilfenazina (Makgatho & Mbajiorgu, 2017). Un derivado de fenazina con el nombre de 1,6-dihidroxifenazina 5,10-dióxido ha presentado actividad antifúngica, sin embargo, también mostró mayor selectividad con la línea celular de leucemia, por lo cual, puede considerarse como un compuesto para el desarrollo de un fármaco anticancerígeno, especialmente para poder tratar esta enfermedad (Sletta et al., 2014).

A pesar del creciente número de investigaciones en este campo, aún existe una sistematización limitada de la relación entre la estructura química de los derivados de fenazina y sus actividades biológicas. En este contexto, el presente trabajo de revisión tiene como objetivo revisar la literatura disponible sobre los derivados heterocíclicos basados en núcleo de fenazina en base de datos especializadas entre 2014 y 2024, considerando los diferentes métodos de síntesis y su potencial aplicación biológica. Asimismo, se busca contribuir al fortalecimiento de las líneas de investigación desarrolladas en el Laboratorio de Síntesis Orgánica y Productos Naturales, particularmente en el diseño y la síntesis de nuevos derivados de fenazina con potencial actividad biológica.

4 OBJETIVOS

4.1. Objetivo general:

Revisar la literatura disponible sobre los derivados heterocíclicos con un núcleo de fenazina en base de datos especializadas entre 2014 y 2024, considerando los diferentes métodos de síntesis, técnicas de análisis y su potencial aplicación biológico.

4.2. Objetivos específicos:

Identificar cuáles son los compuestos y tipos de derivados sintéticos de fenazina reportados en la literatura científica reciente.

Analizar los diferentes métodos de obtención y técnicas de análisis de los derivados heterocíclicos basados en núcleo de fenazina con el fin de determinar sus porcentajes de rendimiento.

Comparar la actividad biológica (anticancerígena, antifúngica, antibacterial y antioxidante) de los derivados heterocíclicos basados en núcleo de fenazina.

5. DESARROLLO TEÓRICO

5.1. Pirazina

Está compuesto por un anillo heterocíclico, el cual consta de una estructura aromática con dos átomos de nitrógenos presentes en la posición 1,4 del esqueleto de carbono (**Figura 1**). Su base presenta un pKa de 0,65 y puede manifestarse como un híbrido de resonancia, tal como se observa en la **Figura 2**. Esta molécula contiene una energía de resonancia de 24,3 kcal/mol. (Chen et al., 2023).

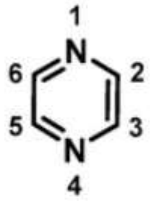


Figura 1. Estructura química de pirazina (Huigens et al., 2022).

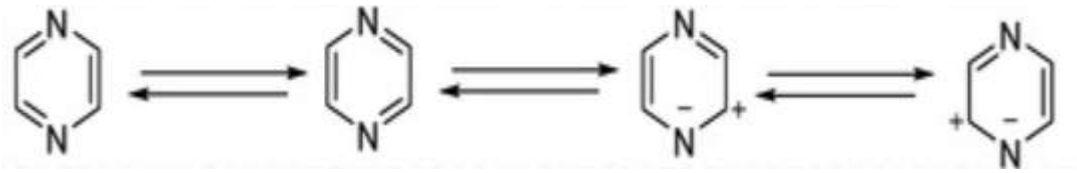


Figura 2. Híbrido de resonancia de la Piracina (Chen et al., 2023).

5.2. Fenazina

Son moléculas producidas por bacterias y está representada como una molécula de anillo tricíclico con dos nitrógenos (**Figura 3**), su sistema de anillos facilita a los organismos productores poder realizar procesos redox para la generación de especies que son reactivas de oxígeno (Guttenberger et al., 2017).

Las pequeñas moléculas de fenazina demuestran colectivamente una amplia gama de actividades biológicas que son de gran interés para la salud humana (Huigens et al., 2022), las cuales pueden ser categorizados según los tipos de grupos funcionales y sus posiciones de enlace en el núcleo de fenazina (Yan et al., 2021).

Para alterar la estructura de la fenazina se debe modificar a los anillos aromáticos y el nitrógeno reducido, de esta manera se puede conseguir una variedad de derivados naturales de la fenazina, los cuales surgen mediante una modificación estructural al núcleo heterocíclico (Shi et al., 2019).

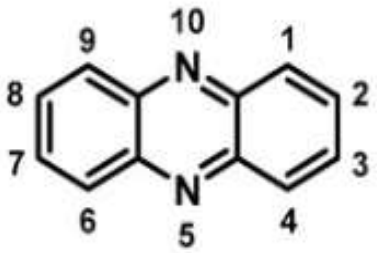


Figura 3. Estructura química de la fenazina (Huigens et al., 2022).

El ácido corísmico, presente en la **figura 4** es el primer sustrato para la vía biosintética de las fenazina naturales, además de ser un precursor para procesos metabólicos (Blankenfeldt & Parsons, 2014).

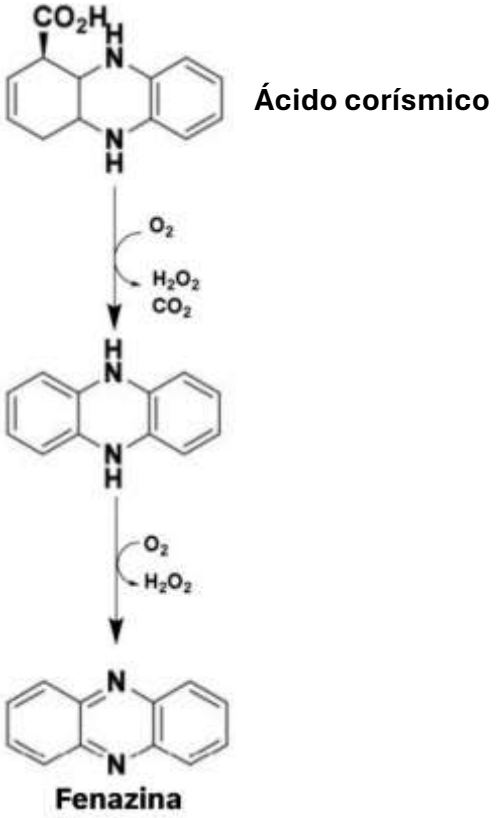


Figura 4. Vía biosintética clásica para la obtención de fenazinas específicas de cepa a partir del ácido corísmico (Yan et al., 2021).

En la **Tabla 1** se describen detalladamente las propiedades físicoquímicas que presentan las fenazinas, mediante la cual se pueden observar comparaciones claras.

Tabla 1. Propiedades físicoquímicas de las fenazinas.

Propiedad	Descripción	Valores típicos/ tendencias	Factores que influyen	Relación estructura/propiedad
Solubilidad	Posee buena capacidad de disolverse en sustancias polares o no polares	Baja en agua (fenazina base); alta en derivados ionizables (ej. PCA)	Sustituyentes polares (-COOH, -OH, -NH_2); pH del medio	Grupos polares presentan una solubilidad acuosa → mejor biodisponibilidad

pKa	Su constante de disociación es ácida (ionización)	~2–5 (ácidos como PCA); puede variar según sustitución	Tipo y posición de sustituyentes (electronegati-vos ↓ pKa)	Ionización afecta permeabilidad celular y actividad biológica
Potencial redox	Capacidad de aceptar/donar electrones	Aproximadamente -0.2 a -0.4 V vs Ag/AgCl (variable)	Sustituyentes electrónicos (donadores ↑ facilidad de oxidación)	Determina generación de ROS y actividad antimicrobiana/antican-cerígena
Relación estructura-propiedad (SAR)	Influencia de la estructura en propiedades y actividad	Sustituciones modifican solubilidad y estabilidad	Naturaleza del grupo funcional, posición en el anillo, conjugación	Sustituyentes adecuados optimizan actividad biológica y selectividad

La solubilidad que presentan las fenazinas depende del medio en el que se encuentre, estos pueden ser polares o no polares, manteniendo valores típicos bajos en agua, sin embargo, esto depende de los grupos funcionales que la molécula presente, algunos de sus factores influyentes con el pH y grupos como COOH, OH o NH_2, ya que, con la presencia de estos, va a existir una mayor solubilidad. También se debe tomar en cuenta que los grupos polares presentan una solubilidad acuosa lo cual lo convierte en una molécula más biodisponible, ya que se absorbe fácilmente en el organismo (Perera et al., 2022).

El pKa de las moléculas indica la facilidad con la que este puede perder un protón (H^+), en donde su constante de disociación es ácida, aquí los valores típicos varían según la sustitución, pero aquellos que oscilan entre 2 a 5 (PCA) muestran que son ácidos débiles, por lo que, la permeabilidad celular y su actividad biológica se va a ver afectada por el grado de ionización, lo que quiere decir que las formas no ionizadas atraviesan de mejor manera a las membranas. Este factor se puede ver afectado por el tipo y la posición de los sustituyentes existentes, ya que si estos son electronegativos va a existir un menor pKa. (Menichetti et al., 2018).

El potencial redox señala la capacidad que tiene la molécula para poder ceder o aceptar electrones, en donde sus valores negativos muestran la tendencia a donar electrones. Si los sustituyentes electrónicos son donadores va a facilitar la oxidación, es por esto que se los relaciona con la actividad antimicrobiana o anticancerígena, ya que determina la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Perera et al., 2022).

La relación estructura propiedad (SAR) indica cómo la estructura química tiene la posibilidad de variar las propiedades y su actividad, pues, dependiendo de la posición en la que se encuentren los sustituyentes en el anillo se pude ver alterada su solubilidad o estabilidad, sin embargo, al colocar a los sustitutos adecuados se puede optimizar la actividad biológica y selectividad del compuesto (S. Wang et al., 2021).

Los derivados de fenazina han sido estudiados por su capacidad para inhibir el crecimiento de diversas bacterias patógenas. Se ha demostrado que algunos de estos compuestos tienen actividad significativa contra *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los complejos metálicos de bases de Schiff con fenazina han mostrado una mayor efectividad que los antibióticos comerciales como la tetraciclina y la ciprofloxacina, con valores menores de MIC (Bufarwa et al., 2024).

Los derivados de fenazinas halogenadas que presentan un efecto antibacteriano puede estar relacionado a la alteración que existe en la membrana, al flujo de electrones o la obtención de especies que son reactivas de oxígeno (Krishnaiah et al., 2018).

Los derivados de fenazina también han sido investigados por su capacidad antifúngica. Algunos compuestos han mostrado alta eficacia contra *Aspergillus flavus* y *Candida albicans*. Esta actividad parece estar relacionada con la capacidad de los compuestos para interrumpir la integridad de la membrana celular de los hongos y alterar su metabolismo energético (Bufarwa et al., 2024).

La actividad antioxidante de los derivados de fenazina se ha evaluado utilizando el ensayo de eliminación de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), el cual consiste en un radical libre orgánico estable. En estos estudios, los compuestos han demostrado una capacidad significativa para neutralizar los radicales libres, superando incluso la eficacia del ácido ascórbico, un antioxidante de referencia presenta valores de IC_{50} entre 5 a 50 µg/mL. Dado que el estrés oxidativo está implicado en muchas enfermedades degenerativas, estos resultados sugieren que los derivados de fenazina podrían ser útiles en la prevención y tratamiento de enfermedades relacionadas con el daño oxidativo (Bufarwa et al., 2024).

5.3. Métodos de síntesis para los derivados de fenazina

Al hablar de métodos de síntesis se puede mencionar la condensación de *o*-fenilendiamina con compuestos dicarbonílicos, en donde se forma el núcleo de fenazina mediante un proceso de ciclización más oxidación, este es un método simple y confiable del cual se obtienen fenazinas sencillas y poco sustituidas. Debido a su limitada diversidad estructural y mínima flexibilidad para lograr modificar la molécula, este método resulta útil solo para la obtención de estructuras básicas (Guttenberger et al., 2017).

Por otro lado, también existe la síntesis de Wohl-Aue, en la cual ocurre una reacción en medio fuertemente básico entre nitroarenos y anilinas. De este método se obtienen fenazinas aromáticas sustituidas y resulta útil gracias a que los reactivos utilizados son accesibles. Sin embargo, es poco controlada químicamente, pues existe la formación de subproductos y una baja selectividad, lo cual pone a este método de síntesis en desventaja para la elaboración de ciertas moléculas (Yang et al., 2017).

La reacción de benzofuroxanos con nucleófilos que es seguida de una ciclización se conoce con el nombre de síntesis de Beirut, aquí se usan condiciones leves, empleando solventes orgánicos y obteniendo fenazinas funcionalizadas. Este método resulta de gran

conveniencia para lograr introducir una variedad de grupos funcionales a la estructura base. Gracias a su alta versatilidad se la ocupa con el fin de crear una diversidad química, convirtiéndose así en un método favorable para la obtención de moléculas derivadas de fenazinas (Liu et al., 2018).

La hidroxilación en fenazinas por medio de una sustitución electrofílica aromática permite modificar el anillo fenazínico con la finalidad de obtener una mejor actividad biológica y mayor solubilidad. Sin embargo, existe otro método de obtención, el cual consiste en una hidroxilación usando reactivos tipo H_2O_2/Fe^{2+}que permite realizar una oxidación para poder introducir grupos OH, provocando la existencia de derivados hidroxilados con su respectiva actividad biológica (Elhady et al., 2022).

El acoplamiento oxidativo de anilina se da por la formación de enlaces C-N y C-C mediante un método de oxidación, en este proceso se logra obtener derivados policondensados y ocurre en presencia de agentes oxidantes como $FeCl_3$, $Cu^{2+.}$ A pesar de ello, a lo largo de esta síntesis existe un control limitado del producto final, lo cual se expone como una desventaja al momento de realizar este procedimiento (Zhang et al., 2016).

El método de síntesis de ciclización catalizada por metales consiste en la activación de enlaces C-H para lograr obtener anillos mediante una catálisis, la cual contiene precursores aromáticos funcionalizados, usando catalizadores como Pd o Cu bajo una atmósfera controlada. Como producto de este método se obtienen derivados aromáticos sustituidos, los cuales presentan una elevada selectividad y buen rendimiento, por lo tanto, resulta ser favorable para la obtención de moléculas de fenazina (Azizollahi & García-López, 2020).

Para poder obtener una amplia variedad de derivados de fenazina se puede seguir el método se síntesis asistida por microondas, el cual se basa en acelerar las reacciones usando radiación microondas con aldehídos o cetonas como reactivos. Este procedimiento presenta

irradiación en tiempos cortos, lo cual resulta eficiente, sin embargo, se requiere de equipos especializados (Starvaggi & Ettari, 2025).

Con la finalidad de obtener fenazinas bioactivas se puede seguir el método de síntesis verde, el cual se trabaja bajo una temperatura moderada. Se fundamenta en usar solventes ecológicos y catalizadores únicamente benignos, es por esto que, sus reactivos típicos resultan de extractos vegetales, agua o etanol. Sin embargo, este método prioriza la sostenibilidad sobre la eficiencia máxima del producto, pues, con este procedimiento se obtiene un rendimiento variable, lo cual lo convierte en un método no priorizado (John et al., 2024).

Para la obtención de fenazinas redox activas se realiza una síntesis electroquímica, la cual implica la formación de enlaces mediante reacciones redox que son controladas eléctricamente con anillos o derivados aromáticos como reactivos. Esta síntesis se realiza en celdas electroquímicas con un potencial aplicado, lo cual permite un control preciso del proceso (Lai et al., 2023).

Además, se puede obtener fenazinas naturales como piocianina (PCA) mediante una biosíntesis microbiana, la cual se ejecuta mediante una producción enzimática a través de rutas metabólicas, usando microorganismos *Pseudomonas spp.* como reactivos. Este proceso requiere de condiciones de cultivo controladas y presenta una elevada especificidad biológica, pero abarca un escalado complejo (Saliba et al., 2017).

Existe una modificación química del núcleo de fenazina que se da con el método de funcionalización post-síntesis, del cual se obtienen derivados funcionalizados usando alguna fenazina base más agentes funcionalizantes como reactivos. Esta síntesis se presenta bajo condiciones orgánicas estándar y posee una buena diversidad estructural, pero el proceso requiere de múltiples etapas (Yadav et al., 2025).

La síntesis de Friedel-Crafts se basa en la reacción de una sustitución electrofílica aromática, la cual es catalizada por ácidos de Lewis ($AlCl_3$, $FeCl_3$), mediante este procedimiento se logra obtener enlaces C-C, así como también estructuras policíclicas, permitiendo la creación de núcleos de fenazina. Se emplea para formar núcleos aromáticos combinados, a través de una ciclación intramolecular. Se puede tratar de una alquilación o de una acilación, siendo este último más estable y controlado, permitiendo modificar su solubilidad. Sin embargo, este método no funciona si el anillo se encuentra desactivado y los nitrógenos pueden interferir en la reacción, lo que lo convierte en un método con poca selectividad debido a sus múltiples reacciones (Gu et al., 2015).

La reacción de Suzuki es una herramienta importante para obtener enlaces C-C, consiste en un acoplamiento cruzado, el cual es catalizado por paladio (Pd) entre haluros aromáticos y ácidos bóricos, con la finalidad de introducir grupos arilo en las fenazinas funcionalizadas, mediante esta reacción se logra obtener una elevada selectividad, debido a que funciona en condiciones leves y soporta a muchos grupos funcionales, sin embargo, su catalizador suele ser costoso (Hahn et al., 2016).

El método de Kolbe-Schmitt consiste en una carboxilación de fenoles con CO2, el cual se somete en condiciones básicas para lograr introducir el grupo COOH de una manera selectiva dentro del anillo fenólico de fenazina. Otro método de la halogenación aromática se basa en una sustitución electrofílica para lograr introducir halógenos (Br, Cl, I), con la finalidad de mejorar su actividad biológica y reactividad de acoplamientos posteriores. Sin embargo, también se puede presentar una ciclación oxidativa, la cual permite la formación del núcleo aromático por medio de una oxidación y cierre del anillo, con la finalidad de formar un sistema fenazínico conjugado (Elhady et al., 2022)

Se puede presentar una oxidación de grupos funcionales en conjunto con una activación y reacción con amidas, mediante la cual se logra obtener como producto fenazinas

tipo carboxiamida (PCN), así como también se presenta el método de acilación, que permite agregar grupos acilo en los anillos aromáticos, con la finalidad de modificar su estructura y mejorar su actividad biológica (Mahran et al., 2015).

Otro método para obtener derivados de fenazina consiste en una metalación para lograr la formación de organolitios y, posterior a esto realizar una carboxilación para lograr formar el ácido carboxílico, Sin embargo, existe otro método de obtención para derivados de tipo PCA, el cual puede tratarse de una ciclación para lograr obtener el núcleo de fenazina, seguido de una aromatización e introducción del grupo COOH por medio de una carboxilación (Zhan et al., 2015).

5.4. Técnicas de análisis de fenazinas

La espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) se utiliza con la finalidad de lograr identificar compuestos químicos mediante la absorción de radiación IR asociada a las transiciones vibracionales que presentan sus enlaces químicos, de la que se obtiene como información frecuencias de vibración características de los grupos, cada tipo de enlace (C=N, C=C, etc) absorbe esta radiación infrarroja a una frecuencia característica, lo cual genera un espectro único, como si se tratase de una huella digital. Por ejemplo, un enlace C – N se identifica dentro del rango de ~1200-1350 cm^{-1}. Se obtiene como resultado un espectro de absorción vs número de onda (cm^{-1}). Gracias a esta técnica se logra analizar fenazinas debido a sus sustituyentes como COOH, OH, etc, permitiendo identificar de una manera fácil los grupos funcionales existentes. Sin embargo, se debe tener cuidado debido a que los picos pueden solaparse (Masheka et al., 2025).

Otra técnica para utilizarse es la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) la cual permite identificar como están organizados los átomos de una molécula y poder identificarla, esta técnica se da mediante la interacción de núcleos atómicos con un campo magnético externo bajo radiofrecuencia, obteniendo como resultado un espectro de intensidad vs desplazamiento

químico (ppm). Como información analítica de esta técnica se obtienen desplazamientos químicos, constantes de acoplamiento e integración de señales, lo cual permite confirmar las sustituciones existentes en el anillo. Sin embargo, aunque se trate de una técnica muy precisa y no destructiva, se debe tener en cuenta las señales adicionales que se logren visualizar, ya que su existencia puede darse debido a impurezas en el proceso (Claridge, 2016).

Mediante la espectrometría de masas (Mass Spectrometry-MS) también se pueden analizar fenazinas, ya que este se utiliza para detectar compuestos químicos y conocer su masa molar. Esta técnica funciona ionizando las moléculas y separándolas según la relación masa/carga (m/z) de los iones que se generen, es decir que, la molécula se convierte en iones, generando como resultado un espectro de masas (intensidad vs m/z). La información analítica que se obtiene son iones moleculares, patrones de fragmentación, así como su distribución isotópica. Es así que, esta técnica permite detectar compuestos a concentraciones bajas y se la considera de alta sensibilidad y buena precisión (González- Fosadosa et al., 2021).

Espectroscopía Ultravioleta-Visible (UV-VIS) sirve para lograr medir la absorción de luz en la región ultravioleta (200-400 nm) visible (400-700 nm) mediante una sustancia que se encuentra en solución, de la que, se obtiene como resultado un espectro de absorbancia vs longitud de onda. Esta técnica permite identificar y cuantificar a los compuestos según la intensidad de luz que absorba a una longitud de onda específica, en la cual, la información analítica obtenida es el coeficiente de absorción, mediante el que se puede conocer la concentración de las fenazinas por medio de la Ley de Lambert-Beer $A = \varepsilon * b * c$; donde: A representa la absorbancia, ε es el coeficiente de absorción, b la longitud de celda y c su concentración. Esta técnica resulta importante en fenazinas ya que cuentan con sistemas aromáticos conjugados, lo que posibilita una fuerte absorción, generando las bandas específicas y emitiendo color, en el caso de que las fenazinas presenten pigmentos. Un ejemplo de esto es la piocianina, la cual presenta su espectro característico en la región visible de color azul (Pavia et al., 2015).

La técnica de fluorescencia también permite analizar fenazinas, pues consiste en un fenómeno en donde la molécula absorbe radiación electromagnética tras ser excitada electrónicamente a una cierta longitud de onda y emitiendo luz al regresar a su estado basal. Aquí, la luz que se emite tiene una mayor longitud de onda que la absorbida, lo cual se conoce como desplazamiento de Stokes. Como información analítica se obtiene el rendimiento cuántico, su intensidad de fluorescencia mediante una curva de calibración y el tiempo de vida. Gracias a los sistemas aromáticos que presentan las fenazinas, este método resulta satisfactorio, ya que permite absorber la energía y emitir fluorescencia en varios derivados, generando un patrón de emisión característico para cada compuesto. El análisis puede ser combinado don HPLC-fluorescencia, pues se obtiene una mejor selectividad trabajando en matrices complejas, es rápida y no se considera destructiva. Sin embargo, no todas las fenazinas presentan fluorescencia, lo cual lo convierte en una técnica menor universal, e inclusive puede presentar interferencia por otras sustancias, además, depende del pH, solvente y temperatura (Pavia et al., 2015)

La Voltametría Cíclica (CV) se basa en transferir electrones de acuerdo con el potencial aplicado, es decir que, mide la corriente eléctrica que existe cuando el compuesto se oxida o se reduce a un cierto potencial, basándose en procesos redox. Es así como, las fenazinas al tener un sistema aromático conjugado se convierten en compuestos redox-activos, por lo cual pueden aceptar y donar electrones de una manera fácil, obteniendo como resultado un voltagrama de corriente vs potencial, en el que se puede observar un pico anódico característico de la oxidación o un pico catódico distintivo de la reducción. La información analítica que se obtiene de este método es su potencial redox y su reversibilidad electroquímica. Sin embargo, aquí, su interpretación suele ser compleja y pueden existir interacciones de otras especies que sean electroactivas (Saunders & Newman, 2018).

Otra técnica que permite analizar las fenazinas es la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), ya que consiste en un método de separación que se basa en distribuir los

compuestos mediante una fase móvil y una fase estacionaria, los cuales se separan según su tamaño, polaridad y afinidad química de la cual se obtiene un cromatograma de señal vs tiempo. Es así como, debido a que las fenazinas contienen compuestos aromáticos y poseen diferentes polaridades se consigue separar de forma eficiente sus compuestos, obteniendo como información analítica el área del pico, tiempo de retención, resolución y su cuantificación. Gracias a su fiabilidad resulta ideal para mezclas que son complejas, usualmente se la usa en fase reversa, usando acetonitrilo/metanol como fase móvil. Esta técnica resulta útil para derivados como el ácido fenazina-a-carboxílico (PCA) o la piocianina y es muy usada en cultivos bacterianos (Bautista Sánchez Urias, 2018).

La Difracción de Rayos X (XRD) consiste en una interacción de los rayos X con los planos cristalinos de un material, generando una dispersión en dirección específica cuando estos rayos inciden sobre el sólido, generando vi bipolar así un patrón de difracción característico, el cual se describe mediante la Ley de Bragg $n\lambda = 2dsin\theta$; donde: λ es la longitud de onda, d es la distancia entre planos y θ es el ángulo de difracción, obteniendo como resultado un difractograma (intensidad vs 2 θ). Es así como, esta técnica puede ser usada para las fenazinas, especialmente que se encuentran en estado sólido, ya que estas pueden formar estructuras cristalinas que son bien definidas, proporcionando información de los parámetros de la celda unitaria, la posición de los átomos y siendo un método no destructivo (Wu et al., 2021).

La Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR) ayuda a detectar especies que presentan electrones desapareados, es decir radicales libres o iones que son paramagnéticos, pues, cuando un electrón no se encuentra apareado posee un espín e interactúa con un campo magnético externo, el cual, al aplicar microondas en presencia de un campo magnético, el electrón cambia de estado de energía y produce una absorción característica del mismo, emitiendo un espectro de intensidad vs campo magnético. Mediante esta técnica se puede detectar los radicales libres que forman las fenazinas al ser sometidas en procesos

redox, presentando una información analítica de las constantes de acoplamiento, así como también la intensidad de señal (C. Wang et al., 2020).

La técnica de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) es un método de química computacional, el cual permite estudiar la estructura electrónica de las moléculas, mediante modelos matemáticos para lograr calcular la distribución de los electrones y poder predecir las propiedades físicas y químicas por medio de software como Gaussian. Esta técnica permite entender el comportamiento electrónico, su reactividad y su actividad biológica, arrojando como información analítica la energía de los orbitales y sus frecuencias vibracionales teóricas (Ghule et al., 2022).

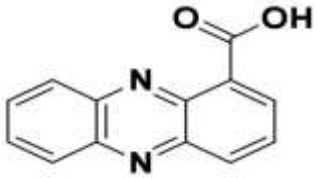
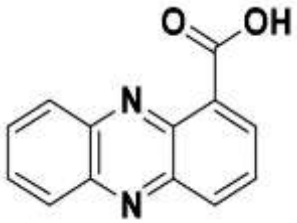
Método

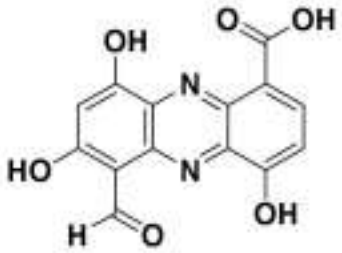
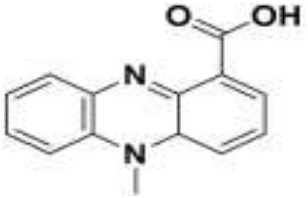
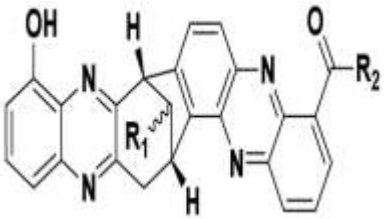
Este estudio se ejecutó bajo una revisión bibliográfica basada en literatura científica con la finalidad de seleccionar una determinada información acerca de los métodos de síntesis y la actividad biológica que presentan los derivados de fenazina, los cuales fueron recopilados en bases de datos como PubMed, ScienceDirect y Google Scholar. El resultado de esta búsqueda fueron 12 compuestos relevantes, los cuales fueron escogidos según la vigencia del método y sus investigaciones realizadas. Los artículos comprendidos fueron seleccionados entre los años 2014 y 2025, favoreciendo a aquellos que presentaron mayor impacto. Finalmente, se llevó a cabo un análisis comparativo de la información obtenida, la cual fue enfocada en el rendimiento y actividad biológica que presentaron los derivados de fenazina reportados.

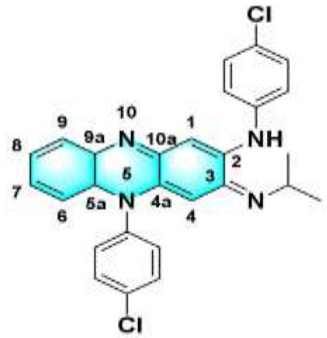
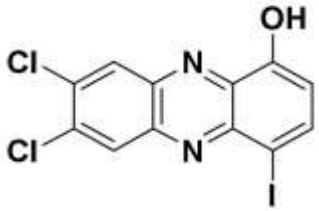
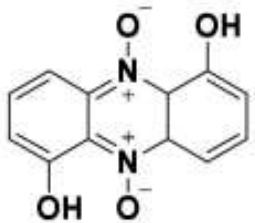
6. RESULTADOS

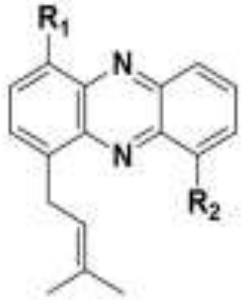
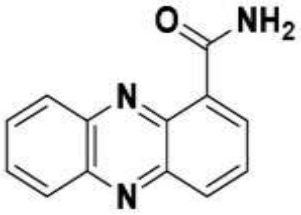
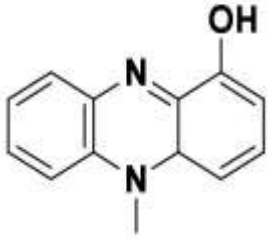
En la **Tabla 2** se muestran 12 estudios realizados a diferentes derivados de fenazinas, en la cual se detalla la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Inhibitoria Media que contiene cada compuesto.

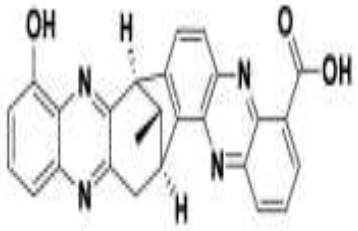
Tabla 2. Derivados de fenazina según su actividad antibacteriana, anticancerígena, antifúngica.

Compuesto/ Derivado	Método de síntesis	Rendimiento (%)	Actividad	MIC	IC_{50}	Referencia
Ácido fenazina-1-carboxílico (PCA) 	Biosíntesis microbiana / metilación y carboxilación	~66	Anticancerígena	—	20g/mL (HeLa), 24 µg/mL (MCF-7	(Zhan et al., 2015)
Ácido fenazina-1-carboxílico (PCA) 	Kolbe-Schmitt	—	Antifúngica	4 µg/mL ante *Trichophyton rubrum*	—	(Yan et al., 2021)

Ácido 4-formil-3,5,9-trihidroxifenazina-1-carboxílico 	Hidroxilación con H_2O_2/Fe^{2+}.	—	Antifúngica	16µg/mL ante *Pythium ultimum* 32 µg/mL ante *Rhizoctonia solani* 16 µg/mL ante *Septoria steviae* 16µg/mL ante *Fusarium oxysporum f. sp. Niveum*	—	(Yan et al., 2021)
Ácido 5-metilfenazina-1-carboxílico 	Biosíntesis/ Ciclación, Oxidación, carboxilación	—	Anticancerígena	—	458,6 nM ante MDA MB-23	(Yan et al., 2021)
Barafenazina E  R1= OH / R2=NH_2	Biosíntesis/ Ciclación oxidativa, acilación	—	Anticancerígena	—	2,4 µM ante A549	(Yan et al., 2021)

Clofazimina 	condensación de o-fenilendiaminas	—	Anticancerígena	—	1-10 µM ante *Artemia salina*	(Gu et al., 2015)
2,3-dicloro-9-iodofenazin-1-ol 	Halogenación aromática	60-90	Antibacteriana	3,13 µM ante *Mycobacterium tuberculosis*	—	(Wu et al., 2021b)
1,6-dihidroxifenazina 5,10-dióxido 	Beirut	—	Antifúngica	0,71 µg/mL ante *Candida glabrata*	—	(Yan et al., 2021)

1,6-dimetoxi-4-prenilfenazina  R1= OCH_3 / R2=OCH_3	Suzuki	—	Antibacteriana	4 µmol/L ante *Micrococcus luteus*	—	(Yan et al., 2021)
Fenazina-1-carboxamida (PCN)  	Biosíntesis / oxidación	65	Antibacteriana/ Antifúngica	32-64 µg/mL ante *Candida albicans*	—	(Han et al., 2020)
Piocianina  	Biosíntesis/ Beirut	—	Antibacteriana	0,35-0,71 µg/mL ante *Candida glabrata* y *Enterococcus Faecium*	—	(Yan et al., 2021)

Piperazina Diastafenazina 	Friedel-Crafts	85	Antibacteriana	64 µg/mL ante *Staphylococcus aureus*	—	(Han et al., 2020)

Es así que, el método de síntesis que se realiza para obtener el ácido fenazina-1-carboxílico (PCA) puede consistir en una biosíntesis microbiana o en una síntesis orgánica, la cual empieza con una halogenación en donde la molécula se convierte en 1-clorofenazina, pasa por una metalación para formar el grupo organolitio, luego, se realiza una carboxilación con Co_2 para lograr formar el ácido carboxílico, finalmente, se presenta una hidrólisis ácida (Zhu et al., 2018). Varsha et al. (2016) investigaron su actividad cancerígena luego de aislarla por primera vez de Lactococcus BSN307, mostrando un IC_{50}=20 µg/mL contra la línea celular HeLa (primera línea de células humanas inmortales, derivadas del cáncer de cuello uterino), Así mismo, presentó un IC_{50}=24 µg/mL ante las células MCF-7 (línea celular de adenocarcinoma ductal de mama humano) exponiendo de esta manera una actividad inhibitoria contra las aminopeptidasas de leucina y prolina (Varsha et al., 2016). El cual presenta un rendimiento de aproximadamente 66% (Zhan et al., 2015).

Se analiza el método de síntesis del Ácido fenazina-1-carboxílico (PCA), el cual se obtiene al aislar de *Trichophyton rubrum,* la ruta que se sigue aquí empieza con la obtención del núcleo de fenazina para, posteriormente realizar una carboxilación selectiva introduciendo el grupo COOH en la posición específica mediante una reacción de Kolbe-Schmitt (Han et al., 2020). Gorantla et al. (2014) fueron los primeros en reportar la actividad antifúngica del compuesto presente contra el principal patógeno humano responsable de infecciones existentes por pie de atleta y hongos en las uñas, *Trichophyton rubrum.* Aquí, la concentración mínima inhibitoria (MIC) fue de 4 mg/mL (Gorantla et al., 2014).

El ácido 4-formil-3,5,9-trihidroxifenazina-1-carboxílico es aislado de *Streptomyces lomondensis*, el cual presenta un núcleo de fenazina-1,6-carboxílica y se realizan modificaciones mediante una hidroxilación usando reactivos tipo H_2O_2/Fe^{2+}. Continúa con la introducción del aldehído mediante oxidación selectiva de metilo y finaliza con una

reducción/oxidación para lograr estabilizad aromática (Wu et al., 2021). Se aisló de *Streptomyces lomondensis* el compuesto de fenazina, el cual inhibió *Pythium ultimum* con un MIC=16µg/mL, *Rhizoctonia solani* con MIC=32 µg/mL, *Septoria steviae* con MIC=16 µg/mL y *Fusarium oxysporum f. sp. Niveum* con CIM=16µg/mL, lo cual demuestra que esta molécula presenta una buena actividad antifúngica y puede ser usado para el desarrollo de algún biopesticida (R.-X. Deng et al., 2021).

Para el ácido 5-metilfenazina-1-carboxílico se realiza una ruta sintética, en la cual, después de la ciclación obtenida para formar el núcleo de fenazina se presenta una oxidación con aire/$KMnO_4$, lo cual conlleva a una aromatización completa, posteriormente, se introduce el grupo COOH con ayuda de una carboxilación (Han et al., 2020). Kennedy et al., (2015) lograron aislar la fenazina de una bacteria de suelo, mediante el que se evidenció una actividad anticancerígena contra la línea celular MDA MB-23, adenoma mediante el cual se estudia el cáncer de mama triple negativo agresivo, presentando un valor de IC_{50}=458,6nM (Kennedy et al., 2015).

Para Barafenazina E se obtiene un compuesto derivado de *Streptomyces sp*, en donde su ruta sintética presenta una ciclación oxidativa, seguido de una acilación para introducir los sustituyentes y, por último, se da una reducción estereoselectiva (Deng et al., 2023). Al aislar de *Streptomyces sp*. PU-10A la barafenazina del tipo fenazinolina mostró una actividad anticancerígena dando valores de IC_{50}=2,4µM ante la línea celular A549, la cual proviene de un adenocarcinoma de pulmón humano, tipo II. Esto señala que el grupo amida es fundamental para la actividad anticancerígena (X. Wang et al., 2019).

En la clofazimina se presenta una condensación de o-fenilendiaminas con derivados quinónicos, a partir de lo cual se forma el núcleo de la fenazina, luego, existe una introducción de grupos arilo con una sustitución nucleofílica aromática, posteriormente se da una reacción con aminas secundarias y se finaliza con una halogenación selectiva (Wu

et al., 2021). Según Bufarwa (2024), varios derivados de fenazina han sido evaluados por su citotoxicidad y su potencial como agentes anticancerígenos. En ensayos de laboratorio, se ha encontrado que estos compuestos pueden inducir apoptosis en células cancerosas e inhibir la proliferación celular. Se ha utilizado el test de letalidad para evaluar la toxicidad de estos compuestos. Esta molécula se usa como fármaco contra la lepra y tuberculosis y muestra una importante actividad anticancerígena ante *Artemia salina* según estudios clínicos, arrojando valores de concentración inhibitoria media (IC_{50}) en el rango de 1 a 10 µM (Gu et al., 2015).

En 2,3-dicloro-9-iodofenazin-1-ol el mecanismo de síntesis que se presenta es una halogenación aromática, posteriormente, un control regioselectivo ocasionado por directores del anillo y finalmente se da la introducción del grupo OH mediante una sustitución nucleofílica aromática (H. Wang et al., 2015). Menciona Garrison et al., (2018) que, con el compuesto presente se evidencia una actividad antibacteriana de MIC=3,13 µM contra *Mycobacterium tuberculosis* (Garrison et al., 2018). Este estudio presentó un rendimiento en un rango de 60-90% (Wu et al., 2021b).

La ruta existente en 1,6-dihidroxifenazina 5,10-dióxido presenta una oxidación de nitrógenos, probablemente con H_2O_2/ácido acético, ya que se necesitan oxidantes suaves, luego se da una hidroxilación para lograr introducir el grupo OH en el anillo aromático, finalmente se controlan las cargas para poder formar el sistema zwitteriónico (N^+-O^-) (Guo et al., 2023).Aquí también se puede presentar una reacción Beirut para incorporar los grupos funcionales a la molécula (Liu et al., 2018). En esta molécula se observa un compuesto estudiado por Sletta (2014) que presenta una gran actividad antifúngica ante *Candida glabrata,* arrojando una MIC=0,71µg/mL (Sletta et al., 2014).

En la molécula 1,6-dimetoxi-4-prenilfenazina se realiza una halogenación selectiva para poder introducir el halógeno, luego, se da un acoplamiento mediante la reacción Suzuki, finalmente para R1 y R2 se realiza una metoxilación con sustitución nucleofílica aromática, pues esto favorece a la introducción de grupos metoxi (D. Wang et al., 2016). Mencionan Han et al. (2019) que al aislar varias fenazinas naturales de *Streptomyces sp.* se logra obtener 1,6-dimetoxi-4-prenilfenazina, la cual presenta una actividad antibacteriana moderada ante *Micrococcus luteus*, con un valor de MIC=4µmol/L (HAN et al., 2019)

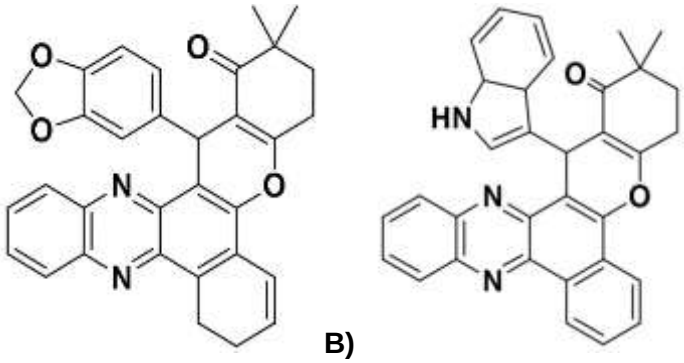
Para obtener la fenazina-1-carboximida (PCN) se puede realizar una biosíntesis o una síntesis orgánica, en donde el método de esta última empieza con una oxidación, convirtiéndolo en ácido fenazina-1-carboxílico, posteriormente se activa el ácido con cloruro de acilo para finalizar con la formación de la amida con ayuda de NH_3 (Zhu et al., 2019). En este derivado se observa una fenazina producida por varios microorganismos, la cual, según Tupe et al, (2015), muestra una actividad antibacteriana contra sepas de SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a la metilcilina) y presenta un efecto sinérgico al combinarse con nanopartículas de plata producidas por *Fusarium Oxysporum.* Estudiaron su actividad contra el patógeno *Candida albicans*, arrojando un MIC=32-64 µg/mL, esto demostró su mecanismo de acción antibacterial mediante el deceso celular apoptótico, el cual es intervenido por especies reactivas de oxígeno (Tupe et al., 2015). El compuesto fue aislado de las hojas de *Coccinia grandis* por Thanabalasingam et al., (2015) y Tupe et al., (2015), lograron determinar su actividad antifúngica contra la *Candida albicans*, un patógeno humano, en donde obtuvieron un MIC=32 a 64µg/mL, lo cual reveló su mecanismo de acción por medio de la muerte celular apoptótica, en donde participaron especies reactivas de oxígeno(Thanabalasingam et al., 2015; Tupe et al., 2015). Mediante este proceso se obtuvo un rendimiento del 65%. (Han et al., 2020)

La piocianina se puede obtener mediante una biosíntesis o por una síntesis orgánica, la cual se obtiene al realizar una hidroxilación mediante sustitución electrofílica, posteriormente una alquilación y se forma el compuesto de la Piocianina (Kim et al., 2015).Sin embargo, esta molécula también se puede obtener gracias al método la cual método Beirut (Liu et al., 2018). Se observa una molécula producida por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* que, según Yan et al., (2021) presenta una actividad antibacteriana contra *Candida glabrata* y *Enterococcus Faecium*, con un MIC que va entre los 0,35 a 0,71 µg/mL (Yan et al., 2021).

El compuesto piperazina diastafenazina se obtuvo por una ciclación intramolecular de tipo Friedel-Crafts, seguido de una catálisis ácida para posteriormente introducir el grupo carboxílico mediante la oxidación de un aldehído, finalmente se presenta una hidroxilación aromática para poder sustituir el electrófilo, de esta forma se presenta una nitración, luego se da una reducción, posteriormente una diazotación, la cual lleva a una hidrólisis que ayuda a formar el grupo OH (Galiè et al., 2025). Al aislar este compuesto de *Streptomyces diastaticus subsp*. endófito. *Ardesiacud*, se logró determinar la actividad antibacteriana ante *Staphylococcus aureus,* con una Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de 64 µg/mL, sin embargo, este compuesto se mostró inactivo ante *Escherichia coli* (Li et al., 2015). Este procedimiento resultó algo beneficioso, ya que se obtuvo un rendimiento de 85%, siendo este un valor elevado comparado a otras moléculas (Han et al., 2020).

Los cromenos, son compuestos heterocíclicos que contienen un anillo bencénico vinculado con un anillo pirano, conocidos también como benzopiranos. Son moléculas que presentan metabolitos usualmente en plantas, hongos y organismos marinos. Sin embargo, muchos de ellos también forman parte de productor naturales bioactivos y han sido estudiados por cumplir con una actividad antioxidante, sin embargo, estos compuestos han sido analizados escazas veces, debido a su complejidad. Se puede observar en la **figura 5 (A)** una molécula de fenazina-cromeno, la cual mostró una excelente actividad

antioxidante in vitro, al igual que la molécula de la **figura 5 (B)**, los cuales fueron sintetizados por Veeranarayna, en el estudio elaborado resultaron ser beneficiosas para el tratamiento de cáncer y la prevención de enfermedades cardiovasculares, presentando una actividad antiproliferativa contra la línea celular HeLa, con un valor de IC_{50}=3,28 µM para la **figura 5 (A)** y IC_{50}=4,01 µM para la **figura 5 (B).** Su actividad biológica depende netamente de la posición y naturaleza de los sustituyentes. (Veeranarayna Reddy et al., 2015).



A) **B)**

Figura 5. Derivados de benzo[α]cromeno[2,3-c]fenazina (Yan et al., 2021).

Técnicas de análisis

En FTIR se logra la obtención de un espectro de absorción IR, el cual refleja la absorbancia vs número de onda en cm^{-1}, con presencia de bandas características de los grupos funcionales existentes en las fenazinas. En la Figura 6 se observa un espectro FTIR del ácido fenazina-1-carbocílico (PCA), el cual presenta bandas características de las fenazinas con valores de ~3400 cm^{-1}, el cual va asociado a vibraciones O – H del grupo carboxilo, su ensanchamiento puede ser atribuible a la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares. Por otro lado, se observa una señal de ~3050 cm^{-1} correspondiente al estiramiento C-H aromático del núcleo de fenazina, la presencia de estas bandas aromáticas confirma la naturaleza heterocíclica del compuesto analizado. También se logra ver una banda en ~1700 cm^{-1} lo cual es característico del grupo carbonilo C=O del COOH, evidenciando la presencia del ácido carboxílico junto al núcleo aromático. La señal de ~1600 cm^{-1} corresponden a vibraciones C=N y C=C, las cuales son características de la

estructura aromática nitrogenada. Mientras que, la banda cercana a ~1280 cm^{-1} se asigna a vibraciones C-N. Finalmente, la presencia de bandas C=N y C-N confirmas la incorporación de nitrógeno en la estructura. Las variaciones de intensidad de las bandas pueden depender de la polaridad y entorno químico al que se enfrenten los enlaces, sin embargo, la región de 1500-1700 cm^{-1} fue crítica para identificar al núcleo fenazínico estudiado. Esta técnica permite la confirmación rápida de grupos funcionales y no se considera una técnica destructiva. Sin embargo, es sensible a puentes de hidrógenos y puede existir un solapamiento de bandas aromáticas o, las bandas del COOH suelen ensancharse debido a una dimerización (Masheka et al., 2025)

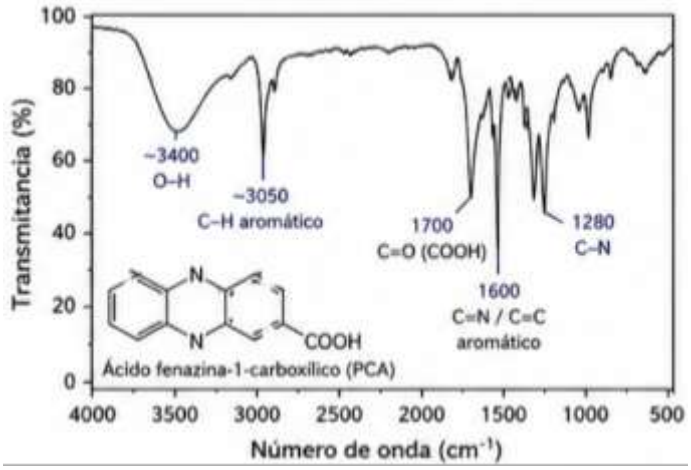


Figura 6. Técnica FTIR de piocianina (Masheka et al., 2025)

En RMN se puede analizar el entorno químico de los núcleos atómicos y se logra la obtención de un espectro de intensidad vs desplazamiento químico (ppm), en donde los desplazamientos químicos dependen de la densidad electrónica que existe alrededor del protón, permitiendo identificar protones aromáticos, grupos constituyentes y la conectividad molecular, tomando en cuenta que los grupos electronegativos desplazan las señales hacia valores de ppm. En la Figura 7 se visualiza una molécula de piocianina con un sistema aromático conjugado, el cual se encarga de modificar el espectro, con valores característicos 10.5 ppm pertenecientes al grupo COOH, los cuales suelen aparecer ensanchados debido a un intercambio protónico, presenta valores altos debido que cuenta

con un efecto no protector del oxígeno electronegativo y una señal de 2,5 ppm que corresponde al solvente DMSO usado durante el análisis, pues se considera uno de los solventes más empleados debido a que tiene una buena estabilidad y baja interferencia espectral. Aquí, el núcleo aromático produce varias señales entre 7,0 – 9,0 ppm, lo cual es característico de sistemas aromáticos conjugados, pues la intensidad relativa de estas señales plantea la existencia de varios protones conjugados. Es así que, la ausencia de señales adicionales en este espectro puede indicar una elevada pureza de la muestra analizada. Esta técnica permite confirmar la pureza de la estructura y, sus constantes de acoplamiento ayudan a identificar la vecindad atómica. Por lo tanto, se considera una técnica altamente reproducible y no destructiva (Claridge, 2016).

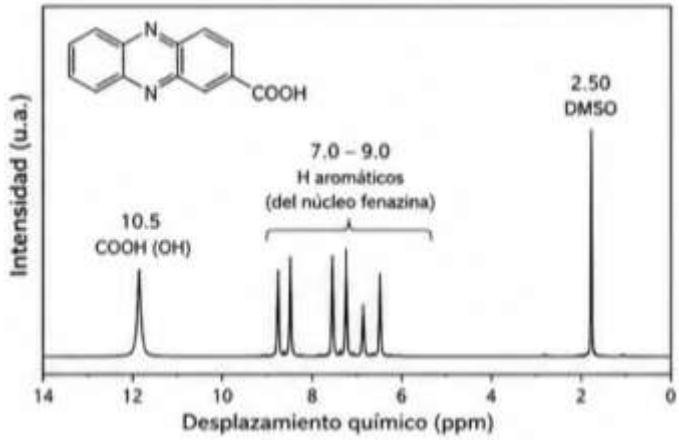


Figura 7. Técnica RMN de piocianina (Claridge, 2016).

De la técnica de MS se obtiene un espectro de intensidad vs relación masa/carga (m/z), permitiendo visualizar picos moleculares intensos y fragmentos aromáticos característicos de la molécula. En la figura 8 se observa un ejemplo en PCA en donde su m/z refleja $M+H^+$ el cual es característico de ion molecular en un valor de 225,06, por lo que, su elevada intensidad insinúa que presenta una buena estabilidad estructural, mientras que, la presencia de un pico definido señala que la molécula resiste parcialmente a la fragmentación durante el proceso de ionización. Los fragmentos menores observados en m/z 196,5; 226,07; 252,05 y 279,08 corresponden a procesos de fragmentación del sistema aromático. Los fragmentos menores pueden estar asociados a pérdidas del grupo COOH y una ruptura parcial del núcleo heterocíclico. El núcleo de fenazina genera fragmentos

característicos debido a la presencia de nitrógenos heterocíclicos. Sin embargo, la deslocalización electrónica del sistema π influye en la estabilidad del ion molecular. Las fenazinas halogenadas muestran señales isotópicas, las cuales son características de cada molécula y suelen presentar fragmentos que están asociados a rupturas cercanas a grupos funcionales oxigenados. Esta técnica logra identificar impurezas, metabolitos y es compatible con análisis de mezclas complejas (González- Fosadosa et al., 2021).

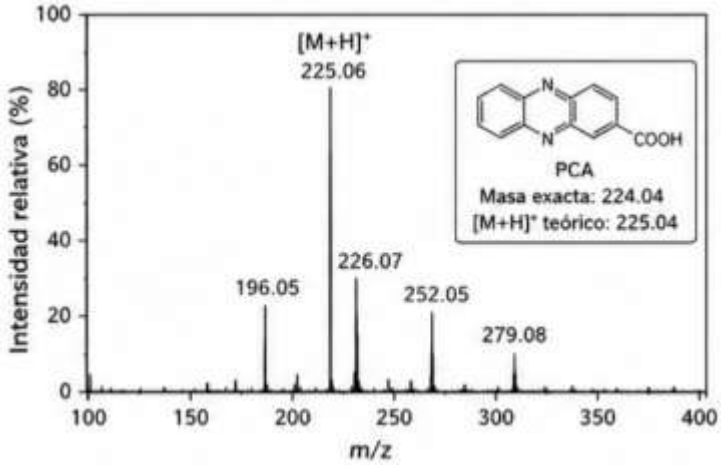


Figura 8. Técnica de MS de PCA (González- Fosadosa et al., 2021).

En la técnica de UV-Vis se observa un espectro de absorbancia vs longitud, es así que, en la figura 9 se presenta una lectura de piocianina, la cual presenta una longitud de onda máxima de alrededor de 370 nm correspondiente a transiciones electrónicas π→π* del sistema aromático, las cuales son características de moléculas que presentan una elevada conjugación electrónica, también se visualiza una banda visible a aproximadamente 690 nm, asociada a una transición n →π* que se encuentra relacionada a su distinguido y característico color azul. El color observado se debe a la interacción de electrones que se encuentran deslocalizados dentro del núcleo aromático y, su elevada absorbancia indica una buena deslocalización electrónica de la molécula. Sin embargo, la intensidad de las bandas depende de la concentración y pureza que contiene la muestra analizada, es así que, el espectro confirma la naturaleza cromófora de la piocianina y su región visible resulta de gran importancia para lograr identificar compuestos de fenazina

que presenten pigmentación, ya que permite evaluar propiedades ópticas y electrónicas de moléculas. Es común observar absorciones intensas en derivados de fenazina, debido a su aromaticidad y conjugación (Pavia et al., 2015).

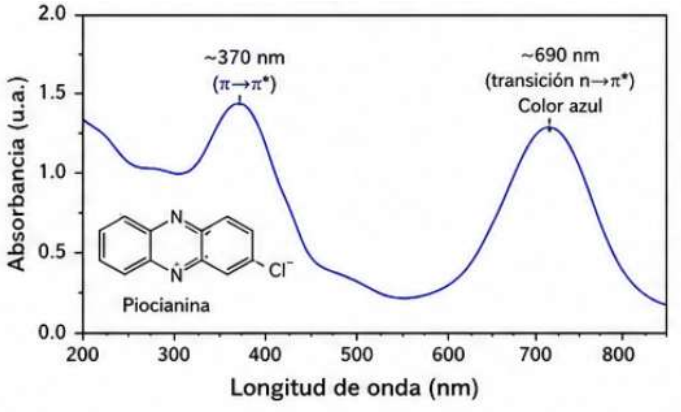


Figura 9. Técnica de UV-VIS de piocianina (Pavia et al., 2015).

En la fluorescencia se obtiene un espectro de intensidad de emisión vs longitud de onda, sin embargo, este método puede variar según sus sustituyentes, la polaridad que tenga el solvente, concentración, pH y su grado de conjugación. En la figura 10 se observa a la piocianina, con bandas de excitación y emisión característicos de la molécula, presentando una longitud de onda de excitación máxima en alrededor de 370 nm y, una emisión máxima presente a 480 nm, dentro de la región visible del espectro. La diferencia que se da entre la excitación y emisión corresponde al desplazamiento de Stokes, los cuales son propios de las moléculas fluorescentes. Aquí, la fluorescencia presentada se ve relacionada con la deslocalización electrónica del sistema π conjugado, es así como se conoce que el núcleo aromático de la molécula favorece a procesos de absorción y emisión de energía. Su elevada intensidad de emisión señala una buena estabilidad del estado excitado de la piocianina. La emisión en la región azul-verde se ve asociada a las propiedades ópticas del compuesto, en donde su emisión fluorescente se presenta después del proceso de relajación energética del estado excitado. Sin embargo, la notable variación en su intensidad puede indicar una interacción molecular. Esta técnica es útil para una detección analítica sensible (Bezerra et al., 2023).

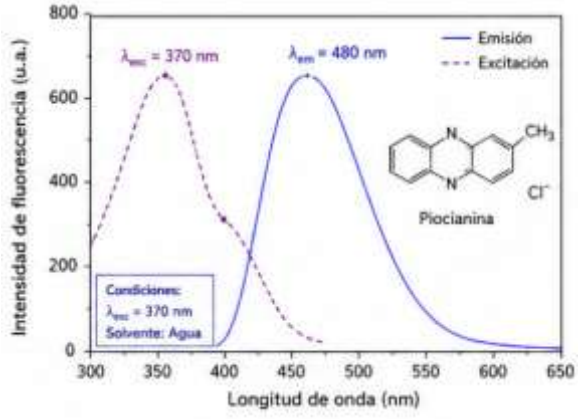


Figura 10. Técnica de fluorescencia de piocianina (Bezerra et al., 2023).

Debido a que las fenazinas son compuestos altamente redox activos, tienen la capacidad de presentar señales electroquímicas que son características de la molécula. En la figura 11 se observa la voltametría cíclica del ácido fenazina 1 carboxílico (PCA), el cual presenta picos de oxidación y reducción, en donde el pico anódico (Epa) está en alrededor de -0.24 V, el cual corresponde a un proceso de oxidación del compuesto y, un pico anódico (Epc) en aproximadamente -0,38 V, que se ve asociado al proceso de reducción. Es así como, la diferencia de potencial indica un comportamiento un poco reversible, que se relaciona con la deslocalización electrónica del núcleo de fenazina. Esta fenazina mantiene un comportamiento redox que está asociado a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y su corriente observada está vinculada con la transferencia electrónica. En esta molécula el grupo COOH permite modificar el potencial redox y su reversibilidad electroquímica (Saunders & Newman, 2018).

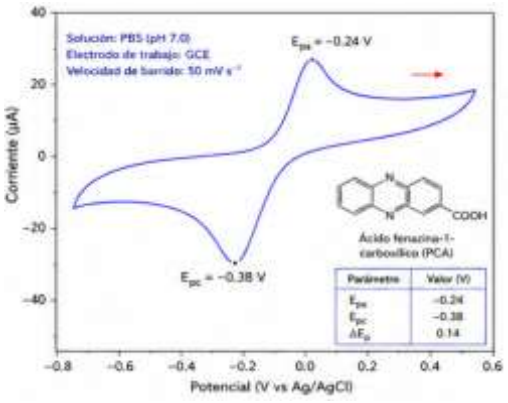


Figura 11. Técnica voltametría cíclica de PCA (Saunders & Newman, 2018).

La técnica del HPLC permite separar y cuantificar derivados de fenazina en mezclas complejas. En la figura 12 se logra ver a la piocianina con un pico intenso en un tiempo de retención de 11,32 minutos, obtenido mediante la interacción del compuesto con la fase estacionaria C18, su pico dominante señala una elevada pureza de la muestra. Por otro lado, sus picos menores pueden deberse a impurezas en baja concentración. La detección realizada a 690 nm está relacionada con el color azul, el cual es característico del compuesto y su absorción confirma las propiedades cromóforas que contiene la piocianina. Con respecto al área del pico, es posible relacionarlo con la concentración que posee la molécula. Este cromatograma enseña un pico intenso y definido, así como también una elevada absorción visible, del cual se obtiene una buena división cromatográfica, evidenciando una separación eficiente bajo las condiciones analíticas usadas, pues, su velocidad de flujo, columna, fase móvil permitieron obtener un perfil estable y definido, demostrando que la piocianina presenta propiedades que están influenciadas por su polaridad y conjugación electrónica. (Bautista Sánchez Urias, 2018).

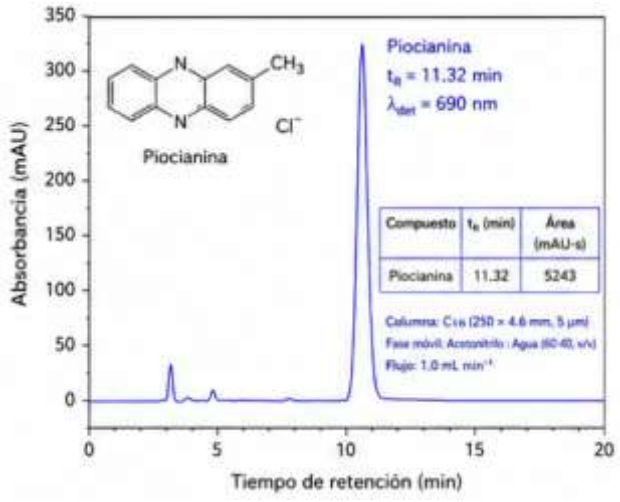


Figura 12. Técnica de HPLC de piocianina (Bautista Sánchez Urias, 2018).

La difracción de rayos X permite analizar la organización cristalina de fenazinas que se encuentran en estado sólido. En la figura 13 se observa la clofazimina, la cual presenta múltiples picos característicos y definidos, permitiendo evidenciar su naturaleza cristalina, en el cual, el pico mayor aparece alrededor de 17,2° correspondiente al plano

cromatográfico (110), sin embargo, se observan más señales, pertenecientes a diferentes planos de difracción cristalina, observadas en 7.6°, 10.9°, 14.8°, 21.5°, 24.6° y 27.3°, en donde los índices de Miller permiten identificar la orientación de los planos cristalinos. Es así que, la técnica XRD permite diferenciar fases cristalinas y poder evaluar su pureza estructural, proporcionando información confiable de que presenta una estructura cristalina estable, ya que se asocia con un empaquetamiento aromático, lo cual demuestra que existen interacciones, teniendo en cuenta que sus grupos aromáticos influyen en el empaquetamiento cristalino, afectando las propiedades fisicoquímicas como la solubilidad y estabilidad. (Wu et al., 2021).

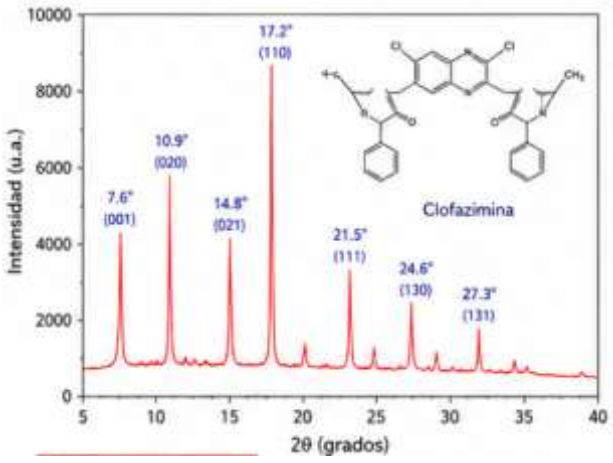


Figura 13. Técnica de XRD de clofazimina (Wu et al., 2021).

Con la técnica de EPR se logra detectar los radicales libres que se generan en procesos redox por las fenazinas. En la figura 14 se observa el radical de piocianinca, que presenta una señal característica de especies con electrones desapareados, lo cual confirma la naturaleza radicalaria de la piocianina en su estado inestable y un valor g isotrópico con valor de alrededor de 2,0032 que es característico de radicales orgánicos aromáticos, confirmando la existencia del electrón desapareado y evidenciando la actividad redox. El patrón de líneas observadas puede estar relacionado con acoplamientos hiperfinos entre electrones y núcleos que son vecinos. La constante hiperfina aN= 0,56 mT indica una interacción del electrón desapareado con átomos de nitrógeno. Su intensidad

de señal está relacionada con la concentración radicalaria, pues esta fenazina puede generar diversas especies reactivas de oxígeno. La temperatura usada a 298 K favorece a la estabilidad y detección de la señal paramagnética y, al hablar de la frecuencia utilizada de 9.45 GHz, cabe mencionar que corresponde a la región de microondas típica de espectroscopía EPR. La estabilidad del radical se la puede relacionar con la aromaticidad y conjugación del sistema heterocíclico, es así que, a las fenazinas se las considera como compuestos electroactivos debido a sus propiedades de oxidación y reducción reversibles. Este análisis proporciona información sobre mecanismo redox y su comportamiento radicalario está asociado a varias de sus actividades biológicas. (C. Wang et al., 2020).

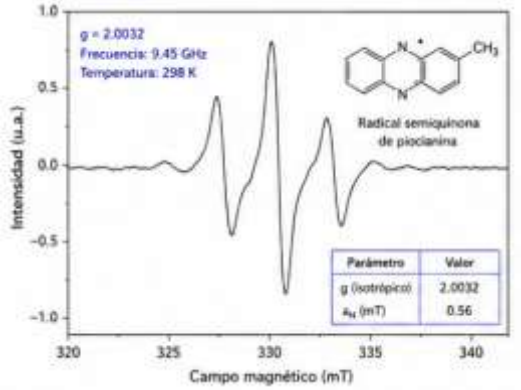


Figura 14. Técnica de EPR de piocianina (C. Wang et al., 2020).

Finalmente, con los cálculos teóricos (DFT) se pueden estudiar propiedades electrónicas y la estabilidad moléculas. En la figura 15 se visualiza a la piocianina, la cual presenta parámetros característicos que permiten analizar la distribución electrónica y reactividad del compuesto, en donde, el orbital HOMO representa la región con mayor capacidad donadora de electrones y el orbital LUMO corresponde a las regiones con mayor afinidad para poder aceptar electrones. La deslocalización de los orbitales favorece la estabilidad electrónica de la molécula y los nitrógenos heterocíclicos participan en la distribución de la densidad electrónica. El mapa de potencial electrostático molecular indica la distribución de densidad electrónica sobre la superficie molecular, en donde las regiones presentes de color rojo señalan zonas que presentan una mayor densidad electrónica y

potencial negativo. Sin embargo, las regiones azules indican zonas electrónicamente deficientes con potencial positivo. Es así como esta técnica permite identificar los posibles sitios reactivos para interacciones que son intermoleculares, definiendo que las regiones de mayor densidad electrónica puedan participar en interacciones nucleofílicas, lo cual ayuda a comprender las propiedades polares y reactivas de la molécula, evidenciando en el mapa electrostático la influencia que los sustituyentes tienen sobre la densidad electrónica molecular. El obtener un menor ΔE indica que existe una mayor reactividad y transferencia electrónica. La deslocalización electrónica favorece a los procesos redox y su distribución electrónica se encuentra relacionada con la actividad biológica (Ghule et al., 2022).

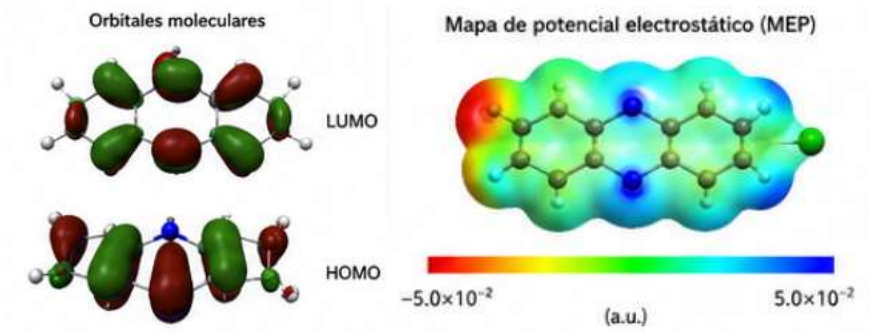


Figura 15. Técnica DFT de piocianina (Ghule et al., 2022).

7 CONCLUSIONES

Identificar cuáles son los compuestos y tipos de derivados sintéticos de fenazina reportados en la literatura científica reciente.

Se identificaron varios derivados naturales y sintéticos de fenazina, los cuales cumplen con una variedad de actividades biológicas relevantes y junto a ello presentan modificaciones estructurales diferentes mediante los grupos funcionales presentes, como OH, HN_2, COOH, halógenos y grupos metoxi, ya que fueron sometidos a métodos de

halogenación, hidroxilación, carboxilación. Los derivados más relevantes fueron PCA, piocianina, clofazimina y PCN, en los cuales se logró conocer que la presencia de los sustituyentes mejoraron sus propiedades de solubilidad y biodisponibilidad, presenciando que los derivados halogenados mostraron un especial interés por la actividad antibacteriana, mientras que, los derivados hidroxilados se inclinaron por la actividad antifúngica y antioxidante. De esta forma, logramos presenciar que la diversidad estructural observada en el estudio demuestra que el núcleo de fenazina es un escenario químico versátil, ya que, gracias a los estudios reportados se detecta y demuestra el interés creciente que existe de las fenazinas en la química medicinas y farmacéutica, pues algunos derivados presentaron selectividad inclusive frente a líneas celulares cancerosas específicas. Finalmente, se conoce que la incorporación de los grupos funcionales modificaron significativamente los valores de MIC e IC_{50} y la combinación de los núcleos heterocíclicos con fenazina permitieron obtener compuestos con nuevas propiedades biológicas.

Analizar los diferentes métodos de obtención y técnicas de análisis de los derivados heterocíclicos basados en núcleo de fenazina con el fin de determinar sus porcentajes de rendimiento.

Los métodos sintéticos que se emplearon permitieron obtener derivados de fenazina con una variedad de niveles de rendimiento y selectividad, siendo la síntesis de Beirut la más destacada por su versatilidad para poder introducir grupos funcionales al núcleo de fenazina; mientras que, la reacción de Suzuki fue relevante ya que, permitió obtener derivados aromáticos funcionalizados con una buena selectividad. Cabe mencionar que, la biosíntesis microbiana resultó de gran importancia para la obtención de fenazinas naturales bioactivas. Sin embargo, las moléculas obtenidas por medio de métodos como Friedel-Crafts y halogenación aromática también arrojaron buenos porcentajes de rendimiento. Por otro lado, la síntesis asistida por microondas permitió reducir tiempos de reacción significativos. Es así que, los rendimientos reportados obtenidos variaron según el método y la complejidad estructural que presenta el derivado sintetizado, siendo la diastafenazina una de las

moléculas con mayor rendimiento, reportando alrededor del 85 %, en cambio, moléculas como el PCA y PCN presentaron rendimientos cercanos al 65 %. A pesar de ello, algunos métodos presentaron limitaciones debido a la formación de subproductos y una baja selectividad. Finalmente, las técnicas de análisis permitieron identificar los grupos funcionales, la estructura molecular, sustituciones del núcleo aromático, masas molares, comportamiento redox de las fenazinas e inclusive proporcionaron información sobre la organización cristalina de las fenazinas estudiadas, permitiendo así una caracterización estructural compleja y confiable, ya que fueron esenciales para validar la síntesis de los derivados estudiados.

Comparar la actividad biológica (anticancerígena, antifúngica, antibacterial y antioxidante) de los derivados heterocíclicos basados en núcleo de fenazina.

Dentro de la actividad antibacteriana el mejor compuesto es la piocianina, ya que arroja un valor de MIC=0,35-0,71 µg/mL, pues, al obtener un menor valor se obtiene una mayor potencia, ya que se requiere de una menor concentración del compuesto para poder inhibir el crecimiento microbiano, siendo así la molécula de diastafenazina la menos recomendada, pues este posee un MIC=64 µg/mL, lo que indica que necesita mayor concentración para poder cumplir con su función. Por otro lado, al hablar de la actividad anticancerígena, el compuesto que sobresale es el ácido-5-metilfenazinaa-1-carboxílico, ya que tiene un IC_{50}=458,6 nM, lo cual representa un valor muy fuerte a nivel nanomolar, sin embargo, el menos efectivo en esta actividad es el PCA, dado que cuenta con un IC_{50}=20-24 µg/mL, lo que indica que es menos potente y requiere de una mayor concentración para satisfacer su utilidad. Finalmente, con respecto a la actividad antifúngica, se expone que, el compuesto más conveniente es el 1,6-dihidroxifenazina 5,10-dióxido, debido a que cuenta con un MIC=0,71 µg/mL y el menos aconsejado es el derivado de fenazina de la **figura 14**, dado que contiene un MIC=4mg/mL, lo cual representa una actividad muy escasa, necesitando de una mayor concentración para lograr su propósito.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Azizollahi, H., & García-López, J. A. (2020). Recent Advances on Synthetic Methodology Merging C–H Functionalization and C–C Cleavage. In *Molecules* (Vol. 25, Number 24). MDPI. https://doi.org/10.3390/MOLECULES25245900

Bautista Sánchez Urias. (2018). *"VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO POR HPLC PARA LA CUANTIFICACIÓN in vitro DE UN FÁRMACO ANTITUBERCULOSO: CLOFAZIMINA" TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN FARMACIA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD ÁREA ACADÉMICA DE FARMACIA*.

Bezerra, L., Paulo, T., Carvalho, I., Gouveia-Junior, F., Lopes, L., & Diogenes, I. (2023). Redox-responsive fluorescence emission output of a synthetic phenazine derivative. *Dyes and Pigments*, *216*, 111375. https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2023.111375

Blankenfeldt, W., & Parsons, J. F. (2014). The structural biology of phenazine biosynthesis. *Current Opinion in Structural Biology*, *29*, 26–33. https://doi.org/10.1016/j.sbi.2014.08.013

Bufarwa, S. M., El-Sefait, R. M., Thbayh, D. K., Belaidi, M., Al-Shemary, R. K., Abdusamea, R. M., El-Ajaily, M. M., Fiser, B., Bader, H. A., Saleh, A. A., & Bufarwa, M. M. (2024). Antituberculosis, antimicrobial, antioxidant, cytotoxicity and anti-inflammatory activity of Schiff base derived from 2,3-diaminophenazine moiety and its metal(II) complexes: Structural elucidation, computational aspects, and biological evaluation. In *Reviews in Inorganic Chemistry*. Walter de Gruyter GmbH. https://doi.org/10.1515/revic-2024-0007

Chen, G. Q., Guo, H. Y., Quan, Z. S., Shen, Q. K., Li, X., & Luan, T. (2023). Natural Products–Pyrazine Hybrids: A Review of Developments in Medicinal Chemistry. In *Molecules* (Vol. 28, Number 21). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/molecules28217440

Claridge, T. (2016). *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*.

Deng, R., Li, H., Meng, F., Jia, D., Wang, W., Hu, H., & Zhang, X. (2023). Enhanced Biosynthesis of Phenazine-1,6-dicarboxylic Acid in Streptomyces coelicolor. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, *11*(50), 17662–17674. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.3c04768

Deng, R.-X., Zhang, Z., Li, H.-L., Wang, W., Hu, H.-B., & Zhang, X.-H. (2021). Identification of a Novel Bioactive Phenazine Derivative and Regulation of phoP on Its Production in Streptomyces lomondensis S015. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *69*(3), 974–981. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06498

Elhady, H. A., El-Mekawy, R. E., & Fadda, A. A. (2022). Valuable Chemistry of Phenazine Derivatives: Synthesis, Reactions and, Applications. *Polycyclic Aromatic Compounds*, *42*(5), 2894–2926. https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10406638.2020.1833051

Galiè, S., Fouad, M. A., Abbo, C., Ferretti, F., & Ragaini, F. (2025). Phenazines Synthesis by Palladium-Catalyzed Reductive Cyclization of 2-Nitro-N-Phenylanilines Using Gaseous CO or Its Surrogates. *Asian Journal of Organic Chemistry*, *14*(10). https://doi.org/10.1002/ajoc.202500555

Garrison, A. T., Abouelhassan, Y., Kallifidas, D., Tan, H., Kim, Y. S., Jin, S., Luesch, H., & Huigens, R. W. (2018). An Efficient Buchwald-Hartwig/Reductive Cyclization for the Scaffold Diversification of Halogenated Phenazines: Potent Antibacterial Targeting, Biofilm Eradication, and Prodrug Exploration. *Journal of Medicinal Chemistry*, *61*(9), 3962–3983. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01903

Ghule, S., Dash, S. R., Bagchi, S., Joshi, K., & Vanka, K. (2022). *Predicting the Redox Potentials of Phenazine Derivatives using DFT Assisted Machine Learning*.

González- Fosadosa, L. B., González-Chávez, B. K., Garrido-Hernández, A., Carrillo-Sancen, G., Cerón-Montes, G. I., & Martínez-Valdez, F. J. (2021). Caracterización de ficocianina por espectrofotometría de masas. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, *9*(Especial2), 149–156. https://doi.org/10.29057/icbi.v9iespecial2.7985

Gorantla, J. N., Nishanth Kumar, S., Nisha, G. V, Sumandu, A. S., Dileep, C., Sudaresan, A., Sree Kumar, M. M., Lankalapalli, R. S., & Dileep Kumar, B. S. (2014). Purification and characterization of antifungal phenazines from a fluorescent Pseudomonas strain FPO4 against medically important fungi. *Journal de Mycologie Medicale*, *24*(3), 185–192. https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.02.003

Gu, P.-Y., Zhao, Y., He, J.-H., Zhang, J., Wang, C., Xu, Q.-F., Lu, J.-M., Sun, X. W., & Zhang, Q. (2015). Synthesis, physical properties, and light-emitting diode performance of phenazine-based derivatives with three, five, and nine fused six-membered rings. *Journal of Organic Chemistry*, *80*(6), 3030–3035. https://doi.org/10.1021/jo5027707

Guo, S., Zhao, Q., Hu, H., Wang, W., Bilal, M., Fei, Q., & Zhang, X. (2023). Metabolic Degradation and Bioactive Derivative Synthesis of Phenazine-1-Carboxylic Acid by Genetically Engineered Pseudomonas chlororaphis HT66. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *71*(22), 8508–8515. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c01288

Guttenberger, N., Blankenfeldt, W., & Breinbauer, R. (2017). Recent developments in the isolation, biological function, biosynthesis, and synthesis of phenazine natural products. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *25*(22), 6149–6166. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.01.002

Hahn, S., Biegger, P., Bender, M., Rominger, F., & Bunz, U. H. F. (2016). Synthesis of Alkynylated Benzo[a]naphtho[2,3-i]phenazine Derivatives. *Chemistry – A European Journal*, *22*(3), 869–873. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/chem.201503856

Han, F., Yan, R., Zhang, M., Xiang, Z., Wu, Q., & Li, J. (2020). Synthesis and bioactivities of phenazine-1-carboxylic piperazine derivatives. *Natural Product Research*, *34*(9), 1282–1287. https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1556656

HAN, H., GUO, Z.-K., ZHANG, B., ZHANG, M., SHI, J., LI, W., JIAO, R.-H., TAN, R.-X., & GE, H.-M. (2019). Bioactive phenazines from an earwig-associated Streptomyces sp. *Chinese Journal of Natural Medicines*, *17*(6), 475–480. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(19)30055-X

Huigens, R. W., Tenneti, S., Xiao, T., & Garrison, A. T. (2022). 8.03 - Pyrazines and Their Benzo Derivatives. In D. S. Black, J. Cossy, & C. V Stevens (Eds.), *Comprehensive Heterocyclic*

Chemistry IV (pp. 229–282). Elsevier. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818655-8.00061-5

John, R., Tamargo, I., Shamina, H., Cosiñero, O., Potato, N. C., Hope, A., & Dumrigue, P. (2024). *Metrics of Green Chemistry and Sustainability*.

Kennedy, R. K., Veena, V., Naik, P. R., Lakshmi, P., Krishna, R., Sudharani, S., & Sakthivel, N. (2015). Phenazine-1-carboxamide (PCN) from Pseudomonas sp. strain PUP6 selectively induced apoptosis in lung (A549) and breast (MDA MB-231) cancer cells by inhibition of antiapoptotic Bcl-2 family proteins. *Apoptosis*, *20*(6), 858–868. https://doi.org/10.1007/s10495-015-1118-0

Khalili, N. S. D., Khawory, M. H., Salin, N. H., Zakaria, I. I., Hariono, M., Mikhaylov, A. A., Kamarulzaman, E. E., A Wahab, H., Supratman, U., & Nurul Azmi, M. (2024). Synthesis and biological activity of imidazole phenazine derivatives as potential inhibitors for NS2B-NS3 dengue protease. *Heliyon*, *10*(2). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24202

Kim, B.-S., Jiménez, J., Gao, F., & Walsh, P. J. (2015). Palladium-Catalyzed Benzylic C-H Arylation of Azaarylmethylamines. *Organic Letters*, *17*(23), 5788–5791. https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b02898

Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. In *Pathogens* (Vol. 10, Number 2, pp. 1–21). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/pathogens10020165

Krishnaiah, M., de Almeida, N. R., Udumula, V., Song, Z., Chhonker, Y. S., Abdelmoaty, M. M., do Nascimento, V. A., Murry, D. J., & Conda-Sheridan, M. (2018). Synthesis, biological evaluation, and metabolic stability of phenazine derivatives as antibacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *143*, 936–947. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.026

Lai, J., Pan, Q., Wang, W., Wang, S., Lai, Z., Feng, X., Sun, J., Qi, H., Hong, F., Zhang, Z., Xu, F., Chen, J., Zhu, Y., Qin, J., Zhang, H., Xu, R., & Wang, L. (2023). Reaction controlled growth with formic acid for high-quality Cs3Cu2I5 single crystals. *CrystEngComm*, *25*(38), 5444–5451. https://doi.org/10.1039/D3CE00594A

Li, Y., Han, L., Rong, H., Li, L., Zhao, L., Wu, L., Xu, L., Jiang, Y., & Huang, X. (2015). Diastaphenazine, a new dimeric phenazine from an endophytic Streptomyces diastaticus subsp. ardesiacus. *Journal of Antibiotics*, *68*(3), 210–212. https://doi.org/10.1038/ja.2014.124

Liu, H., Feng, M.-Y., Yu, Q., Yan, H., Zeng, Y., Qin, X.-J., He, L., & Liu, H.-Y. (2018). Formyl phloroglucinol meroterpenoids from Eucalyptus tereticornis and their bioactivities. *Tetrahedron*, *74*(13), 1540–1545. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.02.020

Mahran, A. M., Ragab, S. Sh., Hashem, A. I., Ali, M. M., & Nada, A. A. (2015). Synthesis and antiproliferative activity of novel polynuclear heterocyclic compounds derived from 2,3-diaminophenazine. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *90*, 568–576. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.12.007

Makgatho, E. M., & Mbajiorgu, E. F. (2017). In vitro investigation of clofazimine analogues for antiplasmodial, cytotoxic and pro-oxidative activities. *African Health Sciences*, *17*(1), 191–198. https://doi.org/10.4314/ahs.v17i1.24

Masheka, A., Zvidzai, C. J., & A 1. (2025). DETERMINATION OF FUNCTIONAL GROUPS AND NUTRIENTS IN A LOCAL READY-TO-USE SUPPLEMENTARY FOOD BY FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY. In *Journal of Technological Sciences (JTS)* (Vol. 2, Number 1).

Menichetti, R., Kanekal, K. H., & Bereau, T. (2018). *Drug-membrane permeability across chemical space*. http://arxiv.org/abs/1805.10158

Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G., & Vyvyan, J. (2015). Introduction to spectroscopy/ Donald L. Pavia, Gary M. Lampman, George S. Kriz, and James R. Vyvyan. In *SERBIULA (sistema Librum 2.0)*.

Perera, A. S., Suduwella, T. M., Attanayake, N. H., Jha, R. K., Eubanks, W. L., Shkrob, I. A., Risko, C., Kaur, A. P., & Odom, S. A. (2022). Large variability and complexity of isothermal solubility for a series of redox-active phenothiazines. *Materials Advances*, *3*(23), 8705–8715. https://doi.org/10.1039/d2ma00598k

Saliba, A.-E., C Santos, S., & Vogel, J. (2017). New RNA-seq approaches for the study of bacterial pathogens. *Current Opinion in Microbiology*, *35*, 78–87. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.01.001

Saunders, S. H., & Newman, D. K. (2018). Extracellular Electron Transfer Transcends Microbe-Mineral Interactions. In *Cell Host and Microbe* (Vol. 24, Number 5, pp. 611–613). Cell Press. https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.10.018

Shi, Y.-M., Brachmann, A. O., Westphalen, M. A., Neubacher, N., Tobias, N. J., & Bode, H. B. (2019). Dual phenazine gene clusters enable diversification during biosynthesis. *Nature Chemical Biology*, *15*(4), 331–339. https://doi.org/10.1038/s41589-019-0246-1

Sletta, H., Degnes, K. F., Herfindal, L., Klinkenberg, G., Fjærvik, E., Zahlsen, K., Brunsvik, A., Nygaard, G., Aachmann, F. L., Ellingsen, T. E., Døskeland, S. O., & Zotchev, S. B. (2014). Anti-microbial and cytotoxic 1,6-dihydroxyphenazine-5,10-dioxide (iodinin) produced by Streptosporangium sp. DSM 45942 isolated from the fjord sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *98*(2), 603–610. https://doi.org/10.1007/s00253-013-5320-0

Starvaggi, J., & Ettari, R. (2025). Microwave-Assisted Organic Synthesis: An Eco-Friendly Method of Green Chemistry. In *Pharmaceuticals* (Vol. 18, Number 11). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/ph18111692

Tagele, S. B., Lee, H. G., Kim, S. W., & Lee, Y. S. (2019). Phenazine and 1-undecene producing Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca strain KNU17Pc1 for growth promotion and disease suppression in Korean maize cultivars. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *29*(1), 66–78. https://doi.org/10.4014/jmb.1808.08026

Thanabalasingam, D., Kumar, N. S., Jayasinghe, L., & Fujimoto, Y. (2015). Endophytic fungus nigrospora oryzae from a medicinal plant coccinia grandis, a high yielding new source of phenazine-1-carboxamide. *Natural Product Communications*, *10*(10), 1659–1660.

https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84954225374&partnerID=40&md5=725b39a684b31569f652ac8e4e387887

Tupe, S. G., Kulkarni, R. R., Shirazi, F., Sant, D. G., Joshi, S. P., & Deshpande, M. V. (2015). Possible mechanism of antifungal phenazine-1-carboxamide from Pseudomonas sp. against dimorphic fungi Benjaminiella poitrasii and human pathogen Candida albicans. *Journal of Applied Microbiology*, *118*(1), 39–48. https://doi.org/10.1111/jam.12675

Varsha, K. K., Nishant, G., Sneha, S. M., Shilpa, G., Devendra, L., Priya, S., & Nampoothiri, K. M. (2016). Antifungal, Anticancer and Aminopeptidase Inhibitory Potential of a Phenazine Compound Produced by Lactococcus BSN307. *Indian Journal of Microbiology*, *56*(4), 411–416. https://doi.org/10.1007/s12088-016-0597-1

Veeranarayna Reddy, M., Rao Valasani, K., Taek Lim, K., & Tae Jeong, Y. (2015). *New Journal of Chemistry Tetramethylguanidiniumchlorosulfonate ionic liquid (TMG IL): An efficient reusable catalyst for the synthesis of tetrahydro-1H-benzo[a]chromeno[2,3-c]phenazin-1-ones under solvent-free conditions and evaluation for their in vitro bioassay*. https://doi.org/10.1039/c0xx00000x

Wang, C., Li, X., Yu, B., Wang, Y., Yang, Z., Wang, H., Lin, H., Ma, J., Li, G., & Jin, Z. (2020). Molecular Design of Fused-Ring Phenazine Derivatives for Long-Cycling Alkaline Redox Flow Batteries. *ACS Energy Letters*, *XXXX*. https://doi.org/10.1021/acsenergylett.9b02676

Wang, D., Liu, W., Yi, F., Zhao, Y., & Chen, J. (2016). Palladium-catalyzed direct C-H arylation of 3-aryl-2H-benzo[1,2,4]thiadiazine 1,1-dioxides: An efficient strategy to the synthesis of benzothiadiazine-1,1-dioxide derivatives. *Organic and Biomolecular Chemistry*, *14*(6), 1921–1924. https://doi.org/10.1039/c5ob02196k

Wang, H., Chen, C., Huang, Z., Yao, L., Li, B., & Peng, J. (2015). Palladium-Catalyzed Double C-H Arylation Reaction: Tandem Synthesis of Benzo[a]imidazo[5,1,2- cd]indolizines from Imidazo[1,2- a]pyridines and o -Dihaloarenes. *Synthesis (Germany)*, *47*(16), 2457–2466. https://doi.org/10.1055/s-0034-1380865

Wang, S., König, G., Roth, H. J., Fouché, M., Rodde, S., & Riniker, S. (2021). Effect of Flexibility, Lipophilicity, and the Location of Polar Residues on the Passive Membrane Permeability of a Series of Cyclic Decapeptides. *Journal of Medicinal Chemistry*, *64*(17), 12761–12773. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00775

Wang, S.-Y., Shi, X.-C., Chen, X., Laborda, P., Zhao, Y.-Y., Liu, F.-Q., & Laborda, P. (2021). Biocontrol ability of phenazine-producing strains for the management of fungal plant pathogens: A review. *Biological Control*, *155*. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104548

Wang, X., Abbas, M., Zhang, Y., Elshahawi, S. I., Ponomareva, L. V., Cui, Z., Van Lanen, S. G., Sajid, I., Voss, S. R., Shaaban, K. A., & Thorson, J. S. (2019). Baraphenazines A-G, Divergent Fused Phenazine-Based Metabolites from a Himalayan Streptomyces. *Journal of Natural Products*, *82*(6), 1686–1693. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00289

Wu, S., Liang, X., Luo, F., Liu, H., Shen, L., Yang, X., Huang, Y., Xu, H., Wu, N., Zhang, Q., & Redshaw, C. (2021a). Synthesis, crystal structure and bioactivity of phenazine-1-

carboxylic acylhydrazone derivatives. *Molecules*, *26*(17). https://doi.org/10.3390/molecules26175320

Wu, S., Liang, X., Luo, F., Liu, H., Shen, L., Yang, X., Huang, Y., Xu, H., Wu, N., Zhang, Q., & Redshaw, C. (2021b). Synthesis, crystal structure and bioactivity of phenazine-1-carboxylic acylhydrazone derivatives. *Molecules*, *26*(17). https://doi.org/10.3390/molecules26175320

Yadav, M. S., Pandey, V. K., Jaiswal, M. K., Singh, S. K., Sharma, A., Singh, M., & Tiwari, V. K. (2025). Late-Stage Functionalization Strategies of 1,2,3-Triazoles: A Post-Click Approach in Organic Synthesis. *The Journal of Organic Chemistry*, *90*(17), 5731–5762. https://doi.org/10.1021/acs.joc.5c00125

Yan, J., Liu, W., Cai, J., Wang, Y., Li, D., Hua, H., & Cao, H. (2021). Advances in phenazines over the past decade: Review of their pharmacological activities, mechanisms of action, biosynthetic pathways and synthetic strategies. *Marine Drugs*, *19*(11). https://doi.org/10.3390/md19110610

Yang, H., Abouelhassan, Y., Burch, G. M., Kallifidas, D., Huang, G., Yousaf, H., Jin, S., Luesch, H., & Huigens, R. W. (2017). A Highly Potent Class of Halogenated Phenazine Antibacterial and Biofilm-Eradicating Agents Accessed Through a Modular Wohl-Aue Synthesis. *Scientific Reports*, *7*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-017-01045-3

Yao, B.-L., Mai, Y.-W., Chen, S.-B., Xie, H.-T., Yao, P.-F., Ou, T.-M., Tan, J.-H., Wang, H.-G., Li, D., Huang, S.-L., Gu, L.-Q., & Huang, Z.-S. (2015). Design, synthesis and biological evaluation of novel 7-alkylamino substituted benzo[a[phenazin derivatives as dual topoisomerase I/II inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *92*, 540–553. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.01.024

Zhan, Q. Y., Zhu, X. L., Huang, H., Liu, Q., & Zhu, H. J. (2015). An improved synthetic method of phenazine-1-carboxylic acid. *Asian Journal of Chemistry*, *27*(9), 3355–3360. https://doi.org/10.14233/ajchem.2015.18757

Zhang, C., Sun, J., & Sun, S.-S. (2016). Synthesis and characterization of poly(3,5-didodecyl-cyclopenta[2,1-b;3,4-b′]dithiophen-4-one). *Synthetic Metals*, *221*, 275–283. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2016.09.012

Zhu, X., Yu, L., Zhang, M., Xu, Z., Yao, Z., Wu, Q., Du, X., & Li, J. (2018). Design, synthesis and biological activity of hydroxybenzoic acid ester conjugates of phenazine-1-carboxylic acid. *Chemistry Central Journal*, *12*(1). https://doi.org/10.1186/s13065-018-0478-2

Zhu, X., Zhang, M., Yu, L., Xu, Z., Yang, D., Du, X., Wu, Q., & Li, J. (2019). Synthesis and bioactivities of diamide derivatives containing a phenazine-1-carboxamide scaffold. *Natural Product Research*, *33*(17), 2453–2460. https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1451997