



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL  
TETRAFENILETILENO (TPE) *para*-SUSTITUIDOS Y  
EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD CITOTÓXICA.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**Biólogo**

**P R E S E N T A:**

**RUZ ROMERO WILLIAM ROBERTO**

Ciudad de México

2016





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO**

**PRESIDENTE:** Profesor: **DR. José Guillermo Ávila Acevedo**  
**VOCAL:** Profesor: **DR. Ignacio Peñalosa Castro**  
**SECRETARIO:** Profesor: **DR. Braulio Víctor Rodríguez Molina**  
**1er. SUPLENTE:** Profesor: **DRA. Ana María García Bores**  
**2° SUPLENTE:** Profesor: **DR. Saúl Flores Maya**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**INSTITUTO DE QUÍMICA UNAM**

**ASESOR DEL TEMA:**

**DR. BRAULIO VÍCTOR RODRÍGUEZ MOLINA**

(Nombre y firma)

**SUSTENTANTE (S):**

**RUZ ROMERO WILLIAM ROBERTO**

(Nombre (s) y firma (s))

## AGRADECIMIENTOS

Para Verónica, Dahlia, Miriam, Federico, Gero, Erwin, una forma de seguir indefinida que me ayudo tanto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

A Braulio Víctor Rodríguez Molina, por darme la oportunidad de conocer su línea de investigación y acceder a que yo fuera parte de su equipo de trabajo.

A todos los que contribuyeron en esto de la forma que fuera y del grado o nivel educativo que hayan tenido, incluyendo las escuelas a las que asistí que ayudaron en esta lucha.

Mis compañeros y amigos de toda la carrera que cada semestre fui conociendo, que me ayudaron y ayude, compartiendo experiencias únicas, el estanque JF que nunca conocí y sus inigualables hemípteros

Los compañeros del laboratorio 2-6 que luego paso a ser el 1-6

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM “*Síntesis de sólidos cristalinos con fluorescencia modulada por rotación intramolecular. Caracterización de su dinámica en el estado sólido y estudio de su polimorfismo cristalino*”. **IA200615**. Agradezco a la DGAPA-UNAM por la beca de finalización de estudio y beca de titulación recibida.

A los técnicos académicos del Instituto de Química: M. en C. Elizabeth Huerta Salazar (RMN), Q. María de los Ángeles Peña González (RMN), Dra. Carmen García González (EM) y Q. María del Rocío Patiño Maya (IR) y especialmente a la M. en C. Teresa Obdulia Ramírez Apan por su valioso apoyo durante los estudios de citotoxicidad.

# CONTENIDO

## Contenido

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	11
<b>ANTECEDENTES</b> .....	12
Problemática del cáncer .....	13
Biomarcador .....	15
Biomarcador fluorescente .....	16
Moléculas planas .....	19
DAPI .....	21
Extinción de la fluorescencia causada por agregación .....	22
Tetrafeniletileno .....	26
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVO</b> .....	30
Hipótesis .....	31
Objetivo General .....	32
Objetivo particular .....	32
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	33
<b>ACTIVIDAD CITOTÓXICA</b> .....	53
<b>Nicotiana <i>benthamiana</i></b> .....	57
<b>CONCLUSIONES</b> .....	62
<b>REFERENCIAS</b> .....	64
<b>SECCIÓN EXPERIMENTAL</b> .....	68
<b>ANEXO</b> .....	78

<b>Abreviaturas y acrónimos</b>	
AcOEt	Acetato de Etilo
AIE	Emisión inducida por agregación (siglas en inglés)
°C	Grados Celsius
CCF	Cromatografía en capa fina
cm <sup>-1</sup>	Longitud de onda
d	Señal doble
DCM	Diclorometano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
EtOH	Etanol
MFC-7	Línea de células cancerígenas de mama
EMAR	Espectrometría de Masas de Alta Resolución
h	Horas
IR-TF	Infrarrojo con transformada de Fourier
m	Señal múltiple
MeOH	Metanol
mL	Mililitro
mmol	Milimol
NC	no citotóxico
PC3	Línea de células cancerígenas de próstata
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Señal simple
SKLU	Línea de células cancerígenas de pulmón
THF	Tetrahidrofurano
TPE	1,1',2,2'-tetrafeniletileno
TPE-Br	1,1,2,2-tetrakis(4-bromofenil)etileno
U251	Línea de células cancerígenas del sistema nervioso central

## Lista de figuras

FIGURA 1. CÁNCER DE MAMA QUE TOMABA FORMA DE CANGREJO. <sup>3</sup> .....	13
FIGURA 2. MOLÉCULA UTILIZADA COMO BIOMARCADOR CELULAR. <sup>14</sup> .....	15
FIGURA 3. DIAGRAMA DE JABLONSKI.....	17
FIGURA 4. DIAGRAMA DE JABLONSKI PROCESO DE FLUORESCENCIA.....	18
FIGURA 5. ESTRUCTURA DE LA RODAMINA.....	19
FIGURA 6. RODAMINAS MÁS UTILIZADAS.....	19
FIGURA 7. <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> MARCADA CON RODAMINA B. <sup>13</sup> .....	20
FIGURA 8. ESTRUCTURA QUÍMICA DE DAPI.....	20
FIGURA 9. CÉLULAS FIJADAS Y TEÑIDAS CON DAPI LAS FLECHAS SEÑALAN LAS REGIONES DEL MATERIAL NUCLEAR. <sup>16</sup> .....	21
FIGURA 10. (A) DISMINUCIÓN DE LA FLUORESCENCIA DE UN COMPUESTO POR LA FORMACIÓN DE AGREGADOS POR LA ADICIÓN DE AGUA A UNA DISOLUCIÓN DE TETRAHIDROFURANO. (B) REPRESENTACIÓN DE LOS AGREGADOS INTERMOLECULARES QUE ELIMINAN LA FLUORESCENCIA EN MOLÉCULAS PLANAS. <sup>30</sup> .....	22
FIGURA 11. (A) DIAGRAMA DE UNA ESTRUCTURA TORSIONADA CUYOS ANILLOS AROMÁTICOS PRESENTAN ROTACIÓN EN DISOLUCIÓN Y NO EMITE. (B) LA BAJA FLUORESCENCIA EN DISOLUCIÓN SE INCREMENTA POR LA FORMACIÓN DE AGREGADOS AL AUMENTAR EL CONTENIDO DE AGUA. <sup>29</sup> .....	23
FIGURA 12. ESTRUCTURA QUÍMICA RESTRICCIÓN DE LA ROTACIÓN. ....	24
FIGURA 13. FENÓMENO AIE. ....	24
FIGURA 14. MOLÉCULAS QUE PRESENTAN EL FENÓMENO DE AIE .....	25
FIGURA 15. MOLÉCULA DE TETRAFENILETILENO. ....	26
FIGURA 16. RUTAS DE SÍNTESIS PARA OBTENER EL TFE. ....	27

FIGURA 17. ACOPLADO A UNA BIOMOLÉCULA EL TFE PARA- SUSTITUIDO FUE UTILIZADO COMO BIOMARCADOR .....	28
FIGURA 18. FLUORESCENCIA EN CÉLULAS EXTRAÍDAS DE LA RAÍZ DE CEBOLLA, CON UN COMPUESTO QUE PRESENTA AIE, ETAPAS DEL CICLO CELULAR. <sup>20</sup> ...	29
FIGURA 19. ESPECTRO <sup>1</sup> H-RMN 1,1,2,2-TETRAFENILETILENO [300 MHz CDCl <sub>3</sub> ] .....	34
FIGURA 20. ESPECTRO <sup>13</sup> C-RMN 1,1,2,2-TETRAFENILETILENO [75 MHz CDCl <sub>3</sub> ] .....	35
FIGURA 21. ESPECTRO <sup>1</sup> H-RMN 1,1,2,2-TETRAKIS(4-BROMOFENIL)ETILENO [300 MHz CDCl <sub>3</sub> ] .....	37
FIGURA 22. ESPECTRO <sup>13</sup> C-RMN 1,1,2,2-TETRAKIS(4-BROMOFENIL)ETILENO [75 MHz CDCl <sub>3</sub> ] .....	38
FIGURA 23. ESPECTRO <sup>1</sup> H-RMN 1,1,2,2-TETRAKIS(4-METOXIFENIL) ETENO [300 MHz CDCl <sub>3</sub> ] .....	40
FIGURA 24. ESPECTRO <sup>13</sup> C-RMN 1,1,2,2-TETRAKIS(4-METOXIFENIL) ETENO [75 MHz CDCl <sub>3</sub> ] .....	41
FIGURA 25. ESPECTRO <sup>1</sup> H-RMN 4,4',4'',4'''-(ETENO-1,1,2,2-TETRAIL) TETRAFENOL [300 MHz D-ACETONA] .....	43
FIGURA 26. ESPECTRO <sup>13</sup> C-RMN 4,4',4'',4'''-(ETENO-1,1,2,2-TETRAIL) TETRAFENOL [75 MHz D-ACETONA] .....	44
FIGURA 27. ESPECTRO <sup>1</sup> H-RMN ETENO-1,1,2,2-TETRAILTETRAKIS(BENCENO-4,1-DIIL)O TETRABUTIRATO [300 MHz CDCl <sub>3</sub> ].....	46
FIGURA 28. ESPECTRO <sup>13</sup> C-RMN ETENO-1,1,2,2-TETRAILTETRAKIS(BENCENO-4,1-DIIL)O TETRABUTIRATO [75 MHz CDCl <sub>3</sub> ].....	47
FIGURA 29. ESPECTRO <sup>1</sup> H-RMN 4,4',4'''-(2-FENILETANO-1,1,2-TRIIL)O TRIS (NITROBENCENO) [300 MHz CDCl <sub>3</sub> ].....	49



FIGURA 30. ESPECTRO $^{13}\text{C}$ -RMN 4,4',4''-(2-FENILETANO-1,1,2-TRILO) TRIS (NITROBENCENO) [75 MHz $\text{CDCl}_3$ ].....	50
FIGURA 31. TÉCNICA DE INYECCIÓN IMAGEN EXTRAÍDA DE LA REFERENCIA 24 ....	58
FIGURA 32. NICOTIANA <i>BENTHAMIANA</i> INOCULADA CON TPE PRIMER MINUTO.....	59
FIGURA 33. NICOTIANA <i>BENTHAMIANA</i> INOCULADA CON TPE MINUTO DIEZ. ....	60
FIGURA 34. NICOTIANA <i>BENTHAMIANA</i> INOCULADA CON TPE MINUTO VEINTE .....	61

## Lista de esquemas

ESQUEMA 1. SÍNTESIS 1,1,2,2-TETRAFENILETILENO. ....	34
ESQUEMA 2. SÍNTESIS 1,1,2,2 TETRAKIS(4BROMOFENIL)ETILENO.....	36
ESQUEMA 3. SÍNTESIS 1,1,2,2-TETRAKIS(4-METOXIFENIL) ETENO.....	39
ESQUEMA 4. SÍNTESIS 4,4',4'',4'''-(ETENO-1,1,2,2-TETRAIL) TETRAFENOL.....	42
ESQUEMA 5. SÍNTESIS ETENO-1,1,2,2-TETRAILTETRAKIS(BENCENO-4,1-DIILLO) TETRABUTIRATO.....	45
ESQUEMA 6. SÍNTESIS DE 4,4',4''-(2-FENILETANO-1,1,2-TRIILLO) TRIS (NITROBENCENO). ....	49
ESQUEMA 7. SÍNTESIS PARTIENDO DE 4',4''-(2-FENILETANO-1,1,2-TRIILLO) TRIS (NITROBENCENO) .....	52
ESQUEMA 8. SÍNTESIS 4-ANIMOBENZOFENONA.....	52
ESQUEMA 9 TFE .....	72
ESQUEMA 10 TFE-Br <sub>4</sub> .....	73
ESQUEMA 11 TFE-METOXILO .....	74
ESQUEMA 12 TFE-HIDROXILO.....	75
ESQUEMA 13 TFE-ESTER.....	76
ESQUEMA 14 TFE-NITRO.....	77

## Lista de tablas

TABLA 1. DEFUNCIONES MUNDIALES POR EL CÁNCER. ....	14
TABLA 2. U251= GLÍA DE SISTEMA NERVIOSO CENTRAL, PC-3= PRÓSTATA, K562= LEUCEMIA, HCT-15= COLON, MCF-7= MAMA, SKLU= PULMÓN. NC= NO CITOTÓXICO. ORDENADOS DE MENOR A MAYOR ACTIVIDAD CITOTOXICA.....	54
TABLA 3. INHIBICIÓN DE CÉLULAS CANCEROSAS.....	54
TABLA 4. COMPUESTOS CON MENOR INHIBICIÓN .....	55

## Introducción

En sistemas biológicos, como las células una de las moléculas fluorescentes más usadas como biomarcador es el cloruro de [9-(2-carboxifenil)-6-dietilamino-3-xanteniliden]-dietilamonio (Rodamina B) pues su fluorescencia puede ser detectada fácilmente en fluorímetros.<sup>1</sup> Algunas de las ventajas de emplear moléculas orgánicas como la Rodamina B son su facilidad de procesamiento, solubilidad y la posibilidad de modular sus propiedades gracias a sustituciones apropiadas en los reactivos de partida. Comparados con compuestos inorgánicos, estas sustancias orgánicas tienen una estabilidad muy alta en medios acuosos.

Típicamente, los compuestos orgánicos con fluorescencia resultan de incrementar la conjugación en estructuras químicas a través de la fusión de anillos aromáticos; sin embargo, es frecuente que una molécula altamente fluorescente en disolución como la Rodamina B, no sea emisiva en concentraciones muy altas o cuando su solubilidad es incompatible con el medio que los contiene.

La pérdida de fluorescencia en altas concentraciones reduce significativamente los posibles usos de muchos compuestos orgánicos planos, por lo que se han investigado nuevas estructuras químicas que puedan ser fluorescentes en altas concentraciones e incluso en el estado sólido, que representa la máxima agregación posible. Recientemente, el uso de estructuras conjugadas torsionadas ha permitido estudiar la presencia de un fenómeno conocido como Emisión Inducida por Agregación (AIE).<sup>2</sup>

Reconociendo la importancia e impacto potencial del desarrollo de compuestos orgánicos con alta fluorescencia cuando forman agregados, se propone la síntesis y caracterización espectroscópica de la serie de compuestos basados en la estructura tetrafeniletileno, un compuesto con fluorescencia en el estado sólido y posteriormente se propone realizar la evaluación de su actividad biológica en diversas líneas celulares, y así seleccionar un compuesto como posible futuro biomarcador.

# ANTECEDENTES

## Problemática del cáncer

El cáncer es una enfermedad antigua, testimonio de ello son tumores encontrados en los huesos de fósiles de dinosaurio o en las momias humanas descubiertas en Egipto y Perú. Su estudio y tratamiento han sido objeto de gran interés desde épocas remotas en distintas culturas. Su nombre, cáncer, se inspiró en la observación de los tumores de mama que al crecer toman forma de un cangrejo (figura 1), según se explica en el tratado *Definitiones medicae*, atribuido en el pasado a Galeno.<sup>3</sup>

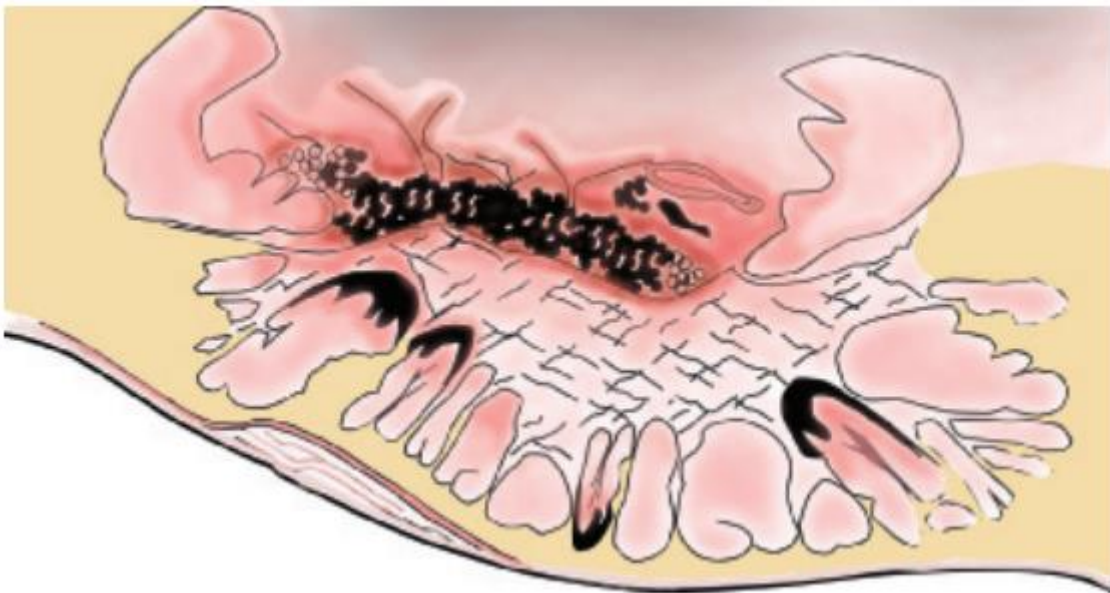


Figura 1. Cáncer de mama que tomaba forma de cangrejo.<sup>3</sup>

El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo. Esta enfermedad suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis que es la extensión de la de este padecimiento a otra parte del cuerpo. Muchos tipos de cáncer se podrían prevenir evitando la exposición a factores de riesgo comunes como sustancias químicas, radiaciones ionizantes, y el humo de tabaco. Además, un porcentaje importante de

cánceres pueden curarse si se detectan en una fase temprana<sup>4</sup> como es el caso de Glía del sistema nervioso central, próstata, leucemia, colon, mama y pulmón.

Por ejemplo el cáncer de mama tiene historia natural heterogénea y compleja, a pesar de los avances, actualmente en el mundo constituye el segundo diagnóstico de malignidad más frecuente, contabilizando alrededor de un millón de casos por año<sup>8</sup> es también una de las principales causas de muerte en mujeres en el mundo con cerca de 500 mil muertes por año y el 70% ocurre en países en desarrollo.<sup>5</sup> En México ocupa el primer lugar de tumores malignos en las mujeres que representa el 11.34%, de todos los casos de cáncer. A nivel mundial se le atribuyeron 8,2 millones de defunciones ocurridas en el 2012.<sup>6</sup>

<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Número de defunciones</b>
<b>Pulmonar</b>	<b>1,590, 000</b>
<b>Hepático</b>	<b>745,000</b>
<b>Gástrico</b>	<b>723,000</b>
<b>Colorrectal</b>	<b>694,000</b>
<b>Mamario</b>	<b>521,000</b>
<b>Cáncer de esófago</b>	<b>400,000</b>

Tabla 1. Defunciones mundiales por el cáncer.

## Biomarcador

La palabra biomarcador o marcador biológico se empezó a utilizar en las ciencias biológicas alrededor de 1960. Se define como una molécula que estando presente se une químicamente a una biomolécula, sin afectar sus propiedades y reactividad, en el medio, puede indicar, la existencia de una enfermedad o la alta probabilidad de desarrollar una específica, sin embargo el uso de características indicadoras de patologías o síntomas en los individuos se ha realizado de muchos siglos atrás.<sup>7</sup>

Los marcadores biológicos han traído importancia en la investigación ya que nos orientan en la estimación de sistemas biológicos. Una medida en muestras que se puede evaluar satisfactoriamente indicándonos procesos normales o alterados.

El contar con un biomarcador que ayude a realizar un diagnóstico rápido del cáncer tiene un impacto grande ya que con esto, se favorece el tratamiento. En la figura 2 podemos ver como una molécula utilizada como biomarcador se acopla iluminando o revelando ciertas regiones de una célula.

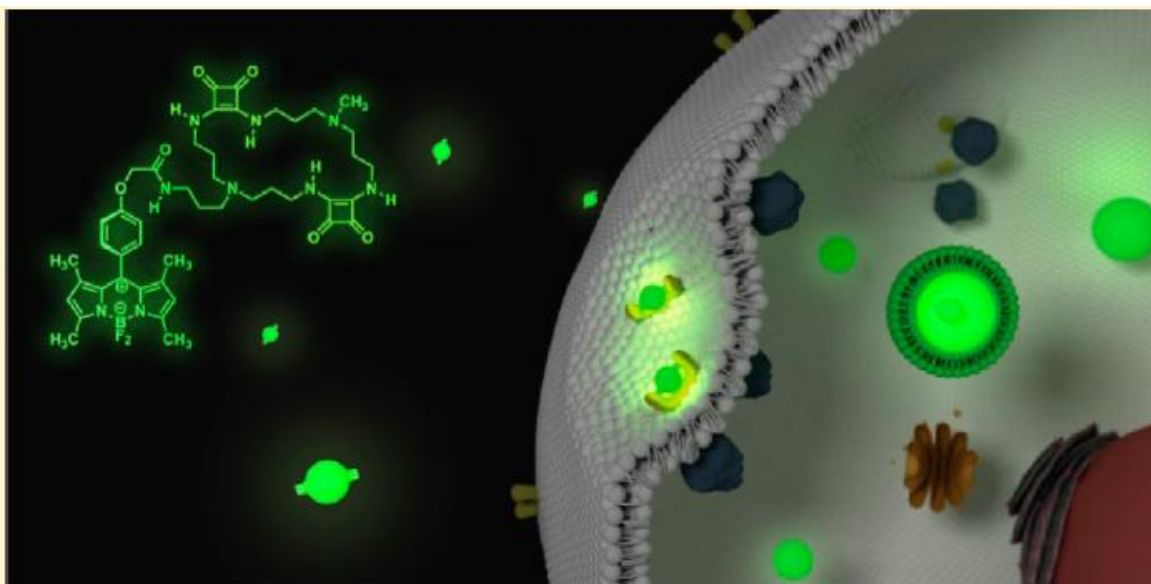


Figura 2. Molécula utilizada como biomarcador celular.<sup>8</sup>



## **Biomarcador fluorescente**

Son moléculas que pueden unirse a otras sin afectar a sus propiedades y reactividad, permitiéndonos conocer las interacciones.

En los procesos fotofísicos podemos conocer el fenómeno de la fluorescencia el cual se puede definir como la propiedad de un compuesto para emitir luz cuando es irradiado.

Por esta actividad un marcador fluorescente se une químicamente a una biomolécula conociendo la actividad en el medio.

Las especificaciones importantes para considerar un biomarcador son:

- a) Alto rendimiento de fluorescencia.
- b) Alta estabilidad química.
- c) Fotoestabilidad.
- d) Carencia de toxicidad.
- e) Producción escalable.

Algunos biomarcadores están asociados con un solo tipo de cáncer, mientras que otros están asociados con dos o más tipos de cáncer. No se ha encontrado un marcador "universal" que pueda detectar cualquier tipo.<sup>9</sup>

La fluorescencia se caracteriza debido a que ciertas moléculas son capaces de absorber energía<sup>10</sup> en forma de radiaciones electromagnéticas<sup>11</sup> para posteriormente emitir un porcentaje de esa energía en una longitud de onda diferente.<sup>12</sup> El siguiente diagrama conocido como diagrama de Jablonski podemos observar cómo estas radiaciones promueven este fenómeno.

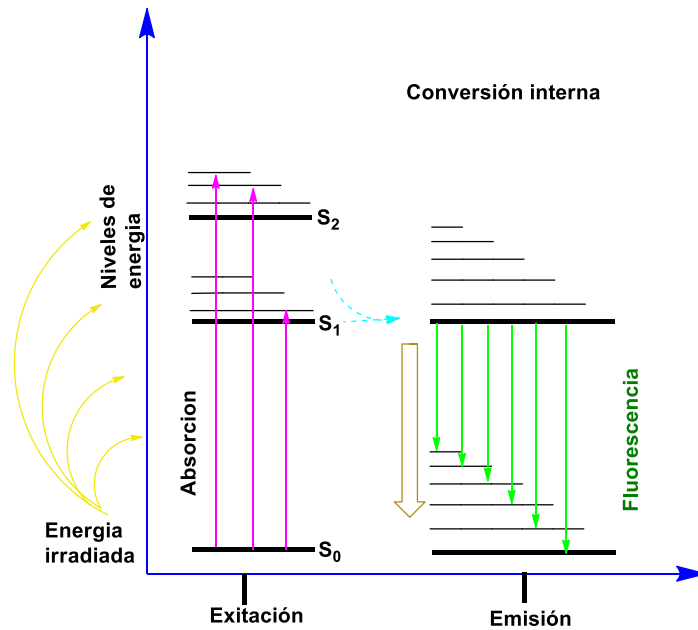


Figura 3. Diagrama de Jablonski.

En el diagrama logramos observar que al irradiar una molécula con determinada longitud de onda ( $\lambda$  excitación) los electrones se desplazan de un estado  $S_0$  (basal) a un estado excitado o también llamado singulete ( $S_1$ ,  $S_2$ ) esto se debe a la absorción de energía irradiada, parte de esta energía se disipa por procesos de conversión interna y otra parte logra que la molécula irradiada regrese a su estado basal ( $S_0$ ), pero ahora emitiendo la sobrecarga de energía en forma de fluorescencia.

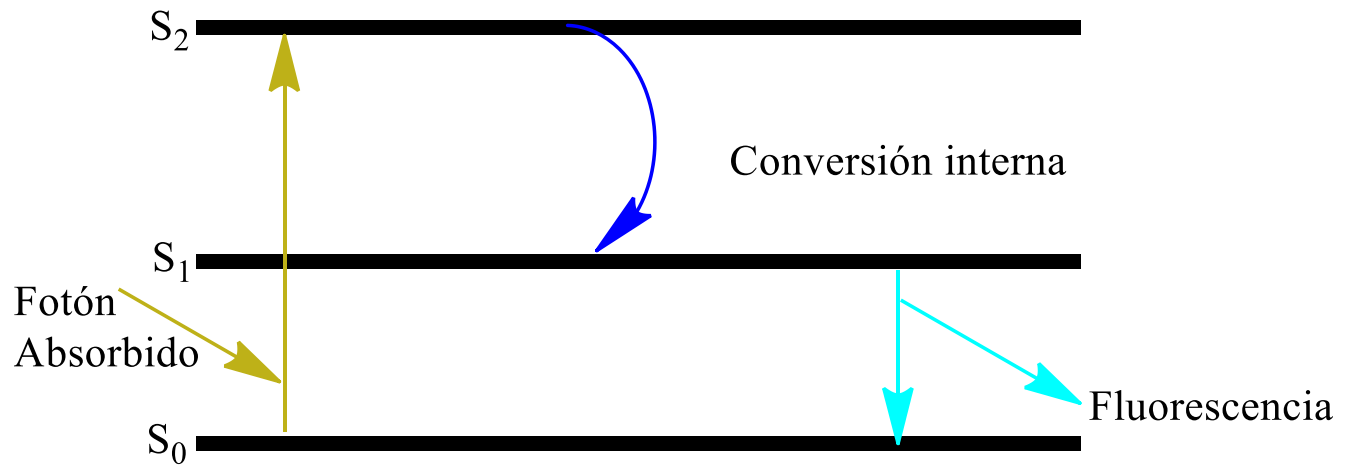


Figura 4. Diagrama de Jablonski en el proceso de fluorescencia.

El uso de biomarcadores hidrosolubles fluorescentes para células, anticuerpos y ADN se ha expandido rápidamente.<sup>13</sup> Aunque hay variedad en biomarcadores solubles en agua disponibles comercialmente hoy en día la mayoría de ellos exhiben rendimientos de fluorescencia y estabilidad fotoquímica baja.<sup>14</sup>

## Moléculas planas

La mayoría de los biomarcadores son proteínas. Sin embargo, actualmente existen diferentes tipos de biomarcadores moleculares que se han caracterizado y se usan como es el caso de la Rodamina B [9-(2-carboxifenil)-6-dietilamino-3-xanteniliden]-dietilamonio, en la figura 5, se muestra la estructura principal de las rodaminas

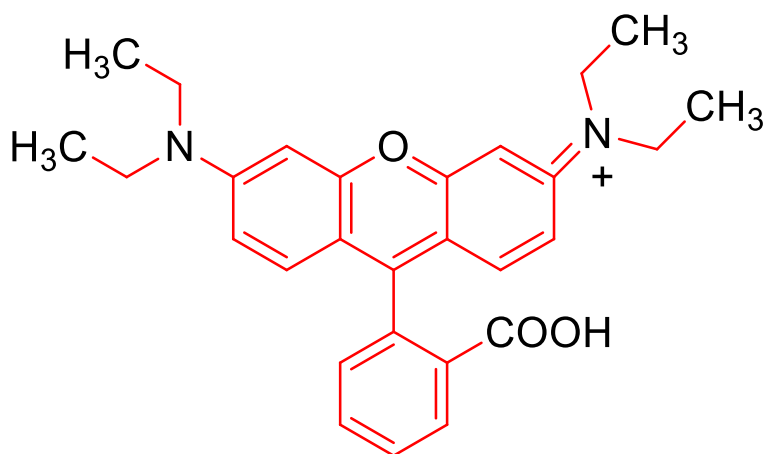
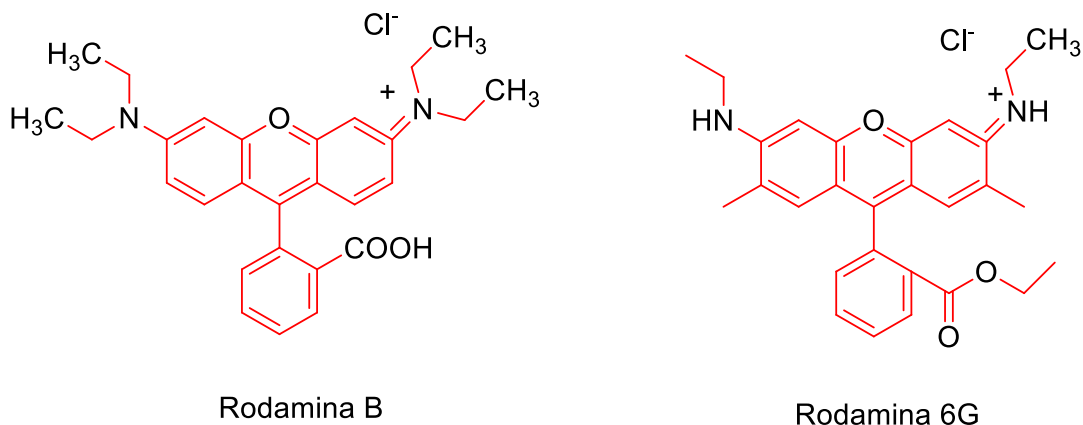


Figura 5. Estructura de la rodamina.

La rodamina B es un colorante importante de la familia de los xantenos.<sup>15</sup> Es una sal y atrajo un gran interés debido a su posible aplicación en diversas áreas como sensores químicos y biológicos.<sup>16</sup> Se emplea como biomarcador celular pues su fluorescencia puede ser detectada fácilmente en fluorímetros.<sup>17</sup>



Rodamina B

Rodamina 6G

Figura 6. Rodaminas más utilizadas en sistemas biológicos.

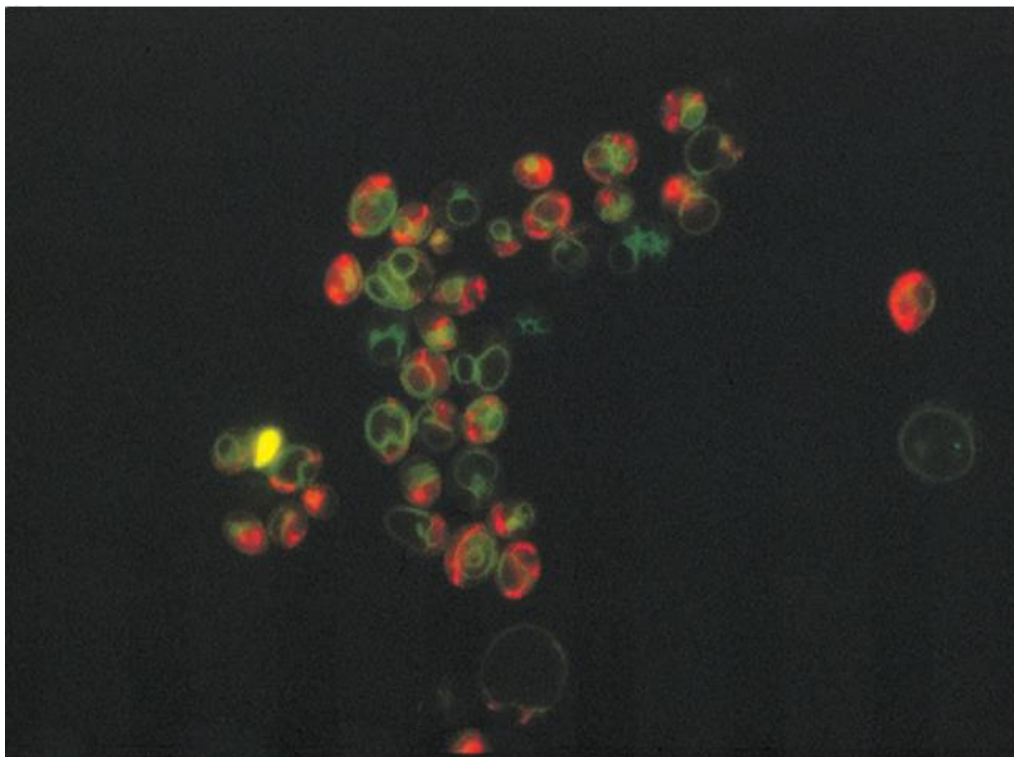


Figura 7. *Saccharomyces cerevisiae* marcada con rodamina B.<sup>18</sup>

En la figura 7 observamos como la rodamina B se utiliza en *S. cerevisiae* demostrando que es una de las moléculas que nos ayuda a visualizar estos organismos, sin embargo esta molécula presenta gran tendencia al apilamiento  $\pi$ .<sup>19</sup>

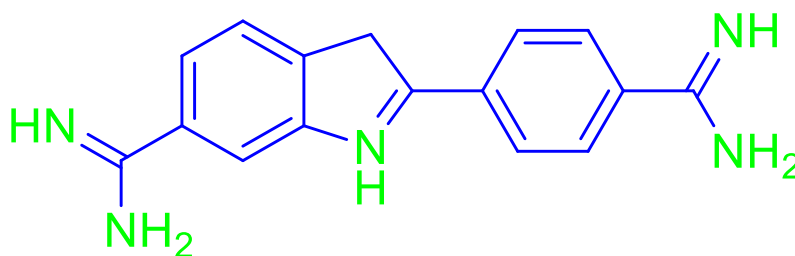


Figura 8. Estructura química de DAPI

## DAPI

Otra molécula como marcador es 4',6-diamino-2-fenilindol, (DAPI), debido a la fluorescencia que emite, este otro compuesto también es de los más utilizados, ya que puede pasar a través de la membrana celular gracias a esto se utiliza para teñir células vivas fijándose principalmente en las bases nitrogenadas.

Debido a la emisión azul de DAPI esta molécula resulta muy efectiva cuando se utilizan diferentes biomarcadores en una misma técnica.<sup>20</sup>

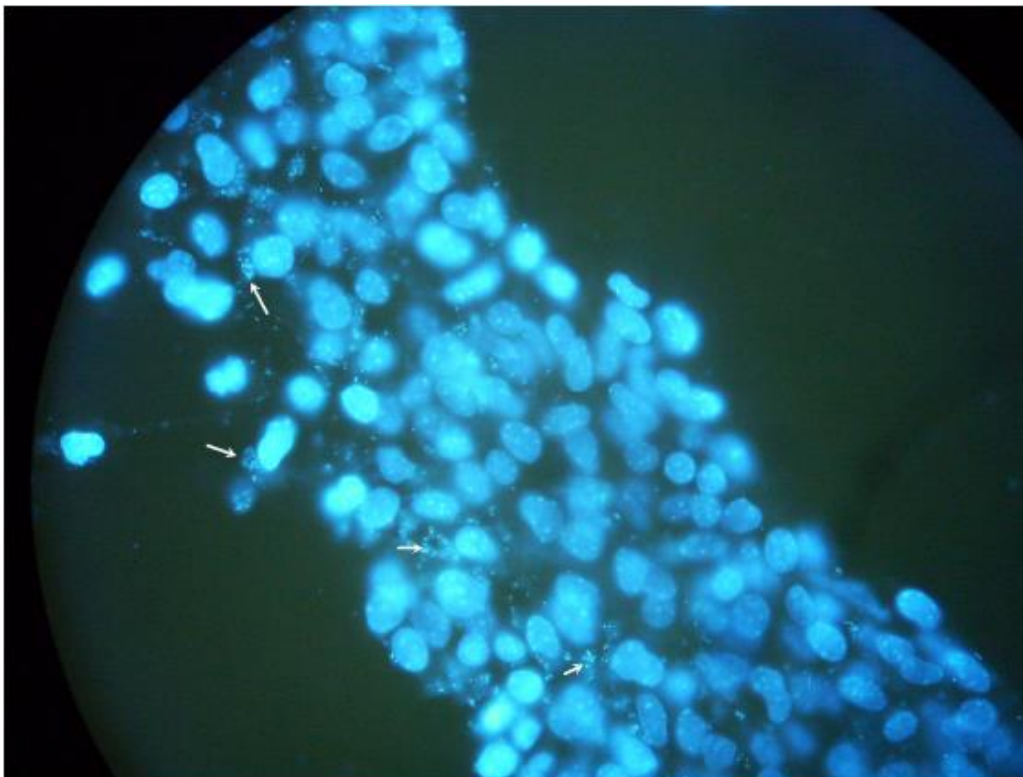


Figura 9. Células fijadas y teñidas con DAPI las flechas señalan las regiones del material nuclear.<sup>21</sup>

En la figura 9 se observa el material genético teñido gracias a la molécula DAPI y generalmente la concentración para observar DAPI es muy alta. Este compuesto se caracteriza, por no presentar toxicidad alguna en las células, presenta muy buena fotoestabilidad<sup>22</sup> y alto rendimiento de fluorescencia.

## Extinción de la fluorescencia causada por agregación

Los compuestos orgánicos con fluorescencia resultan frecuentemente de incrementar la conjugación en estructuras químicas a través de la fusión de anillos aromáticos; sin embargo, es frecuente que una molécula altamente fluorescente en disolución como la Rodamina B o DAPI, no sea emisiva en concentraciones muy altas o cuando su solubilidad es incompatible con el medio que los contiene. Esto se debe a que en altas concentraciones forman agregados con interacciones intermoleculares conocidas como agregados tipo  $\pi$ <sup>23</sup> que eliminan su fluorescencia y este fenómeno se conoce como Aggregation Caused-Quenching (ACQ).

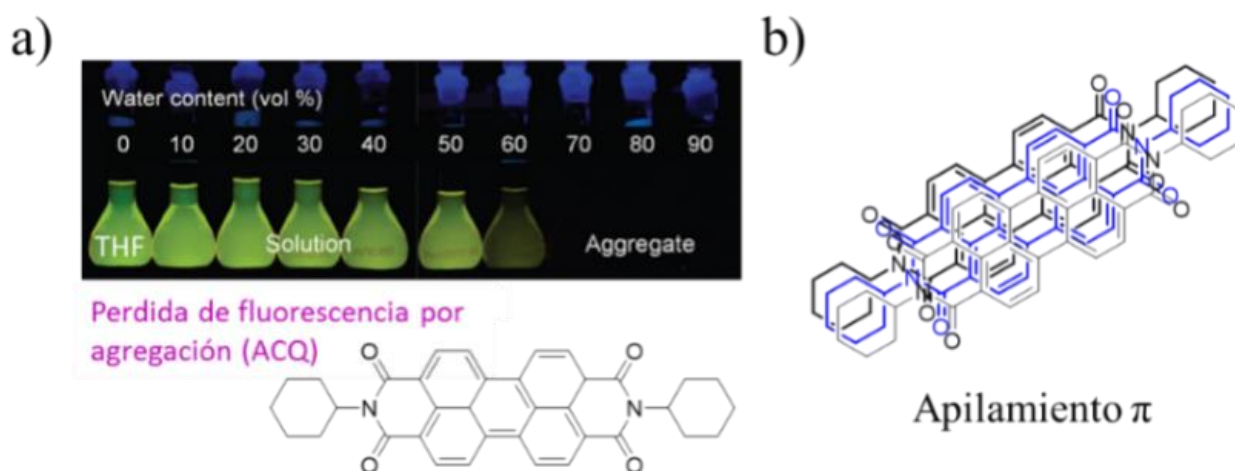


Figura 10. (a) Disminución de la fluorescencia de un compuesto por la formación de agregados por la adición de agua a una disolución de tetrahidrofurano. (b) Representación de los agregados intermoleculares que eliminan la fluorescencia en moléculas planas.<sup>24</sup>

La figura 10a nos muestra un derivado del perileno que al aumentar la concentración de THF la fluorescencia se pierde ocasionando así la extinción de la fluorescencia y en la figura 10b podemos percatarnos del apilamiento  $\pi$  en fenómeno por el cual las moléculas se acomodan de forma que no permiten la fluorescencia.

El conocimiento de este fenómeno reduce muy significativamente el uso de diversos marcadores celulares ocasionando grandes pérdidas por lo que se han investigado nuevas estructuras químicas que puedan ser fluorescentes presentando la máxima agregación posible, el uso de estructuras torsionadas ha permitido estudiar un fenómeno conocido como Aggregation-Induced Emission (AIE) <sup>25</sup> lo que representa que al formar agregados estas moléculas sean altamente emisivas.<sup>26</sup>

Gracias a este fenómeno actualmente los investigadores se han dedicado a entender y explicar la razón por la que ocurre esta propiedad de las moléculas, dando una de las explicaciones más concretas conocida como restricción intramolecular de la rotación (RRI) que se muestra en la imagen

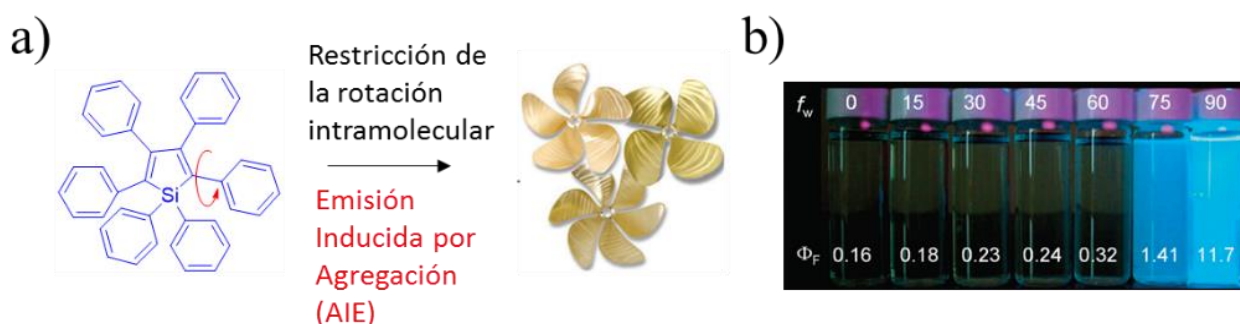


Figura 11(a) Diagrama de una estructura torsionada cuyos anillos aromáticos presentan rotación en disolución y no emite. (b) La baja fluorescencia en disolución se incrementa por la formación de agregados al aumentar el contenido de agua.<sup>27</sup>

En la figura 11a vemos una molécula de hexafenilsilol representando que es capaz de rotar sus sustituyentes demostrándonos que no es una molécula plana mientras que en la figura 11b vemos que este fenómeno funciona al contrario que ACQ al aumentar el contenido del disolvente estas moléculas forman agregados favoreciendo la fluorescencia.



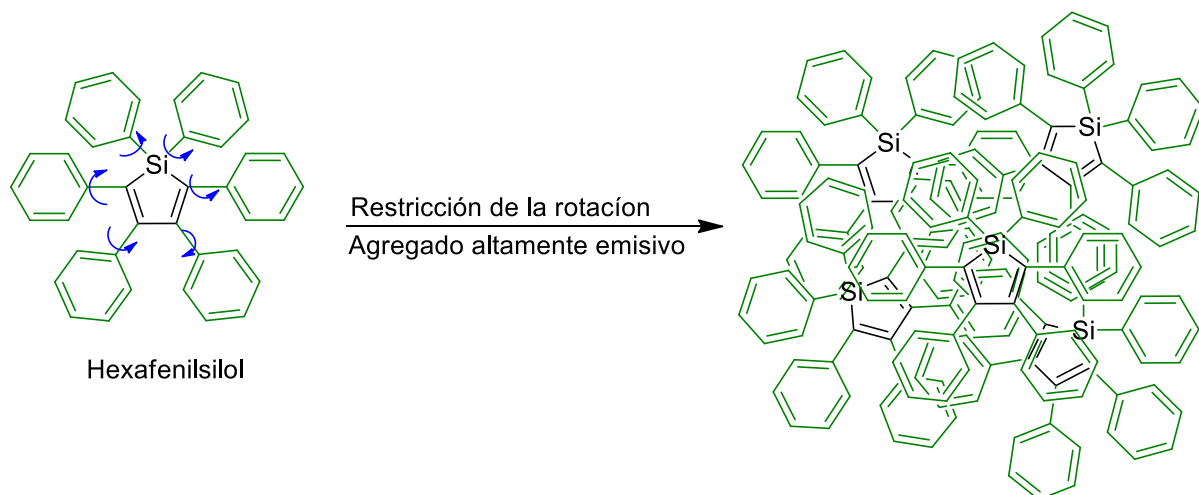


Figura 12. Estructura química restricción de la rotación.

El entendimiento de moléculas con el fenómeno de AIE en la siguiente imagen podemos observar algunas de estas que presentan ciertas características similares RRI son moléculas altamente conjugadas. En el lado izquierdo de la imagen logramos ver la molécula del hexafenilsilol y del lado derecho un conjunto de moléculas de hexafenilsilol impidiendo la rotación entre las moléculas favoreciendo de esta forma el fenómeno de AIE el agregado de estas moléculas es altamente emisor

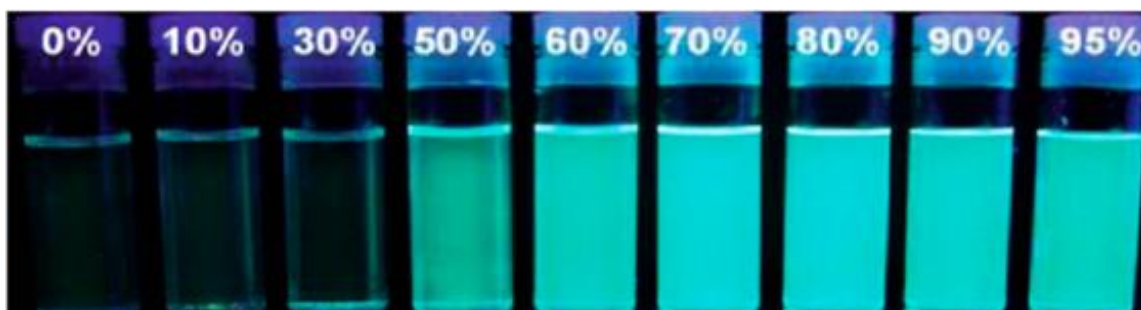
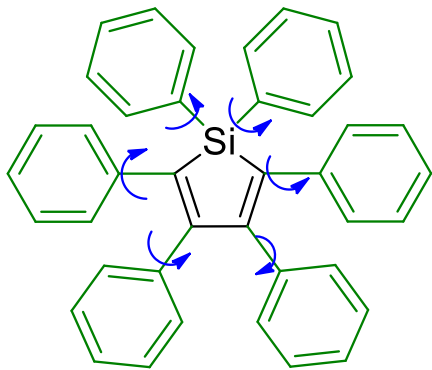
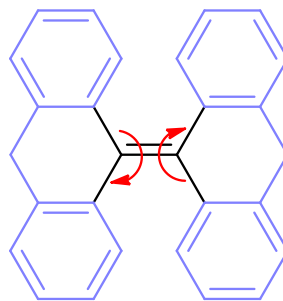


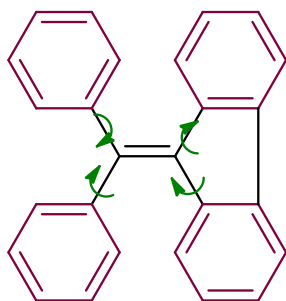
Figura 13. Fenómeno AIE.



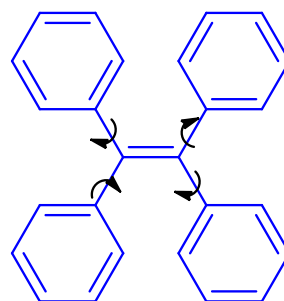
1,1,2,3,4,5-hexafenil-1*H*-silol



10*H*,10'*H*-9,9'-biantraceniideno



9-(metileno difenil)-9*H*-fluoreno



1,1,2,2-tetrafeniletileno

Figura 14. Moléculas que presentan el fenómeno de AIE

Estos cuatro compuestos presentan AIE y podemos observar que son similares en que tienen anillos aromáticos conjugados lo que ayuda a incrementar bastante la fluorescencia en este tipo de moléculas otra propiedad en común es que tienen un centro que ayuda a que los anillos de la periferia puedan rotar, recordando cómo estos compuestos se alejan de ser estructuras planas, evitando de esta manera el apilamiento  $\pi$

## Tetrafeniletileno

Reconociendo las propiedades antes mencionadas, la molécula de 1,1,2,2-tetrafeniletileno fue elegida para realizar este trabajo ya que como se mencionó es un sistema altamente conjugado, evita el apilamiento de tipo  $\pi$  estas propiedades nos favorecen además de que su obtención es accesible y pueden modificarse con grupos funcionales afines a medios acuosos para convertirlo en un posible biomarcador.

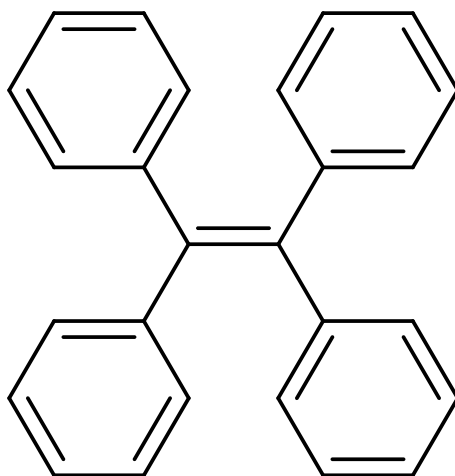


Figura 15. Molécula de tetrafeniletileno.

Nombre	1,1',2,2'-Tetrafeniletileno
Punto de fusión	224°C
Formula mínima	C <sub>26</sub> H <sub>20</sub>
Peso molecular g/mol	332
Fluorescencia	Azul

Esta molécula se puede sintetizar por diferentes rutas facilitando así su obtención, la elección de síntesis depende de los reactivos disponibles. A continuación se muestran algunas de las rutas para la obtención del TFE.

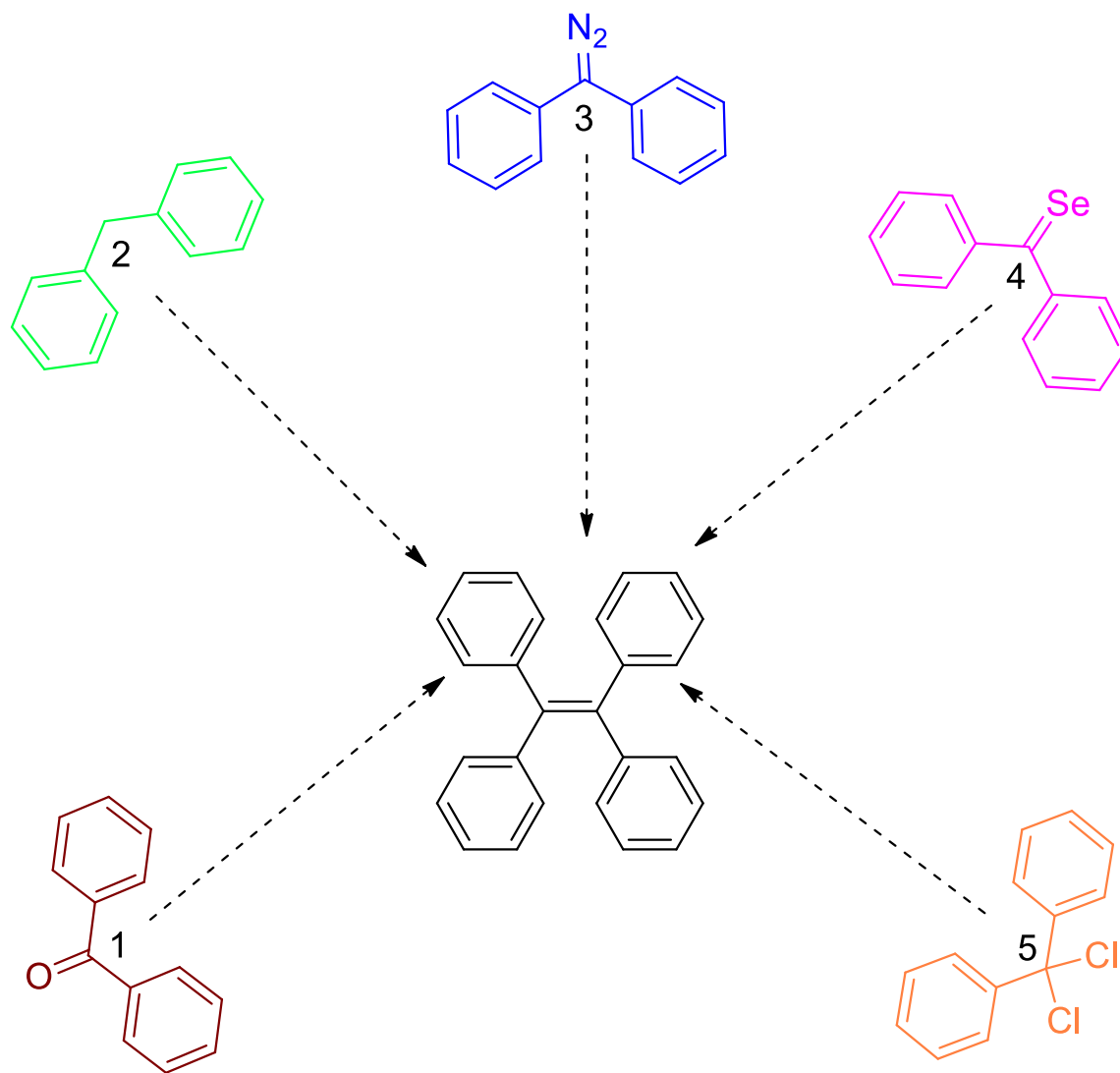


Figura 16. Rutas de síntesis para obtener TFE.

En la figura 16 vemos algunas de las diferentes formas de obtención del TFE en el caso la ruta 1 las condiciones son  $TiCl_4$ , Zn, THF, y 5 horas de reflujo. En la ruta 2 se

emplea n-BuLi, Benzofenona y PTSA en tolueno, manteniéndolo en reflujo. Las rutas 3 y 4 se autoacoplamiento en DCM, manteniendo la reacción a -78 °C. La ruta 5 emplea CuCl<sub>2</sub> en DMSO

Una manera de sintetizar el TFE con muy buenos rendimientos es utilizando el acoplamiento McMurry (Figura 16.1). Esta reacción también se ha llevado a cabo con dos benzofenonas que tienen diferentes sustituyentes encontrando buenos resultados.<sup>28</sup>

El TFE ha sido probado inicialmente como sensor acoplado a una biomolécula este compuesto no era fluorescente en soluciones buffer.<sup>29</sup> La adición de agua como disolvente para el TFE ha demostrado que favorece la emisión, esto debido a que induce la agregación, ya que no es el mejor disolvente, y da como resultado este aumento de la fluorescencia

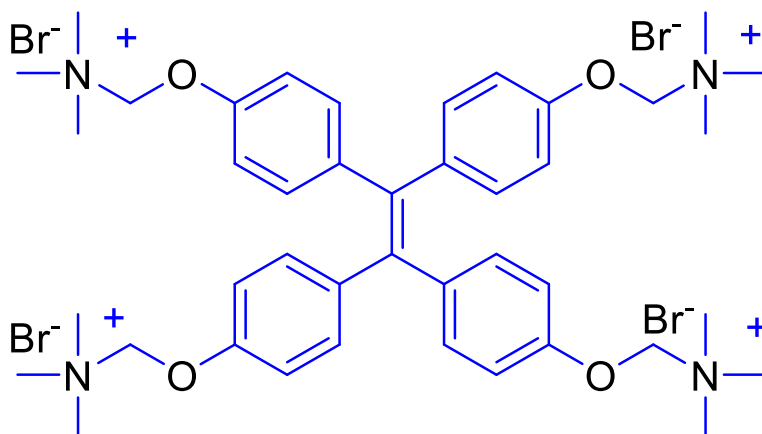


Figura 17 Acoplado a una biomolécula el TFE *para*- sustituido fue utilizado como biomarcador

La figura 17 nos muestra el TFE *para*- sustituido el cual fue utilizado para teñir células de la raíz de la cebolla observando la mitosis gracias a la propiedad de AIE que presenta este TFE.

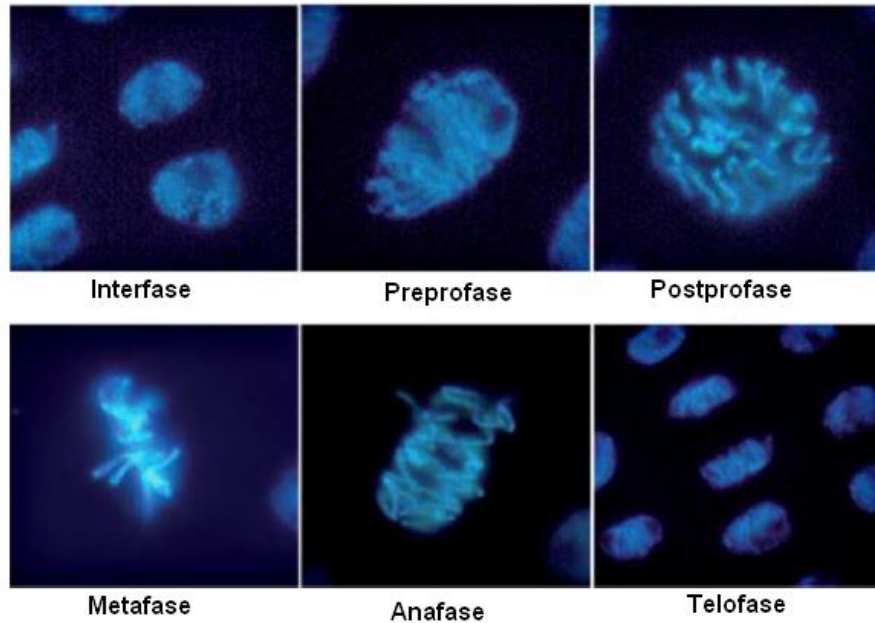


Figura 18. Fluorescencia en células extraídas de la raíz de cebolla, con un compuesto que presenta AIE, etapas del ciclo celular. <sup>30</sup>

La figura 18 nos muestra la mitosis de células de la raíz de cebolla gracias a un compuesto ilustrado en la figura 17 fue teñido principalmente el material genético.

Estos compuestos con la característica de "encenderse" al formar agregados nos demuestran un nuevo panorama y otras oportunidades en las diferentes áreas de investigación profundizando en estos compuestos para generar tecnologías innovadoras con el uso de estas moléculas.

# HIPÓTESIS Y OBJETIVO

## **Hipótesis**

Derivados sintéticos fluorescentes del tetrafeniletileno con grupos funcionales en la posición *para*- presentarán baja actividad citotóxica, permitiendo la evaluación de su potencial como posibles marcadores biológicos



## **Objetivo General.**

Sintetizar derivados del tetrafeniletileno *para*- sustituidos y determinar su potencial para seleccionar aquellos que presenten baja citotoxicidad como posibles biomarcadores en futuros experimentos.

## **Objetivo particular**

1. Sintetizar derivados basados en la estructura del TFE mediante acoplamiento tipo McMurry
2. Caracterizar mediante técnicas espectroscópicas como RMN, IR, EMAR, las moléculas sintetizadas.
3. Optimizar las reacciones para obtener buenos rendimientos.
4. Evaluar su actividad citotóxica para determinar aquellos que sean compuestos con potencial de biomarcador.

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se sintetizó el 1,1,2,2-tetrafeniletileno (TFE) mediante la reacción que se presenta en el esquema 1 (reacción de McMurry) que permite acoplar dos moléculas de benzofenona por medio de una doble ligadura carbono-carbono.

Esquema 1. Síntesis 1,1,2,2-tetrafeniletileno.

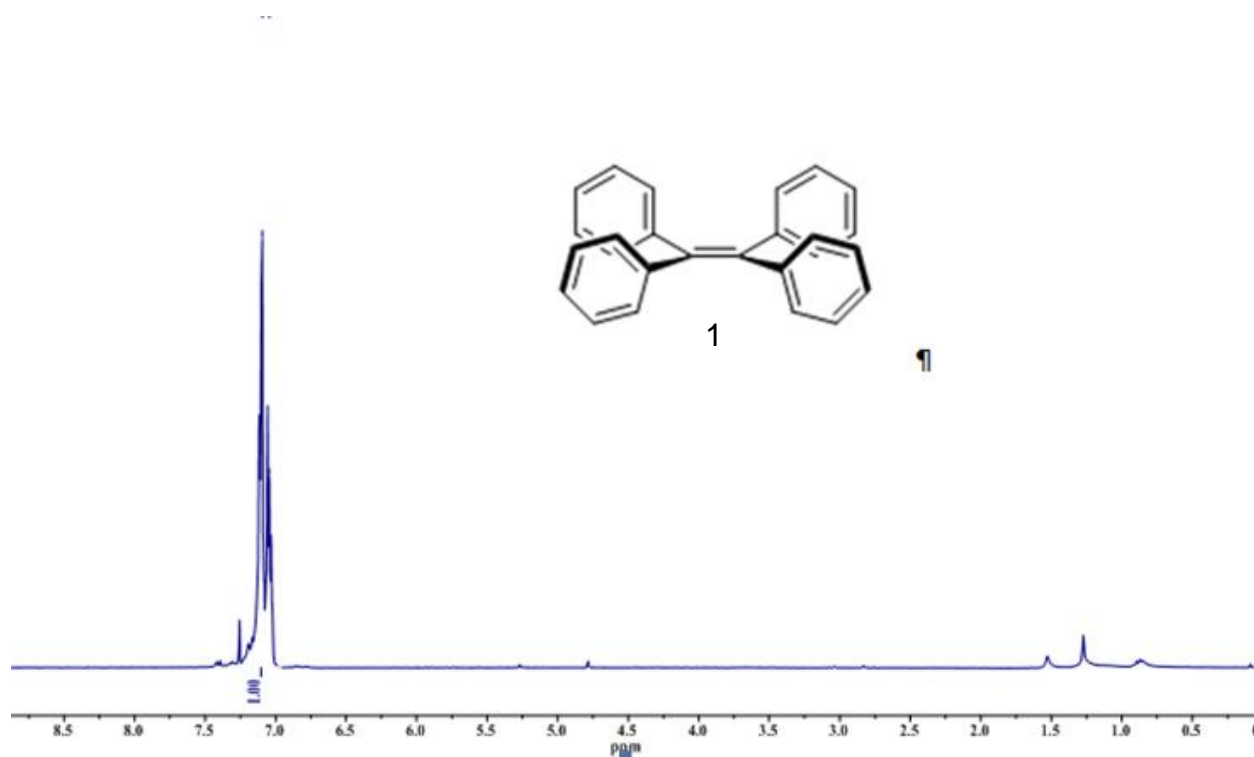
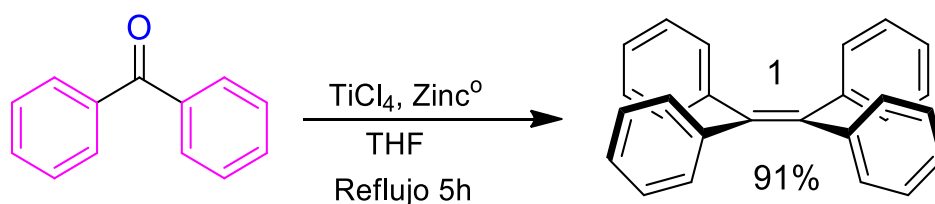


Figura 19. . Espectro  $^1\text{H-RMN}$  1,1,2,2-tetrafeniletileno [300 MHz  $\text{CDCl}_3$ ]

Una vez sintetizado se caracterizó utilizando técnicas espectroscópicas como  $^1\text{H}$ -RMN donde se identificaron los hidrógenos en la región aromática que corresponden a la molécula del TFE.

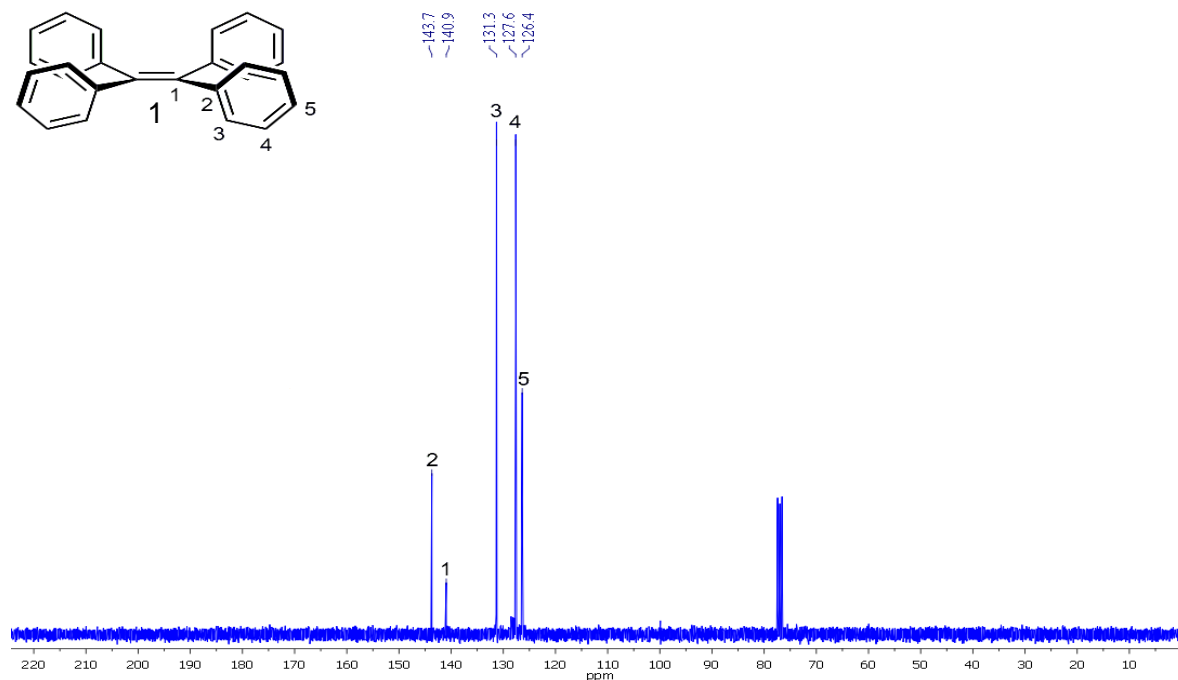


Figura 20. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN 1,1,2,2-tetraferenileno [75 MHz  $\text{CDCl}_3$ ]

En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN se observan cinco señales no equivalentes tomando en cuenta la simetría de la molécula. Para obtener una caracterización más completa se utilizaron las técnicas IR y EMAR donde se observó un ion  $m/z = 333.16$  el cual concuerda con el ion calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}$ , 332.44 ppm, (error: -3.41 ppm) complementando de esta manera la identificación del compuesto.

Después de la determinación completa del compuesto este se probó en 6 líneas celulares tomando los principales tipos de cáncer que más afectan a la población

% de inhibición del crecimiento por la línea celular							
Muestra	Código	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
TFE	WR-1	14.63	66.13	75	15.55	7.66	11.14

(U251 Glía del sistema nervioso central, PC-3 Próstata, K562 leucemia, HCT-15 colon, MCF-7 mama, SKLU pulmón, NC no citotóxico).

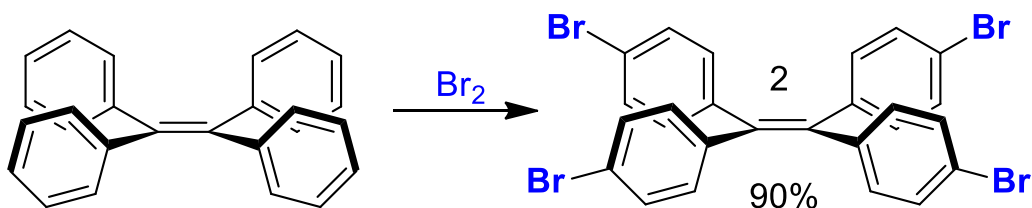
Encontrando que TFE es citotóxico para K562 en un 75% pero mantiene una muy baja citotoxicidad en MCF-7 con un 7.66% demostrando que es un posible candidato para hacer más pruebas



Imagen TFE (Tetrafeniletileno) es un sólido blanco cristalino, en luz UV (254nm) presenta una fluorescencia de color azul y un punto de fusión de 225 °C este compuesto se obtuvo por medio del acoplamiento McMurry, utilizando como materia prima benzofenona y en las pruebas citotóxicas se logra apreciar que en ciertos tipos de línea celular mantiene un porcentaje de inhibición bajo.

Una vez sintetizado el TFE se llevó a cabo una bromación en la posición *para* con el fin de posteriormente sustituir el halógeno con algún grupo funcional, la reacción se dio con los vapores de Br<sub>2</sub> en contacto con el TFE como se muestra en el esquema 2.

Esquema 2. Síntesis 1,1,2,2-tetrakis(4bromofenil)etileno



Para asegurar una mejor bromación la reacción se dejó por cinco días, pasado este tiempo se realizó la purificación obteniendo un 90% de rendimiento. La caracterización se hizo mediante las técnicas espectroscópicas descritas anteriormente.

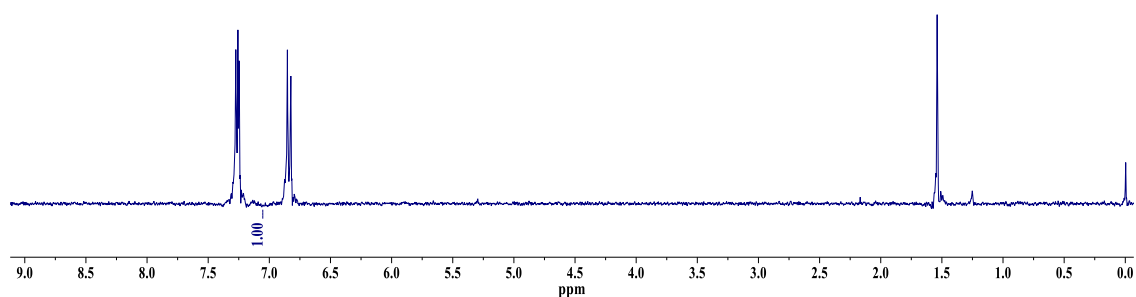
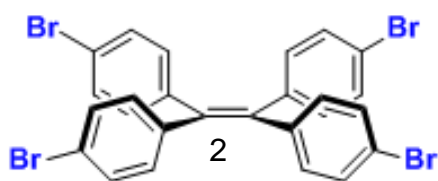


Figura 21. Espectro <sup>1</sup>H-RMN 1,1,2,2-tetrakis(4-bromofenil)etileno [300 MHz CDCl<sub>3</sub>]

Por medio de RMN de <sup>1</sup>H podemos observar señales marcando claramente el sistema del TFE. Donde encontramos las señales que se encuentran en 6.80 ppm y 7.30 ppm en el caso del halógeno el espectro de <sup>1</sup>H no es la técnica más recomendable para saber si se encuentra este elemento.

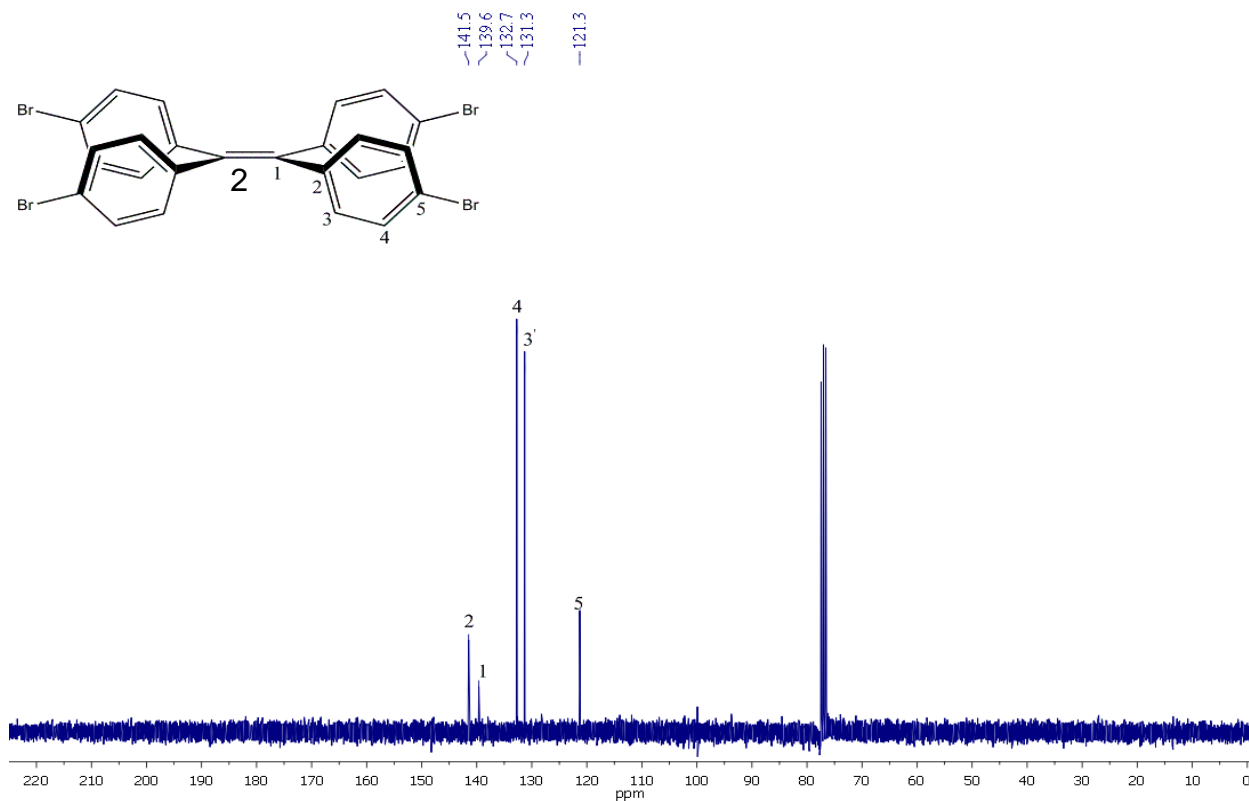


Figura 22. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN 1,1,2,2-tetrakis(4-bromofenil)etileno [75 MHz  $\text{CDCl}_3$ ]

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  se identificaron nuevamente cinco señales correspondientes a la molécula por simetría tomando en cuenta la señal 121.3 ppm que corresponde al enlace carbono-bromo.

El complemento de la caracterización de los compuestos fue realizado por IR y EMAR se observó un ión en  $m/z = 648.80$  el cual concuerda con el ión calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{16}\text{Br}_4$ , 648.02 ppm, (error -3.46 ppm) determinando de forma más completa el compuesto.

Después de la identificación completa del compuesto este se probó en 6 líneas celulares mencionadas

% de inhibición del crecimiento por la línea celular							
Muestra	Código	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
TFE- $\text{Br}_4$	WR-2	NC	2.8	20.4	NC	9.9	15.1

(U251 Glía del sistema nervioso central PC-3 Próstata K562 leucemia, HCT-15 colon, MCF-7 mama, SKLU pulmón, NC no citotóxico).

La citotoxicidad que manifiesta este compuesto es baja ya que en células U251 y K562 no es citotóxico y así podemos considerar este compuesto como posible biomarcador.

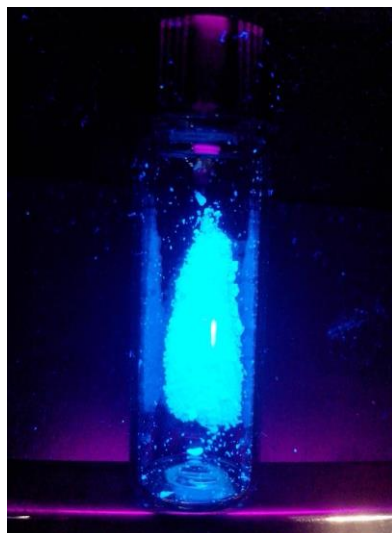
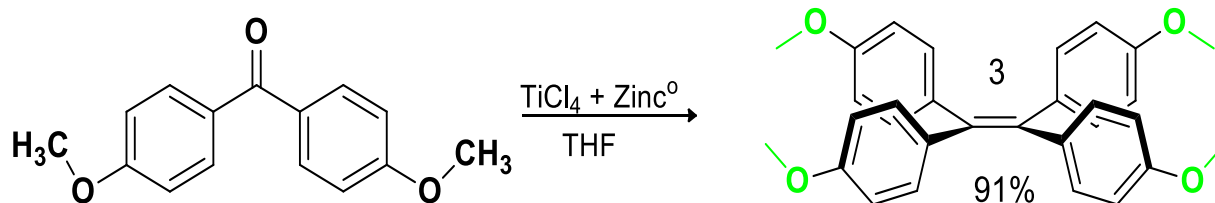


Imagen TFE-Br<sub>2</sub> Es un sólido de color blanco en luz UV (254nm) presenta fluorescencia de color azul, un punto de fusión de 230-232 °C, este compuesto se obtuvo por una reacción directa del TFE y el Br<sub>2</sub> en un desecador. En las pruebas biológicas logró ver la actividad de este compuesto, no es citotóxico para dos tipos de líneas celulares.

Utilizando dimetoxibenzofenona (bis(4-metoxifenil)metanona) se realizó el acoplamiento McMurry para obtener el compuesto 3 sustituido en la posición *para* con el grupo metoxilo.

Esquema 3. Síntesis 1,1,2,2-tetrakis(4-metoxifenil) eteno



Alcanzando un rendimiento del 91% en el caso de esta materia prima hay que calentar el THF para que se pueda disolver y así pasarlo al sistema de reacción se realizaron las técnicas de caracterización espectroscópicas correspondientes como en los casos anteriores.



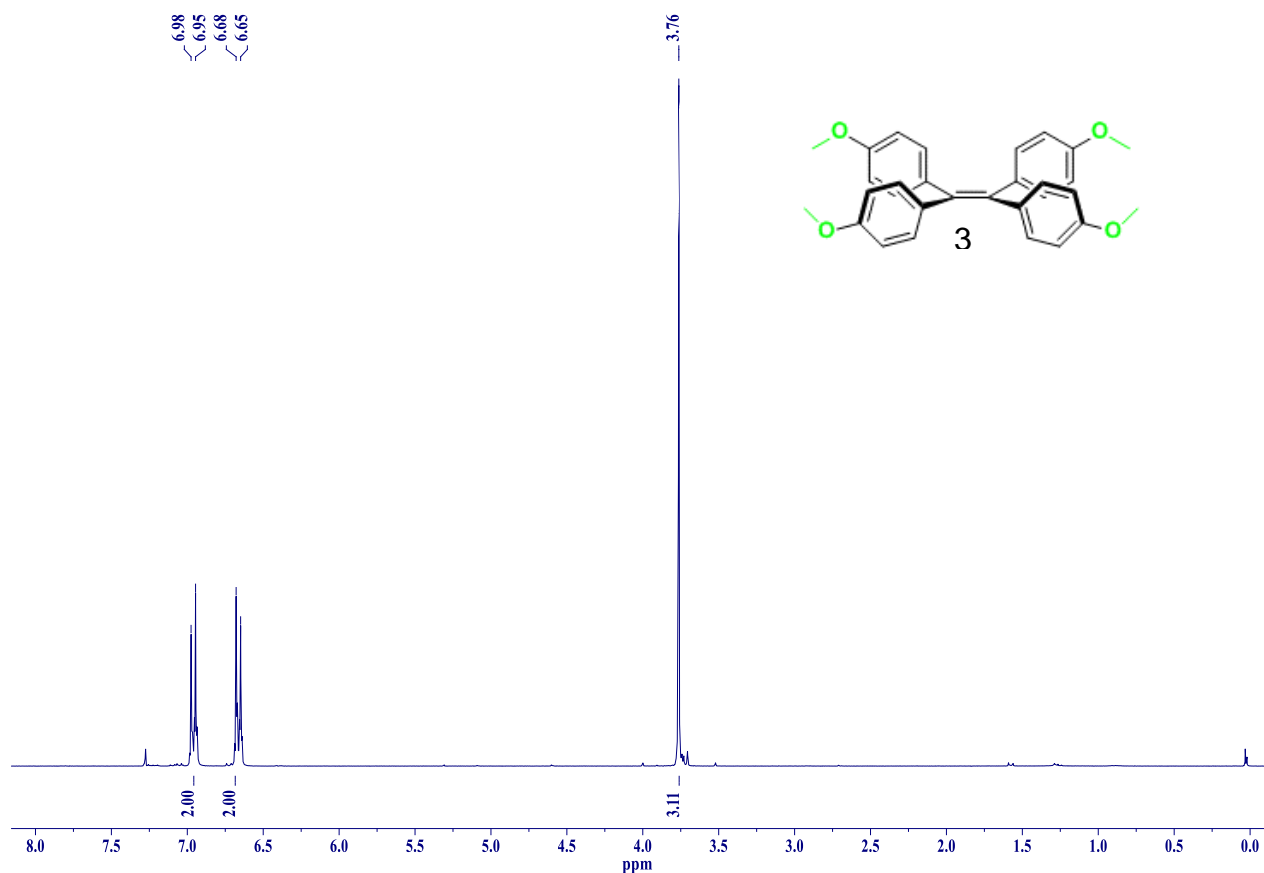


Figura 23. Espectro <sup>1</sup>H-RMN 1,1,2,2-tetrakis(4-metoxifenil) eteno [300 MHz CDCl<sub>3</sub>]

En el espectro de <sup>1</sup>H-RMN como en 3.76 ppm se logra ver una señal sencilla que corresponde al grupo metilo el cual se encuentra en la posición *para* y además el conjunto de señales en 6.96 y 6.63 ppm que confirman la obtención del compuesto metoxilado.

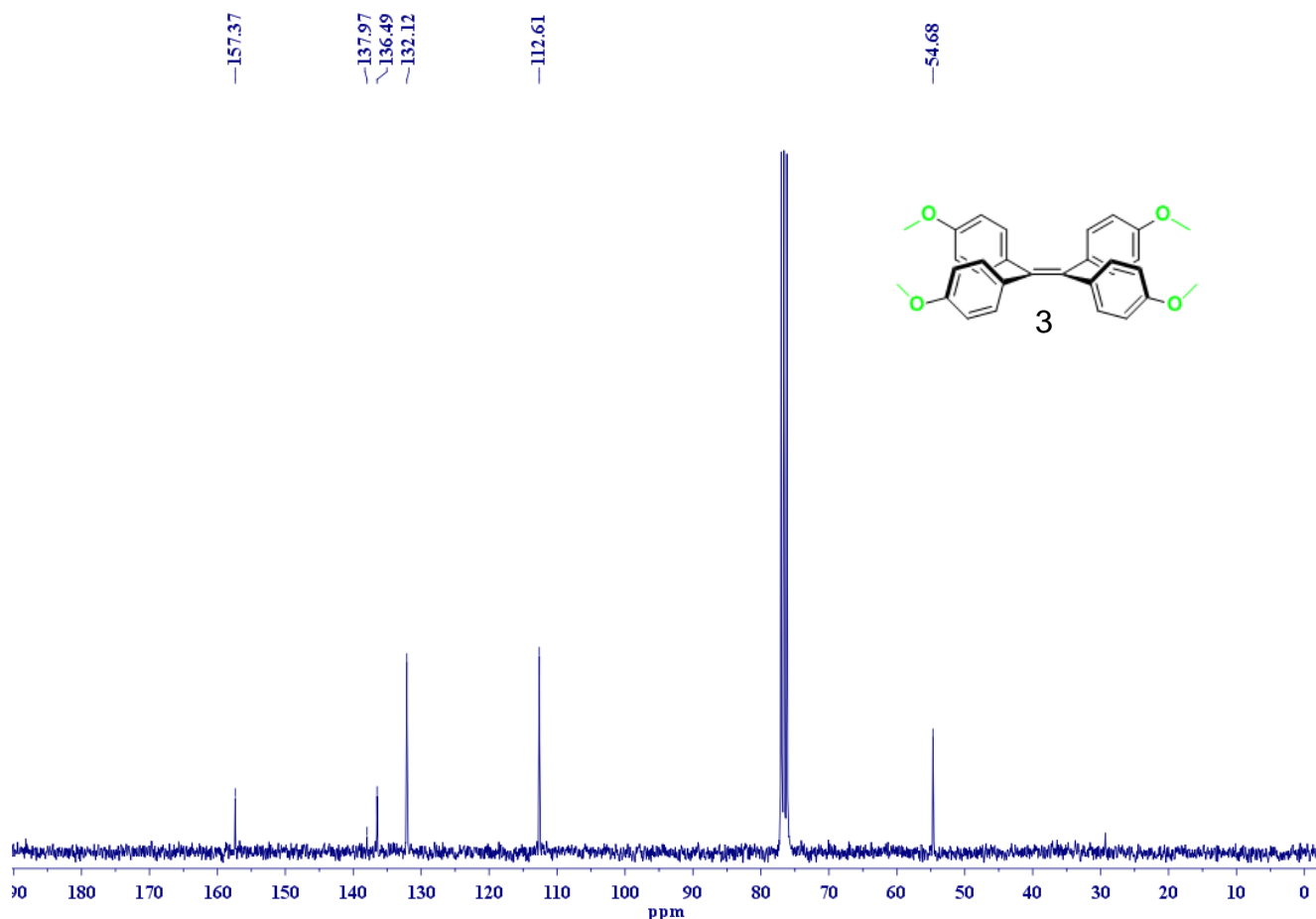


Figura 24. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN 1,1,2,2-tetrakis(4-metoxifenil) eteno [75 MHz  $\text{CDCl}_3$ ]

En este espectro de  $^{13}\text{C}$  podemos observar los cinco carbonos correspondientes por simetría y un carbono en 54.68 ppm que corresponde al carbono del grupo metoxilo.

El complemento de la caracterización de los compuestos fue realizado por IR y EMAR se observó un ion en  $m/z = 453.20$  el cual concuerda con el ion calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{O}_4$  452.20 ppm, (error -4.02 ppm) determinando de forma más completa el compuesto.

Una vez determinado el compuesto este se probó en las 6 líneas celulares

% de inhibición del crecimiento por la línea celular							
Muestra	Código	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
WR-OMe	WR-3	100	100	80.6	100	100	100

(U251 Glía del sistema nervioso central, PC-3 Próstata, K562 leucemia, HCT-15 colon, MCF-7 mama, SKLU pulmón, NC no citotóxico).

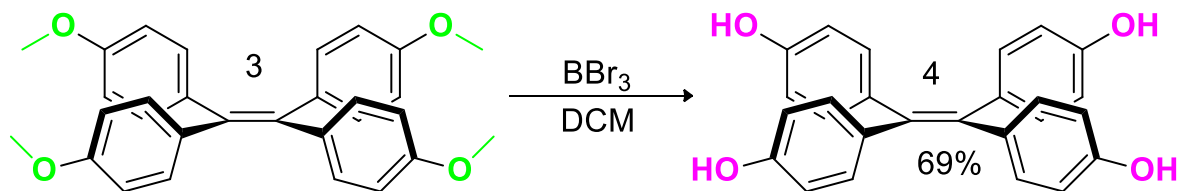
La citotoxicidad que se muestra de este compuesto es alta para todos los tipos celulares inhibiendo el crecimiento del 100% en la mayoría de las líneas celulares reconociendo así que es muy citotóxico para las células.



Imagen TFE-OMe Compuesto sólido blanco en luz UV (254nm) su fluorescencia es de azul claro, punto de fusión de 182 °C. Este compuesto se obtuvo mediante un acoplamiento McMurry usando como materia prima Dimetoxibenzofenona. En las pruebas biológicas se logra conocer que este compuesto mantiene una muy alta inhibición citotóxica

A continuación con el 1,1,2,2-tetrakis(4-metoxifenil) eteno obtenido se llevó a cabo la reacción de desprotección que se muestra en el esquema 4.

Esquema 4. Síntesis 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail) tetrafenol



Obteniendo un rendimiento del 69% el compuesto fue caracterizado mediante técnicas espectroscópicas antes mencionadas. Este compuesto se disolvió en acetona deuterada debido a que no era posible disolverlo en cloroformo deuterado.

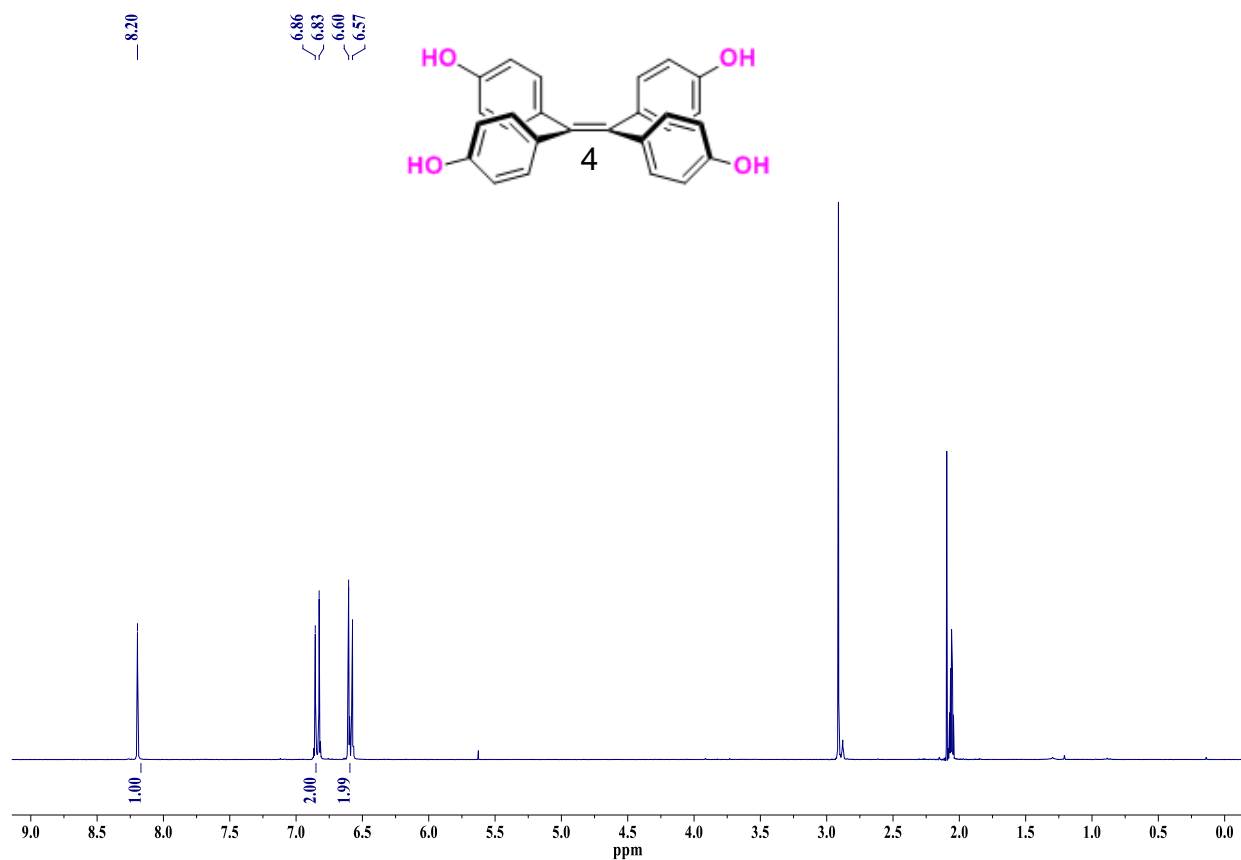


Figura 25. Espectro <sup>1</sup>H-RMN 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrafluoro) tetrafenol [300 MHz D-Acetona

En el espectro del compuesto 4 <sup>1</sup>H nos muestra claramente el sistema del TFE y una señal más en 8.2 ppm esta última correspondiendo hidrogeno OH confirmando la obtención del compuesto.

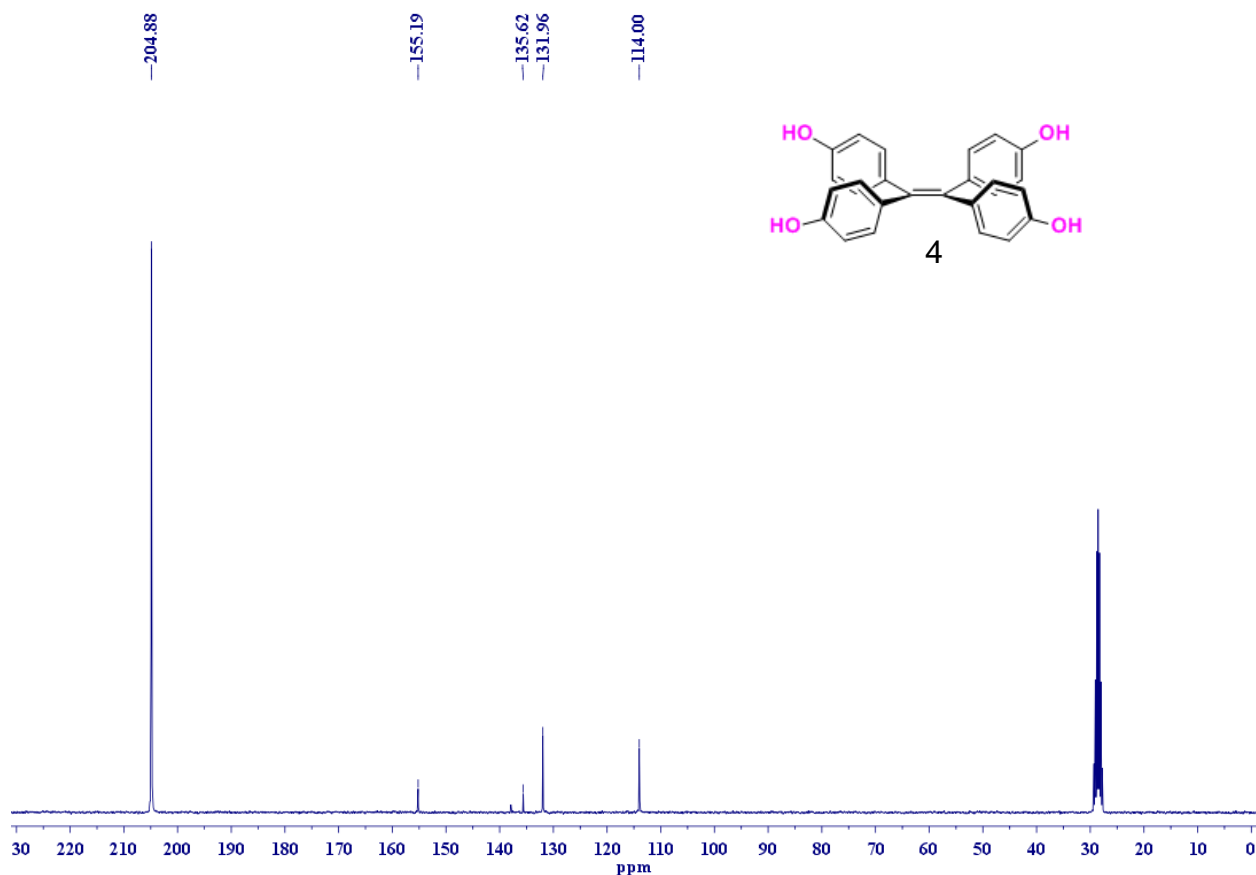


Figura 26. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetraol) tetraferol [75 MHz D-Acetona]

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  de compuesto 4 podemos ver claramente las señales que por simetría corresponden a la molécula del TFE, también utilizando técnicas de IR y EMAR se observó un ion en  $m/z=397.14$  el cual concuerda con el ion calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{O}_4$  396.14 ppm, (error-0.51ppm) se logró la caracterización completa del compuesto.

Una vez descrito el compuesto 4 fue probado en 6 líneas celulares

% de inhibición del crecimiento por la línea celular							
Muestra	Código	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
TPE-OH	WR-4	NC	100	36.49	9.87	61	42.22

(U251 Glía del sistema nervioso central, PC-3 Próstata, K562 leucemia, HCT-15 colon, MCF-7 mama, SKLU pulmón, NC no citotóxico).

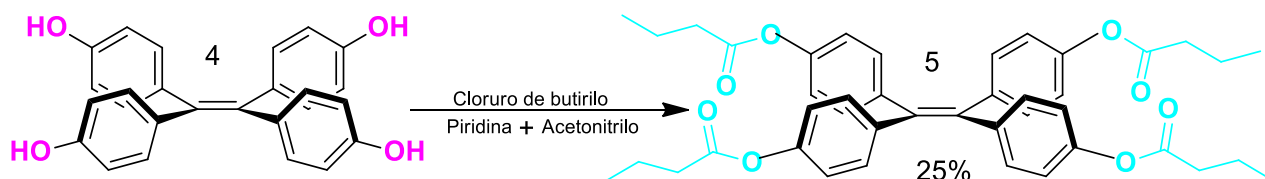
En este caso la línea celular U251 Glía del sistema nervioso central encontramos que el compuesto 4 no es citotóxico en U251 Glía del sistema nervioso central seleccionándolo como otro posible futuro marcador biológico.



Imagen TFE-OH Compuesto sólido ligeramente morado en luz UV (254nm) se logra ver que fluoresce azul claro, un punto de fusión de mayor a 230 °C este compuesto se obtuvo con una reacción de DCM y  $\text{BBr}_3$ , en las pruebas biológicas logramos ver como este compuesto es no citotóxico para un tipo de línea celular.

Gracias a la obtención del compuesto 4 se procedió a sustituirlo con una cadena alifática de 4 carbonos como se muestra en el esquema de reacción 5.

Esquema .5. Síntesis eteno-1,1,2,2-tetra(1,4-dihidroxi) tetrabutirato



Utilizando como materia prima el compuesto 4 previamente sintetizado, se llevó a cabo la sustitución obteniendo un 25% de rendimiento del compuesto 5, debido a que este compuesto presenta una alta afinidad al disolvente, los métodos de separación utilizados no fueron los más efectivos, sin embargo podemos apreciar en los espectros el producto deseado.

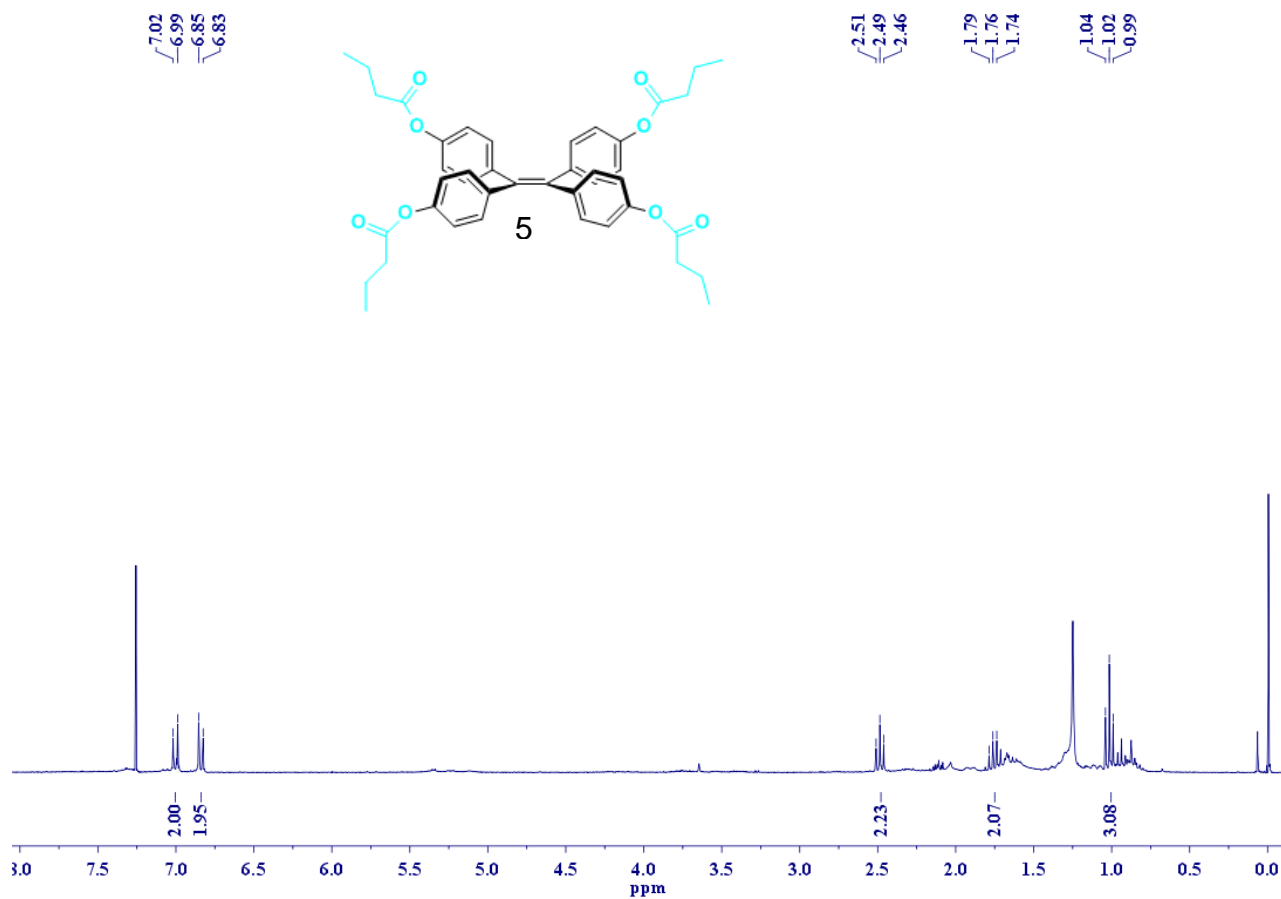


Figura 27. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN eteno-1,1,2,2-tetraalkoxybenzene tetrabutirato [300 MHz  $\text{CDCl}_3$ ]

En el espectro  $^1\text{H}$  se observan los hidrógenos correspondientes a la cadena alifática en 1.0 ppm, 1.7 ppm, y 2.5 ppm debido a la estructura de esta molécula es muy afín a los disolventes como el hexano empleado en la purificación, en la región alifática podemos observar cómo se manifiesta esta afinidad, también se ve el sistema correspondiente al TFE en 7.00 y 6.84 ppm.

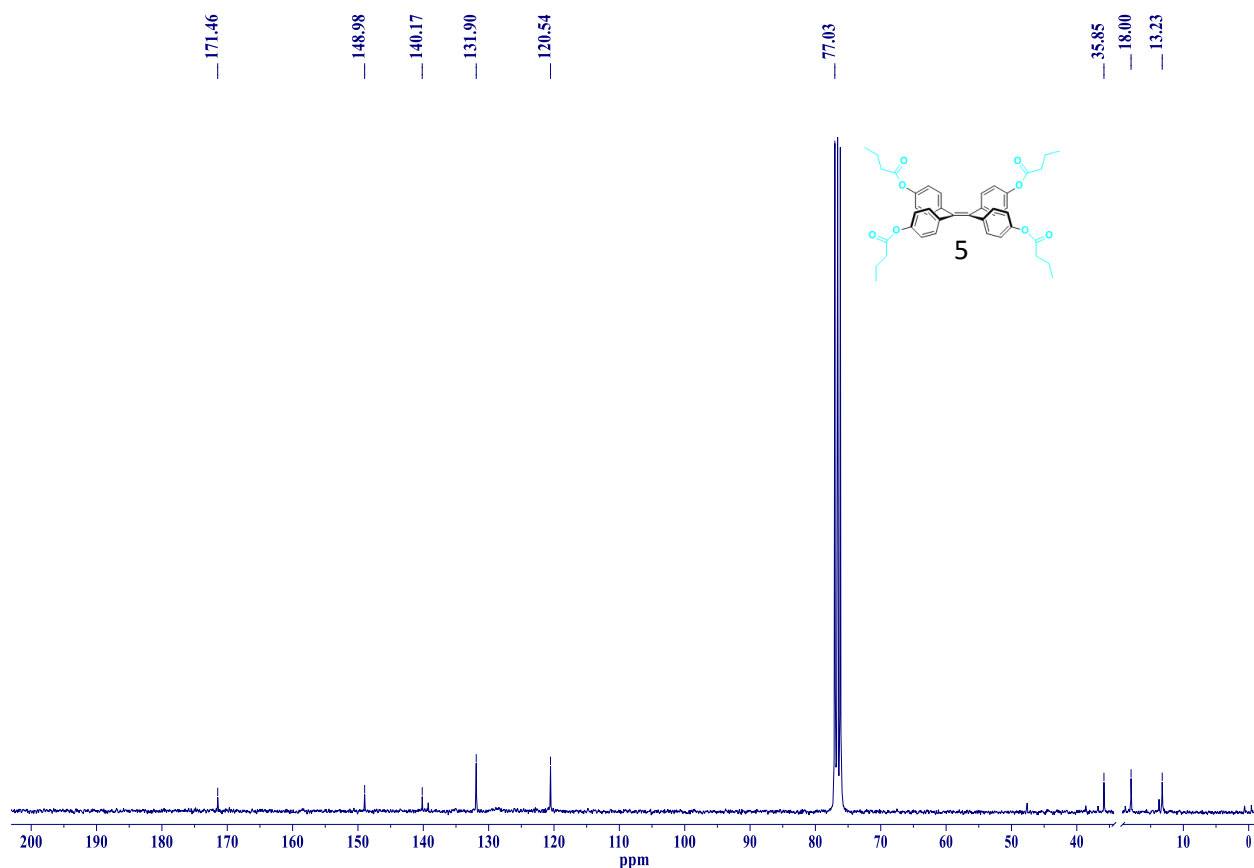


Figura 28. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN eteno-1,1,2,2-tetrailtetrakis(benceno-4,1-diilo) tetrabutirato [75 MHz  $\text{CDCl}_3$ ]

Por otro lado el espectro de  $^{13}\text{C}$  del compuesto 5 nos muestra las cinco señales correspondientes al TFE y vemos además señales en la región alifática que corresponden a la cadena de 3 carbonos se modificó el espectro debido a la presencia de una señal la cual se atribuye a la afinidad del compuesto.

El complemento de la caracterización de los compuestos se llevo acabo mediante IR y EMAR se observó un ion en  $m/z= 677.31$  el cual concuerda con el ion calculado para  $\text{C}_{42}\text{H}_{44}\text{O}_8$  676.30 ppm, (error-3.29 ppm) determinando de forma más completa el compuesto.

Al terminar la determinación del compuesto, este se probó en 6 líneas celulares tomando los principales tipos de cáncer que más afectan a la población



% de inhibición del crecimiento por la línea celular							
Muestra	Código	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
TPE-Ester	WR-5	N.C.	24.1	97.3	7.94	100	31.9

(U251 Glía del sistema nervioso central, PC-3 Próstata, K562 leucemia, HCT-15 colon, MCF-7 mama, SKLU pulmón, NC no citotóxico).

Encontramos que en U251 Glía del sistema nervioso central no es citotóxico, mantiene una baja inhibición en HCT-15 colon, pero también encontramos que es completamente citotóxico para MCF-7 mama encontrando así otra posible molécula para pruebas posteriores.



Imagen Compuesto 5 de color morado oscuro en luz UV (254nm) logramos ver que se ilumina de color azul. Esta molécula se obtuvo por medio de una reacción de piridina ACN y cloruro de butirilo.

Utilizando una vez más el TFE sintetizado se realizó una nitración, obteniendo el compuesto y purificándolo con una columna de separación con silica gel y hexano como eluyente, se corroboró la nitración y se identificó que esta fue efectiva en 3 posiciones, reconociendo entonces que la simetría de la molécula corresponde a 14 carbonos.

Esquema 6. Síntesis de 4,4',4''-(2-feniletano-1,1,2-triilo) tris (nitrobencono).

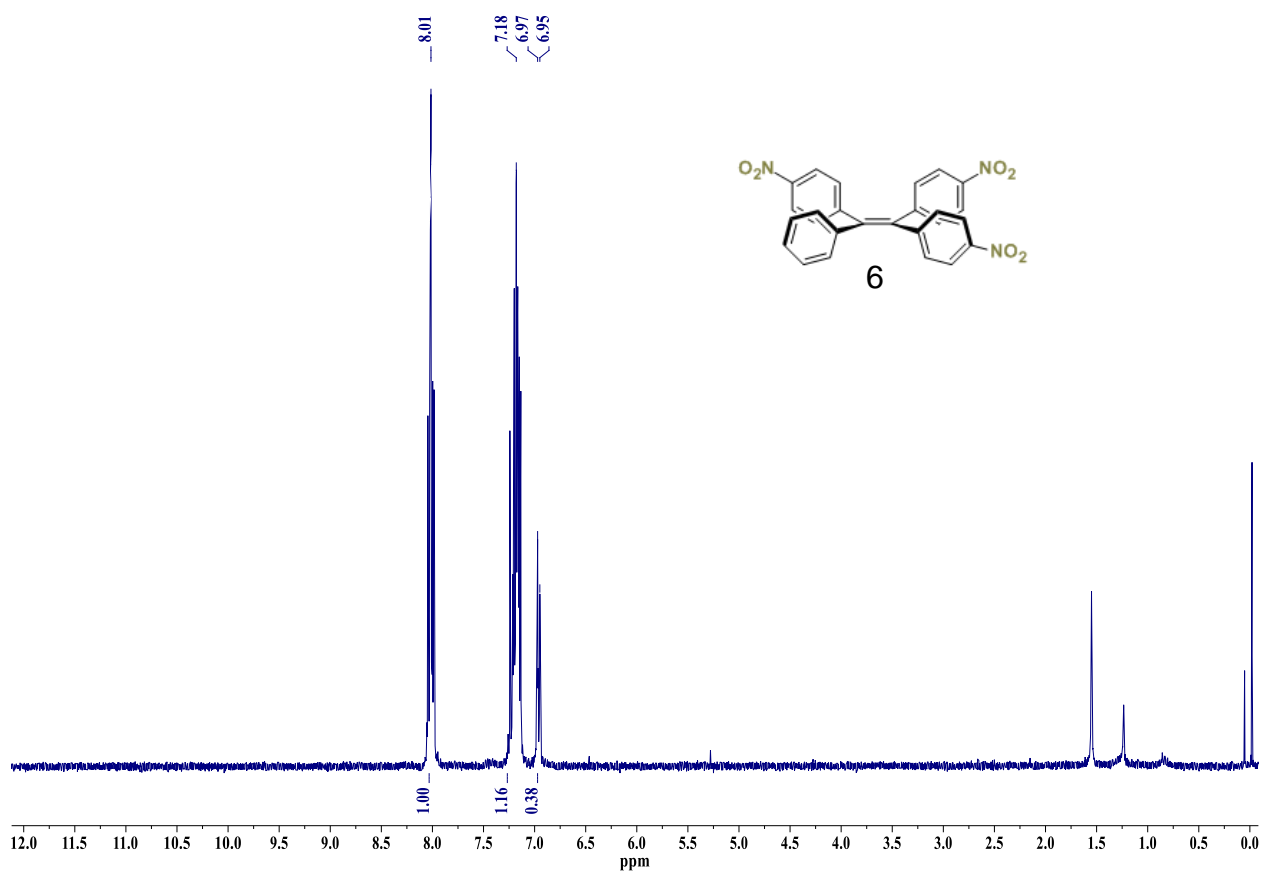
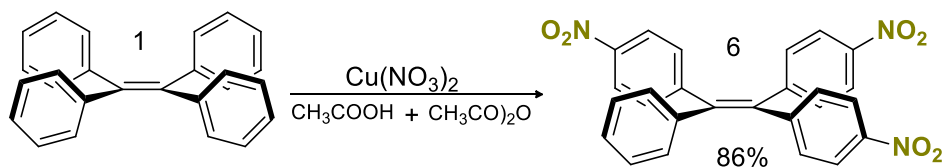


Figura 29. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN 4,4',4''-(2-feniletano-1,1,2-triilo) tris (nitrobencono) [300 MHz  $\text{CDCl}_3$ ]

En el espectro de  $^1\text{H}$  del compuesto 6 podemos apreciar el sistema que corresponde al TFE trinitrado donde se aprecian tres señales las cuales debido a la asimetría del compuesto.

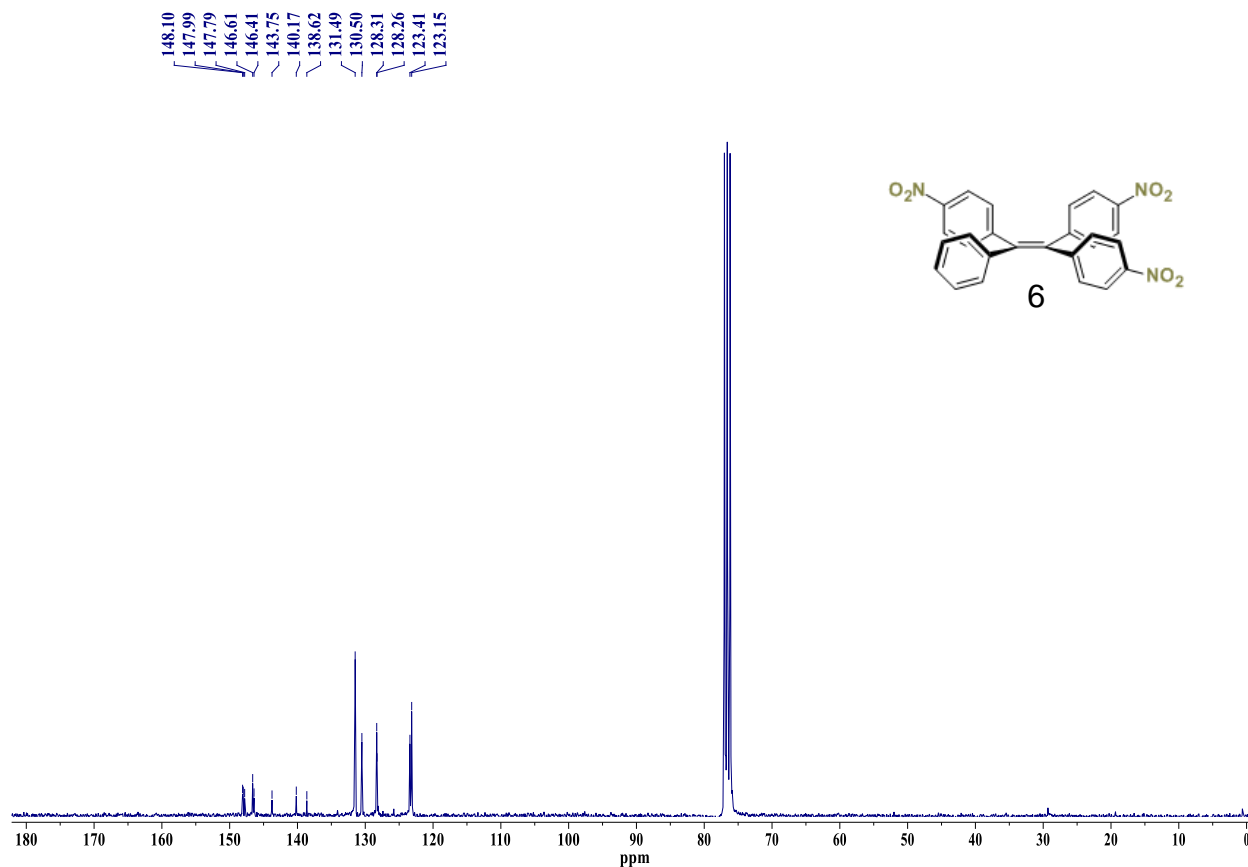


Figura 30. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN 4,4',4''-(2-feniletano-1,1,2-triilo) tris (nitrobenzeno) [75 MHz  $\text{CDCl}_3$ ]

Para reconocer mejor la molécula por  $^{13}\text{C}$ -RMN se logran apreciar para complementar la caracterización del compuesto 14 señales que simétricamente corresponden a la molécula, por medio de IR y EMAR se observó un ion en  $m/z = 468.12$  el cual concuerda con el ion calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6$  467.11 ppm (error -4.65 ppm) se logró comprobar que se trataba de este compuesto.

Finalizando la determinación completa del compuesto este se probó en 6 líneas celulares tomando los principales tipos de cáncer que más afectan a la población

% de inhibición del crecimiento por la línea celular							
Muestra	Código	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
TPE-NO <sub>2</sub>	WR-6	71.13	56.2	40.7	53.4	45.8	70.4

(U251 Glía del sistema nervioso central PC-3 Próstata K562 leucemia, HCT-15 colon, MCF-7 mama, SKLU pulmón, NC no citotóxico).

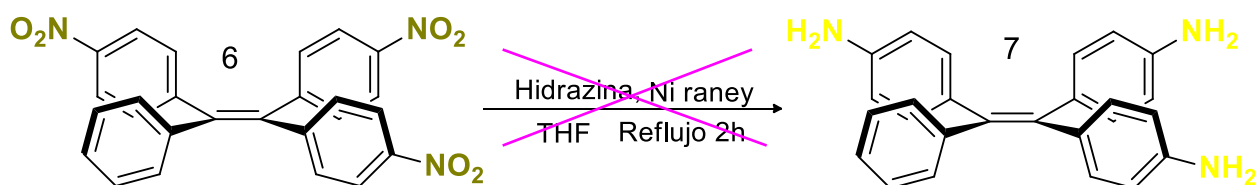
TFE-NO<sub>2</sub> es citotóxico para todos los tipos de líneas celulares en un promedio que está arriba del 50% de inhibición en todas las líneas celulares considerándose no viable.



Imagen Compuesto 6 sólido Amarillo en luz UV (254nm) se logra observar que el compuesto amarillo-verde, se obtuvo mediante la reacción ácido acético anhídrido acético y nitrato de cobre III. Es el segundo compuesto más citotóxico.

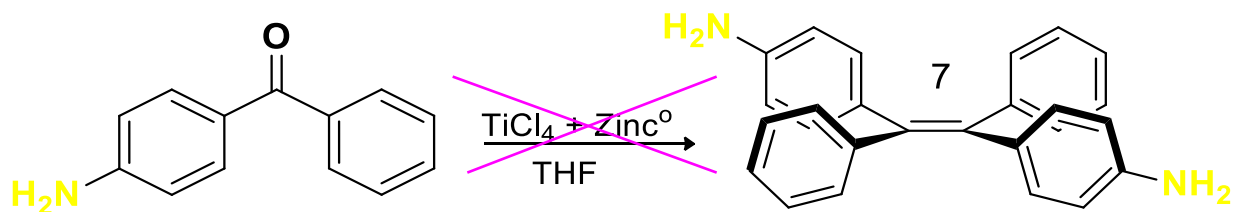
Utilizando el TFE-NO<sub>2</sub> se realizó la reducción a grupos amino en la reacción que se muestra en el esquema 7, obteniendo una mezcla de compuestos los cuales no se lograron separar por CCF además el rendimiento de esta reacción estaba por abajo del 15 % por lo que se optó buscar otra metodología para obtener el compuesto *para* sustituido con el grupo amino (NH<sub>2</sub>)

Esquema 7. Síntesis partiendo de 4',4''-(2-feniletano-1,1,2-triilo) tris (nitrobeneno)



Buscando una alternativa se utilizó 4-aminobenzofenona para obtener TFE sustituido en 2 posiciones con el grupo  $\text{NH}_2$  la única diferencia sería que este no estaría sustituido en las 4 posiciones.

Esquema 8. Síntesis 4-animobenzofenona



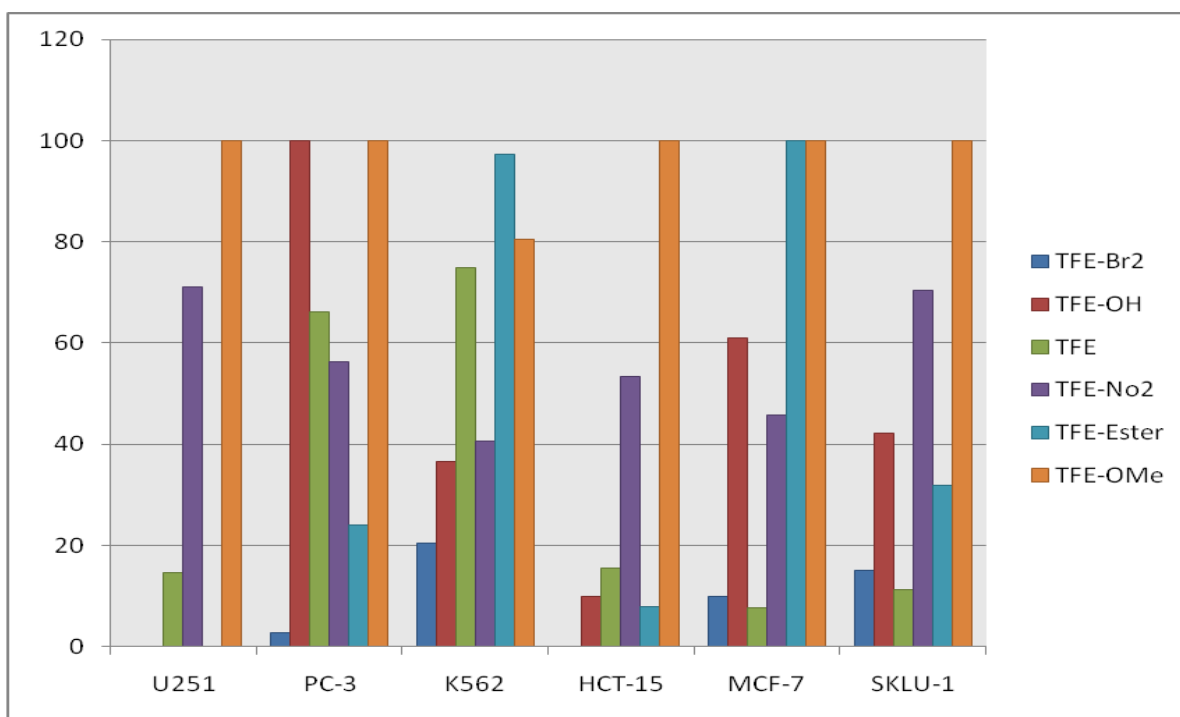
Se llevó a reacción con el acoplamiento McMurry como se muestra en el esquema 8, se mantuvieron las condiciones antes mencionadas para la obtención del compuesto, posteriormente se monitoreo la reacción por CCF, donde se observó que no había cambio alguno se mantuvo el sistema durante 5 horas pasado este tiempo se tomó otra muestra, la cual se observo nuevamente en CCF por lo cual se concluyo que esta ruta de síntesis, tampoco fue viable.

# ACTIVIDAD CITOTÓXICA

Como se describió de manera individual en las páginas anteriores, una vez obtenidos los compuestos se realizó el correspondiente ensayo primario en 6 líneas celulares en el Instituto de Química UNAM tomando los principales tipos de cáncer que más afectan a la población (U251 Glía del sistema nervioso central PC-3 Próstata K562 leucemia, HCT-15 colon, MCF-7 mama, SKLU pulmón, NC no citotóxico). Ensayo primario Concentración: (50 µg/ml). Vehículo DMSO.

% de inhibición del crecimiento por la línea celular							
Muestra	Código	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
TFE-Br <sub>2</sub>	WR-2	NC	2.8	20.4	NC	9.9	15.1
TFE-OH	WR-4	NC	100	36.49	9.87	61	42.22
TFE	WR-1	14.63	66.13	75	15.55	7.66	11.14
TFE-No <sub>2</sub>	WR-6	71.13	56.2	40.7	53.4	45.8	70.4
TFE-Ester	WR-5	N.C.	24.1	97.3	7.94	100	31.9
TFE-OMe	WR-3	100	100	80.6	100	100	100

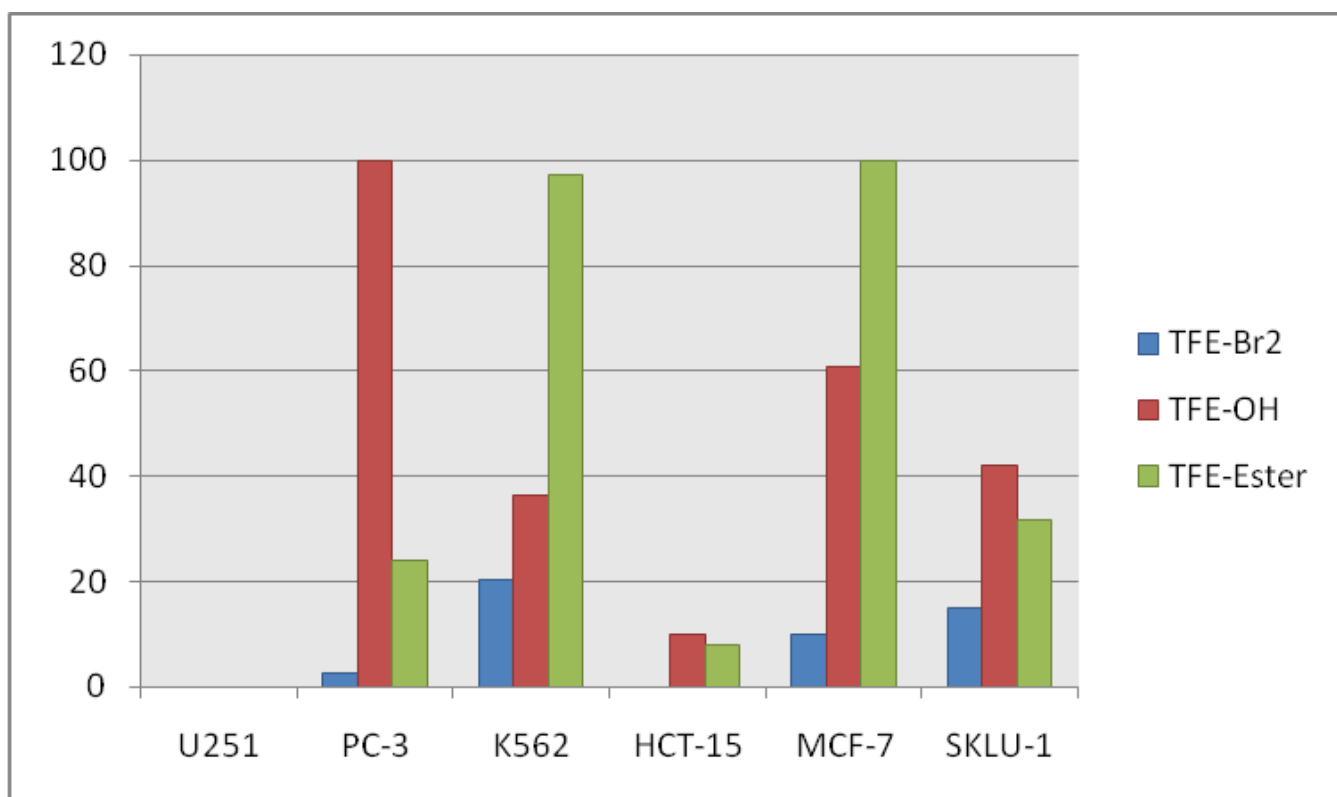
Tabla 2. U251= glía de sistema nervioso central, PC-3= próstata, K562= leucemia, HCT-15= colon, MCF-7= mama, SKLU= pulmón. NC= no citotóxico. Ordenados de menor a mayor citotoxicidad



Grafica 3. Inhibición en células cancerosas

Las diferencias estructurales en el tetrafeniletileno se ven reflejadas en los distintos tipos celulares en los que fue probado, el resultado de esto se manifiestan en la inhibición.

En la Grafica 4 podemos darnos cuenta que en el eje de las abscisas se encuentra ubicada la línea celular, y en el eje de las ordenadas el porcentaje de inhibición donde las líneas celulares que mantienen la menor inhibición son U251 y HCT-15 y los compuestos con menor citotoxicidad son TFE-(2,4 y 5).



Grafica 4. Compuestos con menor inhibición

Una vez analizados estos resultados obtenidos, se deduce que en el caso del TFE-Ester debido a la larga cadena que presenta la convierte en un compuesto más afín a la membrana celular por los grupos funcionales ester que presenta en la posición para, comparándolo con el TFE-OH este compuesto fue más difícil disolver lo que se le atribuye a los grupos OH a pesar de que sus propiedades a temperatura ambiente eran más favorables ya que era un sólido y la manipulación más práctica, el análisis



citotóxico nos demuestra que no es el mejor candidato para un futuro marcador biológico y se le atribuye a su solubilidad ya que este compuesto es muy selectivo al momento de disolverse y solo se logró disolver en acetona, en el caso de TFE-Br este compuesto es muy interesante ya que tiene un punto de fusión alto a temperatura ambiente es sólido y mantuvo niveles de inhibición bajos en las pruebas celulares se le atribuye a que al momento de disolverlo es muy accesible y sobre todo a diferencia de los otros dos compuestos discutidos en esta sección, la obtención de este es en una reacción bastante sencilla la cual nos ayuda a tenerlo fácil y a gran escala.

**TOXICIDAD EN**  
**Nicotiana**  
***benthamiana***

Haciendo una colaboración con el laboratorio 2 de biomacromoléculas el TFE fue probado en *N. benthamiana*. Para conocer la citotoxicidad en la planta *N. benthamiana* se probó de la siguiente manera, utilizando una disolución de 0.001g de TFE en 1 mL de DMSO aplicado por el método de inyección, esta técnica fue adaptada de Infiltration of *Nicotiana benthamiana* (Protocol for Transient Expression via *Agrobacterium*.)<sup>31</sup> Con la aplicación que se muestra en la figura 31.



Figura 31. Técnica de inyección imagen extraída de la referencia <sup>32</sup>

El punto de aplicación abarco un perímetro de aproximadamente 0.5 cm <sup>33</sup> tomando en cuenta esto se monitoreo en el transcurso de 20 minutos los cambio que este presentaría además que se pretende observar un corte de la hoja con TFE al microscopio de fluorescencia

Figura 32. *N. benthamiana* inoculada con TPE primer minuto.

Para conocer el efecto del TFE en la hoja monitoreo en el transcurso de 20 minutos observando, como se expande el compuesto en los puntos de aplicación y teniendo en cuenta la citotoxicidad que pueda llegar a tener, en este lapso.

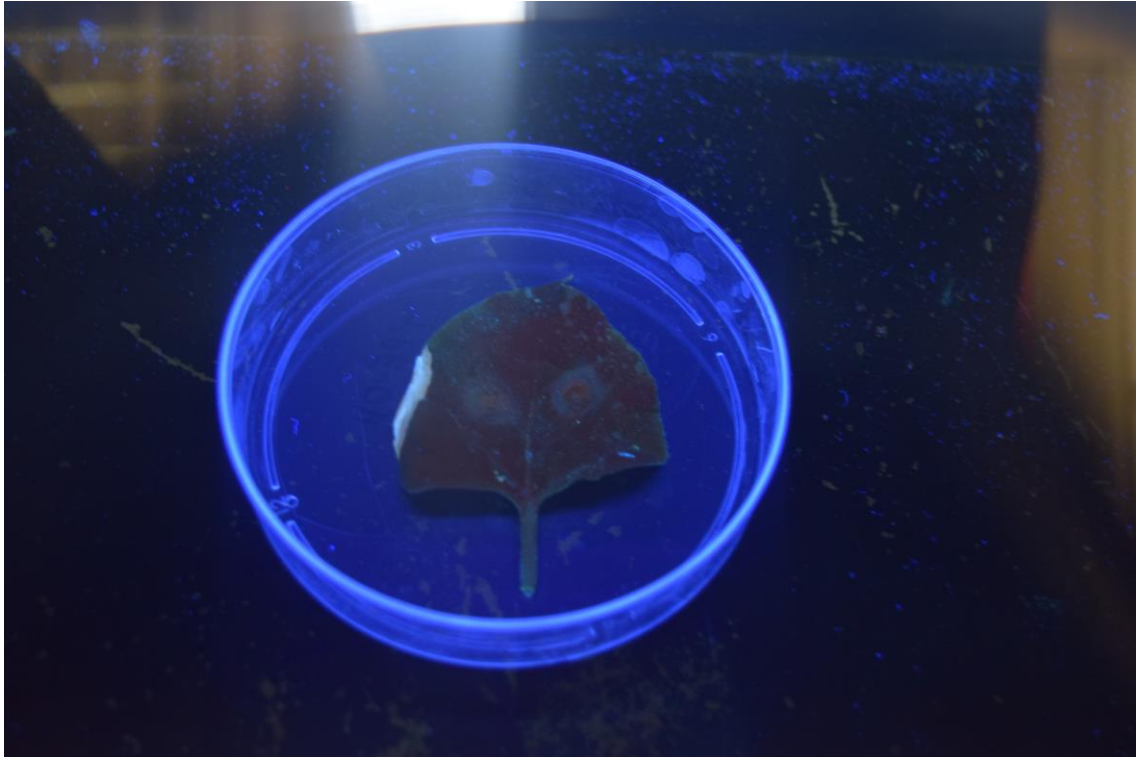


Figura 33. *N. benthamiana* inoculada con TPE minuto diez.

Claramente en esta foto podemos observar como aumentaron los puntos de aplicación la molécula de TFE se sigue extendiendo a los 10 minutos y no presenta algún otro cambio significativo como de coloración o alguna otra señal que pueda manifestar citotoxicidad hasta el momento

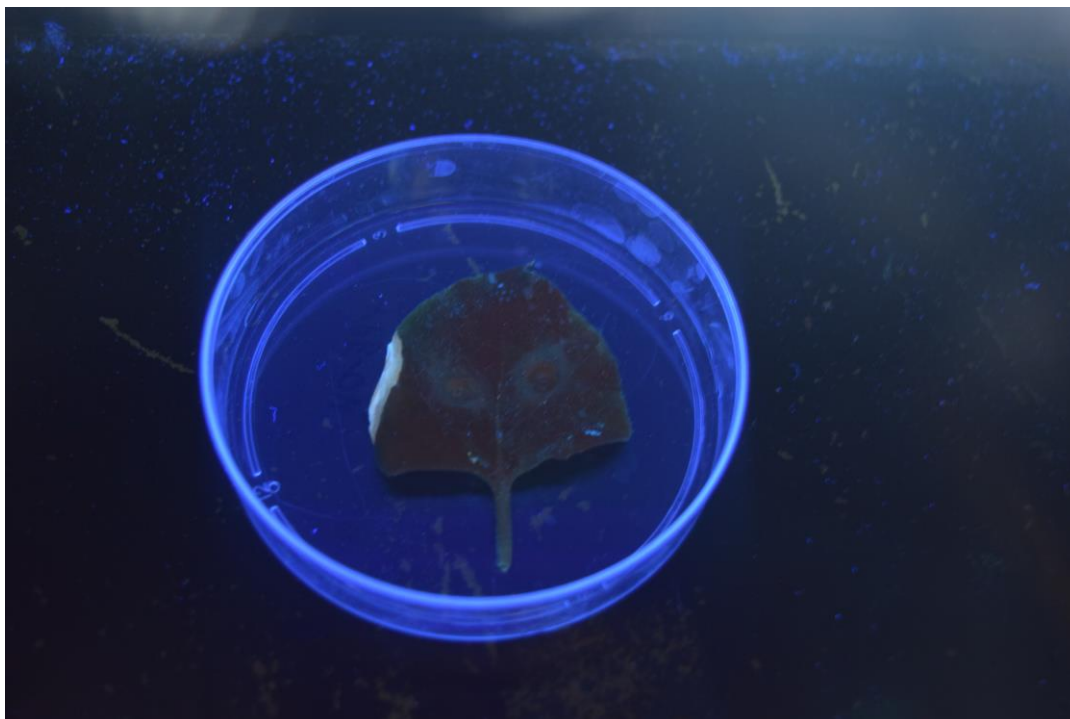


Figura 34. *N. benthamiana* inoculada con TPE minuto veinte

A los 20 minutos se observa que el TFE se extendió un poco más, no se ven cambios en la fluorescencia ni en la hoja, se dejó este ensayo por un lapso de 12 h con el fin de conocer la citotoxicidad, encontrando que si fue citotóxico.

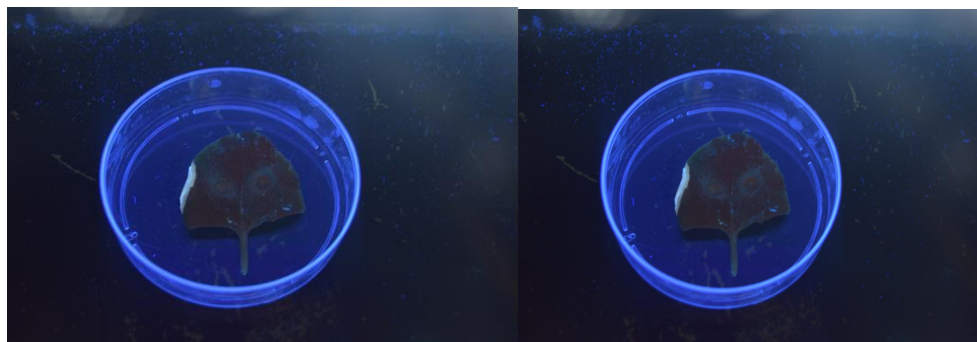


Figura 35. *N. benthamiana* inoculada con TPE minuto uno y veinte

En la imagen podemos observar la comparación de como el TFE aplicado se distribuyó en la hoja y no presento alguna anomalía (en este lapso) que nos demostrara la toxicidad obteniendo hasta el momento los resultados de esta molécula.

# CONCLUSIONES

1. Los compuestos sintetizados se caracterizaron satisfactoriamente, por medio de RMN  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$ , IR, EMAR, punto de fusión, obteniendo el compuesto 1 y cinco derivados de este (compuestos 2-6).
2. La obtención de compuesto 1 y sus derivados consta de 2 a 3 pasos de reacción la síntesis realizada requirió tiempo y conocimiento, así como las precauciones necesarias que el sistema de cada reacción empleaba, existieron reacciones que no resultaron como se planteó como en el caso del TFE-NH<sub>2</sub> reacción en la que no se logró obtener el producto deseado.
3. Reconociendo que la síntesis del compuesto 5 fue efectiva pero con un rendimiento bajo debido a la gran afinidad que este compuesto presenta hacia los disolventes.
4. En el caso del compuesto 6 la síntesis fue rápida alcanzando la nitración de tres posiciones, identificando la asimetría de la molécula, en este caso se requirió tiempo para la interpretación.
5. Mediante un estudio primario de actividad citotóxica los compuestos demuestran la selectividad en los diferentes tipos celulares. Las diferencias estructurales en las moléculas nos revelan la sensibilidad celular como es el caso del compuesto 2 no es citotóxico para U251 y HCT-15 siendo uno de los compuestos más viable y que posiblemente se sigan haciendo pruebas para conocer el potencial que puede llegar a tener.
6. El del compuesto 3 nos demuestra una alta inhibición para casi todas las líneas celulares reconociendo así que el compuesto puede llegar a ser el más activo a nivel citotóxico.
7. La obtención y los resultados de estos compuestos abren paso en el laboratorio para explorar derivados del compuesto 1 con diferentes sustituciones para seguir en el conocimiento que estos compuestos nos ofrecen Se lograron sintetizar 3 compuestos que pueden ser utilizados como posibles futuros biomarcadores



# REFERENCIAS

1. Kubin, R. "Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes". *J. of Luminescence*, **1983**, 27, 455–462
2. Yuning Hong, Y.; Lamab J. W. Y. Tang, B. Z. "Aggregation-induced emission" *Chem. Soc. Rev* **2011**, 40, 5361-5388
3. Cortinas C. Cancer Herencia y ambiente. **1991** 17.
4. Organizacion mundial de la salud. Cancer.[consultado [22/0/04/2016]  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>
5. Globocan Fast stats. Most frequent cancers: both sexes. **2012**.  
[http://globocan.iarc.fr/old/bar\\_sex\\_site\\_prev.asp?selection=3152&title=Breast&stati](http://globocan.iarc.fr/old/bar_sex_site_prev.asp?selection=3152&title=Breast&stati)  
[consultado 22/04/2016]
6. Arce et al, cancer de mama. *Cancerologia* **2011**: 6 77.
7. Anguiano, G; Biomarcadores moleculares: La nueva herramienta en la biotecnología médica y ambiental. *Entretextos*, **2013** 14, 51-59.
8. Sampedro, A; Vega,M; Ramis, G; Villalonga-Planells, R; Cell Uptake and Localization Studies of Squaramide Based Fluorescent Probes *Bioconjugate Chem* **2014**, 25, 1537
9. Bigbee W, Herberman RB. Tumor markers and immunodiagnosis. In: Bast RC Jr., Kufe DW, Pollock RE, et al. *Cancer Medicine*. **2003**.
10. Sunil, K. Yevgeniy, G. Applying genomics to organ transplantation medicine in both discovery and validation of biomarkers. National Institute of Health, **2007**, 14, 1948–1960.
11. Acuña, A. Amat-Guerri. Structure and formation of the fluorescent compound of lignum nephriticum. *Organic Letters* **2009** 11 3020
12. Holler, f. A, Douglas. R, Skoog & Stanley Principles of instrumental analysis **2006**
13. Guo, L; Zhang, X; Chen, J, H; et al, *Anal. Chem.* **2015**, 87, 1196
14. Qu, J; Kohl, C; Pottek, M; Mullen, K; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1528
15. H.Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635.
16. Xue, X.; Zhao, Y.; Dai, L.; Zhang, X.; Hao, X.; Zhang, C.; Huo, S.; Liu, J.; Liu, C.; Kumar, A.; Chen, W.-Q.; Zou, G.; Liang, X.-J. "Spatiotemporal Drug Release Visualized through

- a Drug Delivery System with Tunable Aggregation-Induced Emission" *Adv. Mater.* **2014**, 26, 712-717.
17. Kubin, R. "Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes". *J. of Luminescence*, **1983**, 27, 400–462
  18. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/R648MP> (visitado 22 de abril de **2016**)
  19. Hong, Y; Lam, W; Tang, B; Z. *Chem Comm.* **2009** 4332
  20. Biancardi, A. Biver, T. Secco, T. Mennucci, B. An investigation of the photophysical properties of minor groove bound and intercalated DAPI through quantum-mechanical and spectroscopic tools. *Chem. Phys* **2013**, 26, 320-332.
  21. Barkwan S, Rasheed H, Spoloso O. Preliminary evidence of a new microbial species capable of sustainable intracellular survival and transfer in mammalian cell lines. *Polymer Preprints* **2014**, 22, 92
  22. Nguyen, B. T.; Gautrot, J. E.; Ji, C.; Brunner, P.-L.; Nguyen, M. T.;Zhu, X. X. Enhancing the Photoluminescence Intensity of Conjugated Polycationic Polymers by Using Quantum Dots as Antiaggregation Reagents. *Langmuir* **2006**, 22, 4799
  23. Ju Mei, Nelson L. C. Leung, Ryan T. K. Kwok, Jacky W. Y. Lam, and Ben Zhong Tang Aggregation-Induced Emission: Together We Shine, United We Soar! *Chem. Rev.* **2015**, 11, 4722.
  24. Yuning Hong, Y.; Lamab J. W. Y. Tang, B. Z. "Aggregation-induced emission" *Chem. Soc. Rev* **2011**, 40, 5361-5388.
  25. Wang, J.; Mei, J.; Yuan, W.; Lu, P.; Qin, A.; Sun, J.; Ma, Y.; Tang,B. Z. Hyperbranched Polytriazoles with High Molecular Compressibility:Aggregation-Induced Emission and Superamplified Explosive Detection. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 405
  26. Shen, X. Y.; Wang, Y. J.; Zhang, H.; Qin, A.; Sun, J. Z.; Tang, B. Z. Conjugates of Tetraphenylethene and Diketopyrrolopyrrole: Tuning the Emission Properties with Phenyl Bridges. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 8747
  27. Schreivogel, A.; Maurer, J.; winter, R.; Baro, A.; Laschat, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 15, 3395.

- 28.** Kato, T; Kawaguchi, A; Hatanaka, K. *Biochem Biophys Res Commun* **2010**, 2, 384
- 29.** Hong, Y. N.; Chen, S. J.; Leung, C. W. T.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. Water-Soluble Tetraphenylethene Derivatives as Fluorescent “Light-Up” Probes for Nucleic Acid Detection and Their Applications in Cell Imaging. *Chem Asian J.* **2013**, 8, 1806
- 30.** Wang, H.; Zhao, X.; Gong, W.; Wang, Y.; Cheng, Y.; “A novel aggregation-induced emission based fluorescent probe for an angiotensin converting enzyme (ACE) assay and inhibitor screening”, *ChemComm*, **2014**, 50, 15075-15078.
- 31.** Xiyang Li\* Infiltration of *Nicotiana benthamiana* Protocol for Transient Expression via *Agrobacterium*. *Plant Science* **2011**, 1, 14.
- 32.** <http://www.abc.net.au/radionational/programs/offtrack/injection-stage-two2c-benth-28nicotiana-benthamiana29.jpg/4183298>
- 33.** Manahan, S; *Toxicological Chemistry and Biochemistry* **2003**.

# SECCIÓN EXPERIMENTAL

Todos los reactivos químicos (pureza>99,8% o similar): Benzofenona, cinc metálico en polvo, TiCl<sub>4</sub>, Cu (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, 4,4-dimetoxibenzofenona BBr<sub>3</sub>, Br<sub>2</sub>, Cloruro de butirilo, piridina, Raney-níquel, hidracina, se compraron de Sigma-Aldrich. Los disolventes (pureza>99,8%) utilizados fueron de grado reactivo de Sigma-Aldrich. Se secaron en un sistema de destilación THF utilizando: (Na°, benzofenona como indicador), en el caso del hexano se purificó pasándolo por una columna de 15 cm de gel de sílice Merck 60 E-F<sub>254</sub>.

El avance de las reacciones se monitoreó por TLC (Cromatografía de capa fina) y luz UV (254nm). Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns.

Las pruebas adaptadas al medio de cultivo RPMI-1640 adicionado con suero fetal bovino (10%), una mezcla de antibióticos-antimicóticos al 10% y 2 mm de glutamina. A estas líneas se les caracterizó el tiempo de duplicación y con ello se estableció la densidad de inóculo que se deposita en cada micropozo.

Línea celular	Órgano de origen	Tiempo duplicación (hrs)	Células/pozo	Concentración TCA (%)
K562	CML	19	5,000	50
HCT-15	colón	18.1	10,000	50
MCF-7	mama	25.6	5,000	50
PC-3	próstata	28.7	7,500	50
U251	S N C	25.4	7,500	50
SKLU	pulmon	25.4	7500	50

(TCA: ácido tricloroacético, CML: leucemia mieloblástica crónica, SNC: sistema nervioso central) (6).

Con excepción de la línea K562, las líneas restantes se adhieren a las botellas de cultivo y para cosecharlas se adiciona 1ml de 0.05% de tripsina-EDTA. Enseguida que las células se desprenden del sustrato plástico, se les adiciona de 5-10 ml de medio de

cultivo para inactivar la tripsina. Las células en suspensión son depositadas en tubos cónicos y centrifugadas por 3 min, ya formado el paquete celular se le agrega medio de cultivo para resuspender éstas.

De la suspensión se toma 0.05 ml del inóculo y se resuspende en 0.45ml de azul de tripano, colorante que permite contar a las células vivas. Determinando el número de células por ml, se hacen los ajustes necesarios para depositar el inóculo en un volumen de 100µl/pozo a la densidad ya antes mencionada. Cada placa es inoculada con dos líneas celulares por triplicado y es preincubada por 24 hrs a 37°C con una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> y 100% de humedad relativa, para favorecer la estabilidad de éstos antes de adicionar las sustancias a probar. Para un cernimiento primario (screening) de un compuesto puro se prueba la concentración más alta permitida 50 µM, y para el caso de extractos vegetales se emplea la concentración de 50 µg/ml. Todas las muestras son solubilizadas en dimetil sulfóxido (DMSO) o agua 100 veces más concentradas que la concentración a probar. Inmediatamente después de la preparación de las muestras en solución y en el caso de realizar curvas concentración-respuesta (5 diluciones se prueban) se agregan 100µl, siendo el volumen final del pozo de 200µl. Nuevamente la microplaca es incubada por 48 hrs bajo las condiciones antes mencionadas.

Al finalizar el periodo de incubación de los compuestos con las células, éstas son precipitadas (o fijadas) insitu añadiendo 50µl de una solución de TCA frío al 50% o al 80% para células adheridas y en suspensión, respectivamente, e incubadas a 4°C por 60 minutos. Se desecha el sobrenadante y las placas son lavadas 5 veces con agua deionizada y secadas al ambiente. El teñido de las células fijadas al sustrato del pozo, es con 100µl de una solución al 0.4% de sulforodamina B (SRB) e incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente. La SRB no unida es removida por 3 lavados con ácido acético al 1% y se dejan secar al ambiente. Las placas teñidas se les agrega 100µl de un buffer de tris y se agitan por 10 minutos para favorecer la disolución del complejo; a continuación se mide la DO en un lector de microplacas a una longitud de onda de 515nm.

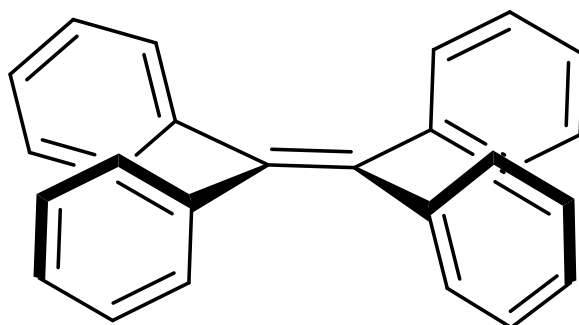
Los datos se procesan obteniendo el promedio de la DO de los 3 pozos/línea tratados con el compuesto (DO<sub>t</sub>), los 3 pozos tratados con DMSO (DO<sub>c</sub>) y 2 pozos de testigos,

es decir aquellos que no tiene células pero si compuesto (DO<sub>b</sub>). El % de inhibición del crecimiento (%IC) se calcula con la siguiente expresión:

$$\%IC = 100 - (DO_t - DO_b / DO_c - DO_b) * 100$$



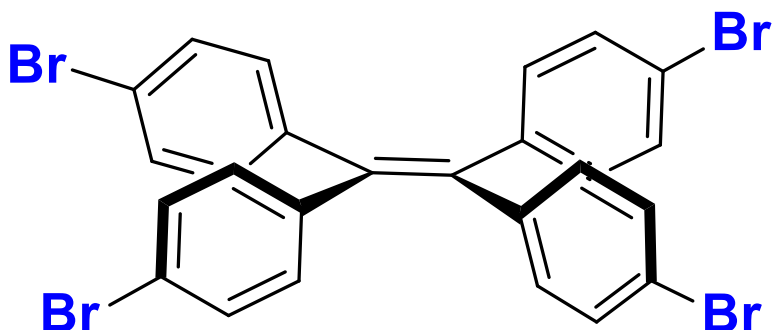
### Síntesis del compuesto 1: 1,1,2,2-tetrafeniletileno



Esquema 9 TFE

En un matraz de dos bocas con un refrigerante y agitador magnético se colocaron 1.076 g de cinc en polvo y 5 mL de THF seco, en baño de hielo hasta alcanzar una temperatura de 0 °C, se añaden 1.223 mL de  $\text{TiCl}_4$  gota a gota. Una vez completa la adición, se calentó a reflujo durante tres horas. Terminado el tiempo se agrega una solución de 1.5 g de benzofenona disuelta en 3 mL THF y se mantiene el calentamiento por 2 horas más. Concluido el tiempo de reacción se realizó una extracción con DCM (3X20mL). El residuos acuosos se remueven sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, sé utiliza papel filtro y el disolvente se evaporó y se obtuvo un sólido color amarillo el cual se lava con EtOH obteniendo así un sólido color blanco el cual se filtra al vacío para obtener un sólido cristalino color blanco con una masa de 1.217 g equivalentes a un 94% con un punto de fusión 205 °C. IR-TF ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3073, 3049 ( $\nu$  C-H aromáticos); 1594 y 1488 ( $\nu$  C=C); 744 y 695 ( $\delta$  C-H aromático monosustituido). RMN de  $^1\text{H}$  [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ] ( $\delta$ ): 7.14-7.00 (m, 20H). RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ] ( $\delta$ ): 140.9, 143, 131.3, 127.6, 126.4. EMAR (DART, m/z): Calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}$ , 332.44. Encontrado, 333.16 error: -3.41 ppm.

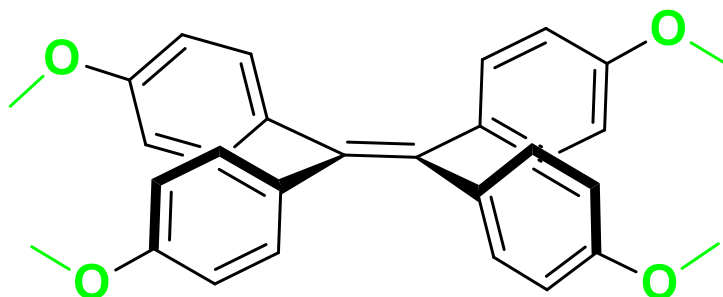
## Síntesis del compuesto 2: 1,1,2,2-tetrakis(4-bromofenil)etileno



Esquema 10 TFE-Br<sub>4</sub>

Se utilizó 1.2 g de 1,1,2,2-tetrafeniletileno los cuales se extendieron sobre un papel filtro encima de un embudo kitasato, debajo se colocó un matraz Erlenmeyer donde se añadió 2.5 mL de Br<sub>2</sub>, este se introdujo dentro de un desecador sellado. La reacción se dejó durante 5 días. Concluido el tiempo se obtuvo un sólido color verde el cual se disuelve en DCM y MeOH, se obtuvo una solución color amarillo y un precipitado color blanco el cual se filtró al vacío, recolectando así un sólido blanco cristalino con una masa de 2.105 g correspondiente a un 92% de rendimiento, con un punto de fusión de 230-232 °C. IR-TF (cm<sup>-1</sup>): 3048 (ν C-H aromáticos); 1581 (ν C=C); 819 (δ φ-Br); 819 (δ C-H aromático *para*-sustituido). RMN de <sup>1</sup>H [300MHz, CDCl<sub>3</sub>] (δ): 7.27-7.26 (m, 8H), 6.86-6.82 (m, 8H). RMN de <sup>13</sup>C [75 MHz, CDCl<sub>3</sub>] (δ): 139.6, 141.5, 131.3, 132.7, 121.3. EMAR (DART, m/z) Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>16</sub>Br<sub>4</sub>, 648.02. Encontrado, 648.80 error -3.46 ppm.

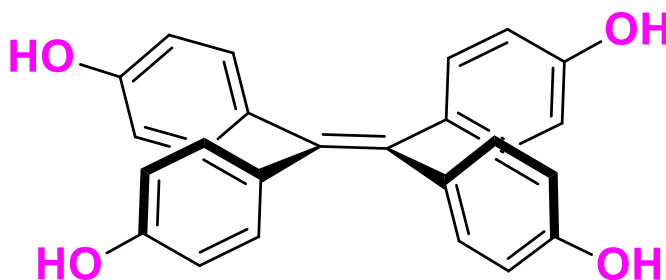
### Síntesis del compuesto 3: 1,1,2,2-tetrakis(4-metoxifenil) eteno



Esquema 11 TFE-metoxilo

En un matraz de dos bocas con un refrigerante y agitador magnético se colocaron 1.076 g de cinc en polvo y 5 mL de THF seco, en baño de hielo hasta alcanzar una temperatura de 0 °C, se añadió 1.223 mL de  $\text{TiCl}_4$  gota a gota. Una vez completa la adición, se calentó a reflujo durante tres horas. Terminado el tiempo se agregó una solución de 1 g de 4,4'-dimetoxibenzofenona disuelta en 3 mL THF y se mantuvo el calentamiento por 2 horas más. Concluido el tiempo de reacción se realizó una extracción con DCM (3X20mL). El residuos de agua se removieron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, sé utilizó papel filtro y el disolvente se evaporó y se obtuvo un sólido cristalino color blanco con una masa de 0.913 g equivalentes a un 91% con un punto de fusión 182 °C IR-TF ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3035, 3010 ( $\nu$  C-H aromáticos) 1603, 1572 ( $\nu$  C=C) 805 ( $\delta$  C-H aromático *para*-sustituido) RMN de  $^1\text{H}$  [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ] ( $\delta$ ) 6.98-6.95 (m, 8H), 6.68-6.65 (m, 8H) RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ] ( $\delta$ ) 137, 136, 132, 112, 157, 54, EMAR (DART, m/z) Calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{O}_4$  452.20 Encontrado: 453.20 error -4.02 ppm.

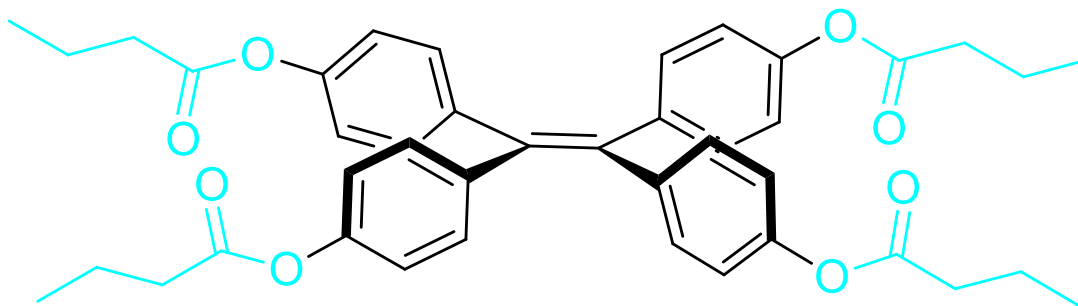
#### Síntesis del compuesto 4: 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail) tetrafenol



Esquema 12 TFE-Hidroxilo

En un matraz de dos bocas con un agitador magnético e introducido en una canastilla de hielo alcanzando 0°C se colocó 0.5 g 1,1,2,2-tetrakis(4-metoxifenil) eteno, 4mL de DCM una vez mezclado gota a gota se agregó 1.5mL de BBr<sub>3</sub> terminando la adición la reacción continuo por 8h pasado este tiempo la extracción del compuesto se realizó con metanol (3X15mL) se evaporo el disolvente a presión reducida obteniendo 0.349g correspondientes a un 69% y con un punto de fusión mayor a 230°C IR-TF (cm<sup>-1</sup>) 3212, 3030 (ν C-H aromáticos) 1692 (ν C=C) 829 (δ C-H aromático *para*-sustituido) RMN de <sup>1</sup>H [300MHz, Acetona-D] (δ) 6.86-6.83 (m,8H), 6.60-6.57 (m,8H) 8.20 (m,4H) RMN de <sup>13</sup>C [75 MHz, Acetona-D] (δ) 155, 135, 131, 114, 204, EMAR (DART, m/z) Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub> 396.14 Encontrado: 397.14 error-0.51ppm.

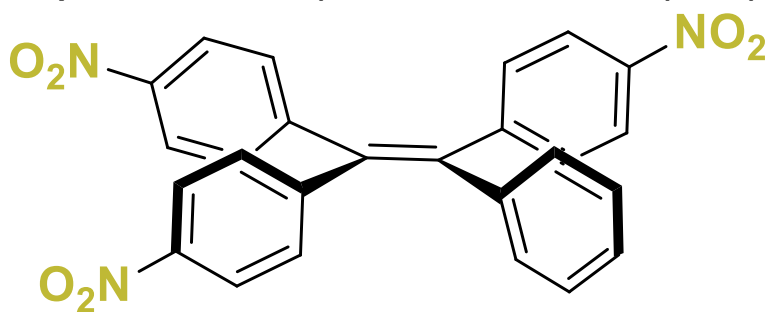
**Síntesis del compuesto 5: eteno-1,1,2,2-tetrailtetrakis(benceno-4,1-diilo) tetrabutirato**



Esquema 13 TFE-Ester

En un matraz de dos bocas con un agitador magnético se agregó 10mL de ACN 0.130mL de piridina 0.170 mL cloruro de butirilo esta mezcla se dejó reaccionar por 3 minutos, pasado este lapso, por otro lado en 3mL de ACN se disolvió 0.150g de 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail) tetrafenol se agregó gota a gota al matraz de dos bocas y se dejó 1h la reacción a temperatura ambiente la extracción del compuesto se realizó con DCM (3X10mL) se evaporó el disolvente a presión reducida obteniendo 0.375g correspondientes a 25% IR-TF ( $\text{cm}^{-1}$ ) ( $\nu$  C-H aromáticos) ( $\nu$  C=C) ( $\delta$  C-H aromático para sustituido) RMN de  $^1\text{H}$  [300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ] ( $\delta$ ) 7.02-6.99 (m,8H) 6.85-6.83 (m,8H) 2.51(m,4H) 1.74 (m,4H) 1.04 (m,4) HRMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ] ( $\delta$ ) 140.17, 139.24, 131.90, 120.54, 148.98, 171.46, 35.85, 18, 13.23 EMAR (DART, m/z) Calculado para  $\text{C}_{42}\text{H}_{44}\text{O}_8$  676.30 Encontrado 677.31 error-3.29ppm.

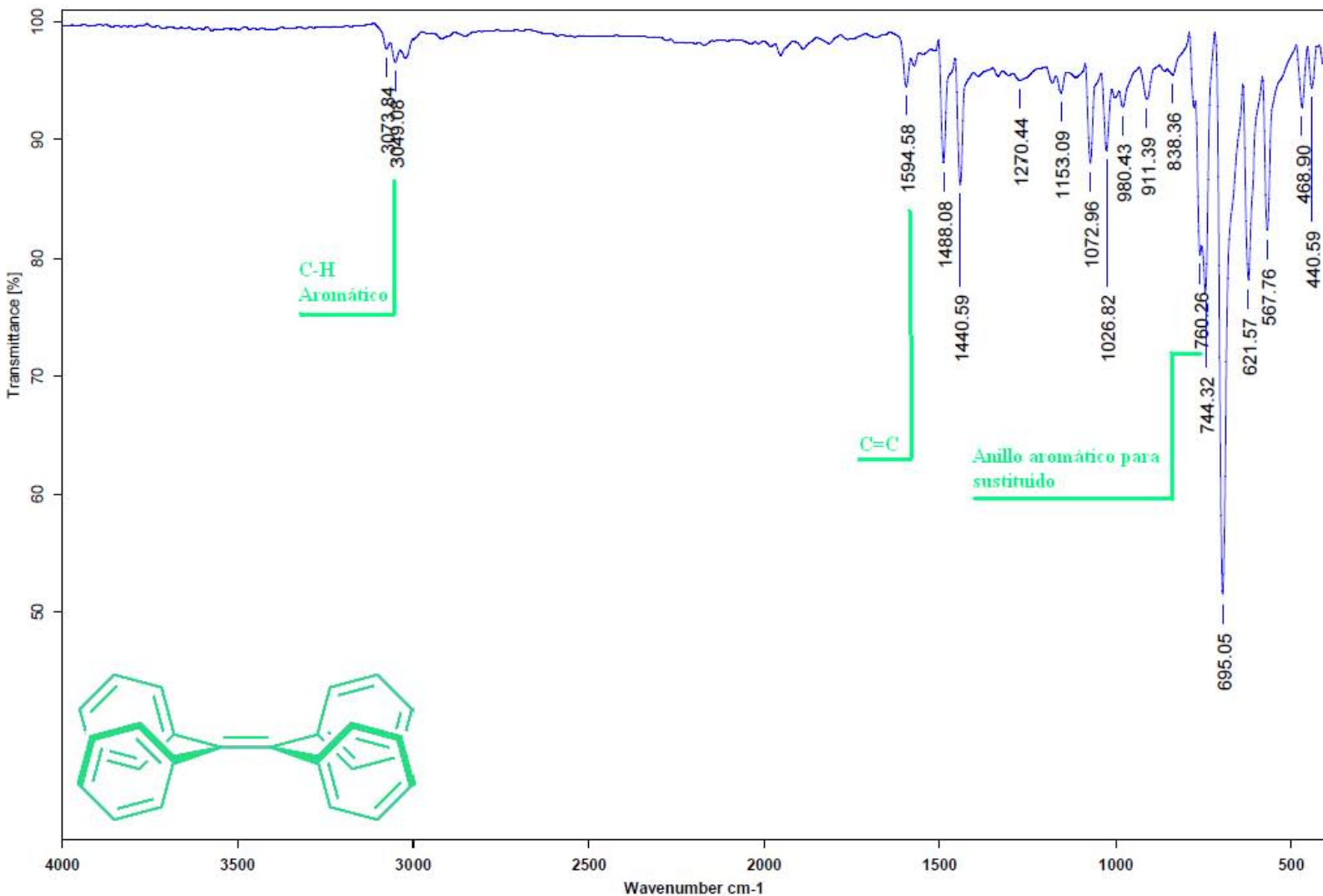
### Síntesis del compuesto 6: 4,4',4''-(2-feniletano-1,1,2-triilo) tris (nitrobenceno)



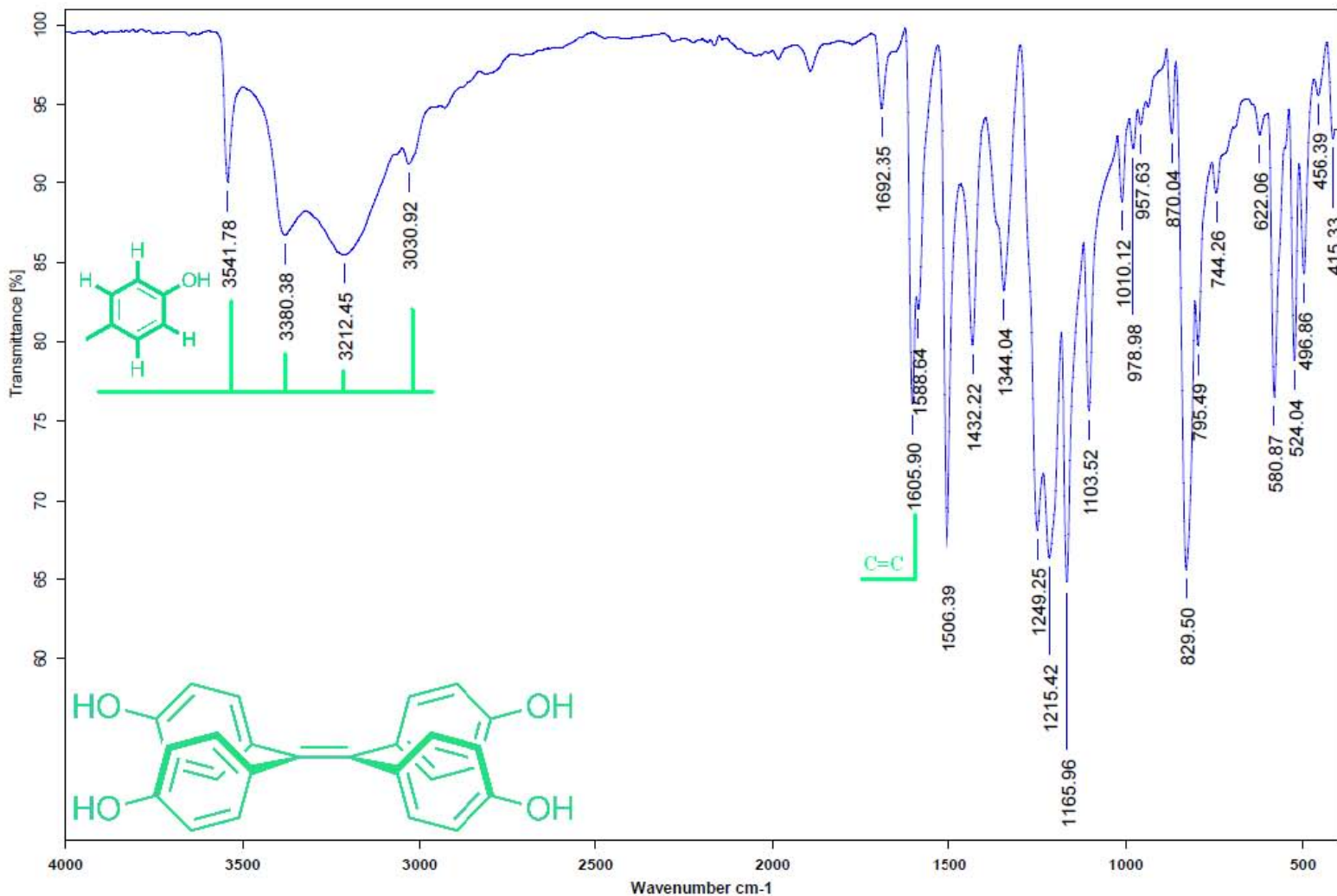
Esquema 14 TFE-Nitro

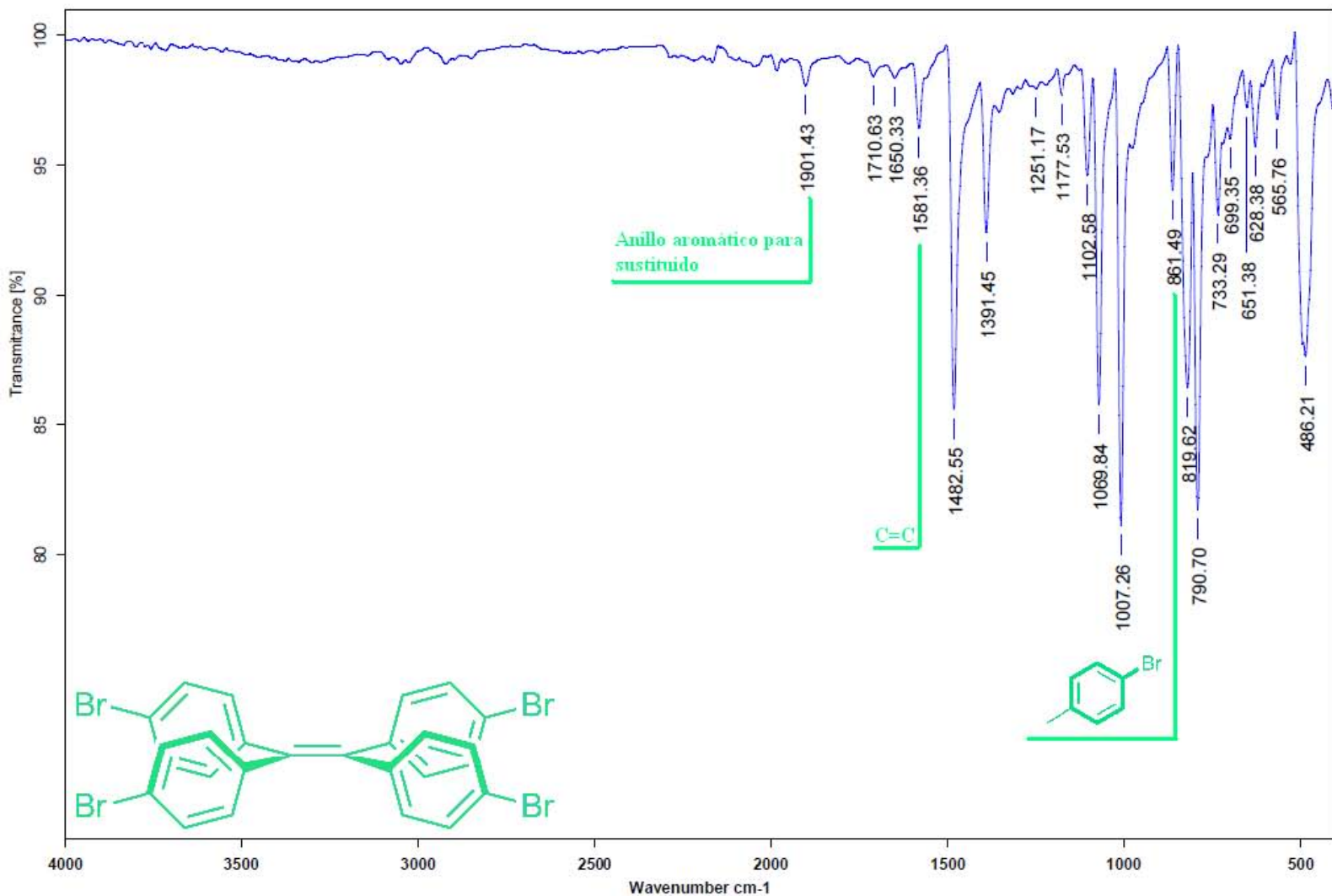
La reacción se realizó en un matraz de 2 bocas con un agitador magnético dentro de una canastilla de hielo alcanzando 0°C donde se agregaron 1.5mL de ácido acético glacial, 3.0 mL anhidro acético y 0.530g de nitrato de cobre esta mezcla estuvo en agitación hasta disolver el nitrato de cobre (10 min.) ya disuelto se agregó 1g de 1,1,2,2-tetrafeniletano manteniendo 0°C ya que la reacción es exotérmica, esta mezcla se deja por 10 minutos mas pasado este tiempo se colocó un refrigerante al matraz y se deja a reflujo 20 minutos más una vez terminado el tiempo la extracción se lleva acabo con agua se forma en la superficie un precipitado amarillo fosforescente se preparó un matraz kitasato conectado al vacío, embudo buchner con papel filtro se realizó la filtración del compuesto, una vez filtrado se preparó la columna de separación para la purificación usando como eluyente hexano obteniendo 0.860g correspondientes a un 86% de rendimiento y un punto de fusión mayor a 230°C IR-TF (cm<sup>-1</sup>) 3061 (ν C-H aromáticos) 1662 (ν C=C) 975 (δ C-H aromático *para*-sustituido) RMN de <sup>1</sup>H [300MHz, CDCl<sub>3</sub>] (δ) 8.01 (m, 6H) 7.18 (m, 6H) 6.97-6.95 (m, 5H) RMN de <sup>13</sup>C [75 MHz, CDCl<sub>3</sub>] (δ) 146.61, 148.10, 147.99, 128.31, 123.15, 147.79, 123.41, 130.50, 131.49, 123.41, 146.41, 138.62, 140.17, 143.75, EMAR (DART, m/z) Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> 467.11 Encontrado 468.12 error -4.65 ppm

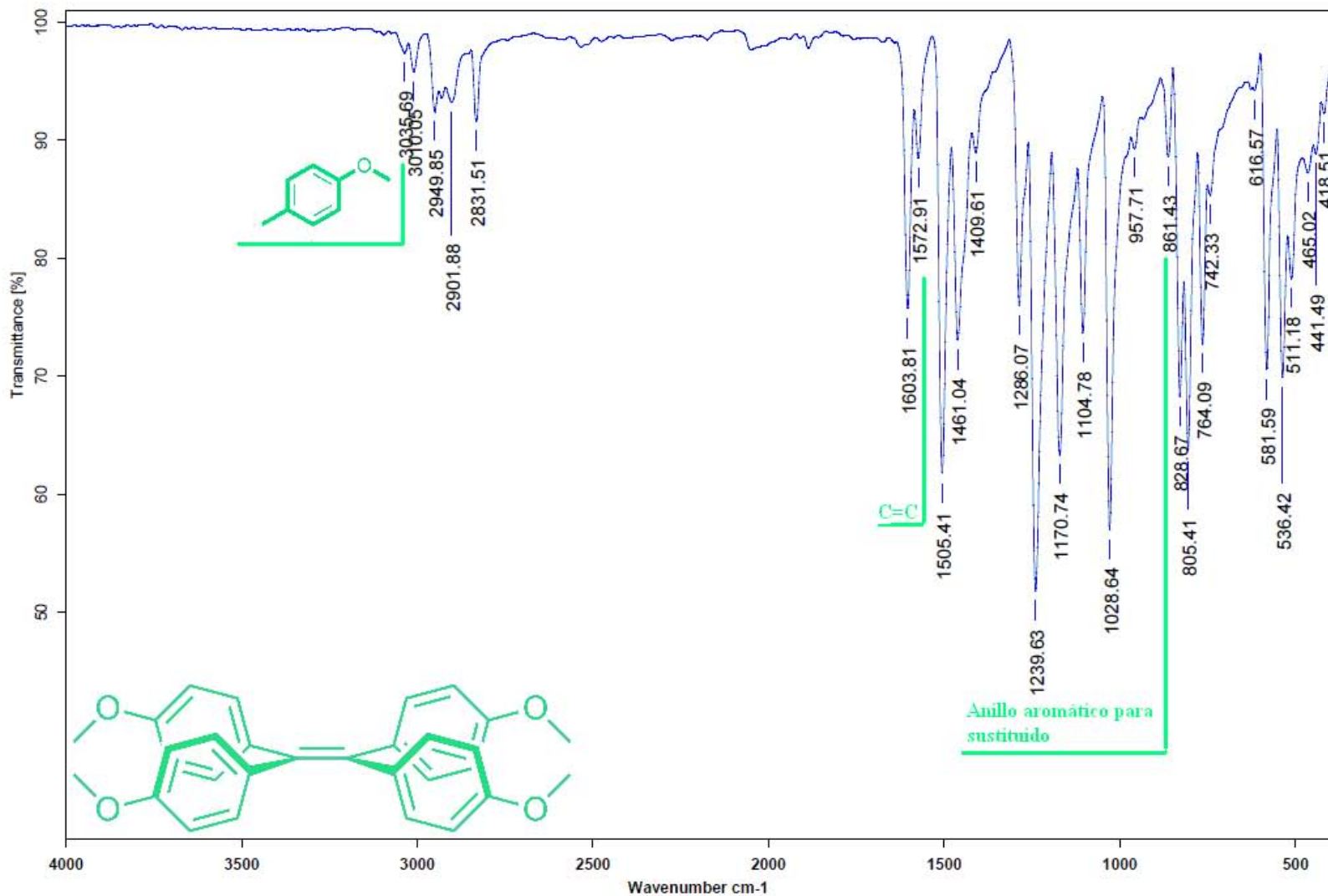
# ANEXO

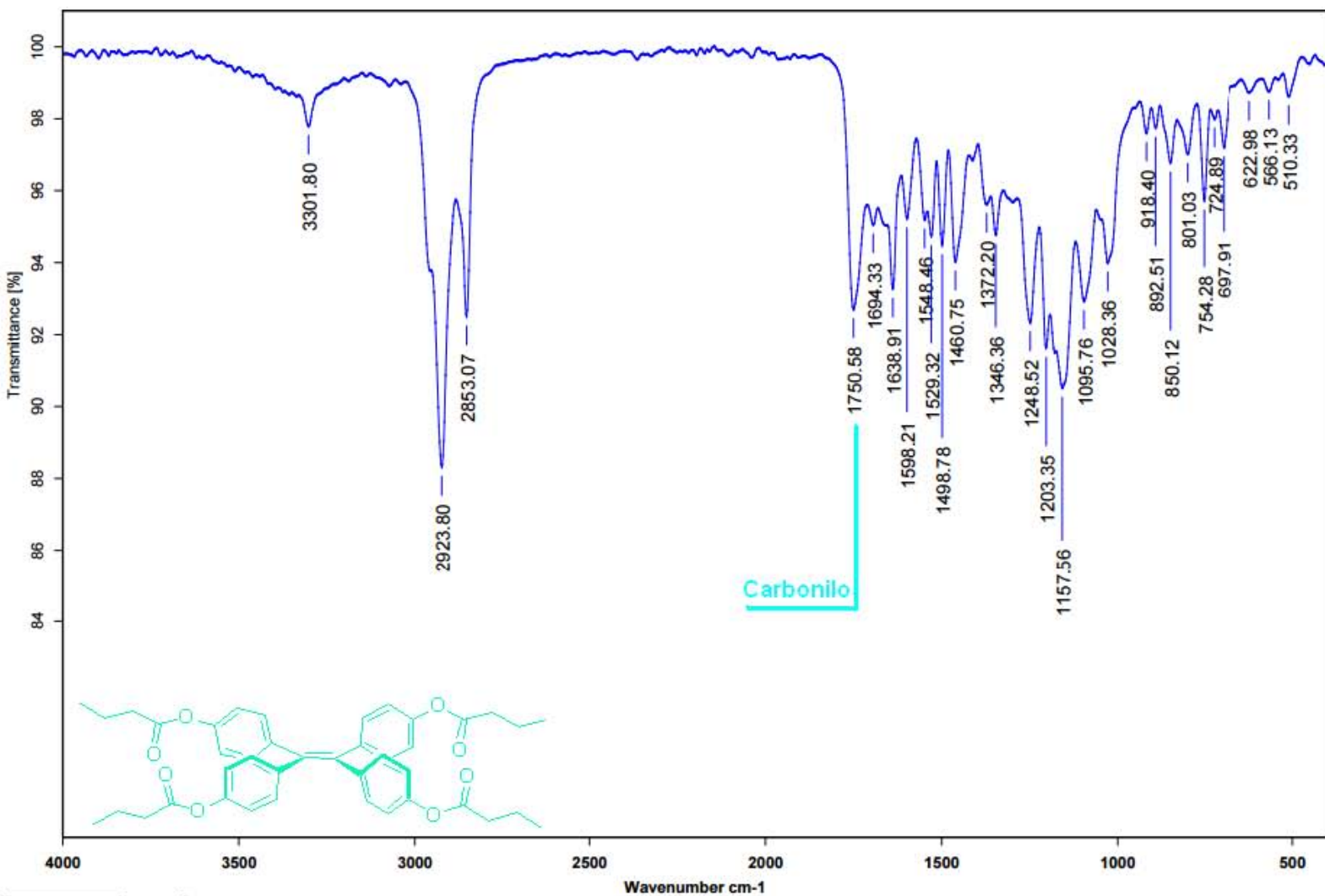


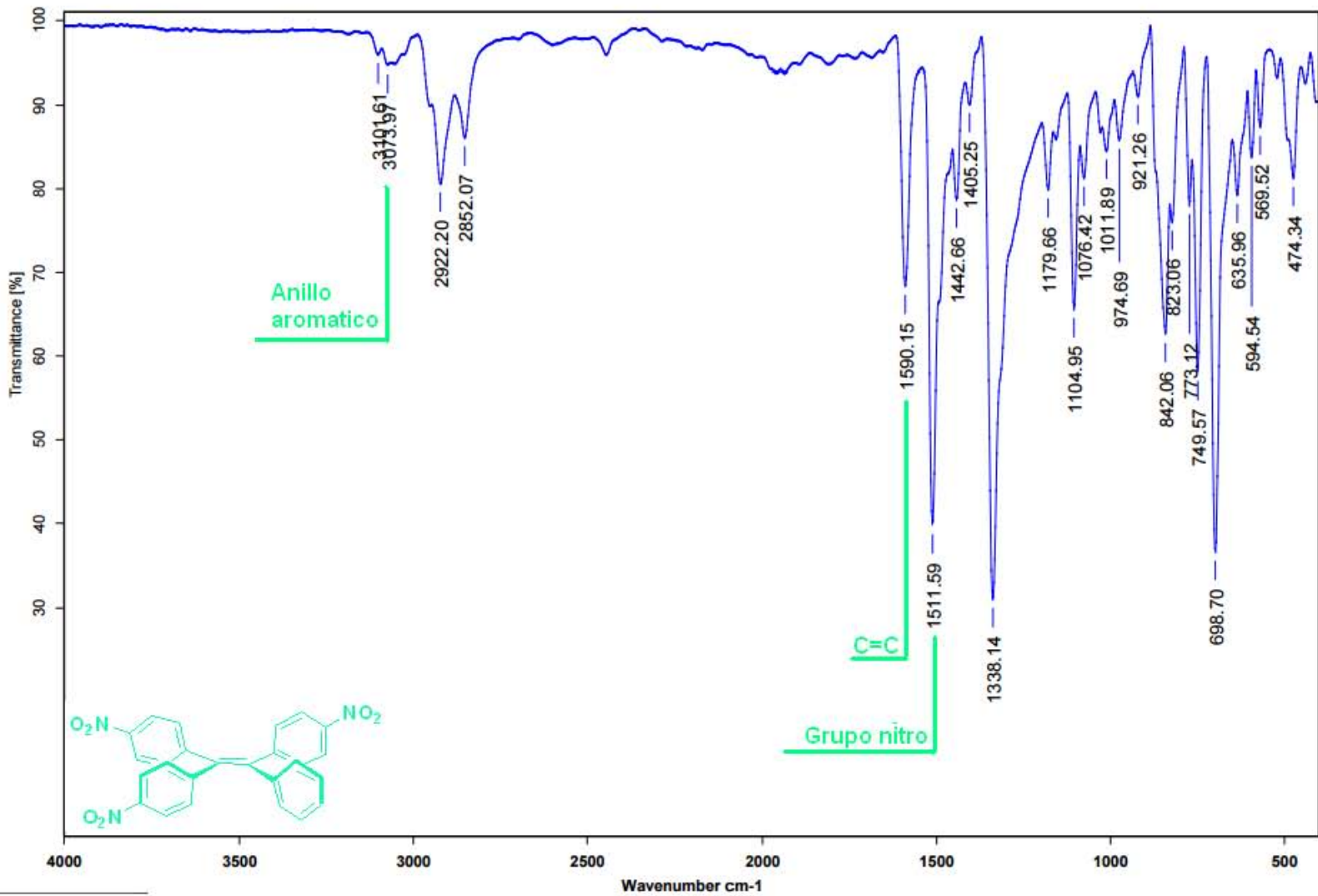












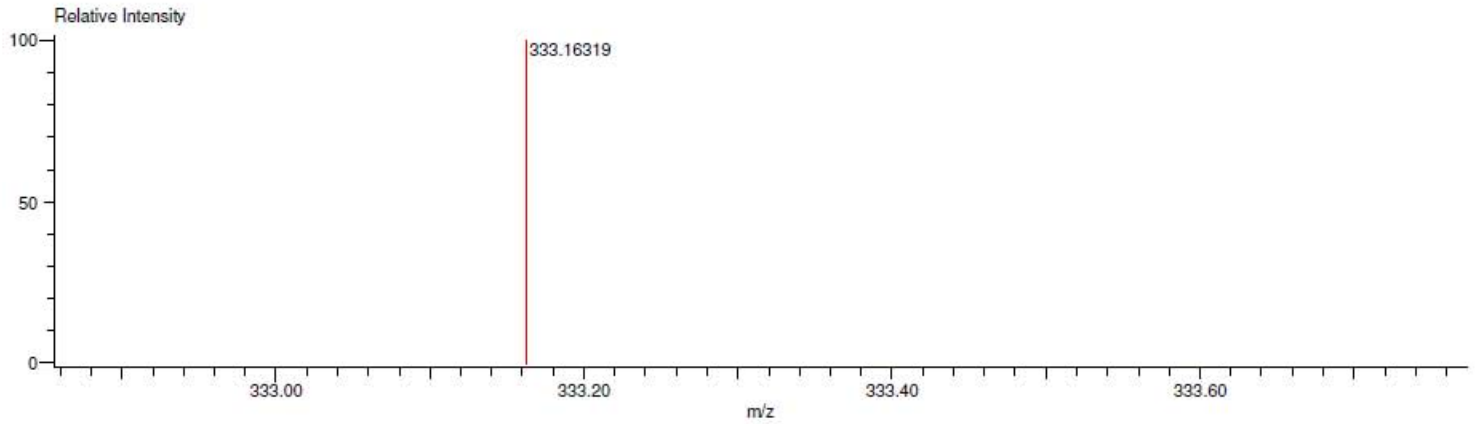
Data:213 TPE  
 Sample Name:Dr Braulio R  
 Description:  
 Ionization Mode:ESI+  
 History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[5.0%];Correct Base[5.0%];Average(MS[1] 2..2)

Acquired:1/22/2016 11:15:50 AM  
 Operator:AccuTOF  
 Mass Calibration data:Cal\_Peg\_600  
 Created:1/22/2016 11:44:32 AM  
 Created by:AccuTOF

Charge number:1  
 Element:<sup>12</sup>C:0 .. 30, <sup>1</sup>H:0 .. 30

Tolerance:3.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 20.0 (Fraction:Both)



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
333.16319	483730.02	333.16433	-1.14	-3.41	<sup>12</sup> C <sub>26</sub> <sup>1</sup> H <sub>21</sub>	16.5

Data:121 rm-tpe-br-1

Sample Name:Dr. Braulio Rodriguez/ Operador: Carmen Garcia-Javier Perez

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[5.0%]];Correct Base[5.0%];Average(MS[1] 2..3)

Acquired:1/15/2016 1:48:04 PM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal\_Peg\_600

Created:1/15/2016 2:55:48 PM

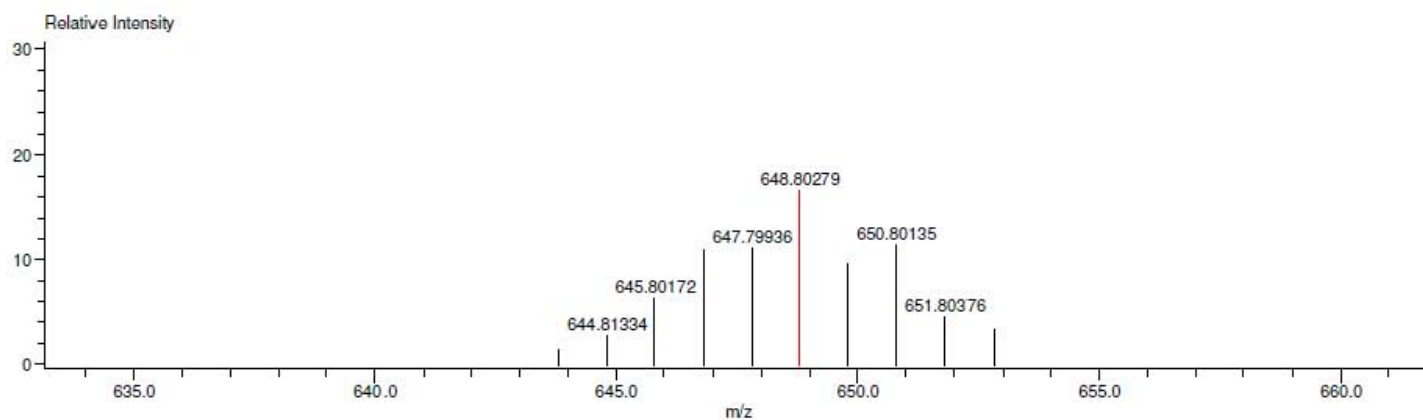
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:3.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element:<sup>12</sup>C:0 .. 100, <sup>1</sup>H:0 .. 200, <sup>79</sup>Br:0 .. 4, <sup>81</sup>Br:0 .. 4



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
648.80279	12249.87	648.80228	0.51	0.79	<sup>12</sup> C <sub>26</sub> <sup>1</sup> H <sub>17</sub> <sup>79</sup> Br <sub>2</sub> <sup>81</sup> Br <sub>2</sub>	16.5

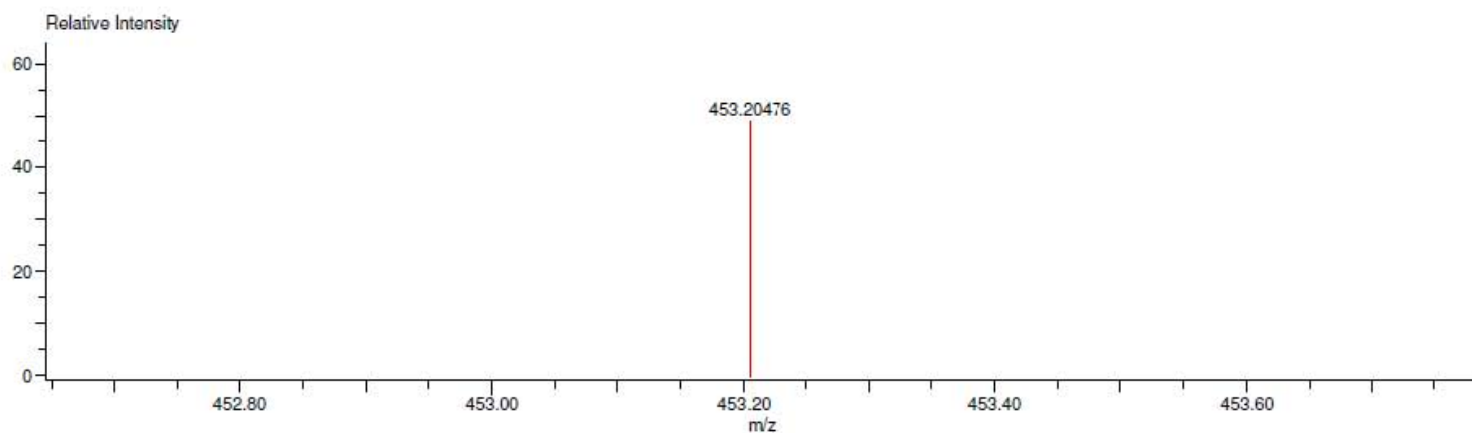
Data:214 TPE-OMe  
Sample Name:Dr Braulio R  
Description:  
Ionization Mode:ESI+  
History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[5.0%]];Correct Base[5.0%];Average(MS[1] 1..1)

Acquired:1/22/2016 11:19:47 AM  
Operator:AccuTOF  
Mass Calibration data:Cal\_Peg\_600  
Created:1/22/2016 11:49:43 AM  
Created by:AccuTOF

Charge number:1  
Element:<sup>12</sup>C:0 .. 30, <sup>1</sup>H:0 .. 30, <sup>16</sup>O:0 .. 10

Tolerance:3.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 20.0 (Fraction:Both)



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
453.20476	277192.00	453.20658	-1.82	-4.02	<sup>12</sup> C <sub>30</sub> <sup>1</sup> H <sub>29</sub> <sup>16</sup> O <sub>4</sub>	16.5



Data:2066 TPE-OH

Sample Name:Dr Rodriguez Braulio

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[5.0%];Correct Base[5.0%];Average(MS[1] 1..1)

Acquired:7/28/2015 10:07:30 AM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal\_Peg\_600

Created:11/27/2015 1:22:06 PM

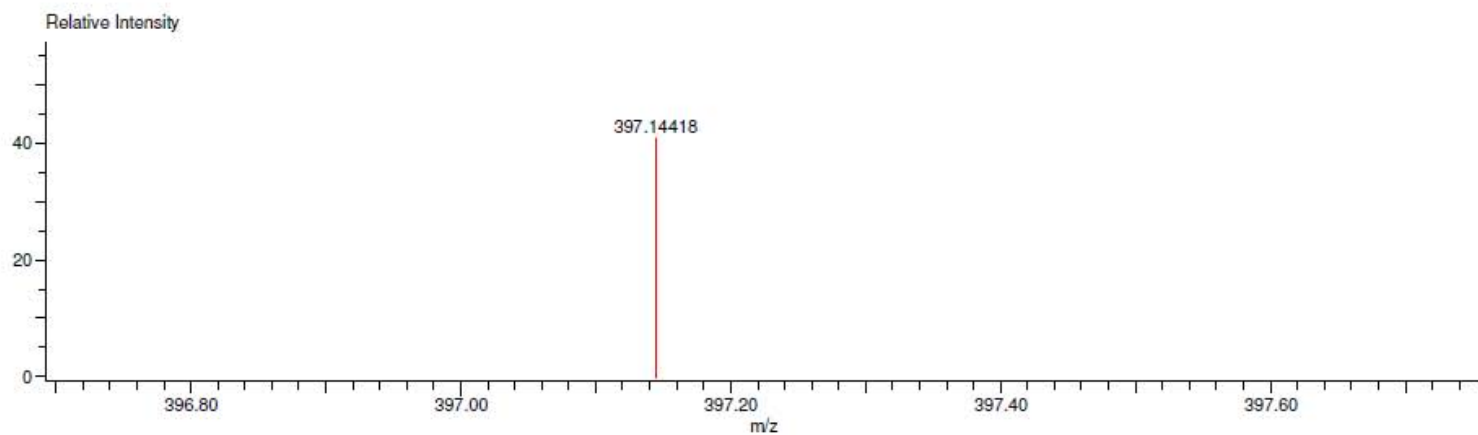
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:3.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:Both)

Element:<sup>12</sup>C:0 .. 100, <sup>1</sup>H:0 .. 200, <sup>19</sup>F:0 .. 0, <sup>17</sup>I:0 .. 0, <sup>16</sup>O:0 .. 4



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
397.14418	3611.63	397.14398	0.20	0.51	<sup>12</sup> C <sub>26</sub> <sup>1</sup> H <sub>21</sub> <sup>16</sup> O <sub>4</sub>	16.5

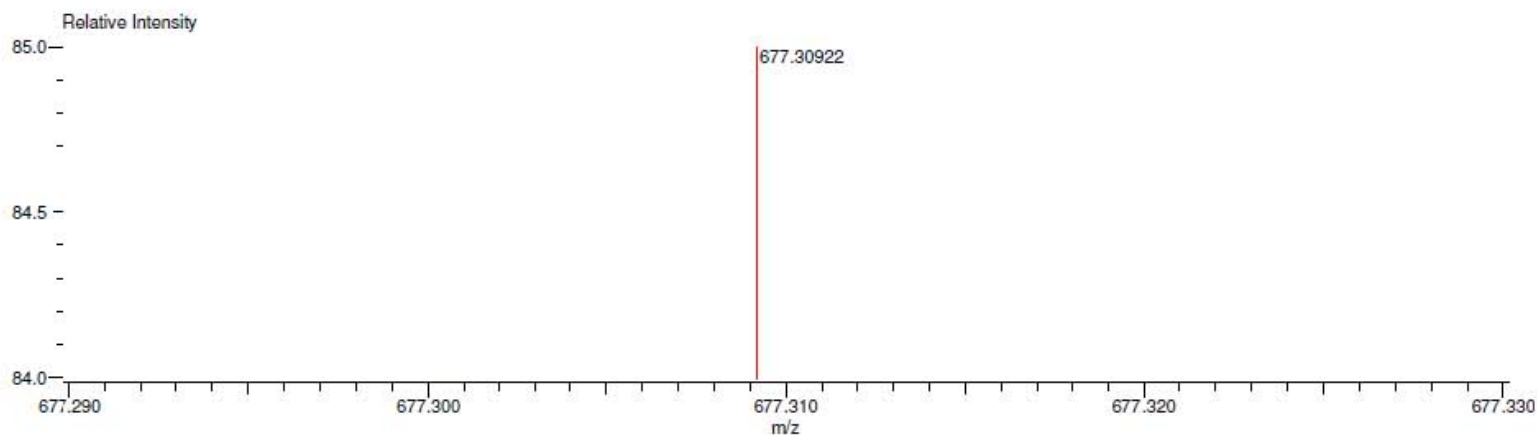
Data:945 WR-TPE-Ester  
 Sample Name:Dr. Braulio Rodriguez  
 Description:  
 Ionization Mode:ESI+  
 History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[5.0%];Correct Base[5.0%];Average(MS[1] 1)

Acquired:3/11/2016 1:06:43 PM  
 Operator:AccuTOF  
 Mass Calibration data:Cal\_Peg\_600  
 Created:3/31/2016 9:39:38 AM  
 Created by:AccuTOF

Charge number:1  
 Element:<sup>12</sup>C:0 .. 50, <sup>1</sup>H:0 .. 100, <sup>16</sup>O:0 .. 10

Tolerance:3.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 30.0 (Fraction:.5)



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
677.30922	49851.25	677.31144	-2.23	-3.29	<sup>12</sup> C <sub>42</sub> <sup>1</sup> H <sub>45</sub> <sup>16</sup> O <sub>8</sub>	20.5

Data:54 WR-63-4

Sample Name:Dr Rodriguez Braulio /Operador: Carmen Garcia-Javier Perez

Description:

Ionization Mode:ESI+

History:Determine m/z[Peak Detect[Centroid,30,Area];Correct Base[5.0%]];Correct Base[5.0%];Average(MS[1] 0..1)

Acquired:1/12/2016 12:29:54 PM

Operator:AccuTOF

Mass Calibration data:Cal\_Peg\_600

Created:1/25/2016 8:48:55 AM

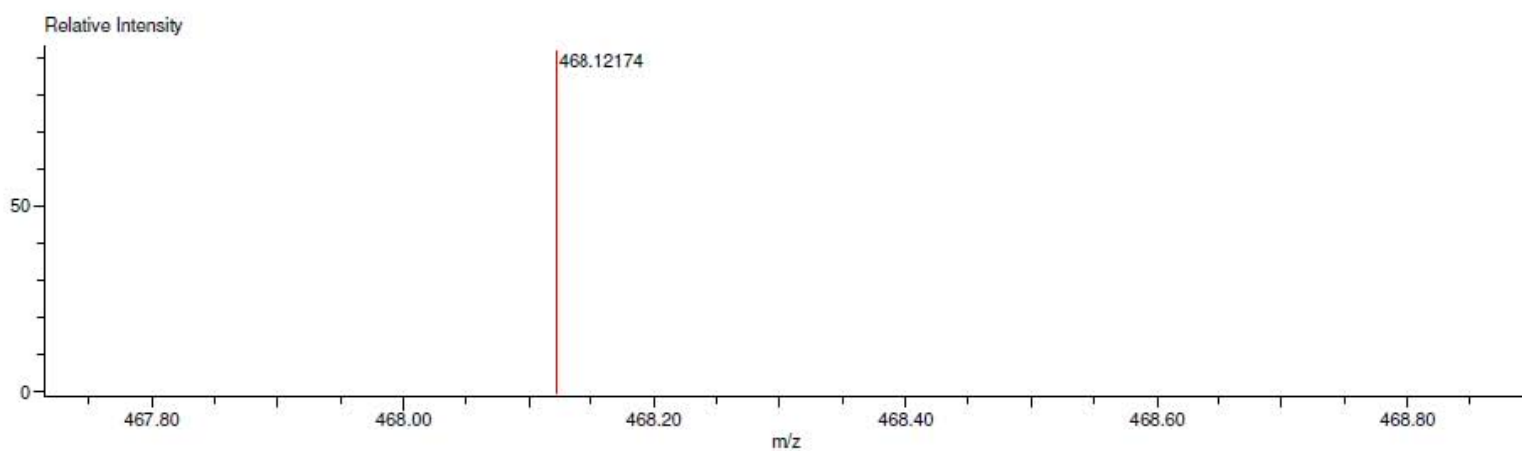
Created by:AccuTOF

Charge number:1

Tolerance:3.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 20.0 (Fraction:Both)

Element:<sup>12</sup>C:0 .. 100, <sup>1</sup>H:0 .. 200, <sup>14</sup>N:0 .. 4, <sup>16</sup>O:0 .. 6



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
468.12174	274119.50	468.11956	2.18	4.65	<sup>12</sup> C <sub>26</sub> <sup>1</sup> H <sub>18</sub> <sup>14</sup> N <sub>3</sub> <sup>16</sup> O <sub>6</sub>	19.5