



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ANÁLOGOS DE
CURCUMINA Y SUS COMPLEJOS METÁLICOS DE
COBRE**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO**

PRESENTA

JUAN CARLOS MACHADO RODRÍGUEZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX. 2019



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: Sánchez Mendoza Ana Adela
VOCAL: Mendoza Pérez Jacinto Eduardo
SECRETARIO: Enríquez Habib Raúl Guillermo
1er. SUPLENTE: Zúñiga Villarreal Noé
2° SUPLENTE: Pérez Díaz José Oscar Humberto

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO DE QUÍMICA (IQ)

LABORATORIO 1-5

ASESOR DEL TEMA:

DR. RAÚL GUILLERMO ENRÍQUEZ HABIB

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. WILLIAM EFREN MEZA MORALES

SUSTENTANTE:

JUAN CARLOS MACHADO RODRÍGUEZ

Esta tesis se realizó en el laboratorio 1-5 del Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección del Dr. Raúl Guillermo Enríquez Habib. La tesis contó con el apoyo económico de DGAPA PAPIIT-UNAM (IN208516), del CONACYT (beca Exp Ayte 15619) y el proyecto CB-252524.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Química, por brindarme los espacios y los medios necesarios para realizar el presente trabajo de investigación.

A la Facultad de Química por proporcionarme los conocimientos y espacios necesarios para mi formación.

Al Dr. Raul G. Enríquez Habib por apoyarme incondicionalmente en la realización del proyecto por sus enseñanzas y apoyo brindado.

Al M. en C. William Efren Meza Morales por su apoyo y enseñanzas a lo largo del proyecto.

Al honorable jurado por dedicar su valioso tiempo a la revisión de esta tesis y sus comentarios que enriquecieron el trabajo.

A la Dra. Ma. Del Consuelo Socorro Sandoval y la Q.F.B Ana Adela Sánchez Mendoza por su apoyo y amistad incondicional en la carrera.

A mi familia por el apoyo incondicional.

A mis compañeros del laboratorio.

A la M. en C. María Teresa Obdulia Ramírez Apan por su valioso aporte en la medición de pruebas biológicas.

Al Dr. Rubén Alfredo Toscano por su valioso aporte en la obtención de las estructuras por difracción de rayos X.

A la M. en C. Lucero Mayra Rios Ruiz por su apoyo en la obtención de espectros de masas.

A la M. en C. Virginia Gómez Vidales por apoyo en la obtención de espectros de EPR.

A la Q. María de la Paz Orta Pérez por su aporte en la obtención de Análisis elemental.

A la Q.F.B. María del Rocío Patiño Maya por su valioso aporte en la obtención de los espectros de IR y Uv-vis.

Al LURMN por su valioso aporte en la obtención en los espectros de RMN.

*“No es oro todo lo que reluce,
Ni toda la gente errante anda perdida.”
-J.R.R.Tolkien*

Resumen

1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
3. Hipótesis	6
4. Objetivos	6
4.1 Generales	
4.2 Particulares	
5 Sección experimental	7
5.1 Generalidades	
5.2 Síntesis	9
5.2.1 Procedimiento para la síntesis de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-difenilhepta-1, 4,6-trien-3-ona (Fenilcurcumina)	9
5.2.2 Procedimiento para la síntesis de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-bis (1-metil-1H-pirrol-2-il) hepta-1, 4,6-trien-3-ona. (N-metilpirrolcurcumina)	10
5.2.3 Procedimiento para la síntesis de (1E, 4Z, 6E)-1,7-di (furan-2-il)-5-hidroxihepta-1,4,6-trien-3-ona (Furanocurcumina).	10
5.2.4 Procedimiento para la síntesis de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-di (tiofen-2-il) hepta-1, 4,6-trien-3-ona. (Tiofenocurcumina)	11
5.3 Complejación con un centro metálico de cobre	12
5.3.1 Procedimiento para la síntesis de Fenilcurcumina-Cu	
5.3.2 Procedimiento para la síntesis de N-metilpirrolcurcumina-Cu	
5.3.3 Procedimiento para la síntesis de Furanocurcumina-Cu	
5.3.4 Procedimiento para la síntesis de Tiofenocurcumina-Cu	
6 Resultados y discusión	15
6.1 Fenilcurcumina	15
6.1.1 Resonancia Magnética Nuclear	
6.1.2 Espectrometría de Masas	
6.1.3 Análisis Elemental	
6.1.4 Espectroscopía Infrarroja	
6.1.5 Espectroscopía Uv-Visible	
6.2 N-metilpirrolcurcumina	17
6.2.1 Resonancia Magnética Nuclear	
6.2.2 Espectrometría de Masas	
6.2.3 Análisis Elemental	
6.2.4 Espectroscopía Infrarroja	
6.2.5 Espectroscopía Uv-Visible	

6.2.6	Difracción de rayos X de monocristal	
6.3	Furanocurcumina	20
6.3.1	Resonancia Magnética Nuclear	
6.3.2	Espectrometría de Masas	
6.3.3	Análisis Elemental	
6.3.4	Espectroscopía Infrarroja	
6.3.5	Espectroscopía Uv-Visible	
6.4	Tiofenocurcumina	23
6.4.1	Resonancia Magnética Nuclear	
6.4.2	Espectrometría de Masas	
6.4.3	Análisis Elemental	
6.4.4	Espectroscopía Infrarroja	
6.4.5	Espectroscopía Uv-Visible	
6.4.6	Difracción de rayos X de monocristal	
6.5	Fenilcurcumina-Cu	26
6.5.1	Resonancia Paramagnética Electrónica	
6.5.2	Análisis elemental	
6.5.3	Espectroscopía Uv-Vis	
6.5.4	Espectroscopía Infrarroja	
6.5.5	Espectrometría de Masas	
6.5.6	Difracción de rayos X de monocristal	
6.6	N-metilpirrolcurcumina-Cu	30
6.6.1	Resonancia Paramagnética Electrónica	
6.6.2	Análisis elemental	
6.6.3	Espectroscopía Uv-Vis	
6.6.4	Espectroscopía Infrarroja	
6.6.5	Espectrometría de Masas	
6.7	Furanocurcumina-Cu	32
6.7.1	Resonancia Paramagnética Electrónica	
6.7.2	Análisis elemental	
6.7.3	Espectroscopía Uv-Vis	
6.7.4	Espectroscopía Infrarroja	
6.7.5	Espectrometría de Masas	
6.7.6	Difracción de rayos X de monocristal	
6.8	Tiofenocurcumina-Cu	36
6.8.1	Resonancia Paramagnética Electrónica	
6.8.2	Análisis elemental	
6.8.3	Espectroscopía Uv-Vis	
6.8.4	Espectroscopía Infrarroja	

- 6.8.5 Espectrometría de Masas
- 6.8.6 Difracción de rayos X de monocristal

6.9 Pruebas Biológicas	<u>40</u>
7 Conclusiones	<u>41</u>
8 Bibliografía	<u>42</u>
9 Anexo	<u>47</u>
10 Artículo: "A new family of homoleptic copper complexes of curcuminoids: Synthesis, Characterization and biological properties"	<u>134</u>

Resumen

El presente trabajo describe el estudio de la interacción metal-ligante entre diferentes heptanoides β -dicarbonílicos análogos al compuesto [(1E,6E)-1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona] (Curcumina) con cobre. Los derivados fueron obtenidos a partir de la condensación de la 2,4-pentanediona con aldehídos aromáticos (Benzaldehído, N-metilpirrolcarboxaldehído, Furfural, 2-Tiofenocarboxaldehído, los heterociclos fueron elegidos debido a la variedad de biocompuestos que contienen (Nitrógeno, Oxígeno y Azufre).

Los análogos formados se coordinan con un centro metálico de cobre a través de la funcionalidad β -dicetona. Se eligió el metal de cobre debido a su importancia en funciones fisiológicas.

Se obtuvieron tres análogos de Curcumina: N-metilpirrolcurcumina, Furanocurcumina y Tiofenocurcumina y un curcuminoide: Fenilcurcumina, los cuales fueron complejados con cobre. Las estructuras cristalinas obtenidas para los complejos mostraron geometrías tipo cuadrado plano. Los ligantes y complejos fueron caracterizados por métodos fisicoquímicos y se determinaron algunas propiedades biológicas.

1. Introducción

La Curcumina [(1E, 6E)-1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona] es un componente proveniente del rizoma de la Cúrcuma, la cual es nativa del sur y sudeste de Asia. A lo largo de la historia ha tenido múltiples aplicaciones como especia y colorante debido a su color amarillo/naranja, el cual es dado por sus principales componentes (Curcumina, desmetoxicurcumina y bisdesmetoxicurcumina). La Curcumina fue aislada por vez primera en 1815, pero no fue sino hasta 1910 cuando Lampe elucidó la estructura. Desde entonces se desencadenó una serie de estudios para esta molécula [1]. Los curcuminoides son los derivados estructurales de la Curcumina siendo esta sustituida en los anillos aromáticos por cualquier grupo R deseado (ver figura 1a), por otro lado, los análogos de Curcumina son aquellos que conservan su estructura de la parte heptanóica pero los grupos laterales (anillos sustituidos de benceno) son totalmente sustituidos por un anillo aromático de heterociclo o cualquier otro sustituyente diferente de benceno (ver figura 1b).

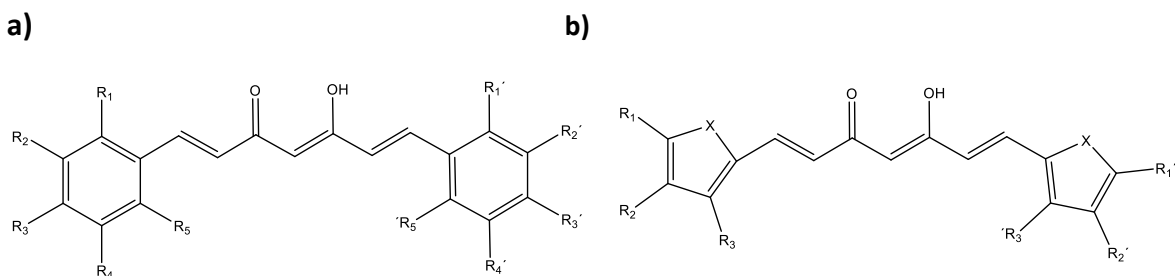


Figura 1. Definición de a) Curcuminoides b) análogos de Curcumina

En las últimas décadas ha habido numerosos estudios para establecer las propiedades medicinales de la Cúrcuma y Curcumina, siendo los más relevantes sus características antiinflamatorias, antisépticas, anti-Alzheimer, anticancerígena y antioxidante [2-8]. La Curcumina presenta una solubilidad baja en agua siendo sus tres constantes de acidez las siguientes: pKa1=8.38, pKa2= 9.88 y pKa3= 10.51 [9], por lo que posee un carácter lipofílico. Los curcuminoides son estables a pH ligeramente ácidos pero inestables a pH básicos y neutro, y su baja solubilidad hace que su biodisponibilidad no sea muy alta [10].

Se han encontrado muchos tipos de proteínas que interactúan directamente con la Curcumina incluyendo enzimas [11], proteínas quinasas [12], proteínas reductasas [13], acarreadora de proteínas [14], moléculas antiinflamatorias [15], DNA [16], RNA [17] y el factor nuclear-kappa β (NF-κβ) [18-19] entre otros.

La reacción realizada por H.J.J. Pabon en 1964^[20] es el método más utilizado para la síntesis de Curcumina y sus derivados, partiendo de una condensación entre 2,4-pentanodiona y vainillina se puede obtener Curcumina. A través de los años se ha ido mejorando y modificando esta reacción incluso llegándola a realizar en microondas ^[21] para la obtención de curcuminoides porque al sustituir la vainillina por aldehídos aromáticos o aldehídos de heterociclos pueden presentarse una amplia diversidad de derivados de Curcumina. Con esta gama de curcuminoides y análogos a la Curcumina se han realizado una serie de estudios de complejación con diferentes centros metálicos los cuales muestran características interesantes como antioxidantes, anticancerígenas, captura de radicales libres y la reducción de volumen de tumores ^[22-36].

2. Antecedentes

La especie *Curcuma longa*, de la familia *Zingiberaceae*, es nativa del sur y sudeste de Asia donde las civilizaciones la han utilizado por cientos de años y hoy son utilizados como una panacea para tratar enfermedades como la artritis, indigestión e inclusive varios tipos de condiciones de piel^[37].

La Curcumina (CUR), desmetoxicurcumina (DMC) y bisdesmetoxicurcumina (BDMC) son los componentes principales provenientes del rizoma de la Cúrcuma, a los cuales se les atribuyen principalmente la actividad farmacológica de la cúrcuma^[38], encontrándose la composición de estos tres curcuminoides en los siguientes rangos: CUR 52-63%, DMC 19-27% y BDMC 18-28%^[39]. Los curcuminoides han sido caracterizados como seguros por la “*Food And Drug Administration*” (FDA) de los Estados Unidos.

La Curcumina fue descubierta aproximadamente hace 200 años por Vogel y Pelletier^[40], y fue caracterizada por primera vez por Miłobędzka *et al*^[41] y por Lampe *et al*^[19].

Han sido pocos los estudios que se han tenido acerca de los análogos de Curcumina de heterociclos aromáticos, con respecto a los curcuminoides, los cuales han sido reportados con los heterociclos de furano y tiofeno entre otros. En el caso del análogo de Curcumina de furano, se observa una elevada inhibición de la tiorredoxina reductasa (TrxR), la cual se cree que desempeña un papel importante en la proliferación de tumores y la resistencia a fármacos de las células tumorales^[42-43]. La inhibición de TrxR y sus reacciones redox relacionadas pueden contribuir a una exitosa terapia contra el cáncer^[44]. En cuanto al análogo de Curcumina de tiofeno mostró un potencial antiinflamatorio menor que el mostrado por su homólogo de furano^[44].

En la mayoría de las estructuras cristalinas de los complejos metálicos se reportan complejos heterolépticos. Las estructuras propuestas por medio de la teoría del funcional de la densidad (DFT) muestran únicamente la relación metal:ligante 1 curcuminóide (ligante) por metal, esto nos evidencia que solo se ha dado una relación metal-ligante 1:1^[45-48].

Recientemente se han reportado las primeras estructuras cristalinas de los complejos homolépticos de curcuminoides con cobre por Wang *et al*^[46], indicando complejos homolépticos (ver figura 2) de naturaleza CuL_2 , así como una mejora en la actividad antitumoral. De igual modo Meza-Morales *et al*^[47] encontró de manera similar complejos homolépticos con cobre de naturaleza CuL_2 en los cuales la actividad citotóxica de los complejos es baja pero su capacidad antioxidante es elevada.

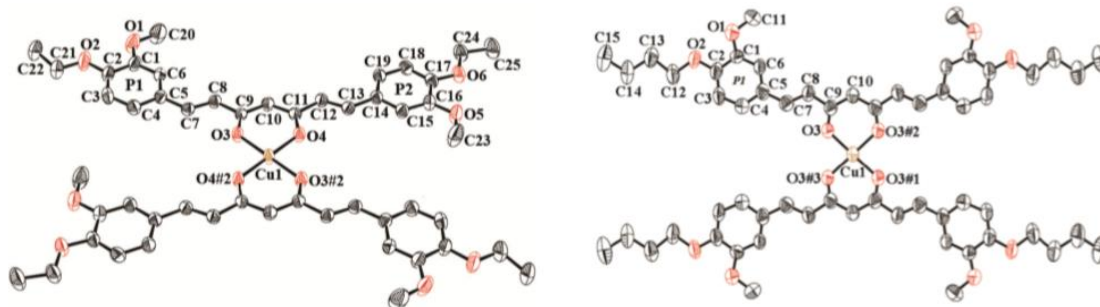


Figura 2. Curcuminoides homolépticos de Wang *et al*^[46].

Por otro lado en cuanto a los análogos de Curcumina se ha encontrado un estudio con un heterociclo aromático de tiofeno, el cual es un complejo heteroléptico de naturaleza (n^6 -*p*-cimeno) Ru (L^2) Cl (ver figura 3), el cual muestra una moderada actividad en los valores de IC_{50} contra 4 líneas celulares^[48].

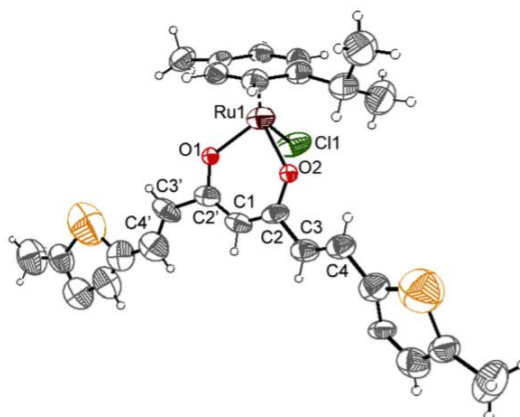


Figura 3. Complejo heterocíclico de naturaleza(n^6 -*p*-cimeno)Ru(L^2)Cl

Asimismo estudios cercanos que se tienen sobre análogos de Curcumina con estructuras similares de heterociclos de benzotiofeno, benzofurano y N-metilIndol, mostrados en la figura 4. Ejemplos de estos muestran un notable crecimiento en la inhibición de actividad anticancerígena^[49].

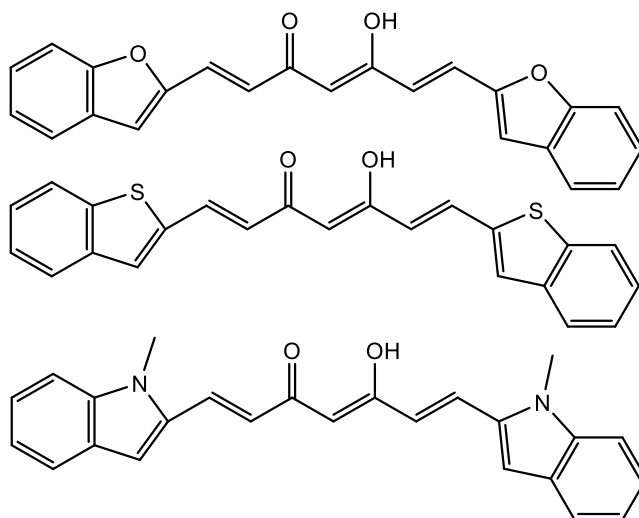


Figura 4. Análogos de Curcumina con estructuras similares de heterociclos de benzotiofeno, benzofurano y N-metilIndol

3. Hipótesis

1. Los aldehídos de heterociclos reaccionarán de manera similar a los aldehídos aromáticos dando paso a una reacción tipo Pabon para dar lugar a la formación de análogos de Curcumina.
2. Las estructuras cristalinas de los complejos obtenidos serán similares a las reportadas con cobre con una relación ligante:metal 2:1
3. La actividad biológica de los complejos de cobre de los análogos de Curcumina será comparable o mayor que la de los ligantes utilizados.

4. Objetivos

4.1 Objetivos generales

Llevar a cabo la reacción de condensación tipo Pabon entre 2,4 pentanodiona y diferentes aldehídos aromáticos (Benzaldehído, N-metil-2-pirrolcarboxaldehído, furfural, 2-tiofencarboxaldehído), así como su complejación con cobre.

Caracterizar los productos obtenidos y determinar su actividad citotóxica.

4.2 Objetivos particulares

Obtener los productos de condensación (Fenilcurcumina, N-metilpirrolcurcumina, Furanocurcumina, Tiofenocurcumina), así como la optimización de las reacciones.

Analizar los productos obtenidos por Resonancia Magnética Nuclear (**RMN**), Espectrometría de Masas (**Masas**), Análisis elemental (**AE**), Espectroscopia Infrarroja (**IR**), Espectroscopia UV-visible (**Uv-vis**), Difracción de rayos X de monocristal (**DRXMC**), y Espectroscopia Paramagnética Electrónica (**EPR**).

Determinar la actividad citotóxica de los compuestos estudiados en las líneas de cáncer **(1) U251** (glía de sistema nervioso central), **(2) PC-3** (próstata), **(3) K562** (leucemia), **(4) HCT 15** (colon), **(5) MCF-7**(mama), **(6) SKLU-1** (pulmón) así como su correspondiente actividad contra células sanas **(7) COS7** (línea celular de riñón de mono [no cancerosa]).

5. Sección experimental

5.1 Generalidades

Los reactivos utilizados fueron adquiridos de Sigma Aldrich. Ácido bórico (99.995%), Acetil acetona (99.5%), Furfural (99%), Tributyl borato (99%), 2-Tiofencarboxaldehído (98%), N-Metil-2-pirrolcarboxaldehído (98%), Benzaldehído ($\geq 99\%$).

Los puntos de fusión se determinaron con un equipo Electrothermal IA9100 y no fueron corregidos.

Los espectros IR se realizaron en un equipo Espectrofotómetro FTIR Bruker Tensor27.

Los espectros UV-Vis se realizaron en un equipo Espectrofotómetro UV-Visible Shimadzu, U160.

Los EM fueron obtenidos en un equipo Espectrómetro de masas marca Bruker Microflex con MALDI-Tiempo de vuelo.

Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C , de 1D y 2D se realizaron en un equipo Bruker Avance III Ascend 500 MHz; empleando TMS como referencia interna y DMSO- d_6 como disolvente deuterado. Los desplazamientos químicos (δ) se expresaron en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz. La multiplicidad de las señales en RMN ^1H , se indica s=simple d=doble t=triple dd=doble de doble m=múltiple.

Los análisis de difracción de rayos-X se realizaron con un difractómetro marca Bruker, modelo Smart Apex, equipado con radiación de Mo ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$), detector bidimensional CCD y dispositivo de baja temperatura.

Los espectros EPR se realizaron en un equipo Espectrómetro de Resonancia Paramagnética Electrónica Jeol, JES-TE300 con sistema de Temperatura variable DVT unit, Jeol a 77K.

Los análisis elementales por combustión se realizaron en un equipo Analizador elemental, marca Thermo Scientific, modelo Flash 2000. Temperatura del horno: 950 °C y Microbalanza, marca Mettler Toledo, modelo XP6.

La citotoxicidad de todos los compuestos se probó contra seis líneas celulares de cáncer: U251 (línea celular de glioblastoma humano), PC-3 (adenocarcinoma de próstata caucásico humano), K562 (leucemia mielógena crónica caucásica humana), HCT-15 (adenocarcinoma de colon humano), MCF 7 (adenocarcinoma mamario humano) y SKLU-1 (adenocarcinoma de pulmón humano). Las líneas celulares se suministraron en el Instituto Nacional del Cáncer de EE. UU. (NCI). Las líneas celulares se cultivaron en medio RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal al 10%, 2 mL de glutamina, 10.000 unidades / mL de penicilina G

sódica, 10.000 µg / mL de sulfato de estreptomicina, 25 µg / mL de anfotericina B (Invitrogen / Gibco™, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) Y 1% de aminoácidos no esenciales (Gibco). Se mantuvieron a 37 ° C en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂. La viabilidad de las células utilizadas en los experimentos superó el 95% según lo determinado con azul de tripano. La citotoxicidad del tumor humano se determinó utilizando el colorante de unión a proteínas sulforodamina B (SRB) en un ensayo de microcultivo para medir el crecimiento celular, como se describe en los protocolos establecidos por el NCI [50-52].

5.2 Síntesis

5.2.1 Procedimiento para la síntesis de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-difenilhepta-1, 4,6-trien-3-ona (Fenilcurcumina):

En un matraz de bola se adiciona 3.23 mmol de ácido bórico disuelto en AcOEt, con 6.46 mmol de acetilacetona y se pone en reflujo durante 2 h (**matraz 1**). En otro matraz bola se adicionan 12.93 mmol de benzaldehído a 15.52 mmol de tributilborato y se pone en reflujo por 2 h (**matraz 2**). Tras completar los tiempos de reflujo se vierte el **matraz 1** en el **matraz 2** y se deja homogenizar la solución por 5 minutos en reflujo. Se adiciona gota a gota 12.8 mmol de *n*-butilamina disuelta en 5 mL de AcOEt y se deja en reflujo la solución por 24 h. Posteriormente se procede a hacer extracciones (4x50 mL) con H₂O, se seca la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se concentra la solución al eliminar el disolvente bajo presión reducida. El concentrado se trasvasa a un matraz Erlenmeyer y se recristaliza el producto en metanol.

Se obtuvo un sólido amarillo (ver figura 5) con un rendimiento de 65%. ¹H RMN (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 6.21(s, 4H), 6.96 (d, 2H_{vinil}, J 16.01), 7.44 (m, 5H), 7.44 (m, 7H), 7.67 (d, 1H_{vinil}, 15.93), 7.73 (dd, 6H_{aril}, J 7.78;1.93), 16.11 (br s, 8H), ppm, ¹³C RMN (¹³C {¹H} 125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 101.80 (C-H), 124.27 (C-H), 128.30 (C_{aril}), 128.94 (C_{aril}), 130.25 (C_{aril}), 134.63 (C_{aril}), 140.32 (C_{aril}), 183.18 (C=O) ppm, IR: 1670.31 cm⁻¹, 3057.35 cm⁻¹, 1498.37 cm⁻¹, 967.68 cm⁻¹, MS: M+ 276. 892, AE: 1.56 % C, 2.91% H, p.f. 141-142 °C.



Figura 5. Fenilcurcumina

5.2.2 Procedimiento para la síntesis de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-bis (1-metil-1H-pirrol-2-il) hepta-1, 4,6-trien-3-ona (N-metilpirrolcurcumina):

En un matraz de bola se adiciona 3.23 mmol de ácido bórico disuelto en AcOEt, con 6.46 mmol de acetilacetona y se pone en reflujo durante 2 h (**matraz 1**). En otro matraz bola se adicionan 12.93 mmol de N-metil-2-pirrolcarboxaldehído a 15.52 mmol de tributilborato y se pone en reflujo por 2 h (**matraz 2**). Tras completar los tiempos de reflujo se vierte el **matraz 1** en el **matraz 2** y se deja homogenizar la solución por 5 minutos en reflujo. Se adiciona gota a gota 15.52 mmol de *n*-butilamina disuelta en 5 mL de AcOEt y se deja en reflujo la solución

por 60 h en con atmosfera de N₂, se adicionan otros 15.52 mmol de n-butilamina y se dejan a reflujo 40h. Posteriormente se procede a hacer extracciones (4x50 mL) de H₂O con NaHCO₃/NaCl, se seca la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se concentra la solución al eliminar el disolvente bajo presión reducida. El concentrado se trasvasa a un matraz Erlenmeyer y se recristaliza el producto en metanol.

Se obtuvieron unos cristales rojo oscuro (ver figura 6), con un rendimiento de 30%. ¹H RMN (500 MHz DMSO-d₆): δ 5.96 (s, 4H), 6.15 (dd, 6H_{aril}, J 3.90;2.46), 6.49 (d, 2H_{vinil}, J 15.52), 6.79 (dd, 5H_{aril}, J 3.92;1.68), 7.03 (t, 7H_{aril}, J 2.02;2.02), 7.52 (d, 1H_{vinil}, J 15.53), 16.66 (br s, 8H), ppm, ¹³C RMN (¹³C { 1H } 125 MHz, DMSO-d₆): δ 33.88 (C-H), 100.64 (C-H), 109.36 (C_{aril}), 112.15 (C_{aril}), 118.56 (C-H), 127.96 (C_{aril}), 128.11 (C-H), 129.68 (C_{aril}), 182.64 (C=O) ppm, IR: 1608.99 cm⁻¹, 3049.18 cm⁻¹, 1497.82 cm⁻¹, 959.55 cm⁻¹, MS: M⁺ 288. 823, AE: 0.40 % C, 0.33 % H, 3.26% N, p.f. 159.5-160 °C.



Figura 6. N-metilpirrolcurcumina

5.2.3 Procedimiento para la síntesis de (1E, 4Z, 6E)-1,7-di (furan-2-il)-5-hidroxihepta-1, 4,6-trien-3-ona (Furanocurcumina):

En un matraz de bola se adiciona 3.23 mmol de ácido bórico disuelto en AcOEt, con 6.46 mmol de acetilacetona y se pone en reflujo durante 2 h (**matraz 1**). En otro matraz bola se adicionan 12.93 mmol de furfural a 15.52 mmol de tributilborato y se pone en reflujo por 2 h (**matraz 2**). Tras completar los tiempos de reflujo se vierte el **matraz 1** en el **matraz 2** y se deja homogenizar la solución por 5 minutos en reflujo. Se adiciona gota a gota 12.8 mmol de n-butilamina disuelta en 5 mL de AcOEt y se deja en reflujo la solución por 48 h. Posteriormente se procede a hacer extracciones (4x50 mL) con H₂O, se seca la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se concentra la solución al eliminar el disolvente bajo presión reducida; el concentrado se trasvasa a un matraz Erlenmeyer y se recristaliza el producto en metanol.

Se obtuvo uno polvo anaranjado (ver figura 7), con un rendimiento de 50%. ¹H RMN (500 MHz DMSO-d₆): δ 6.20(s, 4H), 6.57 (d, 2H_{vinil}, J 15.72), 6.66 (dd, 6H_{aril}, J

3.44;1.79), 6.97 (d, 5H_{aril}, J 3.40), 7.46 (d, 1H_{vinil}, 15.72), 7.88 (s, 7H_{aril}), 16.06 (br s, 8H), ppm, ¹³C RMN (¹³C {¹H} 125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 101.95 (C-H), 113.03 (C_{aril}), 116.10 (C_{aril}), 121.18 (C-H), 126.92 (C-H), 146.08 (C_{aril}), 151.01 (C_{aril}), 182.46 (C=O) ppm, IR: 1623.33 cm⁻¹, 3124.24 cm⁻¹, 1486.88 cm⁻¹, 957.31 cm⁻¹, MS: M+ 254.4, AE: 1.36 % C, 3.17 % H, p.f. 130.5-131 °C.



Figura 7. Furanocurcumina

5.2.4 Procedimiento para la síntesis de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-di (tiofen-2-il) hepta-1, 4,6-trien-3-ona. (Tiofenocurcumina):

En un matraz de bola se adiciona 3.23 mmol de ácido bórico disuelto en AcOEt, con 6.46 mmol de acetilacetona y se pone en reflujo durante 2 h (**matraz 1**). En otro matraz bola se adicionan 12.93 mmol de 2-tiofencarboxaldehído a 15.52 mmol de tributilborato y se pone en reflujo por 2 h (**matraz 2**). Tras completar los tiempos de reflujo se vierte el **matraz 1** en el **matraz 2** y se deja homogenizar la solución por 5 minutos en reflujo. Se adiciona gota a gota 12.8 mmol de *n*-butilamina disuelta en 5 mL de AcOEt y se deja en reflujo la solución por 48 h. Posteriormente se procede a hacer extracciones (4x50 mL) con H₂O, se seca la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se concentra la solución al eliminar el disolvente bajo presión reducida; el concentrado se trasvasa a un matraz Erlenmeyer y se recristaliza el producto en metanol.

Se obtuvieron unos cristales cafés (ver figura 8), con un rendimiento de 55%. ¹H RMN (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 6.19(s, 4H), 6.57 (d, 2H_{vinil}, J 15.61), 7.18 (dd, 6H_{aril}, J 5.04;3.59), 7.54 (d, 5H_{aril}, J 3.10), 7.75 (d, 7H_{aril}, J 5.06), 7.82 (d, 1H_{vinil}, J 15.63), 16.07 (br s, 8H), ppm, ¹³C RMN (¹³C {¹H} 125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 101.52 (C-H), 122.70 (C-H), 128.75 (C_{aril}), 130.05 (C_{aril}), 132.05 (C_{aril}), 133.23 (C-H), 139.83 (C_{aril}), 182.52 (C=O) ppm, IR: 1608.99 cm⁻¹, 3049.18 cm⁻¹, 1497.82 cm⁻¹, 959.55 cm⁻¹, MS: M+ 288. 823, AE: 1.44 % C, 1.90 % H, 1.60 % S, p.f. 183.5-184 °C.



Figura 8. Tiofenocurcumina

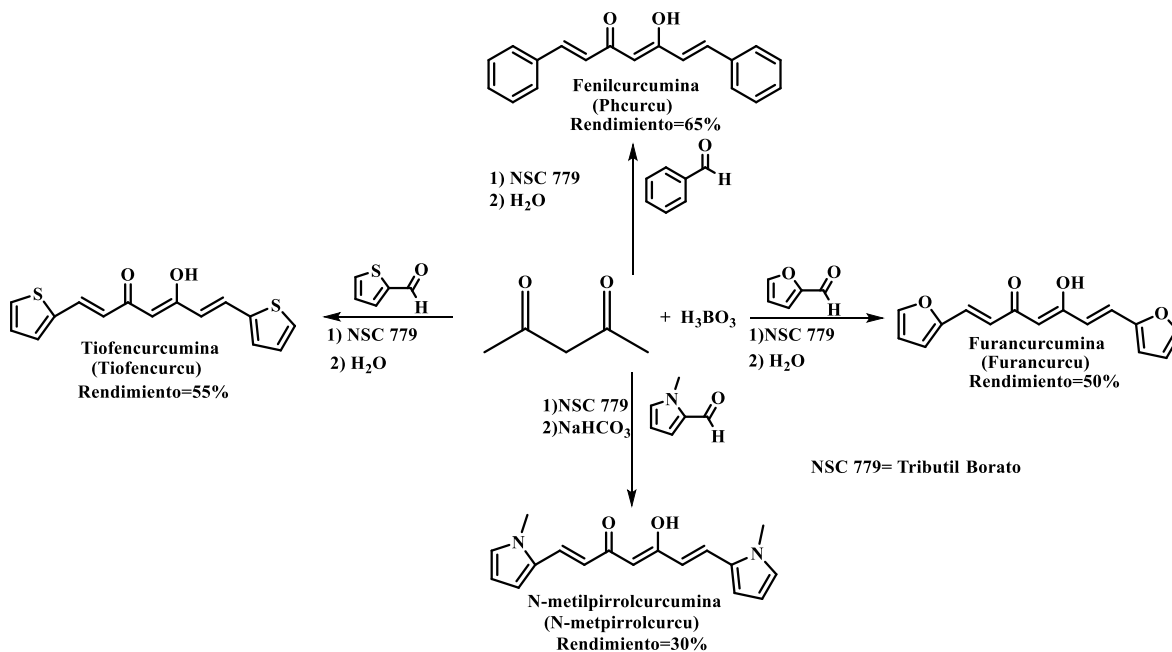


Figura 9. Esquema General de la síntesis de los ligantes

5.3 Complejación general con un centro metálico de cobre.

5.3.1 Procedimiento para la síntesis de Fenilcurcumina-Cu

A un matraz bola se le adiciona 1 mmol de Fenilcurcumina y se disuelve en 15 mL de AcOEt. En un matraz Erlenmeyer se adicionan 0.6 mmol de acetato de cobre (II) el cual se disuelve en MeOH con dos gotas de H₂O. Se adiciona la solución de cobre al ligante gota a gota y se deja en agitación a temperatura ambiente por 4 horas. Tras completar el tiempo de agitación se filtra al vacío y se le realizan lavados con agua, AcOEt y éter etílico.

Se obtuvo un sólido café con un rendimiento de 95%, EPR: g_{||} 2.29986, g_⊥ 2.07065, A_{||} 15.725, A_⊥ 1.811. IR: 977.16 cm⁻¹, 1511.14 cm⁻¹, 489.16 cm⁻¹, MS: M+ 678.99, AE: 0.63 % C, 1.01 % H, p.f. 270-271 °C.

5.3.2 Procedimiento para la síntesis de N-metilpirrolcurcumina-Cu

A un matraz bola se le adiciona 1 mmol de N-metilpirrolcurcumina y se disuelve en 15 mL de AcOEt. En un matraz Erlenmeyer se adicionan 0.6 mmol de acetato de cobre (II) el cual se disuelve en MeOH con dos gotas de H₂O. Se adiciona la solución de cobre al ligante gota a gota y se deja en agitación a temperatura ambiente por 24 horas. Tras completar el tiempo de agitación se filtra al vacío y se le realizan lavados con agua, AcOEt y éter etílico.

Se obtuvo un sólido naranja oscuro con un rendimiento de 50%, EPR: g_{||} 2.30241, g_⊥ 2.06319, A_{||} 15.918, A_⊥ 1.144. IR: 977.16 cm⁻¹, 1511.14 cm⁻¹, 489.16 cm⁻¹, MS: M+ 626.19, AE: 0.64 % C, 1.27 % H, 1.11% N, p.f. 237.2-237.6 °C.

5.3.3 Procedimiento para la síntesis de Furanocurcumina-Cu

A un matraz bola se le adiciona 1 mmol de ligante Furanocurcumina y se disuelve en 15 mL de AcOEt. En un matraz Erlenmeyer se adicionan 0.6 mmol de acetato de cobre (II) el cual se disuelve en MeOH con dos gotas de H₂O. Se adiciona la solución de cobre al ligante gota a gota y se deja en agitación a temperatura ambiente por 4 horas. Tras completar el tiempo de agitación se filtra al vacío y se le realizan lavados con agua, AcOEt y éter etílico.

Se obtuvo un sólido verde-amarillo con un rendimiento de 93%, EPR: g_{||} 2.29660, g_⊥ 2.06161, A_{||} 16.203, A_⊥ 1.334. IR: 1623.33 cm⁻¹, 957.31 cm⁻¹, 1511.14 cm⁻¹, 479.14 cm⁻¹, MS: M+ 573.5, AE: 1.36 % C, 3.17 % H, p.f. 225-226 °C.

5.3.4 Procedimiento para la síntesis de Tiofenocurcumina-Cu

A un matraz bola se le adiciona 1 mmol de Tiofenocurcumina y se disuelve en 15 mL de AcOEt. En un matraz Erlenmeyer se adicionan 0.6 mmol de acetato de cobre (II) el cual se disuelve en MeOH con dos gotas de H₂O. Se adiciona la solución de cobre al ligante gota a gota y se deja en agitación a temperatura ambiente por 4 horas. Tras completar el tiempo de agitación se filtra al vacío y se le realizan lavados con agua, AcOEt y éter etílico.

Se obtuvo un sólido café con un rendimiento de 95%, EPR: g_{||} 2.30241, g_⊥ 2.06319, A_{||} 15.918, A_⊥ 1.144. IR: 1612.952.83 cm⁻¹, 1502.47 cm⁻¹, 484.91 cm⁻¹, MS: M+ 639.51, AE: 0.25 % C, 0.28 % H, 6.47 % S, p.f. 275-275.5 °C.

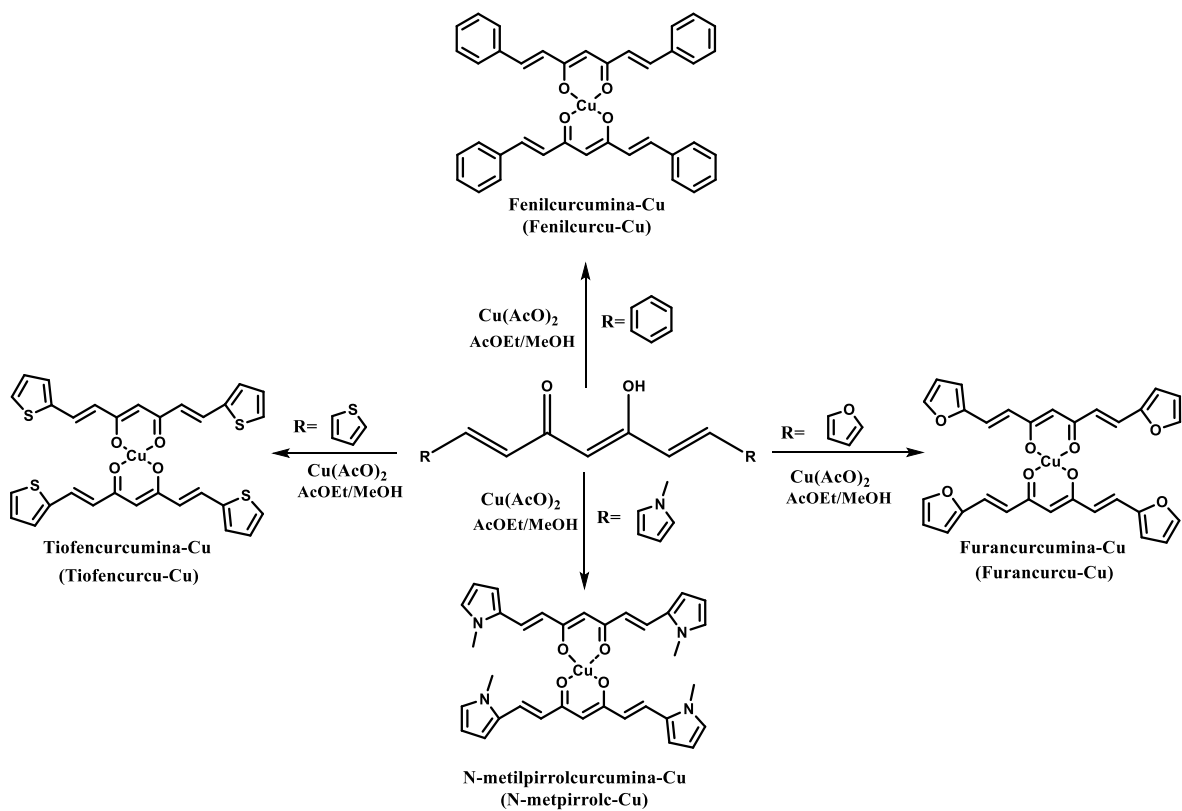


Figura 10. Esquema General de la síntesis de los complejos.

6. Resultados y discusión:

6.1 Fenilcurcumina (I)

6.1.1 Resonancia Magnética Nuclear

Ver Figuras A1 y A2 en Anexo

En el espectro de ^1H , la señal de 6.21 ppm (s) corresponde al protón H4 debido a que es la única señal simple en la región vinílica. La señal a 7.67 ppm (d) corresponde a los hidrógenos de H1 y H1' debido a que estos hidrógenos están en un sistema α,β - insaturado (en posición β) y al lado de un anillo aromático el cual provoca un efecto anisotrópico, de desprotección, la constante de acoplamiento de 15.9 Hz corresponde a una constante trans, así como en 6.96 ppm (d) corresponde a la señal de H2 y H2' donde se encuentran los hidrógenos α del sistema α,β - insaturado en este caso con su constante de 15.93 Hz. Para la región aromática tenemos que en 7.73 ppm (dd) se presentan los 4 hidrógenos de los anillos aromáticos en posición "meta" H6 y H6', se observa un doble de dobles y tenemos dos constantes de acoplamiento una orto (7.78 Hz) y otra que corresponde a las constantes típicas meta (1.93 Hz). Por otro lado la señal a 7.44 ppm (m) muestra a los cuatro hidrógenos orto correspondientes a ambos anillos aromáticos que tienen un desplazamiento similar a los hidrógenos que están en posición "para" por lo que la integral de 6 engloba los 4 protones "orto" de la molécula y los 2 protones "para" H7 y H7'. Por último la señal de 16.11 ppm(s) se asigna al hidrógeno H8. El desplazamiento a 16.11 ppm es peculiar para el protón enólico de los curcuminoides, el cual puede ser explicado debido a la formación de un puente de hidrógeno con el oxígeno del carbonilo, lo cual es congruente con los demás resultados experimentales.

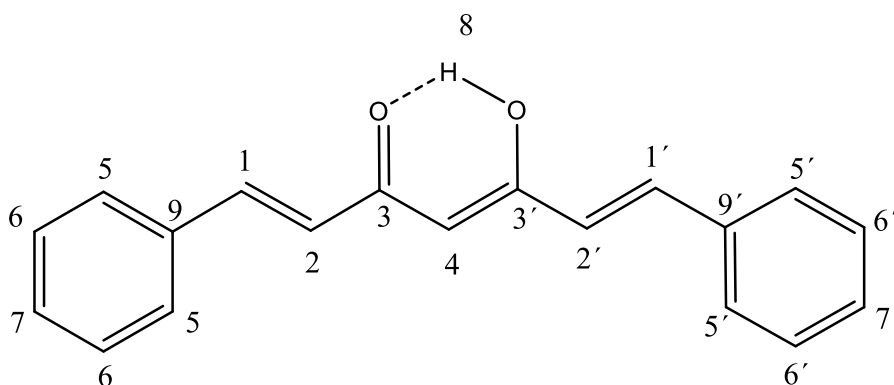


Figura 11. Estructura de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-difenilhepta-1,4,6-trien-3-ona (Fenilcurcumina)

Para la asignación de carbonos se utilizaron los espectros de ^{13}C , HSQC, HMBC y COSY en tabla 1 (ver espectros en anexo A3, A4, A5 y A6)

Tabla 1. Asignación del espectro ^{13}C RMN del ligante PhCurcu

^{13}C	ppm	HSQC	HMBC
1	140.32	7.67(d)	(H ₅ , H ₅ ') 7.44; (H ₂ , H ₂ ') 6.96
2	124.27	6.96(d)	(H ₄ , H ₄ ') 6.21; (H ₅ , H ₅ ') 7.44; (H ₁ , H ₁ ') 7.67
3	183.18	---	---
4	101.80	6.21(s)	(H ₂ , H ₂ ') 6.96; (H ₁ , H ₁ ') 7.67
5	128.91	7.44(m)	(H ₁ , H ₁ ') 7.67; (H ₂ , H ₂ ') 6.96; (H ₆ , H ₆ ') 7.73
6	128.30	7.73(dd)	(H ₅ , H ₅ ', H ₇ , H ₇ ') 7.44; (H ₁ , H ₁ ') 7.67
7	130.25	7.44(m)	(H ₆ , H ₆ ') 7.73
9	183.18	---	---

6.1.2 Espectrometría de Masas.

Ver Figura A7 en Anexo

El espectro de masas de Fenilcurcumina muestra un pico intenso para el ión molecular en 276. 892 M que corresponde a la masa teórica calculada para el compuesto de 276.12 u.

6.1.3 Análisis Elemental

Tabla 2. Resultados de Análisis Elemental

Clave de muestra	Valor	N[%]	C[%]	H[%]	S[%]
Phcurcumina	Teórico	---	82.58	5.84	---
	Experimental	---	81.29	5.67	---

6.1.4 Espectroscopía Infrarroja

Ver Figura A8 en Anexo

En el IR de I se aprecia la banda del carbonilo en 1670.31 cm^{-1} , debido al tautomerismo ceto-enol. En 3057.35 cm^{-1} se observa la vibración C=CH; en 1498.37 cm^{-1} una señal ancha debida torsión del carbonilo; en 1619 la banda que se observa es de doble enlace aromático. La banda que se observa en 967.68 cm^{-1} se atribuye a la vibración del grupo -HC=CH-trans.

6.1.5 Espectroscopía UV-vis

Ver Figura A9 en Anexo

Las longitudes de onda relevantes son las siguientes:

Se observan dos bandas de absorción del ligante en 400 nm atribuida a la transición $\pi\pi^*$ y en 263 nm atribuida por transición $\sigma\text{-}\pi^*$.

6.2 N-metilpirrolcurcumina (II)

6.2.1 Resonancia Magnética Nuclear

Ver figura A10 y A11 En Anexo

En el espectro de ^1H , la señal a 5.96 ppm (s) corresponde al protón H4 debido a que el desplazamiento se encuentra en la región vinílica. La señal de 7.03 ppm (t) desplazada a campo bajo corresponde a H7, debido a que está en el ciclo aromático y vecino al nitrógeno que desprotege a estos protones. La señal de 6.14 ppm (dd) se puede asignar a H6 y la señal de 6.79 ppm (dd) corresponde a H5. A 7.52 ppm (d) y 6.49 ppm (d) con una constante de acoplamiento trans de un sistema vinílico α,β - insaturado (15.5 Hz) corresponde a H1 y H2 respectivamente. En 3.72 ppm (s) se encuentra la señal para los metilos unidos al pirrol y por último el desplazamiento de 16.66 ppm(s) ppm es de H8 debido a la interacción de puente de hidrógeno.

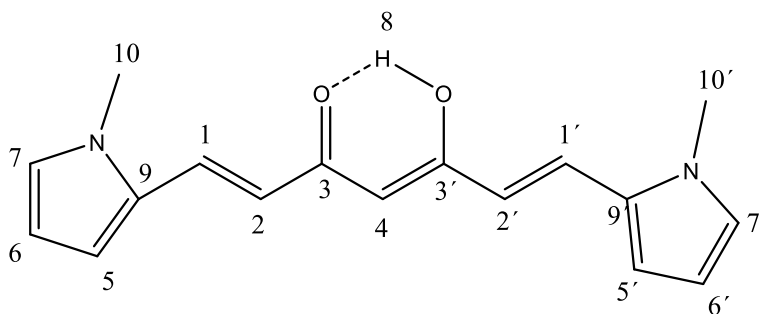


Figura 12. Estructura de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-bis (1-metil-1H-pirrol-2-il) hepta-1, 4,6-trien-3-ona (N-metilpirrolcurcumina)

Para la asignación de carbonos se utilizaron los espectros de ^{13}C , HSQC, HMBC y COSY en tabla 3 (ver espectros en anexo A12, A13, A14 y A15)

Tabla 3. Asignación del espectro ^{13}C RMN del ligante N-metilpirrolc

^{13}C	ppm	HSQC	HMBC
1	128.11	7.52(d)	(H ₂ , H _{2'}) 6.57; (H ₅ , H _{5'}) 7.55
2	118.56	6.49(d)	(H ₄ , H _{4'}) 6.19; (H ₅ , H _{5'}) 7.55; (H ₁ , H _{1'}) 7.82
3	182.34	---	---
4	100.64	5.96(s)	(H ₂ , H _{2'}) 6.57; (H ₁ , H _{1'}) 7.82
5	112.15	6.79(dd)	(H ₁ , H _{1'}) 7.82; (H ₇ , H _{7'}) 7.76; (H ₆ , H _{6'}) 7.18; (H ₂ , H _{2'}) 6.57
6	109.36	6.14(dd)	(H ₅ , H _{5'}) 7.55; (H ₇ , H _{7'}) 7.76
7	127.96	7.03(t)	(H ₆ , H _{6'}) 6.18; (H ₅ , H _{5'}) 7.55; (H ₁ , H _{1'}) 7.72
9	129.8	---	---
10	33.88	3.72(s)	---

6.2.2 Espectrometría de masas

Ver figura en A16

El espectro de masas de N-metilpirrolcurcumina muestra un pico intenso para el ión molecular en 252 M^+ , que corresponde a la masa teórica calculada para el compuesto al quitar los dos metilos del anillo del Pirrol, la masa total del compuesto es de 282.34 u.

6.2.3 Análisis Elemental

Tabla 4. Resultados de Análisis elemental

Clave de muestra	Valor[%]	N[%]	C[%]	H[%]
N-metilpirrolcurcumina	Teórico	9.92	72.32	6.43
	Experimental	9.96	72.56	6.64

6.2.4 Espectroscopía Infrarroja

Ver figura en A17

En el IR de **II** se aprecia en 1605.47 cm^{-1} la banda del carbonilo, debido al tautomerismo ceto-enol. En 2921.52 cm^{-1} se observa la vibración C=CH, en 1472.53 cm^{-1} hay una señal ancha debida torsión del carbonilo; en 1605 cm^{-1} la banda que se observa es de doble enlace aromático. La banda en 947.91 cm^{-1} se atribuye a la vibración del grupo -HC=CH-trans y en 2875.40 cm^{-1} se observa la banda correspondiente a la vibración C-H del grupo metilo.

6.2.5 Espectroscopía UV-Vis

Ver figura A18

Las longitudes de onda relevantes son las siguientes:

Se observan dos bandas de absorción del ligante en 467.5 nm atribuida a la transición $\pi\pi^*$ y en 282.0 nm atribuida por transición $\sigma-\pi^*$.

6.2.6 Difracción de rayos X de monocristal

Se determinó la estructura cristalina de N-metilpirrolcurcumina (figura 13, 14) donde se observan las distancias de enlace de 1.319 Å y 1.282 Å de C5-O2 y C3-O1 respectivamente (ver anexo A19), lo cual es congruente debido a la cercanía de enlace reportadas para la bisdesmetoxicurcumina ^[53]. Asimismo en las distancias de enlace de C5-C4-C3 se observa que son más parecidas a las distancias de un anillo aromático ^[46]. Los ángulos formados entre los planos de los centroides 1 y 2 es de 30.64 (ver figura en A20) lo cual nos indica que los anillos del heterociclo no son coplanares ^[46].

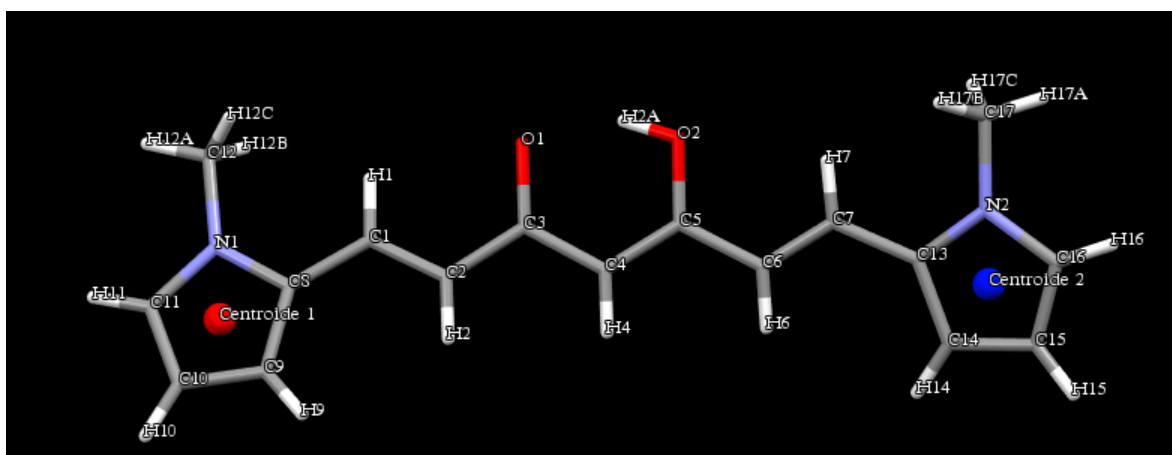


Figura 13. Estructura cristalina de N-metilpirrolcurcumina

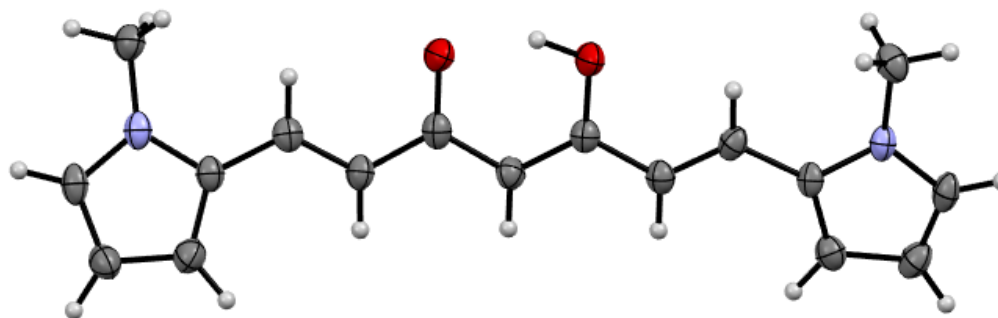


Figura 14. Estructura cristalina de N-metilpirrolcurcumina (ORTEP)

6.3 Furanocurcumina (III)

6.3.1 Resonancia Magnética Nuclear

Ver figuras A21 y A22 en anexo

En el espectro de ^1H , la señal de 6.20 ppm (s) corresponde al protón H4 debido a que el desplazamiento se encuentra en la región vinílica. La señal de 7.88 ppm (s) al observarse en la sección aromática de campo bajo podemos asignarla a H7 debido a que está en el ciclo aromático además de estar al lado del oxígeno que desprotege a estos protones. La señal de 6.66 ppm (dd) se puede asignar a H6 y la señal de 6.97 ppm corresponde a H5 puesto que la constante de acoplamiento concuerda con la de H6. Las señales a 7.46 ppm(d) y 6.57 ppm (d) con una constante de acoplamiento trans de un sistema vinílico α,β - insaturado ($J=15.7$ Hz) corresponde a H1 y H2 respectivamente y por último el desplazamiento de 16.06 ppm(s) ppm es de H8 debido a la interacción de puente de hidrógeno.

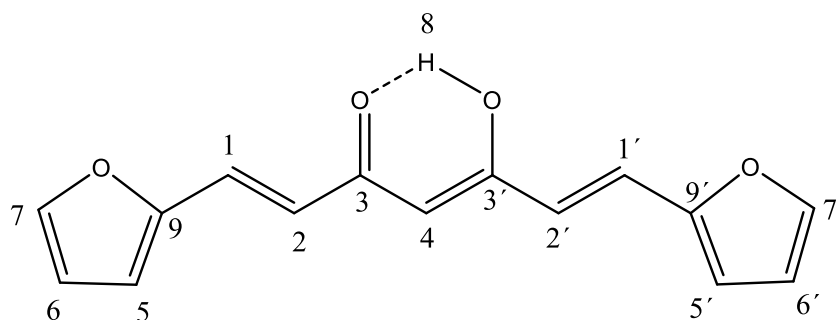


Figura 15. Estructura de (1E, 4Z, 6E)-1,7-di (furan-2-il)-5-hidroxihépta-1, 4,6-trien-3-ona (Furanocurcumina)

Para la asignación de carbonos se utilizaron los espectros de ^{13}C , HSQC, HMBC y COSY en tabla 5 (ver espectros en anexo A23, A24, A25 y A26)

Tabla 5. Asignación del espectro ^{13}C RMN del ligante Furanocurcumina

^{13}C	ppm	HSQC	HMBC
1	126.92	7.45(d)	(H ₂ , H ₂ ') 6.57; (H ₅ , H ₅ ') 6.96
2	121.18	6.57(d)	(H ₄ , H ₄ ') 6.20; (H ₅ , H ₅ ') 6.96; (H ₁ , H ₁ ') 7.45
3	182.46	---	---
4	101.95	6.20(s)	(H ₂ , H ₂ ') 6.57; (H ₁ , H ₁ ') 7.45
5	116.10	6.96(d)	(H ₁ , H ₁ ') 7.45; (H ₇ , H ₇ ') 7.88; (H ₆ , H ₆ ') 6.66; (H ₂ , H ₂ ') 6.57
6	113.03	6.66(dd)	(H ₅ , H ₅ ') 6.96; (H ₇ , H ₇ ') 7.88
7	146.08	7.88(s)	(H ₆ , H ₆ ') 6.66; (H ₅ , H ₅ ') 6.96; (H ₁ , H ₁ ') 7.45
9	151.01	---	---

6.3.2 Espectrometría de masas

Ver Figura A27 en Anexo

El espectro de masas de la Furanocurcumina presenta un pico intenso para el ión molecular en 254.4 M⁺, que corresponde a la masa teórica calculada para el compuesto de 256.26 u.

6.3.3 Análisis Elemental

Tabla 6. Resultados de Análisis elemental

Clave de muestra	Valor	N[%]	C[%]	H[%]	S[%]
Furanocurcumina	Teórico	---	70.31	4.72	---
	Experimental	---	69.35	4.57	---

6.3.4 Espectroscopía Infrarroja

Ver Figura A28 en Anexo

En el IR de **III** se aprecia en 1623.33 cm⁻¹ la banda del carbonilo, debido al tautomerismo ceto-enol. En 3124.24 cm⁻¹ se observa la vibración C=CH, en 1486.88 cm⁻¹ hay una señal ancha debida torsión del carbonilo; en 1561 cm⁻¹ la banda que se observa es de doble enlace aromático. La banda observada en 957.31 cm⁻¹ se atribuye a la vibración del grupo -HC=CH-trans.

6.3.5 Espectroscopía UV-Vis

Ver Figura A29 en Anexo

Las longitudes de onda relevantes son las siguientes:

Se observan dos bandas de absorción del ligante en 426 nm atribuida a la transición $\pi\pi^*$ y en 365 nm atribuida por transición $\sigma-\pi^*$.

6.3.6 Difracción de rayos X de monocristal

Se determinó la estructura cristalina de Furanocurcumina (figura 16, 17) donde se observan las distancias de enlace de 1.278 Å y 1.312 Å de C5-O2 y C3-O1 respectivamente (ver anexo A30), lo cual es congruente debido a la cercanía de enlace reportadas para la bisdesmetoxicurcumina^[53]. Asimismo en las distancias de enlace de C5-C4-C3 se observa que son más parecidas a las distancias de un anillo aromático^[46]. Los ángulos formados entre los planos de los centroides 1 y 2 es de 23.88 (ver figura en A31) lo cual nos indica que los anillos del heterociclo no son coplanares^[46].

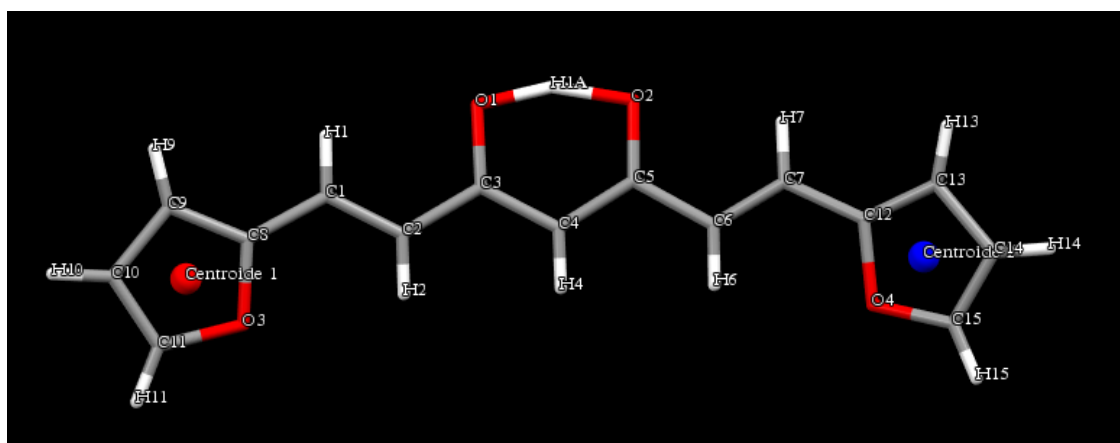


Figura 16. Estructura cristalina de Furanocurcumina

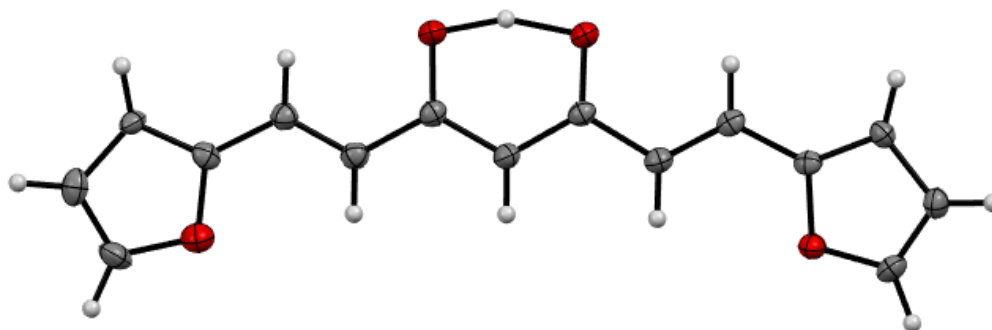


Figura 17. Estructura cristalina de Furanocurcumina (ORTEP)

6.4 Tiofenocurcumina (IV)

6.4.1 Resonancia Magnética Nuclear

Ver figuras A32 y A33 en Anexo

En el espectro de ^1H de **IV** muestra una señal a 6.19 ppm (s) la cual indica al protón de H4. Las señales de 6.57 ppm (d) y 7.82 ppm (d) con una constante de acoplamiento de 15.6 Hz corresponden a H2 y H1 respectivamente. La señal a 7.75 ppm (d) corresponde a H7 del heterociclo debido a la proximidad al átomo de azufre el cuál desprotege el hidrógeno. A 7.18 ppm (dd) se observa a H6 con constantes de acoplamiento con hidrógenos vecinos (H5 y H7) en el sistema "ABM". El desplazamiento de 7.54 ppm (d) corresponde a H5 por la constante de acoplamiento con H6 ($J=3.1$ Hz) y por último el desplazamiento de 16.07 ppm (s) ppm es de H8 debido a la interacción de puente de hidrógeno.

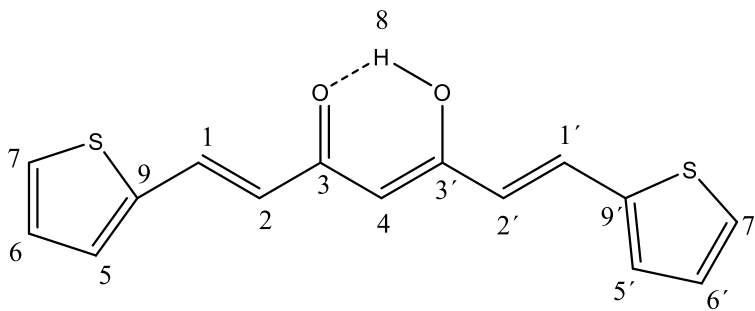


Figura 18. Estructura de (1E, 4Z, 6E)-5-hidroxi-1,7-di (tiofen-2-il) hepta-1, 4,6-trien-3-ona (Tiofenocurcumina)

Para la asignación de carbonos se utilizaron los espectros de ^{13}C , HSQC, HMBC y COSY en tabla 7 (ver espectros en anexo A34, A35, A36 y A37)

Tabla 7. Asignación del espectro ^{13}C RMN del ligante Tiofenocurcumina

^{13}C	ppm	HSQC	HMBC
1	133.23	7.82()	(H ₂ , H _{2'}) 6.57; (H ₅ , H _{5'}) 7.55
2	122.70	6.57()	(H ₄ , H _{4'}) 6.19; (H ₅ , H _{5'}) 7.55; (H ₁ , H _{1'}) 7.82
3	182.52	---	---
4	101.52	6.19()	(H ₂ , H _{2'}) 6.57; (H ₁ , H _{1'}) 7.82
5	132.05	7.55()	(H ₁ , H _{1'}) 7.82; (H ₇ , H _{7'}) 7.76; (H ₆ , H _{6'}) 7.18; (H ₂ , H _{2'}) 6.57
6	128.75	7.18()	(H ₅ , H _{5'}) 7.55; (H ₇ , H _{7'}) 7.76
7	130.05	7.76()	(H ₆ , H _{6'}) 6.18; (H ₅ , H _{5'}) 7.55; (H ₁ , H _{1'}) 7.82
9	139.83	---	---

6.4.2 Espectrometría de Masas

Ver figura A38 en anexo

El espectro de masas de Tiofenocurcumina muestra un pico intenso para el ión molecular en 288. 823 M⁺, que corresponde a la masa teórica calculada para el compuesto de 288.38 u.

6.4.3 Análisis elemental

Tabla 8. Resultados de Análisis elemental

Clave de muestra	Valor	N[%]	C[%]	H[%]	S[%]
Tiofenocurcumina	Teórico	---	62.47	4.19	22.24
	Experimental	---	61.57	4.11	21.88

6.4.4 Espectroscopía Infrarroja

Ver figura A39 en Anexo

En el IR de **IV** se aprecia en 1608.99 cm⁻¹ la banda del carbonilo, debido al tautomerismo ceto-enol. En 3049.18 cm⁻¹ se observa la vibración C=CH, en 1497.82 cm⁻¹ hay una señal ancha debida torsión del carbonilo; en 1532 cm⁻¹ la banda que se observa es de doble enlace aromático. La banda observada en 959.55 cm⁻¹ se atribuye a la vibración del grupo –HC=CH-trans.

6.4.5 Espectroscopía UV-Vis

Ver figura A40 en Anexo

Las longitudes de onda relevantes son las siguientes:

Se observan dos bandas de absorción del ligante en 428.5 nm atribuida a la transición ππ* y en 272.0 nm atribuida por transición σ-π*.

6.4.6 Difracción de rayos X de monocristal

Se determinó la estructura cristalina de Tiofenocurcumina (figura 19, 20) donde se observan las distancias de enlace de 1.278 Å y 1.312 Å de C5-O2 y C3-O1 respectivamente (ver anexo A41), lo cual es congruente debido a la cercanía de enlace reportadas para la bisdesmetoxicurcumina ^[53]. Asimismo en las distancias de enlace de C5-C4-C3 se observa que son más parecidas a las distancias de un anillo aromático ^[46]. Los ángulos formados entre los planos de los centroides 1 y 2 es de 6.66 (ver figura en A42) lo cual nos indica que los anillos del heterociclo no son coplanares ^[46].

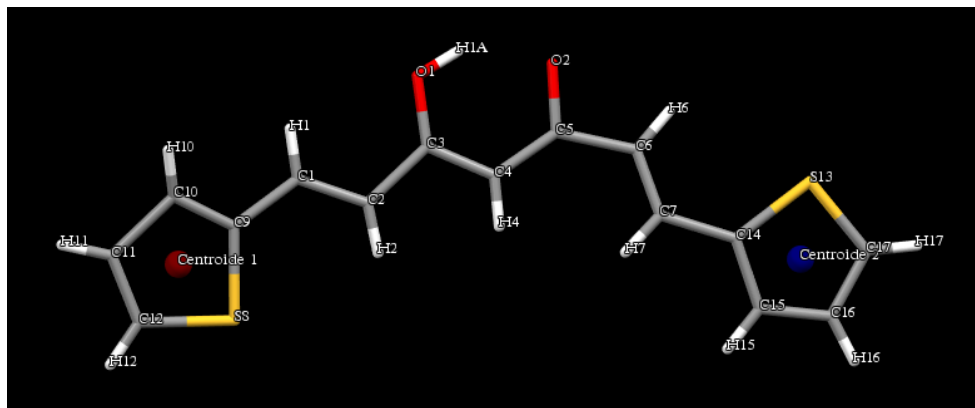


Figura 19. Estructura cristalina de Tiofenocurcumina

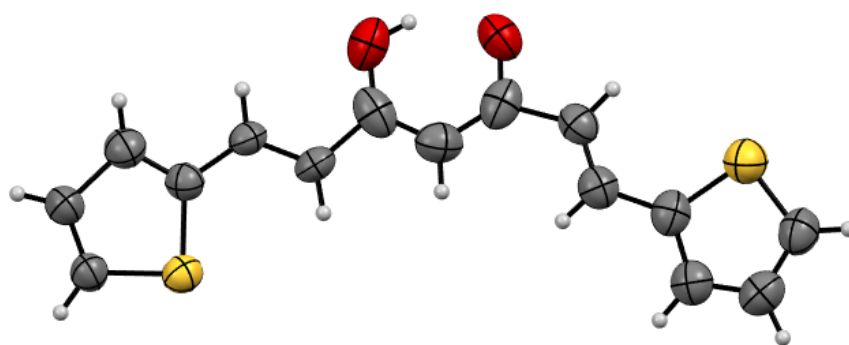


Figura 20. Estructura cristalina de Tiofenocurcumina (ORTEP)

6.5 Fenilcurcumina-Cu (V)

6.5.1 Resonancia Paramagnética Electrónica

Ver Figura A43 en Anexo

Los espectros de EPR de cobre presentan 4 señales típicas a campo bajo, de lo cual se logran ver únicamente 3 debido a que la cuarta se superpone con la región superhiperfina en la cual se pueden notar las interacciones con el disolvente (DMF). De igual modo los dos valores de g , g paralela (g_{\parallel}) y g perpendicular (g_{\perp}) indican una geometría axial para el complejo. La relación entre $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ sugiere una geometría de cuadrado plano ligeramente distorsionada, debido a que los valores típicos para una geometría cuadrada plana varían entre 105 y 130 ^[54], al obtener 146.25 se deduce una distorsión en la geometría del complejo.

Tabla 9. Datos del espectro EPR

Complejo	g_{\parallel}	g_{\perp}	$A_{\parallel}(10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$A_{\perp}(10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel}/A_{\parallel} (\text{cm}^{-1})$
PhCurcu-Cu	2.29986	2.07065	15.725	1.811	146.25

Valor g paralela= g_{\parallel} , valor g perpendicular= g_{\perp} , valor A paralela= A_{\parallel} , valor A perpendicular= A_{\perp} .

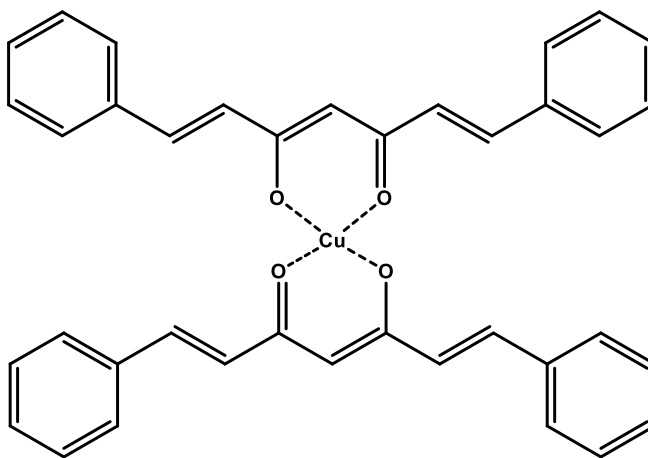


Figura 21. Estructura propuesta de Fenilcurcumina-Cu

6.5.2 Análisis elemental

Tabla 10. Resultados de Análisis elemental

Clave de muestra	Valor	N[%]	C[%]	H[%]	S[%]
Curcumina-Cu	Teórico	---	74.31	4.92	---
	Experimental	---	73.84	4.87	---

6.5.3 Espectroscopía UV-vis

Ver Figura A44 en Anexo

Las longitudes de onda relevantes son las siguientes:

Se observan dos bandas de absorción del ligante en 405 nm atribuida a la transición $\pi\pi^*$ y en 262 nm atribuida por transición $\sigma-\pi^*$. El complejo presenta una banda adicional en 316 nm indicativa de una absorción por transferencia de carga del complejo.

6.5.4 Espectroscopía Infrarroja

Ver Figura A45 en Anexo

En el IR de **V** la banda que se observa en 977.16 cm^{-1} se atribuye a la vibración del grupo $-\text{HC}=\text{CH}-\text{trans}$. La presencia de una banda intensa en 1511 cm^{-1} es atribuida a la interacción de cobre (II) con la β -dicetona, se observa una banda en 489.16 correspondiente a las vibraciones M-O, del complejo de Cu (II).

6.5.5 Espectrometría de masas

Ver figura A46 en Anexo

El compuesto tiene una masa determinada de 678.99 uma, la masa teórica es de 614.2 uma. La diferencia en masa es de 64.795 uma, correspondiente a la masa molecular del cobre por lo que se propone que al ionizar las moléculas con 70 eV y fragmentarse el compuesto, un átomo de cobre se une a una molécula de complejo dando como resultado (678.99 uma). Asimismo tenemos una señal en 1293.68 lo cual concuerda con la masa de dos moléculas de nuestro complejo unidas con un átomo de cobre lo cual muestra una tendencia que el cobre se añade al complejo para estabilizarlo cuando la molécula es fragmentada, las estructuras propuestas para estos casos se muestran en la figura 22.

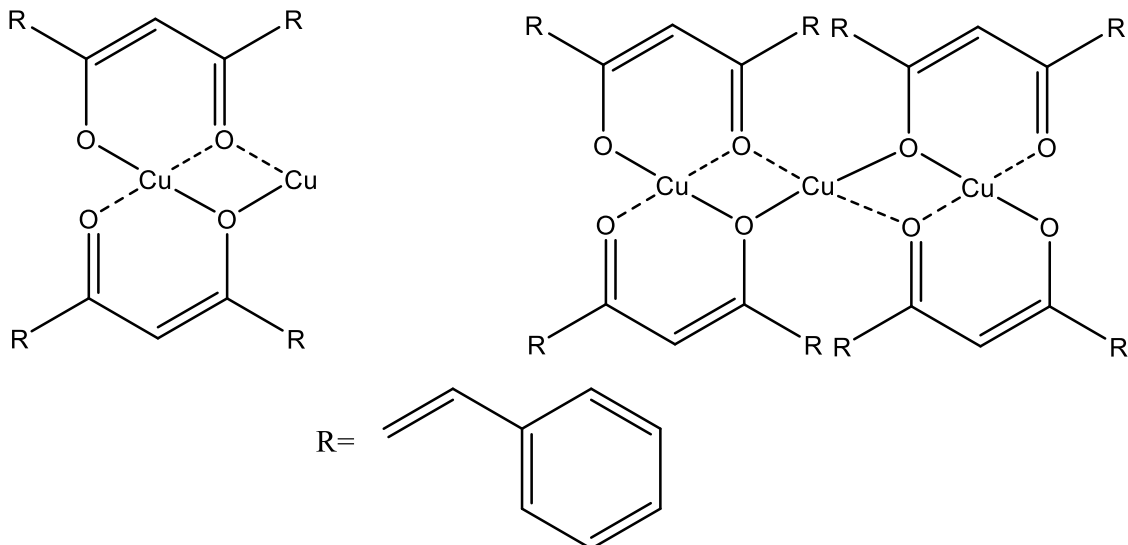


Figura 22. Propuesta de estructuras formadas en la desfragmentación de EM

6.5.6 Difracción de rayos X de monocristal

Se determinó la estructura cristalina del complejo Fenilcurcumina con cobre (ver figura 23, 24) donde se observan las distancias entre los oxígenos y el cobre (Ver figura A47) con los valores de 1.903 Å (O1-Cu1) y 1.911 Å (O2-Cu1) lo cual es congruente debido a que las distancias de enlace entre los complejos curcuminoideos y cobre se encuentran entre 1.900 Å y 2.000 Å ⁽⁴⁶⁾. Las distancias de enlace entre C3-C4-C5 (1.394 Å y 1.393 Å) son más parecidas a las distancias mostradas para un anillo aromático, en contraste las distancias entre C5-O2 (1.278 Å) y C3-O1 (1.271 Å) que son similares a las reportadas de 1.275 Å para los carbonilos en los curcuminoideos ^[53]. Por otro lado se puede observar una alta simetría en la molécula, ya que los ángulos formados entre O1, O2 y Cu1 (ver figura A48), son 93.10 y 86.90 cuya cercanía a los 90°, sugiere una geometría cuadro plano. Los planos formados entre ambos anillos aromáticos (entre los centroides 1 y 2) del complejo (ver figura A49) tienen un ángulo de 0.53 lo cual nos indica que estos dos anillos son coplanares. Asimismo el ángulo entre el plano de un anillo aromático (centroide 1 y 2) y el plano de coordinación formado entre los 4 oxígenos y el cobre (ver figura A50, A51), el cual nos da valores de 6.44 y 6.89 respectivamente, indicando que no son coplanares.

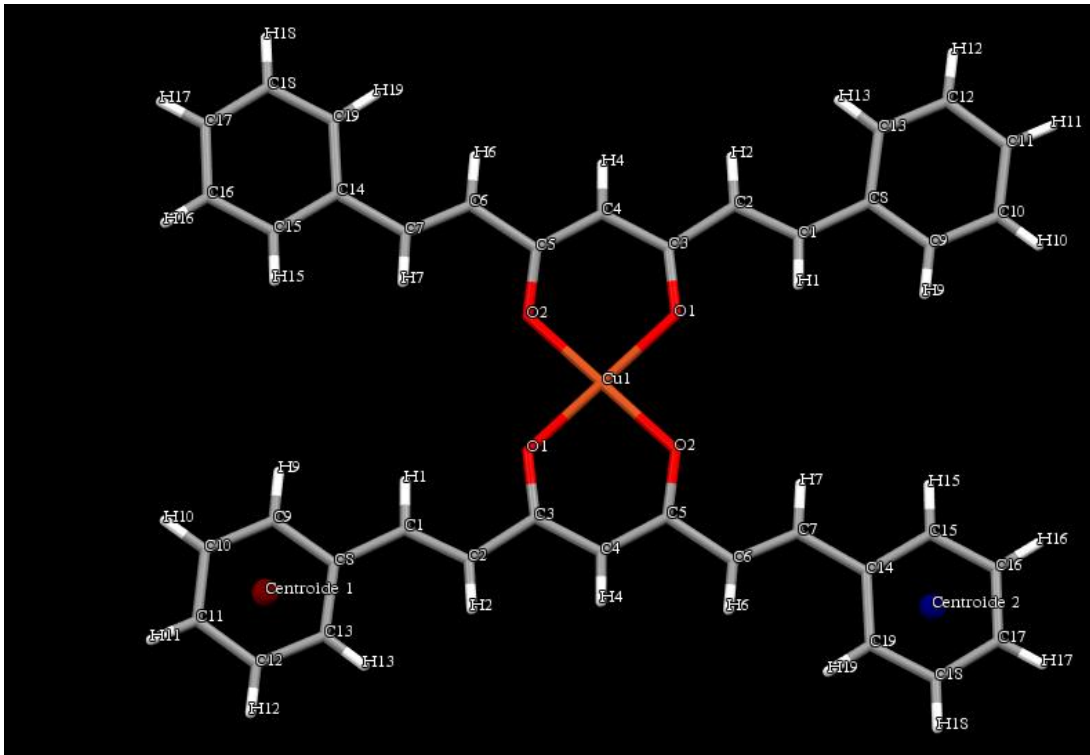


Figura 23. Estructura cristalina de Fenilcurcumina

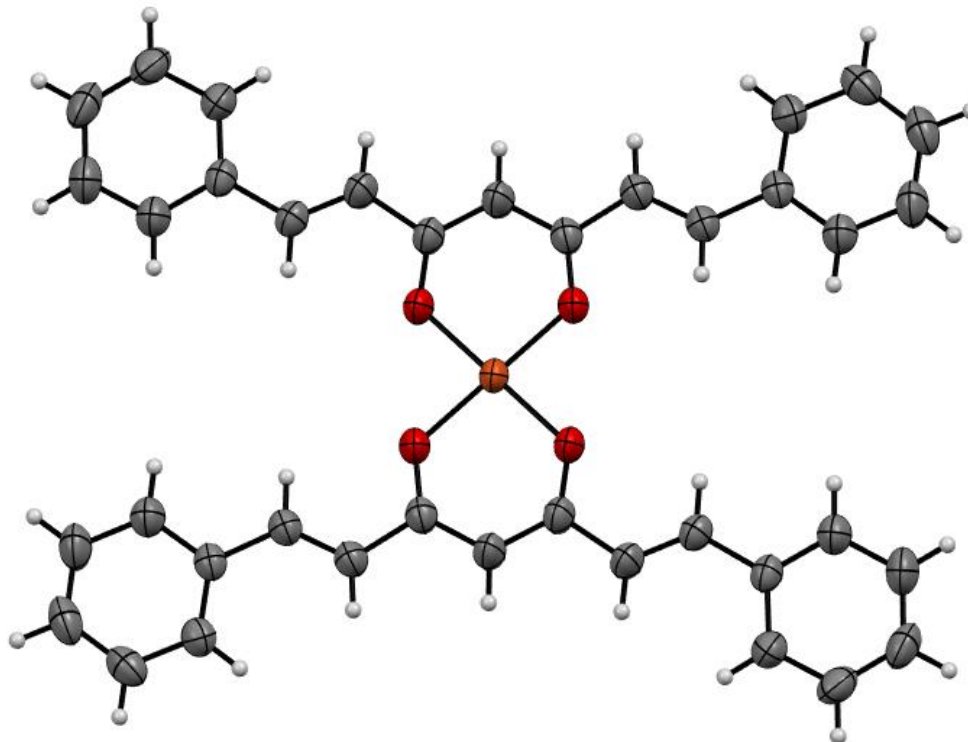


Figura 24. Estructura cristalina de Fenilcurcumina (ORTEP)

6.6 N-metilpirrolcurcumina-Cu (VI)

6.6.1 Resonancia Paramagnética Electrónica

Ver Figura en A52 en Anexo

Los espectros de EPR de cobre presentan 4 señales típicas a campo bajo, de lo cual se logran ver únicamente 3 debido a que la cuarta se superpone con la región superhiperfina en la cual se pueden notar las interacciones con el disolvente (DMF). De igual modo los dos valores de g , g paralela (g_{\parallel}) y g perpendicular (g_{\perp}) indican una geometría axial para el complejo. La relación entre $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ sugiere una geometría de cuadrado plano ligeramente distorsionada, debido a que los valores típicos para una geometría cuadrada plana varían entre 105 y 130 ^[54], al obtener 138.84 se deduce una distorsión en la geometría del complejo.

Tabla 11. Datos del espectro EPR

Complejo	g_{\parallel}	g_{\perp}	$A_{\parallel}(10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$A_{\perp}(10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel}/A_{\parallel} (\text{cm}^{-1})$
N-metilpirrolc-Cu	2.28726	2.06724	16.473	1.903	138.84

Valor g paralela = g_{\parallel} , valor g perpendicular = g_{\perp} , valor A paralela = A_{\parallel} , valor A perpendicular = A_{\perp} .

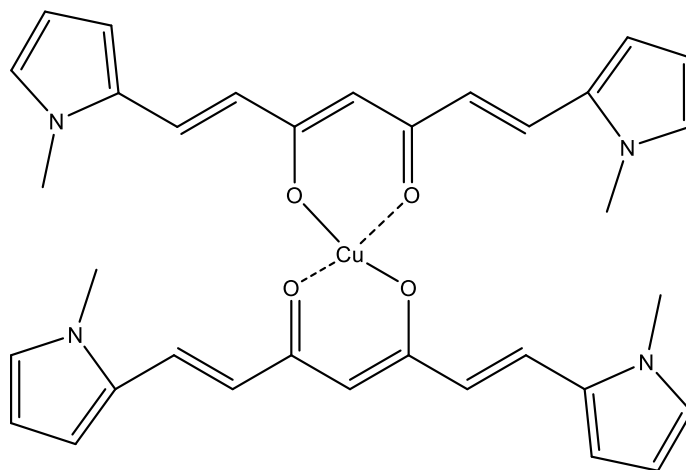


Figura 25. Estructura propuesta de N-metilpirrolcurcumina-Cu.

6.6.2 Análisis elemental

Tabla 12. Resultados de Análisis elemental

Clave de muestra	Valor	N[%]	C[%]	H[%]	S[%]
N-metpirrolcurcumina-Cu	Teórico	8.95	65.21	5.47	---
	Experimental	8.85	64.79	5.40	---

6.6.3 Espectroscopía UV-Vis

Ver figura A53 en Anexo

Las longitudes de onda relevantes son las siguientes:

Se observan dos bandas de absorción del ligante en 424 nm y 344 nm atribuida a la transición $\pi\pi^*$. El complejo presenta dos bandas adicionales en 263.0 nm atribuida a la transición $\sigma-\pi^*$ y en 453 nm indicativa de una absorción por transferencia de carga del complejo.

6.6.4 Espectroscopía Infrarroja

Ver Figura en A54 en Anexo

En el IR de **VI** la banda que se observa en 1707.19 cm^{-1} es atribuida a la banda del carbonilo. En 3098.26 cm^{-1} se observa la vibración C=CH y la banda en 952.83 cm^{-1} se atribuye a la vibración del grupo -HC=CH-trans. En 2929 cm^{-1} se observa la banda de vibración del metilo. La presencia de una banda intensa en 1471.21 cm^{-1} es atribuida a la interacción de cobre (II) con la β -dicetona, se observa una banda en 517.23 correspondiente a las vibraciones M-O, del complejo de Cu (II).

6.6.5 Espectrometría de Masas

Ver Figura en A55 en Anexo

El espectro de masas de N-metilpirrolcurcumina-Cu muestra un pico intenso para el ión molecular en 626.19 M^+ , que corresponde a la masa teórica calculada para el compuesto de 626.22 uma .

6.7 Furanocurcumina-Cu (VII)

6.7.1 Resonancia Paramagnética Electrónica

Ver Figura en A56 en Anexo

Los espectros de EPR de cobre presentan 4 señales típicas a campo bajo, de lo cual se logran ver únicamente 3 debido a que la cuarta se superpone con la región superhiperfina en la cual se pueden notar las interacciones con el disolvente (DMF). De igual modo los dos valores de g , g paralela (g_{\parallel}) y g perpendicular (g_{\perp}) indican una geometría axial para el complejo. La relación entre $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ sugiere una geometría de cuadrado plano ligeramente distorsionada, debido a que los valores típicos para una geometría cuadrada plana varían entre 105 y 130 ^[54], al obtener 141.00 se deduce una distorsión en la geometría del complejo.

Tabla 13. Datos del espectro EPR

Complejo	g_{\parallel}	g_{\perp}	$A_{\parallel}(10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$A_{\perp}(10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel}/A_{\parallel} (\text{cm}^{-1})$
Furanocurcu-Cu	2.29660	2.06161	16.203	1.334	141.17

Valor g paralela= g_{\parallel} , valor g perpendicular= g_{\perp} , valor A paralela= A_{\parallel} , valor A perpendicular= A_{\perp} .

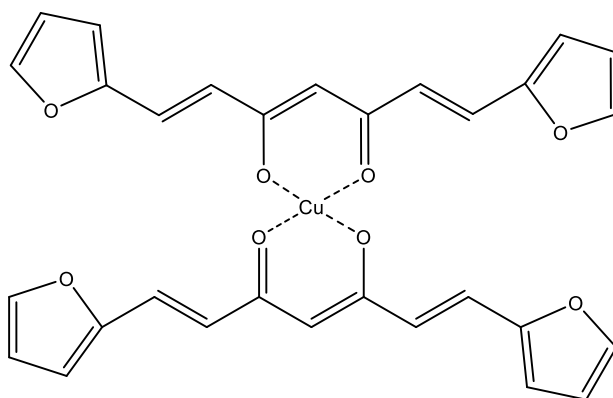


Figura 26. Estructura propuesta de Furanocurcumina-Cu.

6.7.2 Análisis elemental

Tabla 14. Resultados de Análisis elemental

Clave de muestra	Valor	N[%]	C[%]	H[%]	S[%]
Furanocurcumina-Cu	Teórico	---	70.31	4.72	---
	Experimental	---	69.35	4.57	---

6.7.3 Espectroscopía UV-vis

Ver figura A57 en Anexo

Las longitudes de onda relevantes son las siguientes:

Se observan dos bandas de absorción del ligante en 424 nm y 344 nm atribuida a la transición $\pi\pi^*$. El complejo presenta dos bandas adicionales en 263.0 nm atribuida a la transición $\sigma-\pi^*$ y en 453 nm indicativa de una absorción por transferencia de carga del complejo.

6.7.4 Espectroscopía Infrarroja

Ver figura A58 en Anexo

En el IR de **VII** la banda que se observa en 1623.33 cm^{-1} es atribuida a la banda del carbonilo. En 3124.24 cm^{-1} se observa la vibración C=CH y la banda que se observa en 957.31 cm^{-1} se atribuye a la vibración del grupo -HC=CH-trans. La presencia de una banda intensa en 1561.55 cm^{-1} es atribuida a la interacción de cobre (II) con la β -dicetona, se observa una banda en 479.14 correspondiente a las vibraciones M-O, del complejo de Cu (II).

6.7.5 Espectrometría de Masas

Ver figura A59 en Anexo

El espectro de masas de Furanocurcumina-Cu muestra un pico intenso para el ión molecular en 573.5 M^+ , que corresponde a la masa teórica calculada para el compuesto de 574.04 uma.

6.7.6 Difracción de Rayos X de monocristal

Se determinó la estructura cristalina del complejo de Furanocurcumina con cobre (ver figura 27, 28) donde se observan las distancias entre los oxígenos y el cobre (Ver figura A60) con los valores de 1.911 Å (O1-Cu1), 1.907 Å (O2-Cu1), 1.916 Å (O5-Cu1) y 1.899 Å (O6-Cu1) lo cual es congruente debido a que las distancias de enlace entre los complejos curcuminoides y cobre se encuentran entre 1.900 Å y 2.000 Å ^[46]. Las distancias de enlace entre C3-C4-C5 (1.380 Å y 1.393 Å) y C18-C19-C20 (1.388 Å y 1.382 Å) son más parecidas a las distancias mostradas para un anillo aromático, en contraste las distancias entre C5-O2 (1.280 Å), C3-O1 (1.287 Å), C18-O5 (1.279 Å) y C20-O6 (1.285 Å) que son similares a las reportadas de 1.275 Å para los carbonilos en los curcuminoides ^[53]. Por otro lado los ángulos formados (ver figura A61) entre; O1-Cu1-O2 (94.24°), O2-Cu1-O5 (87.28°), O5-Cu1-O6 (94.34°) y O6-Cu1-O1 (84.22°) cuya cercanía a 90° sugiere

una geometría cuadro plano. Los planos formados entre los anillos aromáticos se muestran en la tabla 15. El plano de coordinación formado entre los 4 oxígenos y el cobre, se contrasta con los 4 planos formados por cada uno de los anillos heterocíclicos mostrados en la tabla 16.

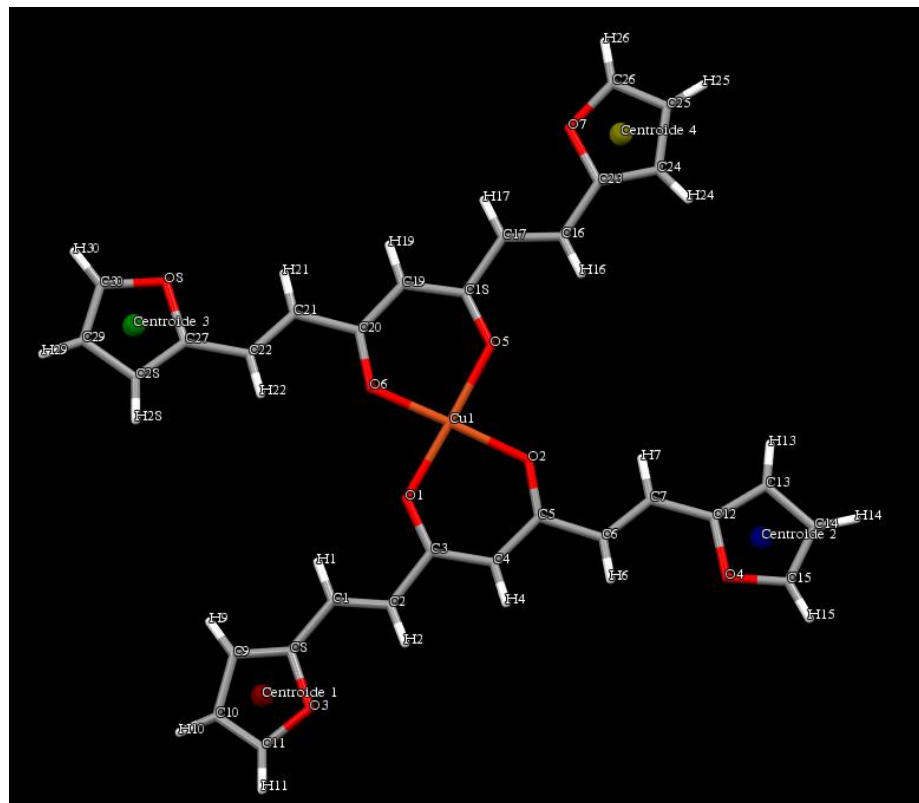


Figura 27. Estructura cristalina de Furanocurcumina-Cu

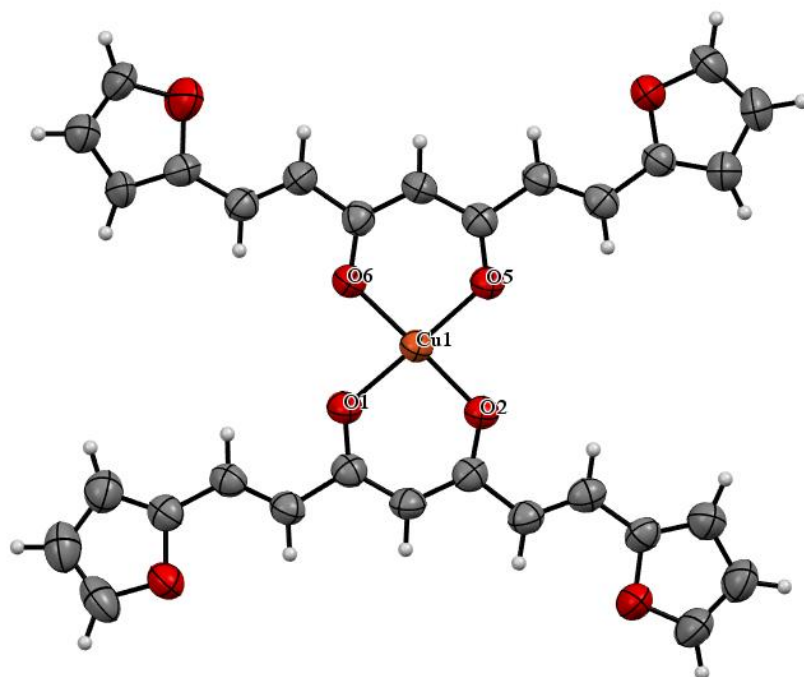


Figura 28. Estructura cristalina de Furanocurcumina (ORTEP)

Tabla 15. Ángulos entre planos

Planos entre centroides	Anexo	Ángulo	Coplanares
C1-C2	A62	22.34	No
C1-C3	A63	25.81	No
C1-C4	A64	12.20	No
C2-C3	A65	4.18	Si
C2-C4	A66	10.17	No
C3-C4	A67	13.85	No

Tabla 16. Ángulos formados entre el plano de coordinación y los planos de los anillos del heterociclo

Planos	Anexo	Ángulo	Coplanares
PC-C1	A68	17.87	No
PC-C2	A69	5.96	No
PC-C3	A70	10.14	No
PC-C4	A71	6.10	No

6.8 Tiofenocurcumina-Cu (VIII)

6.8.1 Resonancia Paramagnética Electrónica

Ver Figura en A72 en Anexo

Los espectros de EPR de cobre presentan 4 señales típicas a campo bajo, de lo cual se logran ver únicamente 3 debido a que la cuarta se superpone con la región superhiperfina en la cual se pueden notar las interacciones con el disolvente (DMF). De igual modo los dos valores de g , g paralela (g_{\parallel}) y g perpendicular (g_{\perp}) indican una geometría axial para el complejo. La relación entre $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ sugiere una geometría de cuadrado plano ligeramente distorsionada, debido a que los valores típicos para una geometría cuadrada plana varían entre 105 y 130 ^[54], al obtener 146.00 se deduce una distorsión en la geometría del complejo.

Tabla 17. Datos del espectro EPR

Complejo	g_{\parallel}	g_{\perp}	$A_{\parallel}(10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$A_{\perp}(10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel}/A_{\parallel} (\text{cm}^{-1})$
Tiofenocurcu-Cu	2.30241	2.06319	15.918	1.144	146.00

Valor g paralela= g_{\parallel} , valor g perpendicular= g_{\perp} , valor A paralela= A_{\parallel} , valor A perpendicular= A_{\perp} .

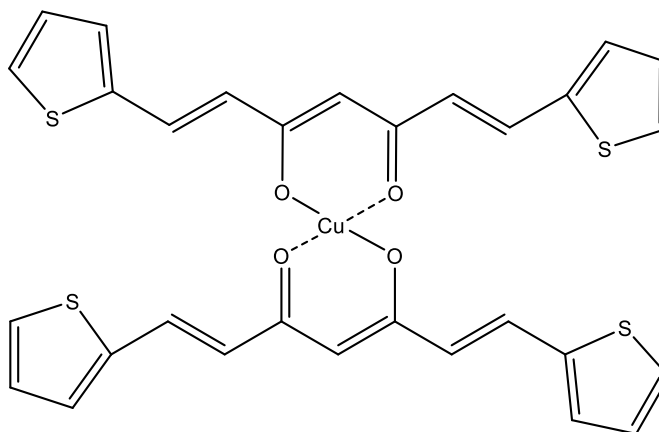


Figura 29. Estructura propuesta de Tiofenocurcumina-Cu

6.8.2 Análisis elemental

Tabla 18. Resultados de Análisis elemental

Clave de muestra	Valor	N[%]	C[%]	H[%]	S[%]
Tiofenocurcumina-Cu	Teórico	---	56.45	3.47	20.09
	Experimental	---	54.19	3.46	18.79

6.8.3 Espectroscopía UV-Vis

Ver Figura en A73 en Anexo

Las longitudes de onda relevantes son las siguientes:

Se observan dos bandas de absorción del ligante en 428 nm y 272 nm atribuida a la transición $\pi\pi^*$. El complejo presenta dos bandas adicionales en 343.5 nm atribuida a la transición $\sigma-\pi^*$ y en 456.5 nm indicativa de una absorción por transferencia de carga del complejo.

6.8.4 Espectroscopía Infrarroja

Ver Figura en A74 en Anexo

En el IR de **VIII** la banda que se observa en 1612.98 cm^{-1} es atribuida a la banda del carbonilo. En 3066.40 cm^{-1} se observa la vibración C=CH y la banda que se observa en 952.83 cm^{-1} se atribuye a la vibración del grupo -HC=CH-trans. La presencia de una banda intensa en 1502.47 cm^{-1} es atribuida a la interacción de cobre (II) con la β -dicetona, se observa una banda en 484.91 correspondiente a las vibraciones M-O, del complejo de Cu (II).

6.8.5 Espectrometría de Masas

Ver Figura en A75 en Anexo

El espectro de masas de Tiofenocurcumina-Cu muestra un pico intenso para el ión molecular en 639.51 M^+ , que corresponde a la masa teórica calculada para el compuesto de 638.3 uma.

6.8.6 Difracción de Rayos X de monocristal

Se determinó la estructura cristalina del complejo de Tiofenocurcumina con cobre (ver figura 30, 31) donde se observan las distancias entre los oxígenos y el cobre en el plano de coordinación (Ver figura A76,A77) con los valores de 1.954 Å (O1-Cu1), 1.946 Å (O2-Cu1), 2.175 Å (O3-Cu1), 1.946 Å (O21-Cu1) y 1.933 Å (O22-Cu1) lo cual es congruente debido a que las distancias de enlace entre los complejos curcuminoides y cobre se encuentran entre 1.900 Å y 2.000 Å ^[46]; la única que difiere de este valor es la distancia entre O3-Cu1 debido a que la DMF también forma parte de la coordinación. Las distancias de enlace entre C3-C4-C5 (1.403 Å y 1.391 Å) y C23-C24-C25 (1.394 Å y 1.381 Å) son más parecidas a las distancias mostradas para un anillo aromático. En contraste, las distancias entre C5-O2 (1.273 Å), C3-O1 (1.276 Å), C23-O21 (1.293 Å) y C25-O22 (1.281 Å) son similares a las reportadas de 1.275 Å para los carbonilos en los curcuminoides ^[53]. Por otro lado, los valores de ángulos entre O1-Cu1-O2 (92.91°) , O1-Cu1-O21(87.48°), O2- Cu1- O22(86.51°) y O21-Cu1-O22(91.55°), con cercanía a los

90°(ver figura A78), y los valores entre los ángulos formados entre centro metálico y el oxígeno del disolvente (ver figura A79), O1-Cu1-O3(94.64°), O2-Cu1-O3 (97.96°),O21-Cu1-O3 (91.47°) y O22-Cu1-O3 (96.58°), con cercanía a 90° sugieren una geometría de bipirámide trigonal.

Los planos formados entre los anillos aromáticos se muestran en la tabla 19. El plano de coordinación formado entre los 4 oxígenos del ligante y el cobre, se contrasta con los 4 planos formados por cada uno de los anillos heterocíclicos mostrados en la tabla 20.

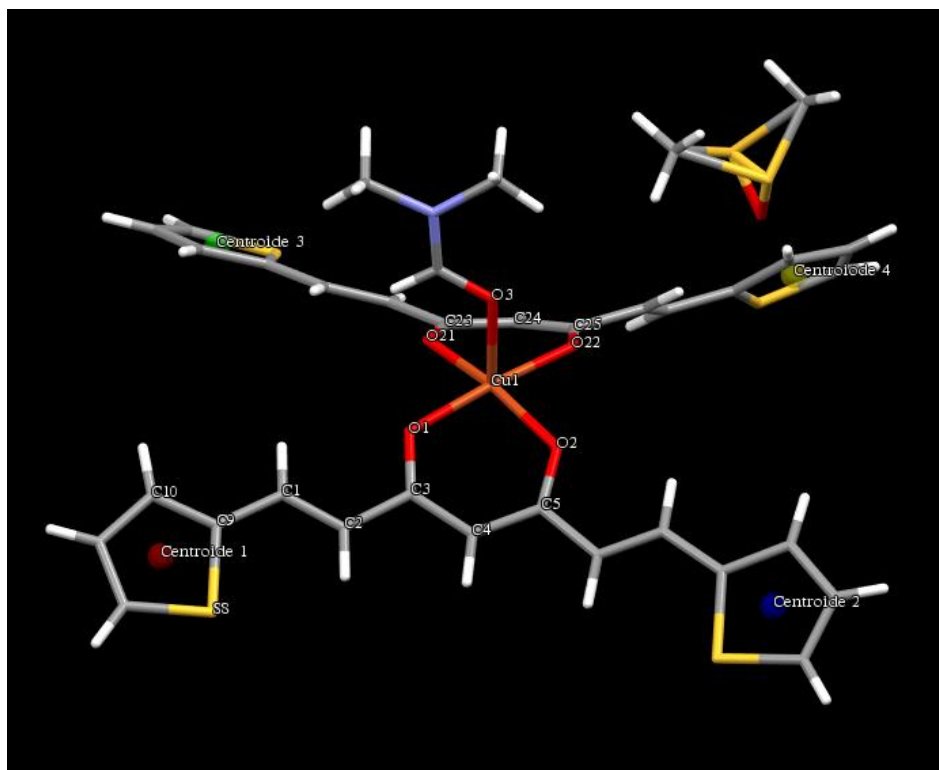


Figura 30. Estructura cristalina de Tiofenocurcumina-Cu

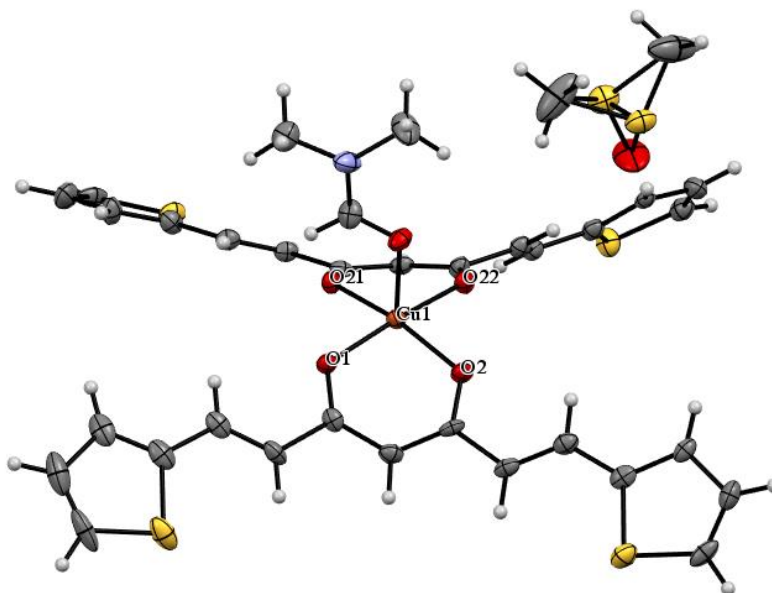


Figura 31.- Estructura cristalina de Tiofenocurcumina (ORTEP)

Tabla 19. Ángulos entre planos

Planos entre centroides	Anexo	Ángulo	Coplanares
C1-C2	A80	25.76	No
C1-C3	A81	62.19	No
C1-C4	A82	89.51	No
C2-C3	A83	70.41	No
C2-C4	A84	81.82	No
C3-C4	A85	40.19	No

Tabla 20. Ángulos formados entre el plano de coordinación y los planos de los anillos del heterociclo

Planos	Anexo	Ángulo	Coplanares
PC-C1	A86	30.15	No
PC-C2	A87	32.46	No
PC-C3	A88	38.02	No
PC-C4	A89	59.36	No

6.9 Pruebas Biológicas

Se observa en la **tabla 21** que el curcuminoide utilizado (Fenilcurcumina), tiene una disminución de su citotoxicidad al ser complejoado con cobre. En el caso de N-metilpirrolcurcumina solo hay un aumento significativo en la línea HCT-15 cuando es utilizado su complejo de cobre. En el caso de Furanocurcumina no es activa en la mayoría de las líneas, sin embargo, al realizar la complejación con cobre hay un aumento significativo en su citotoxicidad en las 6 líneas de cáncer, aunque también es citotóxica para células sanas. Por último, el ligante Tiofenocurcumina no es activo en la mayoría de las líneas, sin embargo al ser complejoado con cobre hay un aumento selectivo en las líneas K562 y SKLU-1 y la citotoxicidad en la línea de células sanas es nula.

Protocolo: Sulforrodamina B

Tipo de ensayo: Screening primario

Tabla21. Citotoxicidad de los Análogos de Curcumina, U251= glía de sistema nervioso central, PC-3= próstata, K562= leucemia, HCT-15= colon, MCF-7= mama, SKLU-1= pulmón. COS-7: línea celular de riñón de mono (no cancerosa): NC: no citotóxica.

Muestra	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1	COS7
Conc. 25 µM							
PhCurcu	47.5	31.2	54.7	25.0	48.7	53.0	32.9
PhCurcu-Cu	3.5	NC	4.2	NC	NC	NC	8.4
N-metpirrolcurcu	52.83	60.39	65.8	18.15	99.9	100	100
N-metpirrolc-Cu	71.62	64.99	74.67	100	100	100	100
Furanocurcumina	NC	10.8	6.4	NC	NC	NC	46.2
Furanocurcu-Cu	100	100	90.1	72.4	92.8	95.0	100
Tiofenocurcumina	NC	14.8	4.4	NC	13.4	NC	NC
Tiofenocurcu-Cu	58.2	63.6	84.4	38,1	57.9	91.0	NC

7. Conclusiones

- Se sintetizó un nuevo análogo de Curcumina (N-metilpirrolcurcumina).
- Se obtuvieron cuatro nuevos complejos de cobre (Fenilcurcumina-Cu, N-metilpirrolcurcumina-Cu, Furanocurcumina-Cu, Tiofenocurcumina-Cu).
- Se realizó la caracterización de los ligantes (Fenilcurcumina, N-metilpirrolcurcumina, Furanocurcumina, Tiofenocurcumina), por Resonancia Magnética Nuclear (**RMN**), Espectrometría de Masas (**Masas**), Análisis elemental (**AE**), Espectroscopía Infrarroja (**IR**), Espectroscopía UV-visible (**Uv-vis**) y Difracción de rayos X de monocristal (**DRXMC**).
- Se realizó la caracterización de los complejos (Fenilcurcumina-Cu, N-metilpirrolcurcumina-Cu, Furanocurcumina-Cu, Tiofenocurcumina-Cu), por Resonancia Paramagnética Electrónica (**EPR**), Espectrometría de Masas (**Masas**), Análisis elemental (**AE**), Espectroscopía Infrarroja (**IR**), Espectroscopía UV-visible (**Uv-vis**), Difracción de rayos X de monocristal (**DRXMC**).
- Se determinó la forma cristalina de 3 análogos heterocíclicos de Curcumina (N-metilpirrolcurcumina, Furanocurcumina y Tiofenocurcumina)
- Se determinó la forma cristalina del complejo de cobre de un curcuminoide (Fenilcurcumina-Cu).
- Se determinó la forma cristalina de 2 complejos de cobre de dos análogos heterocíclicos de Curcumina (Furanocurcumina-Cu y Tiofenocurcumina-Cu)
- La relación metal:orgánica encontrada corresponde a 1 átomo metálico por 2 moléculas de análogo curcuminoide.
- Se encontró que la citotoxicidad de los complejos de cobre de los análogos de Curcumina aumenta con respecto a la de los ligantes.

El presente trabajo representa el primer estudio de la química de los complejos metálicos homolépticos de análogos de Curcumina abriéndose así un campo de estudio de los mismos.

Parte de los resultados del presente trabajo fueron publicados en un artículo. <https://doi.org/10.3390/molecules24050910>. (Ver al final de anexos)

8. Bibliografía:

- 1) V. Lampe, J. Miłobędzka J. Studien über curcumin. *Ber Dtsch Chem Ges.*, **1913**, 46, 2235-2240.
- 2) Wanninger, S., Lorenz, V., Subhan, A., Edelman, F.T. Metal complexes of curcumin - synthetic strategies, structures and medicinal applications. *Chemical Society. Reviews.*, **2015**. 7; 44 (15), 4986-5002.
- 3) Goel,A.,Kunnumakkara, A., Aggarwal, B. Curcumin as “curecurcumin”. From kitchen to clinic. *Biochemical pharmacology*. **2008**, 75, 787-809.
- 4) Naksuriya, O., Okoogi, S., Schiffelers, R, Hennink,W. Curcumin nanoformulations: A review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. *Biomaterials*. **2014**, 35, 2265-3383.
- 5) Ghosh, S., Beberjee, S., Sil, P. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. *Food and Chemical Toxicology*. **2005**, 83, 111-124.
- 6) Sarkar,T.,Butcher, Ray., Benerjee, S., Murkherjee., S., Hussain, A. visible light-induced cytotoxicity of a dinuclear iron(III) complex of curcumin with low-micromolar IC₅₀ value in cancer cells. *Inorganica Chimica Acta*. **2009**, 439,8-17.
- 7) Jesmin Aktera, Md. Amzad Hossaina, Kensaku Takaraa, Md. Zahorul Islamb,De-Xing Hou. Antioxidant activity of different species and varieties of turmeric (*Curcuma* spp): Isolation of active compounds. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*, **2019**, 215, 9-17.
- 8) Maheshwari, R.K.; Singh, A.K; Gaddipati, J.; Srimal, R.C. Multiple biological activities of curcumin: A short review., *Life Sci.*, **2006**, 75, 787-809.
- 9) Margarita Bernabé-Pineda, María Teresa Ramírez-Silva, Mario Romero-Romo, Enrique González-Vergara Alberto Rojas-Hernández. Determination of acidity constants of curcumin in aqueous solution and apparent rate constant of its decomposition., *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2004**, 60(5), 1091-1097.
- 10) Wang, Y.; Pan, M.; Cheng, A.; Lin, L.; Ho, Y.; Hsieh, C.; Lin, J. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1997**, 15, 1867-1876.
- 11) Marcu, M. G., Jung, Y. J., Lee, S., Chung, E. J., Lee, M. J., Trepel, J., and Neckers, L. Curcumin is an inhibitor of p300 histone acetyltransferase., *Med. Chem.*, **2006**, 2 (2), 169–174.

- 12) Majhi, A., Rahman, G. M., Panchal, S., and Das, J. Binding of curcumin and its long chain derivatives to the activator binding domain of novel protein kinase C., *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18 (4), 1591–1598.
- 13) Fang, J., Lu, J., and Holmgren, A. Thioredoxin reductase is irreversibly modified by curcumin: a novel molecular mechanism for its anticancer activity., *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280 (26), 25284–25290.
- 14) Sahu, A., Kasoju, N., and Bora, U. Fluorescence study of the curcumin–casein micelle complexation and its application as a drug nanocarrier to cancer cells., *Biomacromolecules*. **2008**, 9 (10), 2905– 2912.
- 15) Sethi, G., Sung, B., Kunnumakkara, A. B., and Aggarwal, B. B. Targeting TNF for treatment of cancer and autoimmunity. *Adv Exp Med Biol.*, **2009**, 647, 37-51.
- 16) Sahoo, B. K., Ghosh, K. S., Bera, R., and Dasgupta, S. Studies on the interaction of diacetylcurcumin with calf thymus-DNA., *Chem. Phys.*, **2008**, 351 (1), 163–169.
- 17) Nafisi, S., Adelzadeh, M., Norouzi, Z., and Sarbolouki, M. N. Curcumin binding to DNA and RNA., *DNA Cell Biol.*, **2009**, 28 (4), 201–208.
- 18) Dhar, G.; Chakravarty, D.; Hazra, J.; Dhar, J.; Poddar, A.; Pal, M.; Chakrabarti, P.; Surolia, A.; Bhattacharyya, B. Actin–Curcumin Interaction: Insights into the Mechanism of Action Polymerization Inhibition., *Biochemistry.*, **2015**, 54, 1132-1143.
- 19) Aggarwal, B. B., and Sung, B., Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets., *Trends Pharmacol. Sci.*, **2009**, 30, 85–94.
- 20) Pabon, H. J. J. A synthesis of curcumin and related compounds., *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.*, **1964**, 83: 379-386.
- 21) S. Elavasaran, D. Bhakiaraj, B. Chellakili, T. Alavasaran, M. Gopalakrishnan. One pot synthesis, structural and spectral analysis of some symmetrical curcumin analogues catalyzed by calcium oxide under microwave irradiation., *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.*, **2012**, 97, 717-721.
- 22) William Meza-Morales, Estudio de la relación Metal-Orgánica entre curcuminoides y iones metálicos (tesis de maestría). Instituto de Química, **2017**, UNAM, México.
- 23) V. D. John and K. Krishnankutty. Antitumour activity of synthetic curcuminoid analogues (1,7-diaryl-1,6-heptadiene-3,5-diones) and their copper complexes . *Bioorganometallic Chemistry*, **2006**, 20, 477-482.
- 24) Luca Rigamonti, Giulia Orteca, Mattia Asti, Valentina Basile, Carol Imbriano, Monica Saladinia and Erika Ferrari. (March 2018). New curcumin-derived ligands and their affinity towards Ga³⁺, Fe³⁺ and Cu²⁺: spectroscopic studies on complex formation and stability in solution, *New J. Chem.*, **2018**, 42, 7680-7690.

- 25) Donald J. Messner . Christine Surrago . Celia Fiordalisi . Wing Yin Chung . Kris V. Kowdley. Isolation and characterization of iron chelators from turmeric (*Curcuma longa*): selective metal binding by curcuminoides, *Biometals*, **2017**, 30(5), 699–708.
- 26) Erika Ferrari, Rois Benassi, Monica Saladini, Giulia Orteca, Zuzana Gazova, Katarina Siposova, In vitro study on potential pharmacological activity of Curcumin analogues and their copper complexes, *Chem Biol Drug Des.*, **2017**, 89(3), 411-419.
- 27) Zhou, S.; Xue, X.; Jiang, B.; Tian, Y. Metal complexes of a novel bis- β -diketone-type ligand and its copper(II) complexes of two-photon biological imaging. *Sci. China Chem.* **2012**, 55, 334-340.
- 28) Sarkar, T.; Butcher, R.; Banerjee, S.; Mukherjee, S.; Hussain, A. Visible light-induced cytotoxicity of a dinuclear iron(III) complex of curcumin with low-micromolar IC₅₀ value in cancer cells. *Inorg. Chim. Acta.* **2016**, 439, 8-17.
- 29) Rajesh, J.; Gubendran, A.; Rajagopal, G.; Athappan, P. Synthesis, spectra and DNA interactions of certain mononuclear transition metal(II) complexes of macrocyclic tetra-aza diacetyl curcumin ligand. *J. Mol. Struct.*, **2012**, 1010, 169–178.
- 30) Pi, Z., Wang, J., Jiang, B., Cheng, G., Zhou, S. A curcumin-based TPA four-branched copper (II) complex probe for in vivo early tumor detection. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.*, **2015**, 46, 565-571.
- 31) Thomachan, S.; Sindhu, S.; John, V.D. Synthesis, Characterization, Antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activity of Curcuminoid Analogues with Trisubstituted Phenyl and Anthracenyl ring and their Zinc (II), Copper (II) and Vanadyl (IV) Chelates. *Int. J. Pharmac. Chem.* **2016**, 6, 78-86.
- 32) Pucci, D.; Bellini, T.; Crispini, A.; D'Agnano, I.; Liguori, P.; Garcia-Orduña, P.; Pirillo, S.; Valentini, A.; Zanchetta, G. DNA binding and cytotoxicity of fluorescent curcumin-based Zn(II) complexes. *Med. Chem. Commun.* **2012**, 3, 462-468.
- 33) Zhang, W.; Chen, C.; Shi, H.; Yang, M.; Liu, Y.; Ji, P.; Chen, H.; Tan, R.X.; Li, E. Curcumin is a biologically active copper chelator with antitumor activity. *Phytomedicine.*, **2016**, 23, 1-8.
- 34) Sumanont, Y.; Murakami, Y.; Tohda, M.; Vajragupta, O.; Watanabe, H.; Matsumoto, K. Effects of Manganese Complexes of Curcumin and Diacetylcurcumin on Kainic Acid-Induced Neurotoxic Responses in the Rat Hippocampus. *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, 30, 1732-1739.
- 35) Zhao, X.Z.; Jiang, T.; Wang, L.; Yang, H.; Zhang, S.; Zhou, P.J. Interaction of curcumin with Zn(II) and Cu(II) ions based on experiment and theoretical calculation. *J. Mol. Struct.*, **2010**, 984, 316-325.
- 36) John, V.D.; Krishnankutty, K. Antitumour activity of synthetic curcuminoid analogs (1,7(diaryl)1,6(heptadiene-3,5-diones) and their copper complexes. *Appl. Organometal Chem.* **2006**, 20, 477-482.

- 37) Susruthi Rajanala, BA; Neelam A. Vashi, MD. Haldi Ceremony –Historical Use of Turmeric. ,*JAMA Dermatol*, **2018**, 154(5), 543.
- 38) Paramasivam M, Poi R Banerjee H, Bandyopadhyay A. High-performance thin layer chromatographic method for quantitative determination of curcuminoids in *Curcuma longa* germplasm. *Food Chem.*, **2009**, 113(2), 640-644
- 39) Siviero A, Gallo E, Maggini V, et al. Curcumin, a golden spice with a low bioavailability., *J Herb Med.*, **2015**, 5, 57-70.
- 40) Vogel H, Pelletier J. Curcumin-biological and medicinal properties., *J Pharma.*, **1815**, 2, 50.
- 41) J. Miłobędzka, S. Kostanecki , V. Lampe. Zur Kenntnis des Curcumins., *Ber Dtsch Chem Ges.*, **1910**, 43, 2163-2170.
- 42) Björkhem-Bergman L, Jönsson K, Eriksson L.C., Olsson J.M., Lehmann S, Paul C, Björnstedt M. Drug-resistant human lung cancer cells are more sensitive to selenium cytotoxicity: Effects on thioredoxin reductase and glutathione reductase, *M. Biochem. Pharmacol.*, **2002**, 63(10), 1875-1884.
- 43) Sabine Urig, Katja Becker. On the potential of thioredoxin reductase inhibitors for cancer therapy, *Semin Cancer Biol*, **2006**, 16(6), 452-465
- 44) Xu Qiu, Zhong Liu, Wei-Yan Shao, Xing Liu, Da-Ping Jing, Yan-Jun Yu, Lin-Kun An, Shi-Liang Huang, Xian-Zhang Bu, Zhi-Shu Huang, Lian-Quan Gu. Synthesis and evaluation of curcumin analogues as potential thioredoxin reductase inhibitors. *Bioorg Med Chem.*, **2008**, 16(17), 8035-8041.
- 45) M. Akram Khan, Riyad El-Khatib, K.D. Rainsford, M.W. Whitehouse. Synthesis and anti-inflammatory properties of some aromatic and heterocyclic aromatic curcuminoids. *Bioorg Chem.*, **2012**, 40, 30-38.
- 46) Wang, J.; Wei, D.; Jiang, B.; Liu, T.; Ni, J.; Zhou, S. Two copper(II) complexes of curcumin derivatives: synthesis, crystal structure and in vitro antitumor activity. *Transit. Met. Chem.*, **2014**, 39, 553-558.
- 47) Meza-Morales, W.; Machado-Rodriguez, J.C.; Alvarez-Ricardo, Y.; Obregón-Mendoza, M.A.; Nieto-Camacho, A.; Toscano, R.A.; Soriano-García, M.; Cassani, J.; Enríquez, R.G. A New Family of Homoleptic Copper Complexes of Curcuminoids: Synthesis, Characterization and Biological Properties. *Molecules*, **2019**, 24, 910.
- 48) L. Xiaolin, S. Wei, L. Peiyuan, X. Qi, H. Shan, Q. Quanquan, H. Chusheng, Q. Danni, L. Hongxian. Ruthenium(II) arene complexes of curcuminoids: Synthesis, X-ray diffraction structure and cytotoxicity., *Polyhedron*, **2014**, 81, 614-618.
- 49) KK. Laali , WJ. Greves , AT. Zwarycz , SJ. Correa Smits , FJ. Troendle , GL. Borosky , S. Akhtar, A. Manna , A. Paulus , A. Chanan-Khan , M. Nukaya , GD.

Kennedy . Synthesis, Computational Docking Study, and Biological Evaluation of a Library of Heterocyclic Curcuminoids with Remarkable Antitumor Activity., *Chem Med Chem*, **2018**, 13(18), 1895-1908.

- 50) Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paul, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A. et al. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines., *J. Natl. Cancer Inst.*, **1991**, 38, 757–766.
- 51) Sumantran, V.N. Cellular chemosensitivity assays: An overview. In *Cancer Cell Culture: Methods and Protocols*, 2nd ed.; Cree, I.A., Ed.; Humana Press: New York, NY, USA, **2011**, Chapter 19, 219–236.
- 52) Lozada, C.; Soria-Arteche, O.; Ramírez-Apan, M.T.; Nieto-Camacho, A.; Enríquez, R.G.; Izquierdo, T.; Jiménez-Corona, A. Synthesis, cytotoxic and antioxidant evaluations of amino derivatives. *Bioorganic Medicin Chem*, **2012**, 20, 5077-5084.
- 53) J. Karlsen, A. Mostad, H.H. Tønnesen. Structural Studies of Curcuminoids. Crystal Structure of 1,7-Bis(4-hydroxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione Hydrate. *Acta Chem Scand*, **1988**, 42b, 23-27.
- 54) Rajagopal, G., Prasanna, N. & Athappan, P. Copper(II) and ruthenium(II)/(III) Schiff base complexes., *Transition Metal Chemistry*, **1999**, 24, 251.

9. ANEXO

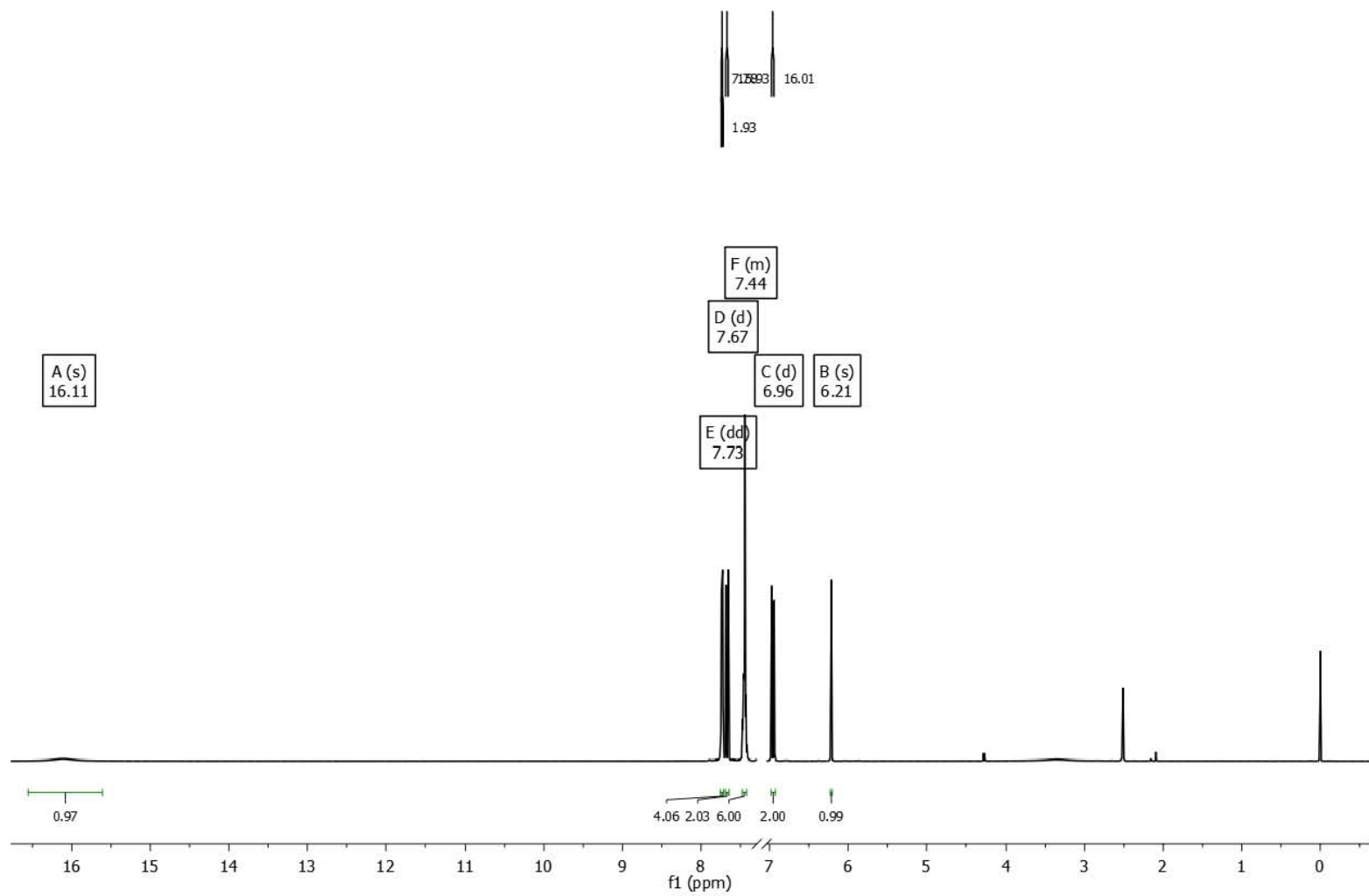


Figura A1. Espectro general de ^1H de Fenilcurcumina

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 16.11 (s, 1H).

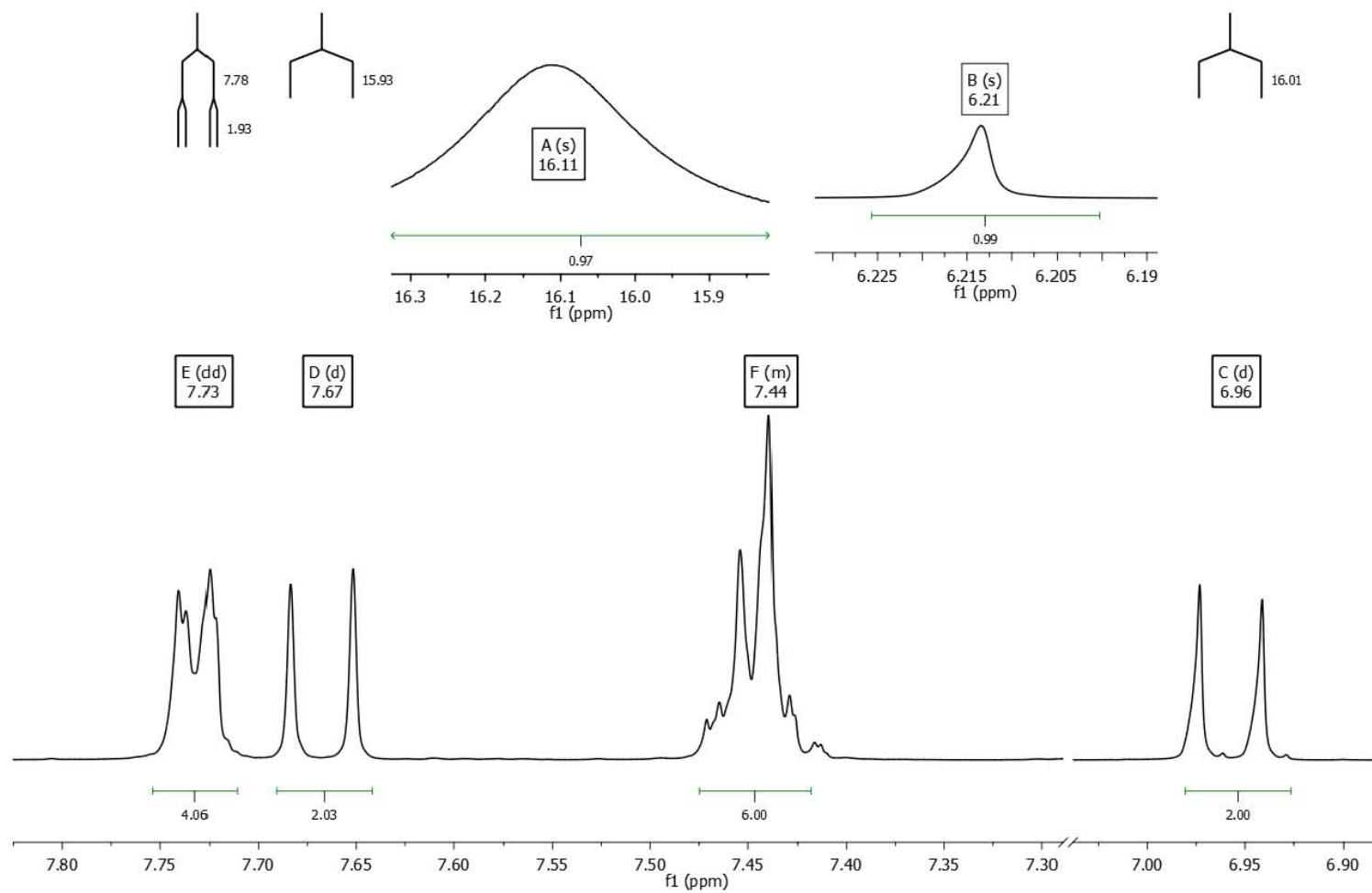


Figura A2.- Expansi3n de espectro de Fenilcurcumina

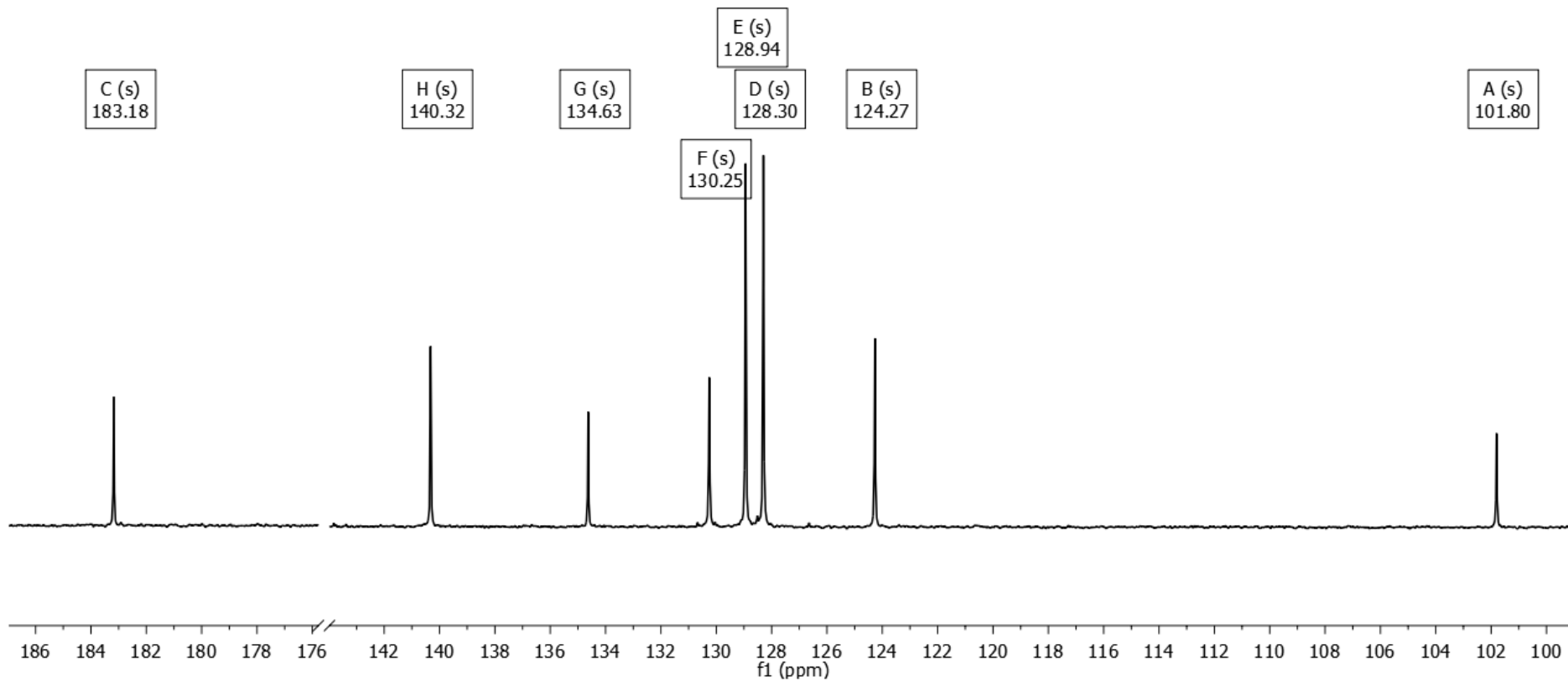


Figura A3.- Espectro de ^{13}C de Fenilcurcumina

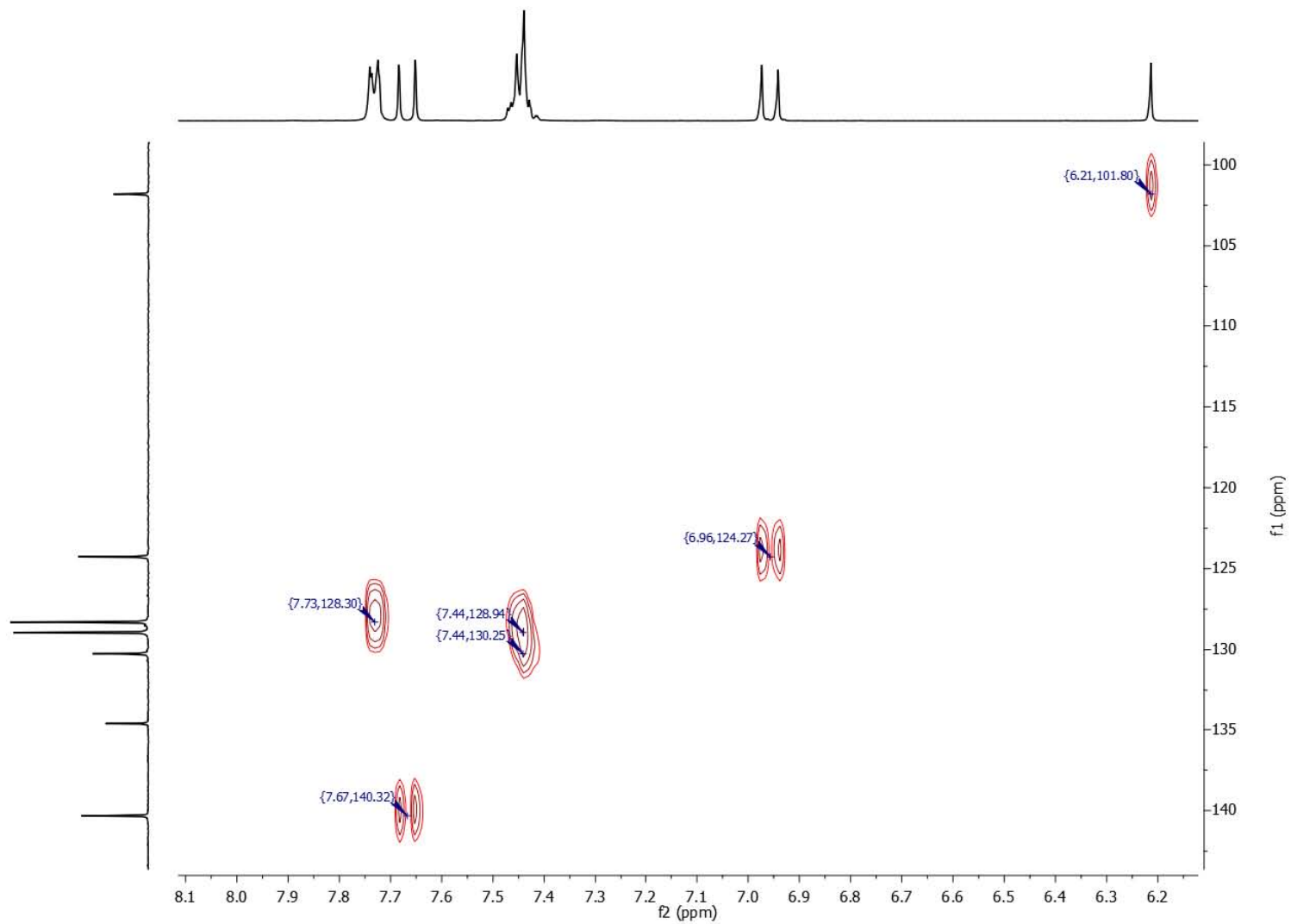


Figura A4.- Espectro HSQC de Fenilcurcumina

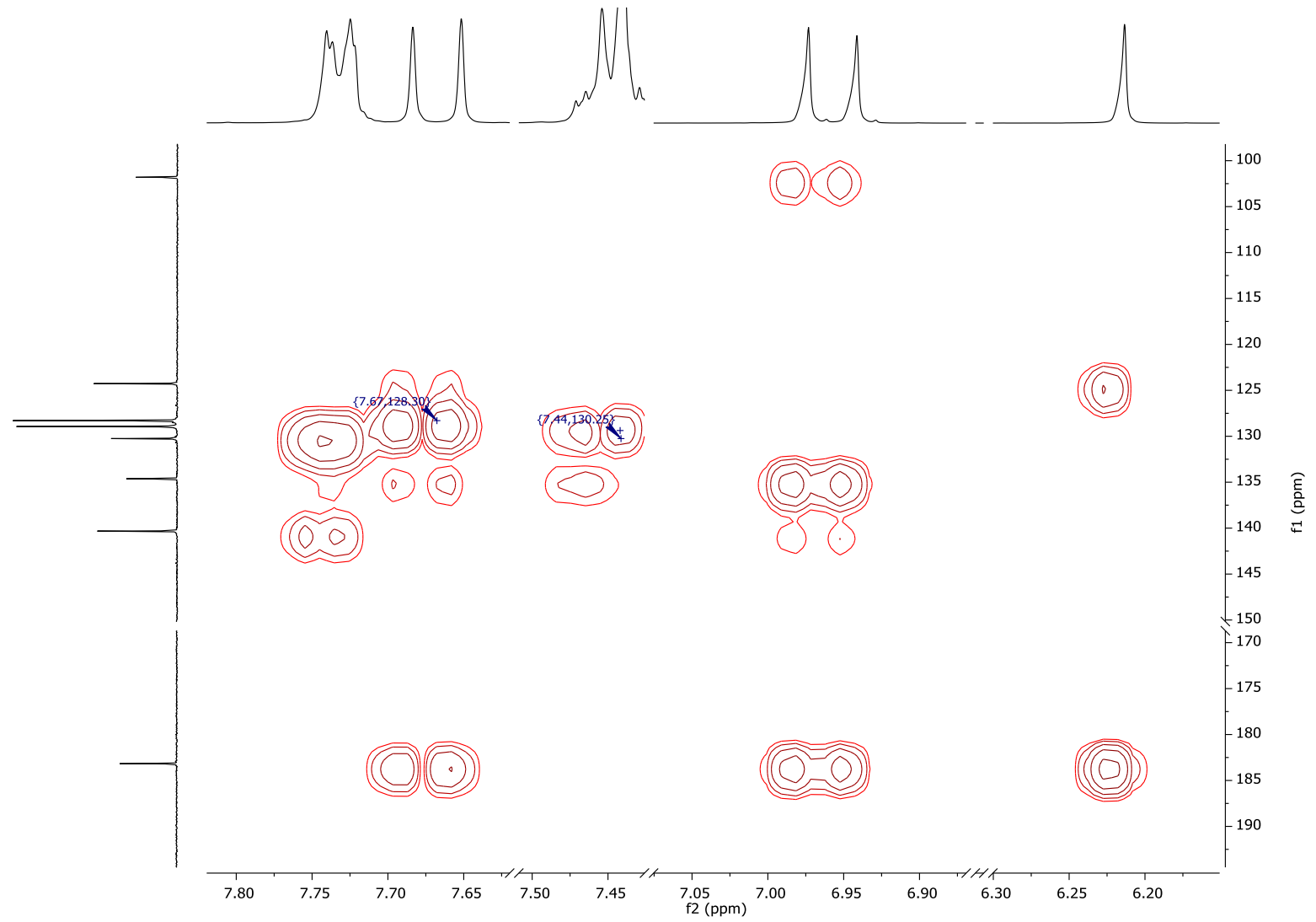


Figura A5.- Espectro HMBC de Fenilcurcumina

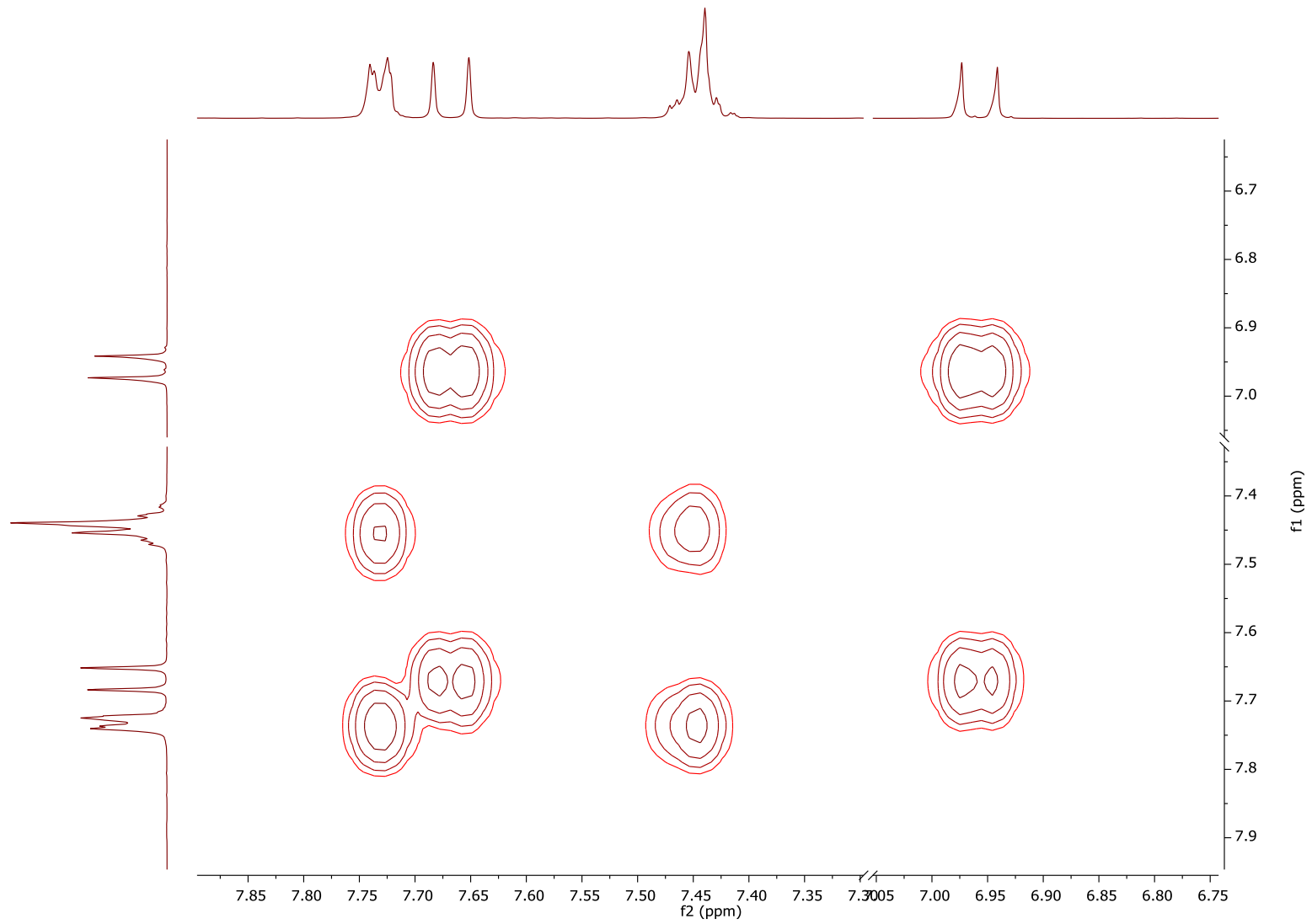


Figura A6.- Espectro COSY de Fenilcurcumina

Registro Ph Curcumina 181120-ehr-02
Matriz DIT 2/5

Laboratorios de Servicios Analíticos
Instituto de Química UNAM

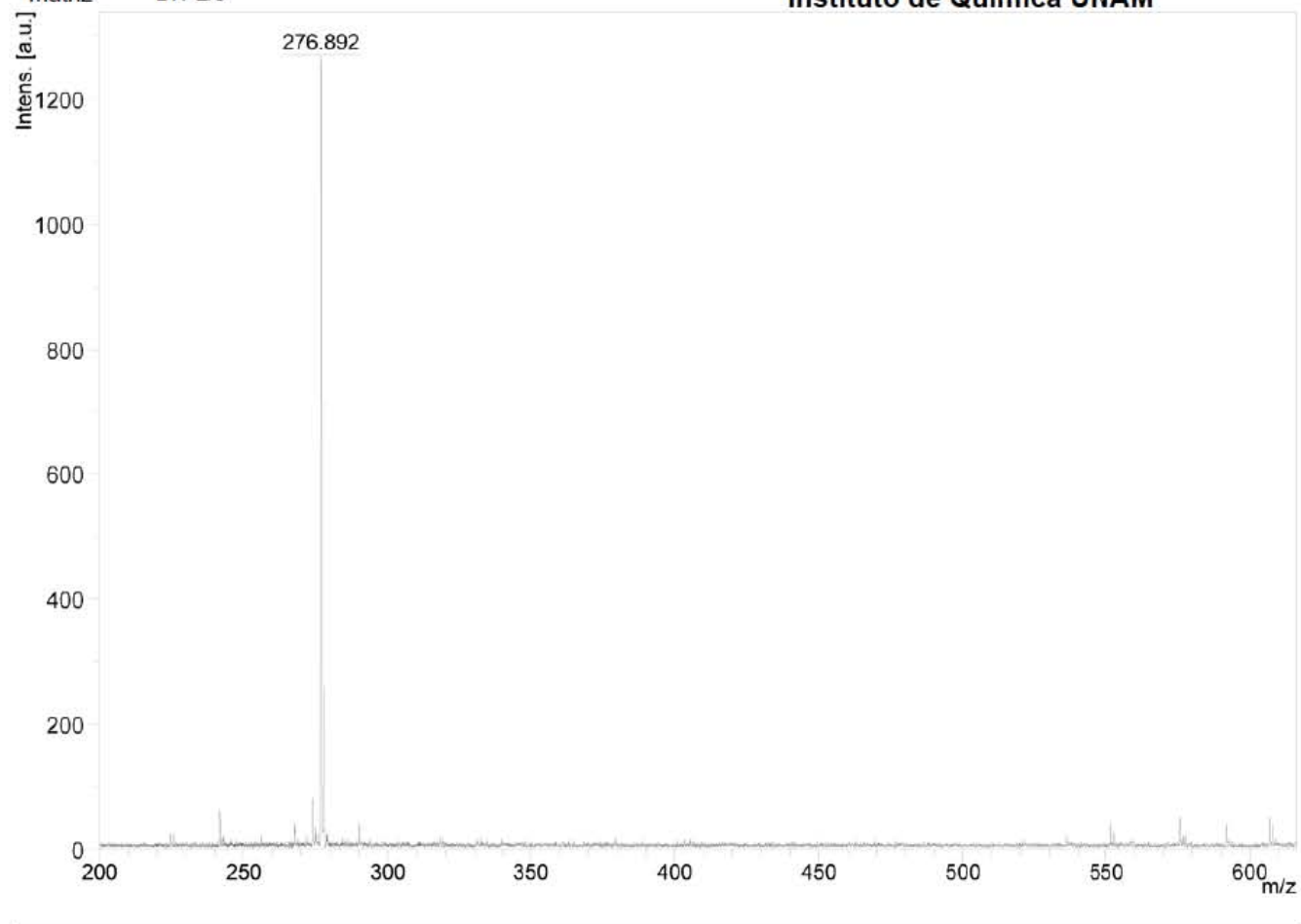
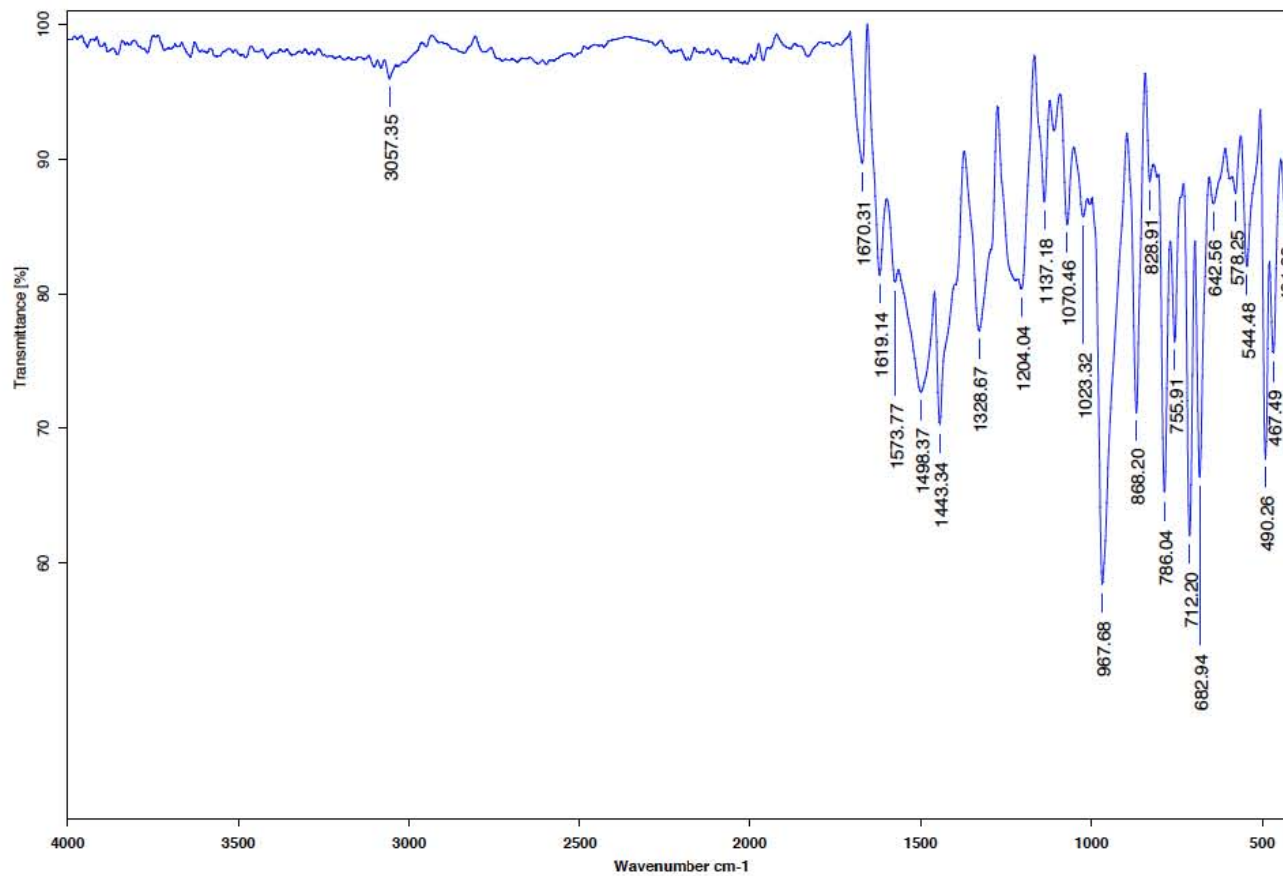


Figura A7.- Espectro de masas de Fenilcurcumina



C:\Infrarrojo\AIR-LEP-IQUI-007_18\Rocio\1450.0

Dr.R.Enriquez PhCurcumina

KBr/Pastilla

RPM

23/11/2018

Figura A8.- Espectro de IR de FenilCurcumina

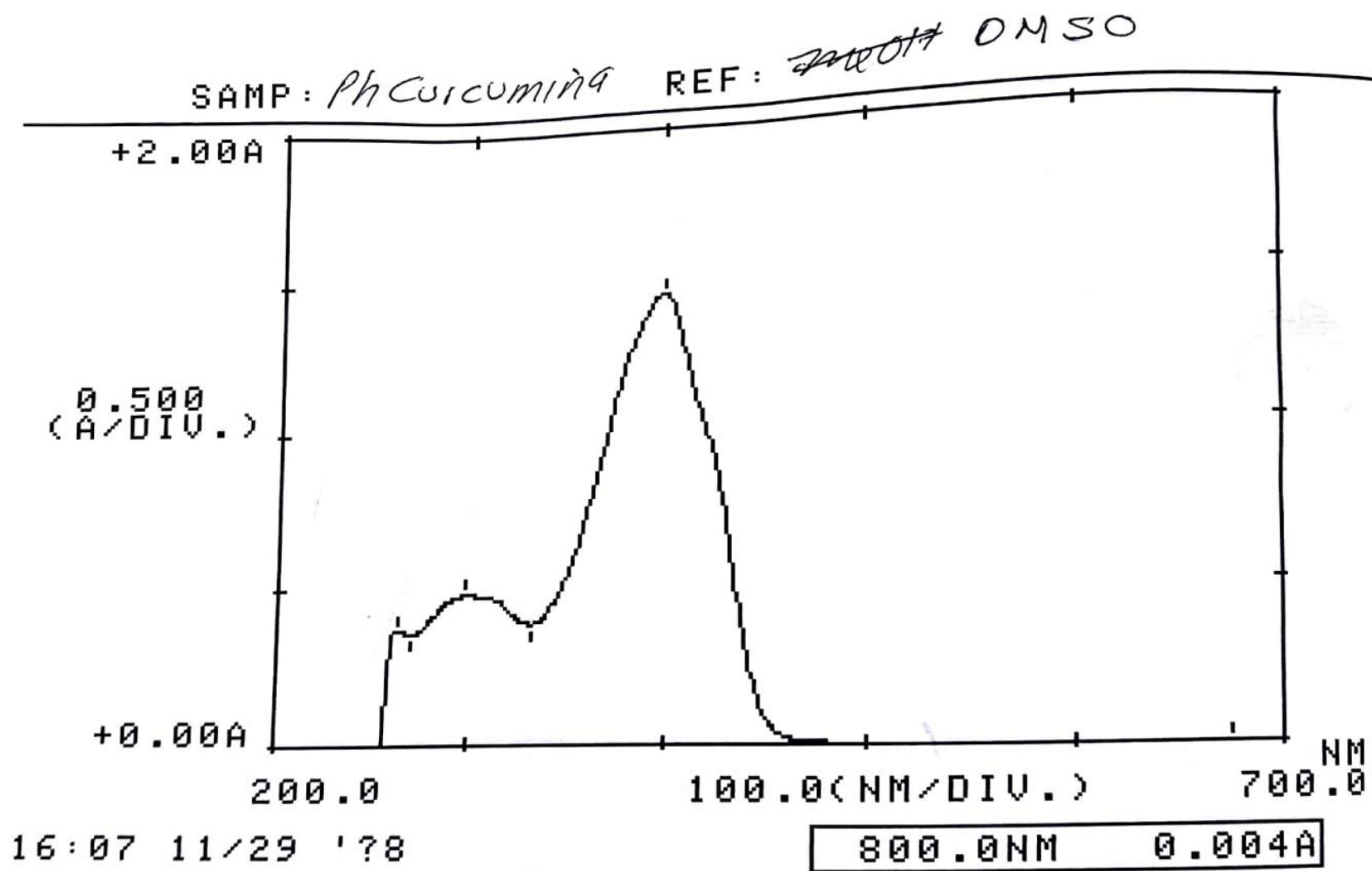


Figura A9.- Espectro de Uv-Vis de Fenilcurcumina

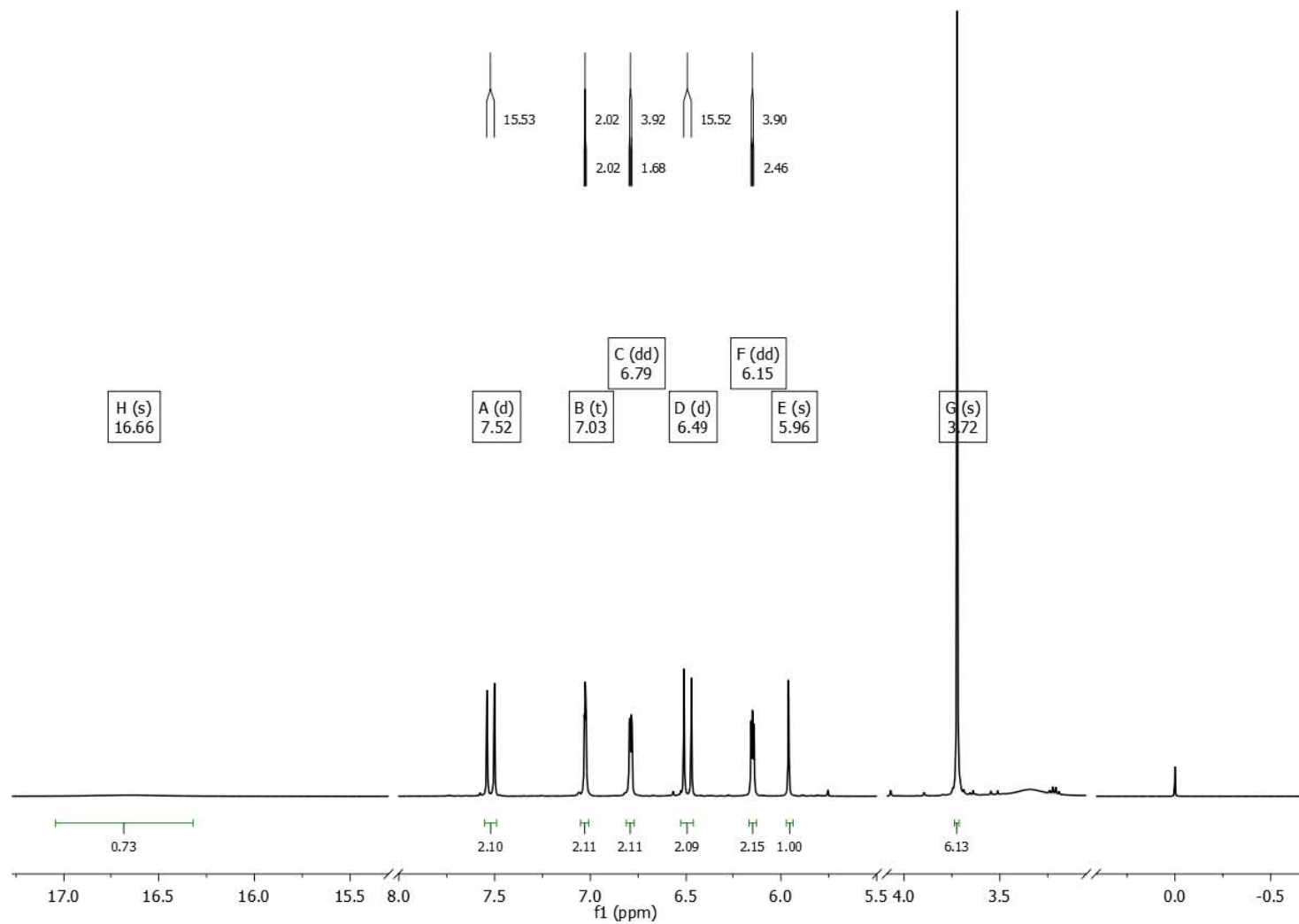


Figura A10.- Espectro general de ^1H de N-metilpirrolcurcumina

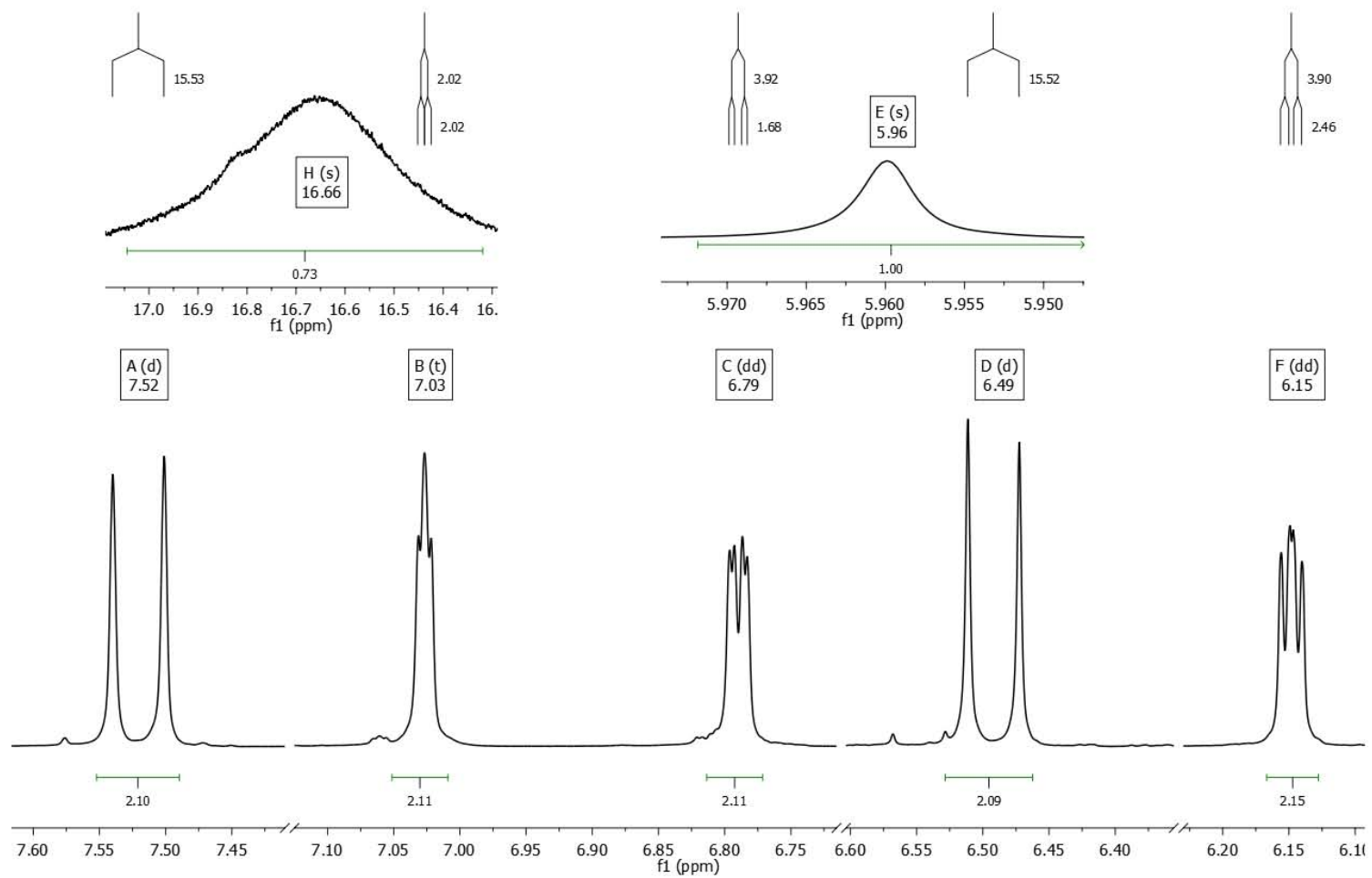


Figura A11.- Espectro general de ^1H de N-metilpirrolcurcumina

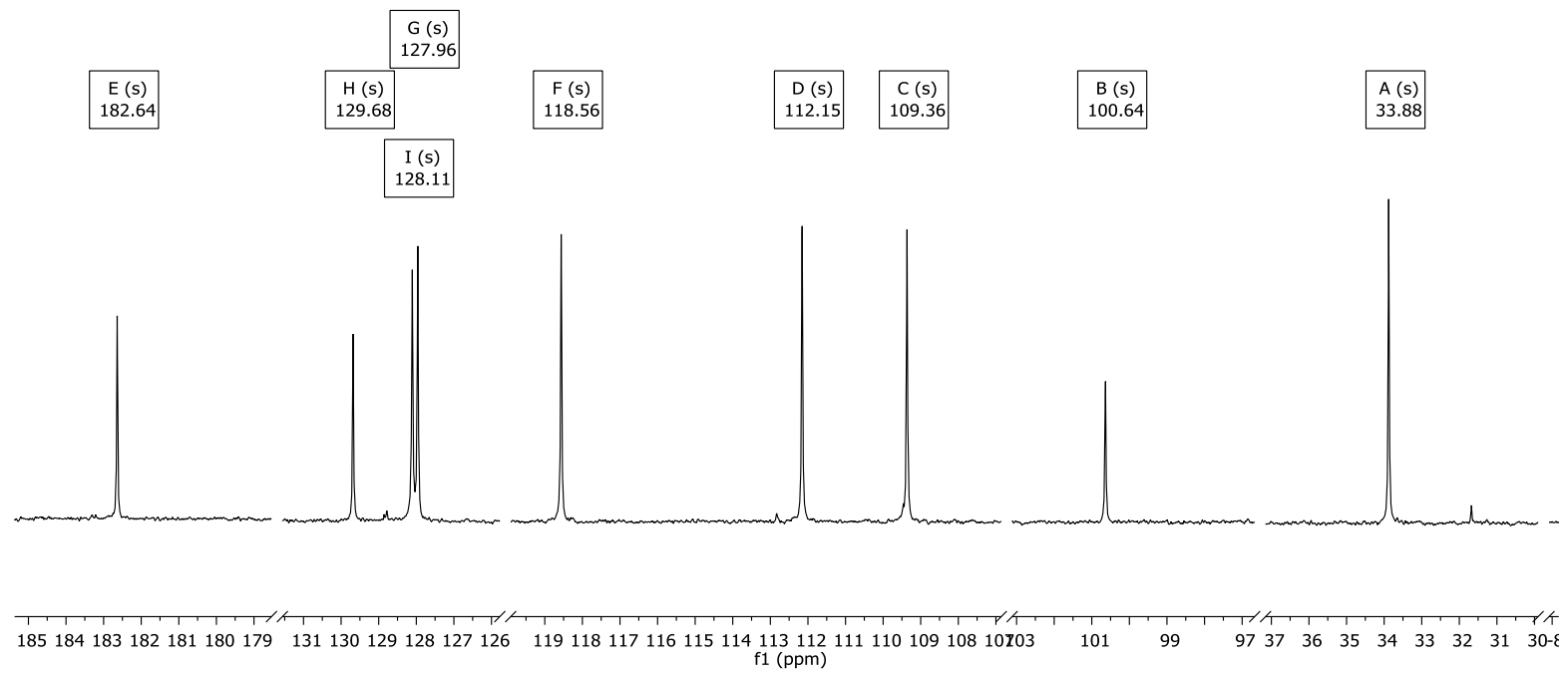


Figura A12.- Espectro general de ^{13}C de N-metilpirrolcurcumina

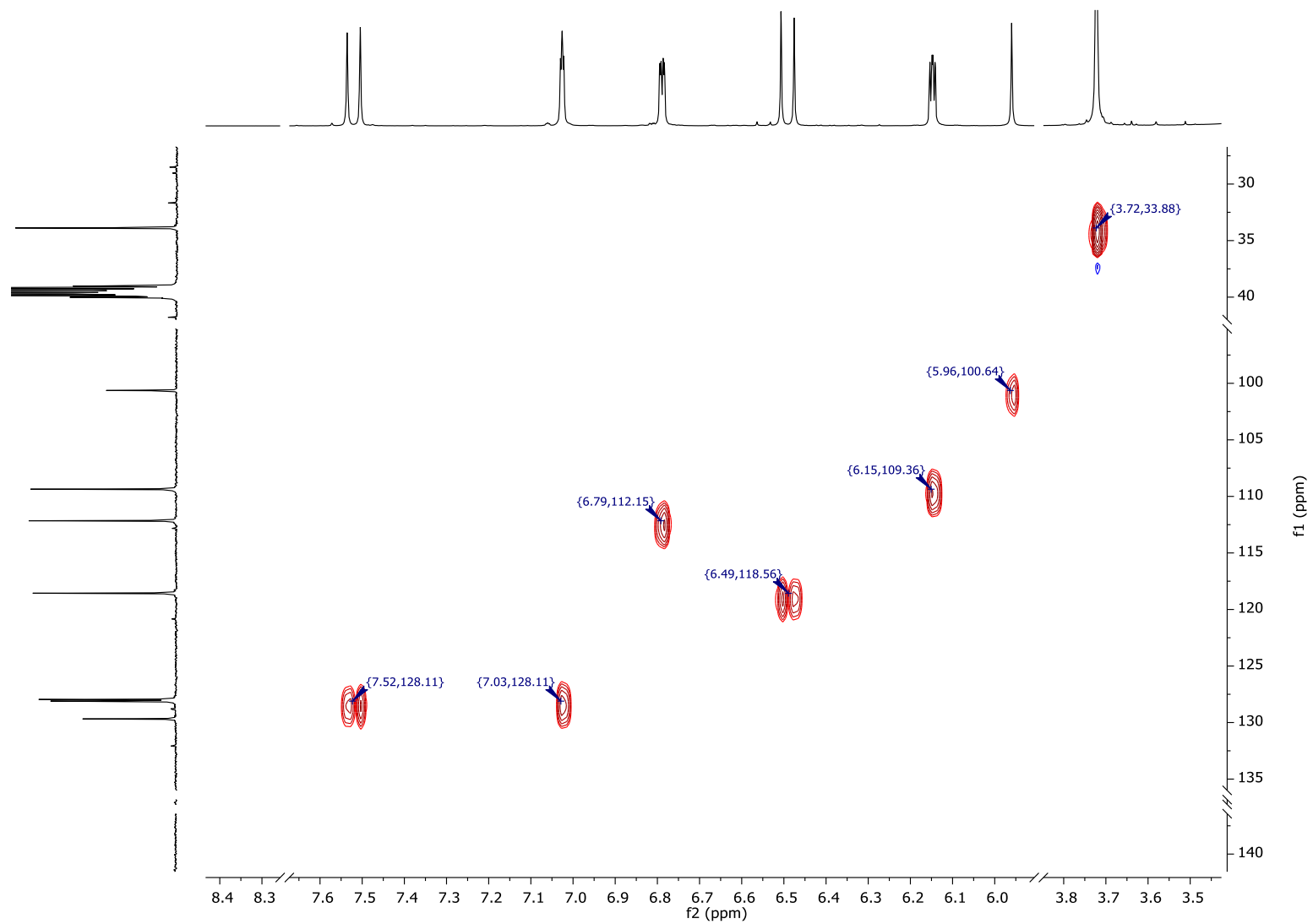


Figura A13.- Espectro HSQC de N-metilpirrolcurcumina

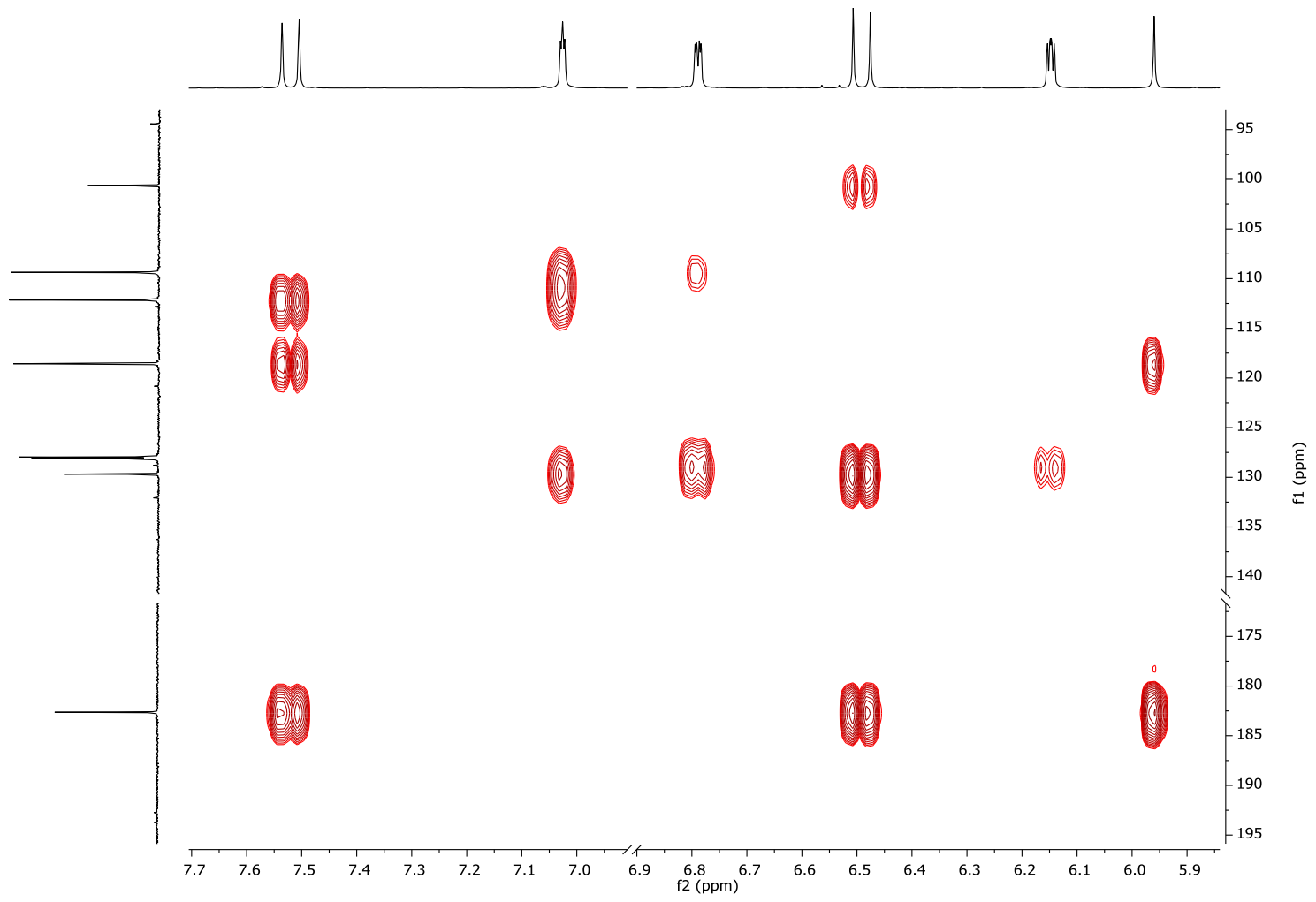


Figura A14.- Espectro HMBC de N-metilpirrolcurcumina

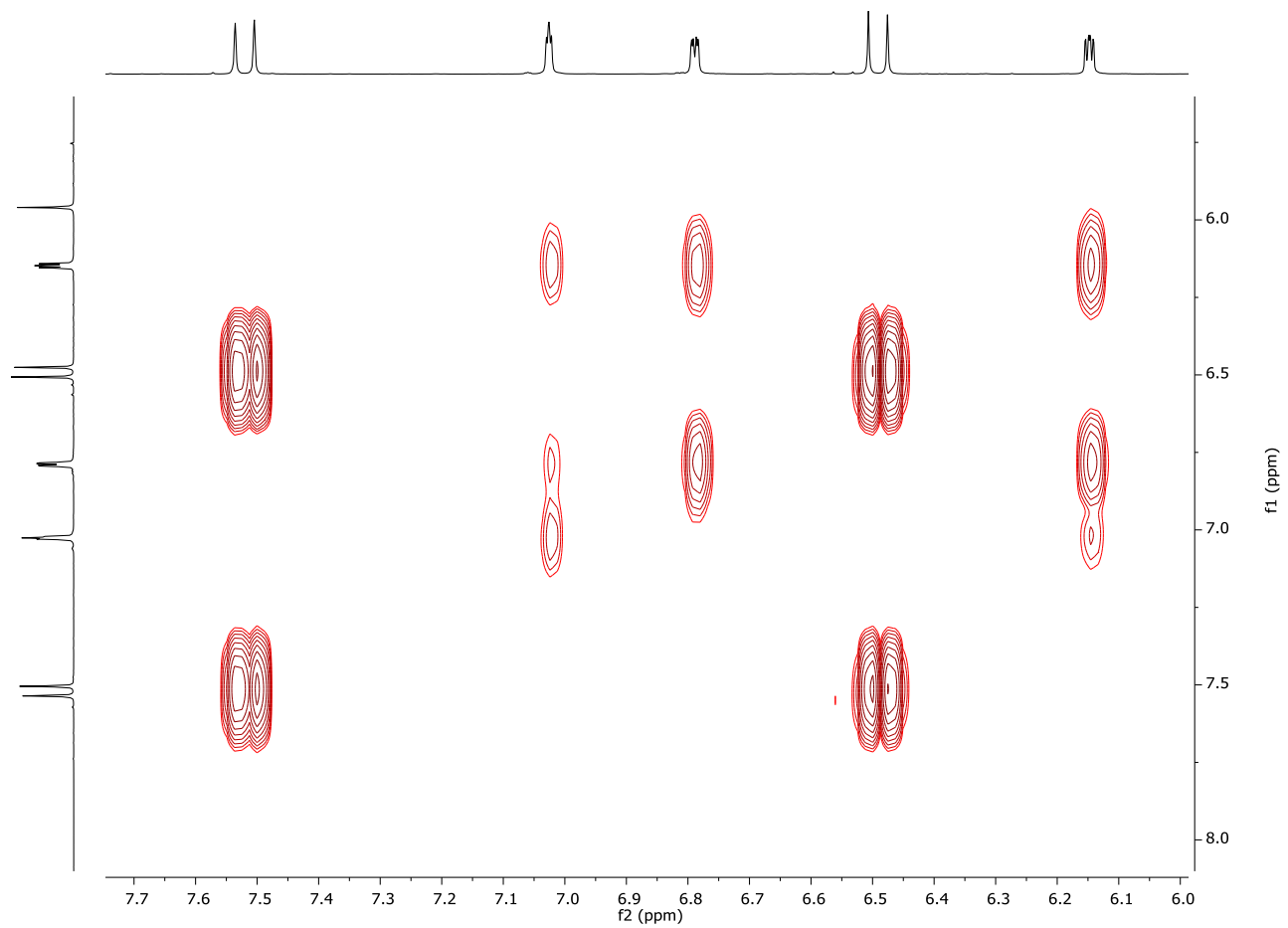


Figura A15.- Espectro COSY de N-metilpirrolcurcumina

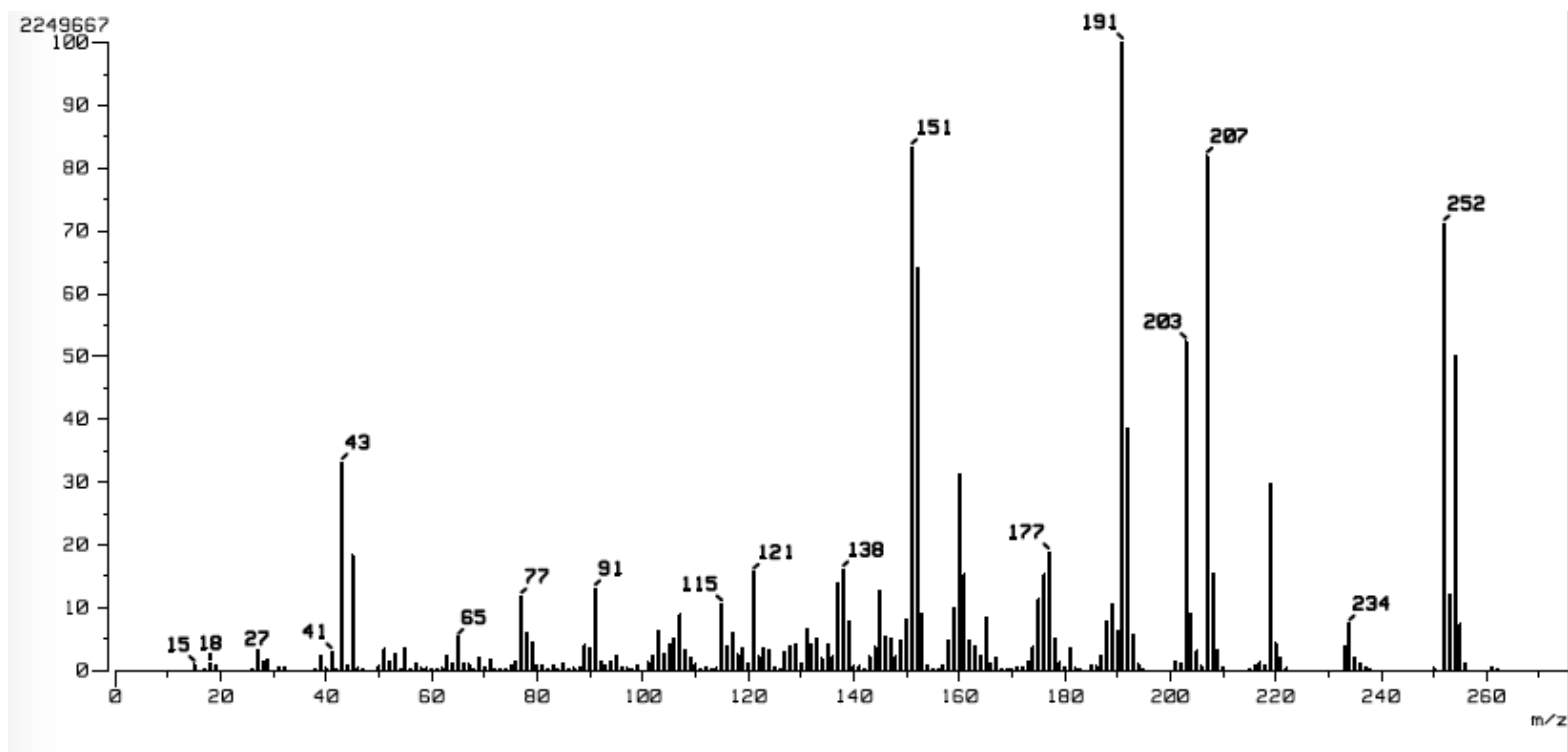
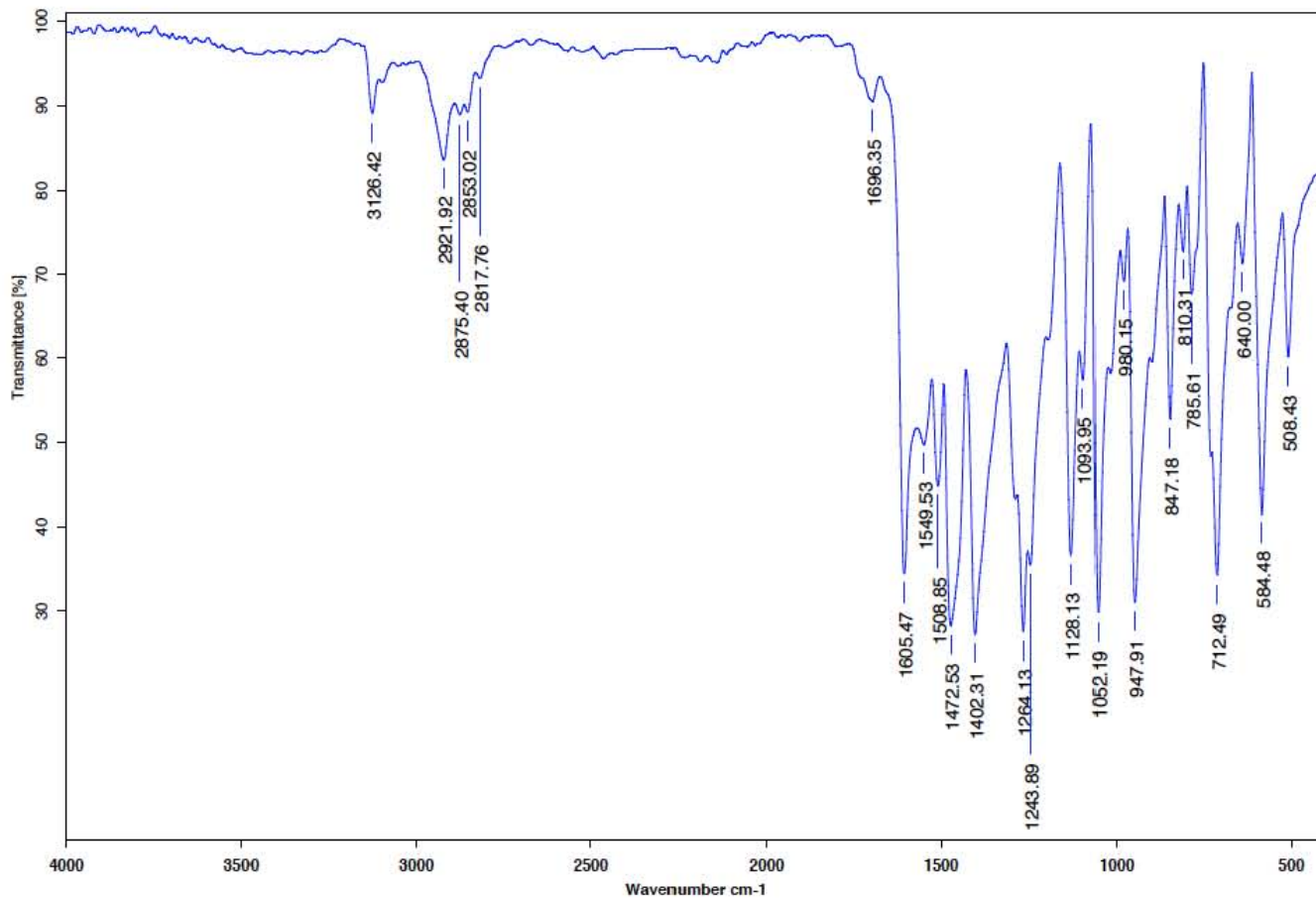


Figura A16.- Espectro de Masas de N-metilpirrolcurcumina



C:\nfrarrojo\AIR-LEP-IQUI-007_19\DrRenriquez\074.0 Dr.R.Enriquez N-met-Pirrol-Curcu KBr/Pastilla 25/01/2019

Figura A17.- Espectro de Infrarrojo de N-metilpirrolcurcumina

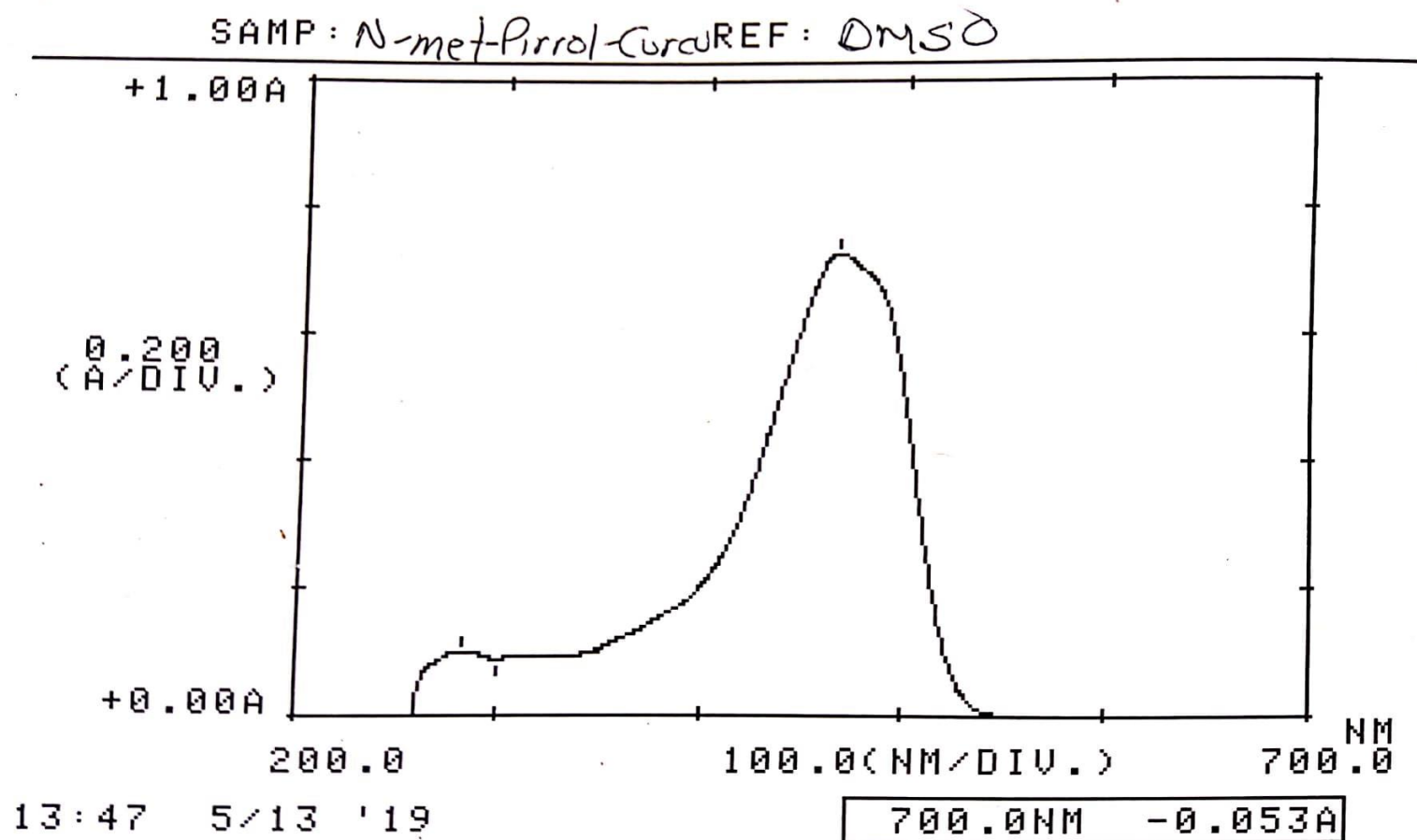


Figura A18.- Espectro de UV-Vis de N-metilpirrolcurcumina

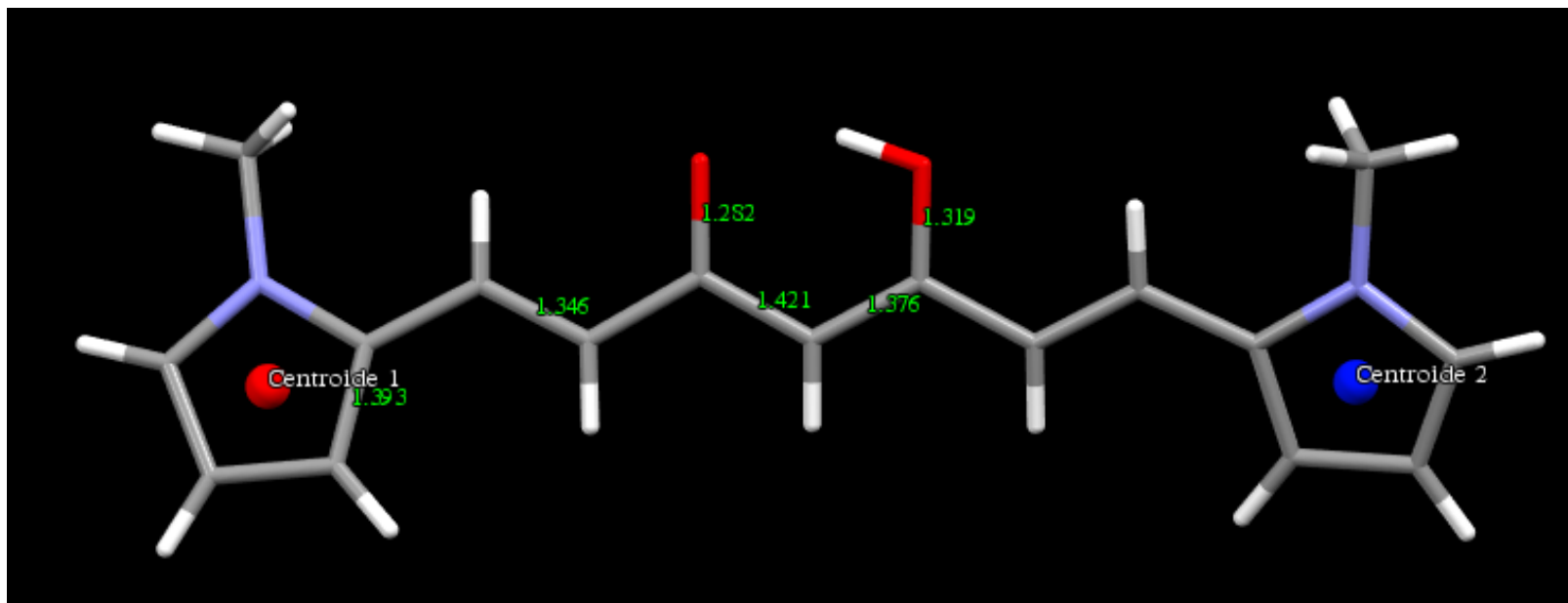


Figura A19.- Distancias de enlace del cristal N-metilpirrolcurcumina

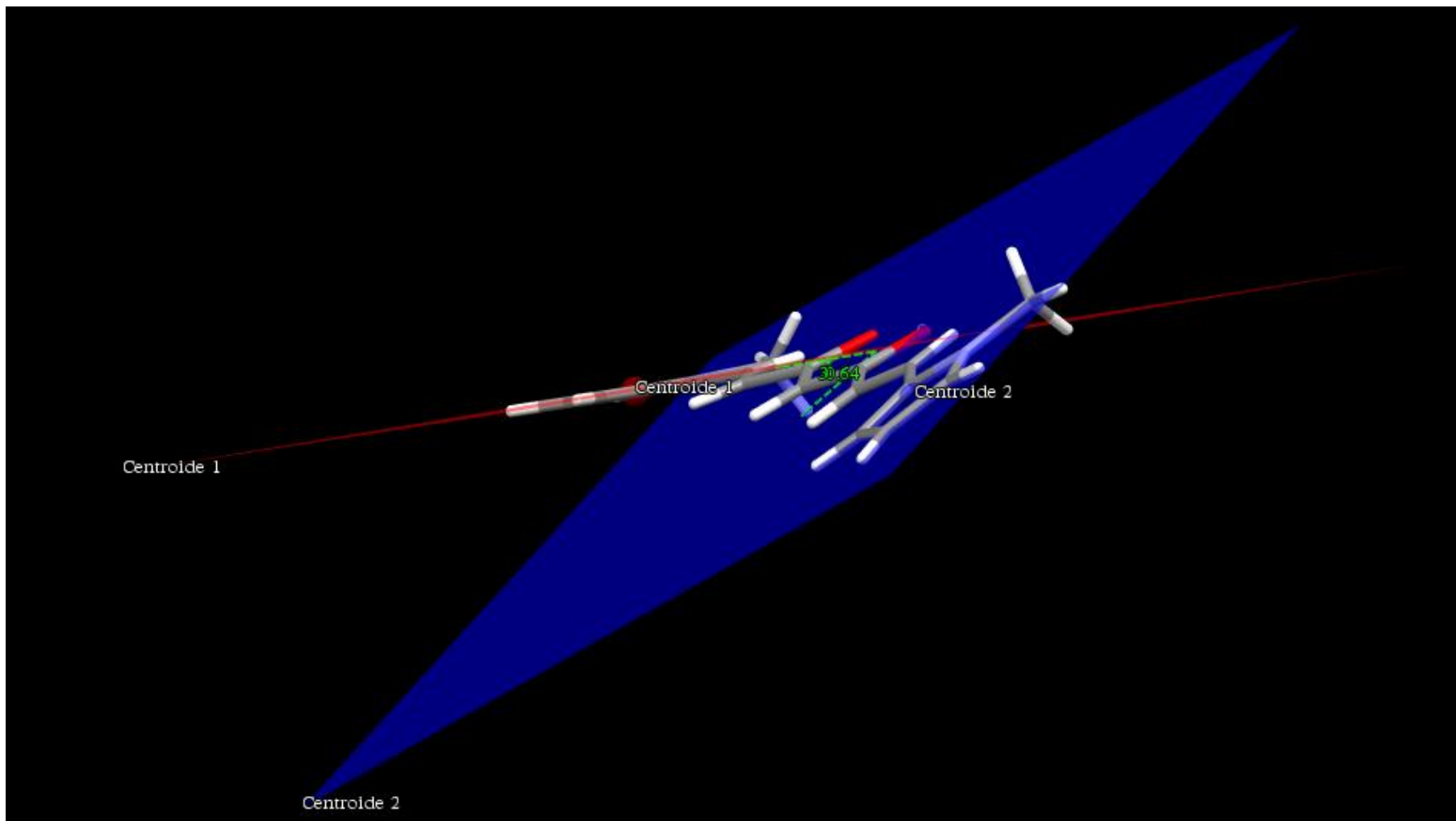


Figura A20.- ángulo entre planos de N-metilpirrolcurcumina

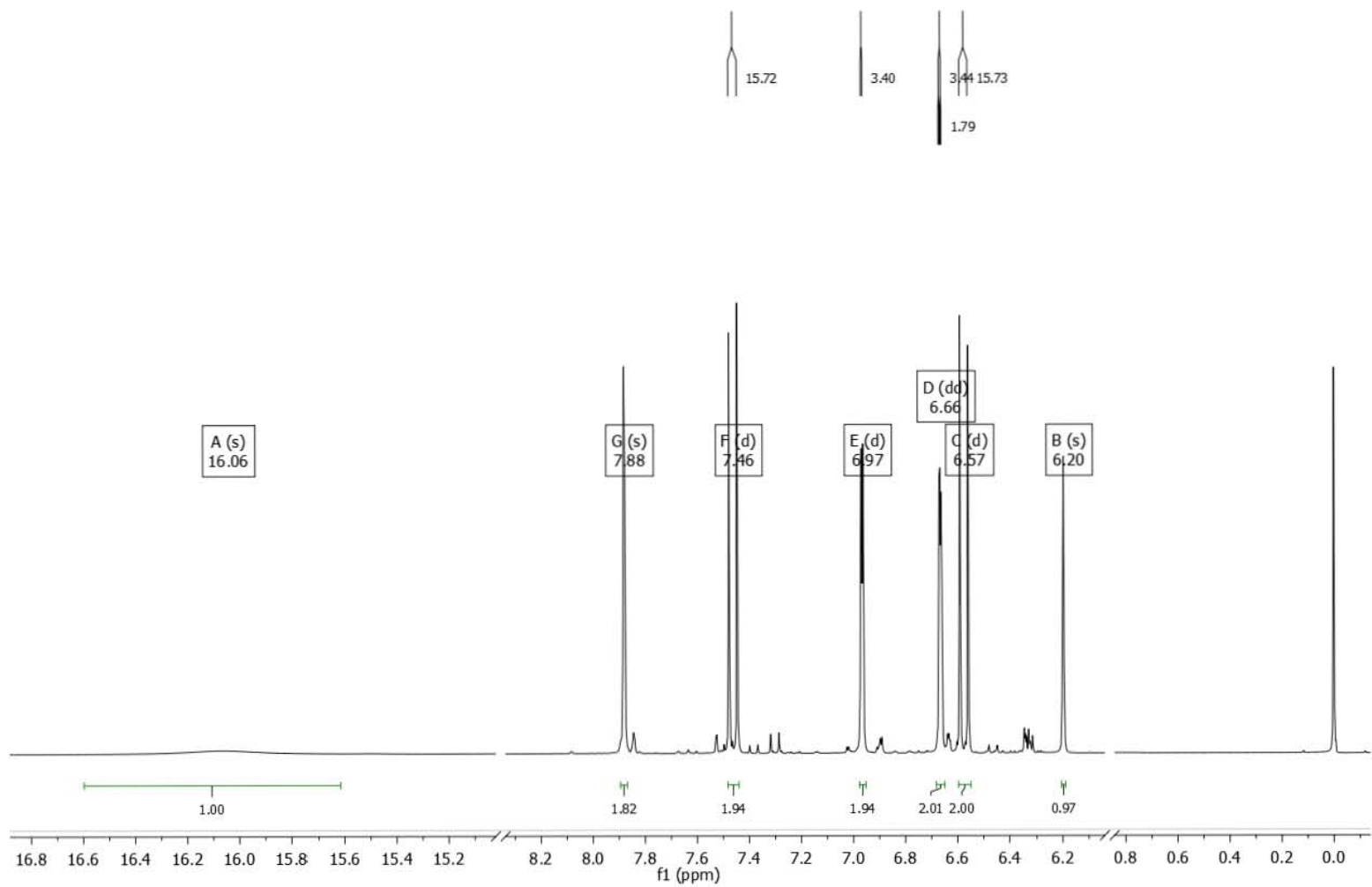


Figura A21.- Espectro general de Furanocurcuma

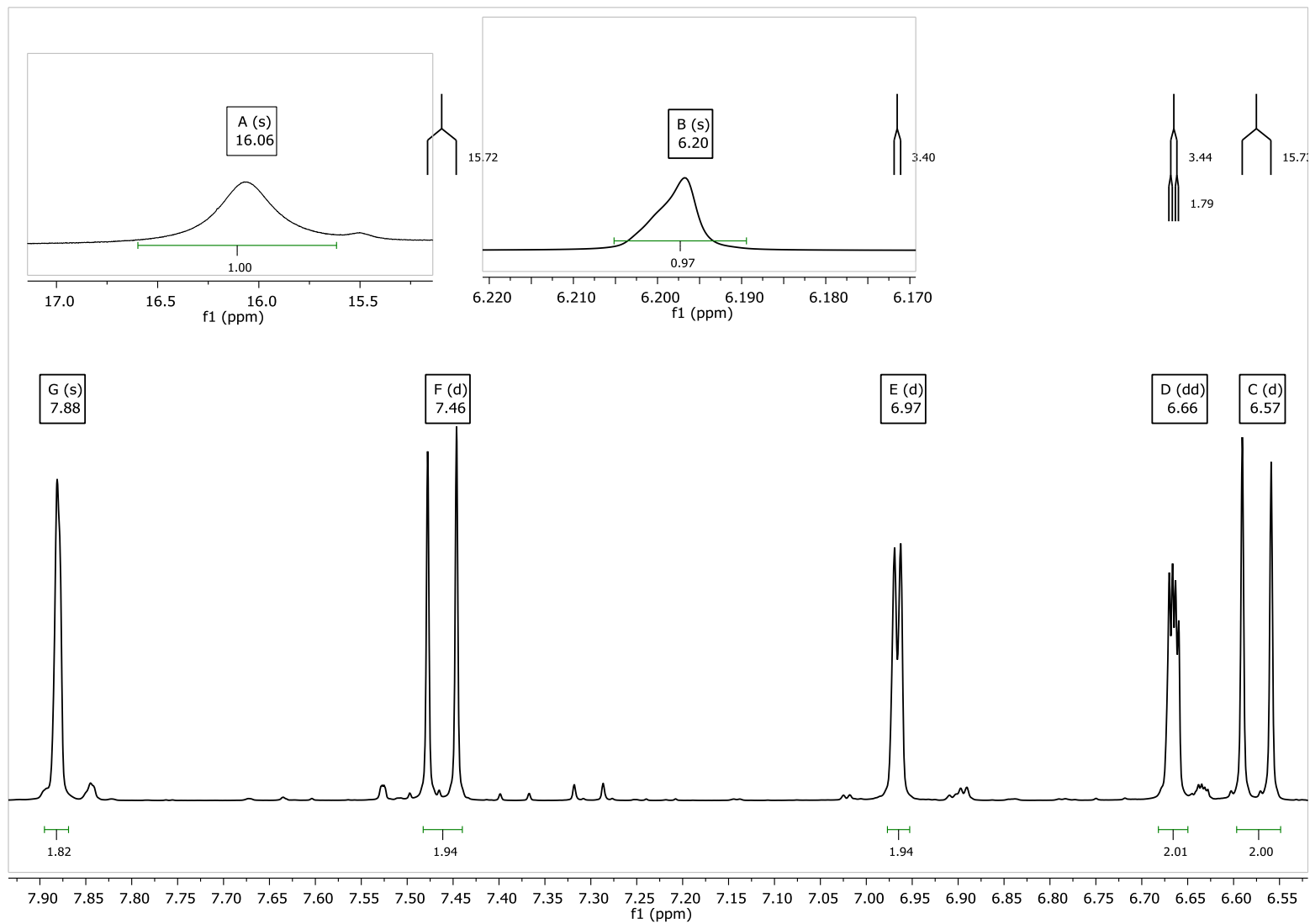


Figura A22.- Ampliación de la región aromática del espectro Furanocurcumina

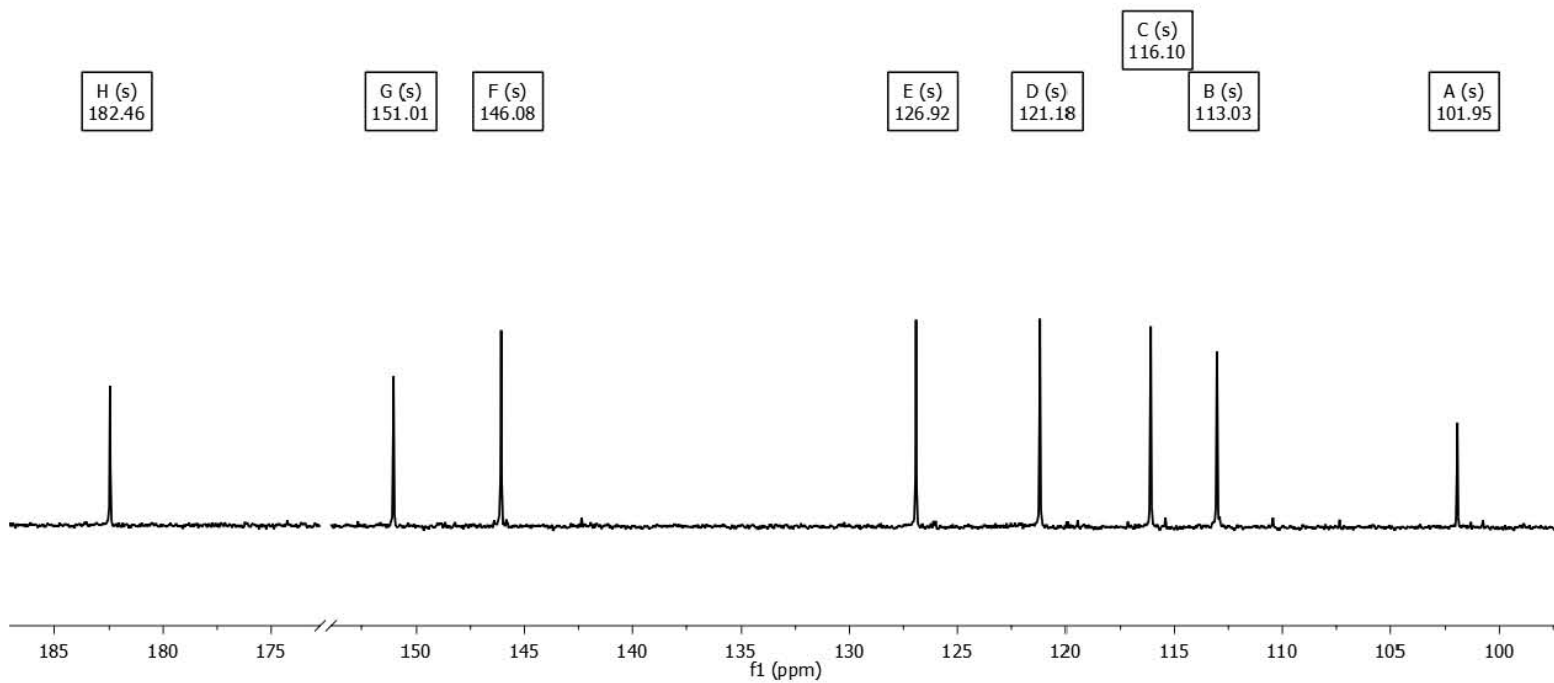


Figura A23.- Espectro de ^{13}C de Furanocurcumina

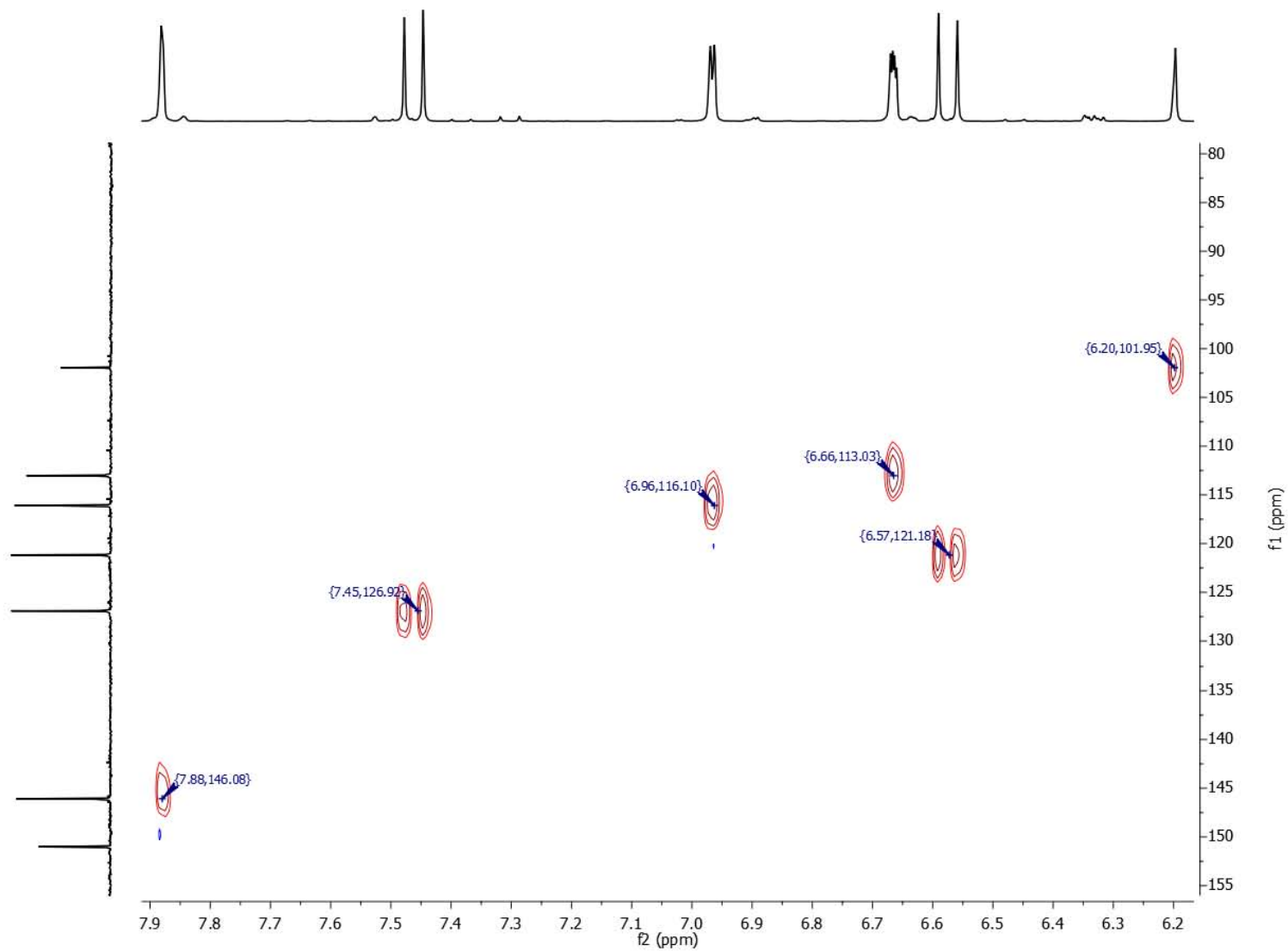


Figura A24.- Espectro HSQC de Furanocurcumina

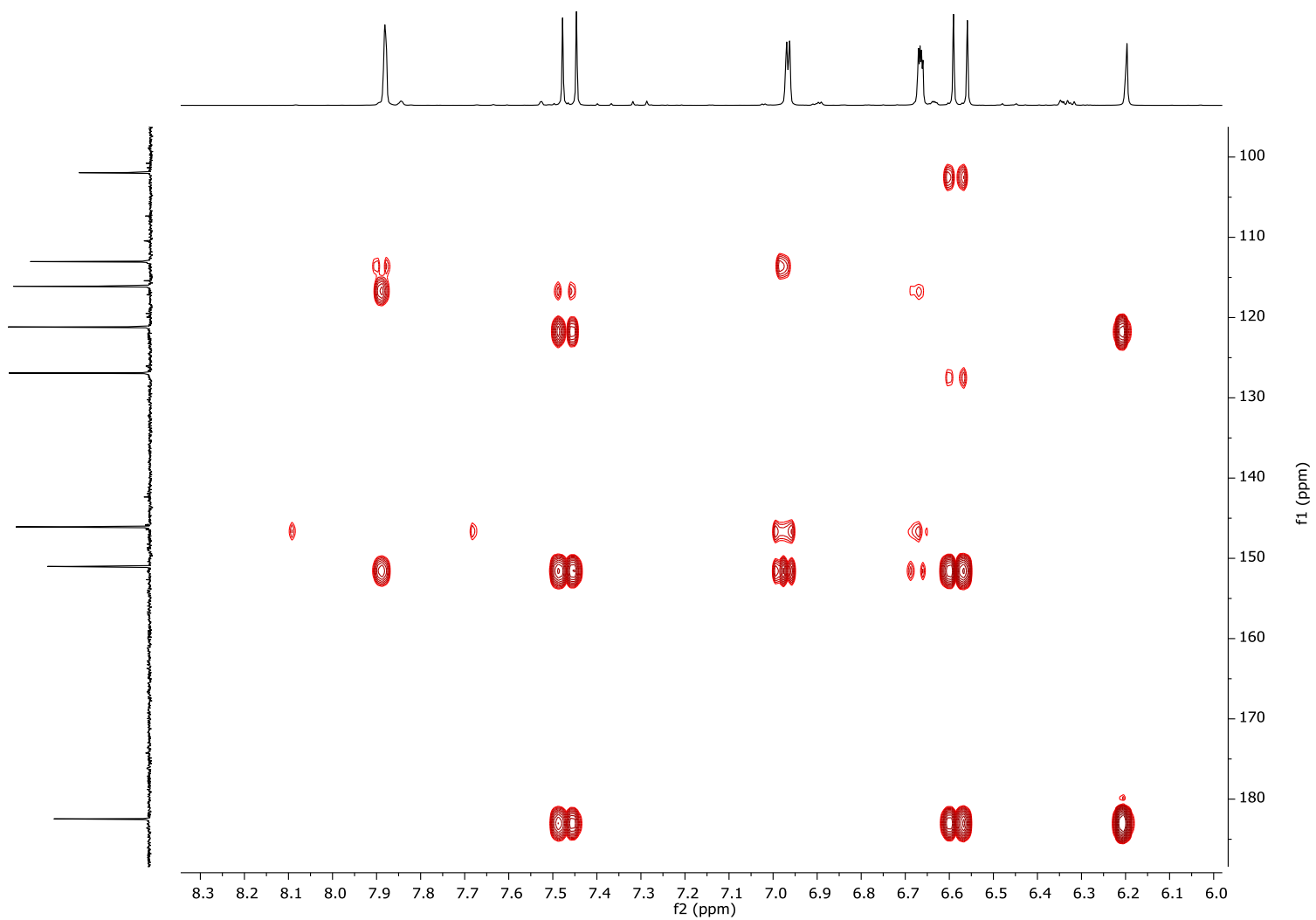


Figura A25.- Espectro HMBC de Furanocurcumina

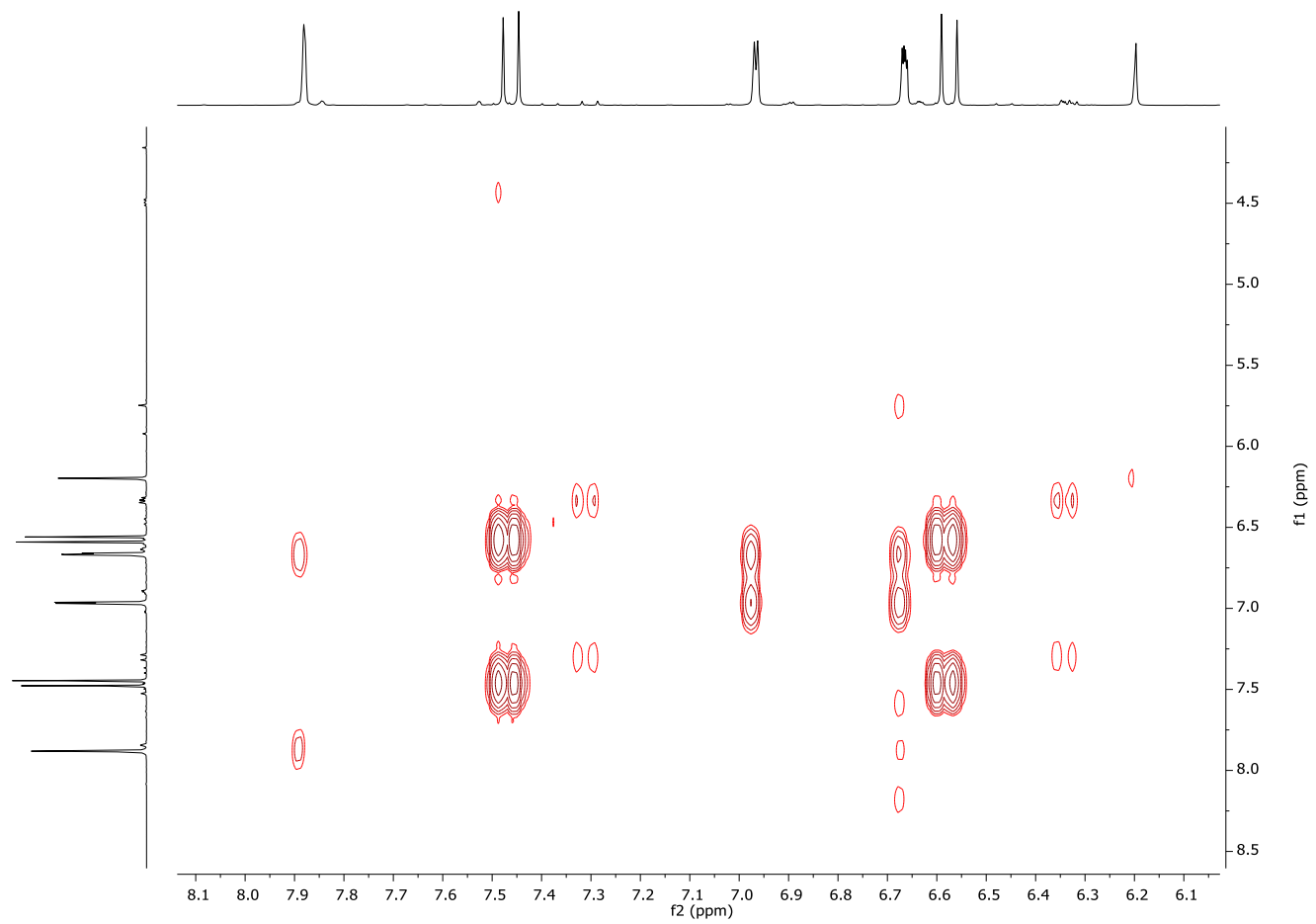


Figura A26.- Espectro COSY de Furanocurcumina

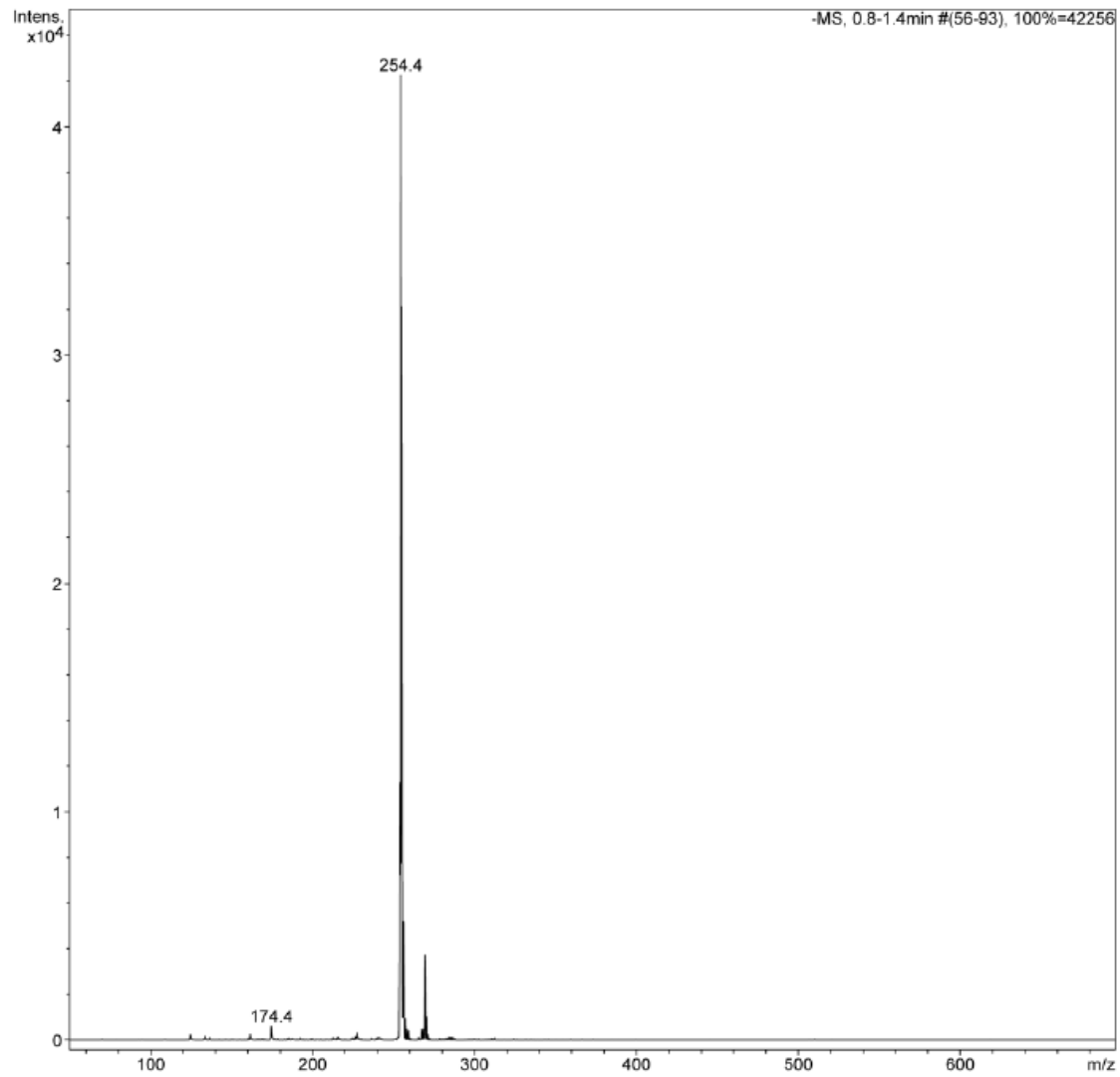
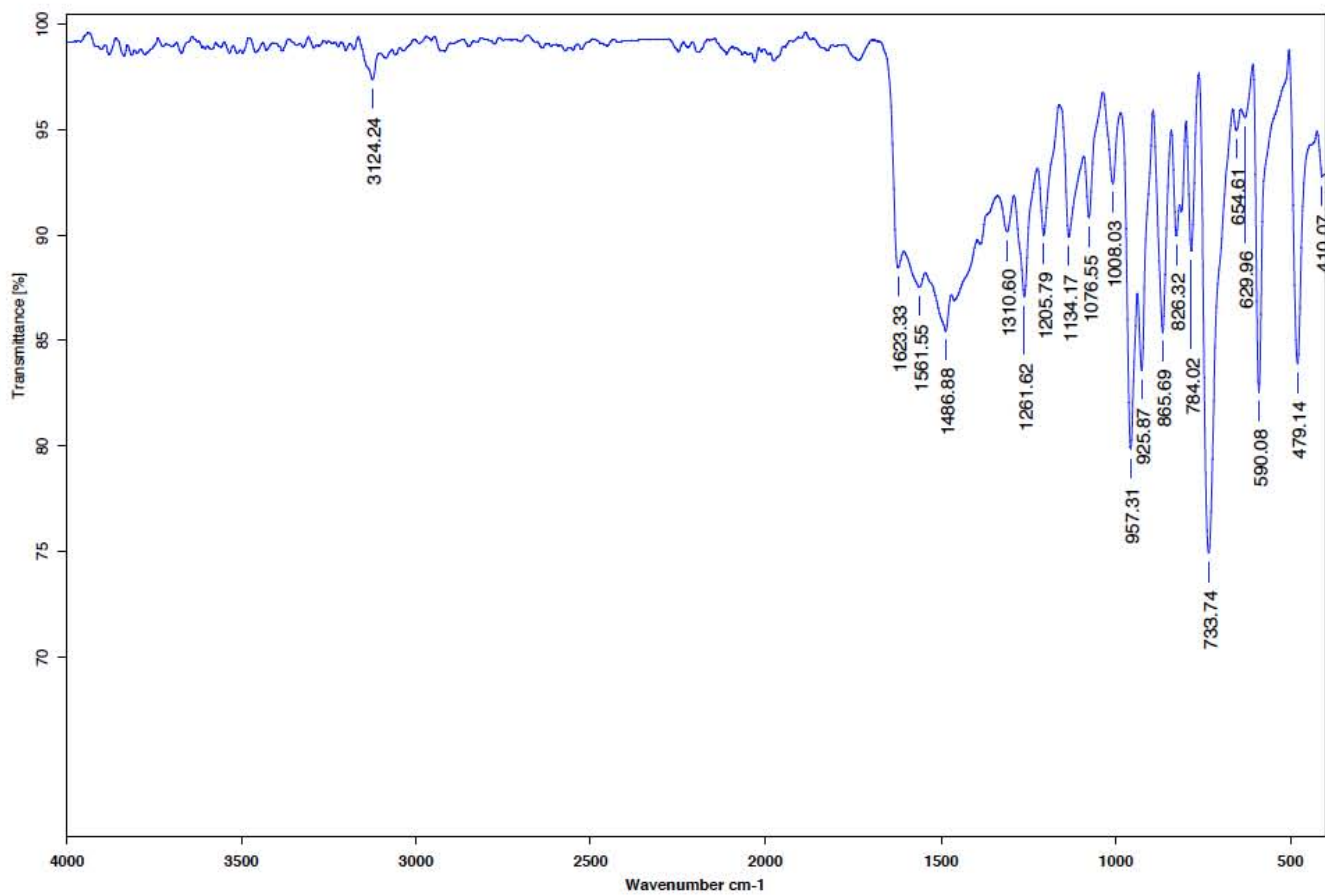


Figura A27.- Espectro de masas de Furanocurcumina



C:\Infrarrojo\AIR-LEP-IQUI-007_18\Rocio\1483.0

Dr.R.Enriquez FuranC

KBr/Pastilla

RPM

28/11/2018

Figura A28.- Espectro IR de Furanocurcumina

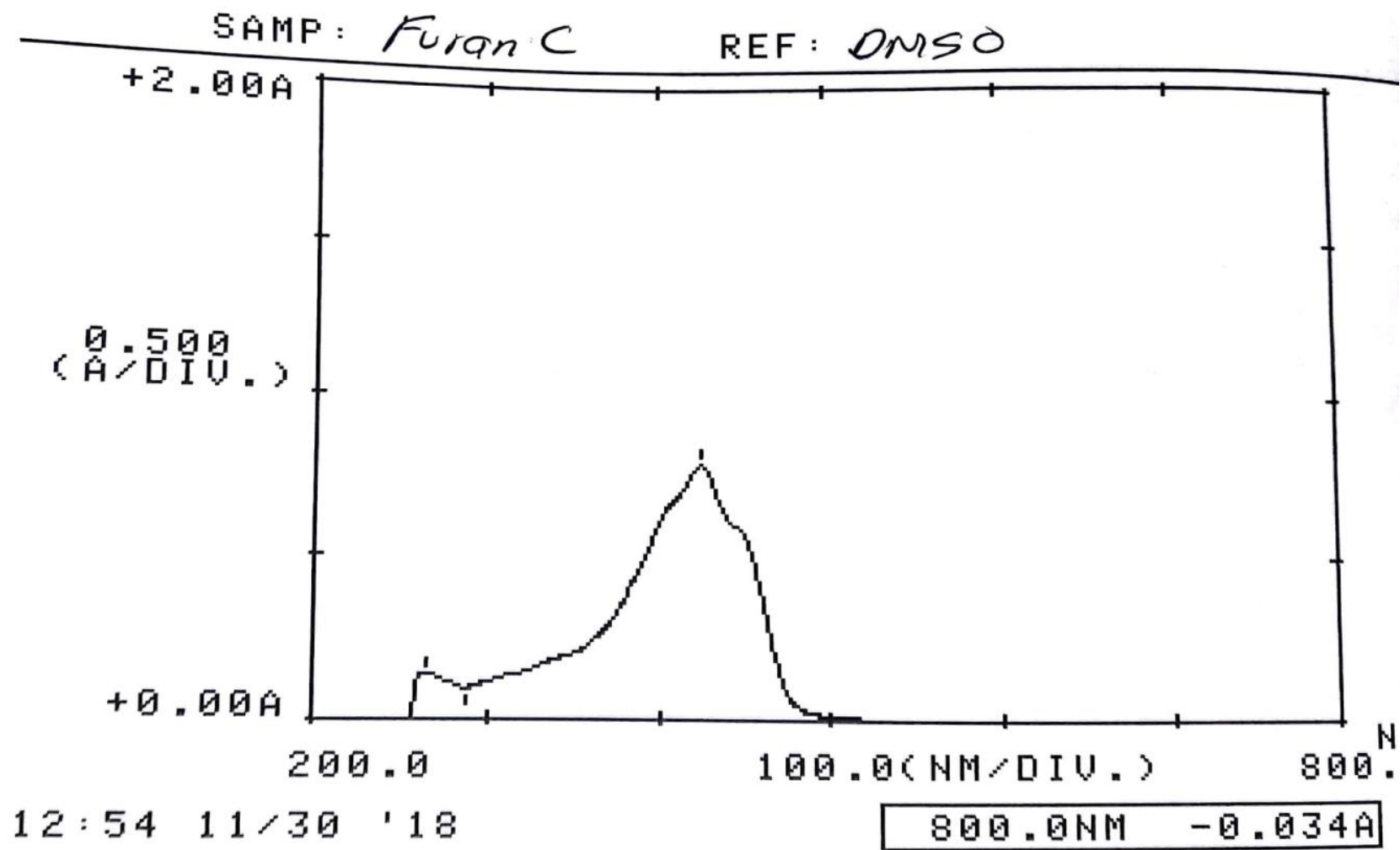


Figura A29.- Espectro de Uv-Vis de Furanocurcumina

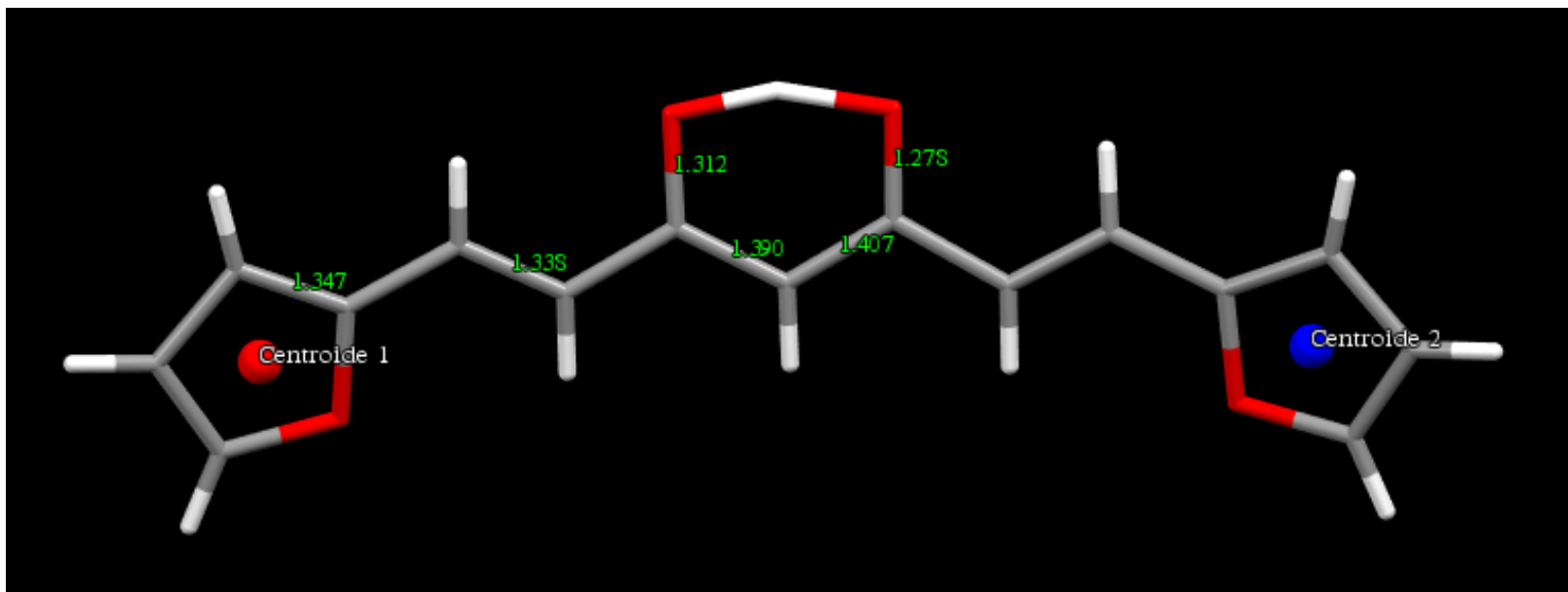


Figura A30.- Distancias de enlace de Furanocurcumina

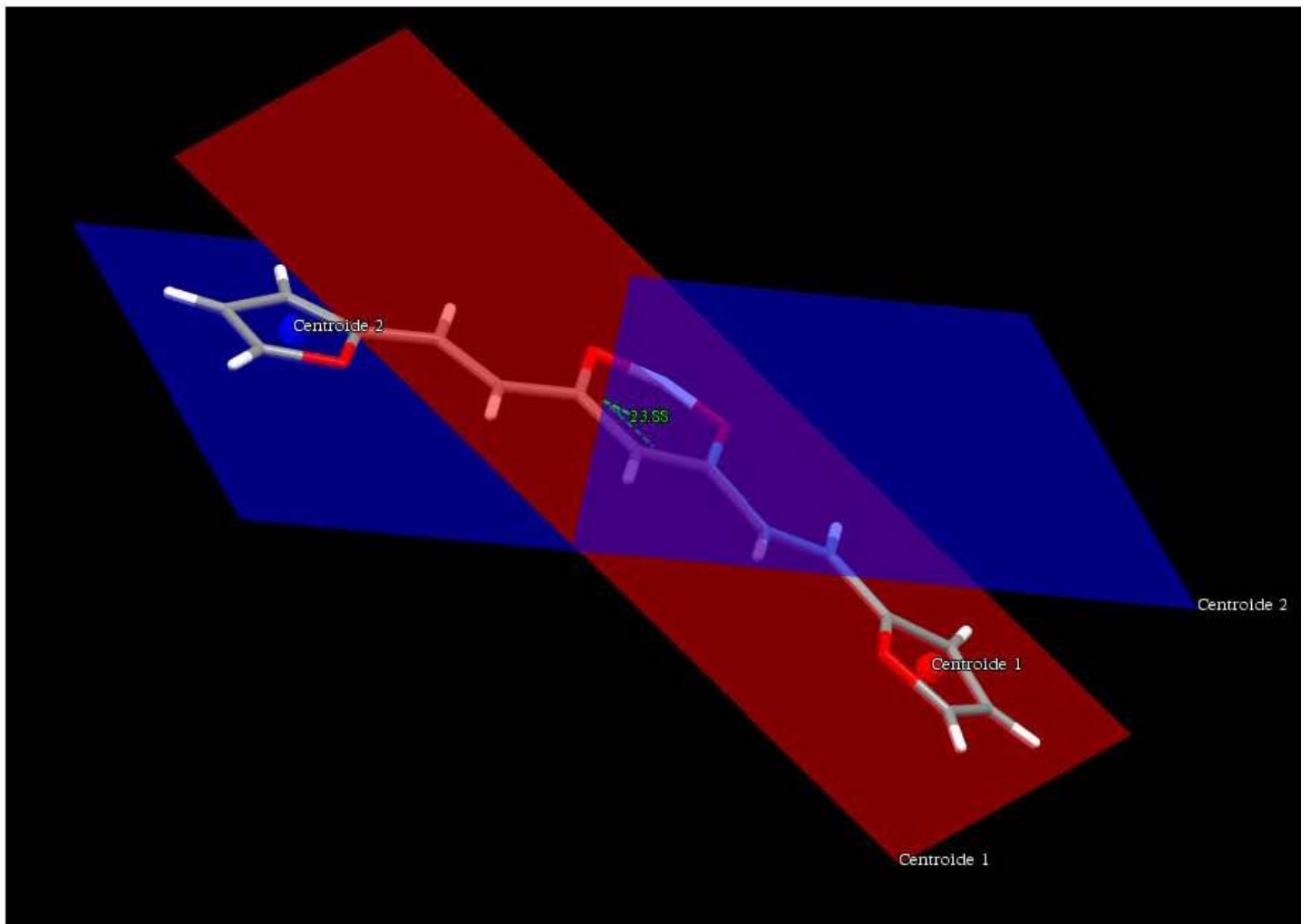


Figura A31.- Ángulo entre planos de Furanocurcumina

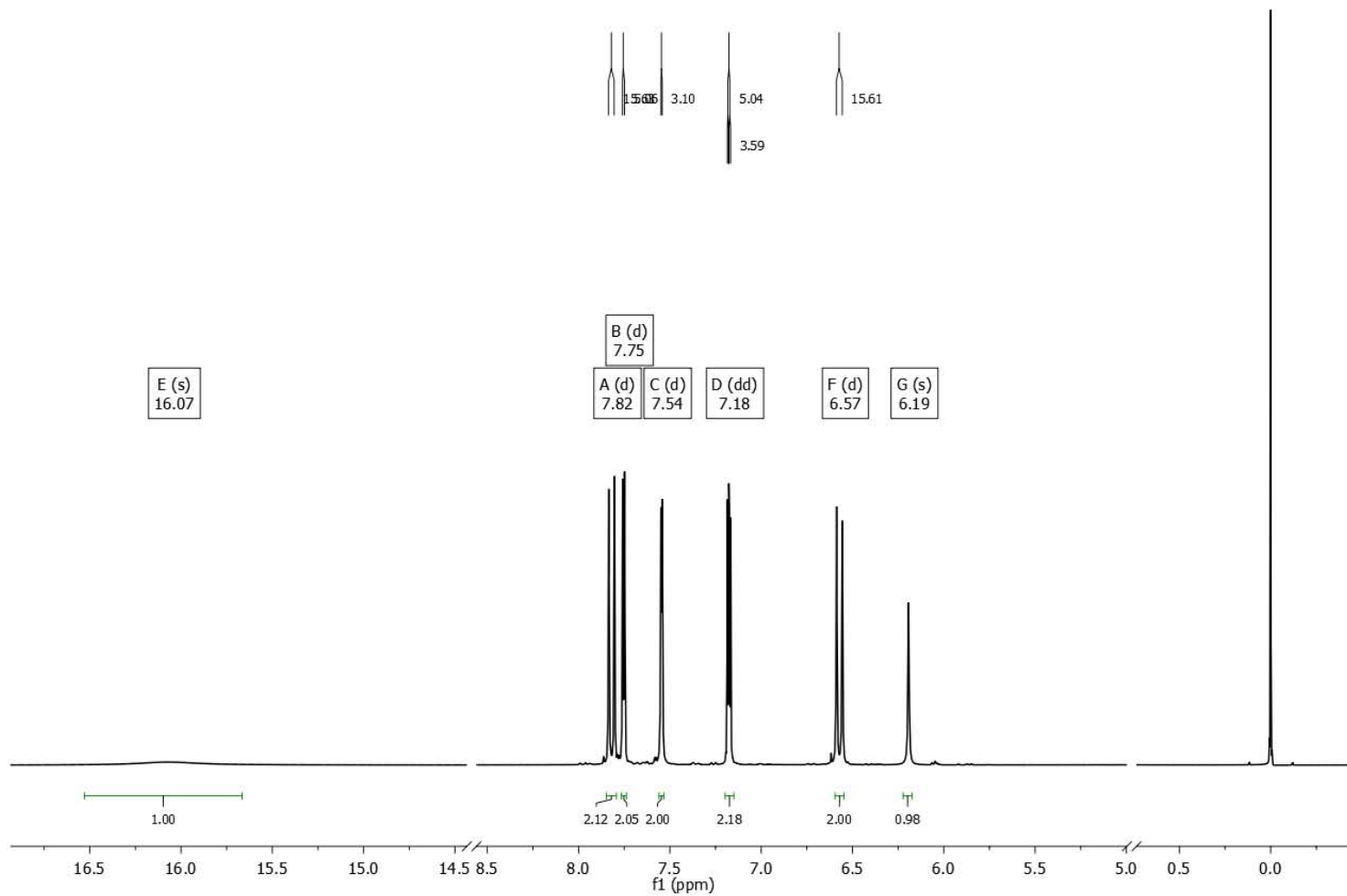


Figura A32.- Espectro general de ^1H de Tiofenocurcumina

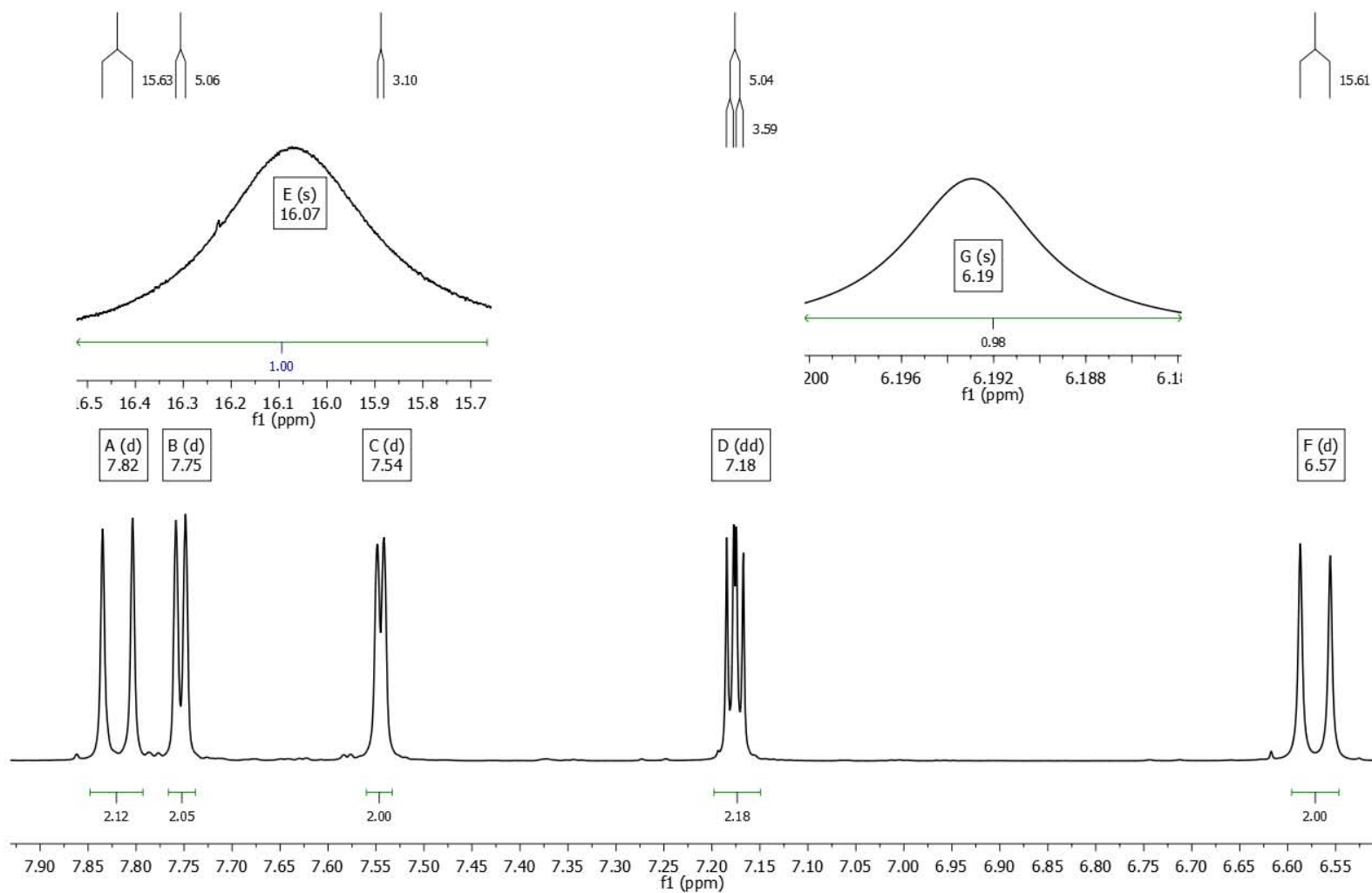


Figura A33.- Ampliación de la región aromática del espectro Tiofenocurcumina

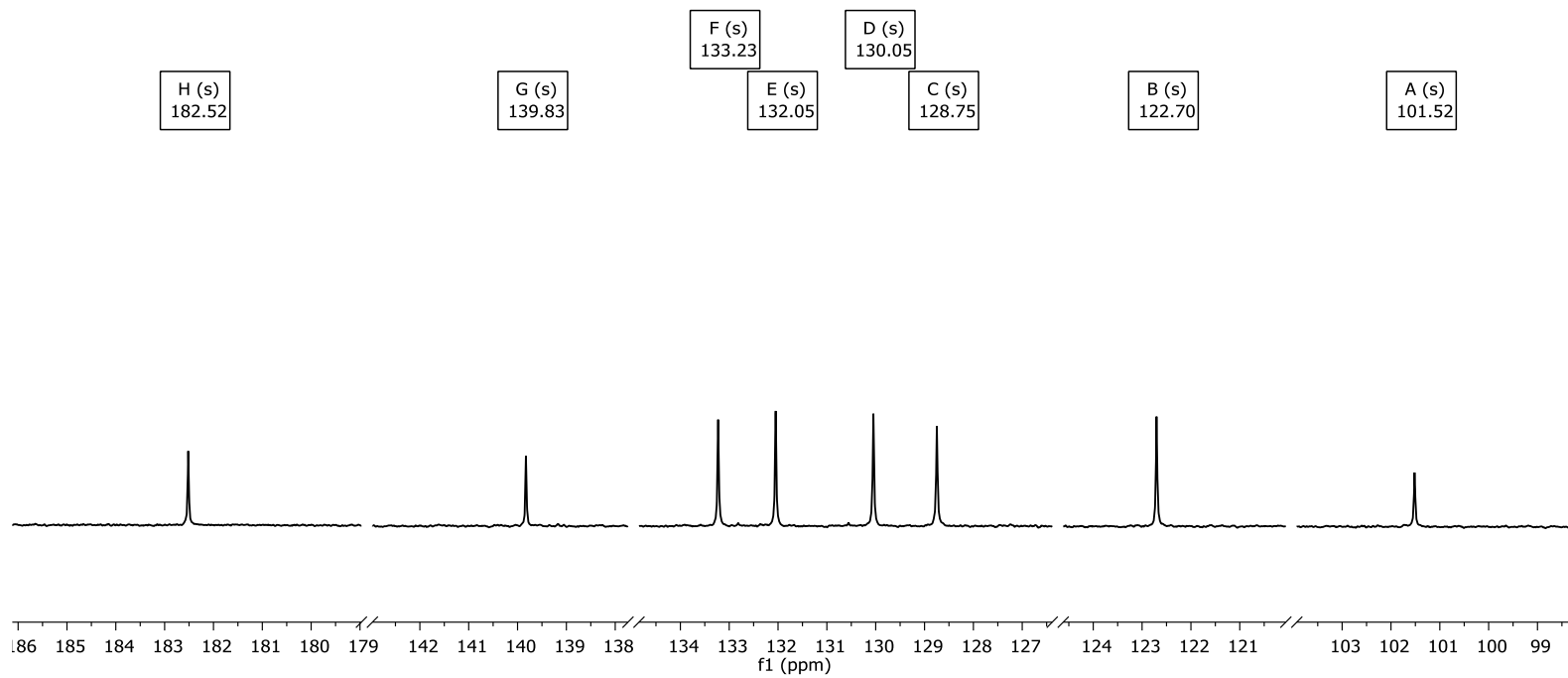


Figura A34.- Espectro de ^{13}C de Tiofenocurcumina

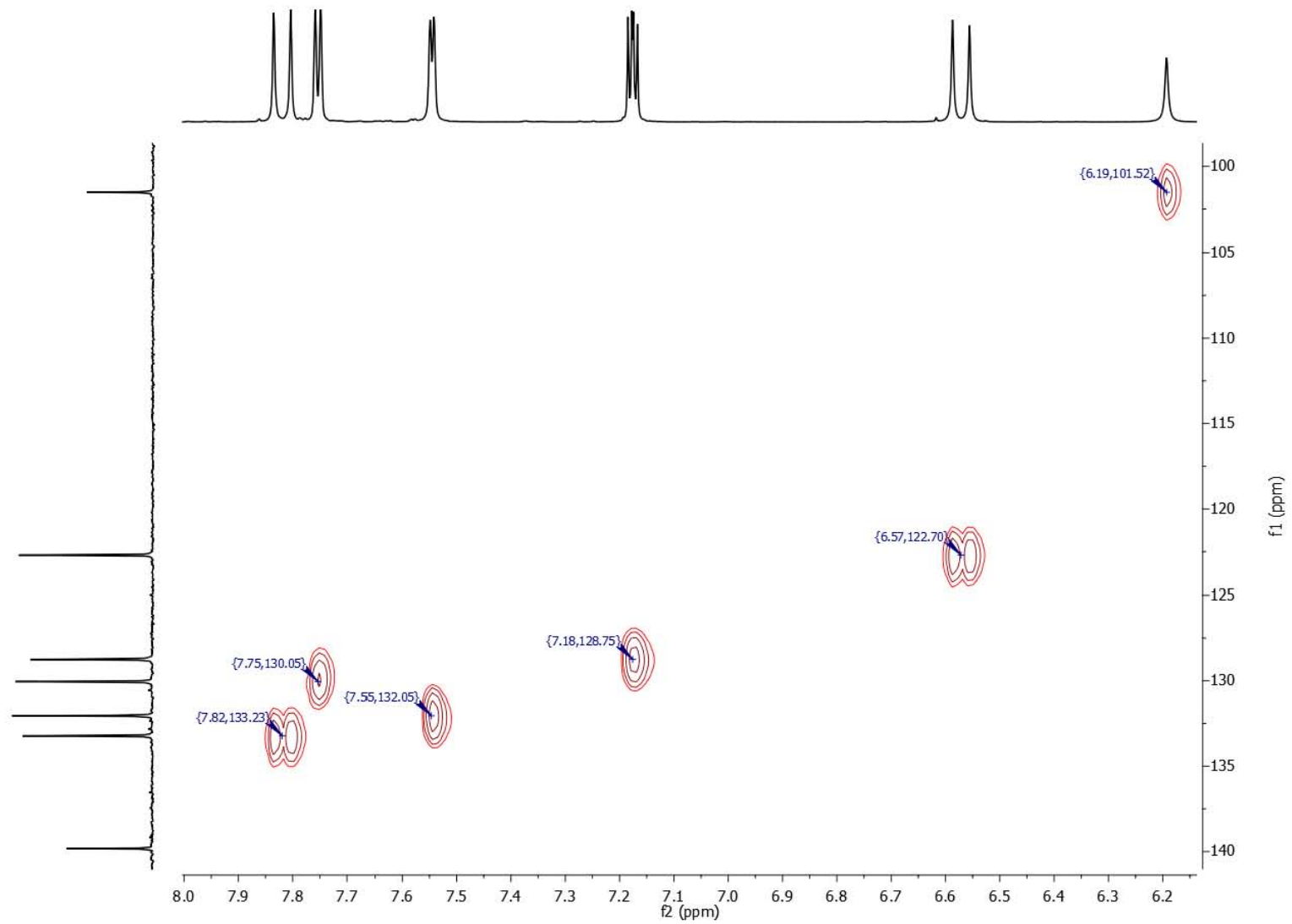


Figura A35.- Espectro HSQC de Tiofenocurcumina

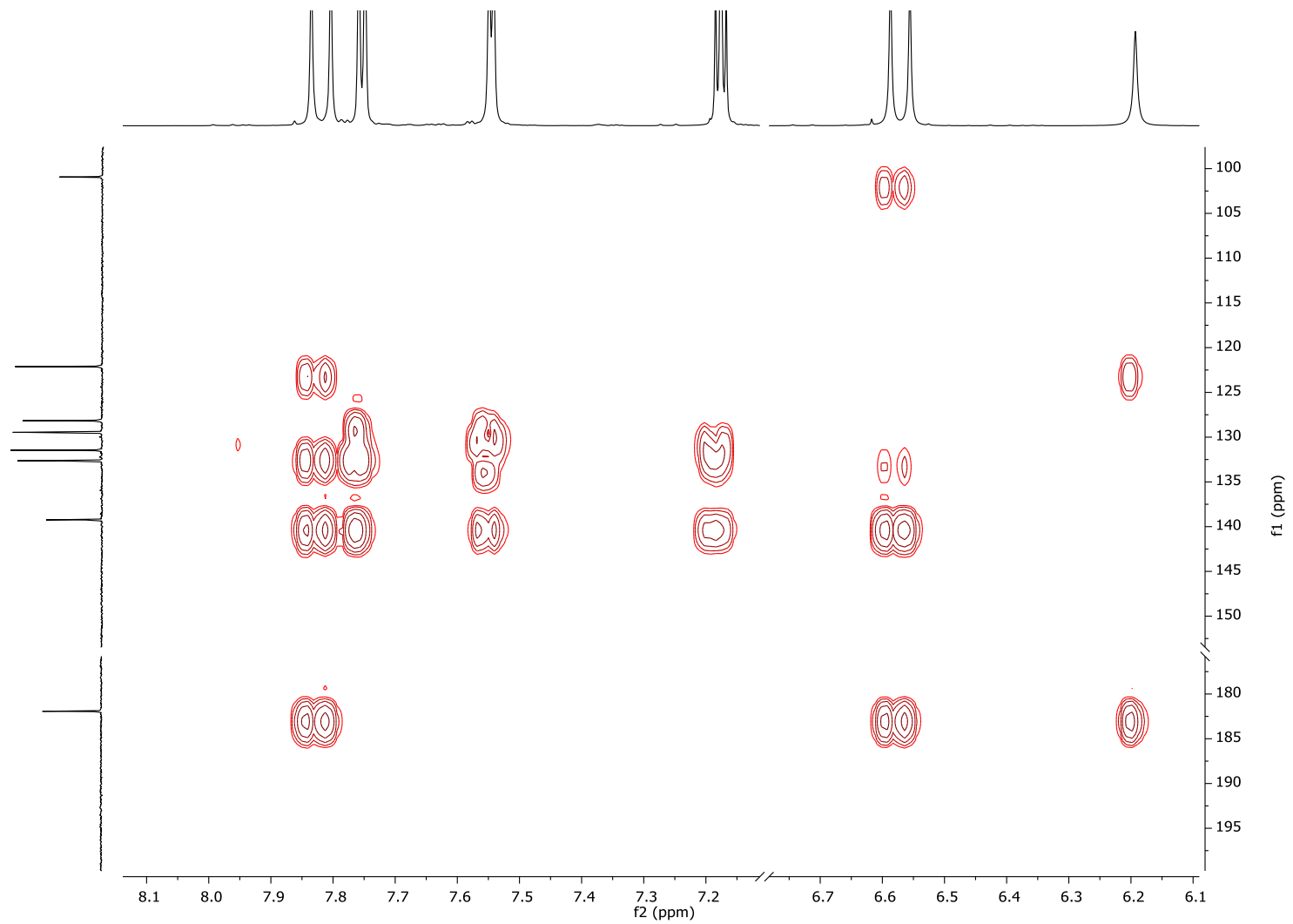


Figura A36.- Espectro HMBC de Tiofenocurcumina

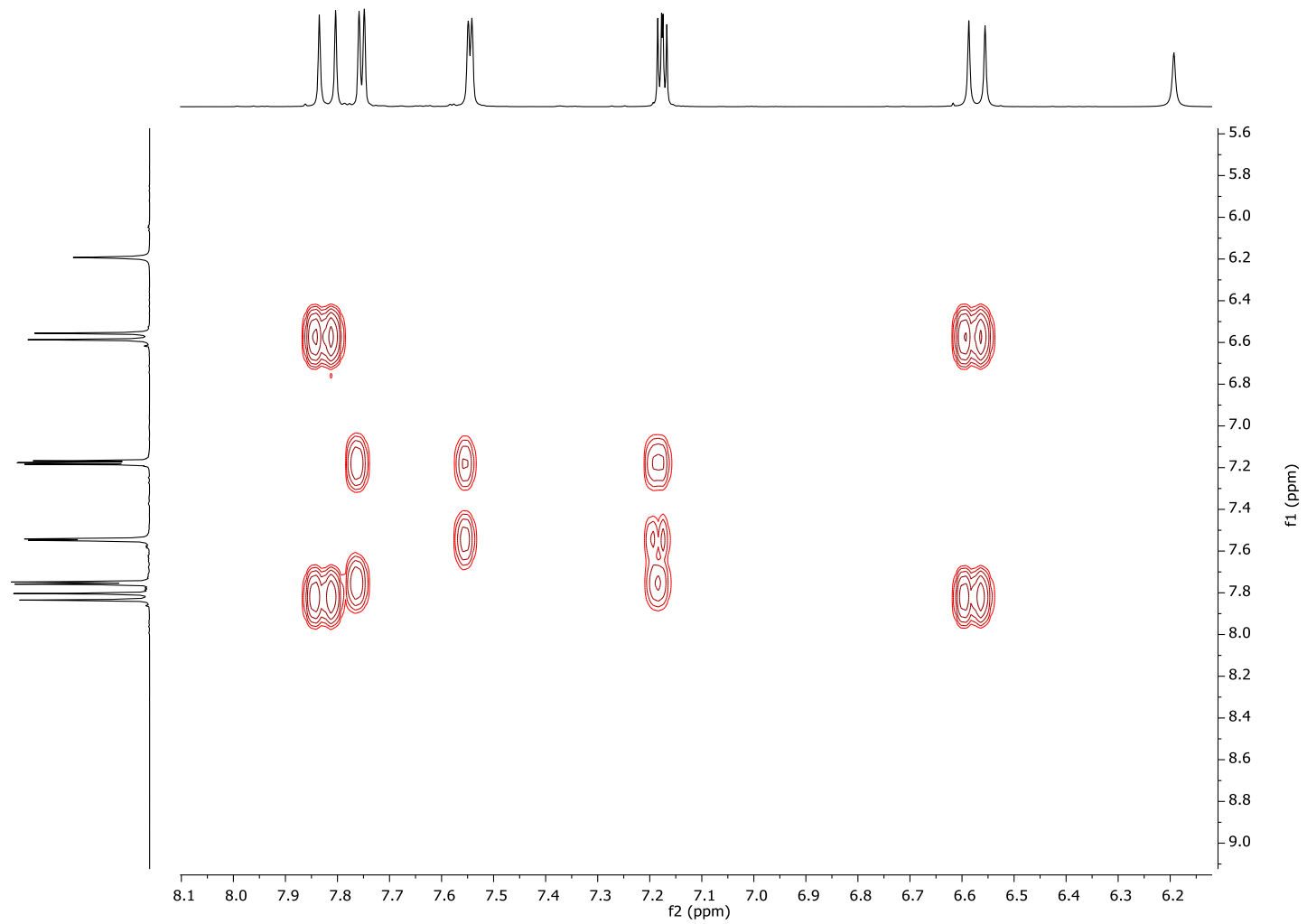


Figura A37.- Espectro COSY de Tiofenocurcumina

Registro tío Curcumina 181120-ehr-04
Matriz DIT 2/5

Laboratorios de Servicios Analíticos
Instituto de Química UNAM

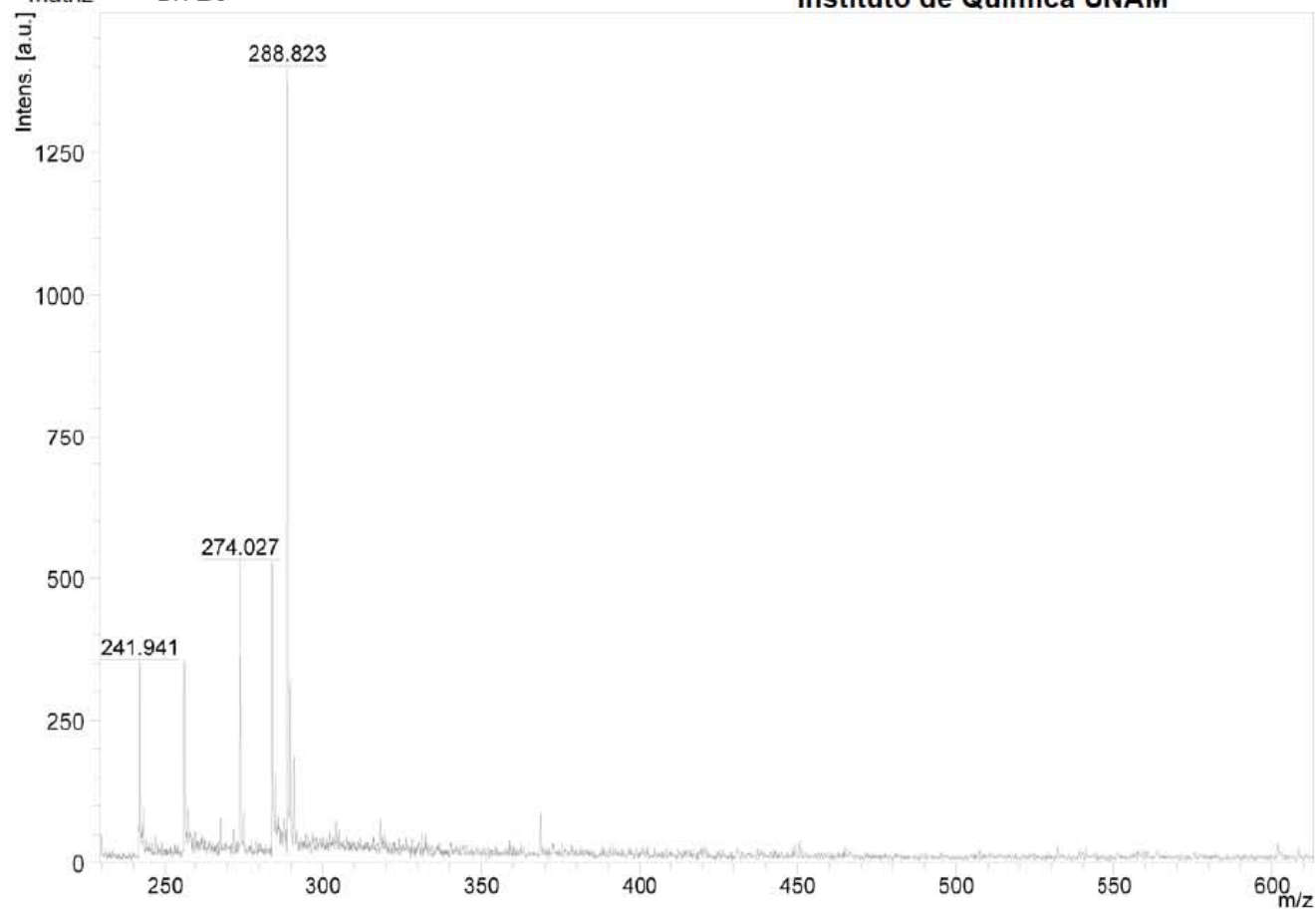
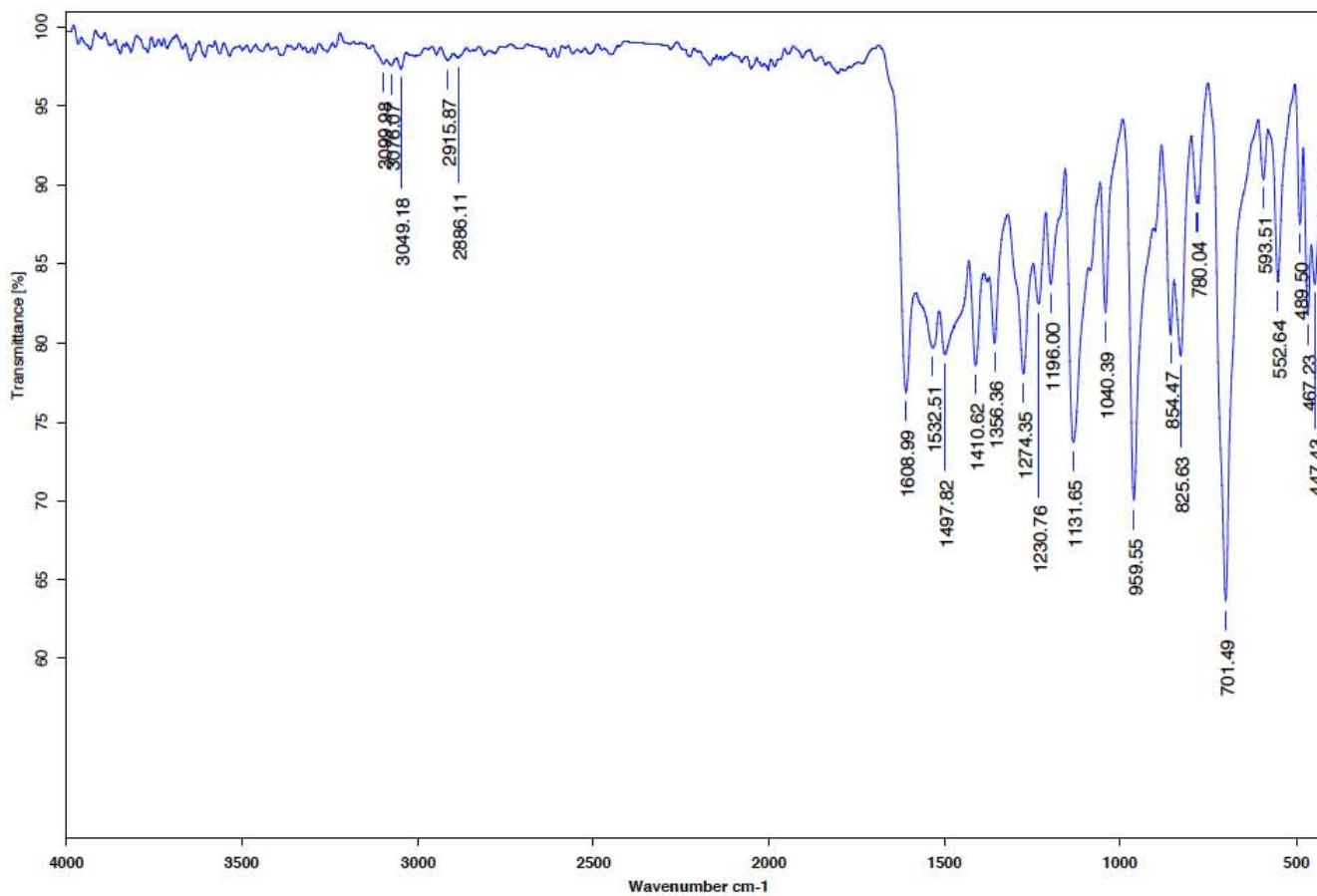


Figura A38.- Espectro de Masas de Tiofenocurcumina



C:\Infrarrojo\AIR-LEP-IQUI-007_18\DrREnriquez\1452.0 Dr.R.Enriquez TioCurcumina KBr/Pastilla RPM 23/11/2018

Figura A39.- Espectro Infrarrojo de Tiofenocurcumina

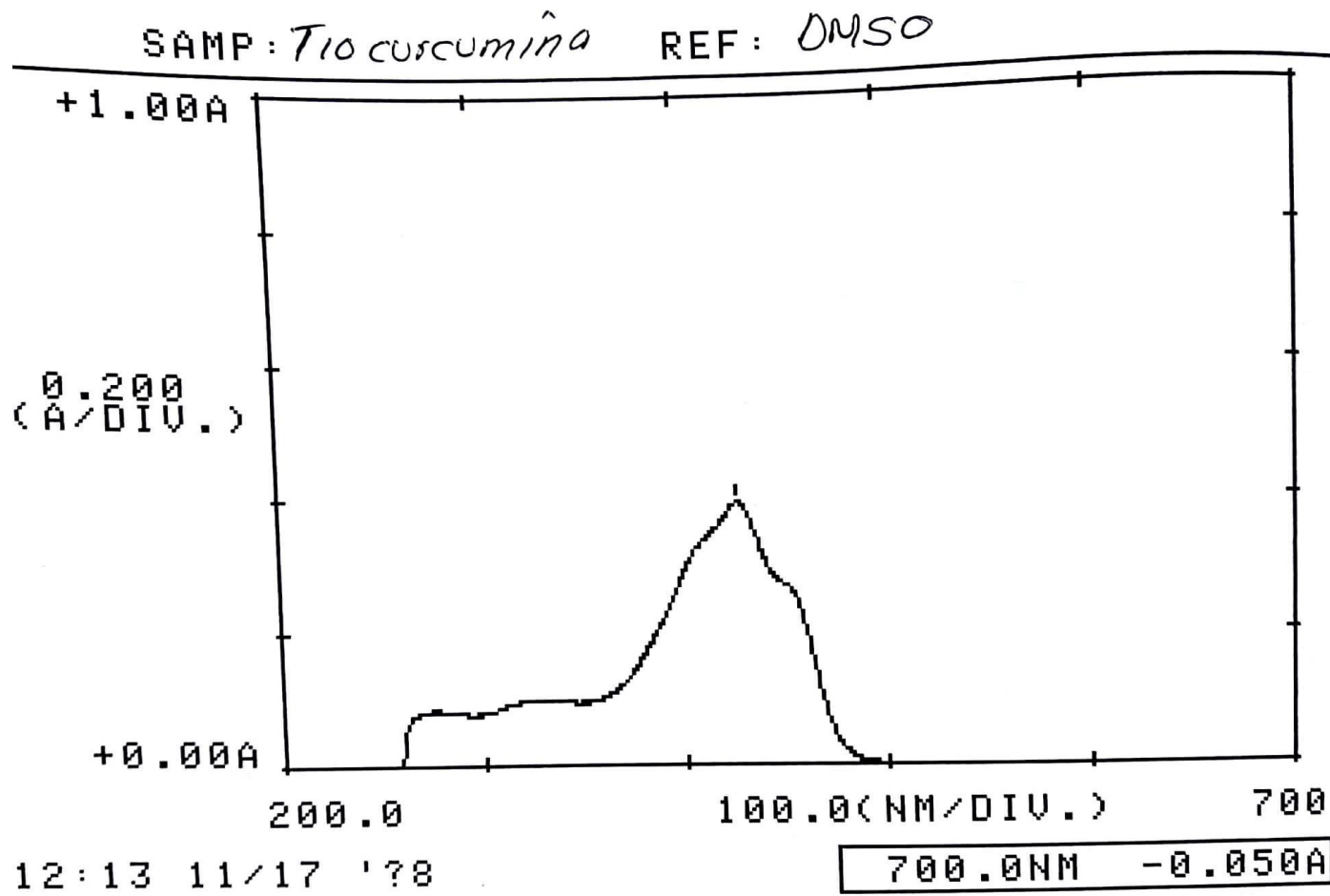


Figura A40.- Espectro UV-Vis de Tiofenocurcumina

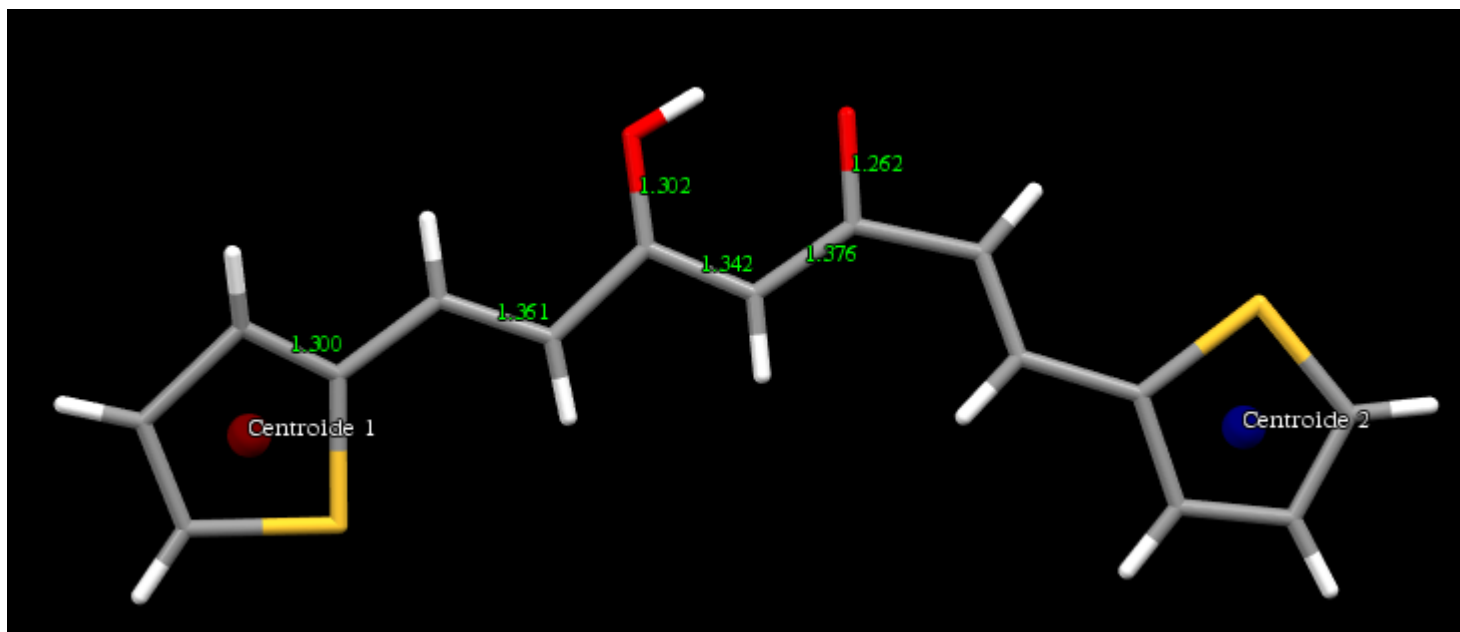


Figura A 41.-Distancias de enlace de Tiofenocurcumina

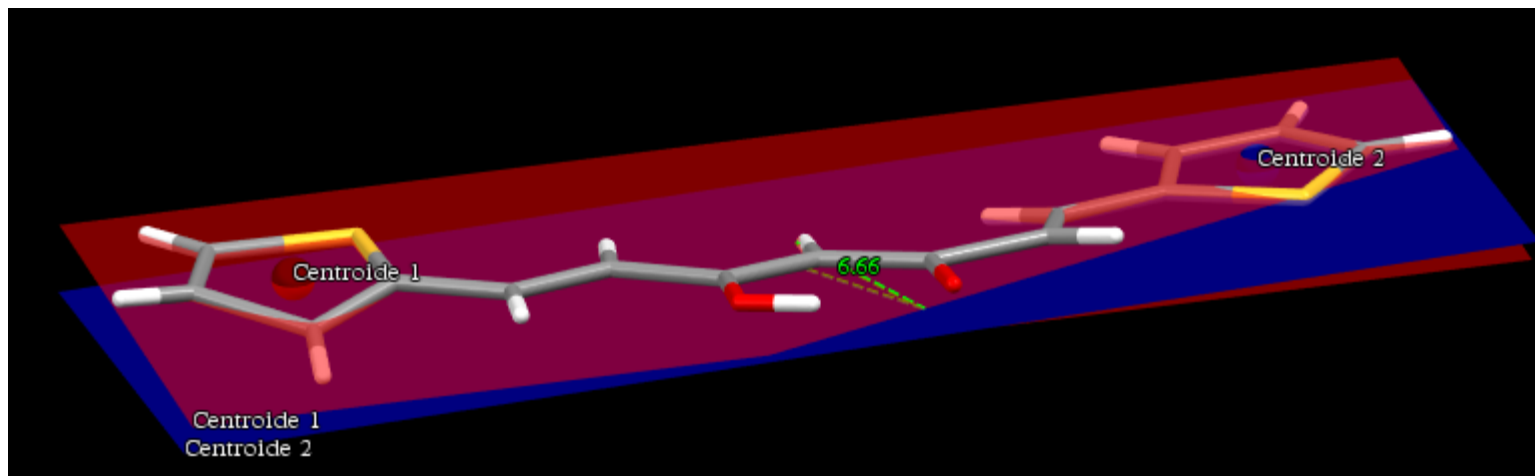


Figura A42.-Ángulos entre anillos de Tiofenocurcumina

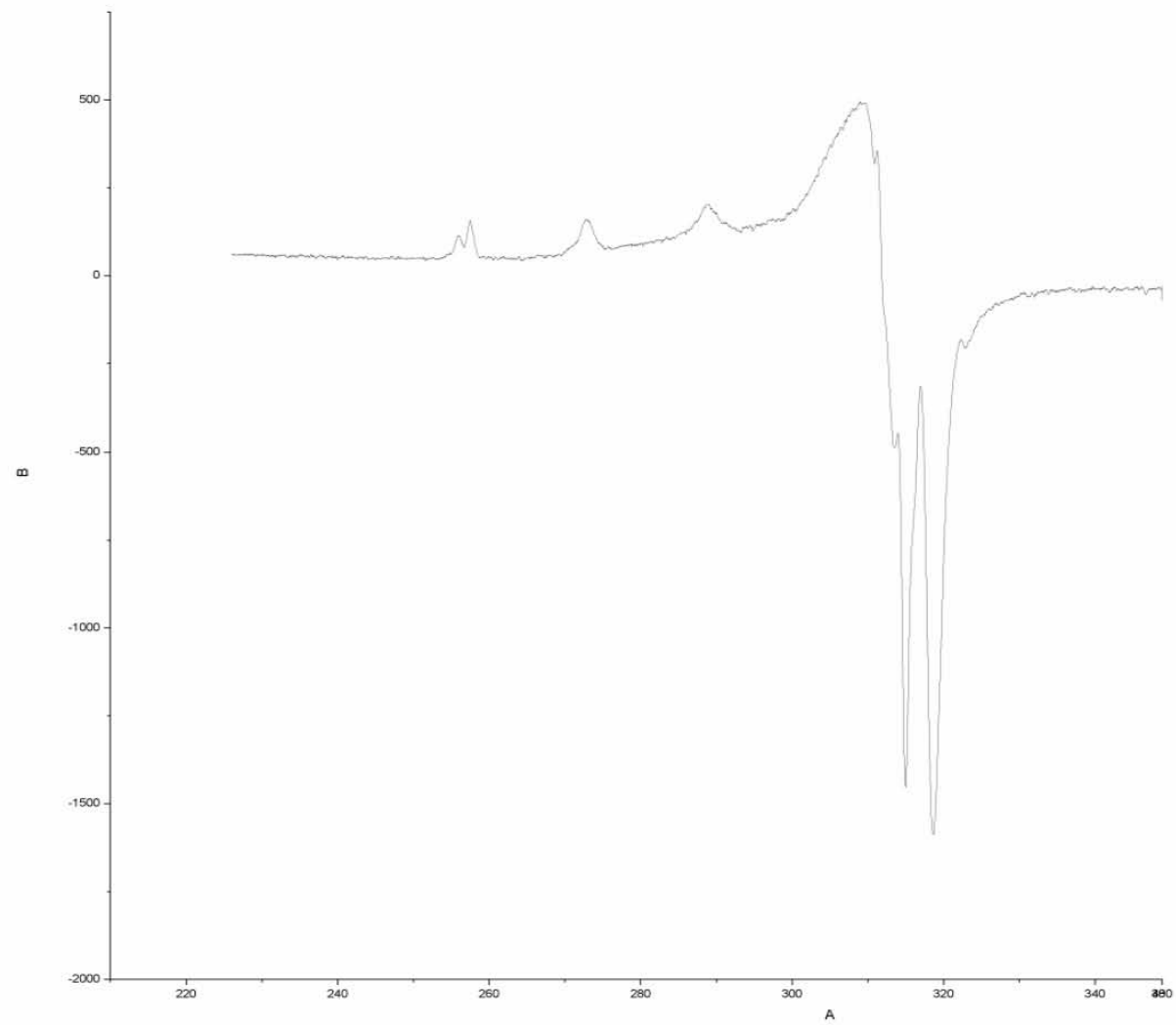


Figura A43.- Espectro de EPR del Complejo Fenilcurcumina-Cu

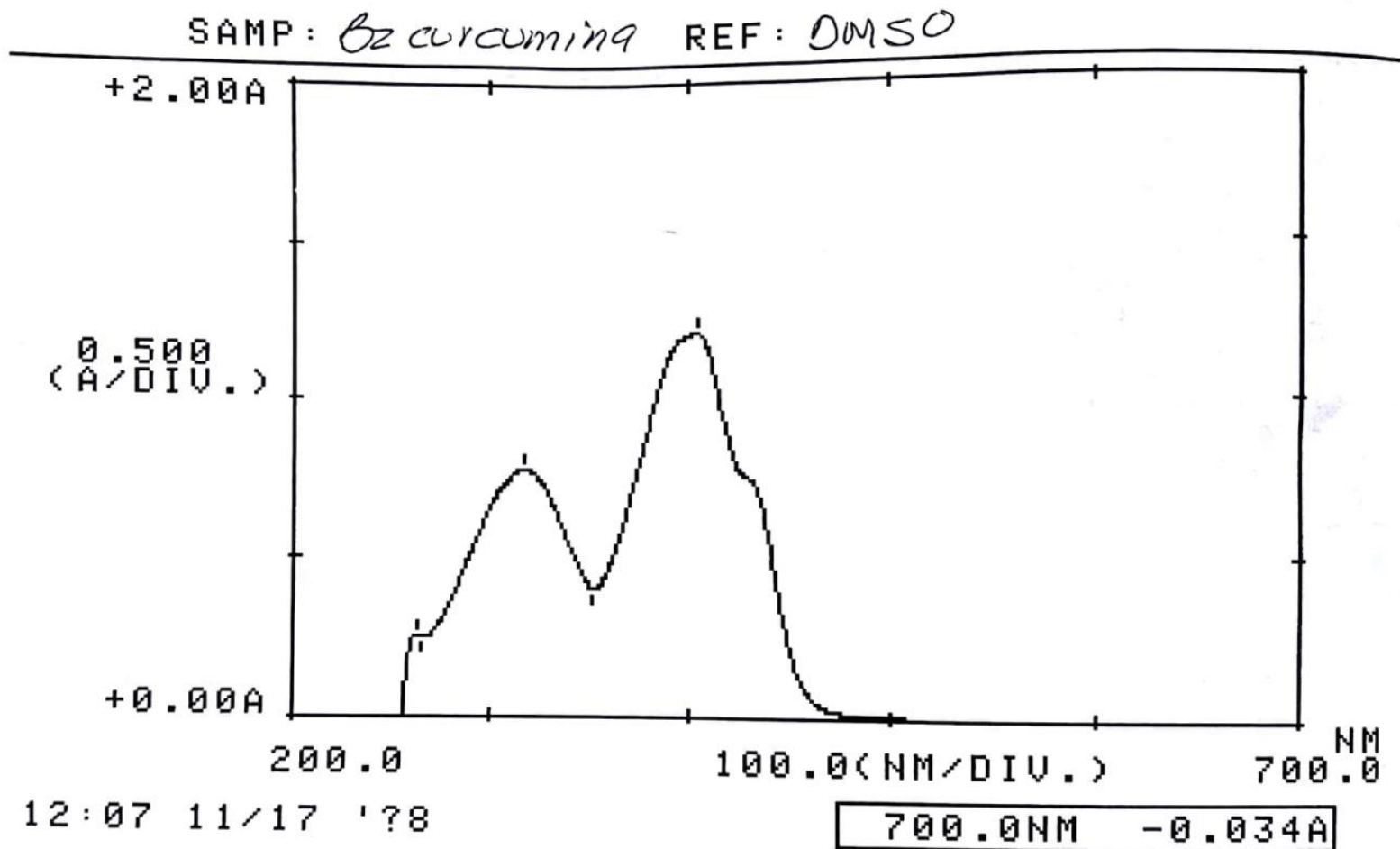
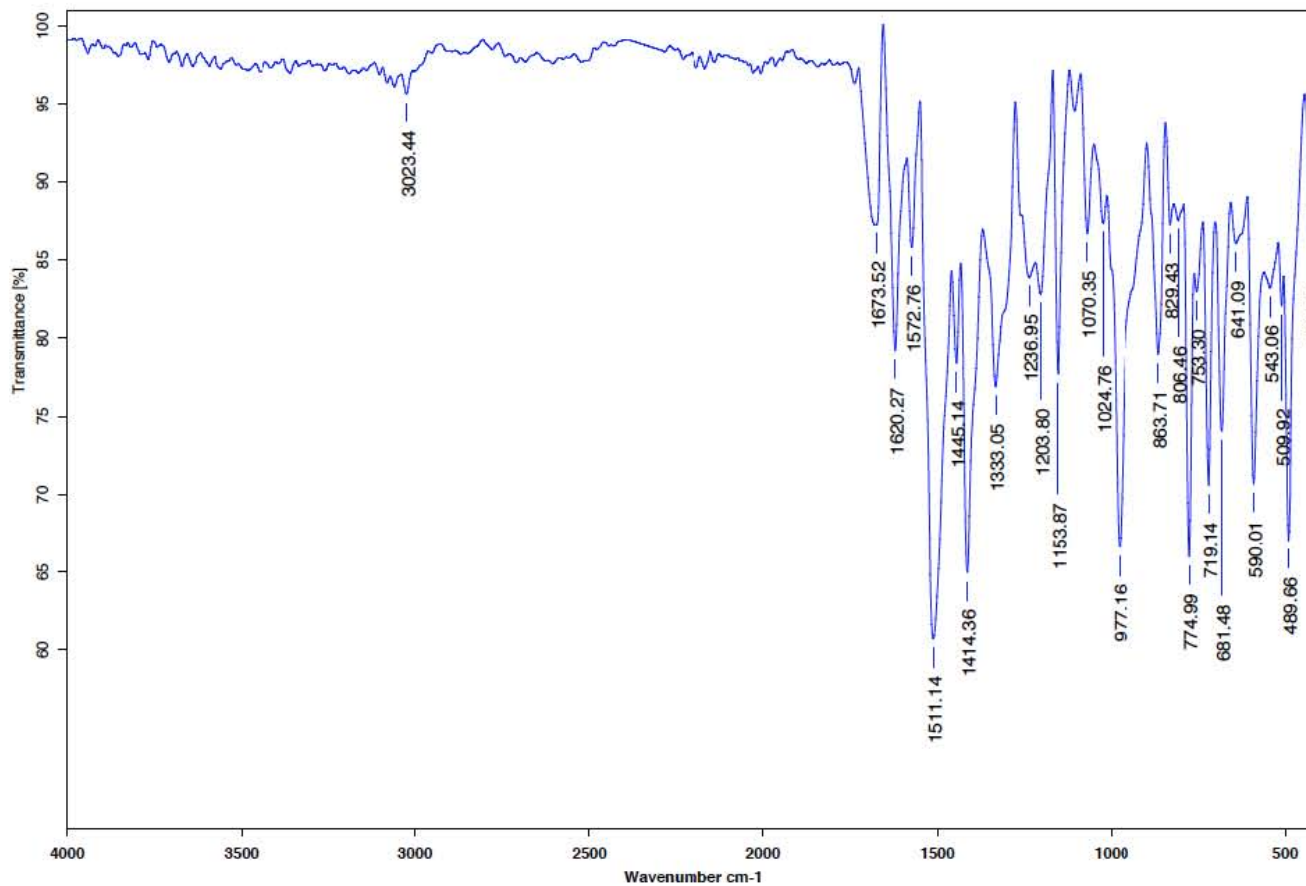


Figura A44.- Espectro de Uv-Vis del complejo Fenilcurcumina-Cu



C:\Infrarojo\AIR-LEP-IQUI-007_18\Rocio\1449.0

Dr.R.Enriquez

Bz-Curcumina

KBr/Pastilla

RPM

23/11/2018

Figura A45.- Espectro IR del complejo Fenilcurcumina-Cu

Registro Bz Curcumina 181120-ehr-01
Matriz DIT 2/5

Laboratorios de Servicios Analíticos
Instituto de Química UNAM

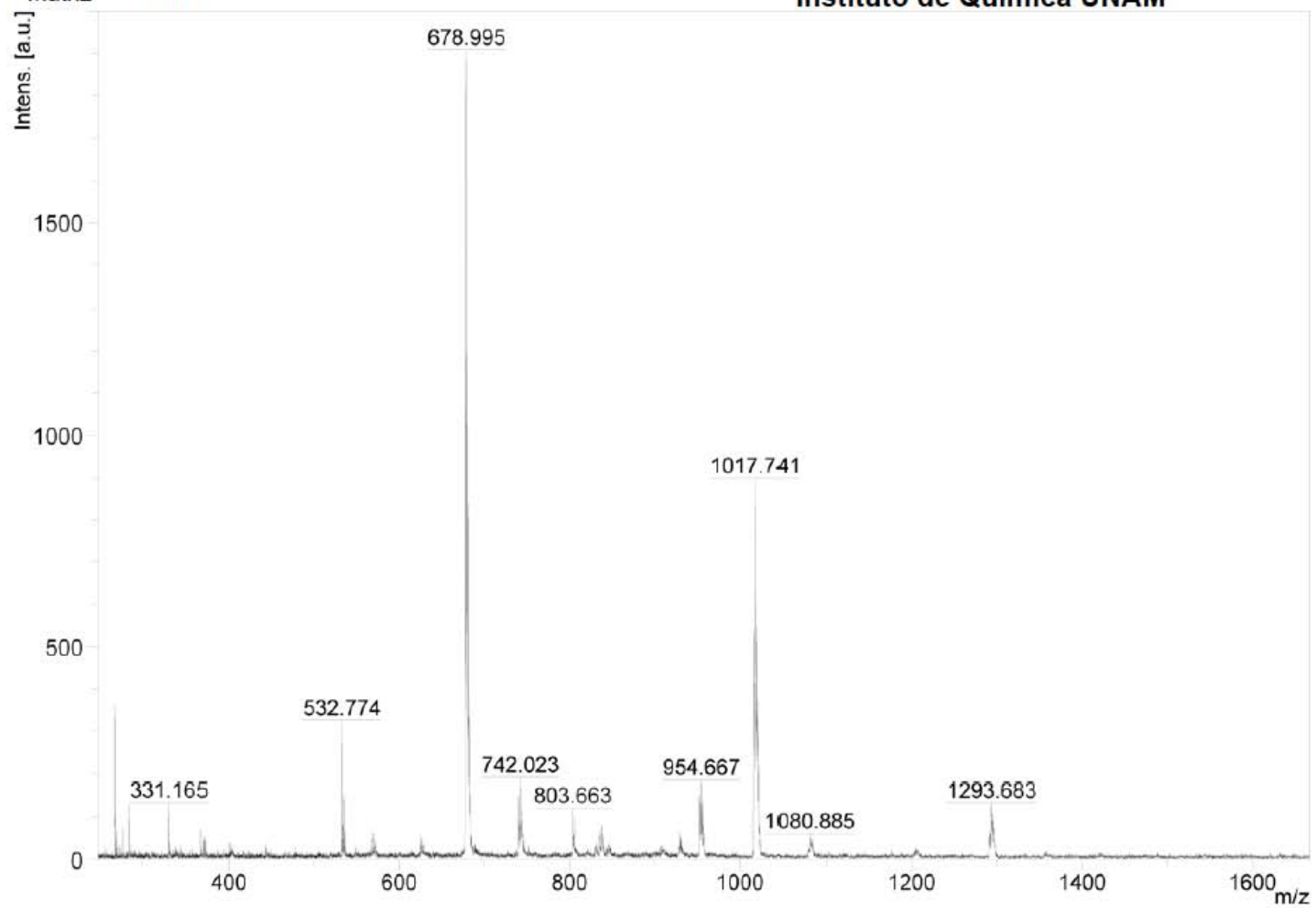


Figura A46.- Espectro de masas de complejo Fenilcurcumina-Cu

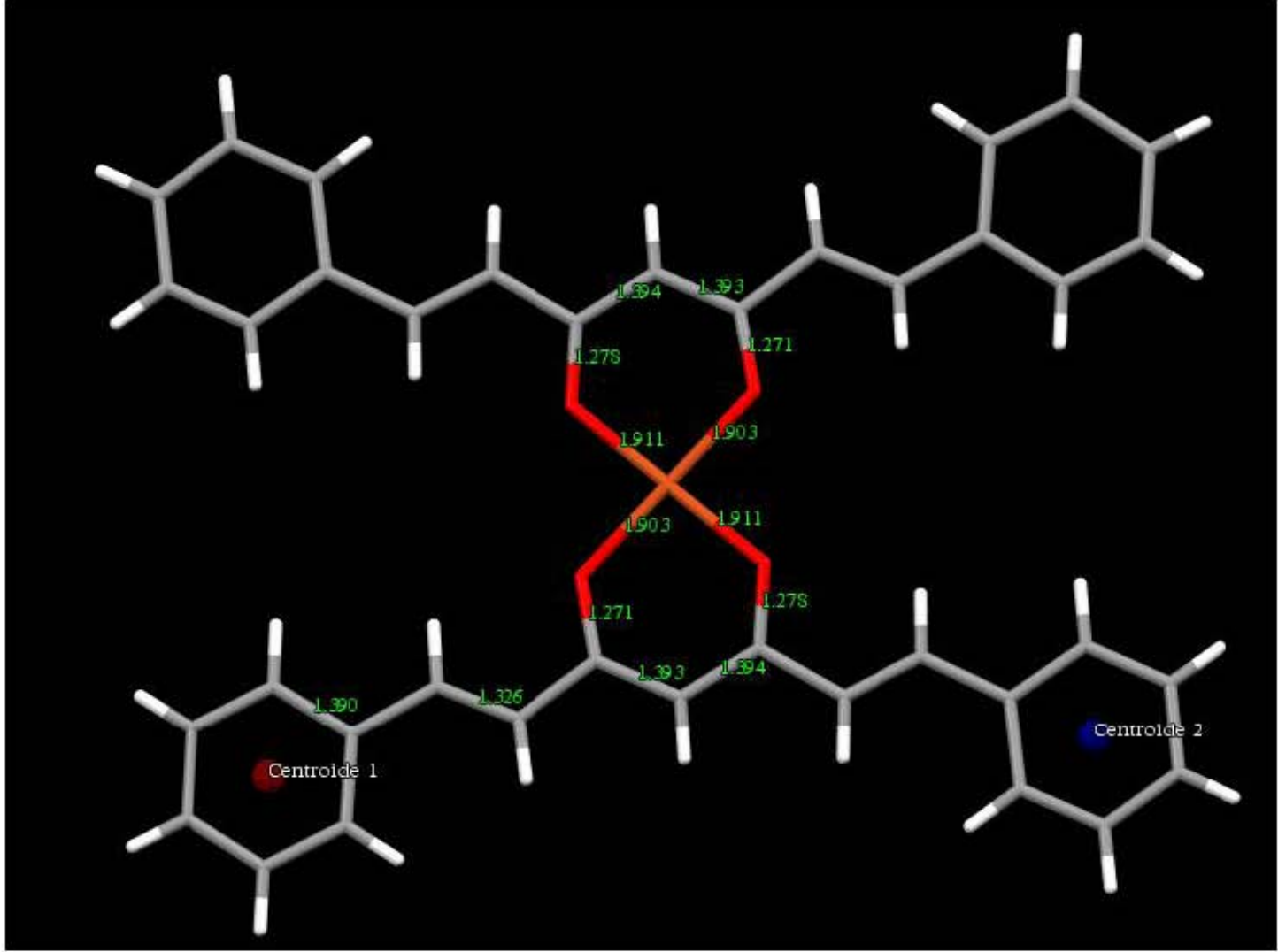


Figura A47.- Distancia de enlace de complejo Fenilcurcumina-Cu

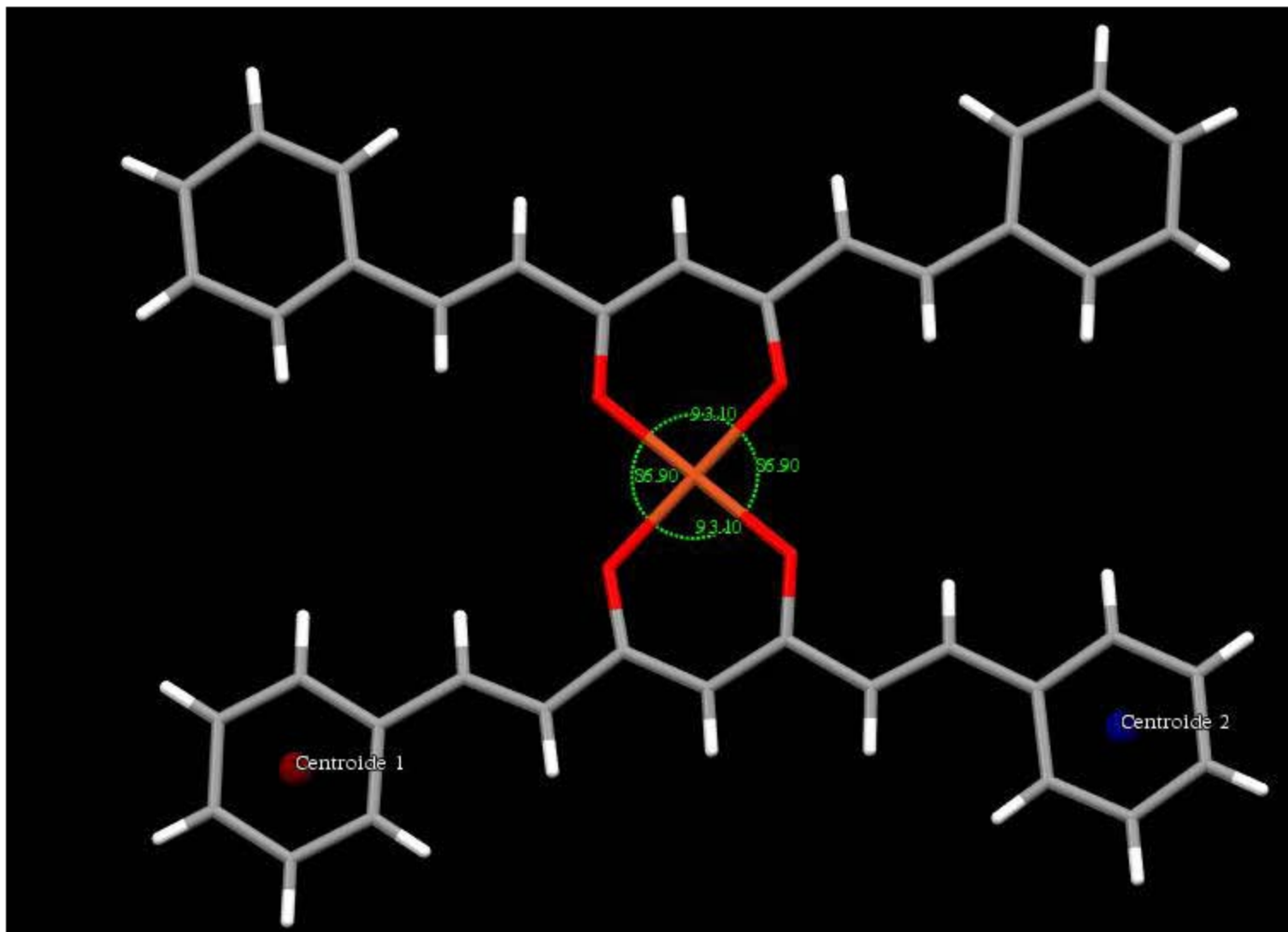


Figura A48.- Ángulos entre enlaces de complejo Fenilcurcumina-Cu

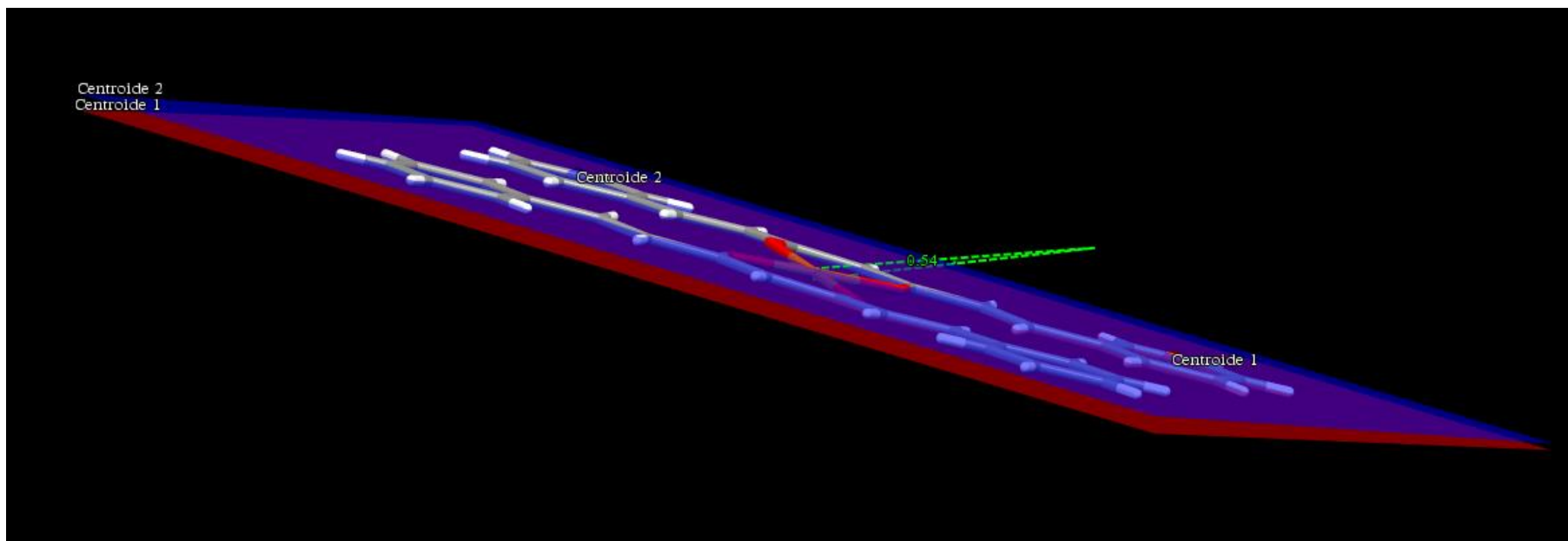


Figura A49.- Ángulos entre planos de complejo Fenilcurcumina-Cu

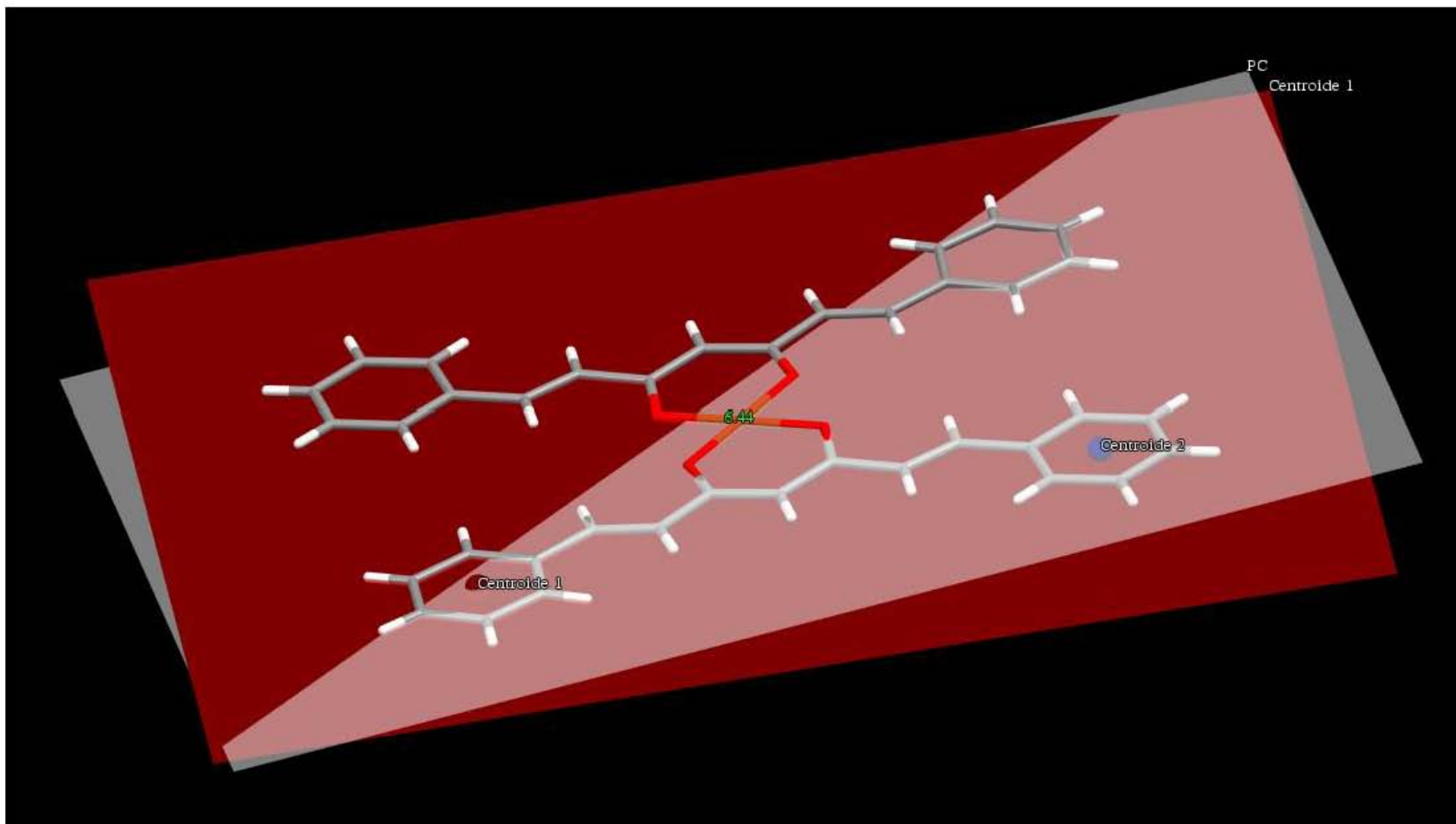


Figura A50.- Ángulos entre planos de complejo Fenilcurcumina-Cu

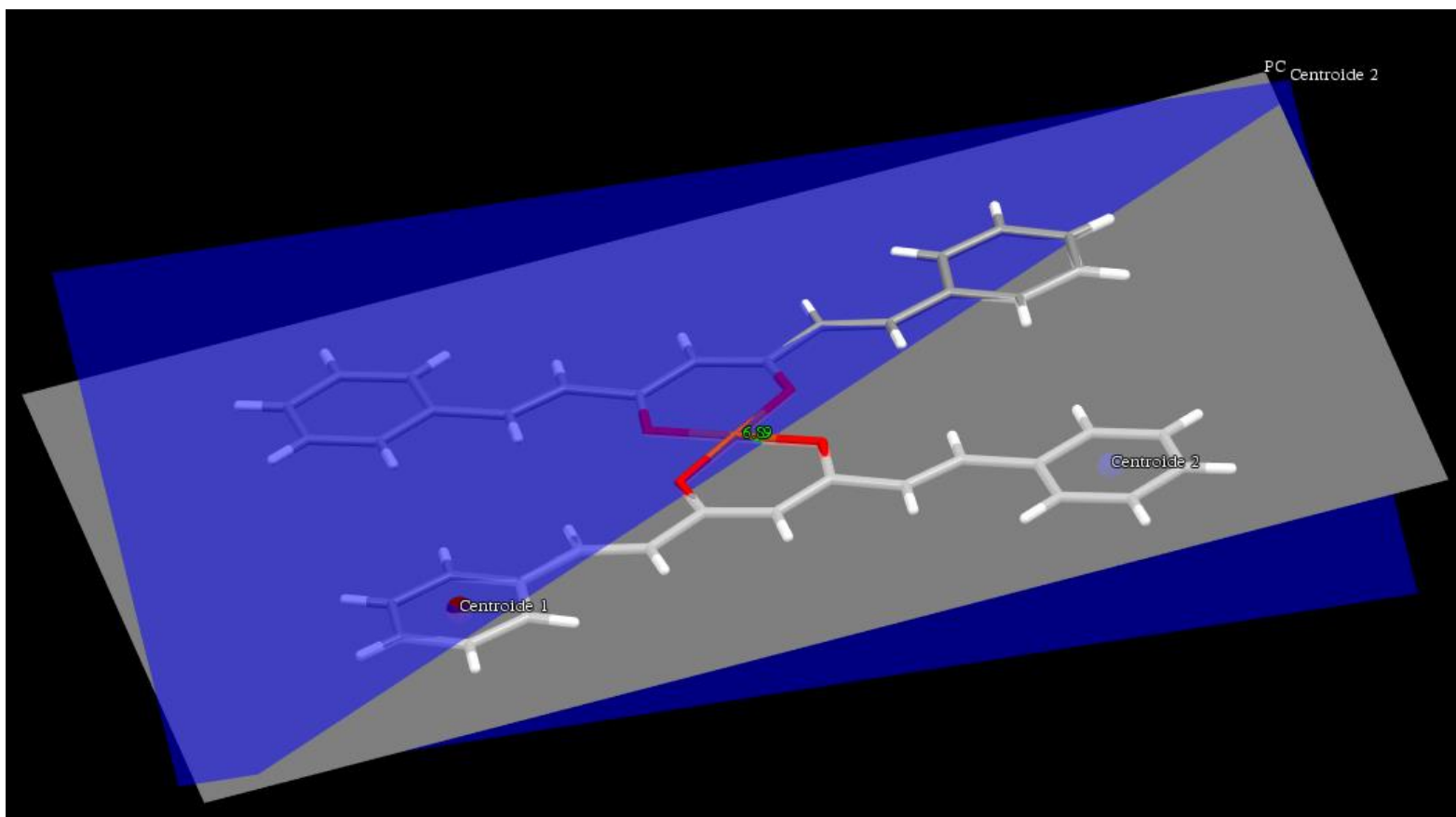


Figura A51.- Ángulos entre planos de complejo Fenilcurcumina-Cu

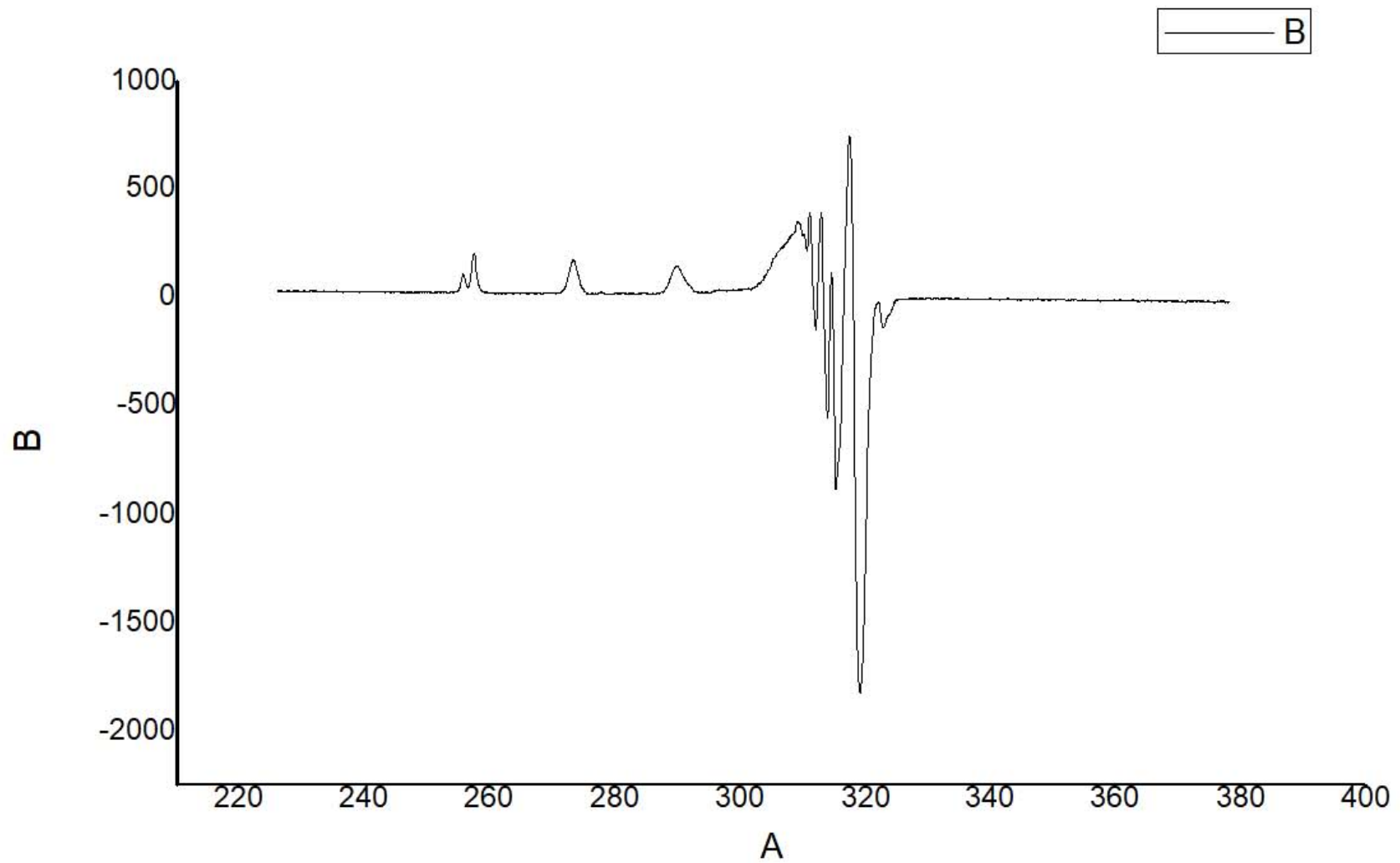


Figura A52.- Espectro de EPR de N-metilpirrolcurcumina-Cu

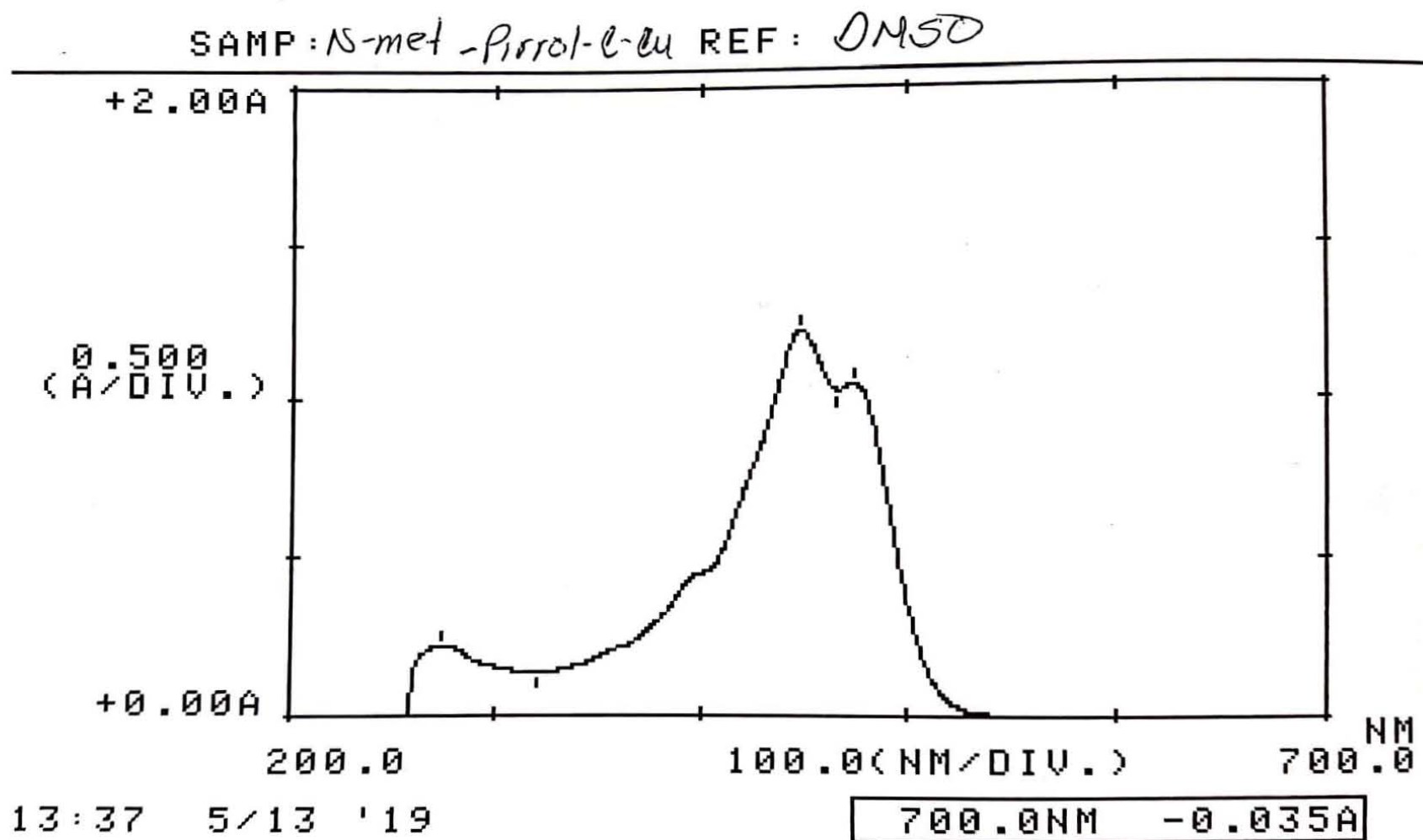
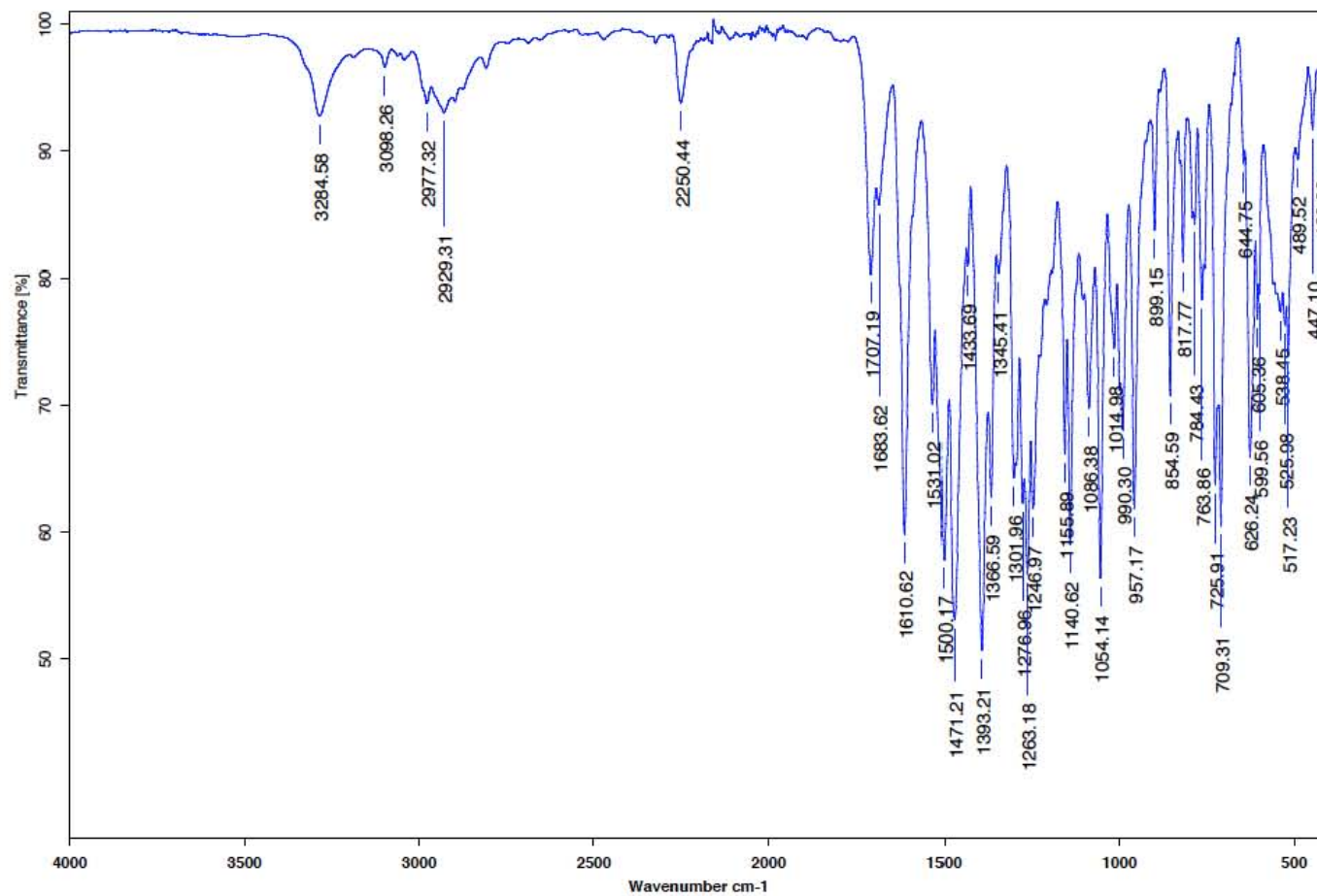


Figura A53.- Espectro de UV-vis de N-metilpirrolcurcumina-Cu



C:\Infrarrojo\AIR-LEP-IQUI-007_19\DrREnriquez\120.SPA.0

Dr.R.Enriquez

N-metilpirrolC-Cu

KBr/Pastilla No

06/02/2019

Figura A54.- Espectro de Infrarrojo de N-metilpirrolcurcumina-Cu

User Spectra

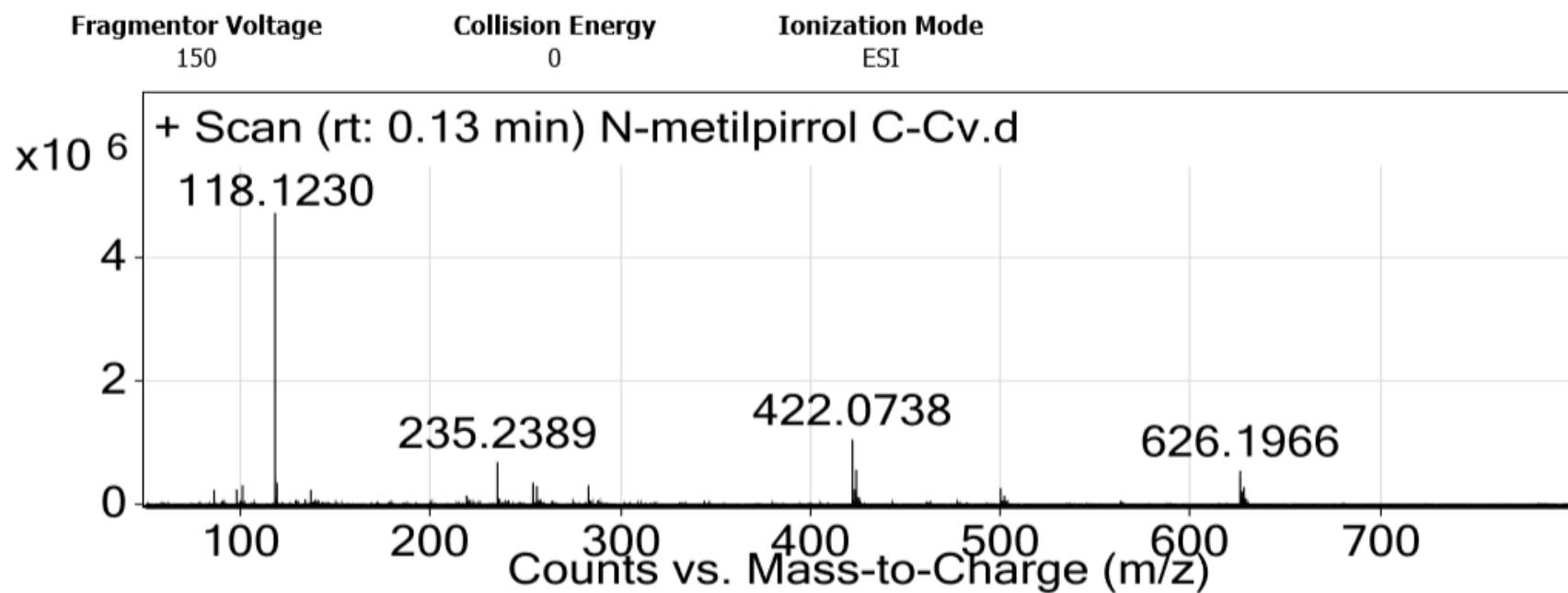


Figura A55.- Espectro de Masas de N-metilpirrolcurcumina-Cu

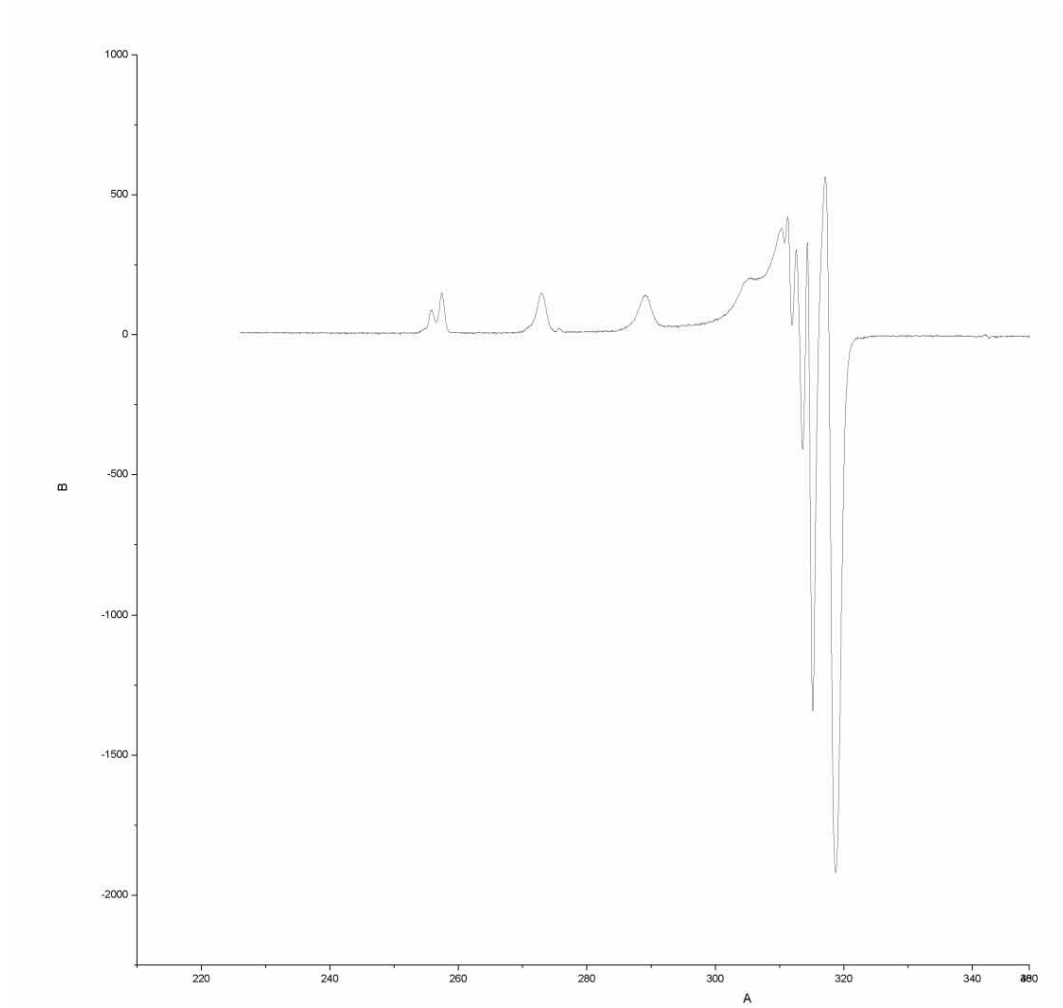


Figura A56.- Espectro de EPR del Complejo Furanocurcumina-Cu

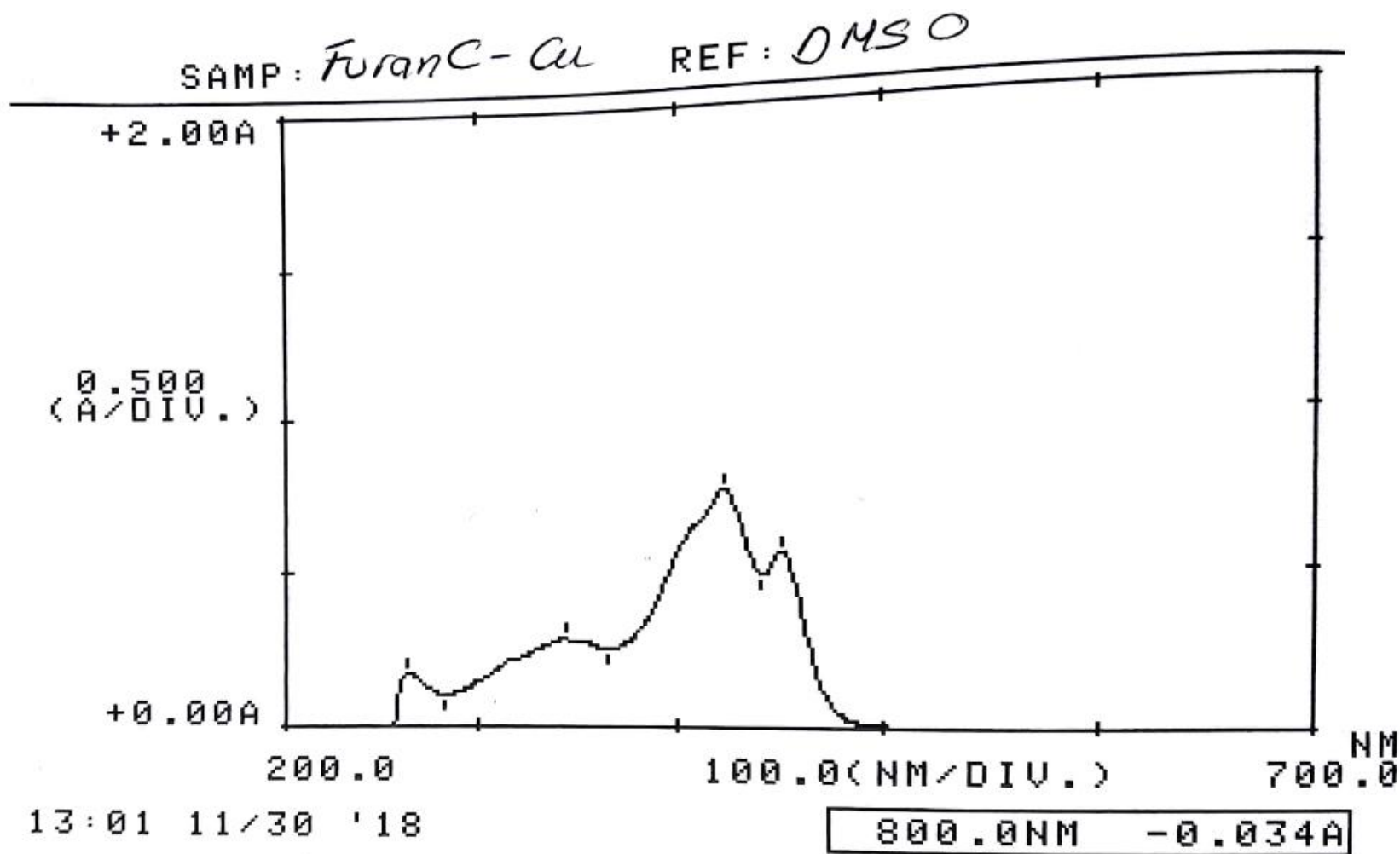
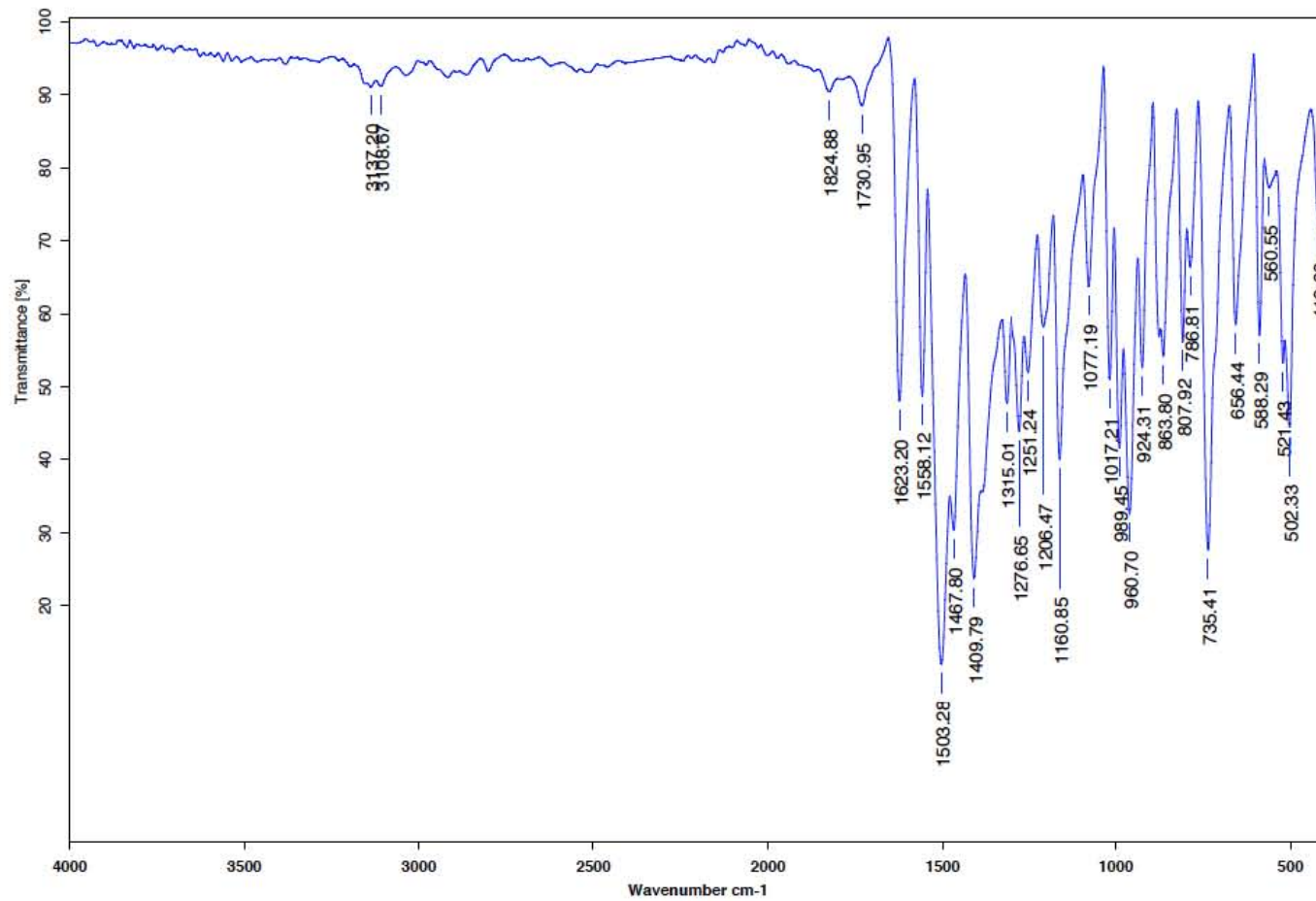


Figura A57.- Espectro de UV-Vis del Complejo Furanocurcumina-Cu



C:\Infrarojo\AIR-LEP-IQUI-007_18\Rocio\1485.0

Dr.R.Enriquez FuranC-Cu

KBr/Pastilla

RPM

28/11/2018

Figura A58.- Espectro de IR del Complejo Furanocurcumina-Cu

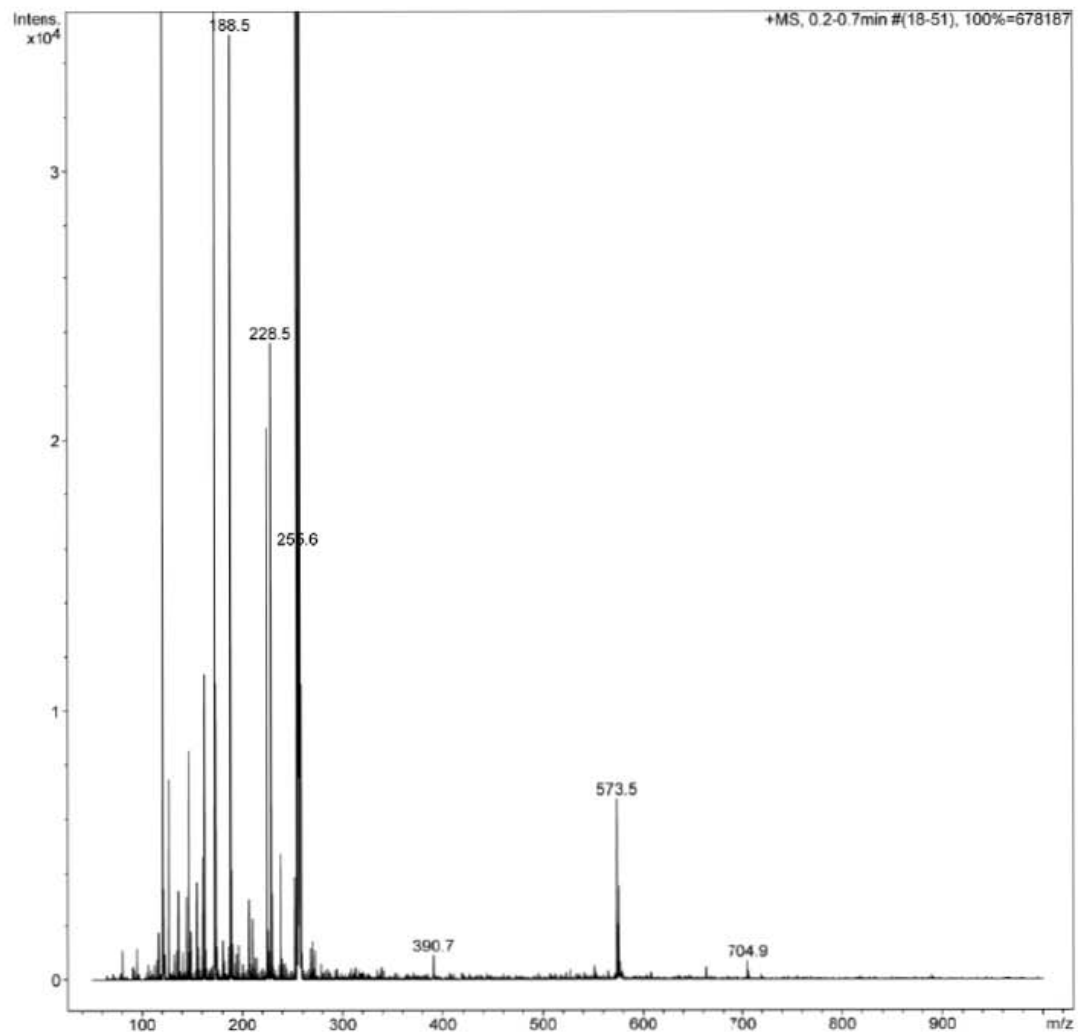


Figura A59.- Espectro de IR del Complejo Furanocurcumina-Cu

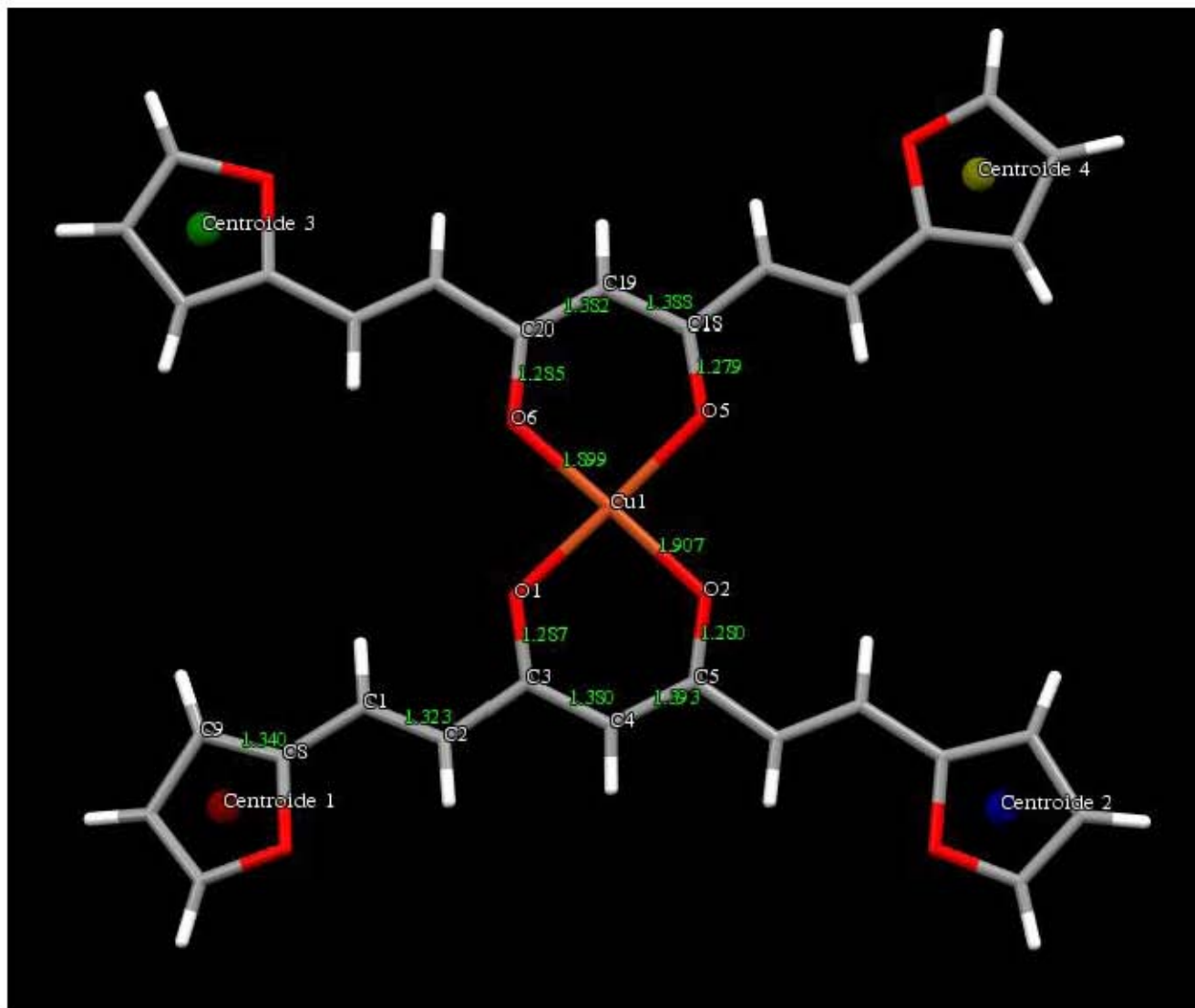


Figura A60.- Distancia de interacciones de complejo Furanocurcumina-Cu

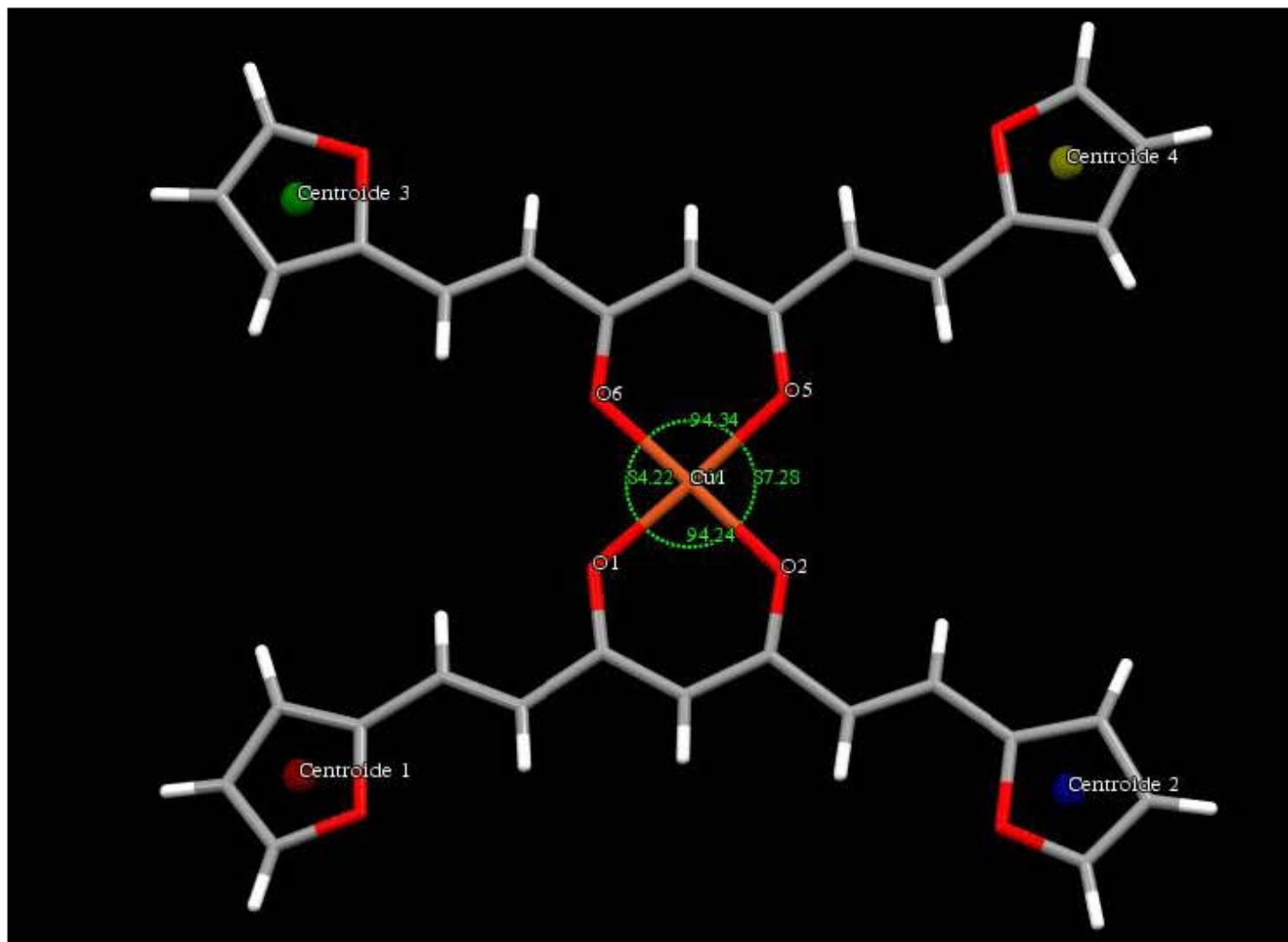


Figura A61.- Ángulos entre enlaces de complejo Furanocurcumina-Cu

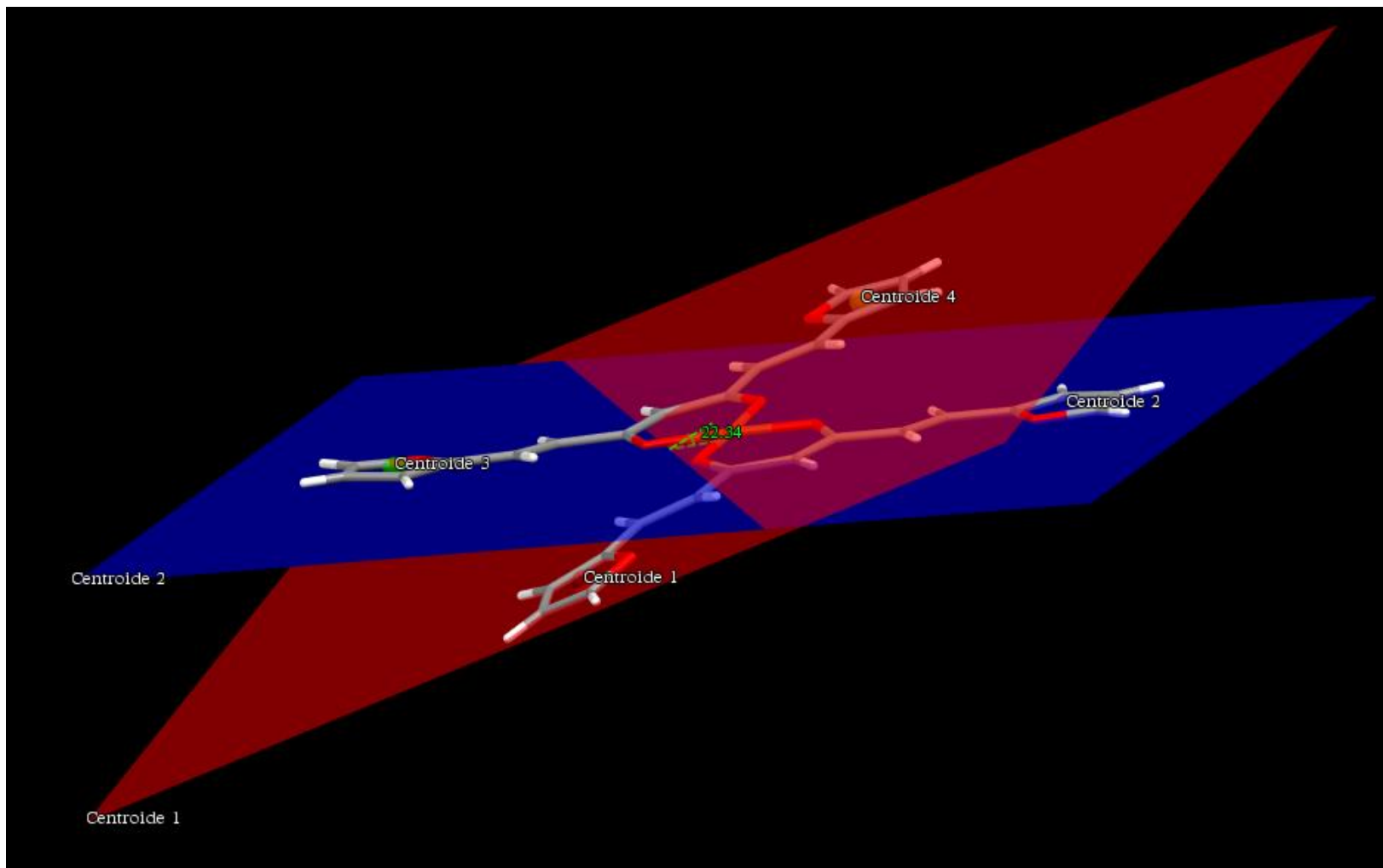


Figura A62.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

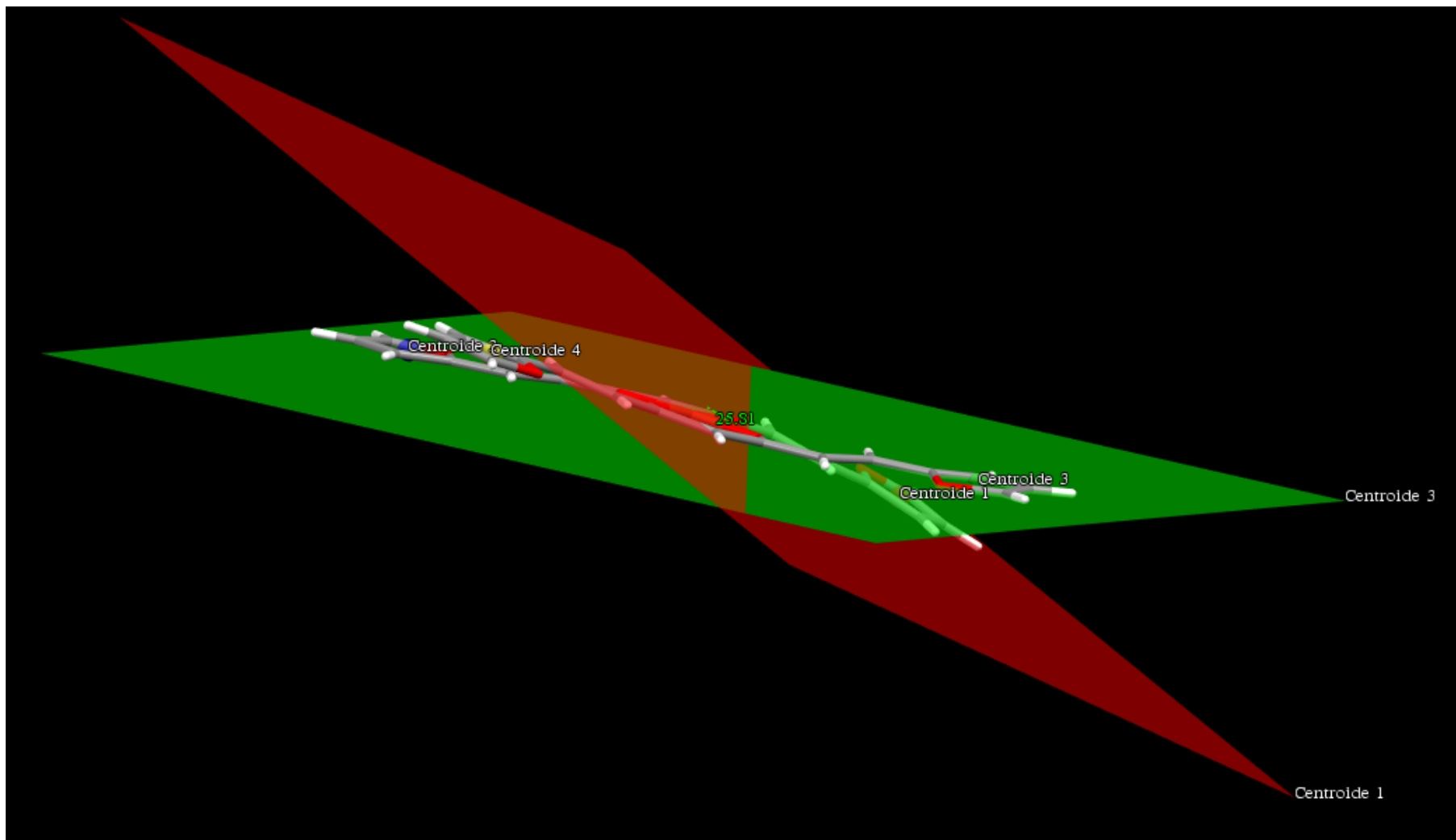


Figura A63.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

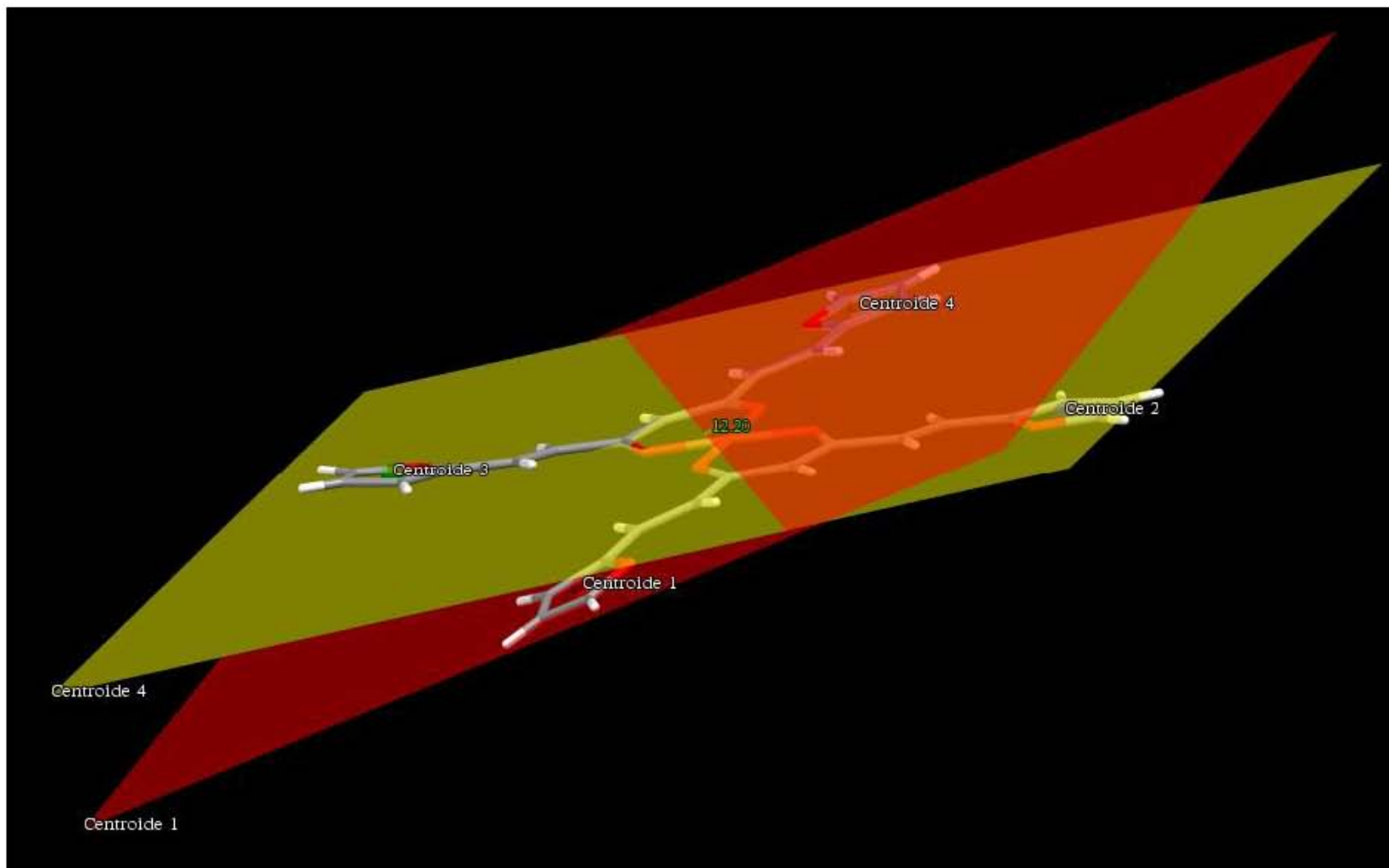


Figura A64.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

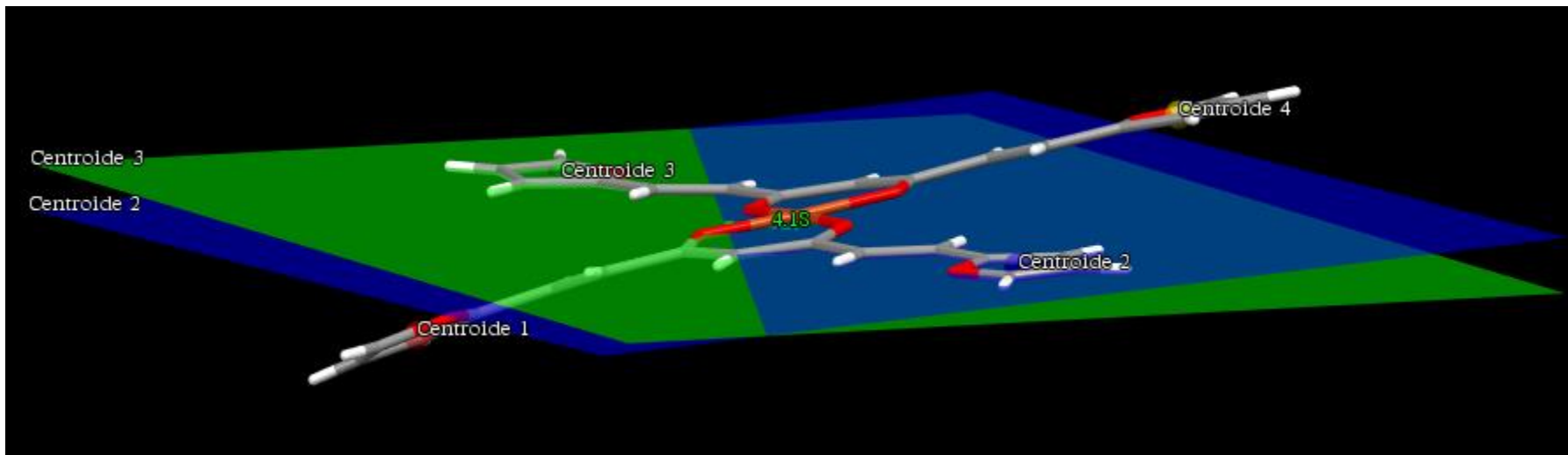


Figura A65.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

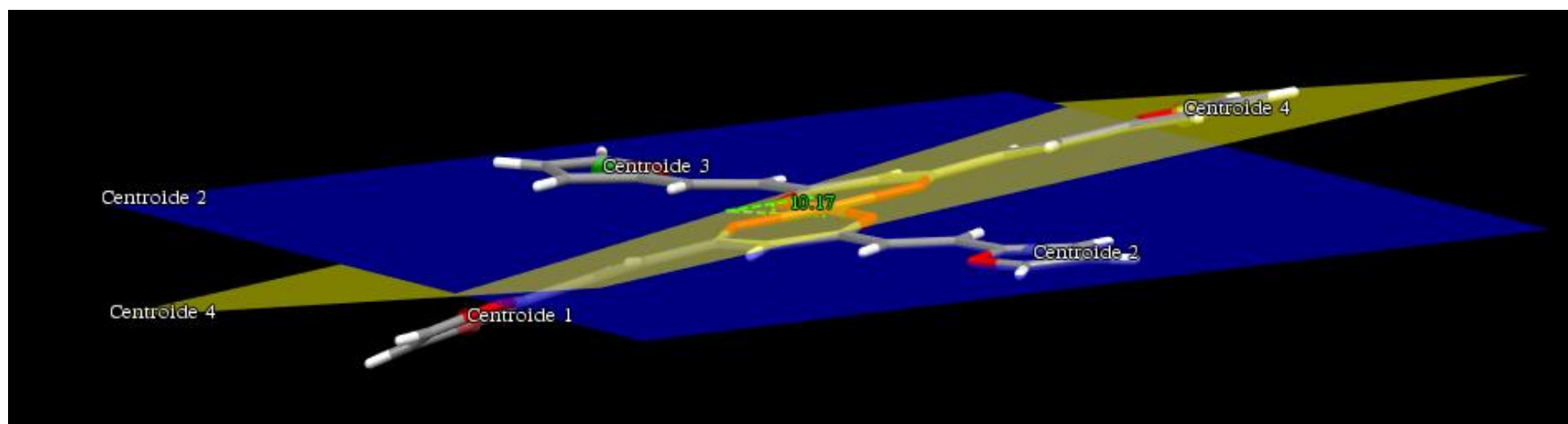


Figura A66.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu



Figura A67.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

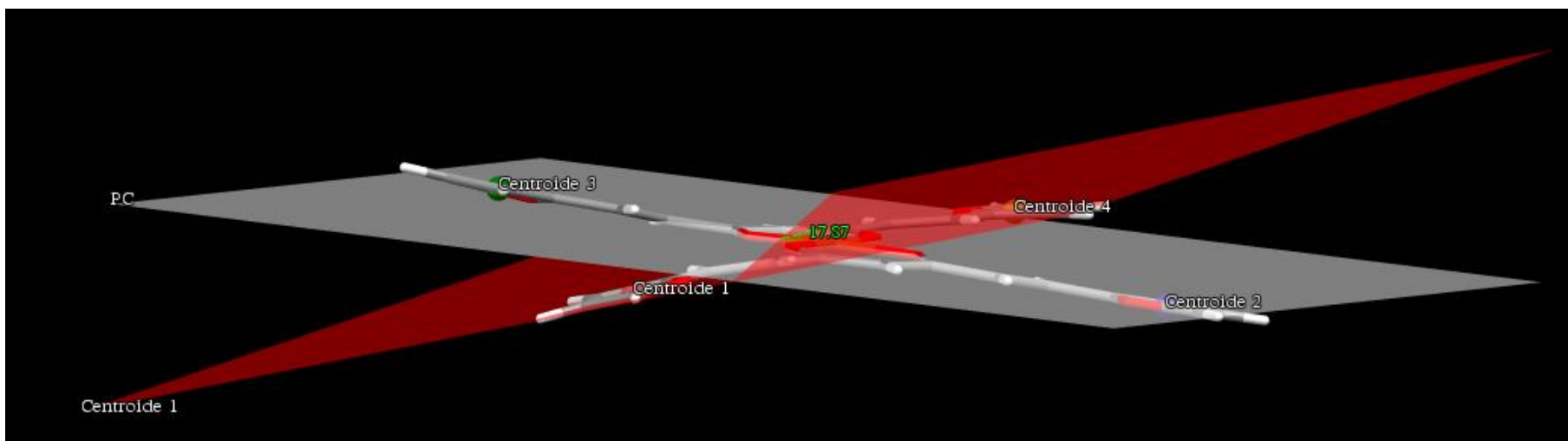


Figura A68.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

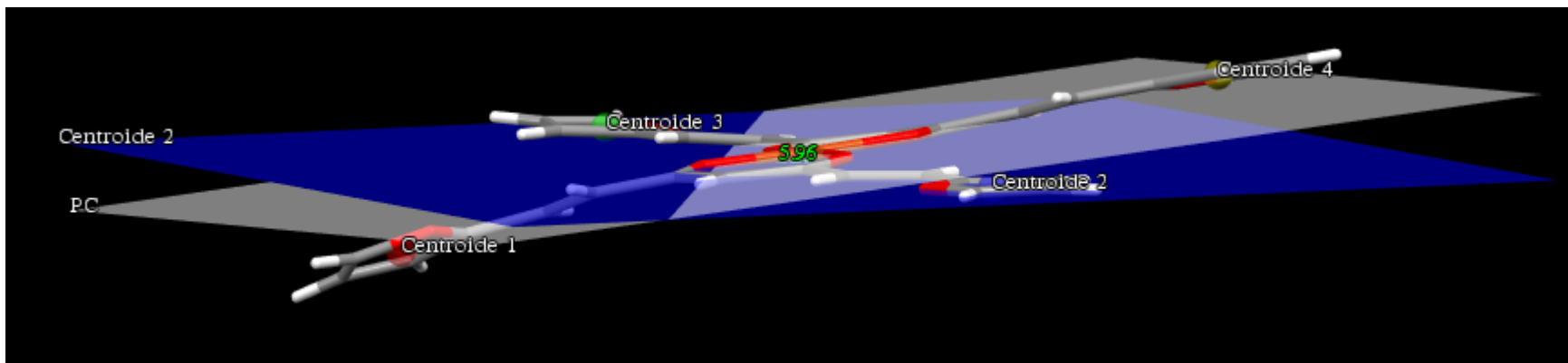


Figura A69.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

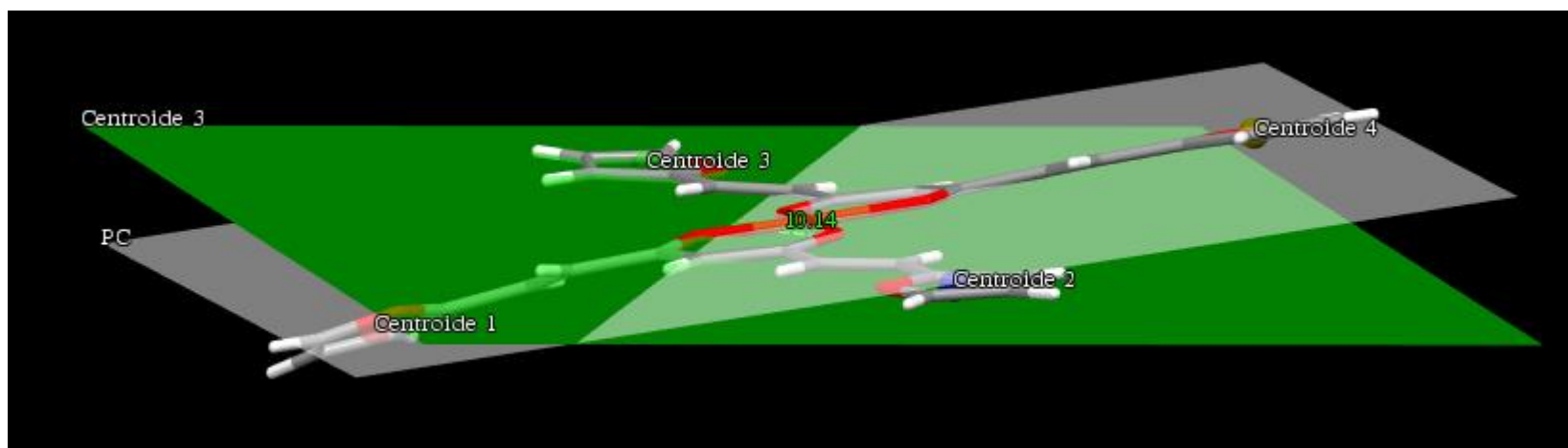


Figura A70.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

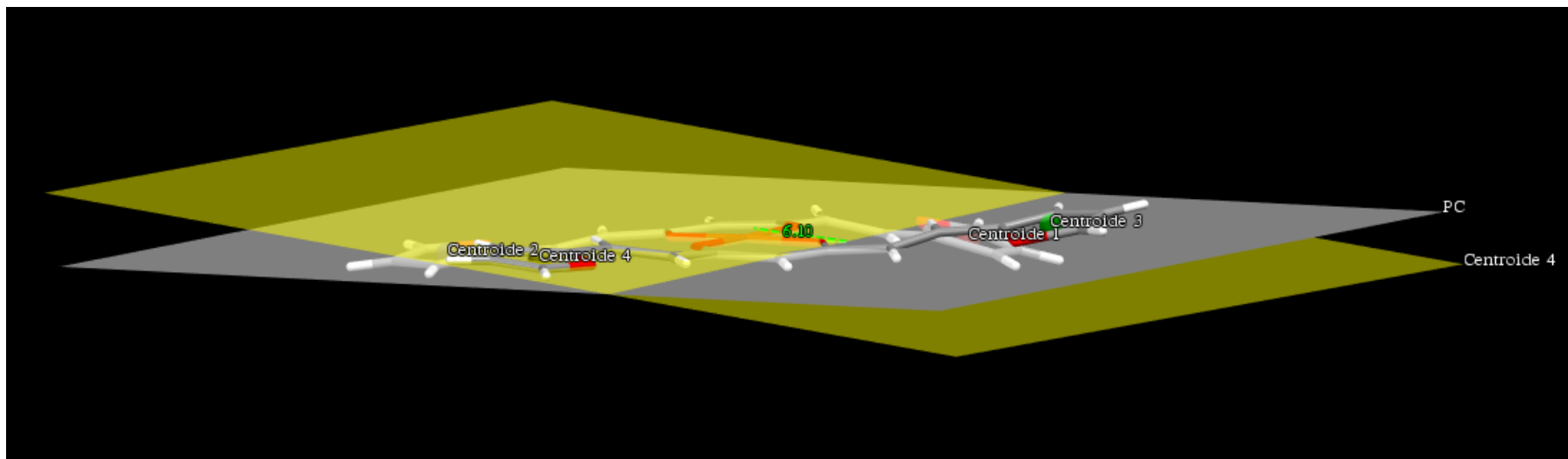


Figura A71.- Ángulos entre planos de complejo Furanocurcumina-Cu

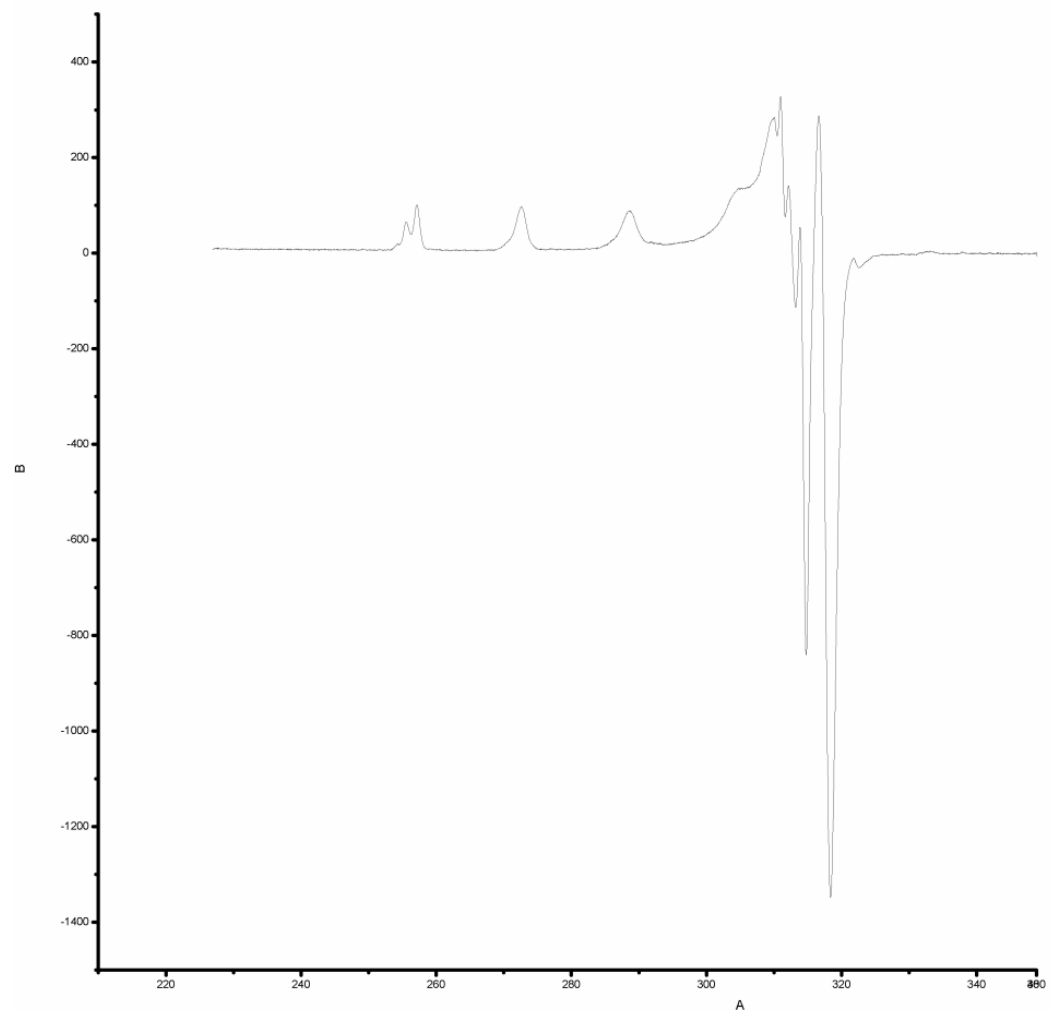


Figura A72.- Espectro de EPR del Complejo Tiofenocurcumina-Cu

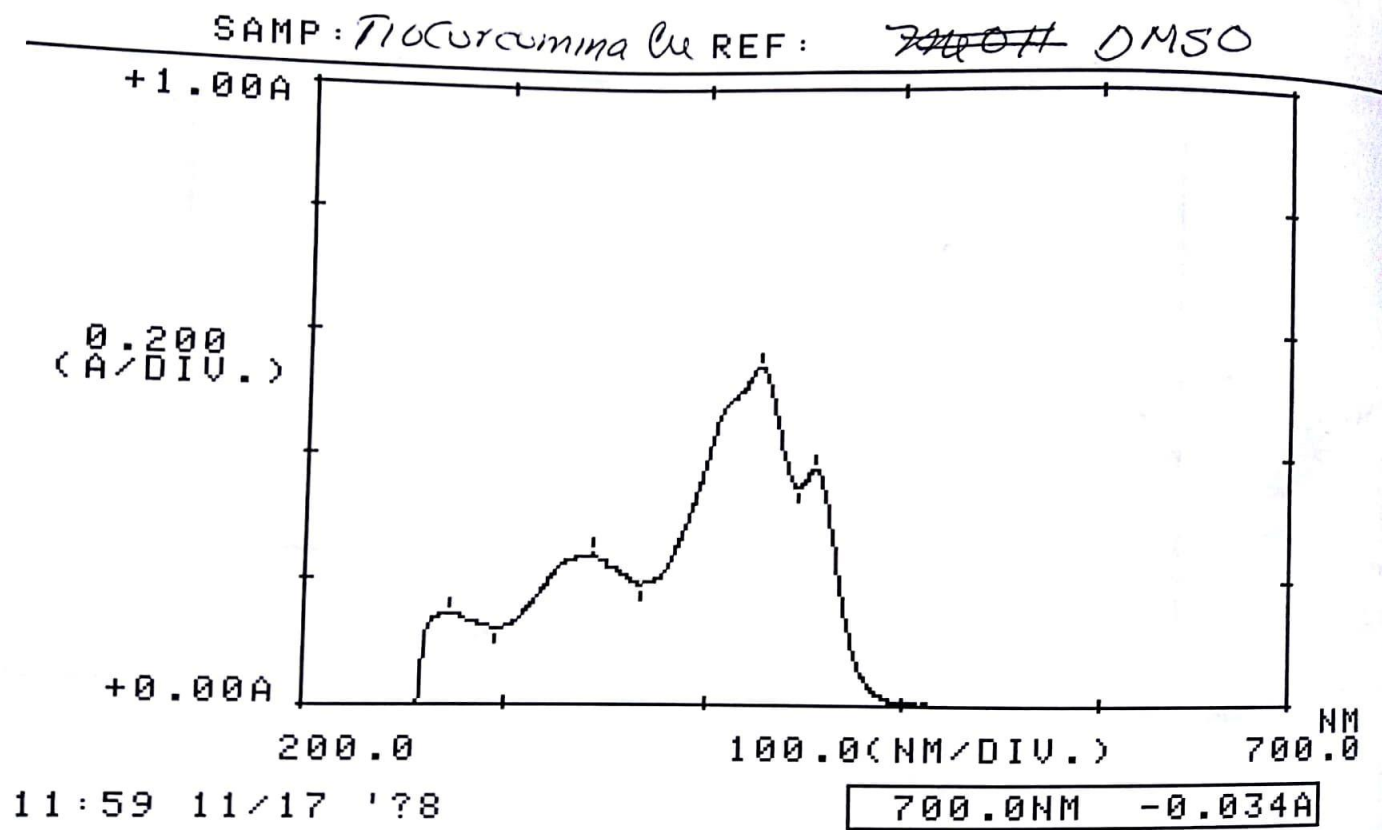
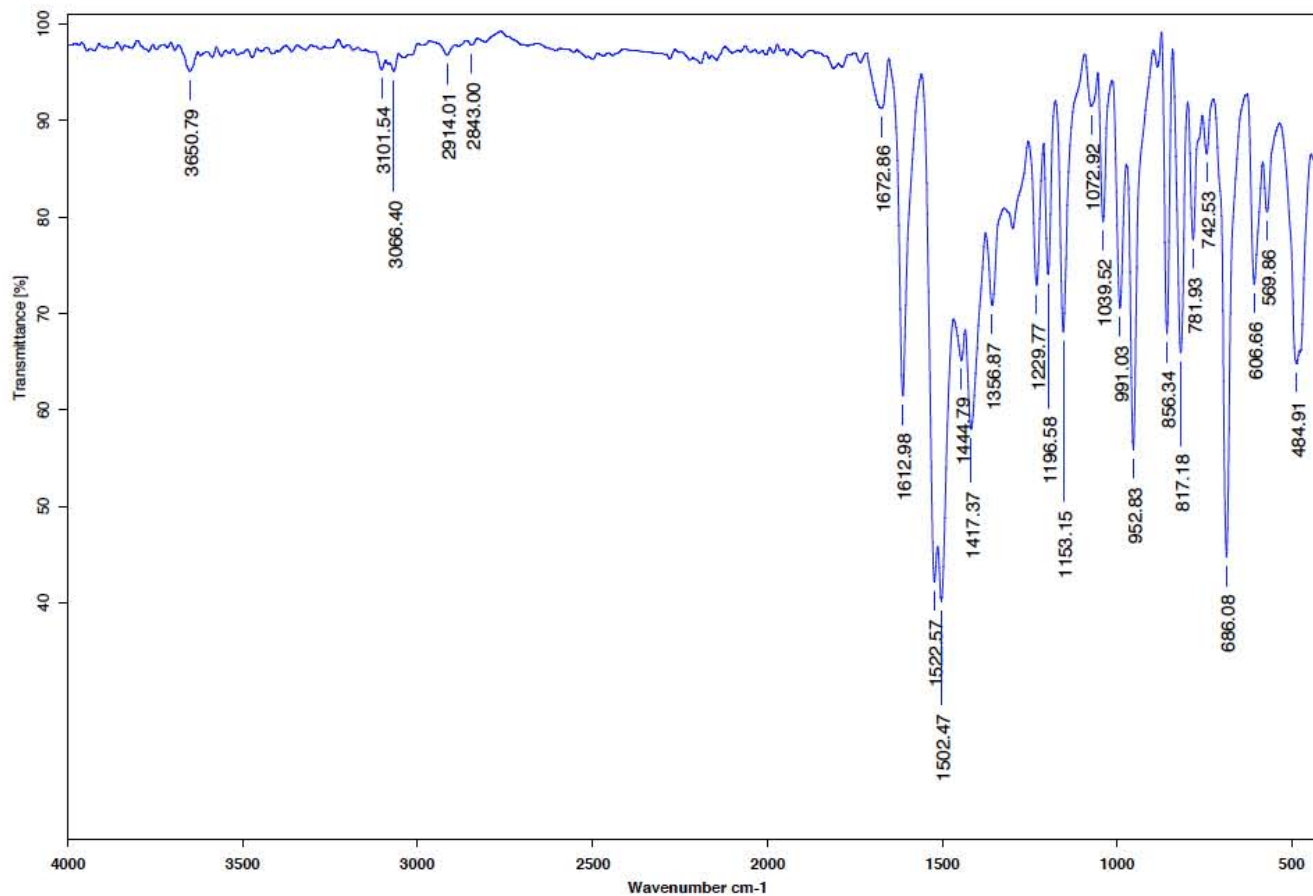


Figura A73.- Espectro de UV-Vis del Complejo Tiofenocurcumina-Cu



C:\Infrarrojo\AIR-LEP-IQUI-007_18\DrREnriquez\1451.0

Dr.R.Enriquez TioCurcumina-Cu KBr/Pastilla Rf

23/11/2018

Figura A74.- Espectro de IR del Complejo Tiofenocurcumina-Cu

Registro TiofenoC-Cu 190605-ehr-01
Matriz DHB 2/5

Laboratorios de Servicios Analíticos
Instituto de Química UNAM

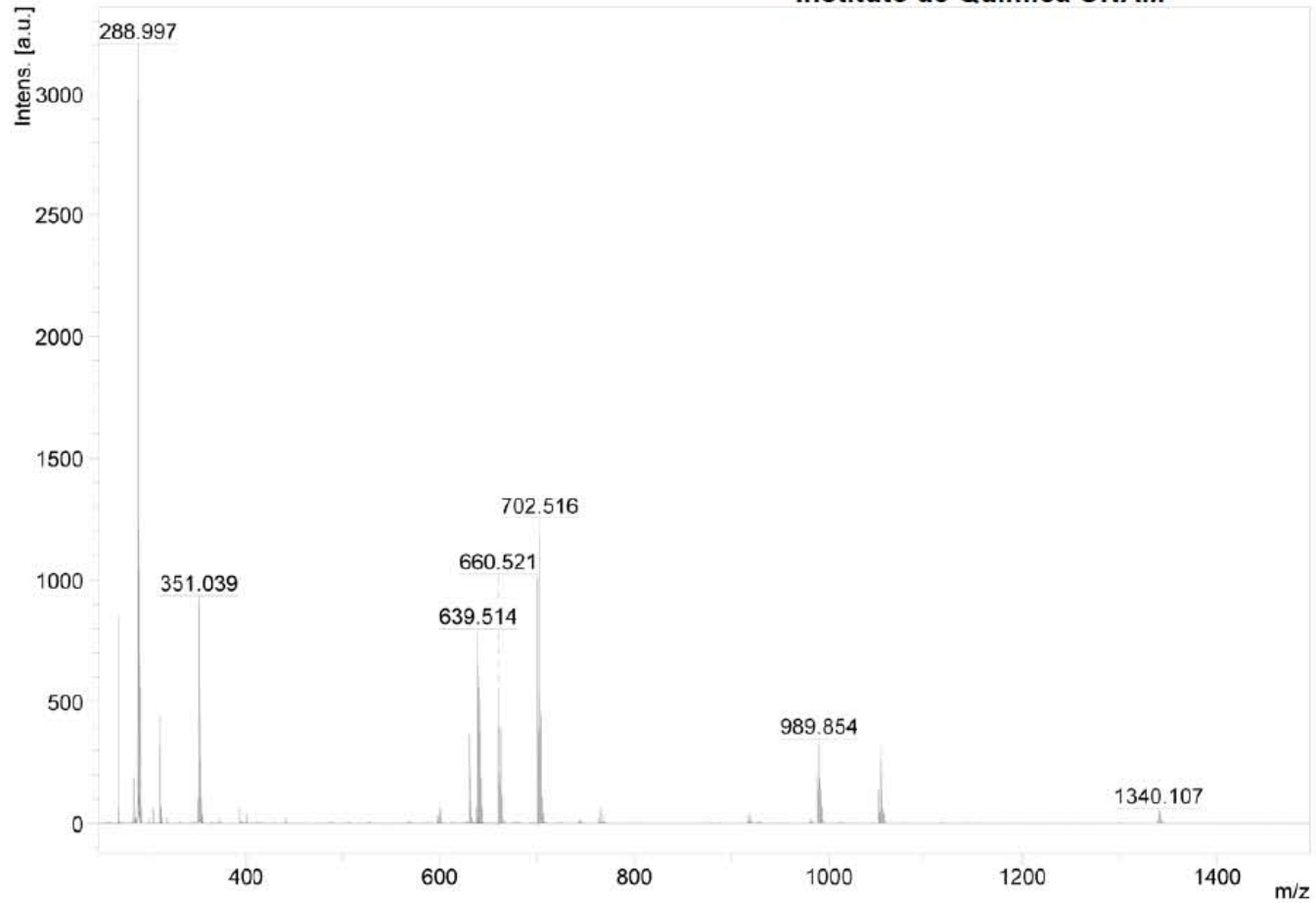


Figura A75.- Espectro de masas del Complejo Tiofenocurcumina-Cu

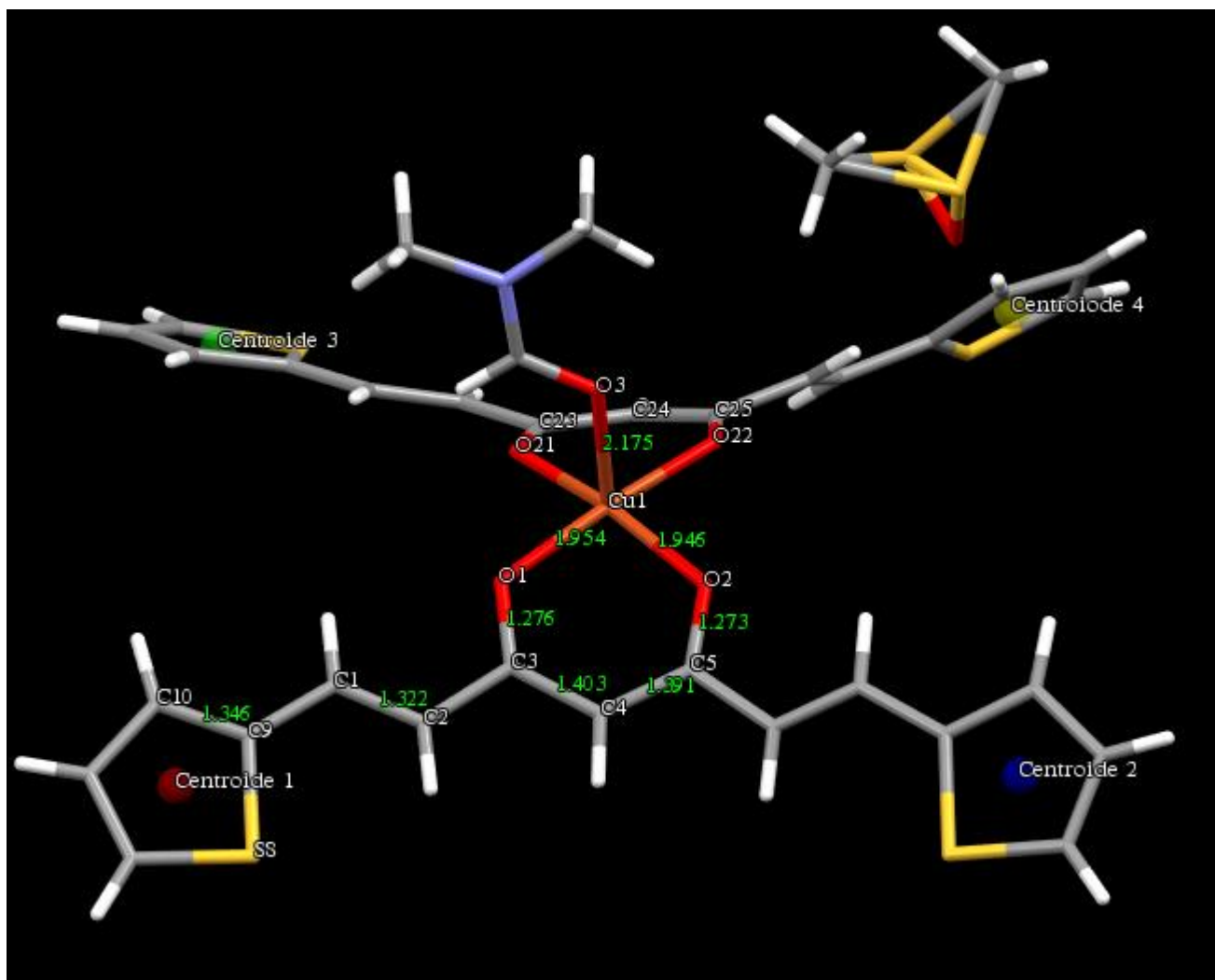


Figura A76.-Distancia de enlace de complejo Tiofenocurcumina-Cu

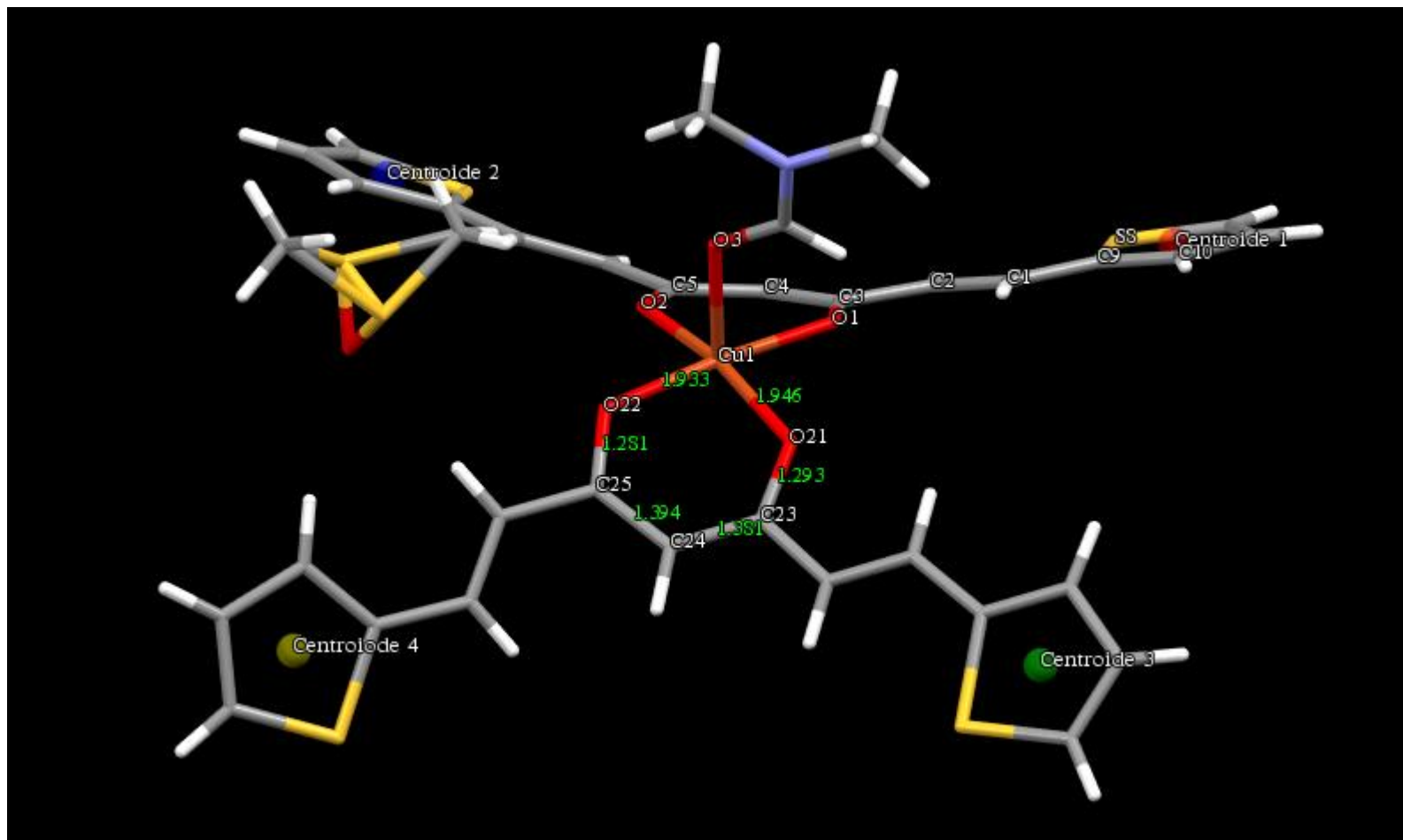


Figura A77.-Distancia de enlace de complejo Tiofenocurcumina-Cu

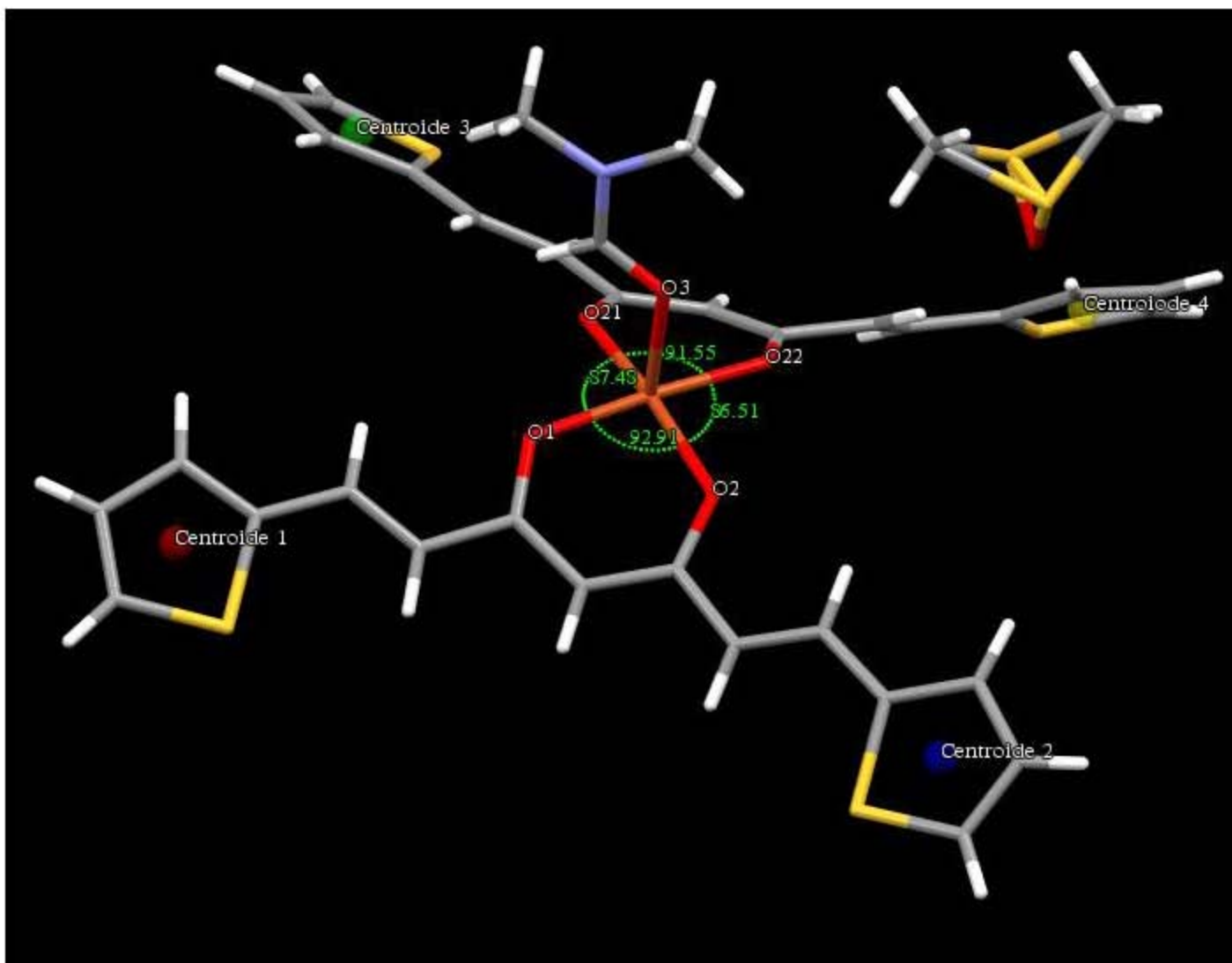


Figura A78.-Ángulos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

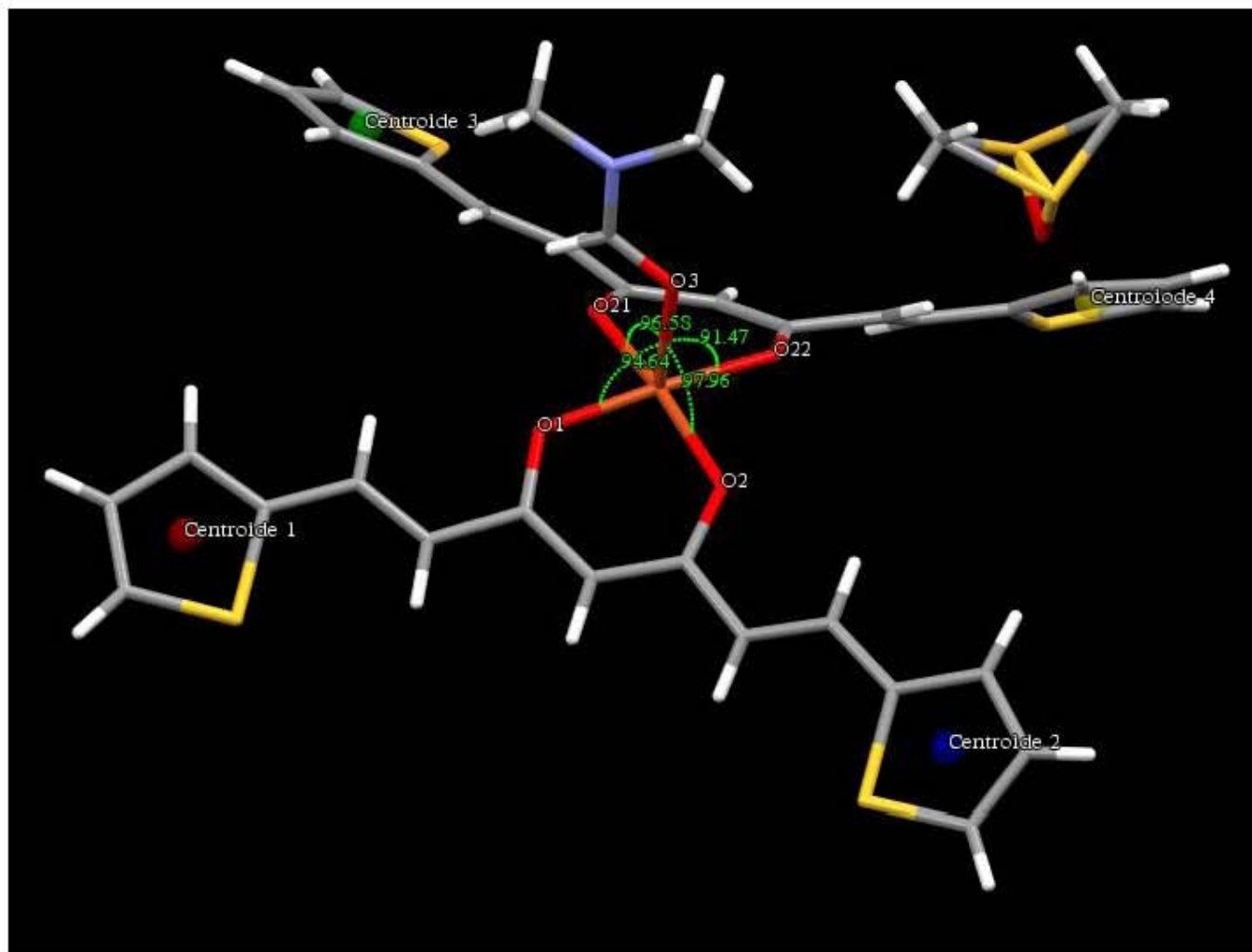


Figura A79.-Ángulos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

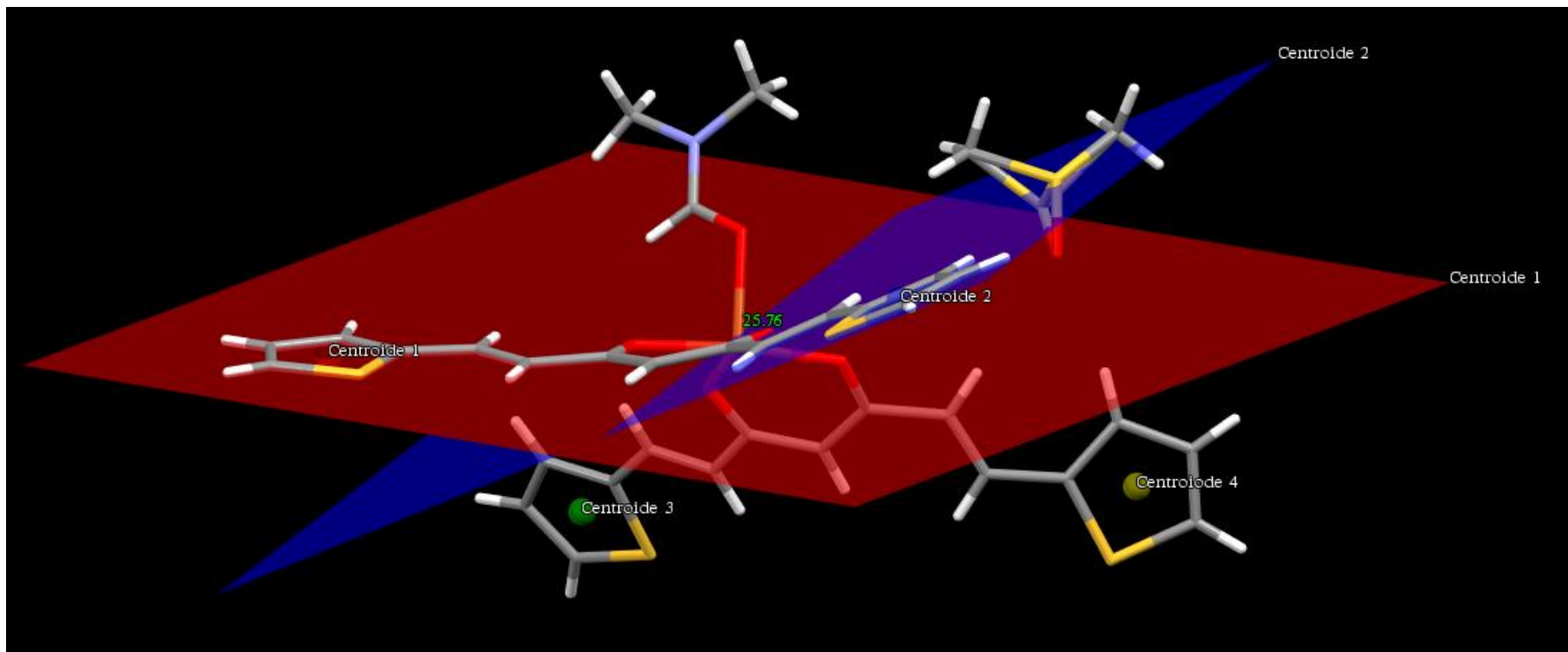


Figura A80.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

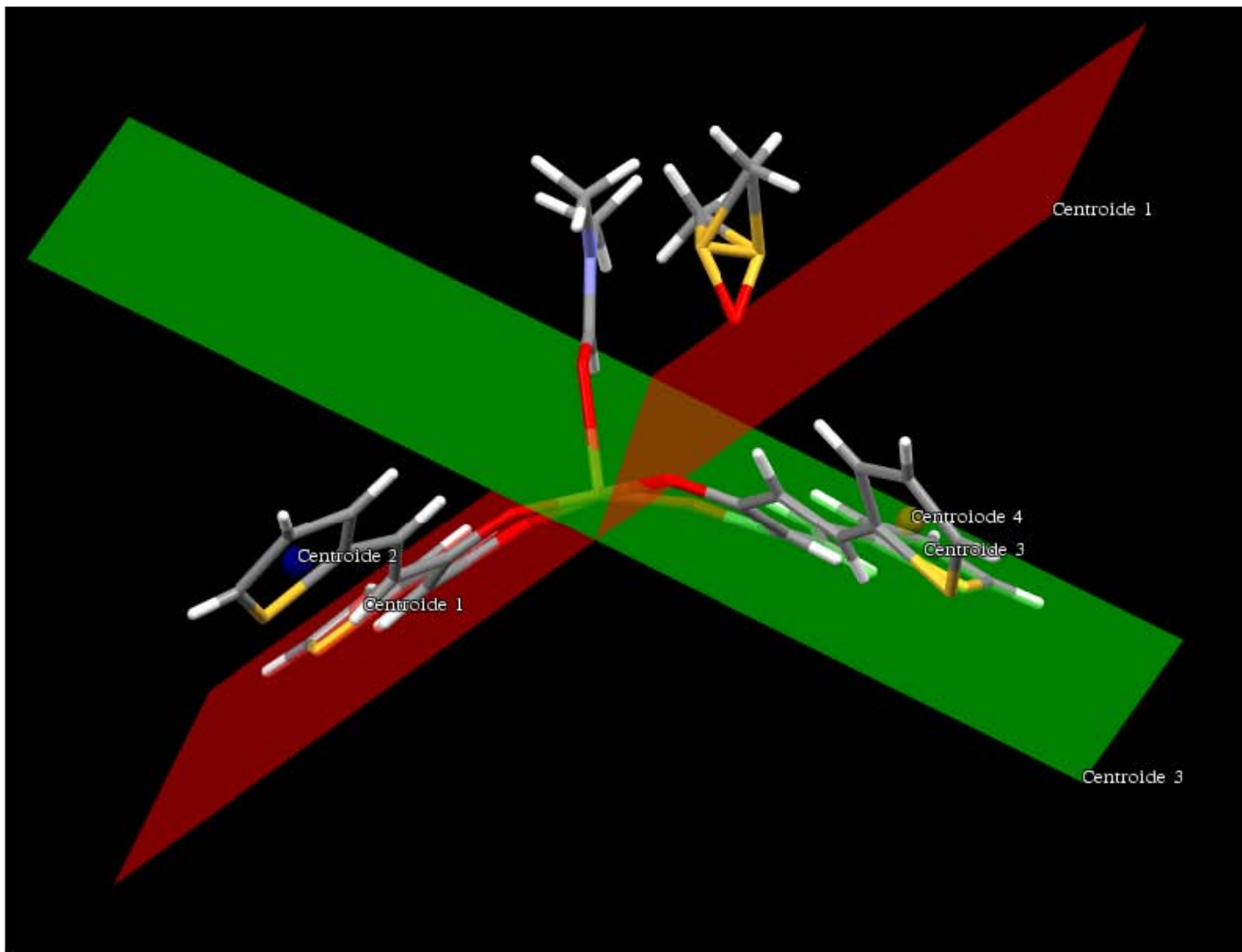


Figura A81.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

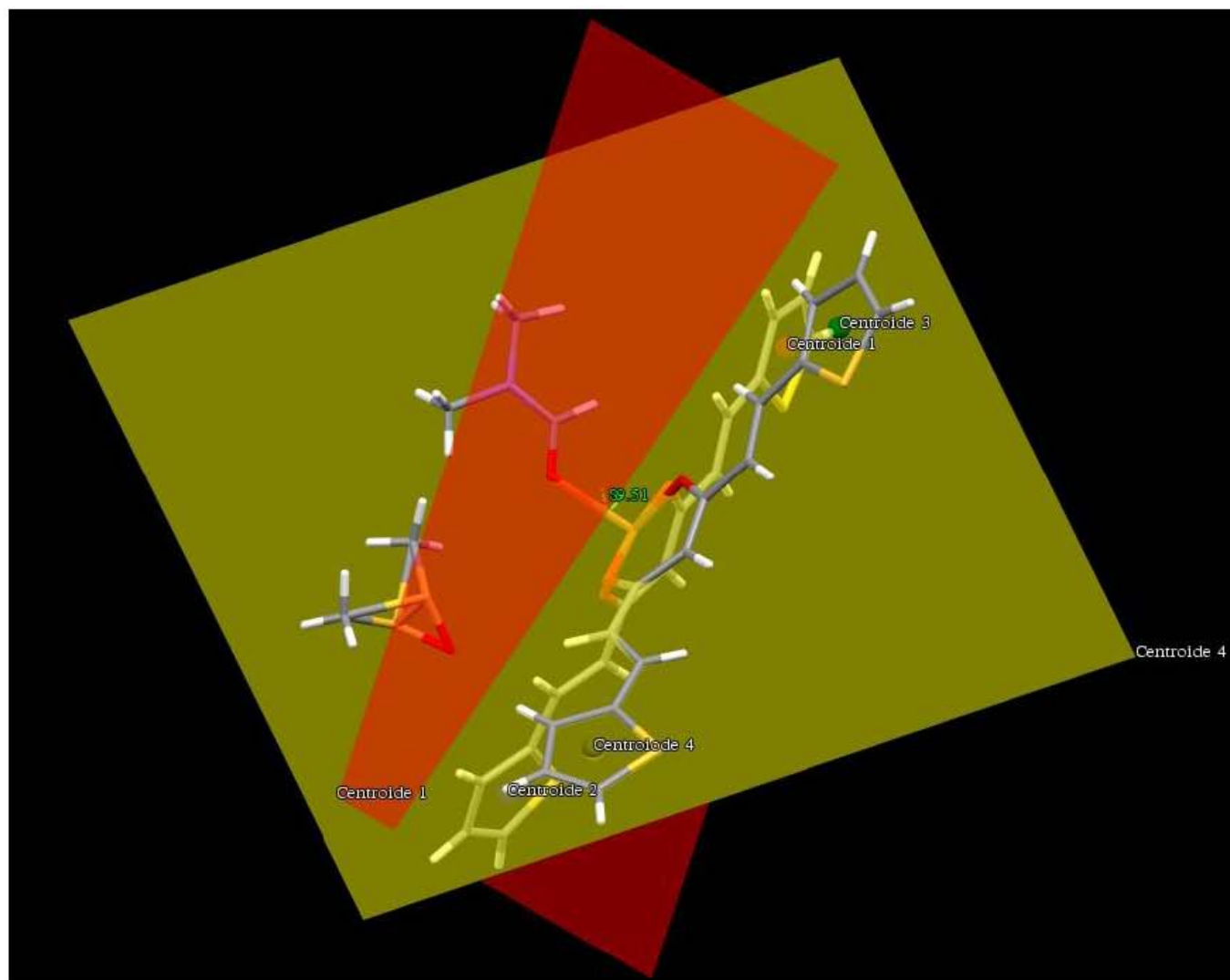


Figura A82.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

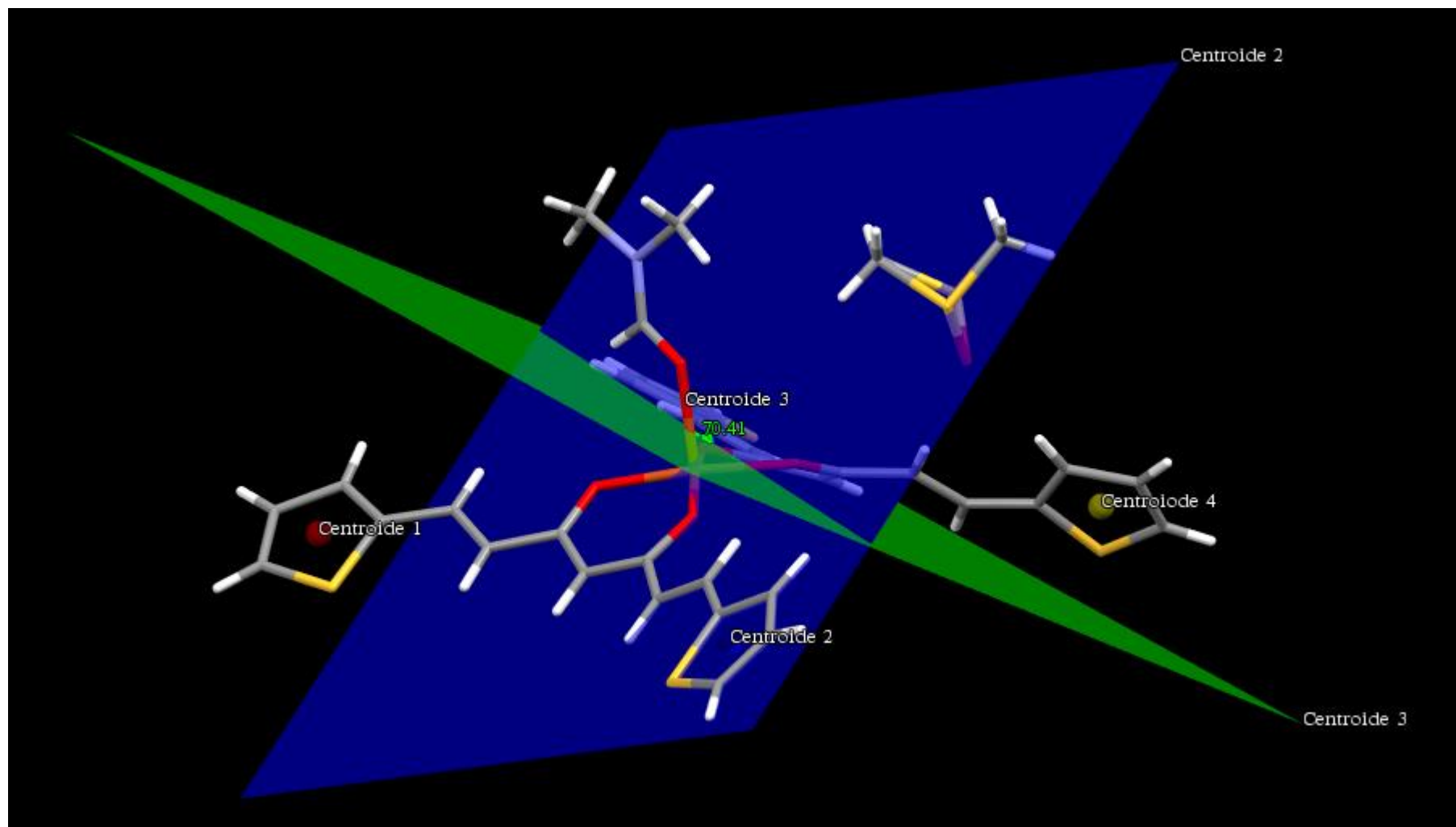


Figura A83.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

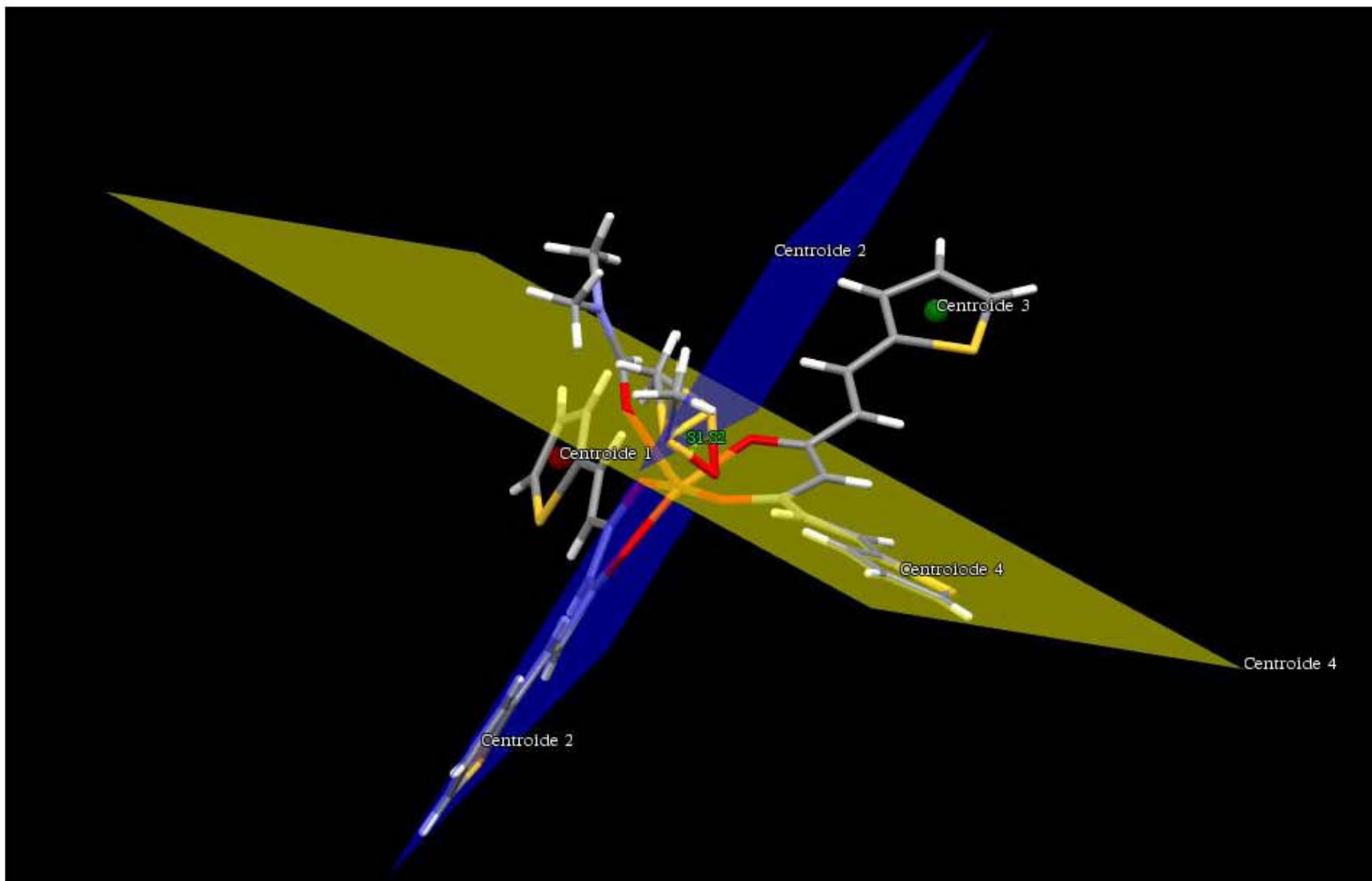


Figura A84.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

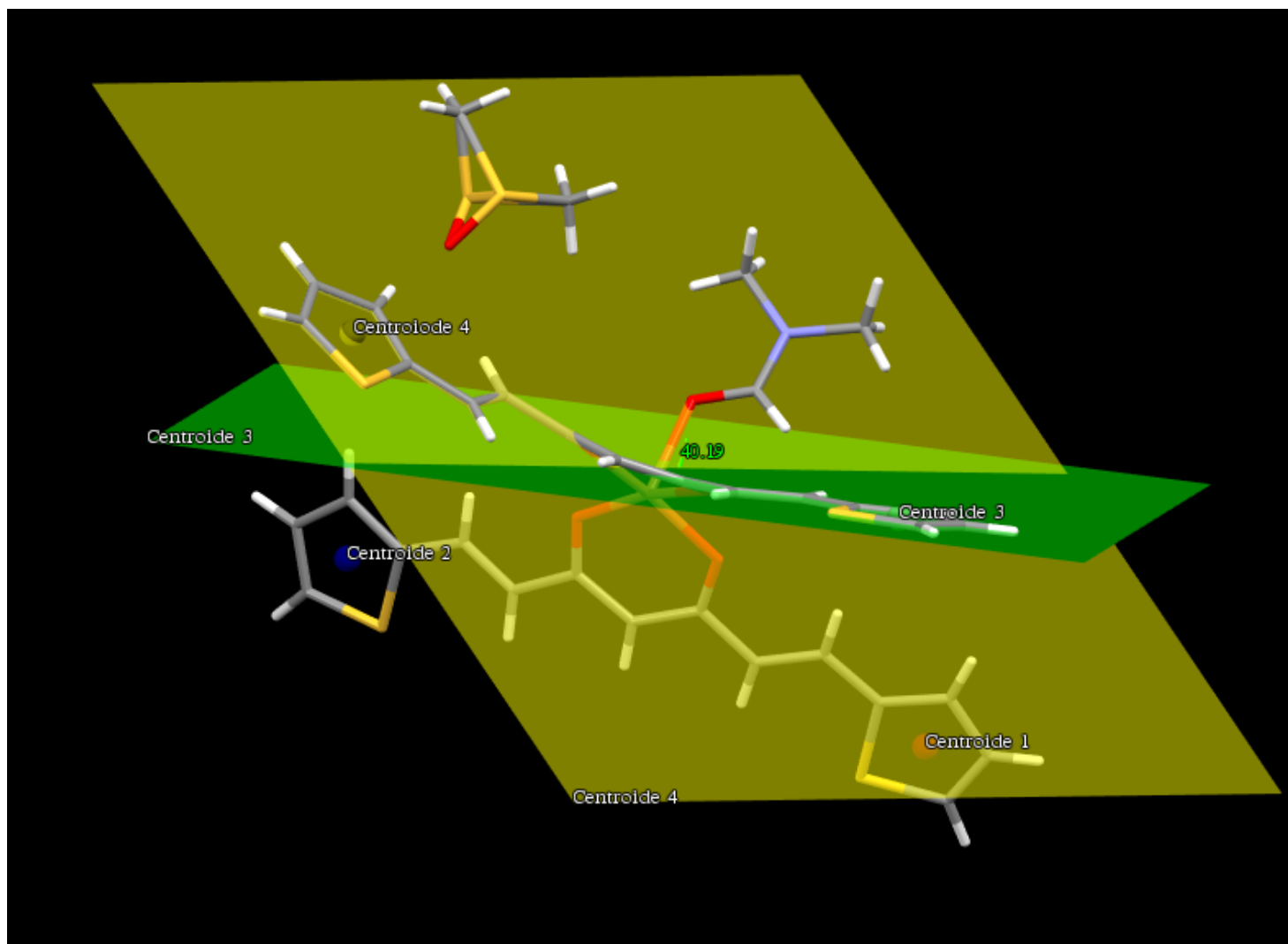


Figura A85.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

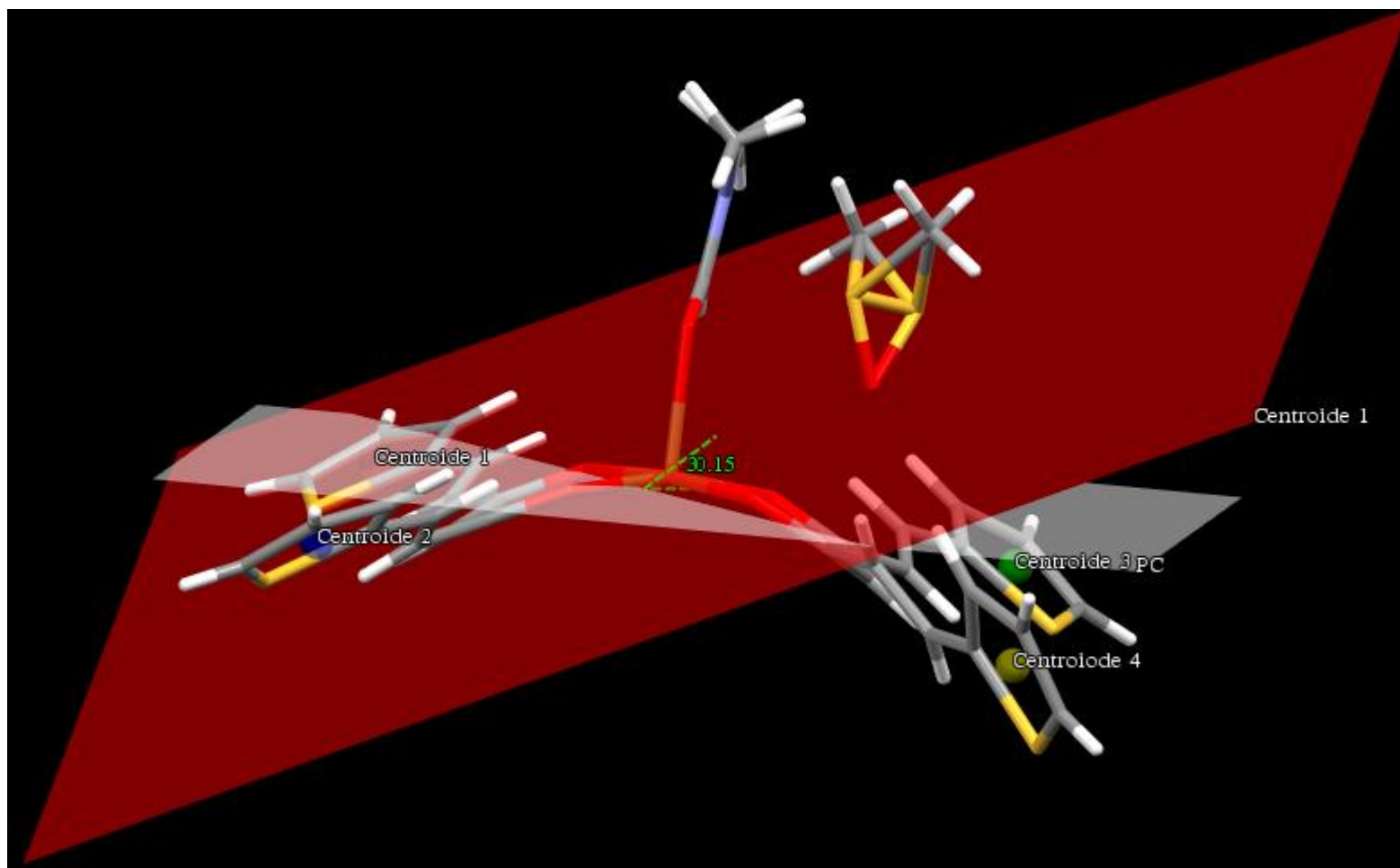


Figura A86.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

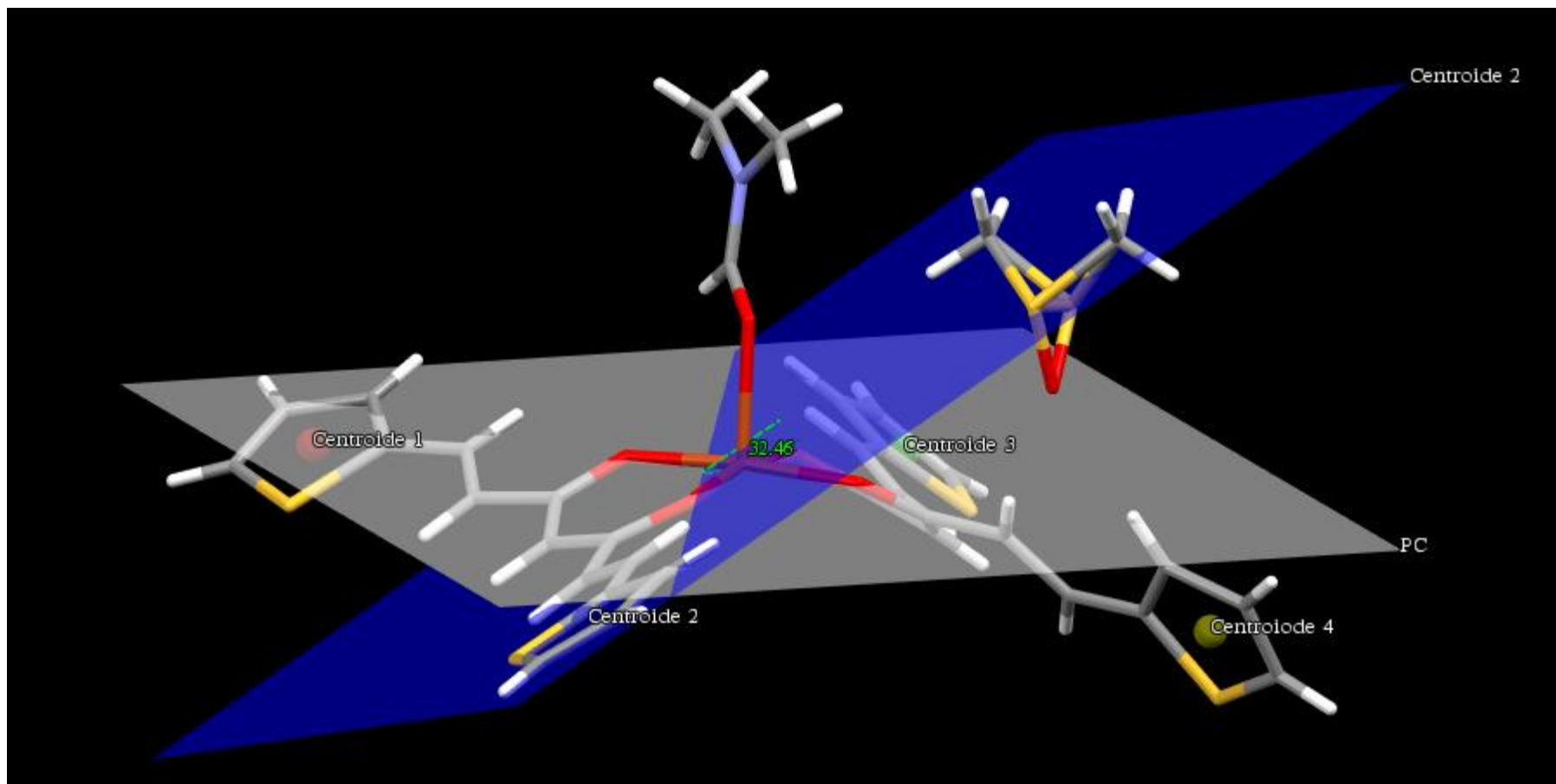


Figura A87.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

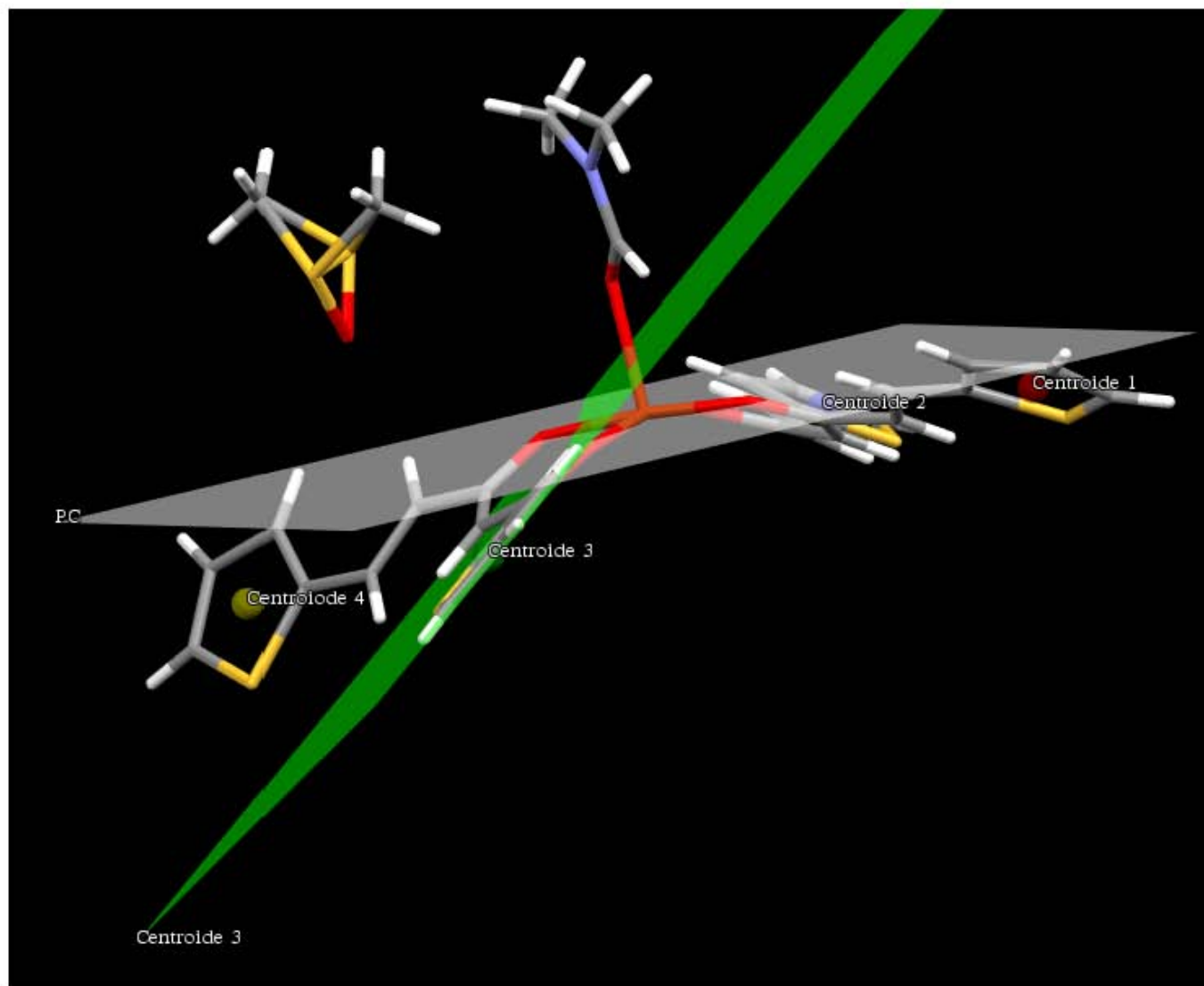


Figura A88.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

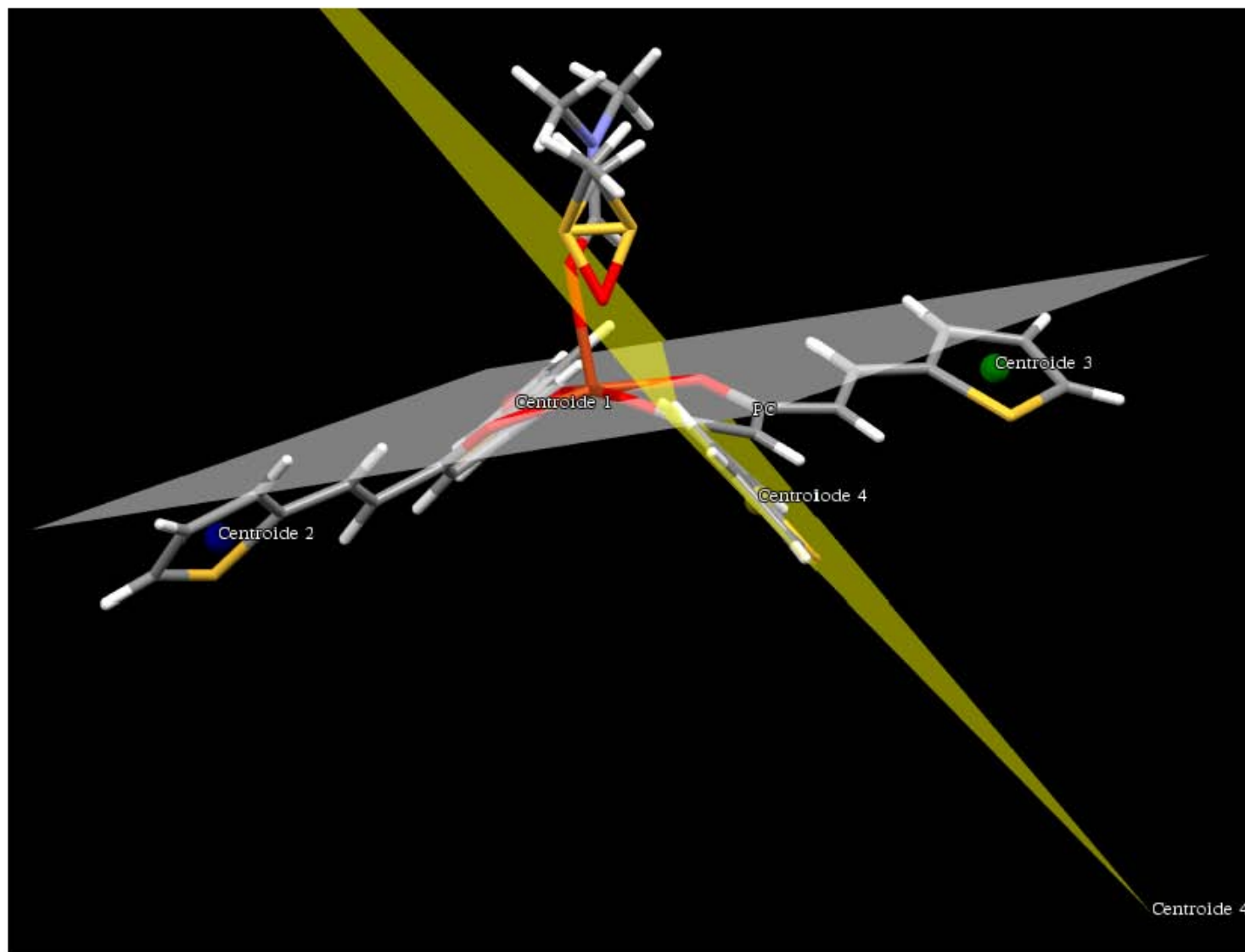


Figura A89.-Ángulos entre planos de complejo Tiofenocurcumina-Cu

A new family of homoleptic copper complexes of curcuminoids: Synthesis, characterization and biological properties

William Meza-Morales,¹ Juan C. Machado-Rodriguez,¹ Yair Alvarez-Ricardo,¹ Marco A. Obregón-Mendoza,¹ Antonio Nieto-Camacho,¹ Rubén. A. Toscano,¹ Manuel Soriano-García,¹ Julia Cassani,^{2*} and Raúl G. Enríquez ^{1*}

¹ Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Mexico City, C.P. 07340, México

² Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Mexico City, C.P. 04960, México

* Corresponding author. Tel.: +52 5554837255; e-mail: cassani@correo.xoc.uam.mx.

* Corresponding author. Tel.: +52 5556224404; fax: +52 5556224404; e-mail: enriquezhabib@gmail.com.

Academic Editor: Derek J. McPhee

Received: 20 February 2019; Accepted: 2 March 2019; Published: 5 March 2019

Abstract: We report herein the synthesis and crystal structures of five new homoleptic copper complexes of curcuminoids. The scarcity of reports of homoleptic complex structures of curcuminoids is attributed to the lack of crystallinity of such derivatives, and therefore, their characterization by single crystal X-ray diffraction is rare. The ligand design suppressing the phenolic interaction by esterification or etherification has afforded a significant increase in the number of known crystal structures of homoleptic metal complexes of curcuminoids with more favorable crystallinity. The crystal structures of the present six copper complexes reveal four-fold coordination with a square planar geometry. Two polymorphs were found for DiBncOC-Cu when crystallized from DMF. The characterization of these new complexes was carried out using IR, NMR, EPR, and SCXRD and the antioxidant and cytotoxic activity of the obtained complexes was evaluated.

Keywords: crystal structure, homoleptic copper complexes, curcuminoids, antioxidant activity.

1. Introduction

Curcumin (1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-diketone) is a metabolite of the Indian *Curcuma* species, generated by the rhizome of the perennial herb *Curcuma longa*, a member of the *gingiberacea* family widely cultivated in India and China [1]. Curcumin was isolated for the first time by Vogel and Pelletier more than two centuries ago, and Milobedzka and Lampe first proposed its chemical structure in 1910 [2, 3]. Furthermore, this posed the fundamental interest that curcumin awoke gradually and expanded to other compounds that retain similar molecular topology and are denominated curcuminoids. Curcumin and curcuminoids are chelating agents due to the β -diketone functionality, which allow them to form stable complexes with a series of metal ions [1]. In recent years, numerous studies have been performed to better understand the medicinal properties of curcumin, curcuminoids and their metal complexes, with purported antitumor, antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, antiviral, anti-Alzheimer and anti-cancer potential [1, 4-7]. Based on the wide medicinal applications reported in the literature for copper complexes, we tried to obtain copper complexes with several curcuminoids as ligands designed to promote homoleptic structures and to investigate their biological activities. However, there are very few known crystal structures of homoleptic metal complexes of curcumin and this has been

attributed to an inherent low crystallinity [1, 4]. In addition, they are often insoluble in water and in most common organic solvents [1]. Such property has precluded the use of single crystal X-ray diffraction as a characterization technique [1, 4, 8-10]. As a consequence, the studies of metal complexes of curcumin and related compounds are more focused on their biological properties [8-21] rather than in detailed structural characterizations [8-10].

In the present work, it was possible to use several curcuminoid as ligands for complexation with copper (II) *i.e.* acetylated curcumin (1,7-Bis (3-methoxy-4-acetoxy) -phenol-1,6-heptadiene-3,5-diketone, DAC) **1**, hydrogenated acetylated curcumin (1,7-Bis (3-methoxy-4-acetoxy) -phenol-heptane-3,5-diketone, DACH₄) **2**, methoxylated curcumin (1,7- Bis (3,4-dimethoxy) -phenol-1,6-heptadiene-3,5-diketone, DiMeOC) **3**, benzylated curcumin (1,7-Bis (3-methoxy-4-benzyl)-phenol-1,6-heptadiene-3,5-diketone) **4**, DiBncOC and bisdemethoxy-bisdehydroxy-curcumin (1,7-diphenylhepta-1,6-diene-3,5-dione, PhCurc) **5** (see figure 1) which proved to be suitable ligands for the formation of single crystals for X-rays studies. The characterization of all synthesized homoleptic complexes was carried out using IR, NMR and EPR in liquid state, magnetic moment, MS as well as the single crystal X-ray diffraction technique. After a full characterization was carried out, their cytotoxic and antioxidant activity was evaluated.

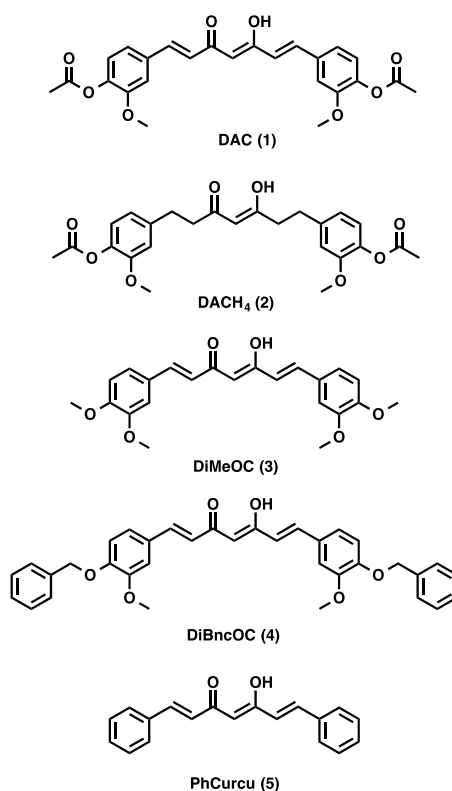


Figure 1. Ligands used for complexation with copper 1-5.

2. Results and discussion

2.1. IR spectra

The IR spectrum of DAC **1** shows two bands, one of high intensity at 1755 cm⁻¹ and another of very low intensity at 1795 cm⁻¹ due to the free carbonyl group of the β-diketone, indicating that the compound exists mainly in the enolic form. The low-intensity band in the range 1632-1610 is attributed to the intramolecular hydrogen bridge of the enol. The band at 966 cm⁻¹ corresponds to the trans -CH=C-double bond is also observed. The IR spectra of DAC-Cu **6** shows intense bands at 1514 cm⁻¹ and ~ 484 cm⁻¹ due to for the interaction metal β-diketone group from M-O vibrations, respectively. The IR spectrum of DACH₄ **2** shows two bands at 1757 cm⁻¹ (high intensity) and 1797

cm^{-1} (very low intensity) showing a small ratio of the free carbonyl group of the β -diketone, indicating that the compound exists mainly in its enolic form (see table 1) [13].

Three bands were observed in the range 2966–2841 cm^{-1} of low-intensity due C-H stretch. The $-\text{CH}=\text{C}-$ band at 965 cm^{-1} is was not observed. IR spectra of $\text{DACH}_4\text{-Cu}$ (7) showed strong bands for the interaction of the metal with the β -diketone group at 1508 cm^{-1} and an additional band at ~ 467 cm^{-1} due to M-O vibrations. The IR spectrum of DiMeOC 3 shows the presence of two bands, one of high intensity at 1620 cm^{-1} and another with very low intensity at 1663 cm^{-1} due to the free carbonyl group of the β -diketone, revealing that the compound exists in enolic form. The *trans* $-\text{CH}=\text{C}-$ band appears at 964 cm^{-1} . IR spectra of DiMeOC-Cu 8 shown strong bands for the interaction of the metal with the β -diketone group at 1506 cm^{-1} and an additional band at ~ 463 cm^{-1} due to M-O vibrations. The IR spectrum of DiBcOC 4 shows the presence of two bands, one of high intensity at 1625 cm^{-1} and the other of very low intensity at 1730 cm^{-1} , due to the free carbonyl group of the β -diketone. Five bands are observed in the range 849–694 cm^{-1} due C-H bending. The *trans* $-\text{CH}=\text{C}-$ band appears at 970 cm^{-1} . IR spectra of DiBcOC-Cu 9 showed strong bands for the interaction of the metal with the β -diketone group at 1501 cm^{-1} and an additional band at ~ 465 cm^{-1} due to M-O vibrations. The IR spectrum of PhCurcu 5 shows the presence of two bands, one of high intensity at 1619 cm^{-1} and the other of very low intensity at 1670 cm^{-1} , due to the free carbonyl group of the β -diketone. The *trans* $-\text{CH}=\text{C}-$ band appears at 968 cm^{-1} . IR spectra of PhCurcu-Cu 10 shows strong bands from the interaction of the metal with the β -diketone group at 1511 cm^{-1} and an additional band at ~ 420 cm^{-1} due to M-O vibrations (see table 1) [13].

Table 1. IR spectra data of compounds 1–10.

Compounds	Keto-enol (cm^{-1})	$-\text{CH}=\text{C}-$ (cm^{-1})	C-H stretch (cm^{-1})	C-H bending (cm^{-1})	vibrations M-O (cm^{-1})
DAC	1755 and 1795	966	-	-	-
DACH_4	1757 and 1797	-	2966 - 2841	-	-
DiMeOC	1620 and 1663	964	-	-	-
DiBcOC	1625 and 1730	970	-	849 - 694	-
PhCurcu	1619 and 1670	968	-	-	-
DAC-Cu	-	-	-	-	1514 and 484
$\text{DACH}_4\text{-Cu}$	-	-	-	-	1508 and 467
DiMeOC-Cu	-	-	-	-	1506 and 463
DiBcOC-Cu	-	-	-	-	1501 and 465

PhCurcu-Cu - - - - 1511 and 420

2.2. NMR spectra

The ^1H NMR spectrum of ligand DAC **1** shows one singlet for the OH proton at 16.12 ppm (strong intramolecular hydrogen bond) and one singlet for the methine proton at ~6.20 ppm (vinylic proton). Protons α to the diketone appear at 6.99 ppm and protons β to the diketone at 7.66 ppm, with a *trans* coupling constant of 15.9 Hz. Methoxyl and acetyl protons appear as singlets at 3.85 ppm and 2.28 ppm respectively. The ^1H NMR spectrum of DACH₄ (ligand **2**) shows keto-enol equilibrium with *ca.* 1:1 ratio. The enol tautomer shows one singlet for the OH proton at 15.53 ppm and one singlet for the methine proton at 5.78 ppm; both protons are involved in a strong intramolecular hydrogen bridge. Keto tautomer shows one singlet for the methylene proton at 3.74 ppm. Protons α to the diketone group appear at 2.77 and 2.65 ppm while protons β appear at 2.85 ppm. Methoxyl and acetyl protons appear as singlets at 3.74 ppm and 2.23 ppm respectively. The ^1H NMR spectrum of DiMeOC (ligand **3**) shows one singlet for the OH proton at 16.27 ppm and one singlet for the methine proton at 5.80 ppm; both protons are involved in a strong intramolecular hydrogen bond (enol tautomer). Protons α to the diketone appear at 6.47 ppm and protons β to the diketone at 7.58 ppm, with a *trans* coupling constant of *ca.* 15.8 Hz. Methoxyl protons are singlets at 3.91 ppm and 3.89 ppm. The ^1H NMR spectrum of DiBncOC (ligand **4**) shows one singlet for the OH proton at 16.30 ppm and one singlet for the methine proton at 6.11 ppm. Unsaturated protons α to the diketone group appear at 6.84 ppm and the corresponding β protons at 7.59 ppm, with *trans* coupling constant of 15.78 Hz. Methoxyl protons are singlets at 3.84 ppm. Benzyl protons are singlets at 5.14 ppm. The ^1H NMR spectrum of PhCurcu (ligand **5**) shows one singlet for the OH proton at 16.11 ppm and one singlet for the methine proton at 6.21 ppm). Protons α to the diketone function appear at 6.96 ppm and protons β at 7.67 ppm, with a *trans* coupling constant of 15.97 Hz. The ^1H NMR spectra of complexes **6-10** lack signals for the enol proton at *ca.* 16 ppm, due to paramagnetic effects (see table 2).

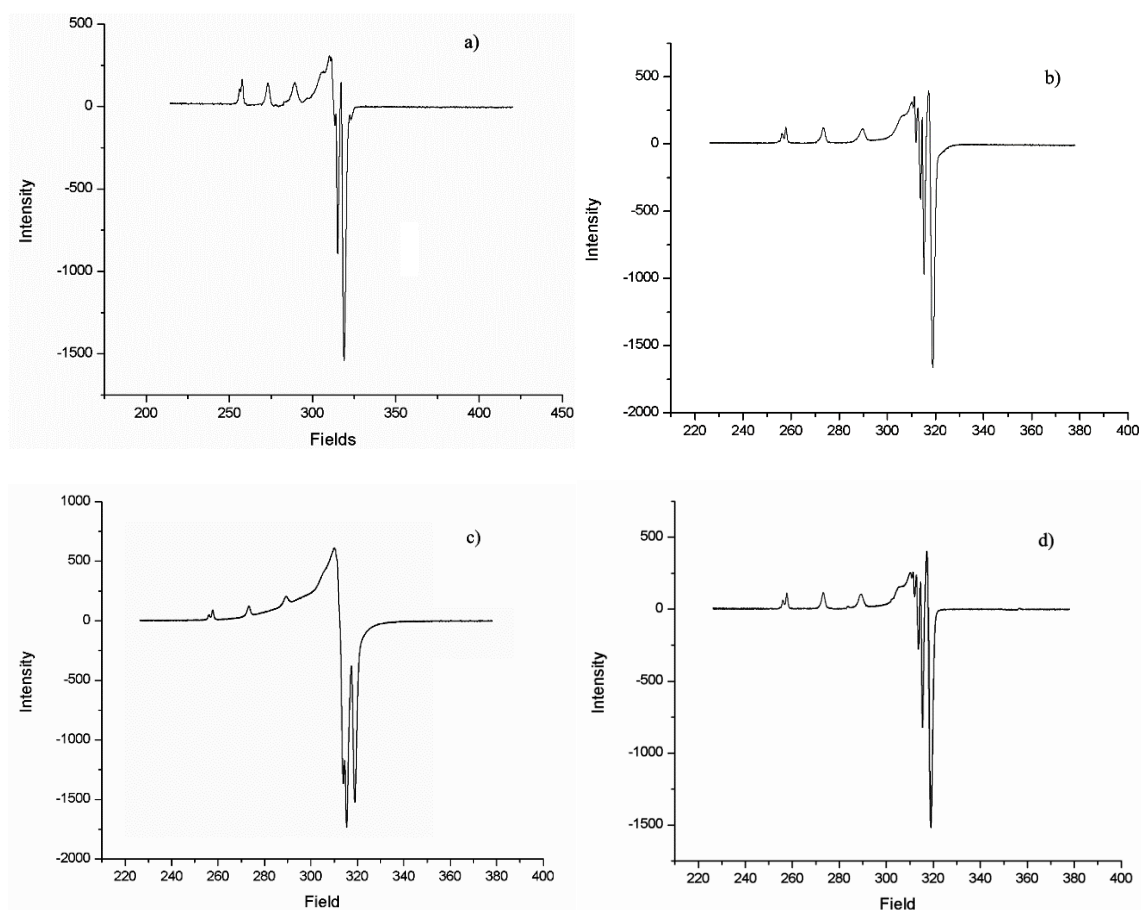
Table 2. ^1H NMR Chemical shifts (δ) of compounds 1-10.

Compounds	OH (δ)	Methine (δ)	α to the diketone (δ)	β to the diketone (δ)	Methoxyl (δ)	Acetyl (δ)	Benzyl (δ)	Aromatic (δ)
DAC	16.12	6.20	6.99	7.66	3.85	2.28	-	7.16 – 7.52
DACH ₄	15.53	5.78	2.77	2.85	3.74	2.23	-	5.78 – 7.00
DiMeOC	16.27	5.80	6.47	7.58	3.91 – 3.89	-	-	6.85 – 7.05
DiBcOC	16.30	6.11	6.48	7.59	3.84	-	5.14	7.34 – 7.59
PhCurcu	16.11	6.21	6.96	7.67	-	-	-	7.73
DAC-Cu	-	-	-	-	-	2.27	3.85	-
DACH ₄ -Cu	-	-	-	-	-	4.01	-	-
DiMeOC-Cu	-	-	-	-	-	4.01	-	-
DiBcOC-Cu	-	-	-	-	-	3.86	-	-

Compounds	OH (δ)	Methine (δ)	α to the diketone (δ)	β to the diketone (δ)	Methoxyl (δ)	Acetyl (δ)	Benzyl (δ)	Aromatic (δ)
PhCurcu-Cu	-	-	6.91	7.66	-	-	-	-

2.3. EPR spectra

The EPR spectra of ligands show diamagnetic spectra, while the EPR spectra of copper complexes of ligands 6-10 show a typical four lines pattern (see figure 2). The g_{\parallel} , g_{\perp} , A_{\parallel} and A_{\perp} values were obtained directly from the EPR spectra. The g_{\parallel} and g_{\perp} values of complexes 6-10 were *ca.* 2.29 and 2.06, resulting from unpaired electrons in the $d_{x^2-y^2}$ molecular orbital [13]. The values of g_{\parallel} greater than 2.3, suggest a ionic environment for the complexes. The A_{\parallel} values *ca.* $160 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ are consistent with a typical monomeric distorted square planar geometry. The quotient $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ provides an index of departure from the tetrahedral structure. The quotient values that fall in the range $105\text{-}135 \text{ cm}^{-1}$ suggest a regular square planar structure, although the observed values ($141\text{-}146 \text{ cm}^{-1}$) are indicative of a strong distortion from planarity (see table 3) [13, 22-24]. The magnetic moment values for Cu(II) complexes suggest that they are paramagnetic with μ_{effect} values of *ca.* 2.0 B.M with one unpaired electron (see table 3).



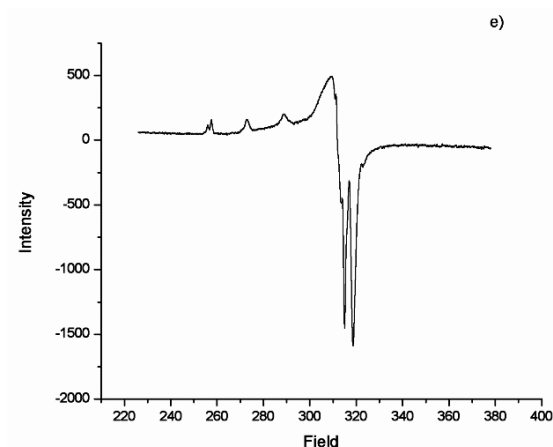


Figure 2. Spectra EPR of 6 (a), 7 (b), 8 (c) 9 (d), and 10 (e).

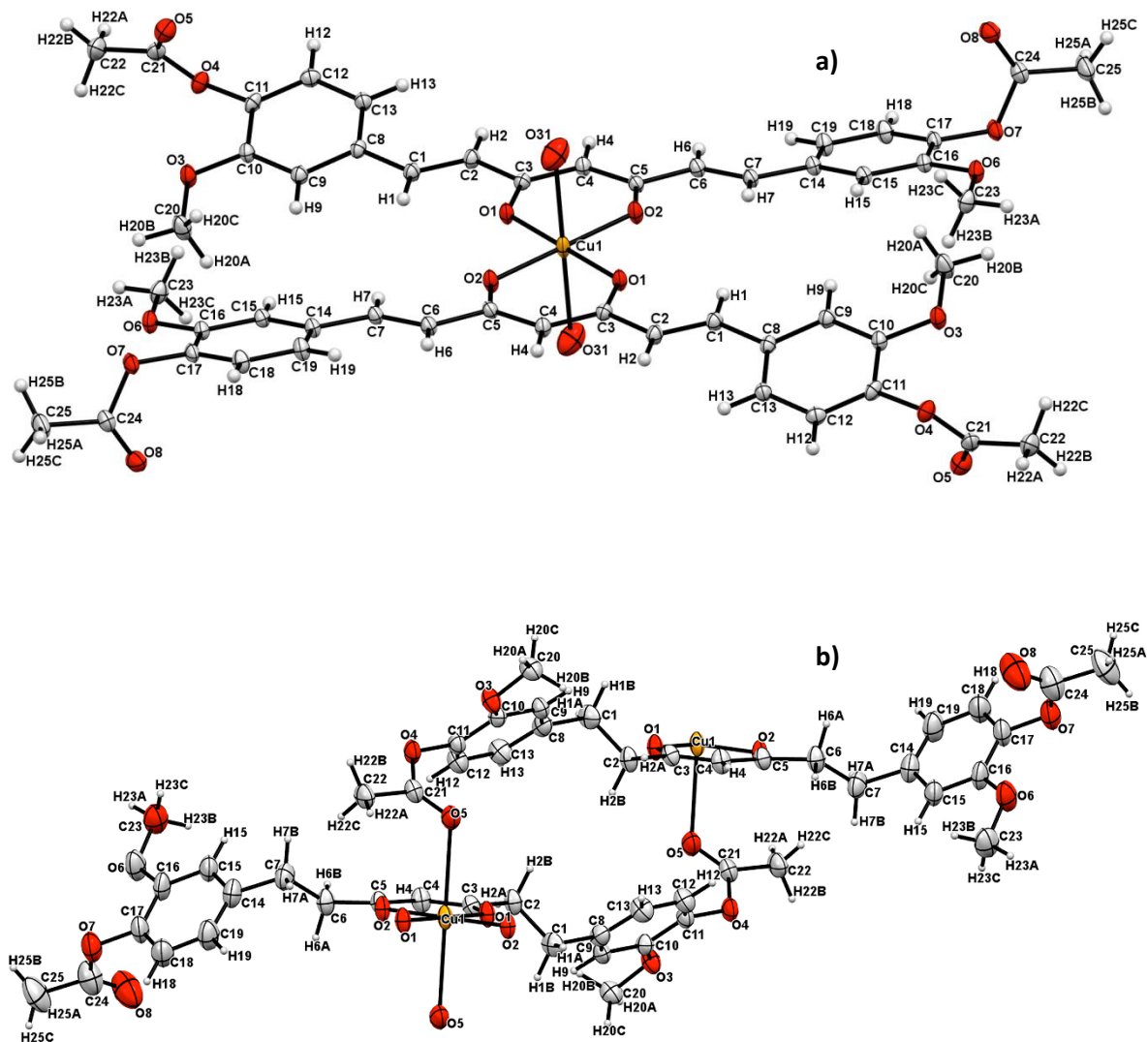
Table 3. EPR spectra data of copper complexes 6-10.

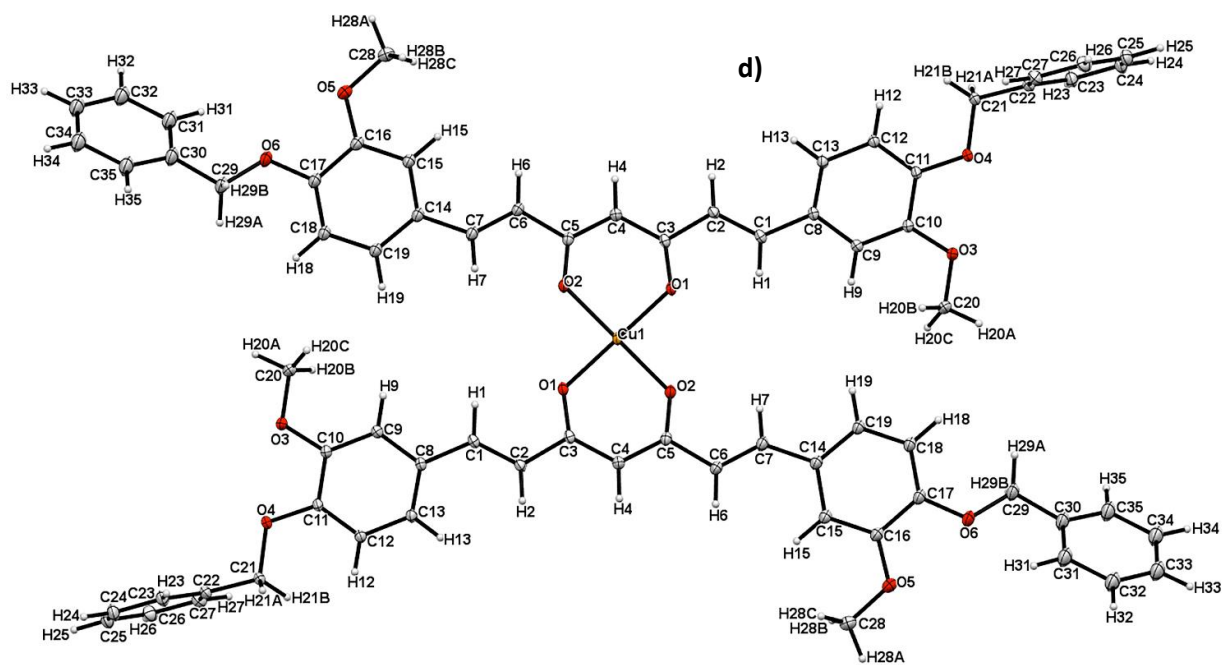
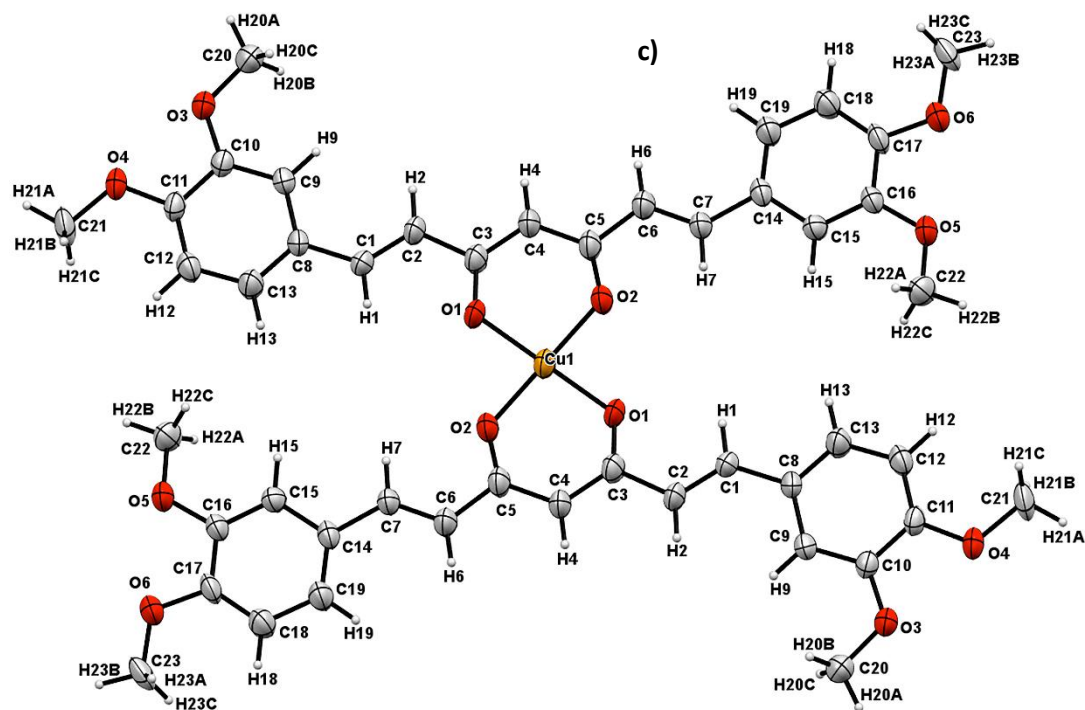
Complexes	g_{\parallel}	g_{\perp}	A_{\parallel} (10^{-4} cm^{-1})	A_{\perp} (10^{-4} cm^{-1})	$g_{\parallel}/A_{\parallel}$ (cm^{-1})	μ_{effec}
DAC-Cu	2.29	2.06	162.3	11.3	141.1	1.69
DACH ₄ -Cu	2.29	2.06	161.8	10.5	141.5	2.01
DiMeOC-Cu	2.30	2.07	160.8	9.5	143.0	1.99
DiBcOC-Cu	2.30	2.06	159.9	12.4	143.8	2.00
PhCurcu-Cu	2.30	2.07	157.3	18.11	146.3	2.09

Parallel g-value= g_{\parallel} , perpendicular g-value= g_{\perp} , parallel A-value= A_{\parallel} , perpendicular A-value= A_{\perp}

2.4. Single crystal X-ray diffraction

A rigorous analysis of the crystal structure determinations of the five complexes **6**, **7**, **8**, **9a** and **10** and the triclinic polymorph **9b** (see figure 3), reveals a four-fold coordination around copper atom with a square planar geometry (see supplementary material, table S1), which is confirmed by the characteristics of the EPR spectra. However, if we take into consideration the "close contacts" (26.8 and 33.9% longer than the average Cu-O distances) compound, **6** and **7** can be described as 4+1 (tetragonal pyramid) and 4+2 (octahedron) respectively. In all compounds, the transition metal resides in a special position, except for the triclinic polymorph **9b** where the copper atom resides in a general position. The curcuminoid ligands adopt a fully extended and almost planar conformation (see supplementary material, table S2). It is noteworthy that these structural variations place the methyl substituents on phenols, face to face towards the inner part of the molecule in complexes **6** and **9b**; all pointing outside in complex **6** and two pointing towards the inner and two pointing towards the outside in complexes **8** and **9a**, revealing high conformational degrees of freedom around the (1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenol) moiety and giving an approximately overall symmetry C_{2v} for complexes **6**, **7**, **9b** and **10**, while for complexes **8** and **9a** the C_i symmetry gives the best description.





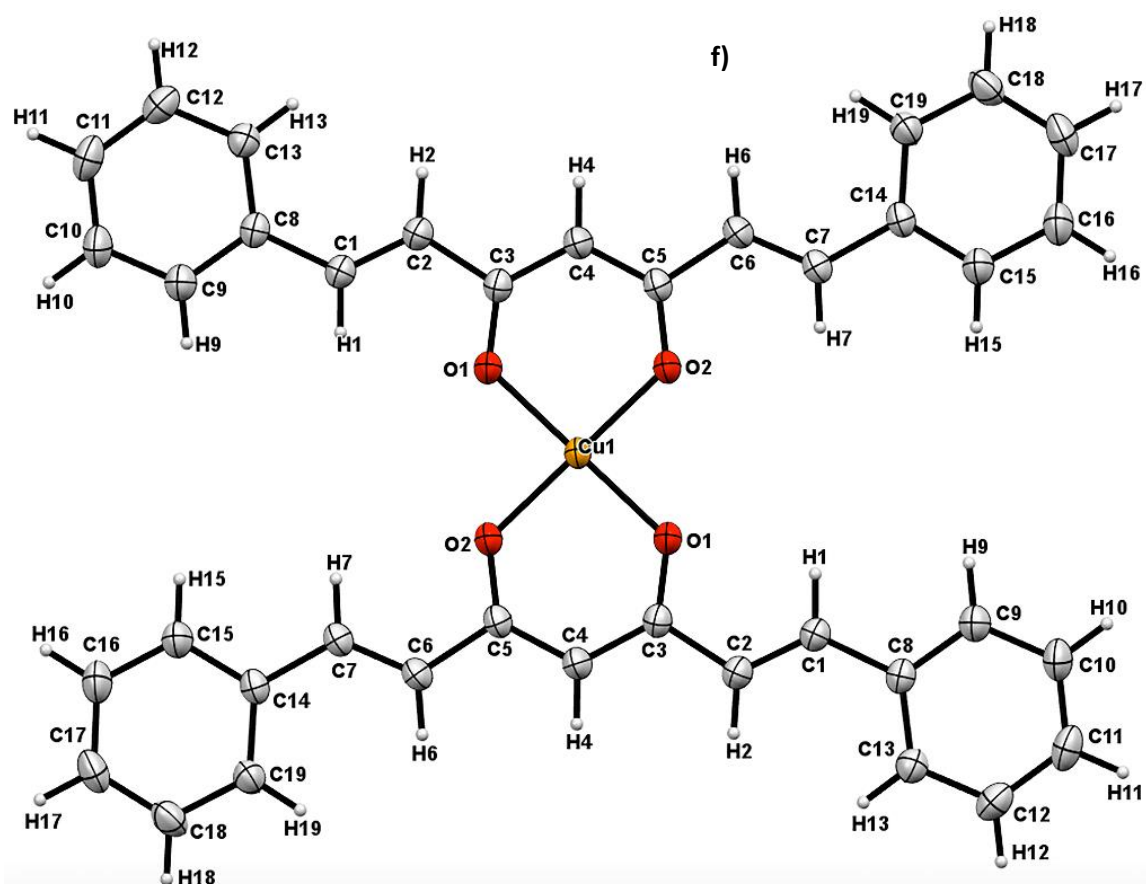
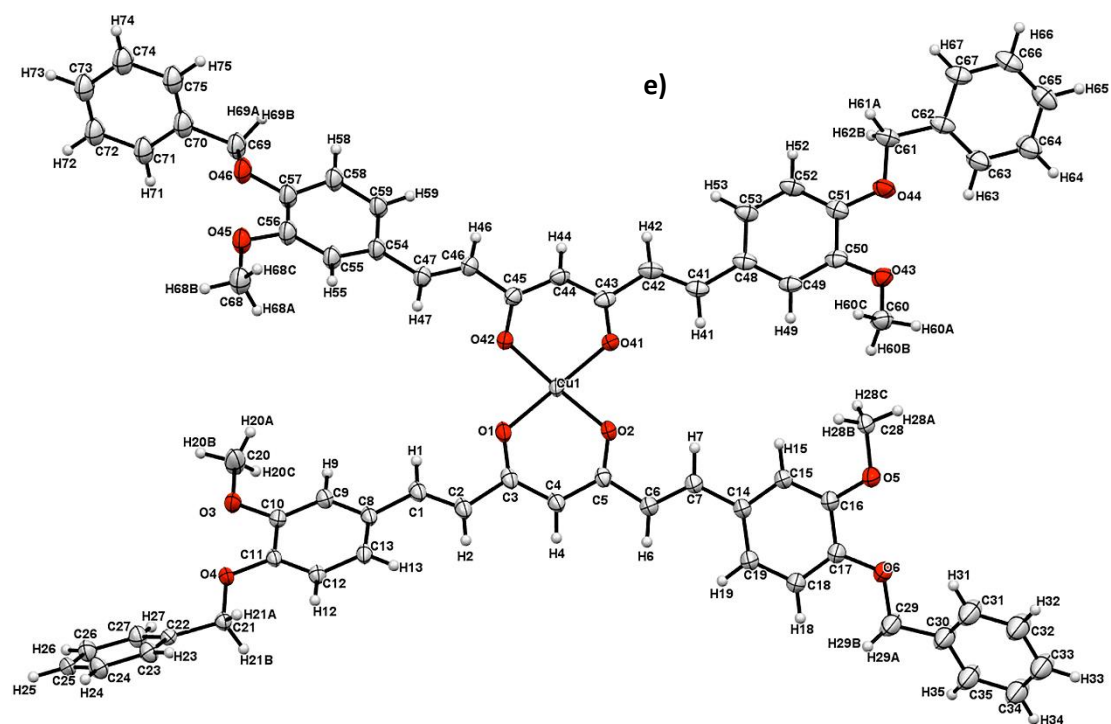


Figure 3. Crystal structures for **6**, **7**, **8**, **9a**, **9b** and **10** are shown in figure 3 (a), (b), (c), (d), (e) and (f) with displacement ellipsoids at 30% probability level.

2.5. Inhibition of lipoperoxidation (LP) in rat brain homogenate

DAC proved to be the only ligand possessing antioxidant potential comparable to curcumin. The vinyl groups are essential for the antioxidant activity of the curcumin and curcuminoids, as it can be appreciated by the significant decrease in TBARS inhibitory percentage when going from DAC to DACH₄ (see Table 4). In this case, when ether groups replace the phenolic groups of curcumin, a significant decrease in the antioxidant potential is observed. Three copper complexes **6-8** showed increased antioxidant activity on the lipoperoxidation in rat brain homogenate model [25, 26]. Only copper complex **9** showed a decrease in antioxidant effect respect to its ligand (see table 4). The metal complexes **7** and **8** showed high antioxidant activity on the lipoperoxidation of rat brain homogenate model with values similar α -tocopherol (see table 5).

LP is a process initiated and mediated by reactive oxygen species (ROS), hydroxyl (HO[•]), peroxy (ROO[•]), alkoxy (RO[•]) and hydroperoxy (HOO[•]) radicals and it is known that the hydroxyl radical is an important initiator in lipid peroxidation, while peroxy and alkoxy radicals are intermediates in the propagation phase of lipid peroxidation [27]. The results shown in table 5 suggest that the compounds exert moderate to good inhibition of ROS. The data show that Inhibitory Concentration-50 (IC₅₀) of the free ligands DACH₄ and DiMeOC are *ca.* half as large (less active) than those observed for DACH₄-Cu and DiMeOC-Cu (see table 5), indicating that the copper complexation leads to higher activity in reducing lipid peroxidation.

Table 4. Lipoperoxidation Screening of ligands and their copper complexes 1-10.

Products	Concentration (uM)	D. O. 540 nm	nmol/mg prot.	Inhibition (%)
Basal	-	0.004	0.169	-
FeSO ₄	-	0.851	11.379	-
Curcu	10	0.000	0.116	98.67
	100	0.000	0.116	98.67
DAC	10	0.030	0.516	94.66
	100	0.012	0.275	97.16
DAC-Cu	10	0.022	0.410	95.75
	100	0.018	0.348	96.40
DACH ₄	10	0.313	4.257	55.95
	100	0.015	0.308	96.81
DACH ₄ -Cu	10	0.020	0.377	96.16
	100	0.024	0.427	95.65

DiMeOC	10	0.733	9.808	1.47
	100	0.169	2.355	75.63
DiMeOC-Cu	10	0.321	4.360	55.61
	100	0.225	3.086	68.57
DiBncOC	10	0.785	10.496	7.76
	100	0.612	8.217	27.79
DiBncOC-Cu	10	0.795	10.628	6.60
	100	0.769	10.287	9.59
PhCurcu	10	0.712	9.530	8.22
	100	0.208	2.865	72.41
PhCurcu-Cu	10	0.474	6.388	38.48
	100	0.217	2.990	71.20

Table 5. Inhibition of lipid peroxidation IC₅₀ of compounds DAC, DACH, DiMeOC, DAC-Cu, DACH₄-Cu and DiMeOC-Cu.

Products	Concentration (μ M)	TBARS (nmol/mg prot.)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (μ M)
Basal	-	0.24 \pm 0.09	-	-
FeSO ₄ 100 μ M	-	9.15 \pm 0.32	-	-
α -Tocopherol (n=4)	0.1	6.28 \pm 0.18	4.62 \pm 0.57	6.78 \pm 2.16
	0.32	6.04 \pm 0.24	8.26 \pm 1.31	
	1	5.21 \pm 0.33*	21.13 \pm 2.56*	
	3.16	3.67 \pm 0.56**	44.84 \pm 6.74**	
	10	2.72 \pm 0.33**	59.00 \pm 3.71**	
	31.62	1.84 \pm 0.31**	72.3 \pm 3.87**	

	100	1.40±0.36**	79.09±4.79**	
	0.1	9.68±0.43	4.16±1.97	
	0.32	9.29±0.67	8.32±1.49	
DAC	1	7.78±0.53*	23.19±0.92*	3.21±0.16
	3.16	5.22±0.35**	48.46±1.53**	
	10	1.43±0.08**	85.82±0.60**	
	0.1	9.08±0.66	10.34±1.48	
	0.32	8.04±0.70	20.78±2.44	
DAC-Cu	1	6.24±0.71**	38.70±3.82**	1.55±0.15
	3.16	3.08±0.21**	69.57±1.56**	
	10	1.32±0.48**	86.58±5.21**	
	1.78	8.32±0.31	9.05±1.03	
	3.16	7.85±0.41*	14.28±1.59*	
	5.62	7.25±0.36**	20.86±1.48**	
DACH ₄	10	6.32±0.18**	30.84±0.57**	16.46±0.30
	17.78	4.45±0.22**	51.41±0.92**	
	31.62	0.36±0.06**	96.02±0.57**	
	56.23	0.14±0.01**	98.39±0.18**	
	1.78	7.32±0.30**	19.93±2.01**	
	3.16	6.67±0.34**	27.14±1.30**	
	5.62	5.89±0.33**	35.74±1.88**	
DACH ₄ -Cu	10	3.28±0.37**	64.27±2.74**	7.93±0.41
	17.78	0.28±0.05**	96.90±0.63**	
	31.62	0.20±0.02**	97.73±0.29**	
	56.23	0.14±0.007**	98.39±0.03**	
	17.78	5.51±0.13**	38.66±3.26**	23.01±1.37
DiMeOC	31.62	3.40±0.007**	62.16±1.18**	

	56.23	2.67±0.06**	70.33±0.63**	
	100	2.27±0.09**	74.75±0.92**	
	177.83	2.08±0.10**	76.91±0.88**	
	1	8.58±0.28	4.55±4.35	
	3.16	7.42±0.20**	17.51±2.63**	
	10	4.28±0.06**	52.41±1.20**	
DiMeOC-Cu	31.62	3.10±0.12**	65.56±1.49**	9.35±0.34
	100	2.89±0.16**	67.90±1.17**	
	316.23	2.80±0.23**	68.97±1.99**	

Data presented as mean ± SEM of three replicates. * $P \leq 0.05$ and ** $P \leq 0.05$ compared to FeSO_4 .

2.6. Cytotoxic activity

DiMeOC is the only ligand possessing higher cytotoxicity [28] than curcumin, a noteworthy fact since the phenolic groups are blocked. A significant decrease in cytotoxic activity occurs when going from DAC to DACH_4 , indicating the importance of conjugated double bonds in the heptanoid fragment of curcumin or curcuminoids. In general, a significant decrease in the cytotoxic activity of the copper complexes **6-10** with respect to their free ligands is observed. Interestingly compounds **6-10** did not show significant cytotoxic effect against the cell lines tested. Although there are several reports of cytotoxic or antitumor activity of copper complexes with curcumin, this effect appears to be related to the presence of free phenolic groups (see table 6) [11, 17, 29].

Table 6. Cytotoxic Screening of ligands and their copper complexes **1 - 10**.

Products (25 μM)	% of Inhibition					
	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
DAC	46.2	77.54	67.8	46.88	41.74	41.74
DAC-Cu	8.6	13.19	19.7	4.16	NC	NC
DACH_4	22.8	26.08	39.4	31.12	7.16	7.16
DACH_4 -Cu	NC	31.5	15.4	3.9	3.0	11.30
DiMeOC	92.6	100	89.4	96.95	100	100
DiMeOC-Cu	31.4	100	75.8	74.5	48.4	48.02
DiBncOC	3.0	10.7	10.9	NC	1.7	6.4
DiBncOC-Cu	6.6	4.1	NC	NC	NC	7.5

PhCurcu	47.5	31.2	54.7	25,0	48.7	53.0
PhCurcu-Cu	3.5	NC	4.2	NC	NC	NC

3. Materials and Methods

All chemicals were available commercially, and the solvents purified by conventional methods prior to use [30]. Curcumin was obtained from natural source by usual extractive procedures and purified by crystallization.

3.1. Physical Measurements

Melting points were determined on an Electrothermal Engineering IA9100X1 melting point apparatus and are uncorrected.

3.2. Spectroscopic determinations

IR absorption spectra were recorded in the range of 4000–230 cm^{-1} as KBr pellets on a BRUKER Tensor 27 spectrophotometer. ^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded in dimethyl sulfoxide ($\text{DMSO}-d_6$) on a Bruker Fourier 300 MHz and Varian Unity Inova 500 MHz spectrometer using TMS as internal reference. The EPR spectra were recorded in DMF at liquid nitrogen temperature (77 K) on an Electron Paramagnetic Resonance Spectrometer JEOL, JES-TE300, ITC Cryogenic System, Oxford. Magnetic moments were determined using a Johnson-Matthey magnetic susceptibility balance type msb model mk II 13094-3002, with the Gouy method at room temperature. Mass spectra were recorded in a JEOL, SX 102 A spectrometer on Bruker Microflex equipped with MALDI-Flight time. Single-crystal X-ray diffractions (SCXRD) were obtained in a Bruker diffractometer, model Smart Apex, equipped with Mo radiation ($\lambda = 0.71073\text{\AA}$), CCD two-dimensional detector and low-temperature device. Data collection and data reduction were performed by APEX and SAINT-Plus programs [31]. These structures were solved by direct methods using SHELX-2013 software and refined by Full-matrix least-squares procedure on F2 using SHELX-2008 program [32].

3.3. Inhibition of lipid peroxidation on rat brain

3.3.1. Animals.

Adult male Wistar rats (200–250g) were provided by Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Procedures and care of animals were conducted in conformity with the Mexican Official Norm for Animal Care and Handling NOM-062-ZOO-1999. They were maintained at $23 \pm 2^\circ\text{C}$ on a 12/12 h light-dark cycle with *ad libitum* access to food and water.

3.3.2. Rat Brain Homogenate Preparation.

Animal sacrifice was carried out avoiding unnecessary pain. Rats were sacrificed with CO_2 . The cerebral tissue (whole brain), was rapidly dissected and homogenized in phosphate-buffered saline (PBS) solution (0.2 g of KCl, 0.2 g of KH_2PO_4 , 8 g of NaCl, and 2.16 g of $\text{NaHPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/L}$, pH adjusted to 7.4) as described elsewhere [33, 34] to produce a 1/10 (w/v) homogenate. The homogenate was centrifuged at 800 rcf (relative centrifugal field) for 10 min. The supernatant protein content was measured using Folin and Ciocalteu's phenol reagent [35] and adjusted with PBS at 2.666 mg of protein/mL.

3.3.3. Induction of lipid peroxidation and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) quantification.

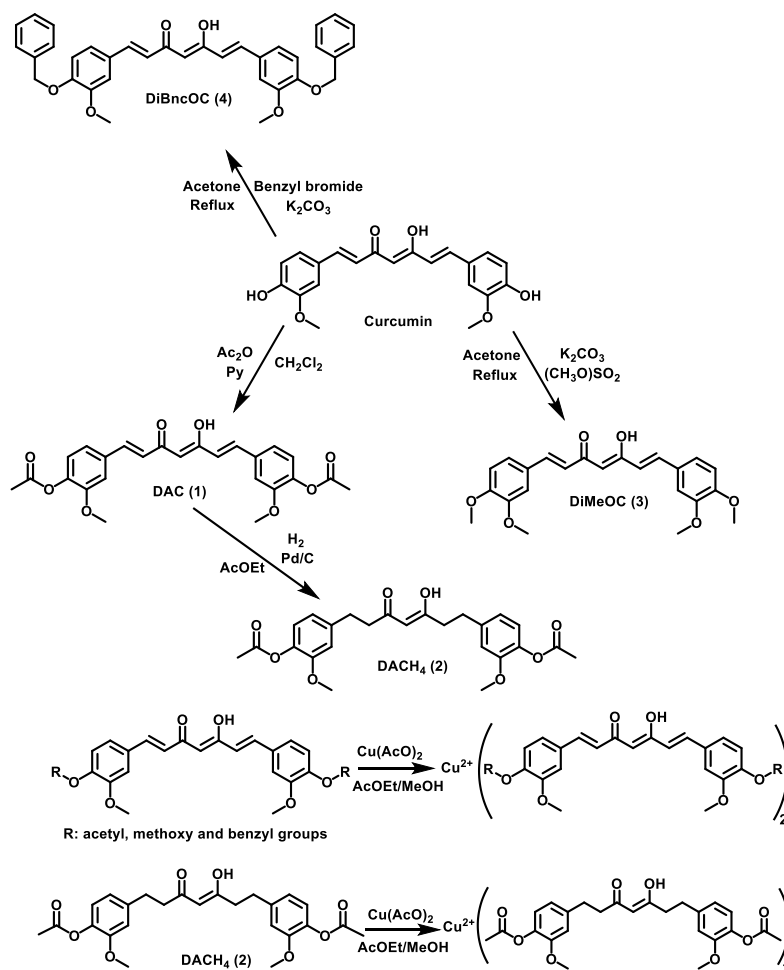
As an index of lipid peroxidation, TBARS levels were measured using rat brain homogenates according to the method described by Ng and co-workers [36], with some modifications. Supernatant (375 μ L) was added with 50 μ L of 20 μ M EDTA and 25 μ L of each sample concentration dissolved in DMSO (25 μ L of DMSO for the control group) and incubated at 37 $^{\circ}$ C for 30 min. Lipid peroxidation was started adding 50 μ L of freshly prepared 100 μ M FeSO₄ solution (final concentration 10 μ M) and incubated at 37 $^{\circ}$ C for 1h. TBARS measurements were obtained as described by Ohkawa and co-workers [37], with some modifications. 500 μ L of TBA reagent (0.5% 2-thiobarbituric acid in 0.05 N NaOH and 30% trichloroacetic acid, in 1:1 ratio) was added to each tube and the final suspension cooled on ice for 10 min, centrifuged at 13,400 rcf for 5 min and heated at 80 $^{\circ}$ C in a water bath for 30 min. After cooling at room temperature, the absorbance of 200 μ L of supernatant was measured at λ =540 nm in a Microplate Reader Synergy/HT BIOTEK Instrument, Inc., Winooski, VT, USA. The concentration of TBARS was calculated by interpolation on a standard curve of tetra-methoxypropane (TMP) as a precursor of MDA [37]. Results are expressed as n moles of TBARS per mg of protein. The inhibition ratio (IR [%]) was calculated using the formula $IR = (C - E) \times 100 / C$, where C is the control absorbance, and E is the sample absorbance. Butylated hydroxytoluene (BHT) and α -tocopherol were used as positive standards. All data are presented as mean \pm standard error (SEM). Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's test for comparison against control. Values of $p \leq 0.05$ (*) and $p \leq 0.01$ (**) were considered statistically significant.

3.4. Citotoxic activity in human tumor cells

Citotoxicity of all compounds was tested against six cancer cell lines: U251 (human glioblastoma cell line), PC-3 (human caucasian prostate adenocarcinoma), K562 (human caucasian chronic myelogenous leukaemia), HCT-15 (human colon adenocarcinoma), MCF-7 (human mammary adenocarcinoma) and SKLU-1 (human lung adenocarcinoma). Cell lines were supplied U.S. National Cancer Institute (NCI). The cell lines were cultured in RPMI-1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum, 2 mL -glutamine, 10,000 units/mL penicillin G sodium, 10,000 μ g/mL streptomycin sulfate, 25 μ g/mL amphotericin B (Invitrogen/Gibco™, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), and 1% non-essential amino acids (Gibco). They were maintained at 37 $^{\circ}$ C in a humidified atmosphere with 5% CO₂. The viability of the cells used in the experiments exceeded 95% as determined with trypan blue. The human tumor cytotoxicity was determined using the protein-binding dye sulforhodamine B (SRB) in microculture assay to measure cell growth, as described in the protocols established by the NCI [38-40].

3.5. Synthesis of compounds

General synthetic procedure for DAC **1**, DACH₄ **2**, DiMeOC **3**, DiBncOC **4**, DAC-Cu **6**, DACH₄-Cu **7**, DiMeOC-Cu **8** and DiBncOC-Cu **9** is shown in scheme 1.



Scheme 1. Synthetic route of curcuminoids and their complexes.

Compound 1. 4 g of curcumin in 70 mL of dichloromethane (CH_2Cl_2) were reacted with 2.6 mL of pyridine (Py) and 1.6 mL of acetic anhydride (Ac_2O) at room temperature for approximately 3 hours. Follow up was done by TLC. Removal of solvent from the reaction was done under reduced pressure, and the product was extracted three times with ethyl acetate (AcOEt)-water (H_2O) in a 3:7 proportion of until pyridine was eliminated from the organic phase. The product recrystallized in AcOEt (1) with 70.1% yield. ^1H NMR (600 MHz $\text{DMSO}-d_6$): δ 2.28 (s, 6H), 3.85 (s, 6H), 6.20 (s, 1H), 6.99 (d, 2H_{vinyl}, J 15.9 Hz), 7.16 (d, 2H_{aryl}, J 8.1 Hz), 7.33 (dd, 2H_{aryl}, J 8.2; 1.9 Hz), 7.52 (d, 2H_{aryl}, J 2 Hz), 7.66 (d, 2H_{vinyl}, J 15.9 Hz), 16.1 (br s, 1H), ppm, ^{13}C NMR (^{13}C { ^1H } 150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 20.17 (C-H), 55.72 (C-H), 101.62 (C-H), 111.93 (C_{aryl}), 121.27 (C_{aryl}), 123.23 (C_{aryl}), 124.58 (C_{vinyl}), 133.59 (C_{aryl}), 139.77 (C_{vinyl}), 140.93 (C_{aryl}), 151.11 (C_{aryl}), 168.30 (C=O), 183.10 (C=O) ppm, IR 1755 cm^{-1} , 1596 cm^{-1} , 1506 cm^{-1} , 1295 cm^{-1} , 1154 cm^{-1} , 619 cm^{-1} , MS: M^+ 453.15; yellow crystals, m.p. 170.5 °C.

Compound 2. 3.8 g of DAC dissolved in 60 mL of AcOEt was reacted in hydrogen atmosphere with 380 mg of Pd/C-10%. The reaction mixture was stirred at room temperature until disappearance of the starting material was complete followed by TLC. The completion of reaction was achieved after 4 hours and the reaction was filtered-off through celite; the solvent removed *in vacuo*. The product was purified by SiO_2 column chromatography eluting with a 7:3 hexane- AcOEt solvent mixture and the product was dried under high vacuum (2), 80.4 % yield. ^1H NMR (500 MHz $\text{DMSO}-d_6$): δ 2.23 (s, 12H), 2.65 (t, 4H_{aliph}, J 7.86 Hz), 2.78 (m, 4H_{aliph}), 2.85 (t, 8H_{aliph}, J 7.02 Hz), 3.92 (d, 14H), 5.78 (s, 1H), 6.76 (dd, 2H_{aryl}, J 8.09; 1.83 Hz), 6.79 (dd, 2H_{aryl}, J 8.09; 1.83 Hz), 6.93 (s, 1H_{aryl}), 6.95 (d, 2H_{aryl}, J 2.44 Hz), 6.96 (m, 3H_{vinyl}, Hz), 7.00 (d, 2H_{aryl}, J 1.83 Hz), 15.51 (br s, 1H), ppm. ^{13}C NMR (^{13}C { ^1H } 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 20.17 (C-H), 29.03 (C_{aliph}), 31.02 (C_{aliph}), 39.44 (C_{aliph}), 39.50 (C_{aliph}), 44.72 (C_{aliph}), 56.19 (C-

H), 56.65 (C_{aliph}), 100.11 (C-H), 113.25 (C_{aryl}), 113.32 (C_{aryl}), 120.49 (C_{aryl}), 120.54 (C_{aryl}), 122.90 (C_{aryl}), 122.94 (C_{aryl}), 137.91 (C_{vinyl}), 138.03 (C_{aryl}), 140.05 (C_{vinyl}), 140.35 (C_{aryl}), 151.02 (C_{aryl}), 169.07 (C=O), 193.57 (C=O), 204.87 (C=O) ppm, IR 2974 cm⁻¹, 2939 cm⁻¹, 2841 cm⁻¹, 1795 cm⁻¹, 1757 cm⁻¹, 1597 cm⁻¹, 1510 cm⁻¹, 1271 cm⁻¹, 1188 cm⁻¹, 599 cm⁻¹, 526 cm⁻¹, 469 cm⁻¹, MS: M⁺ 455.85; white solid, m.p. 68.3 °C.

Compound 3. 4 g of curcumin in 120 mL of anhydrous acetone were reacted with 0.75 g of potassium carbonate (K₂CO₃) and 1.2 mL of dimethyl sulfate (SO₂(OCH₃)₂) and refluxed with stirring for 48 hours until disappearance of the starting material. The solvent was removed under reduced pressure and the product was extracted with a 3:7 mixture of ethyl acetate AcOEt-water (H₂O) and NaOH 10% until SO₂(OCH₃)₂ was removed from the organic phase. The product was purified by SiO₂ column chromatography eluting with a 5:4.5:0.5 mixture of hexane-CH₂Cl₂-MeOH and the product was dried under high vacuum (3), 63.2 % yield. The product was recrystallized in MeOH, 65.4 % yield. ¹H NMR (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 3.89 (s, 6H), 3.91 (s, 6H), 5.80 (s, 1H), 6.47 (d, 2H_{vinyl}, J 15.76 Hz), 6.85 (d, 2H_{aryl}, J 8.34 Hz), 7.11 (dd, 2H_{aryl}, J 8.33; 2.00 Hz), 7.05 (d, 2H_{aryl}, J 2.02 Hz), 7.58 (d, 2H_{vinyl}, J 15.80 Hz), 16.27 (br s, 1H), ppm. ¹³C NMR (¹³C {¹H} 125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 60.74 (C-H), 106.16 (C-H), 115.64 (C_{aryl}), 116.84 (C_{aryl}), 127.20 (C_{aryl}), 128.07 (C_{aryl}), 132.73 (C_{vinyl}), 145.57 (C_{aryl}), 154.19 (C_{aryl}), 156.14 (C_{aryl}), 188.37 (C=O) ppm, IR 3005 cm⁻¹, 2926 cm⁻¹, 2831 cm⁻¹, 1624 cm⁻¹, 1583 cm⁻¹, 1504 cm⁻¹, 1134 cm⁻¹, 802 cm⁻¹, 607 cm⁻¹, 559 cm⁻¹, 544 cm⁻¹, 469 cm⁻¹, MS: M⁺ 396.77; orange crystals, m.p. 133.5 °C.

Compound 4. 4 g of curcumin in 120 mL of anhydrous acetone were reacted with 0.75 g of K₂CO₃ and 2.6 mL of benzyl bromide (BnBr) at reflux for approximately 30 hours until the disappearance of the starting material by TLC. The reaction solvent was removed under reduce pressure. The product was purified by SiO₂ column chromatography eluting with a 7:3 hexane-AcOEt solvent mixture. The product was crystallized in AcOEt, 58.7 % yield. ¹H NMR (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 3.84 (s, 6H), 5.14 (s, 4H), 6.11 (s, H), 6.84 (d, 2H_{vinyl}, J 15.79 Hz), 7.09 (d, 2H_{aryl}, J 8.47 Hz), 7.25 (dd, 2H_{vinyl}, J 8.37; 2.00 Hz), 7.34 (t, 2H_{aryl}, J 7.22 Hz), 7.38 (d, 2H_{aryl}, J 1.94 Hz), 7.40 (t, 4H_{aryl}, J 7.36 Hz), 7.45 (dd, 4H_{aryl}, J 7.49; 2.19 Hz), 7.59 (d, 2H_{aryl}, J 15.76 Hz), 16.30 (br s, 1H). ¹³C NMR (¹³C {¹H} 125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 55.65 (C-H), 69.83 (C-H), 101.06 (C-H), 110.80 (C_{aryl}), 113.24 (C_{aryl}), 122.18 (C_{aryl}), 122.70 (C_{aryl}), 127.81 (C_{vinyl}), 128.40 (C_{aryl}), 136.71 (C_{vinyl}), 140.33 (C_{aryl}), 149.30 (C_{aryl}), 149.91 (C_{aryl}), 183.17 (C=O) ppm, IR 3061 cm⁻¹, 2922 cm⁻¹, 2856 cm⁻¹, 1726 cm⁻¹, 1628 cm⁻¹, 1585 cm⁻¹, 1510 cm⁻¹, 1126 cm⁻¹, 970 cm⁻¹, 739 cm⁻¹, 696 cm⁻¹, 486 cm⁻¹, 459 cm⁻¹, MS: M⁺ 548.96; yellow crystals, m.p. 159.1 °C.

Compound 5. PhCurcu was prepared in accordance with a previously reported synthetic method [41], 56.7% yield. ¹H NMR (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 6.21 (s, 1H), 6.96 (d, 2H_{vinyl}, J 15.97 Hz), 7.45 (m, 6H), 7.67 (d, 2H_{vinyl}, J 15.92 Hz), 7.73 (dd, 4H_{aryl}, J 7.67; 1.69 Hz), 16.11 (br s, 1H) ppm, yellow crystals, m.p. 140.5 °C.

Compound 6. 1mmol of DAC was dissolved in 30 mL of a 7:3 mixture of ethyl acetate-methanol. Then a solution of copper acetate in MeOH and H₂O (0.5 mmol) was added dropwise. After 2h of stirring at room temperature, a brown powder was formed, which was filtered and crystallized with DMSO, 86.9% yield. ¹H NMR (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 2.27 (s, 6H), 3.85 (s, 6H), 6.26 (br s, 1H), 6.81 (br s, 4H), 7.16 (br s, 1H), 7.34 (br s, 2H), 7.52 (br s, 1H), 7.66 (br s, 1H) ppm, IR 2975 cm⁻¹, 2941 cm⁻¹, 1752 cm⁻¹, 1592 cm⁻¹, 1514 cm⁻¹, 1412 cm⁻¹, 1299 cm⁻¹, 1156 cm⁻¹, 604 cm⁻¹, 484 cm⁻¹, brown powder, m.p. 242.5 °C.

Compound 7. 1mmol of DACH₄ was dissolved in 25 mL of a 7:3 mixture of ethyl acetate-methanol and 0.5 mmol of a MeOH/H₂O solution of copper acetate was added slowly. After stirring at room temperature for 2h of, a blue powder was formed, which was filtered and crystallized in DMF/CH₃CN, 86 % yield. ¹H NMR (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 4.01 (br s, 6H), 6.40 (br s, 2H), 7.05 (br s, 2H) ppm, IR 3020 cm⁻¹, 2960 cm⁻¹, 2926 cm⁻¹, 2870 cm⁻¹, 1759 cm⁻¹, 1734 cm⁻¹, 1574 cm⁻¹, 1508 cm⁻¹, 1196 cm⁻¹, 1032 cm⁻¹, 550 cm⁻¹, 515 cm⁻¹, 469 cm⁻¹, MS: M⁺ 973.27; blue powder, m.p. 165.8 °C.

Compound 8. 1mmol of DiMeOC was dissolved in 30 mL of a 7:3 mixture of ethyl acetate-methanol and 0.5 mmol of a MeOH/H₂O solution of copper acetate was added dropwise. After stirring for 2h at room temperature, a dark brown powder was formed, which was filtered and crystallized in DMSO, 93.2 % yield. ¹H NMR (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 4.01 (br s, 6), 6.93 (br s, 5H) ppm, IR 2995 cm⁻¹, 2966 cm⁻¹, 2931 cm⁻¹, 2843 cm⁻¹, 1630 cm⁻¹, 1580 cm⁻¹, 1500 cm⁻¹, 1421 cm⁻¹, 1132 cm⁻¹, 1014 cm⁻¹, 968 cm⁻¹, 469 cm⁻¹, MS: M⁺ 856.258; dark brown powder, m.p. 258.4 °C.

Compound 9. 1mmol of DiBncOC was dissolved in a mixture of 50 ml tetrahydrofuran (THF), later a solution of copper acetate in MeOH and H₂O (0.5 mmol) was added slowly. After stirring at room temperature for 2h, a brown powder was formed, which was filtered off and recrystallized from DMF, 85.7 % yield. ¹H NMR (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 3.86 (br s, 6H), 5.01 (br s, 5H), 6.84 (br s, 6H), 7.35 (br s, 13H) ppm, IR 3030 cm⁻¹, 3001 cm⁻¹, 2936 cm⁻¹, 1622 cm⁻¹, 1502 cm⁻¹, 1132 cm⁻¹, 696 cm⁻¹, 498 cm⁻¹, 469 cm⁻¹, MS: M⁺ 1159.476; brown powder, m.p. 182.5 °C.

Compound 10. 1mmol of PhCurcu was dissolved in 30 mL of a 7:3 ethyl acetate-methanol mixture and 0.5 mmol of copper acetate in a MeO/H₂O solution was added slowly. After stirring for 2h of at room temperature, a brown powder was formed and was filtered and crystallized in DMF, 96.3 % yield. ¹H NMR (500 MHz DMSO-*d*₆): δ 6.91 (d, 1H_{vinyl}, *J* 15.97 Hz), 7.14 (br s, 4H), 7.45 (d, 4H_{aryl}, *J* 5.93 Hz), 7.66 (d, 7H_{vinyl}, *J* 19.32 Hz), IR 3023 cm⁻¹, 1673 cm⁻¹, 1620 cm⁻¹, 1572 cm⁻¹, 1070 cm⁻¹, 641 cm⁻¹, 590 cm⁻¹, 510 cm⁻¹, 420 cm⁻¹, MS: M⁺ 698.99; brown powder, m.p. 275.3 °C.

4. Conclusions

The synthesis of 5 (compound 9 has two polymorphs) new homoleptic copper complexes was achieved with 5 different curcuminoid ligands and their crystal structures reveal a four-fold coordination with square planar geometry. The copper ion did not increase the cytotoxic properties of the complexes with respect to free ligands but instead, high antioxidant activity for compounds DAC-Cu, DACH₄-Cu and DiMeOC-Cu was found. In our results, the presence of free phenolic groups in curcumin derivatives might not be taken as the sole criterion for antioxidant or cytotoxic activity. From the pharmacological point of view, dealing with molecular species only composed by the curcuminoid and the metal atom, thus avoiding the presence of a molecular stabilizer or “spectator”, might be considered advantageous. Moreover, the synthesis of homoleptic copper complexes of curcuminoids achieved in the present work demonstrates a feasible approach for the preparation of new homoleptic complexes of curcuminoids comprising different ligands and metals.

Supplementary Materials: CCDC-1882893, CCDC-1882894, CCDC-1882895, CCDC-1882896, CCDC-1882897 and CCDC-1882898 contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/cgi-bin/catreq.cgi, by e-mailing data_request@ccdc.cam.ac.uk, or by contacting: The Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK, fax; +44(0) 1223-336033.

The following files are available online at www.mdpi.com/xxx/s1.

Author Contributions: Extensive synthetic laboratory work: William Meza-Morales (principal PhD student), Juan C. Machado-Rodriguez, Yair Alvarez-Ricardo, Marco A. Obregón-Mendoza; validation (X-ray extensive studies), Manuel Soriano-Garcia, Rubén. A. Toscano; Biological essays, Antonio Nieto-Machado; NMR studies and funding acquisition, Julia Cassani; writing—review and editing, project administration and funding acquisition, Raúl G. Enriquez. Overlapping tasks from all coauthors is thoroughly acknowledged. [CRediT taxonomy](#).

Funding: We gratefully acknowledge financial support from PAPIIT (DGAPA, UNAM, IN208516) and CONACYT (CB 252524).

Acknowledgments: Scholarships from CONACYT to WMM (No. 576707), YAR (No. 576706) and MAOM (No. 603692) are gratefully acknowledged. We are indebted to Dr. Diego Martinez Otero (X-ray), MSc. Virginia

Gómez Vidales (EPR), MSc. María Teresa Ramírez Apan (cytotoxic activity) from Instituto de Química, UNAM for technical assistance, Claudia Rivera Cerecedo and Hector Malagon Rivero (biological essays) from Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Acknowledgment is made to Dr. Rubén Gaviño (NMR), María del Rocío Patiño (IR and UV-Vis) and Lucero Rios Ruiz (EM). We gratefully acknowledge assistance from USAI (Facultad de Química, UNAM).

Conflicts of Interest: The authors declare no competing financial interest.

References

1. Wanninger, S.; Lorenz, V.; Subhan, A.; Edelmann, F. T. Metal complexes of curcumin-synthetic strategies, structures and medicinal applications, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* 4986-5002. DOI: [10.1039/C5CS00088B](https://doi.org/10.1039/C5CS00088B)
2. Ghosh, S.; Banerjee, S.; Sil, P.C. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. *Food Chem. Toxicol.* **2015**, *83*, 111-124. DOI: [10.1016/j.fct.2015.05.022](https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.05.022)
3. Aggarwal, B.B.; Surh, Y-J.; Shishodia, S. The Molecular Target and Therapeutic Uses of Curcumin in Health an Disease, in: I.R. Cohen, I.R. Lajtha, J.D. Lambris, R. Paoletti, N. Rezaei (Eds.), *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Springer US, New York, 2007, pp. 1-75. DOI: [10.1007/978-0-387-46401-5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-46401-5)
4. Sanphui, P.; Bolla, D. Curcumin, a Biological Wonder Molecule: A Crystal Engineering Point of View. *Cryst. Growth Des.* **2018**, *9*, 5690-5711. DOI: [10.1021/cg501814q](https://doi.org/10.1021/cg501814q)
5. Goel, A.; Kunnumakkara, A.B.; Aggarwal, B.B. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *75*, 787-809. DOI: [10.1016/j.bcp.2007.08.016](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.016)
6. Naksuriya, O.; Okonogi, S.; Schiffelers, R.M.; Hennink, W.E. Curcumin nanoformulations: a review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. *Biomaterials.* **2014**, *35*, 3365-3383. DOI: [10.1016/j.biomaterials.2013.12.090](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.12.090)
7. Liang, G.; Shulin, Y.; Zhou, H.; Shao, L.; Huang, K.; Xiao, J.; Huang, Z.; Li, X. Synthesis, crystal structure and anti-inflammatory properties of curcumin analogs. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 915-919. DOI: [10.1016/j.ejmech.2008.01.031](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.01.031)
8. Wang, J.; Wei, D.; Jiang, B.; Liu, T.; Ni, J.; Zhou, S. Two copper(II) complexes of curcumin derivatives: synthesis, crystal structure and in vitro antitumor activity. *Transit. Met. Chem.* **2014**, *39*, 553-558. DOI: [10.1007/s11243-014-9831-z](https://doi.org/10.1007/s11243-014-9831-z)
9. Aliaga-Alcalde, N.; Marqués-Gallego, P.; Kraaijkamp, M.; Herranz-Lancho, C.; Dulk, H.D.; Görner, H.; Roubeau, O.; Teat, S.J.; Weyhermüller, T.; Reedijk, J. Copper Curcuminoids Containing Anthracene Groups: Fluorescent Molecules with Cytotoxic Activity. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 9655-9663. DOI: [10.1021/ic101331c](https://doi.org/10.1021/ic101331c)
10. Aliaga-Alcalde, N.; Rodríguez, L.; Febinteanu, M.; Höfer, P.; Weyhermüller, T. Crystal Structure, Fluorescence, and Nanostructuring Studies of the First Zn^{II} Anthracene-Based Curcuminoid. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 864-873. DOI: [10.1021/ic201420d](https://doi.org/10.1021/ic201420d)
11. Zhou, S.; Xue, X.; Jiang, B.; Tian, Y. Metal complexes of a novel bis- β -diketone-type ligand and its copper(II) complexes of two-photon biological imaging. *Sci. China Chem.* **2012**, *55*, 334-340. DOI: [10.1007/s11426-011-4470-0](https://doi.org/10.1007/s11426-011-4470-0)
12. Sarkar, T.; Butcher, R.; Banerjee, S.; Mukherjee, S.; Hussain, A. Visible light-induced cytotoxicity of a dinuclear iron(III) complex of curcumin with low-micromolar IC₅₀ value in cancer cells Dedicated to Professor Animesh Chakravorty on the occasion of his 80th birthday. *Inorg. Chim. Acta.* **2016**, *439*, 8-17. DOI: [10.1016/j.ica.2015.09.026](https://doi.org/10.1016/j.ica.2015.09.026)

13. Rajesh, J.; Gubendran, A.; Rajagopal, G.; Athappan, P. Synthesis, spectra and DNA interactions of certain mononuclear transition metal(II) complexes of macrocyclic tetra-aza diacetyl curcumin ligand. *J. Mol. Struct.* **2012**, *1010*, 169–178. DOI: [10.1016/j.molstruc.2011.12.002](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.12.002)
14. Pi, Z.; Wang, J.; Jiang, B.; Cheng, G.; Zhou, S. A curcumin-based TPA four-branched copper(II) complex probe for in vivo early tumor detection. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **2015**, *46*, 565–571. DOI: [10.1016/j.msec.2014.10.061](https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.10.061)
15. Thomachan, S.; Sindhu, S.; John, V.D. Synthesis, Characterization, Antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activity of Curcuminoid Analogues with Trisubstituted Phenyl and Anthracenyl ring and their Zinc (II), Copper (II) and Vanadyl (IV) Chelates. *Int. J. Pharmac. Chem.* **2016**, *6*, 78–86. DOI: [10.7439/ijpc.v6i3.2960](https://doi.org/10.7439/ijpc.v6i3.2960)
16. Pucci, D.; Bellini, T.; Crispini, A.; D'Agnano, I.; Liguori, P.; Garcia-Orduña, P.; Pirillo, S.; Valentini, A.; Zanchetta, G. DNA binding and cytotoxicity of fluorescent curcumin-based Zn(II) complexes. *Med. Chem. Commun.* **2012**, *3*, 462–468. DOI: [10.1039/C2MD00261B](https://doi.org/10.1039/C2MD00261B)
17. Zhang, W.; Chen, C.; Shi, H.; Yang, M.; Liu, Y.; Ji, P.; Chen, H.; Tan, R.X.; Li, E. Curcumin is a biologically active copper chelator with antitumor activity. *Phytomedicine*. **2016**, *23*, 1–8. DOI: [10.1016/j.phymed.2015.11.005](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.11.005)
18. Sumanont, Y.; Murakami, Y.; Tohda, M.; Vajragupta, O.; Watanabe, H.; Matsumoto, K. Effects of Manganese Complexes of Curcumin and Diacetylcurcumin on Kainic Acid-Induced Neurotoxic Responses in the Rat Hippocampus. *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, *30*, 1732–1739. DOI: [10.1248/bpb.30.1732](https://doi.org/10.1248/bpb.30.1732)
19. Zhao, X.Z.; Jiang, T.; Wang, L.; Yang, H.; Zhang, S.; Zhou, P.J. Interaction of curcumin with Zn(II) and Cu(II) ions based on experiment and theoretical calculation. *J. Mol. Struct.* **2010**, *984*, 316–325. DOI: [10.1155/2014/325873](https://doi.org/10.1155/2014/325873)
20. John, V.D.; Krishnankutty, K. Antitumour activity of synthetic curcuminoid analogs (1,7(diaryl)1,6(heptadiene-3,5-diones) and their copper complexes. *Appl. Organometal Chem.* **2006**, *20*, 477–482. DOI: [10.1002/aoc.1089](https://doi.org/10.1002/aoc.1089)
21. Asti, M.; Ferrari, E.; Croci, S.; Atti, G.; Rubagotti, S.; Iori, M.; Cappon, P.C.; Zerbini, A.; Saladini, M.; Versari, A. Synthesis and Characterization of ⁶⁸Ga-Labeled Curcumin and Curcuminoid Complexes as Potential Radiotracers for Imaging of Cancer and Alzheimer's Disease. *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 4922–4933. DOI: [10.1021/ic403113z](https://doi.org/10.1021/ic403113z)
22. Attanasio, D.; Collamati, I.; Ercolani, C. Ligand arrangement in tetragonally CuO₄N and CuO₄N₂ chromophores formed from copper(II) α -nitroketonates and sterically hindered N-bases. *Dalton Trans.* **1974**, *0*, 2442–2448. DOI: [10.1039/DT9740002442](https://doi.org/10.1039/DT9740002442)
23. Garribba, E.; Micera, G. The Determination of the Geometry of Cu(II) Complexes an EPR Spectroscopy Experiment. *J. Chem. Educ.* **2006**, *83*, 1229–1232. DOI: [10.1021/ed083p1229](https://doi.org/10.1021/ed083p1229)
24. Rajagopal, G.; Prasanna, N.; Athappan, P. Copper(II) and Ruthenium(II)/(III) Schiff base complexes. *Trans Metal Chem.* **1999**, *24*, 251–257. DOI: [10.1081/SIM-120027314](https://doi.org/10.1081/SIM-120027314)
25. Barik, A.; Mishra, B.; Shen, L.; Mohan, H.; Kadam, R.M.; Dutla, S.; Zhang, H.; Priyadarsini, K.L. Evaluation of a new copper(II) curcumin complex as superoxide dismutase mimic and its free radical reactions. *Free Radical Biol. Med.* **2005**, *39*, 811–822. DOI: [10.1016/j.freeradbiomed.2005.05.005](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.05.005)
26. Banerjee, S.; Chakravarty, A.R. Metal complexes of curcumin for cellular imaging, targeting, and photoinduced anticancer activity. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *48*, 2075–2083. DOI: [10.1021/acs.accounts.5b00127](https://doi.org/10.1021/acs.accounts.5b00127)
27. Johnson, D.R.; Decker, E.A. The role of oxygen in lipid oxidation reactions: A review. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2015**, *6*, 171–194. DOI: [10.1146/annurev-food-022814-015532](https://doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015532)

28. Yanci, Li.; Zhenyu, G.; Can, L.; Shenghui, L.; Zhang, L.; Guoqiang, Z.; Shuxiang, W.; Jinchao, Z. Synthesis, characterization and ROS-mediated antitumor effects of palladium(II) complexes of curcuminoids. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *144*, 662–671. DOI: [10.1016/j.ejmech.2017.12.027](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.12.027)
29. Wilson, J.J.; Lippard, S.J. Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes. *Chem Rev.* **2014**, *114*, 4470–4495. DOI: [10.1021/cr4004314](https://doi.org/10.1021/cr4004314)
30. Armarego, W.L.F.; Perrin, D.D. Purification of Laboratory Chemicals; 6th Edition; Butterworth Heinemann: Oxford, 2009, 138–159.
31. Bruker, APEX2, and SAINT-Plus. Bruker AXS Inc. Madison, Wisconsin, USA. 2004.
32. Sheldrick, G. M. A short history of SHELX. *Acta Crystallogr. Sec. A.* **64** (2008) 112–122. DOI: [10.1107/S0108767307043930](https://doi.org/10.1107/S0108767307043930)
33. Domínguez, M.; Nieto, A.; Marín, J.C.; Keck, A.S.; Jeffery, E.; Céspedes, C.L. Antioxidant activities of extracts from *Barkleyanthus salicifolius* (Asteraceae) and *Penstemon gentianoides* (Scrophulariaceae). *J Agric Food Chem.* **2005**, *53*, 5889–5895. DOI: [10.1021/jf0504972](https://doi.org/10.1021/jf0504972)
34. Rossato, J.I.; Ketzer, L.A.; Centuriao, F.B.; Silva, S.J.; Lüdtke, D.S.; Zeni, G.; Braga, A.L.; Rubin, M.A.; Rocha, B.T. Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain. *Neurochem Res.* **2002**, *27*, 297–303. DOI: [10.1023/A:1014907228580](https://doi.org/10.1023/A:1014907228580)
35. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **1951**, *193*, 265–275. DOI: [content/193/1/265.citation](https://doi.org/content/193/1/265.citation)
36. Ng, T.B.; Liu, F.; Wang, Z.T. Antioxidative activity of natural products from plants. *Life Sci.* **2000**, *66*, 709–723. DOI: [10.1016/S0024-3205\(99\)00642-6](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00642-6)
37. Ohkawa, H.; Ohishi, N.; Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **1979**, *95*, 351–358. DOI: [10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
38. Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paul, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A. *et al.* Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, *38*, 757–766. DOI: [10.1093/jnci/83.11.757](https://doi.org/10.1093/jnci/83.11.757)
39. Sumantran, V.N. Cellular chemosensitivity assays: An overview. In *Cancer Cell Culture: Methods and Protocols*, 2nd ed.; Cree, I.A., Ed.; Humana Press: New York, NY, USA, 2011; Chapter 19, 219–236.
40. Lozada, C.; Soria-Arteche, O.; Ramírez-Apan, M.T.; Nieto-Camacho, A.; Enríquez, R.G.; Izquierdo, T.; Jiménez-Corona, A. Synthesis, cytotoxic and antioxidant evaluations of amino derivatives. *Bioorganic Medicin Chem.* **2012**, *20*, 5077–5084. DOI: [10.1016/j.bmc.2012.07.027](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.07.027)
41. Akram Khan, M.; El-Khatib, R.; Rainsford, K.D.; Whitehouse, M.W. Synthesis and anti-inflammatory properties of some aromatic and heterocyclic curcuminoids. *Bioorg. Chem.* **2012**, *40*, 30–38. DOI: [10.1016/j.bioorg.2011.11.004](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2011.11.004)

