



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS QUÍMICAS**

**Estudio de la complejación de curcumina (antioxidante) en
presencia de derivados dendríticos de β -ciclodextrina.**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

I.Q. NEYRA CITLALI CABRERA QUIÑONES

**TUTOR: DRA. PATRICIA GUADARRAMA ACOSTA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES**

Ciudad Universitaria, CD. MX., marzo 2020



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**Estudio de la complejación de curcumina (antioxidante) en
presencia de derivados dendríticos de β -ciclodextrina.**

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

I.Q. NEYRA CITLALI CABRERA QUIÑONES



Ciudad Universitaria, CD. MX., marzo 2020

Jurado asignado

Presidente: Dr. Raúl Guillermo Enríquez Habib
Vocal: Dra. María del Pilar Carréon Castro
Vocal: Dr. Ernesto Rivera García
Vocal: Dra. Magali Salas Reyes
Secretario: Dra. Martha Verónica Escárcega Bobadilla

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de polímeros (Laboratorio E-105). Instituto de investigaciones en materiales UNAM.

Asesora:

Dra. Patricia Guadarrama Acosta

Sustentante:

I.Q. Neyra Citlali Cabrera Quiñones

Agradecimientos

- A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Investigaciones en Materiales (IIM) por brindarme lo necesario para continuar con mi preparación académica.
- A la Dra. Patricia Guadarrama Acosta, por darme de oportunidad de unirme a su grupo de trabajo, por su confianza, motivación y su constante apoyo en la realización de este proyecto.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (CVU 886093), y al proyecto PAPIIT IN206919 por el apoyo financiero en la realización de este trabajo.
- Al jurado integrado por el Dr. Raúl G. Enríquez Habib del Instituto de Química (UNAM), la Dra. Ma. del Pilar Carréon Castro del Instituto de Ciencias Nucleares (UNAM), el Dr. Ernesto Rivera García del Instituto de Investigaciones en Materiales (UNAM), la Dra. Magali Salas Reyes de la Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica (Universidad Veracruzana) y la Dra. Martha V. Escárcega Bobadilla, por el tiempo dedicado en la revisión de este trabajo y sus valiosas aportaciones.
- A la Dra. A. Estrella Ramos Peña del Instituto de Investigaciones en Materiales, por su disposición y tiempo para colaborar en este proyecto, que sin duda fue determinante.
- A todo el equipo de trabajo del laboratorio E-105 del Instituto de Investigaciones en Materiales (UNAM), en especial al M. en C. Luis J. López Méndez por compartir su experiencia y conocimientos, su guía y apoyo incondicional en todo momento, mi más profundo reconocimiento.
- A mi familia, en especial a Enedina Quiñones Luna, Gonzalo Cabrera Domínguez y a Rafael Ortega López por estar siempre presentes, creer en mí y alentarme cada día.

Contenido

Abreviaturas.....	1
1. Introducción	2
2. Antecedentes	4
2.1 Curcumina.....	4
2.1.1 Historia y descripción.....	4
2.1.2 Usos.....	5
2.1.2.1 Usos en la industria de alimentos	6
2.1.2.2 Usos en el campo de la medicina	6
2.1.3 Propiedades fisicoquímicas	7
2.1.3.1 Aproximaciones para mejorar la solubilidad en medios acuosos	10
2.2 Ciclodextrinas	11
2.2.1 Historia.....	11
2.2.2 Descripción.....	12
2.2.3 Usos.....	15
2.2.4 Tipos de complejos.....	15
2.2.4.1 Diagrama de solubilidad de fases.....	16
2.2 Moléculas dendríticas	18
3. Hipótesis.....	21
4. Objetivos	21
4.1 Objetivo general.....	21
4.2 Objetivos Particulares	21
5. Desarrollo experimental	23
5.1 Reactivos.....	23
5.2 Disolventes.....	23
5.3 Equipos	23
5.4 Estrategia sintética	24
5.4.1 Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (1) ⁷⁵	27
5.4.2 Dendrón de primera generación con punto focal alquino [D1G-OH] (2) ⁷⁶	27
5.4.3 Dendrón de segunda generación con punto focal alquino [D2G-OH] (3) ⁷⁷	28
5.4.4 Dendrón de tercera generación con punto focal alquino [D3G-OH] (4) ⁷⁷	29
5.4.5 Mono-6-O-p-toluensulfonil-β-ciclodextrina [βCD-oTs] (5) ⁷⁸	30
5.4.6 Mono-(6-azido-6-deoxi)-β-ciclodextrina [βCD-N ₃] (6) ⁷⁹	31

5.4.7 Derivado de β CD monosustituido de primera generación [β CD-m1G] (7) ⁷⁷	32
5.4.8 Derivado de β CD monosustituido de segunda generación [β CD-m2G] (8) ⁷⁷	33
5.4.9 Derivado de β CD monosustituido de tercera generación [β CD-m3G] (9) ⁷⁷	34
5.5 Diagrama de solubilidad de fases	35
5.5.1 Preparación de la curva de calibración.....	35
5.5.2 Método general para la construcción del diagrama de solubilidad de fases	35
5.5.2.1 Diagrama de solubilidad de fases para CUR y β CD	36
5.5.2.2 Diagrama de solubilidad para CUR y derivado de β CD de primera generación	36
5.5.2.3 Diagrama de solubilidad para CUR y derivado de β CD de segunda generación	36
5.5.2.4 Diagrama de solubilidad para CUR y derivado de β CD de tercera generación	36
5.6 Formación de complejos	37
5.6.1 Método general de liofilización.....	37
5.6.1.1 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometría 1:1 obtenido por liofilización.....	37
5.6.1.2 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometría 1:2 obtenido por liofilización.....	37
5.6.1.3 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometría 2:1 obtenido por liofilización.....	38
5.6.2 Método general de co-precipitación.....	38
5.6.2.1 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometría 1:1 obtenido por co-precipitación	38
5.6.2.2 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometría 1:2 obtenido por co-precipitación	38
5.6.2.3 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometría 2:1 obtenido por co-precipitación	39
5.6.2.4 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometría 2:1 con concentración de 20 mM obtenido por co-precipitación.....	39
5.6.3 Formación de complejos entre CUR y derivados dendríticos de β CD	39
5.6.3.1 Complejo entre CUR y derivado dendrítico de primera generación (β CD-m1G)	40
5.6.3.2 Complejo entre CUR y derivado dendrítico de segunda generación (β CD-m2G)	40
5.6.3.3 Complejo entre CUR y derivado dendrítico de tercera generación (β CD-3G)...	40

5.7 Mezclas físicas	41
5.7.1 Método general para la elaboración de mezclas físicas	41
5.7.1.1 Mezcla física entre CUR y β CD nativa.....	41
5.7.1.2 Mezcla física entre CUR y derivado dendrítico de primera generación	41
5.7.1.3 Mezcla física entre CUR y derivado dendrítico de segunda generación.....	41
5.7.1.4 Mezcla física entre CUR y derivado dendrítico de tercera generación	41
5.8 Pruebas de solubilidad	41
5.8.1 Método general para pruebas de solubilidad.....	42
5.8.1.1 Pruebas de solubilidad para β CD nativa	42
5.8.1.2 Pruebas de solubilidad para derivado dendrítico de primera generación.....	42
5.8.1.3 Pruebas de solubilidad para derivado dendrítico de segunda generación	42
5.8.1.4 Pruebas de solubilidad para derivado dendrítico de tercera generación	42
5.9 Cálculos teóricos.....	42
6. Análisis de resultados	43
6.1 Estrategia sintética	43
6.2 Pruebas de solubilidad	44
6.3 Diagramas de solubilidad de fases.....	46
6.4 Formación de complejos de inclusión en presencia de β CD nativa	48
6.5 Formación de complejos de inclusión en presencia de derivados dendríticos de β CD	54
6.6 Mezclas físicas	58
6.7 Cálculos teóricos.....	58
7. Conclusiones.....	62
8. Anexos	64
A.1 Espectros del ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (1)	64
A.2 Espectros del dendrón de 1G con punto focal alquino [D1G-OH] (2)	66
A.3 Espectros del dendrón de 2G con punto focal alquino [D2G-OH] (3)	68
A.4 Espectros del dendrón de 3G con punto focal alquino [D3G-OH] (4)	70
A.5 Espectros de la mono-6-O-p-toluensulfonil- β -ciclodextrina [β CD-oTs] (5).....	72
A.6 Espectros de la mono-(6-azido-6-deoxi)- β -ciclodextrina [β CD-N ₃] (6).....	74
A.7 Espectros del derivado de β CD monosustituido de 1G [β CD-m1G] (7)	76
A.8 Espectros del derivado de β CD monosustituido de 2G [β CD-m2G] (8)	78
A.9 Espectro del derivado de β CD monosustituido de 3G [β CD-m3G] (9).....	80

A.10	Perfiles individuales de los diagramas de solubilidad de los sistemas en estudio. ..	82
A.11	Espectros de FT-IR de los complejos formados en distintas relaciones estequiométricas en presencia de β CD nativa.....	82
A.12	Curva de calibración para la cuantificación de curcumina encapsulada en presencia de β CD nativa.	83
A.13	Espectros del complejo con estequiometría 2:1 obtenido por co-precipitación a partir de la solución 20 mM de β CD	85
A.14	Curva de calibración para la cuantificación de curcumina en presencia de β CD nativa (20 mM) obtenido por co-precipitación.....	85
A.15	Curva de calibración para la cuantificación de curcumina en presencia de derivados dendríticos de β CD de 1 a 3G.....	86
A.16	Espectros de FT-IR de los complejos obtenidos en presencia de los derivados dendríticos de β CD de 1 a 3G.....	88
9.	Referencias	89

Abreviaturas

DCC	1,3-diciclohexilcarbodiimida
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
Bis-MPA	Ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico
FDA	Administración de alimentos y medicamentos
FAB	Bombardeo rápido de átomos
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
CuAAc	Cicloadición azida-alquino catalizada por cobre
CDs	Ciclodextrinas
CGT-asa	Ciclodextrin-glucosil-transferasa
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
HMPC	Comité de Productos Medicinales Herbales
K _F	Constante de formación aparente
CUR	Curcumina
MALDI-TOF	Desorción/ionización mediante láser asistida por matriz-tiempo de vuelo
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EM	Espectrometría de masas
FT-IR	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier
UV-Vis	Espectroscopia ultravioleta-visible
IE	Impacto electrónico
ESI	Ionización por electrospray
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mM	Milimolar
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAMAM	Poli(amidoamina)
DPTS	<i>p</i> -toluensulfonato de 4-(dimetilamino) piridina
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono
1G	Primera generación
2G	Segunda generación
3G	Tercera generación
SLNs	Nanopartículas sólido-lipídicas
αCD	α-ciclodextrina
βCD	β-ciclodextrina
γCD	γ-ciclodextrina

1. Introducción

Los radicales libres, cuyas especies químicas pueden definirse como moléculas o fragmentos moleculares que tienen un electrón desapareado, son inestables y altamente reactivos, se generan en el cuerpo como resultado de procesos aeróbicos propios del organismo, o bien por fuentes exógenas. Como consecuencia de su inestabilidad y reactividad, los radicales libres poseen una enorme capacidad para combinarse con otras moléculas como lípidos, carbohidratos, proteínas, entre otras, generando de este modo, nuevos radicales.

La generación de radicales libres es un proceso constante que ocurre en nuestro organismo y es pertinente que deba ser controlada su generación. Sin embargo, cuando dicho control se pierde, esto puede conducir a un deterioro celular. Los compuestos capaces de inactivar a los radicales libres y retrasar o prevenir los efectos dañinos de éstos, se conocen como antioxidantes. Cuando hay un desequilibrio en nuestras células debido al aumento de radicales libres, y una disminución de antioxidantes, ocurre el estrés oxidativo, relacionado con diversas enfermedades crónicas como cáncer, diabetes mellitus, Alzheimer, Parkinson, entre otras.

En los últimos años una molécula que ha adquirido gran relevancia es la curcumina, un metabolito de la planta *Cúrcuma longa*, debido a que ha mostrado tener sobresaliente actividad terapéutica, presumiblemente relacionada con su alto poder antioxidante, haciendo de ella un compuesto potencial para el tratamiento y prevención de diversos padecimientos. A pesar de la evidencia que existe sobre la eficacia y seguridad de esta molécula, la curcumina no ha sido aplicada con éxito como un agente terapéutico, ya que su naturaleza hidrofóbica hace que su solubilidad en medios acuosos sea limitada, y por ende su biodisponibilidad se vea comprometida.

Dado el potencial terapéutico de la curcumina, se han planteado diferentes estrategias para mejorar su solubilidad en medios acuosos y de este modo llevar a la curcumina a otro estatus de posibles aplicaciones. Dentro de los esfuerzos que se han desarrollado para este fin, destaca el uso de plataformas moleculares que incluyen desde liposomas, micelas y nanopartículas, hasta estructuras como las ciclodextrinas y dendrímeros, las cuales han sido exploradas como posibles acarreadores de la curcumina.

Las ciclodextrinas (CDs) son contenedores moleculares capaces de complejar a una amplia variedad de moléculas de carácter hidrofóbico debido al mismo carácter de su cavidad. Una vez que la molécula a complejar (molécula huésped) se encuentra contenida en la cavidad de la ciclodextrina, las propiedades fisicoquímicas de ésta, tales como la solubilidad, se ven impactadas positivamente, puesto que el exterior de dichos contenedores moleculares es de naturaleza hidrofílica debido a la presencia de grupos hidroxilos.

De las CDs, la β CD es la más estudiada debido a que las dimensiones de su cavidad parecen ser las más adecuadas para albergar a un gran número de moléculas huésped, mostrando además un buen desempeño para encapsularlas y aumentar su solubilidad, sin embargo, su solubilidad intrínseca es susceptible de ser mejorada. En ese sentido, la modificación de la β CD con diferentes grupos funcionales ha sido la estrategia desarrollada con el propósito de

mejorar su solubilidad. En el grupo de trabajo donde se desarrolló el presente proyecto, se han sintetizado derivados monosustituídos de β CD con sustituyentes dendríticos de tipo poliéster de primera, segunda y tercera generación, incrementándose de forma significativa la solubilidad de este contenedor molecular.

Bajo este contexto, y considerando el interés en la sobresaliente actividad terapéutica de la curcumina, así como la solubilidad incrementada en los derivados de β CD mencionados anteriormente, en este proyecto se estudió el desempeño de dichos derivados para encapsular a la curcumina, e incrementar su solubilidad, haciendo un análisis paralelo del efecto de la generación dendrítica sobre dicho desempeño. Este tipo de estudios para establecer relaciones de tipo estructura-propiedad (físicoquímica), dan la pauta para realizar otros diseños racionales de acarreadores.

2. Antecedentes

2.1 Curcumina

2.1.1 Historia y descripción

La curcumina (CUR) es un pigmento polifenólico de carácter hidrofóbico proveniente del rizoma de la planta de origen asiático *Cúrcuma longa* (figura 1), el cual es obtenido mediante procesos de molienda y extracción. La planta pertenece a la familia de las zingiberáceas¹, a la que también pertenece el género *Zingiber*, el jengibre. Hoy en día, la *Cúrcuma L.* se cultiva ampliamente en regiones tropicales y subtropicales, y se le conoce con distintos nombres en diferentes culturas y países. Se cultiva principalmente en India, China, Tailandia, Vietnam, Indonesia y Filipinas, siendo India el mayor productor, consumidor y exportador mundial, donde se le conoce como “Haldi”².



Figura 1. A) planta, B) rizoma y C) Extracto de *Cúrcuma L.*

El extracto del rizoma de la *Cúrcuma l.* es ampliamente utilizado en la cultura asiática dadas sus características organolépticas y sus propiedades terapéuticas observadas en la medicina herbolaria. Este pigmento tiene una larga historia de uso medicinal, el cual se remonta a la cultura védica de la India, donde tuvo cierta importancia religiosa en diferentes ceremonias. A finales del siglo XIII, Marco Polo describe su uso como especia, remedio herbolario y pigmento³. El nombre de la *Cúrcuma L.* se deriva de la palabra árabe “*kourkoum*”, que era el nombre original para el azafrán, y debido a su intenso color y sabor, pronto a la CUR se le conoció como azafrán de la India cuando comerciantes árabes la llevaron al mercado europeo.

Los metabolitos presentes en la planta de la *Cúrcuma L.*, conocidos también como curcuminoides, incluyen la curcumina, la desmetoxicurcumina y la bisdesmetoxicurcumina⁴ (figura 2), los cuales se encuentran presentes entre 3 y 5 % de su masa⁵, donde el curcuminóide mayoritario es la CUR, representando alrededor del 50-60% de dichos metabolitos.

La síntesis de la CUR es conocida⁶⁻⁸ y su estructura fue determinada en 1910, este curcuminóide es causante del color amarillo-naranja intenso característico de los rizomas de la planta, y se le considera además como el principal responsable de las propiedades

terapéuticas que exhibe⁹, debido a esto es que durante siglos en diferentes partes del mundo ha sido utilizada en la medicina tradicional.

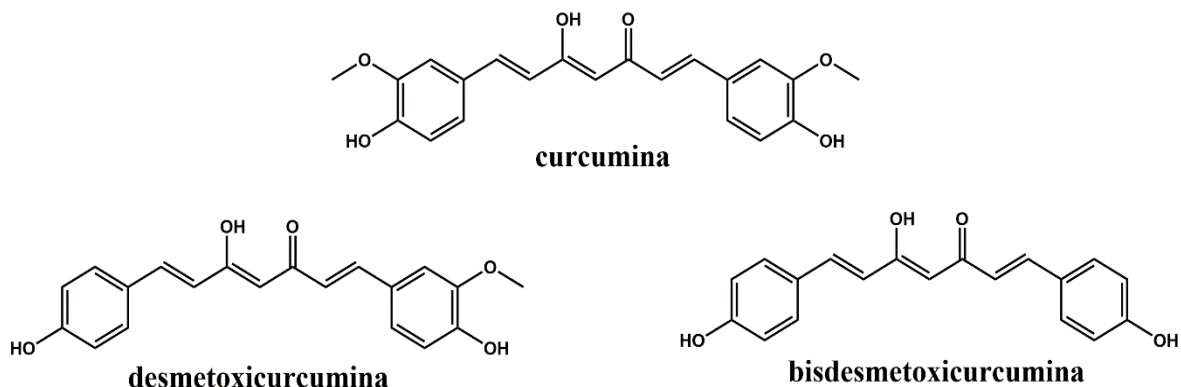


Figura 2. Estructura de los curcuminoides principales.

En los últimos años la medicina moderna ha comenzado a reconocer la importancia de la CUR, por lo cual ha captado la atención científica, y con ello el número de ensayos clínicos, para investigar el potencial terapéutico de esta molécula, ha incrementado (figura 3).

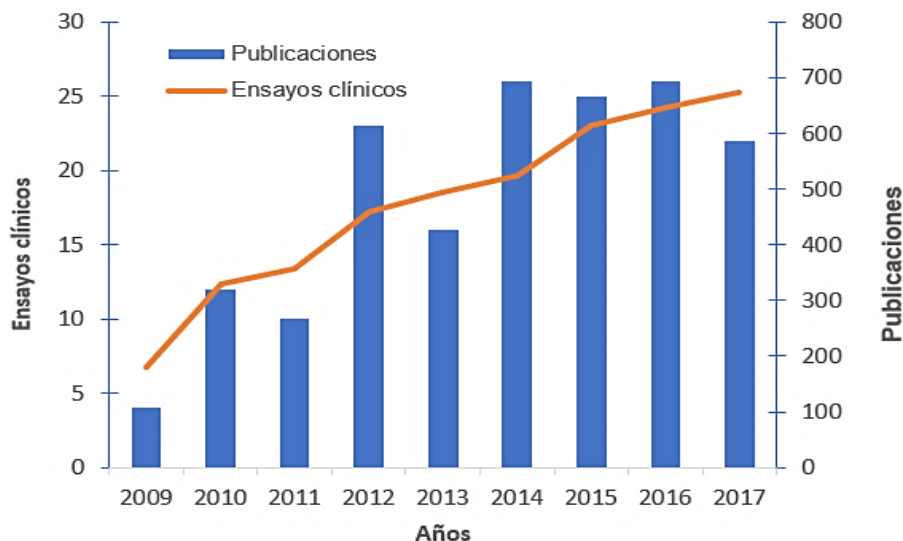


Figura 3. Número de publicaciones en PubMed y ensayos químicos en www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed con la palabra "curcumina" de 2009 a 2017.

2.1.2 Usos

El extracto de la *Cúrcuma L.* es utilizado de dos maneras, como cúrcuma (extracto crudo) catalogado con el código alimentario de la Unión europea E100, y como curcumina (extracto purificado). La planta molida, se usa tradicionalmente como especia en la cocina asiática para dar sabor y color a los alimentos debido al color intenso que la caracteriza. Su uso se extiende a la industria en los sectores de alimentos, cosméticos y textil, en el caso de esta última para teñir lana, seda y algodón. Sin embargo, de los sectores industriales, el principal uso se da en

el área de alimentos. Del mismo modo, en el área médica, su uso se ha incrementado puesto que es una fuente prometedora para el desarrollo de nuevos medicamentos que permitan aliviar diferentes trastornos de la salud. Los usos en las dos últimas áreas mencionadas se describen a continuación.

2.1.2.1 Usos en la industria de alimentos

En 2004, el comité mixto conformado por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró a la CUR como un producto seguro para el consumo humano en una ingesta diaria de 0-3 mg/kg sin representar riesgo para la salud^{10,11}. Debido a esto, es que en la industria de alimentos la CUR se utiliza principalmente como agente saborizante y colorante en diferentes productos, entre los que destacan el curry, salsas, pastas de mostaza, bebidas, dulces, productos lácteos, helados, galletas, cereales, productos cárnicos y diversas conservas¹², ya que tanto su color como su aroma, son importantes en estos productos.

En algunos casos la CUR puede funcionar como sustituto del azafrán, puesto que el color que caracteriza tanto a la CUR como al azafrán son muy similares, y aunque la CUR tiene un sabor un tanto diferente ya que es ligeramente más ácida y picante; generalmente es menos costosa que el azafrán².

2.1.2.2 Usos en el campo de la medicina

En 2009 el rizoma de la *Cúrcuma L.* fue aceptado como producto medicinal por el Comité de Productos Medicinales Herbales, HMPC por sus siglas en inglés¹³. Sin embargo, ha sido utilizada por muchos años en diferentes sistemas de la medicina tradicional china e hindú, gracias a los curcuminoides responsables de su bioactividad, en especial la CUR.

Antiguamente, la CUR se empleaba para tratar la ictericia, provocada por el aumento de bilirrubina en la sangre resultado de trastornos hepáticos, ya que al ser de color amarillo parecía totalmente indicada para curar tal padecimiento, teoría que ha sido confirmada por fitoterapia⁹, puesto que, la CUR presenta propiedades terapéuticas y protectoras tanto a nivel hepático como cutáneo.

En 2012, Gryniewicz y Ślifirski¹⁴, reportaron que la CUR aumenta el contenido de glutatión, el principal antioxidante de las células, y la actividad de la enzima glutatión-s-transferasa (GST), una de las enzimas detoxificantes implicadas en el metabolismo de muchos xenobióticos, lo cual es clave frente al efecto dañino de las toxinas y radicales libres.

Las propiedades antiinflamatorias de la CUR se deben a su capacidad de inhibir la síntesis de prostaglandinas, las cuales participan en la respuesta inflamatoria al estimular las terminales nerviosas del dolor¹⁵. Chandran y Goel¹⁶ reportaron en 2012 un estudio en el cual a 45 pacientes diagnosticados con artritis reumatoide, problema relacionado con la inflamación de las articulaciones, se les administró vía oral una dosis de 500 mg de curcumina 2 veces al día durante 8 semanas, lo cual redujo significativamente los niveles de inflamación sin causar efectos adversos en los pacientes.

En ese mismo sentido, síntomas de padecimientos como el Alzheimer, que es una enfermedad neurodegenerativa progresiva con la cual las células nerviosas se ven afectadas debido a procesos que involucran inflamación y daño oxidativo, podrían aliviarse con la CUR puesto que exhibe propiedades antiinflamatorias y antioxidantes¹⁷.

Asimismo, la CUR es usada para la prevención y tratamiento de otras enfermedades debido a la actividad biológica sobresaliente que ha mostrado como agente antimicrobiano, antiviral y antifúngico¹⁰. En 2010, Chen y colaboradores¹⁸ evaluaron la actividad antiviral de la CUR frente al virus de la influenza tipo A, donde reportan que un tratamiento con 30 μM de esta molécula redujo el virus en más del 90% de los cultivos celulares evaluados, asimismo, en 2012, Zhang y colaboradores¹⁹, reportaron que la CUR inhibe el crecimiento del hongo *Candida albicans*, mostrando buena actividad antifúngica.

También se ha reportado que la CUR presenta actividad biológica como agente neuroprotector, antiparasitario e inmunomodulador²⁰, sin embargo, la principal línea de investigación de la CUR en los últimos años se ha centrado en conocer su actividad antiproliferativa, antitumoral y anticancerígena. Estas tres últimas actividades han sido observadas puesto que la CUR es capaz de reducir el crecimiento de tumores y modular los problemas secundarios asociados al cáncer como fatiga, depresión, insomnio o deterioro cognitivo²¹, resultado de su habilidad para captar radicales libres dándole el poder antioxidante que exhibe²².

2.1.3 Propiedades fisicoquímicas

De acuerdo a su estructura, la CUR puede clasificarse dentro de la familia de los diarilheptanoides¹, que son aquellos compuestos naturales cuyas estructuras poseen dos grupos arilo (sustituídos por grupos hidroxilos o carbonilos), los cuales se unen entre sí mediante una cadena de 7 átomos de carbono que posee una función 1,3-dicarbonílica y diversas insaturaciones.

En el caso particular de la CUR, la molécula presenta tres grupos funcionales reactivos, dos fenoles, cada uno sustituido por un grupo metoxilo, que a su vez están conectados por una cadena de 7 carbonos que posee un grupo dicetona α , β -insaturado en equilibrio tautomérico ceto-enólico (figura 4). Se ha reportado que la CUR existe preferentemente en la forma enólica debido a que la formación de enlaces intramoleculares² la hacen más estable. No obstante, en la literatura también se reporta que el equilibrio tautomérico es dependiente de la polaridad del medio en el que se encuentre, observándose que tanto en soluciones acuosas como disolventes orgánicos, en especial en próticos y apróticos polares, es predominante la forma enólica, y aunque en disolventes apolares también predomina esta forma, el equilibrio ya no está tan desplazado hacia ese tautómero^{23, 24}.



Figura 4. Equilibrio tautomérico ceto-enólico de la curcumina.

La molécula de CUR tiene una estructura simétrica y se le puede asignar un eje de rotación C_2 condicionado a la presencia del grupo dicetona. Las principales propiedades fisicoquímicas de esta molécula se resumen en la tabla 1. La presencia de enlaces π conjugados en la estructura causa una alta deslocalización electrónica, lo que le confiere planaridad.

Tabla 1. Características de la CUR

Nombre (IUPAC)	7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona
Formula molecular	$C_{21}H_{20}O_6$
Peso molecular	368.39 g/mol
Estado físico	Sólido
Color	Amarillo-naranja (a pH neutro)
Olor	Inodoro
Punto de fusión	180-183 °C ^{25, 26}
Coefficiente de reparto (logP)	~ 3 ²⁷
Sensibilidad a la luz	Muy sensible a la luz
Flamabilidad	No flamable
Solubilidad	Soluble en metanol, etanol, DMSO, acetona, cloroformo, acetonitrilo y acetato de etilo ^{10,27} , moderadamente soluble en hexano y ciclohexano, e insoluble en agua.

El mecanismo antioxidante de la CUR ha sido sumamente estudiado, y la mayoría de las conclusiones indican que su capacidad antioxidante se debe principalmente a la presencia de los dos fenoles donde puede ocurrir la abstracción de un átomo de hidrógeno²⁸⁻³². A pesar de ello, algunos autores han atribuido la capacidad antioxidante de esta molécula al protón que se encuentra en la posición alfa a ambos carbonilos en la estructura de dicetona α , β -insaturada, donde un radical libre también puede sufrir transferencia de electrón o abstracción de un átomo de hidrógeno^{33,34}. En la figura 5, se muestran el posible mecanismo antioxidante de la CUR.

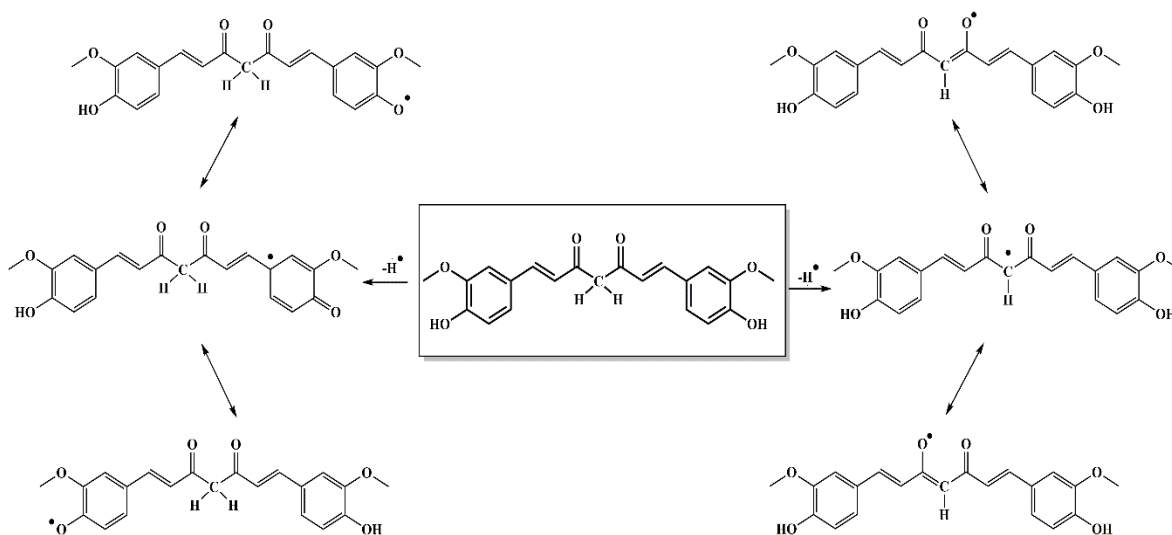


Figura 5. Mecanismo antioxidante de la CUR.

La molécula de CUR es un ácido de Brönsted débil, con tres protones lábiles. Los tres valores de pK_a reportados son: 10.51, 9.88 y 8.38, donde el primer y segundo valor corresponden a los protones ácidos en los grupos fenólicos, que tienen valores de pK_a muy cercanos uno del otro, y el tercer valor corresponde al protón enólico^{35, 36}.

La CUR es prácticamente insoluble en agua debido a su naturaleza hidrofóbica, mostrando una solubilidad acuosa menor a 0.1 mg/ml a temperatura ambiente³⁷, que se incrementa ligeramente en medio alcalino, ya que en tales condiciones la molécula de CUR es desprotonada³⁶.

Se considera que su naturaleza hidrofóbica es el principal inconveniente que restringe el uso de la CUR en medios fisiológicos, dado que su pobre solubilidad conlleva a la limitada biodisponibilidad de esta molécula, incluso en altas dosis de administración²⁰. Tanto la solubilidad como la biodisponibilidad son requerimientos necesarios para que un fármaco posea buena actividad biológica, de este modo, para que la fracción de fármaco en forma activa llegue al lugar de acción en un tiempo determinado³⁸, es necesaria una buena solubilidad acuosa de la molécula^{39, 40}.

La molécula de CUR contiene un cromóforo, la presencia de este dieno conjugado genera una alta deslocalización electrónica, haciendo que la CUR exhiba una fuerte absorción en el espectro de UV-vis, entre 420 y 430 nm en disolventes orgánicos, la cual se reduce drásticamente en soluciones acuosas¹⁰. Por otro lado, el espectro de absorción de la CUR muestra diferentes perfiles dependiendo de los valores de pH; el máximo de absorción en soluciones alcalinas se observa alrededor de 463 nm, mientras que en medio ácido hay un desplazamiento hipsocrómico de 463 a 422 nm⁴¹. En el estado excitado, la naturaleza de los disolventes tiene un efecto aún más fuerte, tanto en la intensidad como en el máximo de emisión de fluorescencia, el cual oscila entre 460 y 560 nm^{42, 35}, observándose un desplazamiento batocrómico en disolventes polares no próticos como acetato de etilo y acetonitrilo, donde los máximos de emisión se observan en 494 y 521 nm respectivamente⁴³.

En cuanto a su estabilidad térmica, se ha reportado que la CUR permanece estable a temperaturas de hasta 70 °C, por arriba de esta temperatura empieza a degradarse^{44,45}. La molécula de CUR es un compuesto fotosensible que se degrada de manera dependiente del pH, siendo estable en condiciones ácidas. Tal estabilidad en medio ácido se atribuye a la presencia del dieno conjugado, que en condiciones neutras o básicas es destruido al ser desprotonado el grupo hidroxilo (-OH) del anillo, presentando un color rojo a pH>7 y el color amarillo-naranja característico en un rango de pH 1-7³⁵.

La CUR se degrada rápidamente a pH fisiológico en intervalos de tiempo menores a los 30 minutos mediante procesos de autoxidación⁴⁶, siendo el principal producto de degradación la molécula de biciclo-pentadiona (figura 6, A), generada por la incorporación de O₂ y la doble ciclación del dieno conjugado presente en la estructura de la CUR⁴⁷⁻⁴⁹. Otros productos de degradación como vainillina, ácido ferúlico y feruloilmetano (figura 6, B-D) también han sido reportados, los cuales son resultado de la ruptura del dieno conjugado⁵⁰, sin embargo dichas moléculas no son consideradas productos de degradación abundantes.

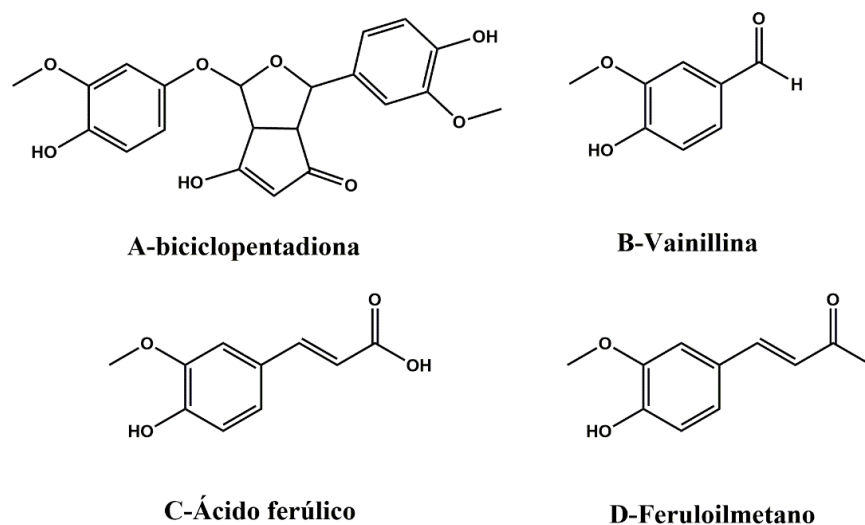


Figura 6. Estructuras de los productos de degradación de la CUR.

2.1.3.1 Aproximaciones para mejorar la solubilidad en medios acuosos

Dada la importante actividad terapéutica y seguridad farmacológica que exhibe la molécula de CUR, se han sido diseñado y desarrollado diferentes estrategias con el propósito de mejorar sus propiedades fisicoquímicas, entre ellas su solubilidad en medios acuosos. El uso de plataformas moleculares, en las cuales no se altera la estructura química de la CUR, ha sido una de las estrategias para intentar llevar a dicha molécula a otro estatus de posibles aplicaciones.

Li y colaboradores⁵¹, propusieron el uso de micelas, cuya naturaleza anfipática permite encapsular a la CUR de naturaleza hidrofóbica, mientras que, Basnet y colaboradores⁵² decidieron experimentar el encapsulamiento de la CUR usando liposomas. Por otro lado, Hu

y colaboradores⁵³ reportaron sistemas de microemulsiones de CUR con aceites, surfactantes y co-surfactantes, para mantenerla en dispersión acuosa.

Otra de las estrategias que se han diseñado y desarrollado son las nanoformulaciones de CUR⁵⁴, basándose en el hecho de que la reducción de tamaño se traduce en una mejor absorción del principio activo debido a un área de superficie específica mayor, impactando en sus propiedades fisicoquímicas, como es el caso de la solubilidad. Algunas de las formulaciones desarrolladas incluyen nanogeles, nanoemulsiones, nanopartículas, entre otras. Ucisik y colaboradores⁵⁵ reportaron la encapsulación de nanopartículas de CUR en núcleos sólidos de tripalmitina, rodeados de capas de fosfolípidos. Sindhu y colaboradores⁵⁶ lograron sintetizar nanopartículas de oro conjugadas con CUR, mejorándose la solubilidad de la molécula. Se ha reportado también el uso de nanopartículas sólido-lipídicas (SLNs, por sus siglas en inglés), el cual es un proceso patentado, que consiste en encapsular a la CUR con lecitina y ácido esteárico. En 2012, Li y colaboradores⁵⁷ al utilizar formulaciones de SLNs con CUR, además de observar una mejora en la solubilidad de la CUR, observaron una mejor liberación y protección contra la degradación de la molécula.

Wang y colaboradores⁵⁸ reportaron la encapsulación de CUR en dendrímeros de poliamidoamina (PAMAM) de generación 5, con grupos terminales acetilo, indicando que se mejoró la solubilidad de la CUR considerablemente. Por otro lado, Tønnesen y colaboradores⁵⁰ describen el uso de ciclodextrinas para encapsular a la CUR, la cual, debido a su naturaleza hidrofóbica muestra una gran afinidad por la cavidad de la ciclodextrina, permitiendo así, incrementar la estabilidad y solubilidad de la molécula debido al encapsulamiento.

El uso de estas plataformas moleculares ha permitido abordar de diferentes maneras el inconveniente de la limitada solubilidad acuosa de la CUR. Las ciclodextrinas han sido uno de los contenedores moleculares más estudiados y usados por décadas en diferentes áreas, incluida la farmacéutica y más recientemente la nanomedicina⁵⁹.

2.2 Ciclodextrinas

2.2.1 Historia

Las ciclodextrinas (CDs), algunas veces llamadas cicloamilasas, son una serie de oligosacáridos cíclicos producidos por la degradación enzimática del almidón, por la enzima ciclodextrin-glucosil-transferasa (CGT-asa)⁶⁰. El descubrimiento de estas moléculas se atribuye a Antoine Villiers en el año de 1891, cuando al estudiar la degradación del almidón con *Bacillus-amylobacter*, describe una serie de sustancias cristalinas a las que denominó “celulosinas”, lo que dio origen a lo que más tarde se conoció como CDs⁶¹.

No obstante, fue a inicios del siglo XX que Franz Schardinger presentó una primera descripción de la preparación, separación y purificación de las CDs, contribuyendo además con sus investigaciones de que se trataba de moléculas unidas entre sí formando un macrociclo, es decir, oligosacáridos cíclicos. Años más tarde, Schardinger y colaboradores⁶²⁻⁶⁴ describieron la estructura de estas moléculas, y desde entonces han sido

objeto de un gran número de publicaciones científicas, muchas de ellas en aplicaciones farmacéuticas.

2.2.2 Descripción

Las CDs se componen de por lo menos 6 unidades de α -D-glucosa, las cuales se encuentran unidas por enlaces α -(1-4) glucosídicos (figura 7), donde los pares de electrones del átomo de oxígeno se orientan hacia el interior de la cavidad, provocando una alta densidad electrónica, lo cual le da algunas características de base de Lewis.

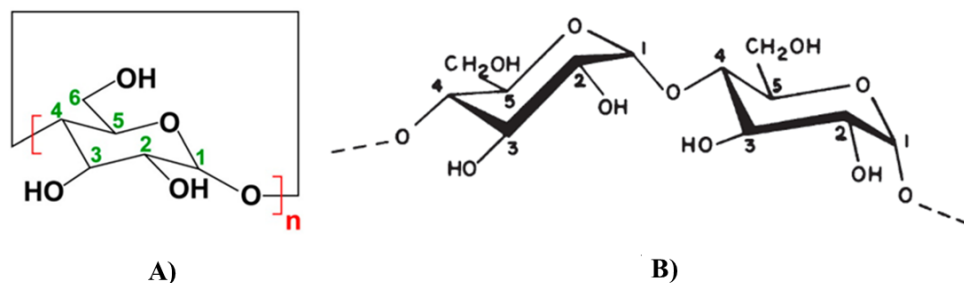


Figura 7. A) Unidad de α -D-glucosa y B) Enlace α -(1-4) glucosídico.

Estas moléculas se caracterizan por ser huecas en forma de cono truncado de poca profundidad, y muchas veces son descritas como toroides. La forma en las CDs, se mantiene a través de enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilos secundarios^{60,65}, los cuales se orientan hacia el borde más amplio de la cavidad de la CD (cara secundaria), mientras que, los hidroxilos primarios se encuentran orientados hacia la parte más estrecha de la cavidad (cara primaria). Tal orientación da como resultado una molécula con una cavidad de carácter apolar, proporcionando una matriz hidrofóbica, y una parte externa de carácter hidrofílico, que puede disolverse en agua, haciendo de esta molécula un “entorno micro heterogéneo”⁶⁶ (figura 8).

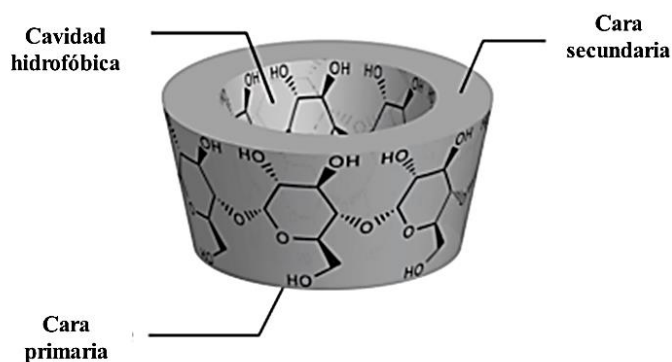


Figura 8. Esquema de la cavidad de la CD

El carácter hidrofóbico e hidrofílico de estas moléculas, es considerado como la característica más importante de las CDs; su cavidad permite albergar diferentes moléculas con la polaridad y tamaño adecuados⁶⁷, haciendo que estos contenedores moleculares sean capaces de complejar a una amplia variedad de moléculas.

Estas moléculas se designan por una letra griega para denotar el número de unidades de α -D-glucosa presentes, siendo α para 6, β para 7, γ para 8 y así sucesivamente. A la α CD, β CD y γ CD, se les denomina CDs nativas (figura 9). Se considera que CDs con menos de 6 unidades no pueden formarse, debido a impedimento estérico, mientras que CDs con un número de 9 o más unidades, son muy difíciles de purificar.

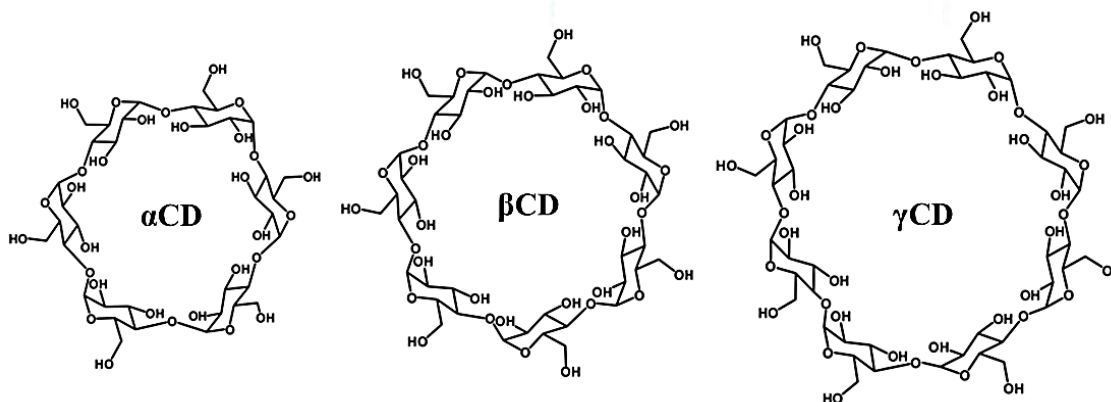


Figura 9. Estructura química de la α , β y γ CD, con 6, 7 y 8 unidades de α -D-glucosa respectivamente.

Las principales propiedades fisicoquímicas de las CDs son dependientes del número de unidades α -D-glucosa que las componen. En la tabla 2 se presentan algunas de las propiedades fisicoquímicas de las CDs nativas.

Tabla 2. Principales propiedades fisicoquímicas de las CDs nativas^{68, 69}.

Propiedades	α CD	β CD	γ CD
Unidades de glucopiranosas	6	7	8
Formula	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Peso molecular (g/mol)	972.9	1135.0	1297.1
Diámetro interno de la cavidad (Å)	4.7	6	7.5
Diámetro externo de la cavidad (Å)	5.3	6.5	8.3
Profundidad de la cavidad (Å)	7.9	7.9	7.9
Volumen aproximado de la cavidad (Å ³)	174	262	427
Solubilidad en agua a 25 °C (g/L)	145	18.5	232
Número de moléculas de agua dentro de la cavidad	6-8	11-12	13-17
Temperatura de descomposición (°C)	250-260	255-265	240-245

Los grupos hidroxilo del carbono 2 de la unidad α -D-glucosa, pueden formar un enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo del carbono 3 de la unidad de α -D-glucosa adyacente. En la molécula de CD se forma un cinturón secundario, resultado de la formación de los enlaces intramoleculares de hidrógeno. En el caso de la β CD, el cinturón formado genera que su estructura sea muy rígida, mientras que para la α CD, ese cinturón está incompleto debido a que una unidad de α -D-glucosa se encuentra en una posición distorsionada, haciendo que de los 6 enlaces de hidrógeno posibles sólo puedan establecerse 4 completamente, y como la

γ CD es no coplanar, su estructura es más flexible, de esta manera lo anterior explica de algún modo el hecho de que la β CD presente la solubilidad acuosa más baja de todas las CDs nativas⁶⁹.

En cuanto a las dimensiones de la cavidad, se considera que la cavidad de la α CD tiene un tamaño insuficiente para albergar a algunas moléculas, y a pesar de que la γ CD cuenta con una cavidad de mayor dimensión, generalmente su costo es más alto, es por ello que la β CD ha sido la más ampliamente estudiada y por lo tanto utilizada, debido principalmente a su bajo costo, disponibilidad, y al tamaño de su cavidad, que parece ser adecuado para incluir a una amplia variedad de moléculas⁶⁷, mostrando un buen desempeño para encapsular y aumentar la solubilidad de éstas. Sin embargo, su solubilidad intrínseca y nefrotoxicidad pueden limitar su uso, especialmente en aplicaciones farmacéuticas como la liberación parental de fármacos^{65,70}.

Hasta ahora se han propuesto diversas modificaciones químicas para mejorar la solubilidad de la β CD y sus complejos en medios acuosos, partiendo del hecho de que se trata de estructuras que presentan grupos hidroxilos reactivos. La incorporación de diferentes grupos funcionales ha generado una amplia variedad de derivados de β CD (tabla 3). Más recientemente, y bajo la misma lógica, se ha planteado la idea de formar conjugados de β CD con macromoléculas biocompatibles como las dendríticas, principalmente aquellas a base de poliamidoamina (PAMAM), poliaminas, poliamidas, poliésteres, entre otros, que destacan por su uso en aplicaciones biológicas.

Tabla 3. Ejemplos de derivados de CD.

Ciclodextrina	Abreviación
2-hidroxipropil- β CD	HP- β CD
Sulfobutiléter- β CD	SBE- β CD
Metil- β CD	M- β CD
Dimetil- β CD	DM- β CD
β CD-Metilada aleatoriamente	RM- β CD
2-hidroxipropil- γ CD	HP- γ CD
2-hidroxietil- β CD	HE- β CD
Carboximetil- β CD	CM- β CD
Carboxietil- β CD	CBE- β CD
Dietil- β CD	DE- β CD
Tri-o-etil- β CD	TE- β CD
Glucosil- β CD	G ₁ - β CD
Maltosil- β CD	G ₂ - β CD
2-hidroxi-3-trimetil-amonio-propil- β CD	HTMAP- β CD

2.2.3 Usos

La producción anual de CDs supera las 10,000 toneladas, de las cuales cerca del 70% es de β CD, 15% de α CD, 5% de γ CD y el 10% restante corresponde a derivados de CDs. De la producción anual total, alrededor del 30% de CDs es usada en productos farmacéuticos⁶⁸. En la industria farmacéutica, las CDs han sido utilizadas desde la década de los 70's, siendo la primera aplicación de estas moléculas con la prostaglandina E2/ β CD (Prostarmon ETM, comprimidos sublinguales), comercializada en Japón por Ono Pharmaceutical Co.⁷¹

Más recientemente han sido utilizadas en la nanomedicina⁵⁹ como plataformas moleculares, tomando importancia como contenedores de fármacos con principios activos de naturaleza hidrofóbica ya que, no solo mejoran la solubilidad en medios acuosos de estas moléculas, sino que también mejoran su estabilización, evitando su volatilización, oxidación y degradación por luz o calor. De igual manera, mediante la formación de complejos de inclusión se puede conseguir la eliminación o reducción de olores y sabores indeseables, accediendo de esta manera a aplicaciones no solo en farmacéutica, sino también en áreas muy diversas como la industria química, alimentos, cosmética, nanotecnología, ingeniería ambiental, química analítica y supramolecular.

2.2.4 Tipos de complejos

El proceso de complejación es un fenómeno molecular donde una molécula que actúa como huésped (por ejemplo, un fármaco hidrofóbico) y una molécula que actúa como anfitrión (CD) entran en contacto para asociarse y formar un complejo (figura 10), como resultado de un equilibrio de asociación-disociación entre la molécula huésped y anfitrión en estado libre y el complejo. En solución acuosa la cavidad de la CD de carácter apolar se encuentra ocupada por moléculas de agua, que están desfavorecidas energéticamente (interacción polar-apolar), de modo que, la fuerza impulsora de este equilibrio es la sustitución de esas moléculas, por moléculas huésped que sean menos polares que el agua.

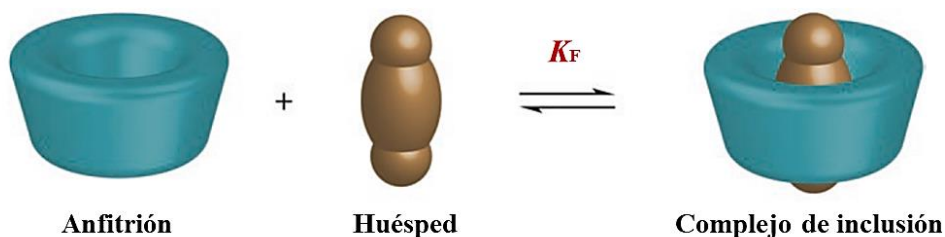


Figura 10. Esquema del fenómeno de inclusión entre una molécula anfitrión y una molécula huésped.

Existen otras interacciones que resultan favorables para desplazar el equilibrio hacia la formación del complejo de inclusión, como lo son el aumento del número de enlaces de hidrógeno por el agua desplazada de la cavidad a la disolución, la reducción de las interacciones entre el huésped hidrofóbico y el entorno acuoso de la solución, así como el aumento de las interacciones entre las moléculas huésped y anfitrión en la cavidad apolar de la CD.

El equilibrio en el proceso de formación se rige por una constante (K_F), denominada constante de formación; mientras mayor sea el valor de K_F , más estable es el complejo de inclusión y menor será la disociación.

Para que las interacciones entre el huésped y el anfitrión se establezcan, es necesaria la compatibilidad geométrica entre ambas moléculas, de manera que esta última pueda incluirse total o parcialmente en la cavidad, en ese sentido, una buena adaptación de la molécula huésped al tamaño del anfitrión se traducirá en un mayor número de interacciones entre ambas moléculas. Lo anterior origina que una o más moléculas de CD contengan una o más moléculas huésped atrapadas en la cavidad, haciendo posible encontrar complejos con diferentes estequiometrías, aunque la relación estequiométrica más frecuente es la 1:1 (figura 11).

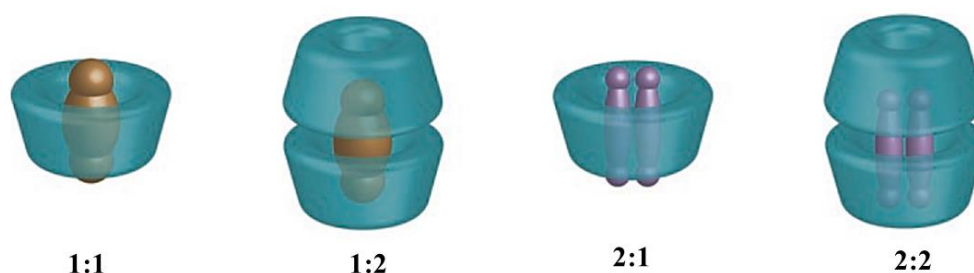


Figura 11. Diferentes estequiometrías [huésped--anfitrión] en los complejos de inclusión.

El tipo de interacciones establecidas entre las moléculas huésped y anfitrión durante la formación del complejo son de tipo no covalentes. Una variedad de interacciones no covalentes como lo son fuerzas de van der Waals, enlaces de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo, fuerzas de dispersión de London y otras interacciones como las hidrofóbicas, son responsables de la formación de un complejo estable⁶⁶.

La carga y la polaridad de la molécula huésped juegan también un rol importante en la interacción huésped-anfitrión. Moléculas de carácter hidrofílico y con grupos ionizados por lo general son débilmente complejadas⁷⁰.

2.2.4.1 Diagrama de solubilidad de fases

Existen diversas técnicas que permiten la determinación de K_F del complejo de inclusión, las cuales se basan en evaluar los cambios de las propiedades de la molécula huésped en presencia de la CD como una función de la concentración de esta última. Uno de los enfoques más útiles y ampliamente aplicados bajo este contexto es el estudio del efecto de la concentración de la CD sobre la solubilidad de un fármaco, lo que se conoce como diagrama de solubilidad de fases⁷².

De manera general, este enfoque consiste en adicionar un mismo exceso de moles de la molécula a incluir (huésped) a soluciones con concentraciones crecientes de CD (anfitrión), bajo agitación y temperatura constantes. Dichas condiciones se mantienen hasta alcanzar el equilibrio (tiempo dependiente según sea el caso), para posteriormente analizar la concentración total de huésped solubilizada. La construcción del diagrama surge de graficar

la cantidad de huésped solubilizada, frente a la concentración de CD presente en cada caso (figura 12).

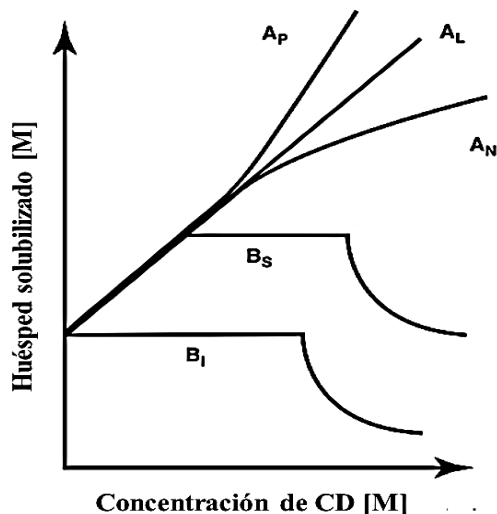


Figura 12. Diagrama teórico de solubilidad de fases.

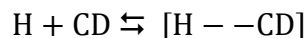
En un diagrama de solubilidad de fases pueden observarse diferentes perfiles, y de este modo proporcionarnos, además, información acerca de la posible estequiometría del complejo que se forma, es decir, dependiendo el comportamiento que se observe, éstos pueden ser diagramas de tipo A o B.

Un diagrama de tipo A es aquel donde la solubilidad del fármaco aumenta con la concentración de la CD, es decir, indica la formación de complejos de inclusión solubles en medios acuosos⁶⁸. A su vez, pueden diferenciarse 3 comportamientos, el A_L , A_P y A_N . El comportamiento A_L indica la formación de un complejo en el cual una molécula o más moléculas huésped (H) son complejadas por una molécula anfitrión (CD), esto es 1:1, 2:1, 3:1 [H--CD], y así sucesivamente. Por otro lado, un diagrama de tipo A_P denota la formación de un complejo donde una molécula huésped (H) es complejada por dos o más moléculas anfitrión (CD), es decir 1:2, 1:3, 1:4 [H--CD]. En el caso de los diagramas de tipo A_N , su interpretación puede ser un tanto compleja, puesto que el perfil que se exhibe se asocia al auto-ensamblado que las CDs pueden sufrir, formando micelas o agregados.

Los diagramas de tipo B indican la formación de complejos con solubilidad acuosa limitada. De estos diagramas pueden distinguirse 2 comportamientos, B_S y B_I . En el primero, se trata de un complejo en el cual la solubilidad aparente del huésped aumenta debido a la formación del complejo, sin embargo, se alcanza rápidamente un punto que indica la solubilidad máxima del mismo, posterior a este punto, ocurre la precipitación de éste. En cuanto al comportamiento B_I , el complejo de inclusión formado es prácticamente insoluble, no existiendo mejora alguna en la solubilidad de éste.

En general, la β CD da lugar a diagramas de tipo B debido a su baja solubilidad acuosa, mientras que los derivados de CDs tienden a producir complejos solubles, dando así lugar a diagramas de tipo A⁷³.

La estequiometría que más suele encontrarse en un complejo de inclusión es aquella donde una molécula huésped (H) es complejada por una molécula anfitrión (CD), es decir una estequiometría 1:1. Lo anterior puede representarse como:



Bajo estas condiciones, se obtendrá un diagrama de solubilidad de fases de tipo A_L , donde la constante de formación $K_{1:1}$ del complejo puede calcularse a partir de la pendiente del diagrama de solubilidad de fases, y S_0 (solubilidad intrínseca del huésped en ausencia de CD), usando la siguiente ecuación:

$$K_{1:1} = \frac{\text{pendiente}}{S_0(1 - \text{pendiente})}$$

2.2 Moléculas dendríticas

Los dendrímeros son una clase especial de macromoléculas de dimensiones nanométricas, que se caracterizan por presentar estructuras bien definidas, altamente ramificadas y monodispersas, cuyo tamaño y geometría pueden ser específicamente controladas en su síntesis⁷⁴. La estructura ramificada de las moléculas dendríticas les confiere propiedades únicas, que son sustancialmente diferentes de las de los polímeros lineales y por ende la investigación referente a éstos es de gran interés, debido a su potencial como sistemas dendríticos huésped-anfitrión, dendrímeros fotoactivos, dendrímeros para transporte y liberación controlada de fármacos, como nanofármacos, agentes de diagnóstico, para transporte de genes y en terapia fotodinámica⁷⁵.

El término “dendrímero” procede del griego *dendron* que significa árbol o rama y el sufijo *mero* que significa segmento. Lo anterior, debido a que su arquitectura es muy similar a las raíces de los árboles, o bien con las dendritas de las neuronas. Los dendrímeros, también llamados moléculas cascada, se conforman de un núcleo iniciador a partir del cual emanan capas ramificadas que están unidas covalentemente de forma radial, llamadas generaciones⁷⁶, y una periferia que presenta múltiples grupos funcionales terminales. Cuando el núcleo del dendrímero se remueve, surge cierto número de fragmentos idénticos conocidos como dendrones⁷⁷, los cuales pueden dividirse en 3 regiones diferentes, el núcleo, las ramificaciones y la periferia con los grupos terminales (figura 13).

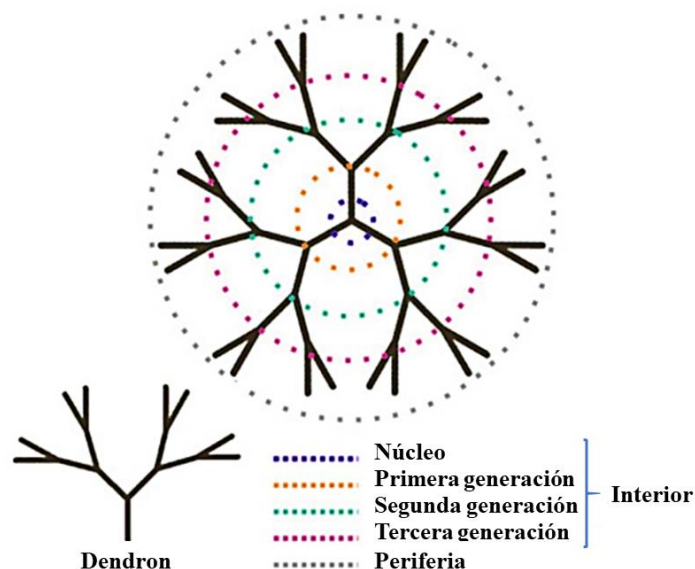


Figura 13. Estructura de un dendrímero.

Los primeros reportes sobre dendrímeros fueron publicados a finales de 1970 y principios de 1980, por los grupos de Vögtle, Denkewalter⁷⁸, Tomalia⁷⁹ y Newkome⁸⁰, quienes dieron paso a que otros grupos de investigación se unieran al campo, dando lugar a numerosos avances en la síntesis, análisis y aplicación de los dendrímeros.

La síntesis de moléculas dendríticas puede abordarse desde dos rutas diferentes, por síntesis divergente y por convergente. En el caso de la síntesis divergente, el dendrímero es sintetizado mediante etapas repetitivas desde el núcleo como punto de inicio, y tiene un crecimiento de generación tras generación hasta la periferia de éste, es decir, el dendrímero crece desde dentro hacia afuera (figura 14, A). En el caso de la síntesis convergente, la construcción del dendrímero se inicia desde la periferia hacia el núcleo de éste. Lo anterior implica que, los dendrones según la generación requerida, sean sintetizados previamente por separado, los cuales deben poseer una sola unidad reactiva, denominada punto focal, que le permite acoplarse al núcleo del dendrímero (figura 14, B).

En la síntesis divergente, se considera que el inconveniente principal es que se requiere un exceso de la unidad de crecimiento para asegurar que todos los grupos funcionales terminales reaccionen, además, a medida que las generaciones van aumentando, la purificación del producto dendrítico cada vez es más difícil. Por otro lado, en la síntesis convergente, a medida que incrementa el tamaño del dendrón, se produce también un mayor impedimento estérico en el punto focal del mismo, limitando de este modo el tamaño de las macromoléculas que puedan prepararse por esta ruta. Debido a lo anterior, ciertas arquitecturas dendríticas pueden obtenerse solamente por la combinación de ambas rutas.

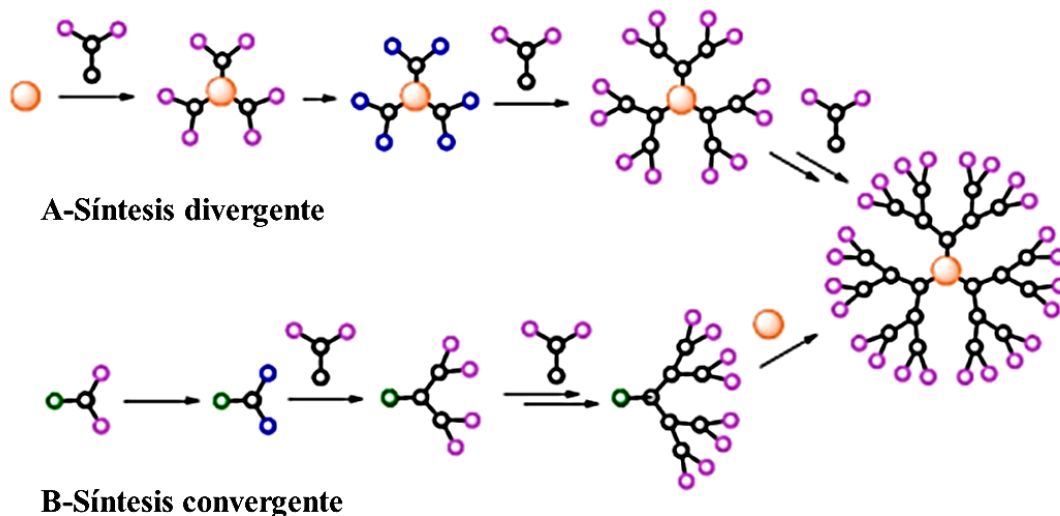


Figura 14. Rutas de síntesis de dendrímeros

Tanto la ruta divergente como convergente son métodos costosos y en general consumen tiempo, es por ello que, en la última década se han desarrollado nuevas técnicas de síntesis con el objetivo de obtener dendrímeros de altas generaciones y con mayores rendimientos, evitar purificaciones complejas y reducir el número de etapas de la reacción⁸¹. Bajo este contexto, un enfoque que permite obtener estructuras dendríticas complejas y funcionales es la “química click”, donde la reacción más ampliamente estudiada es una variante de la cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen. Sharpless y Hawker estudiaron la cicloadición 1,3-dipolar azida-alquino catalizada con Cu(I) (CuAAC, por sus siglas en inglés), que genera un heterociclo aromático de triazol (figura 15)⁸². Esta reacción se ha vuelto importante en la síntesis de moléculas dendríticas puesto que, ha permitido obtener arquitecturas sintéticamente complejas mediante procedimientos relativamente sencillos^{83,84}.

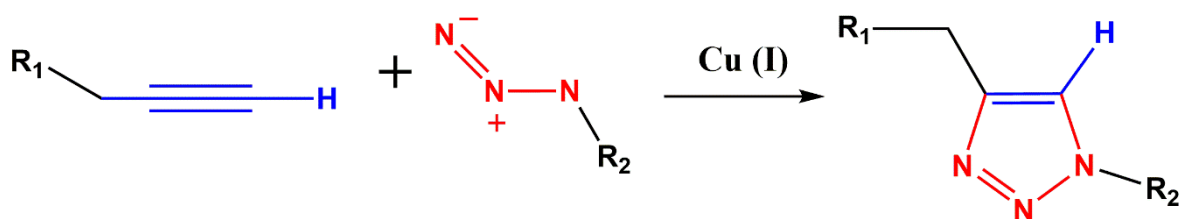


Figura 15. Esquema de reacción click catalizada por Cu(I) entre un alquino terminal y azida, resultando triazol.

Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto en los antecedentes, a continuación, se presentan la hipótesis, así como los objetivos planteados en esta tesis.

3. Hipótesis

La monosustitución de la β CD con dendrones de tipo poliéster, de primera a tercera generación, permitirá mejorar las propiedades de la β CD nativa como contenedor molecular, al aumentar su solubilidad en medios acuosos, así como extender su poder encapsulante mediante la presencia de ramificaciones en su estructura. En el caso particular, la eficiencia para encapsular a la molécula de curcumina (altamente hidrofóbica) será mayor en comparación con lo que se obtiene con la β CD nativa, este aumento deberá ser directamente proporcional al crecimiento de generación dendrítica, dada la presencia de una mayor cantidad de grupos hidroxilos en la periferia.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Estudiar el desempeño de derivados dendríticos de β CD monosustituidos con dendrones de tipo poliéster, de primera a tercera generación, para aumentar la solubilidad acuosa y la estabilidad de la curcumina, en función de la generación dendrítica, tomando como referencia a la β CD nativa.

4.2 Objetivos Particulares

1. Sintetizar dendrones de tipo poliéster de primera a tercera generación con punto focal alquino y la mono-(6-azido-6-deoxi)- β -ciclodextrina a partir de la β CD nativa.
2. Sintetizar derivados dendríticos de β CD monosustituidos, de primera a tercera generación, mediante la cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (reacción click).
3. Caracterizar los productos obtenidos mediante RMN ^1H , RMN ^{13}C , FT-IR y espectrometría de masas.
4. Construir diagramas de solubilidad de fases de los derivados dendríticos de β CD de primera a tercera generación, así como el de la β CD nativa, utilizando como molécula huésped a la curcumina, con el fin de estimar, por un lado, la estequiometría en la que se forman los complejos de inclusión entre dichas moléculas, y por otro la constante de formación aparente (K_F) en estos sistemas.
5. Obtener complejos de inclusión entre curcumina y derivados dendríticos de β CD de primera a tercera generación, y entre curcumina y β CD nativa, haciendo uso de los métodos de liofilización y co-precipitación en las estequiometrías estimadas, para mejorar la solubilidad acuosa de la curcumina.

6. Elaborar mezclas físicas entre curcumina y los derivados dendríticos de β CD de primera a tercera generación, y entre curcumina y β CD nativa, para confirmar el encapsulamiento en los complejos obtenidos mediante liofilización y co-precipitación.
7. Caracterizar los complejos formados, mediante diferentes técnicas, como las espectroscópicas (FT-IR y UV-Vis), y caracterizar tanto de los complejos como mezclas físicas mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC).
8. Explorar preliminarmente, mediante simulaciones moleculares, la estructura adoptada por los complejos entre curcumina y β CD nativa, y entre curcumina y los derivados dendríticos de β CD de primera a tercera generación, empleando funcionales de la densidad (DFT) como nivel de teoría (Colaboración con la Dra. A. Estrella Ramos Peña).

5. Desarrollo experimental

5.1 Reactivos

Curcumina cristalina (98% w/w), β -Ciclodextrina (β CD, $\geq 97\%$ w/w), ácido *p*-toluenosulfónico monohidratado (*p*-TsOH monohidratado, 98% w/w), azida de sodio (NaN_3 , 98% w/w), ácido 2,2-bis(hidroxi metil)propiónico (bis-MPA, 98%), 2,2-dimetoxipropano (98% w/w), 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 99% w/w), resina ácida Dowex® 50WX2 100-200 mesh, 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 98% w/w), sulfato de cobre (II) pentahidratado (CuSO_4 pentahidratado, $\geq 98\%$ w/w), L-(+)-ascorbato de sodio ($\geq 98\%$ w/w), CaH_2 grado reactivo (95% w/w), bromuro de propargilo (solución en tolueno, 80 %w), hidróxido de sodio (NaOH , $\geq 98\%$ w/w), hidróxido de potasio (KOH , $\geq 97\%$ w/w) y sulfato de magnesio anhidro (MgSO_4 anhidro, $\geq 99.5\%$ w/w) fueron adquiridos de SIGMA-ALDRICH (St. Louis MO, USA). *p*-toluensulfonato de 4-(dimetilamino) piridina (DPTS)* y 1-(*p*-toluensulfonil)imidazol.*

5.2 Disolventes

Acetona, metanol (MeOH), diclorometano (CH_2Cl_2), dimetilsulfóxido (DMSO), N, N-dimetilformamida (DMF) etanol (EtOH), hexano y acetato de etilo (AcOEt) fueron adquiridos en TecsiQuim. Así mismo se empleó agua ultra pura (milli-Q) con un valor de resistividad de $18.2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$ y 2 ppb de trazas de carbono-oxígeno.

5.3 Equipos

Infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR): Thermo Scientific Nicolet 6700

Espectrómetro UV-Visible (UV-Vis): UV300 UNICAM

Calorímetro diferencial de barrido (DSC): Universal V4.5A TA Instruments USA. (Todos los experimentos se llevaron a cabo en atmósfera de N_2 con una rampa de calentamiento de $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ en un intervalo de temperatura de 25-250 $^\circ\text{C}$).

Liofilizador: Labconco FreeZone1

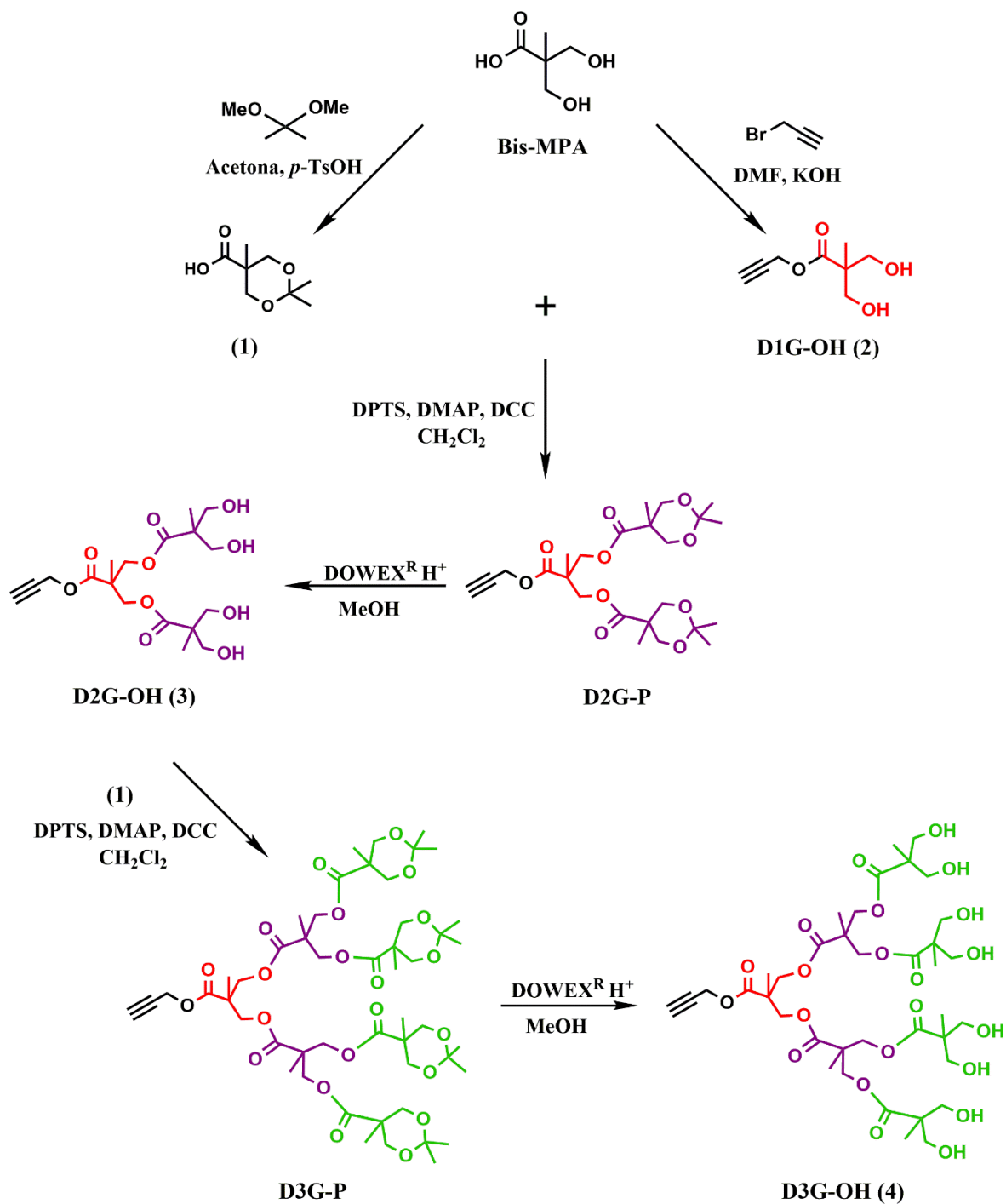
Espectrómetro de masas: JEOL JMS AX505 HA (IE), Bruker omni-flex (MALDI-TOF), Bruker Squire 6000 (ESI) y JEOL JMS AX102A (FAB)

Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN): Jeol Eclipse 300 MHz y Bruker Avance 400 MHz y 100 MHz.

* Estos reactivos fueron sintetizados en el laboratorio E-105 del Instituto de Investigaciones en Materiales por el M. en C. Luis José López Méndez bajo la asesoría de la Dra. Patricia Guadarrama Acosta.

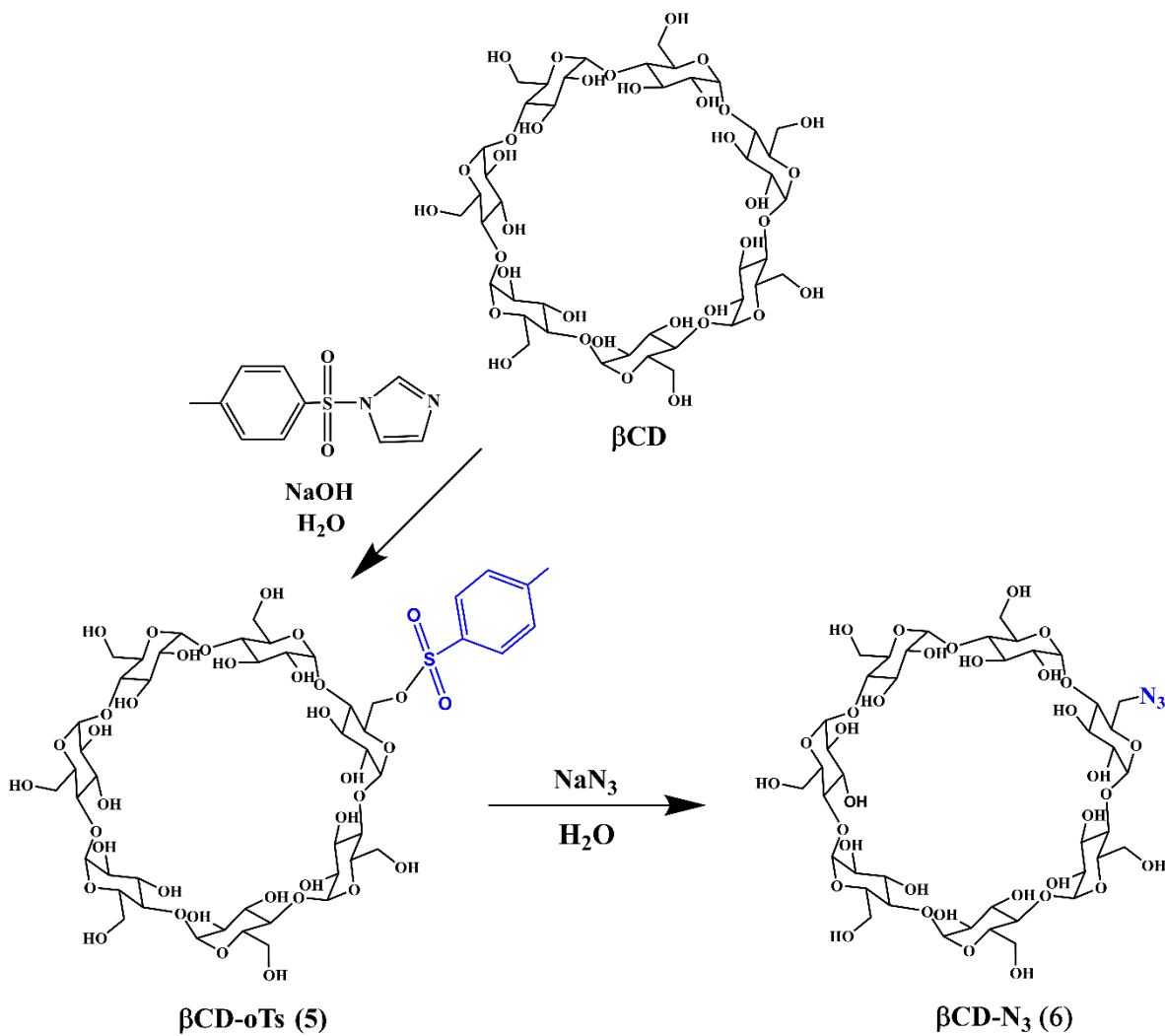
5.4 Estrategia sintética

El esquema 1 muestra la ruta sintética seguida para la obtención de los dendrones de tipo poliéster de primera (D1G-OH), segunda (D2G-OH) y tercera generación (D3G-OH) con punto focal alquino a partir del ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico (bis-MPA, por sus siglas en inglés)⁸⁵⁻⁸⁷.



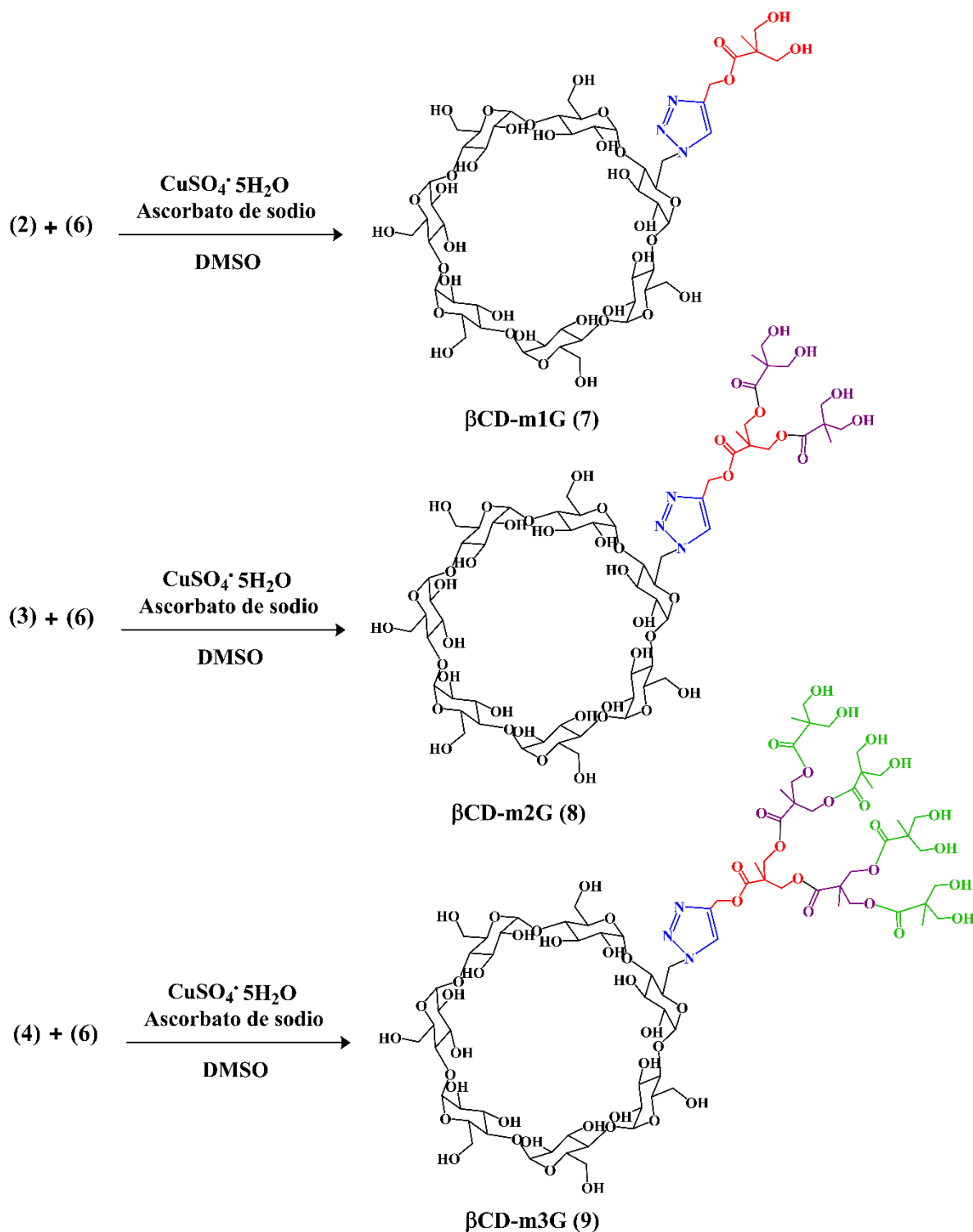
Esquema 1. Ruta sintética para la obtención de dendrones de tipo poliéster de primera a tercera generación.

La síntesis de la mono-(6-azido-6-deoxi)-β-ciclodextrina (βCD-N₃), a partir de βCD se presenta en el esquema 2^{88,89}.



Esquema 2. Ruta sintética para la obtención de la mono-(6-azido-6-deoxi)- β-ciclodextrina

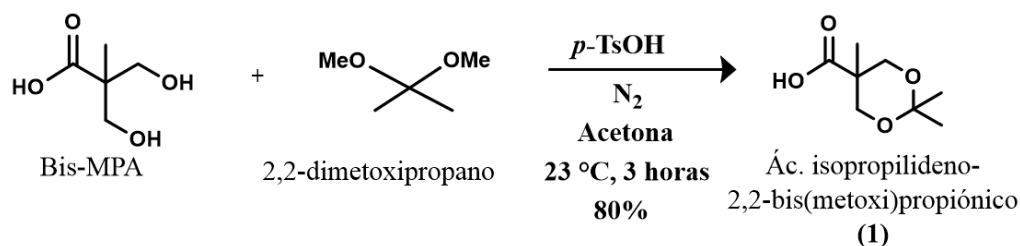
En el esquema 3, se presenta la ruta sintética para la obtención de los derivados de β CD monosustituidos con dendrones de tipo poliéster de primera (β CD-m1G), segunda (β CD-m2G) y tercera generación (β CD-m3G)⁸⁷.



Esquema 3. Ruta sintética para la obtención de los derivados de β CD con dendrones tipo poliéster de primera a tercera generación.

Metodología de síntesis

5.4.1 Ácido isopropilideno-2,2-bis(metoxi)propiónico (1)⁸⁵



En un matraz bola de 250 mL se colocan 10 g de bis-MPA (74.55 mmol), 0.71 g de *p*-TsOH monohidratado (3.73 mmol) junto con un agitador magnético, y el sistema se sella con tapón de goma. Se purga con N₂ y se adicionan 50 mL de acetona anhidra. La mezcla de reacción se mantiene en agitación durante 1 hora, posteriormente, se agregan 13.70 mL (111.83 mmol) de 2,2-dimetoxipropano, y se mantiene en agitación durante 3 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reacción, se adicionan 2 mL de una solución de NH₃/EtOH (1:1) y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se solubiliza en 150 mL de CH₂Cl₂ y se realizan 3 extracciones con 20 mL de agua. La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio (MgSO₄) y se evapora para obtener 11.69 g de **1** como un sólido blanco.

Caracterización

RMN ¹H (300 MHz, Cloroformo-*d*) δ=4.19 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 3.68 (d, *J* = 11.9 Hz, 2H), 1.45 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.21 (s, 3H).

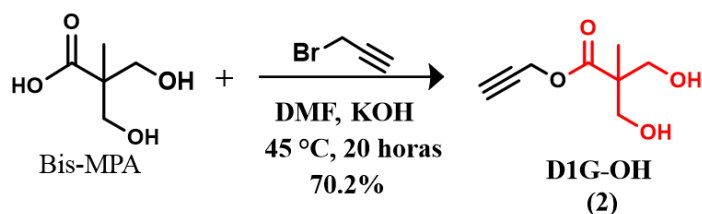
RMN ¹³C (75 MHz, Cloroformo-*d*) δ=180.10, 98.49, 66.04, 41.87, 25.42, 22.04, 18.55.

FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3416, 1717, 1069, 827.

EM-(IE⁺):*m/z* 174 [(M⁺)], 159 [M-CH₃]⁺

Formula molecular: C₈H₁₄O₄ masa calculada: 174.09 g/mol

5.4.2 Dendrón de primera generación con punto focal alquino [D1G-OH] (2)⁸⁶



En un matraz bola de 250 mL se colocan 9 g de bis-MPA (67.10 mmol), 4.03 g de KOH (71.86 mmol) y 50 mL de DMF junto con un agitador magnético. Se purga con N₂ y se mantiene en agitación a 100 °C durante 1 hora. Transcurrido el tiempo, se deja que la reacción alcance 70 °C, una vez alcanzada esta temperatura se adicionan gota a gota 9.12 mL de

bromuro de propargilo (76.69 mmol). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 45 °C durante 20 horas. Finalizado el tiempo de reacción, se evapora el disolvente a presión reducida. Posteriormente, el crudo de reacción se solubiliza en 50 mL de CH₂Cl₂ y se realizan 3 extracciones con 20 mL de agua. La fase orgánica se seca sobre MgSO₄ anhidro. Finalmente, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida para obtener 8.11 g del compuesto **D1G-OH (2)** como un sólido blanco.

Caracterización

RMN ¹H (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ=4.74 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 3.90 (d, *J* = 11.2 Hz, 2H), 3.71 (d, *J* = 11.3 Hz, 2H), 2.98 (s, 2H), 2.49 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 1.09 (s, 3H).

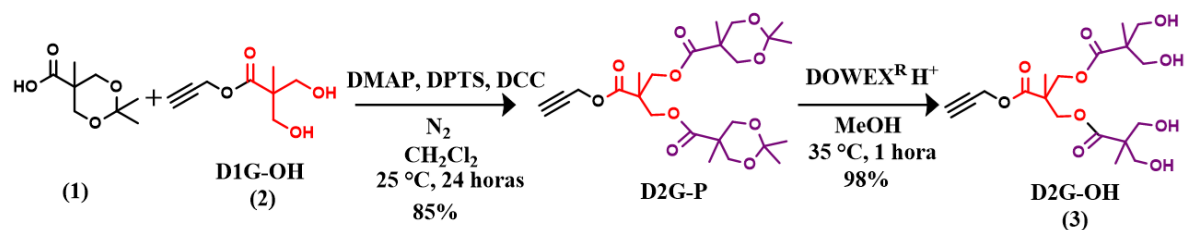
RMN ¹³C (101 MHz, Cloroformo-*d*) δ=175.05, 77.36, 75.25, 67.67, 52.47, 49.36, 17.00.

FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3375, 3276, 2944, 1721.

EM-(EI⁺): *m/z* 172 [(M⁺)], 142 (24), 124 (73), 69 (100).

Formula molecular: C₈H₁₂O₄ masa calculada: 172.018 g/mol

5.4.3 Dendrón de segunda generación con punto focal alquino [**D2G-OH (3)**]⁸⁷



En un matraz bola de 50 mL se colocan 1.06 g del compuesto **1** (6.10 mmol), 500 mg del compuesto **2** (2.90 mmol), 323.09 mg de DPTS (1.10 mmol) y 367.25 mg de DMAP (0.30 mmol) junto con un agitador magnético. El sistema se purga con N₂, y se adicionan 20 mL de CH₂Cl₂ anhidro, la mezcla de reacción se mantiene en agitación durante 1 hora, y después se lleva a la temperatura de un baño de hielo. Posteriormente, se agregan 1.51 g de DCC (7.32 mmol) disueltos en 10 mL de CH₂Cl₂ anhidro. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se filtra en un embudo de fondo poroso, y la fase orgánica se evapora a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna de silica gel, usando como eluyente hexano/AcOEt con un gradiente de elución desde 7:3 hasta 2:8, para obtener 1.20 g del compuesto **D2G-P** como un aceite incoloro. Posteriormente, en un matraz de 250 mL provisto de un agitador magnético, se colocan 500 mg del compuesto **D2G-P** (1.03 mmol) y se disuelven en 100 mL de MeOH. Una vez que se solubiliza completamente, se adicionan 1.8 g de resina ácida Dowex® 50WX2, y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a 35 °C, monitoreándose mediante cromatografía en capa fina, durante 1 hora. Finalizado el

tiempo de reacción, el crudo de reacción es filtrado, y el disolvente es evaporado a presión reducida para obtener 409 mg del producto **D2G-OH (3)** como un líquido viscoso blanco.

Caracterización

RMN ¹H (301 MHz, DMSO-*d*₆) δ=4.72 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 4.13 (s, 4H), 3.55 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 3.43 (q, *J* = 10.4 Hz, 11H), 1.19 (s, 3H), 1.02 (s, 6H).

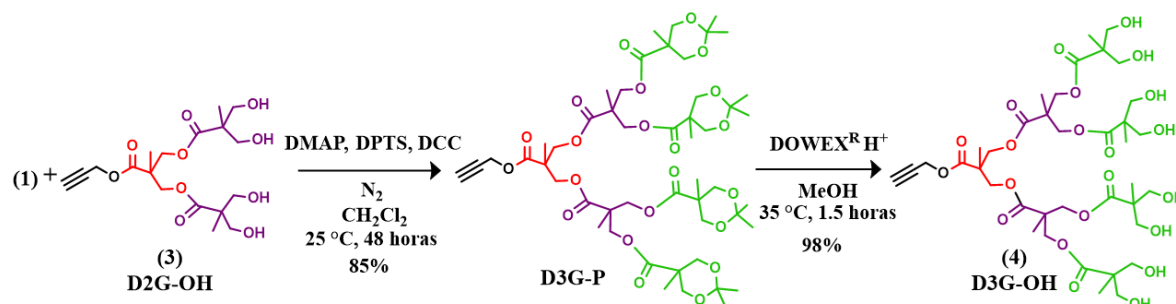
RMN ¹³C (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ=173.09, 171.51, 97.36, 77.92, 77.85, 65.00, 64.83, 52.47, 46.30, 41.49, 25.56, 21.53, 17.87, 16.99.

FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3380, 3261, 2935, 1720.

EM-(FAB⁺): *m/z* 404 [(M⁺)], 318 (6), 307 (11), 289 (13) 154 (95).

Formula molecular: C₁₈H₂₈O₁₀ masa calculada: 404.41g/mol

5.4.4 Dendrón de tercera generación con punto focal alquino [D3G-OH] (4)⁸⁷



En un matraz bola de 50 mL se colocan 0.88 g del compuesto **1** (5.07 mmol), 500 mg del compuesto **3** (1.24 mmol), 268.57 mg de DPTS (0.91 mmol) y 30.96 mg de DMAP (0.25 mmol) junto con un agitador magnético. El sistema se purga con N₂, y se adicionan 15 mL de CH₂Cl₂ anhidro, la mezcla de reacción se mantiene en agitación durante 1 hora, y después se lleva a la temperatura de un baño de hielo. Posteriormente, se agregan 1.26 g de DCC (6.08 mmol) disueltos en 10 mL de CH₂Cl₂ anhidro. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 48 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se filtra en un embudo de fondo poroso, y la fase orgánica se evapora a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna de silica gel, usando como eluyente hexano/AcOEt con un gradiente de elución desde 7:3 hasta 2:8. Se obtienen 1.08 g del compuesto **D3G-P** como un aceite incoloro. Posteriormente, en un matraz bola de 200 mL provisto de un agitador magnético, se colocan 500 mg del compuesto **D3G-P** (0.49 mmol), los cuales se disuelven en 100 mL de MeOH. Una vez que se solubiliza completamente, se adicionan 1.8 g de resina ácida Dowex® 50WX2. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 35 °C, monitoreándose mediante cromatografía en capa fina, durante 1.5 horas. Finalizado el tiempo de reacción, el crudo de reacción es filtrado, y se

lleva a sequedad para obtener 413.70 mg del producto **D3G-OH (4)** como un líquido viscoso blanco.

Caracterización

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ =4.74 (d, J = 2.5, 2 H), 4.64 (s, 8 H), 4.26 – 4.14 (m, 5 H), 4.12 (d, J =2.7, 8 H), 3.51 (t, J =2.4, 1 H), 3.48 – 3.39 (m, 18 H), 1.22 (s, 3 H), 1.18 (s, 6 H), 1.02 (d, J = 2.4, 12 H).

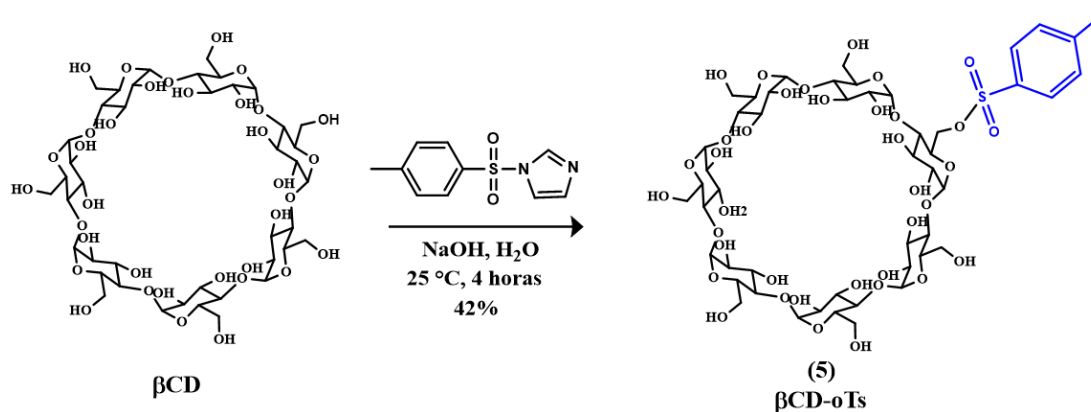
RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) δ =174.54, 172.30, 171.84, 78.47, 78.36, 66.19, 64.99, 64.27, 53.03, 17.59, 17.39, 17.19.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3376, 3285, 2937, 1723.

EM-(FAB $^+$): m/z 868 [(M $^+$)], 869 [M+H] $^+$

Formula molecular: $\text{C}_{38}\text{H}_{60}\text{O}_{22}$ masa calculada: 868.88 g/mol

5.4.5 Mono-6-O-*p*-toluensulfonil- β -ciclodextrina [$\beta\text{CD-oTs}$] (**5**)⁸⁸



En un matraz bola de 100 mL se colocan 5 g de βCD (4.41 mmol), 1.27 g de 1-(*p*-toluensulfonil)imidazol (5.72 mmol) y 50 mL de agua ultra pura junto con un agitador magnético. La mezcla de reacción se mantiene en agitación vigorosa durante 4 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, se adicionan gradualmente 8 mL de una solución acuosa de NaOH (20%, w/v) y se mantiene la agitación durante 10 minutos. Posteriormente, se filtra la mezcla de reacción y se recupera el filtrado, este se neutraliza con NH_4Cl (3.46 g, 64.68 mmol). Se recupera el precipitado formado mediante filtración, y el sólido se lava con agua fría (3x15 mL) y acetona (2x15 mL). Posteriormente, se seca al vacío para obtener 2.39 g del compuesto $\beta\text{CD-oTs}$ (**5**) como un sólido blanco.

Caracterización

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ =7.79 – 7.69 (m, 2H), 7.43 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 5.86 – 5.55 (m, 13H), 4.84 (s, 4H), 4.77 (s, 2H), 4.50 (s, 3H), 4.32 (s, 1H), 4.23 – 4.15 (m, 1H), 3.72 – 3.43 (m, 25H), 3.25 – 3.15 (m, 2H), 2.43 (s, 3H).

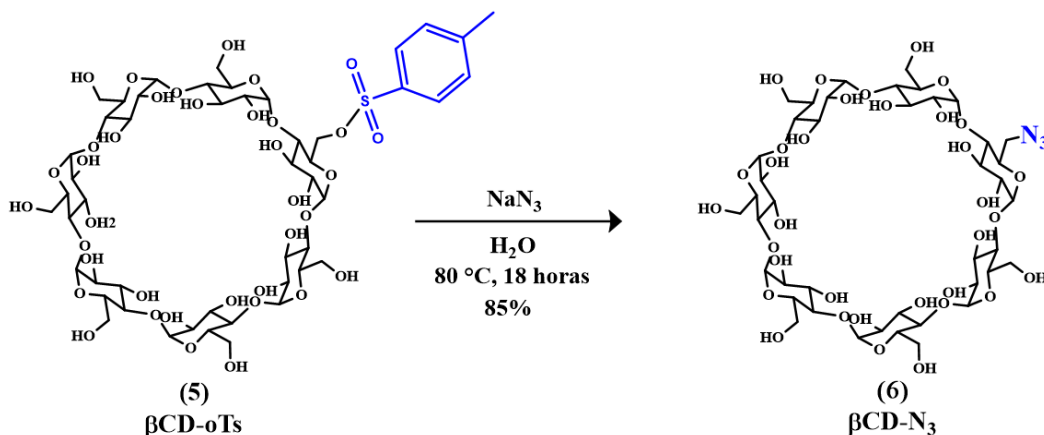
RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ =144.81, 132.69, 129.89, 127.58, 102.25, 101.94, 101.29, 81.51, 81.19, 80.78, 73.07, 72.38, 72.05, 59.92, 21.20.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3284, 2922, 1645, 1411, 1323, 1152, 1025.

EM-(ESI $^+$): m/z 1311 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Formula molecular: $\text{C}_{49}\text{H}_{76}\text{O}_{37}\text{S}$ masa calculada: 1289.17 g/mol

5.4.6 Mono-(6-azido-6-deoxi)- β -ciclodextrina [$\beta\text{CD-N}_3$] (6)⁸⁹



En un matraz bola de 100 mL, se colocan 2.5 g del compuesto **7** (1.93 mmol) y 30 mL de agua ultra pura con un agitador magnético. La suspensión resultante se mantiene en agitación a $80\text{ }^\circ\text{C}$ durante 4 horas, con lo que la mezcla se vuelve incolora. Posteriormente, se adicionan 1.65 g de NaN_3 (25.51 mmol), y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a $80\text{ }^\circ\text{C}$ y en reflujo durante 18 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se evapora aproximadamente una cuarta parte de agua a presión reducida. La solución resultante, se precipita con 400 mL de acetona. Finalmente, el sólido se filtra en un embudo Büchner y se seca al vacío, para obtener 1.91 g del compuesto $\beta\text{CD-N}_3$ (6) como un sólido blanco.

Caracterización

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ =5.80–5.69 (m, 14H), 5.64 (s, 1H), 4.87 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 4.83 (d, J = 3.1 Hz, 6H), 3.76 (dd, J = 11.0, 5.9 Hz, 1H), 3.70–3.59 (m, 20H), 3.56 (d, J = 8.4 Hz, 8H), 3.29 (d, J = 7.3 Hz, 10H).

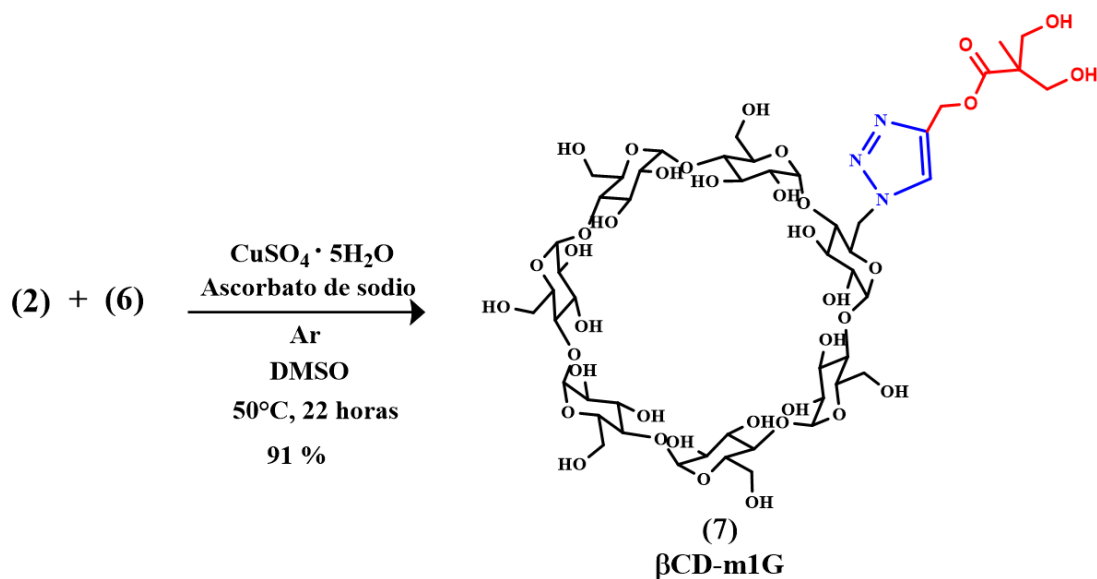
RMN ^{13}C (176 MHz, DMSO- d_6) δ = 102.75, 102.41, 102.07, 82.34, 82.02, 81.87, 73.52, 72.89, 72.51, 60.37.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3284, 2924, 2103, 1646, 1361, 1152, 1029.

EM-(MALDI-TOF): m/z 1160 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Formula molecular: $\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{N}_3\text{O}_{34}$ masa calculada: 1160.0 g/mol

5.4.7 Derivado de βCD monosustituido de primera generación [$\beta\text{CD-m1G}$] (7)⁸⁷



En un matraz bola de 25 mL provisto de un agitador magnético, se colocan 82.97 mg del compuesto **2** (0.48 mmol), 430 mg del compuesto **6** (0.37 mmol), 12.03 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.05 mmol) y 6 mL de DMSO. Se evacua el oxígeno del sistema mediante vacío, y posteriormente, se purga con Argón. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 50 °C, durante 30 minutos. Posteriormente, se adiciona una solución con 29.60 mg de ascorbato de sodio (0.15 mmol) en 1 mL de agua ultra pura. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 50 °C durante 22 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se evapora completamente el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se precipita en 150 mL de acetona. Posteriormente, el sólido se filtra en un embudo Büchner y es secado al vacío, para obtener 449.38 mg del compuesto $\beta\text{CD-m1G}$ (**7**) como un sólido cristalino.

Caracterización

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ =8.02 (s, 1H), 5.58 (s, 12H), 5.10 (s, 2H), 5.03 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 4.89–4.87 (m, 1H), 4.86 – 4.82 (m, 7H), 4.80 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 4.77 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 4.58 (dd, J = 14.4, 8.3 Hz, 2H), 4.00 – 3.95 (m, 3H), 3.72 (d, J = 9.1 Hz, 4H), 3.64 (td, J = 17.8, 15.2, 8.7 Hz, 23H), 3.56 (s, 7H), 3.50 (d, J = 11.9 Hz, 4H), 3.41 (d, J = 10.5

Hz, 4H), 3.36 (dd, $J = 12.6, 6.1$ Hz, 7H), 3.31 (s, 7H), 3.25 (dd, $J = 9.7, 3.2$ Hz, 2H), 1.04 (s, 3H).

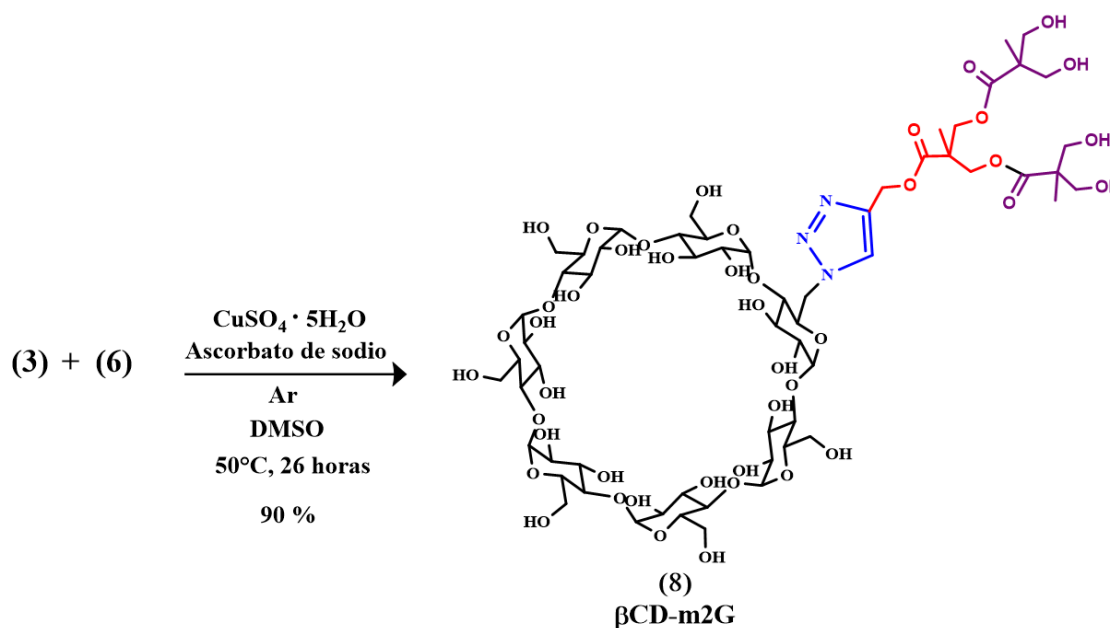
RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) δ =174.95, 142.68, 125.59, 83.88, 82.51, 82.00, 81.60, 73.66, 73.52, 73.45, 73.29, 73.16, 72.88, 72.75, 72.70, 72.51, 72.23, 70.46, 64.37, 64.34, 60.62, 60.29, 59.47, 57.71, 50.79, 17.29.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3300, 2921, 1727, 1022.

EM-(MALDI-TOF): m/z 1354 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Formula molecular: $\text{C}_{50}\text{H}_{81}\text{N}_3\text{O}_{38}$ masa calculada: 1332.18 g/mol

5.4.8 Derivado de β CD monosustituido de segunda generación [β CD-m2G] (8)⁸⁷



En un matraz bola de 25 mL, provisto de un agitador magnético, se colocan 145.03 mg del compuesto **3** (0.36 mmol), 320 mg del compuesto **6** (0.28 mmol), 8.95 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.04 mmol) y 5 mL de DMSO. Se evacua el oxígeno del sistema mediante vacío, y posteriormente, se purga con Argón. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 50 °C, durante 30 minutos. Posteriormente, se adiciona una solución con 22.02 mg de ascorbato de sodio (0.11 mmol) en 1 mL de agua ultra. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 50 °C durante 26 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se evapora completamente el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se precipita en 140 mL de acetona. Posteriormente, el sólido se filtra en un embudo Büchner y es secado al vacío, para obtener 388.41 mg del compuesto β CD-m2G (**8**).

Caracterización

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ =8.05 (s, 1H), 5.20–5.13 (m, 2H), 5.05 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 4.86 (d, J = 18.8 Hz, 13H), 4.61 (dd, J = 14.5, 7.7 Hz, 2H), 4.12 (s, 5H), 3.98 – 3.93 (m, 3H), 3.60 (dd, J = 30.3, 0.0 Hz, 47H), 3.46 (d, J = 10.4 Hz, 7H), 3.39 (d, J = 10.4 Hz, 9H), 3.32 (dddd, J = 34.3, 25.1, 9.7, 0.0 Hz, 22H), 1.18 (s, 3H), 1.00 (s, 6H).

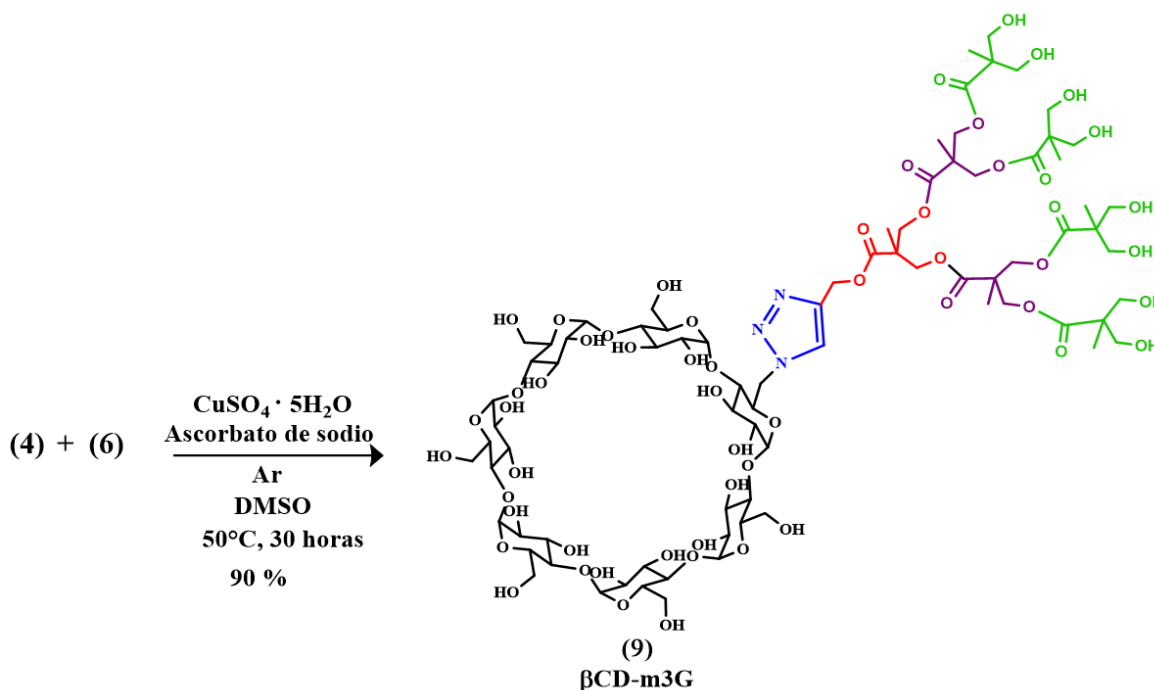
RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) δ =174.10, 172.25, 162.33, 141.30, 126.05, 101.95, 81.54, 73.32 – 71.75, 64.74, 63.71, 59.89, 57.89, 50.31, 46.22, 17.17, 16.69.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3316, 2935, 1727, 1020.

EM-(MALDI-TOF): m/z 1564 $[\text{M}]^+$

Formula molecular: $\text{C}_{60}\text{H}_{97}\text{N}_3\text{O}_{44}$ masa calculada: 1564.41 g/mol

5.4.9 Derivado de βCD monosustituido de tercera generación [$\beta\text{CD-m3G}$] (9)⁸⁷



En un matraz bola de 25 mL se colocan 253.17 mg del compuesto **4** (0.29 mmol), 260 mg del compuesto **6** (0.22 mmol), 7.28 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.03 mmol) y 5 mL de DMSO. Se evacua el oxígeno del sistema mediante vacío, y posteriormente, se purga con Argón. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 50 °C, durante 30 minutos. Posteriormente, Se agrega una solución con 17.89 mg de ascorbato de sodio (0.09 mmol) en 1 mL de agua ultra pura. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a 50 °C durante 30 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se evapora completamente el disolvente a presión

reducida. El crudo de reacción se precipita en 150 mL de acetona. Posteriormente, el sólido se filtra en un embudo Büchner y es secado al vacío, para obtener 409.27 mg del compuesto β CD-m3G (9) como un sólido cristalino.

Caracterización

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ =8.03 (s, 1H), 5.22 – 5.12 (m, 2H), 5.07 – 5.02 (m, 1H), 4.88 – 4.77 (m, 12H), 4.62 (dd, $J = 14.1, 5.9$ Hz, 2H), 4.20 – 4.16 (m, 5H), 4.10 (s, 10H), 3.96 – 3.90 (m, 4H), 3.68–3.53 (m, 39H), 3.47 – 3.44 (m, 9H), 3.40 (d, $J = 10.5$ Hz, 9H), 3.37 – 3.24 (m, 24H), 1.17 (s, 3H), 1.13 (s, 6H), 1.01 (s, 12H).

RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) δ =174.10, 171.88, 171.80, 143.87, 141.12, 126.32, 101.95, 101.95, 81.50, 81.50, 73.06, 72.42, 72.05, 65.47, 64.47, 63.71, 59.91, 59.91, 59.29, 58.02, 50.29, 46.31, 46.08, 40.43, 39.52, 17.10, 17.10, 16.98, 16.98, 16.74, 16.74.

FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3316, 2925, 1729, 1027.

EM-(MALDI-TOF): m/z 2028 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Formula molecular: $\text{C}_{80}\text{H}_{129}\text{N}_3\text{O}_{56}$ masa calculada: 2028.88 g/mol

5.5 Diagrama de solubilidad de fases

5.5.1 Preparación de la curva de calibración

Se prepara una solución stock con una concentración de 5.42 mM utilizando 2 mg de CUR disueltos en 1 mL de MeOH. A partir de la solución stock, se toman las alícuotas requeridas y se aforan a 5 mL con agua ultra pura para obtener 10 disoluciones, en un rango de concentraciones de 0.005 a 0.050 mM, las cuales, posteriormente, se analizan por UV-vis a una longitud de onda de 420 nm, correspondiente al máximo de absorción de la CUR. Sin excepción alguna, los experimentos que incluyen CUR, fueron protegidos de la luz.

5.5.2 Método general para la construcción del diagrama de solubilidad de fases

El diagrama de solubilidad de fases se construyó de acuerdo al método propuesto por Higuchi y Connors⁷² con algunas modificaciones. El procedimiento consiste en preparar soluciones acuosas de la molécula anfitrión (β CD o derivados β CD) en concentraciones crecientes, a las cuales se les adiciona el mismo exceso de milimoles de CUR. Las mezclas resultantes se mantienen en condiciones constantes: temperatura de 37 °C y agitación magnética durante 48 horas. Transcurrido el tiempo, se retira el exceso de CUR mediante filtración con una membrana millipore con un tamaño de poro de 45 μm . Tales disoluciones se analizan por UV-vis, y se cuantifica la cantidad de CUR solubilizada en cada caso, haciendo uso de la curva de calibración. Finalmente, se grafica la cantidad de CUR solubilizada frente a la cantidad de anfitrión adicionada.

5.5.2.1 Diagrama de solubilidad de fases para CUR y β CD

Se preparan 8 soluciones acuosas de β CD en un volumen de 1 mL de agua ultra pura, y en un rango de concentraciones de 0 a 15 mM. A cada una de estas soluciones se les adiciona el mismo exceso de milimoles de CUR (22.12 mg, 0.06 mmol), correspondiente a 4 veces la cantidad de milimoles contenidos en la solución acuosa de β CD más concentrada (15 mM, 0.015). Las muestras se mantienen bajo agitación magnética y a temperatura constante de 37 °C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, cada una de las soluciones es tratada de acuerdo con lo descrito en el método general para la construcción del diagrama de solubilidad de fases (sección 5.5.2).

5.5.2.2 Diagrama de solubilidad para CUR y derivado de β CD de primera generación

Se preparan 8 soluciones acuosas de β CD-m1G (7) en un volumen de 1 mL de agua ultra pura y en un rango de concentraciones de 0 a 20 mM. A cada una de estas soluciones se les adiciona el mismo exceso de milimoles de CUR (29.49 mg, 0.08 mmol), correspondiente a 4 veces la cantidad de milimoles contenidos en la solución acuosa de β CD-m1G (7) más concentrada (20 mM, 0.02 mmol). Las muestras se mantienen bajo agitación magnética y a temperatura constante de 37 °C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, las soluciones son tratadas como se describe en la sección 5.5.2 del método general para la construcción del diagrama de solubilidad de fases.

5.5.2.3 Diagrama de solubilidad para CUR y derivado de β CD de segunda generación

Se preparan 8 soluciones acuosas de β CD-m2G (8) en un volumen de 1 mL de agua ultra pura y en un rango de concentraciones de 0 a 20 mM. A cada una de estas soluciones se les adiciona la misma cantidad, en exceso, de CUR (29.49 mg, 0.08 mmol), correspondiente a 4 veces la cantidad de milimoles contenidos en la solución acuosa de β CD-m2G (8) más concentrada (20 mM, 0.02 mmol). Las muestras se mantienen bajo agitación magnética y a temperatura constante de 37 °C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, las soluciones son tratadas como se describe en la sección 5.5.2 del método general para la construcción del diagrama de solubilidad de fases.

5.5.2.4 Diagrama de solubilidad para CUR y derivado de β CD de tercera generación

Se preparan 8 soluciones acuosas de β CD-m3G (9) en un volumen de 1 mL de agua ultra pura y en un rango de concentraciones de 0 a 20 mM. A cada una de estas soluciones se les adiciona la misma cantidad, en exceso, de CUR (29.49 mg, 0.08 mmol), correspondiente a 4 veces la cantidad de milimoles contenidos en la solución acuosa de β CD-m2G (8) más concentrada (20 mM, 0.02 mmol). Las muestras se mantienen bajo agitación magnética y a temperatura constante de 37 °C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, las soluciones son tratadas como se describe en la sección 5.5.2 del método general para la construcción del diagrama de solubilidad de fases.

5.6 Formación de complejos

La formación de complejos con β CD nativa se llevó a cabo mediante dos distintos métodos encontrados en la literatura; liofilización⁴⁰ y co-precipitación⁹⁰, haciendo algunas modificaciones. Asimismo, durante la complejación de CUR se estudiaron tres relaciones estequiométricas; 1:1, 1:2 y 2:1 [CUR-- β CD], con el fin de establecer las condiciones óptimas para la formación de los complejos entre la CUR y los derivados dendríticos de β CD. Todos los productos de complejación obtenidos fueron caracterizados por espectroscopia UV-vis y FT-IR, y mediante análisis térmico de calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés).

5.6.1 Método general de liofilización

Se prepara una solución acuosa de β CD a la que se le adiciona la cantidad de CUR requerida para formar el complejo con la relación estequiométrica deseada. La mezcla resultante se lleva al sonicador durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se mantiene con agitación magnética durante 5 días a 50 °C. Transcurrido el tiempo, la solución se filtra con ayuda de una membrana millipore de 0.45 μ m. El filtrado obtenido se liofiliza para obtener un sólido. El producto obtenido es caracterizado por UV-vis, FT-IR y DSC.

5.6.1.1 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometria 1:1 obtenido por liofilización

En un matraz bola de 10 mL provisto de un agitador magnético, se prepara una solución acuosa de β CD con una concentración de 15 mM, a partir de 50 mg de β CD (0.044 mmol) disueltos en 2.94 mL de agua ultra pura. Posteriormente, 16.2 mg de CUR (0.044 mmol) son adicionados a la solución de β CD preparada previamente. La mezcla resultante se lleva al sonicador durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se mantiene con agitación magnética y temperatura de 50 °C constantes durante 5 días. Transcurrido el tiempo, la solución es tratada como se describe en la sección 5.6.1 correspondiente al método general de liofilización.

5.6.1.2 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometria 1:2 obtenido por liofilización

En un matraz bola de 10 mL provisto de un agitador magnético, se prepara una solución acuosa de β CD con una concentración de 15 mM a partir de 50 mg de β CD (0.044 mmol) disueltos en 2.94 mL de agua ultra pura. Posteriormente, 8.2 mg de CUR (0.022 mmol) son adicionados a la solución de β CD preparada previamente. La mezcla resultante se lleva al sonicador durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se mantiene con agitación magnética y temperatura de 50 °C constantes durante 5 días. Transcurrido el tiempo, la solución es tratada como se describe en la sección 5.6.1 correspondiente al método general de liofilización.

5.6.1.3 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometria 2:1 obtenido por liofilización

En un matraz bola de 10 mL provisto de un agitador magnético, se prepara una solución acuosa de β CD con una concentración de 15 mM a partir de 50 mg de β CD (0.044 mmol) disueltos en 2.94 mL de agua ultra pura. Posteriormente, 32.4 mg de CUR (0.088 mmol) son adicionados a la solución de β CD preparada previamente. La mezcla resultante se lleva al sonicador durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se mantiene con agitación magnética y temperatura de 50 °C constantes durante 5 días. Transcurrido el tiempo, la solución es tratada como se describe en la sección 5.6.1 correspondiente al método general de liofilización.

5.6.2 Método general de co-precipitación

Se prepara una solución acuosa de β CD, que se mantiene con agitación magnética y a una temperatura de 60 °C. Se calcula la cantidad de CUR requerida para formar el complejo con la relación estequiométrica deseada, misma que se disuelve en un volumen mínimo de EtOH a 60 °C. Una vez disuelta, la CUR se adiciona gota a gota a la solución acuosa de β CD preparada previamente. La mezcla resultante se mantiene en agitación vigorosa y con reflujo en temperatura constante de 70 °C durante 4 horas. Transcurrido el tiempo, la mezcla se sigue agitando a la misma temperatura sin reflujo por 1 hora para remover el EtOH, y posteriormente se deja enfriar a temperatura ambiente por 2 horas. Finalmente, las soluciones resultantes se filtran en un embudo Büchner. Por un lado, el producto sólido obtenido se filtra y se seca con vacío, mientras que la solución se liofiliza para obtener también un sólido. Ambos productos son caracterizados por UV-vis, FT-IR y DSC.

5.6.2.1 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometria 1:1 obtenido por co-precipitación

En un matraz bola de 20 mL provisto de un agitador magnético, se prepara una solución acuosa de β CD con una concentración de 60 mM a partir de 340.5 mg de β CD (0.3 mmol) disueltos en 5 mL de agua ultra pura, la cual se mantiene en agitación magnética y a una temperatura 60 °C. Por otro lado, 110.6 mg de CUR (0.3 mmol) son disueltos en 2.5 mL de EtOH a 60 °C, la solución resultante es adicionada gota a gota a la solución de β CD previamente preparada. Una vez terminada la adición, la mezcla se mantiene en agitación vigorosa y con reflujo en temperatura constante de 70 °C durante 4 horas. Transcurrido el tiempo, la mezcla se trata de acuerdo con lo descrito en la sección 5.6.2 del método general de co-precipitación.

5.6.2.2 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometria 1:2 obtenido por co-precipitación

En un matraz bola de 20 mL provisto de un agitador magnético, se prepara una solución acuosa de β CD con una concentración de 60 mM a partir de 340.5 mg de β CD (0.3 mmol) disueltos en 5 mL de agua ultra pura, la cual se mantiene en agitación magnética y a una

temperatura 60 °C. Por otro lado, 55.3 mg de CUR (0.15 mmol) son disueltos en 2 mL de EtOH a 60 °C, la solución resultante es adicionada gota a gota a la solución de β CD previamente preparada. Una vez terminada la adición, la mezcla se mantiene en agitación vigorosa y con reflujo en temperatura constante de 70 °C durante 4 horas. Transcurrido el tiempo, la mezcla se trata de acuerdo con lo descrito en la sección 5.6.2 del método general de co-precipitación.

5.6.2.3 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometria 2:1 obtenido por co-precipitación

En un matraz bola de 20 mL provisto de un agitador magnético, se prepara una solución acuosa de β CD con una concentración de 60 mM a partir de 340.5 mg de β CD (0.3 mmol) disueltos en 5 mL de agua ultra pura, la cual se mantiene en agitación magnética y a una temperatura 60 °C. Por otro lado, 221.20 mg de CUR (0.6 mmol) son disueltos en 5 mL de EtOH a 60 °C, la solución resultante es adicionada gota a gota a la solución de β CD previamente preparada. Una vez terminada la adición, la mezcla se mantiene en agitación vigorosa y con reflujo en temperatura constante de 70 °C durante 4 horas. Transcurrido el tiempo, la mezcla se trata de acuerdo con lo descrito en la sección 5.6.2 del método general de co-precipitación.

5.6.2.4 Complejo entre CUR y β CD nativa con estequiometria 2:1 con concentración de 20 mM obtenido por co-precipitación

En un matraz bola de 15 mL, provistos de un agitador magnético, se prepara una solución acuosa de β CD con una concentración de 20 mM a partir de 68.1 mg de β CD (0.06 mmol) disueltos en 3 mL de agua ultra pura, la cual se mantiene en agitación magnética y a una temperatura 60 °C. Por otro lado, 44.24 mg de CUR (0.12 mmol) son disueltos en 1.5 mL de EtOH a 60 °C, la solución resultante es adicionada gota a gota a la solución de β CD previamente preparada. Una vez terminada la adición, la mezcla se mantiene en agitación vigorosa y con reflujo en temperatura constante de 70 °C durante 4 horas. Transcurrido el tiempo, la mezcla se trata de acuerdo con lo descrito en la sección 5.6.2 del método general de co-precipitación.

5.6.3 Formación de complejos entre CUR y derivados dendríticos de β CD

De los métodos y estequiometrias establecidas para la formación de complejos entre CUR y β CD, al usar método de co-precipitación con la estequiometria 2:1 [CUR-- β CD], la cantidad de CUR encapsulada es mayor frente al método de liofilización (mismo que se detalla en la sección 6.5 de Análisis de Resultados). En ese sentido, dichas condiciones fueron utilizadas para la formación de complejos entre CUR y los derivados dendríticos de β CD de primera a tercera generación.

5.6.3.1 Complejo entre CUR y derivado dendrítico de primera generación (β CD-m1G)

En un matraz bola de 15 mL, provisto de un agitador magnético, se colocan 79.93 mg de β CD-m1G (7) (0.06 mmol) y 3 mL de agua ultra pura, para obtener una concentración de 20 mM, la cual se mantiene en agitación magnética y a una temperatura de 60 °C. Por otro lado, 44.24 mg de CUR (0.12 mmol) son disueltos en 1.5 mL de EtOH a 60 °C, la solución resultante es adicionada gota a gota a la solución de β CD-m1G previamente preparada. Una vez terminada la adición, la mezcla se mantiene en agitación vigorosa y con reflujo en temperatura constante de 70 °C durante 4 horas. Adicionalmente, ya sin reflujo, se agita por 1 hora más a la misma temperatura, con el fin de remover el EtOH. Posteriormente, se deja enfriar a temperatura ambiente durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo, la solución resultante se filtra en un embudo Büchner. Finalmente, dicha solución se somete a liofilización para obtener un sólido, el cual se caracteriza por UV-vis, FT-IR y DSC.

5.6.3.2 Complejo entre CUR y derivado dendrítico de segunda generación (β CD-m2G)

En un matraz bola de 15 mL, provistos de un agitador magnético, se colocan 78.22 mg de β CD-m2G (8) (0.05 mmol) y 2.5 mL de agua ultra pura, para obtener una concentración de 20 mM, la cual se mantiene en agitación magnética y a una temperatura de 60 °C. Por otro lado, 36.86 mg de CUR (0.10 mmol) son disueltos en 1.5 mL de EtOH a 60 °C, la solución resultante es adicionada gota a gota a la solución de β CD-m2G previamente preparada. Una vez terminada la adición, la mezcla se mantiene en agitación vigorosa y con reflujo en temperatura constante de 70 °C durante 4 horas. Adicionalmente, ya sin reflujo, se agita por 1 hora más a la misma temperatura con el fin de remover el EtOH. Posteriormente, se deja enfriar a temperatura ambiente durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo, la solución resultante se filtra en un embudo Büchner. Finalmente, dicha solución se somete a liofilización para obtener un sólido, el cual caracterizado por UV-vis, FT-IR y DSC.

5.6.3.3 Complejo entre CUR y derivado dendrítico de tercera generación (β CD-m3G)

En un matraz bola de 15 mL, provistos de un agitador magnético, se colocan 137.54 mg de β CD-m3G (9) (0.067 mmol) y 3.5 mL de agua ultra pura, para obtener una concentración de 20 mM, la cual se mantiene en agitación magnética y a una temperatura de 60 °C. Por otro lado, 50 mg de CUR (0.135 mmol) son disueltos en 2 mL de EtOH a 60 °C, la solución resultante es adicionada gota a gota a la solución de β CD-m3G previamente preparada. Una vez terminada la adición, la mezcla se mantiene en agitación vigorosa y con reflujo en temperatura constante de 70 °C durante 4 horas. Adicionalmente, ya sin reflujo, se agita por 1 hora más a la misma temperatura con el fin de remover el EtOH. Posteriormente, se deja enfriar a temperatura ambiente durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo, la solución resultante se filtra en un embudo Büchner. Finalmente, dicha solución se somete a liofilización para obtener un sólido, el cual es caracterizado por UV-vis, FT-IR y DSC.

5.7 Mezclas físicas

Con la finalidad de confirmar la inclusión de la CUR en la cavidad de los contenedores moleculares (β CD nativa y derivados dendríticos de β CD de primera a tercera generación) por los métodos de liofilización y co-precipitación, se prepararon mezclas físicas para ser analizadas por DSC.

5.7.1 Método general para la elaboración de mezclas físicas

En un mortero de agata se colocan las cantidades requeridas para establecer la relación estequiométrica 2:1 entre CUR y β CD, o bien, entre CUR y los derivados dendríticos de β CD (primera a tercera generación), según sea el caso. Se mezclan con ayuda de un pistilo durante 15 minutos. El sólido obtenido, es caracterizado por DSC.

5.7.1.1 Mezcla física entre CUR y β CD nativa

En un mortero de agata se colocan 5.9 mg de CUR (0.016 mmol) y 9 mg de β CD (0.008 mmol). Con ayuda de un pistilo, se mezclan durante 15 minutos. El sólido obtenido es caracterizado por DSC.

5.7.1.2 Mezcla física entre CUR y derivado dendrítico de primera generación

En un mortero de agata se colocan 5.2 mg de CUR (0.014 mmol) y 9 mg de β CD-m1G (7) (0.007 mmol). Con ayuda de un pistilo, se mezclan durante 15 minutos. El sólido obtenido es caracterizado por DSC.

5.7.1.3 Mezcla física entre CUR y derivado dendrítico de segunda generación

En un mortero de agata se colocan 4.4 mg de CUR (0.012 mmol) y 9 mg de β CD-m2G (8) (0.006 mmol). Con ayuda de un pistilo, se mezclan durante 15 minutos. El sólido obtenido es caracterizado por DSC.

5.7.1.4 Mezcla física entre CUR y derivado dendrítico de tercera generación

En un mortero de agata, se colocan 3.7 mg de CUR (0.010 mmol) y 11 mg de β CD-m3G (9) (0.005 mmol). Con ayuda de un pistilo, se mezclan durante 15 minutos. El sólido obtenido es caracterizado por DSC.

5.8 Pruebas de solubilidad

Se llevaron a cabo pruebas de solubilidad de los derivados dendríticos de β CD puesto que contienen tanto grupos hidrofílicos como hidrofóbicos, que no permiten predecir a priori cuál será su comportamiento de solvatación frente a disolventes con diferente polaridad. La gama de disolventes a evaluar incluyó tanto no polares (hexano, y tolueno), como polares apróticos (acetato de etilo, tetrahidrofurano, diclorometano, acetona, acetonitrilo, dimetilformamida y dimetilsulfóxido) y polares próticos (etanol, metanol y agua). Asimismo, se realizaron pruebas de solubilidad para la β CD nativa con fines comparativos.

5.8.1 Método general para pruebas de solubilidad

En diferentes viales se colocan 2 mg de compuesto (β CD nativa o derivado dendrítico de β CD), y a cada vial se le adiciona 1 mL del disolvente a estudiar. La mezcla resultante se agita por 5 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se determina cualitativamente si el compuesto presenta solubilidad pobre, parcial, total o ilimitada, en cada uno de los disolventes estudiados.

5.8.1.1 Pruebas de solubilidad para β CD nativa

En 12 viales diferentes se colocan 2 mg de β CD nativa, y a cada uno se le adiciona 1 mL del disolvente a evaluar. La mezcla resultante se agita por 5 minutos a temperatura ambiente. Por último, la solubilidad del compuesto se determina cualitativamente.

5.8.1.2 Pruebas de solubilidad para derivado dendrítico de primera generación

En 12 viales diferentes se colocan 2 mg de β CD-m1G (7), y a cada uno se le adiciona 1 mL del disolvente a evaluar. La mezcla resultante se agita por 5 minutos a temperatura ambiente. Por último, la solubilidad del compuesto se determina cualitativamente.

5.8.1.3 Pruebas de solubilidad para derivado dendrítico de segunda generación

En 12 viales diferentes se colocan 2 mg de β CD-m2G (8), y a cada uno se le adiciona 1 mL del disolvente a evaluar. La mezcla resultante se agita por 5 minutos a temperatura ambiente. Por último, la solubilidad del compuesto se determina cualitativamente.

5.8.1.4 Pruebas de solubilidad para derivado dendrítico de tercera generación

En 12 viales diferentes se colocan 2 mg de β CD-m3G (9), y a cada uno se le adiciona 1 mL del disolvente a evaluar. La mezcla resultante se agita por 5 minutos a temperatura ambiente. Por último, la solubilidad del compuesto se determina cualitativamente.

5.9 Cálculos teóricos

Se realizaron optimizaciones de geometría de las estructuras propuestas (CUR, β CD, derivados de β CD y complejos entre CUR y β CD y entre CUR y derivados de β CD), considerando la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT), usando la suite de programas de cálculo de estructura electrónica Gaussian 16⁹¹. Se usó el funcional de intercambio y correlación híbrido de 3 parámetros B3LYP⁹² y la base de funciones usada para construir la densidad electrónica fue 6-31G. En las optimizaciones de geometría realizadas, se usaron dos restricciones: la forma enólica para la CUR en todo momento y una estequiometría 1:1 en los complejos.

6. Análisis de resultados

6.1 Estrategia sintética

La síntesis de los dendrones de tipo poliéster de primera a tercera generación ha sido reportada previamente; sin embargo, en el presente proyecto se incorporó la modificación del punto focal con grupos alquino, mediante la reacción del bis-MPA con bromuro de propargilo, para obtener así el dendrón de primera generación (β CD-m1G) en buenos rendimientos (arriba de 70%). A partir de este precursor se llevó a cabo la síntesis de los dendrones de segunda y tercera generación con el mismo punto focal, mediante reacciones de esterificación de Steglich (Esquema 1, sección 5.4). A continuación, se muestra una comparación de espectros de ^1H en RMN, en donde se observa claramente por integración, el crecimiento generacional.

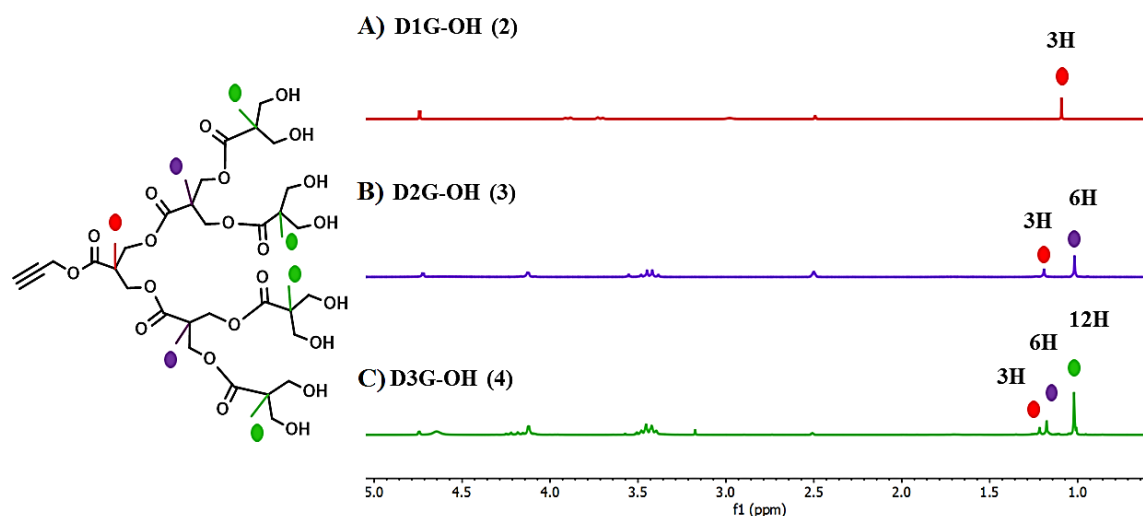


Figura 16. Espectros de RMN ^1H en DMSO-d_6 de los dendrones de primera a tercera generación

Una de las señales que permite evidenciar el crecimiento generacional de los dendrones sintetizados, es la señal correspondiente al único grupo metilo ($-\text{CH}_3$) sobre los carbonos cuaternarios. Como se observa en la figura 16, nuevas señales correspondientes a este grupo se hacen presentes, a medida que el dendrón crece. En el espectro A), la señal correspondiente al grupo $-\text{CH}_3$, es un singulete que aparece en 1.09 ppm e integra para 3 H, evidenciando un solo grupo $-\text{CH}_3$ en el dendrón de primera generación. En el caso del espectro B), las señales en forma de singuletes que aparecen en 1.19 y 1.02 ppm, corresponden a los grupos $-\text{CH}_3$ de primera y segunda generación, e integran para 3 y 6 H respectivamente. Por último, en el espectro C) se observan 3 señales en 1.22, 1.18 y 1.02 ppm, las cuales integran para 3 H, 6 H y 12 H, que corresponden a los grupos $-\text{CH}_3$ de primera, segunda y tercera generación respectivamente.

Por otro lado, siguiendo un protocolo encontrado en la literatura^{88,89}, se llevó a cabo la mono-sustitución de la β CD para obtener la mono-(6-azido-6-deoxi)- β -ciclodextrina (Esquema 2, sección 5.4). Esta reacción se realizó en dos pasos, la tosilación de un grupo hidroxilo

primario de la β CD, seguido de la azidación en presencia de NaN_3 . En el caso de la reacción de tosilación, se observa una evidente disminución del rendimiento (42%), asociada con las condiciones de reacción que sugieren tiempos cortos de exposición del medio básico, para evitar la formación de productos multi-sustituídos. En este sentido, los subproductos que se obtienen en esta reacción son materias primas. Sin embargo, la reacción de azidación procede de manera eficiente, con un rendimiento del 85%.

Comparando espectros de FT-IR, se observa en la figura 17 para el compuesto β CD- N_3 (6), la aparición de la banda correspondiente a la vibración del enlace triple del grupo azida en 2103 cm^{-1} , una vez que la monosustitución tiene lugar. Dicha banda claramente está ausente en el precursor β CD-oTs (5).

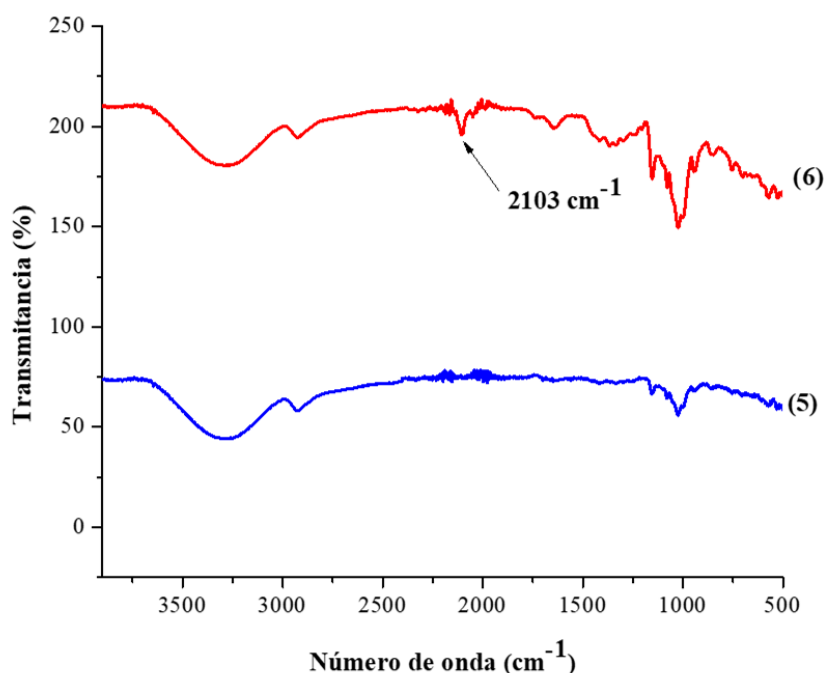


Figura 17. Espectro FT-IR comparativo de β CD-oTs (5) y β CD- N_3 (6).

Una vez sintetizados tanto los dendrones de primera a tercera generación, como la β CD mono-funcionalizada con el grupo azida, se llevó a cabo el acoplamiento, en un solo paso, mediante una cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (CuAAC), para obtener los derivados dendríticos de β CD de primera (1G), segunda (2G) y tercera generación (3G) mostrados en el esquema 3 de la sección 5.4, en excelentes rendimientos alrededor del 90%.

6.2 Pruebas de solubilidad

En la tabla 4, se muestran las pruebas de solubilidad realizadas para la β CD nativa y para los derivados dendríticos de β CD, los cuales exhiben un balance hidrofílico-hidrofóbico muy particular frente a los diferentes disolventes evaluados.

de enlaces polares (C-O y C-N) y a los grupos hidroxilo terminales, propios de la rama del dendrón en las estructuras de dichos derivados (figura 18) que generan un balance hidrofílico-hidrofóbico, dando lugar a compuestos con buena solubilidad acuosa.

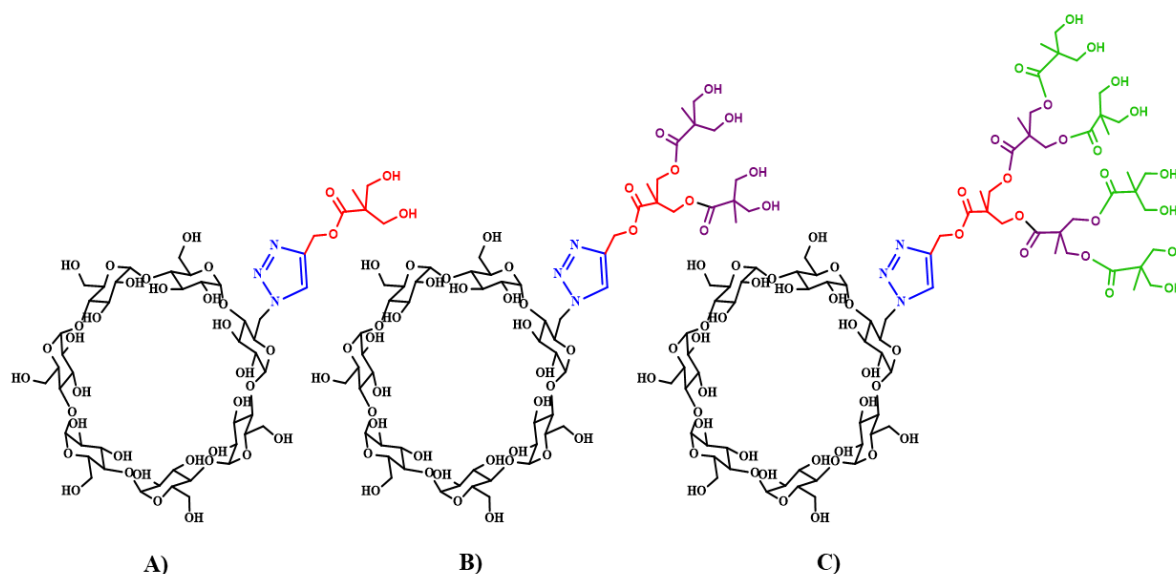


Figura 18. Estructuras de los derivados dendríticos de β CD A) 1G, B) 2G y C) 3G

6.3 Diagramas de solubilidad de fases

Como se describió en la metodología, se construyeron los diagramas de solubilidad de fases de los derivados de β CD de 1G a 3G, así como el diagrama de solubilidad de la β CD nativa, en presencia de un exceso igual de CUR, con el fin de estimar la estequiometría en la que se forman los complejos entre ella y los derivados sintetizados, además de evaluar el desempeño de estas moléculas como contenedores de CUR, altamente insoluble en agua (figura 19).

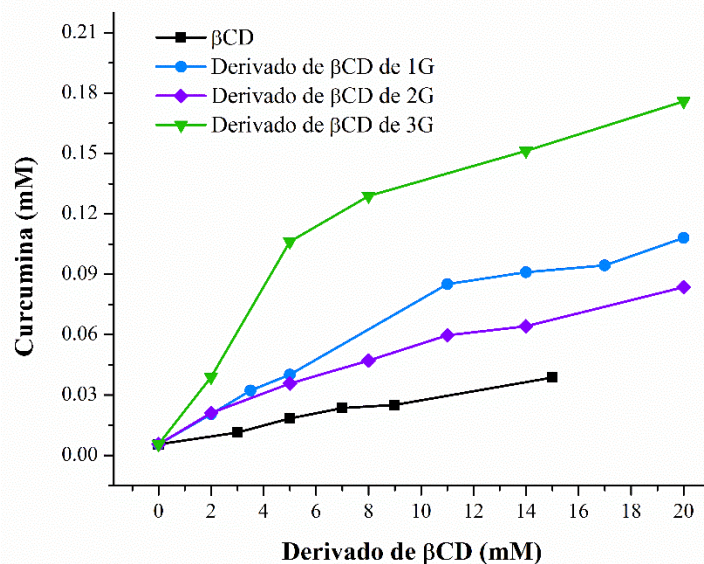


Figura 19. Diagramas de solubilidad de fases de β CD nativa y de derivados dendríticos de β CD de 1G a 3G

Al analizar los perfiles observados en los diagramas de solubilidad, de acuerdo con el método de Higuchi y Connors⁷², se determinó que corresponden al tipo A_L (comportamiento lineal), tanto para la βCD nativa como para los derivados de las tres generaciones (perfiles individuales en anexo A.10). Este tipo de diagramas de solubilidad tienen lugar cuando la solubilidad del huésped (CUR) aumenta como función de la concentración del contenedor (βCD nativa o derivados dendríticos de βCD).

En este punto, vale la pena hacer notar que, por un lado, el derivado con dendrón de 2G exhibe un comportamiento inesperado, al mostrar un desempeño inferior al derivado con dendrón de 1G. Por otro lado, el derivado con dendrón de 3G, mostró una eficiencia sobresaliente y amerita un análisis particular. Estas observaciones condujeron a un estudio teórico que se detallará más adelante.

En el rango de concentraciones del estudio, todos los derivados dendríticos exhiben un mejor desempeño para complejar y solubilizar a la CUR, en comparación con la βCD nativa, que a concentraciones mayores a 15 mM exhibe una pobre solubilidad acuosa.

Es preciso mencionar que un diagrama de solubilidad de fases solo proporciona una estimación de la posible estequiometría en la que los complejos de inclusión se forman. A partir de estos diagramas también puede estimarse un valor de la fuerza de interacción entre las moléculas que se asocian para formar un complejo, es decir una constante de formación aparente (K_F). No obstante, para conocer los valores precisos se requiere de otro tipo de estudios, como lo son los experimentos de titulaciones que pueden seguirse por técnicas espectroscópicas como UV-vis o fluorescencia, o bien por técnicas como resonancia magnética nuclear.

De acuerdo con el perfil observado en cada uno de los diagramas de solubilidad, la posible estequiometría en la que se forman los complejos entre CUR y βCD y CUR y derivados dendríticos de βCD corresponde a complejos de primer orden u orden superior con respecto al huésped, y de primer orden respecto al contenedor. Por esta razón, como se describirá en la sección 6.4, se decidió explorar la formación de complejos utilizando las relaciones estequiométricas 1:1 y 2:1 [CUR--βCD]. Sin embargo, de acuerdo con la literatura^{90,94-96}, la estequiometría 1:2 [CUR--βCD] es una de las más observadas en la formación de complejos entre CUR y βCD, por lo cual, se exploró esta estequiometría también.

Finalmente, considerando que una molécula de CUR es complejada por una molécula de contenedor (sea βCD o derivado dendrítico de βCD), a partir de la pendiente de los diagramas de solubilidad mostrados en la figura 19, se calcularon las constantes de formación aparentes (K_F) de los complejos, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$K_F = \frac{\text{pendiente}}{[S]_0(1 - \text{pendiente})}$$

Donde $[S]_0$ corresponde a la solubilidad de la CUR en ausencia del contenedor.

Los valores de las constantes de formación aparentes obtenidas se muestran en la tabla 5. Para los tres derivados dendríticos, se obtuvieron constantes mayores, que con la β CD nativa. Lo anterior indica una mayor afinidad de la CUR hacia los derivados de β CD, formándose así, complejos más estables. Con base en los valores obtenidos, se observa que, la CUR muestra una afinidad mayor al derivado dendrítico de 3G, seguida del de 1G y 2G respectivamente.

Tabla 5. Valores de las constantes de formación del complejo aparentes (K_F) para β CD nativa y derivados dendríticos.

Contenedor	K_F (M^{-1})
β CD nativa	406.30
Derivado dendrítico de 1G	941.21
Derivado dendrítico de 2G	684.38
Derivado dendrítico de 3G	1473.66

6.4 Formación de complejos de inclusión en presencia de β CD nativa

La formación de complejos entre CUR y β CD nativa, se llevó a cabo usando dos métodos: liofilización y co-precipitación, previamente ya reportados en la literatura^{87,90}, explorando tres diferentes relaciones estequiométricas: 1:1, 1:2 y 2:1 [CUR-- β CD] Los complejos de inclusión formados fueron caracterizados por espectroscopia UV-vis, FT-IR y por análisis térmico (DSC).

Los espectros UV-vis en agua ultra pura de los complejos obtenidos por el método de liofilización entre CUR y β CD nativa, así como el espectro UV-Vis de la CUR libre, son presentados en la figura 20.

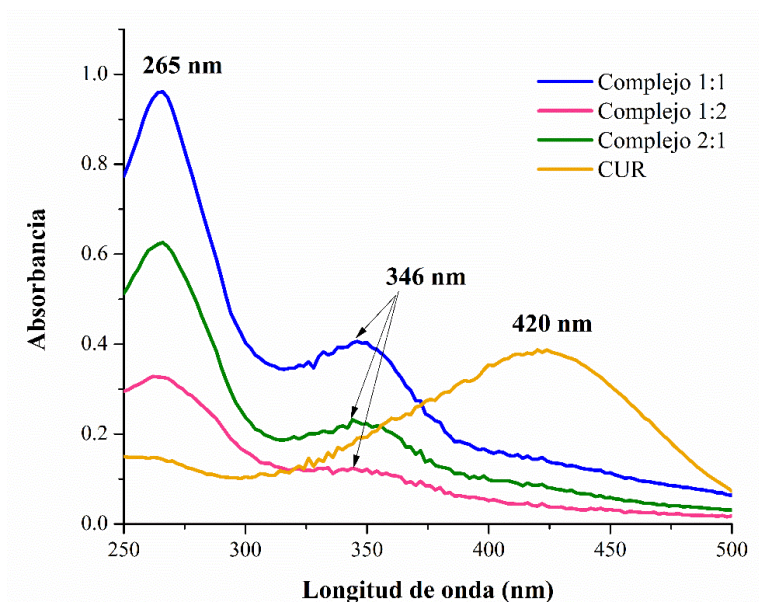


Figura 20. Espectros UV-vis en agua ultra pura de CUR (0.015 mM) y de los complejos de inclusión obtenidos en presencia de β CD nativa en distintas estequiometrías [CUR-- β CD] (1 M) mediante liofilización.

En el espectro de la CUR (amarillo), se observa un máximo de absorción a una longitud de onda de 420 nm. La presunta formación de complejos podría ser responsable de los máximos en 346 nm (líneas azul, verde y rosa), correspondientes a un desplazamiento hipsocrómico del máximo de CUR, para todas las estequiometrias estudiadas. Este tipo de desplazamientos podría asociarse, por un lado, con el costo energético mayor que representa tener un estado excitado relativamente polar, inmerso en un entorno hidrofóbico como lo es la cavidad de la β CD, y por otro, a la posible conversión del tautómero enólico de la CUR en estado libre, al tautómero ceto una vez que la complejación tiene lugar, provocando un cambio conformacional de su estructura, que resulta en una pérdida de planaridad, lo cual implícitamente implica una disminución en la conjugación electrónica de la molécula⁹⁷.

Adicionalmente, en los espectros de los complejos se observa el desarrollo de un máximo de absorción en 265 nm, que se asocia a la incorporación de O₂ y la doble ciclación del dieno conjugado presente en la estructura de la CUR, dando lugar a otro fragmento molecular (biciclopentadiona), lo cual se describe en la literatura como el principal producto de degradación de la CUR⁴⁷⁻⁴⁹. Considerando la duración de experimentación en el método de liofilización, es posible concluir que, bajo estas condiciones, la CUR se degrada en su mayoría, a pesar de que el encapsulamiento tiene lugar. Como se verá más adelante, dicho encapsulamiento se confirmó mediante análisis térmico por DSC.

Todo lo anterior nos llevó a descartar este método para la formación de complejos, implementándose entonces el método de co-precipitación para formar complejos entre CUR y β CD nativa. Como se describió en la metodología, en este método dos productos son caracterizados (sólido secado al vacío y solución liofilizada) para confirmar la formación del complejo. Los espectros UV-vis de los complejos obtenidos por el método de co-precipitación a partir del sólido secado con vacío, así como el de la CUR se muestran en la figura 21.

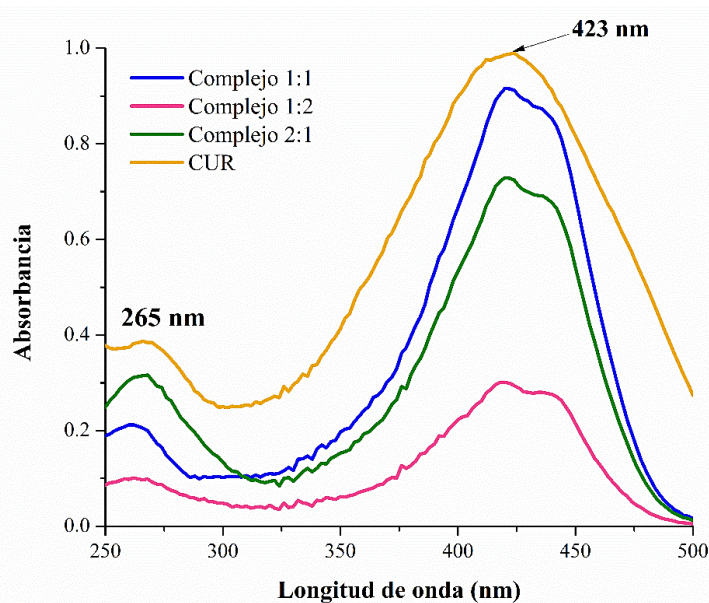


Figura 21. Espectros UV-vis en metanol de CUR (0.035mM) y de los complejos de inclusión obtenidos en presencia de β CD nativa en distintas estequiometrias [CUR-- β CD] (10 mM) mediante co-precipitación (sólido secado al vacío).

Los espectros UV-vis mostrados en azul, rosa y verde corresponden a los complejos con estequiometrías 1:1, 1:2 y 2:1 [CUR-- β CD] respectivamente, donde se observa que, en los tres casos, el máximo de absorción se encuentra a una longitud de onda de 423 nm, lo cual corresponde con el máximo de absorción de la CUR (espectro en amarillo). De lo anterior puede deducirse que, la CUR no es complejada en tales condiciones, permaneciendo en estado libre. Cabe destacar que, los espectros UV-vis de la figura 21 fueron tomados en metanol, ya que ninguno de estos complejos fue soluble en agua, evidenciando una vez más que la CUR no se encuentra encapsulada.

Una vez observado lo anterior, se procedió al análisis de los productos obtenidos a partir de la solución liofilizada del mismo método de co-precipitación. En la figura 22 se muestran los espectros UV-vis en agua ultra pura de la CUR, así como de los complejos obtenidos en presencia de β CD nativa, por el método de co-precipitación.

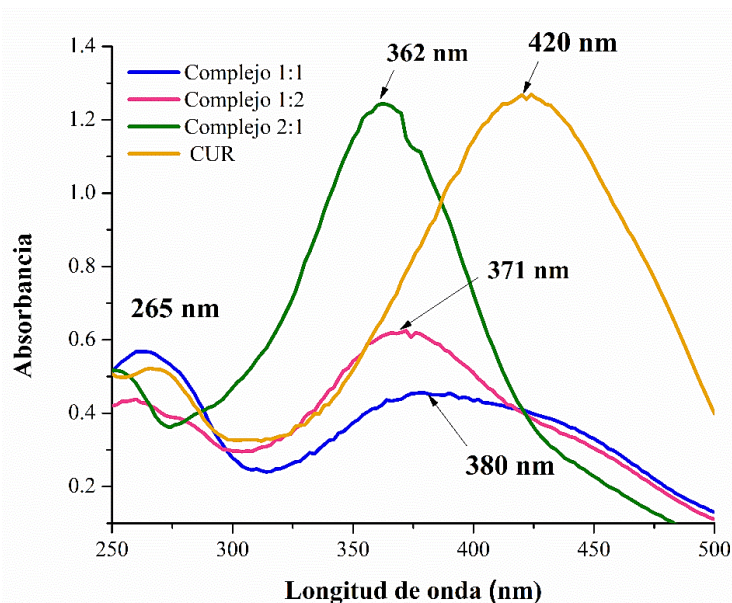


Figura 22. Espectros UV-vis en agua ultra pura de CUR (0.050 mM) y de los complejos de inclusión obtenidos en presencia de β CD nativa en diferentes estequiometrías [CUR-- β CD] (1 M) mediante co-precipitación (solución liofilizada).

En los espectros correspondientes a los tres complejos se observa nuevamente un desplazamiento hipsocrómico de los máximos de absorción de la CUR, con respecto a su máximo en estado libre (420 nm), lo cual está asociado con una menor polaridad del medio, en este caso de la cavidad de la β CD, inherentemente hidrofóbica. Asimismo, se distinguen diferencias en los espectros, dependiendo de las estequiometrías exploradas, por lo que cada caso es descrito a continuación.

En primer lugar, con la estequiometría 1:1 (espectro azul), el máximo principal de absorción se presenta en 380 nm, evidenciando la complejación de la CUR; sin embargo, la banda asociada a la degradación de la CUR en 265 nm es más prominente que el máximo en 380 nm, por lo que puede inferirse que en esta estequiometría la CUR se encapsula de manera deficiente, y la mayoría se degrada.

Por otro lado, en el espectro en rosa con la estequiometría 1:2 [CUR-- β CD], se observa el máximo de absorción en 371 nm, dicho desplazamiento hipsocrómico confirma que la CUR fue complejada. Cabe resaltar que, aunque la banda asociada a la degradación de la CUR (265 nm) está presente en el espectro, dicha banda presenta una absorbancia disminuida. Es decir, con esta estequiometría la CUR es complejada mayoritariamente.

Por último, en el espectro en verde con la estequiometría 2:1 [CUR-- β CD], el máximo de absorción que se encuentra en 362 nm corresponde a la CUR complejada. Dicha banda, exhibe, además, una prominencia equiparable a la banda correspondiente a CUR libre, y mayor a las bandas en 371 y 380 nm, atribuidas a la encapsulación de CUR en los complejos con estequiometrías 1:2 y 1:1 [CUR-- β CD] respectivamente. Por otro lado, puede observarse el desarrollo de una nueva banda de absorción en 250 nm, que presenta una absorbancia muy inferior en comparación con la absorbancia del máximo principal. Este resultado sugiere que en esta estequiometría ocurre una complejación elevada de CUR, y solo una pequeña cantidad que queda libre se degrada en algún otro fragmento, ligeramente distinto a la molécula de biciclohexadiona.

Para poder describir en detalle cómo tiene lugar la complejación de la CUR en este escenario, sería pertinente realizar estudios teóricos adicionales.

Como se mencionó anteriormente, los complejos obtenidos también se caracterizaron a través de las técnicas de espectroscopia FT-IR y DSC, las cuales son dos de las técnicas de caracterización más usadas en la literatura para la confirmación de la formación de complejos.

A continuación, se muestran los termogramas de DSC de los complejos formados en todas las estequiometrías en estudio, los cuales confirman la inclusión de la CUR en la cavidad de la β CD, mediante la desaparición del pico endotérmico correspondiente a su punto de fusión.

Como se mencionó anteriormente, aunque el método de liofilización fue descartado debido a la degradación de la CUR observada, se decidieron analizar los complejos obtenidos por este método con el fin de evidenciar la complejación, ya que no se descarta que con algunas modificaciones este método pueda optimizarse. En la figura 23 son comparados sus termogramas de DSC, así como los termogramas de sus respectivos componentes (CUR y β CD). En el termograma A) de la figura puede observarse un pico endotérmico en 183 °C, que corresponde al punto de fusión de la CUR, en contraste, el termograma B) de la β CD no presenta ninguna transición en dicha región, pero sí exhibe una en 120 °C, correspondiente a la evaporación de moléculas de agua encapsuladas en la cavidad.

En el caso de los termogramas de los complejos de inclusión formados con las distintas estequiometrías, C) 1:1, D) 1:2 y E) 2:1 [CUR-- β CD], se observa la ausencia total del pico endotérmico de la CUR, lo cual confirma que ésta fue incluida en la cavidad del contenedor, ya sea parcial o totalmente, considerando su tamaño.

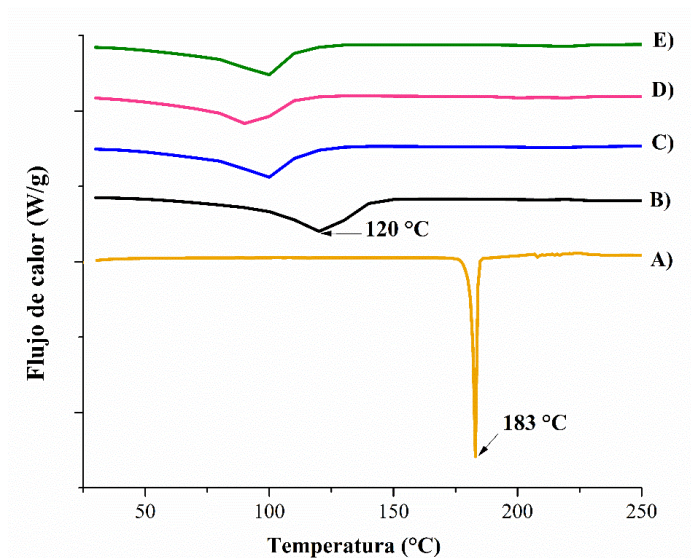


Figura 23. Termogramas de DSC de A) CUR, B) β CD nativa, y de los complejos de inclusión obtenidos en presencia de β CD nativa mediante liofilización en distintas relaciones estequiométricas [CUR-- β CD], C) 1:1, D) 1:2 y E) 2:1.

Los complejos formados por el método de co-precipitación también se analizaron por DSC. En la figura 24 se presenta la comparación de los termogramas tanto de la CUR y β CD, así como de los productos de complejación. Al igual que en el caso anterior, para todas las estequiometrias estudiadas, en los termogramas, no se observa la transición correspondiente al punto de fusión de CUR, lo que indica nuevamente la interacción de esta molécula con la cavidad de la β CD, confirmando su complejación. Así, independientemente del método utilizado, de acuerdo con el análisis anterior, la naturaleza de los complejos obtenidos es la misma, es decir la CUR pasa de un estado cristalino a un estado amorfo, lo cual es consecuencia de la formación del complejo de inclusión⁹⁸.

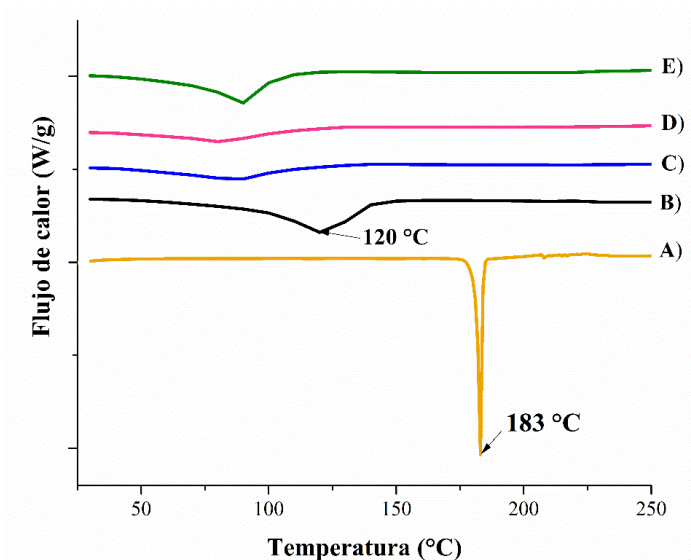
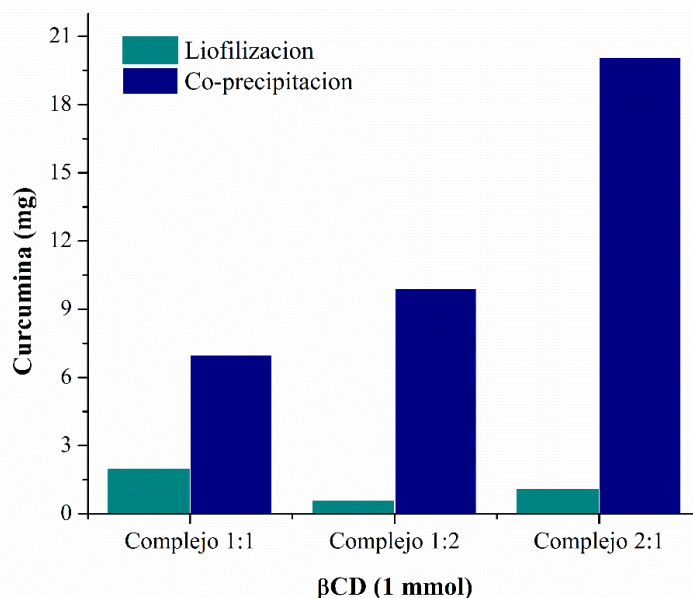


Figura 24. Termogramas de DSC de A) CUR, B) β CD nativa, y de los complejos de inclusión obtenidos en presencia de β CD nativa mediante co-precipitación en distintas relaciones estequiométricas [CUR-- β CD], C) 1:1, D) 1:2 y E) 2:1.

Los espectros FT-IR de los complejos obtenidos por ambos métodos se presentan en la sección de anexos (A.11).

Con base en el análisis de las caracterizaciones realizadas, se concluye que es posible la complejación de la CUR en las condiciones de los métodos empleados, liofilización y co-precipitación (solución liofilizada). Con el fin de determinar la eficiencia con la cual la CUR fue encapsulada en las condiciones establecidas de cada método, se realizó su cuantificación con ayuda de una curva de calibración, obtenida mediante UV-vis (sección de anexos A.12). En la gráfica 1 se presenta la cantidad de CUR encapsulada en cada uno de los complejos formados, con las distintas estequiometrias para cada método.



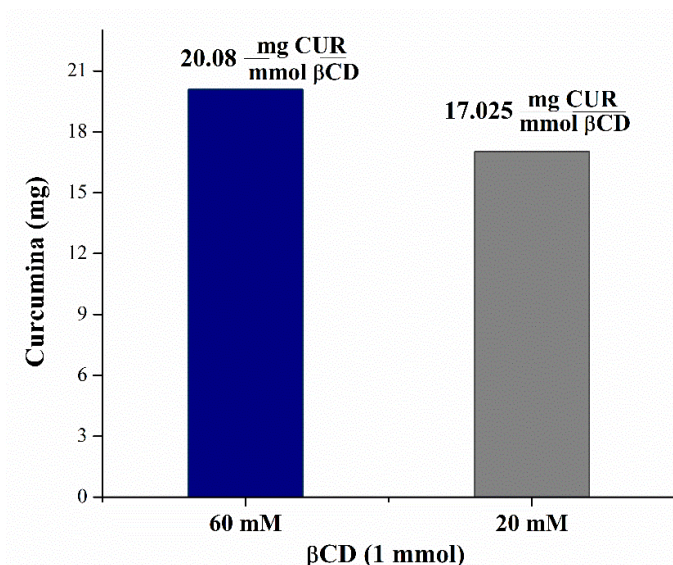
Gráfica 1. Contenido de CUR en los complejos obtenidos en presencia de β CD nativa por liofilización y co-precipitación.

Puede observarse que, de los métodos empleados, la CUR se encapsula más eficientemente bajo las condiciones descritas en el método de co-precipitación cuando se explora la estequiometría 2:1 [CUR-- β CD] al formar el complejo. En ese sentido, y considerando que la CUR no se degrada en tales condiciones, el método de co-precipitación y la relación estequiométrica 2:1 [CUR-- β CD], fueron las condiciones elegidas para la formación de los complejos entre CUR y derivados dendríticos de β CD, ya que dichas condiciones resultaron ser las más favorables en la formación de complejos entre CUR y β CD nativa.

Dado el reto sintético que implica la obtención de los derivados dendríticos de β CD, su uso como contenedores está limitado por las cantidades a emplear en la formación de complejos. Por lo anterior, fue necesario ajustar las concentraciones y evaluar si dichos ajustes no tenían un impacto notable en la eficiencia de encapsulamiento de la CUR.

Con este fin, se formó un complejo a partir de una solución acuosa de β CD nativa con una concentración de 20 mM, en lugar de 60 mM, tal y como se indica en la sección de metodología. El complejo formado bajo dichas condiciones fue caracterizado mediante espectroscopia UV-vis y FT-IR (Ver sección de anexos A.13).

En la gráfica 2, se muestra el contenido de CUR encapsulada tanto en el complejo formado a partir de la solución acuosa de β CD nativa con una concentración de 20 mM, como en el complejo inicialmente formado (solución acuosa de β CD nativa, 60 mM).



Gráfica 2. Contenido de CUR en los complejos obtenidos por co-precipitación a diferentes concentraciones.

La cuantificación de CUR encapsulada en el complejo formado (solución acuosa de β CD, 20 mM) se realizó con ayuda de una curva de calibración mediante UV-vis (ver anexos A.14), resultando 17.025 mg de CUR/mmol de β CD. Comparando con el complejo formado inicialmente (solución de β CD, 60 mM), donde se encontró que la cantidad de CUR encapsulada es 20.08 mg/mmol de β CD, puede decirse que, la cantidad de CUR encapsulada en cada caso resulta ser semejante entre sí, tal y como se observa en la gráfica 2.

Con base en lo anterior, y tomando en cuenta que con el complejo formado a partir de la solución acuosa 20 mM de β CD se disminuye la cantidad de contenedor a utilizar, dichas condiciones fueron extrapoladas para la formación de complejos entre CUR y derivados dendríticos de β CD.

6.5 Formación de complejos de inclusión en presencia de derivados dendríticos de β CD

Los complejos formados entre CUR y los derivados dendríticos de β CD de 1G a 3G fueron caracterizados mediante espectroscopia UV-vis y FT-IR (anexos A.16), así como por DSC.

En la figura 25, se muestran los espectros UV-vis en agua ultra pura de los complejos formados. Al igual que en el caso de complejos entre CUR y β CD nativa, la complejación con los derivados dendríticos provoca un desplazamiento hipsocrómico del máximo de absorción de la CUR atribuido a su complejación. En el espectro del complejo formado con el derivado de 1G (azul) se observa un máximo de absorción en una longitud de onda de 379 nm, mientras que, en el caso del derivado de 2G (morado) el máximo de absorción se presenta en 362 nm.

Por otro lado, en el espectro del complejo obtenido con el derivado de 3G (verde), es posible observar dos bandas de absorción, una en 374 nm, relacionada directamente con el evento de encapsulamiento, y la otra en 431 nm, denotando una cierta extensión del sistema conjugado de la CUR. Lo anterior podría deberse a posibles interacciones tipo π - π stacking entre moléculas de CUR confinadas en la cavidad de la β CD⁹⁹⁻¹⁰³. Este posible apilamiento podría estar promovido por las ramas del dendrón de 3G que forman una especie de extensión de la cavidad.

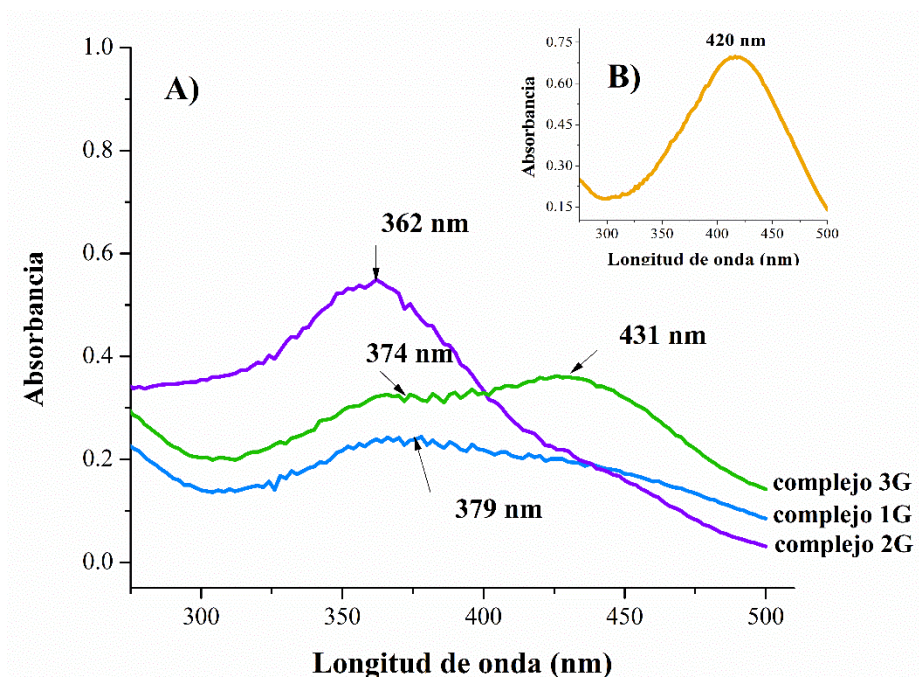


Figura 25. Espectros UV-vis en agua ultra pura de A) complejos en presencia de los derivados dendríticos de 1G (complejo 1G), 2G (complejo 2G) y 3G (complejo 3G) con estequiometría 2:1 [CUR- β CD], obtenidos por co-precipitación y B) CUR (0.025 mM).

Como se discutió anteriormente, la tautomería ceto-enólica de la CUR juega un papel muy importante, que explica el comportamiento del sistema conjugado de esta molécula. De los desplazamientos hipsocrómicos observados (figura 25), el mayor de ellos se presenta en el complejo formado con el derivado dendrítico de 2G, lo cual supone que dicho contenedor tiene un gran efecto sobre la estructura de la CUR, una vez que ha sido complejada. Dicho efecto puede ser explicado mediante cambios conformacionales en su estructura plana (forma enólica) que conducen a la completa pérdida de planaridad en su estructura (forma ceto), resultando en una menor conjugación electrónica de la CUR, aunado a la disminución de polaridad del medio en el interior de cavidad de la β CD.

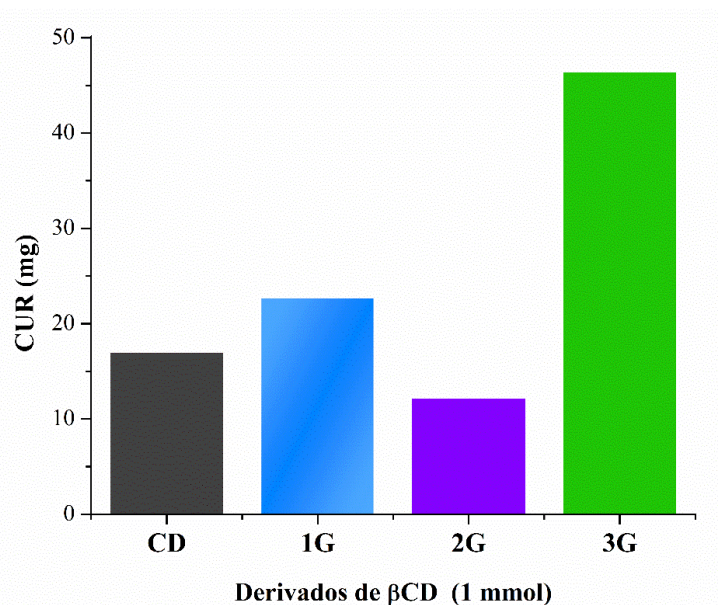
Debido a que el desplazamiento hipsocrómico observado en el complejo obtenido con el derivado dendrítico de 3G es menor que el que se observa con el derivado dendrítico de 2G, puede considerarse que dicho contenedor no favorece la conversión del tautómero enol a la forma ceto de la CUR, ya que como se mencionó antes, posiblemente el dendrón de 3G genera una extensión de la cavidad, favoreciendo interacciones de tipo π - π stacking, que son

características de moléculas con buena planaridad, lo cual sugiere que predomina la forma enólica de la CUR, una vez que ha sido complejada.

De los productos de complejación obtenidos con los derivados dendríticos de β CD, el menor desplazamiento hipsocrómico se presenta cuando la complejación se lleva a cabo en presencia del derivado dendrítico de 1G, exhibiendo de este modo un efecto menor sobre la estructura de la CUR, una vez que la complejación se lleva a cabo, provocando un ligero desplazamiento de su forma enólica a la forma ceto. Asociado a lo anterior, posiblemente por el tamaño de este contenedor, algunos fragmentos de la CUR podrían encontrarse expuestos, implicando una menor perturbación en la polaridad de su estado excitado. Dichos efectos en conjunto nos permiten explicar el desplazamiento hipsocrómico observado en este complejo.

Como se verá más adelante, se realizaron cálculos teóricos en una sola forma tautomérica (la forma enólica), lo cual limita un análisis completo de los sistemas, por lo que cálculos adicionales en la forma tautomérica ceto se sugieren como parte de un estudio a futuro.

La cuantificación de CUR en los complejos formados con los derivados dendríticos se realizó con ayuda de una curva de calibración mediante UV-vis (anexos A.15). En la gráfica 3, se muestra el contenido de CUR en cada uno de los complejos formados con los derivados dendríticos de 1 a 3G, así como con la β CD nativa.



Gráfica 3. Contenido de CUR en los complejos obtenidos por co-precipitación con estequiometría 2:1 [CUR-- β CD] en presencia de β CD nativa (gris) y derivados de β CD de 1G (azul), 2G (morado) y 3G (verde).

Al comparar la cantidad de CUR encapsulada en los productos de complejación obtenidos, puede observarse que, la complejación en presencia de los derivados dendríticos de β CD de 1G (azul) y 3G (verde) es más eficiente que cuando la complejación se lleva a cabo en presencia de β CD nativa. Con dichos derivados dendríticos, se logró encapsular alrededor de 1.33 (derivado de 1G) y 2.73 (derivado de 3G) veces más CUR que con la β CD nativa. En cambio, el desempeño que exhibe el derivado dendrítico de 2G (morado) para encapsular a

la CUR es inferior frente a los derivados dendríticos de 1G y 3G, e incluso menor al de la β CD nativa.

Como se mostrará más adelante, el desempeño para encapsular a la CUR que exhibe el derivado dendrítico de 2G se atribuye a cierta distorsión de la cavidad, causada por la interacción del dendrón con ambas caras de ésta, esto posiblemente hace que sea menos favorable la complejación, ya que implica la pre-organización del contenedor para una eventual complejación.

Los complejos formados en presencia de los derivados dendríticos de β CD de 1G a 3G, fueron caracterizados por DSC. En la figura 26, se presentan los termogramas de DSC, tanto de la CUR en estado libre como de los productos de complejación.

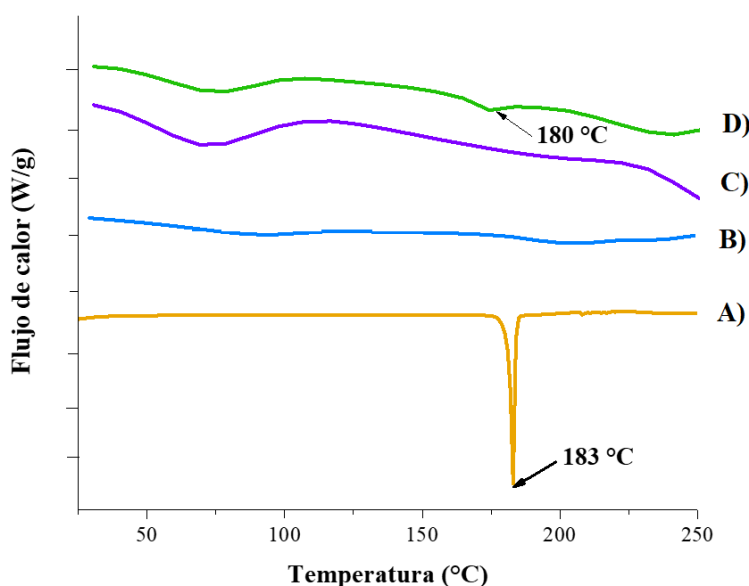


Figura 26. Termogramas de DSC de A) CUR, y complejos obtenidos en presencia de los derivados de β CD de B) 1G, C) 2G y D) 3G con estequiometría 2:1, obtenidos por el método de co-precipitación.

Es interesante destacar de la figura 26 que en el caso del complejo entre CUR y el derivado dendrítico de 2G se observa un evento endotérmico entre 60 y 100°C, muy probablemente debido a la evaporación de agua, y aunque en el correspondiente complejo con el derivado dendrítico de 3G también se observa esta transición, es menos prominente. Tomando en cuenta esta observación, el derivado de 2G estaría conteniendo una mayor cantidad de moléculas de agua, y si recordamos que una de las fuerzas motrices para la formación de complejos con CDs es la salida de moléculas de agua de la cavidad, esto estaría relacionado con el bajo desempeño de este derivado para encapsular a CUR, adicional a otros factores antes mencionados.

Por otro lado, en el caso del derivado dendrítico de 3G se observa una pequeña transición endotérmica en 180°C, muy cercana al punto de fusión de la CUR, que podría corresponder a la fusión de un número marginal de moléculas de CUR localizadas en la cavidad extendida del sistema, debida al dendrón de 3G.

6.6 Mezclas físicas

Las mezclas físicas preparadas como se describe en la metodología fueron caracterizadas por DSC. Los termogramas de dichas mezclas, así como el termograma de la CUR, son presentados en la figura 27. En los termogramas B), C), D) y E), que corresponden respectivamente a las mezclas físicas de CUR con β CD nativa, derivado de 1G, 2G y 3G, puede observarse claramente que persiste la transición correspondiente al punto de fusión de la CUR. No obstante que, en las mezclas físicas entre CUR y los derivados dendríticos de β CD de 1 y 3G se observa un ligero desplazamiento hacia menores temperaturas de dicha transición, ninguno de estos escenarios de interacción produce el encapsulamiento de la CUR.

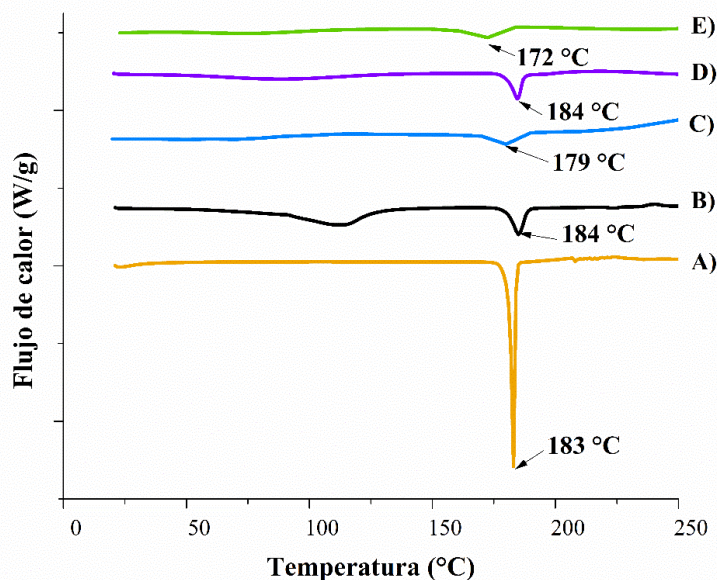


Figura 27. Termogramas de DSC de A) CUR, y mezclas físicas con B) β CD nativa, y derivados C) 1G, D) 2G y E) 3G con estequiometría 2:1 [CUR- β CD].

6.7 Cálculos teóricos

Con la finalidad de llevar a cabo una exploración preliminar de la estructura adoptada por los complejos entre CUR y β CD, tanto nativa como modificada con dendrones de 1 a 3G, se realizaron optimizaciones de geometría en vacío, empleando como nivel de teoría funcionales de la densidad (DFT). Como se mencionó en la metodología, se incorporaron dos restricciones en los cálculos: la forma enólica para la CUR en todo momento y una estequiometría 1:1 de los complejos.

En primera instancia, y como punto de referencia, se estudió el complejo entre CUR y β CD nativa. La geometría de menor energía, tanto en vista frontal como lateral, se muestra a continuación (figura 28).

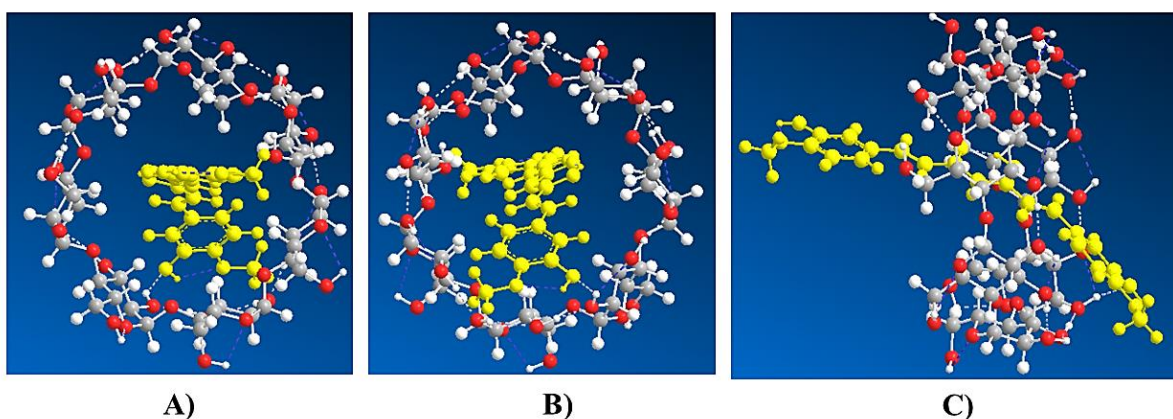


Figura 28. Interacciones en el complejo formado entre CUR (amarillo) y β CD nativa, A) cara primaria, B) cara secundaria y C) vista lateral

No obstante, el tamaño de la CUR, se puede observar la formación de un complejo en donde se establecen interacciones huésped-anfitrión, principalmente con la cara secundaria de la β CD, quedando visiblemente expuesto un fragmento de la molécula. Como consecuencia, se puede distinguir una ligera pérdida de planaridad de la CUR, lo cual puede relacionarse con los desplazamientos hipsocrómicos observados experimentalmente por UV-vis.

Para analizar la complejación de CUR en presencia de los derivados dendríticos de β CD de 1G a 3G, en primera instancia se calcularon estos contenedores en ausencia de la molécula huésped. En la figura 29, se muestran las geometrías optimizadas correspondientes a dichos contenedores.

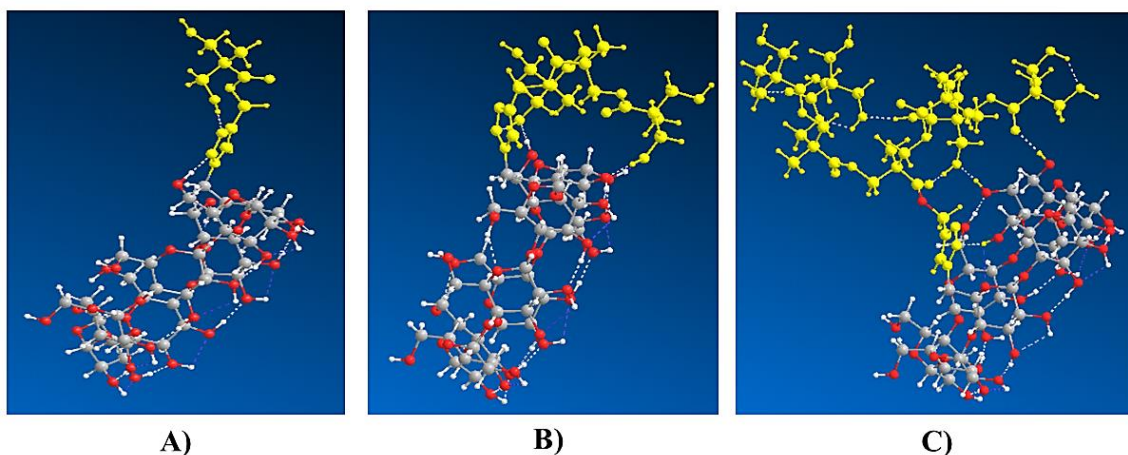


Figura 29. Geometrías optimizadas de los derivados dendríticos de β CD de A) 1G, B) 2G y C) 3G.

Para facilitar la visualización, se marcaron los dendrones en color amarillo. En general se puede observar que, independientemente de la generación, los dendrones no se introducen en la cavidad de la β CD, lo cual es favorable para una eventual complejación. Por otro lado, el único dendrón que interactúa con ambas caras de la β CD es el de 2G, causando una cierta distorsión de la cavidad. Como podría esperarse por el tamaño, el dendrón de 3G es el que abarca mayor superficie sobre la cavidad.

Una vez analizados los contenedores, se llevaron a cabo optimizaciones de geometría de los complejos entre éstos y CUR. En la figura 30 se muestra la estructura optimizada, correspondiente al complejo entre CUR y el derivado dendrítico de 1G, así como los puentes de hidrógeno que se establecen en las estructuras.

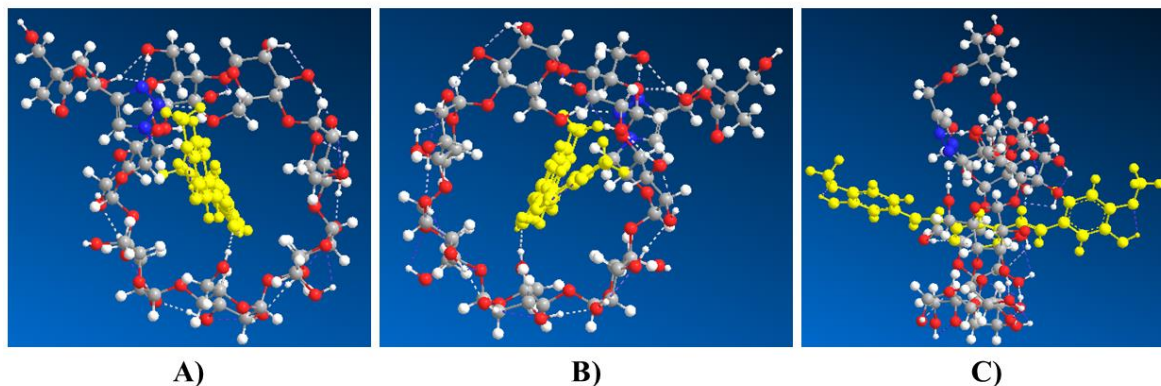


Figura 30. Interacciones en el complejo formado entre CUR (amarillo) y derivado dendrítico de β CD de 1G, A) cara primaria, B) cara secundaria y C) vista lateral.

La complejación de CUR en presencia del derivado dendrítico de 1G da lugar a interacciones huésped-anfitrión. Sin embargo, a diferencia del complejo entre CUR y β CD nativa, donde dichas interacciones se establecen principalmente con la cara secundaria, las interacciones en este caso se establecen principalmente con la cara primaria de la cavidad, resultando nuevamente en cierta pérdida de planaridad y por ende, pérdida de conjugación, relacionada con el desplazamiento hipsocrómico observado en el espectro UV-vis de este complejo. Nuevamente, por el tamaño del contenedor, la CUR exhibe fragmentos expuestos.

En la figura 31 se muestra la geometría de menor energía del complejo entre CUR y el derivado dendrítico de 2G.

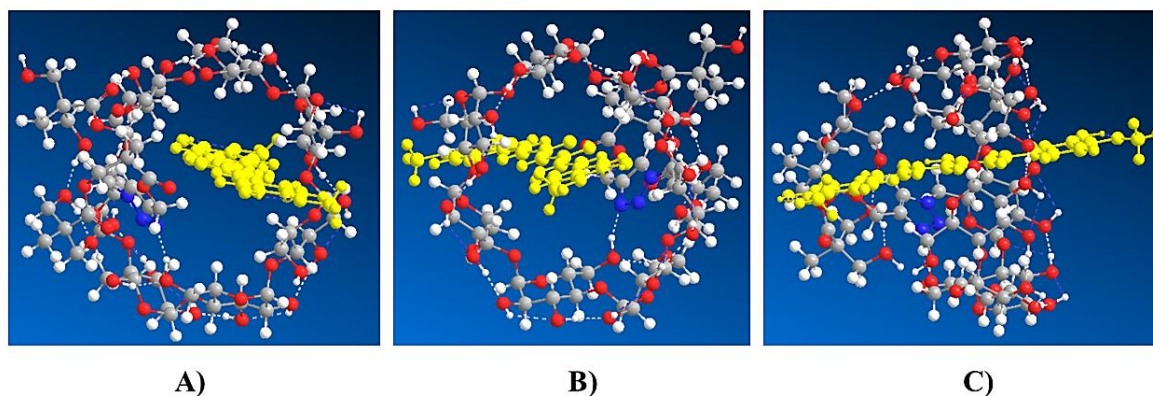


Figura 31. Interacciones en el complejo formado entre CUR (amarillo) y derivado dendrítico de β CD de 2G, A) cara primaria, B) cara secundaria y C) vista lateral.

Al analizar la estructura adoptada en el complejo con el derivado de 2G, se observa que la CUR no establece interacciones huésped-anfitrión con ninguna de las dos caras de la β CD, ni con el dendrón de 2G; más bien se observa que el dendrón interactúa con la β CD por ambas caras, distorsionando la cavidad.

Como se mencionó anteriormente, pequeñas distorsiones en la cavidad implican la pre-organización del contenedor para hacer posible la complejación, lo cual hace menos propicia la complejación. A pesar de ello, experimentalmente se observó que la formación del complejo de inclusión es posible.

En la geometría mostrada de este complejo (figura 31, C)), la CUR mantiene su planaridad, debido a que, como ya se mencionó, una de las restricciones incorporadas en los cálculos fue la forma enólica de la CUR en todo momento. Sin embargo, experimentalmente para este complejo, se observó el mayor desplazamiento hipsocrómico que, como se dijo antes, podría estar relacionado con la posible conversión del tautómero enólico de la CUR a la forma ceto.

Finalmente, la estructura correspondiente al complejo entre CUR y el derivado dendrítico de 3G, se muestra en la figura 32.

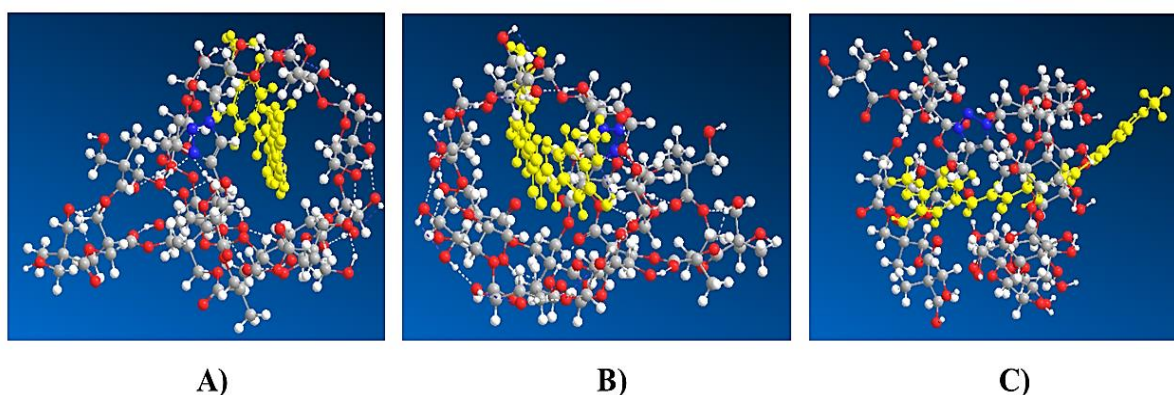


Figura 32. Interacciones en el complejo formado entre CUR (amarillo) y derivado dendrítico de β CD de 3G, A) cara primaria, B) cara secundaria y C) vista lateral.

La complejación de CUR en presencia del derivado dendrítico de 3G da lugar a interacciones huésped-anfitrión. Al igual que con la β CD nativa, las interacciones huésped-anfitrión se establecen principalmente con la cara secundaria de la cavidad.

Bajo las restricciones del cálculo, la geometría optimizada de la (figura 32, C)) muestra una distorsión marginal de la planaridad en la CUR; sin embargo, este escenario no nos permite explicar las evidencias experimentales; por ejemplo, la aparición de un máximo en 431 nm en el espectro de UV-vis, denotando un aumento en la conjugación del sistema, aunado al hecho de que, de acuerdo a la cuantificación de CUR, la estequiometría correspondiente debería ser 2:1.

7. Conclusiones

Se logró reproducir la síntesis de los dendrones de tipo poliéster de 1G a 3G con punto focal alquino, así como la monosustitución de la β CD con el grupo azida para obtener la mono-(6-azido-6-deoxi)- β -ciclodextrina.

Se llevó a cabo el acoplamiento, en un solo paso, mediante la reacción de cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (reacción click), para obtener los derivados dendríticos de β CD monosustituídos de 1 a 3G en excelentes rendimientos alrededor del 90%.

La identidad de todas las moléculas sintetizadas se corroboró mediante las técnicas de caracterización empleadas en este trabajo.

Los perfiles obtenidos de los diagramas de solubilidad de todos los sistemas en estudio dieron la pauta para explorar tres estequiometrias; 1:1, 1:2 y 2:1 [CUR-- β CD] al momento de formar los complejos de inclusión. Asimismo, nos permitió calcular las constantes de formación aparentes en dichos sistemas, cuyas magnitudes muestran que todos los derivados dendríticos exhiben un mejor desempeño para complejar y solubilizar a la curcumina frente a la β CD nativa. No obstante, que la confirmación de la estequiometría en la que se forman estos complejos y el valor de la constante de formación (K_F) deba realizarse mediante otra serie de experimentos.

En especial, el derivado dendrítico de 3G mostró una eficiencia sobresaliente, mientras que el derivado dendrítico de 2G exhibió un comportamiento inesperado, con una eficiencia inferior al derivado dendrítico de 1G.

De los métodos empleados para la formación de los complejos de inclusión entre curcumina y β CD nativa, el método de co-precipitación fue el óptimo, y de las estequiometrias exploradas (1:1, 1:2 y 2:1, [CUR-- β CD]), la relación 2:1 fue la que permitió acceder a la mayor cantidad de curcumina encapsulada. Los resultados obtenidos para la β CD nativa se extrapolaron entonces a los demás sistemas en estudio.

En dichas condiciones, el derivado dendrítico de 3G fue capaz de encapsular la mayor cantidad de curcumina (46.43 mg de CUR/mmol de derivado), en comparación con los otros derivados, y con la propia β CD nativa (17.025 mg de CUR/mmol de β CD).

La inclusión de la curcumina en la cavidad de la β CD en todos los casos se corroboró mediante las técnicas de caracterización de UV-Vis, FT-IR y DSC. Considerando que la curcumina es un cromóforo muy eficiente, especialmente la técnica de UV-vis da cuenta de notorios cambios, antes y después de la complejación, manifestándose en evidentes desplazamientos hipsocrómicos, asociados por un lado con el inherente equilibrio tautomérico ceto-enol de la curcumina, y por otro con la notable diferencia en polaridad dentro y fuera de la cavidad de la β CD.

Finalmente, dado el comportamiento inesperado exhibido por el derivado dendrítico de 2G, con una eficiencia inferior al derivado dendrítico de 1G, se llevó a cabo un estudio teórico preliminar para explorar la estructura adoptada tanto por los contenedores (en ausencia de

curcumina), como por los complejos entre CUR y β CD (nativa y derivatizada con dendrones de 1 a 3G).

A partir del análisis realizado, fue posible entender el comportamiento inesperado, mostrado desde un inicio del derivado dendrítico de 2G, ya que el dendrón de 2G es el único que interacciona con ambas caras de la cavidad, causando cierta distorsión en el macrociclo, que hace menos propicia la complejación, aun cuando se considera pertinente realizar optimizaciones de las geometrías propuestas considerando el efecto del disolvente, así como la forma tautomérica ceto de la molécula de CUR que permitan realizar un análisis completo de los sistemas.

8. Anexos

A.1 Espectros del ácido isopropiliden-2,2-bis(metoxi)propiónico (1)

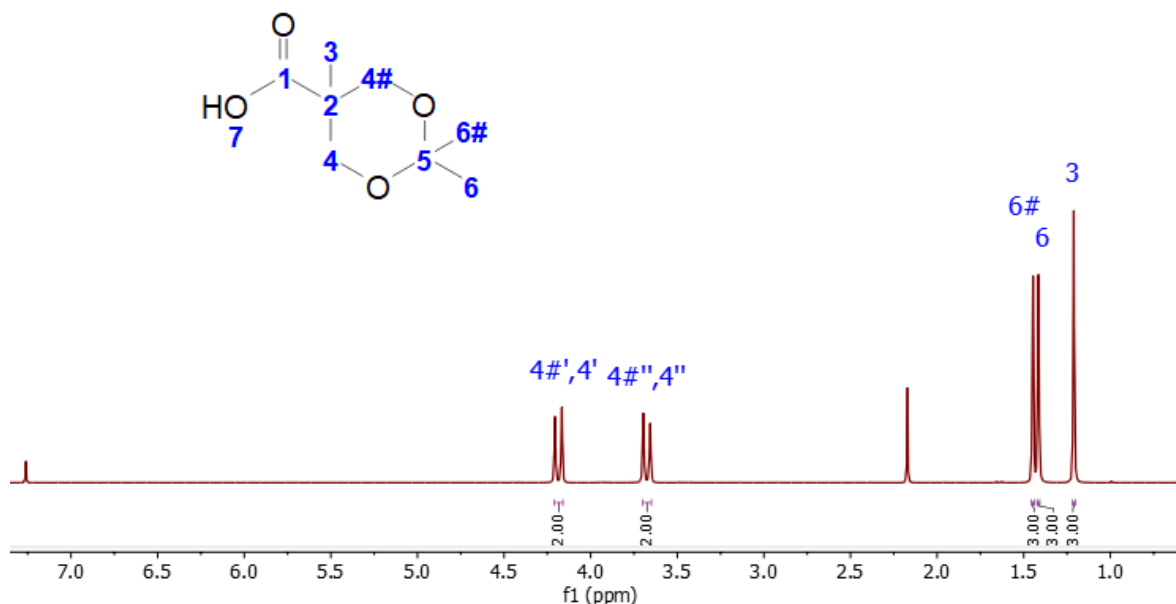


Figura 33. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) en CDCl₃ del ácido isopropiliden-2,2-bis(metoxi)propiónico.

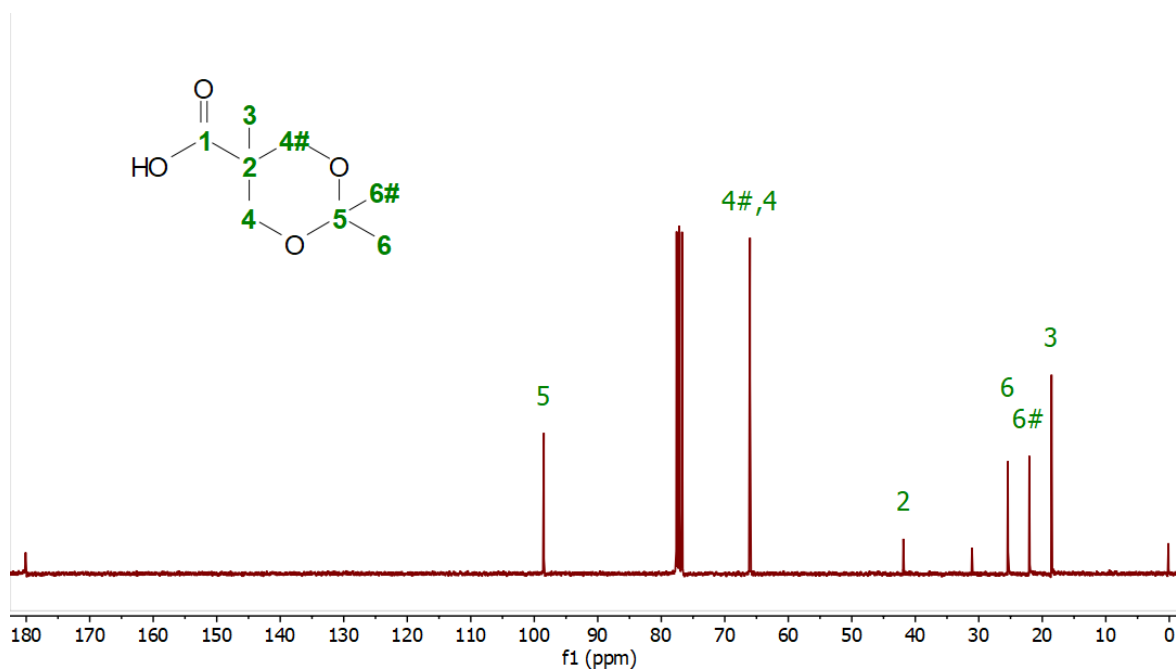


Figura 34. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) en CDCl₃ del ácido isopropiliden-2,2-bis(metoxi)propiónico.

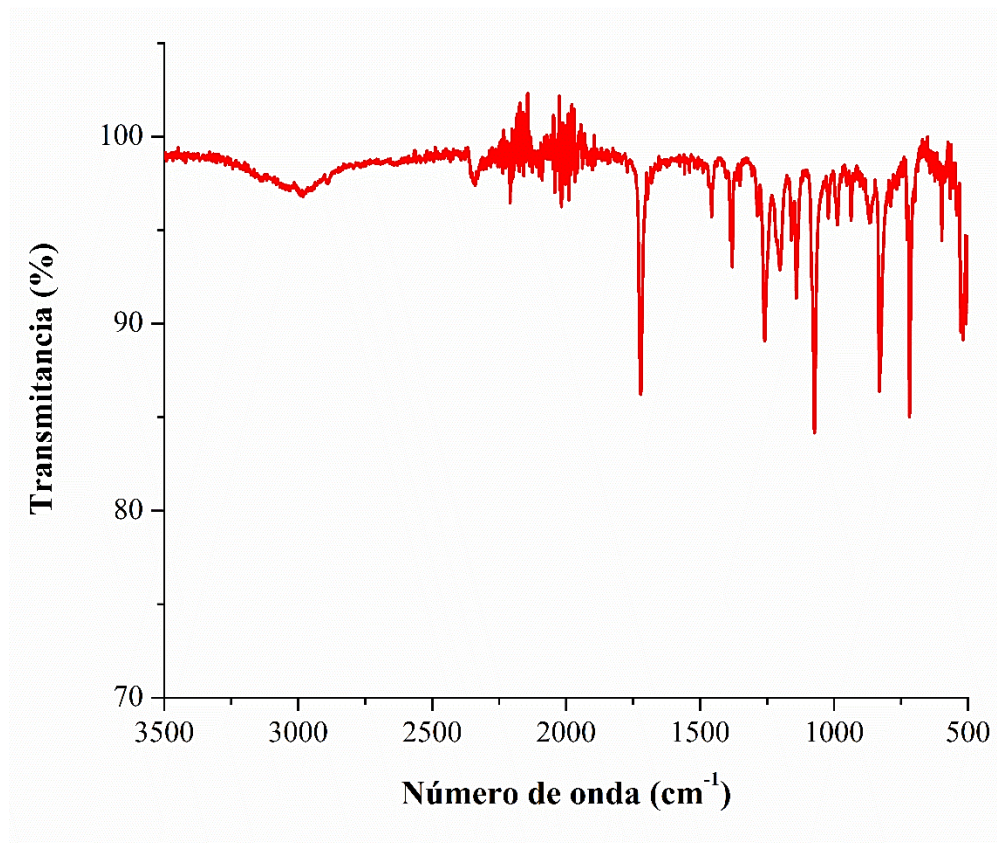


Figura 35. Espectro FT-IR del ácido isopropiliden-2,2-bis(metoxi)propiónico.

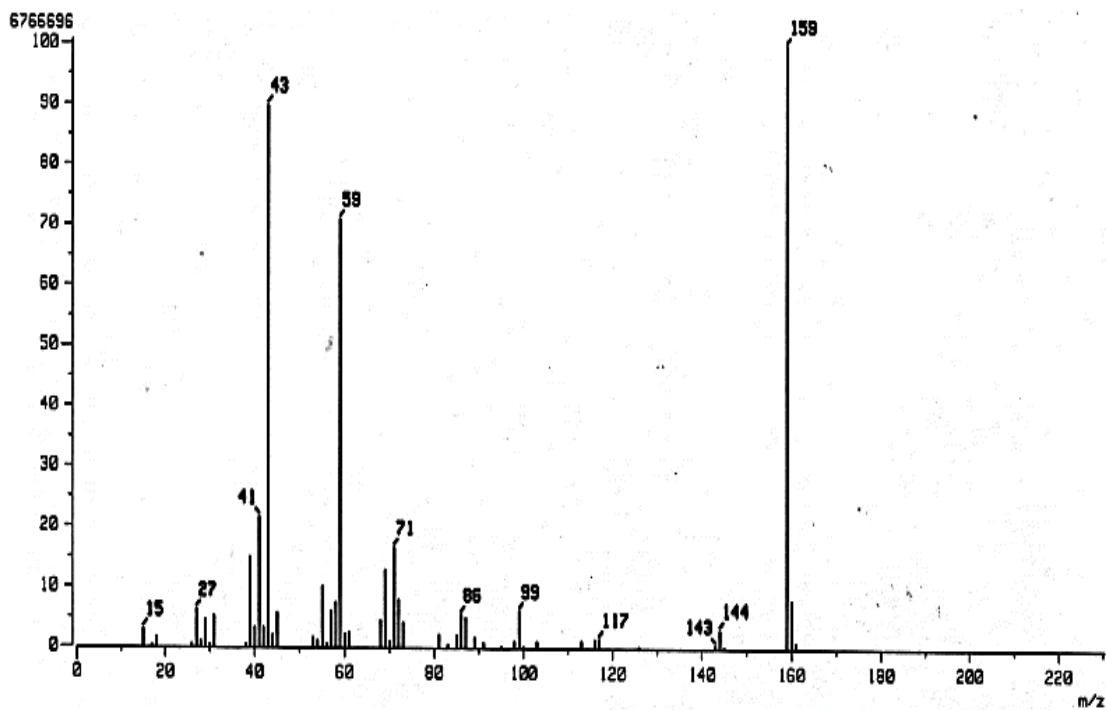


Figura 36. Espectro EM-(IE⁺) del ácido isopropiliden-2,2-bis(metoxi)propiónico

A.2 Espectros del dendrón de 1G con punto focal alquino [D1G-OH] (2)

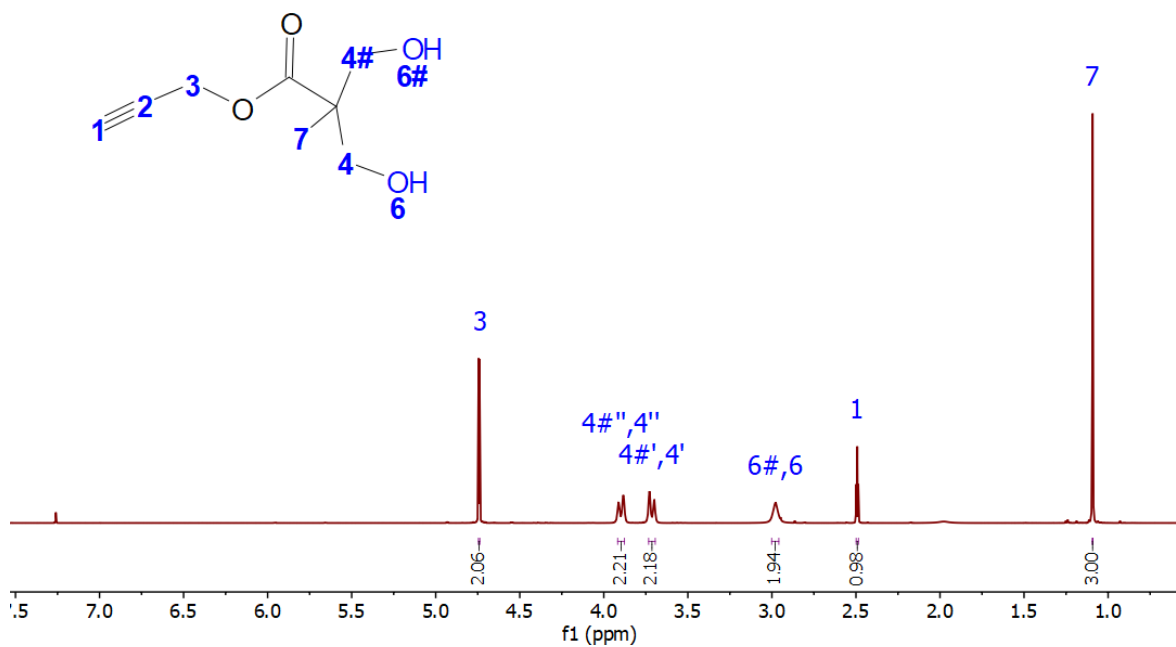


Figura 37. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del dendrón de primera generación con punto focal alquino

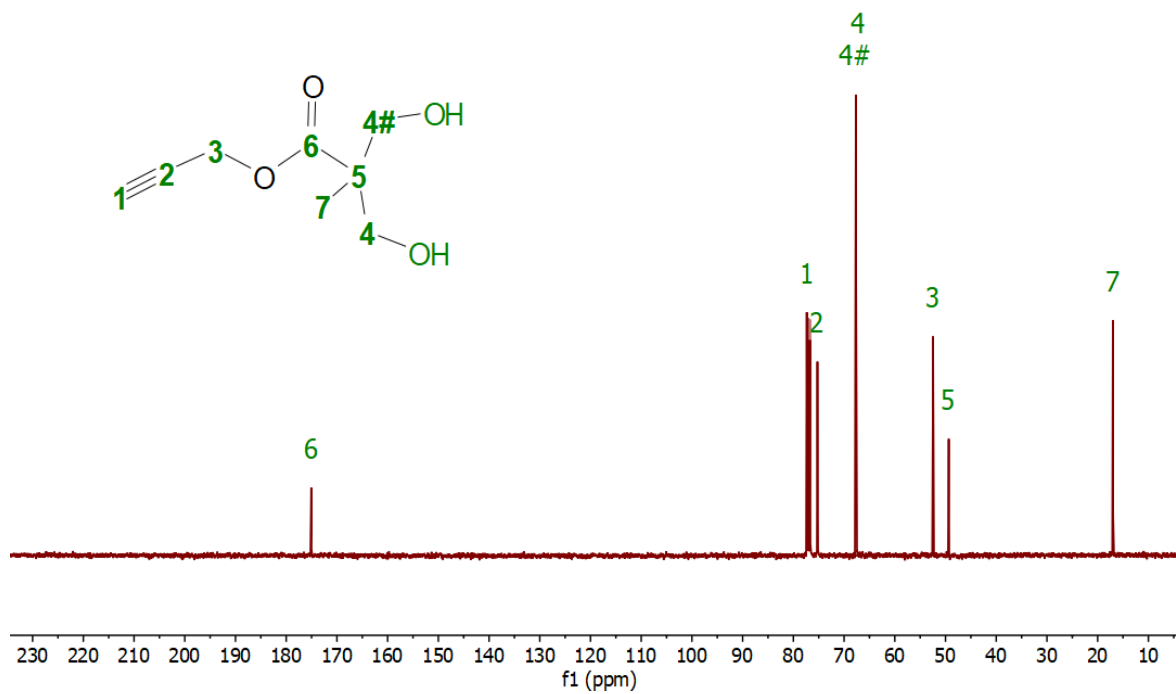


Figura 38. Espectro de RMN ^{13}C (101 MHz) en CDCl_3 del dendrón de primera generación con punto focal alquino.

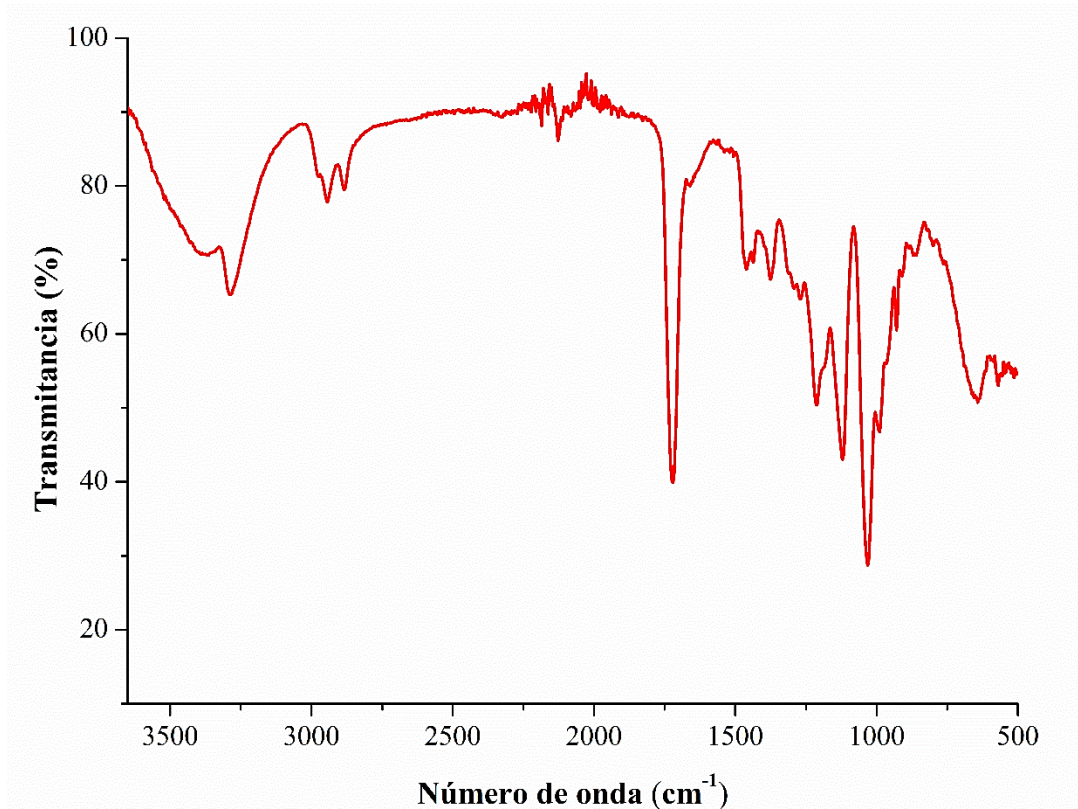


Figura 39. Espectro FT-IR del dendrón de primera generación con punto focal alquino.

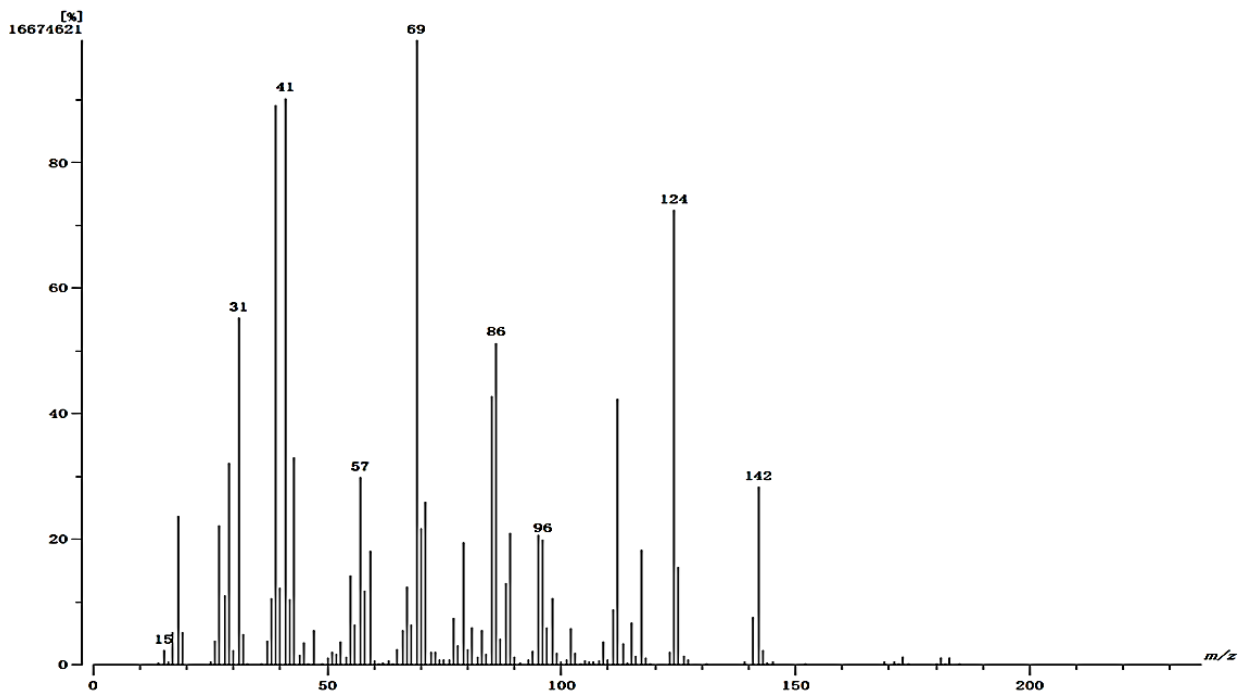


Figura 40. Espectro EM-(IE⁺) del dendrón de primera generación con punto focal alquino.

A.3 Espectros del dendrón de 2G con punto focal alquino [D2G-OH] (3)

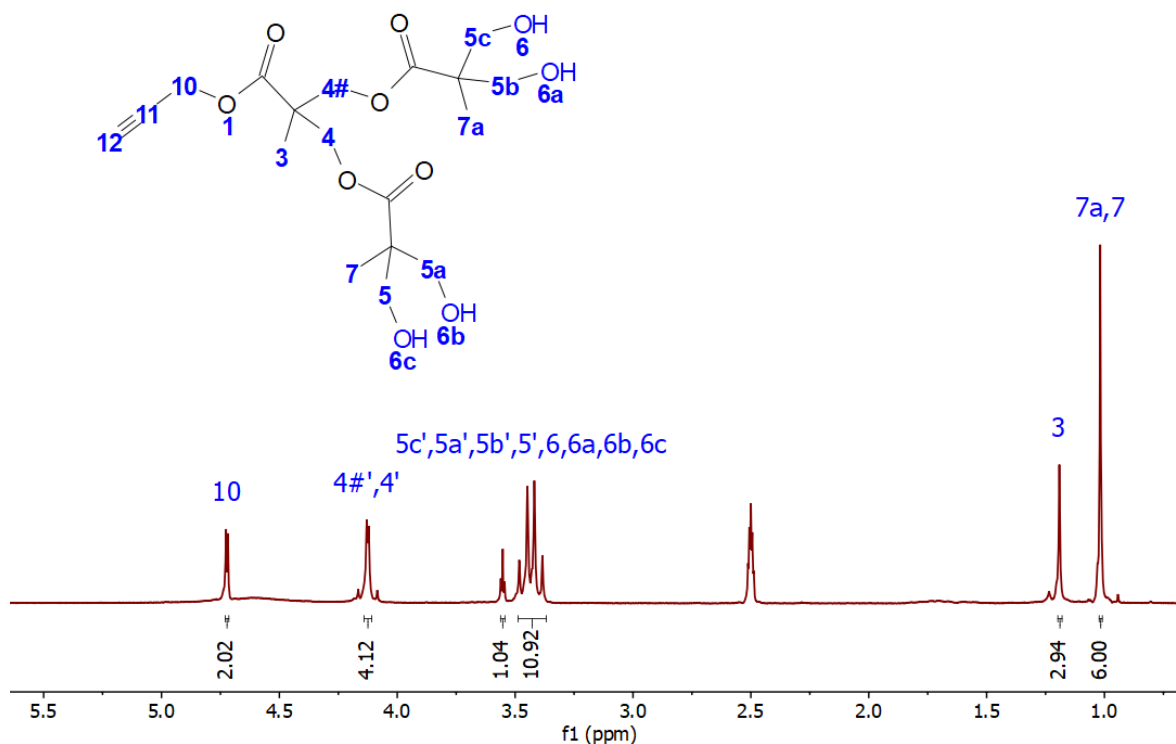


Figura 41. Espectro de RMN ^1H (301 MHz) en DMSO-d_6 del dendrón de segunda generación con punto focal alquino.

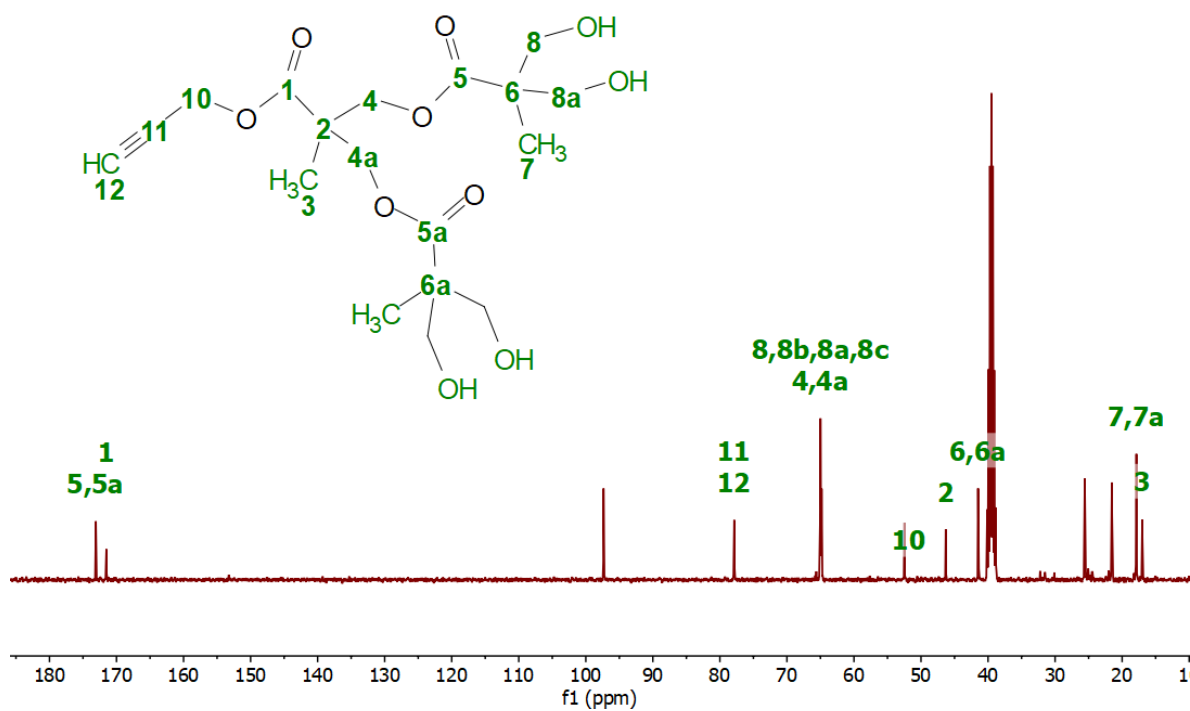


Figura 42. Espectro de RMN ^{13}C (101 MHz) en DMSO-d_6 del dendrón de segunda generación con punto focal alquino.

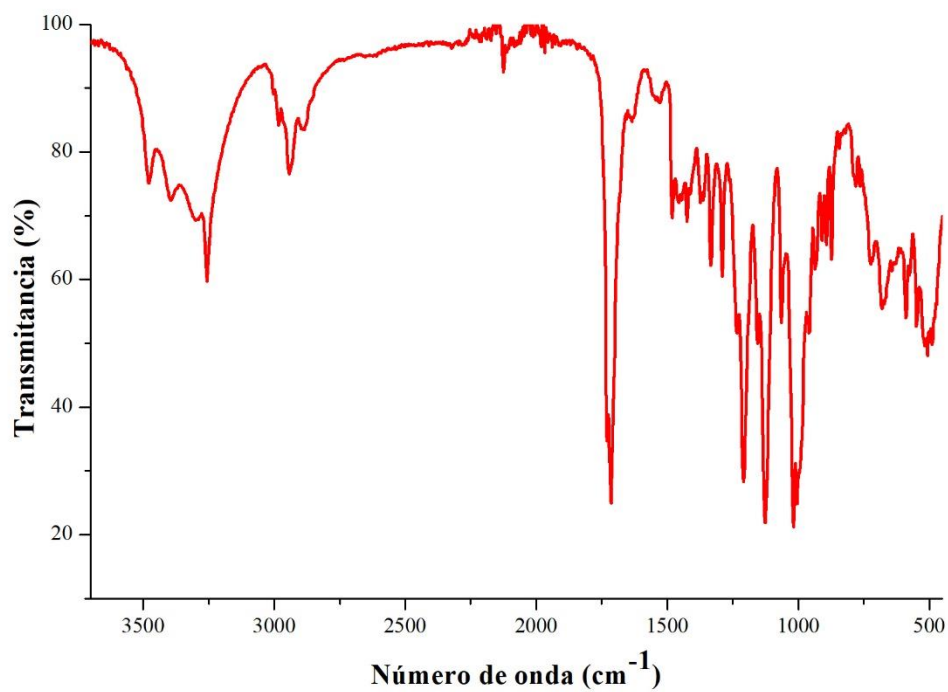


Figura 43. Espectro FT-IR del dendrón de segunda generación con punto focal alquino.

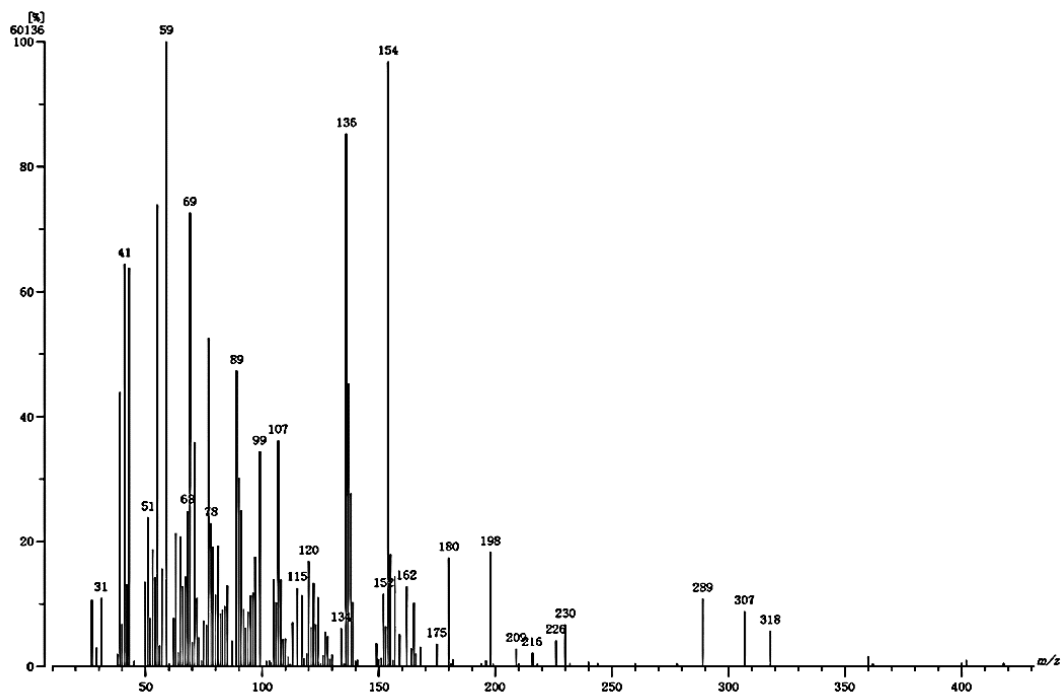


Figura 44. Espectro EM-(FAB⁺) del dendrón de segunda generación con punto focal alquino.

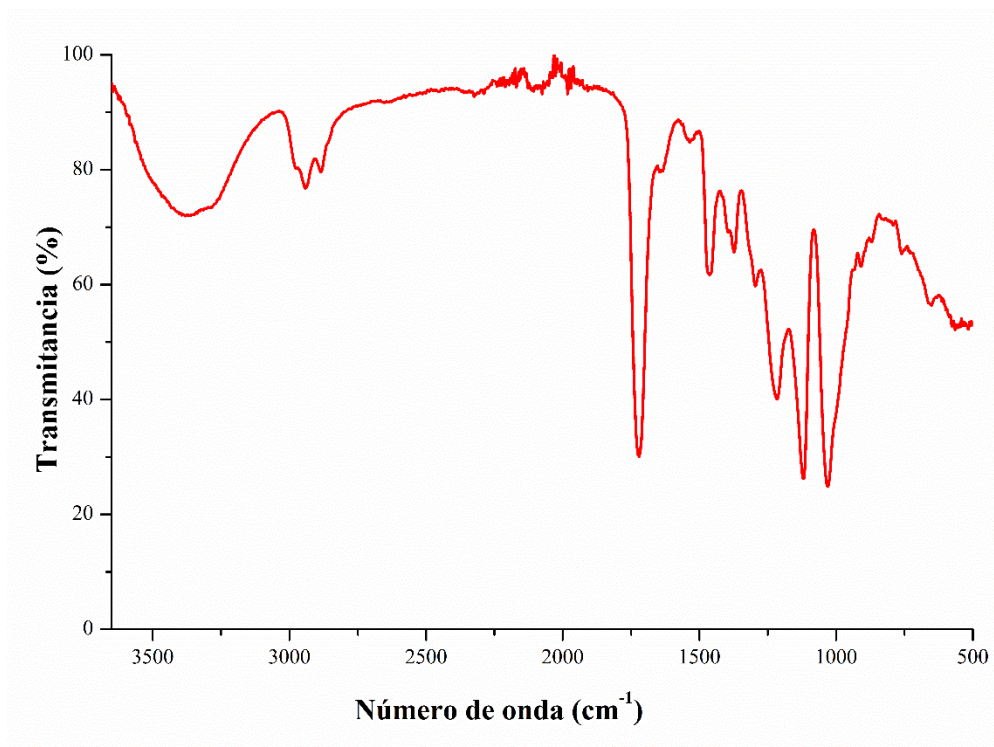


Figura 47. Espectro FT-IR del dendrón de tercera generación con punto focal alquino.

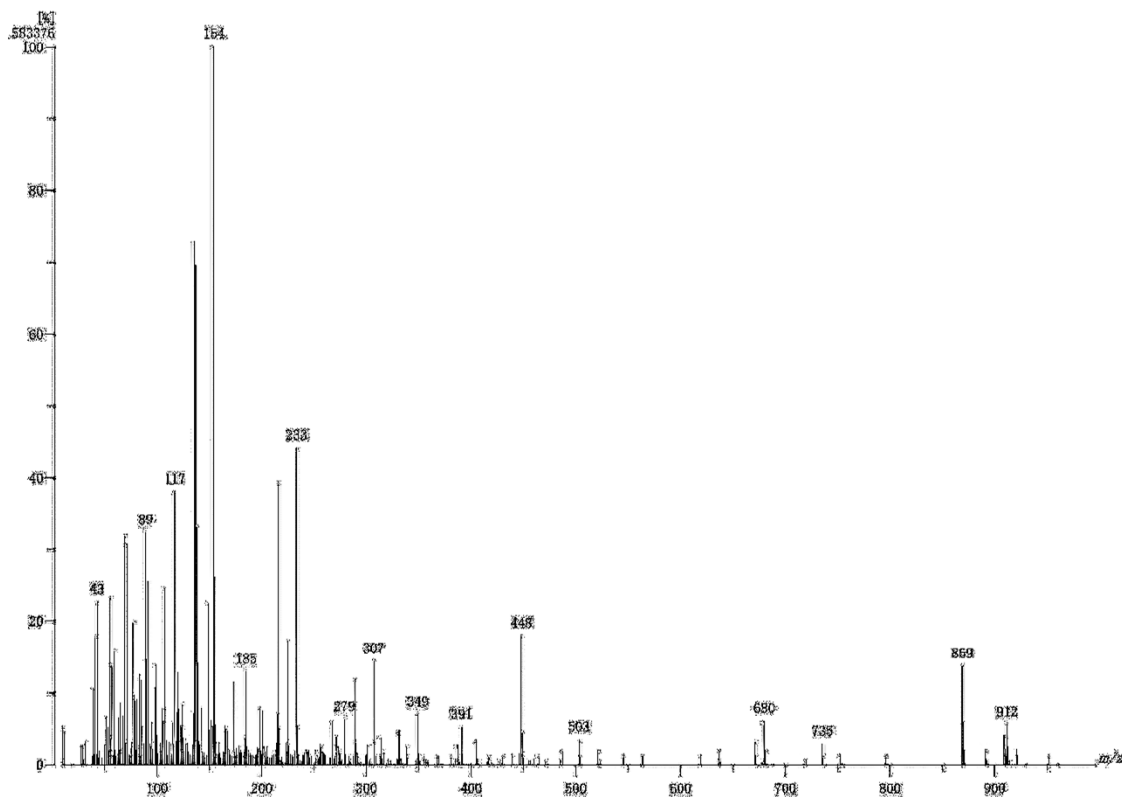


Figura 48. Espectro EM-(FAB+) del dendrón de tercera generación con punto focal alquino.

A.5 Espectros de la mono-6-O-p-toluensulfonyl-β-ciclodextrina [βCD-oTs] (5)

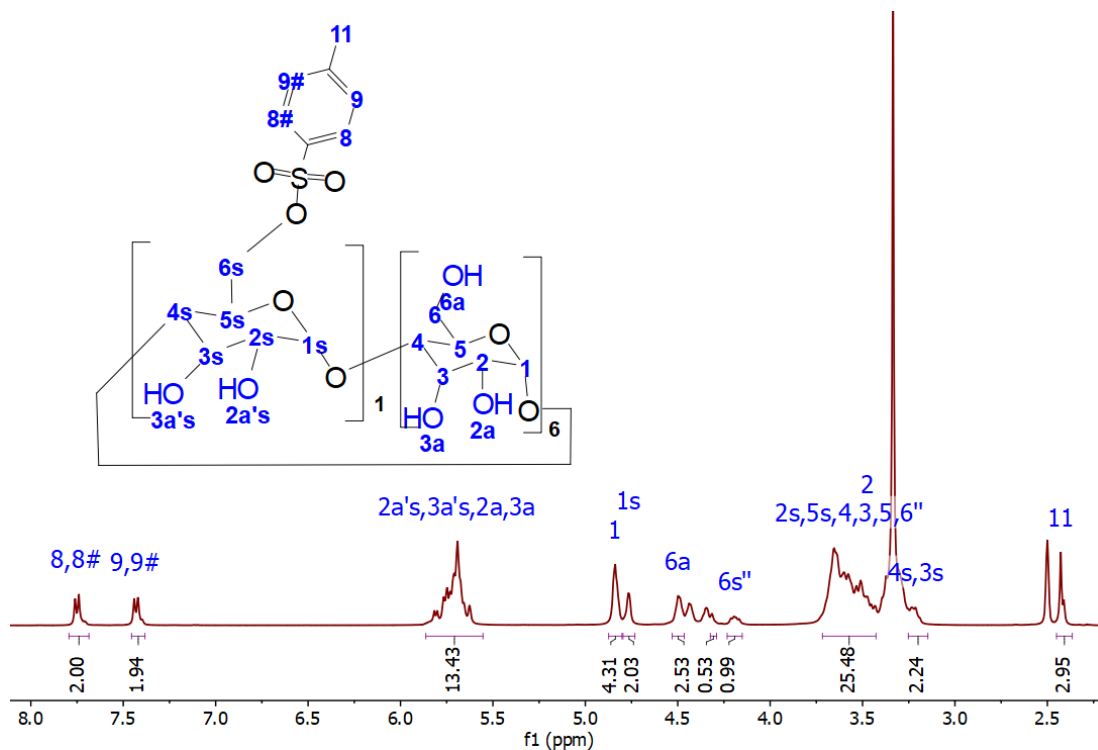


Figura 49. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) en DMSO-d_6 de la mono-6-O-p-toluensulfonyl- β -ciclodextrina.

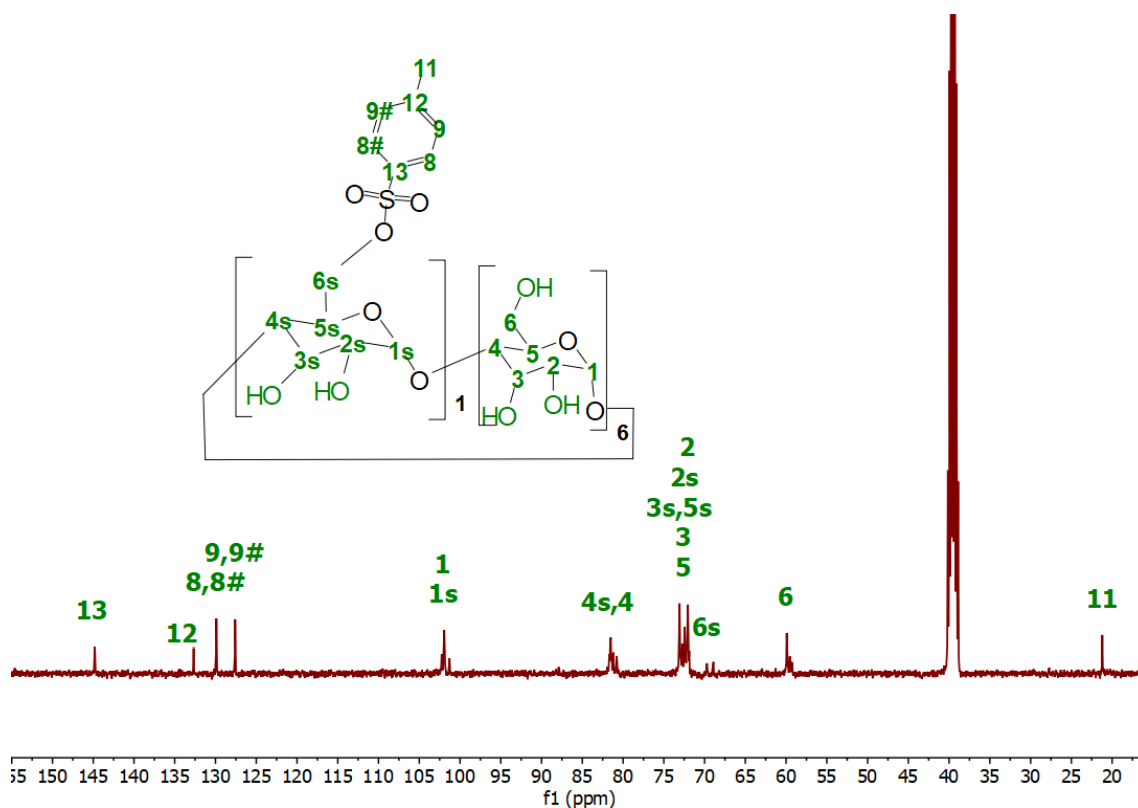


Figura 50. Espectro de RMN ^{13}C (101 MHz) en CDCl_3 de la mono-6-O-p-toluensulfonyl- β -ciclodextrina.

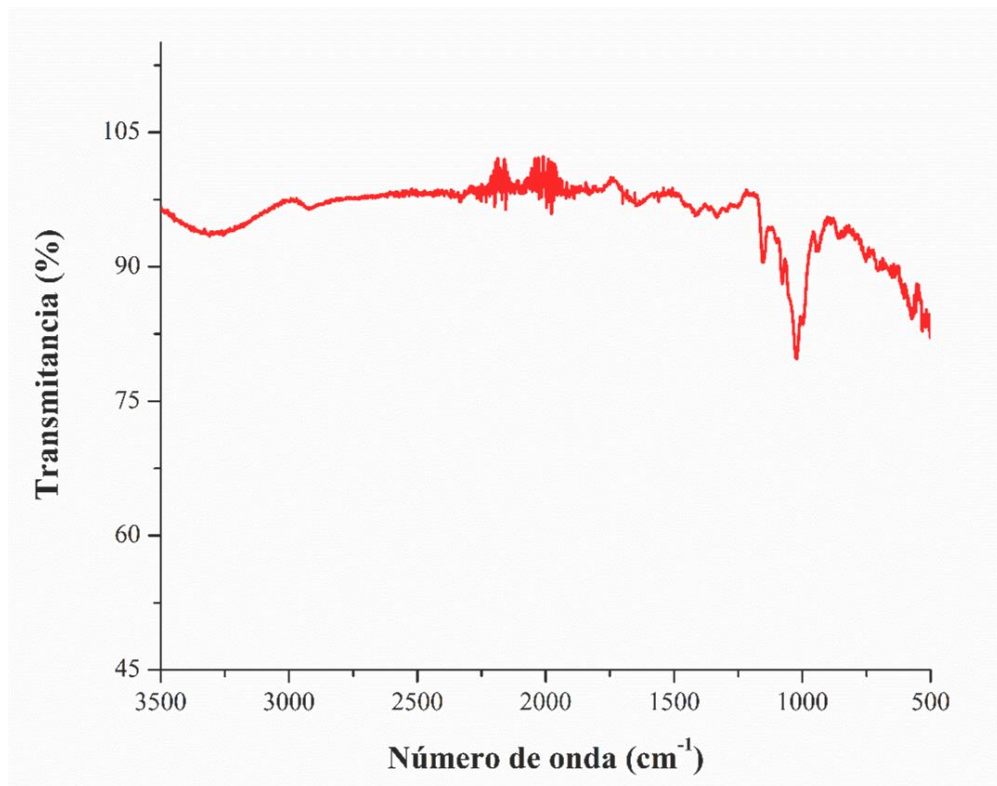


Figura 51. Espectro FT-IR de la mono-6-O-p-toluensulfonil- β -ciclodextrina.

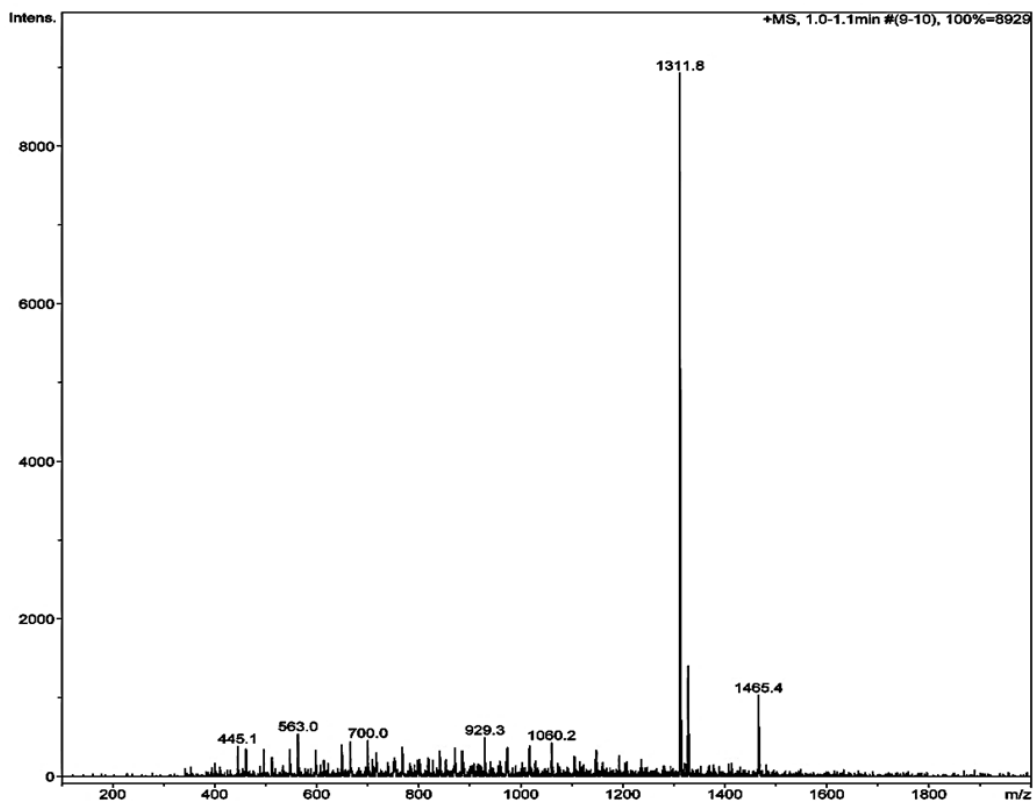


Figura 52. Espectro EM-(ESI⁺) de la mono-6-O-p-toluensulfonil- β -ciclodextrina.

A.6 Espectros de la mono-(6-azido-6-deoxi)- β -ciclodextrina [β CD-N₃] (6)

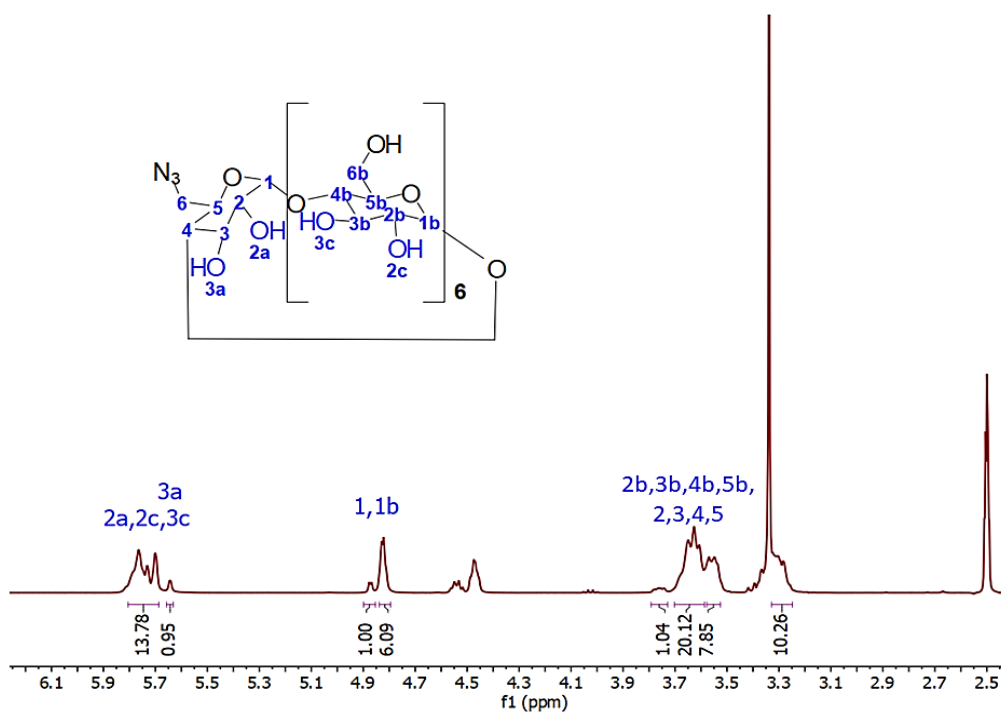


Figura 53. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) en DMSO-d₆ de la mono-(6-azido-6-deoxi)- β -ciclodextrina.

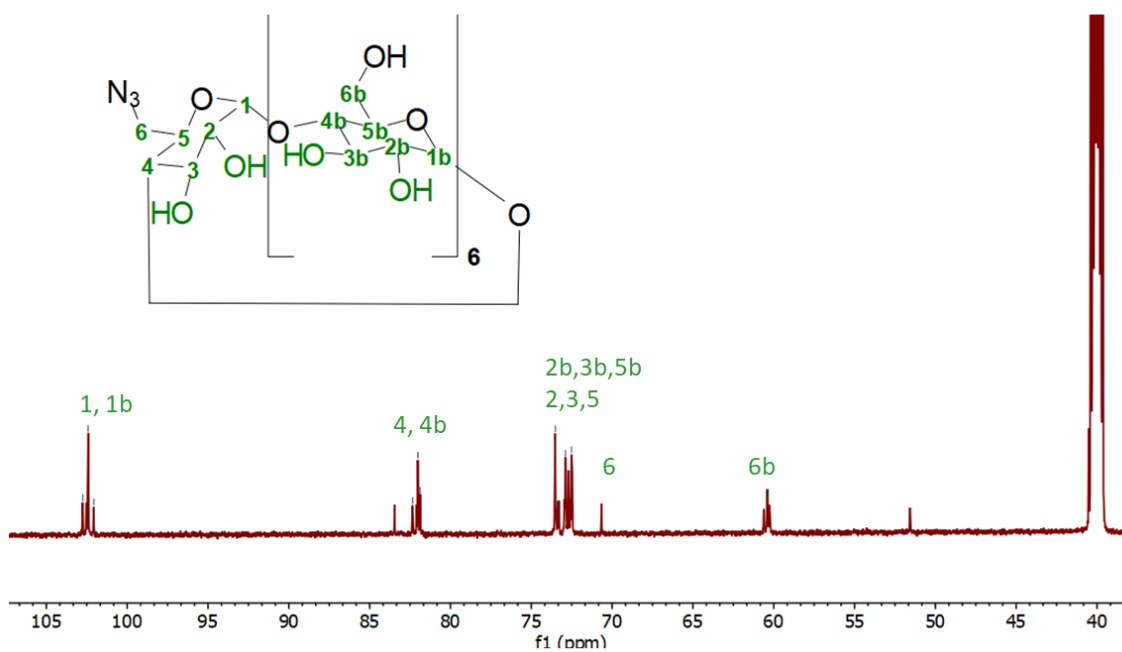


Figura 54. Espectro de RMN ¹³C (176 MHz) en DMSO-d₆ de la mono-(6-azido-6-deoxi)- β -ciclodextrina.

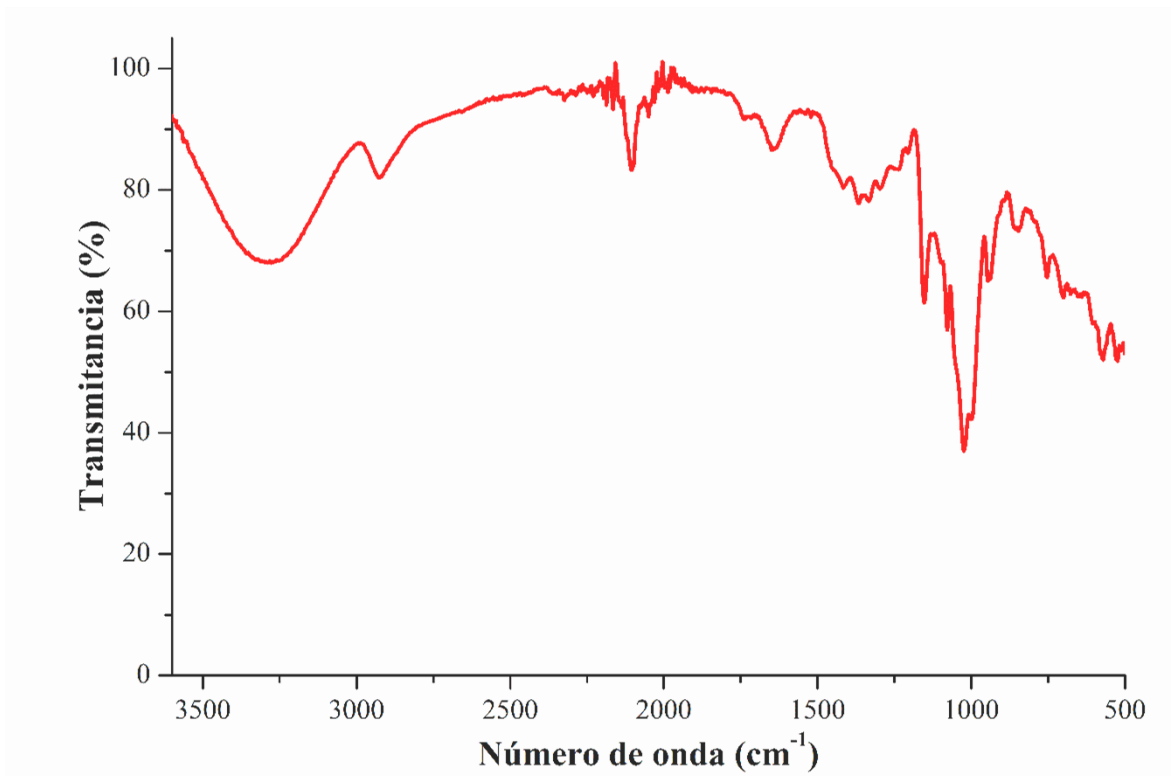


Figura 55. Espectro FT-IR de la mono-(6-azido-6-deoxi)-β-ciclodextrina.

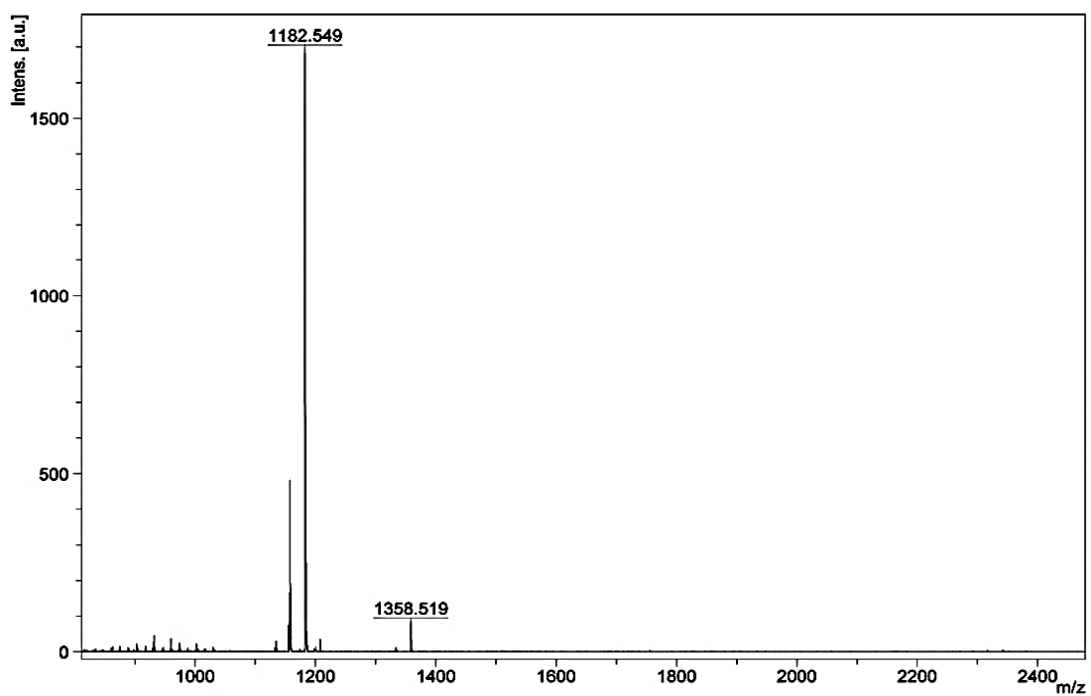


Figura 56. Espectro EM-(MALDI-TOF) de la mono-(6-azido-6-deoxi)-β-ciclodextrina.

A.7 Espectros del derivado de β CD monosustituido de 1G [β CD-m1G] (7)

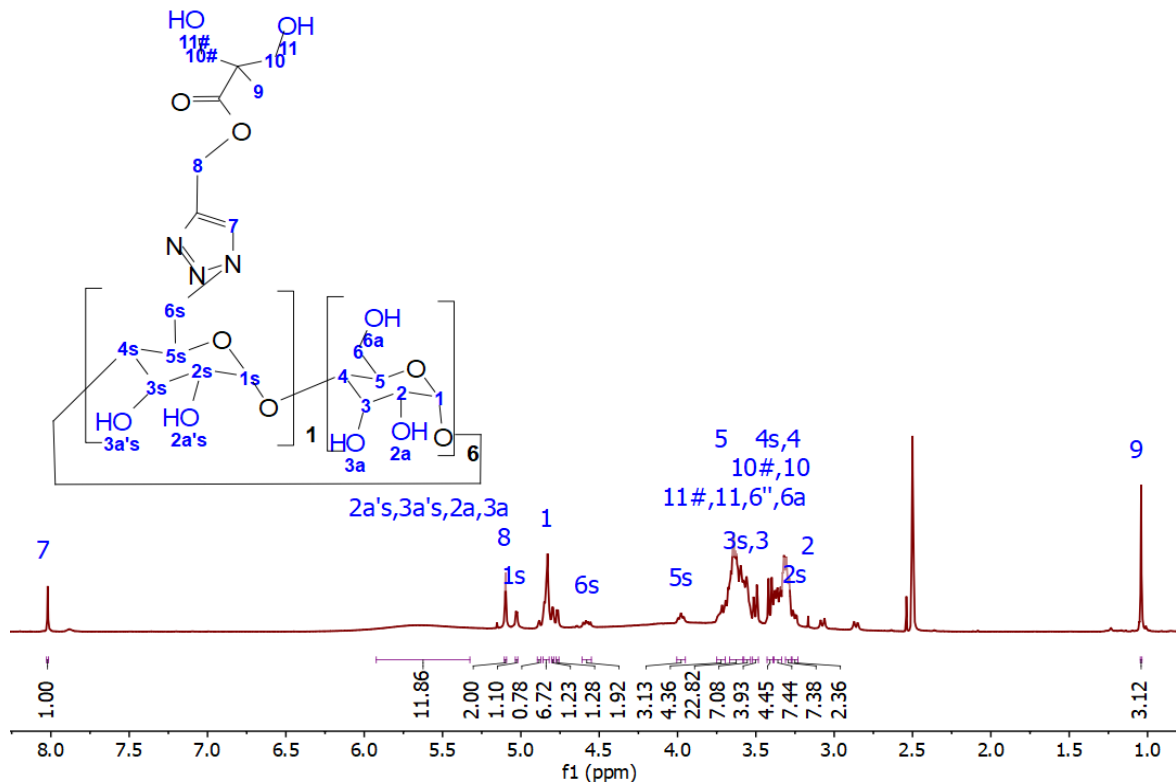


Figura 57. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) en DMSO- d_6 del derivado de β CD monosustituido de primera generación.

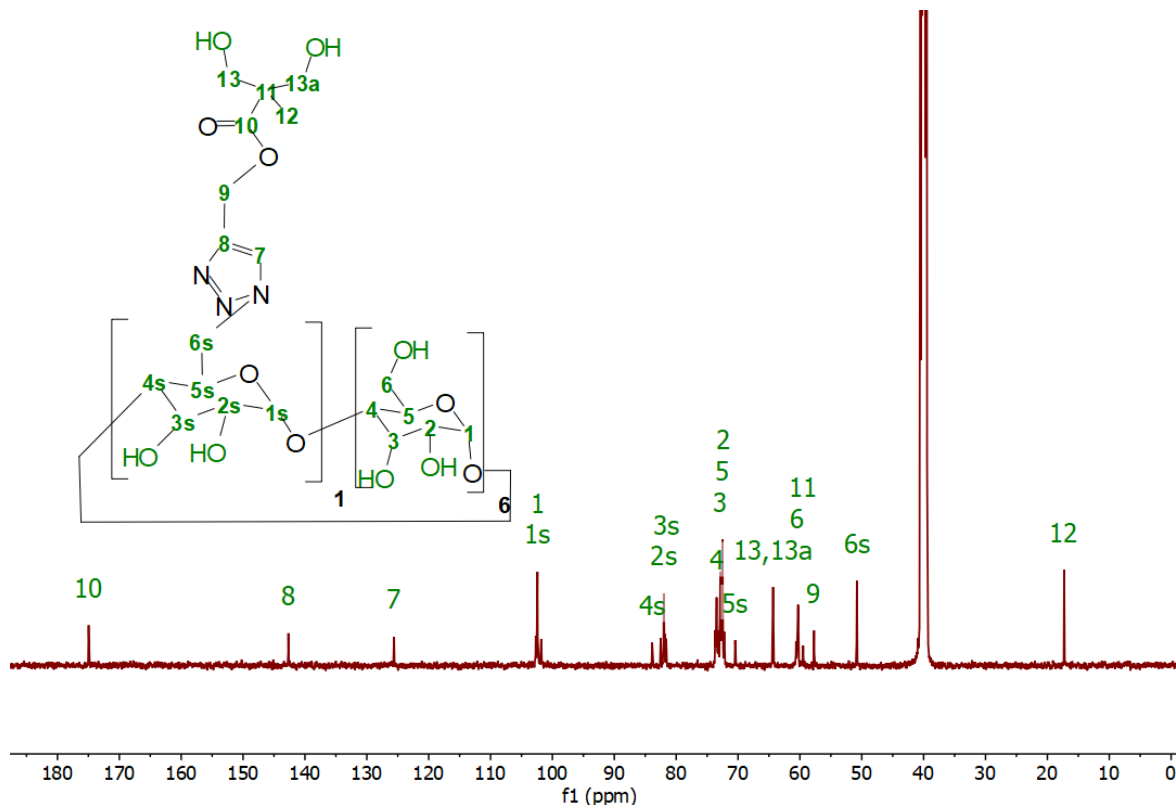


Figura 58. Espectro de RMN ^{13}C (126 MHz) en DMSO- d_6 del derivado de β CD monosustituido de primera generación.

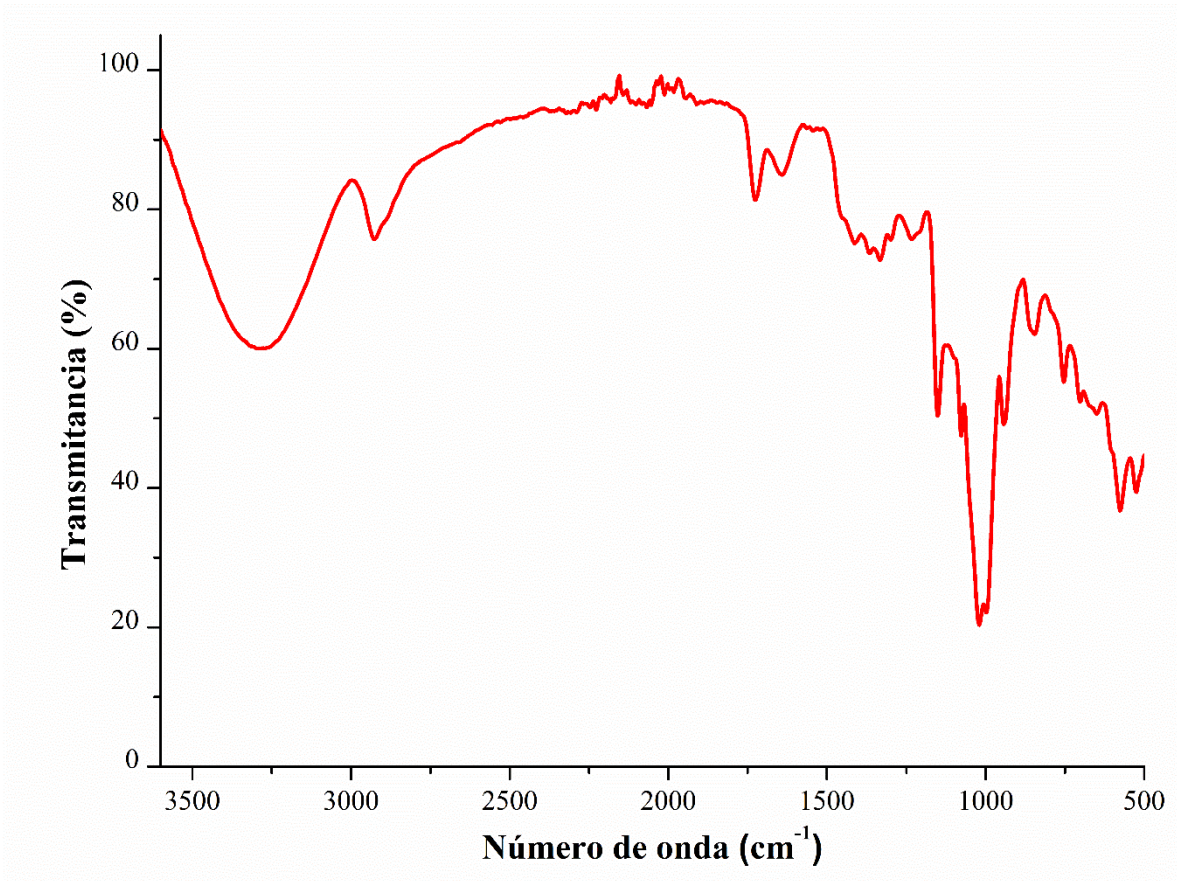


Figura 59. Espectro FT-IR del derivado de β CD monosustituido de primera generación.

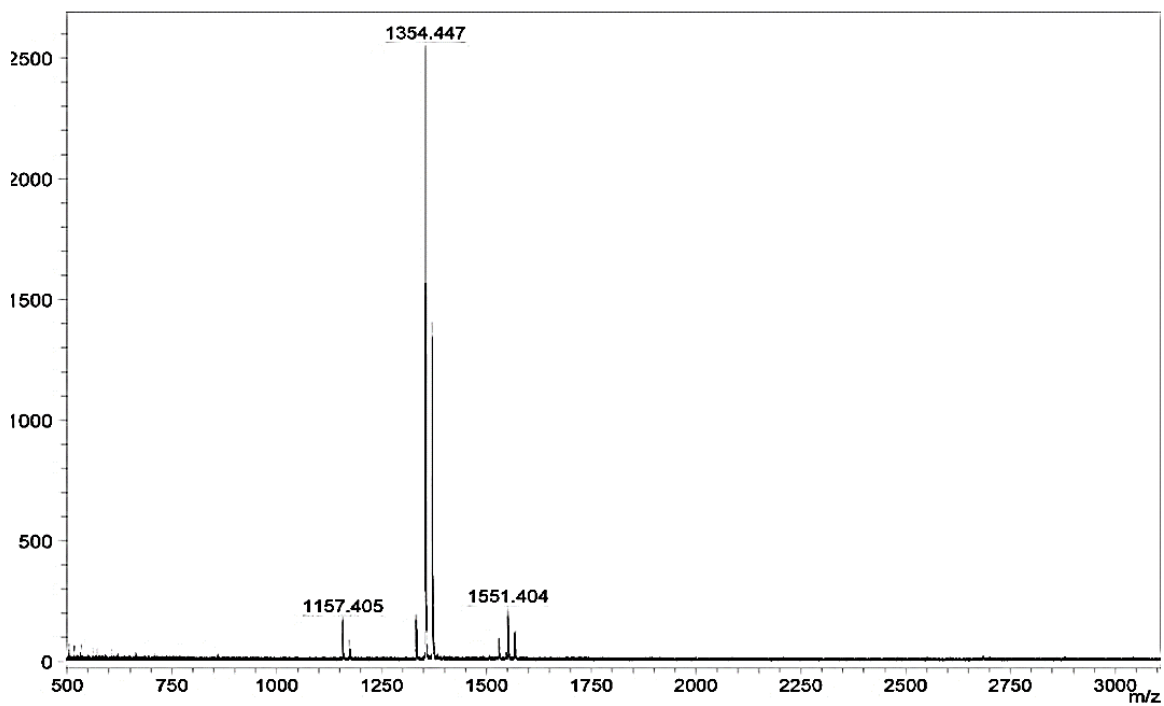


Figura 60. Espectro EM-(MALDI-TOF) del derivado de β CD monosustituido de primera generación.

A.8 Espectros del derivado de β CD monosustituido de 2G [β CD-m2G] (8)

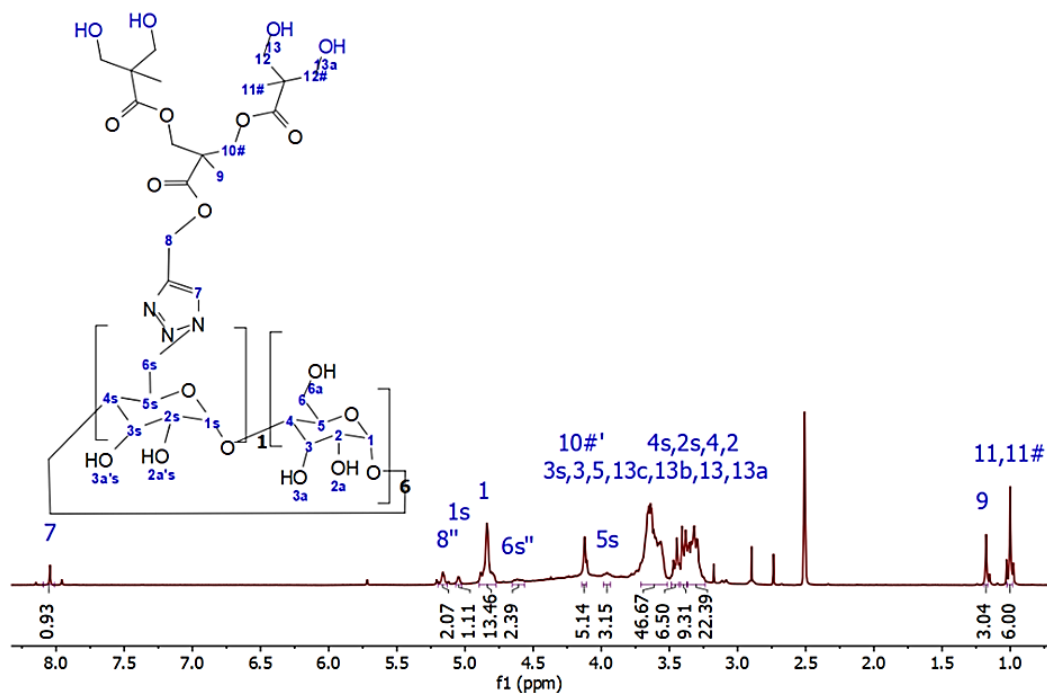


Figura 61. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) en DMSO-d_6 del derivado de β CD monosustituido de segunda generación.

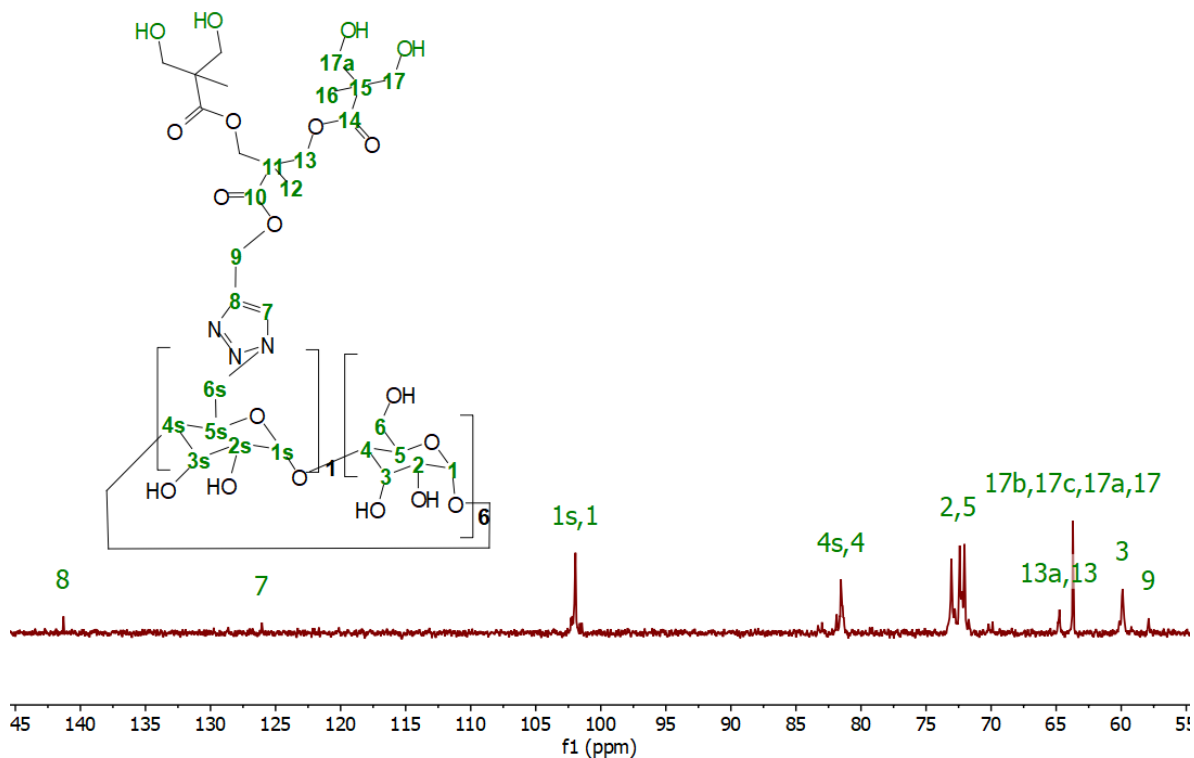


Figura 62. Espectro de RMN ^{13}C (126 MHz) en DMSO-d_6 del derivado de β CD monosustituido de segunda generación.

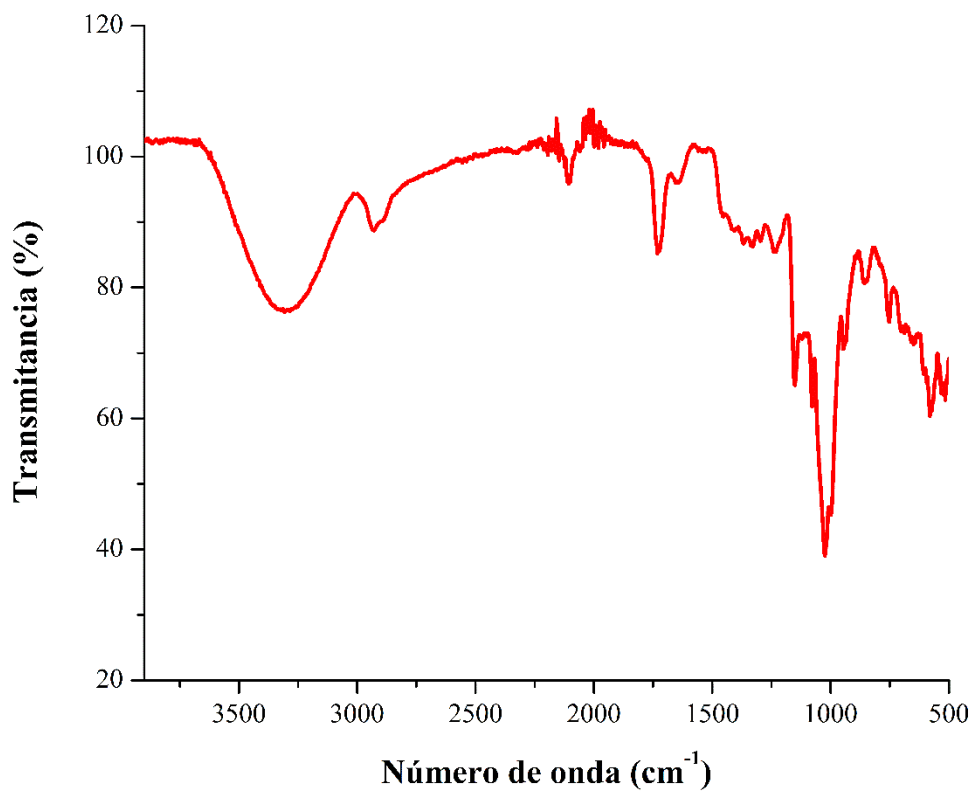


Figura 63. Espectro FT-IR del derivado de βCD monosustituido de segunda generación.

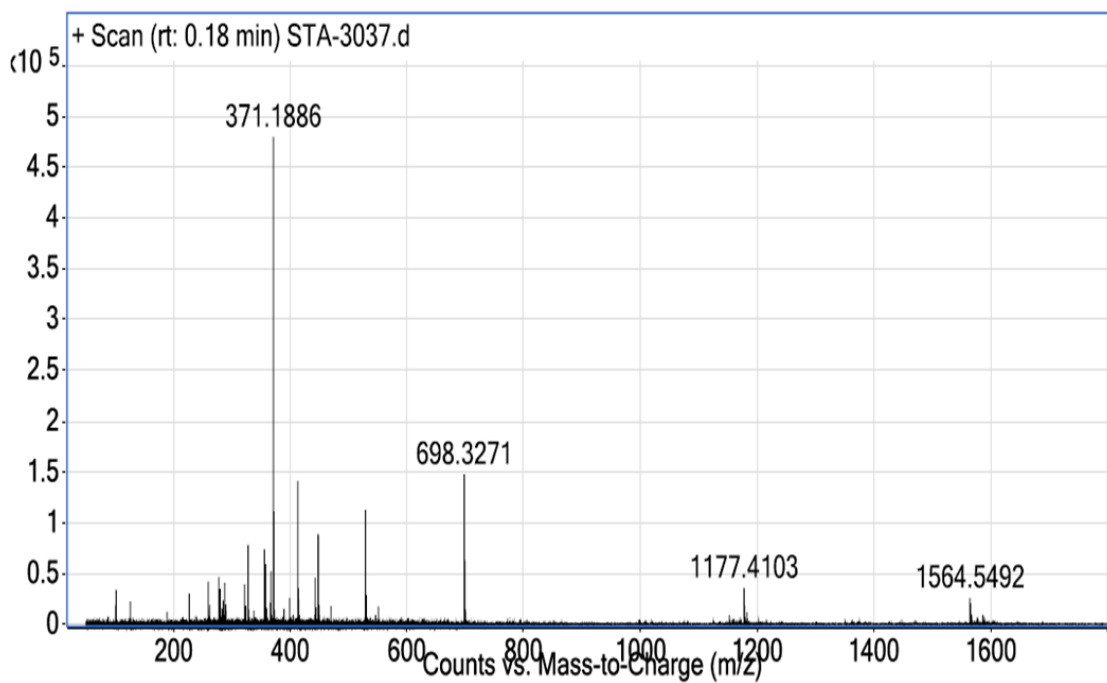


Figura 64. Espectro EM-(MALDI-TOF) del derivado de βCD monosustituido de segunda generación.

A.9 Espectro del derivado de β CD monosustituido de 3G [β CD-m3G] (9)

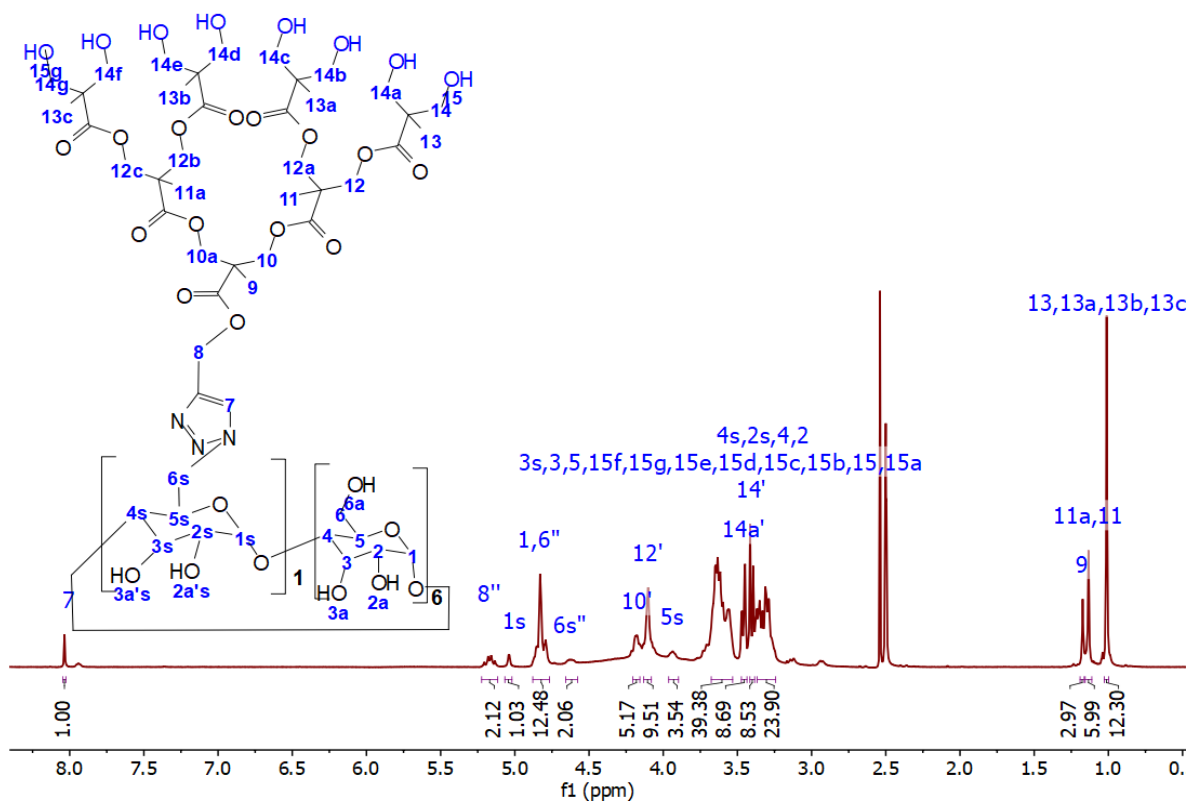


Figura 65. Espectro RMN ^1H (500 MHz) en DMSO- d_6 del derivado de β CD monosustituido de tercera generación.

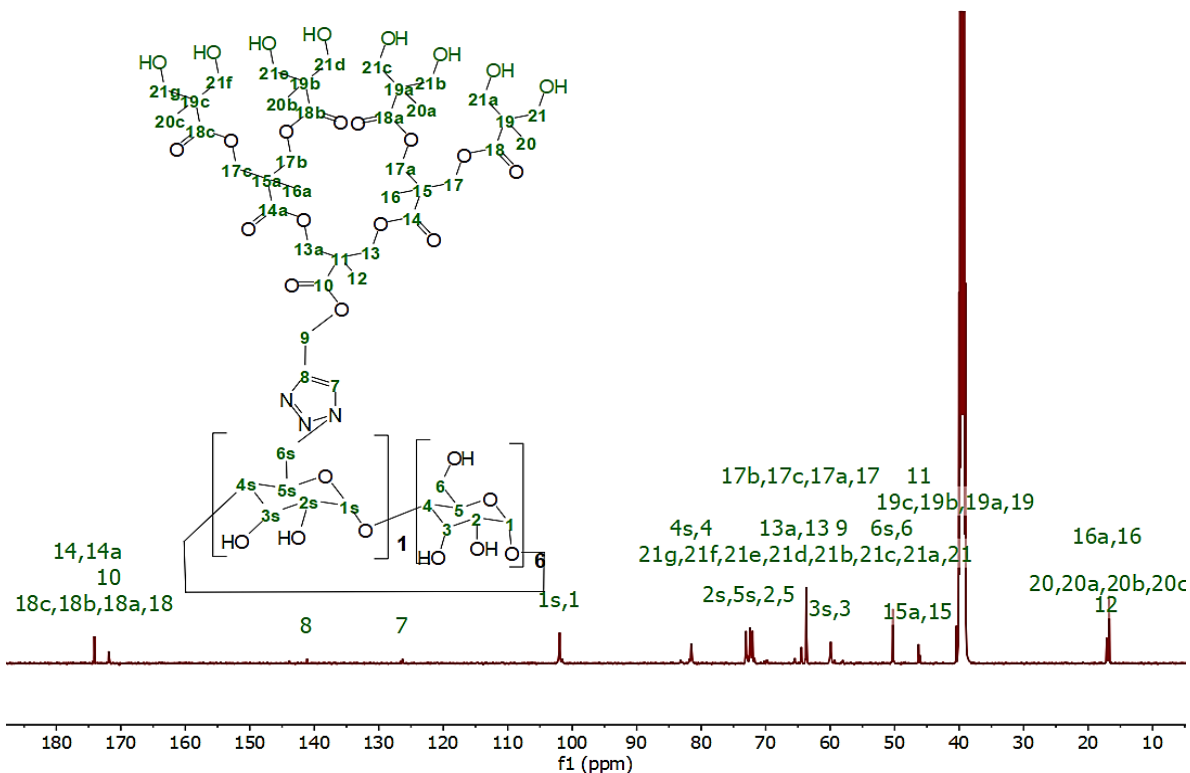


Figura 66. Espectro RMN ^{13}C (126 MHz) en DMSO- d_6 del derivado de β CD monosustituido de tercera generación.

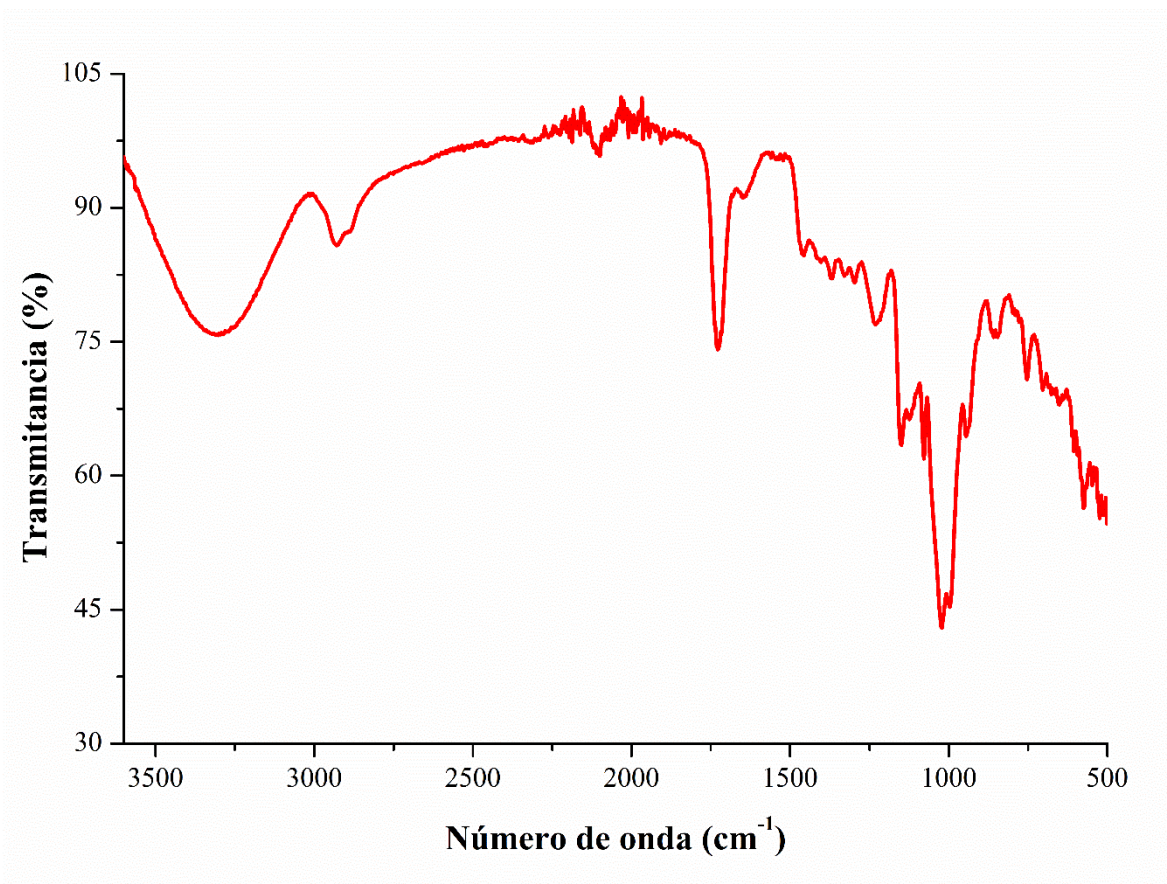


Figura 67. Espectro FT-IR del derivado de β CD monosustituido de tercera generación.

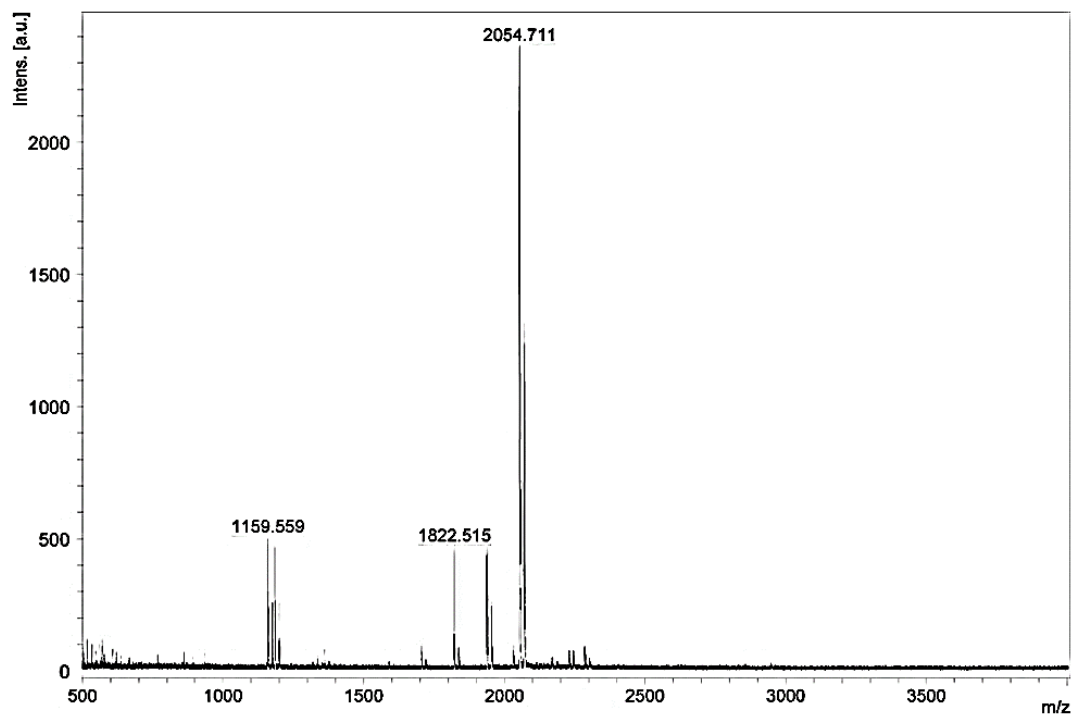


Figura 68. Espectro EM-(MALDI-TOF) del derivado de β CD monosustituido de tercera generación.

A.10 Perfiles individuales de los diagramas de solubilidad de los sistemas en estudio.

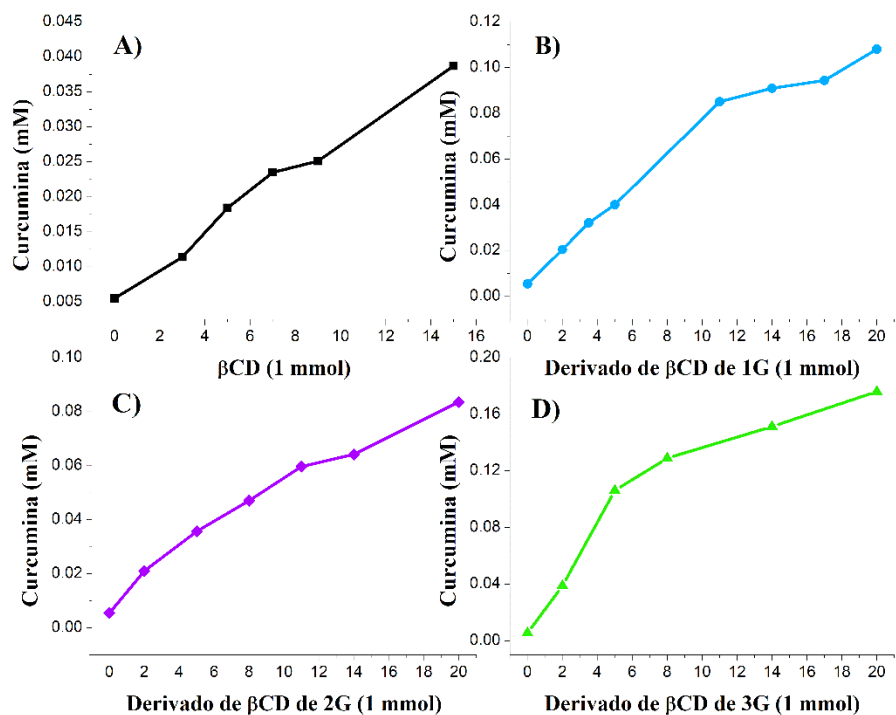


Figura 69. Diagramas de solubilidad (perfiles tipo AL) para A) β CD nativa, B) derivado de 1G (β CD-m1G), C) derivado de 2G (β CD-m2G) y D) derivado de 3G (β CD-m3G).

A.11 Espectros de FT-IR de los complejos formados en distintas relaciones estequiométricas en presencia de β CD nativa.

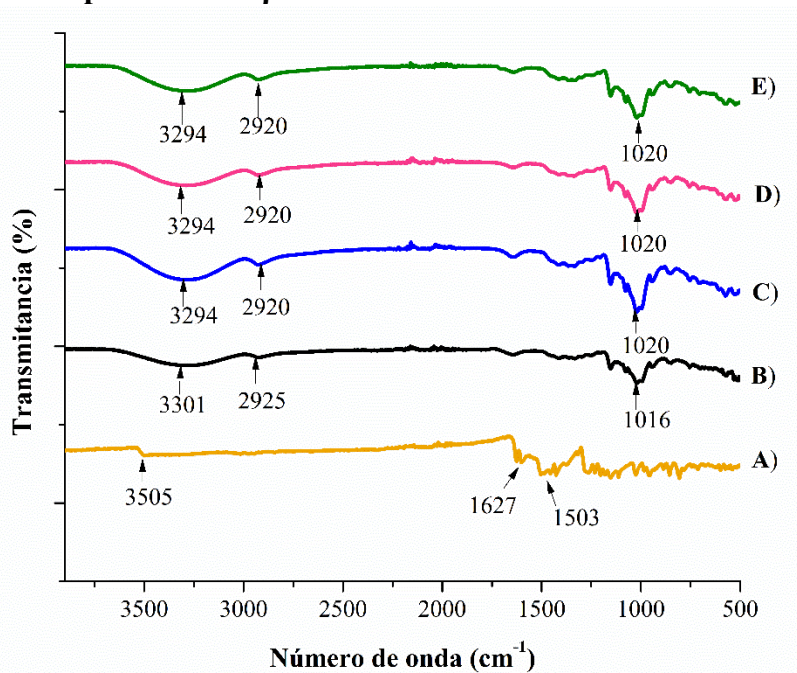


Figura 70. Espectro FT-IR de A) CUR B) β CD nativa y complejos en distintas estequiometrias [CUR-- β CD] C) 1:1, D) 1:2 y E) 2:1, obtenidos por el método de liofilización.

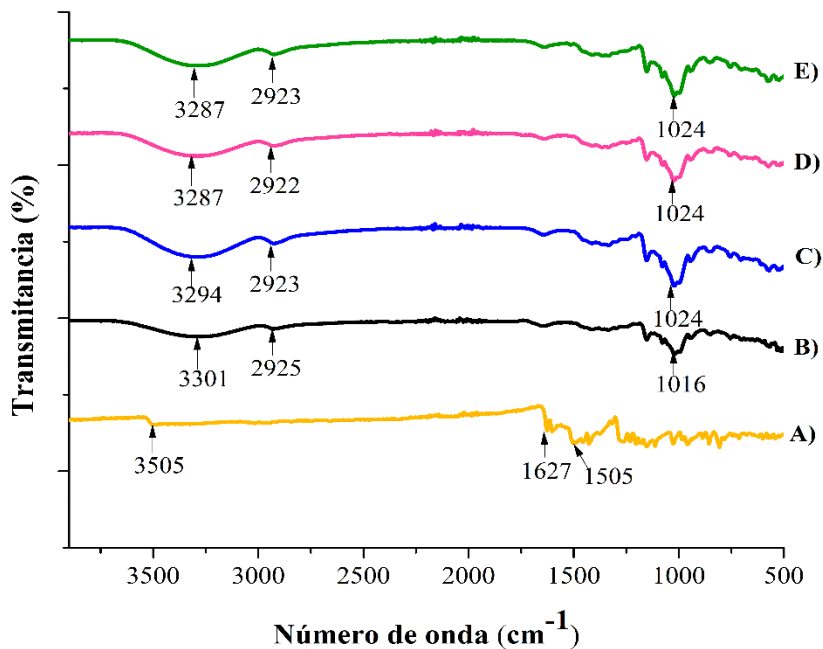


Figura 71. Espectro FT-IR de A) CUR, B) βCD nativa y complejos en distintas estequiometrías [CUR-βCD] C) 1:1, D) 1:2 y E) 2:1, obtenidos por el método de co-precipitación.

A.12 Curva de calibración para la cuantificación de curcumina encapsulada en presencia de βCD nativa.

Liofilización

3 mg de complejo fueron disueltos en 3 mL de agua ultra pura. Las disoluciones resultantes fueron analizadas por UV-vis. Los valores de absorbancia para los complejos con distintas estequiometrías se señalan en la figura 72. La concentración correspondiente a dicha absorbancia, así como la cantidad de CUR encapsulada en estos productos de complejación se presenta en la tabla 6.

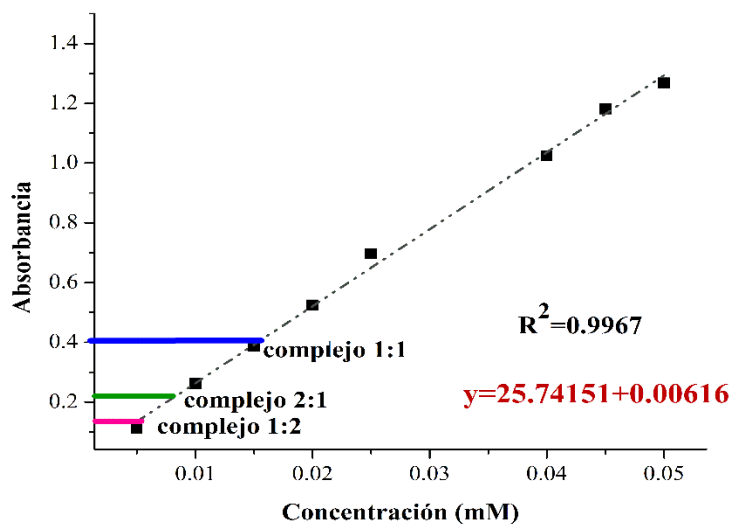


Figura 72. Curva de calibración de la curcumina en agua ultra pura (complejos obtenidos por liofilización).

Tabla 6. Cuantificación de curcumina encapsulada en los complejos obtenidos por liofilización.

Estequiometría del complejo	Absorbancia	concentración (mM)	CUR encapsulada (mg/mmol de βCD)
1:1	0.406	0.0155	1.95
1:2	0.121	0.00446	0.56
2:1	0.227	0.00858	1.08

Co-precipitación

3 mg de complejo fueron disueltos en 3 mL de agua ultra pura. Las disoluciones resultantes fueron analizadas por UV-vis. Los valores de absorbancia para los complejos con distintas estequiometrías se señalan en la figura 73. La concentración correspondiente a dicha absorbancia, así como la cantidad de CUR encapsulada en estos productos de complejación se presenta en la tabla 7.

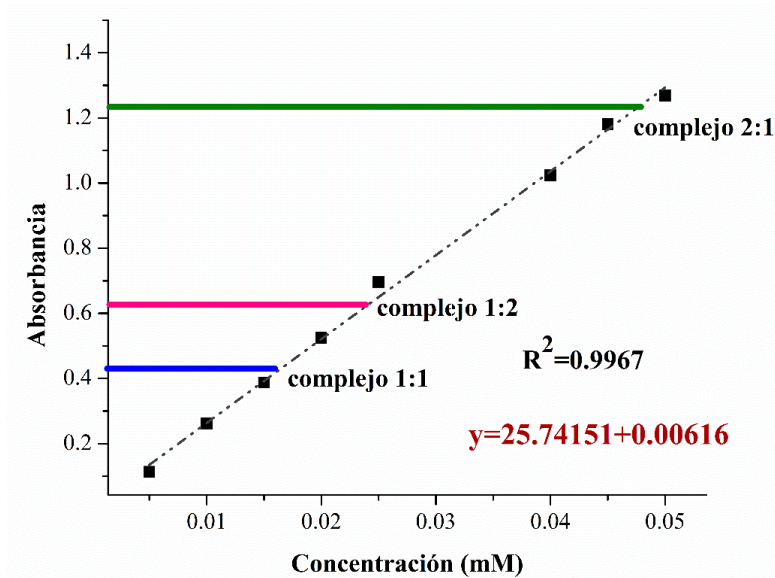


Figura 73. Curva de calibración de la curcumina en agua ultra pura (complejos obtenidos por co-precipitación).

Tabla 7. Cuantificación de curcumina encapsulada en los complejos obtenidos por co-precipitación.

Estequiometría del complejo	Absorbancia	concentración (mM)	CUR encapsulada (mg/mmol de βCD)
1:1	0.436	0.0167	6.99
1:2	0.615	0.0237	9.92
2:1	1.242	0.048	20.09

A.13 Espectros del complejo con estequiometría 2:1 obtenido por co-precipitación a partir de la solución 20 mM de β CD

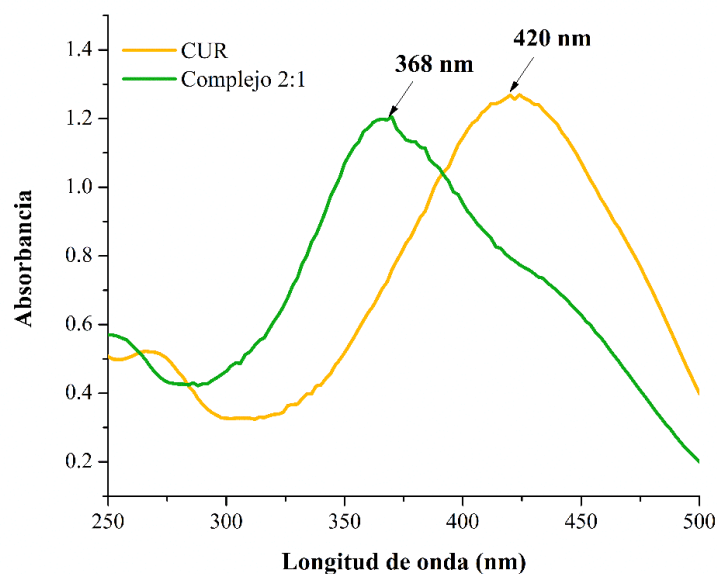


Figura 74. Espectros UV-vis en agua ultra pura de CUR (0.050 mM) y del complejo obtenido en presencia de β CD nativa con estequiometría 2:1 [CUR-- β CD] (1 M) mediante co-precipitación.

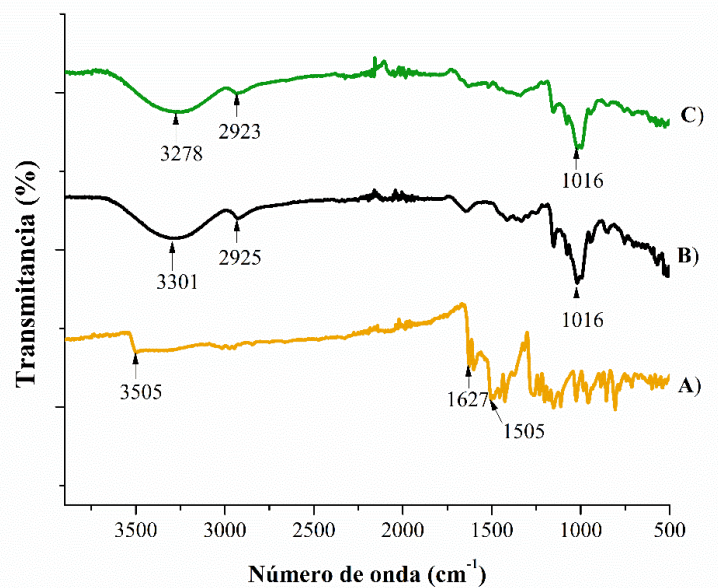


Figura 75. Espectro FT-IR de A) CUR, B) β CD nativa, C) complejo 2:1 [CUR-- β CD] obtenido por el método de co-precipitación.

A.14 Curva de calibración para la cuantificación de curcumina en presencia de β CD nativa (20 mM) obtenido por co-precipitación

La cuantificación se realizó disolviendo 3 mg de complejo en 3 mL de agua ultra pura. La disolución resultante fue analizada por UV-vis. El valor de absorbancia para dicho complejo

con estequiometria 2:1 se señala en la figura 76, la cual corresponde a una concentración de 0.042 mM que equivale a 17.025 mg de CUR/mmol de β CD.

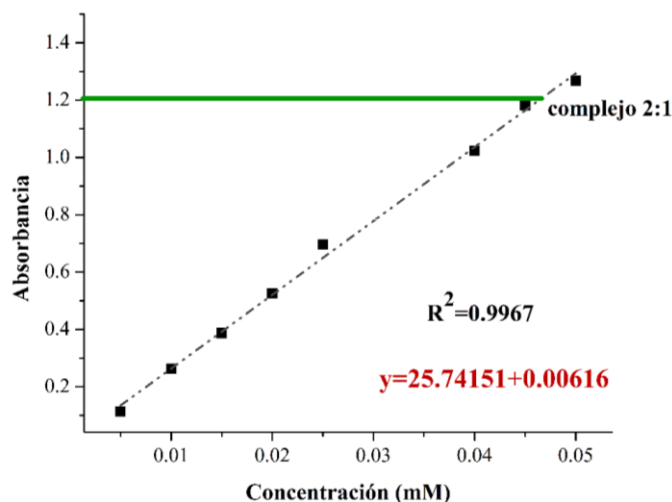


Figura 76. Curva de calibración de la curcumina en agua ultra pura (complejo obtenido por co-precipitación, a partir de la solución acuosa de β CD).

A.15 Curva de calibración para la cuantificación de curcumina en presencia de derivados dendríticos de β CD de 1 a 3G.

Complejo en presencia del derivado de 1G

3 mg de complejo fueron disueltos en 3 mL de agua ultra pura. De dicha solución se tomó una alícuota de 0.5 mL y se llevó a un volumen de 2 mL. La disolución resultante fue analizada por UV-vis. El valor de absorbancia para dicho complejo con estequiometria 2:1 se señala en la figura 77, la cual corresponde a una concentración de 0.046 mM que equivale a 22.69 mg de CUR/mmol de derivado de β CD.

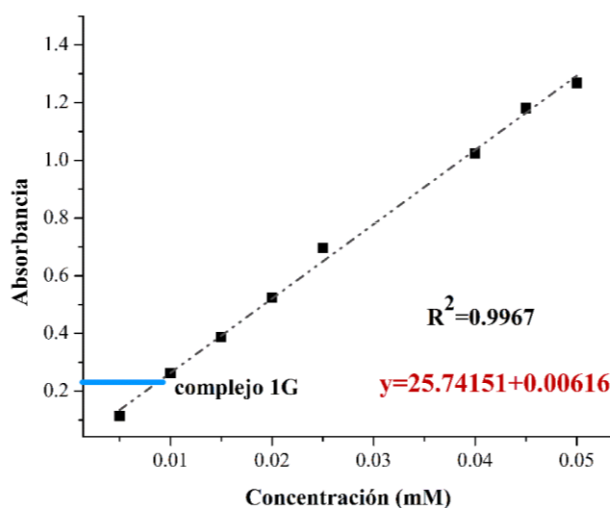


Figura 77. Curva de calibración de la curcumina en agua ultra pura (complejo obtenido por co-precipitación en presencia del derivado dendrítico de β CD de 1G).

Complejo en presencia del derivado de 2G

3 mg de complejo fueron disueltos en 3 mL de agua ultra pura. La disolución resultante fue analizada por UV-vis. El valor de absorbancia para dicho complejo con estequiometria 2:1 se señala en la figura 78, la cual corresponde a una concentración de 0.021 mM que equivale a 12.16 mg de CUR/mmol de derivado de β CD.

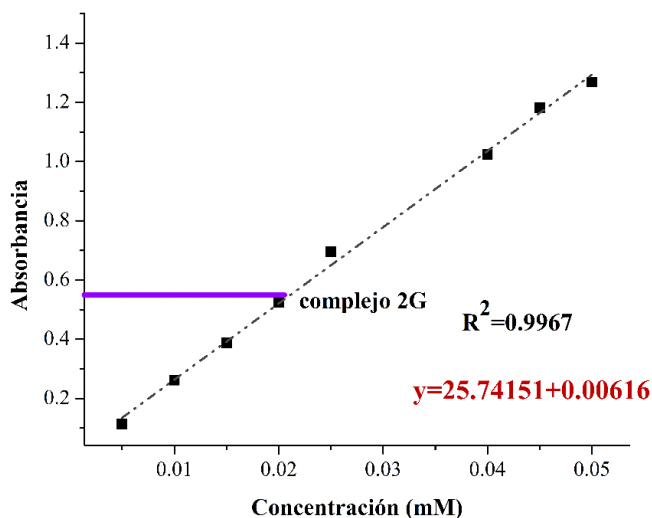


Figura 78. Curva de calibración de la curcumina en agua ultra pura (complejo obtenido por co-precipitación en presencia del derivado dendrítico de β CD de 2G).

Complejo en presencia del derivado de 3G

3 mg de complejo fueron disueltos en 3 mL de agua ultra pura. De dicha solución se tomó una alícuota de 0.5 mL y se llevó a un volumen de 2 mL. La disolución resultante fue analizada por UV-vis. El valor de absorbancia para dicho complejo con estequiometria 2:1 se señala en la figura 79, la cual corresponde a una concentración de 0.062 mM que equivale a 46.43 mg de CUR/mmol de derivado de β CD.

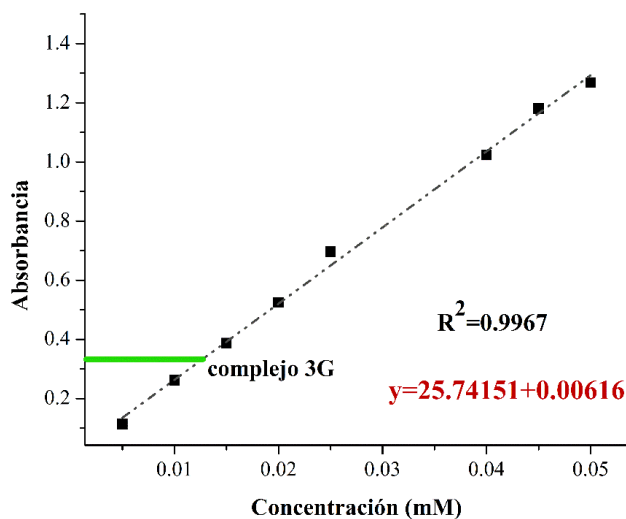


Figura 79. Curva de calibración de la curcumina en agua ultra pura (complejo obtenido por co-precipitación en presencia del derivado dendrítico de β CD de 3G).

A.16 Espectros de FT-IR de los complejos obtenidos en presencia de los derivados dendríticos de β CD de 1 a 3G.

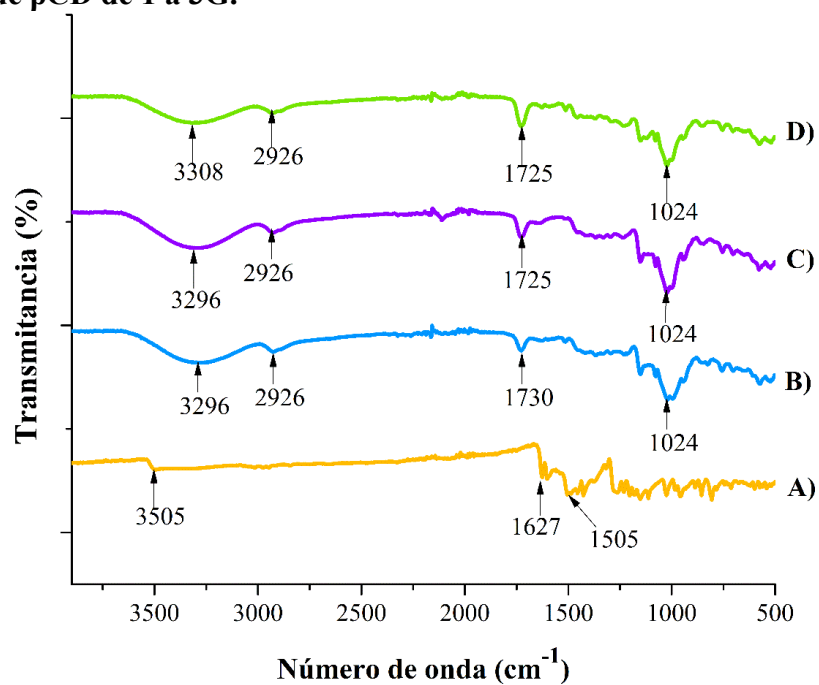


Figura 80. Espectro FT-IR de A) CUR y de complejos entre CUR y derivados de B) 1G, C) 2G y D) 3G.

9. Referencias

1. Gonzalez-Albadalejo, J., Sanz, D., Claramunt, R. M., Lavandera, J. L., Alkorta, I., & Elguero, J. Curcumin and curcuminoids: Chemistry, structural studies and biological properties. *An. Real Acad. Nac. Farm* 278–310 (2015). doi:10.20965/jdr.2014.p0128
2. Esatbeyoglu, T. *et al.* Curcumin—from molecule to biological function. *Angew. Chemie - Int. Ed.* 51, 5308–5332 (2012).
3. Prasad, S. & Aggarwal, B. B. *Turmeric, the Golden Spice: From Traditional Medicine to Modern Medicine. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects* (CRC Press/Taylor & Francis, 2011).
4. Chaudhary, G. D., Kamboj, P., Singh, I. & Kalia, A. N. Herbs as liver savers- A review. 1, 397–408 (2010).
5. Assessment, T. Chemical and Technical Assessment 61st JECFA. 1, 1–8 (2004).
6. Lampe, V. Synthese von Curcumin. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* 51, 1347–1355 (1918).
7. Feng, J. Y. & Liu, Z. Q. Phenolic and enolic hydroxyl groups in curcumin: Which plays the major role in scavenging radicals? *J. Agric. Food Chem.* 57, 11041–11046 (2009).
8. Pabon, H. J. J. A synthesis of curcumin and related compounds. *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas* 83, 379–386 (2010).
9. Mesa, M. D., Ramírez Tortosa, M. D. C., Aguilera García, C., Ramírez-Boscá, A., & Gil Hernández, Á. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides Pharmacological and nutritional effects of *Curcuma longa* L. extracts and curcuminoids. *Ars Pharm.* 41, 307–321 (2000).
10. Amalraj, A., Pius, A., Gopi, S. & Gopi, S. Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review. *J. Tradit. Complement. Med.* 7, 205–233 (2017).
11. EFSA; European Food Safety Authority Journal. 2010, 8 (1), pp. 1414-1446. Scientific Opinion on the re-evaluation of curcumin (E 100) as a food. 8, (2010).
12. Sasikumar, B. Turmeric. in *Handbook of Herbs and Spices* 526–546 (2012). doi:10.1533/9780857095671.526
13. De Cos, P. S. E. P.-U. Cúrcuma I (Cúrcuma Longa L.). *Reduca (Biología)* 7, 124–134 (2014).
14. Gryniewicz, G. & Ślifirski, P. Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status. *Acta Biochim. Pol.* 59, 201–2012 (2012).
15. Tilak, J. C., Banerjee, M., Mohan, H. & Devasagayam, T. P. A. Antioxidant Availability of Turmeric in Relation to its Medicinal and Culinary Uses. 804, 798–804 (2004).

16. Chandran, B. & Goel, A. A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis. *Phyther. Res.* 26, 1719–1725 (2012).
17. Mishra, S., & Palanivelu, K. The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease : An overview. *Ann. Indian Acad. Neurol.* 11, 13 (2008).
18. Chen, D. Y. *et al.* Curcumin inhibits influenza virus infection and haemagglutination activity. *Food Chem.* 119, 1346–1351 (2010).
19. Zhang, D. *et al.* Effects of two curcuminoids on *Candida albicans*. *Chinese Herb. Med.* 4, 205–212 (2012).
20. Rahman, I., Biswas, S. K. & Kirkham, P. A. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem. Pharmacol.* 72, 1439–1452 (2006).
21. Witkin, J. M., & Li, X. Curcumin , an Active Constiuent of the Ancient Medicinal Herb *Curcuma longa* L . : Some Uses and the Establishment and Biological Basis of Medical Efficacy. *CNS Neurol. Disord. Targets (Formerly Curr. Drug Targets-CNS Neurol. Disord.* 12, 487–497 (2013).
22. Sreejayan, N., Rao, M. N. A., Priyadarsini, K. I., Devasagayam, T. P. A. Inhibition of radiation-induced lipid peroxidation by curcumin. *Int. J. Pharm.* 173, 127–130 (1997).
23. Jovanovic, S. V, Steenken, S., Boone, C. W. & Simic, M. G. H-Atom Transfer Is A Preferred Antioxidant Mechanism of Curcumin. *J. Am. Chem. Soc.* 121, 9677–9681 (1999).
24. Anand, P., Kunnumakkara, AB, Newman, RA, y Aggarwal, B. Biodisponibilidad de la curcumina: problemas y promesas. *Farm. Mol.* 4, 807–818 (2007).
25. Paramera, E. I., Konteles, S. J. & Karathanos, V. T. Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, β -cyclodextrin and modified starch. *Food Chem.* 125, 913–922 (2011).
26. Duque, A. L. & Fabi, D. Caracterización Curcumina quindio. *Rev. Investig. Univ. del Quindío* 18–22 (2009).
27. Priyadarsini, K. I. The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent. *Molecules* 19, 20091–20112 (2014).
28. Priyadarsini, K. I., Maity, D. K., Naik, G. H., Kumar, M. S., Unnikrishnan, M. K., Satav, J. G.; Mohan, H. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic. Biol. Med.* 35, 475–484 (2003).
29. Basnet, P., Hussain, H., Tho, I. & Skalko-Basnet, N. Liposomal Delivery System Enhances Anti-Inflammatory Properties of Curcumin. *J. Pharm. Sci.* 101, 598–609 (2012).
30. Ak, T. & Gülçin, I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem. Biol. Interact.* 174, 27–37 (2008).

31. Galano, A., Álvarez-Diduk, R., Ramírez-Silva, M. T., Alarcón-Ángeles, G. & Rojas-Hernández, A. Role of the reacting free radicals on the antioxidant mechanism of curcumin. *Chem. Phys.* 363, 13–23 (2009).
32. Barzegar, A. The role of electron-transfer and H-atom donation on the superb antioxidant activity and free radical reaction of curcumin. *Food Chem.* 135, 1369–1376 (2012).
33. Jovanovic, S. V., Steenken, S., Boone, C. W. & Simic, M. G. H-atom transfer is a preferred antioxidant mechanism of curcumin. *J. Am. Chem. Soc.* 121, 9677–9681 (1999).
34. Shen, L. & Ji, H. F. Theoretical study on physicochemical properties of curcumin. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 67, 619–623 (2007).
35. Lestari, M. L. . & Indrayanto, G. Curcumin. in *Profiles of drug substances, excipients and related methodolog* 39, 113–204 (Elsevier, 2014).
36. Bernabé-Pineda, M., Ramírez-Silva, M. T., Romero-Romo, M., González-Vergara, E. & Rojas-Hernández, A. Determination of acidity constants of curcumin in aqueous solution and apparent rate constant of its decomposition. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 60, 1091–1097 (2004).
37. Landeros, J. M. *et al.* A two-step synthetic strategy to obtain a water-soluble derivative of curcumin with improved antioxidant capacity and in vitro cytotoxicity in C6 glioma cells. *Mater. Sci. Eng. C* 71, 351–362 (2017).
38. Gutiérrez Hernández, P. R. Algunas consideraciones. *Rev. Int. Androl.* 6, 1–2 (2008).
39. Gota, V. S., Maru, G. B., Soni, T. G., Gandhi, T. R., Kochar, N., & Agarwal, M. G. Safety and Pharmacokinetics of a Solid Lipid Curcumin Particle Formulation in Osteosarcoma Patients and Healthy Volunteers. *J. Agric. Food Chem.* 2095–2099 (2010). doi:10.1021/jf9024807
40. Mohan, P. R. K., Sreelakshmi, G., Muraleedharan, C. V. & Joseph, R. Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy. *Vib. Spectrosc.* 62, 77–84 (2012).
41. Siviero, A., Gallo, E., Maggini, V., Gori, L., Mugelli, A., Firenzuoli, F., & Vannacci, A. Curcumin , a golden spice with a low bioavailability. *J. Herb. Med.* 5, 57–70 (2015).
42. Erez, Y., Simkovitch, R., Shomer, S., Gepshtein, R. & Huppert, D. Effect of Acid on the Ultraviolet – Visible Absorption and Emission Properties of Curcumin. (2014). doi:10.1021/jp411686d
43. Nardo, L., Paderno, R., Andreoni, A., Måsson, M. & Haukvik, T. Role of H-bond formation in the photoreactivity of curcumin *. 22, 187–198 (2008).
44. Wang, Y., Lu, Z., Lv, F. & Bie, X. Study on microencapsulation of curcumin pigments by spray drying. *Eur. Food Res. Technol.* 229, 391–396 (2009).

45. Kane, S. N., Mishra, A. & Dutta, A. K. Extraction of Curcumin Pigment from Indonesian Local Turmeric with Its Infrared Spectra and Thermal Decomposition Properties. *J. Phys. Mater. Sci. Eng.* 1, 012136 (2017).
46. Analysis, B. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. 15, 1867–1876 (1997).
47. Gordon, O. N. & Schneider, C. Vanillin and ferulic acid: Not the major degradation products of curcumin. *Trends Mol. Med.* 18, 361–363 (2012).
48. Griesser, M. *et al.* Autoxidative and cyclooxygenase-2 catalyzed transformation of the dietary chemopreventive agent curcumin. *J. Biol. Chem.* 286, 1114–1124 (2011).
49. Schneider, C., Gordon, O. N., Edwards, R. L. & Luis, P. B. Degradation of Curcumin: From Mechanism to Biological Implications. (2015). doi:10.1021/acs.jafc.5b00244
50. Tønnesen, H. H., Másson, M. & Loftsson, T. Studies of curcumin and curcuminoids. XXVII. Cyclodextrin complexation: Solubility, chemical and photochemical stability. *Int. J. Pharm.* 244, 127–135 (2002).
51. Li, X. *et al.* Preparation of curcumin micelles and the in vitro and in vivo evaluation for cancer therapy. *J. Biomed. Nanotechnol.* 10, 1458–1468 (2014).
52. Basnet, P., Hussain, H., Tho, I. & Skalko-basnet, N. Liposomal Delivery System Enhances Anti-Inflammatory Properties of Curcumin. *J. Pharm. Sci.* 101, 598–609 (2012).
53. Hu, L. *et al.* Preparation and Enhancement of Oral Bioavailability of Curcumin Using Microemulsions Vehicle. *J. Agric. Food Chem.* 7137–7141 (2012). doi:10.1021/jf204078t
54. Yallapu, M. M., Jaggi, M. & Chauhan, S. C. Curcumin nanoformulations : a future nanomedicine for cancer. *Drug Discov. Today* 17, 71–80 (2012).
55. Ucisik, M. H., Küpcü, S., Schuster, B., & Sleytr, U. B. Characterization of CurcuEmulsomes : nanoformulation for enhanced solubility and delivery of curcumin. *J. Nanobiotechnology* 11, 1–13 (2013).
56. Sindhu, K., Rajaram, A., Sreeram, K. J., & Rajaram, R. Curcumin conjugated gold nanoparticle synthesis and its biocompatibility. *Rsc Adv.* 1808–1818 (2014). doi:10.1039/c3ra45345f
57. Li, R. *et al.* Metabolic and pharmacokinetic studies of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in mice tumor after intragastric administration of nanoparticle formulations by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 879, 2751–2758 (2011).
58. Wang, L. *et al.* Encapsulation of curcumin within poly(amidoamine) dendrimers for delivery to cancer cells. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 24, 2137–2144 (2013).
59. Mrówczyński, R. *et al.* Cyclodextrin-Based Magnetic Nanoparticles for Cancer Therapy. *Nanomaterials* 8, 170 (2018).

60. Bender, M. L., & Komiyama, M. *Cyclodextrin Chemistry*. *Cyclodextrin Chemistry* 6, (world scientific / chemical industry press, china, 2012).
61. Ortega Caballero, F. *Síntesis y reconocimiento molecular de glicoclústeres y glicodendrimeros sobre un núcleo de β -ciclodextrina : tesis doctoral*. (Universidad de Almería, Servicio de Publicaciones, 2004).
62. Freudenberg, K. & Meyer-Delius, M. Über die Schardinger-Dextrine aus Stiarke. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft (A B Ser.* 71, 1596–1600 (1938).
63. Freudenberg, K., Schaaf, E., Dumpert, G., & Ploetz, T. Neue ansichten über die stärke. *Naturwissenschaften* 874, 850–853 (1939).
64. Freudenberg, K.; Cramer, F. Die Konstitution der Schardinger-Dextrine α , β und γ . *Zeitschrift für Naturforsch. B* 464–466 (1949).
65. Challa, R., Ahuja, A., Ali, J. & Khar, R. K. Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. *AAPS PharmSciTech* 6, E329–E357 (2005).
66. Jin, Z. Y. *Cyclodextrin Chemistry. Preparation and application*. (2013).
67. Astray, G., Mejuto, J. C., Morales, J. & Moldes, O. Ciclodextrinas y su aplicación en la tecnología alimentaria. *Ind. Aliment.* (2011).
68. Jansook, P., Ogawa, N. & Loftsson, T. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* 535, 272–284 (2018).
69. Szejtli, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev.* 2665, (1998).
70. Fourmentin, S., Crini, G., & Lichtfouse, E. *Cyclodextrin Applications in Medicine, Food, Environment and Liquid Crystals*. 17, (Springer International Publishing, 2018).
71. Abdolmaleki, A., Ghasemi, F., & Ghasemi, J. B. Computer-aided drug design to explore cyclodextrin therapeutics and biomedical applications. *Chem. Biol. Drug Des.* 89, 257–268 (2017).
72. Higuchi, T. & Connors, K. A. Phase Solubility Techniques. *Adv. Anal. Chem. Instrum.* 4, 117–210 (1965).
73. Saokham, P., Muankaew, C., Jansook, P. & Loftsson, T. Solubility of cyclodextrins and drug/cyclodextrin complexes. *Molecules* 23, 1–15 (2018).
74. Garrido, B. A. & Santana, C. M. C. Dendrimeros: Macromoléculas versátiles con interés interdisciplinar. *Encuentros Multidiscip.* 18, 1–14 (2016).
75. Marcos, M. & Luis, J. Polímeros Dendríticos. *An. la Real Soc. Española Química* 2, 103–110 (2009).
76. Gonzalo, T., & Fernández, M. Á. M. *Dendrimeros y sus aplicaciones biomédicas. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*. (2009).
77. Lee, C. C., MacKay, J. A., Fréchet, J. M. J. & Szoka, F. C. Designing dendrimers for biological applications. *Nat. Biotechnol.* 23, 1517–1526 (2005).

78. Denkewalter, R. G., Kolc, J., & Lukasavage, W. J. Macromolecular highly branched homogeneous compound based on lysine units. Patent No 4,289,872 (1981).
79. Tomalia, D. A. *et al.* A New Class of Polymers: Starburst-Dendritic Macromolecules. *Polymer Journal* 17, (1985).
80. Newkome, G. R., Yao, Z., Baker, G. R., & Gupta, V. K. Micelles. Part 1. Cascade molecules: a new approach to micelles. *J. Org. Chem.* 50, 2003–2004 (1985).
81. Carlmark, A., Malmström, E. & Malkoch, M. Dendritic architectures based on bis-MPA: Functional polymeric scaffolds for application-driven research. *Chem. Soc. Rev.* 42, 5858–5879 (2013).
82. Carlmark, A., Hawker, C., Hult, A. & Malkoch, M. New methodologies in the construction of dendritic materials. *Chem. Soc. Rev.* 38, 352–362 (2009).
83. Antoni, P. *et al.* Pushing the limits for Thiol-Ene and CuAAC reactions: Synthesis of a 6th generation dendrimer in a single day. *Macromolecules* 43, 6625–6631 (2010).
84. Vieyres, A. *et al.* Combined Cu I -catalysed alkyne-azide cycloaddition and furan-maleimide Diels-Alder ‘click’ chemistry approach to thermoresponsive dendrimers. *Chem. Commun.* 46, 1875–1877 (2010).
85. Ihre, H., Hult, A., Fréchet, J. M. J. & Gitsov, I. Double-stage convergent approach for the synthesis of functionalized dendritic aliphatic polyesters based on 2,2-bis(hydroxymethyl)propionic acid. *Macromolecules* 31, 4061–4068 (1998).
86. Liu, H., Li, S., Zhang, M., Shao, W. & Zhao, Y. Facile synthesis of ABCDE-type H-shaped quintopolymers by combination of ATRP, ROP, and click chemistry and their potential applications as drug carriers. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 50, 4705–4716 (2012).
87. López-Méndez, L. J. *et al.* Synthesis of a poly(ester) dendritic β -cyclodextrin derivative by “click” chemistry: Combining the best of two worlds for complexation enhancement. *Carbohydr. Polym.* 184, 20–29 (2018).
88. Tang, W. & Ng, S. C. Synthesis of cationic single-isomer cyclodextrins for the chiral separation of amino acids and anionic pharmaceuticals. *Nat. Protoc.* 2, 3195–3200 (2007).
89. Al Temimi, A. H. K., Boltje, T. J., Zollinger, D., Rutjes, F. P. J. T. & Feiters, M. C. Peptide-Appended Permethylated β -Cyclodextrins with Hydrophilic and Hydrophobic Spacers. *Bioconjug. Chem.* 28, 2160–2166 (2017).
90. Marcolino, V. A., Zanin, G. M., Durrant, L. R., Benassi, M. D. T. & Matioli, G. Interaction of curcumin and bixin with β -cyclodextrin: Complexation methods, stability, and applications in food. *J. Agric. Food Chem.* 59, 3348–3357 (2011).
91. Frisch, M. J. *et al.* Gaussian 16. *Gaussian, Inc., Wallingford CT*, (2016).
92. Becke, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys. Rev. A.* 38, 3098 (1988).

93. Zarzycki, P. K., Zarzycka, M. B., Ślęczka, M. M. & Clifton, V. L. Acetonitrile, the polarity chameleon. *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 905–908 (2010).
94. Yadav, V. R., Suresh, S., Devi, K. & Yadav, S. Effect of Cyclodextrin Complexation of Curcumin on its Solubility and Antiangiogenic and Anti-inflammatory Activity in Rat Colitis Model. *AAPS PharmSciTech* 10, 752–762 (2009).
95. Mohan, P. R. K., Sreelakshmi, G., Muraleedharan, C. V. & Joseph, R. Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy. *Vib. Spectrosc.* 62, 77–84 (2012).
96. Sun, Y. *et al.* Transdermal delivery of the in situ hydrogels of curcumin and its inclusion complexes of hydroxypropyl- β -cyclodextrin for melanoma treatment. *Int. J. Pharm.* 469, 31–39 (2014).
97. López-Tobar, E., Blanch, G. P., Ruiz del Castillo, M. L. & Sanchez-Cortes, S. Encapsulation and isomerization of curcumin with cyclodextrins characterized by electronic and vibrational spectroscopy. *Vib. Spectrosc.* 62, 292–298 (2012).
98. Mura, P. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 113, 226–238 (2015).
99. Martinez, C. R. & Iverson, B. L. Rethinking the term ‘ π -stacking’. *Chem. Sci.* 3, 2191–2201 (2012).
100. Shi, M. M. *et al.* π - π interaction among violanthrone molecules: Observation, enhancement, and resulting charge transport properties. *J. Phys. Chem. B* 115, 618–623 (2011).
101. Shao, Y. *et al.* Engineering π - π Interactions for enhanced photoluminescent properties: Unique discrete dimeric packing of perylene diimides. *RSC Adv.* 7, 6530–6537 (2017).
102. Merabti, K. E., Azizi, S., Ridard, J., Lévy, B. & Demachy, I. π -Stacking interactions in YFP, quantum mechanics and force field evaluations in the S0 and S1 states. *Chem. Phys.* 493, 157–165 (2017).
103. Zhuang, W. R. *et al.* Applications of π - π stacking interactions in the design of drug-delivery systems. *J. Control. Release* 294, 311–326 (2019).