



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

DENDRONIZACIÓN DEL NÚCLEO DE CURCUMINA Y EVALUACIÓN DEL  
EFECTO DE LA GENERACIÓN DEL DENDRÓN SOBRE EL PODER  
ANTIOXIDANTE

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICO**

PRESENTA

**CÉSAR GABRIEL VERA DE LA GARZA**



CD. MX.

2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## **JURADO ASIGNADO**

- PRESIDENTE: M. en C. Ana Adela Sánchez Mendoza
- VOCAL: Dra. Patricia Guadarrama Acosta.
- SECRETARIO: Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez
- 1ER. SUPLENTE: Luis Alejandro Díaz Flores
- 2DO. SUPLENTE: Elizabeth Reyes López

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL PROYECTO:

Instituto De Investigaciones En Materiales, U.N.A.M.

ASESORA:

Dra. Patricia Guadarrama Acosta

ALUMNO:

César Gabriel Vera de la Garza

## Índice.

Índice.....	3
Introducción .....	4
<b>1. Antecedentes.</b> .....	6
1.1 Dendrones, dendrímeros y sus propiedades de interés en este proyecto. .....	6
1.2 Curcumina.....	9
1.3 Reacción de Steglich.....	12
1.4 Síntesis de bloques de construcción..	13
<b>2. Hipótesis.</b> .....	15
<b>3. Objetivos.</b> .....	15
3.1 Objetivo General.....	15
3.2 Objetivos particulares. ....	15
<b>4. Sección experimental.</b> .....	16
4.1 Reactivos. ....	16
4.2 Equipos utilizados. ....	16
4.3 Procedimientos generales. ....	16
4.3.1 Esterificación de Steglich.....	16
4.3.2 Desprotección. ....	17
4.3.3 Determinación del poder antioxidante mediante la técnica FRAP (habilidad del plasma para reducir sales féricas por sus siglas en inglés). ....	17
4.4 Procedimientos específicos. ....	17
4.4.1 Adición del grupo bencilo al carbonilo del bis-MPA. ....	17
4.4.2 Dendrón de primera generación (D1G). ....	18
4.4.3 Dendrón de segunda generación (D2G). ....	18
4.4.4 Dendrón de segunda generación con grupos hidroxilo en la periferia. (D2G-OH). ....	19
4.4.5 Dendrón de tercera generación (D3G).....	20
4.4.6 Dendrón de tercera generación con punto focal de ácido carboxílico (D3G-CO2H). ....	21
4.4.7 Dendro-curcumina de primera generación (1PC1P).....	22
4.4.8 Dendro-curcumina de tercera generación (3PC3P).....	23
4.4.9 Dendro-curcumina(s) con grupos hidroxilo (-OH) en la periferia. (1C1); (2C2); (3C3). ....	24
<b>5. Resultados y discusión</b> .....	25
5.1. Síntesis y caracterización .....	25
5.2. Cálculos teóricos de minimización de energía para el compuesto 3C343	
5.3. Estimación del poder antioxidante de los compuestos sintetizados mediante el ensayo de FRAP .....	47
<b>6. Conclusiones.</b> .....	49
<b>Anexo 1</b> .....	50

## Introducción

La búsqueda de moléculas con propiedades antioxidantes representa un campo de investigación bastante activo hoy en día, y una de las moléculas que ha llamado poderosamente la atención es la curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona), que es uno de los metabolitos secundarios presentes en la planta *cúrcuma longa*. Se sabe que dicho metabolito presenta principalmente cualidades antioxidantes, aunque recientemente se han descubierto otras propiedades con interés clínico. Uno de los problemas que presenta esta molécula es su baja solubilidad en agua, problema que se ve íntimamente relacionado con su baja biodisponibilidad. Diversos esfuerzos sintéticos se han realizado para aumentar la solubilidad de la curcumina en medios acuosos; desde su encapsulamiento hasta su conjugación con diferentes entidades moleculares, cuidando siempre de mantener su actividad antioxidante.

Por su arquitectura, los dendrímeros, y sus bloques constructores llamados dendrones, han sido considerados para modificar el balance hidrofóbico/hidrofílico de moléculas poco solubles en agua, mejorando así su biodisponibilidad bajo dos posibles escenarios: encapsulamiento (vía interacciones no enlazantes) ó conjugación (vía enlaces covalentes lábiles). Cuando la conjugación se lleva a cabo entre dendrones y moléculas activas, se dice que se ha llevado a cabo una dendronización.

Un dendrímero es una macromolécula cuyo crecimiento es controlado mediante reacciones de acoplamiento secuencial, ya sea convergente o divergente. Los dendrones y dendrímeros poseen una gran cantidad de aplicaciones, desde el encapsulamiento de moléculas de cualquier tipo, hasta la funcionalización de las mismas para otorgarles propiedades otrora inexistentes en dicha molécula. Lo anterior resulta ser un vago ejemplo de todas las aplicaciones que poseen.

Tomando en cuenta por un lado el potencial de la curcumina como agente antioxidante, y por otro lado el efecto dendrítico sobre la solubilidad de las moléculas, en este proyecto se sintetizaron y caracterizaron dendrones del tipo poliéster a partir del ácido 2,2-bis(hidroximetil)propanóico, abreviado *bis-MPA*, por sus siglas en inglés, para ser posteriormente acoplados al núcleo de curcumina, con el fin de modificar su solubilidad en medios acuosos.

Se prepararon dendrones de primera a tercera generación con punto focal de ácido carboxílico, y se unieron a los grupos fenoles de la curcumina mediante reacciones de esterificación tipo Steglich.

Se llevó a cabo la caracterización completa de estos conjugados vía espectroscopia FT-IR, espectrometría de masas y RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y Correlación Heteronuclear (HSQC por sus siglas en inglés). Asimismo, se llevó a cabo la evaluación del poder antioxidantes mediante el ensayo de FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma).

## 1. Antecedentes.

### 1.1 Dendrones, dendrímeros y sus propiedades de interés en este proyecto.

Tanto los dendrones como los dendrímeros son moléculas monodispersas con una arquitectura tridimensional formada por ramificaciones. Las moléculas mencionadas son sintetizadas mediante reacciones de acoplamiento secuencial, mismas que desembocan en la formación de una nueva generación de la macromolécula. Se sabe que el primer ejemplo de una síntesis secuencial fue hecho por Vögtle, quien describió la síntesis de estructuras ramificadas como “síntesis en cascada”. Posteriormente fueron patentadas diversas rutas sintéticas en la década de los 80, pero desafortunadamente solo fueron reportados los datos de las cromatografías de exclusión, mas no de la caracterización<sup>1</sup>.

Las primeras estructuras dendríticas que fueron descritas y ampliamente estudiadas fueron los dendrímeros del tipo PAMAM (poliamidoamida), sintetizados por Tomalia, así como también los “sistemas arbóreos” de Newkome<sup>1,2,3</sup>. Posteriormente fueron realizadas muchas más investigaciones relativas a los diversos tipos de síntesis, como aquella que es divergente o la convergente, siendo ésta última introducida por Fréchet en 1990. Los procesos de síntesis divergente (Figura 1) son comenzados con núcleos multifuncionales, y las reacciones de acoplamiento secuencial son realizadas en la periferia, para dar lugar al crecimiento del dendrímero. Por otro lado, las reacciones de síntesis convergente (Figura 2) implican la formación de dendrones que serán posteriormente acoplados al núcleo, para formar en un solo paso al dendrímero.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>

A. W. Bosman, H. M. (1999). *About Dendrimers: Structure, Physical Properties and Applications*. The Netherlands: Chem. Rev.

<sup>2</sup> Newkome, G. R.; Yao, Z.-Q.; Baker, G. R.; Gupta, K. J. *Org. Chem.* **1985**, *50*, 2003-2004.

<sup>3</sup> Tomalia, D. A.; Baker, H.; Dewald, J. R.; Hall, M.; Kallos, G.; Martin, S.; Roeck, J.; Ryder, J.; Smith, P. *Polym. J. (Tokyo)* **1985**, *17*, 117-132.

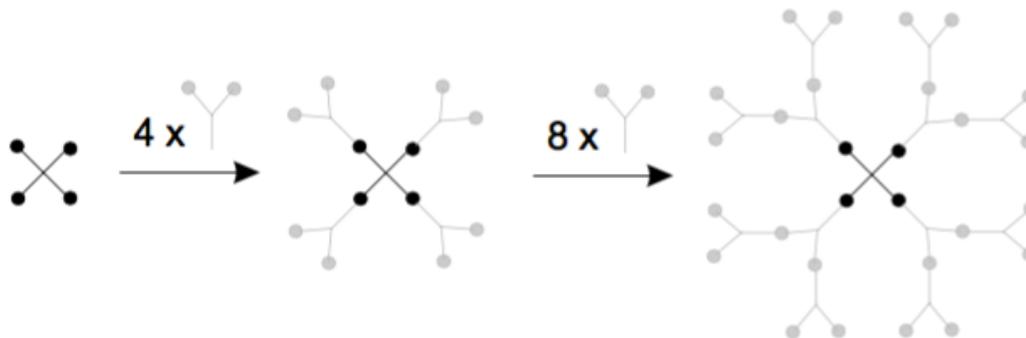


Figura 1: Representación de una síntesis divergente.

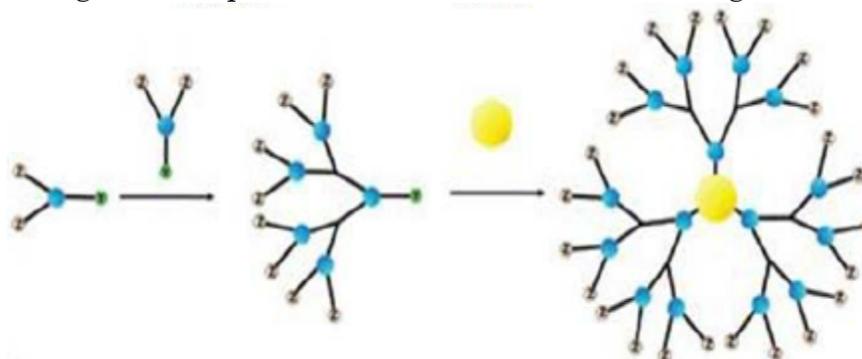


Figura 2: Representación de una síntesis convergente.

La síntesis divergente es bastante útil para la obtención de grandes cantidades de dendrónimo, pero los problemas comienzan cuando el impedimento estérico es tal que los acoplamientos resultan ser incompletos. Por lo anterior, resulta necesaria la adición de grandes excesos de reactivos, dificultando los procesos de purificación.<sup>4</sup>

La síntesis convergente se desarrolló como respuesta para sobrepasar los problemas observados al realizar la síntesis divergente.<sup>4</sup> Como se mencionaba anteriormente, la síntesis comienza a partir de los grupos terminales, más no del núcleo en cuestión, para posteriormente ser acoplados a él. Dichos grupos terminales son llamados dendrones<sup>4</sup> y cuando se alcanza el tamaño deseado, son acoplados finalmente al núcleo. Sí y solo sí el núcleo presenta tres o más puntos de anclaje para dendrones, el producto final será llamado dendrónimo.

Esta síntesis presenta grandes ventajas, principalmente facilita la purificación, además de reducir el riesgo de alguna sustitución parcial, permitiendo la formación de dendrónimos en menos pasos.<sup>4</sup>

Existe basta literatura relacionada con la historia de los dendrónimos y dendrones,<sup>1,2</sup> y sus diversas aplicaciones;<sup>1,4,7</sup> sin embargo, en esta sección

<sup>4</sup> Klajnert, B; Bryszewska, M. Department of general biophysics. Lodz Univ, Poland. 2001, Vol. 48, pp. 199-208.

centraremos el enfoque en el impacto que tiene la dendronización (tipo y tamaño de generación) de sistemas moleculares, sobre propiedades físicas como el acomodo espacial, entre otras.

Fréchet y colaboradores<sup>6</sup> compararon el carácter cromóforo de un núcleo funcionalizado con diversas generaciones de dendrones homólogos del tipo poliéter, cuyas terminaciones eran polares. Analizando los cambios inducidos en el cromóforo, se encontró que el núcleo quedaba inmerso en un ambiente cada vez más polar, lo que significaba que de alguna manera el dendrímero se plegaba sobre sí mismo; siendo mayor el efecto a altas generaciones, sugiriéndose que al aumentar la generación, la estructura se tornaría cada vez más compacta. Por otro lado, el equipo de trabajo de Zimmerman concluyó que la polaridad al interior del dendrímero se encontraba dada por el disolvente, y que el núcleo en cuestión se encontraría inmerso en un ambiente apolar.<sup>5</sup> Es necesario explicar que las discrepancias entre los resultados son debidas a la generación de dendrímeros estudiadas por los diferentes grupos de trabajo. Mientras que Zimmerman investigó cuatro generaciones, Fréchet investigó dos generaciones adicionales.<sup>1,5</sup>

Se sabe que dendrímeros y dendrones cuyas generaciones son inferiores a la segunda, poseen cierta asimetría y poseen una estructura relativamente abierta.<sup>4</sup> Pero al aumentar la generación, las cadenas se tornan mucho más abiertas y ramificadas, por lo que es preciso mencionar que adoptarán entonces una estructura globular.<sup>4</sup> Cuando se alcanza un estado de ramificación crítica, resulta imposible continuar con el crecimiento de la molécula al no existir mayor espacio disponible, denominándose dicho fenómeno como “starburst effect”<sup>4</sup> o “Empacamiento denso de De Gennes”<sup>6</sup>

En solución, los dendrones y dendrímeros pueden ser encontrados como esferas altamente empacadas, caso totalmente diferente a los polímeros lineales cuyo crecimiento es meramente estocástico.<sup>4,7</sup> La presencia de una gran cantidad de terminaciones les confiere diversas propiedades en función de la naturaleza de las mismas, por ejemplo una alta solubilidad en agua, si los grupos terminales son polares, o una alta solubilidad en disolventes apolares si sus terminaciones son apolares.<sup>4</sup>

En una prueba de solubilidad en THF, se encontró que la solubilidad de un dendrímero de tipo poliéster de cuarta generación resultó ser bastante más

---

<sup>5</sup>Zimmerman, S. C.; Wang, Y.; Bharathi, P.; Moore, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2172-2173.

<sup>6</sup> De Gennes, P. G.; Hervet, H. (1983) Statistics of “Starburst” polymers . *J. Physique Lettres* **44**, 351-360.

<sup>7</sup> Fréchet, J.M.J. (1994) Functional polymers and dendrimers: Reactivity, molecular architecture, and interfacial energy. *Science* **263**, 1710-1715.

alta que la de su homólogo lineal.<sup>7</sup> También se encontró una diferencia sustancial en la reactividad de ambos. Mientras que el dendrímero podía ser desprotegido al remover grupos bencilo, utilizando hidrógeno y una catálisis en fase heterogénea, el polímero lineal resultaba ser inerte.<sup>6</sup>

Es bien sabido que la eficiencia de un fármaco se encuentra relacionada con su biodisponibilidad, y ésta a su vez con la solubilidad de la molécula en medios acuosos a pH fisiológico. Existe una gran cantidad de moléculas con alto potencial terapéutico, pero es debido a su baja solubilidad en agua que no han sido empleadas.<sup>4</sup> Dendrones y dendrímeros solubles en agua han sido utilizados para funcionalizar moléculas con propiedades de interés en la medicina, de modo que les sea otorgada una propiedad que otrora no poseían<sup>8</sup>.

En resumen, la arquitectura dendrimérica, que permite incorporar en una sola entidad molecular una multitud de grupos activos, atrajo la atención en áreas como la medicina y la farmacoquímica,<sup>1,4</sup> ya que, no solo es posible tener grandes cantidades de moléculas con actividad (fármacos o moléculas biológicamente activas), sino que también se favorecen algunas propiedades, como la solubilidad, el carácter cromóforo<sup>4</sup>. El transporte de una molécula activa puede ocurrir bajo dos posibles escenarios: encapsulamiento (vía interacciones no enlazantes) ó conjugación (vía enlaces covalentes lábiles)<sup>8,9</sup>.

A últimas fechas, los dendrones y dendrímeros más utilizados en aplicaciones biológicas han resultado ser los tipo poliéster<sup>4,9,10</sup> puesto que han demostrado ser estables, no citotóxicos, además de presentar una buena solubilidad en agua y ser comercialmente disponibles.

## 1.2 Curcumina.

La curcumina (Figura 3) es extraída de la planta *cúrcuma longa*, una planta ampliamente utilizada como especia en la India, China y otros países de Asia. La planta se encuentra emparentada con el jengibre. Pertenece a la familia de las zingiberáceas y se ha reportado su uso también como un remedio natural. El método de obtención es a partir de la molienda de la planta, siendo que la curcumina, entre otros metabolitos presentes, le confiere un color amarillo-naranja muy característico.<sup>11</sup>

---

<sup>8</sup> Twibanire, J. K.; Grindley, T. B. (2014) Polyester dendrimers: Smart carriers for drug delivery. *Polymers*. 6, pp. 179-213.

<sup>9</sup> Sadekar, S. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2012, 64, pp. 571-580.

<sup>10</sup> Gilles, E. R; Fréchet J. M. J. *Am. Chem. Soc.* 2002, 124, pp. 14137-14146.

<sup>11</sup> Aggarwal, B. B; Sundaram, C; Malani, N; Ichikawa, H. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007, 595, pp. 1.

La curcumina ha mostrado actividad importante como agente antiparasitario<sup>12</sup>, antiinflamatorio, anticarcinogénico y antioxidante, entre otras propiedades<sup>13</sup>, motivo por el cual recientemente ha comenzado a ser objeto de estudio.<sup>9</sup>

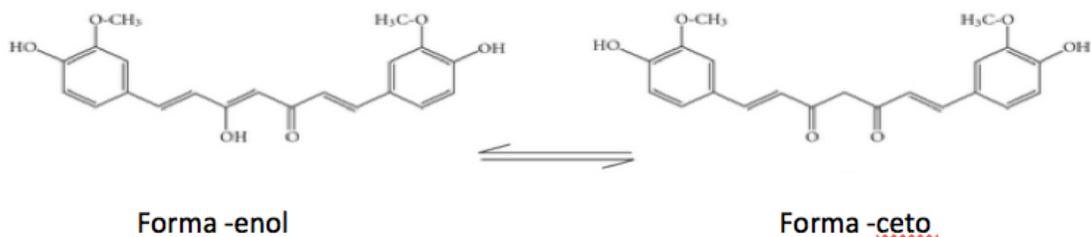


Figura 3: Estructura de la Curcumina y su equilibrio ceto-enólico.

Analizando la molécula de la curcumina, es fácil observar la alta conjugación de la misma. La presencia de enlaces pi le confiere una estructura que bien podría describirse como plana, por lo que es posible asignarle un plano rotacional  $C_2$  condicionado a la presencia de la dicetona en vez del tautómero enólico que, de acuerdo con la literatura, es el más común de encontrar.<sup>14</sup>

Desafortunadamente, la curcumina presenta una baja solubilidad en agua, de acuerdo a estudios que se han realizado en humanos y en roedores, en donde las concentraciones de curcumina en el plasma sanguíneo son prácticamente indetectables.<sup>14</sup> Una de las condiciones necesarias para que un fármaco presente una buena actividad, es su biodisponibilidad, misma que se encuentra relacionada con la propiedad que se enuncia anteriormente; la solubilidad. Por lo anterior, resulta de vital importancia encontrar un método adecuado para aumentar la solubilidad de la molécula, de modo que sus capacidades anteriormente descritas puedan ser explotadas.<sup>9,10,14</sup>

Se han propuesto diversas alternativas en virtud de aumentar la biodisponibilidad de la curcumina, entre las cuales es posible encontrar el encapsulamiento en micelas formadas con algún copolímero, la funcionalización con algún grupo altamente soluble en agua, el uso de

<sup>12</sup> Jayaprakasha, G.K.; L.J. Rao y K.K. Sakariah. Chemistry and biological activities of C. Longa. Trends in Food Science and Technology. 2005. 16 (12). pp. 533-548 .

<sup>13</sup> Jayaprakasha, G.K.; L.J. Rao y K.K. Sakariah. Chemistry and biological activities of C. Longa. Trends in Food Science and Technology. 2005. 16 (12): 533-548

<sup>14</sup> Preetha, A; Ajaikumar, B; Newman, A; Aggarwal, B. Dpt. Exp. Ther, Texas. Univ. Molecular Pharmaceutics, 2007, Vol. 4. No. 6. pp. 807-818.

nanopartículas que permitan la introducción de la molécula a un medio fisiológico y muchas más.<sup>10,15,16,17,18</sup>

Adicional a su efecto anticarcinogénico, se ha mostrado que la curcumina puede ser un agente quimiosensibilizante, lo que ayuda a minimizar los efectos colaterales producidos por la quimioterapia convencional.<sup>13</sup>

La oxidación de una sustancia, químicamente, puede definirse como la pérdida de sus electrones, la ganancia de oxígenos o la pérdida de hidrógenos en su estructura. Por otro lado, la reducción es interpretada como lo contrario; es decir, la ganancia de electrones, la pérdida de oxígenos o ganancia de hidrógenos en su estructura.<sup>19</sup> En este tenor, una molécula oxidante será aquella que se reduzca al oxidar a la molécula que ataca.<sup>19</sup>

Las proteínas, ácidos nucleicos y macromoléculas con interés biológico son moléculas de carácter nucleofílico que presentan electrones susceptibles a reacciones de oxidación, siendo el blanco principal de oxidantes como el oxígeno.<sup>19</sup> Por lo anterior, la mayor parte de nuestras células se encuentra en constante lucha con ambientes oxidativos y diversas especies reactivas.

Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ERO y ERN respectivamente), son un grupo de moléculas oxidantes altamente reactivas como lo son los radicales libres, que son capaces de provocar o promover reacciones en cadena. En general, estas especies reactivas participan en algunas funciones biológicas como el metabolismo, fagocitosis, entre otras,<sup>20</sup> encontrándose también relacionadas con algunas enfermedades como la diabetes, cierto tipo de intoxicaciones ó cáncer.<sup>21</sup>

Ambientes con este tipo de especies hacen necesario que las células activen ciertos mecanismos para amortiguar la oxidación, de modo que puedan reducir los daños y maximizar el aprovechamiento de un metabolismo oxidativo, ya que en principio, todas las degradaciones involucradas para

---

<sup>15</sup> Wang, B.-L., Shen, Y., Zhang, Q., et al. (2013). *Codelivery of curcumin and doxorubicin by MPEG-PCL results in improved efficacy of systemically administered chemotherapy in mice with lung cancer* (Vol. 8). China: International Journal of Nanomedicine.

<sup>16</sup> Sahun, A., Kasoju, N., Goswami, P., & Bora, U. (2011). *Encapsulation of curcumin in pluronic block copolymer micells for drug delivery applications* (Vol. 25). India: Journal of biomaterials applications.

<sup>17</sup> Debnath, S. et al. (2013) *Dendrimer-Curcumin Conjugate: A Water Soluble and Effective Cytotoxic Agent Against Breast Cancer Cell Lines*. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 13 1531-1539.

<sup>18</sup> Falconieri, M. C., et al. (2017) *New Dendrimer-Based Nanoparticles Enhance Curcumin Solubility*. *Planta Med*; 83(05): 420-425.

<sup>19</sup> Halliwell B, Gutteridge JMC (2007) *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford, UK, p 704.

<sup>20</sup> Konigsberg M (2008) *Radicales libres y estrés oxidativo, Aplicaciones Médicas*. Ed. Manual Moderno, p 368.

<sup>21</sup> Srivatsan R, Das S, Gadde R, Manoj-Kumar K, Taduri S, Rao N, Ramesh B, Baharani A, Shah K, Kamireddy SC, Priyatham G, Balakumaran TA, Balakumaran SS, Kamath A, Rao A (2009) *Antioxidants and Lipid Peroxidation Status in Diabetic Patients with and with- out Complications*. *Arch Iran Med*. 12: 121-7.

obtener energía, así como muchas reacciones del metabolismo, son oxidativas.<sup>22</sup> En resumen, un antioxidante será aquella especie capaz de retardar o prevenir la oxidación del sistema de interés.<sup>22</sup>

Los métodos para la determinación de la capacidad antioxidante total se basan en medir cómo un agente oxidante ataca un sustrato oxidable, reacción que es reducida o inhibida en presencia de un sustrato antioxidante, siendo la inhibición proporcional a la capacidad antioxidante del compuesto.<sup>23</sup> Dichos métodos se diferencian por el agente oxidante, el o los sustratos a ocupar, la instrumentación, etc.<sup>23</sup> Uno de los métodos más simples y de bajo costo<sup>24</sup> es la llamada técnica de habilidad del plasma para reducir sales férricas (FRAP por sus siglas en inglés), donde la reacción entre el  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  forma el radical  $\cdot\text{OH}$ ,<sup>24</sup> adquiriendo un mayor significado biológico puesto que dichas especies son las más importantes a nivel fisiológico.<sup>24</sup>

### 1.3 Reacción de Steglich.

Una de las reacciones principales involucradas en la síntesis de dendrímeros tipo poliéster es la esterificación a partir de un alcohol y un ácido bajo distintas condiciones. Desafortunadamente, debido al impedimento estérico presente en la formación de dendrones, es necesario hacer uso de algún catalizador o especie química que permita el acoplamiento satisfactorio de los reactivos en cuestión. Uno de los métodos que ofrece mejores rendimientos involucra el uso de un agente acoplante como la diciclohexilcarbodiimida (DCC). Dicha reacción es conocida como Reacción de Steglich cuando es catalizada por la 4-(dimetilamino)piridina (DMAP).<sup>25</sup>

Una de las grandes ventajas de esta reacción es el hecho de proceder bajo condiciones suaves, lo que minimiza la posibilidad de reacciones parásitas, como aquellas que podrían ocurrir cuando se encuentran presentes ácidos poco reactivos o lábiles bajo ciertas condiciones. Termodinámicamente, uno de los motores de la reacción es la transformación del agente acoplante (DCC) en diciclohexilurea (DCU), siendo que por principio de la ley de acción de masas, la formación de un precipitado favorece el desplazamiento del equilibrio de la reacción hacia la formación de productos.<sup>25</sup>

Será preciso entonces hablar un poco sobre el mecanismo involucrado en esta reacción, siendo necesario mencionar que la diciclohexilcarbodiimida y el

---

<sup>22</sup> Winterbourn CC (2008) *Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species*. Nat Chem Biol 4: pp. 278-286.

<sup>23</sup> Quintanar, M. A.; Calderón, J. V. (2009) *La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones*. Rev. Edu. Bioquímica 28: pp. 89-101.

<sup>24</sup> Benzie, F. F; Strain, J. J. (1996) Anal. Biochem. 239 (1), pp. 70-96.

<sup>25</sup> B. Neinses, W. Steglich, Angew. Chem. Int. Ed. 1978, 17, pp. 522-524.

ácido carboxílico reaccionan entre sí para formar una O-acilisourea, activando así al carbonilo y facilitando entonces el ataque nucleofílico por parte del hidroxilo para formar el éster (Figura 4).<sup>25</sup>

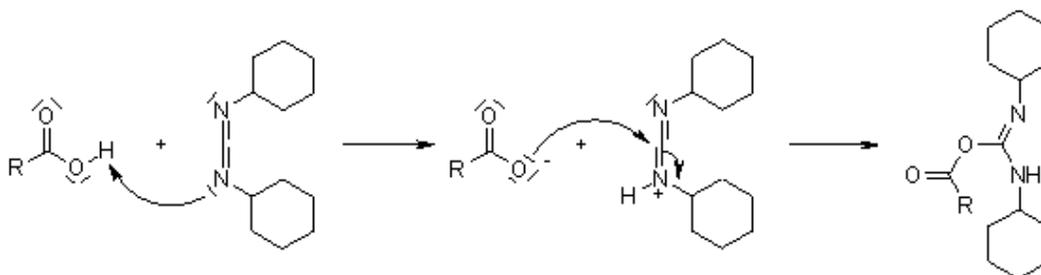


Figura 4: Mecanismo de reacción para la formación de la O-acilisourea.

Se ha sugerido el uso del p-toluensulfonato de la 4-(dimetilamino)piridina, abreviado como DPTS, como un agente capaz de aumentar los rendimientos de la esterificación<sup>26</sup> y que mantenga el uso de condiciones suaves, tanto de pH como de temperatura. Es preciso señalar que la temperatura se ha encontrado como un factor importante para la formación del dendrón, ya que no solo es capaz de favorecer la cinética de la reacción, sino que también es capaz de producir reacciones de descomposición, afectando los rendimientos. He ahí el hincapié en el uso de condiciones suaves.

#### 1.4 Síntesis de bloques de construcción.

Se han sugerido distintos tipos de grupos protectores tanto para el carbonilo del ácido como para los hidroxilos terminales, en virtud de proporcionar mejores rendimientos a la reacción, así como facilitar las desprotecciones en caso de ser necesarias, para llevar a cabo posibles reacciones posteriores. Como grupo protector del carbonilo es sugerido el grupo bencilo, el cual bien puede ser removido mediante una hidrogenólisis catalizada. Dicho grupo es añadido al hacer reaccionar el bis-MPA con bromuro de bencilo en presencia de hidróxido de potasio en dimetilformamida (DMF) (Figura 5).<sup>27</sup> Por otro lado, se sugiere ampliamente el uso de la 2,2-dimetoxipropano como grupo protector para los hidroxilos terminales, haciendo reaccionar 2,2-dimetoxipropano con acetona seca y cantidades catalíticas de ácido p-toluensulfónico (Figura 6). Una vez realizada la reacción, un solo equivalente de acetona es capaz de proteger los dos hidroxilos del bis-MPA, además de facilitar la hidrólisis selectiva de dicho grupo protector sin afectar la

<sup>26</sup> Moore J. S.; Strup. S. I. *Macromolecules*, (1990), 23(1), pp. 65-70.

<sup>27</sup> Henrik Ihre, J. F. (1997). *Double-stage convergent approach for the synthesis of functionalized dendritic aliphatic polyesters based on 2,2-Bis(hydroxymethyl)propionic acid* (Vol. 31). State University of New York: Macromolecules.

estructura del dendrón.<sup>27</sup> Se sugiere el uso de la resina ácida Dowex 50W-X2 para desproteger al cetal.<sup>28</sup>

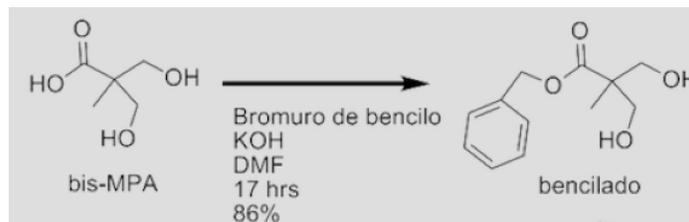


Figura 5: Reacción de adición del grupo bencilo al carbonilo.

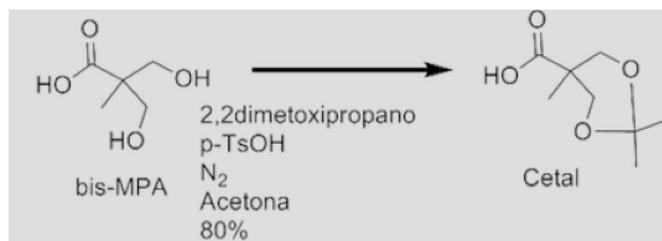


Figura 6: Reacción para la formación del grupo protector cetal en los hidroxilos terminales del bis-MPA o dendrón de primera generación (D1G).

La reacción de esterificación se sugiere sea realizada siguiendo la síntesis reportada por Steglich.<sup>27</sup> En la literatura se ha encontrado que el orden de adición de los reactivos puede ser crucial, siendo el idóneo el siguiente: el producto protegido con grupos bencilo (bencilado), el cetal y DPTS en un matraz con diclorometano seco sellado a atmósfera inerte (Nitrógeno o Argón), en presencia de piridina, como una especie básica no nucleófila que catalice la reacción; posteriormente deberá ser agregada la DCC en virtud de comenzar la esterificación. Se han reportado rendimientos de hasta 84% en estas condiciones.<sup>27,28</sup>

Tomando en cuenta todo lo mencionado en los antecedentes, a continuación se enuncian tanto la hipótesis, así como los objetivos de esta tesis.

<sup>28</sup> Malkoch, M., Malmström, E., & Hult, A. (1998). *Rapid and efficient synthesis of ester dendrosn and dendrimers*. Sweden: Macromolecules.

## **2. Hipótesis.**

El efecto estérico de la funcionalización de los dos fenoles presentes en la curcumina con dendrones de primera a tercera generación, modificará su capacidad antioxidante, su estructura tridimensional, así como su solubilidad en agua, al aumentar la cantidad de puentes de hidrógeno formados por los grupos hidroxilo (-OH) terminales. Se espera también una modificación en la permeabilidad de la molécula a través de la membrana celular.

## **3. Objetivos.**

### **3.1 Objetivo General**

Llevar a cabo la dendronización del núcleo de curcumina, incorporando dendrones de tipo poliéster de primera a tercera generación, y evaluar el efecto de esta sustitución sobre propiedades críticas como su estructura tridimensional y el poder antioxidante.

### **3.2 Objetivos particulares.**

3.2.1 Sintetizar dendrones de tipo poliéster de primera a tercera generación con grupos hidroxilo en la periferia, mediante reacciones de esterificación (Steglich) y desprotecciones selectivas, y caracterizar los respectivos productos por Resonancia Magnética Nuclear (RMN)  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC y espectroscopia FT-IR.

3.2.2 Dendronizar la molécula de curcumina, mediante la esterificación de sus grupos fenólicos con dendrones de tipo poliéster de primera a tercera generación con punto focal de ácido carboxílico, y caracterizar los productos resultantes.

3.2.3 Evaluar el poder antioxidante de los derivados dendronizados de la curcumina, tomando como referencia a la curcumina.

3.2.4 Evaluar el efecto estérico de los dendrones de los derivados dendronizados de la curcumina en su estructura tridimensional, mediante una optimización de sus geometrías por métodos computacionales, tomando como referencia a la curcumina.

## 4. Sección experimental.

### 4.1 Reactivos.

Ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico (bis-MPA), ácido p-toluensulfónico (p-TSOH), 4-(dimetilamino)piridina (DMAP), 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC), p-toluensulfonato de 4-(dimetilamino)piridina (DPTS), Hidruro de Calcio (95% m/m), Resina ácida Dowex® 50W-X2 100-200 mesh, mezcla Pd/C (10 %m/m), Sephadex LH-20, Curcumina cristalina (98% m/m) (de *Cúrcuma Longa*).

Como disolventes fueron utilizados: Acetona, diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), hexano, acetato de etilo (AcOEt), metanol (MeOH). Todos grado técnico.

### 4.2 Equipos utilizados.

Infrarrojo por transformada de Fourier: Thermo Scientific Nicolet 6700.  
Resonancia magnética nuclear (RMN): Jeol Eclipse 300 MHz y Bruker Advance 400MHz. Liofilizador: Labconco FreeZone1.

### 4.3 Procedimientos generales.

#### 4.3.1 Esterificación de Steglich.

En un matraz bola de fondo plano de 50 mL se colocan 100 mg de Curcumina junto con las cantidades correspondientes de ácido a esterificar (Dendrones de primera a tercera generación con punto focal ácido), DPTS, DMAP y 20 mL de diclorometano secado y recién destilado. El sistema es purgado con  $\text{N}_2$  por al menos 10 minutos y agitado magnéticamente por un mínimo de 30 minutos manteniéndolo protegido de la luz en todo momento. Finalizado el tiempo de agitación, se agrega una disolución de DCC con 5 mL del disolvente seco a través de una cánula. La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente y bajo agitación constante, protegida de la luz durante 24 horas. Terminado el tiempo de reacción, se agregan de 1 a 2 mL de MeOH y se agita durante 10 minutos para eliminar cualquier traza de DCC que haya permanecido sin reaccionar. El crudo de reacción es llevado a sequedad y se realizan varios lavados con mezclas de hexano-acetato de etilo para eliminar la DCU formada. La purificación final es realizada por cromatografía de afinidad en columna con sílica gel de poro 60 Å y 70-230 mesh, con una mezcla de elución de hexano-acetato de etilo o  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH, según sea indicado.

#### 4.3.2 Desprotección.

La cantidad correspondiente de compuesto protegido (dendro-curcuminas de primera a tercera generación), se coloca en un matraz bola de fondo plano de 25 mL y es solubilizado en 15 mL de MeOH. Se agregan 50 mg de la resina ácida Dowex® 50W-X2 para obtener un pH que oscila entre 3 y 4. El matraz se cubre de la luz y la mezcla es mantenida a temperatura ambiente y bajo agitación constante por 3 horas. El crudo de reacción es filtrado para obtener el compuesto desprotegido que corresponda.

#### 4.3.3 Determinación del poder antioxidante mediante la técnica FRAP (habilidad del plasma para reducir sales férricas por sus siglas en inglés).

El reactivo FRAP se prepara a partir de las siguientes disoluciones: buffer de acetatos 300 mM a pH=3.6; disolución 10 mM de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) diluida en HCl 40 mM; disolución 20 mM de FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O. El reactivo se prepara mezclando 25 mL del buffer de acetatos, 2.5 mL de la disolución de TPTZ y 2.5 mL de la disolución de FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O. La mezcla se calienta a 37°C por al menos 10 minutos en un baño de agua con agitación a 500 rpm y se agrega la muestra a analizar (curcumina y dendro-curcuminas de primera a tercera generación) con concentración específica 50, 100, 150, 200 y 250 mM, para calentar por 30 minutos adiciones. El máximo de absorbancia fue determinado a 593 nm.

#### 4.4 Procedimientos específicos.

##### 4.4.1 Adición del grupo bencilo al carbonilo del bis-MPA.

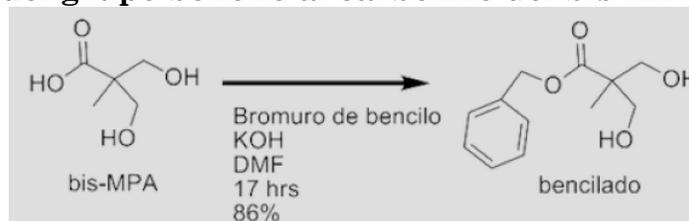


Figura 7: Reacción de adición del grupo bencilo al carbonilo.

En un matraz bola de 250 mL se colocan 9 g de bis-MPA, 4.3 g de KOH, 50 mL de DMF y un agitador magnético y un refrigerante en posición de reflujo. La mezcla se calienta a 120°C durante una hora hasta observar la homogeneidad. Terminado el tiempo de reacción, se adicionan por el refrigerante 9.6 mL de bromuro de bencilo, manteniendo agitación y reflujo constantes por 17 horas. Al finalizar el tiempo de reacción se evapora la DMF y el crudo de reacción se disuelve en 30 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se realizan 3 extracciones líquido-líquido con 100 mL de agua, recuperado la fase orgánica,

misma que es evaporada a sequedad. El crudo de reacción es recrystalizado por par de disolventes ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y hexano) para obtener el compuesto bencilado (12.7 g) con un rendimiento del 86%.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y espectrometría de masas.

#### 4.4.2 Dendrón de primera generación (D1G).

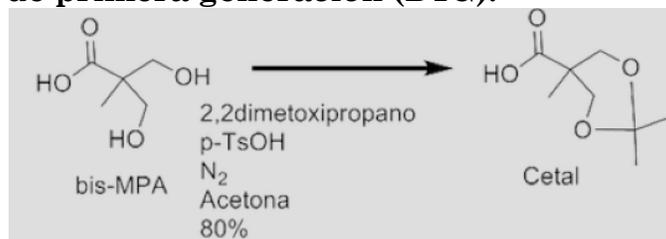


Figura 8: Síntesis del D1G o *cetal*.

En un matraz bola de 250 mL se colocan 10 g de bis-MPA, 0.71 g de p-TSOH, un agitador magnético y el sistema se sella con tapón de goma. Se purga con  $\text{N}_2$  y se adicionan 50 mL de acetona seca, agitando hasta disolver la mezcla de reacción. Posteriormente se agregan, vía cánula, 18 mL de 2,2-dimetoxipropano manteniendo la agitación constante por al menos 3 horas. Terminado el tiempo de reacción, se prepara una disolución saturada de hidróxido de amonio en 2 mL de etanol sobre malla molecular, misma que es posteriormente adicionada vía cánula al matraz hasta observar la formación de un precipitado que es posteriormente re disuelto en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Se realizan 3 extracciones con 20 mL de agua, recuperando la fase orgánica, misma que es llevada a sequedad. El crudo se recrystaliza en una mezcla 1:1  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -AcOEt, obteniéndose así 10.3 g del producto, cuyo punto de fusión es 116-117°C.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y espectrometría de masas.

#### 4.4.3 Dendrón de segunda generación (D2G).

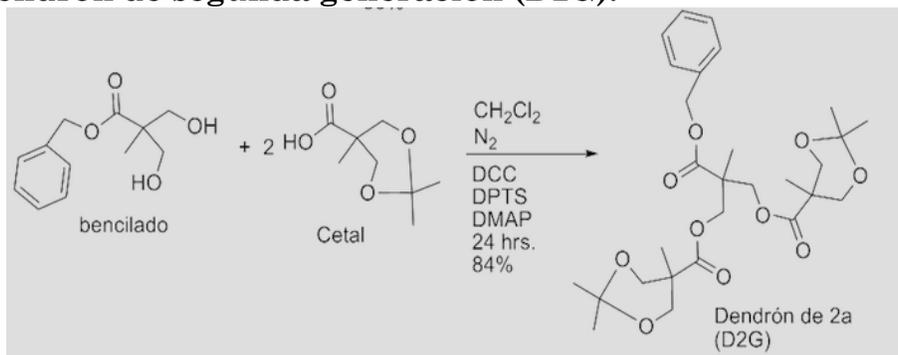


Figura 9: Síntesis del dendrón de segunda generación (D2G).

En un matraz bola de 100 mL se agrega 1eq. de bencilado, 2 eq. de cetal, 0.31 eq. de DMAP, 0.3 eq. de DPTS y 2.44 eq. de DCC, en presencia de 50 mL de diclorometano secado sobre hidruro de calcio y destilado.

El producto es purificado vía cromatografía de afinidad, utilizando 100g de sílica gel (de poro 6 A y 70-230 mesh) en una columna de 4 centímetros de diámetro y una mezcla de elución de Hexano-Acetato de etilo 7:3 en modo gradiente hasta 100% de acetato de etilo, para obtener un líquido altamente viscoso cuya coloración es ligeramente ámbar, con un rendimiento del 85%.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y espectrometría de masas.

#### 4.4.4 Dendrón de segunda generación con grupos hidroxilo en la periferia. (D2G-OH).

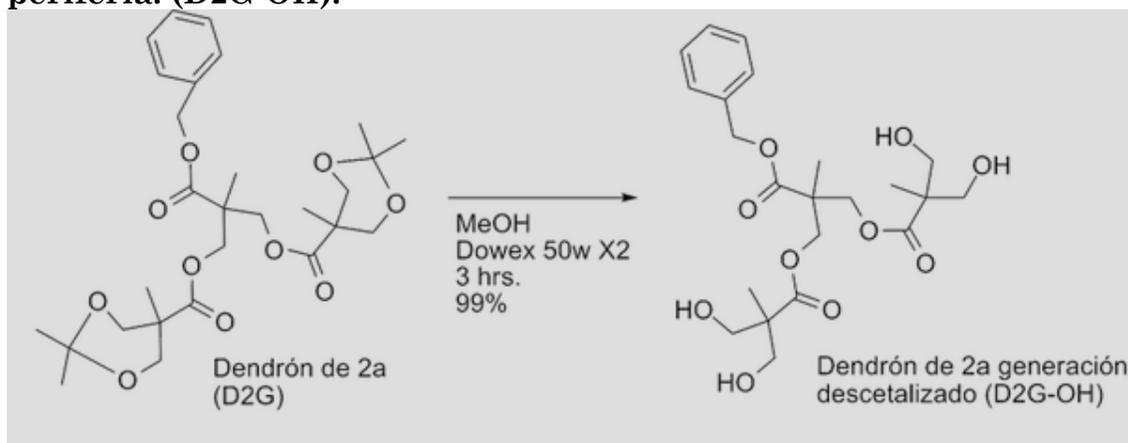


Figura 10: Síntesis del D2G-OH

En un matraz bola de 100 mL se colocan 500 mg de dendrón de segunda generación (D2G), un agitador magnético y 50 mL de metanol. La mezcla es agitada a temperatura ambiente por 15 minutos hasta que se aprecie homogeneidad. Se agregan 75 mg de Dowex® 50W-X2, verificando un pH=3. La mezcla de reacción se mantiene bajo agitación constante, monitoreándose mediante cromatografía en capa fina. La reacción se da por terminada a las 3 horas, luego de que el producto final presenta un  $R_f=0$ .

El producto se obtiene con un rendimiento del 95%, como un líquido altamente viscoso, incoloro e inodoro.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR.

#### 4.4.5 Dendrón de tercera generación (D3G)

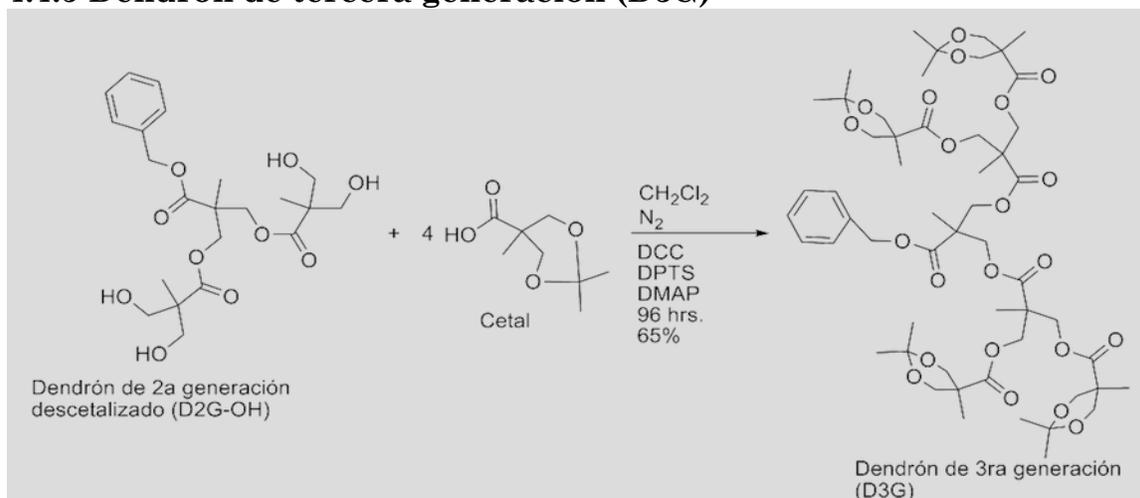


Figura 11: Síntesis del D3G.

En un matraz bola de 100 mL, se agrega 1 eq. de Dendrón de segunda generación desprotegido por los hidroxilos (D2G-OH), 6 eq. de dendrón de primera generación (*cetal*), 0.6 eq de DPTS, 0.6 eq de DMAP, en presencia de 50 mL de diclorometano secado sobre Hidruro de Calcio y destilado.

Luego de remover el exceso de DCU formada, la mezcla es percolada utilizando un máximo de 5 g de sílica (de poro 60 Å y 70-230 mesh) en un embudo de filtración con vacío que cuente con vidrio sinterizado, utilizando una mezcla de Hexano-Acetato de etilo (1:1).

Finalmente, el producto se purifica en una columna de 4 cm de diámetro y 1.2 m de largo con Sephadex y una fase móvil de diclorometano, para obtener así un líquido altamente viscoso, inoloro y con una coloración levemente ámbar con un rendimiento del 75%.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y espectrometría de masas.

#### 4.4.6 Dendrón de tercera generación con punto focal de ácido carboxílico (D3G-CO<sub>2</sub>H).

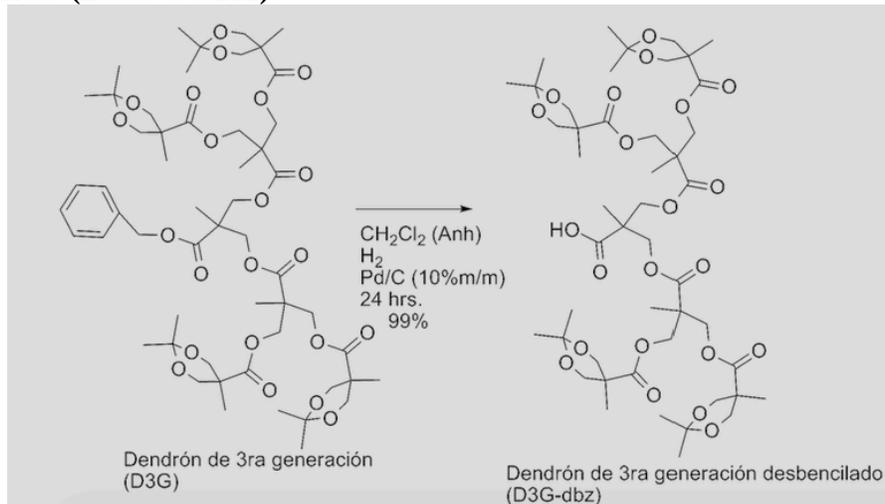


Figura 12: Síntesis del D3G-dbz

En un matraz bola de 100 mL se coloca 1 g de D2G, 60 mL de Acetato de etilo, 15 mg de Pd/C al 10% y un agitador magnético. El matraz es sellado con un tapón de goma y posteriormente purgado con Nitrógeno por al menos 10 minutos, en ausencia de agitación. Posteriormente el Nitrógeno es desplazado por Hidrógeno por al menos 15 minutos, bajo agitación constante. En estas condiciones se deja la reacción por 24 horas.

Una vez terminada la reacción, se filtra el Pd/C con celita, utilizando un embudo para filtración con vacío y vidrio sinterizado y Acetato de etilo.

La fase líquida es llevada a sequedad utilizando un rotaevaporador, obteniéndose así, con un rendimiento del 99%, un líquido viscoso incoloro e inodoro.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR, RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y espectrometría de masas.

#### 4.4.7 Dendro-curcumina de primera generación (1PC1P).

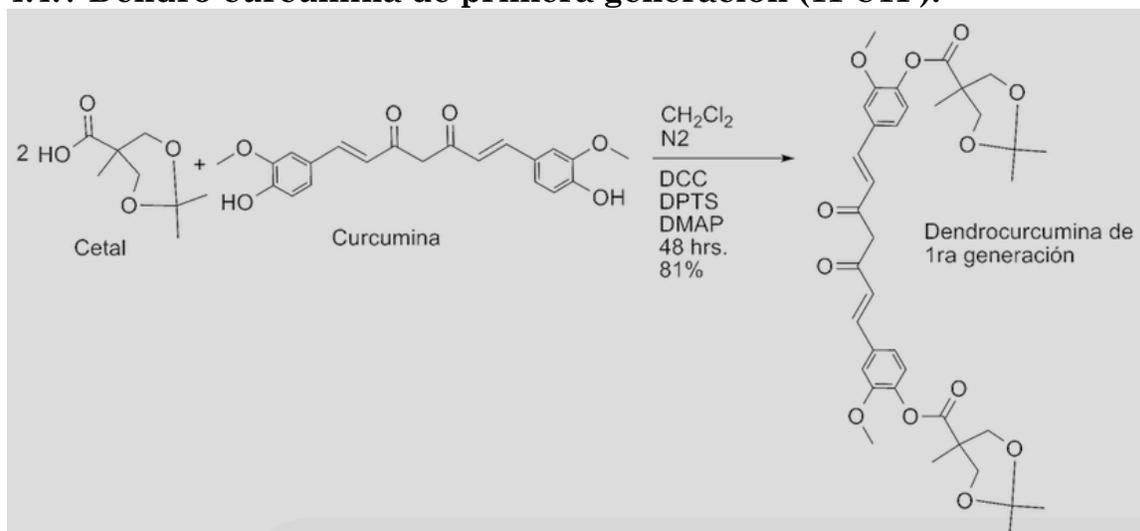


Figura 13: Síntesis de la dendro-curcumina de primera generación (1PC1P).

En un matraz bola de 100 mL, se agrega 1 eq. de curcumina y 2.2 eq. de dendrón de primera generación (cetal), 0.22 eq. de DPTS y 0.22 eq. de DMAP.

Posteriormente, el producto se purifica en Acetato de etilo por cromatografía de exclusión de tamaño, en una columna de 4 cm de diámetro y 1.2 m de largo con Sephadex y una fase móvil de Acetato de etilo, para obtener así el producto final, un sólido amarillo carente de brillo con un rendimiento del 65%, mismo que debe ser guardado en el congelador y protegido de la luz.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR, RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y espectrometría de masas.

#### 4.4.8 Dendro-curcumina de tercera generación (3PC3P).

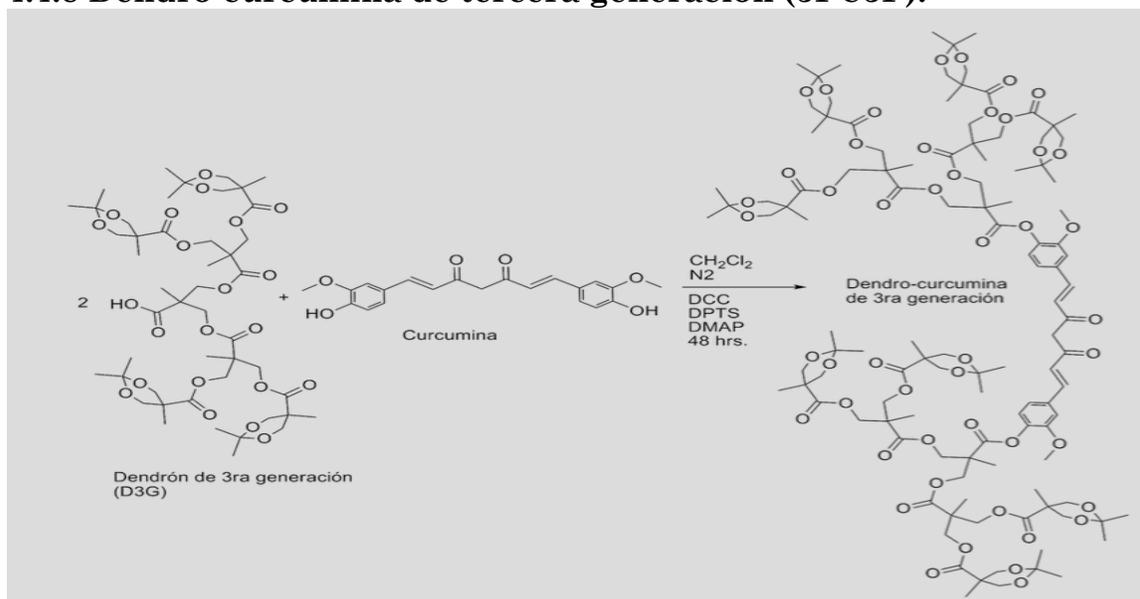


Figura 14: Síntesis de la dendro-curcumina de tercera generación (3PC3P).

En un matraz bola de 100 mL, se agrega 1 eq. de curcumina y 2.2 eq. de dendrón de tercera generación desprotegido del grupo bencilo (D3G-dbz), 0.22 eq. de DPTS y 0.22 eq. de DMAP, en 50 mL de diclorometano destilado y secado sobre Hidruro de Calcio.

El producto se purifica en una columna de 4 cm de diámetro y 1.2 m de largo con Sephadex, y una fase móvil de Acetato de etilo, para obtener así el producto final, un sólido amarillo carente de brillo con un rendimiento del 65%, mismo que debe ser guardado en el congelador y protegido de la luz.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y espectrometría de masas.

#### 4.4.9 Dendro-curcumina(s) con grupos hidroxilo (-OH) en la periferia. (1C1); (2C2); (3C3).

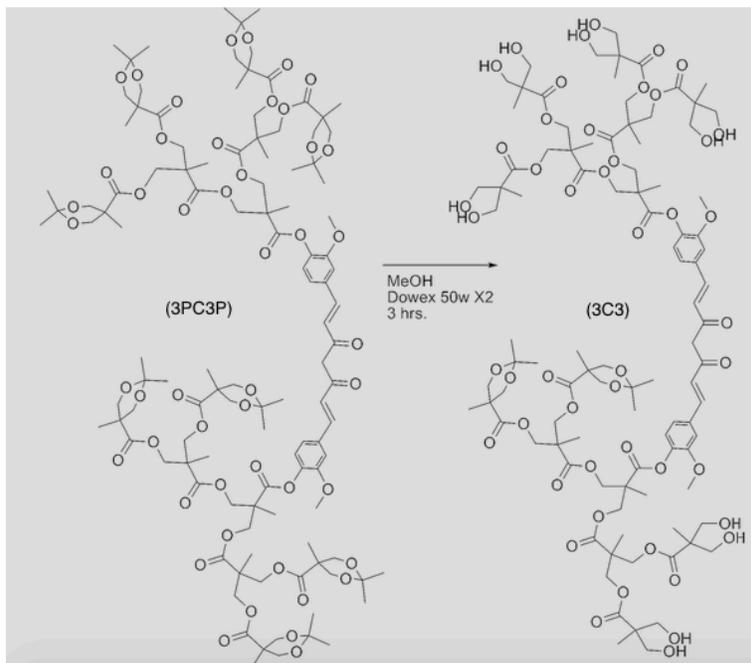


Figura 15: Desprotección de la dendro-curcumina de tercera generación (3PC3P). El procedimiento es homólogo para cualquier dendro-curcumina.

En un matraz bola de fondo plano de 25 mL se coloca 1 eq. de la dendro-curcumina (1PC1P ó 2PC2P ó 3PC3P) que se desee desproteger, un agitador magnético y 15 mL de MeOH. El matraz se cubre de la luz, y se agregan 50 mg de la resina ácida Dowex® 50W-X2. El sistema se mantiene bajo agitación constante por tres horas, monitoreando la reacción cada 45 minutos por cromatografía en capa fina. El producto desprotegido presenta un R<sub>f</sub> igual a 0 en una mezcla de elución de Hexano-AcOEt 1:1. Al final de la reacción el crudo se filtra y se evapora a sequedad para obtener un rendimiento aproximado del 90% para cualquiera de las dendro-curcuminas, siendo todas éstas productos sólidos de color carmesí.

El producto es caracterizado por espectroscopia FT-IR, RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y espectrometría de masas.

Todos los espectros de los productos obtenidos son mostrados en el **Anexo 1** (página 50).

## 5. Resultados y discusión

### 5.1. Síntesis y caracterización

En el presente proyecto se plantearon dos retos sintéticos generales; por un lado la síntesis de dendrones tipo poliéster de hasta tercera generación, y por otro lado, la derivatización del núcleo de curcumina vía la esterificación de sus grupos fenólicos con los dendrones sintetizados.

El primer reto sintético involucró reacciones iterativas de acoplamiento, vía esterificación de Steglich, y reacciones de desprotección, tanto del grupo bencilo como del cetal, para dar lugar por un lado, al grupo ácido carboxílico libre, y por otro a los grupos hidroxilo terminales. En las condiciones empleadas, los grupos protectores resultaron adecuados y su desprotección pudo ser realizada en condiciones suaves.

El sistema de esterificación formado por DCC/DPTS/DMAP resultó ser muy eficiente, y muy versátil ya que funciona igual en presencia de alcoholes alifáticos, involucrados en el crecimiento de generación dendrímica, así como en el caso de fenoles propios del núcleo de curcumina, ya que esta misma reacción se utilizó para la dendronización de la misma.

En cuanto a la purificación de productos, la DCU resultante es fácilmente removida del crudo de reacción vía filtraciones sucesivas y posteriores lavados con una mezcla 1:1 de hexano-acetato de etilo en frío.

La cromatografía, ya sea por afinidad o por exclusión de tamaños, fue la técnica primordial para purificar los productos finales, discerniendo entre sustituciones parciales y sustitución completa. El modo de elución en gradiente fue la estrategia idónea para lograr la obtención de productos puros.

La obtención de los dendrones de primera a tercera generación se confirmó por caracterización convencional.

El dendrón de primera generación se obtuvo en un 86%, a partir de la reacción entre el Bis-MPA y el 2,2-dimetoxipropano tal y como se observa en la Figura 8. A continuación se muestra, en la Figura 16, el espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , adquirido en cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).

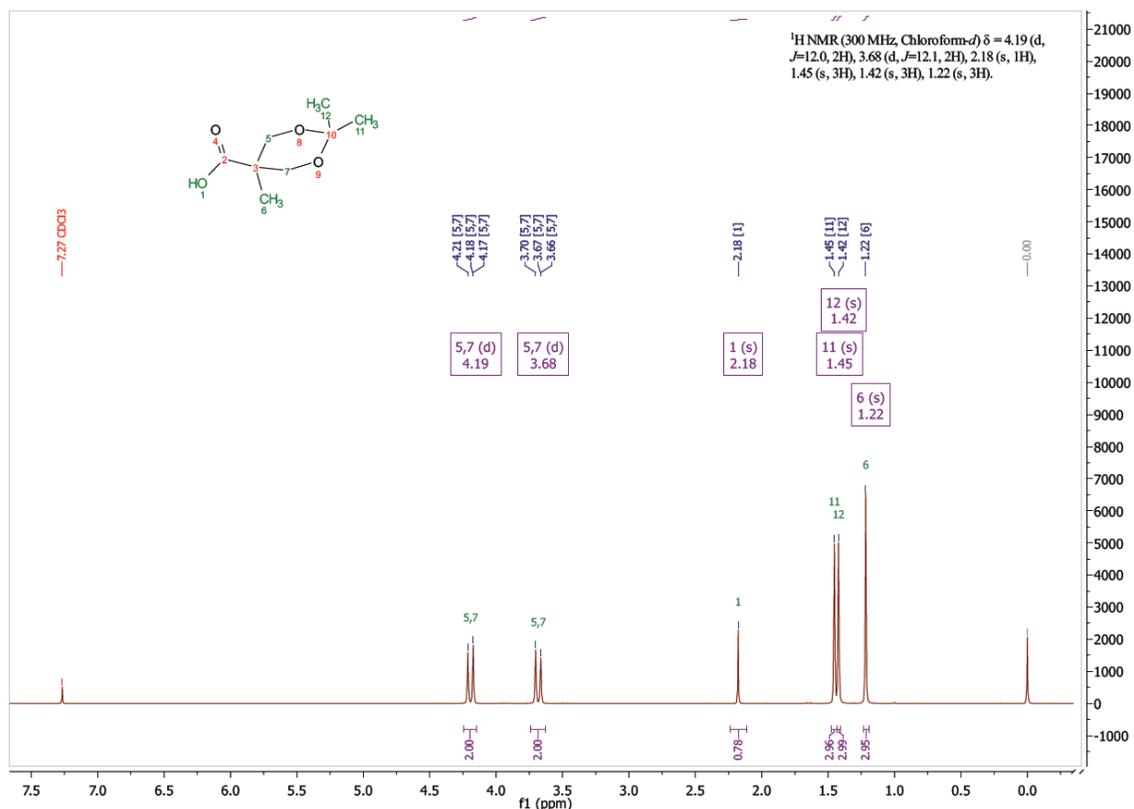


Figura 16. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de D1G en CDCl<sub>3</sub>.

En el espectro se observan claramente las señales correspondientes a los metilos del grupo protector cetal en 1.42 y 1.45 ppm, así como el metilo sobre el carbono cuaternario etiquetado como 3. En 3.68 y 4.19 ppm se observan dos dobletes correspondientes a los protones diastereotópicos acoplados entre sí con una constante de 12 Hz. Finalmente se identifica el protón ácido en 2.18 ppm. Mediante espectroscopia FT-IR también se confirma la obtención del producto, observándose bandas características tanto del grupo carbonilo en 1640 cm<sup>-1</sup> como de las vibraciones correspondientes a la parte alifática alrededor de 3000 cm<sup>-1</sup> (ver anexo 1).

Como se observa en la Figura 7, la reacción entre el Bis-MPA y el bromuro de bencilo da lugar al producto con grupos hidroxilo en la periferia, y el ácido carboxílico protegido. En el siguiente espectro de RMN de <sup>1</sup>H obtenido en CDCl<sub>3</sub> se confirma la obtención de este producto (Figura 17).

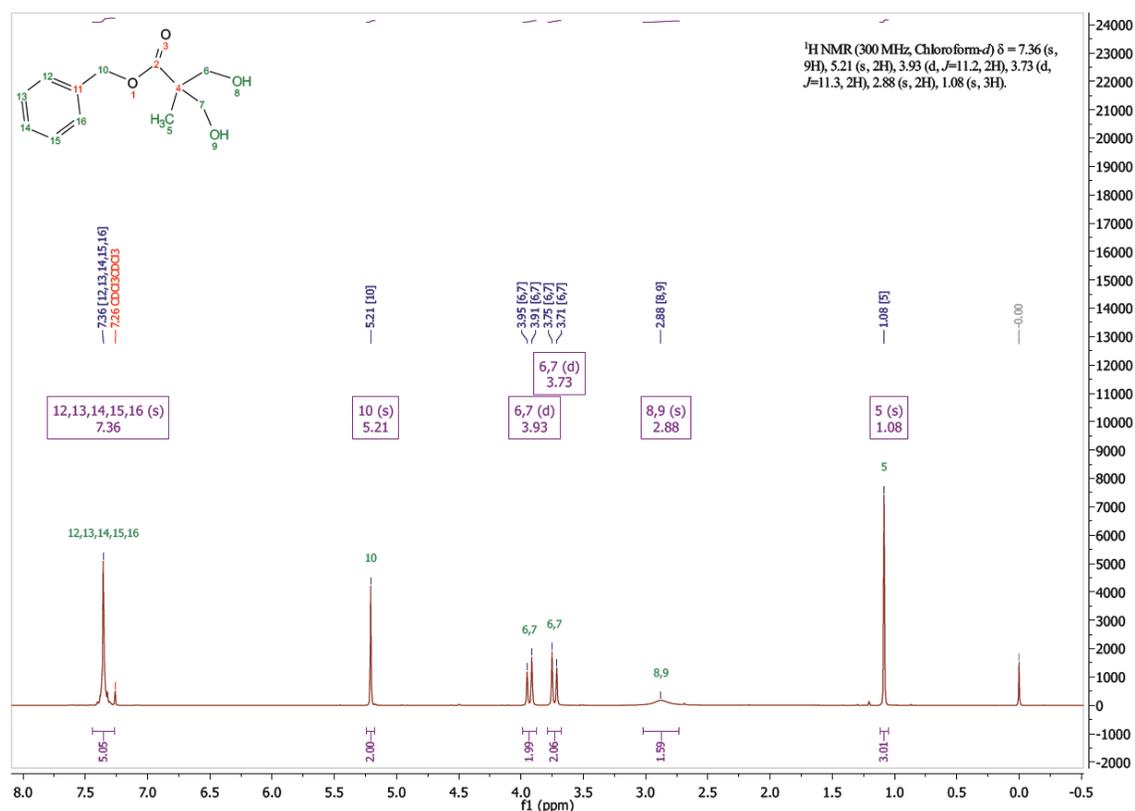


Figura 17. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de Bencilado en CDCl<sub>3</sub>.

En 1.08 ppm se observa la señal que corresponde al metilo sobre el carbono cuaternario, conservándose las señales de los protones diastereotópicos, ligeramente desplazados hacia campos más altos por el efecto protector de los grupos –OH vecinos. A su vez, es posible observar en 5.21 ppm un singulete que corresponde a los dos protones del grupo bencilo y finalmente, en 7.36 ppm, la señal que corresponde a los 5 protones del anillo aromático. En RMN de <sup>13</sup>C se observa la presencia del grupo protector bencilo, cuyas señales aparecen alrededor de 128 ppm, y del carbono del carbonilo en 175.87 ppm (ver anexo 1).

Como se observa en la Figura 9, la reacción entre el producto con grupos –OH en la periferia y el dendrón de primera generación da como resultado la obtención del dendrón de segunda generación (D2G). En el siguiente espectro de RMN de <sup>1</sup>H adquirido en CDCl<sub>3</sub> se confirma la obtención de este producto (Figura 18).

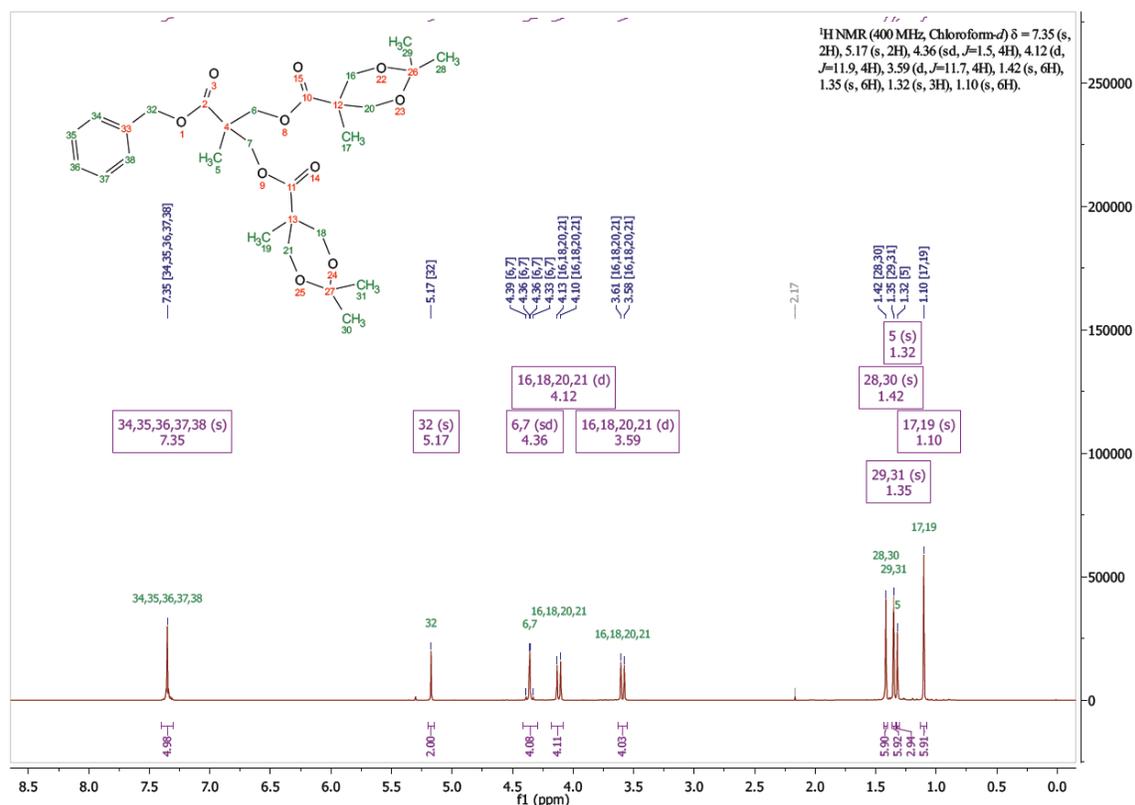


Figura 18. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de D2G en CDCl<sub>3</sub>.

Debido al crecimiento generacional, es posible observar dos singuletes, en 1.32 y 1.10 ppm que corresponden a los metilos sobre el carbono cuaternario, cuyas integraciones (2.94 y 5.91 respectivamente) demuestran la presencia de la primera y segunda generación. En 1.35 y 1.42 ppm se encuentran dos singuletes propios de los grupos protectores. Dada la segunda generación, las integraciones aumentan, dando un total de 12 protones. En 3.59 y 4.12 ppm, con una constante de acoplamiento de 11.7 Hz, se observan las señales de los protones diasterotópicos. En 4.36 ppm son distinguibles los protones diasterotópicos de la primera generación. Finalmente, en 5.17 y 7.35 ppm, se encuentran las señales características del grupo protector bencilo. En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C se observa la presencia del grupo protector bencilo, cuyas señales aparecen alrededor de 128 ppm. También es posible observar las señales que corresponden a los grupos protectores cetral en 22.13 y 25.06 ppm. Una señal característica que muestra el crecimiento generacional son los dos singuletes, en 172.33 y 173.46 ppm que corresponden a los carbonos de los carbonilos de primera y segunda generación respectivamente. Mediante espectroscopia FT-IR también se confirma la obtención del producto, observándose bandas características tanto del grupo carbonilo en 1746 cm<sup>-1</sup>, como de las vibraciones correspondientes a la parte alifática alrededor de 3000 cm<sup>-1</sup> (ver anexo 1).

Como se muestra en la Figura 10, la desprotección del dendrón de segunda generación en presencia de la resina ácida DOWEX 50w X2 da como resultado la obtención del dendrón de segunda generación con grupos –OH en la periferia. El siguiente espectro de FT-IR demuestra la obtención del producto (Figura 19).

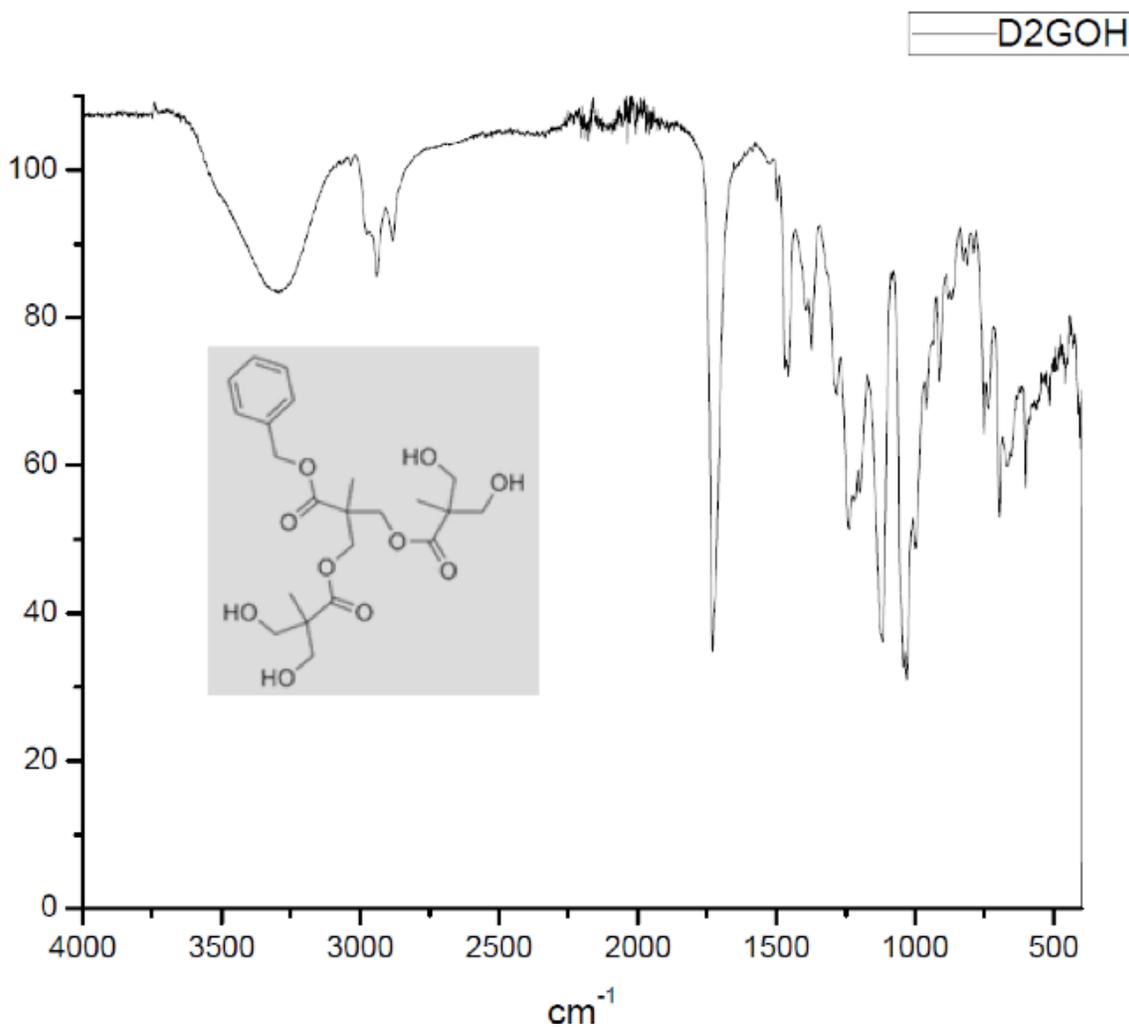


Figura 19. Espectro FT-IR de D2G-OH.

En comparación con el espectro de IR del dendrón de segunda generación que se encuentra en el anexo 1 y el presente espectro, es posible apreciar la aparición de la banda característica de vibración del grupo –OH alrededor de 3250 cm<sup>-1</sup>, observándose también la vibración de los carbonilos en 1690 cm<sup>-1</sup>.

Como se muestra en la Figura 11, la reacción entre el dendrón de primera generación y el dendrón de segunda generación con grupos –OH en la periferia da como resultado al dendrón de tercera generación (D3G). En el siguiente espectro de RMN de <sup>1</sup>H adquirido en CDCl<sub>3</sub> se confirma la obtención de este producto (Figura 20).

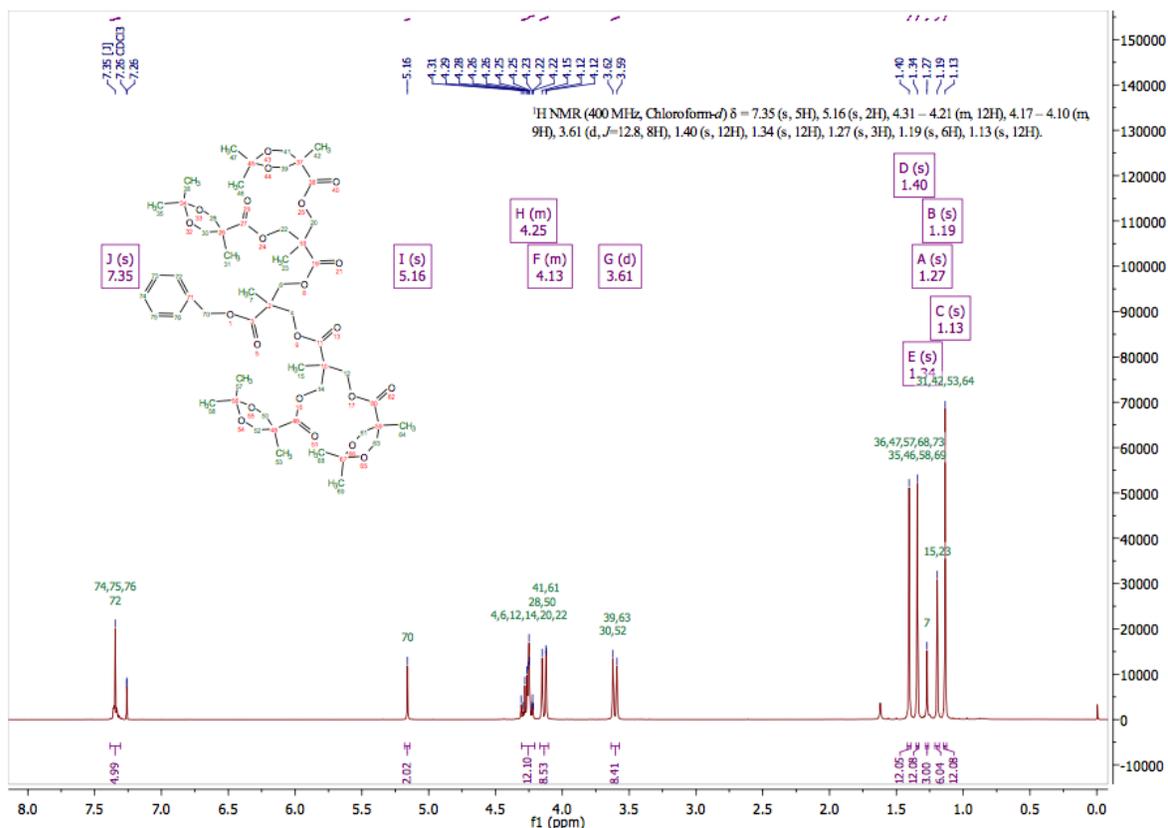


Figura 20. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de D3G en CDCl<sub>3</sub>.

En 1.27, 1.19 y 1.13 ppm es posible apreciar los singuletes que corresponden a las tres generaciones de metilos sobre el carbono cuaternario, cuyas integraciones 3, 6.04 y 12.08 concuerdan con lo esperado al crecimiento del dendrón. En 1.34 y 1.40 ppm aparecen los singuletes de los grupos protectores cetil, tal y como se ha observado en las dos generaciones inferiores, sus integraciones: 12.08 y 12.05 respectivamente son las esperadas. En 3.59 y 4.12 ppm, con una constante de acoplamiento de 12.8 Hz se observan las señales de los protones diasterotópicos. Alrededor de 4.25 ppm se observa un multiplete que corresponde a los protones diasterotópicos de las dos generaciones inferiores, pudiéndose apreciar su simetría. En 5.16 y 7.35 ppm se encuentran las señales características del grupo protector bencilo. En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C es posible observar la presencia del grupo protector bencilo, cuyas señales aparecen alrededor de 128 ppm. También es posible observar las señales que corresponden a los grupos protectores cetil en 22.13 y 25.06 ppm. Finalmente, una señal característica que muestra el crecimiento generacional son los dos singuletes, en 17.41 y 18.35 ppm que corresponden a los carbonos de los carbonilos de las tres generaciones. Mediante espectroscopia FT-IR también se confirma la obtención del producto, observándose bandas características tanto del grupo

carbonilo en  $1750\text{ cm}^{-1}$  como de las vibraciones correspondientes a la parte alifática alrededor de  $3000\text{ cm}^{-1}$  (ver anexo 1).

En la Figura 11 se muestra el procedimiento de desprotección del dendrón de tercera generación, mismo que resulta homólogo para la segunda generación. Dicho procedimiento da como resultado la obtención del dendrón de tercera generación con punto focal ácido (D3G-CO<sub>2</sub>H) y del dendrón de segunda generación con punto focal ácido (D2G-CO<sub>2</sub>H) respectivamente. Los siguientes espectros de RMN <sup>1</sup>H adquiridos en CDCl<sub>3</sub> demuestran la obtención de los productos (Figuras 21 y 22 respectivamente).

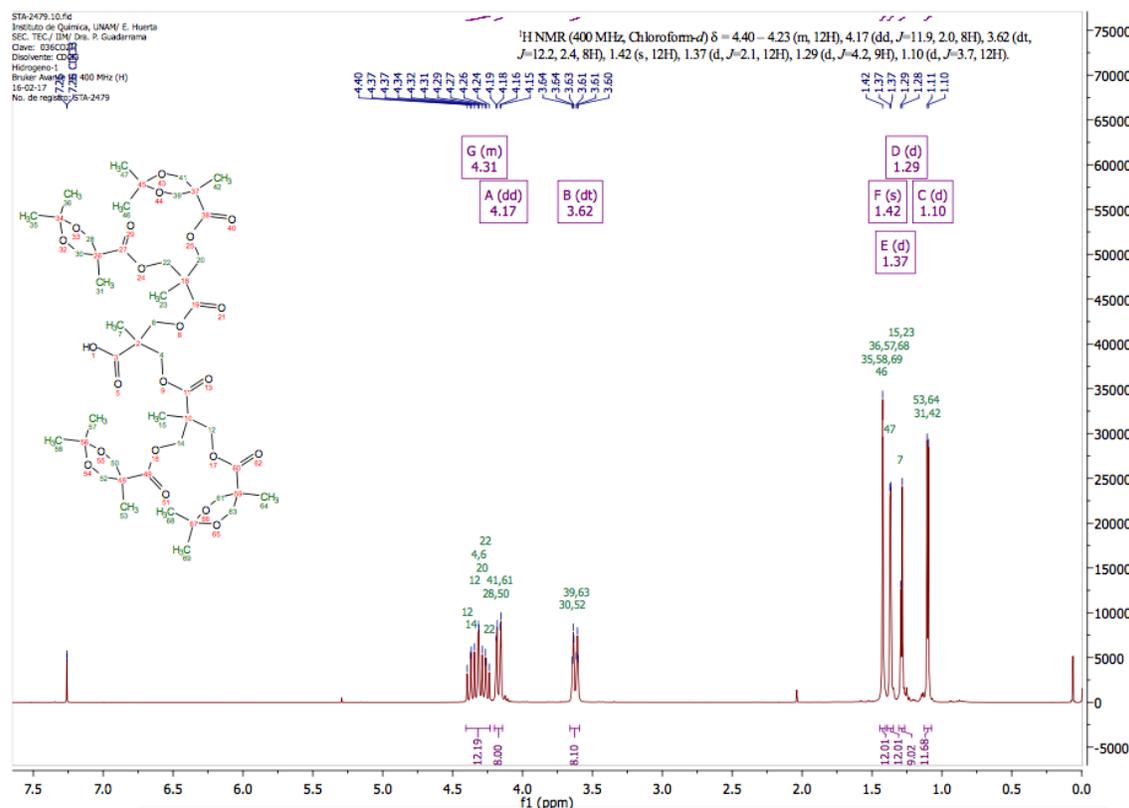


Figura 21. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de D3G-CO<sub>2</sub>H en CDCl<sub>3</sub>.

En 1.10 y 1.28 ppm se observan dos singuletes que corresponden a los protones de los metilos del carbono cuaternario de tercera generación, y a la superposición de los protones de de los metilos del carbono cuaternario de la primera y segunda generación debido al cambio en el ambiente magnético de la molécula por la remoción del grupo protector bencilo. Las integraciones (11.68 y 9.02 respectivamente) confirman lo anteriormente descrito. En 1.37 y 1.42 ppm se observan los metilos de los grupos protectores cetil, cuyas integraciones coinciden con las del D3G. En 3.60 y 4.19 ppm, con una constante de acoplamiento de 11.9 se aprecian los protones diastereotópicos de la tercera generación. Alrededor de 4.25 se observa un multiplete asociado a

los protones diastereotópicos de la primera y segunda generación que, en comparativa con el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para D3G se encuentra mucho más definido, gracias al aumento en la simetría de la molécula debido a la ausencia del grupo bencilo; la integración de dicho multiplete (12.19) confirma que se trata de los protones antes mencionados. Es posible observar la ausencia de las señales características del grupo protector bencilo. En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  se confirma la ausencia del grupo protector bencilo.

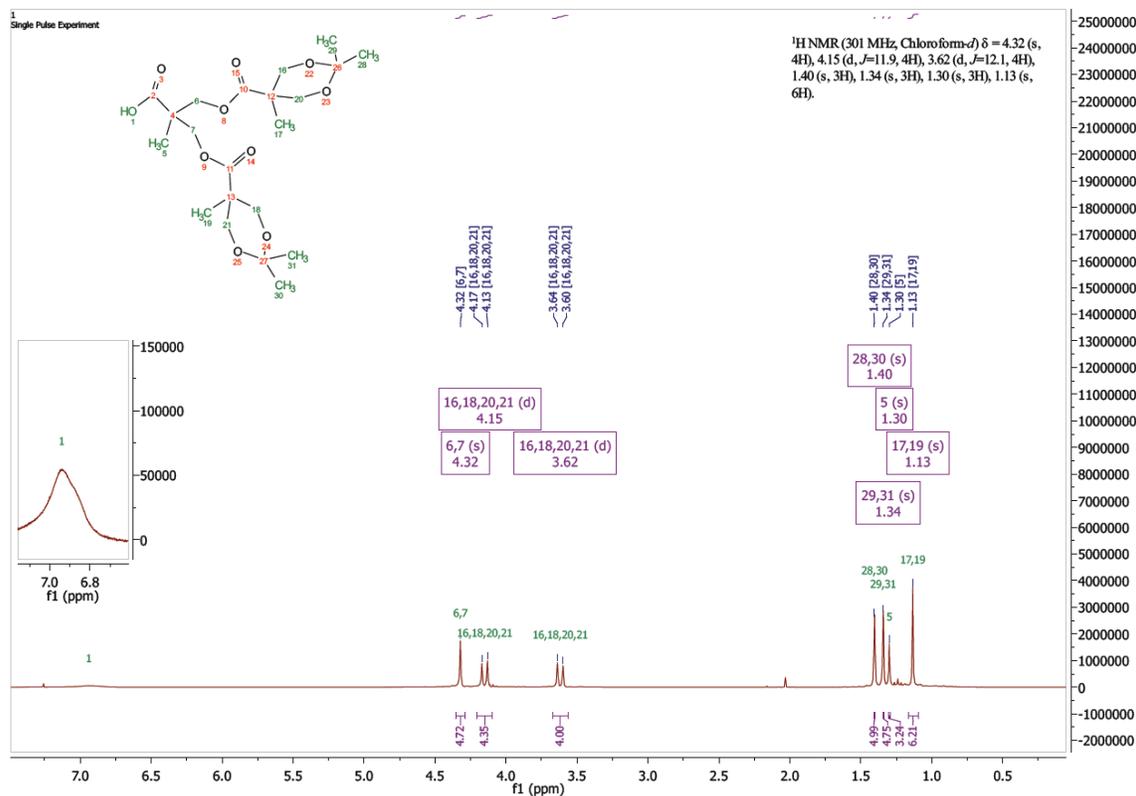


Figura 22. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de D2G-CO<sub>2</sub>H en CDCl<sub>3</sub>.

En 1.13 y 1.30 ppm se observan los singuletes asociados a los protones de los metilos del carbono cuaternario de la primera y segunda generación respectivamente; las integraciones (3.24 y 6.21) así lo corroboran. En 1.34 y 1.40 ppm es posible apreciar los singuletes de los protones de los grupos protectores cetol. En 3.62 y 4.15 ppm, con una constante de acoplamiento igual a 11.9 Hz se encuentran las señales de los protones diastereotópicos de la segunda generación. En 4.32 ppm se encuentra la señal asociada a los protones diastereotópicos de la primera generación y, como es posible observar, han desaparecido las señales características del grupo protector bencilo. En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  se confirma la ausencia del grupo protector bencilo.

Como se mencionaba anteriormente, la curcumina es la molécula activa en estudio, en el presente proyecto. Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  adquiridos en DMSO- $d_6$  de la curcumina se muestran a continuación, en las figuras 23 y 24 respectivamente.

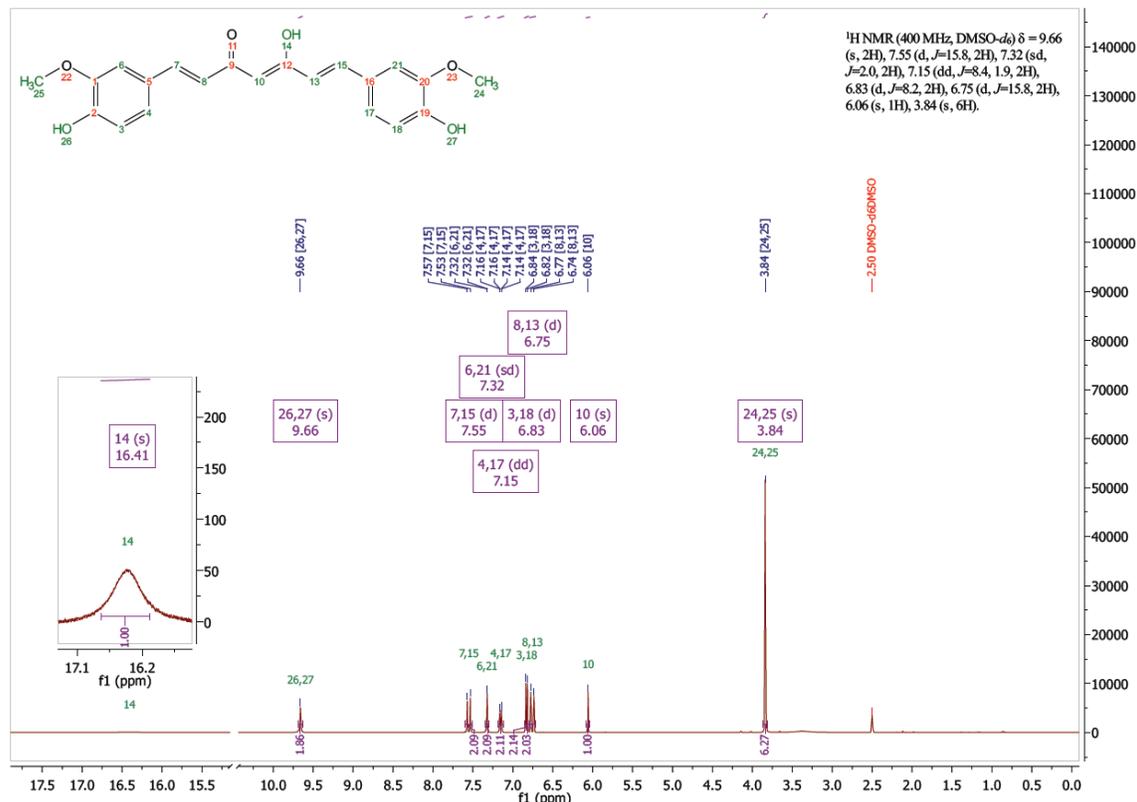


Figura 23. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de Curcumina en DMSO- $d_6$ .

En 3.84 ppm se observa el singulete asociado a los protones de los metóxidos de la curcumina, dicha integración es igual a 6.27. En 6.06 ppm se encuentra la señal del protón enlazado al carbono de simetría de la molécula de curcumina. Es posible apreciar en 6.75 ppm un doblete asociado al protón alfa al carbonilo de la curcumina y a su homólogo que es alfa al enol. En 6.83 ppm se aprecia la señal de los protones –orto a los fenoles, multiplicidad asociada a la simetría de la molécula. La señal de los protones –meta a los fenoles y a su vez en –para a los metóxidos aparece en 7.15 ppm como un doble de dobles. En 7.32 ppm es posible encontrar un singulete doble por simetría, que corresponde a los protones –orto a los grupos metóxido del anillo aromático. Sobre 7.55 ppm se observa un doblete cuya integración igual a 2 corresponde a los protones beta al carbonilo y, dada la simetría, beta al enol. El protón del enol es fácilmente identificable como la señal en 16.41 ppm.

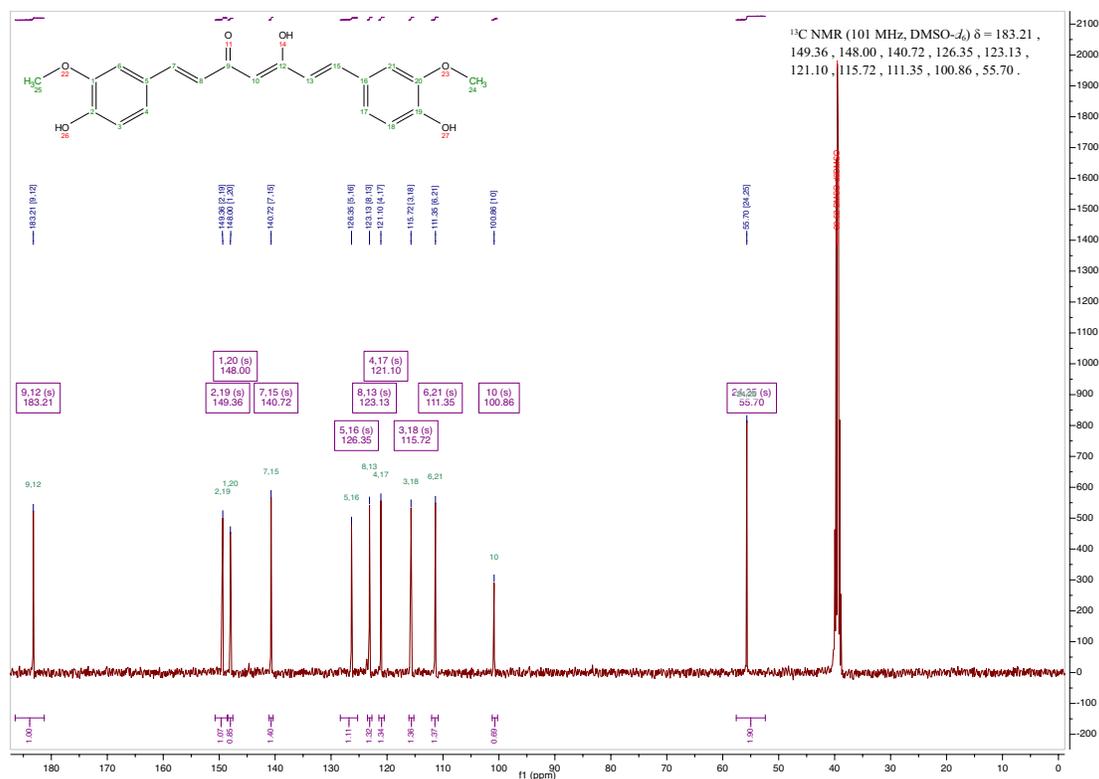


Figura 24. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de Curcumina en DMSO-d6.

En RMN de <sup>13</sup>C es posible encontrar la señal, en 55.70 ppm, asociada a los metóxidos de la curcumina. Sobre 100.86 ppm se encuentra la señal que corresponde al carbono de simetría de la molécula. En 111.35 ppm se observa la señal de los carbonos que se encuentran –orto a los metóxidos y –meta a los fenoles. En 115.72 ppm se encuentran las señales asociadas a los carbonos –orto a los fenoles y –meta a metóxidos. Sobre 123.13 ppm se encuentra la señal del carbono alfa al enol y alfa al carbonilo. Sobre 121.10 ppm es posible observar la señal que corresponde a los carbonos del anillo aromático dispuestos en –para en relación al metóxido. Sobre 126.35 ppm se observa la señal propia de los carbonos –para a los fenoles. En 140.72 ppm y se encuentra la señal propia de los carbonos vinílicos. Sobre 148 ppm se encuentra la señal de los carbonos del anillo aromático que enlazan directamente al metóxido y ligeramente hacia campo más bajo, en 149.36 ppm están las de los carbonos enlazados a los fenoles. Finalmente, la señal del carbono del enol y de la cetona es posible encontrarla en 183.21 ppm debido a que el equilibrio de interconversión es lo suficientemente rápido como para que sean indistinguibles. Mediante espectroscopia FT-IR se observan señales correspondientes a las vibraciones de la parte insaturada alrededor de 3000 cm<sup>-1</sup> y un grupo de señales característico alrededor de 1800 cm<sup>-1</sup> que corresponde a la parte aromática.

Como se muestra en la Figura 13, la reacción entre los fenoles de la curcumina y el dendrón de primera generación da como resultado a la dendro-curcumina de primera generación. En el siguiente espectro de RMN de  $^1\text{H}$  adquirido en DMSO- $d_6$  se confirma la obtención de este producto (Figura 25).

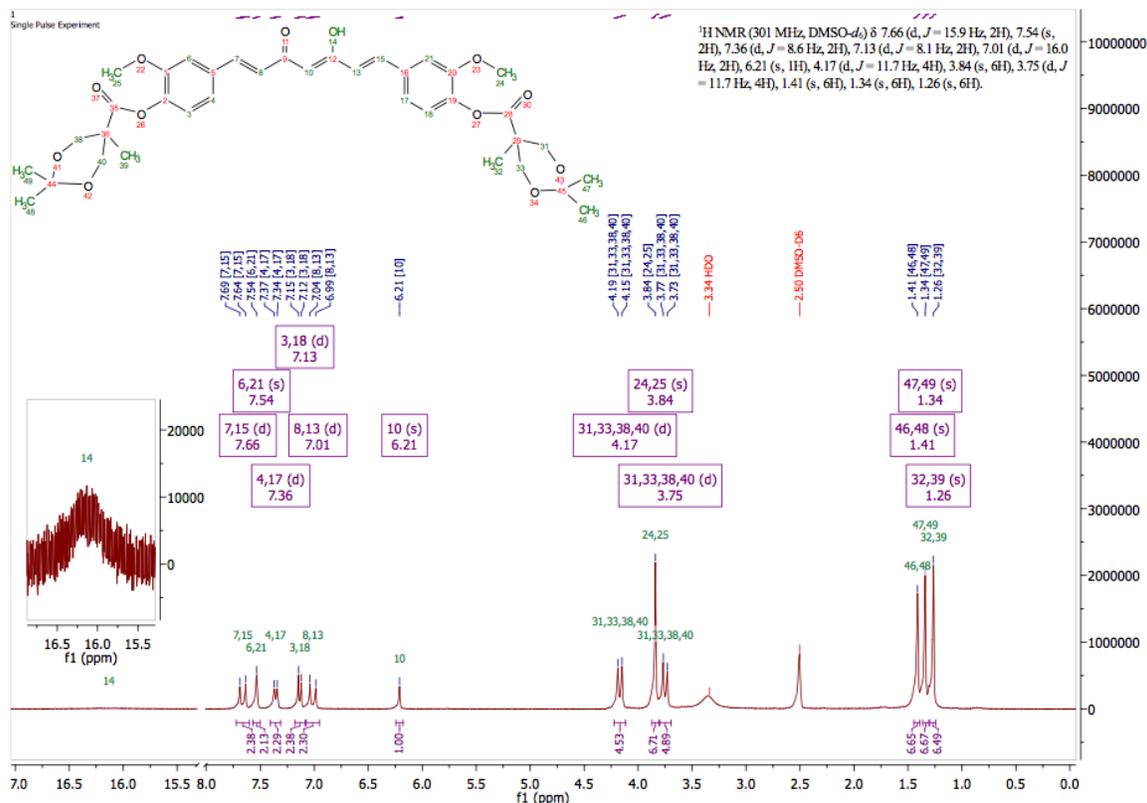


Figura 25. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 1PC1P en DMSO- $d_6$ .

En 1.26 ppm se encuentra el singlete asociado a los protones del metilo del carbono cuaternario de la primera generación del dendrón. Más adelante, como dos señales en 1.34 y 1.41 ppm es posible observar dos singletes ya vistos anteriormente para los protones de los metilos del grupo protector cetil del dendrón de primera generación (Figura 16), aunque para la dendro-curcumina de primera generación, ambas señales se encuentran desplazadas ligeramente hacia campo más alto. Desplazadas hacia campo alto en comparación con el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para el D1G, las señales de los protones diastereotópicos se encuentran en 3.75 y 4.17 ppm como dos dobletes con una constante de acoplamiento de 11.7 Hz. La primera señal de la curcumina aparece sobre 3.84 ppm como un singlete asociado a los metóxidos, y cuya integración (6.71) así como la comparación con lo observado en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para la curcumina (Figura 23) lo corroboran. En 6.21 ppm se observa la señal del protón del carbono de simetría y más adelante, en la región comprendida entre 7.01 y 7.66 ppm, aunque en

promedio desplazadas hacia campo más bajo, se encuentran las señales características previamente identificadas para la curcumina en la Figura 23, mismas que corresponden a los protones vinílicos y del anillo aromático. En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  se observa la señal característica de los carbonos de los metilos enlazados al carbono cuaternario en 18.07 ppm. En 22.03 y 25.37 ppm es posible observar las señales de los metilos de los grupos protectores cetil. En 65.07 ppm se encuentra la señal de los carbonos alfa al carbono cuaternario que, junto con la señal en 172.02 ppm que corresponde a los carbonos del carbonilo del dendrón de primera generación, se asocian al grupo característico de señales del D1G. En 56.13 ppm es posible encontrar la señal asociada a los grupos metóxido y en 101.74 ppm se encuentra la señal del carbono de simetría de la curcumina. En 123.18 ppm está la señal de los carbonos alfa al carbonilo y al enol, siendo que en 139.83 ppm se encuentra la señal de los carbonos vinílicos. Finalmente, completando el grupo de señales que consideramos es característico de la curcumina, se encuentra una sola señal, en 183.21 ppm que corresponde a los carbonos del carbonilo y del enol, señal que en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de la curcumina (Figura 24) ambos carbonos eran diferenciables (ver Anexo 1). Mediante espectroscopia FT-IR también se confirma la obtención del producto, observándose bandas características tanto del grupo carbonilo en  $1645\text{ cm}^{-1}$ , como de las vibraciones correspondientes a la parte alifática, alrededor de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , mezcladas con las señales de la parte insaturada (ver anexo 1).

Según se observa en la Figura 15 de manera general para todas las dendro-curcuminas, la reacción de desprotección de la dendro-curcumina de primera generación en presencia de la resina ácida DOWEX 50w X2 da como resultado a la dendro-curcumina de primera generación con grupos  $-\text{OH}$  en la periferia (1C1). El siguiente espectro de RMN  $^1\text{H}$  adquirido en DMSO- $d_6$  confirma la obtención del producto (Figura 26).

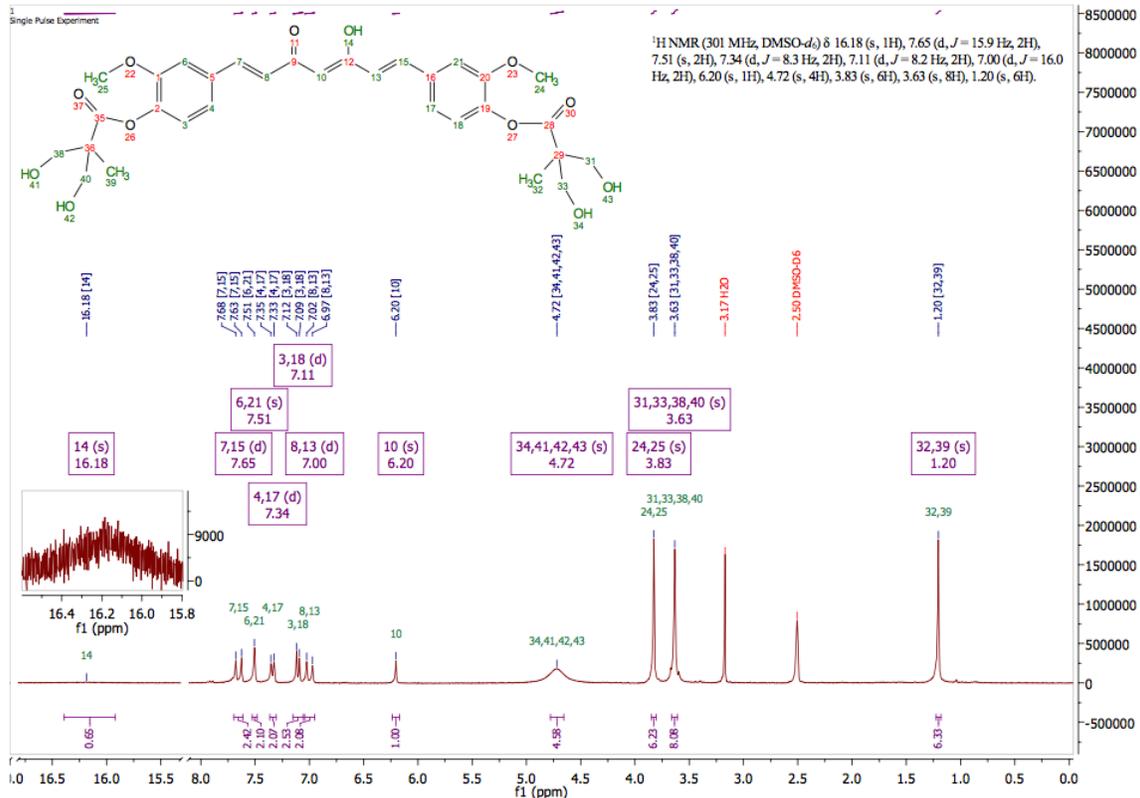


Figura 26. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de 1C1 en DMSO-d<sub>6</sub>.

En 1.20 ppm se observa la señal asociada a los protones del metilo del carbono cuaternario del dendrón de primera generación, cuya integración (6.33) lo corrobora. Realizando la comparación del espectro de RMN <sup>1</sup>H para 1PC1P (Figura 25), es posible observar la desaparición de las señales de los metilos de los grupos protectores cetil, otrora en 1.34 y 1.41 ppm, dicha ausencia modifica la multiplicidad de los protones en alfa a los hidroxilos, desplazándolos hacia campo más alto (3.83 ppm) con una integración igual a 8.08 y, dado que ya no se encuentran formando parte de un heterociclo de seis miembros, los 8 protones totales son indistinguibles. Es posible apreciar la aparición de los protones de los hidroxilos libres como una señal el 4.72 ppm. El resto de las señales propias de la curcumina permanecen prácticamente invariantes. En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C se aprecia la desaparición de la señal asociada a los carbonos de los metilos de los grupos protectores otrora en 22.03 y 25.37 ppm. A su vez, debido a la modificación estructural, la señal de los carbonos alfa al carbono cuaternario se desplazan ligeramente hacia campo más alto, encontrándose ahora la señal en 63.56 ppm (ver anexo 1).

La reacción entre los fenoles de la curcumina y el dendrón de segunda generación con punto focal ácido, da como resultado la formación de la dendro-curcumina de segunda generación (2PC2P). En el siguiente espectro

de RMN de  $^1\text{H}$  adquirido en DMSO-d<sub>6</sub> se confirma la obtención de este producto (Figura 27).

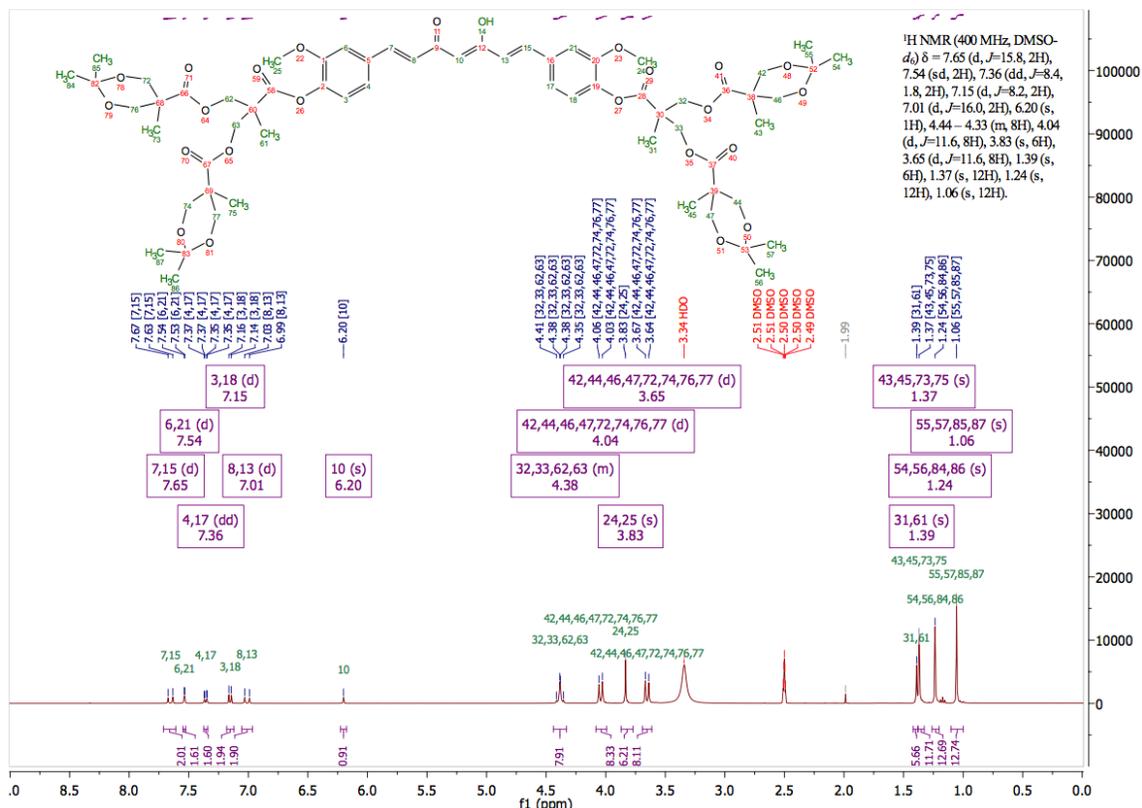


Figura 27. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 2PC2P en DMSO-d<sub>6</sub>.

En 1.39 y 1.37 ppm se encuentra el singulete asociado a los protones de los metilos de los carbonos cuaternarios de la primera y segunda generación del dendrón. En 1.24 y 1.06 ppm se observan dos singuletes ya vistos anteriormente para los protones de los metilos del grupo protector cetil del dendrón de segunda generación (Figura 18), aunque para 2PC2P, ambas señales se encuentran desplazadas hacia campo más alto, encontrándose a la derecha de las señales de los metilos del carbono cuaternario. Desplazadas hacia campo alto en comparación con el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para el D2G-CO<sub>2</sub>H (Figura 22), las señales de los protones diastereotópicos se encuentran en 3.65 y 4.04 ppm como dos dobletes con una constante de acoplamiento de 11.6 Hz. La primera señal de la curcumina aparece sobre 3.83 ppm como un singulete asociado a los metóxidos, y cuya integración (6.21), así como la comparación con en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para la curcumina (Figura 23) lo corroboran. En 6.20 ppm se observa la señal del protón del carbono de simetría y más adelante, en la región comprendida entre 7.01 y 7.65 ppm, aunque en promedio desplazadas hacia campo más bajo, se encuentran las señales características previamente identificadas para la curcumina en la Figura 23, mismas que corresponden a los protones vinílicos y del anillo

aromático. En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  se observa la señal característica de los carbonos de los metilos enlazados al carbono cuaternario de la primera y segunda generación en 17.27 y 17.92 ppm respectivamente. En 21.35 y 25.92 ppm se observan las señales de los metilos de los grupos protectores cetálicos. En 64.78 y 65.09 ppm es posible encontrar la señal de los carbonos alfa al carbono cuaternario de la primera y segunda generación respectivamente y que, junto con las señales en 170.48 y 173.25 ppm que corresponden a los carbonos del carbonilo de la primera y segunda generación del dendrón, corresponden al grupo característico de señales asociadas al D2G. En 56.15 ppm es posible encontrar la señal asociada a los grupos metóxido y en 101.79 ppm se encuentra la señal del carbono de simetría de la curcumina. En 123.13 ppm está la señal de los carbonos alfa al carbonilo y al enol, siendo que en 139.76 ppm se encuentra la señal de los carbonos de los anillos aromáticos enlazados al carbonilo del dendrón, a su vez, en 140.42 ppm es posible encontrar la señal de los carbonos vinílicos. Finalmente, completando el grupo de señales que consideramos es característico de la curcumina, se encuentra una sola señal, en 183.20 ppm que corresponde a los carbonos del carbonilo de la cetona y del enol (ver anexo 1).

Homológicamente a la desprotección de 1PC1P, la reacción de desprotección de la dendro-curcumina de segunda generación con la resina ácida DOWEX 50w X2 da como resultado a la dendro-curcumina de segunda generación con grupos  $-\text{OH}$  en la periferia (2C2). El siguiente espectro de RMN  $^1\text{H}$  adquirido en DMSO- $d_6$  confirma la obtención del producto (Figura 28).

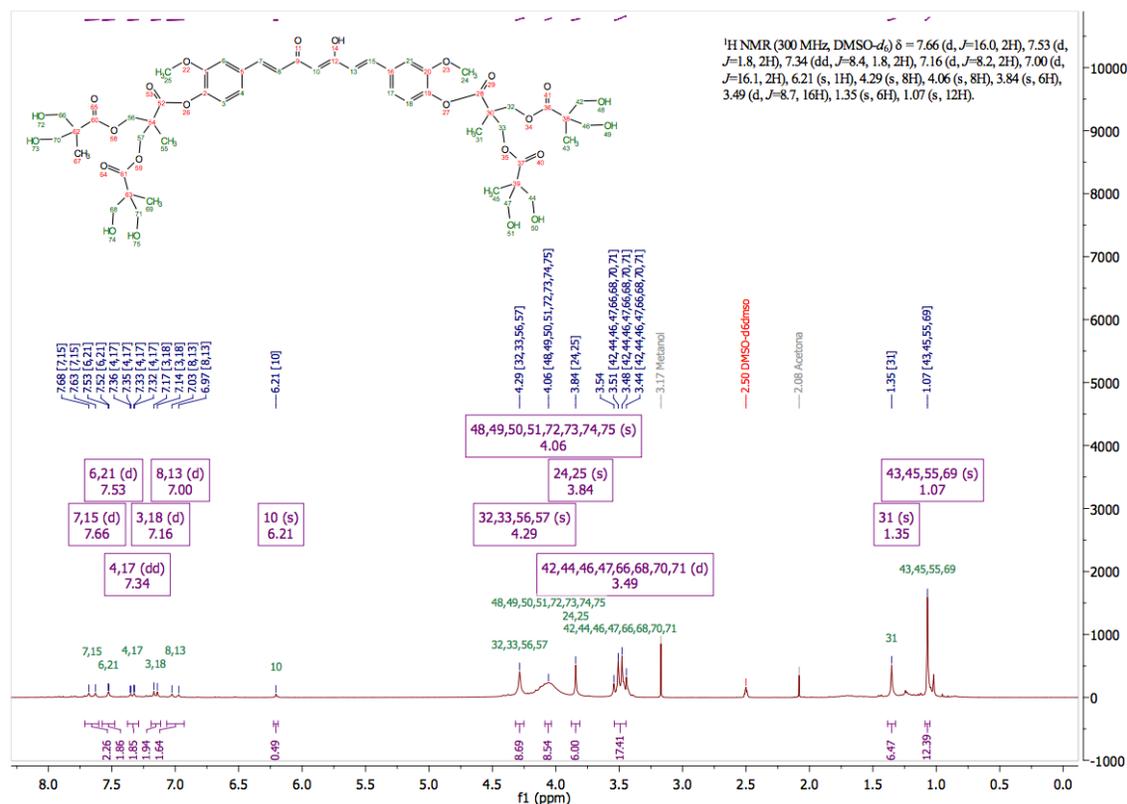


Figura 28. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 2C2 en DMSO-d<sub>6</sub>.

En 1.07 y 1.35 ppm se observan las señales asociadas a los protones del metilo del carbono cuaternario del dendrón de primera y segunda generación, cuya integración (12.38 y 5.64 respectivamente) lo corroboran. Realizando la comparación del espectro de RMN <sup>1</sup>H para 2PC2P (Figura 25) es posible observar la desaparición de las señales de los metilos de los grupos protectores cetil, otrora en 1.37 y 1.39 ppm, dicha ausencia modifica la multiplicidad de los protones en alfa a los hidroxilos terminales, desplazándolos hacia campo más alto (3.49 ppm) con una integración igual a 17.41 y, dado que ya no se encuentran formando parte de un heterociclo de seis miembros, los 16 protones totales son indistinguibles. Es posible apreciar la aparición de los protones de los hidroxilos libres como una señal el 4.06 ppm. El resto de las señales propias de la curcumina permanecen prácticamente invariantes. En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C se aprecia la desaparición de la señal asociada a los carbonos de los metilos de los grupos protectores otrora en 21.35 y 25.92 ppm. A su vez, debido a la modificación estructural, la señal de los carbonos alfa al carbono cuaternario se desplazan ligeramente hacia campo más alto, encontrándose ahora la señal en 63.79 ppm, el resto de las señales propias de la curcumina permanecen prácticamente sin cambio alguno (ver anexo 1).

La reacción entre los fenoles de la curcumina y el dendrón de tercera generación con punto focal ácido, da como resultado la formación de la dendro-curcumina de segunda generación (3PC3P). En el siguiente espectro de RMN de  $^1\text{H}$  adquirido en DMSO- $d_6$  se confirma la obtención de este producto (Figura 29).

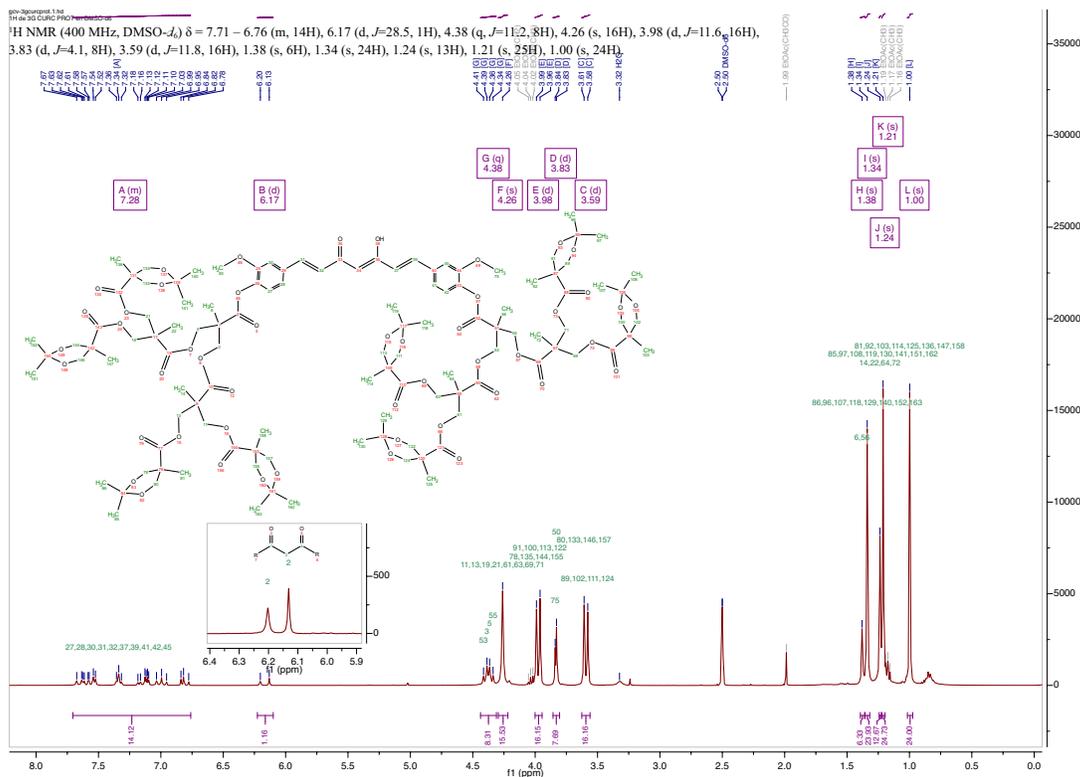


Figura 29. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 3PC3P en DMSO- $d_6$ .

En 1.34, 1.24 y 1.00 ppm se encuentran los singuletes asociados a los protones de los metilos de los carbonos cuaternarios de la primera, segunda y tercera generación del dendrón. En 1.34 y 1.21 ppm se observan dos singuletes, ya vistos anteriormente, para los protones de los metilos del grupo protector cetil del dendrón de tercera generación (Figura 20), aunque para 3PC3P, ambas señales se encuentran desplazadas hacia campo más alto, encontrándose una de ellas a la derecha de la señal de los metilos del carbono cuaternario de la primera generación (axiales), y otra, a la derecha de la señal de los metilos del carbono cuaternario de la segunda generación (ecuatoriales). Desplazadas ligeramente hacia campo alto en comparación con el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para el D3G-CO $_2$ H (Figura 21), las señales de los protones diastereotópicos se encuentran en 3.59 y 3.98 ppm como dos dobletes con una constante de acoplamiento de 11.6 Hz. La primera señal de la curcumina aparece sobre 3.83 ppm como un doblete asociado a los metóxidos y cuya integración (7.69) así como la comparación con en el espectro de RMN



El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  que aquí se presenta fue obtenido mediante la técnica DEPTQ (Incremento sin distorsión por transferencia de polarización incluyendo detección de núcleos cuaternarios) en el que es posible diferenciar carbonos secundarios y cuaternarios (señales superiores) de primarios y terciarios (señales inferiores). Se observa la señal característica de los carbonos de los metilos enlazados al carbono cuaternario de la primera, segunda y tercera generación del dendrón en 17.17, 17.09 y 17.83 ppm respectivamente. En 21.33 y 25.83 ppm se observan las señales de los metilos de los grupos protectores cetálicos. En 65.55, 65.02 y 64.68 ppm es posible encontrar la señal de los carbonos alfa al carbono cuaternario de la primera, segunda y tercera generación del dendrón respectivamente y que, junto con las señales en 170.16, 171.68 y 173.18 ppm que corresponden a los carbonos del carbonilo de la primera, segunda y tercera generación del dendrón, corresponden al grupo característico de señales asociadas al D3G. En 56.10 ppm se observa la señal asociada a los grupos metóxido de la curcumina, y en 101.77 y 101.34 ppm se encuentran dos señales asociadas al carbono de simetría del núcleo de curcumina, lo que corrobora el hecho de que en el equilibrio coexisten ambos tautómeros, y es por ellos que es posible diferenciar ambos carbonos de simetría; contrario a las otras dos dendro-curcuminas y a la curcumina misma, en las que, como se mencionaba anteriormente, sus equilibrios tautoméricos se encuentran desplazados hacia el *-enol*. Lo anterior justifica el hecho de que ahora, en la región en la que se encuentran las señales de los carbonos propios de la curcumina, han aparecido duplicados de señales otrora inexistentes, lo cual se asocia a la pérdida de simetría y, como punto adicional, en la región comprendida entre 181 y 185 ppm, han aparecido tres señales que, en la misma región pero para la curcumina, 1PC1P y 2PC2P (ver anexo 1), se trataba de una sola señal correspondiente al carbono del carbonilo de la cetona y al carbono del *enol*, ya que el equilibrio de interconversión ceto-*enólico* era tan rápido, que provocaba que las señales de los dos diferentes carbonos fueran indistinguibles. En virtud de la coexistencia de los dos tautómeros para 3PC3P, una de ellas corresponderá al carbono del carbonilo de la cetona (184.95 ppm), otra al carbono del *enol* (181.29 ppm) y una más a la dicetona (183.18 ppm), cuyos carbonos son indistinguibles en estas condiciones del experimento de RMN.

## **5.2. Cálculos teóricos de minimización de energía para el compuesto 3C3**

Con la finalidad de apoyar la discusión del párrafo anterior, se llevaron a cabo simulaciones computacionales para el compuesto etiquetado como 3C3, bajo el esquema de funcionales de la densidad (DFT por sus siglas en inglés), tanto en su forma *enólica* como *cetónica*.

A continuación se presentan las estructuras resultantes de cálculos de minimización de la energía, llevados a cabo con el funcional B3LYP<sup>29</sup> y la base 6-31G(d,p)<sup>29</sup> en una caja de disolvente con constante dieléctrica de 33 correspondiente a metanol, utilizando el modelo de solvatación COSMO<sup>30</sup> (Conductor-like Screening Model, por sus siglas en inglés.), todo ello con la ayuda del programa BIOVA ® Materials Studio.

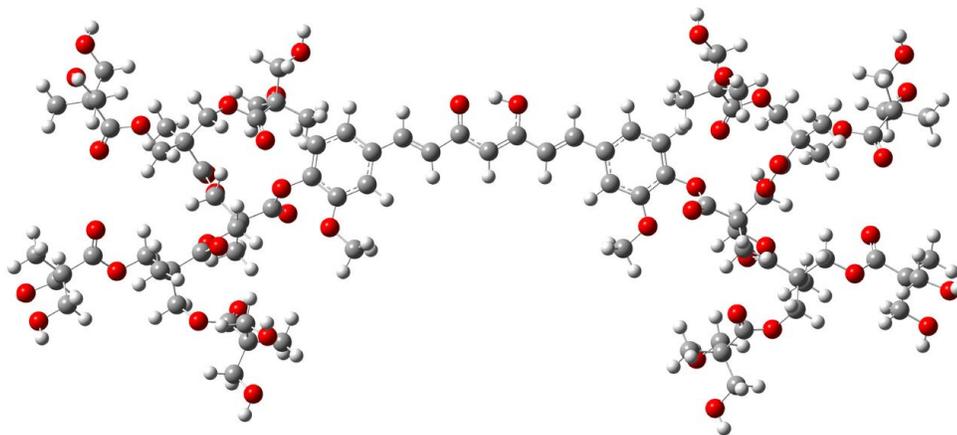


Figura 31. Minimización de la energía de la estructura 3C3 en su forma –enol

---

<sup>29</sup> Carbonniere, P., Lucca, T., Pouchan, C., Rega, N. and Barone, V. (2005), Vibrational computations beyond the harmonic approximation: Performances of the B3LYP density functional for semirigid molecules. *J. Comput. Chem.*, 26: 384–388.

<sup>30</sup> Klamt, A. (2011), The COSMO and COSMO-RS solvation models. *WIREs Comput Mol Sci*, 1: 699–709.

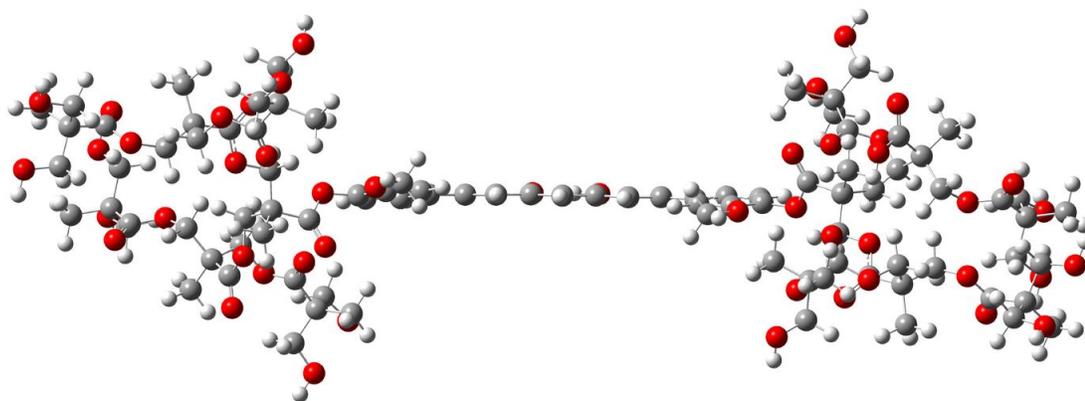


Figura 32. Minimización de la energía de la estructura 3C3 en su forma –enol vista en el plano del núcleo de curcumina.

Observando las Figuras 31 y 32 (vistas frontal y lateral del compuesto en su forma enólica), es posible apreciar la evidente planaridad del núcleo de curcumina, así como la simetría que guardan los dendrones de tercera generación.

Por otro lado, se optimizó la estructura en la forma ceto, resultando en la estructura de mínima energía que se muestra en las figuras 33 y 34 (vistas frontal y lateral respectivamente).

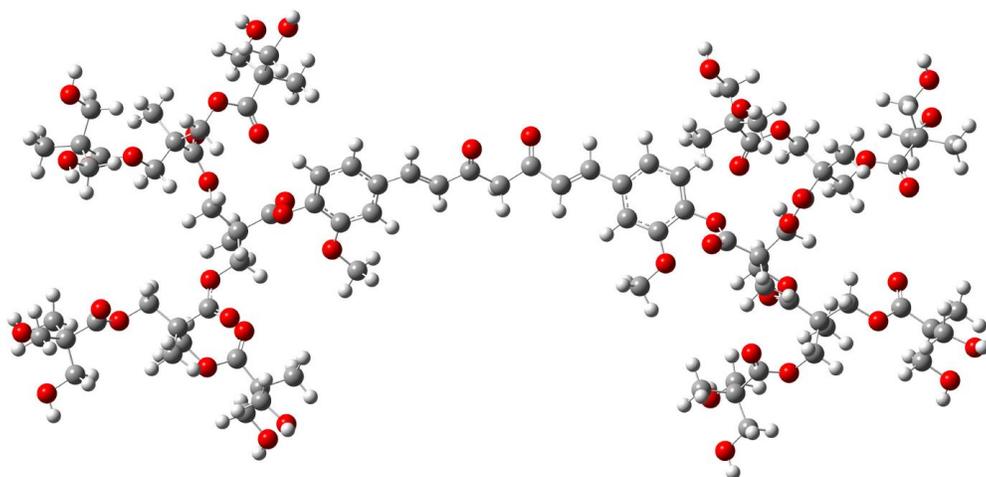


Figura 33. Minimización de la energía de 3C3 en su forma –ceto.

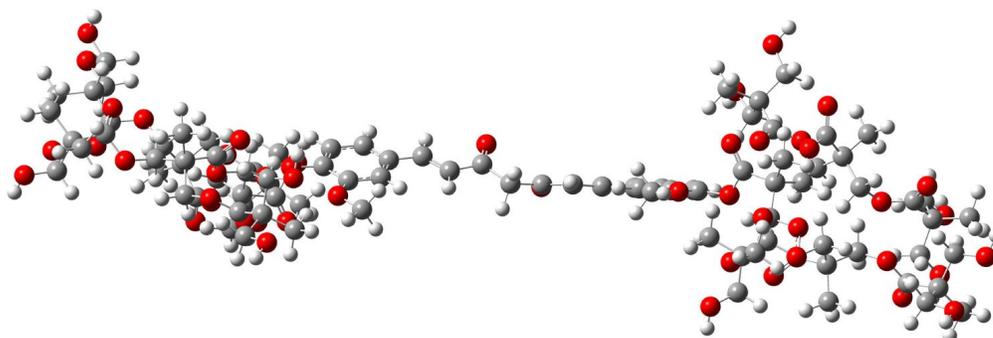


Figura 34. Minimización de la energía de 3C3 en su forma –ceto, vista en el plano del núcleo de curcumina.

Aunque en la Figura 33 no es posible apreciar con facilidad la pérdida de simetría de la molécula, una vez que es observada sobre el plano del núcleo, la asimetría se vuelve evidente tanto en el núcleo como en los dendrones. Por todo lo anterior, dado que muchos carbonos han dejado de ser equivalentes, será posible diferenciarlos en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ya que al encontrarse en ambientes magnéticamente diferenciados, sus señales dejarán de superponerse y aparecerán duplicados con desplazamientos similares, cosa que es observada experimentalmente.

La diferencia energética entre ambos tautómeros resulta ser de aproximadamente 6 kcal, a favor de la forma enólica. Si bien es una energía relativamente alta para sobrepasarse a temperatura ambiente, es una buena estimación para explicar que coexisten ambos tautómeros en disolución, ya que, al pasar de la forma –enol a su forma –ceto, la pérdida de simetría complica el regreso a la forma –enol, por lo que ambos tautómeros existirán simultáneamente.

### **5.3. Estimación del poder antioxidante de los compuestos sintetizados mediante el ensayo de FRAP**

Recordando que uno de los objetivos de la presente tesis fue evaluar el poder antioxidante de los derivados dendronizados de la curcumina, se llevaron a cabo ensayos, por triplicado, usando la técnica FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma, por sus siglas en inglés), cuya metodología se describe a continuación:

Para la preparación de disoluciones:

- i. Reactivo A: Buffer de Acetatos (300mM a pH=3.6).

Se colocan 16 mL de ácido acético glacial en un matraz de 1L y se añaden 3.1g de acetato de sodio trihidratado, llevando posteriormente a la línea de aforo. Se verifica el que el pH sea igual a 3.6.

- ii. \*Reactivo B: TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) 10mM en HCl 40mM.

Para preparar 50mL de HCl 40mM, en un matraz aforado de 50mL y sobre una cama de agua de 10mL, se colocan 65 $\mu$ L de HCl concentrado (37% m/v), llevando posteriormente a la línea de aforo.

Para preparar el reactivo B, se pesan 0.031g de TPTZ y se disuelven en 10mL de HCl 40mM.

- iii. \*Reactivo C: FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 10mM.

En un matraz aforado de 10mL se colocan 0.054g de cloruro de hierro (III) y se lleva a la línea de aforo con agua de calidad HPLC.

\*Los reactivos B y C fueron preparados justo antes de iniciar el análisis.

Justo antes de comenzar la determinación se mezclan 2.5mL del reactivo B, 2.5mL del reactivo C y 25mL del reactivo A. Dicha mezcla será llamada

“Reactivo FRAP” en lo sucesivo. El reactivo FRAP se coloca a 37°C por 10 minutos.

Para realizar el experimento:

- i. Se colocan 500µL del reactivo FRAP en un tubo de ensayo t se añaden 480µL de agua de calidad HPLC.
- ii. La mezcla anterior se coloca en un baño a 37C por diez minutos.
- iii. Terminado el tiempo de calentamiento, se agregan 20µL de la muestra y se mantiene el calentamiento a 37C por 30 minutos más.
- iv. Utilizando un espectrofotómetro de UV-vis se lee la absorbancia de la muestra a 593nm.
- v. El procedimiento anterior se repite 3 veces para cada muestra.

Estos ensayos se realizaron en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, en colaboración con la Dra. Irma Gabriela González Herrera.

Los resultados, obtenidos en medio acuoso, se muestran en la siguiente tabla:

Muestra	Valor de FRAP (µM de Fe <sup>2+</sup> /mg de muestra)
Curcumina	0
1C1	915.1
2C2	3424.9 <sup>31</sup>
3C3	0

Tabla 1: Valores de FRAP adquiridos en agua de los compuestos 1C1, 2C2 y 3C3, comparados contra Curcumina.

No obstante el poder antioxidante conocido de la Curcumina, en el ensayo de FRAP exhibe un valor marginal tendiente a cero, debido a su baja solubilidad en agua.

Por otro lado, el compuesto 1C1, con cuatro grupos hidroxilo (-OH) en la periferia, capaces de formar puentes de hidrógeno con el agua, exhibe una mejor solubilidad; sin embargo, comparando con el compuesto 2C2 cuya

---

<sup>31</sup> José M. Landeros, Fernando Belmont-Bernal, Alma Teresa Pérez-González, Mario Israel Pérez-Padrón, Patricia Guevara-Salazar, Irma Gabriela González-Herrera, Patricia Guadarrama, *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*, Materials Science and Engineering: C, Volume 71, 1 February 2017, Pages 351-362

solubilidad en agua es óptima, 1C1 se queda atrás, y consecuentemente presenta un valor inferior de FRAP. Por su parte, 2C2 presenta 8 grupos hidroxilo (-OH), dos veces más que su antecesor generacional 1C1, y cuatro veces más que el núcleo de Curcumina sin dendrón y, en virtud de lo que se explica anteriormente, al ser más soluble en agua, se encuentra más disponible en el medio para actuar como antioxidante, exhibiendo un valor alto de FRAP. Este comportamiento para 2C2 ya había sido reportado por nuestro grupo de investigación (ver referencia 31).

Finalmente tenemos el caso de 3C3 que, como se observó en la parte experimental, es especialmente proclive a degradarse debido, presumiblemente, a efectos estéricos y a la mayor presencia del tautómero ceto; por ello, no logra subsistir en el medio de reacción del ensayo de FRAP y se obtienen lecturas marginales tendientes a cero, igual que en el caso de la Curcumina libre. El mecanismo de degradación de 3C3 aún es objeto de estudio, y el entendimiento de este proceso permitirá buscar otras condiciones para poder determinar el poder antioxidante de esta nueva molécula.

## **6. Conclusiones.**

La reacción de esterificación de Steglich resultó ser lo suficientemente versátil y eficiente como para ofrecer buenos rendimientos en la síntesis de los dendrones y las dendro-curcuminas 1C1, 2C2 y 3C3.

Al aumentar la generación de las dendro-curcuminas resulta cada vez más eficiente una purificación por columna de exclusión molecular, siendo que existe una mayor diferencia de tamaños entre reactivos y productos.

Los espectros de RMN para 3PC3P demuestran la coexistencia de los tautómeros –ceto y –enol, mientras que en las dos generaciones inferiores predomina el tautómero –enol, sugiriéndose así un efecto estérico por la presencia del dendrón de tercera generación.

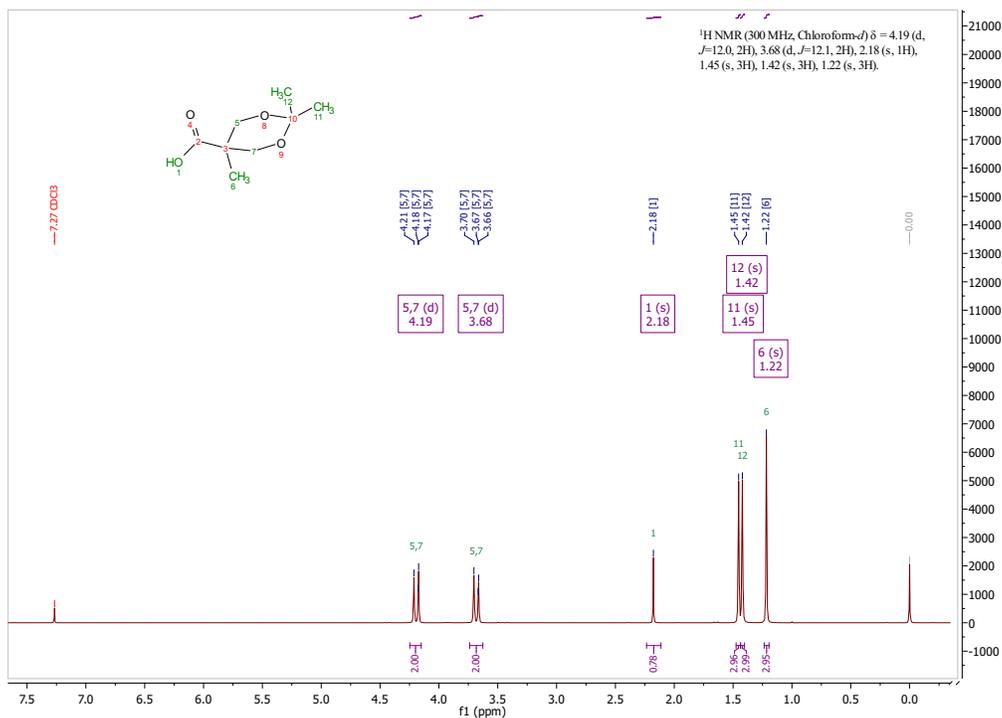
Con ayuda de las simulaciones computacionales para 3C3, es posible corroborar dicho efecto estérico, favoreciendo de alguna manera la degradación de la molécula, probablemente por la pérdida de la planaridad del núcleo de curcumina.

Con base en los valores obtenidos para la capacidad antioxidante de las cuatro moléculas con las que se trabajó en la presente Tesis (Ver Tabla 1), será preciso mencionar que los dendrones tienen un efecto positivo en el núcleo de curcumina, aumentando claramente la capacidad antioxidante, como consecuencia del aumento de la solubilidad en medios acuosos.

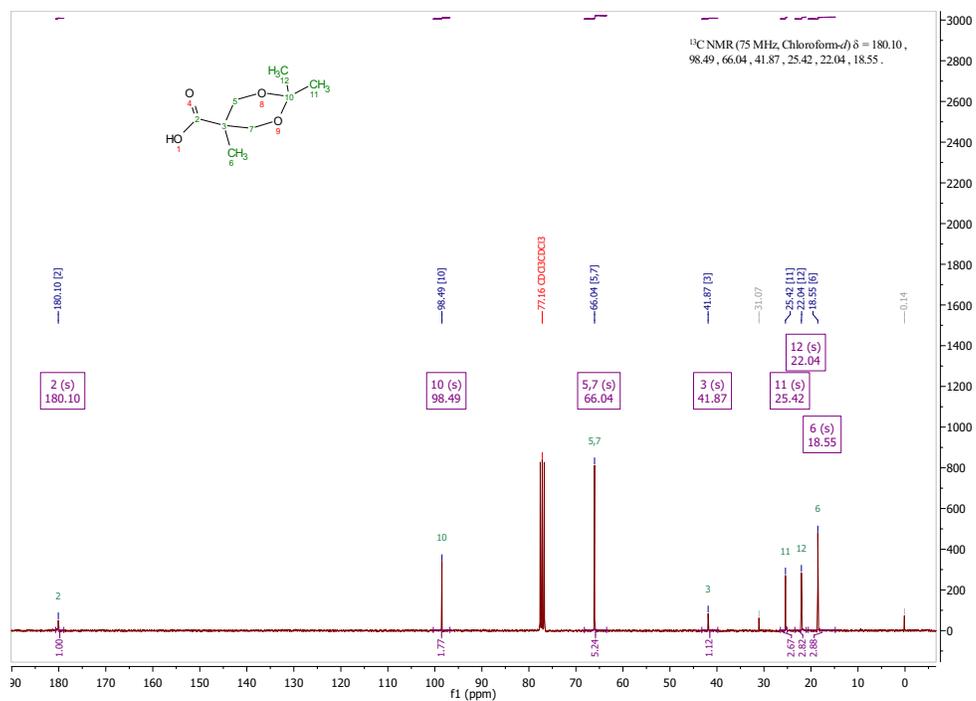
# Anexo 1

## Compendio de espectros de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , IR y MS de los productos obtenidos.

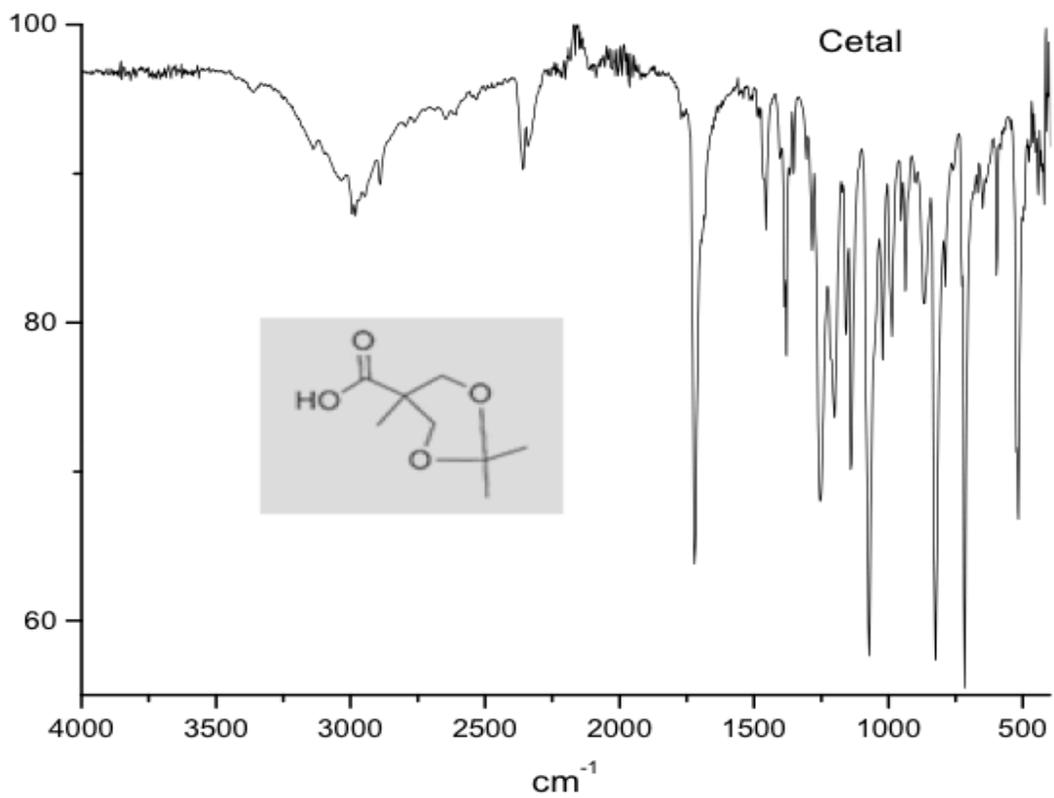
### Cetal



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Cetal en  $\text{CDCl}_3$

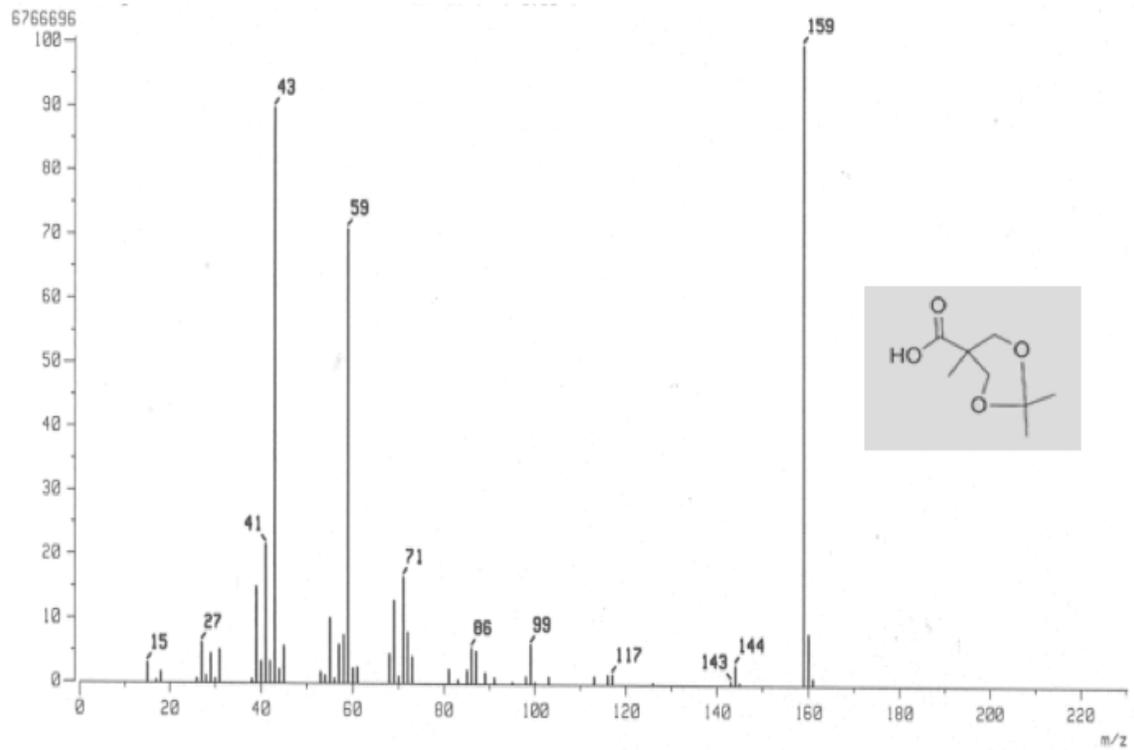


Espectro de RMN <sup>13</sup>C de Cetal en CDCl<sub>3</sub>



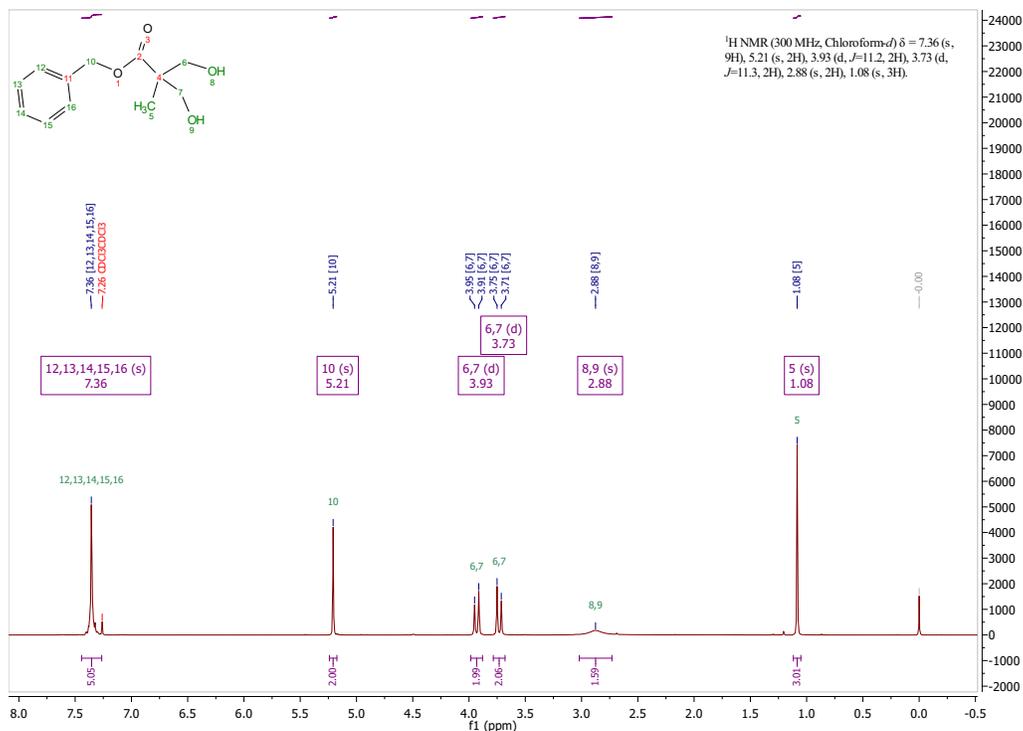
### Espectro IR de Cetal

cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
3140	91	1069	58
3036	89	1018	77
2993	87	991	79
1717	64	935	82
1452	81	870	81
1381	77	827	57

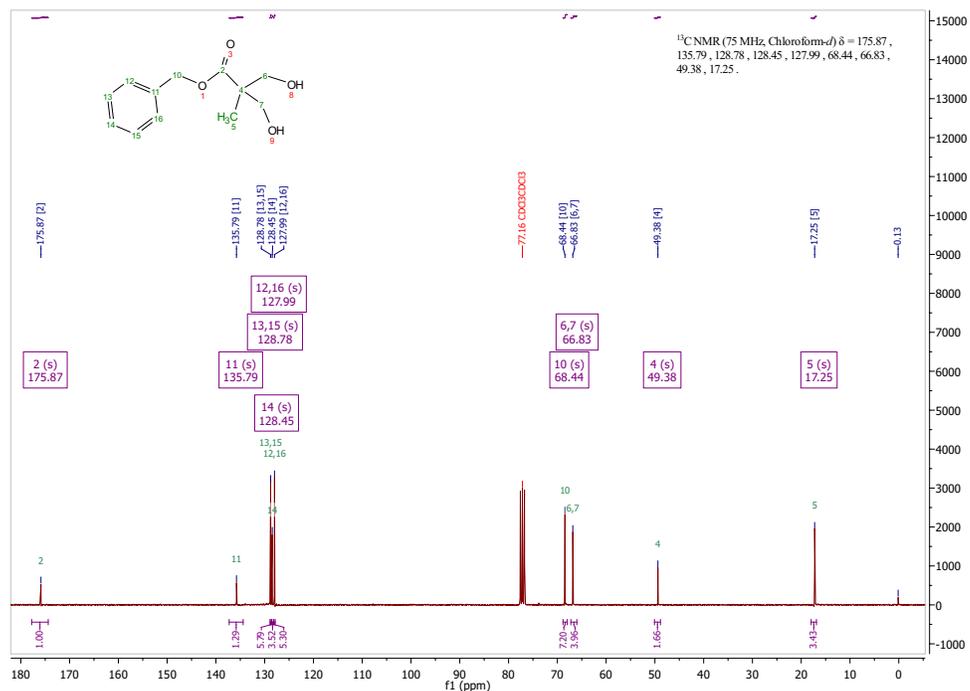


Espectrometría de masas de Cetal por EI+

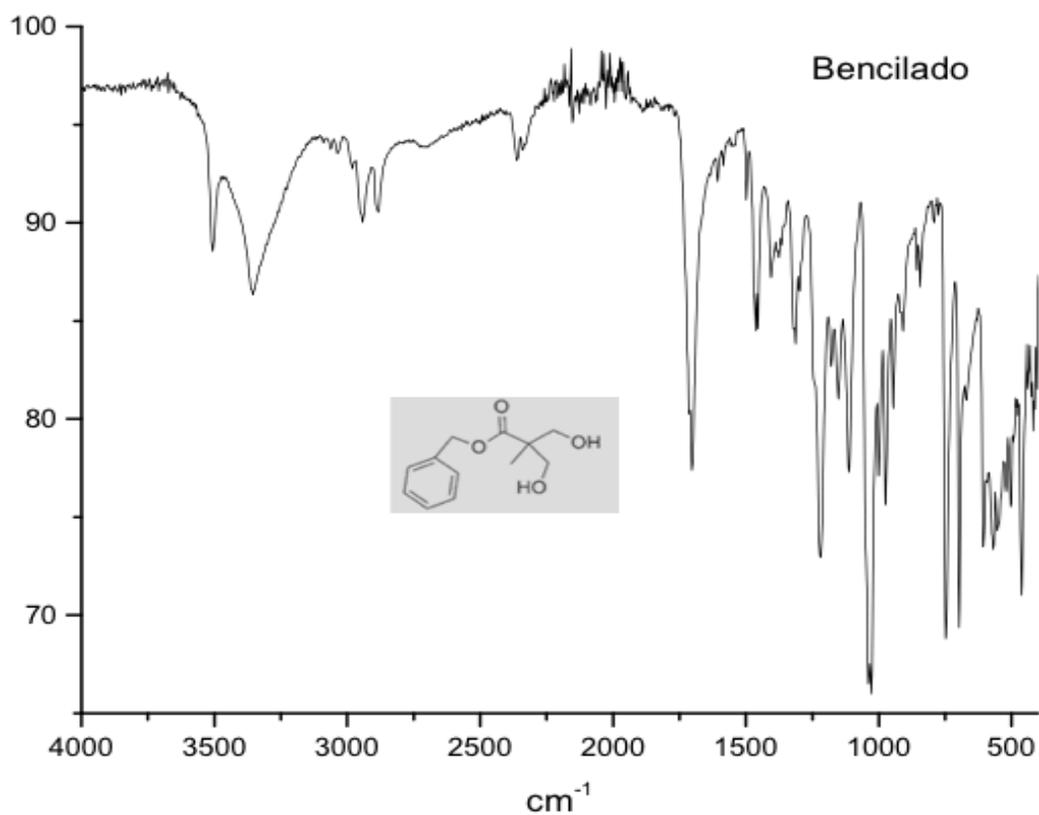
# Bencilado



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de Bencilado en CDCl<sub>3</sub>

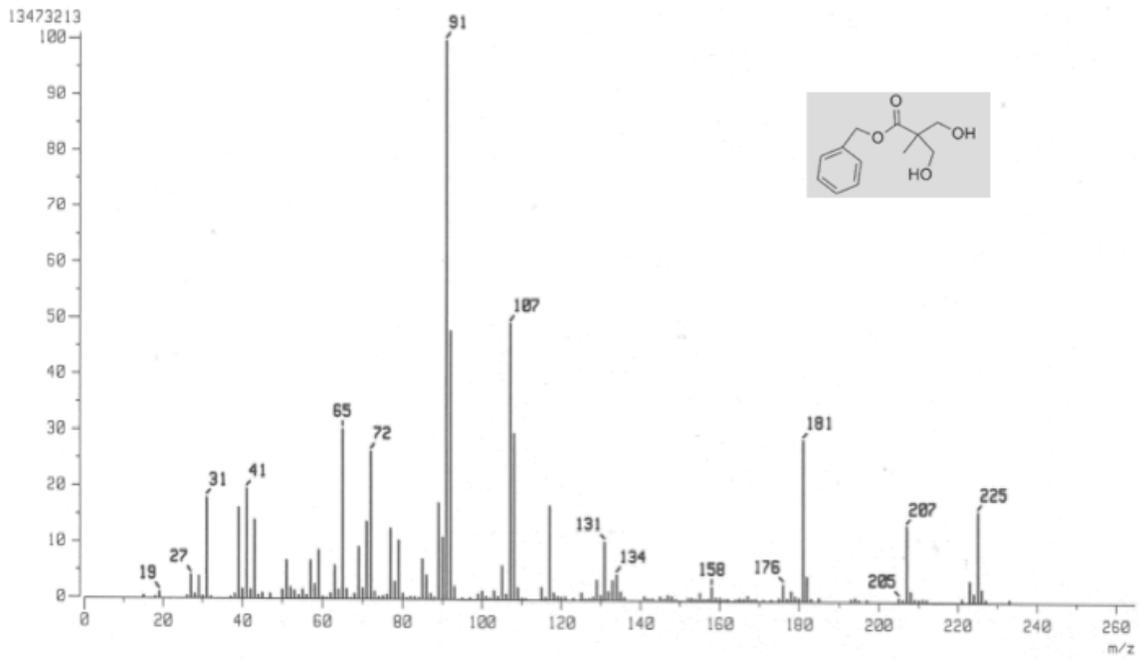


Espectro de RMN <sup>13</sup>C de Bencilado en CDCl<sub>3</sub>



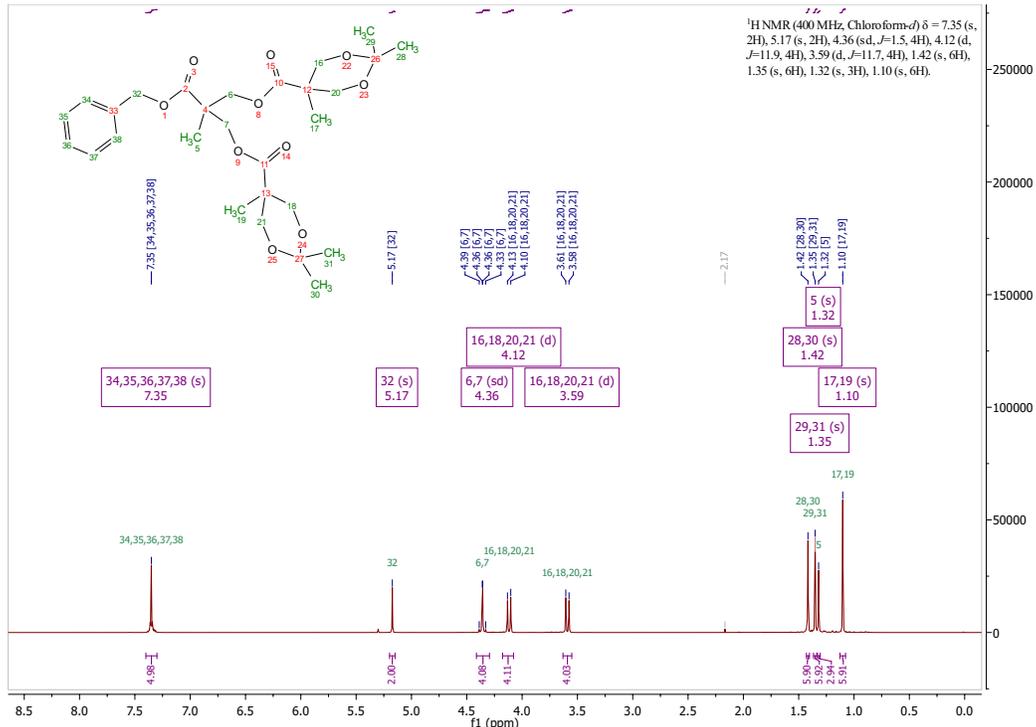
Espectro IR de Bencilado

cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
3515	88	1222	72
3350	86	1183	82
2993	90	1150	81
2883	90	1111	77
1707	77	1035	66
1452	84	1002	76
1402	87	968	75
1314	84	941	80

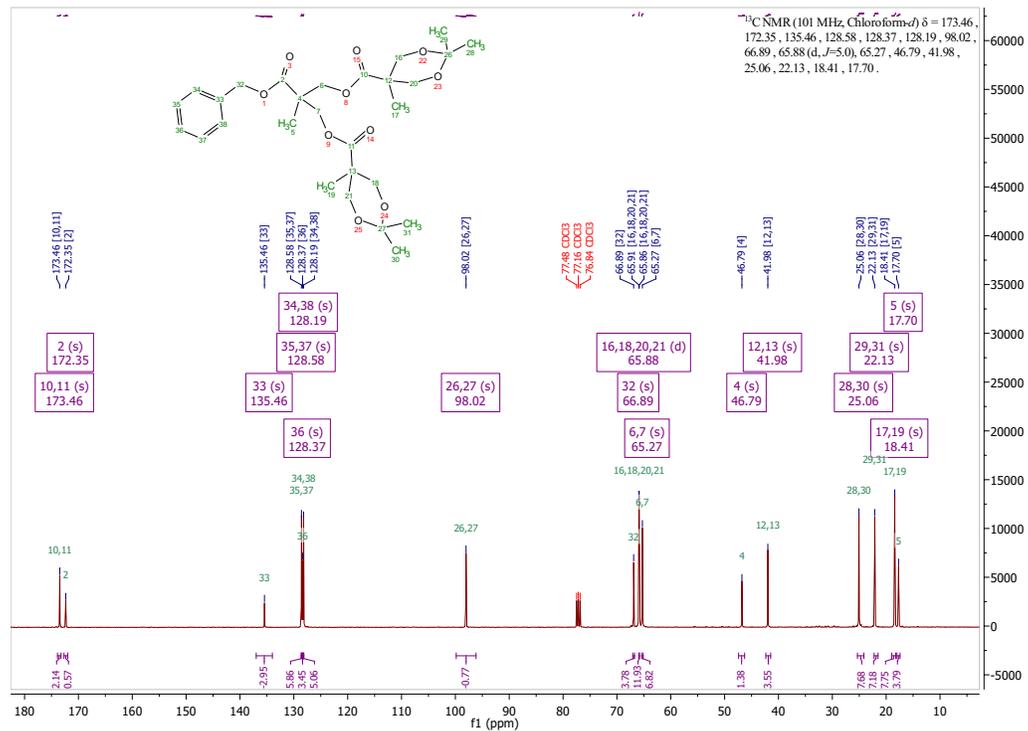


Espectrometría de masas de Bencilado por EI+

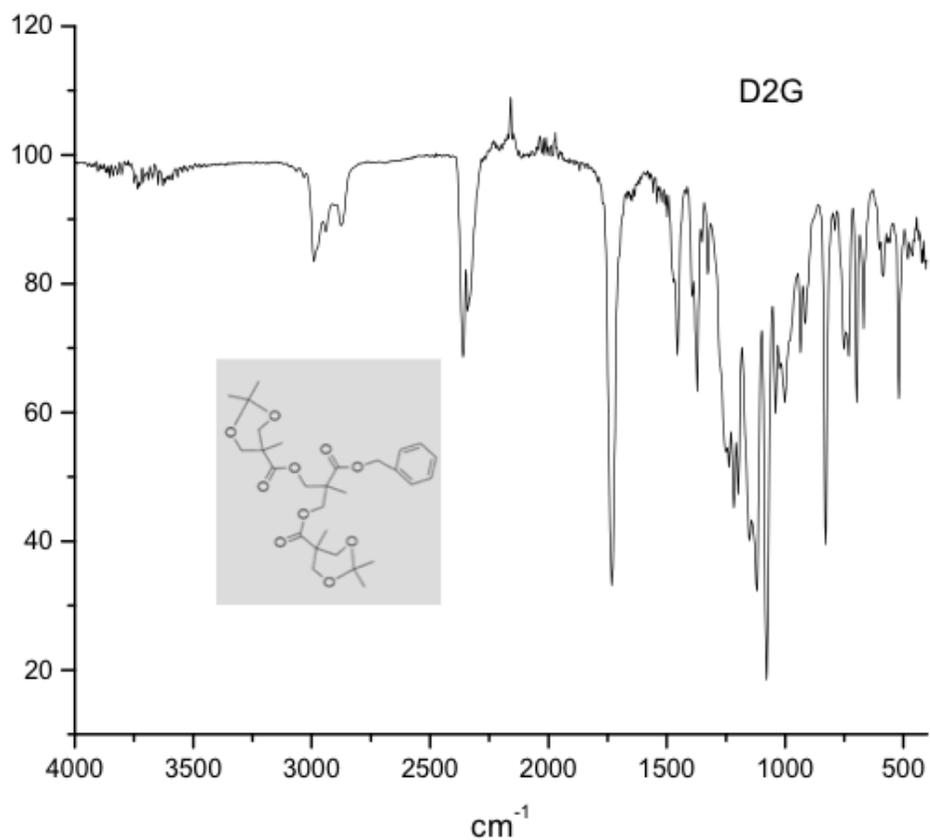
# D2G



Spectro RMN <sup>1</sup>H de D2G en CDCl<sub>3</sub>



Spectro RMN <sup>13</sup>C de D2G en CDCl<sub>3</sub>

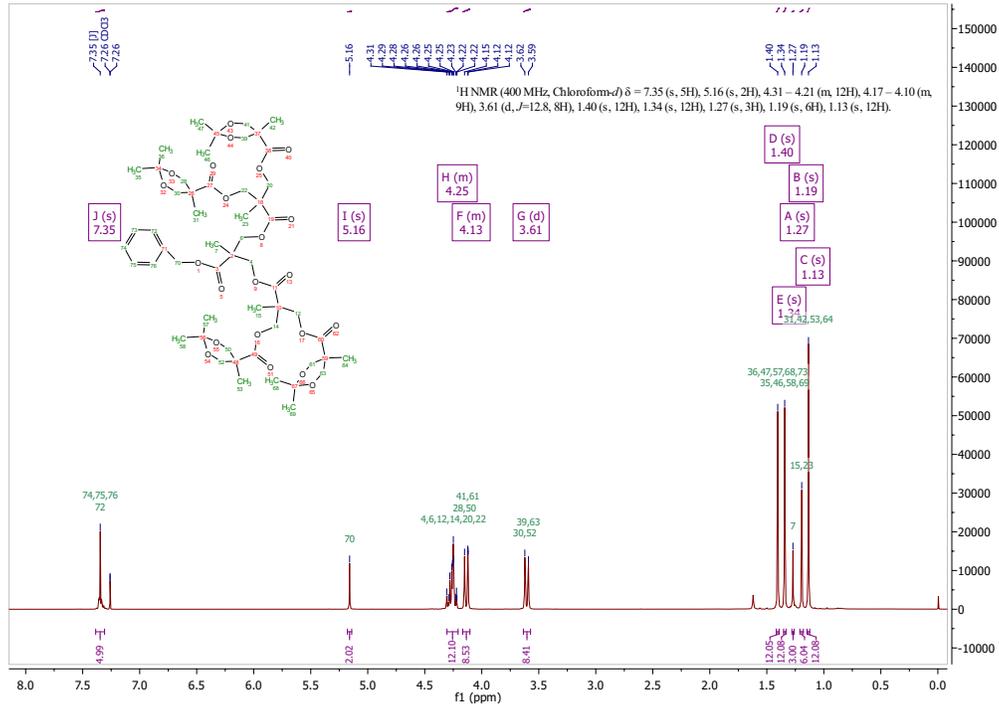


Espectro IR de D2G

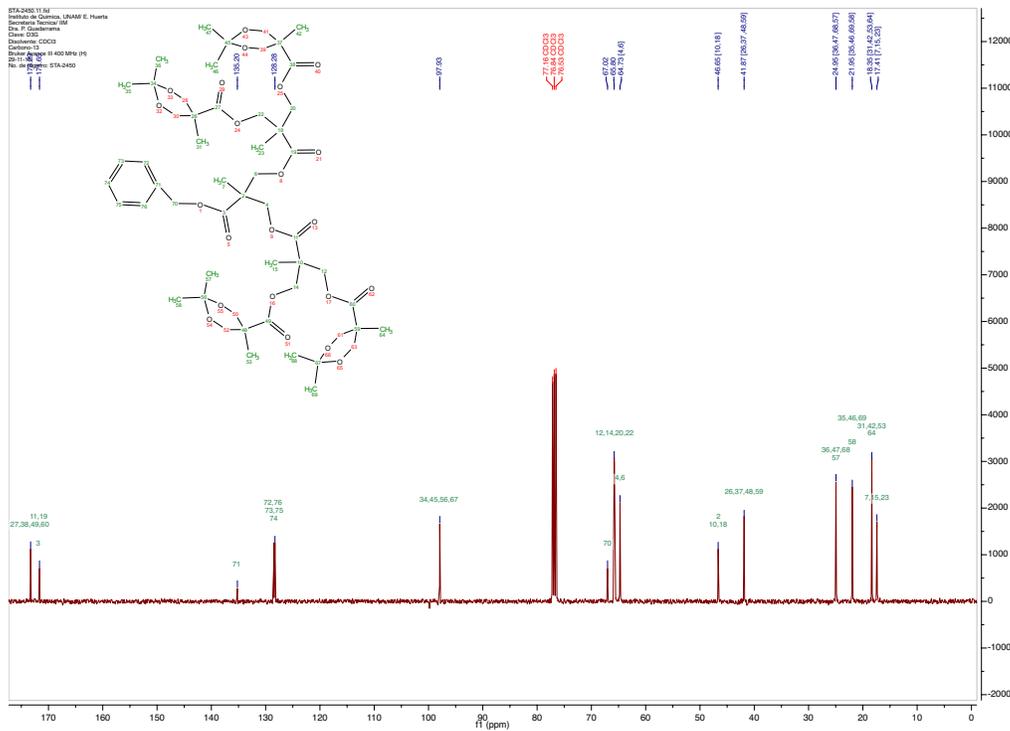
cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
2992	83	1194	47
2937	88	1155	40
2877	88	1117	32
1733	33	1079	19
1463	69	1046	60
1370	63	996	61
1283	56	935	70
1222	45	831	40



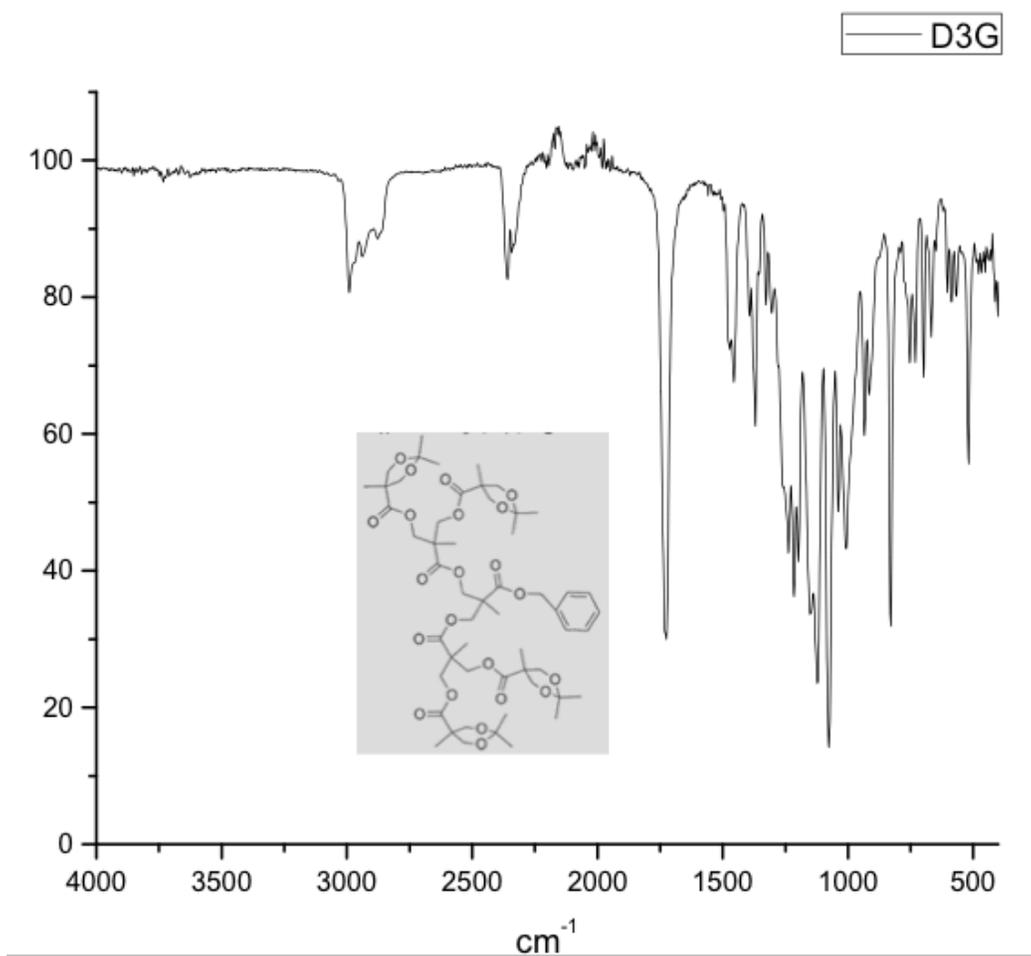
# D3G



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de D3G en CDCl<sub>3</sub>



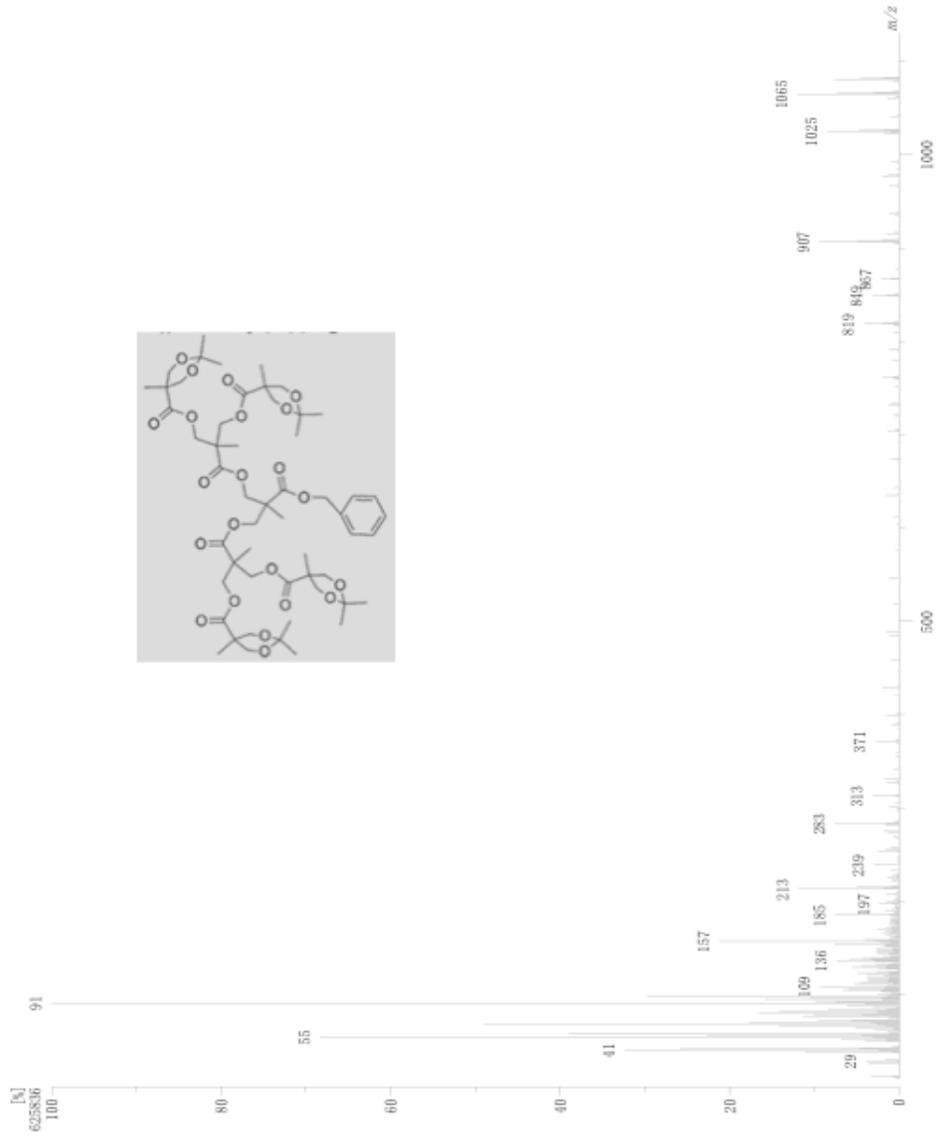
Espectro de RMN <sup>13</sup>C de D3G en CDCl<sub>3</sub>



cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
2990	80	1236	37
2935	87	1222	23
2870	86	1180	17
2250*	83	992	43
1733	35	934	59
1470	70	876	37
1365	63	731	63
1250	42	544	58

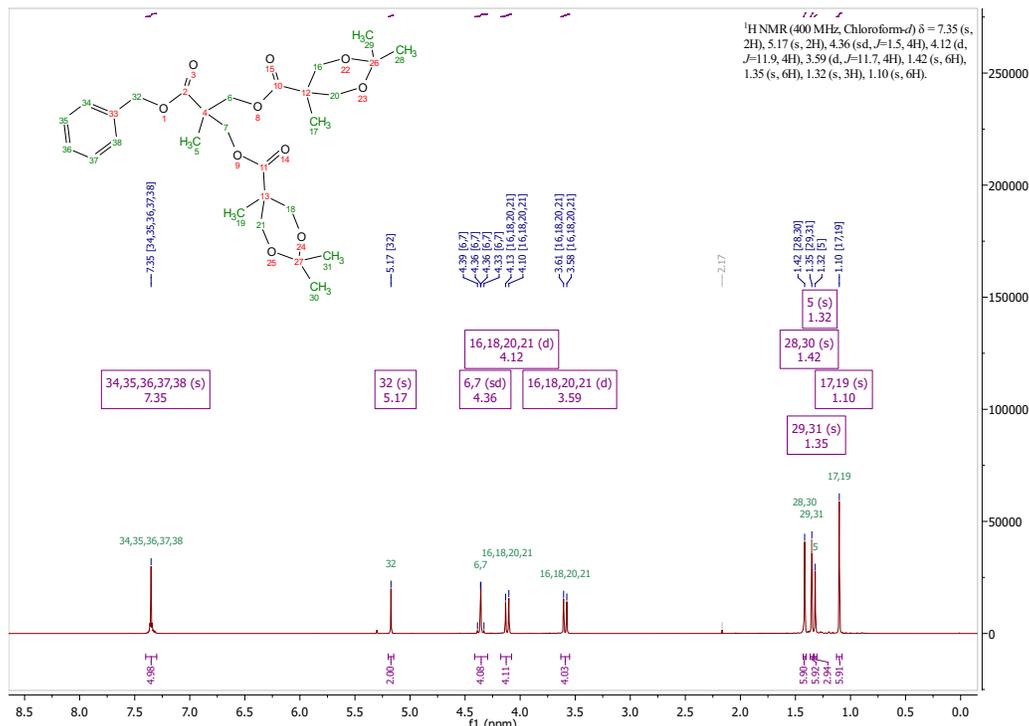
\*CO<sub>2</sub>

[Mass Spectrum]  
 Data: Dr Patricia Guadramas074 Date: 21-Mar-2017 13:50  
 Instrument: MStation  
 Sample: 25 D3G  
 Note: --Luis Velasco  
 Inlet: Direct Ion Mode: FAB+  
 Spectrum Type: Normal Ion (MF-Linear)  
 RT: 0.15 min Scan#: (2.22) Temp: 3276.7 deg C  
 BP: m/z 91 In.: 59.63 (825836)  
 Output m/z range: 10 to 1100 Gain Level: 0.00 %

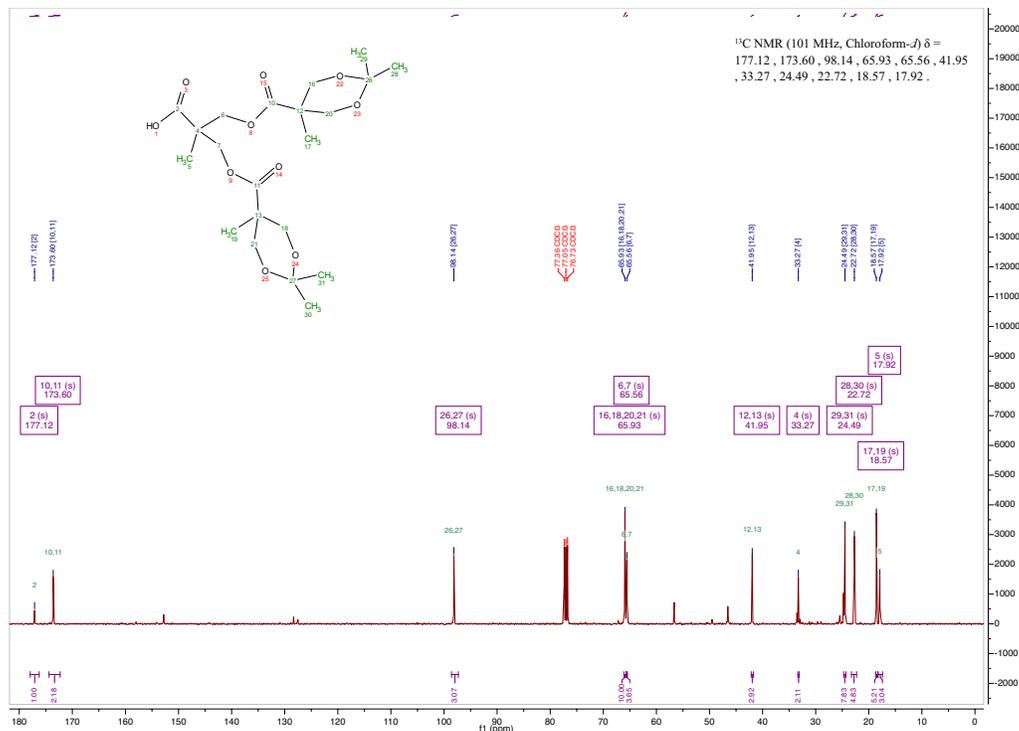


Espectrometría de masas de D3G por FAB+

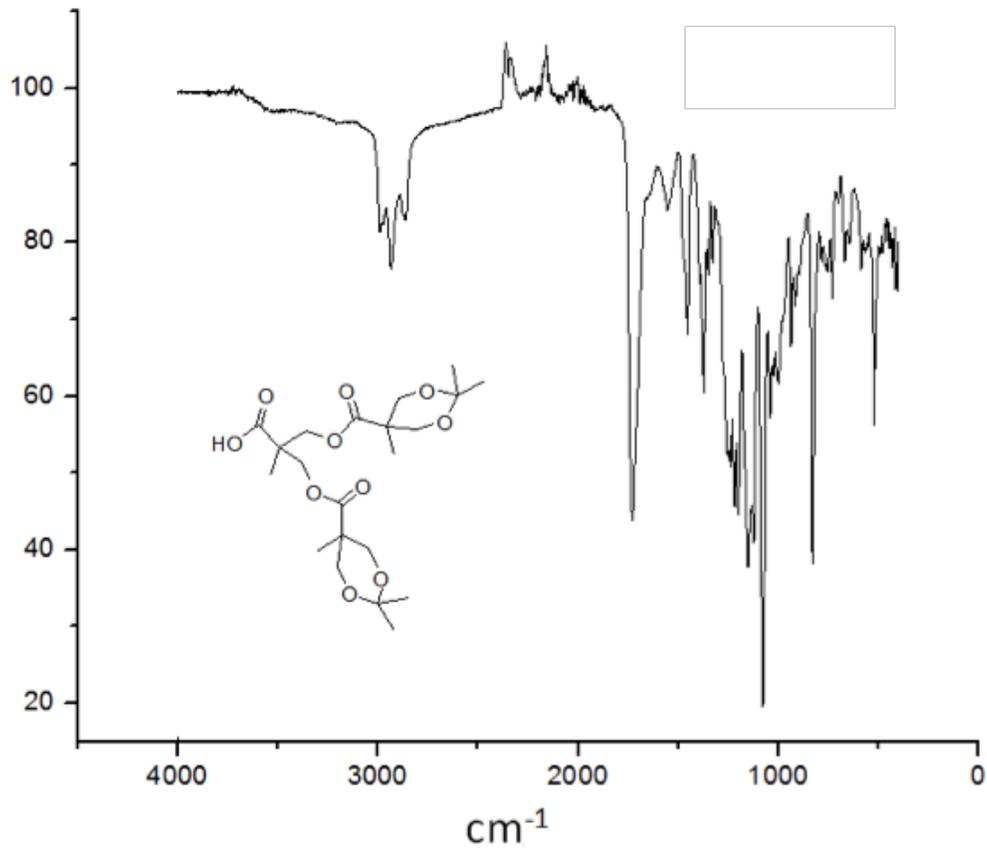
# D2GCO2H



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de D2GCO2H en CDCl<sub>3</sub>

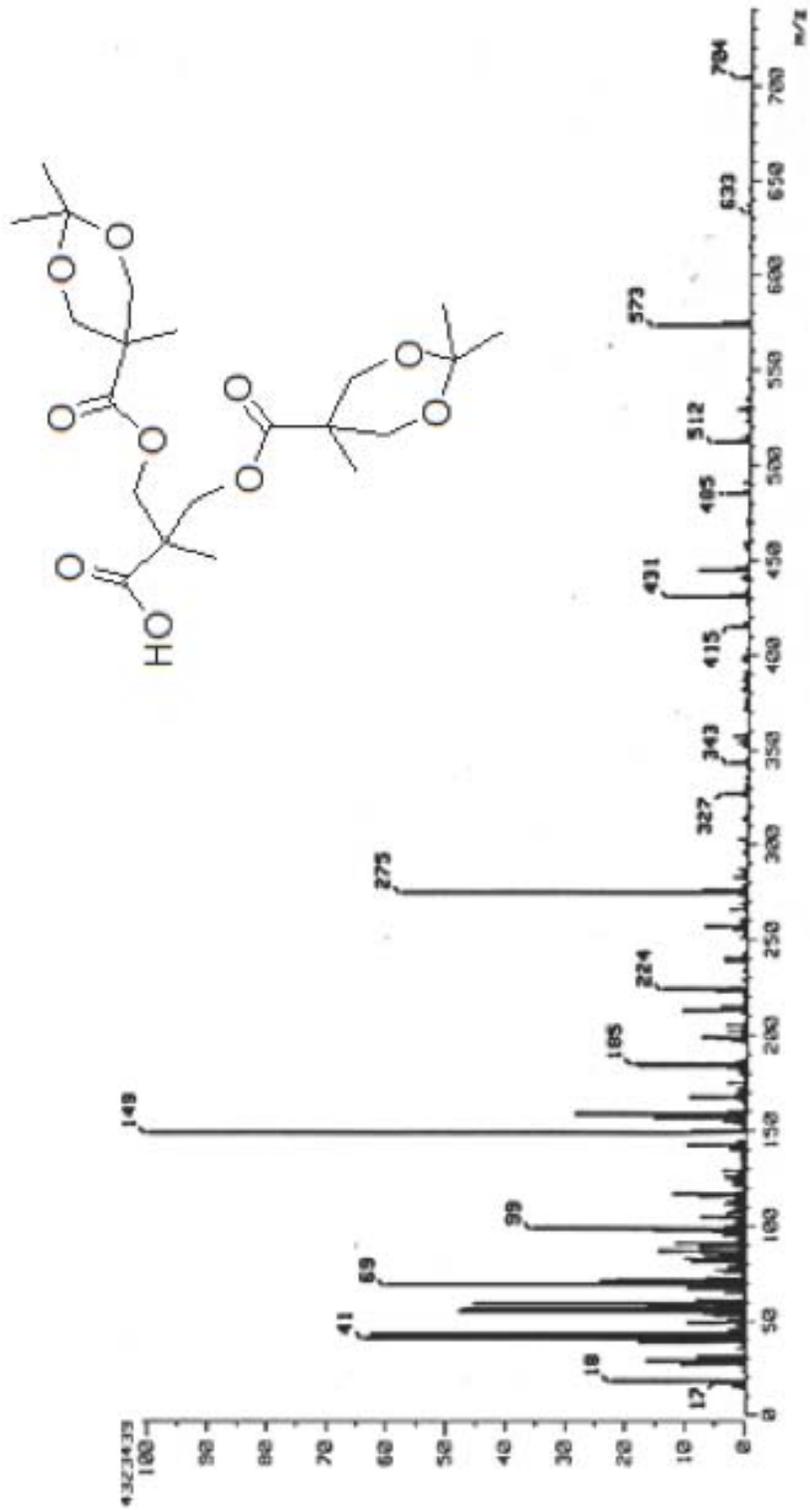


Espectro de RMN <sup>13</sup>C de D2GCO2H en CDCl<sub>3</sub>



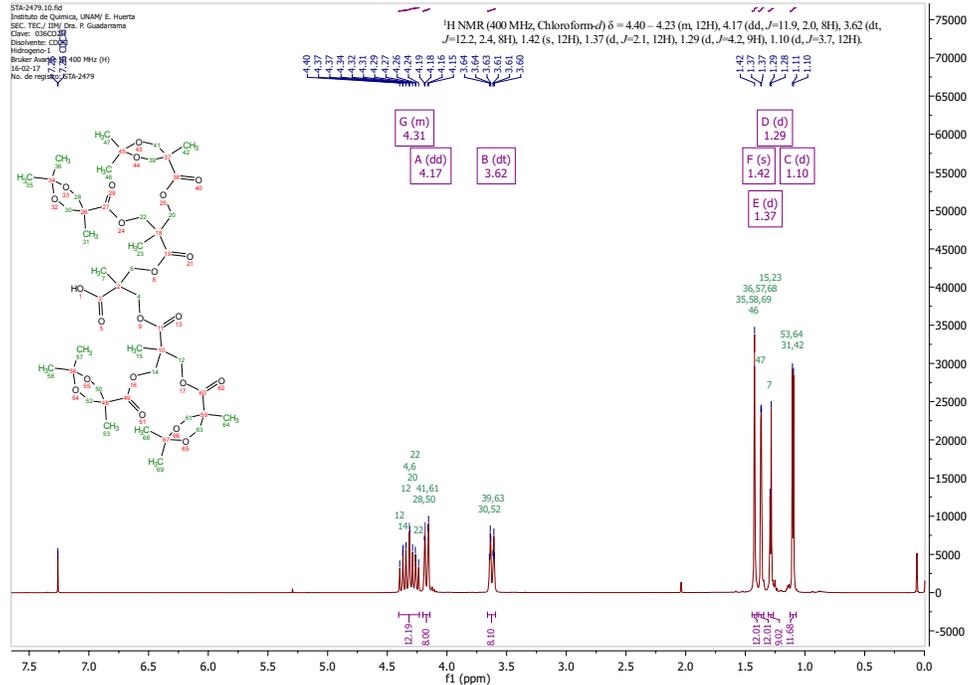
Espectro IR de D2GCO2H

cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
3523	96	1212	45
2987	81	1116	41
2923	76	1077	19
1721	43	1040	57
1549	85	930	66
1460	68	910	72
1377	60	829	28
1247	50	738	73

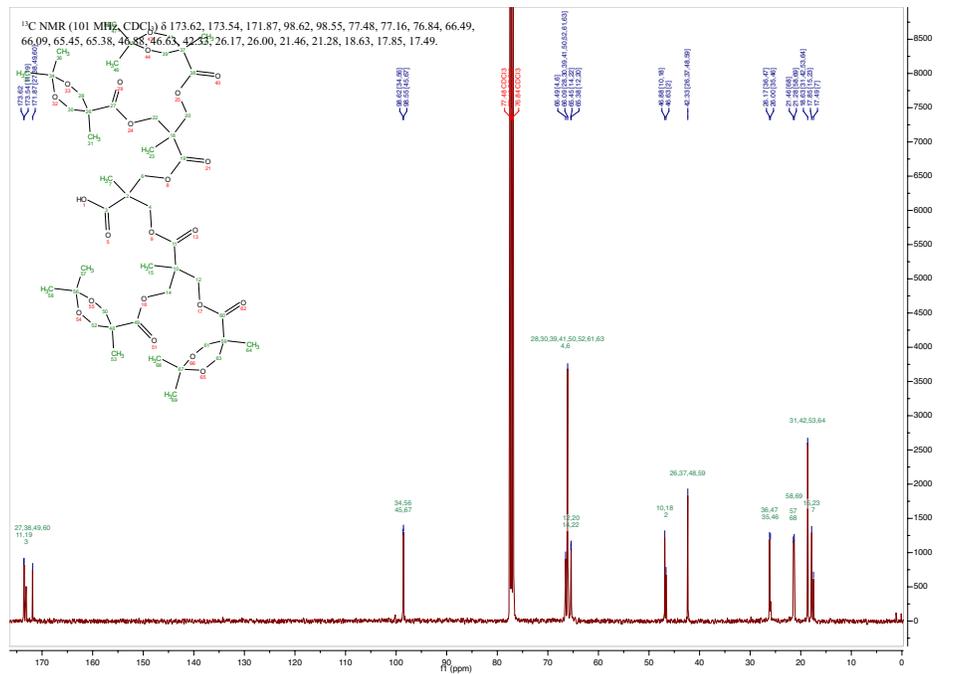


Espectrometría de masas de D2GCO2H

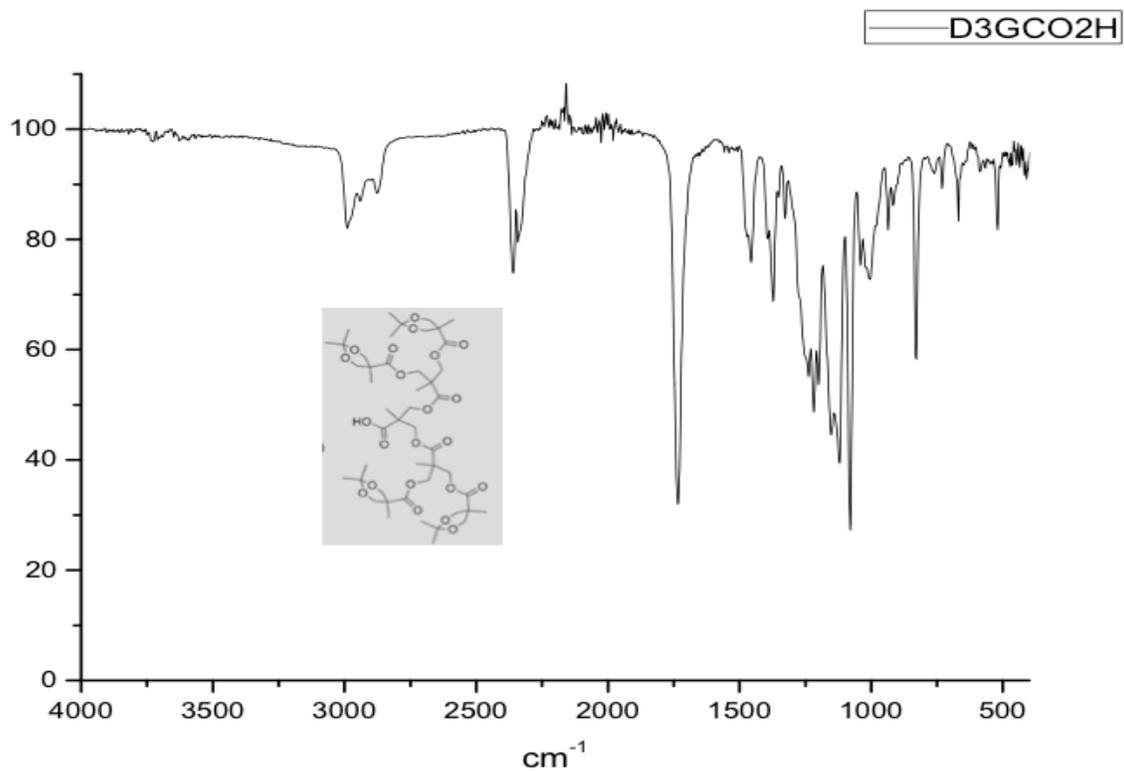
# D3GCO2H



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de D3GCO2H en CDCl<sub>3</sub>



Espectro de RMN <sup>13</sup>C de D3GCO2H en CDCl<sub>3</sub>

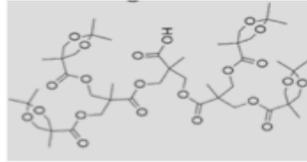
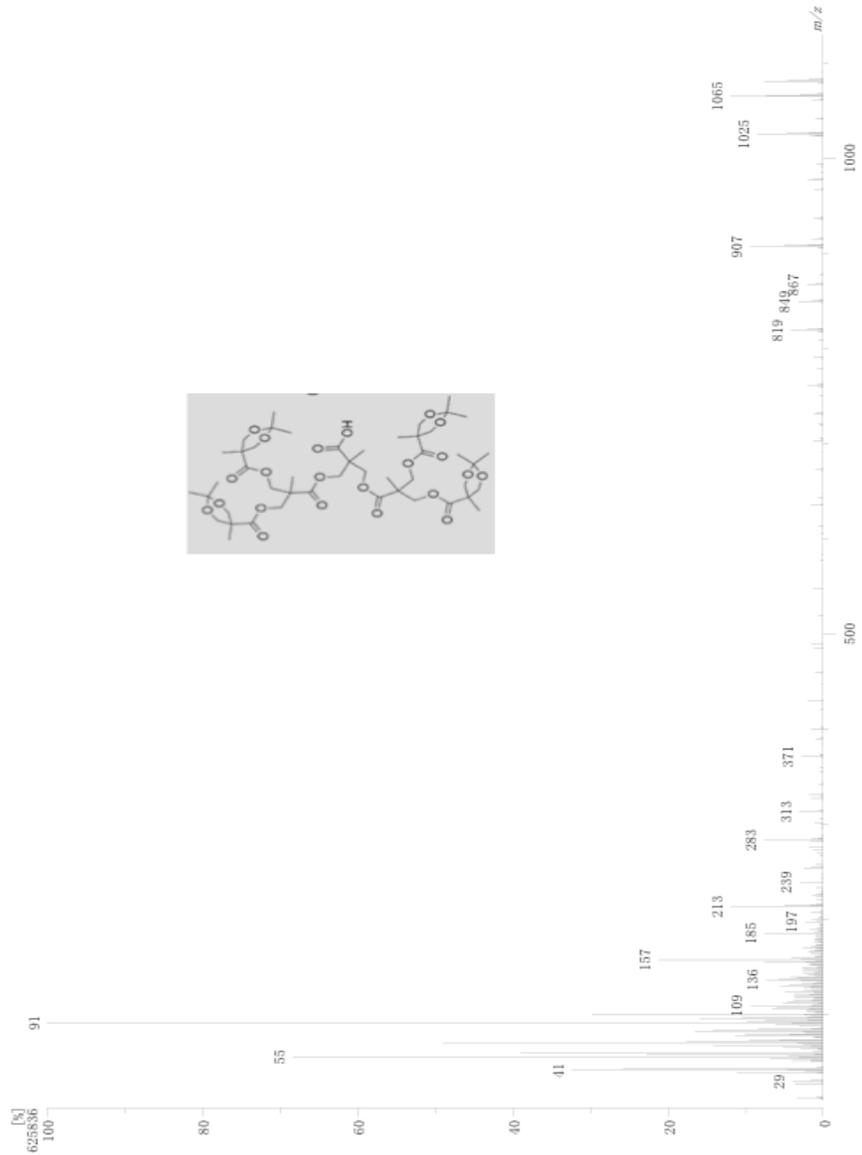


Espectro IR de D3GCO2H

$\text{cm}^{-1}$	Transmitancia	$\text{cm}^{-1}$	Transmitancia
3530	98	1245	44
2983	83	1209	41
2925	85	1112	34
2873	88	998	73
2295*	77	835	60
1749	35	727	83
1510	78		
1383	75		

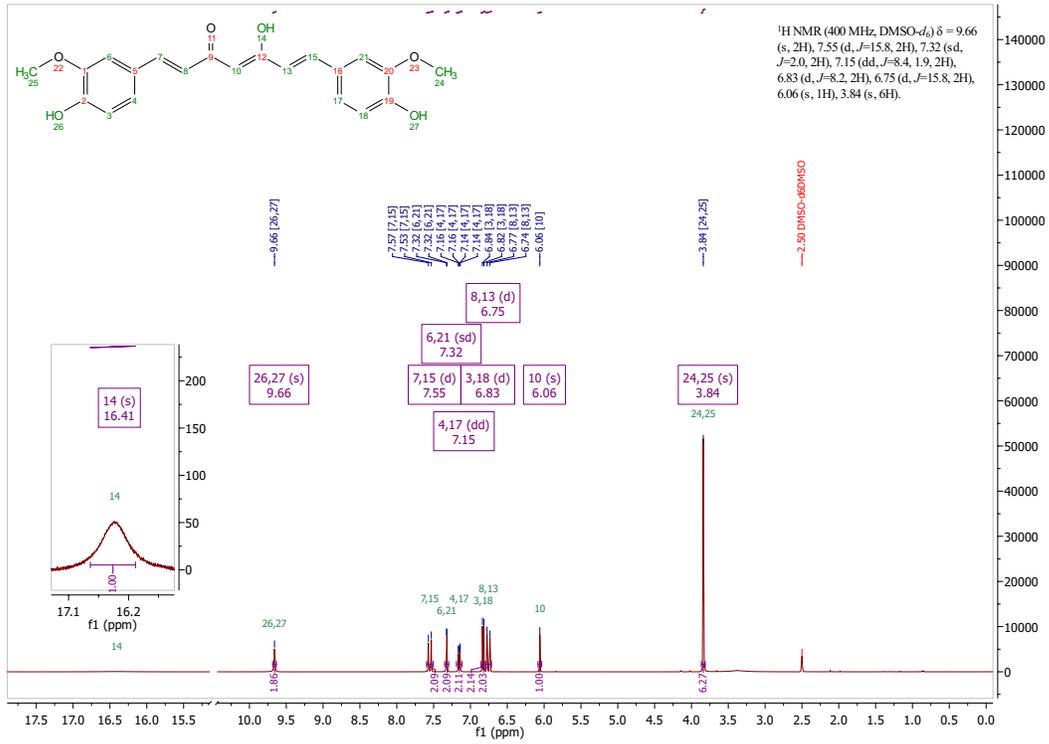
\*CO<sub>2</sub>

[ Mass Spectrum ]  
 Data : Dr Patricia Guadamama074 Date : 21-Mar-2017 13:50  
 Instrument : MSStation  
 Sample : Z5 D3G  
 Name : Luis Velasco  
 Inlet : Direct Ion Mode : FAB+  
 Spectrum Type : Normal Ion [MF+Linear]  
 RT : 0.15 min Scaant : (222)  
 BP : m/z 91 Int : 59.66 (625836)  
 Output m/z range : 10 to 1130 Cut Level : 0.00 %

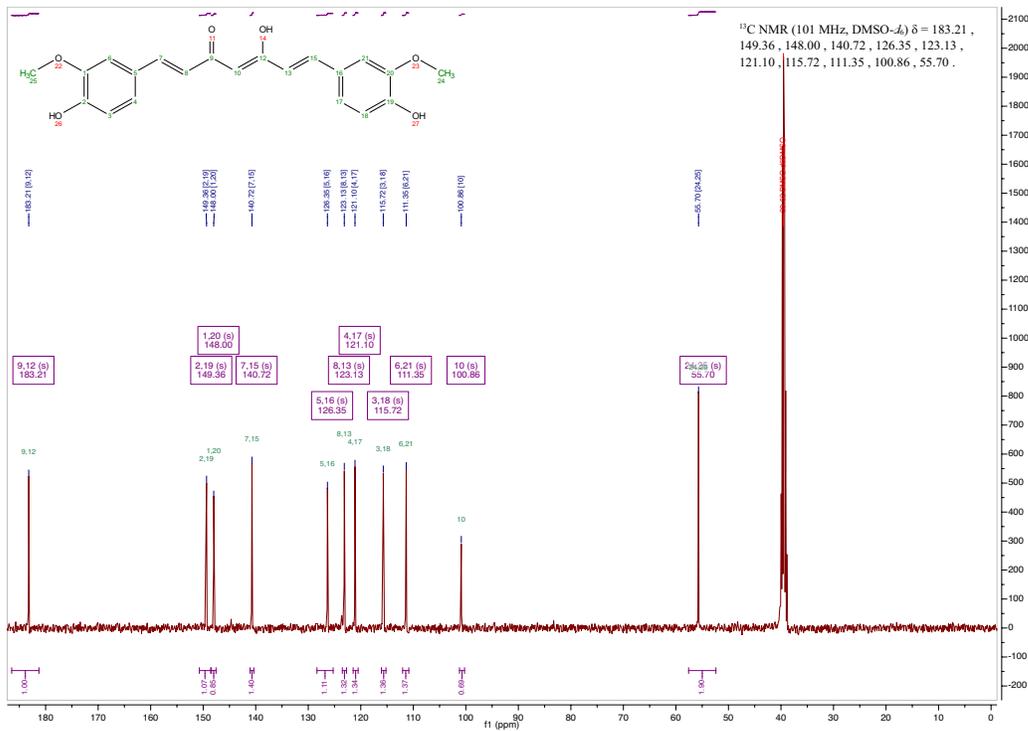


## Espectrometría de masas de D3GCO<sub>2</sub>H por FAB+

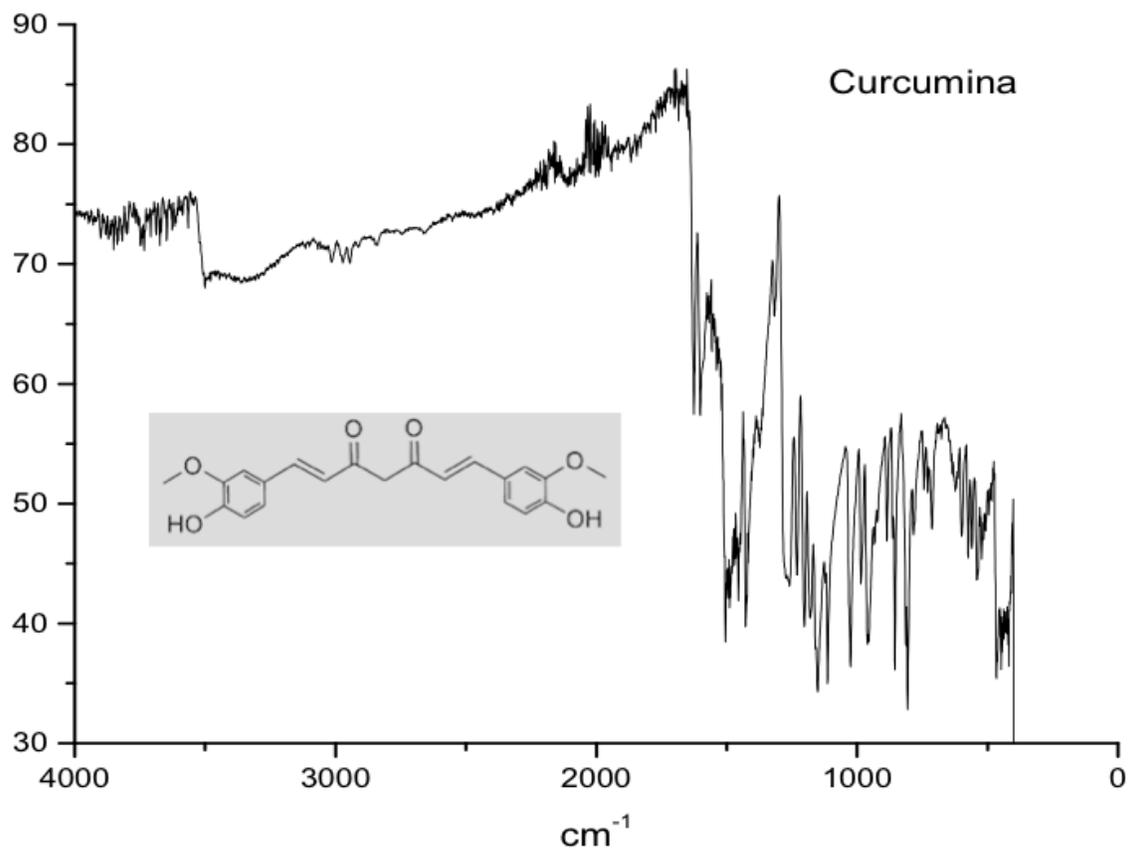
# Curcumina



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de Curcumina en DMSO-d6

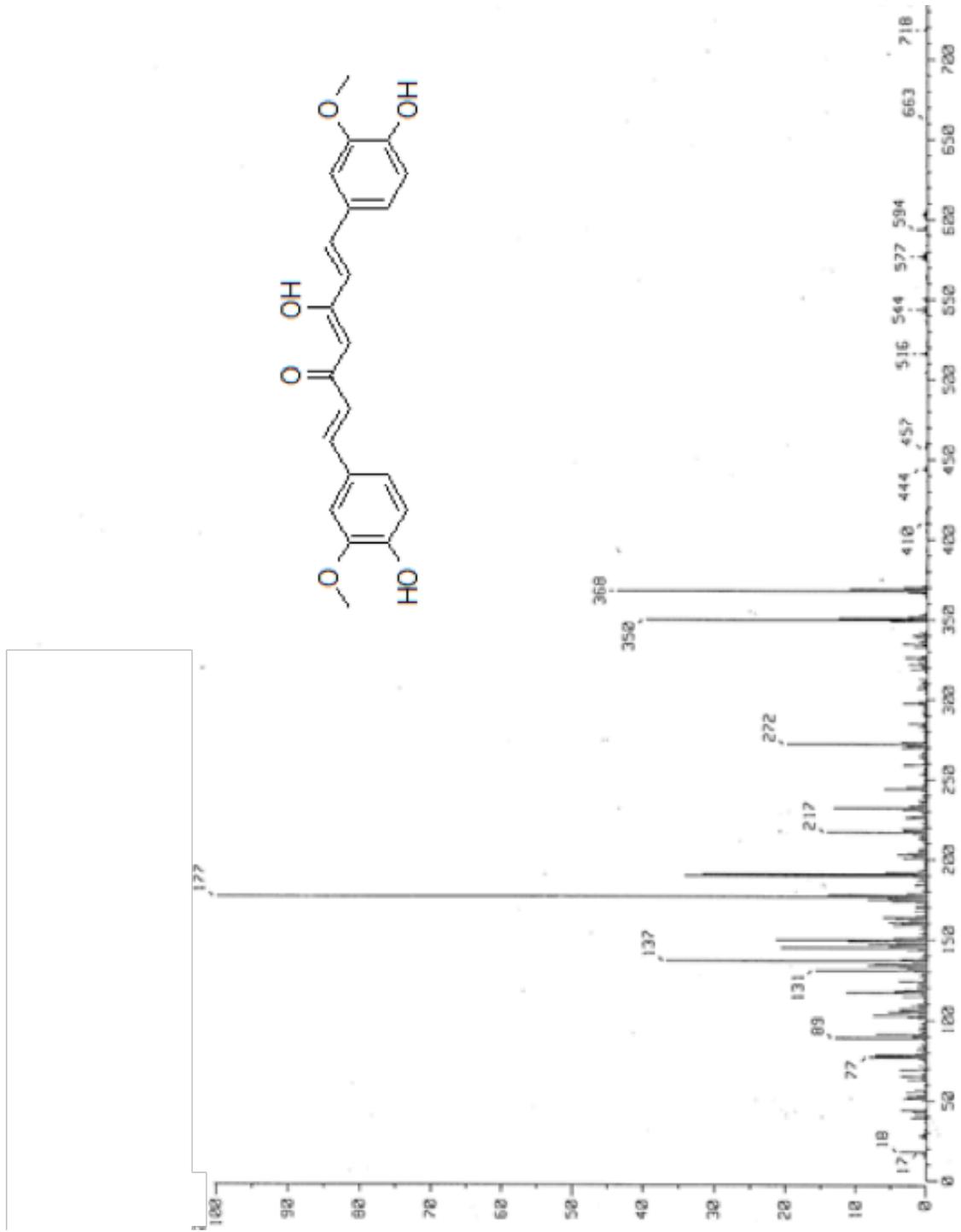


Espectro de RMN <sup>13</sup>C de Curcumina en DMSO-d6



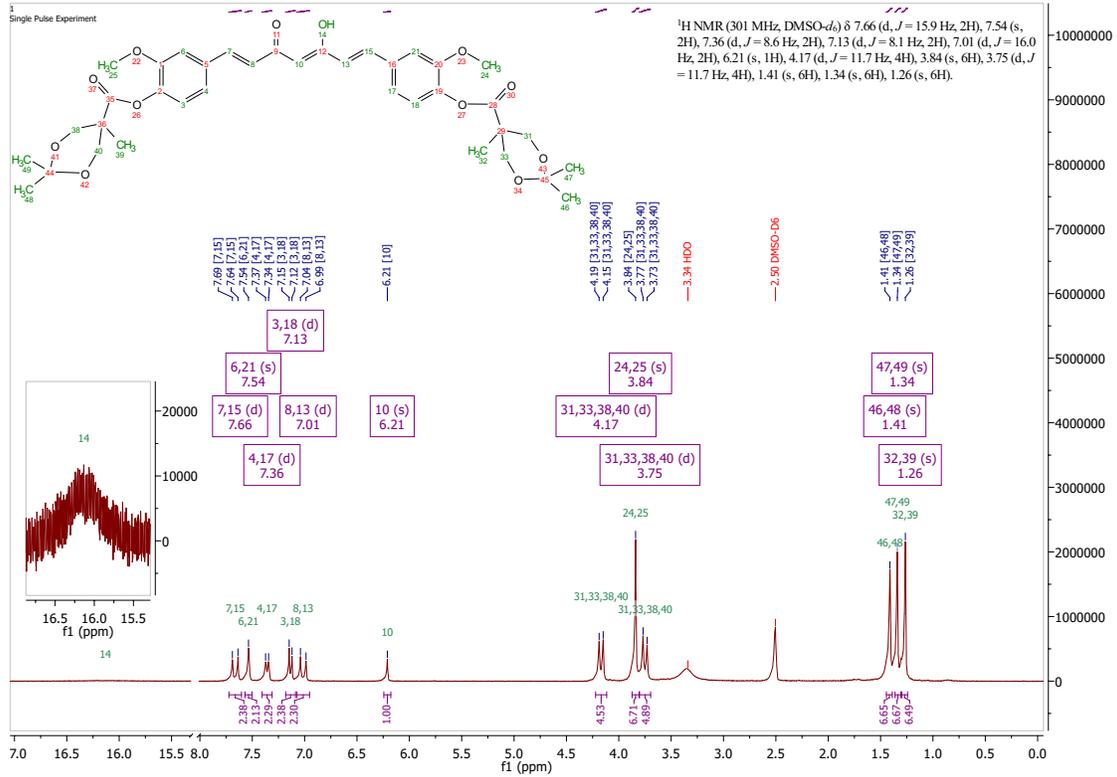
Espectro IR de Curcumina

cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
3502	68	1109	35
3330	68	1020	36
1625	57	985	43
1515	57	958	38
1425	38	882	47
1267	40	862	36
1205	43	813	32
1178	40	717	47
1150	34	532	44

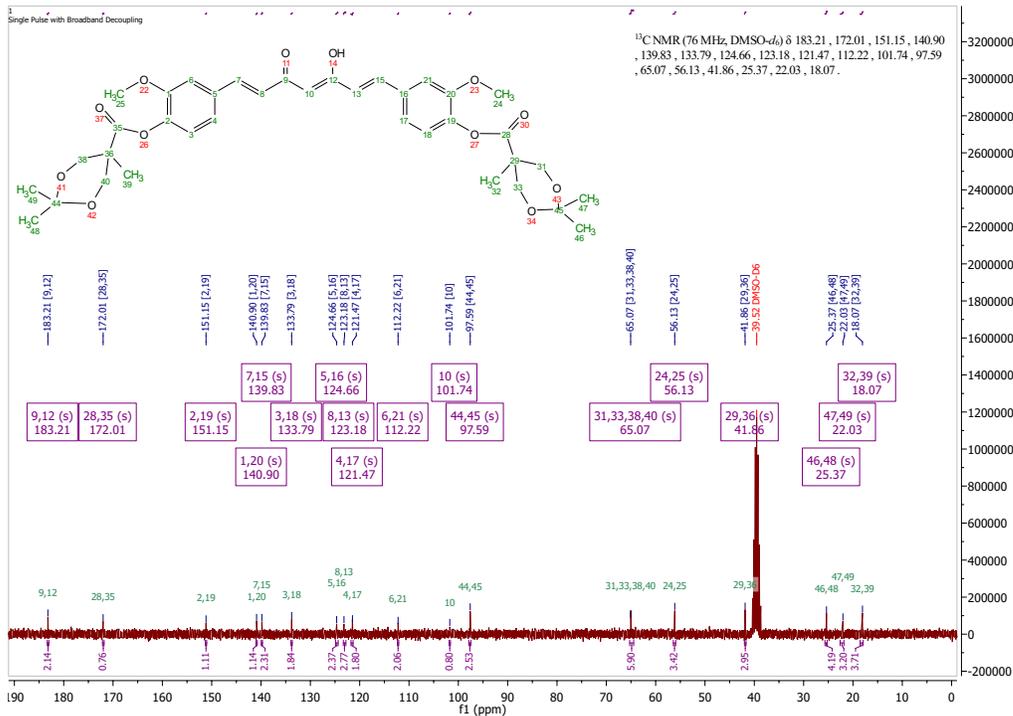


Espectrometría de masas de Curcumina por EI+

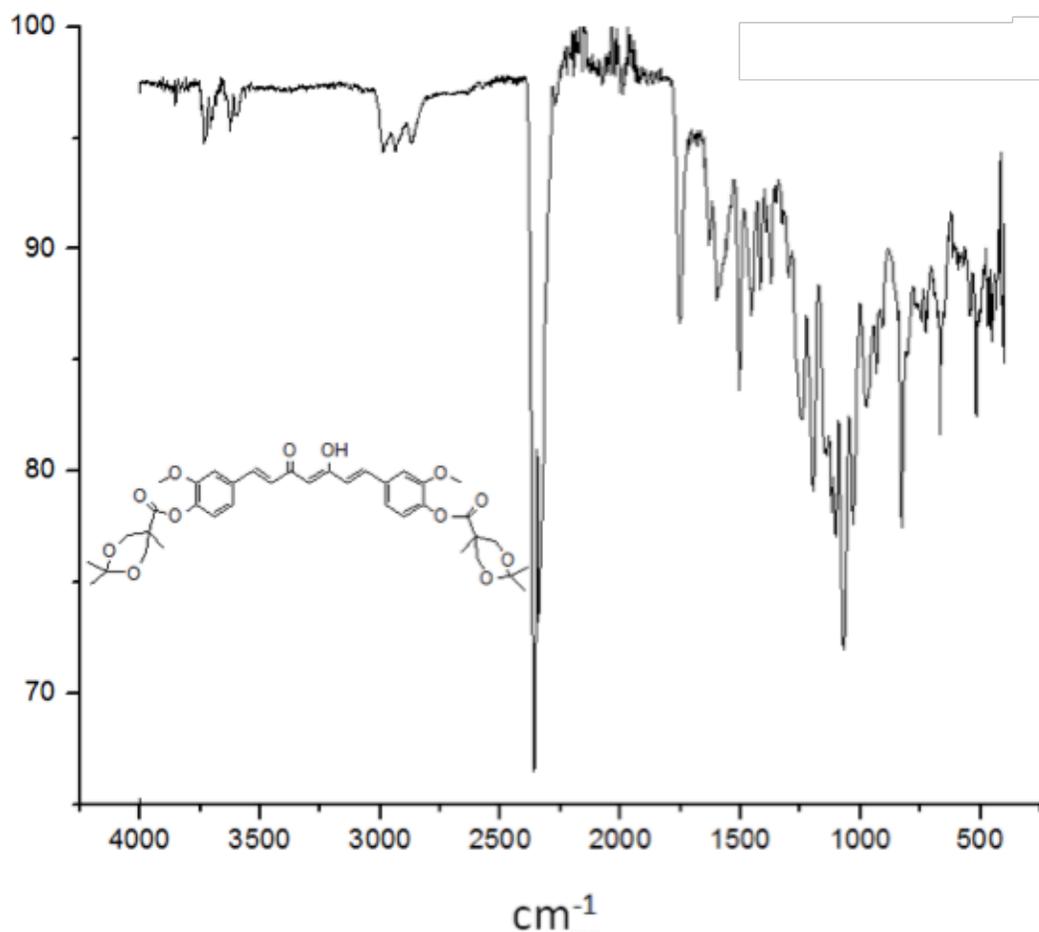
# 1PC1P



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de 1PC1P en DMSO-d6



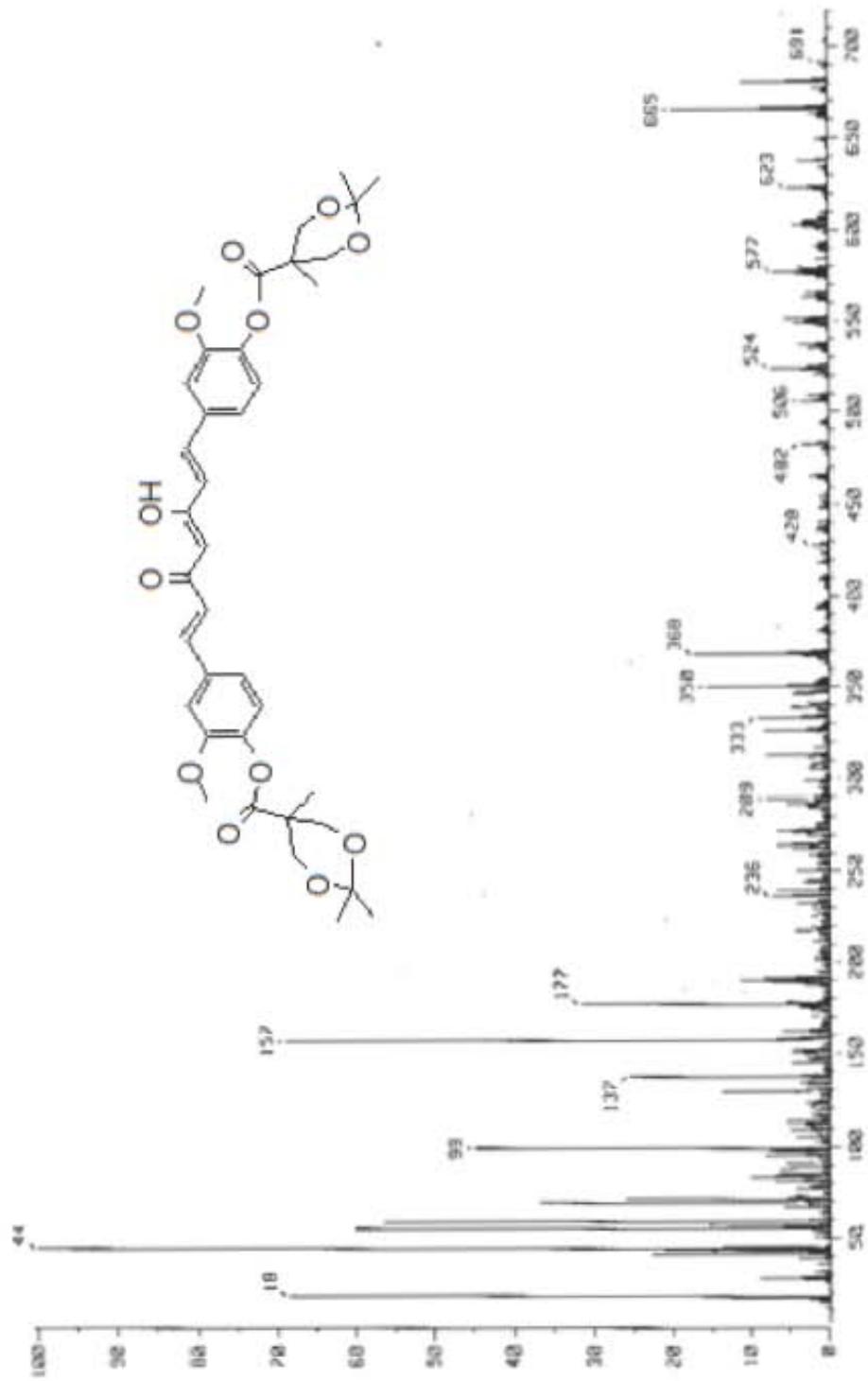
Espectro de RMN <sup>13</sup>C de 1PC1P en DMSO-d6



Espectro IR de 1PC1P

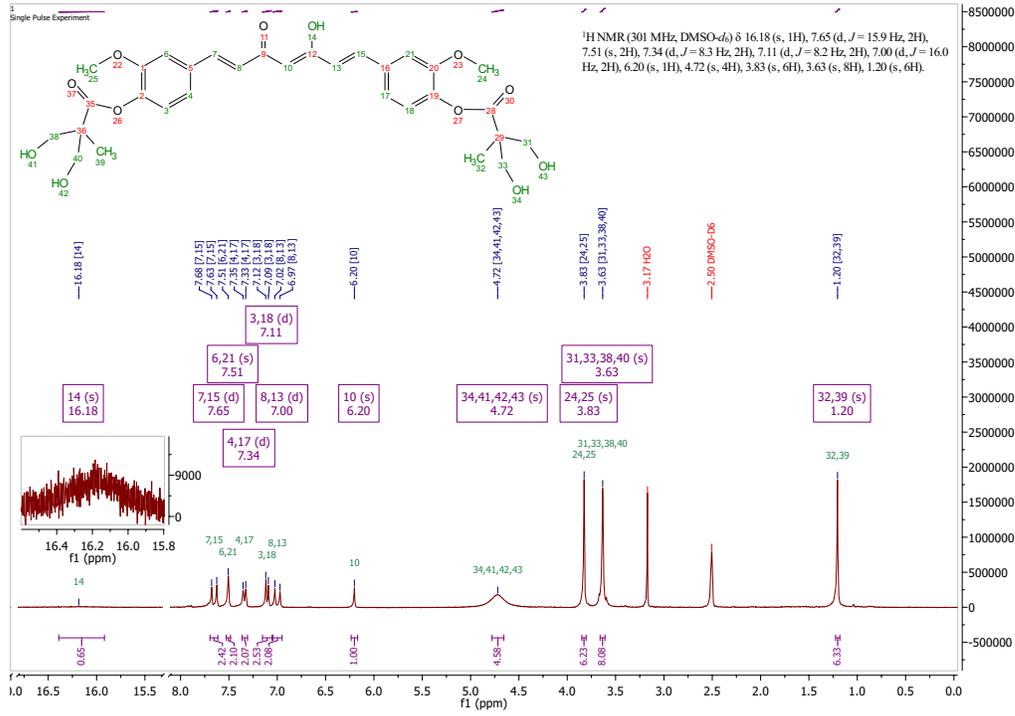
cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
2995	85	1120	55
2942	82	1022	55
1751	81	962	59
1628	71	839	64
1572	68	809	66
1505	59	552	63
1456	67	467	60
1413	68	436	62
1249	62		
2368*	62		

\*CO<sub>2</sub>

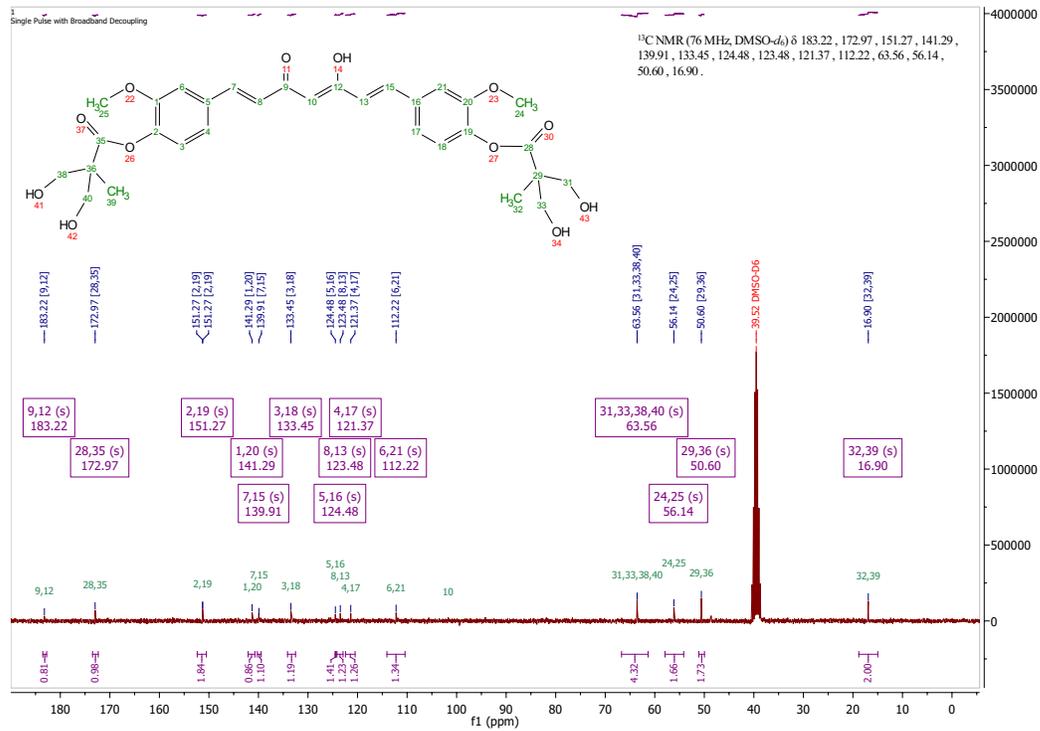


Espectrometría de masas de 1PC1P por EI+

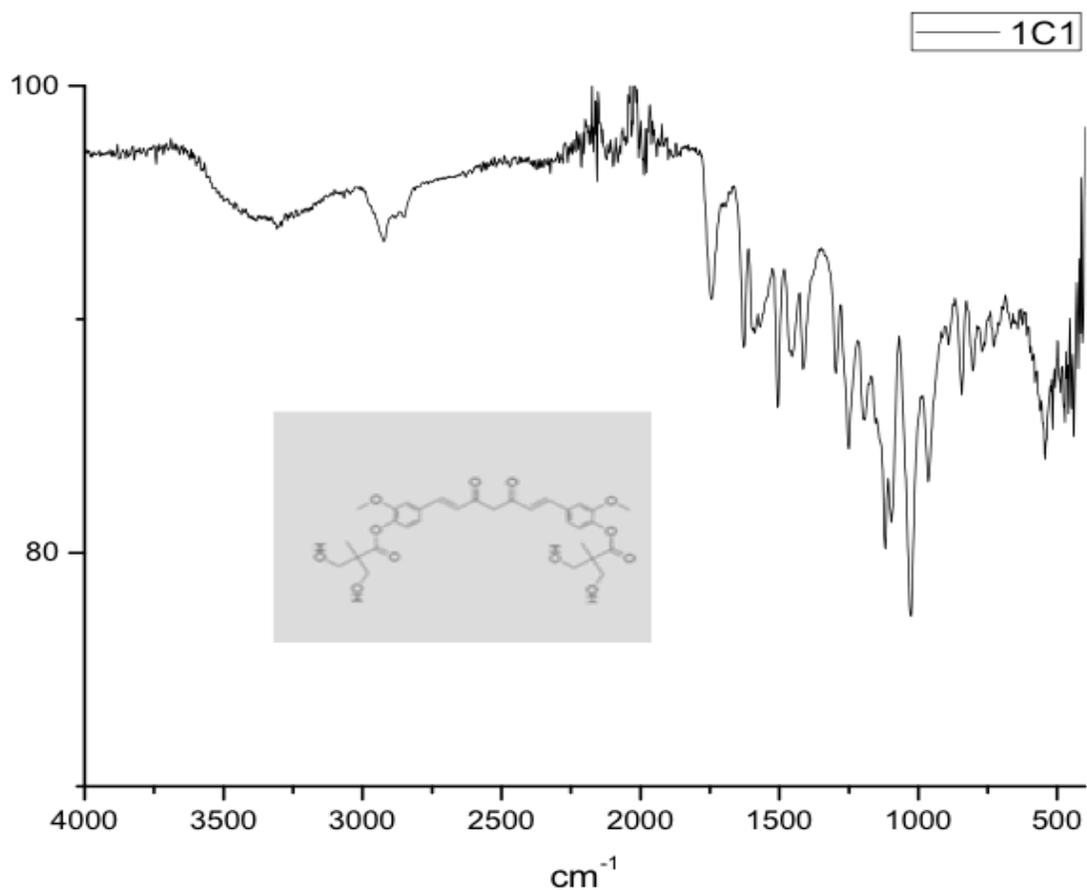
# 1C1



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de 1C1 en DMSO-d<sub>6</sub>

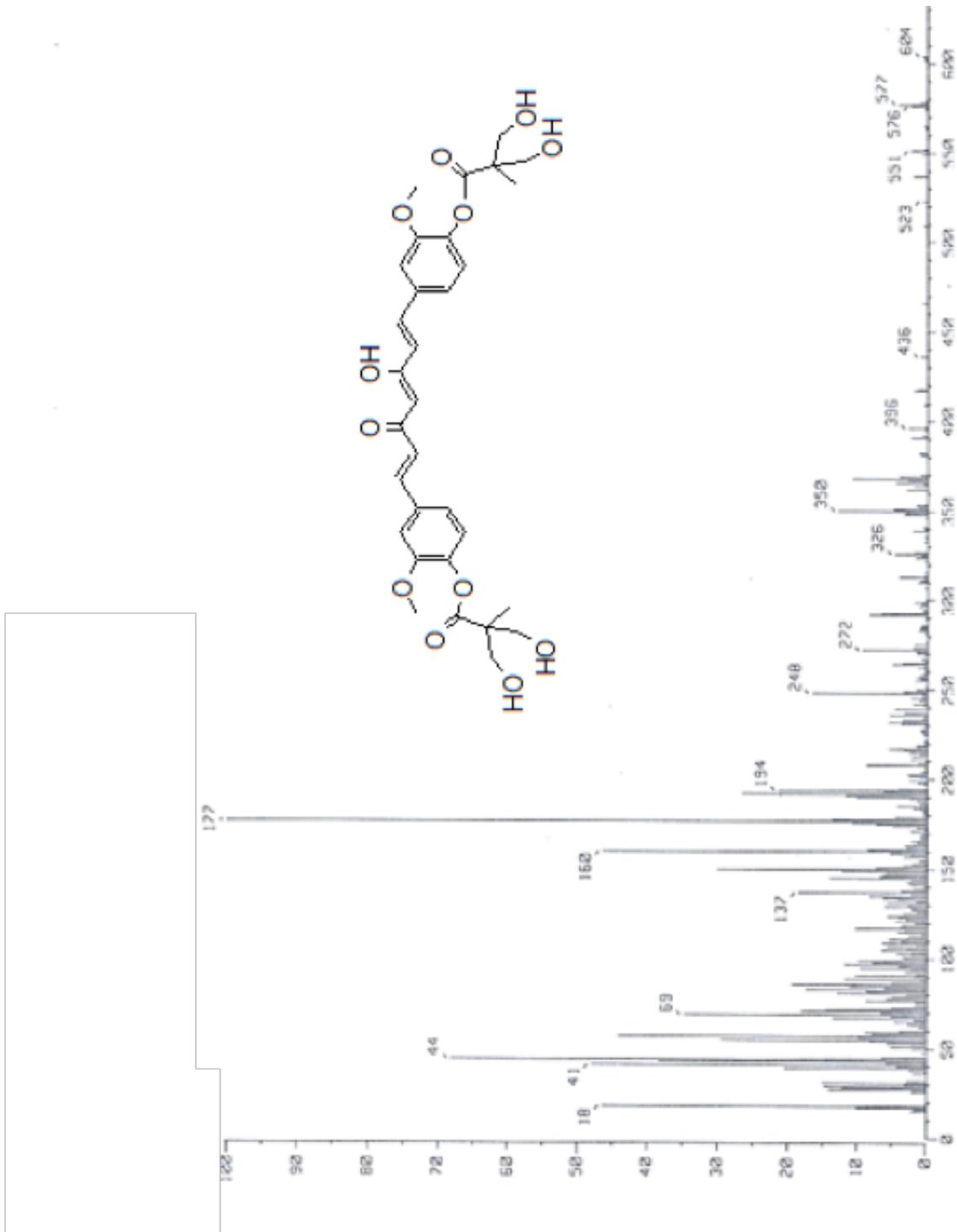


Espectro de RMN <sup>13</sup>C de 1C1 en DMSO-d<sub>6</sub>



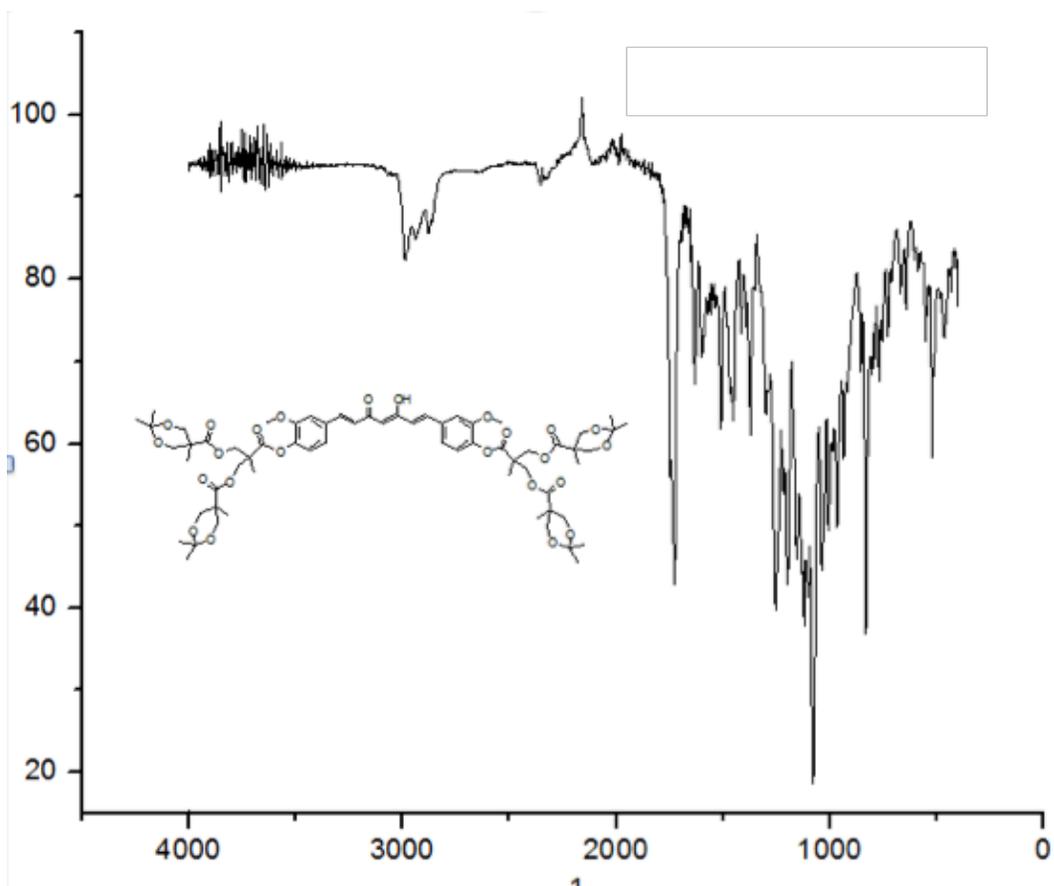
Espectro IR de 1C1

cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
3333	94	1292	87
2918	93	1249	84
2880	94	1194	85
2844	94	1120	80
1745	90	1090	81
1621	88	1029	77
1591	89	962	83
1505	86	839	86
1456	88	803	87
1414	87	546	84



Espectrometría de masas de 1C1 por EI+

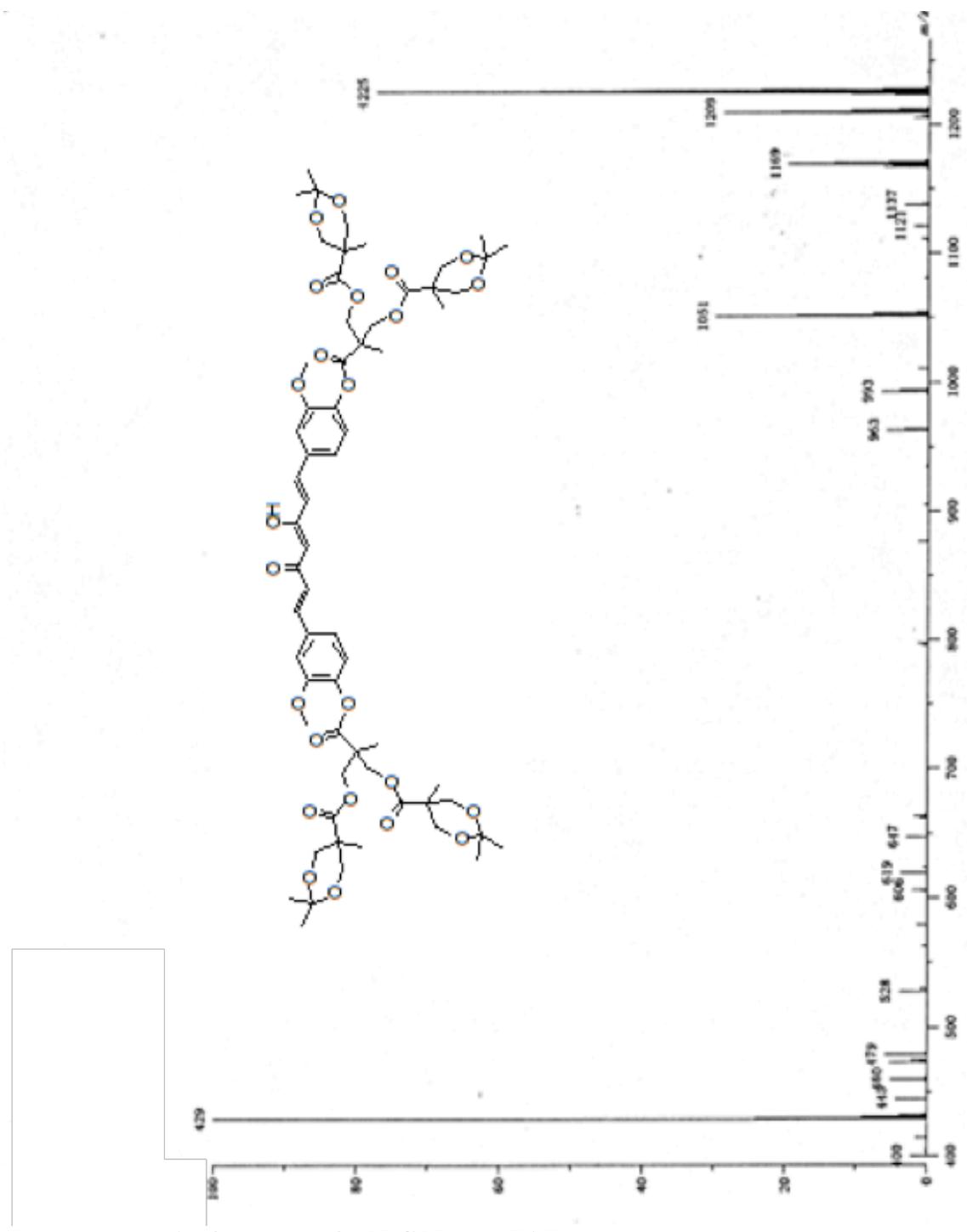




Espectro IR de 2PC2P

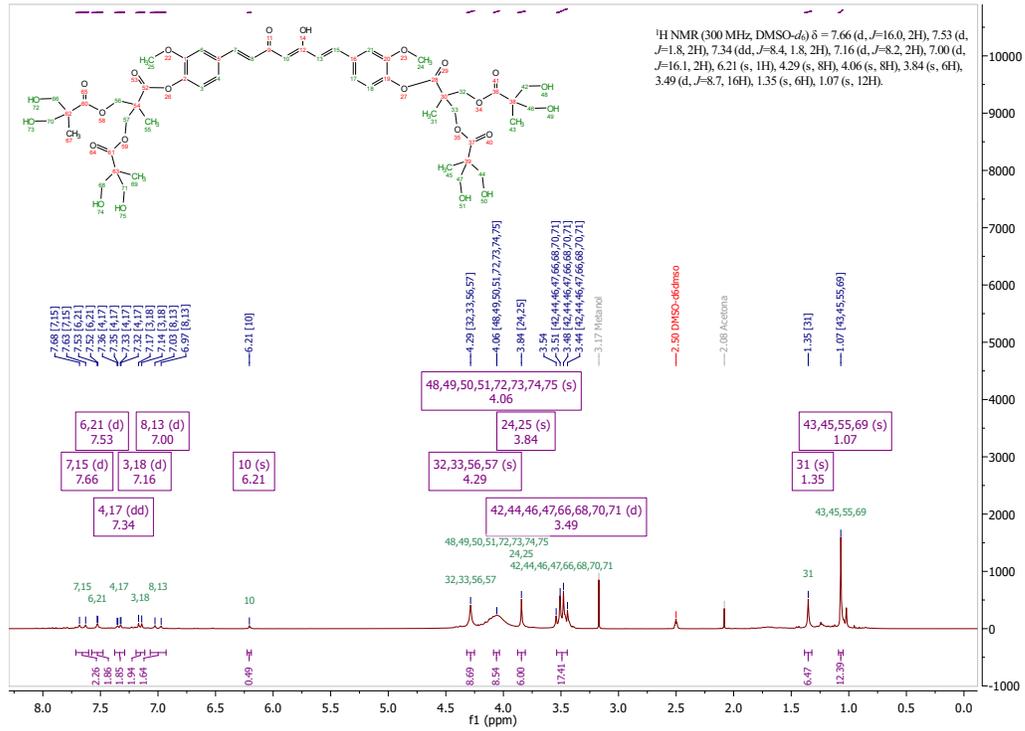
cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
2993	82	1247	39
2945	84	1192	43
2876	85	1130	38
2365*	85	1075	18
1748	56	1033	43
1728	43	1006	50
1632	67	958	50
1597	70	930	58
1515	62	820	37
1460	62	525	58
1377	62		

\*CO<sub>2</sub>

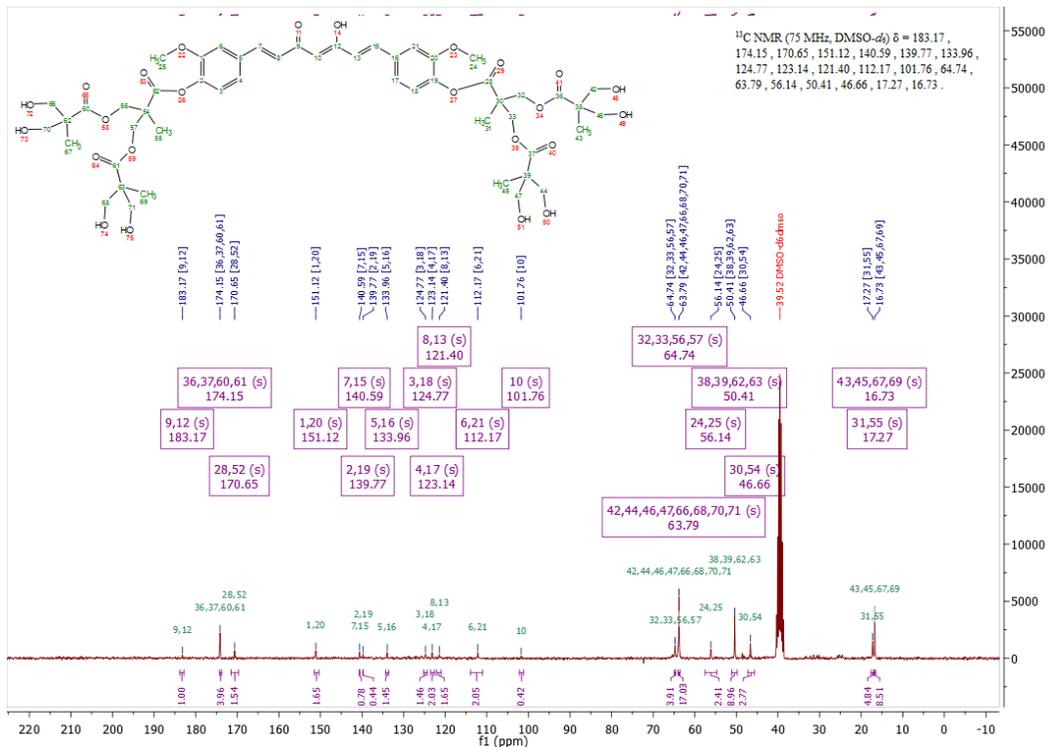


Espectrometría de masas de 2PC2P por FAB+

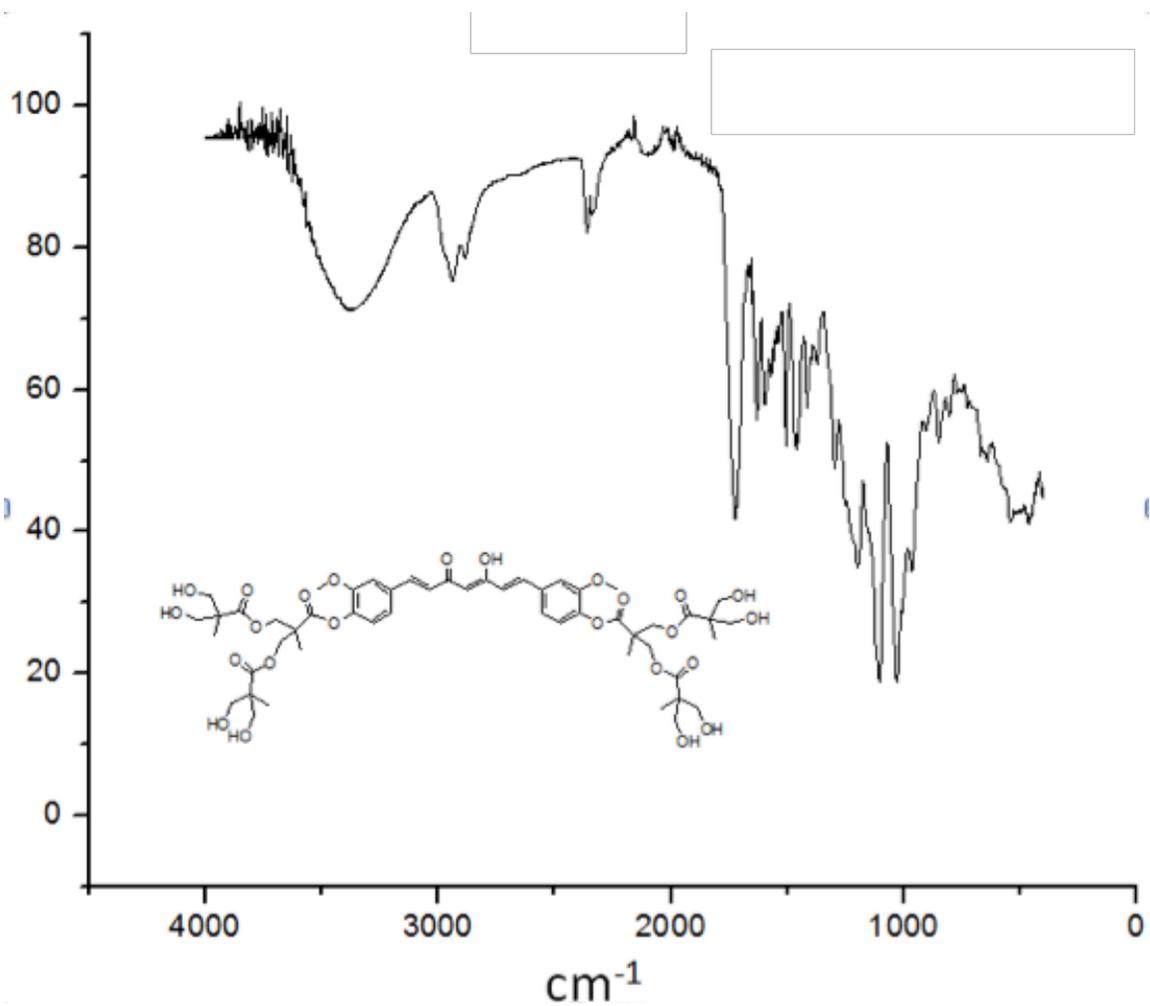
# 2C2



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de 2C2 en DMSO-d6



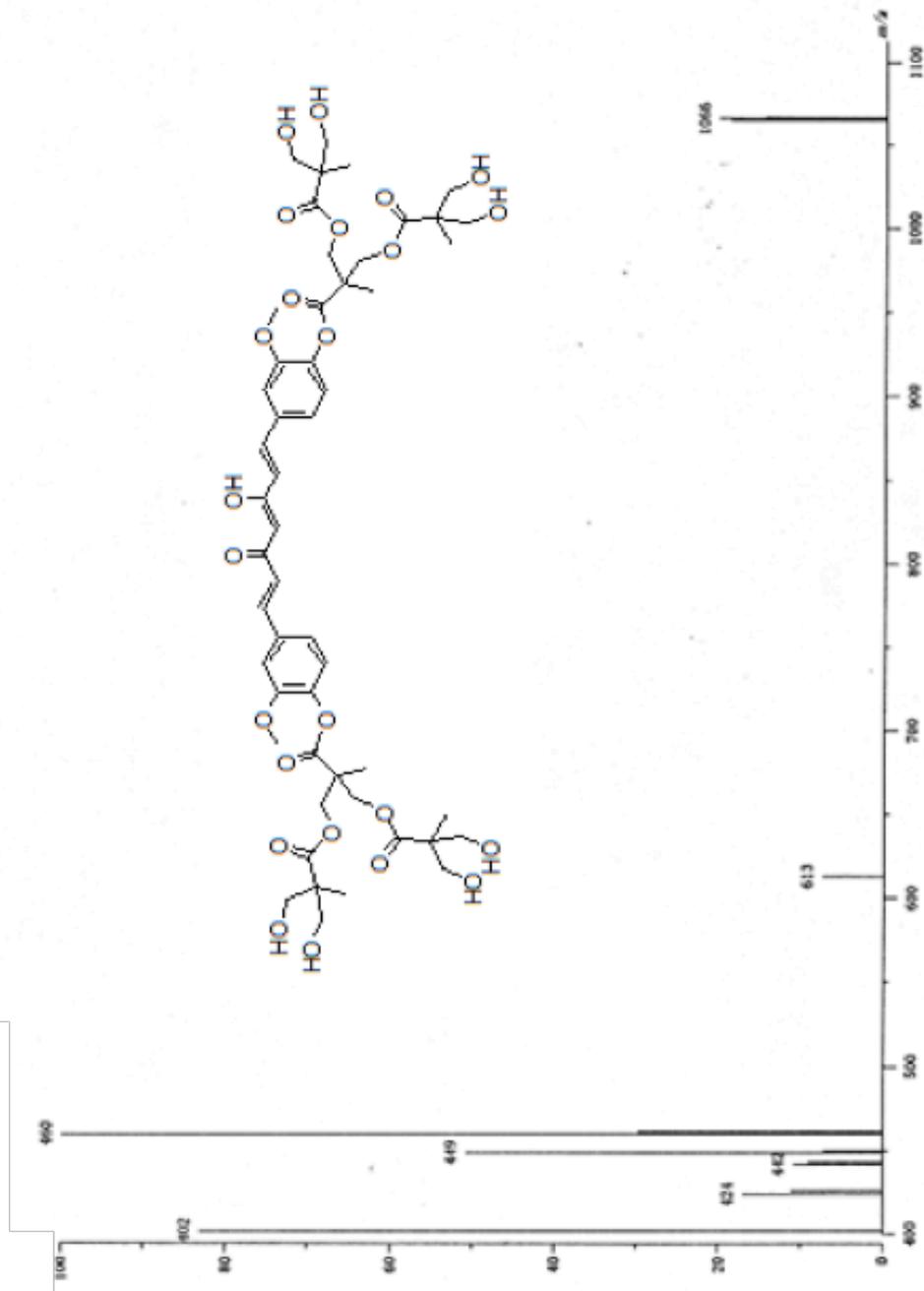
Espectro de RMN <sup>13</sup>C de 2C2 en DMSO-d6



Espectro IR de 2C2

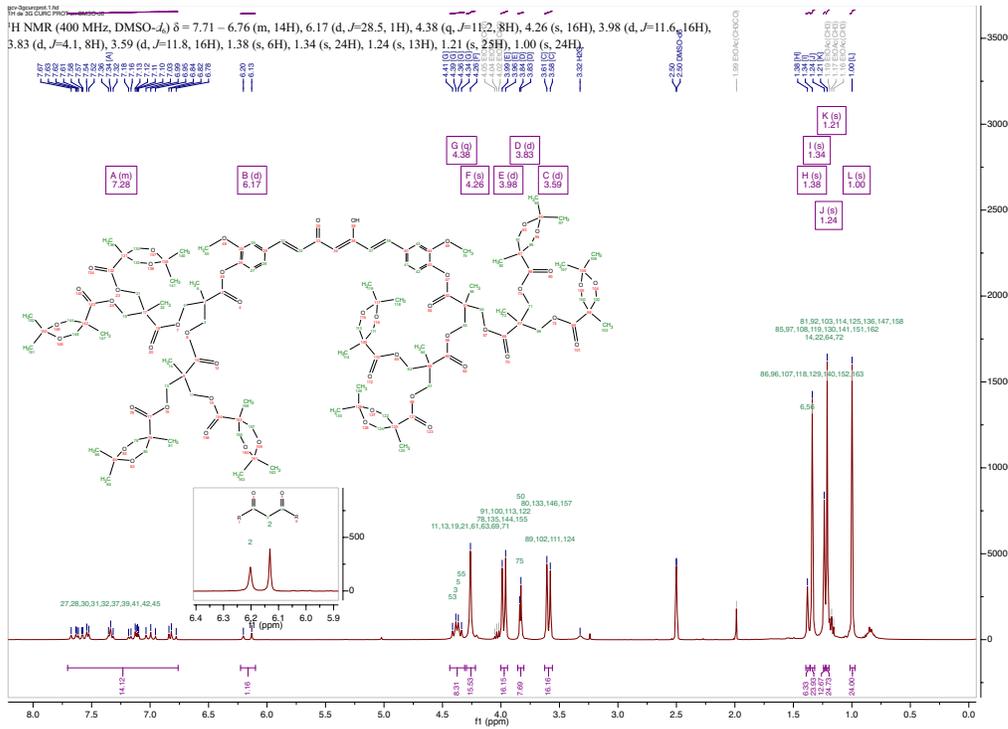
cm <sup>-1</sup>	Transmitancia	cm <sup>-1</sup>	Transmitancia
3378	70	1370	64
2972	78	1295	49
2945	75	1198	34
2885	79	1102	18
1721	41	1020	18
1645	56	965	34
1590	58	848	53
1501	53	807	57
1467	51	648	50
2368*	82		

\*CO<sub>2</sub>

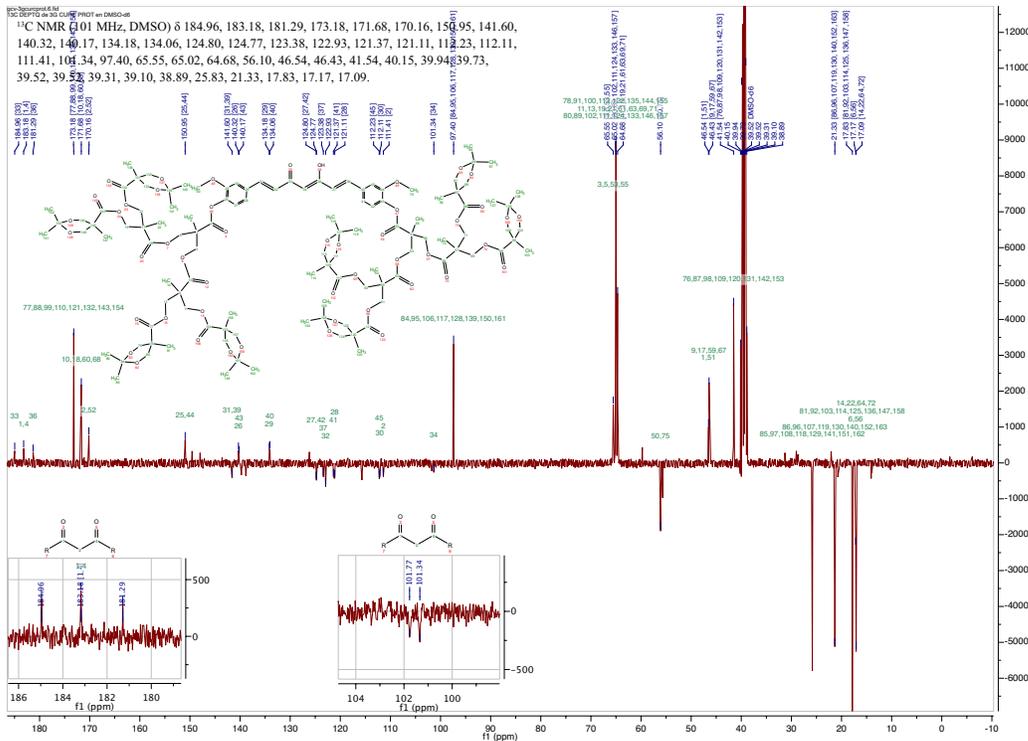


Espectrometría de masas de 2C2 por FAB+

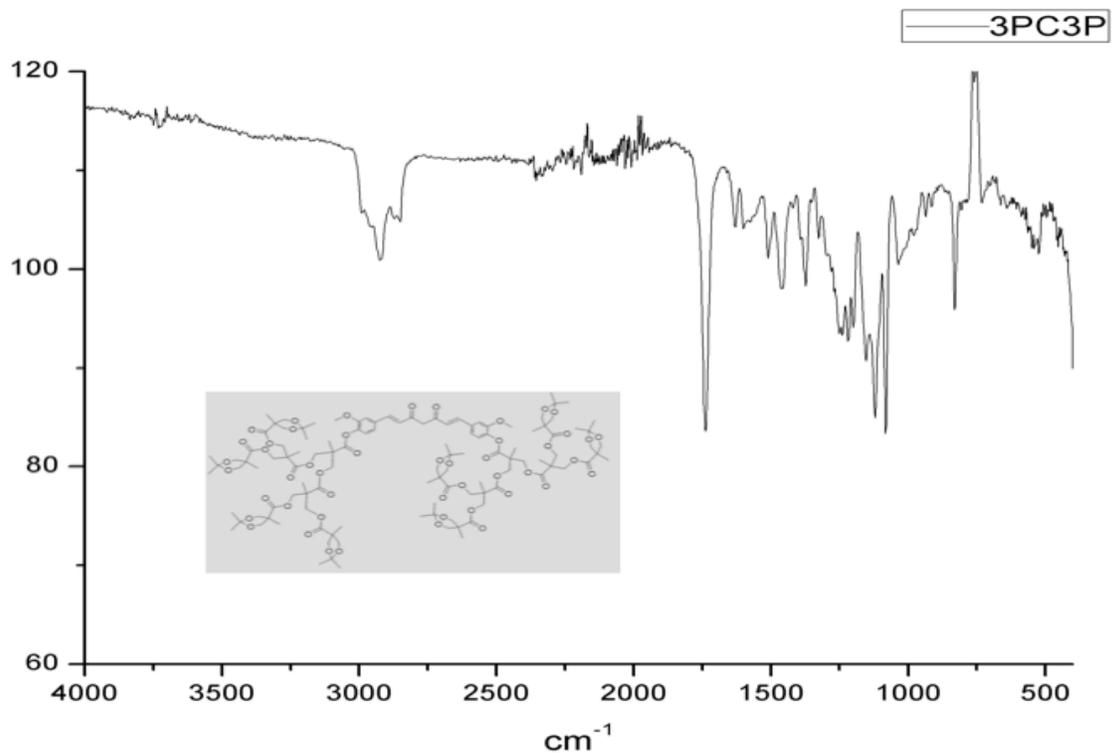
### 3PC3P



Espectro de RMN <sup>1</sup>H de 3PC3P en DMSO-d<sub>6</sub>

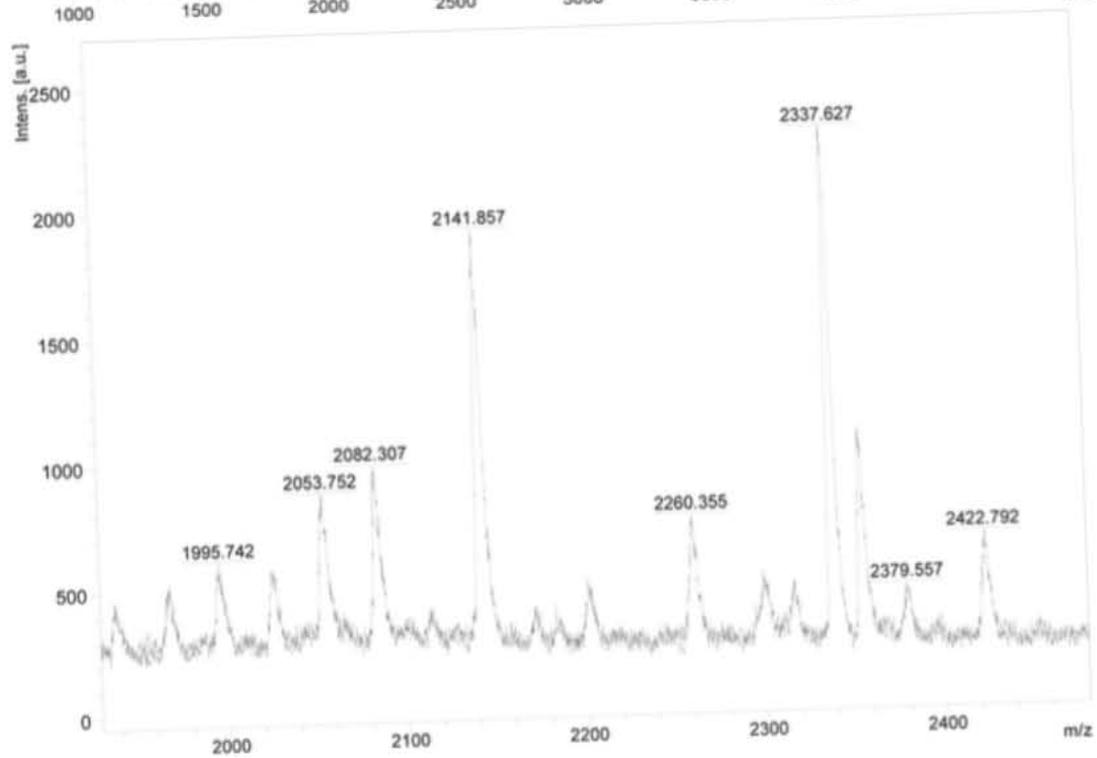
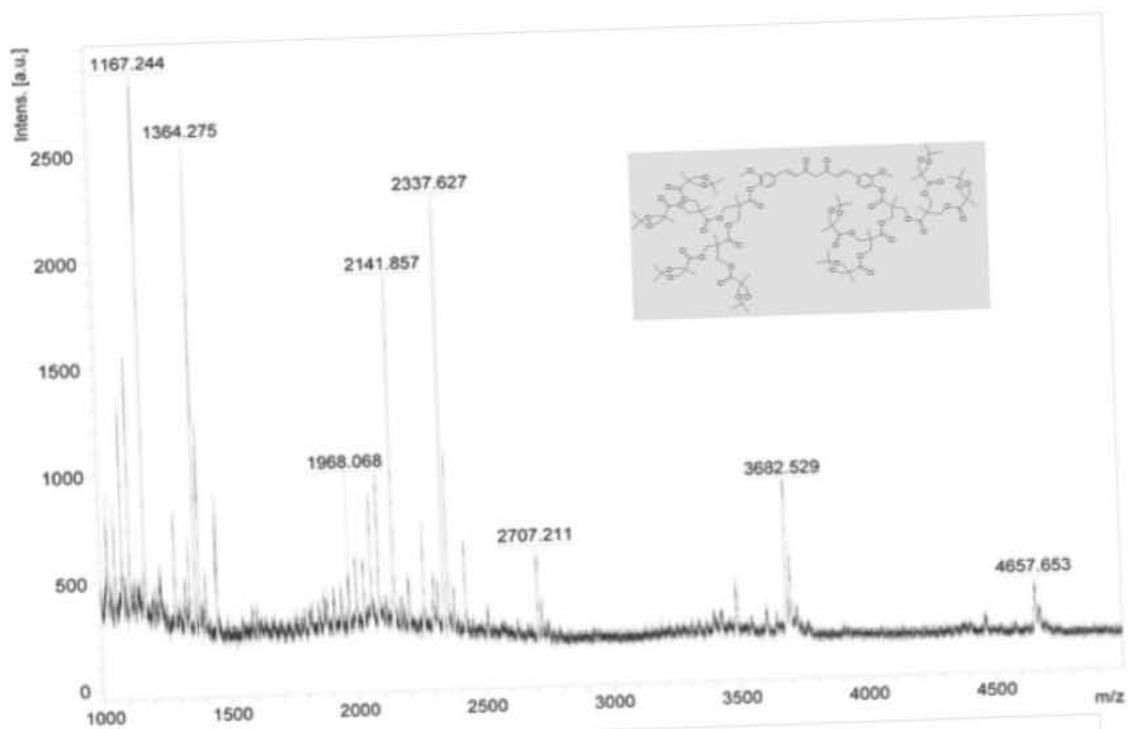


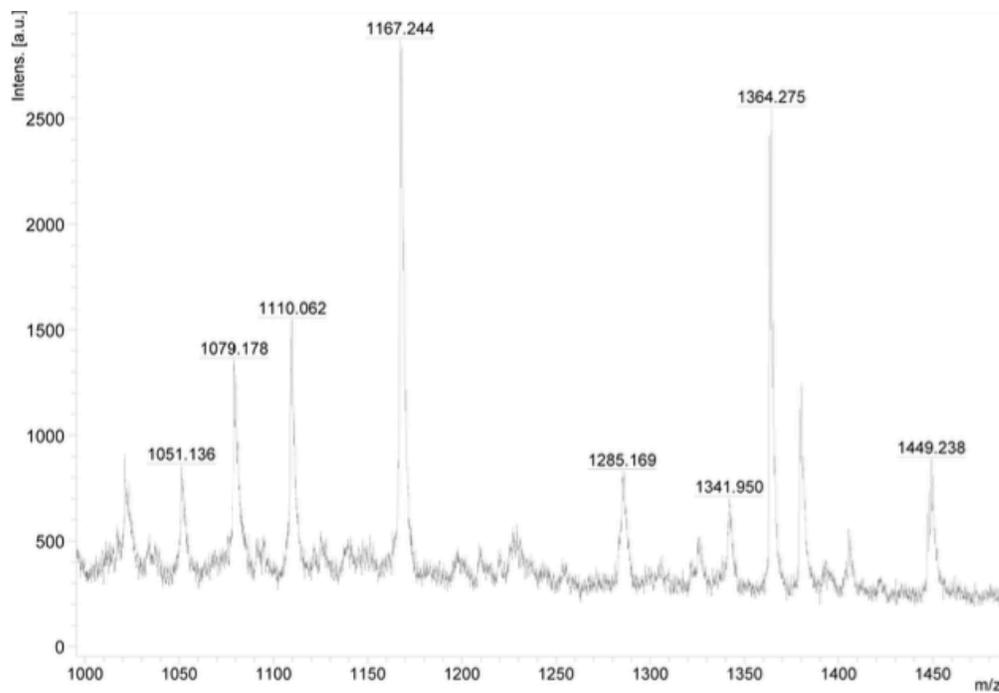
Espectro de RMN <sup>13</sup>C de 3PC3P en DMSO-d<sub>6</sub>



Espectro IR de 3PC3P

$\text{cm}^{-1}$	Transmitancia	$\text{cm}^{-1}$	Transmitancia
2973	105	1373	98
2916	101	1326	103
2850	105	1238	93
1740	83	1217	93
1626	105	1151	1119
1597	104	1080	84
1508	101	829	95
1456	98	521	102





Espectrometría de masas por MALDI-TOF empleando matriz de Dithranol (DIT) en proporción 2/5 muestra matriz