

Estudio comparativo de la síntesis de curcuminoides halogenadas por dos métodos diferentes

Eugenio Torres-Rodríguez, Manuel Almeida-Saavedra, Quirino Arias-Cedeño, Robinson Hermosilla-Espinosa, Christian Vogel.

Universidad de Granma, carretera Bayamo-Manzanillo kilómetro 17^{1/2}, Peralejo, Apartado Postal 21, Código Postal 85100, Granma, Cuba etorresrodriguez@udg.co.cu y *Christian Vogel*. Universidad de Rostock, Alemania.

Recibido: 13 de marzo de 2013. Aceptado: 10 de septiembre de 2013.

Palabras clave: curcuminoides, síntesis orgánica, condensación aldólica, microondas, ultrasonido
Key words: curcuminoids, organic synthesis, aldol condensation, microwaves, ultrasound

RESUMEN. Los curcuminoides son heptatrienonas naturales o sintéticas de gran interés biológico por su potencial empleo como anticancerígenos, anti VIH y antioxidantes. En el laboratorio, estos compuestos se obtienen mediante la condensación de aldehídos aromáticos y acetilacetona. En este trabajo, se describe un estudio comparativo de la síntesis de cuatro nuevos curcuminoides, mediante condensación de aldehídos aromáticos halogenados y acetilacetona por dos métodos diferentes. En el método A, la mezcla de reacción se agita en dimetilformamida durante 4 h, a 85 °C, con rendimientos entre 9 y 14 %. Cuando la reacción es asistida por microondas (método B), no se emplea disolvente, el tiempo de reacción es solo de un minuto, al tratar la mezcla de reacción con ultrasonido se facilita considerablemente el aislamiento del producto por ruptura del complejo-boro-curcuminóide a temperatura ambiente sin necesidad de emplear condiciones ácidas y se logran rendimientos entre 36 y 48 %. El método B, resultó operacionalmente más simple, presenta ventajas económicas y ecológicas, que lo hacen un procedimiento atractivo para la síntesis de curcuminoides. Todos los compuestos sintetizados fueron caracterizados inequívocamente mediante espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN¹-H), análisis elemental cuantitativo y Espectrometría de Masas de Alta Resolución. En el espectro RMN¹-H de cada uno de los compuestos aparece un singuleto sobre 16 ppm correspondiente al protón hidróxílico del grupo OH enólico, lo que demuestra que en estas estructuras la forma enólica es la más favorecida.

ABSTRACT. Curcuminoids are natural or synthetic heptatrienones with a great biological interest due to their potential employment as anticancer, anti HIV and antioxidant agents. In laboratory, these compounds are obtained by means of aromatic aldehydes and acetylacetone condensation. In this work, a comparative study of the four new curcuminoids synthesis is described by condensation of halogenated aromatic aldehydes and acetylacetone with two different methods. In the method A, the reaction mixture is developed in dimethylformamide during 4 h, at 85 °C and 9-14 % of the final products were obtained. When the reaction was assisted by microwave. In the method B solvent was not used, the reaction time was just one minute and, the treatment of the reaction mixture with ultrasound facilitates considerably the isolation of the product by rupture of the complex-boron-curcuminóide at room temperature without using of acid conditions so that, the yield was achieved between 36 to 48 %. The method B was operationally simpler, showing economic and ecological advantages, which make it an attractive procedure for the synthesis of curcuminoids. All the synthesized compounds were characterized unequivocally by means of Nuclear Magnetic Resonance (NMR¹-H) spectroscopy, quantitative elementary analysis and High Resolution Masse Spectrometry. In the spectrum RMN¹-H of each one of compounds a singlet appears on 16 ppm corresponding to the hydroxylic proton from OH - enol group, which demonstrates that in these structures, the enol form is the most favoured.

INTRODUCCION

Diversas reacciones orgánicas necesitan energía en forma de calor para producirse, muchas veces las formas de transmisión de calor son ineficientes y provocan que las reacciones sean lentas, lo que origina la descomposición de reaccionantes y productos. Por otra parte, el calentamiento mediante microondas es más eficiente y rápido, ya que la radiación electromagnética pasa a través de las paredes del recipiente de reacción calentando solo a los reactivos y productos obtenidos.^{1,2}

Asimismo, el uso del ultrasonido le ofrece al químico sintético un método alternativo de activación química que tiene amplias aplicaciones en síntesis orgánica, al facilitar el desarrollo de reacciones en fase heterogénea, disminuir los tiempos de reacción y limitar por tanto la formación de productos colaterales.^{3,4}

La combinación de estas dos tecnologías permite la obtención de compuestos químicos a través de procedimientos ambientalmente más sostenibles y económicos.

Una de las reacciones orgánicas clásicas que permite la formación de enlaces C-C es la condensación, mediante ella se pueden construir, por ejemplo, las estructuras complejas de algunos fármacos. Cuando la condensación se realiza a partir de compuestos carbonílicos se denomina condensación aldólica.^{5,6} Compuestos análogos a productos naturales como los curcuminoides son obtenidos por condensación de aldehídos aromáticos y acetilacetona.⁷⁻¹¹ Estos compuestos han ganado importancia y actualidad por la potencialidad que presentan sus propiedades biológicas para tratar el cáncer,^{12,13} la enfermedad de Alzheimer,¹⁴ el SIDA,¹⁵ las inflamaciones crónicas¹⁴ y el estrés oxidativo.¹⁶ Sin embargo, la obtención de estos compuestos no siempre es factible. Este trabajo se propuso estudiar comparativamente la síntesis de cuatro nuevos curcuminoides halogenados, mediante condensación de aldehídos aromáticos y acetilacetona por dos métodos diferentes síntesis asistida por microondas y ultrasonido de curcuminoides halogenados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos de las firmas y disolventes empleados fueron de calidad puros o analíticos Merck y Sigma-Aldrich. Las reacciones fueron desarrolladas en un horno de microondas, modelo MDS-81D, provisto de controles de presión y temperatura.

La purificación de los productos se realizó por cromatografía de columna de gel de sílice 60 (Merck), como fase móvil se usó éter de petróleo-acetato de etilo (30 : 1). Los espectros RMN-¹H (500 y 300 MHz) y RMN-¹³C (75 y 62 MHz) fueron obtenidos en equipos AC 250, ARX 300 y AVANCE 500 a 20 °C. Las señales en los espectros ¹³C se asignaron con ayuda de experimentos DEPT, COSY y HSQC. Los espectros de masas de alta resolución se registraron en un espectrómetro INTECTRA GmbH, modelo AMD-402/3, mediante las técnicas de ionización por aerosol y nebulizador. El avance de la reacción se evaluó mediante cromatografía de capa fina en cromatofolios y éter de petróleo-acetato de etilo (30 : 1) como fase móvil.

Método A

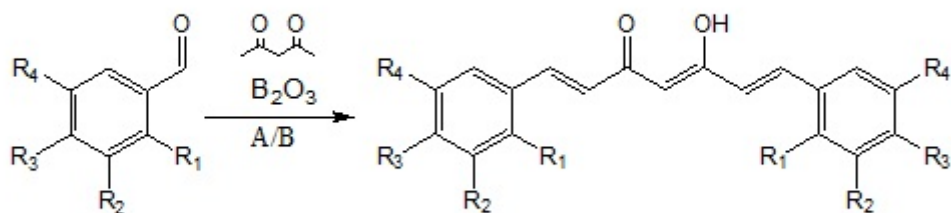
Cinco milimoles (0,51 mL) de acetilacetona fueron añadidos a una disolución de óxido de boro (5,0 mmol; 0,35 g) en (DMF) (2 mL). Posteriormente, se adicionó borato de tributilo (10 mmol, 2,7 mL) y la mezcla fue agitada a 65 °C, durante 15 min. A continuación, se añadieron (10 mmol) del aldehído correspondiente, (1,15 mmol; 0,1 mL) de morfolina y (3,49 mmol; 0,2 mL) ácido acético, la mezcla de reacción fue agitada a 85 °C en un baño de aceite, durante 4 h. Después de enfriar a 25 °C, se adicionaron 50 mL de ácido acético al 20 % y se agitó a 65 °C durante una hora. La mezcla de reacción fue extraída con CHCl₃ (50 mL x 3). La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ y concentrada. Los productos fueron purificados mediante cromatografía de columna (éter de petróleo-acetato de etilo en proporción (30 : 1)

Método B

En un balón de 50 mL se mezcló acetilacetona (5,0 mmol; 0,51 mL) con óxido de boro (5,0 mmol; 0,35 g). Posteriormente, se adicionó morfolina (1,15 mmol; 0,1 mL) y ácido acético (3,49 mmol; 0,2 mL), la mezcla de reacción fue irradiada con microondas a una potencia de 900 W durante un minuto. El sólido formado fue disuelto en MeOH (30 mL) y sometido a ultrasonido durante 20 min. Para romper el complejo de boro, con lo que se obtuvo un polvo amarillo que fue purificado por recristalización en etanol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existe gran cantidad de artículos relacionados con la síntesis de curcuminoides, sin embargo, hay pocos reportes sobre la obtención de curcuminoides halogenados. En la mayoría de los métodos reportados para la síntesis de curcuminoides,⁷⁻¹¹ la reacción necesita entre 18 y 24 h para producirse. En 2005, Venkateswarlu y cols.¹⁰ reportaron la síntesis de veinte curcuminoides con actividad antioxidante-antitumoral, calentando la mezcla de reacción a 85 °C en DMF durante solo cuatro horas, los rendimientos oscilaron entre 9 y 65 %. Por otra parte, se conoce la eficiencia del calentamiento mediante microondas^{1,2} y la posibilidad de realizar reacciones de condensación bajo estas condiciones.^{6,11,17} En este trabajo, se describe la síntesis de los cuatro curcuminoides halogenados no reportados en mediante la condensación de aldehídos aromáticos y acetilacetona, empleando dos métodos diferentes (A y B), según la ecuación 1.



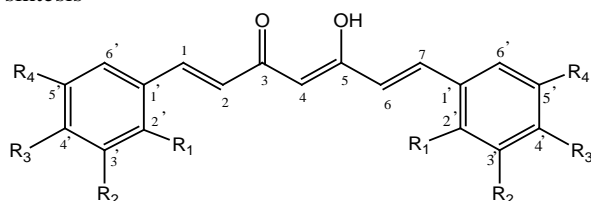
A) Morfolina, DMF, 85 °C, 4 h. B) Morfolina, MW 900W, 1 min.

Ecuación 1. Condensación de aldehídos aromáticos con acetilacetona.

Se comprobó que el empleo del método A se obtienen menores rendimientos ocasionado por las elevadas temperaturas a que es sometida la mezcla de reacción lo que propicia la degradación los productos, estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura.^{17,18}

En este método, al concluir la reacción, la mezcla es tratada con un ácido diluido para romper el complejo borocurcuminoide y obtener el producto deseado.

Tabla 1. Comparación de los resultados de la reacción de condensación aldólica mediante los métodos A y B de síntesis



| Compuesto/ | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | Rendimiento del Método A | Rendimiento del Método B |
|---|------------------|----------------|------------------|------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1 5-hidroxi-1,7-bis(5-cloro-2-metoxifenil)hepta-1,6-dien-3-ona | OCH ₃ | H | H | Cl | 14 % | 37 % |
| 2 5-hidroxi-1,7-bis(5-bromo-2-metoxifenil)hepta-1,6-dien-3-ona | OCH ₃ | H | H | Br | 16 % | 48 % |
| 3 5-hidroxi-1,7-bis(3-bromo-4,5-dimetoxifenil)hepta-1,6-dien-3-ona | H | Br | OCH ₃ | OCH ₃ | 18 % | 38 % |
| 4 5-hidroxi-1,7-bis(3-iodo-4,5-dimetoxifenil)hepta-1,6-dien-3-ona | H | I | OCH ₃ | OCH ₃ | 9 % | 36 % |
| 1 5-hidroxi-1,7-bis(5-cloro-2-metoxifenil)hepta-1,6-dien-3-ona | OCH ₃ | H | H | Cl | 14 % | 37 % |

En el caso del método B, todos los reactivos fueron mezclados al mismo tiempo. La reacción se efectuó de acuerdo a lo reportado por Babu y Rajasekharan.¹⁹ El empleo de acetilacetona y ácido acético, reactivos líquidos polares, permiten el calentamiento dieléctrico y evitan el uso de disolventes.^{17,18} Además, se conoce que uno de los pasos

determinante en la reacción es la formación del carbanión a partir de la acetilacetona.⁸ En este método no es necesario emplear borato de tributilo (captor del agua formada), ya que el calentamiento dieléctrico alcanza los 200 °C a los 2 s de iniciada la irradiación y al cabo de 1 min la reacción concluye según la cromatografía de capa delegada (CCD). La ruptura del complejo boro-curcuminóide se realizó por tratamiento de la mezcla de reacción con metanol bajo la acción de ultrasonido para evitar el calentamiento en medio ácido, lo que unido a la ausencia de borato de tributilo en la mezcla de reacción, facilitó el aislamiento y purificación del producto por recristalización. El corto tiempo de reacción, unido al eficiente calentamiento limita la formación de productos colaterales y permite incrementar el rendimiento (Tabla 1, método **B**).

La menor complejidad y mayor eficiencia del método **B** hace de este un procedimiento atractivo para la obtención de curcuminoides.

En el espectro de RMN-¹H se observaron las señales correspondientes a los protones metílicos alrededor de 3,80 ppm, dos dupletos asignados a los protones H-2, H-6 y H-1, H-7 de la heptatrienona y un singuleto sobre 16 ppm (muy desapantallado), asignado al protón del grupo OH enólico.

En el espectro RMN-¹³C se observó una señal sobre 101 ppm asignada al C-4, en el ensayo DEPT fue corroborado que esta señal corresponde a un grupo CH y no a un metileno, lo que demuestra que la forma enólica es la más favorecida para estas estructuras (Tabla 2), estos resultados coinciden con los reportados.⁸ La masa determinada mediante EMAR coincidió con la calculada para cada uno de los curcuminoides, lo que permitió corroborar las estructuras propuestas.

Tabla 2. Datos de RMN y espectrometría masas de alta resolución (EMAR) de los compuestos obtenido

| Compuesto | RMN- ¹ H | RMN- ¹³ C | HRMS |
|-----------|------------------------------------|---|--------|
| 1 | 3,83(s, 6H, CH ₃ O x 2) | 55,88(OCH ₃ x 2) 102,01(C-4) | 404,06 |
| | 6,60(d, 2H, H-2, H-6) | 125,65(C-2, C-6) | |
| | 7,83(d, 2H, H-1, H-7) | 134,23(C-1, C-7) 183,39(C-3, C-5) | |
| | 15,79(s, 1H, OH) | 55,82(OCH ₃ x 2) 102,01(C-4) | |
| 2 | 3,81(s, 6H, OCH ₃ x 2) | 126,06(C-2, C-6) 134,24(C-1, C-7) 183,37(C-3, C-5) | 490,95 |
| | 6,60(d, 1H, H-2, H-6) | | |
| | 7,82(d, 2H, H-1, H-7) | | |
| | 15,79(s, 1H, OH) | | |
| 3 | 3,80(s, 6H, CH ₃ O x 2) | 56,06(OCH ₃ x 2) 60,63(OCH ₃ x 2) 101,90(C-4) | 550,96 |
| | 6,45(d, 2H, H-2, H-6) | 124,25(C-2, C-6) | |
| | 7,46(d, 2H, H-1, H-7) | 138,79(C-1, C-7) | |
| | 15,51(s, 1H, OH) | 182,90(C-3, C-5) | |
| | | | |
| 4 | 3,80(s, 6H, CH ₃ O x 2) | 58,18 (OCH ₃ x 2) 60,79 (OCH ₃ x 2) 101,96(C-4) | 646,93 |
| | 6,44(d, 2H, H-2, H-6) | 124,36 (C-2, C-6) 139,02(C-1, C-7) 182,91(C-3, C-5) | |
| | 7,44(d, 2H, H-1, H-7) | | |
| | 15,74(s, 1H, OH) | | |
| | | | |

La Tabla 3 muestra los resultados del análisis elemental cuantitativo y la temperatura de fusión de cada de los compuestos obtenidos.

Los resultados del análisis elemental cuantitativo y la temperatura de fusión de cada de los compuestos obtenidos, unidos a la caracterización espectroscópica y la EMAR, permitieron corroborar las estructuras propuestas para los cuatro curcuminoides sintetizados (Tabla 3),

Tabla 3. Resultados del análisis elemental y temperatura de fusión de los curcuminoides sintetizados

| Compuesto | Análisis elemental | | Tf(°C) |
|-----------|---------------------------------|---------------------------------|---------|
| | Calculado | (Experimental) | |
| 1 | C: 62,24; H: 4,48 | C: 62,47; H: 4,78 | 183-184 |
| 2 | C: 51,04; H: 3,67 | C: 51,0; H: 3,64 | 215-216 |
| 3 | C: 49,84; H: 4,0 | C: 49,72; H: 3,64 | 197-216 |
| 4 | C: 42,62; H: 7,64 | C: 42,65; H: 3,76 | 221-222 |

CONCLUSIONES

Al comparar los resultados obtenidos por ambos métodos es fácil notar las ventajas del método B, con tiempos de reacción considerablemente cortos (1 min), sin el uso de disolvente, ni de borato de tributilo. Además, se evita la purificación por cromatografía de columna al tratar la mezcla de reacción con metanol. La pureza obtenida del producto es adecuada, según los resultados obtenidos por Espectromía de Masas de Alta Resolución. Se realizó la síntesis de cuatro nuevos curcuminoides halogenados mediante la condensación de aldehídos aromáticos y acetilacetona por dos métodos diferentes; el primero convencional y el segundo asistido por microondas y aplicación de ultrasonido a los productos finales, el cual aventaja al primero por requerir tiempos de reacción considerablemente cortos, tener lugar en ausencia de disolvente y de borato de tributilo, todo lo cual garantiza la pureza del producto e incrementa el rendimiento. Estas ventajas hacen de este procedimiento un método económico, ecológico y atractivo para la síntesis de análogos a la curcumina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Madhvi A. Surati, Smita Jauhari, R. Desai. A brief review: Microwave assisted organic reaction. Archives of Applied Science Research. 2012; 4 (1): 645-661.
2. Meshram H M, Nageswara Rao N, Satish Kumar N y Chandrasekhara Rao L. Microwave assisted catalyst free synthesis of 3-hydroxy-2-oxidoles by aldol condensation of acetophenones with isatins. Der Pharma Chemica. 2012; 4(3):1355-1360.
3. 3-Timothy J. Mason, Dietmar Peters. Practical Sonochemistry: Power Ultrasound Uses and Application. 2nd Edition: 2003: pp.165.
4. Dabholkar V V. y Gavande R P. Ultrasound and microwave assisted rapid and sustainable route to síntesis of benzothiazine derivatives. Indian Journal of Chemistry, August 2012; Vol. 51B, pp 1173-1179.
5. IUPAC Compendium of Chemical Terminology, Electronic version. 2012. [Consultado 5 de julio de 2013]. Disponible en: <http://goldbook.iupac.org/C01238.html>.
6. Arulkumaran R. Vijayakumar S, R. Sundararajan, Sakthinathan SP, D. Kamalakkannan, R. Suresh, K. Ranganathan, G. Vanangamudi, G. Thirunarayanan Thionylchloride catalyzed aldol condensation: Synthesis, spectral correlation and antibacterial activities of some 3,5-dichloro-2-hydroxyphenyl chalcones. International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy. 2012; 4: 17-38.
7. Payton F, Sandusky P, and L. Alworth William. NMR Study of the Solution Structure of Curcumin. Journal of Natural Products. 2007; 70 (2): 143-146.
8. Said M. Bayomi, Hassan A. El-Kashef, Mahmoud B. El- shmawy, Magda N. A. Nasr, Magda A. El-Sherbeny, Farid A. Badria, et al. Synthesis and biological evaluation of new curcumin derivatives as antioxidant and antitumor agents Medicinal Chemistry Research. 2012; 19(7): 617-716.
9. Chatchawan Changtam, Poonpilas Hongmanee, Apichart Suksamrarn. Isoxazole analogs of curcuminoids with highly potent multidrug-resistant antimycobacterial activity. European Journal of Medicinal Chemistry. 2010; 45: 4446-4457.
10. Venkateswarlu S. *et al* Synthesis and biological evaluation of polyhydroxycurcuminoids. Bioorg. Med. Chem. 2005; 13: 6374-6380.
11. Wei-Yan Shao y colaboradores. Facile preparation of new unsymmetrical curcumin derivatives by solid-phase synthesis strategy. Tetrahedron Letters. 2006; 47: 4085-4089.
12. Zannotto-Filho A, Braganhol E, Edelweiss MI, Behr GA, Zanin R, Schröder R, *et al*. The curry spice curcumin selectively inhibits cancer cells growth *in vitro* and in preclinical model of glioblastoma. J Nutr Biochem. 2012; 23(6): 591-601.
13. Hu YH, Huang X, Qi M, Hou B. Curcumin inhibits proliferation of human lens epithelial cells: a proteomic analysis. J Zhejiang University Science. 2012; 13(5): 402-407.
14. Neeraj Choudhary and Bhupinder Singh Sekhon. Potential therapeutic effect of curcumin - an update. J Pharm Educ Res. 2012; 3: 64-71.
15. Cronin JR. Curcumin: Old spice is a new medicine. J Alternative Complementary Therapies. 2003; 34-38.

16. Ye J, Zhang Y. Curcumin protects against intracellular amyloid toxicity in rat primary neurons. *Int J Clin Exp Med.* 2012; 5(1): 44-49.
17. Adam Shih-Yuan Lee, Ching-Hui Chung, Yu-Ting Chang and Pin-Lung Chen. L-Proline Catalyzed Condensation Reaction of Aldehyde or Carboxylic Acid with 2-Aminothiophenol under Solvent-Free and Microwave Irradiation. *Journal of Applied Science and Engineering.* 2012; 15(3): 311-315.
18. Hanne Hjorth Tonnesen and Jan Karlsen. Kinetics of Curcumin Degradation in Aqueous Solution. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1985; 180: 402-404.
19. Babu KVD and Rajasekharan KN. Simplified condition for synthesis of curcumin and other curcuminoids, *Organic Preparations and Procedures International.* 1994; 26: 674-677.