

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS CURCUMINOIDES HALOGENADOS

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF NEW HALOGENATED CURCUMINOIDS

Eugenio Torres¹, Zonia Guillén², Quirino Arias¹, Manuel Almeida¹, Dirk Michalik³, Christian Vogel³

(1) Universidad de Granma, Facultad de Ciencias Técnicas, Carretera Bayamo-Manzanillo, Km 17¹/₂, Peralejo, Apdo. 21, Bayamo, C.P. 85100 Granma - Cuba

(2) Universidad de Ciencias Pedagógicas, Blas Roca Calderío, Blanquizar Km 3, Manzanillo, C.P. 87510 Granma - Cuba

(3) Universität Rostock, Institut für Chemie, Albert Einstein Str. 3a, 18059, Rostock - Germany
(e-mail: etorresrodriguez@udg.co.cu; christian-vogel@uni-rostock.de)

Recibido: 23/09/2013 - Evaluado: 28/10/2013 - Aceptado: 11/11/2013

RESUMEN

En este trabajo se describe un novedoso procedimiento de síntesis de compuestos análogos a la curcumina con átomos de halógenos en su estructura que pudieran incrementar su solubilidad y actividad biológica. Fueron obtenidos cuatro curcuminoides halogenados con gran interés farmacológico, no reportados en la literatura. La síntesis se realizó mediante la condensación aldólica asistida por microondas de aldehídos aromáticos halogenados y acetilacetona, empleando morfolina como catalizador básico, en ausencia de disolventes y necesitando solo 1 min. de reacción. Los productos fueron purificados por tratamiento de la mezcla de reacción con metanol bajo la acción de ultrasonido, seguido por cromatografía de columna. Todos los compuestos obtenidos fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja, resonancia magnética nuclear, análisis elemental cuantitativo y espectrometría de masas de alta resolución. Los datos de RMN-¹H demuestran que en todas las estructuras de los curcuminoides sintetizados la forma enólica es la más favorecida.

ABSTRACT

In this work a novel procedure of synthesis of compounds analogues to curcumin with halogens atoms in its structure is described, which can increase its solubility and biological activity. Four halogenated curcuminoids were obtained with great pharmacological interest, none of them reported in literature before. Synthesis was carried out by means of the aldol condensation assisted by microwaves of halogenated aromatic aldehydes and acetylacetone, using morpholine as basic catalyst, in absence of solvent, and the reaction just needed 1 min. The products were purified by treatment of the reaction mixture with methanol under ultrasound irradiation, followed by chromatographic column. All obtained compounds were characterized by infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance, quantitative elementary analysis and high resolution mass spectrometry. The RMN-¹H data demonstrate in all structures of synthesized curcuminoids the enol form is the most favored.

Palabras clave: curcumina; condensación aldólica; microondas; reacción en ausencia de solventes
Keywords: curcumin; aldol condensation; microwaves; solvent free reaction

INTRODUCCIÓN

La curcumina, 1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona, es el principal componente activo de la de *Curcuma longa* L. (Espinosa *et al.*, 2012), se usa como especie y colorante de alimentos, en la preparación de cosméticos y fármacos (Barrero & Carreño, 1999). La curcumina ha sido sometida a numerosos ensayos clínicos para el tratamiento del cáncer debido a sus prominentes propiedades antitumorales y quimioprotectoras, (De Clercq, 2000; Sharma *et al.*, 2005). Sin embargo, estos estudios se han visto limitados debido a la escasa absorción de la molécula (Shoba *et al.*, 1998). Se han desarrollado diversas investigaciones para modificar la estructura de la curcumina y aumentar así, su absorción y potencia, mientras se mantiene la baja toxicidad del producto natural (Youssef *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2005). Desde que se sintetizó por primera vez la curcumina (Paban, 1964), mediante la condensación de vainillina y acetilacetona, muchos curcuminoides han sido obtenidos, sin embargo, no existen reportes de análogos a la curcumina, con átomos de halógenos como sustituyentes en los anillos aromáticos. La presencia de átomos de halógenos en estas estructuras puede incrementar su solubilidad y actividad biológica al provocar que la membrana celular sea más permeable al compuesto orgánico y ser el enlace carbono-halógeno más resistente a la oxidación y a la destoxificación en el hígado por acción de la enzima P450, la mayor estabilidad del compuesto halogenado garantiza la efectividad del fármaco en los ensayos clínicos (Herrera-Rodríguez *et al.*, 2011). Por otra parte, los cortos tiempos de reacción y los altos rendimientos que proporciona el uso de microondas en síntesis orgánica han permitido que esta tecnología sea muy empleada actualmente en el descubrimiento de nuevos fármacos (Surati *et al.*, 2012).

En este trabajo se describe la síntesis asistida por microondas y ultrasonido de cuatro nuevos curcuminoides halogenados con potencial actividad biológica, el empleo de modernas técnicas de elucidación estructural como RMN bidimensional y espectrometría de masas de alta resolución, permitió la caracterización inequívoca de los compuestos obtenidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos y disolventes empleados fueron de calidad "puros" o "analíticos" provenientes de las firmas *Merck* y *Sigma-Aldrich*. Las reacciones fueron desarrolladas en un horno microondas, modelo MDS-81D, equipado con control de presión y temperatura. El avance de la reacción se siguió mediante cromatografía de capa fina en cromatofolios.

La purificación de los productos se realizó por sonicación de la mezcla de reacción en un baño ultrasónico Bandelin electronic RK 52 a frecuencia fija de 35 kHz y por cromatografía de columna de gel de sílice 60 (*Merck*). Los espectros IR se registraron en espectrofotómetros FTIR Phillips PU-9624 y FTIR Nicolet 205. Los espectros RMN-¹H (300 MHz) y RMN-¹³C (75 MHz) fueron obtenidos en equipos, ARX 300 a 20 °C. Las señales en los espectros ¹³C se asignaron con ayuda de experimentos DEPT y ensayos bidimensionales: COSY y HSQC. Los espectros de masas de alta resolución (EMAR) se registraron en un espectrómetro INTECTRA GmbH, modelo AMD-402/3, mediante las técnicas de ionización por electro spray (ESI). El análisis elemental se realizó en los equipos de las firmas CARLO ERBA CHNS-O EA-1108 y Leco CHNS-932.

Procedimiento general

En un balón de 50 mL se mezcló acetilacetona (5,0 mmol) con óxido de boro (5,0 mmol). Posteriormente fueron adicionados el aldehído correspondiente (10 mmol), morfolina (1,15 mmol) y ácido acético (3,49 mmol), la mezcla de reacción fue irradiada con microondas a una potencia de 900 W durante un minuto. El sólido formado fue disuelto en MeOH y sometido a ultrasonido, el producto fue purificado mediante cromatografía flash.

5-hidroxi-1,7-bis(3-bromo-4-hidroxi-5-metoxifenil)hept-1,4,6-trien-3-ona (**1**)
- Sólido anaranjado, (1,99 g, 38 %), Tf: 139-140 °C, R_f = 0,18 (Tol- AcOEt 5:1)

- IR (KBr): 1620 (CO), 3280 (OH)
- RMN-¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) δ: 3,89(s, 6H, CH₃O x 2); 5,97(s, 1H, H-4), 6,85(d, 2H, H-2, H-6, ³J_{1,2} = 15,9 Hz); 7,38(d, 1H, H-2', ⁴J_{2',6'} = 1,4 Hz); 7,5(d, 2H, H-1, H-7, ³J_{6,7} = 15,9 Hz); 7,65(d, 1H, H-6', ⁴J_{2',6'} = 1,4 Hz); 10,15(s, 2H, OH x 2); 15,89 (s, 1H, OH)
- RMN-¹³C (DMSO-d₆, 75,46 MHz) δ: 60,79 (OCH₃ x 2); 101,96(C-4); 111,21(C-6'); 118,26(C-3'); 124,36 (C-2, C-6); 130,21(C-2'); 132,95 (C-1'); 139,12(C-1, C-7); 148,13(C-5'); 153,80(C-4'); 182,90 (C-3, C-5)
- EMAR: M (C₂₁H₁₈Br₂O₆) calculada: 523,94; experimental M-H: 522,94
- Análisis Elemental: Calculado % C 47,94, % H 3,45; Experimental % C 48,23, % H 3,90

5-hidroxi-1,7-bis(4-hidroxi-3-iodo-5-metoxifenil)hept-1,4,6-trien-3-ona (**2**)

- Sólido anaranjado, (2,23 g, 36%), Tf: 244-245 °C, R_f = 0,18 (Tol- AcOEt 5:1)
- IR (KBr): 1621 (CO), 3271 (OH)
- RMN-¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 3,87(s, 6H, CH₃O x 2); 6,06(s, 1H, H-4), 6,84(d, 2H, H-2, H-6, ³J_{1,2} = 15,9 Hz); 7,37(d, 1H, H-6', ⁴J_{2',6'} = 1,4 Hz); 7,5(d, 2H, H-1, H-7, ³J_{6,7} = 15,9 Hz); 7,65(d, 1H, H-2', ⁴J_{2',6'} = 1,4 Hz); 10,13(s, 2H, OH x 2); 16,02 (s, 1H, OH)
- RMN-¹³C (DMSO-d₆, 75,46 MHz): δ 60,71(OCH₃ x 2); 93,76(C-3'); 101,94(C-4); 112,20(C-6'); 124,25(C-2, C-6); 130,52(C-2'); 132,97(C-1'); 138,79(C-1, C-7); 150,60(C-5'); 152,67(C-4'); 183,01(C-3, C-5)
- EMAR: M (C₂₁H₁₈I₂O₆) calculada: 619,92; experimental (M-H): 618,91
- Análisis Elemental: Calculado % C 40,64, % H 2,93; Experimental % C 40,76, % H 3,41

5-hidroxi-1,7-bis(5-bromo-2-hidroxifenil)hept-1,4,6-trien-3-ona (**3**)

- Agujas amarillas, (1,62 g, 35%), Tf: 145-146 °C, R_f = 0,48 (EP-AcOEt 30:1)
- IR (KBr): 1620 (CO), 3285 (OH)
- RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ: 6,11(s, 1H, H-4), 6,87(d, 1H, H-3', ³J_{3',4'} = 8,7 Hz); 7,02(d, 2H, H-2, H-6, ³J_{1,2} = 16,1 Hz); 7,38(dd, 1H, H-4', ³J_{3',4'} = 8,7 Hz, ⁴J_{4',6'} = 2,2 Hz); 7,81(s, 1H, H-6', ⁴J_{4',6'} = 2,2 Hz); 7,84(d, 2H, H-1, H-7, ³J_{6,7} = 16,1 Hz); 10,56(s, 2H, OH x 2); 15,87(s, 1H, OH)
- RMN-¹³C (DMSO-d₆, 75,46 MHz) δ: 101,23(C-4); 112,5(C-3'); 125,67(C-5'); 126,06(C-2, C-6); 127,18(C-6'); 130,72(C-4'); 133,38(C-1'); 134,20(C-1, C-7); 157,32(C-2'); 183,56(C-3, C-5)
- EMAR: M (C₁₉H₁₄Br₂O₄) calculada: 463,92; experimental (M-H): 462,91
- Análisis Elemental: Calculado % C 48,96, % H 3,03; Experimental % C 48,85, % H 3,25

5-hidroxi-1,7-bis(5-cloro-2-hidroxifenil)hept-1,4,6-trien-3-ona (**4**)

- Agujas amarillas (1,42g, 38 %), Tf: 138-139 °C, R_f = 0,32 (EP-AcOEt 3:1)
- IR (KBr): 1621 (CO), 3271 (OH)
- RMN-¹H- (DMSO-d₆, 300 MHz): δ: 6,13(s, 1H, H-4); 6,96 (d, 1H, H-3', ³J_{3',4'} = 8,67 Hz); 7,06(d, 2H, H-2, H-6, ³J_{1,2} = 16,1 Hz); 7,30 (dd, 1H, H-4', ³J_{3',4'} = 8,7 Hz, ⁴J_{4',6'} = 2,5 Hz); 7,76(d, 1H, H-6', ⁴J_{4',6'} = 2,52 Hz); 7,83(d, 2H, H-1, H-7, ³J_{6,7} = 16,1 Hz); 10,58(s, 2H, OH x 2), 16,16(s, 1H, OH)
- RMN-¹³C (DMSO-d₆, 75,46 MHz) δ: 100,93(C-4); 112,43(C-3'); 125,50(C-5'); 125,70(C-2, C-6); 127,76(C-6'); 130,71(C-4'); 134,25(C-1, C-7); 134,34(C-1'); 156,84(C-2'); 184,23(C-3, C-5)
- EMAR: M (C₁₉H₁₄Cl₂O₄) calculada: 376,01; experimental (M-H): 375,02
- Análisis Elemental: Calculado % C 60,50, % H 3,74; Experimental % C 60,78, % H 4,14

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta las potencialidades bioactivas de los curcuminoides y con la finalidad de establecer un método de síntesis más eficiente que permita obtener análogos a la curcumina con halógenos como sustituyentes en los anillos aromáticos, se realizó la síntesis de una serie de curcuminoides mediante una modificación del procedimiento propuesto por *Venkateswarlu et al.* (2005), mezclando todos los reactivos a la vez, en ausencia de disolventes e irradiando la mezcla de reacción con microondas durante 1 min. (Figura 1).

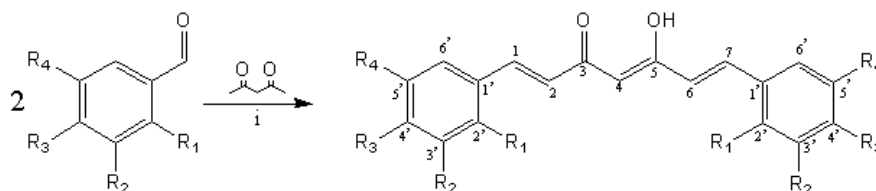


Fig. 1: Obtención de curcuminoides halogenados, condiciones de reacción (i): B₂O₃, ácido acético, morfolina, irradiación con microondas (900 W, 1 min.).

Cuando la reacción se realizó mediante calentamiento convencional y empleando borato de tributilo como agente deshidratante (Ryu, *et al.* 2006; Bayomi *et al.*, 2012), los rendimientos no superaron el 16%. El rápido y eficiente calentamiento que se logra al irradiar la mezcla de reacción con microondas provoca la fusión de la mezcla, lo que permite desarrollar la reacción en ausencia de disolventes (Meshram *et al.*, 2012), por otra parte el corto tiempo empleado evita el uso de un agente deshidratante como el borato de tributilo (Jha *et al.*, 2007), lo que facilita considerablemente el aislamiento del producto. En todos los casos fue necesario emplear el óxido de boro como agente acomplejante para bloquear el grupo metileno central de la acetilacetona y garantizar así que la reacción solo ocurra en los grupos metilos terminales, se utilizó la morfolina como catalizador básico, resultando eficiente para la condensación de aldehídos halogenados y acetilacetona. Bajo estas condiciones de reacción fueron obtenidos cuatro nuevos curcuminoides con halógenos como sustituyentes en los anillos bencénicos. Los rendimientos alcanzados se muestran en la (Tabla 1).

Tabla 1: Curcuminoides obtenidos

Compuestos	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Rdto. (%)
1	H	Br	OH	OCH ₃	38
2	H	I	OH	OCH ₃	36
3	OH	H	H	Br	35
4	OH	H	H	Cl	38

La digestión de la mezcla de reacción con metanol asistida por ultrasonido propicia la ruptura del complejo boro-curcuminoides con la consiguiente generación del producto, sin necesidad de someter la mezcla a calentamiento en medio ácido, favoreciendo el rendimiento.

Todos los compuestos obtenidos son sólidos con colores que varían del amarillo al naranja debido a la alta conjugación y a la presencia de grupos cromóforos como el carbonilo e hidroxilo, que se manifiesta con un marcado corrimiento batocrómico de las señales de vibración de valencia (CO, OH), en sus espectros infrarrojos.

En el RMN-¹H de los curcuminoides obtenidos se observan las señales de los protones correspondientes a los dos grupos vinilos (CH=CH) de la heptatrienona sobre 6,5 y 8 ppm respectivamente, con ³J_{1,2} ≈ ³J_{6,7} ≈ 16 Hz, el acoplamiento entre los protones H-1/H-2 y H-6/H-7 demuestra que estos poseen isomería geométrica de tipo *trans*, se observa además, un singlete sobre 16 ppm (muy desapantallado), correspondiente al OH enólico, que nos permite afirmar que en estas estructuras la forma enólica es la más favorecida en el equilibrio ceto-enólico (Payton *et al.*, 2007). En el espectro RMN-¹³C se observan las señales correspondientes a cada uno de los átomos de carbono presentes en la molécula, mientras que en el experimento DEPT no se observa la señal con fase negativa que debía generar un grupo metileno en C-4, la señal correspondiente a este átomo de carbono aparece sobre 100 ppm lo que confirma que es terciario (CH).

En el espectro de masas de alta resolución (EMAR) se observa coincidencia entre la masa calculada y la determinada para el cluster [M-H]. Los resultados de análisis elemental, evidencian correspondencia entre los

cálculos teóricos y los datos experimentales de las determinaciones de carbono e hidrógeno. Todo lo anterior corrobora la identidad de las estructuras propuestas.

CONCLUSIONES

El empleo de microondas y ultrasonido para la síntesis de curcuminoides halogenados mediante condensación aldólica en ausencia de disolventes constituye un novedoso procedimiento, económico y medioambientalmente benigno. Se lograron obtener cuatro heptatrienonas halogenadas no reportados en la literatura con adecuados rendimientos, la presencia de halógenos como sustituyentes en los anillos bencénicos le confiere gran interés farmacológico a los compuestos sintetizados. En los espectros RMN-¹H de todos los curcuminoides obtenidos se observa una señal sobre 16 ppm, perteneciente al grupo OH enólico, demostrando que estas estructuras existen en su forma enólica.

AGRADECIMIENTOS

A los especialistas de Química Analítica y Caracterización Estructural del Instituto de Química de la Universidad de Rostock, Alemania.

REFERENCIAS

1. Barrero, M.M. & Carreño, J.R. (1999). Evaluación de los pigmentos de cúrcuma cultivada en Venezuela. *Agronomía Tropical*, 49, 491-504.
2. Bayomi, S.A., El-Kashef, H.A., El-Shmawy, M.B., Nasr, M.N.A., El-Sherbeny, M.A., Badria, F.A., *et al.* (2012). Synthesis and biological evaluation of new curcumin derivatives as antioxidant and antitumor agents. *Medicinal Chemistry Research*, 19, 617-716.
3. De Clercq, E. (2000). Current lead natural products for the chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Med. Res. Rev.*, 20, 323-49.
4. Espinosa, R.A., Silva, P.J., Borges G.M., González P.O., Pérez P.J & Fajardo R.L. (2012). Evaluación de plantas de *Curcuma longa* L. obtenidas por cultivo de tejidos en condiciones de organopónico. *Rev. Colomb. Biotecnol.*, 14, 196-202.
5. Herrera-Rodriguez, L.N., Khan, F., Robins, K.T. & Meyer, H-P. (2011). Perspectives on biotechnological halogenation. *Chimica oggi/Chemistry Today*, 29, 31-33.
6. Jha, A., Zhao, J., Cameron, T.S., DeClercq, E., Manavathu, E.K. & Stables, J.P. (2006). Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Curcumin Analogues as Anti-Neoplastic Agents *Lett. Drug Design Discov.*, 3, 304-310.
7. Lee, S.L., Huang, W.J., Lin, W.W., Lee, S.S. & Chen, C.H. (2005). Preparation and anti-inflammatory activities of diarylheptanoid and diarylheptylamine analogs. *Bioorg. Med. Chem.*, 13, 6175-6181.
8. Meshram, H.M., Nageswara, N.R., Satish Kumar, N. & Chandrasekhara Rao, L. (2012). Microwave assisted catalyst free synthesis of 3-hydroxy-2-oxidoles by aldol condensation of acetophenones with isatins. *Der Pharma Chemica*, 4, 1355-1360.
9. Paban, H.J.J. (1964). A synthesis of curcumin and related compounds. *Rev. Trac. Chim. Pays-Bas.*, 83, 379-386.
10. Payton, F., Sandusky P. & Alworth, L.W. (2007). RMN Study of the Solution Structure of Curcumin. *Journal of Natural Products*, 70, 144-146.

11. Ryu, E.K., Choe, Y.S., Lee, K.H., Choi, Y. & Kim, B.T. (2006). Curcumin and Dehydrozingerone Derivatives: Synthesis, Radiolabeling, and Evaluation for β -Amyloid Plaque Imaging. *J. Med. Chem.*, *49*, 6111-6119.
12. Sharma, R.A., Gescher, A.J. & Steward, W.P. (2005). Curcumin: The story so far. *Eur. J. Cancer*, *41*, 1955-1968.
13. Shoba, G., Joy, D., Joseph, T., Majeed, M., Rajendran, R. & Srinivas, P.S. (1998). Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Plantas Med.*, *64*, 353-356.
14. Surati, M.A., Jauhari, S. & Desai, R. (2012). A brief review: Microwave assisted organic reaction. *Archives of Applied Science Research*, *4*, 645-661.
15. Venkateswarlu, S., Marellapudi, S.R. & Gottumukkala, V.S. (2005). Synthesis and biological evaluation of polyhydroxycurcuminoids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *13*, 6374-6380.
16. Youssef, K.M., El-Sherbeny, M.A., El-Shafie, F.S., Farag, H.A., Al-Deeb, O.A. & Awadalla, S.A.A. (2004). Synthesis of Curcumin Analogues as Potential Antioxidant, Cancer Chemopreventive Agents. *Arch. Pharm. Med. Chem.*, *337*, 42-44.